

氏名(本籍)	いま い やす ひこ 今 井 泰 彦 (千葉県)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 乙 第 1,064 号		
学位授与年月日	平成 7 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
審査研究科	農 学 研 究 科		
学位論文題目	麹菌の高濃度培養によるアミラーゼ生産に関する研究		
主 査	筑波大学教授	工学博士	片 岡 廣
副 査	筑波大学教授	農学博士	日下部 功
副 査	筑波大学教授	工学博士	田 中 秀 夫
副 査	筑波大学教授	工学博士	松 村 正 利
副 査	筑波大学教授	農学博士	上 田 堯 夫

論 文 の 要 旨

本研究は、麹菌の高濃度培養によりアミラーゼを大量に生産し、白醤油様調味液の生産に用いるための装置およびプロセスの開発を目的としている。論文は 8 章で構成されており、第 1 章では本研究の背景と目的を、第 2 章では関連する研究の現状を述べた。

第 3 章では、グルコアミラーゼ活性の測定法に関し、酵素反応のための基質と、反応生成物であるグルコースを定量する酵素類および発色剤を、すべて混合して用いる簡便な測定法を開発した。次に α -アミラーゼ活性の測定法に関し、現在臨床診断の分野で用いられている合成基質 (G5-CNP) を使用した簡便な測定方法を、培養液中の α -アミラーゼ活性測定に適用できることを示した。さらに、これらの測定法のうちグルコアミラーゼ活性の新規測定法を用いて、オンライン酵素活性測定システムを構築し、実際の培養に適用できることを示した。

第 4 章では、麹菌の液体培養によるアミラーゼ生産のための基礎的な知見を得るために、マルトースを炭素源として回分培養および流加培養をラボラトリースケール (全容 3 l) にて実施した。その結果、培養液中の残存グルコースがアミラーゼ生産を抑制するため、これを低く抑えることのできるマルトースの流加培養が有効であることを見出した。流加培養では回分培養と比較してグルコアミラーゼは約 3 倍、 α -アミラーゼは約 1.7 倍の生産量となった。さらにグルコースの比消費速度 δ がグルコアミラーゼの比生産速度 ρ に関係していることを見出し、 δ がグルコアミラーゼ生産のための指標となることを示した。

第 5 章では、麹菌の液体培養に適した形状を有する内筒回転型培養槽を新たに開発した。この培養

装置は槽内にヘリカル状の突起を装着した内筒を有し、この内筒を回転させることで高粘度となる培養液でも十分に攪拌混合ができるようにした。実際の培養液を用いて、通常のタービン翼を装着した培養槽と混合時間を比較したところ、高菌体濃度の場合、内筒回転型培養槽ではタービン翼を装着した場合の半分の時間で混合することができた。そこで全容70 l のパイロットスケールの内筒回転型培養槽を作製し、麴菌の流加培養を行った。その結果、菌体濃度は通常の通気攪拌槽の約2倍の30g/l に、グルコアミラーゼ生産量は同じく約2.5倍の1.28U/ml、 α -アミラーゼ生産量は約1.8倍の138U/ml に達した。

第6章では、流加培養によるグルコアミラーゼ生産を最適化するために、マルトースの流加速度を制御してグルコースの比消費速度 δ を最適に維持する流加培養を実施した。培養では、培養期間を菌体増殖期、酵素生産期に分けてそれぞれに敵した流加方法を用いた。さらに培養条件の最適化のために、統計的方法による回帰分析モデルを用いて、グルコアミラーゼ生産が最大となるような流加パターンを探索した。そして δ を最適に維持しながら回帰分析モデルで得られた最適な流加パターンに従って流加培養を行い、一定の流加速度で培養した場合とグルコアミラーゼ生産量を比較した。その結果、一定速度で流加した場合は0.653U/mlであったのに対し、流加速度を制御した場合は0.875U/mlに達し、制御方法の有効性が示された。

第7章では、これらの研究の応用として、アミラーゼが高濃度に生産された培養液を酵素源とした、白醤油様調味液のパイロットスケールでの試験製造システムを作製した。原料として小麦、大豆、食塩水を用い、ここに麴菌の液体培養液を加えて仕込み液量80 l で試験醸した。得られた調味液をJAS規格に従って分析したところ、白醤油上級に相当する成分を有しており、本システムで製造した調味液は、白醤油様調味液として利用できることが確認された。第8章では本研究の総括を述べた。

審 査 の 要 旨

白醤油は新しい調味液として注目されているが、製造法が規定されているためコストの低減が困難となっている。この対策として、白醤油とほぼ同等の品質を持つ白醤油様調味液を大量安価に製造するために必要な一連の研究が行われた。

本研究で得られた成果は以下のように要約される。1) 酵素(グルコアミラーゼおよび α -アミラーゼ)の新しい分析方法を提出し、培養槽内の糖化酵素濃度のオンライン測定を可能にした。2) 小型ジャーファーメンタを用いて最適な培養条件を求め、グルコースによるアミラーゼ生産阻害をなくすため炭素源としてマルトースが敵していることを見出した。3) 大量培養を可能にするため、ヘリカル状の突起によって培養液の循環を計った内筒回転型培養槽を開発して麴菌の培養を行った結果、菌体濃度および酵素濃度を大幅に増加させることができた。4) グルコアミラーゼ生産を最適に保つため、回帰分析モデルを導入してマルトースを制御した流加培養法を提案し、その有効性を実証した。5) 上記の方法を応用して白醤油様調味液の試験製造を行い、JAS規格に従って分析した結果、白醤油上級に相当する品質であることを明らかにした。

以上のように、本研究は今後の需要が見込まれる白醤油様調味液として用いる麹菌のアミラーゼを大量に製造するための新規な培養槽と新しい制御方法を導入した生産プロセスを開発し、その有用性を実証しており、高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。