[J. Appl. Glycosci., Vol. 47, No. 2, p. 227-234 (2000)]

糖質関連酵素化学シンポジウム

糖質酵素の現状と将来*

田治 襄

ナガセ生化学工業株式会社 (620-0853 福知山市長田野町 1-52)

Enzymes for Sugar Industry, the Present and the Future*

Noboru Taji

Nagase Biochemicals, Ltd. (1-52, Osadano-cho, Fukuchiyama 620-0853, Japan)

Being engaged in the enzyme industry, we should know the enzymes which are of interest to the sugar industry. The following three matters, which have been of interest for the past two decades, are described in this paper. 1) Starch liquefaction: Two-step liquefaction was applied in the past, and then a thermostable α -amylase was developed. This enzyme made it possible to perform more efficient liquefaction using a jet-cooker. Further improvement, such as a new liquefying α -amylase used under acidic conditions, is desired. 2) Starch saccharification: At first, a glucoamylase from *Rhizopus* was used for starch saccharification, and then an economical glucoamylase from *Aspergillus niger* was developed and gained popularity in use. Finally, improvements such as the removal of transglucosidase and addition of pullulanase were developed and have contributed to high yields of glucose production. Further improvement is required. 3) Conversion of glucose into fructose: At first, batch conversion was performed with intact cells. Development of an immobilized enzyme made it possible to perform continuous conversion. Further improvements, such as a new enzyme which converts to fructose over 50%, and works at acidic condition, are required.

1973 年酵素の研究者、酵素利用の研究者に対して今後どんなアミラーゼに関心をもたれているかアンケートが実施された¹⁾。これによれば、生澱粉を分解するアミラーゼ、不溶性アミラーゼ、 α -1,6 結合を切る β -アミラーゼの順で、ついで耐熱性アミラーゼ、オリゴ糖をつくるアミラーゼと続いた。しかし糖業界では 1971 年に上市されたグルコースイソメラーゼによる異性化糖が大きな商品に育ち、これを効率よく作る研究が中心になった。

ここ 20 年間業界で特に関心のあったことは

- 1) 澱粉 (特にコーンスターチ) をなるべく簡単に液化する方法
 - 2) 澱粉からなるべく多くのブドウ糖を作る方法
 - 3) ブドウ糖から効率良くフラクトースにする方法
- でこれらに必要な酵素の研究が行われ発表された。こ

れ以外にも固定化グルコアミラーゼ、生澱粉分解アミラーゼの研究がなされたが、実用化には至らなかった。また種々の糖類、例えばマルトース、サイクロデキストリン、カップリングシュガー、分岐マルトデキストリン、イソマルトオリゴ糖、トレハロース等を生成する酵素の研究が行われ実用化されている。今回は 1)、2)、3) を中心にその歴史、実情、将来について述べてみたい。

1. コーンスターチの液化

当時コーンスターチは 2 段液化法²⁾と呼ばれる方法で液化が行われていた。酵素は *Bacillus subtilis* または *B. amyloliquefaciens* の α -アミラーゼが用いられていた。澱粉をまず 90-92°C で液化し、液化液を 120°C に加熱した後、95°C に冷却して再び α -アミラーゼを添加する方法である。しかしこの方法は操作がやや煩雑であったため、さらに簡単な液化法の開発が待たれていた。このためにさらに耐熱性の高い α -アミラーゼが必要であった。そこで登場したのが *B. subtilis* MN-385 や

* "Proceeding of the Symposium on Amylases and Related Enzymes, 1999."

