

# 植物繊維原料の醱酵精練について (第16報)

各種糸状菌のペクチナーゼ作用およびその形態

今原 廣次・中 浜 敏 雄

HIROTSUGU IMAHARA and TOSHIO NAKAHAMA : On the retting  
of vegetable-fibre materials (XVI)

Pectolytic activities of several molds and the microscopic  
observations of their forms

**摘要** 各種の作用形式のペクチン分解酵素をそれぞれ有効にとり出しその作用機構を明らかにするとともに、その適切なる応用面の開発を目的として、研究室保存の Type culture 31株の糸状菌について、それぞれの endo-PG, exo-PG, PE 作用力の測定を行なった。その結果特に endo-PG 作用のみすぐれている *Mucor circinelloides* と endo-PG 作用はほとんど微弱であるが exo-PG, PE 作用のかなり強力なる *Neurospora sitophila* の2株を特徴ある菌株として見出し得た。また endo-PG, exo-PG, PE 作用ともかなりの強さを有するものとして *Aspergillus niger* を指摘した。これらのペクチナーゼ力の強弱あるいは作用形式の特徴に対し種属の特徴の関連的事実は認められなかった。このような菌株による酵素作用の特徴はペクチン分解作用に関する基礎的研究の上にも応用面開発のためにも重要な意義を有するものである。試験菌株の酵素作用の比較の一方顕微鏡観察を行なって培養管理上の基礎資料を得た。

## I 緒 論

糸状菌のペクチナーゼに関しては Jansen<sup>1)</sup>, Ayres<sup>2)</sup>, 斎藤<sup>3,4)</sup>, 小沢<sup>5)</sup>, 竹花<sup>6)</sup>, Tuttobello<sup>7)</sup>, 遠藤<sup>8-18)</sup>らの報告があり、それぞれの目的に応じた各種の糸状菌を分離し、そのペクチナーゼについて論じられている。著者らも麻類の酵素精練を遂行するに当り、その目的に適するようなペクチナーゼを著量に生産する糸状菌の分離選択を行なって所期の成果を収め既報<sup>19)</sup>でその大要を述べた。すなわちその酵素精練に関与する酵素系の解析を遂行した結果、その主作用はエンド型のポリガラクトクロナーゼによることは認められたが、さらに他の作用形式のペクチナーゼ作用も推察される。これらの解明によりさらに酵素精練の酵素的機構を明らかにせんとし、またその結果から各種の形式のペクチン質分解酵素の多方面への利用をも期して研究室保存の各種の Type culture の糸状菌について作用力の比較を行ない、同時にこれら糸状菌の利用に際しての管理上の基礎資料を得るためにこの顕微鏡的実験を行なった。

## II 実験の部

### 1. 酵素液の調製

研究室保存の各糸状菌について麩麩培養を行ない、その抽出液を酵素液として使用した。すなわち麩 2g に水1.6ml を散布し 130°C, 25分加圧殺菌した後糸状菌胞子1白金耳を接種し 30°C, 2日培養したものを種培養とし、これを同様に加圧殺菌せる麩 20g, 水16ml 混合物に移植し30°C, 3日間培養を行なった。これを0.9%食塩水 200ml に少量の海砂とともに磨砕抽出し、ろ過せるろ液を酵素液とした。

### 2. 酵素作用力の測定

#### (1) 粘度降下力 (endo-polygalacturonase, endo-PG)

市販柑橘ペクチンを用い M/25 醋酸塩緩衝液 (pH 4.0) に溶解して 0.6%液、相対粘度 5.0に調整し、その4ml に酵素液1ml を加え30°C で反応させ、その粘度降下をオストワルド粘度計を用いて測定した。基質溶液の粘度が 10 ~ 20 分の間で半減するような点を求め、前報<sup>19)</sup>のようにこの条件で相対粘度 5.0 の基質溶液1ml を酵素液1ml が 5 分で半減せしめる場合を 1 単位と規定して各力価を算出した。

#### (2) 結化力 (exo-polygalacturonase, exo-PG)

前項と同じ反応液を用いその5mlについて Willstä-

ter-Schudel のヨード法によって還元性物質の増加を測定し、60分反応後に生成したガラクトウロン酸のmgを以てその作用力を示した。

(3) ペクチンエステラーゼ力 (Pectinesterase, PE)

上述のパクチンを蒸留水を用いて同濃度に溶解し、同じ割合で酵素液を加え 30°C で反応させ、遊離カルボキシル基を N/20-NaOH でガラス電極 pH メーターを用い中和滴定し、60分反応後に生成遊離せるカルボキシル基を中和するに要する N/20-NaOH の ml で以て作用力を示した。

