[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol. 59, No. 2, pp. 143~151, 1985]

甜菜糖製造工程の多糖類による濾過障害と その改善に関する研究

佐山晃司, 鎌田 隆, 村椿孝行, 本庄克也

(日本甜菜製糖株式会社総合研究所)

昭和 59 年 9 月 6 日 受 理

Decrease in Filtration Velocity by Polysaccharides and Its Increment by Dextranase Treatment in Beet Sugar Manufacturing Process

Kouji SAYAMA, Takashi KAMADA, Takayuki MURATSUBAKI and Katsuya HONJO

Research Laboratories of Nippon Beet Sugar Mfg. Co.,

w-13, s-9, Inada-cho, Obihiro 080

In the manufacturing process of beet sugar, filtration velocity was decreased by polysaccharides produced by bacteria. High molecular standard dextran ($MW \geq 5 \times 10^6$) and native dextran obtained from deteriorated beets were found to cause a decrease in filtration velocity at the second carbonation when the level of these dextrans in raw juice was more than 200 ppm. These dextrans tended to be absorbed by $CaCO_3$ particles formed during carbonation. Low molecular standard dextran ($MW \leq 7 \times 10^4$) and native levan obtained from beet molasses were found to have no effect on the second carbonation filtration and easily filtered at the final filtration stage. High molecular dextran has been shown to cause a reduction in the agglomerate production of $CaCO_3$ particles in the second carbonation, and this suggests the main reason for the decrease in filtration velocity. The second carbonation filtration in the dextran-containing raw juice was improved by the addition of an endo-type dextranase to the raw juice at ratios of 1:50 to 1:100 of dextran.

(Received September 6, 1984)

緒 言

北海道における甜菜の収穫は 10 月上旬から、11 月中旬にかけて行われる。収穫された甜菜は貯蔵場に搬入、貯蔵されたのち、工場の処理能力に合わせて計画的に搬出される。近年、甜菜の増産に伴い貯蔵期間は飛躍的に伸びる傾向にあり、翌年の 3 月末までの長期貯蔵も珍しくない状況となっている。このため、貯蔵技術の巧拙が企業の経営成績に直接影響を与えるため、この分野での技術の進展は顕著なものがある。

しかしながら、農作物の宿命として、短期間に大量に収穫、貯蔵されるため、収穫時の天候の影響を避けることは困難である。収穫時の降雨、降雪は貯蔵成績に悪影響を与え、また凍結した甜菜が貯蔵中に融解した場合も急激に品質の劣化をきたす。

劣化した甜菜が製糖技術上問題となるのは、還元糖と多糖類が増加することにある^(1,2)。前者はライミング、すなわち石灰添加工程でアルカリ分解して有機酸と色素物質を生成し、糖汁品質を低下させるのに対して、後者は濾過障害の原因となり、いずれの場合も製造費のコストアップは避けられない。

多糖類のうち、デキストランの製糖作業に及ぼす害作用については、甘蔗糖工業で以前より詳しく研究されている。すなわち収穫された甘蔗が工場に搬入される間に、切口より微生物汚染を受けてデキストランを生成し、これが糖汁の粘度を増加させて濾過障害を発生するとともに、蔗糖の結晶成長速度を遅延させ、さらに結晶形を針状化させて分蜜不良をきたし、製品品質を低下させることが知られている⁽³⁾。Inkerman^(4,5) は、この対策としてデキストラナーゼを検討し、 10^4 ダルトンまで分

解することにより、甘蔗糖製造時の結晶針状化作用を防止できることを報告している。

甜菜糖工業の場合、欧米では甜菜品質の劣化する前に製糖を終えることを原則としており、したがってデキストランの濾過障害に関する報告は少ない。Oldfield⁽¹⁾は粗汁のデキストラン含量が約 700 ppm で、第 2 炭酸飽充で生成する炭酸カルシウム結晶の微細化をきたし濾過障害を発生するが、たとえば沈降性炭酸カルシウムのごとき微細な炭酸カルシウムの結晶を第 2 炭酸飽充の際に添加すると、それを核として凝集体が形成され、濾過性が改善されることを報告している。

