

# 酵素の高度利用技術に関する研究 —酵素による化合繊の改質加工技術—

茶谷悦司、北野道雄

## 要 旨

ポリエステル（PET）繊維を酵素により改質する方法について研究し、改質した繊維の性能を評価した。その方法としては、モデル物質として低分子量芳香族エステル（エチレングリコールジベンゾエート）を選定し、これを分解し得る酵素を市販品及び土壤中の微生物から探索した。その結果、この基質の分解能を有する市販酵素及び微生物の産出する酵素を見いだすことができた。これらの市販酵素を用いてポリエステル白布を処理し、各種性能評価試験を行ったところ、帯電特性、吸水性などに変化が認められた。

## 1. はじめに

プラスチックが我が国で使用されはじめてから約40年が経過し、今や我々の身の回りに種々のプラスチック製品が満ちあふれている。1995年の我が国の主要工業素材の生産量を比較するとプラスチックは鉄の15重量%弱の約1400万トンの生産量であるが、比重が鉄の約1/7であることを考えると容積としては鉄の1億トンの生産量に比肩する生産量であったことになる。当然のことながら、生産量の増加に伴って使用後排出されるプラスチックの量も増加し、その処理、再生方法については大きな社会問題となっている。

プラスチックの特徴の一つは“腐らない”

というところにあり、“腐らない”ということは微生物分解を受けないということに他ならない。従来の天然高分子材料などは“腐る”ことにより大地に還っていったわけであるが、近年登場したプラスチックはこの微生物による物質循環のサイクルに乗らず、廃棄物処理問題など様々な問題を惹起させている。

しかしながらプラスチックは微生物分解を全く受けないかというところでもない。1960年代以降、これらプラスチックの廃棄物処理問題が懸念され、汎用高分子を分解・資化する微生物の探索が続けられ、合成高分子の化学構造とその微生物分解性との関係につき多くの知見が蓄積された。C-C結合を主鎖とする合成高分子については、ポリエチレン<sup>1)</sup>、ポリビニルアルコール（PVA）などにつき微生物分解挙動が研究され、分子量20,000～90,000のPVAを完全に分解する *Pseudomonas* 属の分解菌が単離されている<sup>2)</sup>。エーテル結合を主鎖とする合成高分子についてはポリエチレングリコール（PEG）について研究され、分子量10,000のPEGを分解する *Pseudomonas* 属の細菌が単離された<sup>3)</sup>。エステル結合を主鎖とする合成高分子については、ポリエチレンアジペート<sup>4)</sup>、ポリカプロラクトン<sup>5)</sup> などについて研究され、それぞれを分解する微生物が単離されている。その一方、ポリエチレンテレフタレート（PET）のような芳香族ポ

リエステルの微生物分解は極めて困難であることが見出されている<sup>6)</sup>。

そこでここでは、微生物分解が困難とされているポリエチレンテレフタレート(PET)を分解・資化することができる微生物を集積培養法により土壤中から単離することを目標に研究を進めることとした。また同時に、脂肪族ポリエステルを分解することが明らかになっているリパーゼ(市販品)を用いてポリエステル(PET)繊維を処理し、繊維の物性に対する影響を評価することにより、ポリエステル繊維加工に対する酵素適用の可能性を検討した。

## 2. 実験

### 2.1 集積培養法による芳香族エステル分解・資化性菌の探索

#### (1) 試験に用いた芳香族エステル試料

ポリエチレンテレフタレート(PET)試料は、JIS染色堅牢度試験用添付白布を粉砕機でパウダー状に粉砕したものをを用いた。PET加水分解物は、JIS添付白布を10%のNaOH水溶液で10分間沸騰処理した後白布を取り出し、残液を20%塩酸で中和処理し、5000rpm×10分間遠心分離して沈殿物を得、これを乾燥、粉砕したものをを用いた。芳香環のとなりにエステル結合を持つ化合物、テレフタル酸ジエチル、テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル)、エチレングリコールジベンゾエートは試薬をそのまま用いた。

