

ペクチン質分解酵素

中 浜 敏 雄

TOSHIO NAKAHAMA: Pektolytische Enzyme

要旨: ペクチン質分解酵素の性質や作用について、現在までの報告による知見を次のような項目に従って説明した。

- I ペクチン質
- II ペクチン質分解酵素概要
- III ポリガラクトナーゼ (PG)
 - A 糖化型 PG と液化型 PG
 - B 糸状菌の PG
 - (1) 糸状菌の糖化型 PG について
 - (2) 糸状菌の液化型 PG について
 - (3) 糸状菌の PG 酵素製品について
 - C 酵母の PG
 - D 細菌の PG
- IV ポリメチルガラクトナーゼ
- V トランスエリミナーゼ
- VI ペクチンメチルエステラーゼ
- VII マセレイションという問題
- VIII ペクチナーゼの利用

I ペクチン質 (Pectic substances)

ペクチン (pectin) とペクチン酸 (pectic acid) とを総称してペクチン質とよび、それらの主要構成単位は D-ガラクトン酸 (D-galacturonic acid) である。ペクチン酸ではペクチン酸鎖をなす D-ガラクトン酸のカルボキシル基は全部、またはほとんど全部が遊離しているが、それがある程度以上メチルエステル化されるとペクチニンと呼ばれ、ペクチンはそのうちでジェリーを作る性質を示すものをいう。

ペクチン質に関する研究はかなり報告¹⁻³⁾ されているが、今日なお解明されない分野も少なくない。それはペクチン質の基本骨核をなすペクチン酸の化学構造がすでに確定されたものでなく、またペクチンやペクチン酸の構造追究に必要な酵素系が多様性であり、しかも不明な多くの疑問を含んでいるからである。

構成単位をなす D-ガラクトン酸は互いに α -、(1

-4) 結合により、多数連結して中軸的骨核をなすが、DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーなどにより均質となったペクチン酸でも、L-アラビノース、D-ガラクトース、L-ラムノース、D-キシロースなどの中性糖類を含有することが指摘^{4, 5)} され、ペクチン質は D-ガラクトン酸のみから構成される単純多糖類ではなく、これらの中性糖類を含む複合多糖類であると推察されている。

その非ウロナイドの糖が、ペクチン酸鎖の主軸のなかに存在するか、側鎖に存在するかは、ペクチン質の化学構造の上で重要な問題であり、これらに関連して Jansen⁶⁾らのペクチン酸の methanolysis による研究や、Palmer⁷⁾らの X線回折法による研究などが行なわれているが、今日のところ明確な決定は下されていない。

畑中^{8, 9)}らは *Saccharomyces fragilis* の生産する酵素を、培養液から精製してペクチン酸に作用させ、その

分解生成物を DEAE-セルロースによるクロマトグラフィによってオリゴウロナイドと中性多糖類とを分別した。オリゴウロナイドについては重合度の6以下のものなら相互に分離することは容易であるが、7以上では重なりあって分離が困難であるという。分解生成物のうちの酸可溶性酸性多糖類は多量の中性糖類とガラクトン酸とを含む多糖類であり、これはペクチン酸試料中の混入不純物ではなくて、グループをなしてペクチン酸の構成部分をなしているものであり、その多糖類のなかで、アラビノースとガラクトースとは、それぞれアラバン、ガラクトンの形で存在すると畑中らは推察している。

梶^{10,11}らの植物組織のマセレーションに関連するアラバナーゼの研究も、今後のペクチン酸の構造解決への研究に貢献するところ少なくないであろう。

純化学的な方法では、ペクチンのコンホーメーションを追究する平野らの報告¹²がある。

植物組織の靱皮部やその他の組織に存在する水に不溶性のペクチンはプロトペクチンと呼ばれる。シュウ酸アンモニウムで加熱したり、Schweizer の試薬で処理すると抽出することができるが、こうして得られたものはもとのプロトペクチンそのものではなくて、たとえばカルシウムなどの金属によるペクチン鎖相互の連絡が切れたり、その外、部分的な変化が起っていることが想像される。つまり抽出されたプロトペクチンは、水溶性のペクチンとは異なるものではあるが、植物組織内に存在しているときのプロトペクチンとは必ずしも同一ではない。もちろん植物体からとり出されたプロトペクチンは、その植物体に含有されているプロトペクチンに最も関係の深い化学構造を有していることは容易に推察される。

種類の異なる数種の植物体中に存在するプロトペクチンに、そのまゝの状態細菌のペクチン質分解酵素を作用せしめると、植物の種類に対して、酵素の作用が選択的¹³であることから、それぞれの植物体中に存在するプロトペクチンについて、少なくとも化学的性質または物理的状态が同一でないことが想像される。さらに植物体から抽出して、注意深く精製されたペクチン酸についても、植物の種類や組織の違いによって、同一のものではないことが立証されるような結果が報告¹⁴されている。

今日ペクチン質の解明のためには、抽出された可溶性のペクチン、あるいはさらに構造的に多少とも理解されやすい、ペクチン酸を対象に研究は進められている。すなわち、Byrdeらのように、マセレーションの対象にあくまでプロトペクチンを考える研究者もある

が、一般にはプロトペクチンとか、その分解酵素たるプロトペクチナーゼという問題は一応後廻しにされて、ペクチン酸やペクチンについて検討されている。これは前述のようにペクチン質そのものが、まだ明確に解明されておらず、その基本体の解決が先決であり、また普通には、ペクチン酸を分解する酵素が、マセレーションの主役と考えるべきであるから、研究過程として当然の傾向ではあるが、植物の種類によってプロトペクチンの性状が異なるのは、ペクチン酸の性質が植物の種類によって一定しないことだけに、原因するものではない。たとえば、ペクチン酸が精製された単一酵素によって分解されるのと同じ調子に、また同じ程度に、植物組織内のプロトペクチンが、単一酵素によって分解されるものとは限らない。ことに繊維植物の繊維束内の単繊維を互いに膠着するプロトペクチンの分解は、酵素の多元性において初めてみられる場合が少なくないようである。

以上の次第で、こゝしばらく研究報告誌上を賑わすことのなかったプロトペクチンについて、いさゝか言及しておきたいと思う。

プロトペクチンの化学構造については、研究者によりいろいろの推定¹⁵がほどこされている。たとえばペクチン酸の遊離のカルボキシル基が、カルシウムまたはマグネシウムと不溶性塩をなし、それがまたアラバンと結合した化合物であるとする説 (Ehrlich)^{16~18}、ペクチン酸カルシウムやマグネシウム塩が重合した形であるとする説 (Smolénsky)¹⁵、ペクチン鎖のカルシウムやマグネシウムによる二次的連結を推察する説 (Norris)⁹、ペクチンが重合したカルシウム、鉄などとゆるい結合をなして存在しているものであると考える説 (Norman)²⁰、繊維素とペクチンの化合物と考える説 (Sucharipa)¹⁵、繊維素が植物体中で変化してプロトペクチンになるという考えに基づき、その中間物がプロトペクチンであるとする説 (Schneider)²¹、プロトペクチン (プロトセルロース) に蛋白質の存在を考える説 (Dauphine)¹⁵などがある。しかしいずれの説も完全な立証を伴うものではなく、たとえば Smolénsky の実験的証明にも不備があり、Dauphine の説には確実な実験的根拠がない。Sucharipa の実験結果は、Emett²²らの結果と一致しない上に Schneider の説と共に普通の分子構造としては納得しがたいものがある。

Kertesz^{23~25} も Henglein²⁶ もペクチン鎖のカルボキシル基に結合するカルシウムやマグネシウムによって相互の橋渡しが行われて二次的構造をなすものと考え、Kertesz はその分子の巨大形とセルロースとの結

合がプロトペクチンの不溶性の原因であるとし、このペクチン鎖とセルロース鎖との結合は Van der Waals によるものと推察しており、また Henglein は次の構造の組み合わせのような複雑な状態をプロトペクチンにあてはめている。

1. Kertesz と同様にペクチン鎖のカルボキシル基に結合するカルシウムやマグネシウムの橋渡しによる二次的構造
2. 相互のペクチン鎖中の水酸基の一部が、共通のリン酸とエステル結合することによる相互のペクチン鎖の連結
3. リン酸エステル結合による橋渡しの間へカルシウムやマグネシウムなどの金属が割り込んでくる可能性
4. アラビノースなどの中性糖類がペクチン鎖のなかへのわり込む
5. ペクチン鎖とセルロース鎖との間にもリン酸による橋渡しと、Van der Waals による結合との存在

なおこの外、甜菜のプロトペクチンではペクチン鎖の水酸基の一部がアセチル化されているという。

Joslyn²⁷⁾は次のようにプロトペクチンを構成する炭素間の結合を推定している。

(A) 主軸について——

1. ガラクツロン酸の C₁と C₄のグリコシド結合により直鎖または環状鎖をなす。
2. C₆のカルボキシル基は遊離状態のもの、メチルエステル化をなすもの、アラバンやガラクタンなどの多糖類とエステル様結合をなすなどの状態にある。
3. C₂と C₃の水酸基は普通遊離の状態に存在するが、部分的にアセチル基によるエステル結合、多糖類やリグニンなどとエーテル結合などをなす可能性もある。

(B) 側鎖について——

主軸のなかの水酸基と結合して枝分れを生じる。

(C) 主軸、側鎖に共通——

非ウロナイド結合は主軸、側鎖の両者に介入する。

プロトペクチンの不溶性は、主としてカルシウムイオンやマグネシウムイオンなどで鎖軸相互の橋渡しによる結合に起因するものと思われる。そのためシュウ酸アンモニウムや EDTA 溶液によってこれらの金属を取り除くとプロトペクチンは可溶性となる。酵素や稀酸による可溶化はその鎖軸を適当に切断して小分子

に分解し、同時にカルシウムやマグネシウムも除去されるために起る現象と考えられる。

以上の諸説はプロトペクチンに対して、ペクチンと他の有機または無機の物質との化学的あるいは物理的結合を考えたものである。これに対し、プロトペクチンは本質的にペクチンと同一のものとする説もある。すなわち、細胞膜や組織中の他の物質に何らかの物理的条件のもとに強く吸着されている状態のもので、このプロトペクチンを水解すれば、可溶性ペクチンとして分離されると考える説である。これも否定すべき根拠はない。

一方また若い組織の中間層には、可動性を示すペクチン質が可塑状に存在するが、細胞が生長するにつれて変化が起り、細胞間の物質は必ずしも全部ペクチン性のものでなくなり、いわゆるリグノ化されて細胞は固定してくるという考えもある。

Nanji²⁸⁻³⁰⁾らは植物体内のペクチンの存在の状態を次のように区別している。

1. 水によって抽出されるものを遊離のペクチンと考える。
2. 0.5% シュウ酸溶液で抽出されるものを、遊離のペクチンとプロトペクチンの混合体と考える。この場合プロトペクチンとはメチル基を有するペクチンの重合体で、部分的に金属とゆるい結合をしているものと考えられている。
3. 0.5% シュウ酸アンモニウム溶液で抽出されるもので、遊離のペクチン、ペクチン酸塩、プロトペクチンの混合体と考える。

プロトペクチンと称せられるものは、必ずしも同一の性質を示すものではない。これはプロトペクチンとして推定されているものが、厳密には同一物ではなくて、相互に若干の相違があり、その相違は植物の種類や存在個所や年齢の相違によると考えることもできるし、あるいは本質的には同一のものであるが結合状態を異にするのであるとの推察も可能であり、また不純物の影響を想像する考えも否定できない。

さらにプロトペクチンとペクチンとの構造上の差は、単に推定の域を出ない状態である。のみならずペクチン酸の化学構造さえ不明の分野や未解決の問題が残されている。従って組織のマセレーションや繊維の精練の目的でペクチン質分解酵素を利用する場合は、対象が植物組織中のペクチン質であるにかかわらず、前述のようにプロトペクチンについての検討は普通暫時後廻わしにされ、今日の研究は植物体から抽出して精製したペクチン酸、またはペクチンに主として向けられている次第である。

