

(18)

午 後 の 部

13.00

313. *Basidiomycetes* の深部培養に関する研究(第5報) 椎茸菌 (*Lentinus edodes*) の菌糸体の核酸分解酵素について阪大, 工, 醸酵 ○吉田 敏臣, 田口 久治
寺本 四郎

目的 演者らは前報(日農化41年度大会)において椎茸菌菌糸体の核酸成分の分泌について報告した。すなわち核酸成分の分泌は単なる物理的原因の他に酵素反応による自己核酸の分解が一大要因となっていることをしめした。本報では核酸分解に関与する酵素, リボヌクレアーゼ(RNase), ホスホディエステラーゼ(PDase), ホスホモノエステラーゼ(PMase)を粗酵素液中から分離してその諸性質を検討し, 菌体内の核酸の動代謝について考察することを最終目的とする。

方法 供試菌株は椎茸菌 (*Lentinus edodes*) の一菌株で菌糸体の培養方法ならびに菌糸体からの粗酵素液の調製方法は前報に準じて行なった。分析方法として蛋白質は Folin-Ciocalteu の呈色法または 280 m μ の吸収による方法, また 5'-ヌクレオチド量は Dowex 1 \times 8 を用いるカラムクロマトグラフィ法または酵素法を用いた。また酵素活性の定量法は前報に準じて行なった。

結果 菌糸体を超音波磨砕を行なって得た無細胞液(粗酵素液)を硫酸塩析した後, DEAE セルロースカラムで分画したところ, RNase 活性を有するピークが3点現われ, 酸性 RNase とアルカリ性 RNase は別の蛋白として分離された。PDase, PMase 活性を有するピークはそれぞれ, 1画分であった。それぞれの画分について pH, 温度特性を検討し, さらに基質特異性等を比較検討した結果, 自己消化過程における核酸分解現象を説明しえた。

314. クロカビによる酸性プロテアーゼ生産の生理学的研究とその応用 (第1報)

阪大, 工, 醸酵 ○新名 惇彦, 岡崎 光雄
照井 堯造

目的 アデニン要求株 *Aspergillus niger* U20-2-5 の生産する酸性プロテアーゼは inducible enzyme で

あり, 典型的な nongrowth-associated 型である。このように増殖停止のもとで酵素生産が最大となる, いわゆる preferential synthesis の生理学的研究は微生物生理の解明に重要であるとともに, 培養管理の面では増殖相と生産相にそれぞれ異なった管理をすることが必要であり, したがって酵素生産を最大に発揮する制御方法を目指すものである。

今回はまず培養条件の検討, とくに inducer となりうる物質の検索を行ない, その増殖相と生産相における効果を検討した。

方法 使用菌株はアデニン要求株 *Aspergillus niger* U20-2-5 で培養は三角フラスコを用い, 30 $^{\circ}$ C で振盪培養を行なった。菌体量は充満容法を用いて測定し, 乾燥重量に換算した。酸性プロテアーゼ活性は培養液を酵素液として使用し, pH 2.8 にて Anson 変法で測定した。

結果 この酸性プロテアーゼの至適 pH は 2.8 で安定 pH は 3~6 である。熱安定性は 43 $^{\circ}$ C, 18 時間安定であり, 至適温度は 40 $^{\circ}$ C である。

プロテアーゼ生産に対する窒素源としては, 大豆蛋白, ペプトンなどが有効な inducer であった。カザアミノ酸, グルタミン酸でもかなりの酵素生産があり, また単一アミノ酸間にも差が見られた。無機窒素は inducer とはならず, 酵素生産はほとんど認められなかった。

菌体量は孢子接種後約 30 時間で最大になり, 100 時間位まで一定を保つが, 酵素生産は増殖が停止する頃から始まり, 最大比酵素生成率は 50~60 時間に現われ, 典型的な nongrowth-associated 型を示した。

Inducer を欠いた培地で増殖した菌体をペプトンを含む培地に置換するとプロテアーゼ生産はペプトン濃度に比例して増大し, induction の現象が見られたが, その値はペプトンを含む培地で増殖した菌体に比し, 著しく低かった。すなわちプロテアーゼ生産には増殖相, 酵素生産相を通じて inducer (ペプトン) が存在することが必要であると考えられる。さらに de-induction, precursor の存否についても考察したい。

