酵素糖化法によるぶどう糖製造

小 巻 利 章

(Toshiaki KOMAKI)

長瀬産業(株)尼崎工場

昭和 41 年度 (41 年 10 月～42 年 9 月) のわが国の澱粉の総消費量は、約 120 万トンであったが、その約 50% に相当する 60.9 万トンが、グルコース、水飴製造などの加水分解利用に消費されている。他の半分はほとんど直接利用が多く、繊維加工へ 14.4 万トン、水産練製品へ 10.2 万トン、加工澱粉用途へ 9.4 万トン、グルタミン酸ソーダ製造用 7 万トン、ビール醸造へ 5 万トン、残部が他の食品加工およびその他である。澱粉の種類としては甘藷澱粉が最も多く約 54 万トン、次にコーンスターチが 37 万トン、馬鈴薯澱粉 16.5 万トン、小麦澱粉 8.4 万トンで、輸入された澱粉量が約 4.5 万トンであった。いずれにしろ、加水分解によるぶどう糖、水飴の製造は澱粉利用の主流を占めている。

澱粉を原料として、加水分解して製造された甘味料を総称して澱粉糖と呼んでいる。年次別の水飴、ぶどう糖生産量を表 1 に示した。

この表で、水飴とはシュウ酸加水分解法で DE (dextrose equivalent) 42～46 ぐらいまで分解されたいわゆる晒水飴が大部分で、酵素糖化法 (主に麦芽) で分解度 30～35% のマルトースを主体とした、いわゆる麦芽水飴も含まれている。粉飴とは、加水分解度が低く 17～30%、水分 3%前後を含む白色粉末で、酸糖化法

によるものが多い。ぶどう糖は DE 75～90 ぐらいのもので、白色の塊またはこれを粗砕した「チップ」、あるいは切削して粉末としたものである。精製ぶどう糖は酵素糖化法で製造されたもので、DE 96～98、糖化液の全

表 1 水飴、ぶどう糖の年次別生産量推定 (10～9 月)

全澱糖調 (単位: kg)

	水 飴	粉 飴	ぶ だ う 糖	精製ぶ だ う 糖	結晶ぶ だ う 糖	合 計
昭和 5～6 年						
6～7	平均 124,493		平均 137,441			平均 137,734
9～10	平均 126,300		平均 14,000			平均 140,300
10～11						
11～12	111,845		6,777			118,522
12～13	137,411		7,752			145,223
13～14	81,865		12,169			89,724
14～15	79,598		12,169			91,767
15～16	46,871		15,266			62,137
16～17	37,563		15,268			52,251
17～18	23,946		11,538			35,484
18～19	6,992		5,493			12,485
19～20	2,765		3,251			6,016
20～21	2,743		2,366			5,106
21～22	5,311		4,780			10,091
22～23	6,772		5,177			11,949
23～24	106,000		9,000			115,000
24～25	16,800		16,200			180,000
25～26	170,000		30,000			200,000
26～27	205,000		30,000			235,000
27～28	180,000		35,000			215,000
28～29	225,000		45,000			270,000
29～30	213,000		37,000			250,000
30～31	255,000		45,000			300,000
31～32	265,000		60,000			325,000
32～33	240,000		65,000			320,000
33～34	225,000	12,000	66,000		3,000	311,700
34～35	300,000	25,000	70,000	6,000	15,000	416,000
35～36	285,000	29,000	40,000	58,000	53,000	465,000
36～37	277,000	25,000	80,000	45,291	50,468	477,759
37～38	304,000	26,000	110,000	46,915	45,819	532,734
38～39	282,000	33,000	15,000	90,000	90,000	510,000
39～40	320,000	33,000	10,000	95,000	95,000	553,000
40～41	340,000	35,000	10,000	90,000	80,000	555,000

表 2 昭和 40 会計年度における規格および規格外ぶどう糖の用途別販売実績 食糧庁調 (単位: トン)

