総説

微生物による繊維素資源の活用

外 山 信 男

地球上最も多量に存在する炭水化物はセルロースである。これを分解してブドウ糖にできれば、われわれは食料に困らぬばかりか、発酵工業の無尽蔵の原料を獲得したことになる。一方木綿繊維などのようにセルロースはそれ自体丈夫であり、微生物や化学物質に抵抗性を持つので、われわれは衣服などに利用している。その分解は決して容易なものではない。そうかと思うと草食動物にはセルロースを主成分とする草をたべて巨体を誇り繁栄しているものが多い。草食動物の消化管にはセルロース分解性細菌が住んでいて、これらの細菌がセルロースを分解して低級脂肪酸を作り、同時に細菌体が沢山できる。脂肪酸は草食動物のカロリー源として吸収され、細菌体は消化、吸収され、草食動物のタンパク源として利用され、かれらの肉体を作りあげる。

結局草食動物は微生物のおかげで生活していることになり、ここにわれわれの手本がある。最近わが国は毎年多量の木材を輸入しているが、木材集積港などにおける多量の樹皮、木屑、のこ屑の活用を考えねばならず、パルプ工場に山積するセルロース廃資源についても同様である。

著者らはトリコデルマ・ビリデ(*Trichoderma viride*)とアスペルギルス・ニゲル(*Aspergillus niger*)という2種のカビが生産する繊維素分解酵素(セルラーゼ, cellulase)を用いて、いろいろな繊維素資源を活用することを考えた。このような資源を酵素で処理して、動物が良く消化できるようにしたり、分解して飼料酵母培養用のブドウ糖液を作ることができたら、草食動物の生活手段の一部を工業化したことになり、合わせて輸入資源の高度利用と公害防止にもなり、有意義と思われる。

1. 木質廃資源のリグニンの除去

木材は約 43% のセルロース、約 26% のヘミセルロースおよび約 27% のリグニンからできている。著者が開発したセルラーゼ製剤はリグニン分解力を持たないし、木材組織中でリグニンがセルロースやヘミセルロースの間に存在する限り、どんなに木材を薄片にしても分解できない。リグニンを含む木質廃資源である樹皮、廃材、のこ屑、わら類、砂糖きびの絞り粕なども酵素分解のためには脱リグニンを必要とする。リグニンを除くために亜硫酸塩法または酸性ソーダと硫化ソーダを用いる方法が工業的に採用されているが高温高压を必要とする。その他過塩素酸、亜塩素酸などを用いる方法があり、常温常圧で脱リグニンが可能であるが著しい着色があったり、セルロースやヘミセルロースをも分解してしまう恐れがあり、強い腐食性があることなどにより目的に沿い得ない。著者は最近過酢酸が脱リグニンに賞用されていることを知り、木質廃資源について試験した。

著者らは無水酢酸と 30% 過酸化水素を等量混合して過酢酸(peracetic acid)を調製している。ガラスまたはプラスチック容器に過酢酸液と適量の木質廃資源を入ると自ら発熱し、数時間～24 時間後に、廃資源は発生の酸素により有効に脱リグニンされて純白のホロセルロースに変わる。この方法はホロセルロースをほぼ完全に残しパルプ収率が良く、漂白も1段階で十分に行なわれるので、新パルプ製造法としても興味深いものである。これが実用化されれば過酢酸の値段も大幅に下がるであろう。ただ作用中に刺激性のガスを発生すること、金属を腐食することが欠点である。ただし過酢酸処理後の廃資源は原形をとどめているので容易に分離でき、水洗も簡単であり、洗浄液は酢酸なので廃液処理も困難ではない。過酢酸は現在最もすぐれた脱リグニン剤で、木材組織の標本の製作に賞用されるのみならず、通常のパルプ製造法では蒸解、漂白が何段階もの工程を経るのに、過酢酸法では1回の処理で脱リグニンと漂白が可能であるという。

Utilization of Cellulosic Resources by Micro-organisms

NOBUO TOYAMA

宮崎大学農学部 農業化学科 応用微生物研究室 (工博)

2. 酸による木質廃資源の糖化

かつて盛んに研究され、工業化されたこともある木材の酸糖化法を振り返って見よう。希釈硫酸による糖化法（ショラー法）は高温、高压が必要で、しかも 4~8 %濃度の糖液しか得られない。一般に酸糖化は発酵阻害物質を生じ、ペントザンがフルフロールなどになってしまう。高濃度硫酸を用いると低温、常圧で糖化できるが、硫酸の回収利用が困難であり、濃厚硫酸を循環使用するとしても機械設備が大変である。高濃度塩酸による糖化法（ベルギウス法）では 40% 塩酸で常温、常圧で糖化でき、50%濃度の糖液が得られるが、やはり塩酸の回収が容易でなく、機械設備費も巨額に達する。酸糖化法ではリグニンを含んだまま木材を糖化できるが、実施上困難が多く、平和な今日各国とも酸糖化工場は閉鎖されている。要するに、でん粉の酵素糖化によるブドウ糖の生産に比較して、木材の酸糖化法は、高価な設備、ばく大な熱源、糖液中の酸や不純物の分離が困難なこと、廃液処理がやっかいなことのために到底たち打ちができない。

