

〔醸酵工学 第63巻 第1号 1-7. 1985〕

Penicillium sp. によるリグニンスルホン酸 の除去現象と硫黄の利用性

藤井 貴明・篠山 浩文・本田 洋・大久保純寿
矢吹 稔・宇田川俊一*

千葉大学園芸学部農芸化学科, *国立衛生試験所

Removal of lignosulfonate and use of its sulfur by *Penicillium* sp. TAKAAKI FUJII, HIROFUMI SHINOYAMA, YOU HONDA, SUMIHARU OKUBO, MINORU YABUKI and SHUN-ICHI UDAGAWA* (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Matsudo-shi, Chiba 271; *Mycology Laboratory, National Institute of Hygienic Sciences, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158, Japan) Hakkokogaku 63: 1-7. 1985.

The cell surface of *Penicillium* sp. O-7W grown in a glucose-salt medium containing lignosulfonate as a sole source of sulfur showed a ragged structure. On the other hand, mycelia grown in a medium containing sodium sulfate was smooth. This raggedness disappeared when the mycelia were washed with a dilute alkaline buffer (over pH 9.0). The resultant alkaline filtrate had almost the same IR spectrum as that of lignosulfonate added to the medium except for peaks based on sulfonate residue. The sulfur contents of these samples were 2.35% and 4.96%, respectively. Strain O-7W used α -sulfophenyl acetate, taurine, methionine, and *p*-nitrophenyl sulfate as a sulfur source as well as lignosulfonate. *Penicillium simplicissimum* and *Penicillium janthinellum* could also grow on the lignosulfonate medium and remove lignosulfonate from the medium during cultivation.

リグニンスルホン酸を唯一の硫黄源として生育可能な *Aspergillus* sp. などを含む数種の微生物が分離され、これら菌株の細胞抽出液中に検出されたアリアルスルファターゼ活性とリグニン分子からのスルホン酸残基の離脱反応とのかかわりが報告されている。¹⁾

著者ら²⁾が土壌より分離した *Penicillium* sp. O-7W も、上記の菌株と同様にリグニンスルホン酸を唯一の硫黄源として生育し、同時に本菌株はこれを液中より大量かつすみやかに除去する能力を有することも明らかにされている。このような二つの性質を合わせ持つ微生物については、これまでに報告がなされていないように思われる。

Penicillium sp. O-7W におけるこの除去現象は、予備的に検討した結果より、リグニンスルホン酸の菌糸表層への大量吸着に基づくものと推定されているので、²⁾本報において、この点を菌糸表層の形態学的観察

や培養前後におけるリグニンスルホン酸の各種分析等を行うなどしてさらに確かめるとともに、本菌株による硫黄源の利用性や、分類学上本菌株と近縁関係にある数種の菌株におけるリグニンスルホン酸除去能の有無についても、若干の検討を加えた。

実験材料および方法

使用菌株 *Penicillium* sp. O-7W は、硫黄化合物を制限したリグニンスルホン酸を含有する培地を用いて土壌より分離し²⁾ 保存してあるものを使用した。

Penicillium miczynskii IFO-7730, *Penicillium ochrochloron* IFO-4612, *Penicillium paraherquei* IFO-6234, *Penicillium piscarium* IFO-8111, *Penicillium simplicissimum* IFO-5762 は(財)発酵研究所より, *Penicillium brasilianum* ATCC-12070, *Penicillium cremeogriseum* ATCC-18323, *Penicillium janthinellum* ATCC-10455, 同 ATCC-10482, *Penicillium mi-*

* 国立衛生試験所

czynskii ATCC-10470, *Penicillium ochrochloron* ATCC-12070, *Penicillium piscarium* ATCC-10482 は American Type Culture Collection より分譲を受けた。

また, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* は研究室保存のものを用いた。

使用培地ならびに培養方法 各種培養試験には, 前報²⁾に従って, 塩類はすべて硫酸塩のかわりに塩酸塩のかたちで添加し, これらと1%グルコースを炭素源として含む基本塩類培地に, リグニンスルホン酸等の有機硫黄化合物を必要に応じて加えたものを用いた。

リグニンスルホン酸は市販のコパルチン〔興人〕を蒸留水に対して十分透析したものを用いた。透析リグニンスルホン酸としておおよそ 4 g 相当 (A_{280} nm; 45~50) を基本培地に添加したものを ([S]-LS 培地) 通常の培養に用いた。