図 1. ジェットクッカーによる澱粉の液化法

B. licheniformis の α -アミラーゼで、従来の α -アミラーゼに比べて耐熱性が 5–10°C 高く、基質存在下では 105°C でも十分作用する優れたものであった。この酵素を用いた澱粉液化法も発表された。代表的なものは、澱粉を 95°C で液化し、これを 120°C に加熱する方法³⁾、ジェットクッカーを用いて、澱粉を 105°C で 2–3 分間処理後 90–95°C で 1 時間保持する方法⁴⁾である。特に後者はその簡便さのため、多くの澱粉加工メーカーで採用されるに至った。その方法は図 1 に示した。

2. 澱粉の糖化

1961 年頃から実施されたグルコアミラーゼによる澱粉からブドウ糖の製造法の開発は業界に大きな貢献をし、*Rhizopus*, *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Endomycopsis* 等のグルコアミラーゼが研究された。辻阪は *Rhizopus delemar* と *A. niger* のグルコアミラーゼを結晶化しその性質を調べた⁵⁾。業界では当初 *Rhizopus* のグルコアミラーゼが使用されていたが、その後 1971 年頃から *A. niger* のグルコアミラーゼも検討されるに至った。その違いは表 1 に示したとおりである。

表 1. 2 種のグルコアミラーゼ比較

	<i>Rhizopus</i>	<i>A. niger</i>
作用 pH	5.0–5.5	4.0–4.5
作用温度 (°C)	55	60 *微生物汚染少ない
ブドウ糖収量 (%)	95.0	・ 93.5–94.0 ・ 逆合成強い *トランスグルコシダーゼ混在
価格	<i>A. niger</i> に比べ高い <i>Rhizopus</i> に比べ安い	

A. niger のグルコアミラーゼの方が、ブドウ糖収量は低い欠点があるにもかかわらず、価格が安いという大きなメリットがあったため業界としてはこの酵素を使用したい要望はきわめて強かった。

ブドウ糖の収量の悪い理由としては、

- 1) 副成するトランスグルコシダーゼの影響
- 2) 逆合成反応

がありこれを改良することに精力が傾注された。

1) トランスグルコシダーゼの影響

トランスグルコシダーゼについても *A. niger* について辻阪の詳細な研究⁹⁾がある。澱粉をトランスグルコシダーゼの存在したグルコアミラーゼで糖化すると、その基質濃度が 30% 以上と高いために、転移反応が起こりイソマルトース等のオリゴ糖が生成しブドウ糖の収量が悪くなる^{5,6)}。このためにトランスグルコシダーゼを *A. niger* 培養液から除去する方法が検討された。Clay Mineral で吸着させる方法⁶⁾、イオン交換樹脂で処理する方法⁷⁾が示された。表 2 に各種 Clay Mineral で処理した *A. niger* 培養液での糖化実験結果を示した。

2) 逆合成反応の軽減

糖化酵素自体のもっている逆合成反応を軽減するために、枝切り酵素 (α -1,6 グルコシターゼ、プルラーゼ、イソアミラーゼ) を糖化時グルコアミラーゼに共存させることにより、ブドウ糖収量を高める方法が開発された^{8–10)}。表 3 はその結果を示したものである。

しかしこれらの枝切り酵素は作用 pH が高かったり (5.5–6.0)、作用温度が低かったり (50–55°C) で実用化には問題があった。そこでこれらの問題を解決する pH (4.0–4.5)、温度 (60°C) で作用する枝切り酵素が

表 2. ブドウ糖の生成に及ぼすトランスグルコシダーゼの影響

1. 35% コーンスターチ液化液にグルコアミラーゼ (GA) を一定量添加した。その後トランスグルコシダーゼ (TG) の酵素力価を変えて加え、pH4.5, 60°C で 70 時間糖化した結果を以下の表に示す。生成ブドウ糖量はTG/GA比が大きくなほど低くなる。

TG/GA 比	0.222	0.166	0.125	0.068	0.042
ブドウ糖(%)	83.5	85.6	88.5	90.3	93.2

2. *A. niger* 培養液を各種「Clay」でトランスグルコシダーゼを吸着させた後、この酵素液で糖化し、ブドウ糖量を測定した。

Clay mineral used (%)	ブドウ糖量 (%)			
	Volcay bentonite	Attapul gus clay	Frorex XXF	Panther crrek
0.0	86.5	86.5	86.5	86.5
0.2	88.5			
0.5	93.0			
1.0	93.1	92.1	91.6	89.1
2.0	93.3	92.0	93.6	93.6
5.0	94.0	93.3	93.0	93.3

