

纖維素分解酵素に関する研究 第1報

種々なる纖維素試料のウスバタケ (*Irpex lacteus*) より得たる cellulase による分解度の比較*

西 沢 一 俊・松 崎 博・樋 口 昭**

Cellulose-splitting Enzymes. Part I.

Comparison of the Cleavability of Various Celluloses by Cellulase of *Irpex lacteus*.

Kazutosi NISHIZAWA, Hiroshi MATSUZAKI, and Akira HIGUCHI

(1953年9月15日受理)

種々化学的に処理した纖維素試料の酵素的分解の難易を調査した研究の主なものに、古くは P. KARRER⁽³⁾ (4) 及びその協力者等のもの並に W. TRAGER⁽⁷⁾ のもの、近くは C. WALSETH⁽⁹⁾ のものなどがある。之等の結果を総合すると結局試料のミセル構造が天然の纖維素に近い程度分解され難いようである。この分解の難易の原因を探究することは、理論的及び応用的見地から仲々興味ある問題であるが、W. PIGMAN⁽¹¹⁾ は、それは主として纖維素試料の結晶性の大小に基因するもので、試料の重合度などに関係しないだろうという見解を述べた。

筆者等はウスバタケ (*Irpex lacteus*) cellulase の基質に対する特異性の研究の基礎的実験として彼等の観察の一部を追試し、明確な結論を得ようと試みた。従つて実験に当つては、TRAGER, WALSETH 等は試みなかつた種々なる化学的処理をした試料を準備した外に、彼等の場合には特別に考慮されなかつたところの、単なる機械的処理による相異つた形状並に大きさの試料の分解度なども比較検討した。それ等の結果を Table 1 及び Table 2 に掲げる。但し両表に於ける cellulase の強さが異なる為、各試料の分解度を間接的に比較出来るように双方の場合に於て同一条件下の hydrocellulose に対する分解度を掲げた。

両表を見て先ず目につくことは、再生纖維素でも viscose 絹糸のように結晶領域の比較的発達したものは、脱脂綿のような天然纖維素と同様に hydrocellulose や硫酸再生纖維素などの結晶性が相当破壊されたものに比し遙かにその抵抗性が大きいことである。此の点からは確に PIGMAN の見解の如く、纖維素の抵抗性の大小は結晶性の程度に依存していることが認められる。又同じ再生纖維素であり乍ら、viscose 絹糸と cellophane と

Table 1.

Hydrolysis of the Various Cellulose Specimens of Different Forms by *Irpex*-cellulase

Specimens and their form		mg of the sugars (as glucose) found in 1 cc of reaction mixture after 24 hours
Hydrocellulose		1.891
Cotten fiber	I.*	0.049
	II.	0.067
	III.	0.079
Viscose fiber	I.*	0.048
	II.	0.085
	III.	0.100

I. Before crushing. II. Crushed pieces, not passed through the sieve having the holes of 1mm diameter. III. Fine powder, passed through the sieve having the holes of 1mm diameter.

Table 2.

Hydrolysis of the Various Cellulose Specimens*) of Different Degrees of Polymerization by *Irpex*-cellulase

Specimens	Degree of polymerization		mg of the sugars (as glucose) found in 1 cc of reaction mixture after 24 hours	
	Before action	After action		
Hydrocellulose	110	—	0.862	
Cellophane	296	—	0.161	
Regenerated Cellulose with Sulfuric acid	276	226	0.211	
Alkali celluloses after different aging periods	A	670	—	0.125
	B	324	500	0.092
	C	250	—	0.063
	D	200	—	0.064
	E	163	—	0.095
	F	150	—	0.086
	G	142	—	0.089

* 酵素化学シンポジウム、東京(1949)に発表。

** 信州大学繊維学部化学研究室。

*) These are passed through the sieve having the holes of 1mm diameter after crushing.

は径1mm以下の粉末と比較した場合でも著しい分解性の相異を示すことも、その micelle 構造の明らかな相異に起因するものと推定される。併し乍ら天然纖維素にしても viscose 絹糸にしても細い粉末にすると約2倍も分解度が增大する事は、纖維素の酵素に対する抵抗性の大小がその試料の外形的形狀にも相当に支配されることを示すもので、この点は友田氏⁽⁶⁾が耐熱性細菌による纖維素の酵分解試験の場合と同様な結果である。

我々は又従来酵素に対する抵抗性と重合度との関係を明らかにした観察が少ないのに鑑み、この点も明確にする意味で各試料の重合度を同時に測定した（Table 2）。同じ hydrocellulose 系の纖維素でも、比重1.22の塩酸で作ったものと60%の硫酸で作ったものとは、分解度と重合度とは大体逆になつてゐる点、一応之等の間には密接の關係がありそうに考えられるが、併し alkali 纖維素Aなどは重合度の点では cellophane の約2.5倍であり乍ら分解度は殆んど同じであるので、一般的に見て重合度そのものは我々が実験に供した範囲（700~100）では、分解度には直接的関連性はないようである。

尙 Table 2 に於て注目すべきは、alkali 纖維素の場合で、明らかに結晶性が相当失われていると考えられるにも拘わらず、一般に大きい抵抗性を示している。この事實は恐らく alkali 処理による酸化纖維素形成に起因するものと思われるが、⁽⁶⁾此点に就ては更に追求する予定である。