供試菌株は, それぞれの培地 80 ml を含む 500 ml 坂口フラスコを用いて 30°C にて往復振とう培養した。

菌株の保存にはポテト・デキストロース寒天 (Difco) あるいは [-S]-LS 寒天培地を用いた。

液中リグニンスルホン酸量の測定 培養液中のリグニンスルホン酸量は 280 nm における吸光度より求めた。³⁾

なお, 前報²⁾に従って調製した透析リグニンスルホン酸標品を凍結乾燥して得られた粉末 1 g を 1 l の蒸留水に溶解したものは, 吸光度 11.7~11.9 を示した。

硫黄の分析 試料中の硫黄含量は高周波プラズマ発光分析装置島津 ICPQ を用いて定量した。

赤外線吸収スペクトルの測定 日本分光 IR-A1 を用いて KBr-錠剤法によって測定した。

電子顕微鏡試料作製法と観察 供試試料は, まず 0.1 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) で十分洗浄したのち, 2.5%グルタルアルデヒド, 1%オスミウム酸で固定し, 50, 70, 80, 90, 95, 100%エタノールを用いて順次脱水し, 最後に 100%酢酸イソアミルアルコールと置換したのち, 臨界点乾燥した。これをアルミニウム試料台に固定後, 金を蒸着して観察試料とした。⁴⁾

試料の観察は, 日本電子 JSM-T 200 走査型電子顕微鏡を用いて行った。

実験結果

分離菌株 *Penicillium* sp. O-7W の菌学的性質とこれと近縁の数種の菌株によるリグニンスルホン酸の

除去作用 分離菌株 O-7W は, 前報での菌学的性質の検討によって *Penicillium* の亜属 *Furcatum* に属する *Penicillium ochrochloron* に近い菌種と推定された。^{2,5)} *P. ochrochloron* は銅イオンに対してきわめて高い耐性を示すという性質が知られているので,^{5,6)} 今回, 各種の標準培地⁵⁾ や 5%硫酸銅を含む培地⁶⁾ を用いて, O-7W 株と *P. ochrochloron* の2種の保存株 (IFO-4612, ATCC-10540) とを比較検討した。その結果, 標準培地での生育や形態に関しては, O-7W 株は *P. ochrochloron* にほぼ一致する性質を示した。しかしながら, 5%硫酸銅培地においては, IFO-4612 株, ATCC-10540 株の両株がいずれも生育したのに対して, O-7W 株の生育は認められなかった。そこで, O-7W 株は *Penicillium* sp. O-7W として以後の実験に供した。

次に, *P. ochrochloron* を含む *Furcatum* に属する 12菌株を [-S]-LS 培地を用いて, 30°C にて90時間培養し, それらの生育, 培養液中からのリグニンスルホン酸の除去能を O-7W 株と比較検討した。その結果を Table 1 に示す。O-7W 株で見出されているリグニンスルホン酸の除去現象が, 本菌と分類学上, 近縁の関係にあると考えられる *P. janthinellum* および *P. simplicissimum* とそのシノニムとされている *P. brasilianum*, *P. piscarium* においてもほぼ同程度の強さで観察された。また, *P. ochrochloron* や *P. cremeo-*

Table 1. Removal of lignosulfonate from a glucose salt medium containing it as a sole source of sulfur by several fungi related to *Penicillium* sp. O-7W.

Strain	Removal of lignosulfonate. (dry cell (ΔA_{280}))	Growth wt. g/l)
<i>Penicillium</i> sp. O-7W	28.7	6.48
<i>P. ochrochloron</i> IFO 4612	14.0	5.04
: : ATCC 10540	16.5	5.78
<i>P. simplicissimum</i> IFO 5762	26.0	6.22
<i>P. brasilianum</i> ATCC 12070	33.4	6.49
<i>P. piscarium</i> IFO 8111	26.0	6.34
: : ATCC 10482	27.4	6.52
<i>P. paraherquei</i> IFO 6234	-1.04	4.44
<i>P. janthinellum</i> ATCC 10455	23.1	5.50
: : ATCC 10482	25.2	6.03
<i>P. cremeogriseum</i> ATCC 18323	14.2	5.11
<i>P. miczynskii</i> IFO 7730	4.70	1.69
: : ATCC 10470	-0.50	1.13

griseum についても O-7W 株と比較すると½程度であったが、リグニンスルホン酸の除去能を有していた。しかしながら、*P. simplicissimum* のシノニムであっても、*P. paraherquei* のように生育のみが認められ、除去能を示さないものも存在した。また、*P. miczynskii* は生育が不良で、除去能もほとんど認められなかった。

