

エタノール分画における酵素液の pH と酵素蛋白の精製の程度を示す 280 m μ /260 m μ 吸光比は Fig. 7 に示す関係にあり, 蛋白の最もよく沈でんする pH 6 ではその比が最も低く, 酵素液の pH が 6 よりはなれるにしたがい高くなった。

一方, エタノール分画における酵素液の pH の影響を操作面から観察すると, エタノール処理における濾過速度は酵素液の pH が低くなるほど速く, pH が高くなるにしたがい細かい沈でんが生じ濾過速度は急激に遅くなった。エタノール処理酵素液の清澄度は濾過の場合には, 濾過速度とは逆に沈降 pH が高いほど澄明な酵素液が得られた。

エタノール濃度を 70% にしたときの沈でん蛋白量は pH 6 付近がもっとも多く, 酵素液の pH が 6 を離れるにしたがい漸次少なくなった。そしてこのときの酵素の沈でん時間は pH 4 の酵素液の場合約 30 分, pH 6 の酵素液の場合約 15 分, pH 8 の酵素液の場合約 35 分であり, pH 9 の酵素液では 45 分以上必要であった。しかも酵素液の pH が低い場合や高い場合には沈でんと上清の境界面が不明瞭で酵素の沈降状態は良好とはいえなかった。

真空乾燥して得た粗酵素は, pH 6 付近でエタノール分画された場合には比較的軽い, 粒度の小さい均一な粉末状態であり, 色も黄白色であるが, pH が 6 より離れるにしたがい粒度は粗く, 重質で, 色は黒褐色になる傾向を示した。とくに粗酵素の着色の程度は酸性よりアルカリ性側でエタノール分画するときに著しく強くなった。pH 4 および pH 9 の酵素液ではエタノール分画時または真空乾燥時におけるアメラ化傾向が著しく, 良好な粗酵素を得ることは困難と考えられるが, pH 8 におけるエタノール分画ではほぼ良好な粗酵素が得られ, 分画物の重量に対するプロティナーゼ活性および色素量, プロティナーゼ活性収率, 280 m μ /260 m μ 吸光比などにより, pH 8 でエタノール分画することがこのましいものと考えられる。

以上, *Aspergillus melleus* の産生するプロティナーゼのエタノール分画について検討した。このように粗酵素を得る段階で pH 処理とエタノール分画を併用することにより, 単なるエタノール沈でんのみに比して約 3 倍の比活性の上昇をみることができ, この方法はプロティナーゼの精製結晶化原料としての粗酵素を得るのに最も適した方法と思われる。

要 約

Aspergillus melleus の産生するプロティナーゼの部分精製をエタノール分画法によって検討した。その結果, エタノール分画の最適条件はプロティナーゼ活性, 色素量, 280/260 m μ 吸光比, 分画操作における困難性等より推察し, pH 8, エタノール濃度 50—70% であった。

杉浦 衛, 伊藤万蔵: *Aspergillus melleus* の産生するプロティナーゼの
イオン交換樹脂による脱色 (酵素剤の研究第45報)¹⁾

Mamoru Sugiura, Manzo Ito: Decolorization of Proteinase
from *Aspergillus melleus* by Ion Exchange Resin
(Studies on Enzymes XLV)¹⁾

(Received October 3, 1969)

Summary

The decolorization of crude proteinase from *Aspergillus melleus*, was investigated by anion-exchange-resin

1) 第44報: 杉浦衛, 伊藤万蔵, 岐阜薬大紀要 19 37 (1969)

method.

From the results, it was found that Amberlite IRA 93 (weak basic anion-exchange-resin) excelled as the decolorizer of the crude proteinase.

著者らは、前報において *Aspergillus melleus* の産生するプロティナーゼのエタノール分画について検討した¹⁾。
Aspergillus melleus はプロティナーゼを産生すると同時に、色素も多量に産生するので、プロティナーゼの精製にあたり脱色操作は重要な操作の一つである。

今回はイオン交換樹脂を使用してプロティナーゼまたは色素を選択的に吸着せしめ、*Aspergillus melleus* の産生するプロティナーゼの粗酵素中に狭雑している色素を除去する目的で、イオン交換樹脂による脱色条件について検討したので報告する。

実験の部

実験材料と実験方法

粗酵素の調製

前報の検討にもとずき、*Aspergillus melleus* を培養した麩麴よりプロティナーゼを抽出し、抽出液の pH を 10% Ca(OH)₂ 懸濁液にて pH 8.0 に調整後、冷エタノールを加えてエタノール濃度 50—75% (v/v) の間で沈殿する分画をとり、真空乾燥した。

酵素活性測定法

第 43 報に準じておこなった²⁾。

色素の定量

第 43 報に準じておこなった²⁾。

イオン交換樹脂の調製

イオン交換樹脂は強酸性陽イオン交換樹脂として Amberlite 200, 弱酸性陽イオン交換樹脂として Amberlite IRC 50 を用い、強塩基性陰イオン交換樹脂として Amberlite IRA 401, 弱塩基性陰イオン交換樹脂として Amberlite IRA 68 を用いた。