#### (2) 土壌試料の採取

名古屋大学周辺、尾張地区を中心に、畑土壌、貧栄養と思われる道沿いの土、ゴミ処理場の土などから38種を採取した。採取方法は一般的な方法に従い、表層を2~3mmかき除き、深さ3~5cm程度までを採取し、ビニール袋に入れ、スクリーニングのための試料とした。

#### (3) 土壌試料からの芳香族エステル分解・資化性菌の分離

採取した38種類の土壌サンプルを用いて(1)に示した5種類の芳香族エステルを炭素源として利用する微生物を集積培養を行うことにより、分離することを試みた。

芳香族エステルを唯一炭素源とする表1に示す組成の液体培地4mlを試験管に分注し、約1gの土壌サンプルをその中に加えて、7日間、30℃で振とう培養した。7日後、その培養液200 $\mu$ lを新しく調製した液体培地に植えついだ。

表1 液体培地組成

芳香族エステル <sup>1)</sup>	0.2g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.2g
Yeast extract	0.02g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.4g
Tap Water	200ml

(3N HCl でpH7.0に調整)

- \*1) 芳香族エステル
- ①ポリエチレンテレフタレート(粉砕品)
- ②テレフタル酸ジエチル
- ③テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル)
- ④エチレングリコールジベンゾエート
- ⑤ポリエチレンテレフタレート(加水分解品)

この操作を4回繰り返した後、培養液に濁りの認められるものにつき表2、3に示す寒天平板培地に上記の培養液を白金耳塗布して、生成したコロニーを拾い上げ、液体培地にもどし、さらに7日間30℃で振とう培養した。この培養液を表3に示す寒天スラント培地に植菌し保存した。

つぎにこの培養液を15,000rpmで10分間遠心分離し、上清と沈殿物とに分け、低温庫で保存した。

表2 寒天培地組成

芳香族エステル <sup>*)</sup>	0.5g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.25g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0g
Tap Water	500ml
寒天粉末	7.5g

(3N HCl でpH7.0に調整)

\*1) 芳香族エステル

②テレフタル酸ジエチル

③テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル)

④エチレングリコールジベンゾエート

表3 寒天培地組成 (LB培地)

Tryptone	10.0g
Yeast extract	5.0g
NaCl	10.6g
Tap Water	1000 ml
寒天粉末	15.0g

\*) PET粉砕品、加水分解品に用いた。  
また全ての菌の保存用に用いた。

## 2.2 薄層クロマトグラフィー (TLC) による芳香族エステル分解活性の評価

2.1 (3) で得た培養液の上清と、菌体を含む沈殿物を生理食塩水 (1% NaCl) 中に懸濁させた液体とを、それぞれのエステル基質とインキュベータ中で30℃、20時間反応させた。同様にして、市販リパーゼと基質とを反応させた。この反応後の液体を、シリカゲルを塗布した20×10cmのアルミニウム薄板プレート (25TLC aluminium sheets Silica gel

60F<sub>254</sub>)の下端から1~2cmのところ10μlづつ点状に添着し、密閉できる展開そうに入れ、上昇法によって試料の添着位置から約8cm展開した。展開後、展開そうからプレートを取り出し、乾燥させた後、2,7-ジクロロフルオレセインを塗布し、紫外線ランプ下で基質の分解の有無を観察した。

## 2.3 市販リパーゼを用いたポリエステル (PET) 白布およびフィラメント糸の処理

### (1) ポリエステル白布及びフィラメント糸試料

洗浄処理を行ったJIS染色堅牢度試験用ポリエステル白布と、150Dのポリエステルフィラメント糸を用いた。

### (2) 使用した酵素剤及び処理条件

表4に使用した市販酵素剤の起源、至適pH、至適温度などを示す。ここではこれらを特に精製することなくそのまま用いた。そして(1)の試料を、酵素剤量:100%owf、浴比:1:70、至適温度、至適pHで5時間処理した。その後、90℃、20分間失活処理した。

