

繊維原料の醗酵精練に関する基礎的研究とその工業化

中 浜 敏 雄

TOSHIO NAKAHAMA: Fundamentale Untersuchungen über die Fermentationsentgummierung der Fasermateriale und ihre Industrialisierung

摘要 本文は動物繊維を代表する絹糸紡績原料の醗酵精練と、植物繊維原料を代表する麻類原料の醗酵精練について検討したものである。およそ繊維原料の醗酵精練の研究に関する基礎的問題として、有用細菌の分離と、その生産酵素の検討が主要である。この観点から、まず絹紡原料の精練においてはセリシンの種類にも留意する必要があることを認めたので、その考慮のもとに有用細菌を分離し、これを同定した後、その生産するプロテアーゼを抽出・精製してそれぞれ結晶状に調製しその性質を検討した。一般に好気性の有用細菌の酵素は、すべてセリシンに対して特異的に作用し、各々単独で原料の精練は満足に達せられ、その性質はトリプシンに類似するものがあった。本文においては *Bacillus vulgatus* に例をとって説明した。これらの好気性の有用細菌を意志的に接種する方法により、従来自然醗酵より能率のよい精練法を樹立することができたので、集菌醗酵精練法として工業的に応用した。次に嫌気性有用細菌のプロテアーゼは前記の好気性細菌の酵素と比較して、たんぱく基質に対し分解の容積を異にし、かつアミノ酸開裂の個所にも相違があることを指摘し、また両種の細菌において生育上の共生的現象も認めたので、2種の有用細菌を同時に使用する共生醗酵精練法をも樹立し、原料の種類と性質に応じてこれを適用した。本文においては *Bacillus circulans* と *Clostridium* sp. とに例をとって説明した。

麻類原料の精練の研究においては、まず原料の種類により、その繊維束内に含有されるペクチンの性状が異なることを明らかにしたので、有用細菌もこの見地から分離し、同定した後、その生産するペクチン質分解酵素系の内容について解析した。各分離細菌の酵素の示す作用の特異性は、精練作用において、原料の種類に対して示す細菌の選択性と一致した。したがって集菌醗酵精練法においては原料の種類に対し、これに適応する有用細菌を使用した。また共生醗酵精練法の適用も行なった。これについて本文においては *Bacillus mesentericus* var. *Aoki* と *Clostridium sphenoides* との共生による精練効果の説明を行ない、また *Bacillus mesentericus* var. *Aoki* を *Bacillus subtilis* sp. におきかえた場合の実用的な問題にも触れた。糸状菌を利用する場合は、その抽出酵素による酵素精練法の研究を行った。分離した有用な糸状菌として *Penicillium citrinum* に属する1株の培養資料から調製した酵素について検討し、その精練に対する主作用としてエンド型のペクチナーゼ作用であることの推定を下した。

目 次

序 論	第1節 研究の目的と有用微生物
第1章 絹糸紡績原料の醗酵精練	第2節 細菌の原料に対する選択性
第1節 醗酵精練とセリシン	第3節 共生醗酵
第2節 有用細菌の生産するプロテアーゼ	第4節 工業的応用
第3節 共生醗酵	第5節 糸状菌の酵素と精練
第4節 工業的応用	結 論
第2章 麻類原料の醗酵精練	

序 論

繊維(織布用)原料の醗酵精練の主目的は、微生物の生理的性質とその生産する酵素の作用を利用して、原料中の繊維こう(膠)着物質を分解・溶出することであり、これによって原料繊維は容易に紡績されうる状態となるのである。

この精練法は著者が研究に着手する以前においては、普通腐化と呼ばれていた。著者はこれを学術用語から醗酵と呼ぶことに改めたが、いわゆる普通の醗酵とは異なり、利用すべき繊維の本質は損傷することなく残して、附随する物質を微生物の作用によって分解せしめるものである。そしてその醗酵の状態を、従来自然に繁殖する微生物に委かされていたものから、人意的に有用な微生物を効果的に利用するための研究を行なった。およそ醗酵工業にあっては、目的に対する最も適切な微生物を、その繁殖や作用に対して最適の条件におくために、また不必要な化学的变化を避けるために、外界から遮断された密閉タンク内で行なうのが普通である。しかし本研究に対する工業化において、かかる密閉タンクの使用はとうてい望まれるべきものではない。その理由の一つは原料がはなはだかさばった状態のものであり、これから得られる利用部分の収率は比較的少なく、しかも日々多量の原料を取り扱うべき生産の能率が問題となる。また一つには原料の殺菌の点である。原料中には耐熱胞子を有する細菌群が多量に存在するのが普通であるから、原料の殺菌処理において、あるいは繊維の本質を損傷し、あるいは除去することが望ましくない部分まで溶出する虞もある。さらにまた今一つの理由として、原料の種類や性質があまりに多岐にわたることである。すなわち原料の質に応じて精練にも手加減を必要とするこの仕事は、マンホールからの観察などで精練の進行を推定しうるものではない。以上の理由でふた付きの「かめ」や、おけを醗酵容器として使用せざるを得ない。すなわち微生物学的には開放の状態での醗酵を遂行しなければならない。したがって有用な微生物を接種しても、他の雑菌の侵入や増殖を防ぎうるものではなく、ただ有用細菌の接種量の配慮や、その醗酵の条件を接種菌の増殖や酵素作用に対してできるだけ最適におくなどの考慮のもとに、自然醗酵から一段と進歩した醗酵法に進み得たものである。したがって単一細菌による醗酵ではない。最も適切と認定した細菌を、できるだけ有力に作用せしめるために、諸般の工夫によって醗酵圏内に集殖せしめるものである。

したがって著者はこれを集殖醗酵と呼ぶことにした。それによって醗酵を能率的にまた定常的に進めることができた。初回の原料浸漬水に有用細菌も集殖され、酵素も蓄積されているので、繰り返し醗酵液とし

て使用するが、毎回の醗酵の過程に pH をはじめ液内の条件は若干の範囲内において変移する。この範囲は有用細菌の活動条件内にあるが、生育条件をこの範囲内にもつ他種の有用細菌の混合が、互に共生的にまた作用上協調的に働く場合は2種以上の、しかも性質の異なる有用細菌の利用も考えられる。この検討から共生醗酵法も立案した。最後に糸状菌の酵素をその培養資料から抽出して利用する酵素精練法も考案した。なお、未完成の分野に属するが、特殊の条件のもとで作用する酵素をつかみ得たら、開放的な設備によっても無菌的な処理も可能となるであろう。

さて本研究による絹糸紡績原料の精練と、麻類原料の精練との2つは、微生物を応用する作業上の状態は似ているけれども、前者の場合の繊維のこう着物質はたんぱく質であるところのセリシんで、後者の場合はポリサッカライドであるところのパクチン質であるから、その分解の役割りをする酵素も、したがって利用すべき微生物の種類や性質も全く異なるわけで、研究の内容はおのずからその立場を異にする。しかしさいわいにもそれぞれの研究において互に他の研究の進行を示唆するところがあって、これは各々の基礎的研究の上にも、また工業化の上にも大いに益するものがあった。ここに前記の二つの部門について別々に記述することにする。

第1章 絹糸紡績原料の醗酵精練

第1節 醗酵精練とセリシン

家蚕繭から得られる絹糸には生糸と絹紡糸との別がある。生糸は健全な繭を煮繭して繰糸したものであるが、絹紡糸の原料は主として養蚕家や製糸工場で産出されるもので、繭のくず物や製糸工場で繰糸の際にできるくず物が主な原料であり、その他若干ねん糸工場や機織工場で産出されるものもある。

したがって原料の種類もはなはだ多く、例えばでがらまゆ(出殻繭)は繭の中のさなぎが羽化して繭の一部を破り穴をあけて脱出したために繰糸ができなくなったもので、あがりまゆ(揚繭)は繭の中で蛹が死んだり、繰糸の途中で糸が切れて繰糸不可能となりしかもたいていの場合死亡蛹体の油で繭が汚染されているもので、きびそ(生皮葎)は繰糸の際繊維の糸口を求めために繭の外層からたぐりとった部分で、びす(比須)は糸を繰り終ってこれ以上は繰糸が困難になった比較的内層の部分で、内部のさなぎは一応かき出して除く処理が行なわれている。これらは最も普通にとり扱われる原料であるが、その他にもいろいろなものがあり、その種類においても質においてもはなはだ多彩である。これらが精練工場に集められ、精練されて後、紡績されたものが絹紡糸である。

絹紡原料の精練には除こう（膠）の程度とこれに伴う処理法より本練，七部練，半練の区別がある。そのうち最も大量にとり扱われ，ほとんどの種類の原料に対して広範囲に適用され，精練工場の主体をなすものは七部練で，これは元来七部通りの除こうを行なうという概念からきた名称であり，必ず微生物の作用による発酵過程を経なければならない。この発酵処理が精練の最も重要な過程であって，その前後に準備練，仕上げ練と称する簡単な化学的処理を行なう。

元来絹の繊維はその本質であるところの2本のフィブロインがセリシンでとり囲まれているもので，蚕が営繭する際に繊維間のセリシンが互にこう着して，そのままでは繊維が分離されない状態になっている。そのため生糸をとる目的に対しては煮繭という操作が必要となるが，絹紡糸の場合は原料の性質上簡単な処理では分繊が困難で精練が必要となってくる。もっとも精練において除去するものはセリシンだけでなく，さなぎに由来する油脂やその他の汚物も問題になり，この面の研究を行なったが，分繊の立場からは精練の主目的はセリシンの除去であり，またこれに伴って大部分の汚物も除かれるので，本文ではセリシンの問題に限定して検討することにしたい。

従来の発酵精練は腐化と称し，外そうの温湯によってあたためられる素焼きのかめの中で天然に繁殖する雑菌に委せて行なう自然発酵であった。したがって無効，有害な雑多な微生物も混入，増殖している圏内で発酵は行なわれた。そのためにはなほだ能率が悪く，また効果的な細菌の量的存在の保証がないために同種の原料に対しても発酵速度は必ずしも同一でないなどの

工場操作上の不便があった。本研究はこれらの欠点を排除し，ことに能率的な発酵法を案出する目的で，効果の著しい細菌を意志的に使用することを企図して着手したものである。

この目的のために細菌のスクリーニングを行ない，さらに中間工業的の効果を確かめた上で同定を行なった有用細菌は第1表に示すようなものであった。

第1表 有用細菌（絹紡原料精練）

<i>Bacillus cereus</i> (No.20)	好気性	片桐・中浜	1937
<i>Bacillus cereus</i> (No.37)	〃	片桐・中浜	1937
<i>Bacillus robustus</i>	〃	片桐・中浜	1939
<i>Bacillus vulgatus</i>	〃	中浜・今原	1957
<i>Bacillus circulans</i>	〃	中浜・今原	1957
<i>Clostridium sp.</i>	嫌気性	中浜・今原	1957

これらの有用細菌の生産するプロテアーゼは強力にセリシンを分解する。しかも化学的安定性を異にする異種セリシンに対しても，ほぼ同比率において分解するので，収率よく繊維を取得することができる。この間の事情を以下にやや詳しく説明する。

精練によるセリシンの除去は，繊維相互の分離を容易にするのがその主目的ではあるが，いうまでもなく絹紡糸の取引は目方で行なわれる。したがって精練に当って必要以上にセリシンを除去することは収率の点から不経済である。また品質にも影響する場合もある。

セリシンについては内外の研究者^{1)~5)}によっていろいろ研究されている。しかしセリシンはすべてが一樣のものではなく，適当な規準のもとに区別^{6)~12)}されているが，要するにその区別は化学安定性の差によ

第2表 家蚕繭（特三又×支106号・8）の解舒とセリシンの種類の関係

試験事項		上簇条件	乾燥上簇繭	湿潤上簇繭
繭	平均繭形 (cm)		2.9×2.0	3.0×2.0
	繭層歩合 (%)		51.2	50.0
繭層	解舒指数	外層	39.8	56.3
		中層	44.3	59.0
		内層	44.5	59.3
	セリシン%	外層	28.66	28.99
		中層	17.79	17.81
		内層	16.86	16.89
	セリシンB / セリシンA × 100	外層	8.31	9.27
		中層	9.01	9.60
		内層	9.20	10.40
絹糸	強力 (デニール)		3.83	3.67
	伸度 (%)		18.68	18.19
	織度 (デニール)		13.8(+0.7, -0.7)	14.1(+0.7, -1.1)

るもので、根本的な性質が異なるものではない。Mosher⁽³⁾の方法に従ってこれを区別すると、セリシンBはセリシンAよりも比較的安定である。しかも繭や原料中のセリシンBの量はセリシンAに比べてはなはだ僅少である。けれどもそのセリシンBをアルカリなどの純化学処理によって、ある程度分解しようとするばすでにセリシンAのほとんど大部分は溶出されてしまう結果になる。

そこで繊維の分離を妨げない程度にセリシンを残留せしめようとする精練においては、そのセリシンの種類に対し無関心ではあり得ない。この検討のために同一種の蚕種について養蚕を行ない、異なった状態のもとで営繭せしめて解じょ（舒）難易の2様の繭を作らせて、セリシンの種類に対する量的関係を検討した。たとえば上（簇）期において別々の室に運び、一方は比較的湿潤状態（平均温度 82°F, 平均湿度 90%）におき、他方は比較的乾燥状態（平均温度 82°F, 平均湿度63%）において営繭せしめた。

第2表に示す結果によって明らかなように、湿潤状態で営繭したものは乾燥状態で行なったものよりも、解じょ（舒）指数は大で分織の困難を示した。この数字は化学試験によったものであるが、実際に両者の繭

について繰糸試験を行なった結果も同様であった。この場合の繭のセリシンを測定すると、その絶対量には認むべきほどの差はないが、湿潤状態で営繭した繭は乾燥状態のものよりも、セリシンAに対するセリシンBの比率が大であった。すなわち繊維の分離とセリシンBとの関係が考慮された。また両者の繭の糸質についても営繭時の状態の影響が認められたが、これを直接繭の解じょと関連して説明するためには、ほかの要素も考慮に入れなければならない。

同様の趣旨にもとづき、第5齡幼虫期において、給桑回数を変えて営繭せしめた解じょ難易の2様の繭についても検討したが、給桑回数の比較的少ない場合のほうが、解じょ指数が小で、かつセリシンBの量が少ないことが認められた。絹紡原料そのものについては、資料の均一を期しがたいので緻密な試験を行なうことができなかったが、精練の傾向としては繊維の分離に対し、セリシンBのほうがAよりも深い関係があるように認められたことは同様であった。要するに溶出されやすいセリシンAと比較して、原料中の含有量ははなはだ少ないにかかわらず、セリシンBは精練の立場からは一層重視されるべきであると考察した。したがって有用細菌のスクリーニングに当たっても、この

第3表 発酵によるセリシンA, Bの分解

菌 種	繭 (外層)		発 酵 後		分 解 率	
	セリシンA (%)	セリシンB (%)	セリシンA (%)	セリシンB (%)	セリシンA (%)	セリシンB (%)
<i>B. cereus</i> (No. 20)	25.31	2.62	6.73	0.69	78	79
<i>B. cereus</i> (No. 37)	25.31	2.62	7.29	0.92	77	71

第4表 分離細菌の性質

測 定 事 項	<i>B. cereus</i> (No.20)	<i>B. cereus</i> (No.37)
形状および大きさ	桿菌, 0.8×2.0~2.5μ, 単独または短連鎖	ほぼ同左, 0.8×2.0~2.2μ
運 動 性	活発	同左
胞 子	中心的, 0.8×1.2~1.5μ, 菌体は膨張す	同左
グ ラ ム 染 色	陽性	同左
イ ン ド ー ル	生成せず	同左
硝 酸 還 元 性	還元す	同左
血 清 液 化 性	著しく液化す	液化力弱し, 表面の発育は灰白, 皮膜を生ず
リ ト マ ス 乳 清	黄茶色, 凝固せず, ペプトン化す	同左
ば れ い し ょ 培 養	灰白, 有皺発育, 暗黒色化す	灰白, こぶ状凹凸あり, 暗黒色化す
ゼ ラ チ ン 穿 刺 培 養	速かにろ斗状に液化す	速かにろ斗状ないし囊状に液化す
で ん ぶ ん 穿 刺 培 養	表面にのみ発育, 白色, 脂肪光沢	同左
寒 天 斜 面	黄白, 粒状, 不整ひも状, 脂肪光沢	白色, 薄带状
貯 蔵 物 質	グリコーゲンを有す	同左
ガ ス 生 産	生産せず	同左
生 酸 性 糖 類	グルコース, デキストリン, でんぶん, 蔗糖, ガラクトース	同左
最 適 温 度	35~40°	同左
最 適 pH	6.5	同左