これらの樹脂は下記の操作により各種塩形に調製した。

1) 予備洗滌

Amberlite 200 の市販品は NaR 形であるからガラスフィルター上で先づ樹脂の 10 倍量の 2N HCl で洗い、水洗後 2N NaOH で NaR 形にもどし、再び水洗後 2N HCl で HR 形にしたのち洗液に Cl⁻ がなくなるまで水洗し風乾した。

Amberlite IRA 401 は RCl 形で市販され、Amberlite IRA 68 は ROH 形で市販されているが、いずれも 1N HCl および 1N NaOH (Ba(OH)₂ を加えて CO₃²⁻ を除いたもの) で交互に洗滌し、最後に 1N NaOH で ROH 形にした後充分水洗した。

2) 塩形の調製

陽イオン交換樹脂：予備洗滌した HR 形樹脂に交換容量の 10 倍量の塩基または塩の水溶液を加え、30 分攪拌後水洗し、濾過、風乾した。

塩基としては 0.1N の NaOH, KOH, NH₄OH, Ca(OH)₂, Ba(OH)₂ および 2% のアニリン、ピリジン、アク

2) 杉浦衛, 伊藤万蔵, 岐阜薬大紀要 19 29 (1969)

リノールを, 塩としては 1M の $MgSO_4$, $Al_2(SO_4)_3$, $FeSO_4$, $MnSO_4$, $CuSO_4$, $CoCl_2$, $Pb(OAc)_2$, $Zn(OAc)_2$, $[Cu(NH_3)_4]SO_4 \cdot H_2O$ を用いた.

陰イオン交換樹脂: 予備洗滌した ROH 形の樹脂に交換容量の 10 倍量の酸または塩の水溶液を加え, 30 分攪拌後, 水洗, 濾過, 風乾した.

酸としては 0.1N の HCl, HBr, HI, HF, H_2SO_4 , H_3PO_4 , H_3BO_3 , 酢酸, 乳酸, 蔞酸, コハク酸, 酒石酸, タンニン酸, モノクロル酢酸, トリクロル酢酸, チオグリコール酸, クエン酸を, 塩としては 0.1M の溶性バルビタール, 溶性フェノバルビタール, サリチル酸ナトリウム, タングステン酸ナトリウム, モリブデン酸ナトリウムを用いた.

陽イオン交換樹脂は 80° で真空乾燥し, 陰イオン交換樹脂は 40° で減圧シリカゲルデンケータにて乾燥し, 乳鉢で粉碎, 200 mesh の篩で篩過し調製した.

実験結果と考察

各種イオン交換樹脂によるプロティナーゼおよび色素の吸着

1) 陽イオン交換樹脂

粗酵素の 1% 水溶液 50 ml に各塩形に調製したイオン交換樹脂 0.5 g を加え, 30 分振盪後濾過し, 濾液の残存プロティナーゼ活性および残存色素量を測定した.

結果は Table I および II に示す. 強酸性陽イオン交換樹脂である Amberlite 200 では, 色素の吸着が特に著しい塩形はみられなかったが, プロティナーゼの吸着が非常によい樹脂形として HR, AIR₃, CoR₂, Acrinol R 等が認められた. これらの塩形はすべて残存色素/残存プロティナーゼの比が 10 以上であり, クロマトグラフィー

TABLE I. Adsorption of Proteinase and Pigment by Amberlite 200

Form	Remaining rate, %		Pigment Proteinase
	Proteinase	Pigment	
HR	0	47.8	∞
NaR	61.5	95.0	1.54
KR	95.0	100.0	1.05
NH ₄ R	59.4	93.3	1.57
CaR ₂	82.0	100.0	1.22
BaR ₂	115.0	89.0	0.77
MgR ₂	42.1	66.0	1.57
AIR ₃	5.3	59.0	11.13
FeR ₂	62.9	75.6	1.20
MnR ₂	58.3	72.5	1.24
CuR ₂	52.3	75.6	1.45
CoR ₂	0	34.5	∞
PbR ₂	76.3	69.5	0.91
ZnR ₂	109.0	90.0	0.83
Cu(NH ₃) ₄ R ₂	90.0	100.0	1.11
Aniline R	46.1	66.3	1.44
Acrinol R	6.1	89.5	14.67
Pyridine R	52.5	80.0	1.52

TABLE II. Adsorption of Proteinase and Pigment by Amberlite IRC 50

Form	Remaining rate, %		Pigment Proteinase
	Proteinase	Pigment	
HR	75.5	66.5	0.88
NaR	95.0	95.8	1.01
KR	70.0	89.0	1.27
NH ₄ R	75.5	93.4	1.24
CaR ₂	130.0	77.8	0.60
BaR ₂	102.0	77.8	0.76
MgR ₂	89.3	83.5	0.94
AlR ₃	89.3	77.0	0.86
FeR ₂	68.5	75.0	1.09
MnR ₂	72.3	79.0	1.09
CuR ₂	65.5	85.5	1.30
CoR ₂	46.5	60.5	1.30
PbR ₂	78.5	72.0	0.92
ZnR ₂	98.0	88.0	0.89
Cu(NH ₃) ₄ R	92.0	95.0	1.03
Aniline R	77.6	55.5	0.72
Acrinol R	36.5	88.5	2.42
Pyridine R	126.0	89.0	0.78