### (3) 酵素処理効果の評価

#### 1) 帯電特性評価

酵素処理した白布の帯電特性を、スタチックオネストメータH-0110 (シンド静電気株

表4 使用したリパーゼ一覧

記号	起 源	至適温度 (°C)	至適pH	活性 (units/g)
LA	(酵母)	40~45	7.0	10,000
LB	<i>Rhizopus oryzae</i>	40	7.0	150,000
LC	<i>Candida rugosa</i>	45	7.0	30,000
LD	<i>Pseudomonas cepacia</i>	40	7.0	16,000
LE	<i>Mucor javanicus</i>	35	7.5	10,000
LF	<i>Aspergillus niger</i>	45	6.5	60,000
LG	<i>Rhizopus niveus</i>	40	7.0	30,000
LH	<i>Hog pancreas</i>	30	8.0	750
LI	<i>Candida cylindracea</i>	40	7.0	360,000
LJ	(細菌)	35	7.0	100,000
LK	<i>Pseudomonas cepacia</i>	60~65	7.0	2,500,000

式会社製)を用い、織物及び編物の帯電性試験方法(JIS L 1094 A法)で評価した。ただし、相対湿度については65%で測定した。

## 2) 吸水特性評価

酵素処理した白布の吸水速度を、JIS L 1096 A法(滴下法)で評価した。

## 3) 強伸度評価

酵素処理したフィラメント糸の強伸度を、試料長20mm、引張速度20mm/min、20℃、65%RHで測定した。

## 4) 電子顕微鏡での表面観察

酵素処理した白布の繊維表面の状態を、走査型電子顕微鏡(日本電子株式会社製JSM-T330)で観察した。

## 5) 染色性評価

酵素処理した白布を以下の条件で染色し、そのK/S、色差などを分光光度計カラー-7(クラボウ製)で評価した。

染料: Kayalon Polyester Blue RGF  
3%owf

助剤: 分散剤 1g/l

酢酸/酢酸ナトリウム pH5に調整

昇温条件:



## 6) 風合い計測

KES-FBシステム(カトーテック製)を

用いて、酵素処理した白布の風合い変化を測定した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 集積培養法による芳香族エステル分解・資化性菌の分離実験結果

集積培養法(enrichment culture)とは、試料を特定の条件で培養することにより、目的とする微生物を増殖、分離する方法のことである。微生物の増殖、代謝に影響する環境因子として栄養源(水、炭素源、窒素源、無機塩類、生育因子)、温度、pH、酸素などがあり、ここでは炭素源として芳香族エステルを与え、これを分解・資化する微生物を増殖・分離しようとするものである。

テレフタル酸エステルを唯一炭素源として集積振とう培養によりスクリーニングを行った結果を表5に示す。集積振とう培養を4回繰り返した後、培養液に濁りの認められたものの数は、炭素源として用いた基質毎に、PET粉碎品で3種、テレフタル酸ジエチルで10種、テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル)で13種、エチレングリコールジベンゾエートで12種、PET加水分解品で6種であった。微生物の増殖を意味する培養液の濁り具合は、低分子量芳香族エステルを基質としたものには濃いものが多く、PET粉碎品を基質としたものはほとんど透明に近かった。これは、PETが微生物が菌体外に分泌する分解酵素に

表5 集積培養法による芳香族エステル分解・資化性菌の分離実験結果

基質(炭素源)	4回振とう培養後濁りの認められたもの <sup>*1)</sup>	釣菌したコロニーの数 <sup>*2)</sup>
PET粉碎品	3	10
テレフタル酸ジエチル	10	29
テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル)	13	45
エチレングリコールジベンゾエート	12	37
PET加水分解品	6	21

