

# 寒天製造におけるセルラーゼ処理の効果\*

田川昭治・小島良夫

Effect of the Treatment of Agar-seaweeds by Cellulase  
on the Agar-agar Preparation

By

Shōji TAGAWA and Yoshio KOJIMA

For the purpose of increasing the yield of agar-agar and in order to improve the efficiency of extraction, the influence of cellulase treatment on the extraction of agar-agar from *Gelidium amansii* was investigated using commercial cellulase preparation derived from *Trichoderma*.

The results obtained are summarized as follows.

1. Residual by extracting agar-agar from seaweeds was decomposed by cellulase and yielded considerable amounts of reducing sugar. However, powdered agar-agar yielded little reducing sugar by cellulase treatment.
2. By cellulase treatment of *G. amansii*, formal change of visible appearance was not caused, but changes appeared in staining of seaweeds section by  $I_2$ -KI solution.
3. Cellulase treatment of *G. amansii* for 6 hrs. is not effective for increasing the yield of agar-agar, but to treat it for 24 hrs. is somewhat valid.

Considering the availability of cellulase treatment, the price and the effectual amount of cellulase preparation, it is difficult at present to use practically this procedure in agar-agar manufacturing industry.

セルロース分解性の酵素セルラーゼに関する研究は第二次大戦後急速に進展し、わが国でも外山<sup>1)2)</sup> や西沢<sup>3)</sup> による解説や、食品工業における応用の解説、研究<sup>4)~7)</sup> もかなり報告されている。

寒天原藻をセルラーゼ処理することにより、寒天質の抽出を容易にし、その収率および品質の向上をはかる試みは、外山<sup>8)9)</sup> や八賀・林<sup>10)</sup> らにより行なわれている。外山は、*Trichoderma* セルラーゼにより原藻を処理すると、藻体は対照に比べくずれ易く、また短時間の煮熟で良好な寒天収率を得たと述べている。一方八賀らはテングサ、ヒラクサおよびオバクサなどに対しては寒天収率におけるセルラーゼ処理の効果はほとんど無く、オニクサやトリアンなどでは収率が向上したと報告している。このように寒天製造におけるセルラーゼ処理の効果は研究者により、また使用する原藻や酵素剤の種類により異なっているように思われる。

著者らは *Trichoderma* セルラーゼによりテングサを処理し、その寒天抽出に及ぼす効果をしらべ、合わせてセルラーゼ処理によるテングサの組織の変化を顕微鏡観察によりしらべた。

\* 水産大学校研究業績 第454号, 1965年8月13日受理  
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No.454  
Received Aug. 13, 1965

## 実験方法および結果

### 1 セルラーゼによるテングサの寒天抽出残渣の分解

**材料：** テングサの加圧煮熟残渣（乾物）を基質として使用し、酵素剤としてセルラーゼ“オノヅカ”F-400（近畿ヤクルト K.K. 製）を使用した。これは *Trichoderma viride* の生産する酵素で、口紙崩壊度法<sup>1)</sup>による力価は400単位であり、至適 pH は 4.0 付近、至適温度は40°Cである。

**方法：** 酵素剤を所定濃度に溶解した酢酸塩緩衝溶液 100 ml（この酵素剤は不溶解部が多く添加量の約60%が溶解したにすぎなかった。）に前記のテングサ残渣 2.0 g を加え、40°C において時々フリマゼながら所定時間放置し、ガラスフィルター（No. 3）でろ過して残渣を分離し、ペルトラン法により酵素処理液の還元糖をグルコースとして定量した。対照として酵素を含まない緩衝液を用いて上と同様に処理して還元糖を求め、その値を差しひいたが、この酵素剤自身の還元糖はきわめてわずかであった。

**結果：** 生成グルコースに対する酵素処理液の pH と処理時間および酵素剤濃度の影響は第1図および第2図のとおりである。第1図に見られるように pH 4.0 の時の酵素活性が pH 5.0 の場合より大きく、

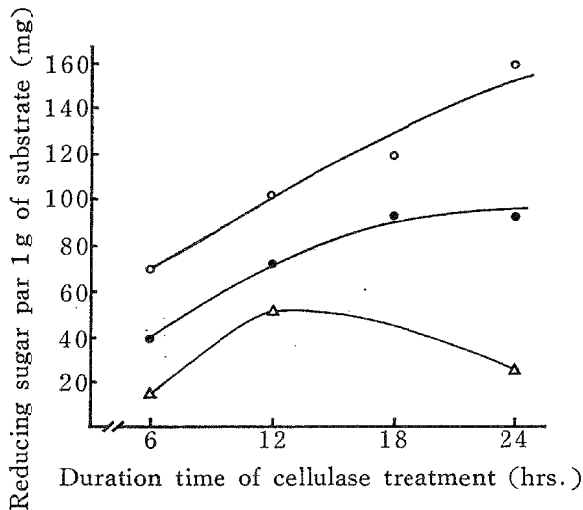


Fig. 1. Effects of pH and duration time of cellulase treatment on the degradation of residual seaweeds.