数種の糸状菌によるリグニンスルホン酸の除去現象とそれに及ぼす硫酸ナトリウムの影響 研究室保存の未同定なものを含む約20種の *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium* 属の菌株について、[-S]-LS 培地中での生育、リグニンスルホン酸の除去現象について予備的な検討をしたところ、*A. oryzae*, *A. niger* がこの培地中で比較的良好な生育を示した。そこで、この両菌株と前述の実験で特に除去能のすぐれていた *P. brasilianum* について、O-7W 株で特徴的な無機硫酸塩とリグニンスルホン酸除去量との間の関係²⁾ がみられるかどうかを調べた。Table 2 に示すように、*A. oryzae*, *A. niger* はともにリグニンスルホン酸を培養液中よりかなり除去した。しかし、それらの除去量はいずれも硫酸ナトリウムの存在の有無にほとんど影響されなかった。これに対して、*P. brasilianum* については O-7W 株と同様、硫酸塩の存在がリグニンスルホン酸の除去量に大きな影響を及ぼすことがわかった。

Penicillium sp. O-7W による各種有機硫黄化合物の利用性 リグニンスルホン酸分子中のスルホン酸残基は、主にリグニン分子中に存在する基本骨核の一つであるフェニルプロパンの α -位に結合しているといわれている。⁸⁾ そこで、このほかに分子中に炭素—硫黄あるいは炭素—酸素—硫黄結合を持つ数種の有機

Table 2. Effect of sodium sulfate on removal of lignosulfonate by fungi.

Strain	Addition of Na ₂ SO ₄	Removal of lignosulfonate (ΔA_{280})
<i>Penicillium</i> sp. O-7W	—	25.5
	+	12.0
<i>P. brasilianum</i>	—	28.0
	+	17.0
<i>A. oryzae</i>	—	16.5
	+	14.5
<i>A. niger</i>	—	8.0
	+	10.8

Table 3. Use of organic sulfur compounds by *Penicillium* sp. O-7W.

Sulfurous compound	Growth (dry cell wt. g/l)
None	0.6
Lignosulfonate	5.2
α -Sulfophenyl acetate	2.9
Taurine	3.6
L-Cysteine	3.6
L-Methionine	3.6
<i>p</i> -Nitrophenyl sulfate	1.6
Na ₂ SO ₄	3.4

化合物中の硫黄に対する O-7W 株による利用性について検討した。Table 3 は各種硫黄化合物をそれぞれ 0.02% になるように添加した培地を用いて、30°C にて120時間培養し、O-7W 株の生育を調べた結果である。

本菌の生育は調べた6種の有機化合物中、*p*-ニトロフェノール硫酸を用いた場合を除き、他のものはいずれも対照として用いた硫酸ナトリウムの場合と比較して、それと同程度あるいはそれより良好であった。このうちリグニンスルホン酸を用いた場合の生育量は 5.2 g/l と高い値を示したが、前報²⁾ に述べたように菌体に吸着したリグニンスルホン酸量を推定して差し引くと、菌体重量はおおよそ 3 g/l となった。 α -スルホフェニル酢酸はリグニンスルホン酸と同様、フェニル基に対してそれと結合する炭素の α -位にスルホン酸残基が存在することで、その利用性を特に注目して調べたところ、他の硫黄源に比べ、本化合物を用いた場合に増殖速度が若干遅くなったものの、最終的には 2.9 g/l に達する生育が認められた。

なお、これらの有機硫黄化合物を [-S]-LS 培地へ添加した場合、O-7W 株によるリグニンスルホン酸の除去量は、Table 1 に示した硫酸ナトリウム添加の場合と同様、いずれも影響を受け、除去量が減少した。その程度は無添加のときの除去量を 100 (ΔA_{280} , 25) とすると、硫酸ナトリウム添加が 48 (ΔA_{280} , 12) であったのに対して、 α -スルホフェニル酢酸 92、タウリン 75、L-システイン 85、L-メチオニン 64、*p*-ニトロフェニル硫酸 46 であった。