植物細胞壁のペクチンの代謝^{31,32)}は、植物ホルモンたるインドール酢酸によって調節される。すなわちインドール酢酸は細胞壁の可塑性をコントロールし、それによって植物の成長の率を調節する。

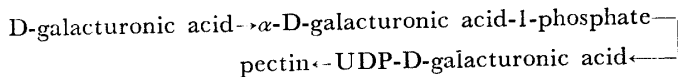
これに関して Albersheim³³⁾らはオート麦子葉を用いて研究を行った。その報告によればインドール酢酸の存在においてグルコースは水溶性ペクチンのガラクトツロン酸ラジカル³⁴⁾のなかへはとり込まれるが、温水不溶性ペクチンのガラクトツロン酸ラジカルへはとり込みが行われない。つまりインドール酢酸は水溶性および温水不溶性のペクチンの量的バランスを支配する。また一方、インドール酢酸の作用として不溶性ペクチンを消費して水溶性ペクチンを生成する。こうしてペクチンへの重合が行われながらも、水溶性、不溶性の2つのペクチンのタイプを量的に調節する。

一方ペクチンのメチルエステルの部分は、インドール酢酸の存在のもとで、transmethylationによりメチオニオン³⁵⁾から誘導されて生じる。ガラクトツロン酸が重合して後にエステル化が起るのか、またはガラクトツロン酸のエステル化が先で、その後重合がおこるのかは問題である。ともかくその二様の化学変化に対するインドール酢酸の効果は平行的である。

Albersheim³⁶⁾はミオイノシトールもグルコースのように、ペクチンのガラクトツロン酸ラジカルにとり込まれることを証明した。すなわち、ミオイノシトールが酸化的に分裂を受けてガラクトツロン酸となり、ついでウリジン・ジホスヘイト・ガラクトツロン酸 (UDP-D-Galacturonic acid) としてペクチンの前駆物質となると推定した。

Kessler³⁷⁾らは Mung bean 中で D-ガラクトツロン酸や D-グルクロン酸からペクチンやヘミセルロースが形成される経路を推察した。そのうち D-ガラクトツロン酸からペクチンへの経路は次のように考えている。

ペクチンの生合成 (Kessler)



ペクチン酸の分解代謝の経路^{38~43)}としては、D-ガラクトツロン酸を経由 (ポリガラクトツロナーゼによる) するか、または 4-デオキシ-5-ケト-D-グルクロン酸 (トランスエリミナーゼによる) を経由するか、何れか³⁸⁾の中間体を経て結局 2-ケト-3-デオキシ-D-グルクロン酸を生成し、これが ATP のエネルギーを受けて 2-ケト-3-デオキシ-6-ホスホ-D-グルクロン酸となり、次いでこれが 3-ホスホグリセリンアルデヒドとピルビン酸に分解される。

その両者とも EMP のメンバーでやがて TCA 回

路へ入り得る中間体である。

II ペクチン質分解酵素 (Pectolytic enzymes)

植物組織のなかのプロトペクチンが可溶化されると組織の崩壊が起り、マセレーション (Maceration)⁴⁴⁾の現象となり、あるいは植物繊維原料の精練^{45~49)}が達せられる結果となる。

Davison⁵⁰⁾らはプロトペクチンを加水分解して可溶化するプロトペクチナーゼ (Protopectinase) のほかに、ペクチナーゼ (Pectinase)、ペクターゼ (Pectase) の合計3種を、総合的にペクチン質分解酵素とした。ところが、そのプロトペクチナーゼという特別な酵素の存在に対する明確な実証が得られないために、今日ではペクチンやペクチン酸に対する分解酵素系をペクチナーゼと総称するに至った。

この酵素系においては、ペクチン酸の主要な構成単位であるところの D-ガラクトツロン酸相互の α -、(1-4)、グリコシド結合を切断する酵素を主体と考え、基質がペクチン酸の場合はこれをポリガラクトツロナーゼ (Polygalacturonase, PG) と呼び、また基質がペクチン⁵¹⁾の場合はこれをポリメチルガラクトツロナーゼ (Polymethylgalacturonase, PMG) と呼んでいる。

そのほか、鎖軸内の D-ガラクトツロン酸メチルエステルのメチル基を遊離してペクチンをペクチン酸に導くべきペクチンエステラーゼ (Pectin esterase, PE) もペクチナーゼに包含して考えられる。ペクターゼと呼ばれる酵素はペクチンエステラーゼのことである。

従って植物組織の崩壊は、一般に PG、ことにペクチン酸鎖の内部を at random に切断してその粘度を低下させる型のもの、またはこれと PE との協力作用が考えられ、或いは PMG の作用によって起るもの⁵²⁾と考えることができる。たゞしペクチンのグリコシド結合を直接に切断する PMG の存在は、今日なお明確には実証されていないので、ペクチンに対する加水分解作用については、PE の関連のもとで PG の作用が検討されている。

さらにペクチン質の分解にあたり、残基末端のガラクトツロン酸に構造上特殊の変化を伴いながらグリコシド結合を切断するトランスエリミナーゼ (Transeliminase, TE) も、広義におけるこの酵素系のなかへ含めて考えることができる。

さらにこの酵素系に関係ありと想像される問題として、たとえばアラバナーゼなどのように、ペクチン質の一部を構成する中性糖類の結合を切断すべき酵素の作用について研究¹⁰⁾が進められている。

以上のようなペクチン質分解酵素についての概説は既に幾度か試みられてきたが Kertesz²⁵⁾ 以後新しい知見も明らかにされ、最近は梶⁵¹⁾や畑中⁴³⁾らの記載が見られる。

このような知見をもとにペクチン質分解酵素系に含まれる各酵素を大別すると以下のようである。

Pectinase

(1) Polygalacturonase (PG)

- a) Endopolygalacturonase (endo-PG)…液化型 PG ペクチン酸を at random に切断するグリコンダーゼ
- b) Exopolygalacturonase (exo-PG)…糖化型 PG ペクチン酸鎖の非還元末端からガラクトツロン酸を分離して進むグリコンダーゼ

(2) Polymethylgalacturonase (PMG)

ガラクトツロン酸がメチルエステル化している場合に、鎖軸の $\alpha(1-4)$ 結合を切断するグリコンダーゼ

(3) Pectin esterase (PE)

ペクチンのメチルエステルを加水分解して、ペクチン酸とメチルアルコールを生産するエステラーゼ

(4) Transeliminase (TE)

a) Pectic acid transeliminase (PATE)

b) Pectin transeliminase (PTE)

リアーゼの一種でペクチン酸やペクチンの $\alpha(1-4)$ 結合を非加水分解的に切断して、二重結合を生ずる。

III ポリガラクトツロナーゼ

(Polygalacturonase, PG)

A 糖化型 PG と液化型 PG

ペクチン酸鎖の α -, (1-4), グリコシド結合を加水分解する酵素で、基質のなかの多数のカルボキシル基のメチル化が進んだポリメチルガラクトツロン酸には作用しない。その鎖軸のなかに存在するメチル基が PG の作用に与える影響については Jansen⁵²⁾らの報告がある。

植物界では PG はトマト⁵³⁾やにんじん⁵⁴⁾の抽出物に存在し、Mac Donnell⁵⁵⁾らによればトマトには存在するが、オレンジには存在しないと報告している。

微生物界では糸状菌に最も普通に発見されるが、酵母や細菌からも取得され、今日かなり純粋に単離された PG についての研究が進められている。

この酵素は作用上の違いから次の2種類に分けて考えられている。即ちその一つはペクチン酸鎖を非還元性の末端から切断して D-ガラクトツロン酸を遊離する糖化型酵素で、エキソポリガラクトツロナーゼ (exo-PG) と呼ばれる。

exo-PG の作用を検討するに当っては、endo-PG を初め他のペクチン質分解酵素の混入を避けなければならない。

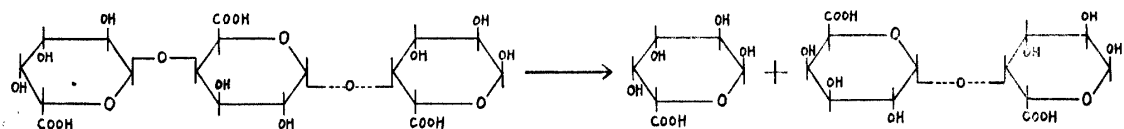
畑中⁵⁶⁻⁵⁷⁾らにはにんじんに存在する PG が、exo-型ばかりで endo-型を含まないことを見出し、この酵素によってペクチン酸を分解する場合、非還元性末端から逐次グリコシド結合の切断は進むが、終局において完全には分解しないで、反応が途中で停止することを認め、その原因は主としてペクチン酸鎖の中軸のなかに若干の中性糖類の存在を考え、さらに基質調製中に生じる 4, 5 不飽和ガラクトツロン酸にも関係すると推察している。

この際、分子量の大きいペクチン酸よりも、オリゴガラクトツロン酸のほうが速やかに分解⁵⁴⁾され、その分解の限度も大きい。また起源を異にするペクチン酸の分解限度が次のように相違することを実証⁵⁸⁾した。

exo-PG によるペクチン酸の分解限度 (畑中ら)

ペクチン (起源)	分解率 (%)
柑 橘	48.9
オレンジの果皮	52.1
にんじんの根	51.3
ラミーの製皮	56.1
大麻の樹皮	12.7
桃の果肉	6.7

exo-PG に対して、エンドポリガラクトツロナーゼ (endo-PG) は、ペクチン酸のグリコシド結合を at random に切断して、その粘度を急速に低下せしめる液化型の酵素である。その切断のためには、両隣りのガラクトツロン酸のカルボキシル基が双方とも遊離していることが必要で、一方でもメチルエステル化していると、その間の結合は切断されにくい。従ってこの酵素はペクチンには作用しない。なお、にんじんの PG



第 1 図

が糖化型であるのに対し、Patel⁵⁹⁾らによればトマトの PG は液化型で、ジガラクトン酸を分解する区劃と、その能力のない区劃とがあるという。

B 糸状菌の PG

糸状菌には強力な PG 作用を示すものが多いが、糖化型と液化型とが同時に生産されるので、純化がかなり困難とされてきた。ペクチン酸鎖のグリコシド結合の分解は exo-PG によれば相当に進むのに対して、endo-PG の場合は前者ほどには進まない。また exo-PG による分解率はペクチン酸よりも、精製されたオリゴウロニドのほうが大であるが、McCready⁶⁰⁾らの報告によると、糸状菌の PG によってペクチン酸が加水分解される場合、ペクチン酸鎖のガラクトン酸残基数が 10~200 の間のペクチン酸では、分解の割合は変わらないけれども、トリまたはジガラクトン酸が分解される割合は、わずかに 5% にすぎないという。

(1) 糸状菌の糖化型 PG について

ペクチンエステラーゼを用いるか、または低温で緩やかにケン化して調製したペクチン酸に対しては、糸状菌の exo-PG はにんじんの場合と違ってほとんど 100% に、そのグリコシド結合を切断する報告^{61~63)}がある。

しかし糸状菌の exo-PG の酵素標品には、同じ菌が同時に生産する endo-PG が含まれていることが多い。わずかの endo-PG の混在でも、大きな影響が想像されるから、exo-PG の分解作用を検討する際は特別の注意のもとに endo-PG を除去する必要がある。前述の小沢⁵⁸⁾らのにんじんの exo-PG によるペクチン酸の分解結果は、この点に指示を与えるものでもある。

斎藤⁶⁴⁾らは *Aspergillus niger* の生産する PG 混合体について、endo-PG から exo-PG を分別した。もっとも高度に精製純化されたものではないようである。

Brooks⁶⁵⁾らは *Asp. foetidus* の抽出液から、exo-PG を取得した。この酵素調製品は enzyme II または fraction 7⁶⁶⁾と呼ばれ、トリ、およびジ、ガラクトン酸を加水分解する。*Asp. foetidus* の PG に対する Ayres 一派による仕事でも、ジガラクトン酸を分解する exo-PG と、Enzyme Ib と呼ぶ endo-PG とを分割している。