本報では、貯蔵中に微生物の作用で生成する多糖類（デキストラン、レバン）の濾過工程への影響を詳しく検討し、甜菜糖工業においてもデキストランが濾過障害の主因であることを明らかにし、その改善法としてデキストラナーゼの応用を試験し、さらに現場試験を行って効果を確認したのでその結果を報告する。

実験方法

1. 実験材料 天然デキストランは貯蔵場より採取した腐敗甜菜より得た。まず腐敗甜菜を合成調理機（日本調理機製造製）で細片とし、120% (w/w) の水を添加し 60°C で 1 時間抽出、ガーゼで濾過して得られた粗汁に石灰乳 (10%) を CaO 換算で 2% (w/v) 添加、85°C で 20 分間攪拌しながらライミングを行い、炭酸ガスで pH 9.0 まで炭酸飽充し、反応液をグラスファイバ濾紙（東洋濾紙、GC 90）で濾過した。次いで、この濾液を水道水で 3 日間透析（Union Carbide, 36/32 型）、濃縮、凍結乾燥してデキストランを得た。加水分解後、グルコースより求めた純度は約 81% であった。不純物の大部分はレバンであり、弱酸処理して透析することにより除去可能であったが、デキストランも一部低分子化する傾向を示したので、そのまま供試した。標準デキストランは Pharmacia Fine Chemicals 社の T シリーズを用いた。天然レバンは濾過障害発生時の糖蜜を透析し、残存するデキストランをデキストラナーゼで分解、再透析して除き、濃縮、凍結乾燥して得た。加水分解してフルクトースより求めた純度は約 97% であった。デキストラナーゼはデキストラナーゼ DL-2（三共製）を用いた。本酵素は *Chaetomium gracile* の生成する endo 型のデキストラナーゼである⁽⁶⁾。

2. デキストランの定量 Richards⁽⁷⁾ の方法に準

じて行った。すなわち、試料を濾過して二分し、一方はそのまま透析、他方は 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 5.1) 中でデキストラナーゼと反応させてデキストランを分解したのち透析し、両者の残存多糖類をフェノール硫酸法⁽⁸⁾で測定して、その差よりデキストランを求めた。

3. 分子量の測定 高速液体クロマトグラフィ (HPLC) を用い、以下の条件で測定した。装置：日立 638-30 型、カラム：TSK-gel G 6000 PW+G 5000 PW (7.5 mm×60 cm×2)、移動相：H₂O、流速：1.0 ml/min、温度：室温、検出器：RI, Shodex SE-11。

4. デキストラン分解パターンの測定 デキストランの 1% (w/v) 溶液 2 ml に、0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解した 0.1% (w/v) デキストラナーゼ溶液 0.2 ml を添加、55°C で所定時間反応させたのち、沸騰水中で 5 分間加熱して酵素を失活させ、メンブランフィルター (0.2 μ) で濾過し、その 25 μl を HPLC に注入した。HPLC の運転条件は前項と同じである。

5. 構成糖の測定 試料は糖液の場合、透析を 2 回行い、濾過、濃縮、凍結乾燥して調製した。濾液の場合は conc. HCl で pH 2 として溶解し、2 回透析し、濾過、濃縮、凍結乾燥して得た。凍結乾燥した試料を沸騰水中でデキストランは 2 N H₂SO₄ で 6 時間、レバンは 0.1 N H₂C₂O₄ で 30 分、アラバンは 0.2 N H₂C₂O₄ で 3 時間、ガラクトンは 2 N H₂SO₄ で 4.5 時間、それぞれ加水分解した。加水分解液を石灰乳で中和後、メンブランフィルターで濾過し分析に供した。測定は乳糖を内部標準として HPLC で、下記条件で行った。装置：日立 638-30 型、カラム：Bio Rad Aminex HPX-87 H (7.8 mm×30 cm)、移動相：0.01 N H₂SO₄、流速：0.6 ml/min、温度：60°C、検出器：RI, Shodex SE-11、データ処理：Sic 7000 A。

