

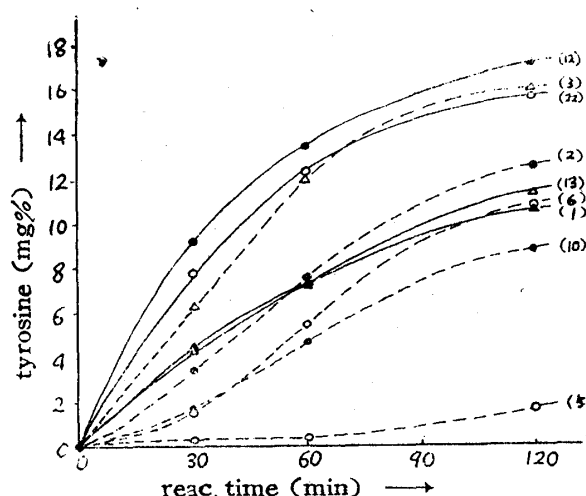


Fig. 5 Production of tyrosine by Fusuma-Koji protease
* stored strain No.

應時間と反應生成物量との關係を本比色法で測定すると Fig.5 に示す如くなる。

菌種により 1 分子反應類似の分解曲線をとるものと sigmoid 曲線をとるものがある。一般に力價の低い酵素標本では後者に従つて作用する傾向が強い。しかし strain No. 1 や No.3 の様な例外もあるので一概に斷定出来ない。この様に分解經過の相違が現われる事實は使用酵素試料中に含有される protease の種類や相互の比率並びに適用された比較的強力なる除蛋白劑の關係等を考慮した上で今後検討せらるべきものであるが、protease 力價の表現法に就いても併せ検討を加えたい。

要 約

protease による蛋白分解生成物をチロシンをもつて代表させ、チロシンの Millon 氏反應を利用して protease の力價を photoelectric tube colorimeter

による比色測定を行つた。

まず protease 測定という立場で純チロシン水溶液に就いて比色測定の條件を設定した。チロシンの濃度にして大體 0 より 40mg% の範圍が測定可能である。これを酵素反應濾液に利用する場合問題になる二、三の點に就いて検討し、そのまゝ充分に利用しうる事を認め、澱粉抽出液に就いて若干の測定を行つた。この際時間と生成物量との關係をプロットする時菌種により一分子反應類似の分解曲線をとるものの他に sigmoid 曲線にて表わされるもののある事を認めた。この點に就いては種々の點より更に検討を加えなければならない。

終りに臨み終始有益なる御助言と御鞭撻を頂いた原澤所長に深謝致します。

文 献

- 1) ANSON, M.L.: J.Gen. Physiol., 22, 79 (1938).
 - 2) NORTHROP, J.H., KUNITZ, H. and HERRIOT, R.M.: Crystalline Enzymes, 2nd. ed. Columbia Univ. Press, New York (1948).
 - 3) SCHWERS, G. W.: J. Biol. Chem. 174, 411 (1948).
 - 4) PINCKNEY, A.J.: Cereal Chem., 26, 6 (1949).
 - 5) 中野, 海老根: 農林省食糧研究所報告, 7, 155 (1952).
- (昭和28, 12, 14受理)

澱粉化工に関する研究 (第1報)

Thin boiling starch の調製とその物理的性質

加 戸 安 之・西 田 淳 三 良 (大阪大學工學部酸酵工學教室)

緒 論

紡績工業に於いて經糸, 仕上, 捺染用糊として使用されて居る澱粉及びその化工物の研究は、我國にては芳野氏¹⁾, 中村, 脇坂氏²⁾の報告があり、外國に於いても WILLARD, L.³⁾, WEIKER, W.G.⁴⁾, FETZER, W.R.⁵⁾, CAESAR, G.V.⁶⁾等諸氏の報文がある。然るに之れ等は粘性等の一部物性面に限定された感があり、且天然澱粉に關したものが多く様である。最近武富, 鈴木氏⁷⁾は鹽酸處理の可溶性澱粉に就いてその收率, アルカリ數, フェリシアナイド數等に就いて報告して居る。著者等も亦種々の澱粉化工品中米國にて Thin boiling Starch と稱稱されて居り需要が著しく多い天然澱粉と可溶性澱粉の中間に存在するものと考えらるゝものの、この調製條件と化工時の澱粉分解状態との關聯性を追求する目的で本實驗を行つた。