小沢⁶⁷⁾は *Penicillium expansum* の菌糸抽出液から exo-PG を得て検討している。

Mill⁶⁸⁾により *Asp. niger* の菌糸の抽出物から分離された exo-PG は、ペクチン酸やオリゴウロニドに作用して、末端のガラクトン酸を遊離するが、この場合、調製されたオリゴマーが完全に分解されるの

に対し、ペクチン酸の分解はある程度の制御を受ける。この現象は鎖軸の末端の状態に関係ありとして理解される。このことについては後述する。Mill の exo-PG 調製品は、実は 2 種の exo-PG の混合体と考えられる。その一つは作用の至適 pH を 4.6 とし、他の 1 つは 5.0~5.1 とする。pH の安定性やその他の性質にもや、相違がある。そのうちでも興味ある相違は、前者の特性として水銀イオンで賦活され、実験的には水銀イオンが全然存在しないと活性を示さない。生体内では考えられないことであるから、おそらく細胞内では特殊の構造の状態で活性を示すが、抽出されるとその条件が失われ、それが水銀イオンの存在によって復活される推察の可能性がある。exo-PG 混合体の他の一つについては、その作用に水銀イオンの存在を必要としない。また後者の作用活性がキレート剤で阻害されないことから、後者は前者に水銀イオンが含まれたものと解釈することは困難である。しかし両者の間には構造的に何らかの関係があるのか、あるいは全く別の酵素と考えるべきか、いずれの推察にも根拠がない。また Mill の報告によっても、ジガラクトン酸に対して endo-PG は作用を示さないが、exo-PG において明らかな作用が認められる。

遠藤⁶⁹⁾は強力な endo-PG を生産する *Coniothyrium diplodiella* の酵素混合体から exo-PG をとり出し、共存する endo-PG や PE から分離して、電気泳動的に均一なまでに精製した。この酵素調製品はペクチン酸鎖の端からガラクトン酸を遊離し、またペクチンにはほとんど作用しない。作用の至適 pH は 4.0~4.5、endo-PG より熱に安定で、pH 3.5~6.0 において 50°C ではおかされない。たゞし 55°C を越えると不活性化する。

(2) 糸状菌の液化型 PG について

斎藤^{64,70)}は *Asp. niger* 近縁の菌株の振とう培養から、2 つのタイプの PG をかなり純度の高い状態で取得した。その一つの endo-PG を depolymeric galacturonase (DPG) として、紙パルプを使ったカラムクロマト法によりほかの酵素と分離した。この酵素調製品はペクチン酸から最終生産物として、トリ、ジ、ガラクトン酸、およびモノマーとしてのガラクトン酸を生産するが、後述の Yeast-PG (YPG) と同様にトライマーに対する加水分解作用は非常に緩慢で、そのためトリガラクトン酸が生産物の一つとして残るのであると推察される。

斎藤の *Asp. niger* 近縁株の深層培養において、培地はペクチン質が存在しなくても endo-PG は生産⁶²⁾される。Tuttobello⁷¹⁾らは *Asp. niger* の endo-PG が

構成的に生産されることは是認したが、培地にペクチンを添加しておく、培地中に蓄積される endo-PG の量が著しく増加するのを認めた。またこの場合、培地の炭素源を蔗糖だけに依存すると、培養液に生産される酵素がペクチン酸鎖を開裂する程度に限度があるが、ペクチンを添加しておく、生産される酵素は完全にこれを分解する。斎藤は培地にペクチンを添加しておくことにより、ガラクトロン酸のモノマーが、より多く生産されることから、endo-PG のみならず同時に exo-PG も生産されるようになることを推定している。

こゝに斎藤の分離した菌株は *Asp. niger* に関係の深いもので、conidia の色や大きさの点や、亜硝酸を資化しないことなど *Asp. niger* とよく類似するが、その成熟した conidia の表面の状態から *Asp. niger* と区別⁷²⁾して *Asp.saitoi* IAM 2217 としてとり扱われる。

山崎⁷³⁾らは *Asp. saitoi* の培地組成と、生産される endo-PG の活性についてさらに検討を進めている。それによるとコーンステープリカー、コブラミール、大豆粕のような有機窒素源を培地に使用すると endo-PG の活性が減少する。このことはアミノ酸が、細胞外酵素の生産を制御するといわれる現象と一致する。一方、Tuttobello らが培地に粉末ナット、コーンステープリカー、大豆粉、肉汁などを *Asp. niger* の培地に添加すると、endo-PG の活性が著しく増大するという報告とは逆の結果を示している。endo-PG の生産のために、最も効果的な培地の炭素源および窒素源の組成として、蔗糖4.0%、ペクチン2%、NaNO₃ 1.15%、C/N=10 があげられている。

Mill⁷⁴⁾らは *Asp. niger* の酵素を電気泳動で均一性を示す純度に精製した調製品がペクチン酸鎖を at random に切断して、ペクチン酸の粘度を急激に低下し、pH 6.0 付近で安定であることを認めた。またその作用機作について、ペクチン酸鎖の一番端と二番目の間のグリコシド結合は、前者の影響を受けて決して切断されることがないことは *Sacch. fragilis* の endo-PG とよく似ているが、そのすぐ次のグリコシド結合の切断に対し、酵母の酵素は末端のウロナイドから拘束を受けないのに対し、*Asp. niger* の endo-PG は若干制御を受ける点で両酵素の性質に差が認められる。

山崎⁷⁵⁾らは *Asp. saitoi* の酵素と硫酸分別、アムブライトおよびセフアデックスなどのクロマトグラフィの組み合わせによって、超遠心的にも電気泳動的にもほとんど均一な酵素を得た。この調製品は sodium pectate の粘度を急激に低下し、ペクチンよりもペクチン酸に強く作用し、その作用による生産物の検討か

らペクチン酸鎖を at random に切断することが推察され、またジガラクトロン酸を分解しないからガラクトロニダーゼ (galacturonidase) 活性が無いことが推定され、典型的な endo-PG であると考えられる。作用の至適 pH は4.8~5.0、至適温度は 45°C、安定 pH の範囲は4.0~6.0で、これらの点は Mill らの *Asp. niger*⁶²⁾の endo-PG と似ている。しかし *Asp. saitoi* の endo-PG がペクチン酸のグリコシド結合を60%も分解するのに対し、Mill の *Asp. niger* の endo-PG は50%以上は分解しない。

一方、*Sacch. fragilis* の endo-PG (YPG)⁷⁶⁾と比較すると YPG よりも小さい sedimentation constant を示す。さらに YPG の endo-PG と異なりトリガラクトロン酸を分解しないような様相を呈す。またペクチン酸鎖の加水分解の限度も YPG の場合は48%程度で止る。しかし至適 pH、安定 pH、至適温度や 50°C、10分で著しく失活するような性質は相互に類似している。

むしろ *Asp. saitoi* の endo-PG は遠藤の取得したところの *Con. diplodiella* の endo-PG⁷⁷⁾に似ている。両者ともばれいしよの細片をマセライトする。

Asp. saitoi の endo-PG は単独では林檎汁の清澄作用を有しないが、ペクチンエステラーゼ (PE) と同時に作用させるとその効果を発揮する。たとえば *Sclerotinia arachidis* の PE と協力して作用すると、林檎汁の粘度は低下し、浮遊けん濁物質は凝集して沈下し、完全に清澄化される。この原因について山崎⁷⁸⁾らはペクチンの分解 (depolymerization) の過程に続いて、未分解のペクチンの電荷と蛋白などの浮遊物質の電荷の関係などを考慮している。

遠藤⁷⁹⁾はこの2種の酵素を、異なる菌株から求めるのではなく *Con. diplodiella* の一株の不完全菌の生産する endo-PG と PE を用いて同様の結果を得ている。

endo-PG の作用の特徴をとりまとめて列記すると次のようである。

- 1 ポリガラクトロン酸のグリコシド結合を at random に切断する。
- 2 ペクチン酸溶液の粘度を急激に低下し、この際加水分解された部分による還元性の増加が見られる。ただし完全には分解しない。
- 3 ペクチンの分解は微弱で、還元性の出現は僅かであるにもかかわらず粘度の低下は著しい。
- 4 テトラガラクトロン酸に作用して、急速にトライマーとモノマーとに分解する。
- 5 トライマーに対しては、一般に緩慢ながらジガラクトロン酸とガラクトロン酸に分解する。
- 6 ジガラクトロン酸の結合を二つに切断する能力

はない。

- 7 トランスエリミナーゼ(後述)のような切断のやりかたはしない。

しかし Phaff⁸⁰⁾らはペクチン酸をジガラクトロン酸にまで分解するのは、ただ一つの endo-PG で可能であるとしている。

endo-PG の作用の検討も、その isozyme を分別して行われるようになった。

Ayres⁶¹⁾らは *Asp. foetidus* の酵素調製品について、少なくとも3種の酵素の混合体と考えた。そのうちの1つは作用の至適 pH が5.3で、ペクチン酸をオリゴウロニドに、別の1つは至適 pH が3.5でさらにこれをトリ、ジ、モノガラクトロン酸に分解するという。後の酵素は前者が60°C、30分で不活性化されることを利用して分離することができる。これらの3種の酵素の混合の量的割合が、深層あるいは表面培養などの培養条件の差によって異なってくる可能性が指示されている。

Schubert^{81, 82)}は *Asp. niger* の液体培養から4種の PG の存在を推定したが、その混合体のうち β -PG として取得された酵素は、小沢が *Rhizopus tritici* の菌糸の抽出液からとり出した PG-I や YPG に似て endo-PG のようである。

Purr⁸³⁾らも endo-PG 調製品を超遠心的に β -PG と γ -PG の2つの酵素に分別した。いずれもペクチン酸鎖の α -(1-4) 結合を加水分解するが、蛋白部分のアミノ酸組成において基本的に異なるところがあり、また分子量も β -PG より γ -PG のほうが小さく、pH 値や温度が酵素に及ぼす影響にも違いがあり、この2つに分別された酵素は明らかに異なった酵素であると報告している。

中浜⁸⁴⁾は亜麻の繊維束を酵素的に開裂する目的で分離した *Penicillium frequentans* の endo-PG を DEAE-セルロース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、各区分とも作用が類似しペクチン酸およびペクチンの粘度を急激に低下する。ペクチン酸に作用させて分解生産物を経時的に調べた結果では endo-PG の作用に一致するが、亜麻ペクチンに対しては19~20%の分解率、亜麻ペクチン酸に対しては約98%のガラクトロン酸への分解率を示している。

遠藤⁸⁵⁾らは果汁の清澄作用を示す糸状菌をスクリーニングして44株の糸状菌を得た。そのうちでも *Con. diplodiella*, *Agaricus capentris*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium citrinum*, *Sclerotinia libertiana*, *Carpenteles javanicus*, *Asp. niger* などの効果が優れていたが、清澄作

用の上でも、ペクチンやペクチン酸の分解作用の上でも、最も有力なものとして *Con. diplodiella* を選択した。本菌株は前述のように、endo-PG の作用が著しいが、exo-PG も生産する。

果汁の清澄に効果的な以上の諸菌株の酵素が、ペクチン酸に作用する場合、還元性の生成、ペクチンエステラーゼ作用、果汁の清澄能力の強さなどの間に平行関係はない⁸⁶⁾と遠藤は報告している。たとえばペクチンエステラーゼの添加がある糸状菌の酵素ではペクチン質加水分解を促進されるが、他の糸状菌の場合、全然影響がない。ただ果汁の粘度低下と果汁の清澄能力とは平行的である。菌株の培養は麩培養⁸⁷⁾が適当であるが、その材料も rice embryo, wheat bran, beet pulp などに比べて、rice bran が最も優れている。26°C、2~3日の培養で多量の酵素が得られる、その性質は至適 pH 4.0~4.5で6以上では不安定、50°C、10分で活性の50%が失なわれ、70°C では全部失活するという。