最後に色々御教示を賜つた三輪知雄教授に我々は深甚なる謝意を表する。尙本研究は文部省科学研究費により行われた。

実験の部

[I] 纖維素試料の作製

- (1) 脱脂綿 I：よく乾燥した漂白脱脂綿その儘。
- (2) 脱脂綿 II：I を粉砕機にかけて細粉となし、径1mmの篩の網目を通過しない粗碎物。
- (3) 脱脂綿 III：II を作る際に径1mmの網目を通過した細粉。
- (4) Viscose 絹糸 I—III：脱脂綿 I—III と全く同様な方法で作った試料。
- (5) Cellophane：よく乾燥した市販 cellophane 紙を細粉となし、径1mmの篩の網目を通過させたもの。
- (6) 硫酸再生纖維素：約60%硫酸に脱脂綿を投じ、大体 colloid 状となつた後水にて再生し、充分水

洗し、乾燥粉砕後径1mmの篩の網目を通過させたもの。

- (7) Hydrocellulose：WILLSTÄTTER 等⁽⁷⁾の方法に従い、比重1.22塩酸に脱脂綿を投じ、colloid 状となつたものを水にて再生し、充分水洗して濃厚な懸濁液としたもの。
- (8) 老成纖維素：下記の A—G なる試料はすべて alkali 纖維素の老成中のもので、それぞれ17.8%苛性ソーダ溶液に浸漬した後圧搾粉砕し、適當の時間室温にて放置してから、多量の稀醋酸中に投じ、約1時間後試料を引上げ、充分水洗し、圧搾乾燥し、再び粉砕して径1mmの篩の網目を通過させたもの。
(A) alkali 浸漬4時間後のもの（即ち老成を行わないもの）。(B) 老成1昼夜。(C) 老成2昼夜。(D) 老成4昼夜。(E) 老成6昼夜。(F) 老成8昼夜。(G) 老成10昼夜。

[II] 酵素液の作製

ウスバタケ (*Irpex lacteus*) の麦芽培養液を集めて、適當に低温減圧濃縮し、水道水にて透析し、之を酵素液として用いた。

[III] 反応条件及び測定法

- (1) 反応液の組成及び反応温度：三角フラスコ中に纖維素試料0.500g (hydrocellulose の場合には0.1270g 乾量)、緩衝液15c.c. (0.1M 醋酸—醋酸ソーダ PH 4.0) 及び酵素液5cc を入れ、之に数滴の toluene を添加し、30°の恒温槽中で反応させた。
- (2) 測定法：それぞれの試料の分解度を比較する為めに、反応時間24時間後の生成糖量を用いたが、それは次の如くして算出した。即ち反応時間に伴う分解生成糖を葡萄糖として、SHAFFER—HARTMANN 微量法により時間の間隔をおいて定量し、それぞれの經驗的反應速度恒数 $\frac{\%}{\sqrt{t}}$ (%は分解率、t は反応時間を示す) の平均値を求め、それから逆に24時間後の分解度を計算により求めた。⁽⁸⁾

[IV] 纖維素試料の重合度の測定法

数種の相異つた量の各試料を銅アンモニア溶液に溶解させ、水素ガスを満した OSTWALD 計にてそれぞれの粘度を20°にて測定し、夫等を基にして STAUDINGER⁽⁹⁾ の粘度式 $[\eta_{sp}/c]_{\infty} = Km \cdot P$ ($Km = 5 \times 10^{-4}$) に従い重合度 (P) を求めた。

文 献

- (1) R. WILLSTAETTER u. L. ZECHMEISTER: Ber., **46**, 2401 (1913).
- (2) P. KABRER u. P. SCHBERT: Helv., Chem. Acta, **8**, 797 (1925); **9**, 893 (1926); **10**, 430 (1927); **11**, 221 (1928).
- (3) P. KARRER u. P. O. MANGELLI: Helv., chim., Acta, **12**, 939 (1929).
- (4) P. KARRER: Koloid, **52**, 304 (1930).
- (5) 友田宜孝: 工業化学, **7**, 1304, 1311 (1932).
- (6) H. STAUDINGER and W. HEUSER: Ber., **62**, 222 (1930); **65**, 267 (1932).
- (7) W. TRAGER: Biochem., J., **26**, 1762 (1932).
- (8) 宮本三七郎, 西沢一俊: 陸軍獣医団報, **396**, 778 (1942).
- (9) C. WALSETH: Thesis of Inst., Paper Chem., Appleton, Wisconsin, (1948).
- (10) 長野正満, 礎部守正: 繊維, **5**, 165 (1949).
- (11) W. PIGMAN: The Enzyme, Vol I, Part 2 (1951).

Summary

The enzymatic breakdown of the various specimens of cellulose by the ferment solution obtained from *Irpex lacteus*, was comparatively investigated, in view of the possible correlation between the cleavage of the specimens and their external form, micellar structure or molecular length etc. It was found that the external form and micellar structure of the specimens had the intimate relation to the enzymatic cleavage, while the degree of polymerization of them had no definite correlation to it within 700-100 D.P.. However, the treatment of the specimens with alkali enhanced markedly their resistance against the ferment action in spite of their easily cleavable form and structure.

(Chemical Laboratory, Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University)