實 驗

使用原料: 使用した精製玉蜀黍澱粉(日本食品化工製品)の化學組成は次の如くである。

水分 (%)	炭水化物 (%)	粗蛋白 (%)	粗纖維 (%)	粗脂肪 (%)	灰分 (%)
14.16	83.62	0.67	Trace	1.46	0.11

試料 (Thin boiling Starch) の調製

無機酸添加に依る加温加水分解法として

0.1-N, 0.2-N, 0.3-N の鹽酸稀薄溶液で

22'Be' の玉蜀黍澱粉乳を作り密閉ガラス器

中にて10時間加温攪拌分解を行い, 2時間毎にその澱粉乳を採取, 炭酸ソーダで中和し, 鹽素イオンの完全に消失するまで充分に水洗後, 50°Cの熱風乾燥機で5時間乾燥した. 尚作用温度を50°C, 55°C, 60°Cと變化せしめた.

測定法

分解時間2時間毎に採取した各試料は實驗前更に再乾燥を施し乾量基準に基いて次の要領で分解状態を調べた.

1) 平均分子量の測定

澱粉の加水分解前後の還元基を3.5-デニトロサルチル酸にて比色定量して重合度を求める MEYER, K. H. et al⁸⁾の方法を Pulfich Photometer を用いた變法である. 即ち含水 maltose (試薬1級) の0.2~0.2mgに相當する標準曲線を作り, 澱粉試料の濃度決定後, 試料を 6N-NaOH にて均一に分散させ3.5-デニトロサルチル酸で反應發色せしめ, 一定量に稀釋しS-53の filter を使用して Pulfich Photometer (液層20mm) でその吸光係数を測り, 同一吸光係数を與える Maltose 溶液の濃度を標準曲線から知り, 次式にて重合度を求め分子量を推定した.

$$\text{重合度} = \frac{\text{多糖類濃度}}{\text{Maltose 濃度}} \times 2$$

2) アミロース様物質の含有率變化

加水分解途上種々變化すると思われるアミロース様物質及アミロペクチン様物質の含有率變化を McCREADY & HASSID 氏⁹⁾の沃度呈色度の差に基く比色定量法を前述同様 Pulfich Photometer で行つたもので, 試料を NaOH 添加下に均一に溶解した後微酸性に中和し, I₂-KI 稀薄溶液で呈色させ, その吸光係数をS-43の filter (液層20mm) で測定し, 豫め含有率既知の純アミロース, アミロペクチン混合液で求めた標準曲線の吸収係数より試料中のアミロース様物質の含有率變化を求めた. 尚標準曲線作製に用いたアミロースは阪大産研二國教授より分譲され, 又アミロペクチンは SCHUCH 氏¹⁰⁾のブタノール沈澱法及び PACSU 氏¹¹⁾の方法で調製した.

3) フェリシアナイド數 (F.N.)¹²⁾

澱粉分解尺度として屢々使用されて居るこのF.N.は還元力を有する澱粉をアルカリ性溶液中に於いて赤血鹽を還元せしめ, 還元された Fe⁺⁺ は沃度にて再び酸化し, 殘存せる沃度をチオ硫酸ソーダで滴定するもので次式よりF.N.を求めた.

$$\text{F.N.} = \frac{(\text{對照の滴定値cc} - \text{試料の滴定値cc}) \times \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ の規定度}}{\text{試料の乾物量(g)} \times 0.1}$$

4) 澱粉糊液の粘度並びに浸透性

澱粉糊液の調製

500mgの試料を50ccの蒸留水に懸濁し正確に5分間沸騰水浴中でガラス管の還流冷却下に加熱し, 加熱終了後は直ちに流水で急冷したものを次の二つの實驗に供した.