遠藤⁸⁸⁾は *Con. diplodiella* の酵素を硫酸分別や Duolite, DEAE-セルロースなどのクロマトグラフィーによって分割精製して、超遠心的にも、電気泳動的にもそれぞれ均一なレベルにまで純化された3種の endo-PG、1種の exo-PG、1種の PE を得てその性質を明らかにしている。3種の endo-PG のうち、ペクチン酸に対する粘度降下作用は Endo-PG I がとくに強く、Endo-PG II, Endo-PG III の順である。Endo-PG I と Endo-PG II とはペクチン酸のグリコンド結合を65~70%分解するが、Endo-PG III は35~40%にすぎない。また前二者によるペクチン酸分解の最終生産物としては、ジおよびモノガラクトロン酸が見られるが、後者ではそのほかにトリガラクトロン酸が残存する。すなわち、Endo-PG III は他の2つの endo-PG と違ってトリガラクトロン酸を分解する能力がない。Endo-PG I は前述の Mill らが *Asp. niger* から得た endo-PG と似ている。

(3) 糸状菌の PG 酵素製品について

Mc Cready⁸⁹⁾らは糸状菌の培養液から得られた酵素製品(米国)ペクチノール(Pectinol)を、精製したオリゴガラクトロン酸に作用させて、 α -(1-4)グリコンド結合を加水分解する能力を有することおよびジガラクトロン酸を分解する能力を有することを認め、Purr⁸³⁾らはペクチノールの含有する exo-PG を共存する PMG から分離し、その PG と PMG とのアミノ酸組成を比較している。Lineweaver⁹⁰⁾らもペクチノールから PG を精製して検討している。

酵素剤(日本)スクラーゼ(Sclase)は *Con. diplodiella*

の黴培養から得られる。その作用については里村⁹¹⁾ら、遠藤⁸³⁾の研究がある、この酵素剤には PG と PE が含まれ、その PG としては exo-PG のほかに endo-PG も存在する。まだこのなかに PMG の存在も考えられているが、それは誤りで、ヘミセルラーゼなどの酵素が混在していることが判った。

その他フィルトラゴール、クリナーゼなどの製剤もあり、これらはいずれもペクチン質の高い粘度を低下して汙過を容易にし、あるいはペクチン質を分解、溶解することにより果汁の清澄をはかることに用いられている。

C 酵母の PG

酵母の生産する PG⁹²⁾に関心がもたれるようになったのは比較的新しいことで、それ以前はむしろ Oppenheimer⁹³⁾、Pitman⁹⁴⁾らによって酵母酵素としての PG は否定され、Bailey⁹⁵⁾なども同様の考えを持っていたようである。

Bock⁹⁶⁾らが林檎粕の発酵によって、その粕のなかのペクチンのゼリー度が低下することを指摘したのが、酵母 PG の存在を示す初期のものであった。Luh⁹⁷⁾らは *Sacch. fragilis*, *Sacch. thermantionum*, *Candida pseudotropicalis*, *Torulopsis lactis* などの少数の限定された酵母だけが、特別に PG を生産することを認め、Etchells⁹⁸⁾も 143 種の酵母について調べた結果、わずかに *Sacch. fragilis* を含む 4 種類だけに PG を指摘した。

吉市⁹⁹⁾も *Sacch. fragilis* に PG の存在を認め、他の酵母にも弱いながら広く分布していることを報告している。また酵母の PG の活性は基質ペクチン酸に含まれるメチル基によって著しく支配されるという。すなわちポリガラクトロン酸を分解する典型的な PG である。

Luh¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾ら一派の *Sacch. fragilis* に関する研究結果についてみれば、その酵素は構成的に生産され、PE などを含まない単一の細胞外ペクチン質分解酵素で、そのため酵素の精製は容易でほとんど純粋な形で分離することができる。ペクチン酸に特別の活性を示し、鎖軸を切断するためには、切断すべき連結の両側のガラクトロナイドのカルボキシル基が遊離していることが必要¹⁰³⁾であることが立証された。ペクチン酸の分解は完全には進まないで、pH 5.0 において分解率 48% が記録されている。テトラマー以後の分解は次のようにして行われる。

1. (ペクチン酸) $\xrightarrow{\text{opt pH 4.4}}$ (テトラマー) + (トライマー) + (ダイマー) + (ガラクトロン酸)
2. (テトラマー) $\xrightarrow{\text{opt pH 3.5}}$ (トライマー) + (ガラ

クトロン酸)

たゞしトライマーの濃度が高くなるとテトラマーの加水分解は妨害されるために、この反応は至って緩慢となる。

3. (トライマー) $\xrightarrow{\text{lower pH}}$ (ダイマー) + (ガラクトロン酸)

ジガラクトロナイドは YPG と親和性がないから分解されてガラクトロン酸になることはない。一般に YPG はガラクトロン酸の連結が短くなるほど(鎖が短くなるほど)作用し難くなる。

Phaff¹⁰¹⁾らは *Sacch. fragilis* の endo-PG を超遠心的にも、電気泳動的にも均一なレベルにまで精製した。この調製品はペクチン酸鎖の末端と二番目との間のグリコシド結合を切断しない。またジガラクトロン酸に作用しないで、トリガラクトロン酸に対してわずかながら作用することが認められた。従ってジガラクトロン酸はそのまゝ残るが、トリガラクトロン酸の分解が非常に遅いため、ガラクトロン酸およびジガラクトロン酸とともに、トリガラクトロン酸も最終生産物のようにみえる。これらの点は前述の *Asp. niger* の endo-PG の作用とよく似ている。Patel¹⁰⁴⁾らも *Sacch. fragilis* の培養液から得られる PG はジガラクトロナイドには作用を及ぼさず、液化型であることを認めている。

小沢^{105,8)}らはほとんど純粋にした *Sacch. fragilis* の endo-PG が、ばれいしよの切片を崩壊することを実証し、またこの酵素がトリガラクトロン酸を分解しないため、繊維植物の靱皮部のペクチン酸溶液に作用させると、その分解物の組成においてトリガラクトロン酸が高収率に存在することを認めた。それより遙かに少なくジガラクトロン酸、ガラクトロン酸が生産されるが、さらにテトラマーより大きなポリガラクトロン酸や中性糖を含む可溶性または酸可溶性ポリウロナイドは比較的少ないという。

D 細菌の PG

細菌の PG に関しては梶^{106,107)}らによって *Cl. felsineum* var. *sikokianum* の生産する endo-PG が報告されている。和紙原料の発酵精練の研究中に分離された嫌気性細菌で、PG 作用は雁皮ペクチンに対するほうが、柑橘ペクチンよりも大であるという。この細菌は別に雁皮、三極などの靱皮のペクチンに特異的に作用し、そのマセレーションに関係が深い特殊のペクチン・グリコシダーゼを生産すると報告されている。この酵素を梶らは macerating enzyme (ME) と仮称し、電気泳動によって、その endo-PG から分別した。

ペクチン酸に対する作用は *endo-PG* のほうが遙かに大であるが、*ME* は植物組織を膠着するペクチン質含有物質を溶解してその組織をマセライトする効果において著しい作用を示す。この *ME* の実体は未だ明らかにされていないが、*Clostridium* のうちでも、マセレーションの効果が甚だしいものは、*ME* の生産に富むとともに、*endo-PG* を著しく生産することから、梶らは両酵素の協力によって植物組織の崩壊が促進される可能性を考えている。

IV ポリメチルガラクトナーゼ Polymethylgalacturonase (PMG)

Seegmiller¹⁰⁸⁾ らはペクチニン
をペクチン酸よりも容易に分解する酵素の存在を報告した。この場合ペクチンエステラーゼ (*PE*) の存在のもとではペクチニンはペクチン酸になるから、*PE* 活性の存在しない条件下で作用させなければならない。

このようにペクチン鎖の α -, (1-4) グリコシド結合を加水分解する酵素をポリメチルガラクトナーゼ (*PMG*) という。

PMG の作用は一応液化型と推定されているが、ペクチン酸に対する液化型酵素の場合と異なり、直接ペクチンに *PMG* を作用させた場合の反応生成物のなかに、ガラクトン酸やジガラクトン酸、あるいはそれらのメチルエステルが検出されない。Roboz¹⁰⁹⁾ らは *Neurospora* の酵素について研究しその作用はペクチン酸に対する *endo-PG* の挙動に似て、ペクチン鎖を *at random* に切断すると考えられるのであるが、ガラクトン酸がメチルエステル化されている場合に限り報告している。

竹花¹¹⁰⁾ らは *Penicillium chrysogenum* を初め、3 株の *Penicillium*、2 株の *Rhizopus*、2 株の *Aspergillus* の合計 7 株について、その麩培養抽出液からとり出した酵素について研究し、ペクチンに対して脱メチル化および還元糖の生成をみることなくして、その粘度を著しく低下させる酵素の存在を指摘している。この酵素はペクチン酸を基質とする場合と同様な作用がみられ、還元糖の生成を伴わずしてその粘度を低下するという。

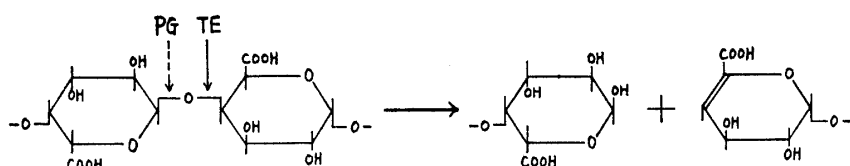
Beaven¹¹¹⁾ らもこれと同類の酵素を報告している。*PMG* の液化型の存在に対し、ある程度ガラクトン酸や少量のアラビノースなどの中性糖類を遊離するとされる糖化型 *PMG* を推察する考えもある。

しかしメチルエステル化の進んだペクチン鎖のグリコシド結合を、直接に切断すると推察すべき酵素の存

在については今日いささか疑問が残されている。

V トランスエリミナーゼ Transeliminase (TE)

トランスエリミナーゼは *PG* や *PMG* のような加水分解酵素ではなく、一種のリアーゼ (*lyase*) で、ペクチンよりもペクチン酸を容易に分解するペクチン酸トランスエリミナーゼ (*PATE*) と、ペクチンに作用してペクチン酸には作用しないペクチントランスエリミナーゼ (*PTE*) とがあり、そのそれぞれに糖化型または液化型の単一酵素が考えられている。それらの作用機作は同じであるから *PATE* の場合について説明



第 2 図

すると第 2 図に示すようである。

endo-PG や *exo-PG* のようなグリコシダーゼが、ペクチン酸を分解する場合は、普通 C_1' と O との間が切断^{112,113)}されるが、エリミナーゼは C_4 と O との間を開裂^{114,115)}し、このとき C_5 の H と C_4 に結合する OR とが *eliminate* するために、 C_4 と C_5 との間に 2 重結合が形成される。従ってこの部分は立体的な変化を伴う。Ludowieg¹¹⁶⁾ らはこの化学変化を、酸素の同位元素でラベルした水の存在における酵素作用による生産物から検討して、グリコシダーゼの場合と異なることを実証している。

一般に *TE* 活性は細菌において顕著に認められる。

岡本^{115,117,118)} らは *Erwinia aroideae* の *PATE* を精製した上で *Duolite* カラムにより、樹脂への吸着性の違いを利用して、そのうちの糖化型と液化型とを分離して、作用機作を検索している。*PATE* による生成物の測定は $230m\mu$ 吸光度、チオバルビツール反応¹¹⁹⁾、ナフトレゾルシン反応¹²⁰⁾、ペーパークロマトグラフィーなどにより行い、分解の状態と程度とを推定した。

すなわち、液化型の *PATE* をペクチン酸に作用させると、ペクチン酸溶液の粘度が急激に低下する。この際 4, 5-不飽和のガラクトン酸重合体が生成する。

糖化型の *PATE* の作用¹¹⁵⁾の模様は色々検討されているが、なかでもトリガラクトン酸の分解生成物によってその作用機構をうかがうことができた。この結果から推察すればペクチン酸の還元性末端から 2 番目のグリコシド結合が開裂して、4, 5-不飽和ジガラ