6. 粘度の測定 濃度 50% の蔗糖溶液に多糖類を添加溶解し、B 型粘度計（東京計器製作所製）を用い、20°C で測定した。

7. テスト炭酸飽充の条件 第 2 炭酸飽充工程における多糖類の濾過障害の判定は、モデル糖液（蔗糖 14 g, Ca(OH)₂ 80 mg, KCl 140 mg, NaOH 10 mg を純水で 100 ml とした。蔗糖以外は CaO 換算の値）に多糖類を添加溶解、80°C で pH 9.0 まで炭酸ガスを飽充して遠心分離 (1000 rpm, 5 分) し、上澄液の濁度を 720 nm (200 型、日立分光光度計) で測定することによって行った。

8. デキストラナーゼ必要量の算出 正常な甜菜より調製した粗汁に天然デキストラン 200 ppm を添加溶解し、これをデキストラナーゼで一定時間、60°C で処理したのち、ライミング (CaO 2%, 85°C, 20 分) および第1炭酸飽充 (pH 11.0) を行った。この濾液を用いて第2炭酸飽充 (80°C, pH 9.0) を行い、直径 7 mm の濾紙 (東洋濾紙, No. 2) で一定圧 (600 mmHg) で減圧濾過し、濾液が 200 ml に達するまでに要する時間を測定した。デキストランを含まない対照試料の濾過時間と同じにするに要する酵素量をもってデキストラナーゼの必要量とした。

9. 現場試験 1983/84 製糖期に土別製糖所で実施した。試験は 1983 年 11 月より、1984 年 2 月まで、毎月 1 回、約 1 週間の試験区間を設定し、デキストラナー

ゼ添加、無添加の条件で比較した。土別製糖所の清浄工程のフローシートを Fig.1 に示した。デキストラナーゼの添加は Fig.2 に示したごとく、粗汁ポンプの吸液側にチューブポンプ (MP 型、東京理化製) で行った。第1炭酸飽充汁の濁度は、糖汁を 30 分室温に放置後、上澄液を 720 nm で測定し、その吸光値で示した。

実験結果

1. 天然多糖類の特性

(1) 分子量 ゲル濾過クロマトグラフィ用カラムを用いて、HPLC で分子量分布を測定した結果を Fig. 3 に示した。標準デキストランの保持時間に対して、分子量の対数をプロットすると直線関係が得られた。これより天然デキストランには分子量 $10^7 \sim 10^8$ ダルトンの

Fig.1. Flow Sheet of Carbonation Process in Beet Sugar Manufacture.

Fig.2. Condition of Enzymatic Reaction. Dextranase DL-2 was added to the raw juice by micro tube pump.

Fig. 3. Gel Filtration Chromatograms of Native Polysaccharides. Instrument: Hitachi 638-30 HPLC. Column: Toyo Soda TSK-gel G 6000 PW+G 5000 PW, 7.5 mm ϕ $\times$ 600 mm $\times$ 2. Mobile phase: DDI H₂O. Sample size: 1%, 25 μ l. Flow rate: 1.0 ml/min. Temperature: room temp. Detector: RI Shodex SE-11. Standard dextrans: —, T-500 (MW 5×10^5); ---, T-70 (MW 7×10^4); T-10 (MW 1×10^4).