粘度

上記1%澱粉糊液を温度25°Cの水槽中でオストワルド氏粘度計で常法の如く相對粘度を測定し比粘度を求めた.

浸透性

芳野氏¹⁾の行つた濾紙の毛管上昇法を利用したもので, 濾紙上の糊液上昇距離を以つて浸透力とした. 即ち東洋濾紙No.2を巾1cm長さ20cmのテープ状に切斷したものの下端にクリップを附し, その1cmを豫め25°Cに保溫した1%糊液中に30分間浸した後, 濾紙を加熱乾燥し, I₂-KI 稀薄溶液を噴霧呈色して青紫色を表わす部分の上昇距離を測定した.

結 果

以上の實驗結果を同一鹽酸濃度を基にして, 平均分子量, アミロース様物質の含有率, 及び糊液の粘度の變化状態を處理時間に對して縦軸に取れば, Fig.1, Fig.2, Fig.3の如くで又フェリシアナイド數, 糊液の浸透力等の結果は, Table 1 の通りである.

(100)

(加戸, 西田) 澱粉化工に関する研究 (第1報)

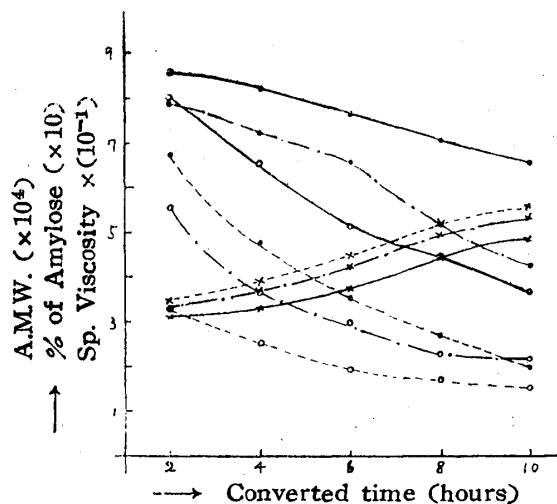


Fig. 1. Average Molecular weights, percent contents of Amylose type Substances and Sp. Viscosities of 1% starch pastes —Converted times relationship for 0.1N-HCl converted Thin boiling Starches.

●: A.M.W.
○: Sp. Viscosity
×: % of Amylose type Sub.
—: converted at 50°C
---: converted at 55°C
.....: converted at 60°C

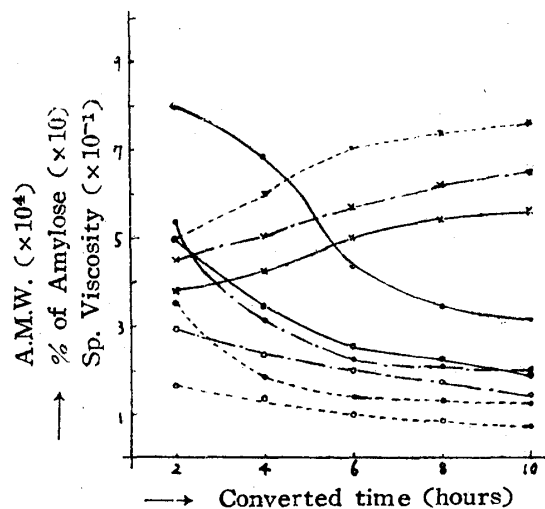


Fig. 2. Average Molecular weights, percent contents of Amylose type Substances and Sp. Viscosities of 1% starch pastes —Converted times relationship for 0.2N-HCl converted Thin boiling Starches.