の担体として有望と思われる。

また、弱酸性陽イオン交換樹脂である Amberlite IRC 50 では、全般にプロティナーゼおよび色素の残存活性率が高く、プロティナーゼ吸着剤として有望なものは認められなかった。

そこで HR, AlR₃, CoR₂, Acrinol R の4つの形のイオン交換樹脂を用いてカラム法により、プロティナーゼの吸着溶離を試みた。

すなわち、1.0×25 cm のカラムに 200 mesh のイオン交換樹脂 20 ml を入れ、0.5% の粗酵素液 50 ml を流しプロティナーゼを完全に吸着せしめ、水洗後、liner gradient elution (NaCl 0→4M) によりプロティナーゼの溶離を試みた。その結果、各塩形ともプロティナーゼの活性回収率は 40% 以下で満足すべき結果は得られなかった。

2) 陰イオン交換樹脂

陽イオン交換樹脂の場合と同様操作し、Table III および IV の結果を得た。

強塩基性陰イオン交換樹脂である Amberlite IRA 401 では、一部の塩形を除いてはプロティナーゼ活性の収率はほぼ 100% であり、プロティナーゼの吸着剤としては使用できないように思われる。しかし、逆に色素の吸着剤としては有望で、R acetate, R salicylate, R tungstate 等はプロティナーゼの吸着はなく、残存色素/残存プロティナーゼの比が 0.6 以下で、プロティナーゼの脱色樹脂とし充分使用できるものと思われる。

また、弱塩基性陰イオン交換樹脂である Amberlite IRA 68 は、Amberlite IRA 401 の場合と同様、脱色樹脂として有望で、R sulfate, R phosphate 以外の塩形では、プロティナーゼをほとんど吸着することなく、色素を強く吸着することが判明した。

TABLE III. Adsorption of Proteinase and Pigment by Amberlite IRA 401

Form	Remaining rate, %		Pigment
	Proteinase	Pigment	Proteinase
ROH	112	87.6	0.78
RF	106	75.5	0.71
RCl	102	66.0	0.65
RBr	102	68.0	0.67
RI	106	66.0	0.62
R ₂ SO ₄	70.0	55.5	0.79
R ₂ HPO ₄	85.5	66.8	0.78
R ₂ B ₄ O ₇	95.8	68.1	0.71
R acetate	101	56.5	0.56
R lactate	72.0	56.5	0.78
R oxalate	59.2	73.4	1.23
R succinate	70.5	60.8	0.86
R tartarate	71.2	65.5	0.92
R tannate	98.5	60.8	0.62
R monochloroacetate	102	76.8	0.75
R trichloroacetate	102	71.3	0.70
R thioglycoate	106	63.5	0.60
R citate	98.5	73.5	0.75
R barbitulate	100	69.5	0.70
R phenobarbitulate	106	71.3	0.67
R salicylate	102	59.0	0.58
R tungstate	100	56.5	0.57
R molybdate	98.3	61.2	0.62

TABLE IV. Adsorption of Proteinase and Pigment by Amberlite IRA 68

Form	Remaining rate, %		Pigment
	Proteinase	Pigment	Proteinase
ROH	103	65.5	0.64
RF	100	56.8	0.57
RCl	103	52.5	0.51
RBr	100	55.5	0.56
RI	100	55.5	0.56
R ₂ SO ₄	60.5	57.8	0.96
R ₂ HPO ₄	26.1	55.5	2.12
R ₂ B ₄ O ₇	102	69.0	0.68
R acetate	100	50.5	0.51
R lactate	94.5	57.8	0.61
R oxalate	95.5	65.8	0.69
R succinate	98.5	65.5	0.66
R tartarate	92.3	68.3	0.74
R tannate	94.3	65.7	0.70
R monochloroacetate	91.5	61.3	0.67
R trichloroacetate	94.5	66.5	0.70
R thioglycolate	102	68.3	0.67
R citrate	98.5	71.2	0.72
R barbitulate	100	67.5	0.68
R phenobarbitulate	100	65.0	0.65
R salicylate	102	72.5	0.71
R tungstate	98.5	61.5	0.62
R molybdate	99.0	61.5	0.62

陰イオン交換樹脂の種類と脱色効果

このように陰イオン交換樹脂は粗酵素の脱色に利用できることが推察されたので、各種陰イオン交換樹脂の脱色効果を検討した。

2×120 cmのアクリル製カラムに200 mlのイオン交換樹脂(20 mesh)を充填し、これに2000 mlの1N NaOH³⁾をSV3の流速で流し、水洗後、RCl形の場合には1N HCl, 1000 mlをSV2で通液し、ROAc形の場合は1N HOAc, 1000 mlをSV2で流し、通過液のpHが4.0以上になるまで水洗した。

