

30 酵素および酵素工学

157

膜固定化CGTaseのカップリング反応

(日東電工・生化研) ○岡田 猛、日比野 健、佐藤 進

1) 目的 澱粉からサイクロデキストリン(CD)を生産する反応においては、酵素CGTaseの環化反応によって生じたCDが、同じ酵素による他のオリゴ糖との分子間反応(カップリング反応)のために減少し、収率を下げるのが問題となる。そこで本研究では、この分子間の転移反応が起こる条件について検討を行ったので報告する。

2) 方法 *Bacillus macerans*由来のCGTaseを、ポリスルホン系中空糸状膜(NTE-370、日東電工製)に固定化して反応条件を検討した。酵素固定化量の異なる膜を用い、操作圧力の調整によって基質と酵素の接触時間を変化させ、定常状態における転移反応の割合を調べた。糖の分析はHPLCで行った。

3) 結果 α -CD、 β -CDを基質として反応したところ、 α -CDは β -CDとオリゴ糖(主にグルコース数3以下)に、 β -CDは α -CDとオリゴ糖に転換した。 β -CDを基質とした場合、その割合は基質と酵素の接触時間が長くなるほど大きくなり、15分で70%の β -CDが消滅し、その内30%が α -CDに40%がオリゴ糖となった。転移反応の受容体としてグルコースとマルトースを用い、 α -CDの転移反応を検討したところグルコースを受容体とした方が高い転換率を示すことが判った。固定化量の低い酵素固定膜では転換率は低く、オリゴ糖はほとんど生じなかった。転移反応が起こりやすい条件におけるマルトオリゴスクロース(カップリングシュガー)の生成反応についても現在検討中である。

Coupling reaction of cyclodextrin glucanotransferase immobilized on membrane

*Takeshi Okada, Ken Hibino and Susumu Satoh (Biochemical research laboratory, Nitto electric industrial Co. Ltd.)

158

メンブランリアクターによるセロビオースの酵素的生成

(農林省食総研、山陽国策パルプ生産技術研究所*)

* 把田 雅彦*、柏木 豊、谷口 肇、佐々木 堯

1) 目的 現在、セロビオースはセルロースを部分アセトリシス後、脱アセチル化して製造されている。本研究では、セルロースから酵素的にセロビオースを効率よく生成することを目的とし、*Cellvibrio gilvus*の生産する菌体外酵素(セロビオース生成酵素)とメンブランリアクターとを組合わせて反応条件の検討を行った。

2) 方法 メンブランリアクターは東洋の限外濾過ユニットUHP-43に、分画分子量2万の限外濾過膜を付けたものを用いた。糖化は37℃、pH6.5で24~48時間行い、糖化液は系外へ連続的に抽出し、抽出した液量に見合うだけリザーバーによりバッファーを追加した。糖化液中に含まれるグルコースは、固定化酵母カラムに通過させることにより除去した。反応後、全糖はフェノール-硫酸法で、又、グルコース、セロビオースはHPLCにて各々定量した。

3) 結果 基質はバッチ反応において分解率の最も高かった酸処理セルロースを用いた。基質濃度を上げていくと、5%ではバッチ反応において生成物阻害がかかり、1%の場合と比べて15%程度分解率が下がったが、メンブランリアクターを用いた系では生成物阻害を解除でき90%程度分解を行うことが出来た。希釈率の影響については、分解率は影響を受けなかったが、希釈率を大きくするとグルコースの生成は減少した。糖化液の組成はセロビオースを主成分とし、微量のグルコースを含んでいた。グルコースは固定化酵母カラムを通過させることにより完全に除去でき、セロビオースを回収することが出来た。本研究は農水省バイオマス変換プロジェクトの一環として行った。(87-1-V-2)

Enzymatic Production of Cellobiose by Membrane Reactor

* Masahiko Tabata*, Yutaka Kashiwagi, Hajime Taniguchi and Takashi Sasaki

(National Food Research Institute and Engineering Research Laboratory, Sanyo-Kokusaku Pulp Co., Ltd.*)