ことは考慮に入れて行なった。その結果、たとえば有用細菌 *Bacillus cereus* (No.20) および *B. cereus* (No.37) の培養ろ液に繭の外層を浸漬し (pH 7.0)、無菌的に40°、5日間静置した時、試料に残存するセリシンAおよびBの量を求め、それぞれの分解比率を測定すると第3表のとおりであった。

すなわち表に見るように、有用細菌によって分解されたセリシンAおよびBの比率には認むべき差は指摘されなかった。もしかりに、アルカリなどの化学処理によって、繊維の分離に必要な程度にセリシンBの除去を行なうとすれば、それよりも化学的に溶出されやすいセリシンAの大部分は、すでに除去されてしまつて、繊維の収率は著しく低下される結果となるであら

第5表 分離細菌の性質

測定事項	特徴
栄養細胞	桿状0.8~1.4×4.0~8.0 μ
孢子嚢細胞	両端矩形
胞子	栄養細胞と同じ 桿状0.8~1.2×1.5~2.0 μ 中央に生ず
運動性およびべん毛	運動活発、一端単生べん毛
普通染色	アエリリン、メチレン青、ゲンチアナ紫で染色困難
グラム染色	陽性
寒天斜面培養	白黄色、周縁不整形、光沢少く、乾性
寒天穿刺培養	表面のみ繁殖、白色、ガス発生せず
ゼラチン穿刺培養	液化する
ペプトン水	混濁、厚膜を生ず
牛乳	凝固せず、ペプトン化する
リトマス乳清	青変する
硫化水素	わずかに発生
インドール、スカトール	陰性
硝酸塩還元	陽性
アンモニア発生	陽性
ガス発生	陰性
でんぶん加水分解	分解する
カタラーゼ反応	陽性
アセチルメチルカルピノール	生成せず
色素還元性	メチレン青を弱く還元、褪色
色素生産	ばれいしよ、牛乳培地で生成せず
発酵性糖類	ぶどう糖、果糖、麦芽糖、しょ糖、こ精、でんぶん
非発酵性糖類	乳糖、キシロース、ガラクトース、マンノース、アラビノース、イヌリン、マンニット、グリセリン
最適 pH	7.0~8.5
限界 pH	6.0~9.5
最適温度	37°C
限界温度	20~45°C
酸素との関係	好気性

う。

有用細菌の酵素作用によって原料から収率よく繊維を収得することができるのは、以上のように両種のセリシンをほぼ同比率に分解することがその原因として考えられる。勿論セリシンAも適当な程度に除去することは精練の目的であることは云うまでもない。

なお有用細菌 *B. cereus* (No.20) および *B. cereus* (No.37) はいずれも原料浸漬液から分離選択したもので、その性質は第4表に示すように *B. cereus* Frankland にほとんど一致したが、前者は、最適温度の点において、後者はゼラチンおよび血清の液化性においていささか差異を認めたので、その1変種として同定した。

第2節 有用細菌の生産するプロテアーゼ

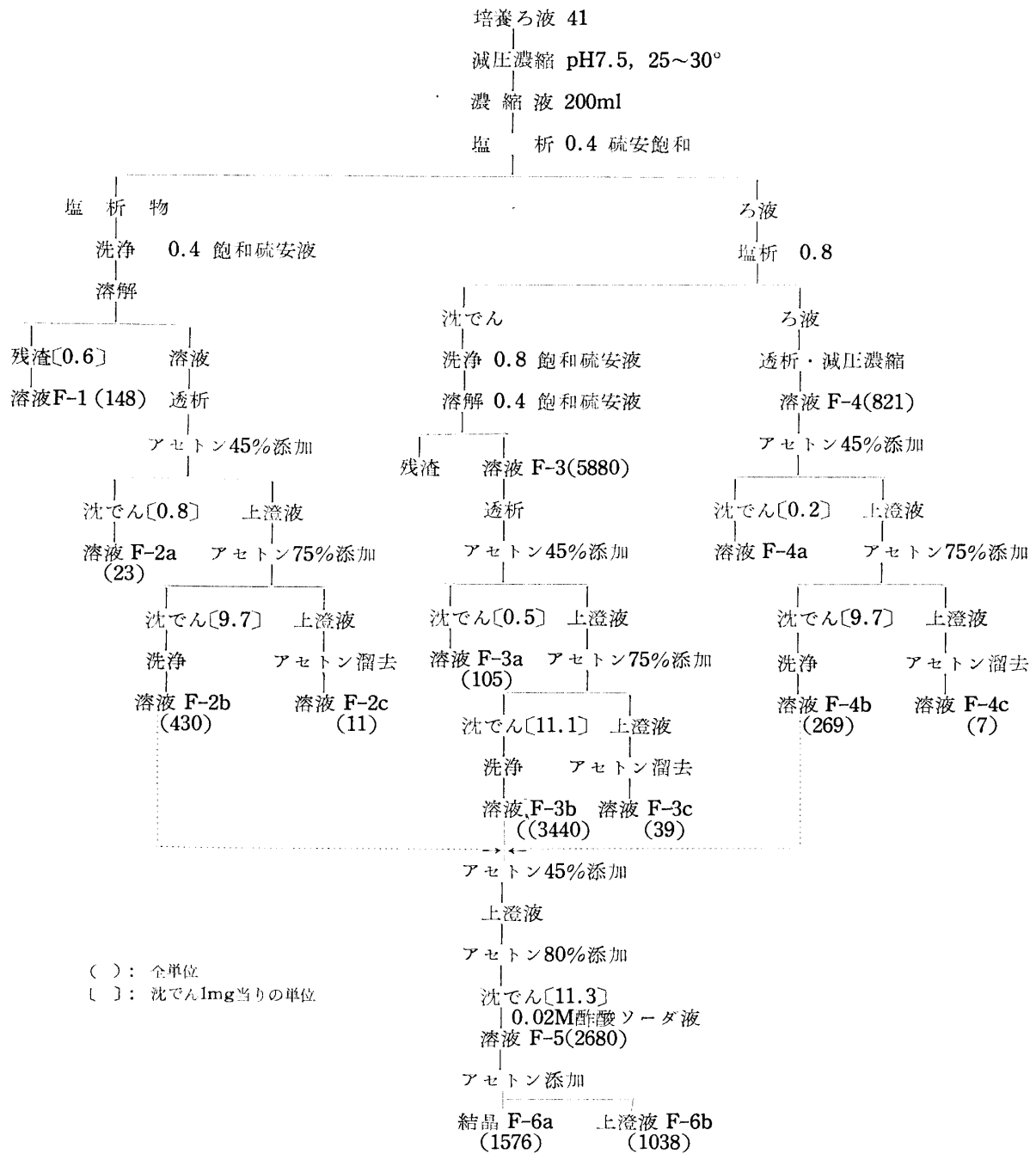
原料の精練の主作用は細菌の生産するプロテアーゼによって行なわれる。そのためにまず分離選択した1株の好気性有用細菌について、あらかじめその分類学的特徴を調べると第5表のようであったので、この細菌は *Bacillus vulgatus* に属するものであると同定した。

この *B. vulgatus* を1%加糖ペプトン水 (pH7.0) 4l に、37°、5日間培養した後、トルオールを添加して24時間放置し、細菌ろ過器で菌体を除去したのについて、第6表に示す方法によって、各区分の力価を測定しながら精製して結晶化した。この際各区分の力価は第7表のようであった。

B. vulgatus から得られたプロテアーゼ結晶 F-6a を再結晶したものは長さ約20~30 μ の針状結晶であり (図版1)、ゼラチン粘度降下単位において 11.6u/mg を示し、培養濃縮液中の全窒素単位に対する約16%を結晶として取り出し得た。もちろんその結晶酵素の水溶液はキサントプロテイン反応、ミロン氏反応およびビュレット反応においていずれもたんぱく質の反応を示し、また35%以上のアセトンおよび40%以上のアルコールには不溶である。

ただし結晶酵素の水溶液 (2.6mg/ml) と培養ろ液をそれぞれ50倍に希釈し、ゼラチン粘度降下法によって、各 pH における力価を測定した結果第8表に示すように、結晶酵素では最適 pH は7.8~8.2の範囲を示した。これに対し培養濃縮液の場合は、酸性側 pH 2.0付近においても若干の活性を示しているので、培養液中にはさらに他のプロテアーゼの存在をも暗示しているものようである。しかしかかる低位の pH において活性を示すものは、作業の実情から考察して精練に関係するとは考えられない。なお結晶プロテアーゼを酵素濃度1%、pH 5.8、酢酸緩衝液 (M/2=0.1)、20°、電位4配12V \cdot cm⁻¹の条件で電気泳動させたところ、第1図のような結果を得た。すなわち図型Vに

第6表 酵素の精製法



見られるように、10800秒泳動後の上昇図型からこの酵素は一応3成分(成分I, II, III)から組成されていることが推定できるが、成分I, II, IIIのうちいずれが該酵素の主体をなすたんぱくであるかは判定でき兼ねる。そこで引き続きpH 8.0 磷酸塩緩衝液(M/2=0.1), 20°, 電位勾配5.5V·cm⁻¹で結晶前の粗製品の泳動を行なったところ図型VIのような結果が得られ結晶の場合と同様に3成分から成ることが認められ、成分I, II, IIIの割合の変化から考察すれば結晶製品の主体は成分IIではなからうかと推定された。さらに再結晶を繰り返しても諸般の状態の変化がないので一

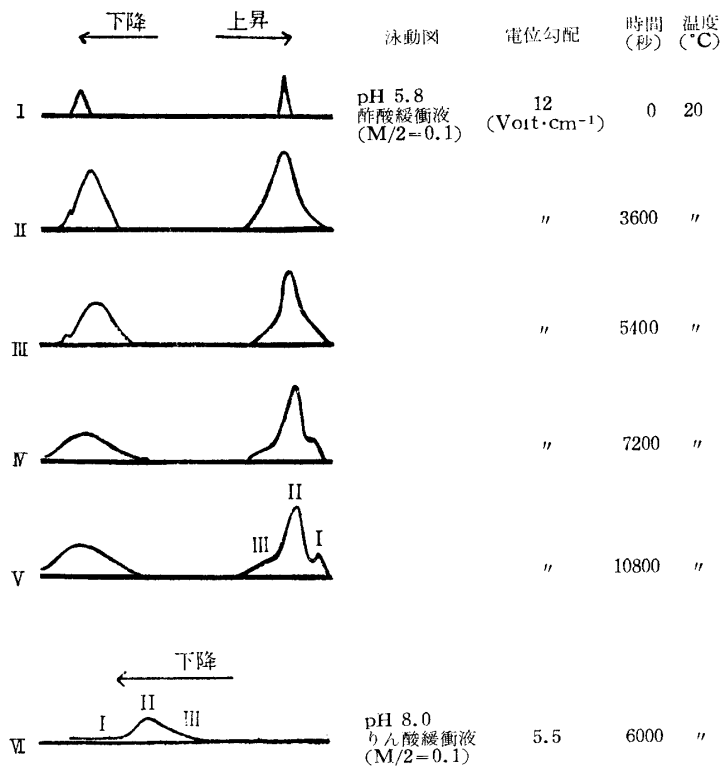
応この結晶を純品と考えて以後の研究に供した。電気泳動試験については金森教授の労をわずらわした。

B. vulgatus の結晶酵素の諸性質を測定するとトリプシンに類似することが指摘されたが、ゼラチンに対する作用はMerk社製のトリプシンに比べて2.5倍も強力であった。すなわちゼラチン粘度降下単位で該酵素は11.6u/mgであるが、トリプシンでは4.8u/mgであった。

そこでゼラチンに対する粘度降下の作用が1ml当り5単位を示すように、両者の酵素濃度を調製し、その4ml あてを5%たんぱく基質溶液40mlに添加し、pH

第7表 各区分の酵素の活性度

区 分	酵素溶液 ml	沈でん量 mg	ゼラチン粘度降下単位 40°, pH 8.0			培養濃縮液の全単位に対する比率
			単位ml 当り	沈でん1mg 当り	全単位	
培養濃縮液	200	—	48.0	—	9600	—
F-1	10	246	14.8	0.6	148	1.5
F-2	20	—	61.0	—	1220	12.3
F-3	20	—	294.0	—	5880	61.2
F-4	228	—	3.6	—	821	8.6
F-2a	10	276	2.3	0.8	23	0.24
F-2b	5	44	86.0	9.7	430	4.48
F-2c	10	—	1.1	—	11	0.11
F-3a	10	207	10.5	0.5	105	1.09
F-3b	10	309	264.0	11.1	3440	35.72
F-3c	10	—	3.9	—	39	0.40
F-4a	10	55	1.3	0.2	13	0.40
F-4b	5	28	52.0	9.7	269	2.80
F-4c	10	—	0.7	—	7	0.07
F-5	5	237	536.0	11.3	2680	27.81
F-6b	5	—	207.0	—	1038	—
F-6a (結晶)	—	138.2	—	11.5	1576	16.42



第1図 *B. vulgatus* の酵素の電気泳動図

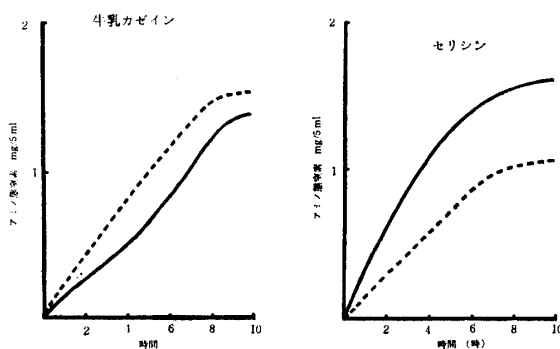
第8表 酵素の活性度とpH (40°)

pH	培養濃縮液	結晶酵素液
1.2	1.28	0.04
1.6	2.15	0.03
2.0	2.85	0.04
2.4	2.04	0.05
2.8	1.04	0.04
6.2	3.42	1.15
6.6	3.75	2.23
7.0	4.14	3.87
7.6	4.78	4.39
7.8	4.82	4.71
8.2	4.65	4.86
8.6	4.32	4.25
9.0	3.79	2.93

pH 1.2~2.8 M/10-グリシン塩酸緩衝液

pH 6.2~8.0 M/10-りん酸塩緩衝液

pH 8.0~9.0 M/10-ほう砂-ほう酸緩衝液



第2図 デガムマーゼとトリプシンの作用の比較

— デガムマーゼ トリプシン

8.0, 40°で反応せしめ反応液5ml中のアミノ態窒素をフォルモール法によって経時的に測定した。ゼラチンを基質とする場合はアミノ態窒素の生産量もほぼ一致したが、牛乳カゼインおよびセリシンを基質とする場合は第2図のような結果を示した。

すなわちアミノ酸への分解率は牛乳カゼインに対してはトリプシンの方が強力であるが、セリシンに対しては *B. vulgatus* の酵素のほうがトリプシンより著しく強力であった。

他の好気性の有用細菌の酵素も、セリシンに対しては特異的に作用し、またいずれもプロテイナーゼ作用のみでなく、アミノ・ポリペプチダーゼ作用、カルボキシン・ポリペプチダーゼ作用、トリおよびダイ・ペプチダーゼなどの諸作用を示し、その他の性質についても多くの共通点を指摘した。また、いずれも組織繊維の本質たるフィブロイン^{(19) (20)}には作用せず、さらにそれぞれの酵素単独で原料の精練が全うされることを認

めたのでわれわれはこれを“Degummase”と呼ぶことにした。

そこで好気性有用細菌を原料浸漬水中に接種し、35°~37°において1日数回約20~30分間ずつのエアレイションを行なって細菌の増殖をはかり、これを集殖しここに蓄積する Degummase によって次々に原料の発酵を繰り返す集殖発酵法を樹立して工業化した。これにより生産能率は大いに上がり、また繊維の収率も向上した。

原料比須と、これを精練した精乾綿、さらに製綿機にかけて繊維をそろえた状態とした製綿の1例を図版2~4に示してあるが、精乾綿ですでに繊維の分離は行なわれている。製綿を細長く縦に連結した状態のものはスライバー (sliver) と呼ばれ、その後粗紡、精紡などの工程を経て絹紡糸となるのである。