クツロン酸を遊離する。すなわち TE の作用機作は、還元性末端のほうから逐次 2 番目ごとの結合に対して 4,5-不飽和ジガラクツロン酸を遊離しながら分解してすゝむ。このことは、exo-PG が非還元性末端から作用するのと対象的である。

なお *Erwinia* の TE に関しては Starr¹²¹⁾らの報告もある。Nagel^{122~124)}らは *Bacillus polymyxa* の生産する TE について、その菌体内での生合成と培養液への分泌との関係を検討した。その報告によると、培養細菌の logphase のときに TE は急激に生産され細胞内でも培養液中でもその量は急増するが、stationary phase に至ると、いずれの増量も停止し、その時期を越えると、細胞外酵素の量は不変であるが、細胞内酵素の量は急に減少してくる。この理由については、細胞内酵素は培養液中へ出るが、細胞内で新たに合成されないために細胞内における濃度が低下すると考えることもでき、また酵素が細胞内で破壊されてほかの蛋白の合成が行われる推定も不可能ではないとされている。

糸状菌の PTE については Edstrom¹²⁵⁾らの *Asp. fonsecaeus* の細胞外酵素に関する研究がある。この酵素はペクチンに対して特殊性を示し、また Ca^{++} , Mg^{++} , Na^{+} などのカチオンによって活性が促進され、細菌の生産する PTE とは異なった性質を有している。しかし *Asp. fonsecaeus* の生産する PTE は同菌の生産するペクチナーゼの主要なものではなく、その精製前にこれに 5~6 倍の分解活性を示す PG の存在があり、また両酵素の生産比率は培養期間によって異なるという。その他 *Asp. niger* に属するものは生産量の相違はあるが、一般に広く TE を生産するといわれている。

PTE と PE との関係について、PE はペクチン鎖のなかのガラクツロン酸のメチルエステル結合を解離し、PTE に対して鋭敏でない状態に変化して、PTE の作用に拮抗するという見方もある。

酵母の TE に関する報告は見当らない。*Sacch. fragilis* などは多量の endo-PG を生産するが、TE は欠いているという。

TE 酵素商品についてはペクチノールに含まれる TE に関して Albersheim^{126~128)}らの報告がある。

VI ペクチンメチルエステラーゼ Pectinmethyl esterase (PE)

ペクターゼ (Pectase) の一種で、ペクチン鎖を構成するガラクツロン酸のカルボキシルに結合するメチルエステルを開裂してカルボキシル基を遊離し、メチルアルコールを生成する酵素であり、微生物界や高等植

物界に広く存在する。植物界では早くより研究が行われ、トマト^{129, 130)}、柑橘類¹³¹⁾、タバコ²⁵⁾などに強い活性が見出されている。

真部¹³²⁾らは夏だいだいの PE について研究し、また、みかんの PE について生育中および貯蔵中の PE の活性度の消長を検討し、さらに温州みかんについて果肉より果皮に強い PE 活性を指摘している。Mac Donnell⁵⁵⁾らの報告によると、オレンジには PG が存在しないから、PG free の PE 調製品が得られるという、またその処理にあたり食塩水の及ぼす影響について、PE の活性度、オレンジからの抽出、吸着剤への吸着やそれからの elution さらに酵素の安定性などに対し塩の影響が大きいことを実証し、たとえば 0.15 M 食塩水における活性の最適は pH 7.5 であるが、塩の濃度が低下するにつれて、至適 pH はアルカリ側に移動するという、安定な pH としては 6~7 が考えられ、また pH 7.5 において 40°C では漸次ゆるやかな活性の減少が見られるが、56°C、5 分で活性の 2/3 が失われる。

Lineweaver¹³³⁾らは alfalfa の PE の活性について検討し、カルシウムイオンなどのカチオンは活性を促進する。これは Cation-carboxyl complex を作ってカルボン酸による害を防ぐからであり、またアルカリ液中では酵素がカルボン酸によって不活性な形になりにくいからであると推察する可能性も考えている。

果物は成熟に伴って軟かくなるが、同時に不溶性ペクチンが減少して水溶性ペクチンが増加するのが認められる。これはトマトなどの場合、PE のほかに PG の作用が著しく、そのためペクチン質のグリコンド結合の分解が起るためと考えられる。一般に果物の軟化は成熟期の呼吸の最も旺盛な時期、すなわち段階期 (climateric) において特に著しいが、普通果物には、トマトなどの例外を除き、PE 以外のペクチナーゼが疑問とされており、軟化の機構はまだ解明されていない。

Tzerevitinow¹³⁴⁾はクローバやばれいしょ茎葉の搾汁に PE の存在を認めている。

近年微生物の生産する PE の利用が着目されるにおよび微生物由来する PE について種々の検討が行われてきた。

遠藤⁶³⁾は *Con. diplodiella* の複合酵素に、硫酸塩析法、Doulite や DEAE セルロース吸着法などの処理をほどこして、その Endo-PG I, II, III や exo-PG から PE を分離した。

酵母の PE については報告がない。吉市⁹⁹⁾らが 35 株の供試酵母について検討した結果も、PE 作用を認めることはできなかった。

近年微生物に由来する endo-PG に、他の微生物の PE を協力させることにより、マセレイションの効果をあげることが着目されている。

VII マセレイション (Maceration) という問題

酵素含有液のなかでばれいしょの切片が崩壊するのも、植物繊維原料の靱皮の柔組織が崩壊して繊維束が抽出される状態になるのも、同様にマセレイションの現象である。後者の状態にするための操作を精練 (Retting) と呼ぶが、精練にはこのほかに、一応抽出された粗繊維と呼ばれる繊維束を原料とし、あるいは靱皮組織のなかの繊維束を露出しながら、そのなかの細胞壁中間層のペクチン質を分解して繊維束を開裂し、多数の単繊維の集合から、断面において数本の単繊維の抱き合わせの状態に分繊する場合がある。いずれもペクチン質の分解を主とする精練に変わりはなく、同一の原理に立脚するものではあるが、両者の間では膠着物質たるペクチン質の性状にかなりの差があり、繊維束内で単繊維を膠着するペクチン質は、靱皮の柔組織のなかのペクチン質に比較して化学的にかなり安定した状態にあると考えられる。以後説明の都合上、繊維束内の分繊処理を区別する必要があるときは精繊 (refining) という言葉を用いることにする。柔組織のなかのペクチン質の分解による靱皮組織の崩壊は、むしろばれいしょのマセレイションに近い現象である。

植物組織に水に不溶性の状態に含まれるペクチン質をプロトペクチン (Protopectin) と呼び、これを分解する酵素をプロトペクチナーゼ (Protopectinase) という。しかしプロトペクチンの化学構造は甚だあいまいである上に、一定したものでなく、しかも認められるべき分子構造の範囲も限定されにくい。またこれを分解する酵素も、ペクチンを分解する PMG との区別が明らかでなく、さらに PMG の存在すらあやまれている現状においては、前述のようにプロトペクチンやプロトペクチナーゼは一応考慮の外に置き、ペクチンやペクチン酸およびこれらに対する分解酵素の作用が、マセレイションの資材や研究の対象とされている。

しかし植物中に存在するプロトペクチンの状態や性質には、植物の種類により、組織の差により、また成長の時期において、かなりの変化があり、その多様性は、起源を異にするペクチンやペクチン酸相互において見られる相違を遙かに上廻るものであることは容易に推察される。また同じ起源のプロトペクチンでも、たとえばシュウ酸アンモンで抽出されて得られたものは、初めの植物体に存在していたものから、少なくと

もペクチン鎖を結ぶと想像されるカルシウムなどの金属が除去されているほか、かなりの変化が推察される。その変化をきたす因子が、単繊維を膠着するような安定化したプロトペクチンの場合は特に多いと考えられるがゆえに、抽出されたペクチン質の分解が必ずしもそのまゝすべて繊維束内の繊維開裂のための精繊にあてはまるものとは考えられない。従って精練の研究に当っては、プロトペクチンの、しかも植物体内に存在する物理化学的な状態や複雑な構造を思慮の外に置くわけにはいかない場合がある。しかし精繊を含めて精練の研究の対策としては、まず一般の柔組織のマセレイションの研究と同様に、比較的構造の推定が容易なペクチンやペクチン酸の分解機作から検討を進めるのが本筋であろう。何故なら endo-PG は普通マセレイションの主役と考えられるからである。今原¹³⁵⁾らも *Pen. frequentans* による亜麻原料の精練は主としてその endo-PG の作用であることを証明している。しかし endo-PG が単独あるいは PE の共存において、必ずしも常にマセレイションの主役をなすとは限らない。畑中⁴³⁾らによれば YPG の endo-PG ではマセレイション作用を示さない場合もあるが、PG とともにヘミセルラーゼなどの酵素を含むスクラーゼの原液ではマセレイションの作用が見られる。すなわち植物の種類や組織、年齢の違いにより、細胞壁に含まれるそれぞれのプロトペクチンの構造や、存在の機械的状态が異なるために、マセレイションが達成されるためには、endo-PG が直接ペクチン質に行動を起し得る条件に導かれるために他の酵素の協力を必要とすることがあるわけである。endo-PG の代りに PATE がマセレイションの主体となる場合もある。また PG 作用も TE 作用も示さないにもかかわらずマセレイション作用を示す酵素が報告⁴⁴⁾されている。この場合はペクチン質が複合多糖類であるために、中間層のペクチン質の α -ガラクトシド以外のグリコシド結合を分解することにより、これを溶解するものであろうと想像されている。かかる酵素を macerating enzyme (ME)¹⁰⁷⁾ と呼ぶ。梶^{44,136)} は *Clostridium felsineum* の酵素からこれを単離し、鈴木¹³⁷⁾ は *Rhizopus* の種類から取得して検討している。

endo-PG は最も普通にマセレイションの主役をなす酵素であるが、さらにその酵素調製品を解析してゆくと、単一酵素では全くその効果を示さない isozyme が存在する。たとえば遠藤¹³⁸⁾ は *Con. diplodiella* の endo-PG を精製して Endo-PG I, II, III のそれぞれ単一酵素と考えられる区割に分別し、そのうち Endo-PG III だけがばれいしょに対するマセレイションの

作用を有することを指摘した。梶^{136,139)}らも *Botrytis cinerea* の endo-PG に 3 種類の存在を認め、そのうち 2 種類がマセレイションの能力を有することを明らかにし、また植物の柔組織や紡錘組織の崩壊に参与する酵素について研究を進めている。

また梶^{140,141)}らは *Clostr. felsineum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia libertiana*, *Gloesporium kaki*, *Con. diplodiella* の生産するアラバン分解酵素について研究している。この研究において基質としてはまず甜菜アラバンを使用した。その研究の結果、アラバナナーゼは誘導酵素で、その生産のためには培地中にアラバンが存在していることが必要であるという。また *Con. diplodiella*¹⁴²⁾ のアラバナナーゼを精製してアラバンに作用させると 30°C, 96 時間でアラバンの分解率は 93.5% に達するという。