3. セルラーゼ製剤による 木質廃資源の分解

酵素剤として Cellulase TVOP, (*T. viride*, 500 unit/mg, 近畿ヤクルト), Cellulase TVCL 5(*T. viride*, 1500 unit/mg, 近畿ヤクルト), Cellulase TVMP (*T. viride*, 500 unit/mg, 明治製菓), Cellulase TVMS (*T. viride*, 1000 unit/mg, 明治製菓) および Cellulase ANU 2 (*A. niger*, 500 unit/mg, 上田化学) を使用した。酵素剤の活性は著者の沱紙崩壊度測定法によるものである^{1,2)}。さらに *T. viride* のふすまこうじ (菌の固体培養物) 抽出液 TVYE (近畿ヤクルト) と *A. niger* T5 の同抽出液 AN 5 E (本研究室製) も用いた。第 1 表に、これらの酵素液の沱紙崩壊活性を示す。TVYE は乾燥こうじを 5 倍量の水で抽出した酵素液で 2000 unit/mg に匹敵しさらに 13 倍希釈で市販製剤の活性になるほど強力であり、これより得られる TVCL 5 も 1 %濃度で 1500 unit/mg の活性を発揮し、現在最強

第 1 表 酵素剤およびこうじ抽出液の沱紙崩壊活性

酵 素	沱紙崩壊に要した時間 (分)			
	15	30	45	60
Cellulase TVOP, 1 %	—	±	卅	卅
Cellulase TVMP, 1 %	—	+	卅	卅
Cellulase TVMS, 1 %	±	卅		
Cellulase ANU 2, 1 %	—	+	卅	卅
Cellulase TVCL 5, 1 %	卅	卅 (20)		
Cellulase TVCL 5, 0.1 %	—	±	卅	卅
Koji extract TVYE, ×5	卅			
Koji extract TVYE, ×65	—	±	卅	卅
Koji extract AN 5 E, ×5	—	±	卅	卅

沱紙崩壊活性の測定 1 %酵素液またはこうじ抽出液 5 ml に 1 cm × 1 cm の沱紙 2 枚を入れ、pH 5.0, 40 °C で振盪して、沱紙を完全に崩壊するために必要とした時間を測定する。

TV…トリコデルマ, AN…黒カビ

第 2 表 酵素剤およびこうじ抽出液のセルラーゼ、ヘミセルラーゼ
およびペクターグルコナーゼ活性

Enzyme	CMCase (μg/ml)	Xylanase (μg/ml)	Avicelase (μg/ml)	Salicinase (μg/ml)
Cellulase TVOP, 1 %	13,000	8,750	708	300
Cellulase TVMP, 1 %	18,850	11,000	1,080	2,000
Cellulase TVCL 5, 1 %	67,500	82,500	2,940	1,800
Cellulase TVCL 5, 0.1 %	6,750	8,250	294	180
Cellulase ANU 2, 1 %	54,500	16,000	780	9,600
Koji extract TVYE, ×5	190,000	152,500	11,200	8,500
Koji extract TVYE, ×65	14,615	11,731	863	654
Koji extract AN 5 E, ×5	80,000	67,500	1,020	36,800

酵素活性は還元糖（ブドウ糖として）生成量で示されている。

第 3 表 酵素剤およびこうじ抽出液による、過酢酸処理のこ屑の分解率
(重量減少量および還元糖生成量で測定)

酵 素	分 解 率 (%)		
	24 (hr)	48 (hr)	72 (hr)
Cellulase TVOP, 1 %	28.2(23.1)	37.1(40.9)	51.5(54.3)
Cellulase TVMP, 1 %	36.8(32.3)	50.1(54.3)	68.2(67.6)
Cellulase TVCL 5, 1 %	56.1(51.2)	75.7(78.0)	82.7(84.4)
Cellulase TVCL 5, 0.1 %	21.9(17.9)	33.8(33.1)	43.7(39.2)
Cellulase ANU 2, 1 %	30.6(28.9)	36.3(36.5)	44.6(41.8)
Koji extract TVYE, ×5	53.0(53.7)	82.4(84.9)	84.8(86.9)
Koji extract TVYE, ×65	35.5(32.7)	51.1(53.6)	70.2(70.9)
Koji extract AN 5 E, ×5	19.0(16.1)	31.3(28.7)	35.1(38.6)
Control	7.5(0.8)	6.6(0.7)	8.3(0.7)

括弧内は還元糖による分解率

のセルラーゼ製剤と思われる。

つぎに各製剤の他のセルラーゼ活性とヘミセルラーゼ活性を測定して第2表を得た。沱紙崩壊活性を含めて、天然繊維素を分解するセルラーゼ活性は Na-CMC 分解活性 (CMCase) と Avicel (微結晶セルロース, 旭化成) 分解活性 (Avicelase) とから成り, 両酵素活性は分離でき, 両活性を配合すると著しい相乗効果が見られる³⁻⁶⁾。つまり天然繊維素は非結晶領域分解酵素と結晶領域分解酵素との協働により分解されるのである。Salicinase 活性はセロビオース分解活性と考えて良い。木質廃資源中のヘミセルロースの主体はキシロースと考えてキシラナーゼ活性も表示した。*T. viride* の TVCL 5 と TVYE 抽出液は強力なキシラン分解活性も持っているので廃資源の糖化に最適である。