3. 実験結果

研究室保存の各種に属する糸状菌 31 株について endo-PG, exo-PG, PE の夫々の酵素作用力を測定し

た結果は第 1 表に示すようであった。

以上の結果ある特定の種属が作用形式を等しくするペクチナーゼ類を生成するがごとき事実は認められなかった。試みに *Penicillium* 属について考えてみると、総体的に endo-PG を有するものが多く exo-PG および PE は各菌株によりかなり差がある。また *Aspergillus* 属では *Asp. niger*, *Asp. ostianus* の endo-PG 及び exo-PG は強力であるが、その他については *Asp. awamori* と *Asp. flavus* が exo-PG のみ強力であった。なお *Asp. niger* は PE についても顕著な作用を示した。*Mucor* 属には特に強力な endo-PG のみを有する *M. Circinelloides* があるが他には特に強い酵素力を有する菌株は見出せなかった。また *Rhizopus* 属

第 1 表 各種糸状菌のペクチン分解酵素力

菌 株	endo-PG unit/ml	exo-PG ガラクトウロン酸 mg/5ml・60分	PE N/20NaOH ml/20ml・60分
<i>Aspergillus awamori</i>	6.70	3.44	0.34
<i>Aspergillus flavus</i>	1.60	2.29	0
<i>Aspergillus niger</i>	38.33	4.76	1.65
<i>Aspergillus oryzae</i> (K)	0.19	0	0
<i>Aspergillus ostianus</i>	43.26	2.15	0
<i>Aspergillus wentii</i>	6.00	1.85	0.42
<i>Aspergillus</i> 19*	1.78	2.55	0
<i>Aspergillus</i> E*	3.11	1.85	0
<i>Neurospora sitophila</i>	4.72	5.02	2.47
<i>Penicillium citrinum</i> **	22.20	1.39	0
<i>Penicillium corylophilum</i>	17.80	2.97	0.37
<i>Penicillium notatum</i>	11.90	1.95	0.41
<i>Penicillium roqueforti</i>	9.60	0	2.12
<i>Penicillium spinulosum</i>	26.40	2.54	0.32
<i>Penicillium velutinum</i>	9.50	2.87	0.43
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0	0.81	0.09
<i>Absidia lichtheimi</i>	10.50	0.53	0.10
<i>Absidia sp.</i> *	4.70	0.21	0
<i>Cunninghamella echinulata</i>	0	0.54	0.01
<i>Cunninghamella elegans</i>	2.98	0.67	0
<i>Mucor circinelloides</i>	64.00	0	0
<i>Mucor racemosus</i>	8.95	1.12	0.27
<i>Mucor rouxianus</i>	8.30	1.12	0.13
<i>Mucor sp.</i> *	8.82	2.46	0.16
<i>Rhizopus chinensis</i>	5.30	1.11	0.05
<i>Rhizopus delemar</i>	1.90	0	0.07
<i>Rhizopus javanicus</i>	25.00	0.30	0.02
<i>Rhizopus nigricans</i>	2.00	2.15	0.75
<i>Rhizopus tritici</i>	35.00	3.23	0.76
<i>Rhizopus chinensis sp.</i> *	4.50	0.70	0
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	6.15	3.45	0.33

\* 研究室分離菌株

\*\* 前報に記述せる研究室分離菌株

では *Rh. javanicus*, *Rh. tritici* がやや強い酵素力を有することを認めた。しかしendo-PG力の特に強い *M. circinelloides* は特徴ある菌株であり、これと対照的に *Neurospora sitophila* はPEおよびexo-PG力が強く、また *Asp. niger* はendo-PG, exo-PG, PEともかなりの強さを示す、そのほか若干の特徴ある酵素力を示す菌株も見出し得たが以上3菌株について今後検討する必要を認めた。

#### 4. 供試糸状菌の顕微鏡観察

上述の供試糸状菌31株についてその菌学的特徴および培養管理上の基礎資料を得る目的で麩汁寒天培地を使用してスライド培養を30°C, 2~4日間行ない、その生育状態を観察しその特徴を顕微鏡写真にした結果がPlate I-IVに示すとおりである。すなわち各種属間の特徴は充分この結果からも観察されうるが、同一種属内に属する各菌株についての形態学的な差は容易に見出しえなかった。しかし胞子着生に要する時間、着生状態等において若干の差は認められた。*Aspergillus* 属, *Penicillium* 属は比較的容易にその特徴を観察しうるが、*Scopulariopsis* は胞子着生が遅く、また *Rhizopus tritici*, *Rhizopus delemar* も胞子着生が遅く容易にその特徴を観察しえなかった。また *Rhizopus* 属, *Mucor* 属の胞子着生の速かな菌株は時間の経過とともに胞子囊の破裂が生じあたかも一見 *Aspergillus* 属あるいは *Cunninghamella* 属のような観を呈するに至ることを認め、したがって顕微鏡観察の下にその特徴を見出すには培養時間の経過とともに観察を続ける必要を認めた。また *Rhizopus* 属, *Absidia* 属に見られる仮根着生状態の観察は比較的困難であり容易にその全