\*1) 分離源土壌試料数38中の数

\*2) エチレングリコールジベンゾエート以外の基質については分解活性未評価

より作用を受けにくいことを示している。

集積培養は、特定の性質を有する微生物を増殖するのに好適であるが、単一の微生物からなる培養系には至っていない。そこで、集積された菌を純粋分離するために表2, 3に示した寒天平板培地に上記培養液を白金耳塗布し、コロニーを生じさせ、釣菌した。純粋分離を行う上での注意点としては、テレフタル酸のような難分解性物質を基質にした場合、本来の分解菌と非分解菌もしくは分解中間代謝産物を基質にして生育する菌等を分離するのが困難である場合があることがあげられる。そこで、純粋分離のために調製した寒天平板培地には酵母エキスを配合せず、真にテレフタル酸エステルを資化する菌を拾い上げるよ

うにつとめた（ただし、PET用には表3に示したLB寒天平板培地を用いた）。

釣菌したコロニーの数は基質毎にPET粉砕品で10株、テレフタル酸ジエチルで29株、テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル)で45株、エチレングリコールジベンゾエートで37株、PET加水分解品で21株であり、合計142株となった(表5)。

### 3.2 薄層クロマトグラフィー (TLC) による芳香族エステル分解活性の評価結果

集積培養で単離された菌の中には分解中間代謝産物や基質中に混入した炭素源を資化しているものも含まれていると考えられるため、薄層クロマトグラフィー (TLC) により、純

表6 基質/酵素反応条件、TLC展開条件と結果

基質	反応条件	TLC展開条件 <sup>1)</sup>	結果
エチレングリコールジベンゾエート (EGDb)	① (0.1M EGDb (ジエチルエーテル) 50 $\mu$ l) (上清、沈殿物懸濁液 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	ジエチルエーテル50 $\mu$ l 加え、上層を 10 $\mu$ l添着	EGDbとBAがうまく 分離できる
	② (0.1M EGDb (ジエチルエーテル) 50 $\mu$ l) (市販リパーゼ1% sol. 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	ジエチルエーテル50 $\mu$ l 加え、上層を 10 $\mu$ l添着	EGDbとBAがうまく 分離できる
テレフタル酸ジエチル (TPADet)	③ (1M TPADet (メタノール) 10 $\mu$ l) (上清 90 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	そのまま 10 $\mu$ l添着	スポット現れず
	④ (1M TPADet (メタノール) 10 $\mu$ l) (上清 90 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	メタノール200 $\mu$ l 加え、10 $\mu$ l添着	TPADetのスポット のみ現れる
	⑤ (0.1M TPADet (ジエチルエーテル) 50 $\mu$ l) (上清、沈殿物懸濁液 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	ジエチルエーテル50 $\mu$ l 加え、上層を 10 $\mu$ l添着	TPADetのスポット のみ現れる
	⑥ (0.1M TPADet (ジエチルエーテル) 50 $\mu$ l) (上清、沈殿物懸濁液 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	10N NaOHを10 $\mu$ l 加え、10 $\mu$ l添着	NaOHが基質を分解し TPAのスポットが現れる
	⑦ (0.1M TPADet (ジエチルエーテル) 50 $\mu$ l) (上清、沈殿物懸濁液 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	ロータリエバポレータで 溶媒をとばした後 ジメチルホルムアミド100 $\mu$ l で溶解、10 $\mu$ l添着	TPAのスポットが現れ ず
テレフタル酸ビス(2-ヒドロキシエチル) (TPAHet)	⑧ (0.1M TPAHet (水) 50 $\mu$ l) (上清、沈殿物懸濁液 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	10N NaOHを20 $\mu$ l 加え、10 $\mu$ l添着	NaOHが基質を分解し TPAのスポットが現れる
	⑨ (0.1M TPAHet (水) 50 $\mu$ l) (上清、沈殿物懸濁液 50 $\mu$ l) 30 $^{\circ}$ C $\times$ 20hrs	ロータリエバポレータで 溶媒をとばした後 ジメチルホルムアミド100 $\mu$ l で溶解、10 $\mu$ l添着	TPAのスポットが現れ ず