315. 糸状菌のフィターゼに関する研究

(第3報) 固体培養による酵素の生産条件の検討

わかもと製菓研究部 小林時夫, ○松尾秀彦
小林正範

東大, 農化 蓑田泰治, 山田浩一

目的 フィチン酸を加水分解するフィターゼに関し

ては従来主として植物組織動物臓器の中にその存在が認められており、微生物については1・2の報告があるにすぎない。近年ビタミンB群の一つであるイノシトールの生化学的意義が注目されるにいたり、演者らはフィターゼを微生物より生産しようとして検索し自然界より一強力菌株をえて、*Asp. terreus* と同定し、本年4月の農芸化学大会に発表した。

今回は同菌株を使用して固体培養による酵素生産条件を検討して、興味ある結果をえたので報告する。

方法 300 ml 三角フラスコに麩糠胚芽などの固体培地 20g を入れ、添加物を加えて30～120%加水し120°C30分間滅菌後、土壤中より分離同定した *Asp. terreus* 9A-1 を接種し30～40°C、2～7日間培養した。培養終了後室温にて1時間振盪抽出した液につき前報と同じ方法でフィターゼ活性を測定して酵素生産条件を検討した。

結果 種々検討した結果、フィターゼ生産条件として次の方法がよかった。

- ① 固体培地としては糠一特に赤糠
- ② 加水率は30～40%
- ③ 培養温度は30～35°C
- ④ 培養時間は3～5日間が適当であった。
- ⑤ 炭素源の添加はあまり効果がなかった。

一方アンモニウム塩尿素の添加はきわめて効果的であり、その他の無機有機窒素源の添加効果はあまり認められなかった。

以上のように、赤糠に硫安を4%添加し30～40%加水して30～35°Cで3～5日間培養することにより酵素生産量を10倍以上にも増加しえた。

316. *Trichoderma* 属によるペクチナーゼ生産に関する研究

大阪府立農芸高○有藤 和雄

阪大, 工, 醸酵 岡崎 光雄, 照井 堯造

目的 糸状菌の生産するペクチナーゼは、食品工業において飲料の清澄などその活用が重要視されてきている。しかし、その深部培養法はいまだ確立されていない。特に糸状菌の生産する加水分解酵素は一般に nongrowth associated 型であり、このような優先的な酵素生産は培養の管理の面のみならず、菌体生理の研究にも非常に興味ある問題である。

演者は先に糸状菌の生産する acid-protease, 凝乳酵素などについて、その生産条件を検討報告したが、今回はペクチナーゼ生産に関して2, 3みるべき結果をえ

たので報告する。

測定方法 培養はロータリーシーカーによる振盪培養を用い、培養温度はすべて30°Cとした。ペクチナーゼの測定は齊藤氏法により、活性は pH 4.2, 40°C, 30分の反応による〔粘度低下率×100〕をもって表わした。

結果 自然界より36株、教室保存菌株より *Penicillium* 24株, *Aspergillus* 58株, *Trichoderma* 6株を選び検討したところ、*Trichoderma viride* 4283 が最も強力に酵素を生産するので、以後主としてこの菌株について培養条件を検討した。先づ炭素源としては pectine のみよりもふすま5%含量程度がよく、inducer としては、pectine 1%程度入れるとき良好な酵素生産を示した。これは pectine 量が溶存酸素量と関係し、酵素生産にかなり大きな影響を与えることを示唆した。栄養源としては各種天然資源を使用してみたが、大豆皮をふすまと3:5(%)に配合するとき最もよい酵素生産活性(相対粘度低下率18,000)を示し、これは当初の培地組成の約10倍の活性を示した。イオンの影響は Zn^{++} (100～500 μ g %, $ZnCl_2$ として) が生産活性を促進させる効果があり、 Cu^{++} (100 μ g %, $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ として) は生産速度を速める傾向を示した。生産時間短縮のため、一定間隔で培養物を半量の培地で更新する半連続培養を行なったところ、2日間隔では減少の傾向を示し、3日間隔が適当であった。

14.00

317. Pectinase, amemicellulase, cellulase の農産加工への応用

(第3報) Macerating enzyme および cellulase による柑キツ粕の maceration と果実酢, ペクチン質の製造

愛媛県総合化学技術指導所○高橋 慧, 菅家通夫
島川 武

目的 macerating enzyme は不溶性ペクチンを可溶化し細胞間接着を解離して遊離細胞となし有効生産菌は *Rhizopus sp.* である。一方 Cellulase は露出せる Cellulase を加水分解するが有効生産菌は *Trichoderma viride* である。演者らは柑キツ加工粕が愛媛県においても 15000:1 に達しその示す酸性と腐植になりがたい性質から各加工業者は廃棄のためかなりの経費を要した飼料としても対照が高等動物なるがゆえに粗飼料にしかなり得ない。ただしそのアミノ酸組