3.1 各酵素液によるのご屑の分解

100 ml の三角フラスコに過酢酸で脱リグニンしたのご屑の 105°C 恒量物 0.5~0.7 g を精秤して入れ, これに酵素液 50 ml と 1% のトルエンを加え, 40°C に静置し経時的に重量減少, 還元糖生成 (3,5-DNS 法) を調べた。対照として酵素液のみのもの, 基質と 0.1M 酢酸塩緩衝液 (酵素剤の溶解に使用したもの) から成るものを設けた (第3表)。

この結果から重量減少と還元糖生成量のいずれで測定しても同様の分解率を与えること, 沱紙崩壊活性が脱リグニン化廃資源の分解の一応の基準になること *A. niger* のセルラーゼ製剤は *T. viride* のそれに比べて分解力が弱いことなどがわかる。さらに脱リグニンした木材薄片を分解した場合, *A. niger* の cellulase 製剤は木片をすみやかに針状物に解体し, 針状物は時間と共に分解されるが, 外観的には相当おそく, 一見それ以上分解されないようである。一方 *T. viride* の cellulase 製剤は木片を小さなブロックに解体し, その速度はおそい。しかしブロック状のものは次第に糖化され, 外観的に基質の消失が見られる。

この木材薄片にやはり著者が開発したクモノスカビ (*Rhizopus* sp.) の Macerozyme (細胞分離酵素, プロトベクチンを分解する, 近畿ヤクルト) を作用させると針状物となる。本製剤のセルラーゼ活性は無視できるので, この現象は過酢酸処理中も変化を受けなかった木材繊維素間の接着物質 (プロトベクチン, ヘミセルロース) が分解されて生じると考えられる。*A. niger* の cellulase 製剤は細胞分離活性も併有しているが, *T. viride* の TVOP, TVCL 5 は本活性を持たないので *Rhizopus* や *A. niger* 製剤との併用を必要とする場合がある。ただし TVYE は強力な細胞分離活性を含んでいる。TVMS は製剤でありながら強い同活性を持ち, 各工場での製造

法による差異と思われる。第4表は各製剤の細胞分離活性を, ばれいしよ片の崩壊度⁷⁾により示したものである。

第4表 酵素剤およびこうじ抽出液のばれいしよ崩壊活性

酵 素	ばれいしよ崩壊に要した時間 (hr)				
	1	2	3	4	5
Cellulase TVOP, 1%	—	—	—	—	—
Cellulase TVMP, 1%	—	±	+	+	+
Cellulase TVMS, 1%	±	+	++	++	
Cellulase ANU 2, 1%	+	++	++		
Cellulase TVCL 5, 1%	—	—	—	—	—
Koji extract TVYE ×5	+	++	++		
Koji extract AN 5E, ×5	±	+	++	++	

ばれいしよ崩壊活性の測定: こうじ抽出液または 1% 酵素液 5 ml に 1cm×1cm×0.5cm のばれいしよ片 2 枚を入れ, pH 5.0, 40°C で振盪して, ばれいしよ片を完全に崩壊するために必要とした時間を測定する。

4. 木質廃資源の酵素糖化に対する酵素濃度の影響

酵素剤として TVCL 5 と ANU 2 を採用し, これを 0.1M 酢酸塩緩衝液 (pH 5.0) に, いろいろの濃度に溶解して使用した。前記の両対照も設け, これらの経時的還元糖生成量を測定して分解率を求めた。100ml 三角フラスコに酵素液 50 ml, 基質 0.5 g (恒量), 防腐剤デハイドロ酢酸ソーダ 0.05 g を入れ, 40°C で静置して作用

第5表 セルラーゼ製剤による脱リグニン化メタセコイア樹皮の分解

作用時間 (hr)	酵素濃度 (%)	Cellulase	ANU 2	Cellulase	TVCL 5
		分解率 (生成糖量) (%)	分解率 (重量減少) (%)	分解率 (生成糖量) (%)	分解率 (重量減少) (%)
24	1.0	53.6	53.4	70.5	76.1
	0.5	42.2	43.7	70.5	57.8
	0.25	35.8	34.5	58.1	60.0
48	1.0	66.8	60.6	80.7	77.4
	0.5	53.1	51.2	75.7	78.5
	0.25	42.5	39.1	74.5	73.4
72	1.0	66.3	62.9	89.2	87.1
	0.5	59.8	59.4	83.1	84.9
	0.25	45.0	45.0	78.9	80.0
96	1.0	81.3	70.7	102.3	85.0
	0.5	66.0	59.2	88.4	83.2
	0.25	44.6	40.2	87.7	81.4

第6表 セルラーゼ製剤による脱リグニン化バガスの分解

作用時間 (hr)	酵素濃度 (%)	Cellulase	ANU 2	Cellulase	TVCL 5
		分解率 (生成糖 量)	分解率 (重量減 少)	分解率 (生成糖 量)	分解率 (重量減 少)
24	1.0	59.7	65.8	106.6	97.1
	0.5	39.7	49.5	93.4	94.6
	0.25	33.6	38.9	82.2	83.1
	0.125	26.0	33.9	71.6	71.1
48	1.0	82.2	81.3	106.7	97.4
	0.5	62.1	72.1	94.5	96.8
	0.25	48.1	49.8	93.1	94.4
	0.125	36.2	39.2	83.0	90.1
72	1.0	90.3	90.4	106.9	97.6
	0.5	72.4	74.4	94.8	97.1
	0.25	56.7	58.8	93.3	96.7
	0.125	39.9	45.2	91.7	93.4
96	1.0	94.7	94.6	106.9	98.8
	0.5	84.0	82.6	97.1	97.3
	0.25	60.2	70.7	95.1	96.7
	0.125	42.1	48.9	94.0	95.4