高分子成分の割合が高く、一部 $10^4 \sim 10^6$ ダルトンの分子量成分が含有されていることがわかった。

天然レバンの分子量も、天然デキストランに類似した分子量分布を示し、高分子構造と推察された。

(2) デキストラナーゼによる分解の経時変化 天然デキストランと T-2000 (MW 2×10^6) のデキストラナーゼによる分解状況の経時変化を Fig. 4 に示した。酵素添加量はデキストランの 1/100 である。両者とも容易に分解されて低分子化し、反応時間 3 分ではほぼ 10^4 ダルトンとなった。反応時間 60 分ではさらに分解が進行してグルコース、イソマルトースおよびオリゴ糖を生成した。天然デキストランで未分解の多糖類が存在したが、不純物として試料中に含有されているレバンと思われる。

(3) 炭酸飽充への影響 モデル糖液を用い第 2 炭酸飽充での多糖類の影響を検討した。Oldfield⁽¹⁾ はデキストランが存在すると、第 2 炭酸飽充で生成する炭酸カルシウムの粒径が微細となり、これが濾過障害の原因であることを報告している。したがって、一定条件で遠心分離して上澄液の濁度を測定することにより、多糖類の

Fig. 4. Hydrolysis Pattern of Dextran T-2000 and Native Dextran by Dextranase DL-2. A 0.1% dextranase DL-2 solution was prepared in 0.01 M phosphate buffer (pH 7.0), and a 0.2 ml of 0.1% dextranase DL-2 solution was added to a 2 ml of 1% dextran solution. The reaction mixture was incubated for each time at 55°C, inactivated by heating for 5 min in a boiling water bath, and filtered by 0.2 μ m membrane filter. Then a 25 μ l of resultant solution was injected into HPLC. Analytical conditions of HPLC were the same as in Fig. 3. Standard dextrans: —, T-2000 (MW 2×10^6); ---, T-500 (MW 5×10^5); T-10 (MW 1×10^4).

影響を判定することが可能である。実験結果を Fig. 5 に示した。上澄液の濁度はデキストランの分子量ときわめて密接な関係が見られ、T-10 (MW 10^4) が最も低く、分子量が増すに従って高い値となり、天然デキストランで最大であった。また、分子量によって 2 グループに分類され、T-500 (MW 5×10^5) 以上では 100 ppm まで濁度は直線的に急増し、それ以上の濃度では緩やかに増加するのに対し、T-70 (MW 7×10^4) 以下では濃度が増しても濁度の増加は少なかった。このことは、デキストランを分子量 10^4 ダルトン程度に分解することで、炭酸飽充での濾過障害を回避することが可能なことを示唆している。

顕微鏡で生成する炭酸カルシウムの結晶を観察した

ところ、デキストランが高分子の場合、若干微細になる傾向を示したが、それよりも結晶同士の吸着による凝集体の生成に顕著な差異があり、天然デキストランではほとんどその生成が見られなかった。すなわち、高分子デキストランによって凝集体の生成が阻止されることにより、見掛けの粒径が小さくなり、これが濾布の目詰りを起こして、濾過障害を発生すると思われた。

一方、天然レバンは天然デキストランと同様高分子であるにもかかわらず、濁度の増加に及ぼす影響は T-10 以下であり、第 2 炭酸飽充工程の濾過障害には全く関与しないと結論された。

(4) 粘度への影響 製糖中にシュガーエンド、すなわち、精製糖液を濃縮して蔗糖を結晶化させる工程で、糖液の粘度上昇のため濾過障害を発生することがしばしば経験される。そこで、多糖類の糖液粘度に及ぼす影響を試験し、その結果を Fig. 6 に示した。デキストランでは分子量の大なるほど、糖液の粘度を増加させる作用が大であり、天然デキストランの作用が最も大きかった。また、蔗糖と共存すると単独の場合より粘度は増加し、相乗効果の存在することが見られた。

Fig. 5. Effect of Polysaccharides on Turbidity of 2nd Carbonation Juice. Polysaccharide was dissolved in a model sucrose solution (sucrose 14 g, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 80 mg as CaO, KCl 140 mg as CaO, NaOH 10 mg as CaO filled up 100 ml with H_2O). The solution was carbonated at 80°C to pH 9.0, and centrifuged at 1000 rpm for 5 min. Turbidity of the supernatant was measured at 720 nm by Hitachi Spectrophotometer model 200-20. Polysaccharides: ●, native dextran; ▲, native levan; ○, T-10; △, T-40; □, T-70; ■, T-500; ◎, T-2000.