ペクチン酸鎖のなかにアラビノースなどの中性糖類が位置することは、PG 作用の進行を防止する原因となると推察される。ここに普通分解度が高いことと作用の進行が理解され易いため exo-PG についての畑中らの研究を例にとりて説明しよう。普通の調製法で作られたペクチン酸は不飽和のペクチン酸を含んでいる。exo-PG はペクチン酸鎖の非還元性末端からガラクトン酸のグリコシド結合を逐次分解して進むが中性糖類の存在の位置にまで分解が進むとそこで分解は中絶する。もしこゝに中性糖類を分離して除く酵素の共同作用があれば再び分解の進行が始められるであろう。ところが exo-PG の分解程度が限定されるのは以上の理由だけではない。普通の調製法で作られるペクチン酸は不飽和のペクチン酸を含むものであるが、exo-PG は不飽和末端のポリガラクトン酸には作用を示さない。こゝにも exo-PG 作用に対する制限がある。畑中⁵⁷⁾らはスクラーゼの粗 PG 液を DEAE-セルロース・クロマトグラフィーによって分別して得た糖化型の PG-フラクションが、にんじんの exo-PG と似ていることを確かめたが、不飽和の酸不溶性および酸可溶性ペクチン酸を分解する点で異なるものと認めた。この事実に対する畑中らの解釈では exo-PG のフラクションと考えたものが、わずかながら endo-PG を含んでいて、そのため不飽和ペクチン酸が、不飽和と飽和のポリガラクトン酸に分解される。exo-PG は前者には作用しないが後者には作用する。にんじんの exo-PG では見られなかった現象が、スクラーゼの exo-PG フラクションでは見られることは酵素の共同作用のためであると考えられた。

梶¹⁴³⁾の報告にみるごとく、*Clostr. felsineum* の endo-PG がペクチン酸溶液の著しい粘度低下をきたすこと

は至当であるが、雁皮ペクチンにはよく作用し、柑橘のペクチンやペクチン酸には作用が弱いことは、すべてのマセレイションに endo-PG の単独の作用が通用するものではないことを意味し、場合によってはアラバナナーゼ作用などの協力を必要とすることを暗示するものと考えらるべきであろう。

梶^{140,142~144)}らの *Clostr. felsineum*, *Asp. niger* および *Botrytis cinerea* などの生産するアラバナナーゼによって、ペクチン中のアラバン分解を行う場合は、植物組織の種別ごとに行うべき必要性を報告していることは、組織別によるペクチンにおいてその構造の別や Arabinase-core の差を指示するものとして興味深い。

Byrde¹⁴⁵⁾らは *Sclerotinia fructigena* の培養液から、maceration factor と考えられる酵素液を精製してばれいしよを崩壊したが、この際不溶性のプロトペクチンの部分的分解物として、高分子の可溶性のウロナイドに伴ってアラビノースが遊離するのを認めた。プロトペクチンの不溶性はウロナイドがアラバンやガラクトンと連結しているためと解釈する考えかたもあるが、そのプロトペクチンの構造内のアラバンは、 α -L-アラビノフラノサイド¹⁴⁶⁾の連結鎖をなすと考えられている。Byrde の精製酵素液は phenyl- α -L-arabinofuranoside¹⁴⁷⁾ を加水分解する。ガラクトンは β -D-galactopyranoside¹⁴⁸⁾ の連結鎖において存在すると考えられるが、この酵素は O-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside¹⁴⁹⁾ も phenyl- β -D-galactofuranoside¹⁵⁰⁾ も分解しない。しかし培養液はこれらのすべてを加水分解し、ことに phenyl- α -L-arabinofuranoside の分解は強力である。このことからマセレイションと α -アラビノシダーゼとの関連を考える可能性が生じたが、その他の酵素に関してもマセレイションの効果に対して検討の余地があると、Byrde 自身も考えているようである。

梶¹⁵¹⁾の報告によると、endo-PG の isozyme のうちで直接にはマセレイションの作用を示さないものもあり、また作用を示しても基質としての資源の種類が限定されるもの、逆に広範囲の資源に対して活性を示すものなどがある。これについて想像されることは、プロトペクチンが原料のなかに存在するときの特殊の状態や構造に関しては、マセレイションのために複合酵素の作用を必要とする場合もあり得るということである。この意味において Byrde が *Sclero. fructigena* から取得して精製したアラバナナーゼや、梶が *Asp. niger* や *Botrytis cinerea* などから精製した糖化型アラバナナーゼなどが直接マセレイションの作用を示さなくても、特種な資源に対しては、その効果を演ずる酵素系のメ

ンバーとして、少なくともその協力者として存在する可能性を否定することはできない。

Ruschmann¹⁵²⁾らによれば *Clostridium* に属するある菌株が実際にはレットィングを行なうのに、実験室的にはペクチンを発酵しないように見られるという。この場合は細菌相互の共生の問題が考えられるが、別の考えではペクチン質分解以外のレットィングに対する要素を有して、それと他から起因する PG との共同作用も想像される。

井上¹⁵³⁾らは果汁の清澄化に対し、自らはその作用を示さないが、PG と協力して、PG の作用を促進するある種のヘミセルラーゼを報告している。これに至っては、ヘミセルラーゼもまたマセレイションに関係する酵素の一群のなかへ入ってくる。

朝井¹⁵⁴⁾らの報告によると、直接マセレイションには無関係なほどの低濃度にシュウ酸を生産する *Asp. niger* の 1 株が、exo-PG の存在による植物靱皮繊維の精練作用を促進するという。この事実も酵素の複合的効果を示すものである。

その他マセレイションの作用を示す微生物としては、*Penicillium expansum*¹⁵⁵⁾、*Rhizoctonia solani*¹⁵⁶⁾ および *Sclerotinia sclerotiorum*¹⁵⁷⁾ などについての報告があるが、要するに、一般にマセレイションの主役は endo-PG であるという点では略々諸学者の意見の一致を見ている。

しかしペクチンやペクチン酸の性質が、その起源の種類に応じて必ずしも一定せず、従って特定の単一 endo-PG ですべての起源に由来するペクチン質の分解が、同じように進むものではないことは明らかであるが、さらに基質が植物組織のなかに存在する場合には、ペクチン質の性質の違いも大きくなり、ことに靱皮組織の繊維束内におけるプロトペクチンの性質や存在の状態に至っては一層問題は複雑で、その精練に当っては主役たる endo-PG のほかに、別の要素、たとえばアラバナナーゼ、ヘミセルラーゼ、ときにはプロテイナーゼ、あるいはその他の単独では全く精練効果を示さないような酵素の協力を必要とするようなことも起ると推定するのが至当であろう。TE が主役として働く場合も同様に考えられる。

VIII ペクチナーゼの利用

ペクチン質分解酵素が早くから利用されたものに果汁の清澄の仕事がある。ぶどう汁や林檎汁の製造、またぶどう酒や林檎酒の醸造の際に、自然的に果汁を清澄にするためには、長時間冷室で静置して果汁中の浮遊物質を沈降させ、上澄液をとって一旦こし袋で濾過

し次に再び加圧濾過機を使用して漸く略々透明に近い果汁を得る。このように濾過操作に手数を必要とし、しかも透明度の完全な果汁を得にくいのは、果汁のなかに含まれるペクチン質によって、濁濁物質がコロイド状に保護されるためである。もちろん果汁のなかの PE や、果実酒となるとその上に酵母の PG の作用も加わっておのずからペクチンの分解は起るのであるが、自然的な操作では作用が緩慢であるため、これに酵素を添加してペクチン質のエステル結合やグリコシド結合を切断して分解すると、果汁は短時間にしかも完全に清澄となり、搾汁作業も容易となるのみならず、果汁の収率も増大し、また適当な無菌濾過機を使用することにより果汁の加熱殺菌が不必要となるなどの利益がある。この際 PG の効果はペクチン酸を分解してその粘度を低下することにあり、PE はペクチンのメチルエステルを切断してペクチン酸に変化し、PG の作用を助けるのが主であるが、さらにペクチンがケン化によってその電荷を増大するために、蛋白質、カルシウムイオンおよびその他の果汁濁濁物などにより、電荷が中和されてそれらの沈澱が促進される効果もあるという。

遠藤¹⁵⁸⁾は電気泳動によって精製した endo-PG と PE とを別々に果汁に添加した場合は清澄効果が見られなかったが、両者を一緒に添加すると濁濁物は完全に沈澱して果汁が清澄したことを報告している。

皆川¹⁵⁹⁾は果汁の清澄の目的で糸状菌の生産する酵素やらペクターゼ剤を製造した。

Kertesz¹⁵⁹⁾は *Penicillium glaucum* から得た酵素を果汁の清澄に応用し、同様な研究は Green¹⁶⁰⁾ら、Beson¹⁶¹⁾ら、岩崎^{162, 163)}によっても行われた。また Kertesz¹⁶⁴⁾、Jansen¹⁶¹⁾、竹花¹¹⁰⁾らも植物搾汁の清澄効果を有する酵素の存在を、ルーサン、タバコ、オレンジ、トマトなどについて報告し、竹花はナス科、豆科に果汁の強い清澄効果を示した酵素について報告している。

福本¹⁶⁵⁾らは *Asp. niger* の酵素について研究し、アラビノースとキシロースから構成されるペントーザンを分解する酵素を単離して将来穀類の剥皮に対して、応用の希望を投げかけた。その他 *Trichoderma* や細菌の類からも取得した酵素を略々単一酵素と見なし得るまでに精製して検討し、植物組織の柔軟化への応用を考えている。

青果物のペクチンには普通 8~12% のメチル基が含まれる。PE を利用して低メチルペクチン (Low methyl pectin—LMP)¹⁶²⁾ を作ることができる。普通 2.5~4.5% のメチル基含有が目標とされる。低メチルペ

クチンを作れば、これとペクチンとを混用して、期待通りの粘度のゼリーを作ることができる。この脱メチルは酸やアルカリによる分解性よりも PE の作用によるほうが容易でありペクチン鎖の分解が起るようなこともない。Mottern¹⁶⁶⁾らはトマトの PE を利用し、Owens¹⁶⁷⁾らは柑橘類の PE を利用して LMP を作っている。後者の場合は柑橘に予じめ酵素を作用させて脱メチルを行い、その後ヘキサメタリン酸ナトリウム溶液で LMP を抽出している。

たばこのいわゆる発酵は、たばこの有する諸酵素の作用によるものとする考えと、微生物の作用が主であるとする考えとがある。その際水素イオン濃度が降下するが、Bodnar¹⁶⁸⁾らや Andreadis¹⁶⁹⁾によれば、その原因はタバコ葉に含まれるペクチンからメチルアルコールが遊離して、ペクチン酸が生成するからであるとし、PE 作用をあげている。しかしその現象が、タバコの発酵作業にどんな意義を有するかは不明である。

紅茶の製造にあたり、発酵と呼ばれる作業が行われるが、実は微生物の作用ではなく、茶葉に含まれるオキシダーゼの酵素作用によって茶葉の変化がおこるのである。このとき同時に茶葉に含まれる PE の作用によって、茶葉のなかのペクチンのメチルエステル結合が切断されて、メチルアルコールが生成する。しかしこの現象も紅茶の発酵作業にどんな意義を持つものか判っていない。

コーヒー豆からコーヒー（珈琲）を製造する際に、発酵処理の過程を必要とする。現在は自然発酵によって行われているが、ペクチナーゼを添加することによって発酵の促進や調整を計る試みもある。

ペクチン物質は家畜の飼料のなかに多量に含有せられる。その食物中のペクチン物質が、反芻動物では第一胃のなかで Protozoa や細菌によって分解される。Protozoa による PE 作用や PG 効果について Akkada¹⁷⁰⁾らの報告がある。

ペクチナーゼの重要な用途として発酵精練がある。梶^{171)~174)}らは三桎、雁皮、楮などの和紙原料の精練について研究を行い、有用細菌として *Clostr. felsineum* var. *sikokianum* を分離し、その生産する PG による、靱皮柔組織のペクチンの分解を報告している。

紡績用の植物繊維原料の発酵精練 (retting) は亜麻、大麻、ラミーなどの自然発酵として、古くから河水浸漬法、温水浸漬法、雨露法、堆積法などによって行われてきた。これらの自然発酵で有効な作用を示す微生物の研究の結果、細菌として *Clostr. pectinovorum*, *Clostr. felsineum*, *Clostr. hauman*, *Clostr. corallinum*, *Clostr. tertium* などがあげられ、糸状菌としては *Botrytis cinerea*, *Rh-*

izopus nigricans, *Cladosporium herbarum* を始め *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* に属するものなどが報告された。これらの微生物によって行われる作用も逐次解明^{175)~181)}されるに従い、これを意志的に利用する研究、たとえば好気性の *Bacillus comesii* を用いる Rossi 法や、嫌気性の *B. felsineum* を用いる Carbone 法などが試みられた。