(CPC 1960)

求められ、*B. acidopulluliticus*¹¹⁾, *B. sectorramus*¹²⁾, *B. circulans*^{13,14)}等の酵素が開発された。

3) マルチュロース

澱粉を液化するとき、pH を 6.0 以上、温度 95°C 以上で行うと、澱粉の還元性末端がフラクトースに異性化し、グルコアミラーゼで糖化するとマルチュロースが生成する¹⁵⁾。図 2 にこの模式図を示した。またマル

表 3. ブドウ糖生成に及ぼす枝切り酵素の効果

GAm (U/g)	α -1,6G (U/g)	pH	温度 (°C)	ブドウ糖収量 (%)
11	0.0	5.9	55	89.1
11	2.0	6.0	55	97.3
11	4.0	6.1	55	95.8
11	0.0	5.4	50	93.0
11	1.0	5.5	50	96.1
11	2.0	5.5	50	96.7
11	4.0	5.5	50	96.1

コーンスターチを α -アミラーゼで液化 DS30%, 糖化時間 72 時間, 酵素グルコアミラーゼ (GAm), α -1,6 グルコシダーゼ (α -1,6G) の混合系で糖化。

(A.E. Staley 1973)

チュロース生成に及ぼす液化時の pH と温度の影響を図 3 に示した。

現在の糖化条件は Clay 等でトランスグルコシダーゼを除去したグルコアミラーゼとプルラーゼ等の枝切り酵素を併用して行う。pH は 4.0-4.5, 温度は 60°C, 時間は 24-70 時間である。その結果ブドウ糖 95.5-96.0% の糖化液が得られている。枝切り酵素を添加しない場合と比較して、1-2% ブドウ糖の生成が増加している。

グルコースイソメラーゼによる 異性化糖の製造

1. 菌体酵素 (バッチ法)

1971 年上市されたグルコースイソメラーゼによる異性化糖の生産は順調な伸びを示し 1997 年には 80 万

図 2. マルチュロース生成に及ぼす温度と pH の影響

連続異性化法

図3. 固定化グルコースイソメラーゼによるフラクトースの製造

トンになった。上市当時の酵素剤は放線菌の菌体を凍結したものを使用されていた。異性化法はいわゆるバッチ法で、45-50%のブドウ糖液に放線菌の菌体を添加し温度 65°C で、pH を 7.0-7.5 に常時調整しながら反応させる。48-72 時間後にフラクトース 42% 含有した異性化糖液が得られる。グルコースイソメラーゼの研究は非常に多くあり、その優れた総説がある^{16,17)}。当時国内では *Streptomyces rubiginosus* や *S. phaeochromogenes* が使用されていた。

2. 固定化酵素（連続法）

バッチ法は異性化工程の pH が高く糖液の褐変が著しく、またサイコースのような糖が副成した。また反応中 pH が低下するので常時 pH 調整が必要で煩雑であると同時に、糖液の精製コストアップとなった。これらの欠点を改良したのが固定化グルコースイソメラーゼである。異性化法の簡単な模式図を図 4 に示した。固定化酵素の研究もきわめて多くありその総説がある^{18,19)}。製品の改良はもちろんのこと基質の改良も行われた。基質の精製度は上げる方が好ましく、また Fe イオンや亜硫酸ソーダのような還元剤を添加する方法等が検討された²⁰⁻²³⁾。実際には亜硫酸ソーダを糖液に 30-50 ppm 添加し、異性化を行っている。双方相俟って異性化コストは大幅に安くなり、菌体酵素に比べて 1 kg のブドウ糖を異性化するに要する酵素代は約 1/10 に削減され、1 円以下になった。1980 年頃

*(G:グルコアミラーゼ U/gDS , P:フルラーゼ U/gDS , Dx:ブドウ糖含量)

