

lus niger のクエン酸発酵において、培養後期に CN 耐性呼吸 (SHAM 感受性呼吸) の比率が高くなることから、この耐性呼吸がクエン酸発酵に関与していることを示唆している。

CN 耐性呼吸の生理的機能や役割はまだ不明であるが、今後詳しく解明されれば、この CN 耐性呼吸が積極的に利用されるようになるだろう。

- 1) Yamasaki, I. *et al.*: *Bull. Agric. Chem., Soc. Jpn.*, 21, 340 (1957).
- 2) Shiraishi, A., Fujii, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 441 (1986).
- 3) Shiraishi, A., Fujii, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 447 (1986).
- 4) Degn, H., Lloyd, D., Hill, A. C.: "Function of Alternative Terminal Oxidases", Pergamon Press (1978).
- 5) Esashi, Y. *et al.*: *Plant Cell Physiol.*, 28, 151 (1987).
- 6) Kirimura, K., Hirawatari, Y., Usami, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1299 (1987).

(福女大・家政・食物 白石 淳)

可逆溶解性固定化酵素

酵素をより効率よく利用するため、酵素を固定化することが行われている。固定化酵素の利点の一つは水に不溶性の状態では酵素反応が行えることであるが、基質が高分子の場合、あるいは基質や生成物が水に不溶性の場合には、反応効率が著しく低下するという欠点がある。これに対して酵素を可溶状態で反応に使い、反応後簡単な操作で沈澱として回収し再利用できる、いわゆる「可逆溶解性固定化酵素」(Soluble-Insoluble Immobilized Enzyme) が調製できれば、上記の欠点は解消され、酵素の利用分野はさらに拡大するものと期待される。

このような酵素標品の調製法としては、pH、温度などの物理化学的パラメーターの変化あるいは金属の付加、除去によって可溶、不溶の両状態をとりうる天然および合成の高分子物質に酵素を共有結合させる方法が報告されている。

酵素結合用の高分子物質としては、アクロレイン-アクリル酸共重合体、ポリメタクリル酸とポリ-N-エチル-4-ビニルピリジンの混合物、ポリアクリルアミド誘導体、アルギン酸、カゼインおよびカルボキシメチルセルロースなどが知られている。

たとえば、カルボキシメチルセルロースナトリウムに水溶性カルボジイミドを用いてリパーゼを共有結合させて得た酵素標品は、カルシウムイオンの添加によって水不溶性となり、EDTA を添加すると再び水溶性となる。水溶性と水不溶性の状態の酵素活性を比較すると、水溶性の方が3~4倍反応効率が優れている。¹⁾

また、ポリメタクリル酸とポリ-N-エチル-4-ビニルピリジンの混合物にペニシリンアミダーゼを共有結合させて得た酵素標品は pH 2.9~5.8 の間で不溶状態となり、2.9以下、5.8以上で水溶性となる。この酵素標品は pH 3.1, 25°C 40分処理すると、もとの酵素が同様の処理で全く活性を失うのに対し、100%活性が残存しており非常に安定である。²⁾

さらに有機溶媒中でも使用が可能な酵素標品の調製を目的に、種々の酵素結合用高分子物質が検索され、メタクリル酸-メチルアクリレート-メチルメタクリレート共重合体 (MPM-06, 田辺製薬製) が見い出された。^{3,4)} MPM-06 に共有結合させて得た酵素標品は pH 4.8 以下で水不溶性、pH 5.8 以上で水溶性となり、水溶性の状態では高分子基質に対しても高い活性を示し、またメタノール、ジメチルスルホキシドなどの有機溶媒にも溶解し安定であった。さらに、MPM-06 に共有結合させたキモトリプシンを用いて、45%メタノール中で反応生成物析出系でのペプチド合成 (Kyo-torphin 前駆体) を行ったところ、反応効率も高く、しかも酵素標品をくり返し利用することができた。

以上のように、可逆溶解性固定化酵素はもとの酵素と固定化酵素の両方の優れた性質を兼ね備えており、今後応用面での発展が期待される。

- 1) 筏, 林: 特開昭62-14782 (1987).
- 2) Margolin, A. L. *et al.*: *Eur. J. Biochem.*, 146, 625 (1985).
- 3) 土佐, 森, 藤村: 特開昭61-265090 (1986).
- 4) Fujimura, M., Mori, T., Tosa, T.: *Biotechnol. Bioeng.*, 29, 印刷中 (1987).