体の状態を認め難いが局所的な観察は可能であった。

#### 引用文献

- 1) E. F. Jansen & L. R. Mac Donnell (1945): Arch. Biochem. **8**: 97.
- 2) A. Ayres, J. Dingle, A. Phipps, W. W. Reid & G. L. Solomons (1952): Nature, **170**: 834.
- 3) 斎藤日向・養田泰治・丸茂博大(1954): 日農化 **28**: 810.
- 4) 斎藤日向(1954): 日農化 **28**: 814.
- 5) 小沢潤二郎・岡本賢一(1954): Chem. Abstr. **48**: 71195.
- 6) 竹花秀太郎・小倉長雄(1955): 日農化 **29**: 83.
- 7) R. Tuttobello & P. J. Mill(1961): Biochem. J. **79**: 51.
- 8) P. J. Mill & R. Tuttobello(1961): *ibid.* **79**: 57.
- 9) 遠藤 章(1961): Agr. Biol. Chem. **25**: 382.
- 10) 遠藤 章(1961): *ibid.* **25**: 389.
- 11) 遠藤 章(1961): *ibid.* **25**: 394.
- 12) 遠藤 章(1963): *ibid.* **27**: 741.
- 13) 遠藤 章(1963): *ibid.* **27**: 751.
- 14) 遠藤 章(1964): *ibid.* **28**: 535.
- 15) 遠藤 章(1964): *ibid.* **28**: 543.
- 16) 遠藤 章(1964): *ibid.* **28**: 551.
- 17) 遠藤 章(1964): *ibid.* **28**: 639.
- 18) 遠藤 章(1964): *ibid.* **28**: 757.
- 19) 今原広次・中浜敏雄(1963): 京府大学報・農 **15**: 89.

#### Summary

We researched the pectolytic activities of 31 strains of molds which collected in our laboratory and observed the forms of these molds by microscope. As the result we selected some strains which were rich on the pectolytic activity. *Mucor circinelloides* showed the highest activity in only endo-PG and *Neurospora sitophila* had high activities in exo-PG and PE. On the other hand *Aspergillus*

*niger* showed high activities in three pectolytic action, endo-PG, exo-PG and PE. Therefore we could find the fact that genus had not specificities on pectolytic activity but species specifitate. On the microscopic observation we succeeded obtaining the morphological characteristics of each strains.

## 図 版 説 明

1. *Aspergillus awamori*
2. *Aspergillus flavus*
3. *Aspergillus niger*
4. *Aspergillus oryzae* (K)
5. *Aspergillus ostianus*
6. *Aspergillus wentii*
7. *Aspergillus* 19
8. *Aspergillus* E
9. *Neurospora sitophila*
10. *Penicillium citrinum*
11. *Penicillium corylophilum*
12. *Penicillium notatum*
13. *Penicillium roqueforti*
14. *Penicillium spinulosum*
15. *Penicillium velutinum*
16. *Scopulariopsis brevicaulis*
17. *Absidia lichtheimi*
18. *Absidia* sp.
19. *Cunninghamella echinulata*
20. *Cunninghamella elegans*
21. *Mucor circinelloides*
22. *Mucor recemosus*
23. *Mucor rouxianus*
24. *Mucor* sp.
25. *Rhizopus chinensis*
26. *Rhizopus delemar*
27. *Rhizopus javanicus*
28. *Rhizopus nigricans*
29. *Rhizopus tritici*
30. *Rhizopus chinensis* sp.
31. *Rhizopus chinensis* sp. (Rhizoid)
32. *Syncephalastrum racemosum*