図 4. 固定化グルコアミラーゼによる澱粉の糖化

表 4. 生澱粉分解酵素による澱粉分解特性

糖化酵素 単位/gDS	α -アミラーゼ 単位/gDS	澱粉分解 率(%)			分解液中のブドウ糖量(%)		
		糖化時間(h)			糖化時間(h)		
		18	42	62	18	42	62
生澱粉	15	3	43	48	54	92.7	93.4
	30	6	57	65	65	95.5	95.4
	75	15	69	67	79	95.6	95.1
	150	30	82	79	95	83.2	91.0
	300	60	94	92	94	89.2	86.7
	600	120	96	98	96	85.3	83.3
液化澱粉	12					93.8	94.4

コーンスターチ 30%, pH 5.5, 温度 60°C. 使用酵素: フミコーラ (グルコアミラーゼ剤)

からクロマト分離によるハイフラクトース (F55% F 95%) の需要が大となり, さらに糖化時のブドウ糖収量を高くする必要が生じてきた.

3. 生澱粉分解酵素

澱粉を高温で液化した後, 糖化することなく, 常温で生澱粉から直接ブドウ糖にできれば, きわめて工程も簡単でかつ省エネルギーも可能である. この酵素の研究はきわめて古く 1951 年には黒麹菌の, 1957 年には *A. awamori*²⁴⁾ の酵素が発表された. その後 *Rhizopus*²⁵⁾, *Streptococcus bovis*²⁶⁾, *Chalara paradoxa*²⁷⁾, *Corticium rolsii*²⁸⁾, *Aspergillus* K-27²⁹⁾, *Humicola*³⁰⁾, *Penicillium lanosum*³¹⁾, *B. circulans* F-2³²⁾, *Bacillus* sp.³³⁾, *A. ficum*³⁴⁾, *Clostridium butylicum* T-7³⁵⁾, *B. polymyxa*³⁶⁾, *B. stearothermophilus*³⁷⁾, *Cryptococcus* sp. S-2³⁸⁾ 等多数の研究がある. しかしブドウ糖製造を目的に基質澱粉を高濃度でこれら酵素を作用させた例は少なく, かつ好

ラフィネート				
グルコース	フラクトース	マルトース	イソマルトース	≥DP3
86.8	4.6	4.9	1.6	2.1

固定化グルコアミラーゼ (<i>A.niger</i>)	
ゼラチン+グルタルアルデヒド法	
DS 20%, pH4.5, Temp 50°C, F/W 20

糖化液				
グルコース	フラクトース	マルトース	イソマルトース	≥DP3
92.2	4.6	1.1	1.6	0.5

図 5. 固定化グルコアミラーゼによるラフィネートの分解

結果は得られなかった. 表 4 には *Humicola* の酵素を用いた糖化試験結果を示した. すなわち生澱粉を完全に分解するには, 液化澱粉に比べ 50 倍以上の酵素単位が必要である. しかし当然転移反応のためブドウ糖収量は著しく悪くなる. 現在までの研究では澱粉の糖化の目的に適した酵素はまだ発見されていない. しかしアルコール発酵への応用には好成績をおさめている^{39,40)}.

4. 固定化グルコアミラーゼ

酵素を固定化して使用することは, グルコースイソ

図 6. 固定化グルコアミラーゼの熱安定性

図 7. フラクトース製造法—現状と将来

メラゼで大成功を収めた。次のターゲットはグルコアミラーゼでありこれも多くの研究がされた⁴¹⁻⁴³⁾。しかし澱粉の液化液を固定化グルコアミラーゼのカラムを通過させるとき、基質の液化液が濁っている上、粘度が高くカラムで目詰まりする危険性もあり、また、ブドウ糖収量が悪い等の欠点があるため、改良の検討がなされた。その1例は澱粉の液化液をグルコアミラーゼとプルラナーゼで糖化し DE65 程度の予備糖化液を調製しカラムに供した。その結果は図5に示した。しかし現実には酵素の耐熱性が低く寿命が短い点、またパッチ方に比べて価格面でメリットがなかったため実用化には至らなかった。固定化グルコアミラーゼが現場テストされた例は、ラフィネートの分解である⁴⁴⁾。図6はその結果である。これも酵素の耐熱性の問題で実用化には至らなかった。図7に温度安定性を示した。すなわち 60°C では半減期 200 時間であり、55°C でも 600 時間程度である。