第3節 共生発酵

次に第1表にすでに示したように、嫌気性細菌のうちにも有用なものを分離した。その培養ろ液は強力なセリシン分解作用を示すが、この細菌を原料浸漬液に接種して発酵を行なう場合、実験的に嫌気状態に置いても、その発酵の速度は好気性の有用細菌による場合よりはかなり遅延する。この事実はこれらの嫌気性細菌の生育に対する最適条件のもとで発酵を行なうことが困難であることに起因すると推察される。そこで好気性細菌との混合培養のもとに、嫌気性細菌の条件を満足せしめることを考えた。この検討のために用いた1例として好気性細菌の1株と嫌気性細菌の1株について説明すると、両細菌の分類学的特徴は第9表のようであったので、それぞれ *Bacillus circulans* および *Clostridium pecinovorum* に属するものと同定された。ただし後者の同定については未発表であるのでここには *Clostridium sp.* として指定する。

B. circulans と *Clostridium sp.* との同一菌体量(光電比色計による)を、それぞれ繭外層部5gを投入した500mlの1%バブトン水培地に接種し、またその混合培養の場合は半量ずつ合計同一菌体量となるように接種し、*B. circulans* の単独培養と混合培養Aにおいては液面が空気に接するように *Clostridium sp.* の単独培養と混合培養Bにおいては空気と遮断した状態でいずれも37°、5日間培養して試料の発酵を行なった。この間における発酵による試料中のセリシンの分解率を測定すると第10表に示すようであった。次に別に繭層から抽出精製した1.5%セリシン溶液40mlに、単独および混合による培養ろ液10mlを、無菌的に作用(40°)せしめて比粘度の降下の状態を測定すると第3図のような結果を得た。

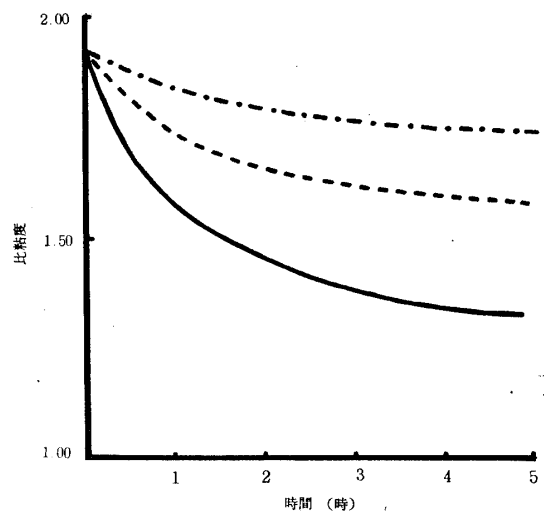
第9表 *B. circulans* と *Clostridium* sp. の性質

測定事項	<i>B. circulans</i>	<i>clostridium</i> sp.
栄養細胞	桿状0.6~1.2×3.0~8.0 μ 両端鈍円	稍細長い状0.4~0.8×3.0~5.0 μ 両端円形
孢子嚢細胞	栄養細胞より稍太い	プレクトリジウム型
胞子	楕円形0.6~1.2×1.5~2.0 μ 一端または両端	楕円形0.8~1.2×1.0~1.6 μ 一端に生ず
運動性およびべん毛	運動活発, 一端又は両端単生べん毛	運動活発, 一端束生べん毛
普通染色	アニリン, メチレン青, ゲンチアナ紫で染色困難	アニリン, ゲンチアナ紫, メチレン青で染色困難
グラム染色	陽性	陽性
寒天斜面培養	濃黄色, 周縁不整形, 光沢あり, 潤性	淡灰色, 周縁不整形, かすかに光沢, 潤性
寒天穿刺培養	表面のみ繁殖, 濃黄色, ガス発生せず	刺線に沿い繁殖, ガス少し発生
ゼラチン穿刺培養	液化する	刺線に沿い液化する
ペプトン水	混濁, 粘質なる薄膜を生ず	わずかに混濁, 被膜なし
牛乳	凝固せず, ペプトン化する	凝固する
リトマス乳清	青変する	赤変する
硫化水素	わずかに発生	顕著に発生
インドール, スカトール	陰性	陽性
硝酸塩還元	陽性	陽性
アンモニア発生	陽性	陽性
ガス発生	陰性	陰性
でんぷん加水分解	分解する	分解する
カタラーゼ反応	陽性	陰性
アセチルメチル	生成せず	生成せず
カルビノール	生成せず	生成せず
色素還元性	メチレン青を強く還元, 褪色	メチレン青をわずかに還元
色素生産	ばれいしょ, 牛乳培地で生成せず	ばれいしょ, 牛乳培地で生成せず
発酵性糖類	ぶどう糖, 果糖, 麦芽糖, しょ糖, こ精, でんぷん	ぶどう糖, 果糖, 麦芽糖, こ精, でんぷん
非発酵性糖類	乳糖, キシロース, ガラクトース, マンノース, アラビノース, イヌリン, マンニット, グリセリン	しょ糖, 乳糖, キシロース, ガラクトース, イヌリン, マンノース, アラビノース, マンニット, グリセリン
最適 pH	7.0~8.5	7.0~8.5
限界 pH	6.0~10.0	6.5~9.5
最適温度	37°C	37°C
限界温度	15~45°C	20~40°C
酸素との関係	好気性	通性嫌気性

第10表 発酵によるセリン分解率 (繭)

菌株	培養条件	分解率 (%)
<i>B. circulans</i>	開放	28.62
<i>Clostridium</i> sp.	嫌気	26.50
A { <i>B. circulans</i> <i>Clostridium</i> sp.	開放	32.48
B { <i>B. circulans</i> <i>Clostridium</i> sp.	100mmHg減圧	43.76

すなわち好気性の *B. circulans* と嫌気性の *Clostridium* sp. との混合培養のもとに原料の発酵を行なうと, 原料中のセリンの分解率はそれぞれ単独培養の場合よりも著しく, またその培養ろ液をセリン溶液に作用せしめると, 比粘度の降下も混合培養のろ液のほうが単独培養のものより著しいことが認められた。資料の均一をはかりえないので, 絹紡原料の各種類について行なった測定値は厳密を期し難いが, 明かに上

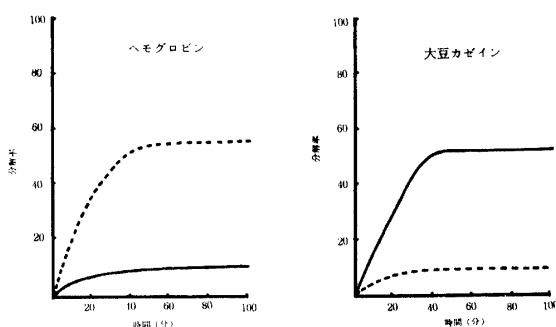


第3図 培養ろ液によるセリン (1.5%) の粘度降下
 ——— *B. circulans*+*Clostridium* sp.
 *B. circulans*
 - - - *Clostridium* sp.

記と同様の傾向を認めることができ、また他の有用細菌との関係についても同様の結果が指摘された。

この混合培養による精練効果の原因については2つの問題を想定して検討する必要がある。その1つは細菌相互の生育上の共生である。共生にも2つの場合の解釈があり、両者の細菌がそれぞれ互に他の生育を助け合うすなわち *symbiosis* を意味するものと、一方が他方の生育を助けるいわゆる *commensalism* を意味するものがあるが、この場合生育に好都合な条件が複雑な要素を多く含んでいて、後者の場合を厳密に証明することが不可能であるばかりでなく、いずれにしても精練に対して効果的な結果をもたらす現象であるので、ここには両者の意味を広く含めたものを共生として肯定することとする。今1つの原因として相互の細菌のそれぞれの生産酵素について、たんぱく分解に対する作用上の協力的現象である。すなわち互に両酵素の連続的作用によって、セリシンの分解が一層円滑に進行するという現象の想定が可能である。これらに対する研究結果から、結論的な判定を下すならば、この場合、その両面から混合培養の効果を理解することができた次第であるが、本論においては前例をそのまま生かして *B. circulans* と *Clostridium sp.* について行なった研究を例としてとりあげることにする。

まず細菌相互の生育上の共生の問題を検討する。この際共生が行なわれるための要因の1つとして、まず両菌株の栄養源ことに窒素源の関係が考えられる。これに対して、両細菌の生産するプロテアーゼの抽出精製を行ない、これをいろいろのたんぱくに作用せしめて比較した。その結果それぞれの生産酵素がたんぱく分解に対する性能を異にしていることを推定することができた。ここに最も適切と思われる1例をあげて説明すると第4図のとおりである。この実験はいずれも pH7.0 において行ない、基質25mlに酵素(結晶)液は 2% total N/ml 濃度のものを用い、対照値はそれぞれの基質液を 12N-HCl で 8 時間加水分解して求めたが、



第4図 好気性細菌と嫌気性細菌の酵素作用の比較

— *Bacillus*
 *Clostridium*

ヘモグロビンの場合は酵素液 5 ml を用いて、30° で反応せしめ、一定時間ごとに三塩化酢酸可溶性窒素を測定し、大豆カゼインの場合は酵素液 25 ml を用いて、40° で作用せしめ、Pope-Stevens 法によってアミノ態窒素を測定し、何れも対照値との比を分解率とした。

すなわちヘモグロビンをアミノ酸に分解する作用は *Clostridium sp.* の酵素は強力であるが、*B. circulans* の酵素の作用はいたって微弱である。これに反して大豆カゼインに対しては *B. circulans* の酵素は強力に作用するが、*Clostridium sp.* の酵素の作用ははなはだ微弱である。このように両種の細菌の生産するプロテアーゼがたんぱく基質に対して異なる特異性を有することは、細菌の窒素源資化の立場から共生現象の推察に対する可能性を生ずるものである。原料浸漬液中にはたんぱく質としてセリシンのほかにさなぎたんぱくも存在する。さらに水溶性の窒素源として細菌の接種に際して大豆かす抽出液を注加する。かかる状態において細菌の窒素源資化の上に、上記の事実はその共生の原因となることを推察し得る理由となる。実際に大豆カゼインと、これを *B. circulans* の酵素である程度分解したものと同一窒素含有量を栄養源として、*Clostridium sp.* を培養して比較すると、ことに培養初期におけるその繁殖力の検討によって以上の推察を確かめることができた。

次に共生と関連して原料浸漬水、あるいは発酵が進んだ発酵液中の酸素の関係が考えられる。この種の *Clostridium sp.* は液中に溶解する酸素の量にははなはだ鋭敏であることを確かめたが、このため好気性の強い *B. circulans* との混合培養において浸漬水の酸素が速やかに消費されることは *Clostridium sp.* の log. phase を早期にもたらず結果となる。また発酵中に発酵液のかくはんと液に蓄積する炭酸ガスの放出の目的で、時々強烈なエアレーションを行なうが、この度に空気中の酸素が液に溶解する。さらにまた浸漬原料は部分的に好気嫌気の状態が異なる位置にあり、また時おりその位置が転倒される。かかる事情のもとに性質の異なる両種の細菌の間に共生的な現象がおこることは当然推察されるところである。

以上の検討や推察は、次の実験を肯定する根拠となる。

すなわち第11表に示すように、両種の細菌を 1% ペプトン水培地にそれぞれの状態において、培養する場合、混合培養のほうが単独培養よりも、培養後の総菌体量(したがって総酵素量もこれに平行するが)が著しく大であった。これによって両種の細菌の共生現象を推定することができた。

たんぱく分解に対する細菌の生産酵素の協力的関係

第11表 単独培養と混合培養 (500ml)37°, 5日

	菌体量(mg)	粗酵素量(mg)
<i>B. circulans</i>	121.8	357.8
<i>B. vulgatus</i>	105.6	252.0
<i>Clostridium</i> sp. (嫌気培養)	95.5	230.4
{ <i>B. circulans</i>	157.9	514.1
{ <i>Clostridium</i> sp.		
{ <i>B. vulgatus</i>		
{ <i>Clostridium</i> sp.	150.3	486.9

についての検討も前例と同種の細菌の酵素に例をとって説明する。この目的のために先ず *B. circulans* および *Clostridium* sp. の培養資料からそれぞれのプロテアーゼを第12表および第13表のようにして抽出精製した。精製の結果得た酵素の結晶は図版5—6に示したような形状である。

そこで両種の細菌のプロテアーゼの性質、作用を比較検討した。そのおもな点を示すと第14表のとおりである。

すなわち *B. circulans* の生産する酵素はアルカリ

性プロテアーゼであるが、*Clostridium* sp. の生産する酵素は微酸性プロテアーゼに属している。熱に対する安定性や金属による影響などは著しい差が認められその他複雑を避けて表示しなかったがいろいろの点ではなほだしく性質の相違が指摘された。特に注目すべきことは、ゼラチン粘度降下単位においては *Clostridium* の酵素に比して *Bacillus* の酵素のほうが著しく高く、反対にチロシンの生成作用は *Bacillus* の酵素に比して *Clostridium* の酵素のほうが著しく大であることが認められ、これは両酵素においてたんぱく分解に対する容相を異にすることを推察せしめるものである。

次に両酵素のペプチダーゼ作用について検討した。カルボキシ・ペプチダーゼ作用等については、著者の実験範囲においては著しい差は認められなかったが、例えば L-アラニル・グリシル・グリシンに対するトリペプチダーゼの作用について興味ある事実を指摘した。すなわち両酵素をそれぞれ L-アラニル・グリシル・グリシンに作用せしめると、*Bacillus* の酵素はアラニンとグリシンとの間の結合に対しては全然これを切断

第12表 *B. circulans* プロテアーゼの精製

	全液量 (ml)	プロテアーゼ力		収率
		G.V.R./ ml	G.V.R./ mg-N	
粗酵素液 (こうじ抽出液)	4500	5.7	4.2	100
↓ 硫酸塩析 (0.2~0.8飽和) 塩析物				
↓ 蒸留水に溶解し 24時間透析				
沈でん	200	109	22.5	84
↓ Dowex 1 × 2 で脱色				
脱色液	420	46	24.6	75
↓ 硫酸塩析 (0.25~0.7飽和) 塩析物				
↓ 蒸留水に溶解し 24時間透析				
透析内液	120	118	38.9	54
↓ アセトン分割沈でん (30~70%)				
上澄液				
↓ 沈でん 蒸留水に溶解				
溶液	60	165	72.4	45
↓ 硫酸塩析(0.6飽和) 塩析物				
↓ M/500 CaCl ₂ 液に溶 解し同液で24時間透析				
透析内液	20	234	87.0	18
↓ アセトン添加 (45~65%)				
上澄液				
↓ 精製プロテ ナーゼ沈でん				
↓ M/500 CaCl ₂ 液に溶 解し冷時アセトン添加 (45~65%)				
結晶	283mg (45mg-total-N)	92.2	16	

第13表 *Clostridium* sp. プロテアーゼの精製

		全液量 (ml)	プロテアーゼ力		収 率
			G.V.R./ ml	G.V.R./ mg-N	
	粗酵素液 (培養ろ液)	6000	2.2	8.5	100
	減圧濃縮(30以下)				
	濃縮液	2000	4.5	8.7	64
	硫酸塩析 (0.2~0.8 飽和)				
	塩析物				
沈でん	蒸留水に溶解し 24時間透析				
	透析内液	180	39.4	22.1	56
	Dowex 1 × 2 で脱色				
	脱色液	120	45.4	24.9	43
	硫酸塩析 (0.3~0.65 飽和)				
	塩析物				
	蒸留水に溶解し 24時間透析				
	透析内液	100	48.2	39.7	38
上澄液	アセトン分調沈でん (35~65%)				
	沈でん				
	M/500 CaCl ₂ 液に 溶解	50	57.6	51.3	22
	M/500 CaCl ₂ 液に 対し24時間透析				
	透析内液	20	101.4	60.3	16
上澄液	アセトン添加 (40~65%)				
	精製プロテ イナーゼ沈でん				
	M/500 CaCl ₂ 液に溶 解し冷時アセトン添加 (46~65)	158mg (24mg-total-N)	68.7		13
	結 晶				

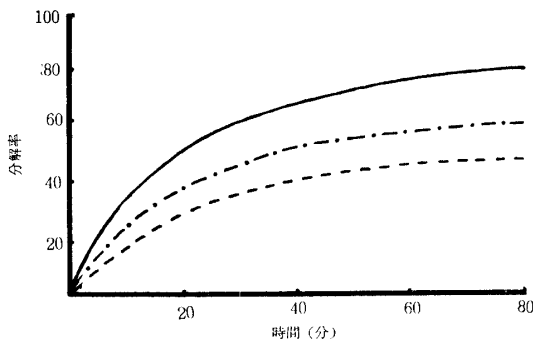
第14表 好気性細菌と嫌気性細菌のプロテアーゼの比較

性 質	<i>B. circulans</i>	<i>Clostridium</i> sp.
結 晶 形	針 状	単斜晶形
最 適 pH	8.0	6.0
安 定 pH	5.0~8.0	5.0~7.0
力 価 (ゼラチン粘度 降下単位)	92.2 u/mgN	68.7u/mgN
	3300 tyrosine γ/mgN	5400tyrosine γ/mgN
熱に対する安定性 (70°C, 10分)	50%失活	80%
Mn ⁺⁺ による影響 (比活性)	42%	116%, 熱失活 に対しても 若干保護
EDTA 失活の 回復作用	Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺ , Ba ⁺⁺	Mn ⁺⁺