第7表 セルラーゼ製剤による分解に及ぼす脱リグニン化バガス濃度の影響

作用時間 (hr)	バガス 濃度 (%)	Cellulase	ANU 2	Cellulase	TVCL 5
		分解率 (生成糖 量)	分解率 (重量減 少)	分解率 (生成糖 量)	分解率 (重量減 少)
24	1.0	59.7	65.8	106.6	97.1
	3.0	52.0	55.3	85.3	91.6
	5.0	52.1	50.1	79.3	82.8
48	1.0	82.2	81.3	106.7	97.4
	3.0	73.9	71.4	96.5	94.3
	5.0	65.4	63.8	92.4	92.9
72	1.0	90.3	90.4	106.9	97.6
	3.0	80.3	77.3	99.7	95.6
	5.0	72.6	69.7	97.4	93.9
96	1.0	94.7	94.6	106.9	98.8
	3.0	85.9	85.7	100.0	95.7
	5.0	78.0	78.8	99.4	95.6

させた。同時に残渣量による分解率も求めた。第5表は脱リグニン化メタセコイアの樹皮の分解を示す。表示のごとく *A. niger* 製剤の分解力は *T. viride* のそれに及ばず、*T. viride* 製剤は 0.25% でも *A. niger* 製剤の 1.0% より良く分解する。第6表は脱リグニン化バガス

第8表 脱リグニン化バガスの酵素糖化に及ぼす振盪の効果

作用時間 (hr)	バガス 濃度 (%)	Cellulase	ANU 2	Cellulase	TVCL 5
		分解率 (生成糖 量)	分解率 (重量減 少)	分解率 (生成糖 量)	分解率 (重量減 少)
6	1.0	42.0	53.6	97.2	95.3
	3.0	38.7	48.5	64.5	81.5
	5.0	34.6	45.7	48.3	62.9
	1.0	61.1	69.4	97.2	98.4
12	3.0	49.7	58.7	79.1	94.0
	5.0	47.5	59.9	76.7	71.6
24	1.0	76.8	84.3	97.6	99.8
	3.0	65.6	71.0	91.9	96.4
	5.0	56.3	65.9	87.9	93.7

(さとうきびの絞り粕)の分解を示す。この場合は煮沸した酵素液で同様に実験し、その生成糖量を作用区のそれより減じて還元糖生成量を求めた。やはり *T. viride* 製剤はかなり希釈しても 1% *A. niger* 製剤より分解力がすぐれている。*A. niger* 製剤では濃度の減少につれて分解力の低下が著しい。

5. 木質廃資源の酵素糖化に対する基質濃度の影響

100 ml 三角フラスコに 50 ml の 1% TVCL 5 または ANU 2 酵素液を入れ、これらに脱リグニン化バガス風乾物の粉砕物を 1.0, 3.0 および 5.0% になるように加え、前実験と同様に作用させた。やはり失活酵素と基質より成る対照を設けた (第7表)。本表でも TVCL 5 は ANU 2 よりも強い分解力を示し、この範囲の基質濃度なら 96 時間後はほぼ同じ分解率を与える。TVCL 51%液は 1500 unit/mg で、ANU 21%液は 500 unit/mg の活性であるから、この結果は当然予想されるものである。しかし第1表のように TVCL 50.1%液は 500 unit/mg の活性を示し、第6表のごとく TVCL 5 0.125%液は ANU 21%に匹敵するので、上記分解率は沱紙崩壊活性に依るとはいえ、さらに別の要因に左右されることが考えられる。たとえば沱紙崩壊度測定法で沱紙が完全に原形を失った時点で TVCL 5 はごく微細な繊維屑を与え、ANU 2 はそれより長い繊維屑を生じるといった、それぞれのセルラーゼの性質の差異も考えるべきである。

6. 木質廃資源の酵素糖化に対する振盪の影響

300 ml 坂口フラスコに 1% TVCL 5 または ANU 2

第1図 セルラーゼ製剤による脱リグニン化日本杉かん
な屑の振盪分解 (条件) 酵素濃度 1%, pH 5.0,
40°C で毎分 140 ストロークで往復振盪, TVCL5
(トリコデルマ製剤), ANU2 (黒カビ製剤)

50 ml を入れ, 0.1% デハイドロ酢酸で防腐しながら, 1.0, 3.0, 5.0% になるように加えた脱リグニン化バガス風乾物を 40°C で, 振幅 7 cm, 140 stroke/min の往復振盪機を用いて分解した (第8表)。第7表と比べて, 振盪 24 時間の成績は静置 24 時間のそれより良好であり, TVCL 5, 基質濃度 1% の場合では 6 時間の振盪で分解がほぼ終了しているから振盪は有効である。さらに脱リグニン化日本杉かんな屑について同じ実験を行ない第1図を得た。この場合 ANU 2 は基質濃度の影響を受けず, TVCL 5 はその反対であった。やはり 24 時間後と比較すると振盪法の分解率が約 10% 高くなった。