今後の方向

ブドウ糖、フラクトースを製造するにあたって今後期待される酵素は図8にまとめた。

1. 酸性 α -アミラーゼ

この酵素の実用化が期待される理由は、コーンスターチの pH が 4.5 付近であるので pH 調整せずに液化できれば、精製コストを低減できることと、マル

表 5. KOD アミラーゼによる澱粉の液化

対 象	項 目	<i>Bacillus</i> アミラーゼ	KOD アミラーゼ
液化液 (60 分保持)	pH	5.8	4.5
	DE	12.3	14.1
	G1	0.5	0.5
	G2	3.2	5.4
	G3	5.7	5.1
糖化条件			
Amylux plus 0.1% 対 DS		pH4.5 60°C	48h
糖化液	ブドウ糖(%)	95.7	95.5
	濾過性	40 mL	41 mL
	濁度	Clear	Clear
	ヨード呈色	—	—

表 6. *B. licheniformis* α -アミラーゼのアミノ酸置換体による澱粉の液化

α -アミラーゼ	液化時の pH	液化後の DE
Wild Type	5.9	9.30
M15L		11.30
Wild Type	5.5	3.25
M15L		6.70
Wild Type	5.2	0.70
M15L		3.65

チュロースの生成を防げるためである。この酵素の開発のために

- (1) この性質をもつ α -アミラーゼを産生する菌をスクリーニングする。
- (2) 従来の耐熱性 α -アミラーゼを蛋白工学的に機能変換する。

の手段が考えられる。

まずスクリーニング法では種々の超好熱菌が見つけられている⁴⁵⁻⁴⁷⁾。

その一例である KOD-1 の結果を示した。pH 4.5 の 30% 基質存在下で 105°C, 10 分間で 75% の残存活性を示した。またジェットクッカーを用いた液化テストも実施した。対照として *B. licheniformis* の α -アミラーゼを用い pH 6.0 で 105°C で液化した。KOD-1 酵素は pH 4.5 で液化した。その後常法通り糖化した。結果は表 5 に示した。pH 4.5 でも十分液化でき、ブドウ糖生成量もほぼ同等であることが認められた。蛋白工学法では *B. licheniformis* の 7 個のメチオニン残基を他のアミノ酸に置換することで耐酸性を増すことが認められた⁴⁸⁾。N 末端から 15 番目のメチオニンをロイシンに置換した変異体の液化能を表 6 に示した。この方法はさらに研究が進むと思われる。

2. ブドウ糖の収量アップ

グルコアミラーゼとプルラナーゼの混合系での澱粉の糖化はほぼ完成された感はあるがさらに 97% 以上のブドウ糖の生成が要望されている。このためにたとえばイソアミラーゼとの併用、ムタロターゼの応用⁴⁹⁾があるが今後の課題である。

3. フラクトースの生成

現グルコースイソメラーゼは可逆反応であるため、ブドウ糖を基質にして約半分しかフラクトースにならない。硼砂^{50,51)}やゲルマニウム⁵²⁾を添加する方法も発表されているが、酵素自体の機能の改良で解決できないか、今後の研究が待たれる。また酸性側で作用するグルコースイソメラーゼも今後の問題だろう。

おわりに

1979 年のアンケートによる、今後期待される酵素について、ほぼ完成された気がする。しかし、更なる要望が時代と共に生じてきた。これを強くイメージすることで、近い将来必ずこれらの要望を実現できると信ずる次第である。

文 献

- 1) 福井俊郎, 小巻利章: アミラーゼ利用の将来を考える。澱粉科学, **20**, 131-135 (1973)。
- 2) T. Komaki and N. Tajiri: Studies on enzymatic lique-