種類別 数量比率 用途別	結 晶 ぶ っ う 糖						精 製 ぶ っ う 糖						酸 糖 化 ぶ っ う 糖		合 計	
	無 水		含 水		小 計		粉 末		チ ッ プ		小 計					
	数量	%	数量	%	数量	%	数量	%	数量	%	数量	%	数量	%	数量	%
パ ン	266	1.5	2,556	3.9	2,822	3.4	17,521	21.8	14	0.2	17,535	19.6	707	7.2	21,064	11.6
粉 末 ジ ュ ー ス	2,918	16.3	28,243	43.2	31,161	37.4	17,565	21.8			17,565	19.7	49	0.4	48,775	26.7
粉 末 製 品	1,749	9.7	895	1.4	2,644	3.2	2,830	3.5	65	0.7	2,895	3.3			5,539	3.0
ガ ム	50	0.3	5,282	8.1	5,332	6.4	4,024	5.0			4,024	4.5	660	6.7	10,016	5.5
洋 菓 子	1,537	8.6	3,423	5.2	4,960	6.0	7,717	9.6	596	6.7	8,313	9.3	475	4.7	13,748	7.6
和 菓 子	747	4.2	2,329	3.6	3,076	3.7	6,388	7.9	401	4.5	6,789	7.6	401	4.1	10,266	5.6
罐 詰	50	0.3	773	1.2	823	1.0	7,153	8.9	1,280	14.4	8,433	9.5	188	1.9	9,444	5.2
ジュース	8	—	402	0.6	410	0.5	2,822	3.5	633	7.1	3,455	3.9	493	5.0	4,358	2.4
清涼飲料	6	—	333	0.5	339	0.4	2,761	3.5	688	7.8	3,449	3.9	1,365	13.8	5,153	2.8
混 合	3	—	13,646	20.9	13,649	16.4	402	0.5			402	0.5			14,051	7.7
家庭用糖			30	0.1	30	—	97	0.1			97	0.1			127	0.1
冷 凍 菓 子			420	0.6	420	0.5	3,066	3.8	806	9.1	3,872	4.3	151	1.5	4,443	2.5
水 産 練 製 品			53	0.1	53	—	574	0.7	211	2.4	785	0.9	1,585	16.1	2,423	1.3
ジャム							70	0.1	4	0.1	74	—			74	0.1
しょう油							282	0.4	137	1.5	419	0.5	366	3.7	785	0.4
く だ 煮							211	0.3	12	0.2	223	0.2			223	0.1
代理店																
その他	823	4.5	3,326	5.1	4,149	5.0	3,033	3.8	187	2.1	3,220	3.6	363	3.7	7,732	4.2
小 計	8,157	45.4	61,711	94.5	69,868	83.9	76,516	95.2	5,034	56.8	81,550	91.4	6,803	68.9	158,221	86.8
酒 用	6,365	35.5	1,203	1.8	7,568	9.1	2,179	2.7	1,271	14.3	3,450	3.9	2,132	21.6	13,150	7.2
グルタミン酸ソーダ							109	0.1	1,483	16.7	1,592	1.8			1,592	0.9
医 薬	2,601	14.5	353	0.6	2,954	3.6	1,273	1.6			1,273	1.4	43	0.5	4,270	2.2
ソ ル ビ ッ ト	828	4.6	2,032	3.1	2,860	3.4	304	0.4	970	10.9	1,274	1.4	428	4.3	4,562	2.5
皮 革 製 品									108	1.3	108	0.2	460	4.7	577	0.4
小 計	9,794	54.6	3,588	5.5	13,382	16.1	3,865	4.8	3,832	43.2	7,697	8.6	3,072	31.1	24,151	13.2
合 計	17,951	100	65,299	100	83,250	100	80,381	100	8,866	100	89,247	100	9,875	100	182,372	100

(注) 1. 下期より横浜精糖分を含む。

2. 含水結晶と精製粉末のその他に政府買上分 (4,000) を含む。

量を固結化して粉末とした、いわゆるトータル・シュガー方式によるものである。粉末化の最も一般的な方法は、濃縮した精製糖液を型箱に流し込み、放冷してブロック状の塊とし、これを切削して粉末化するのであるが、濃縮した精製糖液を結晶させて流動性のマスキットとし、これから直接、含水結晶⁽¹⁾あるいは無水結晶の粉末ぶどう糖を製造する方法も行なわれている (表 3 参照)。結晶ぶどう糖は、いうまでもなく濃縮精製糖液を結晶化し、これを分蜜して得たものである。

各種ぶどう糖の用途別販売実績を表 2 に示した。これらは粉末ジュース、パンへの利用が多い。水飴の主な用途は、キャラメル、ドロップなどの飴菓子類が圧倒的に多く、全量の約 50% を占めている。次いでジャム、つくだ煮類が約 28%、その他の菓子類が 18% を占めている。粉飴は酒造用に約 50%、冷菓用に約 47% 使用されている。

澱粉を酸で加水分解して水飴、結晶ぶどう糖 (デキス

トロール) を製造する技術は、1811 年に Kirchoff⁽²⁾ により開発され、それから 1 年以内にドイツ、フランスで馬鈴薯澱粉を原料として、水飴および固形のぶどう糖の工業生産が始まっている。Kirchoff はその後、小麦や麦芽に関する研究ですぐれた業績を残している (1814)。麦芽がビールやアルコール工業での澱粉糖化剤として使用された歴史は古く、わが国でも、米飴、蕎麦飴の製造に麦芽が古くから用いられていたようである。水飴の製造に糸状菌起源の糖化酵素が利用されたのは 1938 年ごろで、酸で部分的に加水分解したのち麹菌の酵素を作用させて、マルトース含有量が高く、酸糖化に比較して甘味度の大きい水飴が “Sweetose” という商品名で米国で売り出されている⁽³⁾。

本稿では、1959 年より行なわれてきた酵素糖化法によるぶどう糖製造について、技術的な問題点をひろいあげて記述することにする。

1. 酵素糖化法の開発

酵素糖化法によるぶどう糖製造法の開発について特筆すべき事項は、酵素による澱粉の液化法の開発と、グルコミラーゼの工業生産の2項目であると思われる。

細菌 α -アミラーゼを用いて澱粉を液化する技術は、1940 年ごろに福本⁽⁴⁾により開発されたのが最初である。その後 1948 年ごろから、麦芽水飴製造工場では、従来、捨て麦芽と称して、多量の麦芽を加えて澱粉を液化し、一度加熱したのち再び糖化目的として麦芽を使用していたのが、耐熱性のすぐれた細菌 α -アミラーゼを澱粉液化目的に使用し、麦芽は糖化目的のみ使用する方法に変わっていった。一方、酸糖化による水飴製造業界は、1952 年ごろからイオン交換樹脂を糖液精製に採用し、きわめて高純度の水飴が製造されるようになった。これに刺激されて、麦芽水飴製造業界でも、より精製した麦芽水飴製造の必要にせまられたが、このとき最も問題になったのは糖化液の濾過性が悪いことで、活性炭による脱色なども事実上は不可能に近かった。筆者はこの原因についてしらべた結果、最も大きな原因は糖化液中に残存する難溶性の澱粉分子の存在であって、そのものは細菌 α -アミラーゼを含む澱粉乳液を徐々に加熱して液化する工程で生成されることを見いだした。そこで、これを防ぐ方法として、細菌 α -アミラーゼを含む澱粉乳液を 85~92°C の既液化液中に分散させて、瞬間に澱粉を糊化温度以上に加熱し、同時に α -アミラーゼ作用を営ませる瞬間加熱液化法（高温液化法ともいわれている）を開発したが⁽⁵⁾、この方法により、酵素糖化液の濾過、精製が支障なく工業的に実施できるようになった。

