

より、イソマルトースやパノースなどの非発酵性糖類を多く含有し、甘味に幅のある非寒冷晶出性のみりんが得られる。

焼酎またはアルコールに関連する研究として、1) 通常の焼酎またはアルコールに代替して清酒などの発酵液を使用することにより、発酵風味が濃厚で旨味成分の多いみりん（貴醸みりん）が得られる。2) 発酵性調味液⁷⁾はその製造工程に発酵と熟成があり、みりん製造の焼酎またはアルコールに代替して、加塩発酵液を用いて製造したものとみなすことができる。食塩添加による不可飲処置をしており酒税法の規制を受けないので、原料の種類や製造法は多種多様である。品質的にはみりん、清酒、ワイン、中国酒や高濃度アルコールなどの各タイプに分類されるが、それぞれ発酵による特有な香味を有している。また、その用途は水産練製品や畜肉製品など多品種に及んでいる。

熟成期間に関連する研究として、通常の熟成期間の30～60日よりさらに長期間熟成した、熟成香味の濃厚な中国酒タイプの長期熟成みりんが考えられる。

その他の研究として、みりんや発酵性調味液の粉末化⁸⁾が行われ、インスタント時代の主役である粉末・乾燥食品の高品質化に寄与している。

家庭における調理や食品加工業界では、料理や製品の多様化が進んでおり、みりんや発酵性調味液の品質の多様化が今後ますます要求されるものと思われる。

- 1) 葦沢ら：特許昭60-2026.
- 2) 大久保ら：公開昭55-124472.
- 3) Oyashiki, H. *et al.*: *J. Ferment. Technol.*, **63**, 311 (1985).
- 4) 竹内ら：特許昭46-37878.
- 5) 竹田ら：醸協, **79**, 821 (1984).
- 6) 布川ら：醸協, **77**, 123 (1982).
- 7) 松田ら：食品工業, 4下, 34 (1985).
- 8) 森田ら：New Food Industry, **26**, 58 (1984).

(宝酒造^株・中央研

長浜源社・松田秀喜・森田日出男)

発泡体を担体とする糸状菌の新規培養法

カビ、放線菌などの糸状菌は、各種の抗生物質、有機酸、ビタミン、ステロイド、酵素等の生産に用いられている。これらの糸状菌は極めて好気性が高いため、酸素移動速度を高くとれる通気攪拌型培養槽が工業的には採用されている。

しかし、上記培養槽を用いた糸状菌の培養には、糸

状菌の増殖形態に起因する工学的な諸問題が存在する。すなわち、糸状菌は孢子を形成し、菌糸の伸長により増殖するが、植菌濃度や攪拌強度の違いによってパルプ状またはペレット状の増殖形態を示す。パルプ状に増殖した場合には、菌体濃度の増加に伴って培養液の粘度が著しく増加し、その結果、液混合が悪くなって培養槽内の栄養物質濃度や酸素濃度の分布が不均一となったり、pH や溶存酸素濃度測定用センサー表面が菌糸によって被覆され、計測が困難になったりする。また、十分な酸素移動速度を維持するための攪拌所要動力が著しく高くなったり、剪断力の増加によって菌糸がダメージを受ける場合もある。さらに、培養液中の有用生産物とパルプ状に増殖した糸状菌とを分離するために多大なる過助剤や労力を要する。一方、ペレット状に増殖した場合には、その直径が大きくなると、栄養物質や酸素のペレット内部への拡散が律速となり、増殖速度や有用物質の生産速度が低下したり、ペレット内部が自己消化により空洞化して培養液表面に浮いてしまうといった問題が生ずる。

このような問題点を解決できる方法として、発泡体を担体とする糸状菌の新規培養法が最近脚光を浴びている。¹⁻⁴⁾この方法は、高分子発泡体の一部に極めてカビが繁殖し易いものがあるという事実を積極的に利用したものであり、発泡体を糸状菌の培養液中に添加し、この担体の表層に糸状菌を付着させて培養する方法である。従来の包括固定化法^{5,6)}とは異なり、添加した発泡体に糸状菌が自律的に付着増殖することが前提条件であるため、発泡体への糸状菌の付着性、親和性が極めて重要な因子となり、このような観点から適当な発泡体を選択する必要がある。

この培養法には、適当な量の発泡体の添加によって、発泡体の表層でのみ糸状菌を増殖させることができるため、培養液の粘度を低く保つことが可能となり、その結果、酸素供給や培養液からの糸状菌の分離に必要なエネルギー、コストの大幅な削減ができるという特徴がある。さらに、他の固定化菌体培養法と同様に、容易に糸状菌が付着した発泡体を培養槽内に閉じ込めることができるので、有用物質の連続生産も可能である。また、発泡体を担体とする糸状菌の培養に適した培養槽としては、三相流動層が用いられている⁷⁾が、固体粒子を担体とする場合とは異なり、発泡体を担体とする場合には担体のホールドアップが比較的大きいために、担体の流動を促進するための種々の工夫がな