このように塩形を調製したイオン交換樹脂のカラムに5%粗酵素液1000 mlをSV3の流速で通し、最終通過液の脱色率、残存活性、酵素液濃度、pHなどを測定した。

その結果 Table V に示すように、強塩基性および最強塩基性の陰イオン交換樹脂ではプロティナーゼの残存活

TABLE V. Decolorization of Crude Proteinase by Anion Exchange Resin

Resin	Form	Residual rate		Brix	pH
		Pigment	Activity		
Strong basic anion exchange resin					
Amberlite					
IRA 400	RCl	31.0	84.5	5.0	6.2
	ROAc	29.5	83.2	5.0	6.1
IRA 401	RCl	28.0	83.6	5.0	6.2
	ROAc	28.0	86.3	5.0	6.1
IRA 900	RCl	24.3	86.9	5.0	6.2
	ROAc	21.5	89.1	5.0	6.2
IRA 410	RCl	29.5	81.3	5.0	6.1
	ROAc	26.3	85.1	5.0	6.1
IRA 411	RCl	27.5	85.5	5.0	6.2
	ROAc	25.6	85.5	5.0	6.2
Duolite					
A40	RCl	33.5	78.4	5.0	5.9
A42	RCl	31.8	75.3	5.0	6.1
ES 101	RCl	23.1	81.4	5.0	6.2
ES 102	RCl	23.1	83.5	5.0	6.2
Dowex					
1X4	RCl	27.5	85.2	5.0	6.2
1X8	RCl	29.2	89.2	5.0	6.2
Weak basic anion exchange resin					
Amberlite					
IRA 93	RCl	12.3	85.9	5.0	5.0
	ROAc	10.8	91.2	5.0	5.4
IRA 68	RCl	23.7	10.5	5.0	4.0
	ROAc	25.5	41.3	5.0	4.3
IRA 45	RCl	45.0	16.3	5.0	4.1
	ROAc	38.2	40.5	5.0	4.4
Duolite					
A30	RCl	28.5	74.5	5.0	5.1
A41	RCl	27.4	71.5	5.0	5.1
A43	RCl	33.1	77.5	5.0	5.2
A2	RCl	19.5	36.3	5.0	4.1
	ROAc	16.5	52.1	5.0	4.6

3) Space velocity

性が高く, 脱色効果が著しいことが判明した。また, イオン交換樹脂の再生および水洗などの操作においては, Amberlite IRA 900 および Amberlite IRA 93 が最も操作し易く, 優秀なイオン交換樹脂であることを認めた。

粗酵素液の陰イオン交換樹脂による脱色条件の検討

各種陰イオン交換体のうち強塩基性陰イオン交換樹脂として Amberlite IRA 900 を, 弱塩基性陰イオン交換樹脂として Amberlite IRA 93 を用いて粗酵素液の脱色条件について検討することにした。

まず, 最初に粗酵素液の流速と脱色率の関係について検討する目的で, 内径 2 cm のカラムに酢酸型に調製したイオン交換樹脂 200 ml を充填し, これに色素含量 3 CV/ml⁴⁾ および 9 CV/ml の粗酵素液 2000 ml を種々の流速で通し脱色率を測定した。

その結果 Fig. 1 に示すように, 最終樹脂通過液の脱色率は, 流速が速いほど悪く, とくに色素濃度が高い場合には脱色率の低下は大きいように思われる。

しかし, 流速のあまり遅いのは実用的とはいえないので, 以下の実験はすべて SV 3 の流速でおこなうことにした。

つぎに少量の酵素液を脱色する場合で, 色素濃度が高く, 色素の吸着平衡に達する時間が多くかかる場合および脱色操作による酵素の損失を少なくしたい場合には, 酵素液を水で希釈し適当な液量にして, イオン交換樹脂処理をおこなう。このような場合, 希釈した結果, 樹脂処理後溶媒沈殿または塩析により酵素を回収することができなくなる場合がある。

このような現象を防ぐために, 酵素液を水で希釈するのではなく, 溶媒沈殿に使用される溶媒, たとえばエタノール, イソプロパノール等で希釈すれば酵素の回収率の低下を考えなくてもすむ。

そこで, この *Aspergillus melleus* の産生するプロティナーゼの粗酵素のイオン交換脱色におよぼすエタノール濃度の影響について検討した。

Fig. 2 はその結果を示したものであり, 酵素液中のエタノール濃度が高くなればなるほど, また酵素液の pH が高くなればなるほど, 脱色率は低下した。

また, 酵素液中のエタノール濃度および pH の酵素活性の回収におよぼす影響について検討した。その結果 Fig. 3 に示すように, 樹脂処理する酵素液の pH は pH 6—7 が最も活性収率の低下が少なく, エタノール濃度は低いほど活性収率の減少は低下した。

しかし, 酵素液中のエタノール濃度は 30% までならば脱色率および酵素活性の回収にそれほど影響を与えないのでエタノール沈殿により酵素を回収する場合にはエタノール希釈も十分考えられる方法と思われる。

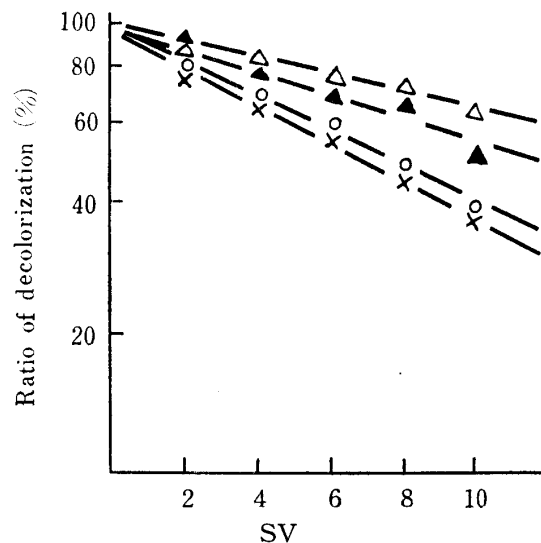


Fig. 1 Effect of SV on Decolorization of Crude Enzyme Solution by Anion Exchange Resins of ROAc Form

Treated volume: 10 ml/ml of resin.