- faction and saccharification of starch. *Agric. Biol. Chem.*, **32**, 860-872 (1968)。
- 3) 服部文雄, 中村 勝, 田治 襄, 野尻増浩, 中井 正, 草井 清: *Bacillus subtilis* MN-385 の生産する α -アミラーゼについて。アミラーゼシンポジウム, **9**, 79-87 (1974)。
- 4) 特公昭 57-2317, 澱粉の液化方法。
- 5) 辻阪好夫: 糸状菌のアミラーゼ系に関する研究。大阪市立工業研究所報告, **23** (1960)。
- 6) USP 3,042,584, Treatment and use of enzymes for the hydrolysis of starch.
- 7) 特開昭 50-157584, グルコアミラーゼの精製法。
- 8) USP 3,897,305, Process for producing dextrose.
- 9) 特公昭 57-39, グルコースの増収方法。
- 10) 特開昭 57-170195, グルコースの製造方法。
- 11) B.E. Norman: A novel debranching enzyme for application in the glucose syrup industry. *Stärke*, **34**, 340-346 (1982)。
- 12) 森 茂治, 廣瀬 進, 辻 廣二, 大矢隆一: 新菌 *Bacillus sectorramus* の生産するプルラナーゼの精製と諸性質。澱粉科学, **38**, 9-16 (1991)。
- 13) 特開平 5-292962, 新規な枝切り酵素及びその製造法。
- 14) 特開平 5-15369, 新規プルラナーゼの製造法。
- 15) 大崎繁満, 吉野善市: マルチユロースの生成に及ぼす液化条件の検討。澱粉科学, **29**, 205-209 (1982)。
- 16) R.L. Antrim, W. Colilla and B.J. Schnyder: Glucose isomerase production of high-fructose syrups. *Appl. Biochem. Bioeng.*, **2**, 97-155 (1979)。
- 17) Wen-Pin Chen: Glucose isomerase (Review). *Process Biochem.*, **June/July/Aug.**, 30-41 (1980)。
- 18) K. Mosbach: Immobilized enzymes. *Methods Enzymol.*, **XLIV**, 809-821 (1976)。
- 19) V.J. Jensen and S. Rugic: Industrial-scale production and application of immobilized glucose isomerase. *Methods Enzymol.*, **136**, 356-379 (1987)。
- 20) 特公昭 54-39472, 酵素反応方法。
- 21) 特公昭 58-56639, グルコース異性化酵素組成物およびその方法。
- 22) 特公昭 60-49479, グルコースイソメラーゼ失活防止材およびグルコース異性化方法。
- 23) 特公昭 34819, グルコースシロップを異性化する方法。
- 24) S. Ueda: Studies on the amylolytic system of the black-koji molds. *Bull. Agric. Chem. Soc. (Japan)*, **21**, 284-290 (1957)。
- 25) F.B. Elegado and Y. Fujio: Selection of raw-starch digestive glucoamylase producing *Rhizopus* strain. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **39**, 541-546 (1993)。
- 26) 溝上恭平, 小崎道雄, 北原覚雄: *Streptococcus bovis* の生澱粉糖化酵素の結晶化とその特性。澱粉科学, **25**, 132-139 (1978)。
- 27) K. Kainuma, H. Ishigami and S. Kobayashi: Isolation of a novel raw starch digesting amylase from a strain of black mold—*Chalara paradoxa*. 澱粉科学, **32**, 136-141 (1985)。