天然レバンの粘度増加作用は T-500 相当であり、糖液の粘度に対しては無視できない影響を示した。

(5) デキストラナーゼの必要量 本酵素の至適 pH 5~6, および温度 60°C より⁽³⁾, デキストランの分解は粗汁で行うのが最も適している。デキストランを含有していない健全な甜菜より得た粗汁に天然デキストランを添加し、デキストラナーゼ添加量を変えて反応させたのち、通常の方法に従ってライミング、炭酸飽充を行って、第 2 炭酸飽充の濾過速度より、必要酵素量を求めた。結果を Fig. 7 に示した。これより、デキストラン濃度 200 ppm で反応時間 5 分の場合、対照と同様の濾過速度を得るには 2 ppm, すなわち、デキストランの 1/100 の酵素量が必要であった。

2. 現場試験

現場試験の行われた土別製糖所は、北海道の北部に位置し、収穫期の天候は不順で降雨の日が多く、しかも降雪が早く、このため甜菜は圃場で凍結する機会も多い。

Fig. 6. Effect of Polysaccharides on Viscosity of Sucrose Solution. Polysaccharide was dissolved in 50% (w/w) sucrose solution and viscosity was measured at 20°C by Tokyo Keiki B-type viscometer. As reference, an aqueous solution of T-2000 was also examined. Polysaccharides: ●, native dextran; ▲, native levan; ○, T-10; △, T-40; □, T-70; ■, T-500; ◎, T-2000; ○, T-2000 (in water).

Fig. 7. Effect of Addition of Dextranase on Filtration Time. Raw juice was prepared as follows. The brei of sound beet was diffused in 120% (w/w) H_2O for 1 hr at $60^\circ C$. Two hundred ppm of native dextran was added to the raw juice. The juice was incubated for each time at $60^\circ C$ after adding various amount of dextranase, limed for 20 min at $85^\circ C$ after addition of 2% CaO , carbonated to pH 11.0, filtered by Nutsche funnel precoated with the kieselguhr. Filtrate was carbonated to pH 9.0 at $80^\circ C$, filtered with No. 2 filter paper (Toyo, 7 mm ϕ) at 600 mmHg. Filtration time required to reach 200 ml of the filtrate was measured. Results were shown as the relative filtration time to the blank of the non-addition of native dextran. Reaction time: ○, 2.5 min; ●, 5.0 min.

加えて、粘土地帯のため甜菜の付着土量は他製糖所よりもはるかに多く、貯蔵上きわめて不利な条件下にあり、数年おきに第2炭酸飽充工程で濾過障害が発生していた。

Table I に士別製糖所の粗汁中のデキストラン含量を示した。貯蔵期間が長いほどデキストラン含量は増加し、1984年2月の平均値は146 ppmであった。しかし、この時期の甜菜品質のばらつきは大であり、このためデキストラン含量も大きく変動し最大300 ppmに達した。また、粗汁中のデキストラン濃度が200 ppmを越えると、第2炭酸飽充で濾過障害が確実に発生した。Table II に貯蔵100日目の甜菜を劣化の程度で分類し、分析した結果を示した。最も劣化の進んだ甜菜のデキストラン含量は約2%に達した。劣化甜菜は貯蔵場より搬出するさい、および工場で処理するさい選別廃棄されるが、一部が工程に混入し、粗汁のデキストラン濃度を高め

Table I. Changes in Dextran Contents of Raw Juice and their Effect on the Turbidity of 1st Carbonation

Date of sampling	Dextran content (mg/liter) ^a	Dextranase addition ^b	Turbidity of 1st carbonation ^c
16 th~22 th November 1983	2	+	0.120
		—	0.125
14 th~20 th December 1983	56	+	0.194
		—	0.239*
17 th~24 th January 1984	75	+	0.237
		—	0.268*
13 th~20 th February 1984	146	+	0.343
		—	0.403*

^a Average value of the test period. ^b Dosage of dextranase was 4 g/ton raw juice. ^c Turbidity was determined at 720 nm. * Significance at 5% level.