Column: 2×65 cm.

SV: treated volume (ml)/hr/resin (ml)

Enzyme concentration and resin:

—△— Amberlite IRA 93, 3 CV/ml.

—▲— Amberlite IRA 900, 3 CV/ml.

—●— Amberlite IRA 93, 9 CV/ml.

—×— Amberlite IRA 900, 9 CV/ml.

4) Color value

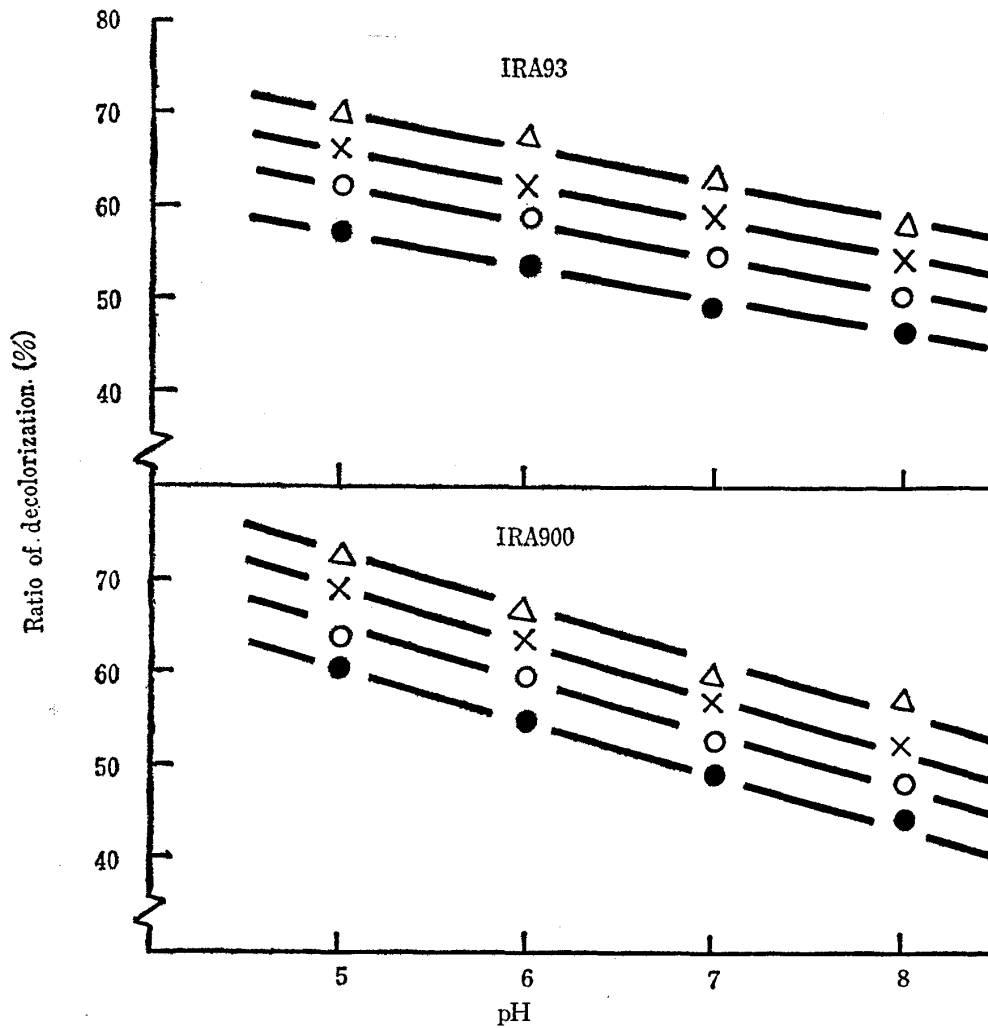


Fig. 2 Effects of Ethanol Concentration and pH of Crude Enzyme Solution on Decolorization by Anion Exchange Resins of ROAc Form

Ethanol concentration:

—△— 0-20%, —×— 30%,

—○— 40%, —●— 50%.

Flow rate: SV 3

Pigment concentration: 10 CV/ml.

Treated volume: 10 ml/ml of resin.

Column: 2×65 cm.