Potter¹⁸²⁾らは *Clostr. felsineum* の 2 株を用いて、ペクチン酸およびペクチンの発酵を行なっている。ペクチン酸の場合は最初の 8~12 時間に発酵が最大であるのに比してペクチンの場合は最初の 12~18 時間に発酵が最も進み、培養液中のガラクトロン酸の消長から、初めは主としてペクチンメチルエステラーゼ (PE) が作用し、ついでポリガラクトロンナーゼ (PG) の作用が旺んとなり、その結果生成するガラクトロン酸も菌によって資化されることを報告している。なお本研究において *Clostr. butyricum* の 79 株、*Clostr. pectinovorum* の 73 株、*Clostr. tertium* の 336 株による、ペクチンの認むべき発酵はなかったという。

ラミー繊維原料に対して中浜⁴⁸⁾らは *Bacillus subtilis* に所属する菌株を、朝井^{45, 46)}らは *B. subtilis* および *B. mesentericus* 所属の菌株を分離し、これらを接種して有用微生物の集殖による発酵精練を行なった。さらに中浜^{49, 183)}らは亜麻を初めケナフ、黄麻などの各種の原料に対しそれぞれの有用細菌を分離して精練を行なった。特に戦時中の衣料不足を補う目的で朝井ら、片桐らによって大麻の発酵精練¹⁸⁴⁾が研究された。中浜は大麻の繊維束の開裂を目的とする精練のためには、従来の原料の長繊維状態の発酵から短繊維状態の発酵に切り換える必要があることに気付き、物理的な処理を改めて綿状化繊維を取得することにより、実用化し、精練された綿状繊維¹⁸⁵⁾はカードにかけられるス・フと混紡された。その後中浜らは発酵法としては一株の有用細菌の増殖による集殖発酵より、共生発酵法^{186)~190)}のほうが効果が大きく、またこの場合より合理的であることを認め、たとえば大麻原料の精練に対しては好気性の *Bacillus mesentericus* または *B. subtilis* と嫌気性の *Clostridium sphenoides* との共生発酵を綿状化精練に適用して広く工業化することができた。

終戦後、化繊の欠点を補う目的で、これと混紡するために亜麻やラミー原料の繊維束を従来よりも一層こまかく開裂し、しかも均等な繊維を取得する必要が起った。中浜らは損傷されることなく繊細な繊維を得るためには、集殖発酵中に若干は避け難い雑菌から受ける弊害を排除すべきであると考え、*Penicillium citrinum* を分離し、その麩こうじを抽出した endo-PG を主体

とする粗酵素による酵素精練法^{84, 135)}を研究して報告した。この糸状菌は後に財団法人発酵研究所によって *Pen. frequentans* であると訂正され、中浜らもこれを容認した。さらに他の菌株から得た PE を添加して発酵の能率を高め得たが、酵素を混合して多元的な作用のもとに精練を行うことも今後の研究課題の一つであると考えられる。

引用文献

- 1) Anderson, E. & L. Sands(1945): Advance in Carbohydrate Chem. **1**: 329.
- 2) Hirst, J. K. & J. K. N. Jones (1955): *ibid.* **33**: 337.
- 3) 中浜敏雄(1943): 繊維工業学会誌. **9**: 23.
- 4) Aspinall, G. O. & R. S. Fanshawe (1961): J. Chem. Soc. 4215.
- 5) Heri, W., H. Neukom & H. Deuel (1961): Helv. Chim. Acta. **44**: 1939.
- 6) Jansen, E. F., L. R. MacDonnell & W. H. Ward (1949): Arch. Biochem. **21**: 149.
- 7) Palmer, K. J. & M. B. Hartzog (1945): J. Am. Chem. Soc. **67**: 2122.
- 8) 畑中千歳・小沢潤二郎 (1966): 農化. **40**: 98, 106.
- 9) 畑中千歳・小沢潤二郎 (1968): 農化関西支部講演要旨第245回.
- 10) 梶明・穴吹吉夫・滝博・大山義朗・岡田武久(1963): 香川大学報・農. **15**: 40.
- 11) 梶明・田川清(1965): 香川大学報・農. **16**: 143.
- 12) 平野茂博・真部正敏・小野寺幸之進 (1967): 農化関西支部講演要旨第235回.
- 13) 片桐英郎・中浜敏雄(1940): 農化. **16**: 1151.
- 14) Hatanaka, C. & J. Ozawa (1965): Ber. des Ohara Inst. für landwirtschaftliche Biologie **12**: 261.
- 15) Kertesz, Z. I. (1951): The Enzyme **I**: p. 745. Academic Press, New York.
- 16) Ehrlich, F., R. Guttman & R. Haensel (1935): Biochem. Z. **281**: 93.
- 17) Ehrlich, F. & A. Kosmahly (1929): *ibid.* **212**: 162.
- 18) Ehrlich, F. & R. Hansel (1935): Cellulose Chem. **16**: 97.
- 19) Norris, F. W. & S. B. Schryver (1925): Biochem. J. **19**: 676.
- 20) Norman, A. G. (1941): Annual Review of Biochem. **10**: 65.
- 21) Schneider, G. G. & H. Bock (1936): Ber. **69**: 323, 2530, 2537., (1937): Ber. **70**: 1611, 1617., (1938): Ber. **71**: 1353.
- 22) Emmett, A. M. & M. H. Carré (1926): Biochem. J. **20**: 6.
- 23) Kertesz, Z. I. (1936): Ergebniss der Enzymforschung **5**: 233.
- 24) Kertesz, Z. I. (1939): J. Am. Chem. Soc., **61**, 2544.
- 25) Kertesz, Z. I. (1951): The Pectic Substances, p. 77. Interscience Publ. New York.
- 26) Henglein, F. A. (1955): Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, 2Bd., Spinger Verlag, Berlin, S. 231.
- 27) Joslyn, M. A. (1962): Advances in Food Research **11**: P. 1, P. 23. Academic Press, New York.
- 28) Nanji, D. R. (1926): J. Chem. Soc. **45**: 337.
- 29) Nanji, D. R. & A. G. Norman (1928): Biochem. J. **22**: 596.
- 30) Nanji, D. R., F. J. Paton & A. R. Ling (1925): J. Chem. Soc. Ind. **44**: 253T.
- 31) Ordin, L., R. Cleland & J. Bonner (1957): Plant Physiol. **32**: 216.
- 32) Tagawa, T. & J. Bonner (1957): *ibid.* **32**: 207.
- 33) Albersheim, P & J. Bonner (1959): J. Biol. Chem. **234**: 3105.
- 34) Seegmiller, C. G., B. Axelrod & R. M. J. McCready (1955): *ibid.* **217**: 765.
- 35) Sato, C. S., R. U. Byerrum & C. D. Ball (1957): *ibid.* **224**: 717.
- 36) Albersheim, P. (1963): *ibid.* **238**: 1608.
- 37) Kessler, G., E. F. Neufeld, D. S. Feingold & W. Z. Hassid (1961): *ibid.* **236**: 308.
- 38) Preiss, J. & G. Ashwell (1963): *ibid.* **238**: 1577.
- 39) Ashwell, G., A. J. Wahba & J. Hickman (1960): *ibid.* **235**: 1559.
- 40) Hickman, J. & G. Ashwell (1960): *ibid.* **235**: 1566.
- 41) Smiley, J. D. & G. Ashwell (1960): *ibid.* **235**: 1571.
- 42) Cynkin, M. A. & G. Ashwell (1960): *ibid.* **235**: 1576.
- 43) 畑中千歳・小沢潤二郎 (1967): 醸酵協会誌. **25**: 507.

- 44) Kaji, A. (1956): *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan* **20**: 8.
- 45) 朝井勇宣・小松栄太郎(1943): *農化*. **19**: 566.
- 46) 朝井勇宣・今村長俊(1943): *農化*. **19**: 102.
- 47) 片桐英郎・中浜敏雄(1938): *農化*. **14**: 1343, 1348, (1939): *農化*. **15**: 207, (1940): *農化*. **16**: 832.
- 48) 中浜敏雄・西村俊一(1937): *農化*. **13**: 649, 654, 657, (1938): *農化*. **14**: 488, 492.
- 49) 中浜敏雄(1939): *農化*. **15**: 323, 328, (1940): *農化*. **16**: 39, 345.
- 50) Davison, F. R. & J. J. Willaman (1927): *Botan. Gaz.* **83**: 329.
- 51) 梶明(1966): *醸酵協会誌*. **24**: 391.
- 52) Jansen, E. F. & L. R. Mac Donnell (1945): *Arch. Biochem.* **8**: 97.
- 53) Roelofsen, P. (1953): *Biochem. et Biophys. Acta.* **10**: 410.
- 54) 小沢潤二郎(1952): *農化*. **26**: 505.
- 55) MacDonnell, L. R., E. F. Jansen & H. Line-weaver (1945): *Arch. Biochem.* **6**: 389.
- 56) Hatanaka, C. & J. Ozawa (1964): *Agr. Biol. Chem.* **28**: 627.
- 57) 畑中千歳・小沢潤二郎 (1966): *農化関西支部講演要旨第229回*.
- 58) 小沢潤二郎(1955): *農学研究*. **42**: 157.
- 59) Patel, D. S. & H. J. Phaff (1958): *Food Res.* **23**: 693.
- 60) McCready, R. M. & E. A. McComb (1953): *J. Agr. Food Chem.* **1**: 1165.
- 61) Ayres, A., J. Dingle, A. Phipp, W. W. Reid & G. L. Solomons (1952): *Nature* **170**: 834.
- 62) 斎藤日向(1954): *農化* **28**: 869.
- 63) Endo, A. (1963): *Agr. Biol. Chem.* **27**: 741, 751.
- 64) 斎藤日向・蓑田泰治・丸茂博文 (1954): *農化*. **28**: 810, 814, 863, 866.
- 65) Brooks, J. & W. W. Reid (1953): *Chem. & Ind.* 325.
- 66) Dingle, J., W. W. Reid & G. L. Solomons (1953): *J. Sci. Food & Agr.* **4**: 149.
- 67) 小沢潤二郎・岡本賢一(1953): *農学研究*. **41**: 79.
- 68) Mill, P. J. (1966): *Biochem. J.* **99**: 557, 562.
- 69) Endo, A. (1964): *Agr. Biol. Chem.* **28**: 639.
- 70) Saito, H. (1955): *J. Gen. Appl. Microbiol.* **1**: 38.
- 71) Tuttobello, R. & P. J. Mill (1961): *Biochem. J.* **79**: 51.
- 72) Sakaguchi, K., H. Iizuka & S. Yamasaki (1950): *Oyokingaku* **3**: 97.
- 73) Yamasaki, M., T. Yasui & K. Arima (1966): *Agr. Biol. Chem.* **30**: 142.
- 74) Mill, P. J. & R. Tuttobello (1961): *Biochem. J.* **79**: 57.
- 75) Yamasaki, M., T. Yasui & K. Arima (1966): *Agr. Biol. Chem.* **30**: 1119.
- 76) Phaff, H. J. & A. L. Demain (1965): *J. Biol. Chem.* **218**: 875.
- 77) Endo, A. (1964): *Agr. Biol. Chem.* **28**: 535, 543, 551.
- 78) Yamasaki, M., A. Kato, S. Y. Chu & K. Arima (1967): *ibid.* **31**: 552.
- 79) Endo, A. (1965): *ibid.* **29**: 129, 137.
- 80) Phaff, H. J. & A. L. Demain (1956): *J. Biol. Chem.* **218**: 875.
- 81) Schubert, E. (1952): *Nature* **169**: 931.
- 82) Schubert, E. (1954): *Helv. Chim. Acta* **37**: 691.
- 83) Purr, A. (1957): *Biochem. Z.* **329**: 261.
- 84) 中浜敏雄(1965): *京府大学報. 農.* **17**: 101.
- 85) Endo, A. & Y. Miura (1961): *Agr. Biol. Chem.* **25**: 382.
- 86) Endo, A. (1961): *ibid.* **25**: 389.
- 87) Endo, A. (1961): *ibid.* **25**: 394.
- 88) Endo, A. (1964): *ibid.* **28**: 757.
- 89) McCready, R. M. & C. G. Seegmiller (1964): *Arch. Biochem. Biophys.* **50**: 440.
- 90) Lineweaver, H., R. Jang & E. F. Jansen (1949): *Arch. Biochem.* **20**: 137.
- 91) 里村幸男(1952): *農化*. **26**: 486, (1953): *農化*. **27**: 15.
- 92) Duel, H. & E. Stutz (1958): *Advance in Enzymology* **20**: 341.
- 93) Oppenheimer, C. (1936): *Die Fermente und ihre Wirkungen, Band I.*
- 94) Pitman, G. A. & W. V. Cruess (1929): *Ind. Eng. Chem.* **21**: 1292.
- 95) Bailey, H. S. (1945): *U. S. Pat.* 2,387,635.
- 96) Bock, H., (1941): *Chem. Ztg.* **65**: 461.
- 97) Luh, B. S. & H. J. Phaff (1951): *Arch. Biochem. Biophys.* **33**: 212.
- 98) Etchells, I. L. & T. A. Bell (1951): *The Pectic*