澱粉からグルコースを生成する酵素については、1913 年ごろ、喜多⁽⁶⁾が *Asp. oryzae* の生産物中に存在することを予測している。その後、*Rhizopus delemere*⁽⁷⁻⁹⁾、*Asp. niger*⁽¹⁰⁻¹³⁾、*Asp. usamii*⁽¹⁴⁾、*Asp. awamori*^(15,16)、*Asp. oryzae*⁽¹⁷⁾、*Clostr. acetobutylicum*⁽¹⁸⁾、および *Endomyces*⁽¹⁹⁾などを起源としてグルコミラーゼが生産されることが知られている。わが国では 1959 年ごろから、*Rhizopus* 属を用いて麹麹式培養法で工業生産が始まり、その後 *Endomyces* を用いた深部培養、*Asp. niger* を用いた深部培養、および *Rhizopus* 属の深部培養が工業的に実施されるようになり、これらの糖化酵素剤は国内消費のみならず国外にも輸出されるようになった。グルコミラーゼの工業生産で重要な点は、トランスグルコナーゼを含まないことである。

表3および表4に 1960 年以降のぶどう糖製造法と糖

化酵素製造法に関する特許出願公告を示したが、酵素糖化法の開発に伴って多数の関連特許が出願されている。

わが国で最も初めに工業規模で酵素糖化法によるぶどう糖が製造されたのは、1959 年 5 月、福岡市の S 社工場であり、その年のうちに約 20 社が試験生産を始め、表1で明らかなごとく、その翌年には生産量が約 10 倍に達した。その後、欧米、東南アジアなどでも、従来の酸糖化法から酵素糖化法に切りかえられ、米国では、Miles, Corn Products, Grain Processing の3社が糖化酵素を生産しており、その年間販売額（自家消費を含

表 3 ぶどう糖製造法関連特許出願公告

	公告番号	出 願 人
ぶどう糖製造法	36- 8037	長瀬産業(株)
澱粉の連続糖化法	36-17383	三浦春信
シラップ状澱粉糖の製造法	36-23698	長瀬産業(株)
粒状の糖の製造法	37-17545	佐久間三郎, 本坊美義
粒状の糖の製造法	37-17546	佐久間三郎, 本坊美義
澱粉からデキストリンおよびデキストリン類似の分解生成物を製造する方法	38- 7950	ローム・アンド・ハース社
澱粉からぶどう糖を製造する方法	38- 7949	コーン・プロダクツ社
酵素法による高純度ぶどう糖の製造方法	38-10836	林原一郎
酵素糖化による高濃度澱粉糖化液の製造法	38-13048	理化学研究所
粉末ぶどう糖の製法	38-13044	林原(株)
ぶどう糖の切削方法	38-13043	早川市蔵
澱粉を原料とする酵素糖化液の濁度低下法	38-11931	岩沢 隆
澱粉シラップの製造法	38-17400	ローム・アンド・ハース社
純含水結晶ぶどう糖の製造法	38-20275	杉本幸次
澱粉乳の連続液化法	38-21197	味の素(株)
澱粉を連続的に糊化する装置	38-24000	エッシャーウイス社
糖類の結晶化法	38-23995	佐久間三郎
結晶ぶどう糖の製造法	38-23997	佐久間三郎
澱粉の連続液化法	39- 1998	林原(株)
粉末ぶどう糖の製造法	39- 4834	日本資糧工業(株)
澱粉分解生成物の製法および装置	39- 5438	エッシャーウイス社
デキストロース加水物の結晶化法	39- 5433	コーン・プロダクツ社
粉末ぶどう糖の製造法	39- 5430	昭和産業(株)
高濃度デキストロース溶液の製造方法	39-10216	コーン・プロダクツ社
澱粉質の酵素液化改良方法	39-15219	東海糖業(株)
水あめの製造方法	39-18527	福本寿一郎
穀類澱粉より低重合度デキストリンを製造する方法	39-18528	福本寿一郎
無水結晶ぶどう糖の直接製造法	39-23655	東海糖業(株)
ぶどう糖ブロックの粉碎方法	39-24549	日本資糧工業(株)
結晶ぶどう糖の製造方法	40- 4024	エー・イー・ステリー社
地上澱粉含有物よりぶどう糖の製法	40- 7111	福本寿一郎
液体瞬間加熱方法	40-11351	エー・イー・ステリー社
難結晶性ぶどう糖液の製法	40-11897	林原(株)
結晶ぶどう糖の製造法	40-14552	野口研究所
澱粉よりぶどう糖の生成法	40-17294	第一製薬(株)
ぶどう糖の製造法	40-20210	ドル・オリバー社
マルトース転移糖の製造法	40-27319	理化学研究所
マルトース転移糖を多く含む澱粉糖の製造	41- 5918	理化学研究所
澱粉をぶどう糖に加水分解する方法	41- 7811	コーン・プロダクツ社