されている。

以上のように、発泡体を担体とする糸状菌の新規培養法には、培養操作、分離操作の上で種々の利点があり、この培養方法に適した培養槽の開発も含めて、今後の発展が期待される。

- 1) 遠藤ら：化学工学協会第18回秋季大会要旨集，p. 538 (1984)。
- 2) 遠藤ら：化学工学，49，293 (1985)。
- 3) 遠藤ら：化学工学協会第51年会要旨集 p. 376 (1986)。
- 4) Fukuda, H. et al.: *Proceeding of World Congress III of Chemical Engineering, Tokyo*, Vol. 1, p. 977 (1986)。
- 5) 園元ら：醸酵工学，61，153 (1983)。
- 6) 堀津：酵素工学ニュース，Vol. 14, p. 11 (1985)。
- 7) 小林ら：化学工学協会第51年会要旨集，p. 381 (1986)。

(理化学研究所 長棟輝行)

NAD と強く結合した脱水素酵素の反応性

NAD 関与の脱水素酵素を用いる酵素リアクターでは、NAD(H) を第2の脱水素酵素反応などによって連続的に再生することが必要であり、この NAD(H) を反応系内に保持するために、酵素と共に固定化したり、高分子化した NAD を限外ろ過膜内に封じこめることが試みられている。また、これとは別に、酵素に直接 NAD を結合させる方法も考案されており、この場合、NAD は常に酵素の活性中心近傍に存在し、反応に十分な濃度を保つことができ、NAD をフレキシブルなスペーサーを介して結合させると、NAD 部分は第2の酵素にも利用されるようになる。¹⁾ すなわち、NAD 誘導体が一方の酵素に結合したままで、2種の酵素の間を往復して酸化還元が繰り返されるわけである。

ト部ら²⁾ は PEG で高分子化した NAD が高い補酵素活性を有することを報告しているが、さらにこの PEG-NAD を *Thermus thermophilus* のリンゴ酸脱水素酵素に共有結合させる新しい方法を開発した。³⁾ PEG-NAD は末端にアミノ基を有しているので、これと酵素の遊離のアミノ基との間を2官能基試薬で連結させ、NAD 含量が1.2~0.5 モル/サブユニットの修飾酵素を調製した。このものの比活性は未修飾酵素の約80%で、NAD 修飾酵素としては極めて高い値である。この修飾酵素とアルコール脱水素酵素を共存さ

せると、NAD を新たに添加することなしに共役反応が成立し、オキザロ酢酸とエタノールからリンゴ酸とアセトアルデヒドが高効率に生成された。このように高い活性を有する NAD 修飾酵素が調製できたのは、酵素が好熱性細菌由来で安定であることに加えて、NAD が親水性でフレキシブルな長いスペーサーを介して酵素と結合しているために、NAD 部分の自由度が高いためと考えられている。また、PEG-NAD と酵素とのカップリング反応が温和であることは、本修飾法の特記すべき点である。

NAD を共有結合させた酵素は、単独で2種の基質の酸化と還元を同時に行う不均化反応も触媒するが、最近、これと同種の反応を行う天然の酵素が細菌に見出された。⁴⁾ この酵素(ホルムアルデヒドジスモターゼ)は上の修飾酵素と異なり、各サブユニットの活性中心に NAD がスペーサーなしで強く結合(非共有結合)しているために、アルデヒドをアルコールと酸とに変換するような不均化反応のみを触媒することができる。

このように、NAD と酵素との結合状態が変わることによって、触媒素子としての新しい利用価値を生み出すことができ、さらに、酵素と補酵素との相互作用の詳細を知る上で興味深いモデルとなる。

- 1) Mansson, M.-O. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 86, 455 (1978)。
- 2) ト部：醸酵工学，64，77 (1986)。
- 3) Eguchi, T. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 155, 415 (1986)。
- 4) Kato, N. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 156, 59 (1986)。

(鳥取大・工 加藤暢夫)

発酵プロセス制御とあいまい制御

発酵は多くの複雑な微生物反応からなり、正確で再現性の高い数式モデルをたてることは不可能に近いと言ってよいであろう。また、重要な状態量である基質濃度や菌体濃度の実用的オンライン計測技術は未確立である。結局、多くのプロセスは、過去の運転データや経験に基づいて運転されているのが実状である。

一方、近年、菌株の改良やプロセスの変更の速度が速くなり、これらの変更に対してもすぐ対応できる制御方法が求められるようになってきた。さらに、コスト競争が激しくなり、自動化、省人化が求められている。

このような状況を考えると、今後は、データベースに基づいた制御や、オペレーターのノウハウをどのよ