●: A.M.W.
○: Sp. Viscosity
×: Content of Amslose type Sub.
—: converted at 50°C
---: converted at 55°C
.....: converted at 60°C

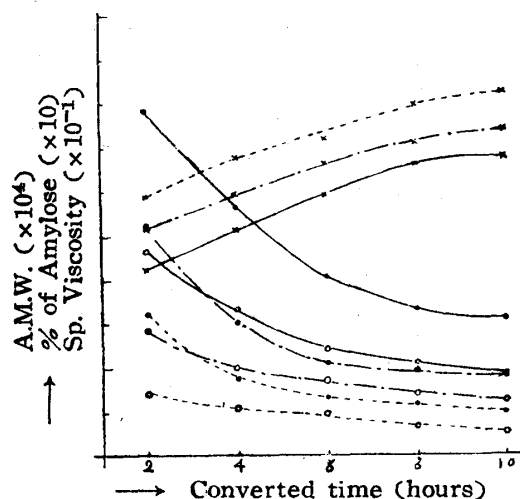


Fig. 3. Average molecular weights, percent contents of Amylose type substances and Sp. Viscosities of 1% starch past —Converted times relationship for 0.3N-HCl converted Thin boiling starches.

●: A.M.W.
○: Sp. Viscosity
×: % content of Amylose type sub.
—: converted at 50°C
---: converted at 55°C
.....: converted at 60°C

Table 1 Results of Ferricyanid number (F.N.) and Permeability

Conc of HCl	temp	Converted time (hours)	2	4	6	8	10
0.1-N	50°C	F.N.	1.13	1.23	1.53	1.70	1.92
		Permenbility(mm)	58.1	59.0	60.5	62.5	64.8
	55°C	F.N.	1.33	1.53	2.13	2.61	3.13
		Permeability(mm)	60.0	62.3	65.1	67.4	69.9
	60°C	F.N.	1.70	2.16	3.01	4.61	5.41
		Permeability(mm)	61.8	67.1	72.8	77.8	80.2
0.2-N	50°C	F.N.	1.28	1.37	2.02	2.71	2.99
		Permeability(mm)	59.5	62.3	69.2	72.0	74.8
	55°C	F.N.	1.85	2.20	3.08	3.71	4.31
		Permeability(mm)	66.3	74.8	78.2	79.8	82.0
	60°C	F.N.	2.30	3.20	4.95	6.60	7.81
		Permeability(mm)	72.4	81.6	84.8	86.5	88.2
0.3-N	50°C	F.N.	1.32	1.65	2.43	3.07	3.52
		Permeability(mm)	61.5	65.9	72.0	74.2	75.6
	55°C	F.N.	2.33	2.77	3.76	4.66	5.63
		Permeability(mm)	67.8	76.4	80.1	80.6	81.1
	60°C	F.N.	2.87	4.06	6.48	8.51	9.99
		Permeability(mm)	76.2	83.5	85.9	89.2	92.1

考 察

斯様な結果を與えた此の實驗から次の如き一般的考察が出来る。

1) 濃度の影響 Thin boiling starch の調製に殆んど0.1-N, 0.2-Nの鹽酸が使用されて居るが, この事實は各曲線から理解出来る如く澱粉粒子の分解状態は0.1-N, 0.2-N鹽酸處理の場合に著しい相違が見られ, これに反し0.2-N, 0.3-N鹽酸處理の場合は同一温度に於いてその傾向, 數値に殆んど變化がなく従つて0.3-N鹽酸までの必要はない。

2) 温度の影響 濃度よりも一層大きい影響を與えるもので本糊料調製上最大の要因となる事が知られる。グラフ上に圖示した如く0.1-Nの50°C, 55°Cでは分解は直線に等しい様な曲線を示すが, 60°C及び0.2-N, 0.3-N鹽酸處理に於ける各濃度の影響は分解初期に大きく双曲線狀の経過を示す。特にこの場合の50°C~55°Cの温度差の方が55°C~60°Cよりも粘度及び平均分子量の變化に大きな差を生ぜしめ, 直鎖狀物質の含有率變化には小さい影響を與え, 更に又0.1-N濃度の場合と全く對照的である事は興味ある事で, 後述する澱粉分解機構を推察せしめ且この温度の重要性に興味を抱くものである。