表 4 糖化酵素の製造法関連特許出願公告

	公告番号	出 願 人
エンドミコブシス類似特殊菌による糖化アミラーゼの製造法	35-15438	理化学研究所
糸状菌糖化酵素液の濃縮法	36-12993	長瀬産業(株)
アミログルコシダーゼ含有製品の精製方法	36-18090	コーン・プロダクツ社
アミログルコシダーゼ含有製品の精製方法	36-22641	コーン・プロダクツ社
麹から酵素を連続的に抽出する方法	37- 3538	林原(株)
酵素抽出法	37- 5393	昭和産業(株)
グルコアミラーゼ製品の製法および澱粉状材料の加水分解	37-12442	コーン・プロダクツ社
グルコース生成アミラーゼの製造法	39- 9291	長瀬産業(株)
酵素の分離回収法	39-14489	理化学研究所
糸状菌アミラーゼの精製・採取方法	40- 4420	コーン・プロダクツ社
かびアミラーゼ製品のトランスグルコシダーゼ活性を除去する方法	40-18833	コーン・プロダクツ社
澱粉糖化酵素の製造法	40-18834	松谷化学(株)
澱粉糖化酵素の製造法	41- 153	松谷化学(株)
リゾブス属菌の生産する酵素の分離法	41- 3074	福本寿一郎
澱粉糖化酵素の製造法	41-10190	松谷化学(株) 倉敷レイヨン(株)
澱粉糖化型酵素剤の安定化法	41-10191	松谷化学(株)
アミログルコシダーゼの精製方法	42- 3816	エー・イー・ステリー社
澱粉加水分解酵素剤の処理方法	42- 5193	グレイン・プロセッシング社
水性アミログルコシダーゼの製品精製方法	42- 5194	エー・イー・ステリー社

む)は6百万米ドルといわれている。欧州では、Novo Laboratory (デンマーク)、および Royal Netherland Fermentation Industries Ltd. (オランダ)が糖化酵素の生産をしている。インドの Anil Starch Products Ltd. は、細菌 α -アミラーゼおよび糖化酵素を自家生産し、それを用いてぶどう糖の生産を行なっている。

2. 澱粉の液化

酵素糖化法によるぶどう糖製造において、澱粉の精洗の次に行なわれる澱粉液化工程で最も重要なことは、①澱粉分子を完全に水溶性化する、②次の工程であるグルコアミラーゼによる糖化作用に好都合な反応生成物ができること、および、③できるだけ高澱粉濃度で実施できることである。

澱粉を完全に可溶化するためには、まず、澱粉分子が α -アミラーゼ作用で低分子化される状態に変わる条件を与えねばならない。一般に、天然の澱粉粒はそのままでは α -アミラーゼ作用を受けにくく、一度水とともに加熱して糊化させる必要がある。しかし、実用的な高い澱粉濃度 (35~40%, w/w) では、乳液を加熱して糊化させたのち、 α -アミラーゼを作用させることは事実上不可能であるため、 α -アミラーゼ共存下で澱粉乳液を加熱し、糊化と α -アミラーゼによる液化作用とを同時に行なわせる方法が実用化されてきた。この際に、澱粉

粒の膨潤という面ではできるだけ高温であることが好ましいが、酵素作用には限界温度がある。しかし、 α -アミラーゼは澱粉の共存下で著しく耐熱性が高く、適量の Ca 塩、食塩の存在下で pH 5.3~7.0 の範囲では、93°C まで実用的な活性が期待できる。

澱粉の糊化温度は澱粉の種類によって差のあることがよく知られているが、一般に、糊化という現象は澱粉粒の急速な膨潤に伴う粘度の変化の観察結果であり、糊化することによって α -アミラーゼによる消化性は著しく増加するとはいえず、本目的とするような澱粉分子が完全に α -アミラーゼ作用を受ける状態であるとは決めがたい。筆者ら⁽²⁰⁾は、充分な量の α -アミラーゼを含む澱粉乳液 (約 18%) を最もよい条件で液化しても、なお微量の不溶性の澱粉分子が液化液中に残存することを見いだしている。その含有量は馬鈴薯澱粉が最少なくて約 10 mg%, 甘藷澱粉は約 25 mg%, コーンスターチではかなり多く約 230 mg% であった。また、ぶどう糖工場で液化不良、あるいは液化困難といわれた甘藷澱粉では約 60 mg% であった。

このような澱粉の酵素液化・糖化液中に残存する不溶性の澱粉分子を難溶性澱粉 (insoluble starch particle) と呼ぶことにしているが、このものはグルコアミラーゼ作用も受けず、ヨウ素とも反応しにくく、最高のヨウ素呈色値を得るためには、終濃度 1N の水酸化ナトリウム溶液で解液したのち中和し、直ちにヨウ素を添加しなければならぬ⁽²¹⁾。主として直鎖状分子のミセルであろうと推定されており、加圧下で高温加熱をすると α -アミラーゼ作用を受けるようになるが、冷却すると直ちに老化して、再びアミラーゼ作用を受けなくなる。前述のごとく、この難溶性澱粉の存在が糖化液の濾過障害の最大原因である。