する能力を有しないが、アラニル・グリシンとグリシンとの結合は容易にこれを切断した。反対に*Clostridium*

の酵素はアラニンとグリシンとの結合は容易に切断するが、アラニル・グリシンとグリシンの結合は切断し難いことを認めた。すなわち両酵素においてはアミノ酸開裂の個性を異にするものと推察された。この点も両酵素におけるたんぱく分解に対する作用上の協力を推察せしめる資料となる。

これらの検討の結果は次の実験を肯定する根拠となる。すなわち両種細菌の結晶プロテイナーゼをそれぞれ蒸留水に一定量 (2% total N/ml) 溶解し、ゼラチンを基質として各酵素液を単独に、または等量混合して作用させ、基質の分解によるアミノ態窒素量の増加をPope-Stevens の加銅法により測定し、基質を12 N-HClで8時間加水分解を行なって得たアミノ態窒素量に対する比率をもって基質の分解率を表わした。この結果は第5図に示すように各酵素液単独による場合の分解率より両酵素液の混合の場合の分解率が大であることを指摘した。この際ゼラチン6%溶液を基質とし、酵素液は各2% total N/mlに調製し、ゼラチン基質10mlに対し、酵素液は単独酵素の場合各2mlを、また酵素混合使用の場合は各酵素液1mlずつ混合して使用し

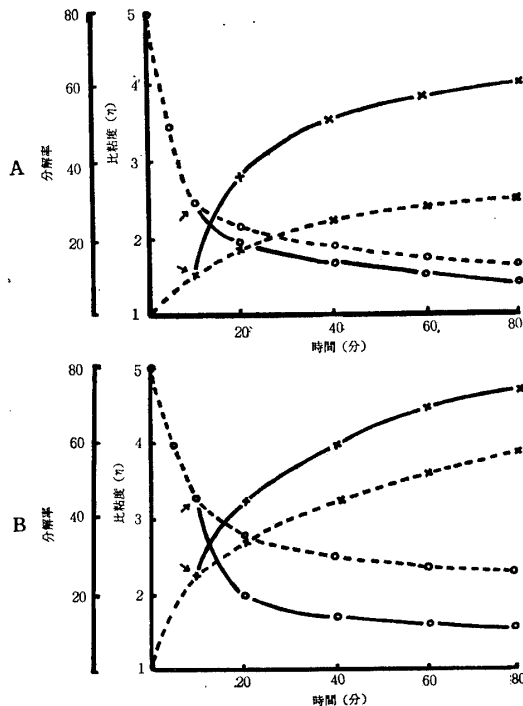


第5図 酵素混合によるゼラチンの分解

反応液: ゼラチン液 (6%) 10 ml, 酵素液: 2γ-total N/ml
 — *B. circulans*+*Clostridium* sp. 両酵素液 各 1 ml 宛混合
 - - - *Clostridium* sp.: *Clostridium* sp. の酵素液 2 ml
 *B. circulans*: *B. circulans* の酵素液 2 ml

40°において反応せしめた。セリシンを基質としても同様に両酵素混合の場合の分解率のほうが著しかったが、ここには続く実験と関連性があるのでゼラチンの分解状態を示した。

さらに以上の事実を追求する目的でゼラチンを基質として両酵素のうちいずれか一方を添加して作用せしめ、一定時間の後、他方の酵素の一定量を添加し、これと同一量の初発と同一酵素を追加したものを対照としてゼラチンの比粘度の降下およびアミノ酸の生成すなわち分解率を比較した。



第6図 酵素の協力的作用

A: *B. circulans*
 B: *Clostridium* sp.
 反応液 ゼラチン (5.5%): 10 ml
 酵素液 2γ-total N/ml: 1 ml

第6図はその結果を示すもので、(Aの場合は5.5%ゼラチン溶液10mlにまず *B. circulans* の酵素液(2γ-total N/ml) 1ml を添加したもので、(B)の場合は初発に同量の *Clostridium* sp. の酵素を添加したものである。40°において反応せしめ10分後の経過において(A)の場合はすでにゼラチンの比粘度は半減し、この点(B)の場合の変化より著しく、また分解率の点では(A)の場合より(B)の場合のほうが著しい。このことは前述の両酵素のたんぱく分解に対する容相の相違から判断して合理的である。ところが(A)の場合反応10分後に他方の *Clostridium* sp. の酵素液1mlを添加した際の実線の示す経過は、これと同一量の初発と同じ *B. circulans* の酵素液を追加した点線の示す対照の経過と比較して比粘度の降下は若干より強く表われ、さらに分解率の増大は対照と比較して著しく約2倍に達している。一方初発に *Clostridium* sp. の酵素を添加した場合、10分後の比粘度の降下は比較的小であったが、このとき *B. circulans* の酵素の添加に伴って著しい低下を示しアミノ酸の分解率においても共に対照に比してその変化が顕著である。

以上の結果から両種細菌の酵素の共存において、基質ゼラチンは各単独酵素による場合より強く分解作用を受けることを認めうる。一般的にいえば *B. circulans* の酵素は主としてゼラチンの粘度を降下させる作用にすぐれ、*Clostridium* sp. の酵素は基質のアミノ酸への分解作用にすぐれているが、さらにアミノ酸開裂の個所を異にするなどの問題も加わって、両者の連続的な協力作用によって基質ゼラチンの分解がさらに促進されるものと推察される。これらの酵素によるセリシン分解作用は、ゼラチン分解作用とほぼ並行的な関係が認められるから、絹紡原料の発酵精練において両種細菌の生産酵素のセリシン分解に対する協力的作用が併定され、これがさきに述べた共生現象とあいまって混合培養による精練効果を発揮するものと考えられる。

以上の研究を基礎として2種の有用細菌を同時に使用する発酵法を共生発酵精練法として立案した。発酵液は物料の変化に伴ない、そのpHが8.0ないし5.5の程度に変化するのが普通である。しかし原料浸漬の状態と労力の点からその調製はなかなか困難なことである。この点からも性質を異にする両酵素の混在は実用面においても好都合である。

第4節 工業的応用

戦前の絹紡界はまさにその黄金時代とも称すべき実情にあった。すなわち国内においては、富士絹・平絹・メイセンなどをはじめその他の絹布の原糸としておびただしい需用があった。また婦人靴下その他の必要

性から海外からの注文も殺到していれば重要なドル箱の状態でもあった。したがって業界はその生産に忙殺されたが、従来の方法では採業のあい路は長時間を要する自然発酵にあった。しかも雑菌が混在する環境のもとにおいて、効果的な細菌の必要量が常に存在することは保証されない事情にあったため、発酵期間も一定せず、ただ熟練者の観察的な推定によって発酵資料の引き揚げを行なってきたために、採業の予定にも誤算を生じるのみならず製品の均一化も期し難いところがあった。さらにまたきわめて悪臭の発生を避け難く不潔で非衛生的な作業であった。それが集殖発酵法あるいは原料の種類によっては共生発酵法に切り換えられて、従来の欠点は一掃あるいは軽減され、発酵期間も半減あるいはそれ以下に縮小されたために生産能率も大いに上り、また繊維の収率も、製品の質も向上した。

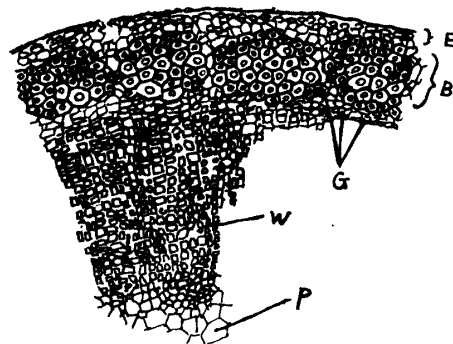
第2章 麻類原料の発酵精練

第1節 研究の目的と有用微生物

麻類原料の発酵精練 (Retting) も古くから行なわれてきた。すなわち河水浸漬法、堆積法などいろいろの方法が試みられ、その多くは原料収獲地に近い所で、原始的な方法が踏襲され、すべて天然に繁殖する微生物による自然発酵法によって実施された。しかし効果的に作用する細菌や糸状菌については数名の海外の研究者^{25)~33)}によって指摘されていた。中でも Rosii は好気性の *B. comessii* を用い、また Carbone は嫌気性の *B. felsineus* を用い、それぞれこれを接種する意志的な精練法について中間工業的試験報告を行な

った両氏の仕事は異彩を放っている。ペクチン質³⁴⁾ およびこれを分解する酵素³⁵⁾ については種々検討されてきた。

従来の Retting は麻茎のじん皮部の柔組織から繊維束を摘出するために、柔組織内のペクチン質を微生物の生産するペクチン質分解酵素によって分解してこれを macerate するのがその目的であり、麻紡績にかけるにはこの繊維束の状態において取り扱われ、ただこの際、機械的に2分あるいは3分されることもあるが、Retting の目的においては多数の繊維を包含する繊維束の崩壊は考慮外の問題であった。ところが本研究における発酵精練は、これといささか趣を異にする。第7図は亜麻茎の横断面の一部を示すものである。



第7図 亜麻茎横断面

B: 外皮繊維束, E: 表皮, G: 柔軟組織
P: 髓, W: 木質部

が、このじん皮部の繊維束をさらに細かく分割して、その横断面においてはごく僅少な数個の繊維が固着しているにすぎない状態に導くのが目的で、これにより

第15表 好気性有用細菌

菌	株	適応原料	研究者	年次
<i>Bacillus fluorescence liquefacience</i>		亜麻	Hauman,	1902
<i>B. asterosporus</i>		亜麻, 大麻	Behrens,	1903
<i>B. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i> , <i>B. aerogenus</i>		亜麻	Beijerinck & van Delden,	1904
<i>B. comessii</i>		亜麻, 大麻	Rosii,	1906
<i>B. macerans</i>		亜麻	Shardinger,	1909
<i>Pectinobacter amylophyllum</i>		亜麻	Makrinov,	1928
○ <i>B. subtilis</i> var. <i>ramie</i>		ラミー	中浜・西村,	1937
○ <i>B. cannabis</i> , ○ <i>Micrococcus cannabis</i>		大麻	片桐・中浜,	1938
○ <i>Achromobacter venosum</i>		亜麻	中浜,	1939
○ <i>B. corchorus</i>		黄麻	片桐・中浜,	1940
○ <i>Listerella hibiscus liquefacience</i>		ケナフ	中浜,	1940
<i>B. subtilis</i> var. <i>pectinovorus</i>		ラミー	朝井・今村,	1943
<i>B. mesentericus</i> var. <i>pectinovorus</i>		ラミー	朝井・小松,	1943
○ <i>B. natto</i> var. <i>cannabis</i>		大麻	中浜・小沢,	1943
○ <i>B. subtilis</i> sp.		大麻	中浜・青木,	1944
○(<i>B. mesentericus</i> var. <i>Aoki</i>)		大麻	中浜・青木,	1944

注: *B. mesentericus* var. *Aoki* は共生発酵に有効

第16表 嫌気性有用細菌

菌 株	適 応 原 料	研究者および年次
<i>Bacillus amylobacter</i>	亜麻	Van Tieghem, 1879
<i>Plectridium Fribes</i>	大麻	Fribes & Winogradsky, 1895
<i>Clostridium Behrens</i>	大麻	Behrens, 1902
<i>Granulobacter Pectinovorum</i>	亜麻	Beijerinck & van Delden, 1904
<i>Plect. pectinovorum</i>	亜麻, 大麻	Störmer, 1904
<i>B. felsineus</i>	亜麻, 大麻	Carbone, 1920
<i>Clost. amylobacter liquefacience</i>	大麻	Rushman & Bavendamm, 1924
<i>Bacterium A</i>	ラミー	加藤, 1929
○ <i>Diplococcus cannabis</i>	} 大麻	片桐, 中浜, 1939
○ <i>Kurthia cannabis liquefacience</i>		中浜, 1939
○ <i>Micrococcus linumus</i>	亜麻	中浜, 1939
○ <i>B. linumus</i>	亜麻	中浜, 1939
○ <i>M. hibiscus</i>	ケナフ	中浜, 1940
○ <i>Clost. sphenoides</i>	大麻	中浜・原田, 1950
○ <i>Clost. butyricum</i> sp.	大麻	中浜, 1950

第17表 有用糸状菌その他

菌 株	研 究 者
<i>Sclerotium libetiana, Cladosporium herbarum, Botrytis cinerea</i>	} Hauman
<i>Streptothrix foerstéri, Aspergillus niger, Penicillium glaucum</i>	
<i>Mucor mucedo</i>	
<i>Rhizopus nigricans, Mucor hiemalis</i>	Behrens
<i>Cladosporium herbarum</i> Link	Wiesner
<i>Cladosporium herbarum</i> Alternaria	Rushmann
<i>Penicillium glaucum, Aspergillus tamari & oryzae</i>	} 高 川
<i>Mucor mandshuricus & javanicus, Oidium lupuli</i>	
<i>Sclerotium rolfsii, Stachybotrys lobulata, Pyronema</i> sp.	
<i>Botrytis</i>	小 林
<i>Rhizopus</i>	秋 野
<i>Rhizopus</i>	笠 坊
○ <i>Aspergillus nidulans, Aspergillus candidus</i> sp.,	} 中 浜
○ <i>Penicillium citrinum</i> ○(<i>Endomyces vernaris</i>)	

注: *Endomyces vernaris* は共生発酵に有効

初めて絹紡式の紡績工程に移すことができるのである。しかし繊維束内において互に繊維をこう着するバクテレン質の性状は、繊維束の周囲の柔組織に存在するバクテレン質よりも化学的に一層安定で、その分解溶出はさらに困難であるので、この点従来の自然発酵による Retting とは研究の方針にもおのずから異なるものがある。

この目的のために本研究において分離、選択、同定した微生物は第15表ないし第17表中○印を付したものであるが、古くから指摘されてきた微生物と共に掲載する。

著者および著者と共同研究者の分離、選択した細菌は、それぞれ適応する原料のバクテレン質を強力に分解

する酵素を生産したが、ただ好気性細菌のうちでは、*B. mesentericus* var. *Aoki* は特殊なもので、そのバクテナーゼ作用は微弱であるが、強力なバクテレン質分解作用を示す嫌気性細菌と共生的現象を示し、後者の生育増殖を刺激促進する作用を有するため工業的の利用に供することができた。第17表に示す *Endomyces vernaris* も同様な性質を示した。

第2節 細菌の原料に対する選択性

有用細菌の場合について検討をすすめると、それぞれの種類の原料に適応する有用細菌で各種原料の純粹発酵を行なうと、第18表に示すように、大体亜麻用の有用細菌は亜麻原料に、ラミー用の有用細菌はラミー原料に、また大麻用の有用細菌は大麻原料に対し

て選択的に作用することが認められる。この実験は各原料を殺菌した後それぞれの細菌の好適条件のもとで5日間醗酵を行ない、この際初めの原料中のバクテン質(亜麻7.32%, ラミー9.77%, 大麻8.64%)に対し醗酵によって分解・消失されたバクテン質の百分率を示したもので、この結果は官能による繊維の分離状態と一致したから、表のバクテン質分解率で繊維の分離状態を現わすことができた。

第18表 醗酵による各種原料のバクテン質分解率

有用細菌	原料	原料		
		亜麻	ラミー	大麻
亜麻	<i>Achromobacter</i> (好気)	87	77	8
	<i>Micrococcus</i> (嫌気)	77	15	10
ラミー	<i>Bacillus</i> (好気)	33	83	40
大麻	<i>Micrococcus</i> (好気)	55	16	83
	<i>Kurthia</i> (嫌気)	16	9	62

次に各原料に適応するそれぞれの細菌から得た粗酵素を、各原料から抽出したバクテンに作用せしめてその作用を比較した。すなわち各原料から Ehrlich および Schubert の方法によって抽出したバクテン 5g を酢酸塩緩衝液 (pH6.0) 100ml に溶解した基質 10ml に各酵素液 3ml を加え、5時間作用せしめて生じた還元力を測定し、基質バクテンの塩酸分解によって生ずる還元力に対する比率から、その分解率を算出した。その結果は第19表に示すようであった。

