【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成18年6月22日(2006.6.22)

【公開番号】特開2004-267065(P2004-267065A)
【公開日】平成16年9月30日(2004.9.30)
【年通号数】公開・登録公報2004-038
【出願番号】特願2003-60417(P2003-60417)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　1/14　(2006.01)
Ａ２３Ｌ　1/221　(2006.01)
Ｃ１２Ｇ　3/12　(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/08　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　1/14　B
Ａ２３Ｌ　1/221　G
Ｃ１２Ｇ　3/12
Ｃ１２Ｍ　1/08

【手続補正書】
【提出日】平成18年3月6日(2006.3.6)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００９５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００９５】
【実施例】
以下に実施例を示して本発明を説明するが、本発明はこれにより何ら限定されるものではない。なお、以下の実施例はすべて図１の装置を使用した。また、以下の（１）～（３）は各実施例に使用した菌の入手手段およびデータをとるための手段を説明するものである。
（１）以下の実施例で用いているアスペルギルス・カワチ（ＩＦＯ４３０８）は、財団法人発酵研究所発行のカタログに記載されており、請求により独立行政法人製品評価技術基盤機構生物遺伝資源センターより分譲を受けることができる。
（２）グルコアミラーゼ活性は、第四回改訂国税庁所定分析法［注解編集委員会編、日本醸造協会（１９９３）］に従って測定した。すなわち、デンプン溶液１ｍＬにＭ／５酢酸緩衝液（１０ｍｍｏｌ／Ｌ酢酸：１０ｍｍｏｌ／Ｌ酢酸ナトリウム＝３．２：６．８の割合で混合し調製したもの、ｐＨ５．０）０．２ｍＬを加え、４０℃で５分間予熱した。これに酵素液（麹菌培養物から遠心分離により菌体を除いた培養上清）０．１ｍＬを加え、４０℃で２０分間反応させ、１ｍｏｌ／Ｌ　塩酸溶液を０．１ｍＬ加えて中和した。別の対照として、デンプン溶液１ｍＬにＭ／５酢酸緩衝液（組成は前記のものと同様）０．２ｍＬを加え、４０℃で５分間予熱し、１ｍｏｌ／Ｌ水酸化ナトリウム溶液を０．１ｍＬ加えた後に酵素液を０．１ｍＬ添加し、以下上記と同様に操作した。続いて、反応溶液中に生成したグルコース含量（ｍｇ）を和光純薬工業（株）製のグルコースＢ－テストワコーキットを用い、添付の説明書に従って測定した。具体的には酵素反応終了後の反応液０．０２ｍＬにキットに同梱の発色試薬３．０ｍＬをよく混合した後、３７℃で２０分間加温し、分光光度計を用いて５０５ｎｍの吸光度を測定した。別の対照として発色試薬のみ３．０ｍＬを３７℃、２０分間加温したものについても上記と同様の操作で吸光度を測定した。グルコース濃度を算定する検量線は、キット同梱のグルコース標準液を蒸留水で希釈

し、これを試料として用い、上記と同様の操作で吸光度を測定することで作成した。このようにしてあらかじめ作成した検量線から酵素反応溶液の吸光度に相当するグルコース濃度を求めた。グルコアミラーゼ活性は、可溶性デンプンから４０℃で６０分間に１ｍｇのグルコースを生成する活性を１単位とした。

（３）培養液粘度測定には、Ｂ型粘度計（東京計器製、型式ＢＢＬ）を用いた。具体的には、培養液１５０ｍＬを２００ｍＬビーカーにとり、ウォーターバスにて２５℃に保ちながら、測定を行った。測定条件は、Ｎｏ．２ローターを用い、６０ｒｐｍで１分間回転させた後、その時の指示値を読み取った。５回の繰り返し測定を行い、その平均値を測定値とした。

なお、以下の実施例における％はすべて重量％である。

【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１０１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１０１】
実施例４〔気泡塔型発酵槽を用いた発酵調味料用麹菌培養物の製造〕

小麦フスマ１％、リン酸２水素カリウム０．１％、塩化カリウム０．０５％、硫酸マグネシウム７水和物０．０５％、硫酸鉄７水和物０．０１％を含有する培地１４０Ｌを容量２１５Ｌの図１に記載の気泡塔型発酵槽に入れ、アスペルギルス・オリーゼ（市販醤油用麹菌マイルドＳ樋口松之助商会製）の胞子懸濁液を１×10^6胞子数／ｍＬになるように接種した。その後、温度３０℃、通気量３．１ｖｖｍにて６０時間培養を行い、培養物のプロテアーゼ活性を測定した。

プロテアーゼ活性は、乳製カゼインを基質とするアンソン・萩原らの変法〔Ｈａｇｉｗａｒａ．Ｂ．ｅｔａｌ．、Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．４５．１６５（１９５８）〕に従って測定した。

培養試験の結果、培養６０時間目のプロテアーゼ活性は液体麹として使用可能な１００Ｕ／ｍＬをクリアーし、良好な結果となった。

また培養液粘度で対流性や混合性が損なわれることはなく、培養は順調に進行した。