難溶性澱粉は市販澱粉中にわずかながら含まれているのみならず、細菌 α -アミラーゼで液化する過程でも新しく生成され、また澱粉を温熱処理した場合にも増加することが見いだされている^(5,22)。甘藷澱粉乳液に細菌 α -アミラーゼを加えて、これを徐々に加熱すると、70°C 付近から澱粉乳液は外観的な変化なしに、また澱粉粒の膨潤もほとんど伴わずに、可溶性糖類が直線的に増加し始める。80°C 付近に達すると、反応液は乳白色からやや灰白色に変わり、澱粉粒の溶解が目立って明らかになる。85°C をこえると反応液は黒く透明に近くなり、澱粉粒はほとんど溶解する。しかし、この反応液は一度煮沸し、再び α -アミラーゼを添加してもなお混濁が認められ、濾過性もよくない。細菌 α -アミラーゼを含む澱

粉乳液を 85~92°C に瞬時に加熱して液化した場合は、混濁度も少なく、難溶性澱粉の生成を防止できるが、前法のごとく、ゆるやかに昇温させた場合は、難溶性澱粉量が明らかに増加している。また、瞬間加熱方式で液化しても、液化温度が 80°C 以下では難溶性澱粉量の増加が明らかである。

澱粉を湿熱処理した場合も難溶性澱粉量が増加する。たとえば、甘藷澱粉を 55°C で 5 日間放置すると、難溶性澱粉含有量が約 85 mg% 程度に増加する。この温度は、澱粉の糊化温度よりはるかに低い温度であるにもかかわらず、明らかに澱粉粒内で分子の集まりに変化が生じていると予想されるが、この程度の処理ではアミログラムにあらわれるほどの粘度特性の変化はない。福井、二国らは^(23,24)、VI 粘度計を用いて澱粉の糊化時の粘度と温度の変化を観察し、澱粉粒が急速に膨潤し粘度が上がり始めるとともに澱粉粒内の分子の集まりがくずれ、このときに吸熱が伴うと考えて、糊化時の粘度図と温度図をしらべることにし、澱粉糊化時の分子の集まりのくずれかたを知る手段を明らかにし、この方法を甘藷澱粉の湿熱処理時の性質の変化、および液化不良澱粉の特性の解明に応用した。甘藷澱粉乳液を 50°C に 5 日間放置した場合、粘度図にはほとんど変化がないにもかかわらず、温度図には明らかな変化が認められ、同様に、液化不良といわれる甘藷澱粉は糊化開始温度は変わらないが、以後の粘度上昇がおそく、粘度上昇時の吸熱が少なく、いずれも糊化の際の粒内の分子の集まりがくずれにくい澱粉であることを認めている。

また別の角度からは、澱粉粒の α -アミラーゼによる消化性について、Schoch⁽²⁵⁾ らは、澱粉によってアミラーゼ感受性の異なるのは、澱粉粒の表面積、X線回折図、あるいは水とともに加熱したときの膨潤、溶解性などのミセル構造、および物理化学的なものは直接関係せず、酵素の侵入が充分なような穴をもったスポンジ状の多孔性の分子構造の場合にアミラーゼ感受性であると報告している。馬鈴薯澱粉粒の場合アミラーゼ作用温度を 50°C とすると著しく消化が認められることから、50°C ですでに澱粉粒内で何らかの変化が生じていると考えられる。また、5 酸化燐を使用し 10 週間を費してゆるやかに脱水し、水分 0.27% とした馬鈴薯澱粉も著しくアミラーゼ消化性であることから、exhaustive drying によっても澱粉粒内の変化を伴うことを指摘している。

また、水分 20~25% の馬鈴薯澱粉を 100~120°C に加熱すると、次のような変化がおこることもよく知られている⁽²⁶⁾。①X 線回折が B から A に変わる。②水分保

持力が低くなる。③糊化温度が高くなる。④膨潤能力が著しく低下する。⑤糊の性質がコーンスターチと大差ないものになる。

筆者は、水分 16% の馬鈴薯澱粉を約 10 mm の厚みになるようシャーレに拡げ、その上を紙で被ってオートクレーブ内におき、生蒸気を吹き込んで蒸気飽和条件下で加圧・加熱することで、澱粉粒の外観的な膨潤は認めずに、その性質が著しく変化することを見いだした⁽²²⁾。1 kg/cm² G で加熱処理した結果では次のことが認められた。

①顕微鏡観察では粒の膨潤はさほど認められないが、中央部が凹んでいるように観察される。

②40°C での α -アミラーゼ消化性は 55% に達した。

③これに反して、難溶性澱粉含有量は 2,900 mg% と、もとのものに比して約 300 倍に達した。

④ α -アミラーゼ吸着能力が著しく増加し、最適条件下で 1 g 当り 100 mg の細菌 α -アミラーゼを吸着しうる⁽²⁷⁾。

⑤染料による染色性が著しく増加し、大部分の粒が染色される。

⑥アミログラムの結果は、92.5°C まで粘度上昇がまったく認められず、92.5°C で加熱を続けると、わずかに粘度上昇が認められる。

これらのことから、上記の処理によって澱粉粒内の分子の配列、あるいは会合のしかたが著しく変化し、非常に緊密な分子の束が部分的にできるとともに、粒は多孔質のスポンジ状となり、膨潤しにくくなるものと予想される。