1) 展開溶媒組成: 1-プロパノール/25% NH<sub>3</sub>=50/50

粹分離した菌のテレフタル酸エステルの分解活性の有無を評価することとした。

#### (1) TLC展開条件の検討

展開溶媒については、各基質とその分解生成物であるテレフタル酸あるいは安息香酸とを分離識別する能力を有する配合とする必要がある。検討の結果、(1-プロパノール/25%NH<sub>3</sub>水=50/50)の展開溶媒組成で最も良好な結果が得られることがわかった。

酵素と基質を反応させる際の溶媒組成は、酵素活性を妨げるものであってはならない。また、TLCで展開する際の溶媒組成は、基質を分解することなく基質と分解生成物両方を溶かすことができるものとする必要がある。各基質につき溶媒に対する溶解性や展開条件を検討した結果を表6に示す。エチレングリコールジベンゾエートを基質とした場合については、最適条件が見つかり、酵素の分解活性を評価することができた。他の4種の基質の分解活性評価法を確立することが課題として残った。

#### (2) 釣菌した微生物及び市販リパーゼの芳香族エステル分解活性の評価

集積培養で得た培養液を遠心分離することにより得たエチレングリコールジベンゾエート分解酵素を含有していると思われる上清と、菌体を含有する沈殿物を生理食塩水(1% NaCl)中に懸濁させた液体とをエッペンドルフチューブにそれぞれ50 $\mu$ lづつとり、0.1Mのエチレングリコールジベンゾエート(ジエチルエーテル溶媒)50 $\mu$ lと混合させ、インキュベータ中で30 $^{\circ}$ C、20時間反応させた。反応後、ジエチルエーテルを50 $\mu$ l加え攪拌し、上層のエーテル層を10 $\mu$ lとり、TLCで展開した。上清と基質を反応させた後、変化の認められたものは9種あった。沈殿物の懸濁液と基質とを反応させた後、明らかに基質

のエステル結合が切れ、安息香酸が生成していることが認められるものが(安息香酸標品と同じ位置にスポットが現れる)13種あった。上清の試験結果は安息香酸の生成が明らかでなく、反応条件等を含め、再度確認の必要がある。懸濁液の結果は明らかに安息香酸の生成が認められ、エチレングリコールジベンゾエートのエステル分解活性を有している微生物の存在が認められた。

同様に、市販リパーゼのエチレングリコールジベンゾエート分解活性を評価した結果を表7に示す。この結果から、この基質を分解できるリパーゼが、生物界に広く分布していることがわかった。

表7 市販リパーゼのエチレングリコールジベンゾエート分解活性評価

リパーゼ	基質分解活性の有無*
LA	-
LB	-
LC	-
LD	+
LE	+
LF	+
LG	-
LH	+
LI	-
LJ	(未評価)
LK	+

+:分解活性あり      -:分解活性なし  
\*)分解生成物(安息香酸)スポットの有無で評価

### 3.3 市販酵素で処理したポリエステル白布及びフィラメント糸の特性評価結果

#### (1) 走査型電子顕微鏡観察

写真1に未処理の、写真2に酵素(リパーゼLD)で処理したポリエステル繊維の電子顕微鏡写真を示す。酵素処理した繊維表面にポイドが若干認められ、酵素作用を受けた分解物(元々存在するオリゴマーなども含まれると思われる)が表面に付着しているのが認められる。