つぎに Amberlite IRA 900 と Amberlite IRA 93 ではどちらの樹脂が、*Aspergillus melleus* の産生するプロテイナーゼの粗酵素中に混在する色素の吸着に適しているかを検討した。

Fig. 4 はイオン交換樹脂量と脱色率の関係を示したもので、樹脂量が酵素液中の色素量に対して多いときは Amberlite IRA 900 と Amberlite IRA 93 では変らない脱色率を示すが、その相対比が変化すると Amberlite IRA 93 の方が良好な結果示をした。

また、再生による樹脂の摩耗を防ぐためバッチ法で、5 倍量の 1N NaOH および 5 倍量の 1N CH₃COOH で再生したイオン交換樹脂の再生回数と脱色量の低下を比較した。

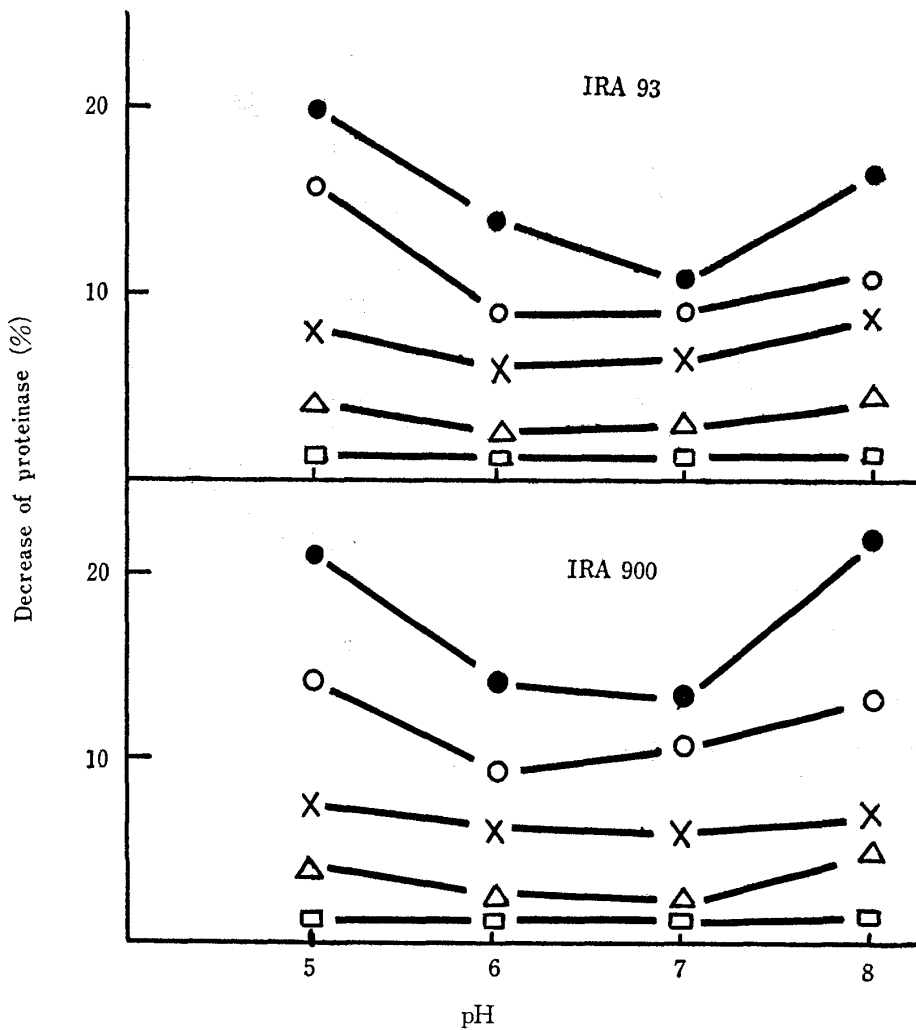


Fig. 3 Effects of Ethanol Concentration and pH of Crude Enzyme Solution on Decrease of Proteinase Activity

The experimental conditions are described in Fig. 2.

Ethanol concentration:

- 0-10%, —△— 20%, —×— 30%,
—○— 40%, —●— 45-50%.

Fig. 5はその結果を示すもので, Amberlite IRA 900 より Amberlite IRA 93の方が樹脂の容量低下は少ないものと思われる。

Amberlite IRA 93の再生方法

このように Amberlite IRA 93は粗酵素液の脱色に適していることが判明したので実用的な再生方法を検討することにした。

酢酸型 Amberlite IRA 93を充填したカラム (4.6×60 cm) に色素量 10 CV/mlの粗酵素液を 10 l 通し, その後 3 l の 1N NaOH と 3 l の 1N CH₃COOH で再生する方法について検討した。