7. 高濃度酵素液による木質廃資源の糖化

100 ml 三角フラスコに 1~10% の TVCL 5 液 50 ml を入れ, それぞれに脱リグニン化日本杉かんな屑風乾物を 5% に加え, 40°C に静置し経時的に分解率を求めた (第2図)。図示のごとく 48 時間以上作用させる場合は 3% 以上の酵素濃度は不要であるが, 24 時間の作用では 5% 酵素濃度が望ましい。

8. 木質廃資源の前処理法

以上のように過酢酸による脱リグニン法は, 木質廃資源の酵素糖化のための前処理法として大変すぐれている

第2図 セルラーゼ製剤による脱リグニン化日本杉かん
な屑の分解に及ぼす酵素濃度の影響
(条件) 基質濃度 5%

が, 著者らは他の方法も検討した。その結果稲わらとバガスはか性ソーダ処理でも十分であった。稲わらを小さく切ったもの 2.5 g を, 100 ml 三角フラスコに入れ, 各濃度のか性ソーダ液 50 ml を加え, 40°C で 24 時間静置した。その後基質を分離し, 十分水洗し 40°C で乾燥した。100 ml 三角フラスコに 1% TVCL 5 液 25 ml と処理稲わら 0.6 g を入れ, 防腐剤の存在下に, 40°C で 24 時間静置した。対照として処理稲わらに酢酸塩緩衝液 (pH 5.0) を加えたものを用いた。作用後水洗して 40°C で乾燥し, 基質残量を測定して分解率を算出した (第3図)。

この結果稲わらは 3% か性ソーダで処理すればセルラーゼで良く分解することがわかった。

9. 糖化生産物による酵素活性の阻害

木質廃資源の酵素糖化の場合, 糖化にあずかるセルラーゼやキシラナーゼは, それぞれが生じるブドウ糖やキシロースにより阻害されることが当然考えられる。ここでは主要生産物であるブドウ糖によるセルラーゼ阻害作用について実験した結果をしるす。1% TVCL 5 または ANU 2 を 50 ml, 脱リグニン化日本杉かんな屑風乾物 1.5 g, デハイドロ酢酸ソーダ 0.05 g を 100 ml 三角フラスコに採る。これらにブドウ糖を 2~30% になるように加え, pH 5.0, 40°C で 24~96 時間作用させ,

第3図 トリコデルマ セルラーゼ TVCL 5 によるか性ソーダ処理稲わらの分解率に及ぼすか性ソーダ濃度の影響

■ NaOH+Cellulase ▨ NaOH

第4図 セルラーゼ製剤による脱リグニン化日本杉かな屑の分解に及ぼすブドウ糖濃度の影響

その後基質残量を求めて分解率を見た(第4図)。図示のようにいずれのセルラーゼ製剤も顕著な阻害を受けることが判明した。

10. 木質廃資源の酵素糖化法に対する考察

1969年度の当研究室の実験結果から、つぎのことが考えられる。(1) *T. viride* のセルラーゼ製剤である、TVCL 5 や TVMS は、天然繊維素分解力の点で最強の活性を持つものと思われる。*A. niger* のセルラーゼ製剤は、現在最高のものでも天然繊維素を糖化する力は *T. viride* のそれより明らかに劣っている。ただし脱リグニン化木質廃資源を繊維な綿状物にすみやかに解体するのが得意である。われわれは、この綿状物に適量のクロレラを混合、乾燥し、鮮緑色のものとして、ヘイキューブに代わる粗飼料(人工牧草)として発展させたいと考えている。*T. viride* のセルラーゼは綿のような天然繊維素を始めとして、再生繊維素、沱紙、水溶性繊維素のことごとくを分解できる酵素として知られるようになり、今日世界中で研究の対象になっているが、その詳細は著者の総説を参照されたい⁸⁻¹⁰⁾。最近フサリウム (*Fusarium*) というカビのセルラーゼが研究され、*T. viride* のそれに匹敵すると報告されている。著者が研究を始めた時、*Trichoderma* と *Fusarium* が最終選考に残り、結局前者を選んだが後者も有望であった。Wood と Phillips¹¹⁾ は *Fusarium solani* の液体培養沱液が *T. viride* のそれと同様な活性を持つことを発見し、さらに *F. solani* のセルラーゼを精製、分画して、詳細にその性質を調べている¹²⁾。一方ブエノス・アイレス大学、薬学生化学部、微生物学科の Gómez も土壌から分離した *Fusarium* の1菌株が作るセルラーゼを研究し、その標品が綿、木質繊維素、沱紙、CMC、セロファンおよびセロビオースを良く分解すると報告している。同氏らは著者の協力のもとに固体培養(4日間)および液内培養(12日間)を行ない、*Fusarium* のセルラーゼ製剤を作っている。その活性を著者の研究室で測定して第9表を得た。表示のように *Fusarium* のセルラーゼ製剤は日本で市販されている *T. viride* の製剤である TVOP に匹敵し、キシラナーゼ活性はアルゼンチン産の製剤の方が強い。同氏は *Fusarium* のセルラーゼ製剤によるにんじん、馬鈴しょ、たまねぎなどの消化作用もすぐれていることを報告¹⁴⁾し、さらに著者の指示通り木質廃資源を過酢酸で脱リグニンし、つぎにか性ソーダで処理し、その後 *Fusarium* の液体培養沱液に入れて糖化することを進めている。この仕事は酵母含有飼料の製造に発展しつつある。(2) *T. viride* のセルラーゼの生産。木質廃資源の酵素糖化における実用性の点から、市販酵素剤を使用す