酵素作用によるPETの溶解機構は、水酸化

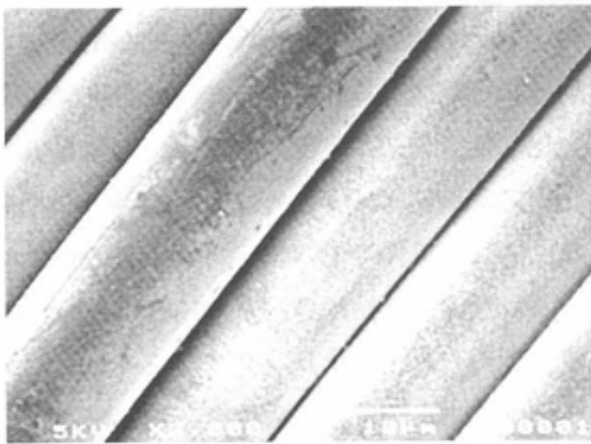


写真1 未処理ポリエステル電子顕微鏡写真

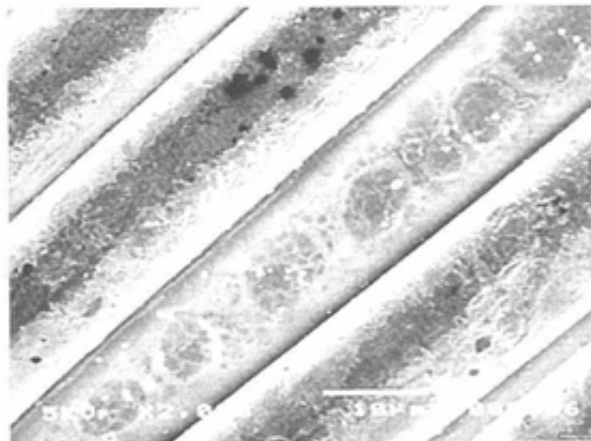


写真2 リパーゼLDで処理したポリエステルの電子顕微鏡写真

ナトリウム溶液などのアルカリ作用による加水分解とは本質的に異なっている。PETのアルカリ加水分解作用において繊維内部への水酸イオンの浸透は、繊維構造の緻密性、疎水性と生成するカルボキシレートイオンの反発にあって非常に遅いため、繊維外部表面から一様に溶解が進む結果繊維は全体に細くなる。一方酵素は、PETの表面にとどまらず、非晶部から部分的に加水分解し、PETをフィブリル化させて多数のクラック、ポイドを発生させる。

佐藤は、*Cladosporium cladosporioides* FERM J-8菌の酵素を用いて、ポリエステルフィラメント及びフィルムを処理し、処理後の繊維表面の状態変化や機械的性質の変化な

どについて調べた<sup>7)</sup>。この菌が分泌する分解酵素の作用により、繊維表面に多数のクラックやポイドの発生が認められた。そこで示された表面状態を観察した電子顕微鏡写真と写真2を比較すると、クラックやポイドの発生状態がかなり異なっているのがわかる(写真2の方がクラックなどの発生量が少ない)。

これら処理効果の差は、実験に用いた基質、酵素の違い、また反応条件の違い(酵素濃度、時間等)からくるものと考えられるが、難分解性といわれているポリエステル繊維が酵素作用を受けたことが本実験においても認められた。

## (2) 引張試験評価結果

PETの酵素処理においては、PETの強い疎水性と酵素がエンド型であることが起因して、試料や作用条件が同一でも不均一に反応し、作用を受けた部分や程度に差が生じ、引張試験における応力-歪曲線も様々なタイプの破壊を示すといわれている。