Amberlite IRA 93は 1N NaOH で ROH 型にするととき収縮し, 1N CH₃COOH で RGAc 型にすると 50—55% 膨潤する。

この再生操作をカラム内でおこなうと, 樹脂の膨潤により樹脂粒がおしつぶされ, 樹脂の粉砕がおきる。この膨

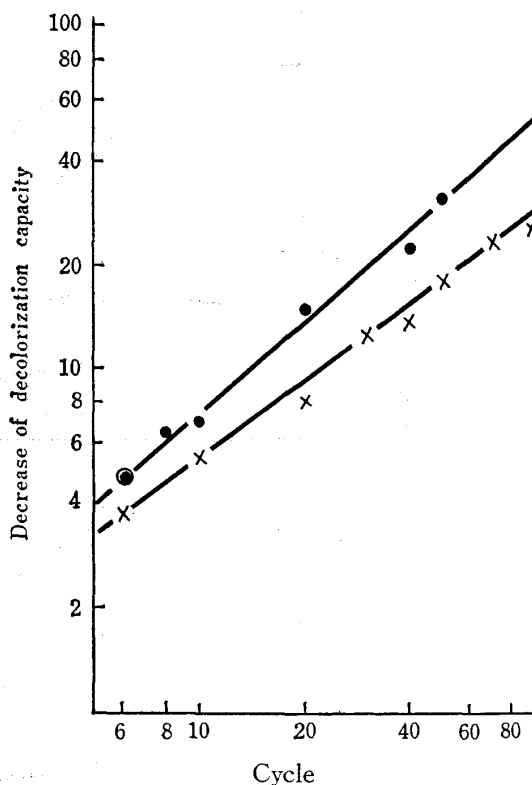
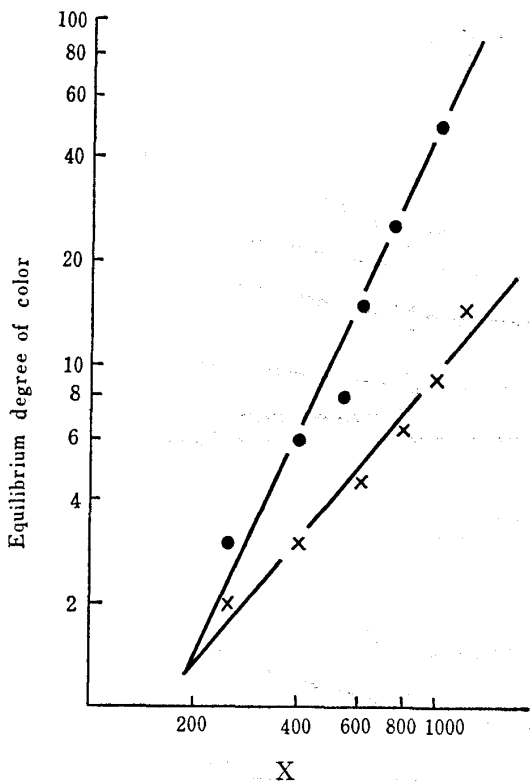


Fig. 4 Equilibrium Degree of Color of Anion Exchange Resins
The anion exchange resin was used ROAc form.

—●— Amberlite IRA 900.
—×— Amberlite IRA 93.

X: Δ equilibrium degree of color/anion exchange resin (ml)/treated volume(ml) of enzyme solution

Fig. 5 Decrease of Capacity of Pigment Adsorption by Regeneration of Anion Exchange Resins
The anion exchange resin was used ROAc form.

—●— Amberlite IRA 900.
—×— Amberlite IRA 93.

TABLE VI. Regenerative Method and Regeneration Effect
(average of 10 cycles)

No.	Regenerator						Total
	1N NaOH	1N HCl	10% NaCl	10% NaCl- 0.2N NaOH	1M CH ₃ COONa	1N CH ₃ COOH	
1	92.8	→ 100	→	→	→	100	100
2	94.2	→ 100	→	→	→ 100		100
3	94.8	→	→	→	→	100	100
4			84.5	→	→	94.5	94.5
5			82.0	→	→ 89.3		89.3
6		90.6	→	→	→	96.5	96.5
7		91.3	→	→	→	97.2	97.2
8				90.5	→	96.3	96.3
9				92.1	→ 93.6		93.6
10						50.3	50.3
11					47.5		47.5

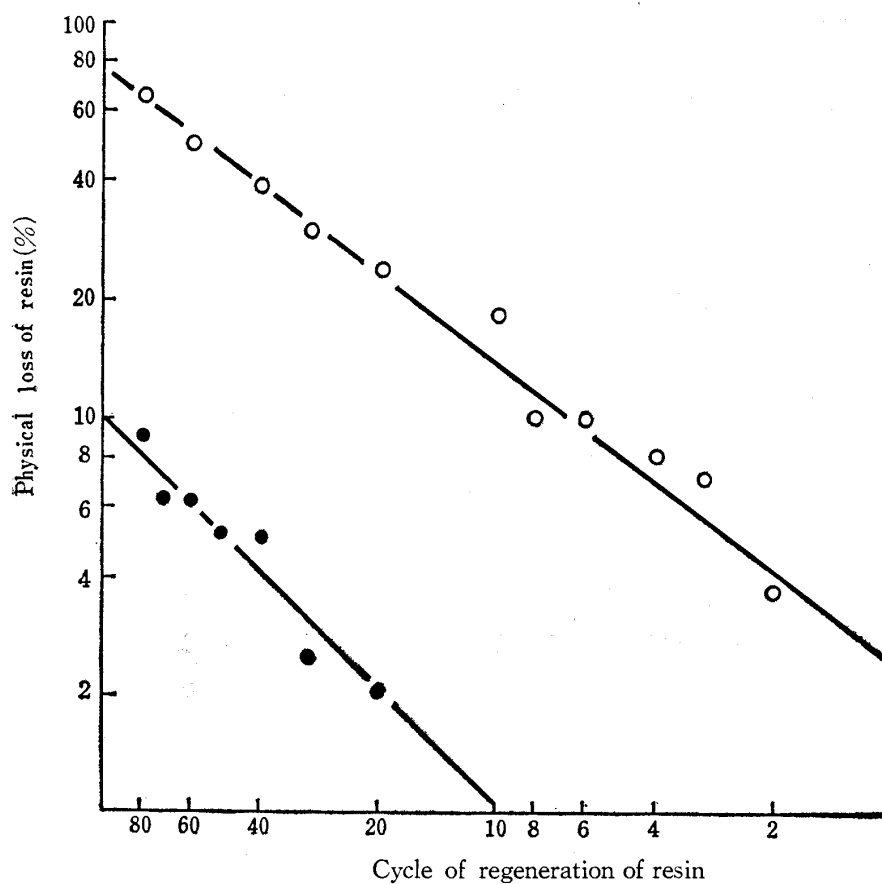


Fig. 6 Up-flow Method and Down-flow Method

—●— Up-flow method,
—○— Down-flow method.