第19表 酵素による各種原料のバクテンよりガラクトキロン酸の生成率

酵素	バクテン資源	原料		
		亜麻	ラミー	大麻
亜麻	<i>Achromobacter</i>	37	36	8
	<i>Micrococcus</i>	30	8	6
ラミー	<i>Bacillus</i>	15	35	28
大麻	<i>Micrococcus</i>	25	19	40
	<i>Kurthia</i>	15	9	36

すなわち細菌の生産する酵素は、各原料から抽出されたバクテンに対して特異性を示すことが明らかであり、しかも細菌の原料に対する選択性を示す第18表の結果は、これらの細菌の生産酵素が各原料中に含まれるバクテンに対する特異性と一致することが指摘される。このことはまた各麻類原料の繊維束内に含まれるバクテンの性状は同一のものでないことを推察するに足る理由となるものであってこの見解はすでに学会で報告したが(1940)、近年別の意図から行なわれた小沢潤二郎氏の報告についても同様な推察が下される。

麻類原料の醗酵精練においてはことにこの点を重視する必要がある。したがって好気性有用細菌を使用する集菌醗酵精練法は、各種類の原料に対しそれぞれこれに適応する好気性有用細菌を使用することにより工業的に実施することができた。

図版7—8には精練前後における亜麻繊維の状態を示してある。原料は一応原地の Retting によって、じん皮部の柔組織から抽出された繊維束の状態(粗繊維)で、精練仕上品はその繊維束がさらに分割されて繊細な繊維状態となっている。

第3節 共生醗酵

麻類原料の精練にも、ついで共生醗酵の適用について検討した。大麻原料の醗酵の場合について、分離した2株の好気性細菌および1株の嫌気性細菌に例をとって、まずその分類学的特徴を示すと、前者は *Bacillus subtilis* と *Bacillus mesentericus* であり後者は *Clostridium* であったが詳細は第20表および第21表のようである。

以上の結果から *B. subtilis* 株は *Bacillus subtilis* の1変種と認めたので、これを *Bacillus subtilis sp.* とし、*B. mesentericus* 株は *Bacillus mesentericus* の1変種と認めたので、直接分離者の故青木純次助手を記念して *Bacillus mesentericus var. Aoki* と命名することにした。

第21表に示すように、分離嫌気性細菌の諸性質は、*Clostridium sphenoides* Bergey に類似しているが、後者が硝酸還元能を有するに対し、該菌はその能力のない点で明確に異なり、その他生酸性糖類の種類においてもいささか相違するところがあるが、ともかく *Clostridium sphenoides* に属する一変種と認めることができる。これに類する細菌で大麻原料の醗酵精練に対して効果的な細菌として指摘されたものはないけれども、該菌は大麻原料の自然醗酵に際し容易に見出されかつ醗酵精練作用のきわめて強力な嫌気性細菌である。すなわち従来外国の研究者によっては、麻類の自然醗酵精練に主作用を及ぼす嫌気性細菌として *Clostridium felsineus* を主張するものと *Bacillus amylobacter* を主張するものがあったが定説がないようであるが、ここに著者の分離した嫌気性細菌はそのいずれにも属しないものである。なおこのほかに共生醗酵に利用した嫌気性細菌として *Bacillus butylicum* に属する1変種を分離したが、本論の説明には重複を避けるためこれを割愛する。

さて分離細菌の *Closi. sphenoides* は、嫌気性の強い細菌であるが、この種の細菌は常に大麻原料中に潜在していることが認められた *B. mesentericus var. Aoki* をこれと混合培養して、大麻原料の精練を行な

第20表 好気性細菌の性質

測定事項	<i>B. subtilis</i> 株	<i>B. mesentericus</i> 株
栄養細胞	桿状, 単独または2個あるいは長連鎖, 端部円形. 大き $0.8 \sim 1.0 \times 1.5 \sim 3.0 \mu$	桿状, 若きものは細長く古きものは短く太い, 単独または連鎖しばしば長連鎖, 端部は若き液体培養においては鈍円, 古きものは角味を帯びついに端直となる. 固体培養においてはほぼ端直, ペン毛周辺に有す, 大き $0.8 \sim 1.1 \times 1.6 \sim 4.0 \mu$
胞子嚢細胞	棍棒状, 栄養細胞とほとんど変りなきもわずかに太し.	棍棒状, 多くは数個または長く連鎖す, 胞子は中心に近く一個.
胞子	長円形 $0.8 \sim 1.0 \times 1.2 \sim 1.5 \mu$	長円形 $0.7 \sim 0.9 \times 1.0 \sim 1.5 \mu$
運動性	有す, 活発	同 左
グラム染色	陽 性	同 左
貯蔵物質	油脂およびグリコーゲン存在を認めず	同 左
酸素に対する態度	好 気 性	同 左
硝酸塩の還元	陽 性	同 左
インドールの生成	陰 性	同 左
硫化水素の生成	わずかに生成す	生 成 ず
ペプトンよりアンモニアの生成	陽 性	同 左
でんぷんの加水分解	分 解 ず	同 左
ガス発生	陰 性	同 左
ゼラチン液化	噴火口状に液化す	皿状に液化す
牛乳	ペプトン化す	凝固せず, ペプトン化せず
適温および最適	$30 \sim 45^\circ$, 37° 附近	$30^\circ \sim 40^\circ$, $34^\circ \sim 37^\circ$
限界温度	55° 以上にては繁殖せず	10° 以下, 55° 以上にては繁殖せず
死滅温度	湿熱にて 100° 30 分, 乾熱にて 100° に 1.5 時間	湿熱にて 100° に 30 分又は 95° に 2 時間
好適および最適 pH	$5.5 \sim 7.5$, $7.0 \sim 7.5$	$6.0 \sim 7.0$, $6.5 \sim 7.0$
限界 pH	4.5 以下にては繁殖せず, 但し 9.5 に於ても繁殖可能	$5.0 \sim 9.3$ に於て繁殖す
生酸性炭水化物	ぶどう糖, 果糖, しょ糖, グリセロール, トレハロース, ラフィノース, マンノース, マニトール, ソルビトール, アラビノース, デキストリン, ザリシン, でんぷん, ペクチン, イヌリン	ぶどう糖, 果糖, しょ糖, 麦芽糖, グリセロール, トレハロース, デキストリン, ザリシン, でんぷん

B. subtilis 株の培養的特徴

ペプトン水培養: 旺盛に繁殖し1昼夜後, しわがある粘ちよう性皮膜を形成し, 振とうにより沈降し難く, 液は透明で沈でんなし.
 斜面培養 — (1) ペプトン寒天: 灰白色, 光沢なし. 表面全般に小さいしわあり. 副線に沿い太ひも状に繁殖し境界線は不規則な出入あり. 凝結水は透明で沈でんなくしわのある皮膜でおおわれる. (2) 酵母水寒天: 灰白色, 境界線は不規則な亀裂あり, 凝結水は有皺の皮膜でおおわれる.
 穿刺培養 — (1) ペプトン寒天: 灰白色, 光沢なし. 表面に広く円状に繁殖し, せん刺線に沿っても繁殖する. (2) ペプトンゼラチン (22°C): 径 1.8 cm の試験管内において3日後噴火口状深さ 7 mm に液化しせん刺線に沿い微弱な繁殖も認められる. 6日後は液化部の最深部 15 mm で層状部の深さ 8 mm である.
 集 落 — (1) ペプトン寒天: 不正円形または分枝形, 周縁に波状の小さい出入あり. 灰白色, 光沢なし. 扁平でしわ状組織, 臭気なし. 基質に粘着する. (2) ばれいしょ: 不規則形あるいはアヌーブ状によく繁殖し, 扁平で平滑. 周縁は侵食状, 灰白色, 光沢なし. 臭気なく, 基質を紫色に変色する.

B. mesentericus 株の培養的特徴

ペプトン水培養: 旺盛に繁殖し, 1昼夜後厚い皮膜を形成するが振とうすると砕けて沈降する. 液はわずかに混濁する.
 斜面培養 — (1) ペプトン寒天: 灰白色, 脂肪様半光沢, 副線に沿い肉厚く繁殖し境界線には細かい出入があるが, 拡大観察するとごく細かい糸状出入を呈す. 凝結水はやや混濁し厚い皮膜を生ず. (2) 酵母水寒天: 灰白色, 湿潤光沢, 副線に沿うて繁殖し境界線は小さい出入があり, かつわずかに浮き上る. 凝結水は混濁し皮膜を生じ, その皮膜は振とうすれば容易に沈降する.

第21表 嫌気性細菌の分類学上の性質

測定事項	<i>Clostridium</i> 株
養細胞胞	桿状, $0.3\sim 0.6\times 2.0\sim 4.0\mu$ 端：丸みを帯ぶ 単独または小連鎖
胞子嚢細胞	くさび形, 胞子は端部に生ず $0.6\sim 0.7\times 2.5\sim 4.5\mu$ (含胞子部)
胞子	円形, $0.6\sim 0.7\mu$
グラム染色	陽性
ヨードヨードカリ染色	陰性
運動性	陽性
溶膠性	陰性
硫化水素の生成	ペプトンよりの生成痕跡
アンモニアの生成	ペプトンより生成せず
インドール及びスカトールの生成	生成せず
硝酸還元能	陰性
ペプトンぶどう糖寒天上の集落	集落形成困難
ペプトンぶどう糖寒天内部の集落	灰白色, レンズ状又は不正円形, 不透明小顆粒状組織
限界 pH	5.0 以下及び 9.0 以上にて繁殖せず
最適 pH	6.0~7.0
最適温度	37° 附近
発酵性炭水化物	ぶどう糖, 果糖, 乳糖, しょ糖, ガラクトース, マンノース, ライフィノース, アラビノース, デキストリン, ザリシン, ペクチン, でんぷん
非発酵性炭水化物	グリセリン, マンニツト, セルロース
ペプトン水培養	繁殖微弱, 均一に混濁
大麻ペプトン水培養	繁殖旺盛, 均一に混濁, ガス発生
ぶどう糖添加ペプトン水培養	ペプトン水の場合とほぼ同様ガス発生顕著
牛乳培養	ガスを発生し酸を生成す

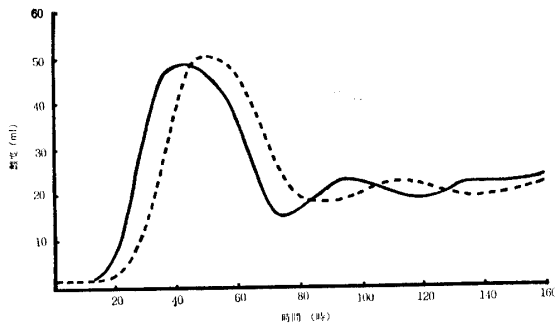
備考 培養はすべてローゼンタール嫌気培養法による。

うとその効力は著しい。興味あることは *B. mesentericus* だけの接種による場合、資料を顕鏡するとそのなかからはなほだ多数の *Clostridium* の発生が認められ、精練が順調に進行する。この *Clostridium* を分離すると先の *Clost. sphenoides* とその性質が一致した。いずれにしてもこの場合 *B. mesentericus* と *Clost. sphenoides* あるいはこれと近縁の嫌気性有用細菌との間の共生現象によるものと推察される。

この *B. mesentericus* は大麻原料から、当時の研究室の青木次次助手の手によって分離されたものである。あとで考えると細菌の選択に当って大麻原料を試料として用いる場合、原料中のペクチン質の加熱による変質を恐れて、その殺菌処理に制限を指示した自分

の考えから誤算を生じたことが判明したが、ともかくその接種による大麻原料の発酵の進行状態から、青木氏も著者もこの *Bacillus* は強力なペクチナーゼ生産菌であることを信じていた。ところがこの *Bacillus* が分離された直後に同氏は第二次世界大戦のために応召し、さらに日ならずして、中国の敵前上陸で戦死した。その後著者が研究の結果、この好気性細菌の示すペクチナーゼ作用についてはほとんど認むべきものがないことが判明した。すなわち試料として大麻原料の(ペクチン7.62%)の殺菌を行なうことなく、好気性の有力細菌である *B. subtilis* および *B. mesentericus* の接種を行なって37°に7日間発酵せしめると、いずれの場合も発酵後の試料に残留するペクチンは1.0%以下となり、この間原料中のペクチンの89%以上が分解されていた。また官能による繊維の分繊状態からも両者とも十分に精練の目的が達せられた。さらにそれぞれの発酵終了液を無菌的にして、これに次には殺菌した大麻を浸漬しても、いずれも効果的な精練が認められたから、発酵液は両者とも多量のペクチン質分解酵素を含有していることが推察された。しかるに予め試料を殺菌してのち、浸漬した場合にそれぞれの細菌の接種を行なうと *B. subtilis* のほうは前同様に発酵が進行したが、*B. mesentericus* のほうは発酵現象が起らず、37°、7日後の試料のペクチン含有量は6.6%以上も認められ、細菌の接種を行なわない対照と変るところがなかった。さらに試料をとり出した浸漬済み液についても、*B. subtilis* 接種の場合や前試験の場合と異なりペクチナーゼの存在は認められなかった。しかも実際には *B. mesentericus* の接種が大麻原料の発酵精練に効果的であり、実用的にも利用できる事実は、この細菌自らによるペクチン質の分解作用ではなく、大麻原料中に常に付着、潜在する *Clost. sphenoides* あるいはそれと近縁の嫌気性細菌の発育増殖を、この細菌が刺激・促進する結果であることが判明した。そこで *B. mesentericus* var. *Aoki* の接種による精練効果の検討を、故人と共同研究として報告した。

この *B. mesentericus* と *Clost. sphenoides* との共生は、後者と同属の *Clostridium* によって行なわれるアセトン・ブタノール発酵にも適用して、この際の共生現象の観察からもこれを確かめることができた。すなわちアセトン・ブタノール菌として、著者らが分離した *Clostridium kaneboi* で、しょ糖を発酵せしめるときに、*B. mesentericus* の混合培養によって消費糖に対するソルベントの収率を低下せしめることなく、しかも第8図に示すようにその酸度曲線が早期へのずれをきたすのを認めた。この実験は2.51の培養試験であるが、多量試験においてはわき付けの開始も、曲線のピ



第8図 アセトン・ブタノール発酵 (2.5 l)

	<i>Cl. kaneboi</i> + <i>B. mesentericus</i>	<i>Cl. kaneboi</i>	<i>Cl. kaneboi</i> + <i>B. mesentericus</i>
始 発 糖 濃 度 (%)	4.89	4.89	4.89
糖 消 費 率 (%)	98.4	99.3	99.3
対消費糖	アセトン (%)	11.02	11.68
	ブタノール (%)	21.53	21.31
	エタノール (%)	3.21	3.17
	全溶剤 (%)	35.76	36.16

ークも更に時間的に早く見られた。このように発酵の進行が促進されるのは *B. mesentericus* が *Clostridium* の発育増殖を刺激促進するためであって、もし *Clostridium* 単独の発酵試験の際、わき付が遅れるような場合には、*Bacillus* を接種すれば必ず数時間のうちにわき付けが始まることを何度も経験した。

すなわちこの事実から推察しても、*B. mesentericus* は *Clostridium* の類とよく共生的な現象を示すことが判断される。

次に第22表に示すように大麻バクテン質を強力に分

第22表 *B. subtilis* sp. による大麻の醗酵 (37°, 3日)

分 織 程 度	集 殖 純 粋 酵 素			自 然 (対 照)
	Ⅲ	Ⅱ	Ⅰ	+
残存バクテン量	1.5% 以下	1.5% 以下	1.5% 以下	4.5~2.6%
バクテン分解率	80%以上	80%以上	80%以上	40~66%

解する *B. subtilis* sp. も、*Clost. sphenoides* と共生して著しい大麻原料の発酵精練作用を呈することを発見した。この際 *B. subtilis* sp. だけの接種により、しかも原料にあらかじめ潜在する *Clost. sphenoides* あるいはこれと近縁の *Clostridium* との共生発酵に導こうとする場合は、仕入みに当ってあらかじめ原料を短時間、煮沸処理を行なって、かつ発酵中のエアレーションの程度を加減する。原料の煮沸によってこれに付着する雑菌の多くは死滅するが、*Clost. sphenoides* の種類の胞子は5分間の煮沸に充分耐えうることが証明できたから、かえてヒート・ショック (heat

shocking) が行なわれる結果となり、浸漬液は強力なバクテン質分解酵素を保有しながら、長く清潔に保たれ、原料仕込み回数を増大し、発酵液の使用期間を延長することができる。これに関する実験結果の1例を、原料の加熱処理を行わない対照の場合と比較すると第9図のようであった。ただし発酵の進行度は試料のバクテン残存量 (Nanji および Norman 法) によって推定したが、その測定値は工場における見かけ上の状態や後処理による試料の状態などの官能的試験の結果とほぼ平行的であった。かかる試料に対する分析測定値は、厳密には試料の質や発酵後の洗滌による誤差のため若干の開きを生ずることはやむを得ない。そこで試料中のバクテンをバクテン酸石灰として試料の絶乾量に対して算出したものについて、発酵進度の概略の段階に対して図表に示すような区切りをつけ、～の符号によって発酵の程度を示すことにした。大麻原料中のバクテン含有量 (絶乾%) は7.62%で、*B. subtilis* の接種は初回のみに行ない、各回の浸漬は発酵状態のいかんにかかわらず4昼夜をもってひき上げ、直ちに次回の原料を仕込んだ。浸漬温度は37°とし、浸漬液の底には適当量の炭酸石灰を沈降せしめておいた。