ここでは破壊機構を特徴別に分類することなく、強度と伸度の変化率の平均値をもって酵素作用の程度を評価した。図1に酵素処理したフィラメント系の引張試験結果を示す。

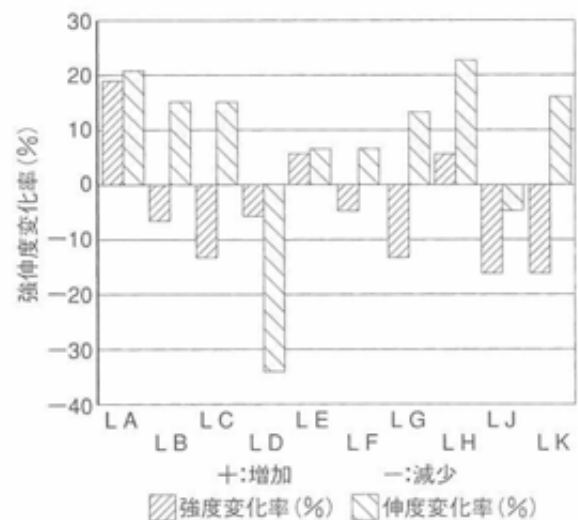


図1 リパーゼで処理したポリエステルフィラメントの強伸度変化率

最大で15%程の強度低下を示すものがあった。酵素の種類によりPETに対する作用の機構、程度に差があることがわかる。

### (3) 帯電特性及び吸水速度評価

図2に酵素処理したポリエステル白布の帯電特性測定結果を、図3に吸水速度評価結果を示す。全ての試料において吸水速度が速くなっており、なかでもLD、LG、LJ、LKで顕著であった。これらの結果と先の電子顕微鏡観察、引張試験結果をあわせて考えると、これら酵素の作用によりポリエステル繊維にクラックやボイドが発生し、ぬれ易くなっていることがわかる。

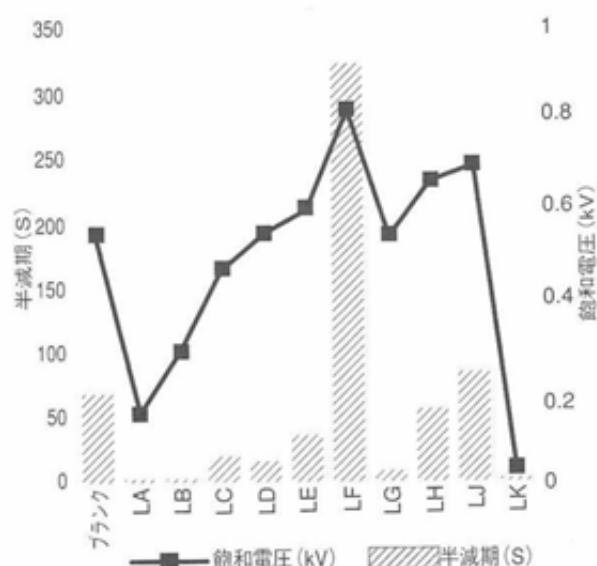


図2 リパーゼで処理したポリエステルの帯電特性

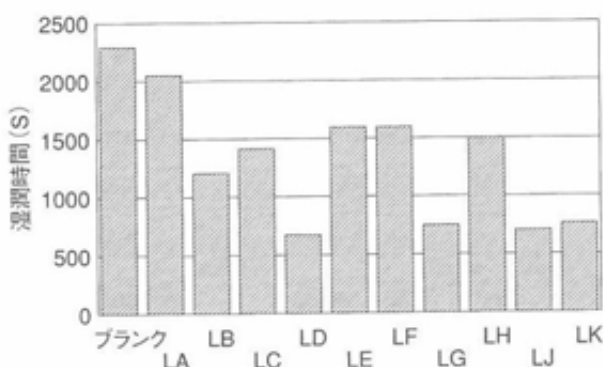


図3 リパーゼで処理したポリエステルの吸水速度 (JIS L 1096 A法 (滴下法))

また帯電特性については、LA, LB, LKにおいて半減期が顕著に減少し、酵素加工により静電気の漏洩効果が付与されたことがわかる。

### (4) 酵素処理ポリエステルの染色性評価

図4に染色した酵素処理ポリエステルのK/S変化率を示す。すべての試料においてK/Sが増加しており、最大10%程度の増加を示した。引張強度評価結果などとあわせて考えると、酵素作用をより受けたと思われるものについてK/Sの増加が顕著にみられるようである。