糖化原料の澱粉としては、できるだけ難溶性澱粉の含有量の少ない澱粉が好ましく、澱粉製造工程では難溶性澱粉の生成が伴わない条件が選ばれるべきであるが、現在の澱粉事情では原料澱粉の選択は事実上不可能で、穀物澱粉（主にコーンスターチ）も使用しなければならない情勢である。したがって液化操作では、できるだけ難溶性澱粉の生成が伴わず、かつ、すでに含まれているものも可溶化できることが要求される。

この目的のために、酵素液化が困難といわれているコーンスターチについて種々の液化条件を検討し、図に示したようなフローシートの各ユニット・オペレーションについて最適条件に見いだした⁽²⁸⁾。多くのぶどう糖工場では、大体この原理をもとにして実施している。澱粉乳液の濃度は約 20 Bé で、pH の調整は 6.0~6.5 とする。澱粉粒はしばしば酸を含んでおり、乳液の pH を調整しても液化後 pH がかなり低下することがある。この

図 澱粉の酵素液化法フローシート

1. アルカリ溶液 2. α -アミラーゼ 3. 澱粉乳液槽 4. 乳液注入ヘッドタンク 5. 流量計
 6. 乳液注入パイプ 7. 液化槽 8. α -アミラーゼ1次反応槽 9. シュウ酸溶液槽
 10. α -アミラーゼ溶液槽 11. 連続加熱装置 (135°C) 12. 連続冷却装置 (92°C) 13. 混合器
 14. α -アミラーゼ2次反応槽 15. 連続冷却装置 (56~57°C)

pH 低下を防ぐために、ふつう少量の炭酸カルシウムが用いられている。液化操作は連続的に行なわれる。まず、運転開始に少量の水または既液化液を液化槽に入れ、これを加熱して 90~92°C にし、細菌 α -アミラーゼを含んだ澱粉乳液を注入する。注入は澱粉乳液ができるだけ分散するように、数多くの小穴から液化槽の全面に噴出させるように行ない、攪拌および加熱をして液温を 88~92°C に保つ。液化槽の液量が増加し適当な操作水準に達したら、注入する乳液量と同じ速度で底部の排出バルブから排出し、1次反応槽へ導く。したがって、 α -アミラーゼを含んだ新しい澱粉乳液は、すでに液化されて低粘度の液となっており、 α -アミラーゼがなお残存している液化液中に混合されて、瞬間に 88~92°C に加熱されることになる。この方法は瞬間加熱液化法（または高温液化法）と呼ばれている。

1次反応槽では、澱粉の分解度が 10~15% ぐらいに達するまで放置される（約 20~30 分）。この間に pH は 5.3~5.5 に調整されて、次の加熱処理装置に移される。加熱処理は連続加熱処理ができるものが好ましく、135°C 付近まで加熱後、92°C まで急冷される。135°C での加熱時間はごくわずかで充分であり、高温ほど好ましい。オンレーター、プレートヒーター、および生蒸気と混合し、パイプライン中で加熱される方式が利用できる。

加熱処理後はできるだけ短時間で 90~92°C まで冷却し、直ちに α -アミラーゼを再添加する。2次反応槽で

は 85~92°C で約 20~30 分放置後、冷却して糖化工程に入る。

1次反応槽で残存していた難溶性澱粉は、加熱処理によって α -アミラーゼ作用を受けるようになるが、加熱処理後 55°C まで急冷したり、あるいは 80°C でも数分以上放置すると、再び老化してアミラーゼ作用を受けにくくなり、糖化液中に不溶性のまま残存する。したがって、この難溶性澱粉はきわめて老化しやすい分子であるといえる。

この液化方法によるときは、澱粉分子は比較的均一に分解されて、分解度の異なる各種のデキストリンの製造にもきわめて好都合である。

細菌 α -アミラーゼによる液化法以外に、酸で DE 10~20 まで加水分解したのち、グルコアミラーゼで糖化する方法も、コーンスターチを原料とする欧米では実施されているようであるが、酵素液化法に比較して、最終糖化液化液の糖化度が低い^(20,29)。Kingma ら⁽³⁰⁾は、理想的と思われる連続式の酸糖化装置を用いて行なっても、やはり最終分解率が約 2% 低いことを認めている。この理由についての推論は次節で述べたい。

3. 澱粉の糖化

澱粉の酵素液化液の糖組成は、グルコース 1~2%、マルトース 4~7%、マルトリオース 7~11%、マルトテトラオースも約 7~11% で、高級オリゴ糖が 70~

80%である。最終的に澱粉をグルコースにまで分解できることが理想であるが、実際には、最終分解物は94~95%がグルコースで、5~6%のオリゴ糖を含んでいる。したがって、使用する糖化酵素として必要な条件は、マルトースからオリゴ糖を生成するトランスグルコシダーゼを含まないこと、および澱粉分子中の α -1,6結合も切断して、完全に分解しうる性質のグルコアミラーゼでなければならないことである。今日では、前述したごとく、これらの要件を備えたグルコアミラーゼが、*Rhizopus* 属の麴菌式培養法、*Asp. niger* および *Endomyces* の深部培養によって工業生産されている。

澱粉の完全分解を目的とする場合に次の2点が問題となる。①グルコアミラーゼによるグルコースから寡糖の逆合成、②グルコアミラーゼが作用しにくいオリゴ糖の存在。

筆者は、10%のマルトース溶液に作用させた場合、これを完全にグルコースに分解し、オリゴ糖の生成がまったく見られない *Rhizopus niveus* 起源の粗製グルコアミラーゼを用いて、30~40%濃度の澱粉液化液を糖化した場合に、D/T(直糖/全糖)が95を越えると(糖化時間約48時間)イソマルトースの生成が認められることを見いだした⁽²⁹⁾。