- 28) S. Takao, H. Sasaki, K. Kurosawa, M. Tanida and Y. Kamagata: Production of a raw starch saccharifying enzyme by *Corticium rolfsii*. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1979-1987 (1986).
- 29) 安部淳一, F.W. ベルグマン, 小幡和哲, 檜作進: *Aspergillus* K-27 の生澱粉分解酵素. 澱粉化学, **32**, 128-135 (1985).
- 30) USP 4618579, Raw starch saccharification.
- 31) JP1961264, JP2033053, 生澱粉分解酵素生産菌, 生澱粉分解酵素の製造法.
- 32) 谷口 肇, 丸山芳治: *Bacillus circulans* F-12 生澱粉分解酵素. 澱粉科学, **32**, 142-151 (1985).
- 33) S. Hayashida, Y. Teramoto and T. Inoue: Production and characteristics of raw-potato-starch digesting α -amylase from *Bacillus subtilis* 65. *Appl. Environ. Microb.*, **54**, 1516-1522 (1988).
- 34) S. Hayashida and Y. Teramoto: Production and characteristics of raw-starch digesting α -amylase from a protease-negative *Aspergillus ficum* Mutant. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 1068-1073 (1986).
- 35) T. Tanaka, E. Ishimoto, Y. Shimomura, M. Taniguchi and S. Oi: Purification and some properties of raw starch-binding amylase of *Clostridium butylicum* T-7. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 339-405 (1987).
- 36) P. Itkor, O. Shida, N. Tsukagoshi and S. Uda: Screening for raw starch digesting bacteria. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 53-60 (1989).
- 37) J. Kim, T. Nanmori and R. Shinke: Thermostable raw-starch-digesting amylase from *Bacillus stearothermophilus*. *Appl. Environ. Microb.*, **55**, 1638-1639 (1989).
- 38) H. Iefuji, M. Chino, M. Kato and Y. Iimura: Raw-starch-digesting and thermostable α -amylase from the yeast *Cryptococcus* sp. S-2. *Biochem. J.*, **318**, 989-996 (1996).
- 39) B.C. Saha and S. Ueda: Alcoholic fermentation of raw sweet potato by a nonconventional method using *Endomycopsis fiburigera* glucoamylase preparation. *Biotechnol. Bioeng.*, **XXV**, 1181-1186 (1983).
- 40) 松元信也, 吉栖 肇, 宮田 進, 井上 繁, 穀類澱粉の無蒸煮・低温蒸煮アルコール発酵技術の開発. 農化, **59**, 291-299 (1985).
- 41) 特公昭 57-40, ブドウ糖の製造方法.
- 42) 特公昭 60-43120, 固定化グルコアミラーゼによるブドウ糖の製造方法.
- 43) 特公昭 60-6633, ブドウ糖の製造方法.
- 44) 特公昭 59-37959, ブドウ糖濃度向上法.
- 45) C. Leuschner and G. Antranikian: Heat-stable enzymes from extremely thermophilic and hyperthermophilic microorganisms. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **11**, 95-114 (1995).
- 46) 特表平 4-503757, 新規超熱安定性 α -アミラーゼ.
- 47) 特開平 9-173077, 超耐熱性酸性 α -アミラーゼおよび該 α -アミラーゼ産生遺伝子を含む DNA 断片.
- 48) 特表平 8-506491, 酸化安定性 α -アミラーゼ.
- 49) 特開平 3-139289, グルコースの増収方法.
- 50) Y. Takasaki: Studies on sugar-isomerizing enzymes. *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 1371-1375 (1971).
- 51) 特公昭 53-10151, グルコースイソメラーゼの不溶化法.
- 52) 特開平 6-315391, グルコースの異性化法及び異性化促進剤.

【質 問】

林原 辻阪

ブドウ糖を作るときプルラーゼを加えるのは、グルコアミラーゼによる α -1,6 オリゴ糖を分解するためか？むしろアミロペクチンの枝を早く切り、長い α -1,4 の chain が早く生じグルコアミラーゼの作用をスムーズにするためではないのか？

【答】

ご指摘のとおりです。グルコアミラーゼは α -1,4 結合の方を α -1,6 結合よりきわめて早く分解します。澱粉液化液の 80% を分解するのに必要な時間は全糖化時間のたった 3% ともいわれています。もう一つの理由は、グルコアミラーゼの添加量を少なくすることができるので、その逆合成反応を低減できるからだと考えられます。

【質 問】

大阪市工研 北畑

耐熱性 α -アミラーゼで、120℃でも安定な酵素は失活させる必要のあるときどのようにするのですか？

【答】

糖液を精製するとき、カチオン交換樹脂を通します。このとき pH が下がり失活すると考えられます。

(2000 年 2 月 21 日受付)