Table II. Dextran Content of the Long-Term Storage Beets

Appearance of beet ^a	Dextran (%)
Sound	0.014
About half deteriorated	0.575
Almost deteriorated	1.980

^a Beets were classified with visual appearance of longitudinally sectioned surface.

る。

Fig. 2 に示したごとく、酵素の添加は粗汁ポンプの吸液側にチューブポンプで連続的にを行い、至適温度 $60^\circ C$ で5分の反応時間が確保された。なお粗汁の pH は約6である。酵素添加量は、粗汁のデキストラン含量を200 ppmと想定し、Fig. 7 より2 ppmの添加を必要とするが、混合不良を勘案して、2倍量の4 ppmとした。この結果、すべての試験期間で、デキストラナーゼ添加の際、第2炭酸飽充での濾過障害は全く発生しなかった。1984年2月の試験終了後、酵素添加量を2 ppmに減じて、製糖終了まで連続添加したところ、この場合も濾過障害は見られず、基礎試験のデータがそのまま現場に適用可能と結論された。工程汁の分析値で、デキストラナーゼの添加により有意差を示す項目を検討した結果、Table I に示したように、第1炭酸飽充のシックナー、すなわち沈降槽の上澄液の濁度に認められ、しかもデキストラン濃度の低い1983年12月で、すでに有意差があり、低濃度でもデキストランが第1炭酸飽充の炭酸カルシウムの凝集体生成に影響することを示唆していた。

デキストラナーゼ添加および無添加のさいの清浄工程の主要な糖汁と濾滓のデキストランを測定し、物質収支を取った結果を Fig. 8 および Fig. 9 に示した。さらに、両者を簡略化して対比した結果を Fig. 10 に示した。Fig. 10 より、デキストラナーゼ添加により清浄工程でのデキストランの分布に顕著な差異を生じ、無添加の場合 62% が濾滓に吸着されて工程外へ除かれるのに対して、添加した場合濾滓への吸着は大幅に減少し、第 2 炭酸飽充濾液に 77.5% が移行した。このことは、デキストラナーゼによりデキストランが低分子化すると、炭酸カルシウム結晶への吸着能は低下し、糖汁に残存する性質に変化することを示している。また、酵素無添加の場合、粗汁のデキストランの約 50% が第 1 炭酸飽充の濾滓とともに系外へ除かれることから、濾過障害を発生する粗汁のデキストラン濃度 200 ppm は、第 2 炭酸飽充では 100 ppm に相当し、これは Fig. 5 の結果とよく一致する。

Fig. 8. Material Balance of Carbonation Process with Addition of Dextranase. Dextran was analyzed by enzyme dialysis method.

Table III に糖汁および濾滓より回収した多糖類の構成糖の分析結果を示した。デキストランは第 2 炭酸飽充濾滓に吸着され、とくにデキストラナーゼ無添加の場合 80% 以上を占めた。レバンは濾滓にほとんど吸着されず、アラバンおよびガラクトンはデキストランと同様濾滓に多かった。レバンが糖汁に移行することは、糖蜜の多糖類の分析でも示され、Table IV に示したごとく、濾過障害発生時のレバン含量はデキストランを大幅に上回った。

Fig. 9. Material Balance of Carbonation Process without Addition of Dextranase. Dextran was analyzed by enzyme dialysis method.

	With Dextranase	Non Dextranase
Raw Juice	100 (%)	100 (%)
→ Oliver Cake	17.8	51.7
→ 2nd Cake	4.7	10.3
2nd Carbonation Juice	77.5	38.0

Fig. 10. Dextran Balance of Carbonation Process.