3) 時間の影響 之は6時間以後の處理は不必要である事が云われ, 澱粉粒はその時間的初期に殆んどが可能範囲まで分解されるものである。

總じて Thin boiling Starch の調製はその條件の低温度, 低濃度處理の初期の間は澱粉粒子の分解は比較的緩やかであるが, この曲線は條件の變化と共に急傾斜な曲線となり, 或一定の分解後は再び緩慢となる。前者の反應傾向は適用條件の不充分的故と解されるが, 後者の場合は1942年 KERR, R.W. 氏¹³⁾の報告せる論文に似通つたものを見ることが出来る。彼は酸添加化工澱粉の調製に於いて澱粉分子中に存在する1~6結合は直鎖を構成する1~4結合よりも酸に對し不安定であると述べて居る。著者等の一連の實驗でも或條件下にて澱粉の平均分子量, 粘度が急激に減少しその反面アミロース様物質の含有率が增加する傾向 (KERR氏は酸處理後ブタノール沈澱物の増加を認めて居る) は一應彼の論を支持するものと思えるのである。

MEYER 氏の澱粉構造論からすれば1~6結合に依つて側鎖を作り, 各方面に伸長したアミロペクチンと1~4結合のみで構成されたアミロースに依り複雑なミセルを形成して出來た澱粉の1~6結合がその粘度を起因するものならば, 酸處理にて僅かでも1~6結合が切斷された場合に粘度の著しい低下は必然的で, 且そのために生ずる還元力がこれを主體とした平均分子量の減小に天然澱粉と比した時その差が大なる事は當然である。同時に直鎖狀物質の増加の傾向はこの推察に今一つの資料を供するものである。

この様な初期に行われる開裂反應も或限度以後は逆に1~4結合が主として開裂されるものと思われ, 粘度の低下が殆んど惹起されず, 又平均分子量の減小も僅かなる事は開裂反應の停止を考えさせるが, 依然として直鎖狀物質の増加して居る事はこの反應がミセルの中心部を侵さず寧ろ末端の結合を切斷し, 切斷された分子は調製の際水洗除去されるため, 還元力の増加も差程なく, 全體として直鎖狀物質の増加が考えられるのである。

併し乍ら1948年 SWANSON, M.A. 氏¹⁴⁾は多糖類の鹽酸加水分解に關し詳細な研究を行い, アミロース, アミロペクチンの分解に差異を認めず, この場合の1~4結合, 1~6結合は酸に對して全く同一機會で開裂を受けると報告して居る。これは KERR 氏及び著者等の實驗と矛盾する。この相違は結局適用條件特に温度に依るものではないかと思われるもこの點今後の研究に俟ちたい。

要 約

玉蜀黍澱粉を用いて Thin boiling starch の調製を行い, その條件たる0.1-N, 0.2-N, 0.3-N鹽酸及び50°C, 55°C, 60°Cの處理温度と之れに依る澱粉粒子の分解状態との關聯性を次の方法で追求した。

- 1) 3.5-デニトロサルチル酸の比色定量に依る平均分子量の變化
- 2) 沃度呈色度の差に基くアミロース様物質の含有率の變化
- 3) フェリシアナイド數の變化
- 4) 1%澱粉糊液の比粘度, 浸透力の變化

而して之れ等を基にして一考察を行い, 0.3-N鹽酸の使用及び6時間以上の處理の不必要を知り, 且本澱粉調製に温度の影響の大きい事を認めた。

終りに臨み終始御指導を戴いた寺本先生, アミロースの御便宜を賜つた阪大産研二國教授並びに澱粉を提供された日本食品化工株式會社に深謝致します。

(102)

(小田, 高田, 小川) 麹菌の變異に関する研究 (第5報)

(昭和28年4月京都に於ける日本化学會第6年會にて一部發表した。)

