

カンショ固定化 β -アミラーゼを利用したマルトースの生産

野田高弘・古田 收・須田郁夫 (九州農業試験場)

Takahiro NODA, Shu FURUTA and Ikuo SUDA
Maltose production using immobilized sweet potato β -amylase

カンショ (*I pomea batatas*) 塊根中には多量の β -アミラーゼが含まれ、これを有効に活用できればカンショの新たな需要開拓につながる。カンショ塊根中の β -アミラーゼが固定化でき、熱安定性も向上することはすでに報告した¹⁾。一方、澱粉からマルトースを生産するには、 β -アミラーゼだけでなく澱粉の枝切り酵素であるプルラーゼも必要である。本研究では、プルラーゼの固定化酵素と、カンショ固定化 β -アミラーゼを併用したマルトース生産について検討した。

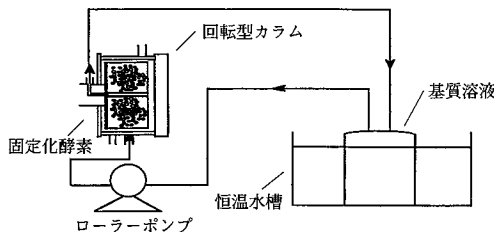
1. 材料および方法

1) 供試材料 カンショ β -アミラーゼとして、高 β -アミラーゼ系統である九系 90105-14の粉末から抽出した粗酵素液を、プルラーゼとして、*Klebsiella sp.*由来のもの(天野製薬製)を用いた。これらの酵素をキトサル BCW3505 に吸着固定化させ、以下の実験に供した。

2) バッチ式による反応 カンショ固定化 β -アミラーゼと固定化プルラーゼを併用した反応と、プルラーゼの添加効果を見るために、固定化 β -アミラーゼ単独の反応との2条件で行った。また、併用する場合での実験では基質(液化澱粉)濃度の影響についても検討した。

3) バイオリアクターによる反応、回転型カラムリアクター(第1図)を用いて行った。反応がほぼ終了する48時間後にポンプ逆流させ、反応液を回収し、反応液中の生成物を分析した。次いで、新たな基質溶液を加え、繰り返し反応を行った。

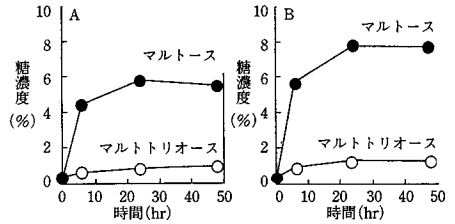
4) 生成物の分析 2), 3) で生成したオリゴ糖は高性能アニオン交換クロマトグラフィーによって分析した。



第1図 回転型カラムリアクターの概略図
注) 矢印は基質溶液の移動方向を示す

2. 結果および方法

バッチ式においては(第2図)、固定化 β -アミラーゼ単独、48時間反応でマルトース濃度は5.4% (生成率52.2%) だったのに対し、固定化プルラーゼを併用した場合には7.5% (生成率71.1%) まで上昇し、プルラーゼの併用効果が認められた。いずれの反応においてもマルトリオースはマルトース量の12~18% 副生した。



第2図 バッチ式によるマルトースの生産

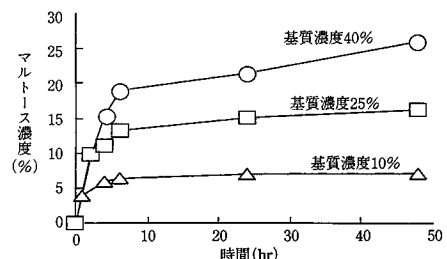
注) A β -アミラーゼ単独
B β -アミラーゼ-プルラーゼ複合
反応条件 基質(液化澱粉)濃度10%、固定化 β -アミラーゼ16ユニット 固定化プルラーゼ13ユニット(Bのみ添加)、液量10ml、反応温度50°C、反応pH6.0

次いで、基質濃度の影響について検討したところ、10、25、40%と濃度上昇するにつれ、反応速度もほぼ直線的に増加し、生成物阻害をほとんど受けていないことが判明した(第3図)。マルトースの生産効率を高める意味から、以後の実験では基質濃度は40%と設定した。

回転型カラムリアクターを用いた結果、カンショ固定化 β -アミラーゼを*Klebsiella sp.*固定化プルラーゼと併用することで、50°Cの条件下で10日間において効率的かつ安定的なマルトース生産(生成率で約70%)が可能となった(第4図)。

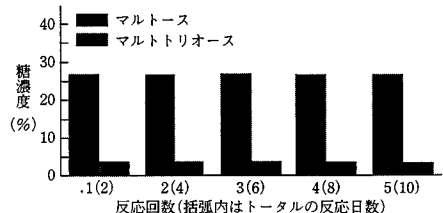
引用文献

- 1) 野田高弘 古田 收 須田郁夫 日本食品科学工学会第46回大会講演集, 83, 1999.



第3図 基質濃度のマルトース生成に及ぼす影響

注) 反応条件 基質濃度以外の条件は第2図-Bに同じ



第4図 回転型カラムリアクター利用による固定化酵素の長期安定性

注) 反応条件 基質(液化澱粉)濃度40%、固定化 β -アミラーゼ1600ユニット 固定化プルラーゼ1300ユニット 液量1ℓ ポンプ回転数60rpm、反応槽回転数60rpm、反応温度50°C、反応pH6.0