Table III. Composition of Polysaccharides of Filter Cakes and 2nd Carbonation Juice

Sample	Dextranase addition	Polysaccharides (%) ^a			
		Dextran	Levan	Araban	Galactan
1st cake	+	20.5	12.7	30.2	36.6
	—	33.0	8.7	28.4	29.9
2nd cake	+	60.3	5.3	16.7	17.7
	—	84.2	2.6	5.7	7.5
2nd carbonation juice	+	23.7	57.8	7.5	11.0
	—	26.2	54.6	8.6	10.6

^a Samples of Feb. 1984 were applied and the figures were expressed as ratio of individual polysaccharides.

Table IV. Composition of Polysaccharides in Molasses

Sample	Total polysaccharides (mg/kg)	Dextran (mg/kg)	Levan (mg/kg)	Araban (mg/kg)	Galactan (mg/kg)
Molasses from sound beet	2,262	706	324	720	217
Molasses from deteriorated beet	20,158	4,220	14,429	981	— ^a

^a Not estimated.

考 察

高分子デキストランによる第2炭酸飽充での濾過障害発生のメカニズムについては十分な検討がなされていない。Oldfield⁽¹⁾は炭酸カルシウム結晶の微細化をこの原因に挙げている。われわれの知見では、確かに炭酸カルシウムの結晶は、高分子のデキストラン(MW 5×10^5 以上)の添加により微細化する傾向を示したが、それ以上に結晶同士の凝集が阻止され、見掛けの粒径が小さくなることが、濾過障害のより大きな原因と思われ、とくに天然デキストランでその凝集阻止作用が大であった。なお、同様な現象が劣化甜菜の糖分分析のさいにも観察された。甜菜の糖分は通常ブレンダーで粥状とした試料に塩基性酢酸鉛溶液を添加し、蛋白などの不純物を凝集させて濾過し、検糖計で糖度を測定するが、デキストランを多量に含有する腐敗した甜菜では、濾過不良および濾液に濁りの漏れが著しく、分析はきわめて困難であった。しかし、試料にあらかじめデキストラナーゼを添加、混合し数分放置してデキストランを低分子化することにより容易に解決できた(未発表データ)。この場合も高分子デキストランにより、鉛塩凝集体の生成が阻止され微細化したことが原因であり、炭酸飽充の場合と類似の作用機構によるものと思われる。なお、甜菜糖の場合も甘蔗糖と同様、デキストランの完全分解は不要であり、 10^4 ダルトン程度に分解することで、第2炭酸飽充およびシュガーエンドでの濾過障害を十分阻止することができ、このことは endo 型の酵素が有利であることを

示している。

現場試験の結果より、粗汁のデキストラン濃度が 200 ppm 以上で第2炭酸飽充の濾過障害が発生するが、この数値は Oldfield⁽¹⁾の報告している 700 ppm と差異が大きすぎる。分析法⁽⁹⁾の異なることもあるが、基本的には供試した甜菜のデキストランの分子量に差異のあることが考えられ、分子量を明確にして比較検討することが必要であろう。Charles⁽¹⁰⁾によると甘蔗糖の場合、ゲルクロマトグラフィーで測定したデキストランの分子量は約 2×10^6 , 5×10^5 , 7×10^4 ダルトンに主要なピークがあり、甜菜糖の場合よりかなり小さいことが報告されている。このことは、貯蔵期間が長く、したがってそれだけ微生物汚染を長期間受ける北海道の甜菜の場合、生成されるデキストランはより高分子となっていることを示唆するものと思われる。

デキストランと同様、貯蔵中に微生物の作用で生成するレバンは、高分子にもかかわらず第2炭酸飽充の濾過には全く影響を示さず、また濾滓に吸着されることも少なく、大部分がシュガーエンドに移行する。Reinefeld⁽¹¹⁾はレバンが炭酸飽充で濾過障害に関与することを報告しているが、Shore⁽²⁾はこれを否定しており、われわれの知見と一致する。しかし、シュガーエンドでの濾過障害に関与していることは十分考えられ、今後対策を検討したい。