すなわち図表において認められるように、第1回の浸漬では原料の加熱処理を行なった試験区(A)のほうが無処理の対照区(B)に比較して、発酵の進行が若干遅れ勝ちである。これは加熱処理によって原料に付着する細菌の量と種類が制限されたためと考えられる。しかし第2回の浸漬においてはほぼ同様となり、第3回の浸漬では逆にいくぶんすみやかとなる、それ以降の浸漬においては著しい差をもって加熱処理を行なったほうが発酵状態は良好である。しかも原料の加熱処理を行わない対照区が5回以上の使用に堪えないのに対し加熱処理を行なった試験区のもは9回までの使用に堪えうることを認めた。

大麻原料の浸漬液から分離した *Endomyces vernalis* も、おのずからバクテン質分解作用は微弱であるが、よく *Clost. sphenoides* と共生し、上記と類似的な精練効果を認めることができた。

以上の検討から麻類原料の精練に対しても共生現象を利用する共生発酵法を案出して工業的に利用した。

第4節 工業的応用

戦前は集殖発酵法により、主として亜麻、ラミーなどの原料をそのままの状態の長さで精練して絹紡式の方法で紡績した。これは高級な麻紡績糸あるいは他の繊維と混紡して使用された。戦時中、次第に国内の繊維資源が不足をきたし、ついにいよいよ窮乏を告げるに至って、当時わずかに残された天然繊維原料として

第9図 好気性菌として *B. subtilis* sp. を使用した際の原料熱処理が醗酵液の活性持続度に及ぼす影響

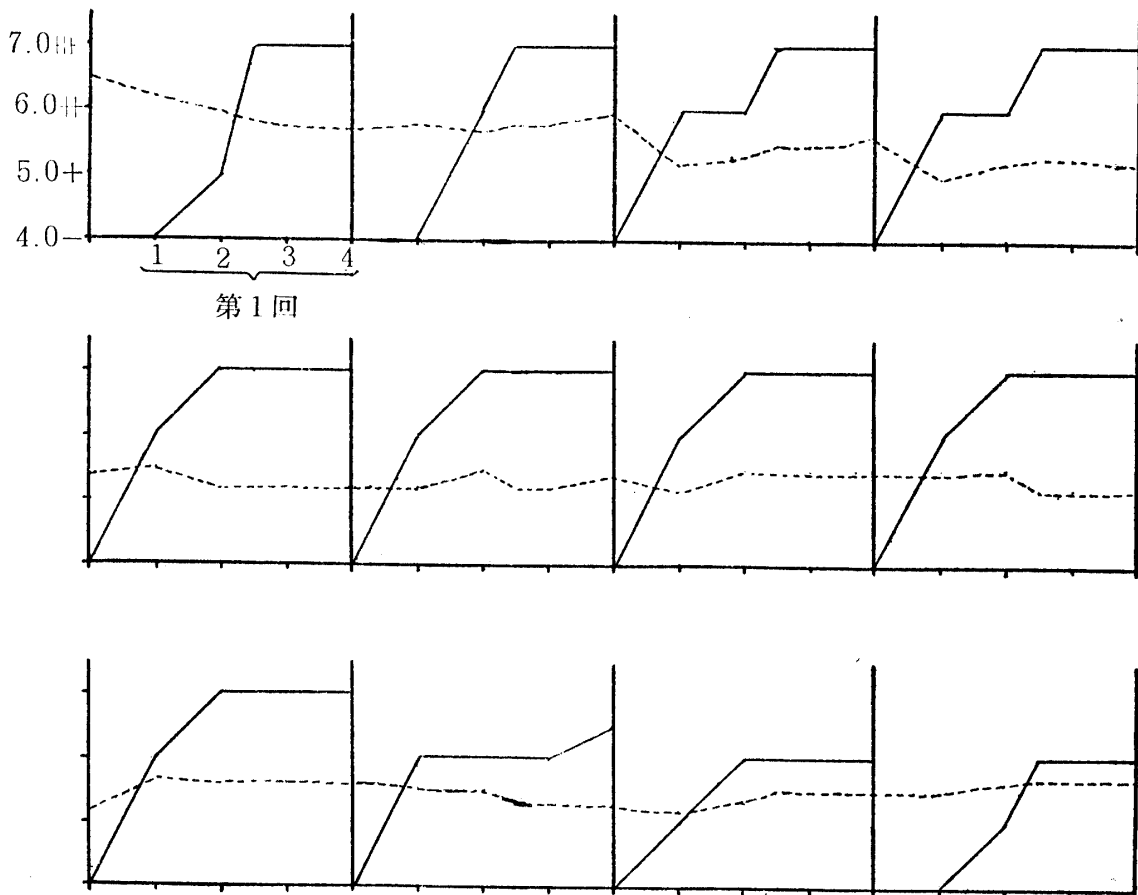
(A) 原料熱処理の場合

浸漬回数	第 1 回					第 2 回					第 3 回					第 4 回				
発酵日数 (日)	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4
ペクチン分解率	—	+	卍	卍	卍	—	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
浸漬液の pH	6.2	6.0	5.8	5.8	5.7	5.8	5.7	5.8	5.8	6.0	5.2	5.3	5.5	5.5	5.6	5.0	5.2	5.3	5.3	5.2

第 5 回					第 6 回					第 7 回					第 8 回				
1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4
卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
5.5	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.5	5.2	5.2	5.4	5.2	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.2	5.2	5.2

第 9 回					第 10 回					第 11 回					第 12 回				
1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4
卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	卍	—	+	卍	卍	卍
5.7	5.6	5.6	5.6	5.6	5.5	5.5	5.3	5.3	5.3	5.2	5.3	5.5	5.5	5.5	5.5	5.6	5.7	5.7	5.7

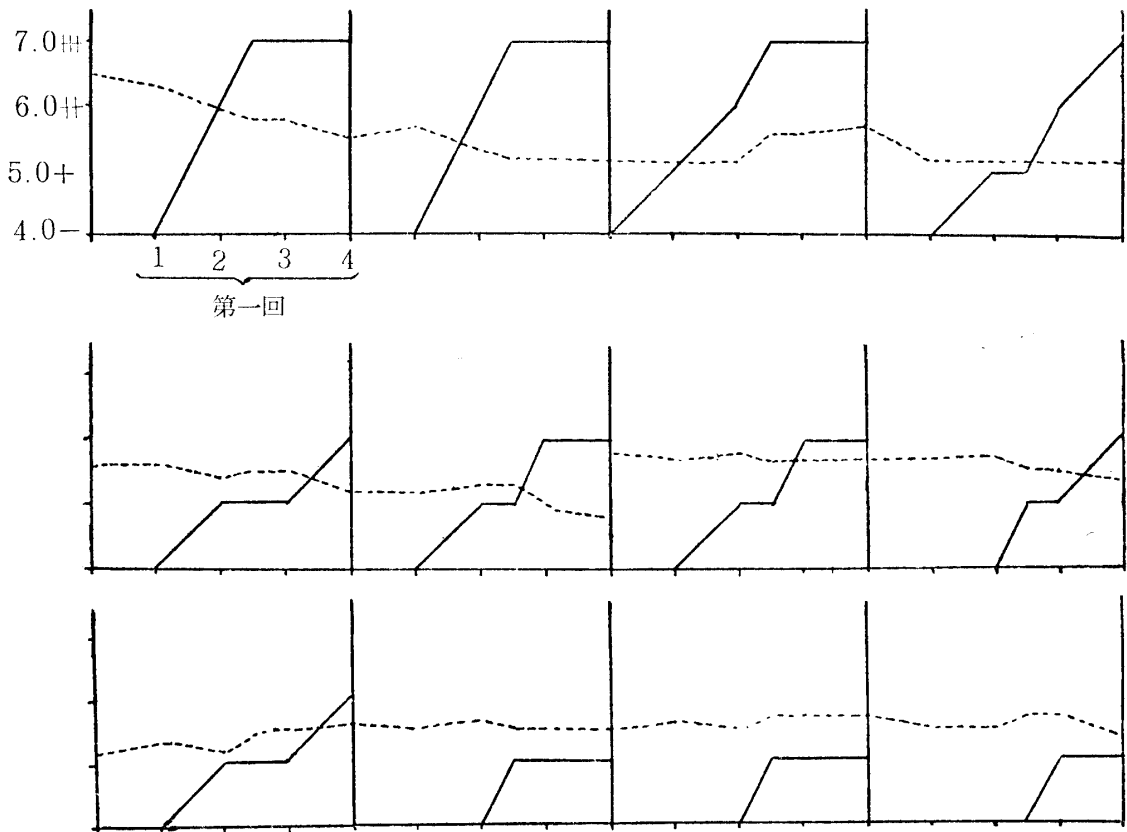
(A) 原料熱処理の場合 縦軸… { 十の数および実線は試料のペクチン分解率による発酵程度数, 字および破線は浸漬液の pH } 横軸…浸漬日数 (1回…4日間)



(B) 原料無処理の場合

浸漬回数	第 1 回					第 2 回					第 3 回					第 4 回				
発酵日数(日)	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4
バクチン分解率	-	+	++	+++	+++	-	+	++	+++	+++	+	++	+++	+++	+++	-	+	+	+	+++
浸漬液の pH	6.3	6.0	5.8	5.8	5.5	5.7	5.3	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.6	5.6	5.7	5.6	5.4	5.5	5.5	5.2
	第 5 回					第 6 回					第 7 回					第 8 回				
発酵日数(日)	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4
バクチン分解率	-	+	+	+	++	-	+	+	++	++	-	+	+	++	++	-	-	+	+	++
浸漬液の pH	5.6	5.4	5.5	5.5	5.2	5.3	5.2	4.9	4.9	4.8	5.7	5.8	5.7	5.7	5.7	5.7	5.8	5.5	5.5	5.3
	第 9 回					第 10 回					第 11 回					第 12 回				
発酵日数(日)	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4	1	2	2.5	3	4
バクチン分解率	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
浸漬液の pH	5.3	5.2	5.5	5.5	5.6	5.5	5.6	5.5	5.5	5.5	5.6	5.6	5.7	5.7	5.7	5.5	5.5	5.7	5.7	5.4

(B) 原料無処理の場合 縦軸 {+の数および実線は試料のバクチン分解率による発酵程度, 数字および破線は浸漬液の pH} 横軸…浸漬日数 (1回…4日間)



発酵後の試料のバクチン含有量	バクチン分解率	発酵程度を示す符号	官能試験
1.5%以下	80以上	+++	(発酵完了)
1.6—2.5%	67—79	++	(アルカリによる後処理を必要とする)
2.6—4.5%	40—66	!	(発酵に依る分繊初期)
4.6—6.5%	15—39	±	(発酵程度わずかであろうやく原料が膨む程度)
6.6%以上	14以下	-	(未発酵)

は朝鮮大麻に限られる状態となった。この大麻は当時においても多量に朝鮮から入荷されたが、大麻は従来かややひもなどの原料とされ、あるいは神宮の儀礼服用としても用いられたが、一般の織布用としてはどうも利用不可能とされた下級の麻原料であった。繊維束が比較的粗剛である上に、茎の根部に近い部分と先端に近い部分とはかなりその状態も異なるため、練りむらを生じ易く、有用細菌や糸状菌を使用しても、上質の繊維を採算的に精練することはなかなか困難であった。著者らはいろいろと研究の末、この場合はむしろ短繊維状に精練して綿紡式の紡績にかけると適切であると断定した。そこで原料をあらかじめ3~5cmに切断 (cutting) して、綿状化を目的として共生現象を利用することにより、繊細に、かつ均一に精練することに成功した。これをスフと混紡することにより耐水性のある特殊の織布を得ることができた。これは当時国民服として広く全国的に使用され、また軍需品としても多量に生産された。

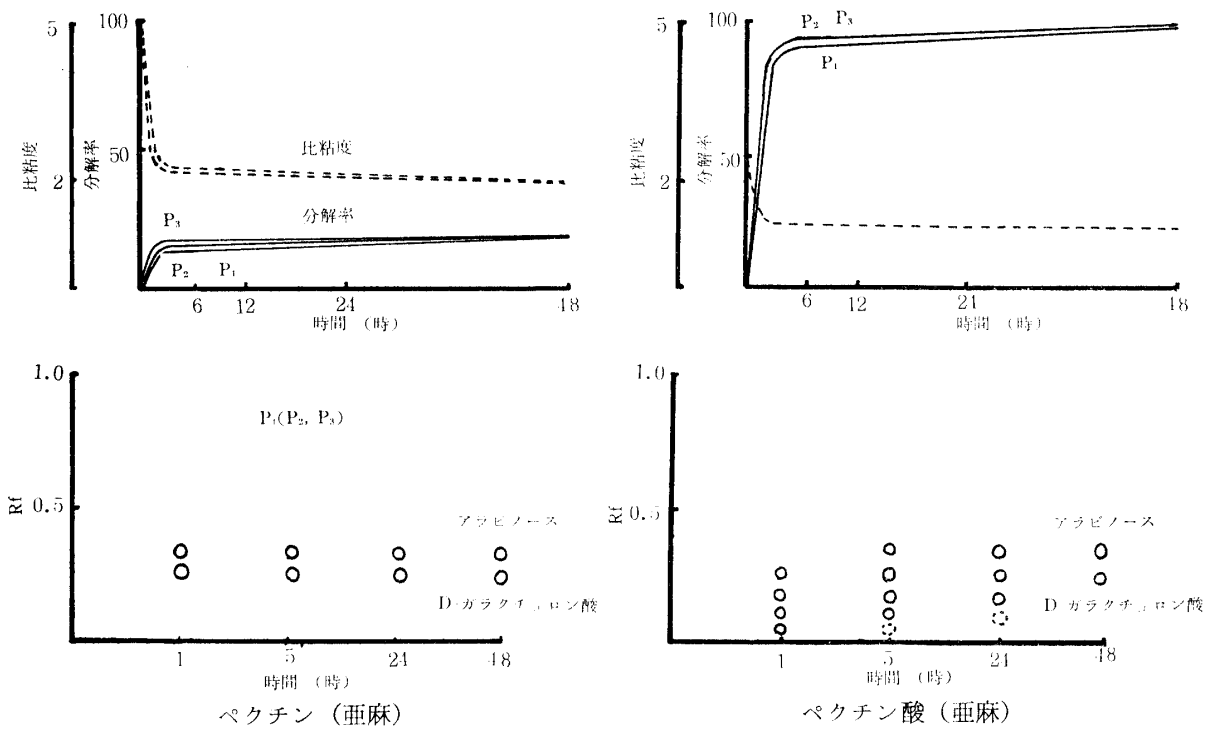
第5節 糸状菌の酵素と精練

終戦後急速に化学繊維が発達したが、その新興繊維も次第に欠点が指摘されてきた。第1には触感の不満足さである。次には通風性の不完全さである。さらにはこれをはだ着用の織布とする場合、水に対する吸着性の乏しさのために汗を布が吸い取ったり、その水分を適当に外へ発散させたりする性質に欠け、また布がはだにべとつくなどの欠点が訴えられるに至った。この欠点を補う目的で、近年これに亜麻やラミーなどの高級麻繊維を混紡することが行なわれてきた。そのためにはそれらの繊維束の分割度をさらに強度にまたまんべんに行なって、ことさらに繊細な繊維を得るよう精練することが必要となった。強度の繊維の分離に対しては直接原料に糸状菌を繁殖せしめるのが最も効果的である。しかし繊維原料を資料とする場合にこの方法は甚だしい練りむらを生じ、かつは繊維の本質たるセルローズを損傷するおそれがあるため、麻類原料の発酵に対して著者は糸状菌の使用は避けてきた。しかし以上のように繊維束の強度の分割を目的とするに至っては、糸状菌の酵素作用を利用することが最も適切であると考えたので、著者は有用な糸状菌の酵素液を精練剤として使用することを考え、ここにその生産酵素による酵素精練法を案出した。この目的のために分離・選択した例えば *Penicillium* の1株について分類学的な特徴を調べた結果は次のようであった。すなわち形態的特徴としては図版9の顕微鏡写真および模式図に示すように、*Penicillus* の分岐は不整齊状でありあまり拡大せず、菌糸は毛せん(茸)状である、したがってほぼ *Asymmetrica* 群の *Velutina* グループに入るも