第9表 フサリウム セルラーゼ製剤の酵素活性

	沱紙崩壊度 (所要時間 分)	CMCase	Xylanase	Avicelase	Cellobiase	β -1, 3- glucanase
TVCL 5	20	68,750	82,500	2,940	714	12,500
<i>Fusarium</i> セルラーゼ	75	18,041	21,525	648	515	8,610

酵素活性は研究室の常法で測定し、還元糖生成量 ($\mu\text{g/ml}$) で示した。

るのは不得策である。酵素剤はこうじ抽出液や液体培養沱液から酵素を硫酸または溶剤で沈殿、分離して乾燥、調製されるもので、それだけ費用がかかっている。従って理想的には、木質廃資源かパルプ工場の廃物を用いて、*T. viride* を液内培養して、培養液またはその沱液に木質廃資源やパルプ粕を入れて糖化すべきである。しかし本菌に限らず、カビの液内培養によるセルラーゼの生産は通常 10 数日かかるのが欠点である。最近著者らはパルプ工場の副産物とパルプ粕を用いて、*T. viride* を 4 日間液内培養して、沱紙崩壊活性 1000 unit/mg を持つ培養沱液を製造する条件を発見した。将来木材集積港やパルプ工場の近くに本菌の培養タンクを設ける計画である。(3)高濃度糖液の製造。飼料酵母の培養には 2% 前後の糖液で十分なので、これ位の糖液なら現在容易に酵素糖化法で製造できる。著者は高濃度糖液を作り、ブドウ糖やキシロースを粉末状に得たり、シロップを製造することを夢見ている。これまでの経験では原料を酵素液中に高濃度に入れることは困難であり、バガス、かな屑、樹皮の粉碎物で 5%、沱紙、パルプ粉碎物で 3% のこ屑粉末で 12% が関の山であった。ところがアビセルのような微粉末では 30% も入れることができ、微粉末化が重要である。さらに微粉末が酵素作用を良く受けるようにするための、経済的手段の開発が望まれる。Eriksson¹⁵⁾は脱リグニン化えぞまつ繊維に明治製菓製 *T. viride* セルラーゼ製剤 (Meicelase) を作用させている。その結果乾燥させない繊維が最も良く分解され、室温で乾燥した繊維は中程度分解され、120°C、3 時間乾燥した繊維はほとんど分解されなかった。また分解は繊維の傷付近から始まること、および酵素分子の大きさは約 40 Å であり、40 Å 以上の孔が繊維表面にあると分解されやすいという。

荻原、荒井¹⁶⁾は近畿ヤクルト製 *T. viride* セルラーゼ製剤 (Cellulase onozuka P 500) を用い木材パルプの加水分解を研究し、塩酸の作用と比較している。それによるとセルラーゼの加水分解作用は極めて局部的に進行し、加水分解に伴う重合度、重合度分布および形態上の変化は酸の場合には著しく、セルラーゼの場合には極めて少ないという。繊維素分解性微生物およびそのセルラ

ーゼによる木質廃資源の活用は、人口増加に伴う食料問題と廃資源による公害問題に関連して世界的に注目され、1968 年 9 月に米国化学会、繊維素、木材、繊維化学部の主催のもとに「セルラーゼとその応用」のシンポジウムがアトランチック市で開催され、その成果が本年出版され

た。著者¹⁷⁾は同書に日本における細胞分離酵素とセルラーゼの応用を発表している。同書で Ghose と Kostick¹⁸⁾は半連続式および連続式にパルプ (Solka Floc) を *T. viride* の液内培養沱液で糖化する方法を述べている。かれら以前にソビエットの学者らは、もみの木のパルプを 200°C で 40 分間粉碎すると希釈硫酸で良く糖化できるようになることを発見している。これを Katz と Reese¹⁹⁾は、さらに発展させ、加熱粉碎したセルロースは最高 50% (w/v) の懸濁液にすることができ、しかもセルラーゼで容易に分解して 30% 以上のブドウ糖液を得たと述べている。この際 220°C、30 分間の微粉碎、高濃度の *T. viride* セルラーゼ液を用いて、pH 4.5、40°C で作用させ、5 日間で 23%、10 日間で 29%、15 日間で 30% 以上の糖液が得られている。著者は米陸軍ナチック研究所で Reese, Mandels 両博士に、加熱粉碎設備、糖化装置、微粉末を見せて貰って感銘を受けた。この研究所の Ghose らは、つぎのようにしている。加熱粉碎セルロースは少し酸化され、その結晶構造は大半破壊されていて、重合度は 200 以下になり、酵素で分解後フィブリル構造が一層多く見られるようになり、結晶性が増すのでフィブリル構造を持たない物質が分解、消失すると考えられる。Ghose らは、かれらの酵素糖化法を詳細に報告しているので今後の良き指針となろう。著者の夢の 1 つであるが、でん粉の酵素糖化では、液化型アミラーゼが併用されているので、もし液化型セルラーゼが微生物界に発見されたら素晴らしいことであろう。