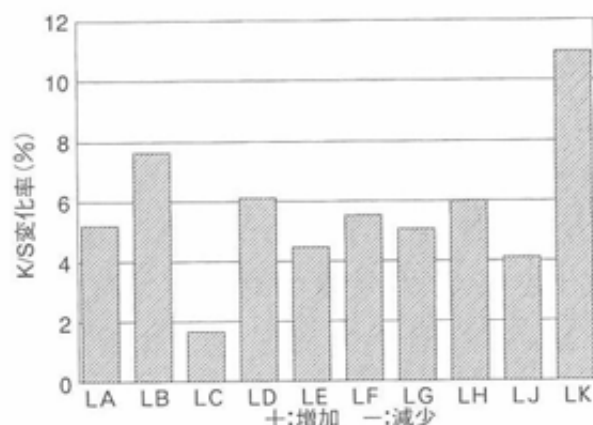


図4 リパーゼ処理ポリエステルの染色濃度

### (5) 酵素処理ポリエステルの表面特性

酵素処理ポリエステルの表面特性を

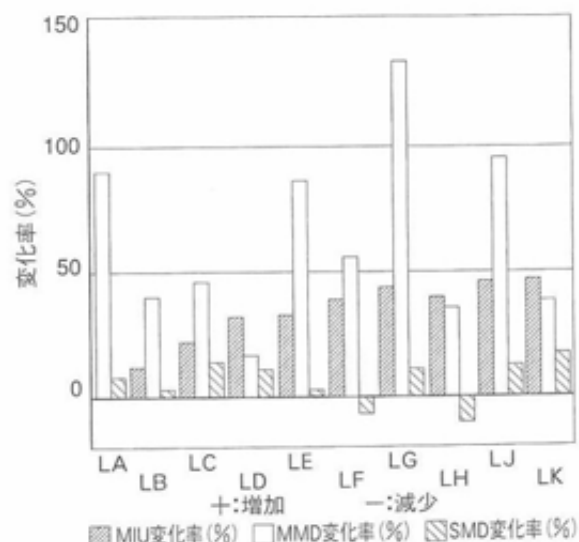


図5 リパーゼで処理したポリエステルの表面特性変化率



KES-FB4により測定した結果、MIU（摩擦係数）とMMD（摩擦係数のばらつき）が増加した（図5）。繊維表面自体の変化と、酵素作用を受け繊維表面に付着した分解物の存在のためと考えられる。

#### 4. おわりに

集積培養の実験結果から、PETの微生物による分解・資化がかなり困難であることが確認された。一方、PET合成の原料として用いられる芳香族エステルモノマーについては、これらを分解する菌体外酵素を分泌する微生物の存在が確認できた。

市販リパーゼを使用したポリエステル布及びフィラメント糸の処理実験結果から、ポリエステルが酵素作用を受け、吸水速度や帯電特性に変化が認められることがわかった。しかしながら、ポリエステル加工に酵素を適用するためには、①ポリエステルに対しさらに高い分解活性を持つこと（基質特異性の改善）、②少量、短時間の処理で改質効果が得られること、③化学薬品処理で得られない実用上有用な性能が発現することなどの条件が満たされなくてはならない。そのためには、遺伝子工学、タンパク質工学的アプローチでポリエステルなどの合成高分子に作用するスーパー酵素を創製することが必要であると思われる。これができれば、地球環境保護とい

う観点から繊維加工にも環境に対する配慮が今まで以上に求められる中で、酵素による繊維加工はさらに脚光を浴びるであろう。

#### 謝 辞

集積培養法による芳香族エステル分解・資化性菌の分離実験を行うにあたり多大なご助言、ご協力を賜りました名古屋大学農学部応用生物科学科分子生物学講座山根恒夫教授、岩崎雄吾助手に対し厚く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) A.C.Albertsson;*J.Appl.Polymer Sci.*,25,1655 (1980)
- 2) T.Suzuki, Y. Ichihara, M. Yamada, K. Tonomura; *Agric. Biol. Chem.*, 37,747 (1973)
- 3) N. Obradors, J. Aguilar; *Appl. Environ. Microbiol.*, 57,2383 (1991)
- 4) Y. Tokiwa, T. Suzuki; *J. Ferment. Technol.*, 52,393 (1974)
- 5) Y.Tokiwa, T. Ando, et al. ; *J. Ferment. Technol.*, 54,603 (1976)
- 6) 神野節子, 長野満, 山本良子; 昭和55年度繊維学会年次大会研究発表会要旨集, 84 (1980)
- 7) 佐藤睦子; 繊維学誌, 39, T209 (1983)