リグニンスルホン酸含有培地に生育した *Penicillium* sp. O-7W の菌体表面構造 基本塩類培地に添加した透析リグニンスルホン酸や硫酸ナトリウムが、菌体表面構造にどのような影響を及ぼすか走査型電子

顕微鏡を用いて検討した。

本菌は、リグニンスルホン酸を唯一の硫黄源とした [−S]−LS 培地において、非常に揃った径 0.5~1 mm 程度のほぼ球形をした濃い黒褐色のペレットを形成した。これに対して、硫酸ナトリウム (100 mg/l) を添加したリグニン含有培地 ([+S]−LS 培地) においては、やや大きめの径 2~3 mm の楕円形状のペレットを形成し、一方、リグニンスルホン酸を含まない硫酸ナトリウムを唯一の硫黄源とした培地 ([+S] 培地) では、一部にゆるくペレット状のものも存在したが、全体と

してパルプ状に生育した。

上述のそれぞれの培地に65時間培養したものから得られた菌体より試料を調製し、それらの表面を検鏡した。[−S]−LS 培地からのペレットは、表面での菌糸の分岐が多く、非常に複雑な菌糸集合体が観察され、菌糸表面は、Fig. 1-a に示すように、しわ状の突起物が無数に生じて粗い形状を呈していた。この構造は、硫酸ナトリウムを培地に添加して培養すると減少し (Fig. 1-c), リグニンスルホン酸を含まない [+S] 培地に生育したものは非常に平滑なものであった (Fig. 1-b)。

また、Fig. 1 には示さなかったが、[−S]−LS 培地に生育した菌体をアルカリ性の緩衝液で洗浄した場合、菌糸表面に観察されたしわ状の構造は消失してしまうことがわかった。

菌体より回収されたリグニンスルホン酸の物理化学的分析 前報²⁾ に述べたように、[−S]−LS 培地に生育した O-7W 株の菌体を弱アルカリ性の緩衝液 (pH 9.0) で洗浄すると、菌体へ吸着したと考えられるリグニンスルホン酸の90%以上が得られた洗浄液中に回収される。そこで、この洗浄液を蒸留水に対して透析したのち、透析内液を凍結乾燥した試料を調製し、これと培地に用いたリグニンスルホン酸の赤外線吸収スペクトル、硫黄含量の比較を行った。Fig. 2 に示すように、[−S]−LS 培地に生育した菌体よりの洗浄液試料と培地へ添加したリグニンスルホン酸との両スペクトルの間の差はほとんどみられず、わずかにスルホン酸残基に基づく吸収を示す⁶⁾ 1260~1150 cm^{−1}, 1080~1010 cm^{−1} 付近の吸収に差が認められた。

高周波プラズマ発光分析による両試料中の硫黄含量の分析結果は、培地リグニンスルホン酸が4.96%、洗浄液試料が2.38%であった。

洗浄菌体へのリグニンスルホン酸の吸着 [−S]−LS 培地で生育した菌体と、硫酸ナトリウムを硫黄源とする [+S] 培地に生育した菌体とについて、それぞれを 0.1 N-水酸化ナトリウム水溶液と蒸留水でよく洗浄し、これらを 50 mM の緩衝液に懸濁して平衡化したのち、一定量のリグニンスルホン酸 (200 mg/100 ml, OD≒25) を添加して静かにかく拌し、この間の液中の 280 nm における吸光度の変化より、洗浄菌体へのリグニンスルホン酸の吸着の有無を調べた (Table 4)。リグニンスルホン酸の吸着は、[−S]−LS 培地に生育したもので顕著で、その量は培養時に液中から菌体へ吸着されると考えられる量のおおよそ30~60%に達