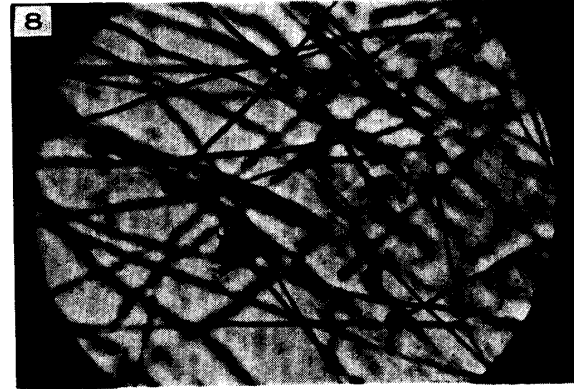
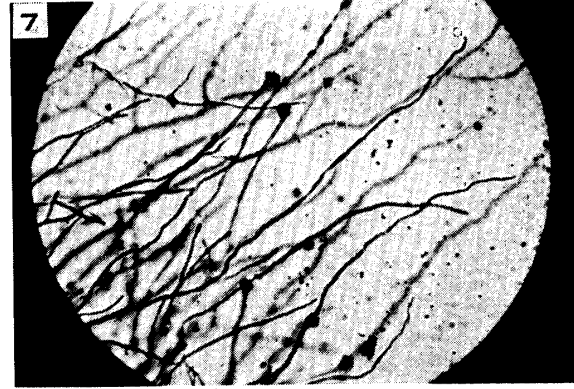
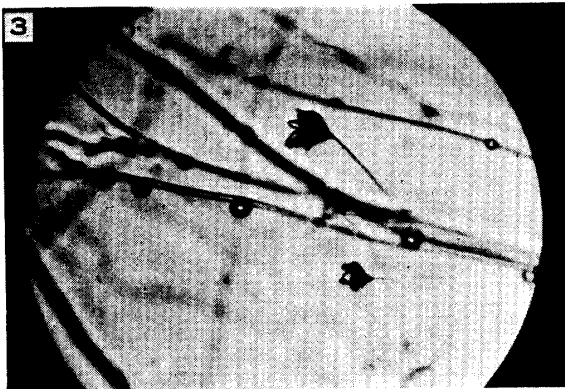
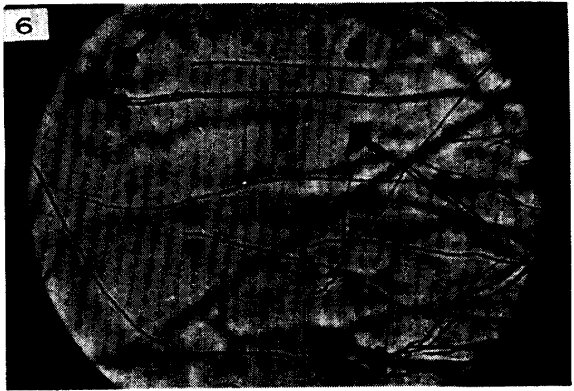
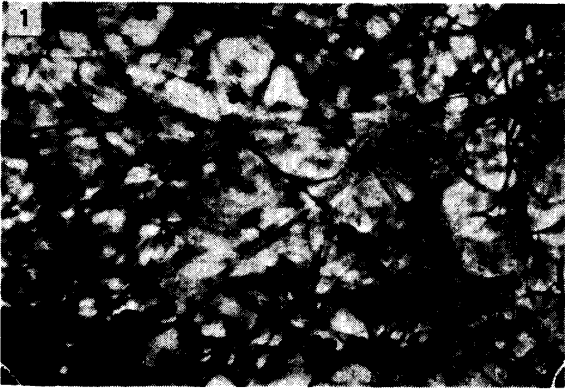
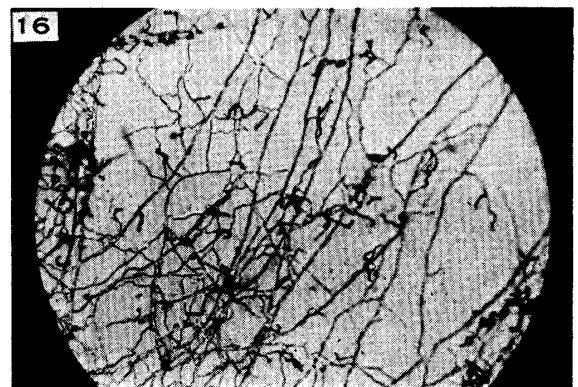
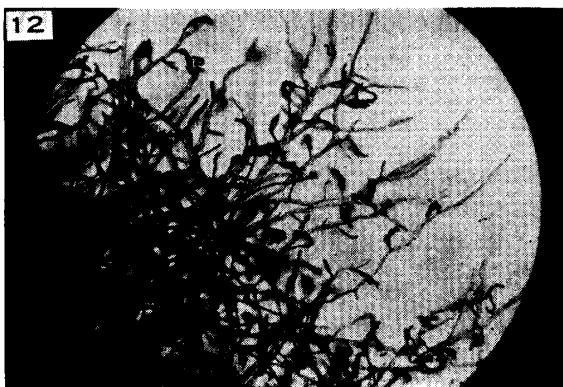
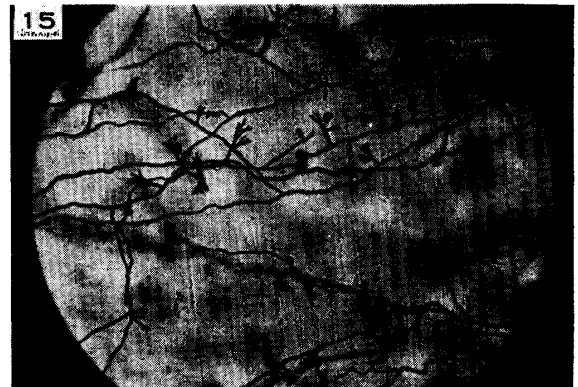
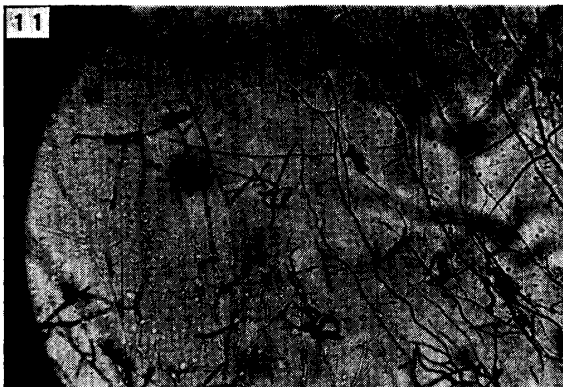
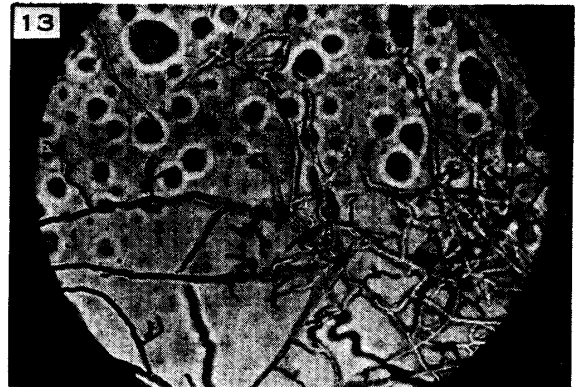