その後、福本⁽³¹⁾は、40%のグルコース溶液に *Rhizopus* の結晶グルコアミラーゼを作用させて、イソマルトースを主体とする逆合成オリゴ糖が生成することを見いだした。その生成量は、酵素量の増加とともに、また作用時間の経過とともに多くなり、グルコース濃度が高いほど大である。トランスグルコシダーゼの場合は、40%グルコース溶液からもオリゴ糖の生成はまったくなく、マルトース基質の場合は5%濃度でもオリゴ糖の生成が見られることから、糖化液中のイソマルトースを主体とするオリゴ糖は、グルコアミラーゼ自体が持つ逆合成作用によって生じたものであることを明らかにした。さらに、黒岩⁽³²⁾、田村⁽³³⁾らも同様の事実を認めている。

松田ら⁽³⁴⁾は酵素糖化ハイドロール(3回結晶化をくり返したのち得られた蜜)の糖組成をペーパークロマトグラフィーで分析し、全糖分に対して、グルコース 54.48%、マルトース 10.17%、イソマルトース 7.21%、ニゲロース 2.83%、フルクトース 1.03%、三糖類 3.09%、高級オリゴ糖 21.19%の結果を得た。さらに、これをカーボクロマトグラフィーなどで各糖を分離し、酵素糖化ハイドロール中の糖類として、フルクトース、グルコース、ニゲロース、マルトース、イソマルトース、ラミナリビオース、ゲンチオビオース、マルトトリオー

ス、パノース、イソパノース、およびイソマルトトリオースを確認した。さらに、これらの糖類の生成原因を知る目的で、トランスグルコシダーゼ活性が認められない市販の糖化酵素を40%グルコース溶液に作用させ、その反応生成物を分析し、3.18%の逆合成糖類の生成を確認した。そして、その糖類はニゲロース、マルトース、イソマルトース、ラミナリビオース、ゲンチオビオース、パノース、イソパノース、イソマルトトリオースであることを確認した⁽³⁵⁾。

これらの事実から、グルコアミラーゼによるグルコースからの逆合成糖の生成は、現状のごとき高濃度基質の加水分解時には避けられない問題であるかもしれない。

次の問題は、D/T 96~97まで糖化された酵素糖化液中にアルコールで混濁するオリゴ糖が残存していることである。DE 93.5~98の市販精製ぶどう糖のDEとアルコール混濁度との間には相関関係がみられず、液化、糖化工程の各要因についてしらべた結果も、糖化時間を除いて有意差が認められなかった。また、ハイドロールからアルコール沈澱で集めたオリゴ糖に対して、*Asp. niger*, *Rhizopus*, *Endomyces* のグルコアミラーゼを作用させてみたが、非常に反応速度がおそく、多量の酵素を用いて長時間作用させると約70~75%まで分解されるが、この場合、タカアミラーゼを併用しても分解度は高くならなかった⁽³⁶⁾。

上田⁽¹⁴⁾は、グルコアミラーゼによる限界オリゴ糖は含リンデキストリンであることを指摘した。馬鈴薯澱粉から細菌 α -アミラーゼで加水分解して調整したグルコース重合度9~10の含リンデキストリンに、糖化型アミラーゼのみを作用させると約60%で限界に達し、重合度3~4の含リンデキストリンが残るが、この反応混液にフォスファターゼを作用させると、無機リンの遊離を伴いながらグルコアミラーゼ作用が続き、100%まで分解する。この重合度9~10の含リンデキストリンは、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、および麦芽アミラーゼで、それぞれ0, 22 および70%分解されるが、無機リンの遊離は伴わない。麦芽アミラーゼ作用後に残存する含リンデキストリンは、重合度3~4のものである⁽³⁷⁾。

このような事実から、根茎澱粉のみならず穀物澱粉中にも結合型のリンが存在するとすれば、澱粉の完全分解のためにはグルコアミラーゼのみならず、グルコース-6-フォスフェイトに作用しうるフォスファターゼの共存が必要であるということになる。前述のアルコール不溶性のオリゴ糖についてはまだ十分な分析がなされていないので、含リンデキストリンとは決められないが、いずれに

しろ、グルコミラーゼ抵抗性でアルコール不溶性のオリゴ糖が糖化液中に残存することは、澱粉の化学構造究明の上からも興味あるテーマである。

酸液化-酵素糖化による場合の最終糖化度が、酵素液化-酵素糖化の場合より常に低いということについては、液化時のグルコース鎖の切断様式の差であろうと推察される。酸液化の場合はかなり緩和な条件であるから、逆合成の可能性は少ないと思われるので、 α -1,6 結合付近の切断様式の差かもしれない。グルコミラーゼはパノースの α -1,6 結合は切断しうる。したがって、液化液中の高級オリゴ糖に対して非還元性末端から、逐次グルコース単位に切断して反応が進行し、 α -1,6 結合の位置にきたときに、 C_6 が結合しているグルコースがさらに他のグルコースと α -1,4 結合している場合はその α -1,6 結合を切断しうるが、 C_6 が結合しているグルコースが還元性残基になっている場合は反応が進まず、イソパノースが残るであろうと推定される。