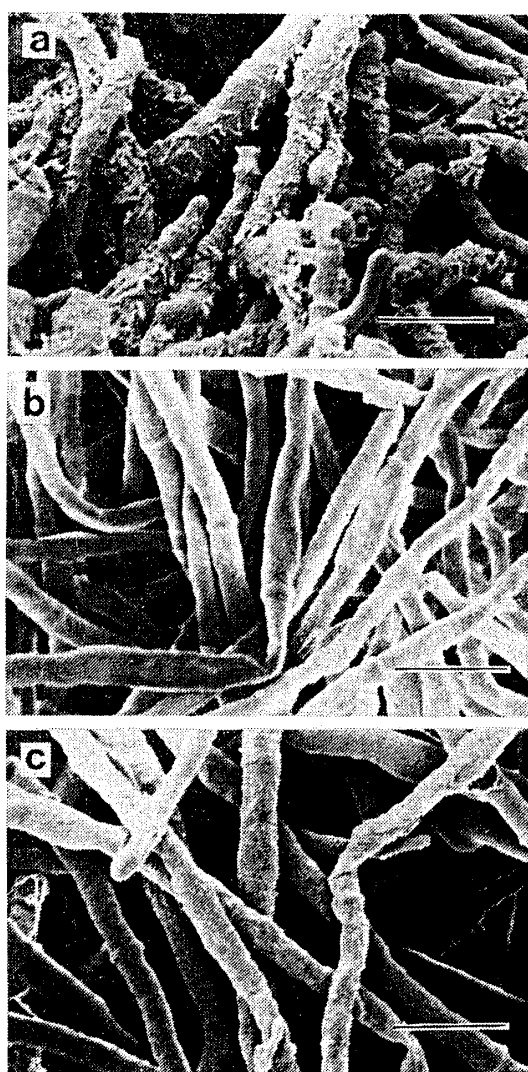


Fig. 1. Cell surface of *Penicillium* sp. O-7W grown in a glucose salt medium containing lignosulfonate and/or sodium sulfate as a sulfur source.

Bars in photographs indicate 5 μm of length.

a, Lignosulfate was used as a sulfur source.

b, Sodium sulfate was used.

c, Lignosulfate and sodium sulfate were used.

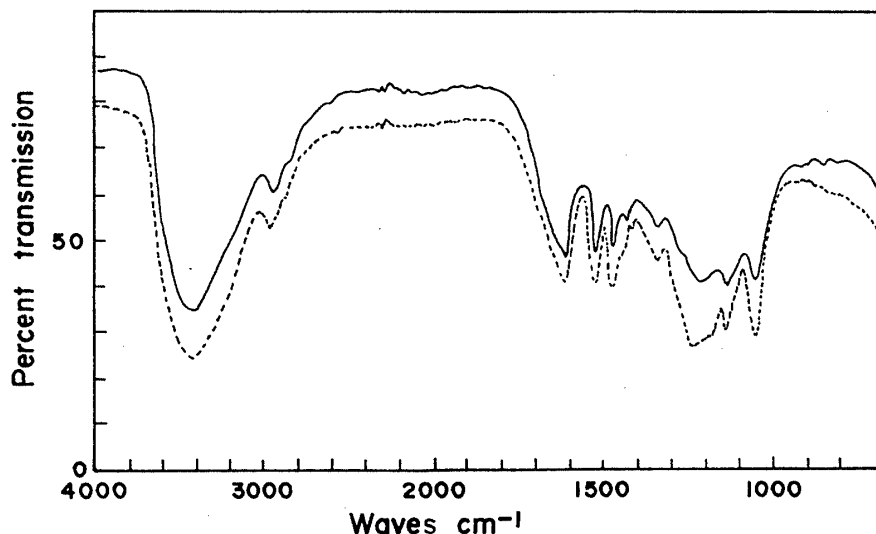


Fig. 2. Infrared absorption spectra of lignosulfonate added to a medium and alkaline filtrate from mycelia of *Penicillium* sp. O-7W grown on it. (—), alkaline filtrate; (---), lignosulfonate added.

Table 4. Absorption of lignosulfonate by washed cells of *Penicillium* sp. O-7W.

Sulfur source for growth	Absorption conditions	Lignosulfonate absorbed (g/g dry cell wt.)
Lignosulfonate	Glycine-HCl (pH 3.0)	0.60
	Potassium-sodium pho. (pH 7.0)	0.29
Na ₂ SO ₄	Glycine-HCl (pH 3.0)	0.21
	Potassium-sodium pho. (pH 7.0)	0.07

した。一方, [+S] 培地に生育した菌体への吸着はほとんどみられないか (pH 7.0), わずかなもの (pH 3.0) であった。

なお, 吸着時の pH は, 別に調べたところ, pH 3.0 のときに液中よりのリグニンスルホン酸の除去が最大であった。また, 吸着量のおおよそ半量は瞬時に, 残りは24時間ほどの間に徐々に洗浄菌体へ吸着された。洗浄菌体の懸濁液への硫酸ナトリウムの添加は, 吸着量にほとんど影響を及ぼさなかった。