のと考えられる。次に培養の特徴について観察するとこうじ汁寒天培地ではコロニーの色相は最初黄色であり日数経過に伴なって暗青緑色となり、年輪状コロニーを形成し、内部より外部に至るほど淡色となり、周辺部はほぼ円形整状で、裏面には皺壁が見られ、菌毛は毛せん状を呈する。ツァベック寒天培地ではやや色調が濃厚となるほかはこうじ汁寒天培地の場合と同様であった。牛乳培地にはわずかに生育を認める程度であり、カゼインの凝固も微弱であった。パレイシヨ培地では良好な生育を示し、こうじ汁寒天培地と同様に黄色から青緑色のコロニーを呈する。また色素生産性はツァベック培地において水溶性の黄色ないし黄緑色素を強く生産するのを認めた。また生理的特徴としては生育に対する最適温度25°、範囲15~30°、最適 pH 5.0、範囲3.0~7.0でぶどう糖、果糖、ガラクトース、キシロース、麦芽糖、しょ糖、乳糖、ラフィノース、イヌリン、でんぷんなどを発酵する。酵素としてはでんぷん液化酵素、でんぷん糖化酵素、たんぱく分解酵素を生産するが、たんぱく分解酵素およびカタラーゼは微弱であった。

以上の観察や測定に基づいて Raper および Thom の検索表より *Penicillium citrinum* に属する1株と認めた。

この *Penicillium citrinum* の1株のこうじ抽出液は著しい精練効果を示したので、適当にうすめて実用に供することができた。さらにこの抽出液を塩析やアセトン分別沈でん法を繰り返して、最後にアセトン35~50%濃度下で沈でんして得た粗酵素はN-mg 当りのペクチン分解力価において、初めの抽出液の数倍に増大していた。その作用は主として endo 型のものであった。また作用の最適 pH 3~4、pH 安定範囲3~6であり、また40°附近までは安定であるが、45°以上になると急激に失活し55°においてほとんどその活性が失われた。次に重金属イオンおよび SDS によって強く阻害されるが、他のキレート試薬、酸化還元試薬によって阻害され難く、また特に強く賦活作用を示す物質は見当らなかったが、Ca⁺⁺ および Ba⁺⁺ がややその作用を示した。ともかく強力なポリ・メチル・ガラクトクロナーゼ作用およびポリ・ガラクトクロナーゼ作用を有することを指摘したが、ペクチン・メチル・エステラーゼ作用^(44,45)やトランス・エリミナーゼ作用^{(46)~(49)}も問題となるので、これを測定したところいずれも認むべきものはなかった。またその粗酵素をさらに DEAE セルローズによるカラムクロマトグラフィーによって3つのフラクションに解析したが、そのいずれにおいても PMG 作用と PG 作用の分割はできなかった。



第10図 糸状菌酵素による亜麻ペクチンおよびペクチン酸の分解

その各フラクションをP₁、P₂およびP₃として、これらを亜麻から抽出・精製したペクチン酸やペクチンに作用せしめると第10図のような結果を得た。

すなわち各フラクションにおいてはその性能はほとんど一致しているが、ペクチン酸に対してもペクチンに対しても反応後直ちにその粘度を低下する。そしてペクチン酸の場合はその基質中に含まれるガラクチュロン酸に対して、反応の終末において約98%の分解率でガラクチュロン酸に分解されたが、ペクチンの場合のガラクチュロン酸への分解率は19~20%にとどまった。また分解の過程についてはパーパークロマトグラフィーが示すように、ペクチン酸の場合はD-ガラクチュロン酸のテトラマー、トライマー、ダイマーの移行を経てD-ガラクチュロン酸に至るものが見られたが、ペクチンの場合にはかかるD-ガラクチュロン酸のオリゴマーは検出されないで直接D-ガラクチュロン酸が出現した。これらの変化を亜麻原料の精練の進行状態とあわせ考えると、糸状菌の酵素による精練効果は、その生産するエンド型のペクチナーゼ作用によるものと推定された。

ただここに奇異に感ぜられることは、このフラクションをカンキツペクチン酸に作用せしめると、一般の作用の状態は類似しているが、亜麻ペクチン酸の場合と異なってアラビノーズが生産されなかった。しかしカンキツペクチン酸の場合は、亜麻ペクチンと同様にアラビノーズが出現した。したがって亜麻ペクチン酸およびカンキツペクチン酸の抽出、精製に誤りがないと

すれば、両種のペクチン酸の分子構造について、ガラクチュロン酸を主体とする中軸骨核の中のアラビノーズの存在について、検討の余地があるもののように考えられる。

ともかく亜麻繊維束から抽出したペクチン酸やペクチンに対し糸状菌の酵素を作用せしめた第10図に示す結果や亜麻原料の発酵精練の進行状態および現場の各過程におけるペクチン質の分析値などを総合して考えると、糸状菌の酵素による精練効果は主としてそのエンド型のペクチナーゼ作用によるものと推定することができた。しかし今後ペクチナーゼの実体が明かにされるにつれ、またペクチン質分解に関係する諸酵素の関連的高度利用の研究のもとに、この酵素精練法はさらに効果的に能率化される余地を充分に残していることを信じている。

結 論

絹糸紡績原料の発酵精練においてはセリシンの分解また麻類原料においてはペクチン質の分解について、過去の仕事の概要をまとめて記載した。動物性原料についてはほかに野蚕繭の発酵精練、また麻類原料についてはほかにケナフ・黄麻・ニュージーランド麻その他の雑繊維の発酵精練も研究し実用化もした。さらに後者の場合は有用糸状菌と直接原料粗繊維に繁殖せしめる方法や、温泉利用の研究にもかなりの努力を払った時代もある。しかし本論においては自然発酵から集菌発酵へさらに共生発酵や抽出酵素による精練法への基

基礎的研究と実用化の経過を記載するのが本旨であるから、この目的にぜひ必要と考える部分を抜粋してとりあげた。しかも一連の研究が1つの工業的応用に終止したわけではなく、時代の変遷に伴ない、また業界の事情の変化に伴ない、原料の性質も、ときには種類さえも異なり、また需用の目的や要求にも移動があった。したがって研究とその応用化とは幾度か互に錯そうして繰り返す必要があった。しかも繊維のこう着物質たるセリシンにしてもペクチン質にしても、今日の学界においてすら確然とその実体がかつていないものではなく、ただ30年の過去からすこしづつ判明されてくるにつれ、また諸般の分析方法が新たに報告されるにつれ、これと共に研究の進行にもしょう慮と混迷とを覚えた。もちろんこの研究はまだ完成されたものではなく、今後の成果に俟つところが多い。

また醗酵精練に関する研究のうちで、本文の内容は直接に繊維の分離に関係する分野に絞って、記載した。しかし例えば絹紡原料の醗酵においてはリパーゼの問題が附随する。なぜならば醗酵の過程で原料中の油脂の分解・除去も重要な問題で、仕上げ品に過剰の油脂が残留すると、あとの紡績工程で繊維がローラーに密着し、からみついて操業に支障を生ずる。また麻類原料の醗酵精練においても、著者の分析による亜麻の醗酵における成分変化〔農化, 15(1939), 16(1940)〕の結果例から推察されるように、ヘミセルラーゼやプロティナーゼの作用が繊維の分離に対して補助的に作用する。

これらの諸問題についても、本文の研究と平行していろいろ検討してきたが、ともかく醗酵精練の研究はきわめて複雑な要素を多分に含むもので、それだけになお今後の発展が期待される。

謝 辞

本研究は昭和9年に恩師片桐英郎先生のご指導のもとにその共同研究として着手した。もっともこの仕事の最初のヒントは当時鐘淵紡績株式会社の上司、川上医学博士から得たものである。その後単独の研究や報告も行なったが、環境の変化に応じて次々に以下に列記する合計7名の方々の共同研究としてのご協力を得て今日に至った。

片桐英郎先生 (1937~1941)

西村俊一氏 (1937~1938)

小沢潤二郎氏 (1944)

故 青木純次氏 (1944~1950)

原田芳祐氏 (1949)

故 石田博之氏 (1953)

今原広次氏 (1957~1964)

ことに近年8ケ年は、学内の役職の兼務を任せられ

たために、研究に対する時間的自由の不足に苦しんだが、さいわいに工学博士今原助教授の真摯な助力のもとにこの仕事を今日まで続けることができた。

またこの間恩師、先輩、同僚各位のあたたかいご支援をいただいた。特に先輩として北原寛雄先生には終始ご懇篤なるご指導を賜わり、ときには叱咤べんたつの情を受けたし、さらに報文の原稿のご校閲を願ったものも少なくない。

糸状菌の酵素による酵素精練の研究およびその応用については、当時本学の学長近藤金助先生の格別なご高配をいただいた。

また佐藤喜吉先生には、長期にわたり絶えざるご激励をいただいた。

以上の皆様に衷心より敬意と謝意を表する。

この研究の最初の工業化に当って、深いご理解と絶大なご支持をいただいた鐘紡元社長津田信吾殿および同社元技師長城戸季吉殿の2つの御霊に対し謹んで深謝の意を表し奉る。

参 考 文 献

絹糸紡績原料の醗酵精練に関係あるもの

- 1) 井上柳吾, 田代茂 (1921): 上田蚕糸, **13**.
- 2) Abderhalden E. & O. Zumstein (1931): Z. Phys. Chem., **207**: 141.
- 3) Nicolet B. H. & L. A. Skinn (1941): J. Biol. Chem., **139**: 477.
- 4) 佐々木周郁, 宮田正人 (1951): 蚕糸調査, **3**: 316.
- 5) 伊藤武男 (1952): 農化, **25**: 411.
- 6) 近藤金助 (1923): 日化, **42**: 1054.
- 7) 井上柳吾 (1924): 農学, **259**: 329.
- 8) Shelton E. M. & T. B. Johnson (1925): J. Amer. Chem. Soc., **47**: 412.
- 9) 金子英夫 (1931): 農化, **7**: 1104.
- 10) Rutherford H. A. & M. Harris (1940): Textile Reserch, **18**: 221.
- 11) 奥田己 (1941): セリシン定着論
- 12) 清水正徳 (1941): 蚕試, **10**: 441.
- 13) Moscher H. H. (1932): Amer. Dyest. Repr., **21**: 341.
- 14) Fischer E. & A. Skita (1901): Z. Phys. Chem., **33**: 177.
- 15) Abderhalden E. & A. Rillet (1909): Z. Phys. Chem., **58**: 337, **61**: 251 (1909), **62**: 131 (1909), **64**: 462 (1910), **80**: 198 (1912).
- 16) 西川正治, 小野澄之助: 東京原物理学(1913): **7** 131.
- 17) Bergmann M. & C. Niemann (1938): J. Biol.

- Chem., **122**: 577.
- 18) Akabori S., K. Satake & K. Narita (1949): Proc. Japan Acad., : **25**: 206.
- 19) Levy M. & E. Slobodian(1952)J. Biol. Chem.,: **199**: 563.
- 20) Ioffe K.G. (1952): Biokhimiya **17**: 752.
- 21) Lucas F., J.J.B. Shaw & S.G. Smith (1956): Natur, **178**: 861.
- 22) 貴志雪太郎: 1935) 農化, **11**: 303, (1957) **31**: 499, 504.
- 23) 貴志雪太郎 (1956): 京都工織, **1**: 63, (1959), **2**: 354, (1961) **3**: 238.
- 24) 桐村二郎, 鈴木直雄 (1962): 農化, **36**: 265.
- 麻類繊維原料の発酵精練に関係あるもの**
- 25) J. Behrens (1902): Centr. Bakt. Abt II, **8**: 2 95.
- 26) K. Störmer (1904): Centr. Bakt. Abt II, **13**: 35.
- 27) D. Carbone (1923): Zentr. Bakt. Abt II, **59**: 287.
- 28) F. Schardinger (1909): Centr. Bakt. Abt II, **22**: 98.
- 29) G. Ruschmann, W. Bavendamm (1925): Zentr. Bakt. Abt II, **64**: 340.
- 30) N. O. Sjolander, E. McCoy (1937): Zentr. Bakt. Abt II, **97**: 314.
- 31) C. H. Weizmann, E. Hellinger (1940): J. Bact., **40**: 665.
- 32) 朝井勇宣, 今村長俊 (1943): 農化, **19**: 102.
- 33) 朝井勇宣, 小松栄太郎 (1943): 農化, **19**: 566.
- 34) E. Anderson, L. Sands (1945): Advance in Carbohydrate Chem., **1**: 329.
- 35) E. L. Hirst, J. K. N. Jones (1955): Advance in Carbohydrate Chem., **33**: 337.
- 36) C. G. Seegmiller, E. F. Jansen (1952): J. Biol. Chem., **195**: 327.
- 37) 梶明 (1956): Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, **20**: 8.
- 38) 谷利一 (1963): 日本植物病理, **28**: 114.
- 39) 遠藤章 (1961): Agr. Biol. Chem., **25**: 382, 389, 394.
- 40) 遠藤章 (1961): 発工: **39**: 39.
- 41) 遠藤章 (1963): Agr. Biol. Chem., **27**: 741, 751.
- 42) 斎藤日向, 蓑田素治, 丸茂博文(1954): 農化, **28**: 810, 814, 863, 866, 869.
- 43) 竹花秀太郎, 小倉長雄 (1955): 農化, **29**: 83.
- 44) 竹花秀太郎, 小倉長雄 (1954): 農化, **28**: 875, 881.
- 45) 遠藤章 (1964): Agr. Biol. Chem., **28**: 757.
- 46) P. Albersheim, H. Neukom & H. Douel(1962): Helv. Chim. Acta., **43**: 1422.
- 47) C. W. Nagel & R. H. Vaughn (1961): Arch. Biochem. Biophys., **93**: 344, **94**: 328.
- 48) 岡本賢一, 畑中千歳, 小沢潤二郎 (1964): 農化, **38**: 237.
- 49) 岡本賢一, 畑中千歳, 小沢潤二郎 (1964): Agr. Biol. Chem., **28**: 331.

本文に関係ある著者の報文

絹糸紡績原料の発酵精練に関する研究

- 片桐英郎, 中浜敏雄(1937): 第1報 腐化処理の効果と腐化菌の選別 農化, **13**: 1003.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1937): 第2報 腐化に関与する細菌 農化, **13**: 1007.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1937): 第3報 有用腐化菌の性状 農化, **13**: 1017.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1938): 第4報 腐化菌 (*Bacillus cereus*) の Sericin および Fibroin に対する酵素作用 農化, **14**: 243.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1939): 第5報 好熱性腐化菌について 農化, **15**: 1042.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1941): 第6報 Degummase の蛋白分解能に関する検討 農化, **17**: 165.
- 中浜敏雄, 今原広次(1957): 第7報 好気性細菌と嫌気性細菌との共生発酵による精練効果の検討 農化, **31**: 363.
- 中浜敏雄, 今原広次(1958): 第8報 一好気性細菌の生産するデガムマーゼの精製 農化, **32**: 115.
- 今原広次, 中浜敏雄(1962): 第9報 好気性および嫌気性両細菌のプロティナーゼの精製とその協力作用 農化, **36**: 327.
- 今原広次, 中浜敏雄(1962): 第10報 好気性および嫌気性両細菌のプロティナーゼの酵素化学的性質 農化, **36**: 331.

異なる状態に於て上簇せる家蚕繭糸に関する比較

- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 第1報 乾湿両状態に於て上簇せる家蚕繭糸の収繭
状態及其の生糸の物理的性質の比較 農化, 13: 400.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 第2報 乾湿両状態に於て上簇せる家蚕繭糸の解舒の比較 農化, 13: 405.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 第3報 乾湿両状態に於て上簇せる
家蚕繭糸の Sericin 量の比較 農化, 13: 407.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 給糸回数を異にして常繭せしめたる家蚕繭糸の比較 農化, 13: 898.