- Substances p. 348.
- 99) 古市誠・岡本辰夫(1954): 農化. **28**: 703.
- 100) Luh, B.S. & H. J. Phaff (1954): Arch. Biochem. Biophys. **48**: 23.
- 101) Phaff, H. J. & B.S. (1952): *ibid.* **36**: 231.
- 102) Demain, A.L. & H. J. Phaff (1954): J. Biol. Chem. **210**: 381.
- 103) Demain, A.L. & H. J. Phaff (1957): Wallerstein Labs. Commun. **20**: 119.
- 104) Patel, D.S. & H. J. Phaff (1959): J. Biol. Chem. **234**: 237.
- 105) 小沢潤二郎・岡本賢一・林哲吾 (1959): 農学研究. **47**: 105.
- 106) 梶明・穴吹吉夫(1950): 農化. **23**: 398.
- 107) 梶明・橘禎男・粟飯原重男・穴吹吉夫 (1959): 香川大学報・農. **11**: 248.
- 108) Seegmiller, C.G. & E.F. Jansen (1952): J. Biol. Chem. **195**: 327.
- 109) Roboz, E., R.W. Barratt & E.L. Tatum (1952): *ibid.* **195**: 459.
- 110) 竹花秀太郎・小倉長雄(1954): 農化. **28**: 875, (1955): 農化. **29**: 83.
- 111) Beaven, G.H. & F. Brown (1945): Biochem. J. **45**: 221.
- 112) Freeman, G. G. & R. H. Hopkins (1936): *ibid.* **30**: 451.
- 113) Cohn, M. (1949): J. Biol. Chem. **180**: 771.
- 114) Okamoto, K., C. Hatanaka & J. Ozawa (1963): Agr. Biol. Chem. **27**: 596.
- 115) 岡本賢一・畑中千歳・小沢潤二郎 (1964): 農化. **38**: 237.
- 116) Ludowieg, J., B. Vennesland & A. Dorfman (1961): J. Biol. Chem. **236**: 333.
- 117) Okamoto, K., C. Hatanaka & J. Ozawa (1964): Agr. Biol. Chem. **28**: 331.
- 118) Okamoto, K., C. Hatanaka & J. Ozawa (1964): Ber. des Ohara Institute für landwirtschaftliche Biologie **12**: 107, 115.
- 119) 岡本賢一・畑中千歳・小沢潤二郎 (1964): 農学研究. **50**: 61.
- 120) Kertesz, Z. I. (1951): The Pectic Substances, p. 40, Interscience Publ., New York.
- 121) Starr, M. P. & F. Moran (1961): In Bacteriological Proceedings, Society of American Bacteriologists Baltimore 169.
- 122) Nagel, C.W. & R.H. Vaughn (1961): Arch. Biochem. Biophys. **93**: 344., **94**: 328.
- 123) Nagel, C.W. & R.H. Vaughn (1962): J. Bact. **83**: 1.
- 124) Hasegawa, S. & C.W. Nagel (1962): J. Biol. Chem. **237**: 619.
- 125) Edstrom, R.D. & H. J. Phaff (1964): *ibid.* **239**: 2403.
- 126) Albersheim, P. & U. Killias (1962): Arch. Biochem. Biophys. **97**: 107.
- 127) Albersheim, P., H. Neukom & H. Deuel (1960): *ibid.* **90**: 46.
- 128) Albersheim, P., H. Neukom & H. Deuel (1960): Helv. Chim. Acta. **43**: 1422.
- 129) MacColloch, R. J., J. C. Mayer & I. Kertesz (1946): Arch. Biochem. **10**: 479.
- 130) Pithawala, H.R., G.R. Savur & A. Sreenivasan (1948): *ibid.* **17**: 235.
- 131) Jansen, E. F., L.R. Mac Donnell & R. Jang (1945): *ibid.* **8**: 113.
- 132) 真部正敏・樽谷隆之 (1965): 日本食品工業学会誌. **12**: 432.
- 133) Lineweaver, H. & G. A. Ballou (1945): Arch. Biochem. **9**: 373.
- 134) Tzerevitinow, N. A. (1931): Chem. Abstr.
- 135) 今原広次・中浜敏雄 (1963): 京府大学報・農. **15**: 89.
- 136) Kaji, A. (1956): Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **20**: 8., (1959): *ibid.* **23**: 131.
- 137) 鈴木恕・阿部岳・涌出道子・西沢一俊・黒田彰夫 (1967): 醸工. **45**: 73.
- 138) 遠藤章 (1963): 日本食品工業学会誌. **10**: 237.
- 139) 梶明・田川清・山下昌之 (1966): 農化. **40**: 209.
- 140) 梶明・田川清 (1964): 農化. **38**: 580.
- 141) Kaji, A., H. Taki, A. Shimazaki & T. Shinkai (1963): Tech. Bull. Fac. Agr. Kagawa Univ. **15**: 34.
- 142) 梶明・田川清・元山浩二郎 (1965): 農化. **39**: 352.
- 143) Kaji, A., K. Tagawa & K. Matsubara (1967): Agr. Biol. Chem. **31**: 1023.
- 144) 梶明・穴吹吉夫 (1955): 農化. **29**: 775.
- 145) Byrde, R. J. W. & A. H. Fielding (1962): Nature **196**: 1227., (1965): *ibid.* **205**: 390.
- 146) Hirst, E.L. & J.K.N. Jones (1947): J. Chem. Soc. 1221.
- 147) Börjeson, H., P. Jerkman & B. Lindberg (19

- 63) : Acta. Chim. Scand. **17**: 1705.
- 148) Hirst, E. L., J. K. N. Jones & W. D. Walder (1947): J. Chem. Soc. 1225.
- 149) Lederberg, J. (1950): J. Bact. **60**: 381.
- 150) Jerkeman, P. & W. Denis (1912): J. Biol. Chem. **12**: 239.
- 151) 梶明(1966): 化学と生物. **4**: 409.
- 152) Ruschmann, G. & W. Bavendamm (1925): Zentr. Bakt. Parasitenk **64**: 340.
- 153) 井上雅資・岡田茂孝・福本寿一郎 (1967): 農化関西支部講演要旨第244回.
- 154) 朝井勇宣・斎藤日向(1950): 農化. **23**: 404. (1951): 農化. **25**: 307.
- 155) Cole, M. & R. K. S. Wood(1961): Ann. Bot., N. S. **25**: 435.
- 156) Bateman, D. F. (1963): Phytopathology **53**: 1178.
- 157) de Bary, A. (1886): Bot. Ztg. **44**: 409.
- 158) 皆川豊作・明賀佐嘉美(1943): 農化. **19**: 180.
- 159) Kertesz, Z. I. (1931): Fruit Products J. **11**: 10.
- 160) Green, E. & Z. I. Kertesz (1931): *ibid.* **11**: 44.
- 161) Beson, J. & W. Cruess(1941): *ibid.* **20**: 365.
- 162) 岩崎康男(1951): 日農研. No. 1.
- 163) 岩崎康男(1930): 糧食研究 **340**. (1940): 糧食研究 **1**. (1941): 糧食研究 **17**. (1944): 糧食研究 **1**.
- 164) Kertesz, Z. I. (1937): J. Biol. Chem. **121**: 589.
- 165) 福本寿一郎・辻阪好夫・岡田茂孝・東原昌孝・竹西繁行(1964): 農化関西支部講演要旨第214回.
- 166) Mottern, H. H. & C. H. Hills (1946): Ind. Eng. Chem. **38**: 1153.
- 167) Owens, H. S., R. M. Mc Cready & W. D. Maclay (1944): *ibid.* **36**: 936.
- 168) Bodnar, J. & L. Barta (1932): Biochem. Ztschr. **247**: 218.
- 169) Andreadis, T. (1929): *ibid.* **211**: 378.
- 170) Akkada, A. R. A. & B. H. Howard (1961): Biochem. J. **78**: 512.
- 171) 梶明・斎藤博(1952): 醸工. **30**: 242.
- 172) 梶明・三野正浩・穴吹吉夫・斎藤博 (1951): 香川大学報・農. **3**: 101.
- 173) 梶明・穴吹吉夫・斎藤博 (1951): 香川大学報・農. **3**: 106.
- 174) 梶明(1953): 農化. **27**: 855.
- 175) Behrens, J. (1902): Centr. Bakt. **8**: 295.
- 176) Störmer, K. (1904): *ibid.* **13**: 35.
- 177) Carbone, D. (1923): Zentr. Bakt. **59**: 287.
- 178) Schardinger, F. (1909): Centr. Bakt. **22**: 98.
- 179) Ruschmann, G. & W. Bavendamm (1925): Zentr. Bakt. **64**: 340.
- 180) Sjolander, N. O. & E. McCoy (1937): *ibid.* **97**: 314.
- 181) Weizmann, C. H. & E. Hellinger (1940): J. Bact. **40**: 665.
- 182) Potter, L. F. & E. McCoy (1952): *ibid.* **64**: 701.
- 183) 片桐英郎・中浜敏雄(1940): 農化. **16**: 832.
- 184) 片桐英郎・中浜敏雄 (1938): 農化. **14**: 1343, 1348, (1939): 農化. **15**: 207.
- 185) 中浜敏雄(1945): 紡織界 **1**.
- 186) 中浜敏雄・小沢潤二郎(1944): 農化. **20**: 229.
- 187) 中浜敏雄・小沢潤二郎・青木純次 (1944): 繊維学会誌. **1**: 476.
- 188) 中浜敏雄・青木純次(1950): 農化. **23**: 240.
- 189) 中浜敏雄(1950): 農化. **23**: 245.
- 190) 中浜敏雄・石田博之 (1953): 京府大学報・農. **5**: 183.

Zusammenfassung

Der Verfasser hat die Funktionen, die eine Gruppe von pektolytischen Enzyme aufweist, unter Berücksichtigung bisheriger Forschungsberichte in der Welt zusammenbringend dargestellt.

Dazu müssen zuerst die Kenntnisse von der chemischen Struktur der Pektinsubstanz, die noch nicht vollständig klargemacht ist, dargelegt werden.

In dieser Abhandlung werden die Funktionen einzelner Enzyme, welche der Gruppe von pek-

tolytischen Enzyme angehören, d. h. der Polygalakturonase, der Polymethylgalakturonase, der Pektinesterase, der Transeliminase, erläutert.

Dann wird das Problem der Mazeration, welche in letzter Zeit in bezug auf die Funktionen dieser Enzyme wissenschaftlich in Frage steht, dargestellt, und die Ansichten des Verfassers dazugelegt.

Zum Schluss wird die Nutzbarmachung der pektolytischen Enzyme erwähnt,