Plate II



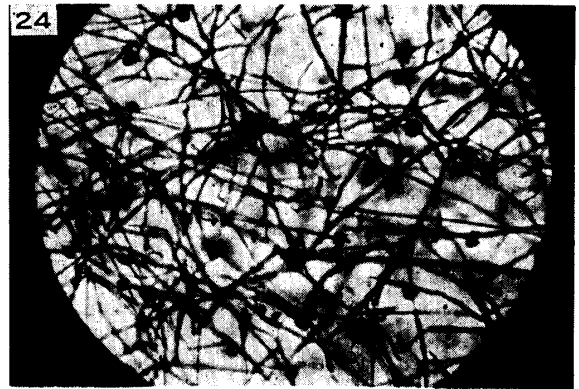
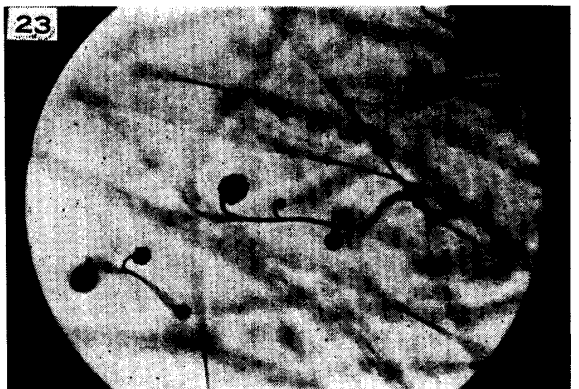
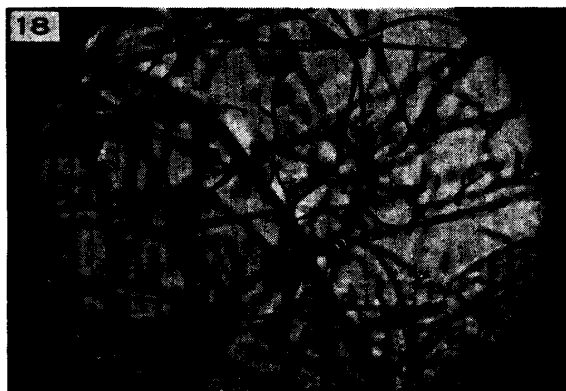


Plate IV