植物纖維原料の醱酵精練に就て

- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 第1報 苧麻纖維原料に対する有用菌株の選択 農化, 13: 649.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 第2報 Ram F 菌の苧麻纖維原料に対する作用 農化, 13: 654.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1937): 第3報 Ram F 菌による苧麻の精練結果 農化, 13: 657.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1938): 第4報 Ram F 菌の性状について 農化, 14: 488.
- 中浜敏雄, 西村俊一(1938): 第5報 Bacillus subtilis var. ramie
の各種植物原料に対する作用 農化, 14: 492.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1938): 第6報 大麻粗纖維の腐化に有用なる好気性菌の選択 農化, 14: 1343.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1938): 第7報 大麻粗纖維の好氣的腐化に関与する有用細菌 農化, 14: 1348.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1939): 第8報 大麻粗纖維の嫌氣的腐化に関与する有用細菌 農化, 15: 207.
- 中浜敏雄(1939): 第9報 亜麻の Retting に有用なる好気性菌の選択 農化, 15: 323.
- 中浜敏雄(1939): 第10報 亜麻の好氣的 Retting に関与する有用細菌 農化, 15: 328.
- 中浜敏雄(1940): 第11報 亜麻の嫌氣的 Retting に関与する細菌 農化, 16: 39.
- 中浜敏雄(1940): 第12報 ケナフの Retting に関与する細菌 農化, 16: 345.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1940): 第13報 黄麻粗纖維の好氣的腐化に関与する有用細菌 農化, 16: 832.
- 片桐英郎, 中浜敏雄(1940): 第14報 腐化菌の呈する Pectin 分解酵素作用の比較 農化, 16: 1151.
- 今原広次, 中浜敏雄(1963): 第15報 有用糸状菌とそのバクチナーゼに就て 京府大学報, 15: 89.
- 中浜敏雄, 今原広次(1964): 第16報 糸状菌を利用する亜麻の酵素精練 農化, 関西支部講演要旨(4月25日)

植物纖維原料の醱酵精練に関係する微生物(共生醱酵に関する研究)

- 中浜敏雄, 小沢潤二郎(1944): 第1報 一好気性有用細菌の性質 農化, 20: 229.
- 中浜敏雄, 小沢潤二郎, 青木純次(1944): 第2報 二種の好気性細菌について 繊維学会誌, 1: 476.
- 中浜敏雄, 青木純次(1950): 第3報 大麻纖維原料のバクチン質を分解する一好気性
細菌と分解せざる一好気性細菌に関する研究 農化, 23: 240.
- 中浜敏雄(1950): 第4報 大麻の醱酵作用を有する嫌気性細菌と
その共生微生物に関する研究 農化, 23: 245.
- 中浜敏雄, 石田博之(1953): 第5報 大麻原料の熱処理の醱酵に及ぼす影響 京府大学報, 5: 183.

アセトンブタノール醱酵に関する研究

- 中浜敏雄, 原田芳祐(1949): 第1報 菌の分離, 特性の検索および醱酵試験 農化, 23: 176.
- 中浜敏雄, 原田芳祐(1949): 第2報 Clostridium kaneboi と Bacillus
mesentericus sp. との共生培養に就て 農化, 23: 206.

Zusammenfassung

Das Gebiet dieser Erforschung ist zweierlei, die Fermentationsentgummierung der seidenen Fasermateriale und die der hanfenen. Und ihr Gegenstand sind im ersteren Falle die Funktionen der Protease, weil der Gummierungsstoff der Faser Sericin, ein Eiweiß, ist; im letzteren die der Pektinase, weil der Gummierungsstoff der Faser pektinös ist.

Bei ersterer Arbeit wurden einige brauchbare Bakterien isoliert und ihre Eigenschaften untersucht. Die von diesen nützlichen Bakterien erzeugte Protease zersetzt kräftig Sericin, und zwar Sericin A sowie Sericin B ungefähr in demselben Verhältnis, obwohl die beiden in chemischer Stabilität ungleich sind. Demzufolge kann man aus Rohstoffen mit guter Ausbeute die Faser gewinnen. Die Enzyme, welche die aeroischen von diesen wirksamen Bakterien erzeugen, sind in ihren Eigenschaften und Funktionen dem Trypsin recht analog. Aber sie zersetzen alle Sericin viel stärker als das Trypsin. Und durch einzelne Enzyme, die man in Kristallform verfeinert hat, wird die Entgummierung der Rohstoffe vollkommen ausgeführt, und die Proteasen der nützlichen aeroischen Bakterien besitzen untereinander manche gemeinsame Eigenschaften und Funktionen, so daß ich und meine Mitarbeiter für alle diese eine umfassende Bezeichnung „Degummase“ bestimmt haben. So ließen wir die aeroischen nützlichen Bakterien unter für ihre Eigenschaften günstigen Bedingungen sich vermehren, indem wir sie im Wasser inokulierten, in welchem eine Menge Rohstoff eingetaucht war. Und wir haben ein Fermentationsverfahren durch Vermehrung und Anhäufung erfunden, in welchem durch im Wasser angehäufte Degummase ein Rohstoff immer wieder fermentiert wird, und es industrialisiert. Dadurch ist die Produktivität zusehends erhöht und die Ausbeute auch vergrößert worden.

Auch von unaeroischen Bakterien haben wir die nützlichen isoliert, und wenn man sie mit den aeroischen gemischt züchtet und einen Rohstoff fermentiert, so ist, wie wir beobachtet haben, der Zersetzungsgrad von Sericin viel höher als bei der ungemischten Zucht. Läßt man etwas von der Zuchtlösung auf Sericin wirken, dann ist bei der gemischten Zucht der Abstieg der spezifischen Viskosität der Sericinlösung auch bei weitem größer. Als Gründe dafür sollte man in Betracht ziehen: Symbiosis im Aufwachsen von Bakterien und Zusammenwirken der von Bakterien erzeugten Enzyme auf Eiweißzersetzung.

Was die Symbiosis angeht, kann man als Faktor, der ein symbiotisches Phänomen verursacht, das Verhältnis der Nahrungsgrundes von beiderlei Bakterien, besonders des Nitrogengrundes sowie dasjenige des Sauerstoffes im Fermentationswasser annehmen. In Bezug darauf haben wir auf Forschungsergebnisse hingewiesen, welche die Verursachung der Symbiosis in jedem dieser Fälle bekräftigen. Immerhin war die Gesamtmasse von Bakterien nach der Zucht, wenn beiderlei Bakterienstöcke auch normalerweise gezüchtet wurden, bei der gemischten Zucht viel größer als bei der ungemischten. Hieraus haben wir annehmen können, daß da ein Phänomen der Symbiosis vor sich geht.

Um nun das Zusammenwirken der von beiderlei Bakterien erzeugten Enzyme auf Eiweißzersetzung zu untersuchen, haben wir Eigenschaften und Funktionen der beiden Enzyme verglichen. Das von *B. circulans* erzeugte Enzym z. B., welcher eine aeroische nützliche Bakterie ist, ist eine alkalische Protease, während das von *Clostridium* sp. erzeugte, welches eine unaeroische nützliche Bakterie ist, eine Protease von schwacher Acidität ist. In Wirkungen von Metallen auf das Wachstum usw. war auch ein ziemlich großer Unterschied bemerkbar.

Das Merkwürdigste war aber, daß die Viskositätsabstiegeinheit von Gelatin beim Enzym von *Bazillus* sehr höher ist, während die Folineinheit bei dem von *Clostridium* beträchtlich höher ist. Die beiden Enzyme sind also in Art und Weise von Eiweißzersetzung verschieden. Was auch die Wirkungen von Peptidase betrifft, ist beobachtet worden, daß die Stelle der Aminosäureaufspaltung, wenn man z. B. die beiden Enzyme vereinzelt auf L-Alanyl-Glycyl-Glycine wirken läßt, verschieden ist.

Es konnte auch hingewiesen werden, daß, wenn man die beiden Enzyme gemischt wirken läßt, der Zersetzungsgrad in die Aminosäure höher ist, als wenn man diese kristallisierten Enzyme vereinzelt auf Sericin oder Gelatin wirken läßt, obwohl die Gesamtmasse des Enzyms in jedem Falle gleich ist.

Hieraus ist das Zusammenwirken von Enzymen auf Eiweißzersetzung festgestellt worden. Man hat auch annehmen können, daß zusammen damit die oben erwähnte Symbiosis eine Ursache des Entgummierungseffekts durch die gemischte Zucht sei. So haben wir auch ein symbiotisches Fermentationsverfahren erfunden, in welchem wirkungsvolle aeroische und un-aeroische Bakterien zugleich benutzt werden.

Zur Blütezeit der Seidenspinnerei vor dem Krieg genossen in unserem Lande die Seidenfäden als Materiale von Seidenstoffen, der Fujiginu, Hiraginu, Meisen usw., eine gewaltige Nachfrage und waren, da die ausländischen Bestellungen auch massenweise eintrafen, gleichsam eine große Geldquelle. Deshalb war die Geschäftswelt mit der Produktion sehr beschäftigt, aber die alte natürliche Fermentation machte dabei einen Engpaß der Arbeit. Da wurde sie von der Fermentation durch Vermehrung und Anhäufung oder der Art des Rohstoffes nach von der symbiotischen Fermentation abgelöst, und die Zeitdauer der Fermentation ungefähr auf die Hälfte reduziert, so daß sich die Produktivität zusehends erhöhte und die Qualität wie die Ausbeute der Produkte auch verbessert wurden.

Wir berichten nun von der Untersuchung über die Fermentationsentgummierung hanfener Rohstoffe. Es waren mehr als zehn Arten von aeroischen und unaeroischen Bakterien, die wir zu diesem Zweck isoliert und benutzt haben. Diese zersetzen überhaupt kräftig die Pektin-substanz, die ein Gummierungsstoff von Fasern ist.

Wenn man nun mit brauchbaren Bakterien eine Fermentation der Rohstoffe von verschiedener Art ausführt, dann sind ihre Wirkungen für die Art wählerisch. Läßt man aber die von ihnen erzeugten Enzyme auf Pektin wirken, welches aus Rohstoffen verschiedener Art extrahiert worden ist, so wird in Hinsicht auf ihre Zersetzungsfunktionen ein damit ungefähr paralleles Verhältnis beobachtet. Der wählerische Charakter der Bakterien für die Rohstoffe stimmt also mit der Eigentümlichkeit überein, welche die erzeugten Enzyme zu dem in verschiedenartigen Rohstoffen enthaltenen Pektin aufweisen. So haben wir zuerst ein Fermentationsverfahren erfunden, in welchem die zu Rohstoffen passenden nützlichen Bakterien benutzt werden, dann ein symbiotisches Fermentationsverfahren, in welchem das Phänomen der Symbiosis angewendet wird, und die beiden Verfahren auch industrialisiert.

Vor dem Krieg entgummerte man in Anwendung von Fermentation durch Vermehrung und Anhäufung die Rohstoffe wie Ramie, Flachs usw. in derselben Länge. Während des Krieges war in unserem Lande die Hilfsquelle der Faser so knapp geworden, daß man auf die Benutzung von damals massenweise eingehendem koreanischem Hanf seine Aufmerksamkeit richtete. Er ist ein niederer Rohstoff, der zum Material eines Moskitonetzes usw., aber nicht zum Tuch benutzt worden ist. Nach wiederholten Untersuchungen hat sich herausgestellt: Es war in diesem Falle besser, daß der Rohstoff in Rücksicht auf dessen Eigenschaften in den Zustand von kurzen Fasern wie Baumwolle entgummiert und benutzt wurde. Um also den Rohstoff in den Zustand von Baumwolle zu setzen, haben wir eine Entgummierung durch symbiotisches

Fermentationsverfahren ausgeführt. Damit ist uns gelungen, die so hergestellten Fasern mit Stapelfasern gemischt zu spinnen und spezifische wasserdichte Tücher zu verfertigen. Sie wurden damals zum Volkstracht weit und breit benutzt und auch zum Kriegsbedarf in Menge produziert.

Um den Kunstfasern über ihre Schwäche zu helfen, ist man in letzter Zeit sehr geneigt, Flachs oder Ramie in Form von feinen Fasern zu entgummieren und damit gemischt zu spinnen. Zu diesem Zweck haben wir ein Entgummierungsverfahren erfunden, in welchem ein Enzym von Schimmelpilzen angewendet wird. Ein rohes Enzym z. B., das aus einem Stock Zuchtmaterial gewonnen worden war, welcher zu diesem Zweck isoliertem *Penicillium citrinum* zugehört, verkleinerte schnell, wenn man es auf die aus Flachs extrahierte Pektinsäure oder Pektin wirken ließ, ihre Viskosität. Dabei schied die Pektinsäure am Ende beinahe 100% die Galaktronsäure, während beim Pektin sie höchstens 19-20% geschieden wurde. Ferner haben wir dieses rohe Enzym mit einer Kolumnenchromatographie analysiert und untersucht, aber es ist auch beobachtet worden, daß weder die Funktion von Pektin Methyl Esterase noch die von Trans-Eliminase bemerkbar war. Zufolge weiterer Untersuchungen über Zwischenkörper der Zersetzung nehmen wir an, daß die Hauptfunktion der Entgummierung durch Enzyme der Schimmelpilze die Funktion ihrer Endo-Pektinase sei.

図 版 説 明

Plate I

1. *B. vulgatus* のプロテイナーゼ
2. 原料 (比須)
3. 精乾綿
4. 製 綿
5. *B. circulans* のプロテイナーゼ
6. *Clostridium* sp. のプロテイナーゼ

Plate II

7. 亜麻原料 (粗繊維)
8. 亜麻精練品
9. *Penicillium citrinum* PN
a: conidia, b: metulae, c: sterigmata, d: conidiophore

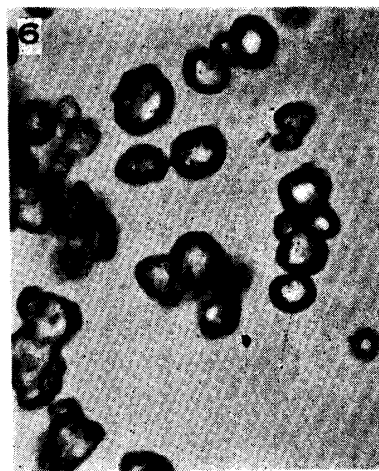
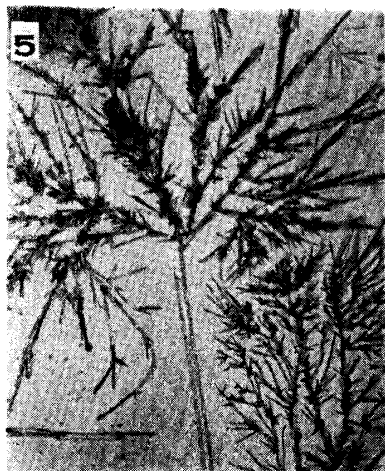
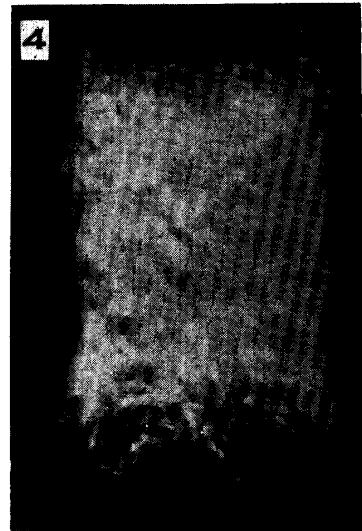
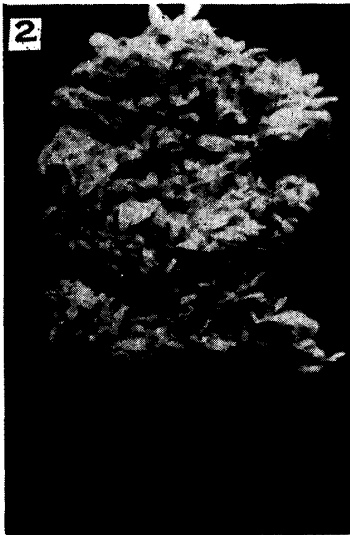
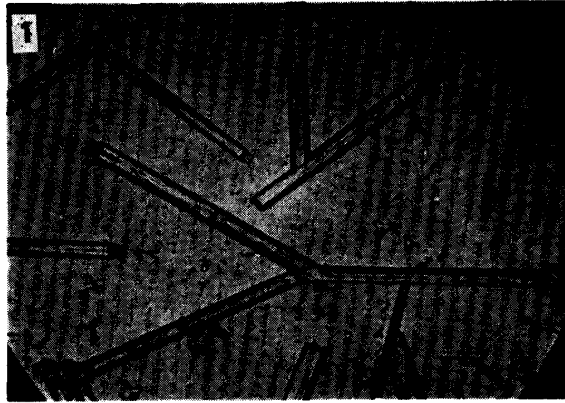


Plate II