文 献

- 1) 芳野: 東京工試報, **22**, 29 (昭2). 2) 中村, 脇坂: 本誌, **15**, 817, 987 (昭12). 3) WILARD, L.,: Ind. Eng. Chem., **25**, 233 (1943). 4) BECKER, W.G. et al.,: J. Colloid. Sci., **4**, 265 (1949). 5) FETZER, W.R. et al.,: Anal. Chem. **24**, 1129 (1952). 6) CAESAR, G.V. et al.,: J. Amer. Chem. Soc., **69**, 617 (1947). 7) 武富, 鈴木: 工化, **54**, 646 (1951). 8) MEYER, K.H. et al.,: J. phys. Colloid. **53**, 319 (1949). 9) McCREADY, R.M. et al.,: J. Amer. Chem. Soc., **65**, 1154 (1943). 10) SCHOCH, T.J.,: J. Amer. Chem. Soc., **64**, 2957 (1942). 11) PACSU, E. et al.,: J. Amer. Chem. Soc., **63**, 1168 (1941). 12) KERR, R.W.: Chem. & Ind. of Starch. 2nd Ed. P. 680. 13) Ibid. P. 347, Paper, trade. J., **115**, 30 (1942). 14) SWANSON, M.A. et al.,: J. Biol. Chem. **172**, 797 (1948).

(昭和28, 12, 4 受理)

麹菌の變異に関する研究 (第5報) B. 自然變異について (1)

小田 雅夫・高田 信男・小川 欽市 (大阪大學工學部醸酵工學教室)

菌類保存の爲に累代培養を續けて居る間に自然に變異する場合があります, 此事は菌類の研究上或は菌類を應用する醸酵工業上當面する困難な問題であり, なるべく變異の起ることなく保存出来ることが望ましいことは論を俟たないことである。而して現在一般に菌類の保存には夫々の菌種に適する寒天培養基を用いて斜面培養する(嫌氣性菌の場合には穿刺培養することあるは勿論である)のが最も普通の方法である。尤も酵母菌の如きは此種固形培地よりも液體培地の方が好適であるとも云われて居る¹⁾²⁾。又特殊な方法として孢子を形成する細菌や糸狀菌の孢子を砂に混じ乾燥せしめて後密封して保存する乾燥法は變異が比較的少く且つ長期間の保存に堪えるので從來から用いられ, 又最近凍結乾燥法 (Lyophilic process)³⁻⁶⁾ が良好な成績を示すのでかなり廣く應用せられるに至つて居る。尚其他に寒天斜面培養の表面を流動パラフィンの層で覆うて保存する方法が試みられ好結果が得られたと報ぜられて居る⁷⁻¹¹⁾。然し是等の方法は操作が多少煩瑣であるので限られた或特別な菌株には應用出来るが多數の菌類標本株の保存に——此法を實施することは困難な憾がある。而して寒天培地培養に於て變異を起す原因には種々考えられるが培地の組成の欠陥が其1つとして考えられる。

我々は我國で應用範圍の廣い *Asp. oryzae* を對象とし此様な變異の原因を探索し, 一面又好適培地選定の目標を得る爲に先ず從來から用いられて居る寒天培地と其に多少他物を添加したもの並びに穀類其儘の固形培養基等を用いて累代培養を試み此問題について検討した。

I 實 験

(1) 供試菌

研究室に於て市販の各種の種麹その他より分離して集めた中から次の5株を選んだ。菌株名は何れも假稱である。

1-a, 2-a, U-長, U-短, 第2號菌

(2) 培養基

本研究には次の培養基を用いた。

麹汁 (12°Bg.) 寒天, 麥芽汁 (12°Bg.) 寒天, 玉蜀黍抽出液*10%添加麹汁寒天, 玉蜀黍抽出液10%添加麥芽汁寒天, 米, 麩, 脱脂大豆, 麩と脱脂大豆を7:3の比に混合したもの (以下麩+脱脂大豆と略記する)。

(3) 實驗方法

先記の5菌株を前記8種の培養基に接種して37°Cに培養して15日毎に新しい培養基に累代培養した。尚6次培養からはこれらの培養基を順次轉換して植繼いで行く培養基轉換累代培養も併せて行つた。移植後4日目と10日

* 玉蜀黍抽出液は玉蜀黍粉末50gに250ccのN/100 HClを加え40°Cで3時間抽出後濾過し, 濾液をNaOHにて中和して調製した。