(田辺製薬・生化学 森 孝夫)

原生動物によるバルキングの制御

活性汚泥中の運転管理上の大きな問題点の一つは、糸状性細菌によるバルキングである。その防止対策として、これまでに溶存酸素や BOD 負荷の低下、初沈

汚泥、消化汚泥、鉄塩またはアルミニウム塩の添加、および塩素または過酸化水素の注入が試みられてきたが、これらの方法はあまり効果があるとはいえない。最近、嫌気-好気法によるリン除去が糸状性細菌の増殖抑制にも効果があることがわかった。また、バルキングをひき起こしている糸状性細菌を直接摂食している原生動物が発見され、原生動物を利用したバルキングの制御が注目されている。

バルキングを起こしている糸状性細菌の種類は、国内では Type 021N および I-2 型である場合が多い。そして、これらを摂食している原生動物は繊毛虫類の一種で、*Trochiloides recta*¹⁾²⁾ または、*Trithigmostoma cucullulus*³⁾ であった。

Type 021N や I-2 によるバルキングが起これると、SVI は $600 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$ に達することもあったが、*T. recta* または *T. cucullulus* が増殖するとともに糸状菌が少なくなり、SVI は急激に低下した。そしてその後、*T. recta* や *T. cucullulus* の細菌数も急激に減少した。バルキング汚泥を顕微鏡下で観察すると、これらの繊毛虫類が糸状菌を摂食していることがわかる。繊毛虫類は細胞咽頭籠とよばれる特殊な細胞咽頭小器官を有しており、これは糸状性細菌を摂食する上で極めて都合のよい構造になっている。⁴⁾ 試みに *T. recta* の Type I-2 に対する摂食速度を測定してみると、1細胞当たり $120 \sim 210 \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ であった。これを用いて活性汚泥中の Type I-2 が *T. recta* によって食べ尽くされる時間を試算すると、約1時間であった。²⁾ この計算は活性汚泥中の *T. recta* の最大密度 ($4 \times 10^8 \text{ ml}^{-1}$) および最大摂食速度を用いているので、*T. recta* の摂食速度を過大評価しているが（実際の下水処理場では *T. recta* が出現して1～2週間でバルキングが消滅）、原生動物によるバルキング制御の可能性は評価できよう。

今後、実用化のためには目的とする原生動物の大量培養方法の開発、または活性汚泥内において原生動物をいかにして増殖させるかなど種々の検討が必要である。

- 1) 瀬口、古賀：第20回下水道研究発表会講演要旨集 (1983)。
- 2) Nitta, N., Sakai, Y., Mori, T.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 26, 195 (1987)。
- 3) 橋本：下水道協会誌, 22, 61 (1985)。
- 4) 稲森、国安、須藤：下水道協会誌, 23, 74 (1986)。
(島根大・農・農化 森 忠洋)

多糖類の分解法

最近、天然多糖類を分解して有効利用することが試みられている。その場合、鉍酸、アルカリによって加水分解するか、適当な酵素によって分解することが一般的であるが、木質系バイオマスの前処理法として開発された爆砕法も分解法の一つとして利用できそうである。

爆砕法はカナダで開発され、これまで木材資源の直接飼料化法として種々検討されて来た。¹⁾ その結果、ヘミセルロースやリグニンの大部分が低分子化され、セルロースから分離できることがわかった。たとえば、志水ら²⁾ は各種木質系資源の蒸煮・爆砕処理によって種々の分子量のキシロオリゴ糖混合物を得ている。また、竹村ら³⁾ は爆砕法をキシロースおよびキシロ少糖類の製造に利用している。すなわち、キシランを含む植物性原料を熱水または飽和蒸気で $150 \sim 230^\circ\text{C}$ に加熱し水溶化させた後、工業用セルラーゼを作用させキシロースおよびキシロ少糖類を製造する方法を開発した。

キシロ少糖類の調製法については、たとえば、阿部ら⁴⁾ はキシランに *Bacillus* 属由来のキシラナーゼを作用させ、キシロビオース、キシロトリオースおよびキシロテトラオースの混合物を製造する方法を開発している。また、田子山ら⁵⁾ はラーチウッド他数種の植物資源からアルカリ抽出したキシランに各種微生物由来のキシラナーゼを作用させ、キシロビオースを製造する方法を開発している。これらの製造法には高分子量のキシランが原料として用いられているが、木質系バイオマスからキシランを抽出し酵素分解することは経済的にかなり難しいと思われ、先に紹介した竹村らの方法のように、爆砕によりキシランを分解して水溶性オリゴ糖としてからキシラナーゼを作用させるといった工夫が必要と思われる。

天然にはヘミセルロースに限らずセルロースを始め各種の多糖類があり、それらを適切な方法で低分子化できれば、それをもとに有用物質の開発が展開できると思われ、多糖類の分解の一手段として爆砕法を利用するのも面白いであろう。

- 1) 滝川：農林水産業研究発表会要旨, p. 50 (1984)。
- 2) 志水ら：第29回リグニン化学討論会要旨, p. 63 (1984)。
- 3) 竹村ら：特公開昭61-285999。