考 察

微生物が液中のチオリグニンやリグニンスルホン酸などを吸着除去する現象はすでに知られているが,^{9,10)} 本報に示す *Penicillium* sp. O-7W のように, リグニン

スルホン酸を唯一の硫黄源として生育し, 同時にリグニンスルホン酸を培地より多量かつ速やかに除去する能力を有する微生物の例はこれまでに報告されていないものと思う。*Penicillium* sp. O-7W は形態学的観察等から *P. ochrochloron* や *P. simplicissimum* などに近い *Penicillium* の亜属 *Furcatum* に属すると考えられるが,^{2,5)} これらの近縁の数種の保存株は O-7W 株に匹敵する程度にリグニンスルホン酸を液中から除去した。特に, 調べられたものの中で除去能の最もすぐれていた *P. brasilianum* (*P. simplicissimum* のシノニム) について検討した結果は, O-7W 株と同様, 硫酸ナトリウム添加によってリグニンスルホン酸の除去量が著しく減少する事実も観察された。一方, 手持ちの糸状菌株の中にはかなりのリグニンスルホン酸除去能を有するものもあり (未発表), 本報に示したように *A. niger*, *A. oryzae* による除去量は O-7W 株の1/2程度にまで達した。しかしながら, これら両菌株には, O-7W 株にみられるような硫酸ナトリウムとリグニンスルホン酸除去量との関係は観察されていない。各菌株の分類学上の位置とリグニンスルホン酸の除去現象との相関については, さらに多くの菌株を調べてみる必要があるが, *Penicillium* の亜属 *Furcatum* に属するいくつかの株に O-7W 株と同程度の強さで, 硫酸ナトリウムによって強く影響を受ける除去現象が見出されたことは, 興味ある事実と思われる。

O-7W 株による液中からのリグニンスルホン酸の除去は, これが菌糸体への吸着に基づくものであること

がすでに推定されている。²⁾この点に関して、今回、各種条件下で生育した菌糸表層の走査型電子顕微鏡による観察結果や培地に添加したリグニンスルホン酸と培養菌体から回収されたそれとの赤外線吸収スペクトル、硫黄含量の分析結果の比較より、本菌によるリグニンスルホン酸の液中からの除去現象は、本物質が一部脱スルホン化されるだけでほとんど構造的に変化することなく菌糸表面に吸着するためによると示唆された。また、洗浄菌体を用いた吸着実験より、O-7W 株は硫黄化合物を制限したリグニンスルホン酸含有培地で生育させることによって、これに対する吸着力が増大した菌糸表層を持つようになることも示された。さらに、上記の培養菌体から回収されたリグニンスルホン酸を再び培地に添加して O-7W 株を培養した場合、このようなリグニンスルホン酸は本菌株によってさらに吸着除去されやすくなる事実も観察されている（未発表）。しかしながら、現時点においては、リグニンスルホン酸の除去と硫黄の資化とが直接関係しているのかどうか、また、各種硫黄化合物の存在がリグニンスルホン酸の菌体表層部位への吸着のどの段階に影響しているのかは明らかとなっていない。

一般にリグニンスルホン酸分子中のスルホン酸残基はリグニンの基本骨格の一部であるフェニルプロパン構造の α 位の炭素と炭素—硫黄 (C-S) 結合を形成しており、また、一部には炭素—酸素—硫黄 (C-O-S) のエステル結合を形成しているものもあるといわれている。⁸⁾Steinitz¹⁾ はリグニンスルホン酸を唯一の硫黄源として生育することができる数種の微生物を分離し、これらの微生物のうち *Aspergillus* sp. *Streptomyces* sp. をそれぞれリグニンスルホン酸を含む培地で生育させた場合、それらの細胞中にアリールスルファターゼ活性が増加することを見出し、これより本酵素がリグニンスルホン酸分子中よりの硫黄の資化に重要な役割を果たしていると推定している。しかしながら、リグニンスルホン酸分子中の硫黄が利用されるにあたっては、上述したように本物質は高分子であるうえ、分子量やスルホン化の位置も含有量も一様でないため、実際に微生物によって C-S 結合あるいは C-O-S 結合のどちらの切断に由来する硫黄が取り込まれているのかは解明されていない。なお、Steinitz は分離した 2 種の *Penicillium* sp. についてはアリールスルファターゼの活性が検出できなかったと報告している。本実験に示したように、*Penicillium* sp. O-7W はリグニンスルホン酸のほかに、数種の C-S あるいは C-O-S