セルロースの酵素糖化では、でん粉の酵素糖化の場合と異なり、原料の蒸煮、冷却の工程を必要としないで、熱量、水量などの点で有利と考えられ、木質廃資源の酵素糖化の実用上の強みとなろう。

(4) 廃資源の酵素糖化液の利用。糖濃度 2% 前後の糖液で飼料酵母を培養する場合は当然ブドウ糖とキシロースの双方を利用して、菌体を作る酵母、たとえば *Candida utilis* のごときが望ましいが、さらに優良な酵母を発見できよう。Mandels と Weber²⁰⁾は Solka Floc の *T. viride* のセルラーゼによる糖化液を用いて、*Torulopsis laurentii* や *Candida tropicalis* が糖類を良く利用し、*Candida utilis* にまさることを示している。さ

らに高濃度の糖液を酒精酵母で発酵させて酒精を製造することも考えられ、酵素糖化と発酵を並行させると、糖類によるセルラーゼ阻害を回避できると思われるが、発酵生産物による阻害も考慮に入れねばならない。一方、*T. viride* は酵母細胞壁を溶解する真菌類溶解酵素^{21,22)}も生産し、こうじ抽出液や液体培養液に含まれるので、この酵素の影響が木質廃資源の酵素糖化時に、酵母に対してどの程度示されるかを著者らは研究中である。

要するにセルロースの酵素糖化は実現の可能性があり、前記 Mandels と Weber は *T. viride* のセルラーゼの半連続式液内培養法による生産さへ進めている。著者が 20 年の歳月を傾けて育て上げた *T. viride* のセルラーゼ製剤は、今日世界中の人々に人類が手にした最初の真のセルラーゼ製剤として認められ、その酵素成分、成分間の相乗作用、各成分の作用機作などが、著者らを始めとして多数の人々により解明されている。

ま と め

国連総長報告でウ タント事務総長はつぎのように述べている。今後半世紀足らずのうちに世界の人口が倍増し、これに要する食料、水、鉱物、燃料などを供給するために天然資源について極めて慎重な計画と管理が必要である。さらに近代技術の利用増大は環境汚染を引き起こす廃棄物の量を増加させ、紙だけでも米国で年間 2000 万トンに及んでいる。また世界の森林地域の 3 分の 2 は木材産出の能力を失っている。一方わが国は深刻な飼料問題をかかえている。たとえば米国産粗飼料（ヘイキューブ）の輸入量が急増し、現在までに数万トンに達したと推定される。これはアルファルファの乾燥物で 4×4×7cm³, 45g の緑色のもので、わが国の乾燥野草、稲わらに比べて繊維素量は同じくらいであるがタンパク質量は 2~4 倍も多い。国産干し草 41~42 円/kg に対しヘイキューブは 35 円/kg である。以前から日本の牛は 4 本の足のうち 3 本が外国産の飼料で立っているといわれていたがヘイキューブが普及すれば 4 本ともそうになってしまう。都市近郊では草地在なくなり、労力不足で稲わらも十分手に入らなくなった近郊酪農家にとってヘイキューブは不可欠の飼料となってきている。さらにわが国の畜産の生産費中に占める飼料費の割合は格段に大きく、牛乳生産では 57%，肉豚では 53%，採卵では 68%，肥育牛でも 30% となっている。しかもこれらの飼料のほとんどが購入飼料である。購入飼料の主体は配合飼料であり、その原料である、とうもろこし、こうりゃん、ふすま、大豆油粕、魚粕などの輸入量も驚くべき巨額に達している。従って国産飼料の開発が重要となってきた。経済企画庁の構想によれば、所得の上昇と人口の

都市集中が進むにつれ食肉の消費がふえ、現在 1 人あたり年間 9 kg が昭和 60 年には 26 kg に達するので 140 万ヘクタールの牧草地を開発し、肉用、乳用合わせて 1000 万頭の牛を飼育するという。草地造成や水田裏作としての飼料作物の栽培が重要であろうが実現は容易なことではあるまい。わが国もまたノルマルパラフィン为原料とする飼料酵母の生産を計画し、昭和 46 年、年産 12 万トン、47 年以降 28 万トンが予定されている²³⁾。しかし著者は木質廃資源とパルプ粕の酵素糖化液を飼料酵母の培養やいろいろな発酵のための原料にしたい。あの米国でさえ、のこ屑、パガス、とうもろこしの葉、茎、穂軸などを、著者と同じ目的のために活用しようとしており、前記の ACS のシンポジウムが開催されたのも、その 1 つの現われである。米国では製紙工場で多量に副産されるポプラの樹皮を反芻動物の飼料にするためにサイロに貯蔵し、大麦やカビの発酵生産物を加えるなどいろいろ工夫したり²⁴⁾、事務用紙の廃物を羊の粗飼料に混合して、その効果を調べている²⁵⁾。ACS の木質廃資源の飼育試験やこれらの飼育試験の結果を見れば、脱リグーンが絶対に必要であり、適当な栄養源の添加も重要であることがわかる。著者の人工牧草ではクロレラの代わりに飼料酵母やグルタミン酸発酵で副産される細菌体の添加も考えられる。繊維素を主体とする廃資源の活用は、米国よりもはるかに資源に乏しいわが国でこそ一層進められるべきであるのに現状はあべこべである。米国では、恐らくケタ違いに量産される廃資源は始末に困るものであろうし、公害防止の厳重な法的規制があるので、その活用に熱心なのであろう。著者らの酵素糖化における木質廃資源の分解率 85~90% は、著者ですら予想もしなかったもので、ここに酵素糖化の可能性が見いだされたことになる。著者と米国技術陣との協力は人類の夢の 1 つといわれる、木質廃資源の常温常圧における酵素糖化法をやがて実現するであろう。