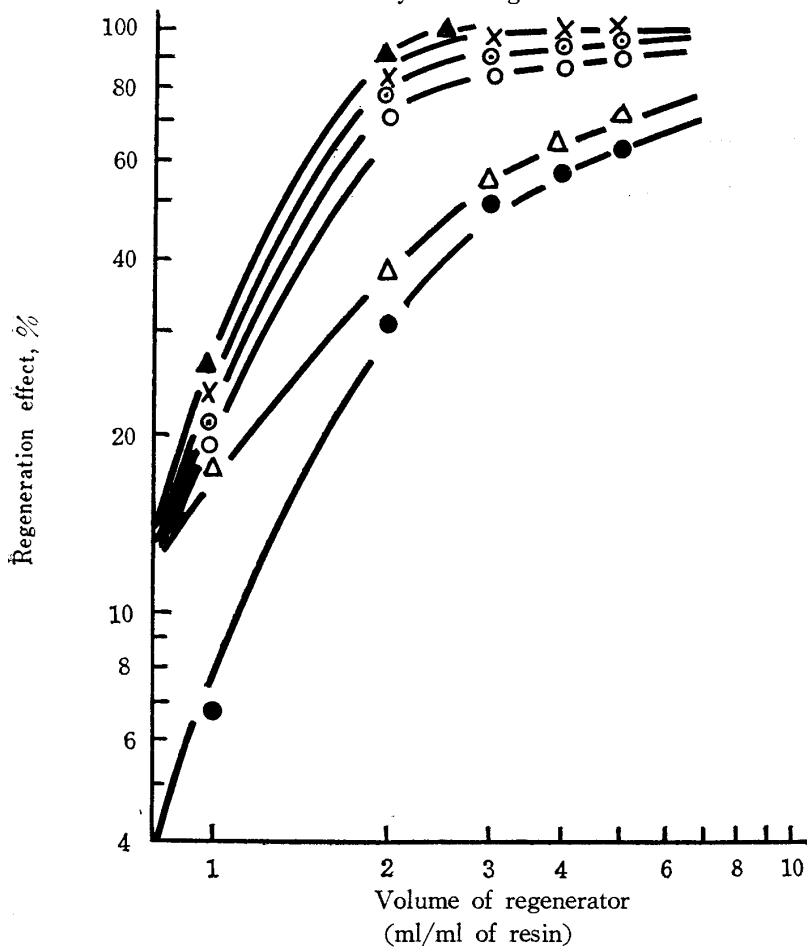


Fig. 7 Relation between Volume of Regenerator and Regeneration Effect

—▲— 1N NaOH, —×— 1N HCl,
—△— 1N CH₃COOH,
—●— 1M CH₃COONa,
—○— 10% NaCl,
—⊙— 10% NaCl-0.2N NaOH.

潤による樹脂の粉碎ならびに損失をできるだけ少なくするには再生液を下から上へ流す、いわゆる up-flow method が適していると考えられる。

そこで通常の上から下へ流す down-flow method と下から上へ流す up-flow method を用い、再生回数と樹脂の碎損率の関係を検討した。

Fig. 6はその結果を示すもので、up-flow method では、樹脂の膨潤により樹脂相互間に大きな圧力の加わることはなくなり樹脂の碎損はほとんどみられなかった。

このように再生時の樹脂の膨潤にともなう影響は再生剤の通液方法により解決することもできるが、再生剤の選択によりおこなうこともできる。

そこで、まず各種再生剤の使用量と樹脂に吸着した色素の洗浄率の関係について検討した。その結果 Fig. 7 に示すように、再生剤の使用量は樹脂量の3倍量用いればよいことが判明した。

つぎに再生剤の使用量は樹脂量の3倍量を用いることにし、再生剤の組合せにより樹脂の膨潤ならびに収縮をできるだけおさえるようにして再生する方法を検討した。

Table VI はその結果を示すもので、10% NaCl または10% NaCl-0.2N NaOH で色素をとりのぞき、1N CH₃COOH で酢酸型にすれば、down-flow method で十分再生でき、1N NaOH と1N CH₃COOH を用いる再生法とほぼ等しい再生効果を示した。

結 論

Aspergillus melleus の産生するプロティナーゼの粗酵素中に混在する色素のイオン交換樹脂による脱色について検討した。その結果、酢酸型の Amberlite IRA 93 が最もよい結果を示し、プロティナーゼを吸着することなく、色素を選択的に吸着することが判明した。

要 旨

Aspergillus melleus の産生するプロティナーゼの粗酵素の脱色が陰イオン交換樹脂法によって検討された。その結果、Amberlite IRA 93 (弱塩基性陰イオン交換樹脂) が粗酵素の脱色剤として優れていることがわかった。