結合をもつ低分子化合物を唯一の硫黄源として生育することが認められたので、本菌株にはこれらの結合を切断する酵素の存在が予想される。これまでに本菌株の細胞抽出液中にも、特にリグニンスルホン酸を硫黄源として生育した細胞にアリールスルファターゼの活性が増大する事実を見出している。¹¹⁾しかしながら、リグニンスルホン酸分子中のスルホン酸残基と炭素鎖との結合様式が類似している低分子化合物 α -スルホフェニル酢酸を唯一の硫黄源として生育した細胞中に C-S 結合を切断することができる酵素の存在することは確認できていない。 α -スルホフェニル酢酸は O-7W 株におけるリグニンスルホン酸の吸着現象に対して、硫酸ナトリウムや C-O-S 結合をもつ *p*-ニトロフェニル硫酸のような影響を与えないという結果も得られていることから、今後さらに本物質をリグニンスルホン酸のスルホン基の結合様式に関するモデル化合物の一つと位置づけて検討していくことは意味のあるものと思う。

要 約

リグニンスルホン酸を唯一の硫黄源として生育した *Penicillium* sp. O-7W の細胞表層には著しく粗いしわ状をした構造が観察された。この構造は菌体を希アルカリ性の緩衝液 (pH 9.0 以上) で洗浄すると消失した。一方、硫酸ナトリウムに生育した細胞の表層は平滑であった。培地に添加したリグニンスルホン酸と上記アルカリ性の洗浄液に回収されたものとの赤外線吸収スペクトルは、スルホン酸残基に基づく吸収を示す一部の領域に差が認められたものの、その他はほとんど同じであった。これら両試料の硫黄含量は、それぞれ 4.96% と 2.35% であった。本菌株はリグニンスルホン酸のほかに α -スルホフェニル酢酸、タウリン、メチオニン、システイン、*p*-ニトロフェニル硫酸などを唯一の硫黄源として生育した。 *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium janthinellum* もリグニンスルホン酸を硫黄源として生育し、これを液中より著量除去した。

終わりに、リグニンスルホン酸の分析につき助言をいただいた工技院微生物工業技術研究所主任研究官田中秀興氏に厚くお礼申し上げます。硫黄の分析をお願いした(株)島津製作所、リグニンスルホン酸を分与下さった(株)興人、 α -スルホフェニル酢酸を分与下さった武田薬品工業(株)に深謝いたします。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (No. 58560098) で行われた。

文 献

- 1) Steinitz, Y. L.: *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **13**, 216 (1981).
- 2) 藤井貴明, 片野正明, 本田洋, 安藤昭一, 矢吹稔: *醸酵工学*, **60**, 359 (1982).
- 3) Jayme, G., Pohl, E.: *Papier*, **21**, 645 (1967).
- 4) 大隅正子: 微生物学における電子顕微鏡技術(上), (山田英智, 石川春律, 野々村禎昭) p. 3, 学会出版センター, 東京 (1982).
- 5) Pitt, J. I.: *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talomyces*, p. 235, Academic Press Inc., New York (1979).
- 6) Okamoto, K., Fuwa, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1405 (1974).
- 7) Cross, A. D.: 赤外線吸収スペクトル入門 (名取信策, 千原呉郎) 2版, p. 96, 東京化学同人, 東京 (1968).
- 8) スヨストローム, E.: 木材化学 (近藤) p. 104, 講談社, 東京 (1983).
- 9) 東野哲三, 谷由美, 大野一月: *醸工*, **46**, 569 (1968).
- 10) Fukuzumi, T., Nishida, A., Aoshima, K., Minami, K.: *Mokuzai Gakkaishi*, **23**, 290 (1977).
- 11) 本田洋, 安藤昭一, 藤井貴明, 矢吹稔, 宇田川俊一: 日本農芸化学会大会要旨集, p. 400 (1983).

(昭59. 8. 30受付)