文 献

- 1) 北御門、外山；*醸酵工学雑誌*, 40, 85 (1962)
- 2) N. Toyama; "Advances in Enzymic Hydrolysis of Cellulose and Related Materials", Edited by E. T. Reese, Pergamon Press., 235 (1963)
- 3) 外山、小川；*醸酵工学雑誌*, 44, 741 (1966)
- 4) 小川、外山；*醸酵工学雑誌*, 45, 671 (1967)
- 5) 小川、外山；*醸酵工学雑誌*, 46, 367 (1968)
- 6) 小川、外山；*醸酵工学雑誌*, 43, 661 (1965)
- 7) 外山、*醸酵工学雑誌*, 43, 683 (1965)
- 8) 外山；*繊維工学*, 22, 1 (1969)
- 9) 外山；*化学と生物*, 7, 630 (1969)
- 10) 外山；*醸酵工学雑誌*, 47, 714 (1969)
- 11) T. M. Wood, D. R. Phillips; *Nature*, 222, 986 (1969)
- 12) T. M. Wood; *Biochem. J.*, 115, 457 (1969)

- 13) L. A. Gómez ; El Complejo Celulolítico del Fusarium sp., Dpto. Microbiol. Fac. Fcia. y Bioq. Univ. de Bs. Aires (1969)
- 14) L. A. Gómez ; La Digestion de Alimentos Vegetales Mediante Enzimas Celulolíticas, Dpto. Microbiol. Fac. Fcia. y Bioq. Univ. de Bs. Aires (1969)
- 15) K.-E. Eriksson, B. H. Hollmark, A. Pettersson; *Svensk Papperstidning*, 72, 551 (1969)
- 16) 荻原, 荒井; 紙パ技協誌, 21, 209 (1967)
- 17) N. Toyama; *Advances in Chem. Series*, 95, "Cellulases and Their Applications", ACS, 359 (1969)
- 18) T. K. Ghose and J. A. Kostick; *ibid.*, 415 (1969)
- 19) M. Katz and E. T. Reese; *Appl. Microbiol.*, 16, 419 (1968)
- 20) M. Mandels and J. Weber; *Advances in Chem. Series*, 95, 391 (1969)
- 21) 外山; 醸酵工学雑誌, 45, 663 (1967)
- 22) 外山, 小川; 醸酵工学雑誌, 46, 626 (1968)
- 23) 科学技術庁資源調査会報告, 第 51 号 (1969)
- 24) J. W. Enzmann, R. D. Goodrich and J. C. Meiske; *J. Animal Sci.*, 29, 653 (1969)
- 25) J. F. Nishimuta, L. B. Sherrod, R. D. Furr and K. R. Hansen; *J. Animal Sci.*, 29, 642 (1969)

新しいナイロン Qiana

Du Pont 社が開発した Qiana は、従来のいかなる繊維よりもはるかにすぐれた性能（表参照）と絹のような美しさをあわせもったナイロンの一種である。Qiana は明るい光沢、滑らかでさらとした感触、深みのある鮮明な染色性が特色で、多孔質であるために熱や汗の発散がうまく行なわれるので、着心地が非常に良いといわれる。さらに熱や水分の存在下においても安定で収縮を起こさないために水洗いができ、絹のようにしみができないうえに黄変もしない。重量はポリエステルや絹よりも軽く、分散、酸性、塩基性、

Qiana の性質

密度	1.03
強度	3.3g/デニール
伸び	30%
モジュラス	30
水分率	2.5%
アイロンかけ温度	360°
収縮率	10%

繊維反応性のいずれの染料でも染色できるのが特徴である。

Qiana はこのようにすぐれた繊維であるが、織り方編み方、染色、仕上げなどに関しては他の繊維とは異なった取扱いが必要である。まず織物の熱処理以前にミルの中で汚染されないように注意して取扱わなければならない。普通のよごれは容易に落ちるが、油性のよごれは数時間以内に除去することが必要で、それ以上時間がたつとよごれが落ちなくなる。また織物を縫製する際、全体をよく広げて余分な力がかからないような状態で加工することが重要で、縫目がひきつれないように注意しなければならないが、プレスによって縫目を安定させることができる。

Qiana の用途としては、ドレス、ネクタイ、スカーフ、ワイシャツ地、セータ、室内装飾品、カーテン地、洋服地、くつ下、レース、リボンなどの身近なものから特別な工業用材料にいたるまで広範囲に及ぶといわれる。

D 114 Mod Textiles Mag. 51 [2] 48~52 (1970)

(「海外技術ハイライト」Vol. 4, No. 4 より転載)