デキストランとレバンの挙動の比較より、炭酸飽充のさい炭酸カルシウムの結晶に吸着されやすい多糖類が、濾過障害と密接な関係があることが予想され、この点、

デキストランと同様に吸着性の高いアラバンおよびガラクトタンなどのヘミセルロースについても今後検討を要する。

実験に使用したデキストラナーゼは現在う蝕防止の目的で歯磨に添加使用されており、安全性について十分検討されている⁽¹²⁾。甜菜糖工場での使用量はデキストランの 1/50~1/100 と少量であり、とくに反応槽の設置も不要で、その経済的効果はきわめて高いものと考えられる。

要 約

甜菜の貯蔵中に微生物により生成する多糖類、すなわちデキストランおよびレバンの濾過作業に対する影響を検討した。

両者とも分子量は $10^6 \sim 10^9$ ダルトンと類似した高分子構造を有していたが、炭酸飽充に対する影響には顕著な差異があり、デキストランが粗汁中に 200 ppm 以上、第2炭酸飽充で 100 ppm 以上存在すると濾過障害を発生するのに対し、レバンは全く影響を示さなかった。高分子のデキストラン (MW 5×10^5 以上) には、第2炭酸飽充で生成する炭酸カルシウムの結晶に吸着し、凝集体の生成を阻止する作用があり、このため見掛けの粒径が小さくなり、濾布の目詰りを起こして濾過障害を発生すると結論された。このデキストランの作用は、低分子化すると減少し、標準デキストランで検討した結果、分子量 10^4 ダルトンでは実用上無視できる結果を得た。一方、シュガーエンドの濾過障害に対しても高分子デキストランが主因と考えられ、この場合も分子量 10^4 ダルトン程度に分解すると濾過障害を解消できる結果が得られた。レバンはシュガーエンドの濾過障害には無視できない影響を有していた。

次に、デキストランの低分子化の目的で、endo 型デキストラナーゼの応用を検討した。デキストラナーゼによるデキストランの分解反応はきわめて容易に進行し、粗汁中のデキストラン当り 1/100 の添加量で 60°C, 5

分の反応により 10^4 ダルトンまで分解した。

引続き現場試験を行った結果、粗汁中のデキストラン当り 1/50~1/100 のデキストラナーゼの添加により、第2炭酸飽充の濾過障害は完全に解消する結果が得られ、その実用性を確認することができた。

終りにのぞみ、本研究の発表を許可された日本甜菜製糖株式会社総合研究所増田昭芳所長、御助言を賜った北海道大学農学部坂村貞雄教授、および三共株式会社醸酵研究所研究第二室長湊 貞正博士に厚く御礼申し上げます。

- (1) J. F. T. Oldfield, J. V. Dutton and H. J. Teague: *Int. Sugar J.*, **73**, 3 (1971).
- (2) M. Shore, J. V. Dutton and B. J. Houghton: *Int. Sugar J.*, **85**, 106 (1983).
- (3) R. L. Sidebotham: "Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry," Vol. 30, ed. by R. S. Tipson and D. Horton, Academic Press Inc., New York, N. Y., 1974 p. 317.
- (4) P. A. Inkerman and G. P. James: *Proc. Queensl. Soc. Sugar Cane Technol.*, **43**, 307 (1974).
- (5) P. A. Inkerman: *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 17th Congress (Manila, Philippines), 2411 (1980).
- (6) A. Hattori, K. Ishibashi and S. Minato: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2409 (1981).
- (7) G. N. Richards and G. Stokie: *Int. Sugar J.*, **76**, 103 (1974).
- (8) M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. S. Smith: *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956).
- (9) *Proc. 18th Session ICUMSA* (Dublin), p. 265 (1980).
- (10) D. F. Charles: *Int. Sugar J.*, **86**, 105 (1984).
- (11) E. Reinefeld: *C. R. 15^e Ass. Gen. C. I. T. S.*, 247 (1975).
- (12) 湊 貞正: *農化*, **57**, 155 (1983).