酵素糖化法によるぶどう糖製造について、今日までの経過と、それに関する技術的問題について記述した。最近、駒井⁽³⁸⁾らは触媒をまったく使用せず、高温下で激しい機械的衝撃を与えることで液化する方法を実用化し、酵素糖化に支障をきたさない方法を開発した。また、全製造工程中で糖化工程のみが 48~70 時間を要し、バッチワイズで行なわれているが、他の液化、精製工程はほとんど連続的に実施が可能である。糖化工程の連続化の一手段として、不溶性糖化酵素を調整してカラム状とし、その層を液化液を通過せしめて糖化しようとする目的のための研究がなされている。

このようなことから、酵素糖化法によるぶどう糖製造法にも、なお改良研究の余地が残されていると思われる。

文 献

- 1) Y. Komai: *Die Stärke*, 11, 346 (1965).
- 2) G. S. C. Kirchoff: *Acad. Imp. Sci. St. Petersburg, Mem.*, 4, 27 (1811).
- 3) J. K. Dale and D. P. Langlois: US Patent, 2,201,609 (1940).
- 4) 福本寿一郎: 日特許, 145,927 (1940).
- 5) 小巻利章: 澱粉工誌, 4, 1, 9 (1965).
- 6) G. Kita: *Ind. Eng. Chem.*, 5, 220 (1913).
- 7) L. L. Phillips and M. L. Caldwell: *J. A. C. S.*, 73, 3559, 3563 (1951).
- 8) 福本寿一郎, 辻阪好夫: 酵素化学シンポジウム, 9, 94 (1954).
- 9) Y. Tsujisaka, J. Fukumoto and T. Yamamoto: *Nature*, 181, 70 (1958).

- 10) R. W. Keer, F. C. Cleveland and W. J. Katzbeck: *J. A. C. S.*, 73, 3961 (1951).
- 11) D. P. Langlois and D. Reutschler: *Abst. Mtg. Amm. Chem. Soc.*, 1952, p. 8.
- 12) S. A. Beker and J. A. Fleetwood: *J. Chem. Soc.*, 73, 4857, 8865 (1957).
- 13) C. E. Weil, R. J. Burch and J. W. Vandyk: *Cereal Chem.*, 31, 150 (1954).
- 14) I. Yamasaki and S. Ueda: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 20, 148 (1956); 21, 379 (1957).
- 15) S. Hayashida: *ibid.*, 21, 386 (1957).
- 16) 北原覚雄: 醸工, 27, 254 (1949); 28, 388 (1950); 30, 72 (1952).
- 17) 岡崎浩: 農化, 28, 48, 51 (1954); 29, 181, 273, 277 (1955).
- 18) D. French and D. W. Knapp: *J. Biol. Chem.*, 187, 463 (1950).
- 19) H. Hattori: *Agr. Biol. Chem.*, 25, 737 (1961); 日特公報 35-15438 (1960).
- 20) 小巻利章: 農化大会シンポジウム講演, 1961, 4 (福岡).
- 21) T. Komaki: *Agr. Biol. Chem.*, 32, 123 (1968).
- 22) T. Komaki: *ibid.*, 32, 314 (1968).
- 23) 福井俊郎, 二国二郎: 農化, 38, 222, 226 (1964).
- 24) 福井俊郎, 二国二郎: 澱粉工誌, 11, 25 (1964).
- 25) H. W. Leach and T. J. Schocki: *Cereal Chem.*, 18, 34 (1961).
- 26) T. J. Schoch: 澱粉工業学会総会, 1966, 6 (東京).
- 27) 松田長治, 草井清, 塚本誠, 小巻利章: US Patent, 3, 297,480 (1967); 日特公報, 39-7373 (1964).
- 28) 小巻利章, 田治襄: アミラーゼ, シンポジウム講演, 1967, 11(大阪); 澱粉工業学会中部支部大会講演, 1968, 2 (名古屋); *Agr. Biol. Chem.*, 32, 860(1968).
- 29) 小巻利章, 松葉豊, 岡本昇, 山田哲也, 沢田幸造: 澱粉工誌, 7, 89 (1960).
- 30) W. G. Kingma: *Die Stärke*, 9, 284 (1965).
- 31) 福本寿一郎: 農化大会シンポジウム, 1961, 4(福岡); 澱粉糖技研会報, 24, 133 (1961).
- 32) 黒岩城雄, 中村亦夫: 工化, 64, 942 (1961).
- 33) 田村太郎, 柴田茂久, 川瀬延也, 佐伯文夫, 鈴木繁男: 澱粉糖技研会報, 24, 45 (1961).
- 34) 渡辺敏幸, 川村杉生, 松田和雄: 農化, 40, 306 (1966).
- 35) 渡辺敏幸, 川村杉生, 菅原敬子, 松田和雄: 農化, 40, 401 (1966).
- 36) 小巻利章: アミラーゼシンポジウム講演, 1965, 6 (大阪).
- 37) Y. Ohta, Y. Sumie and S. Ueda: *Die Stärke*, 10, 327 (1967); 11, 363 (1967).
- 38) 駒井嘉彰: アミラーゼシンポジウム講演, 1967, 11 (大阪).

リ プ リ ン ト
TOKYO UNIVERSITY INTERNATIONAL EDITION 28

Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Vol. 32, "Antibodies"

Cold Spring Harbor Laboratory 編
(1967 年夏開催のシンポジウム 60 篇を含む)

600 頁, 菊変判, 定価 ¥ 3,800

<リプリント普及会> 会員価格 ¥ 3,200

東京都文京区 東京大学出版会 振替 東京 59964
本郷東大橋内 電話 811-4281