○ : pH 4.0, ● : pH 5.0,  
△ : unbuffered distilled water

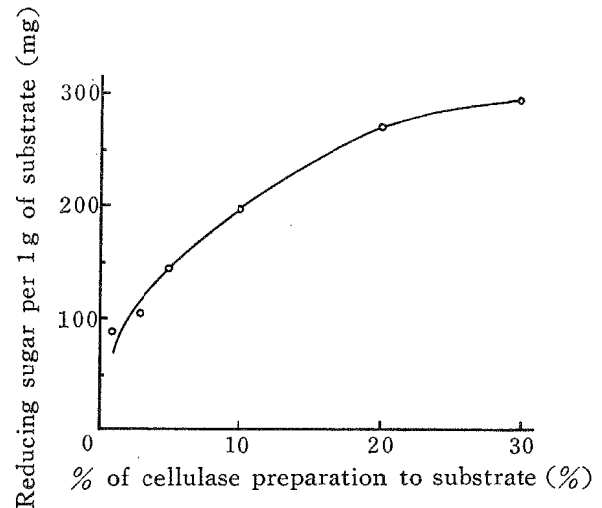


Fig. 2. Effect of cellulase concentration on the degradation of residual seaweeds.  
cellulase treatment: pH 4.0, 40°C, 24 hrs.

pH 4.0 における 10 時間の処理は pH 5.0 の 24 時間の処理効果に相当する。しかしいずれも 18 時間付近から反応速度が幾分低下した。蒸溜水にセルラーゼを溶解した処理液では 12 時間以降において還元糖の量が減少している。これは還元糖を消費する微生物の繁殖によるものとも考えられるが確認はしていない。セルラーゼ処理した残渣はいずれも対照よりもろく、くずれ易い状態になっていることが肉眼的に観察された。また酵素剤の量の影響は、第2図に見られるように、基質の還元糖生成量は酵素量とともに増加しているが、酵素量には比例せず、また一次反応的にも進まない。

## 2 テングサ寒天に対するセルラーゼの作用

実験に使用した酵素剤は精製された純粋なセルラーゼだけではないので、寒天質に作用する酵素が含まれる可能性もあると考えられる。そこで粉末のテングサ寒天を試料として、いろいろの pH における酵素剤の影響をしらべた。

材料： 基質として 100 メッシュのテングサ粉末寒天を使用し、酵素剤は 1 と同じものを使用した。

方法： 寒天重量の 30% に相当する酵素剤を溶解した酢酸塩緩衝溶液 100 ml に、前記の寒天 4 g を分散させ、40°C の恒温槽中で時々フリマゼながら 24 時間作用させたのち、ガラスフィルター (No. 3) で寒天を分離し酵素液の還元糖をベルトラン法によりガラクトースとして定量した。また寒天はメタノールによる脱水をくりかえしたのち乾燥し、その重量および 1.5% ゲルのゼリー強度を測定した。酵素剤を含まない蒸溜水で上と同様に寒天を処理して対照とした。

Table 1. Effect of cellulase treatment on the powdered agar.

A mixture of 4.0 g of powdered agar (100 mesh) and 1.2 g of cellulase preparation in 100 ml of acetate buffer solution was heated at 40 °C for 24 hours.

	Reducing sugar per 1 g of agar (mg)	Degree of decomposition <sup>1)</sup> (%)	Jelly strength of recovered agar <sup>2)</sup> (g/cm <sup>2</sup> )
control	2.06	0.2~0.3	470
pH 4.0	12.50	1.8~2.0	490
pH 5.0	14.70	2.1~2.5	460

1) Reducing sugar per 1 g of agar given by acid hydrolysis is about 600~700 mg.

2) Jelly strength of original agar is about 500 g/cm<sup>2</sup>.

結果： 第 1 表に示すとおりである。還元糖の生成は pH 5.0 の場合が pH 4.0 より幾分多い。しかしテングサ寒天の酸加水分解により、1g あたり約 600~700 mg の還元糖が生成されることを考えると、セルラーゼ処理による分解度は酸加水分解の 2.5% 以下である。また酵素剤を含まない蒸溜水だけによってもわずかながら還元糖が生成された。

回収した寒天のゼリー強度の低下は供試寒天に比べて 10~40 g/cm<sup>2</sup> であり、対照とほとんど差が見られなかった。

## 3 セルラーゼ処理した原藻より寒天の製造

### 3-1 セルラーゼ処理原藻の常圧煮熟

材料および方法： セルラーゼ「オノズカ」F-400 を pH 4.0 の酢酸塩緩衝溶液に 0.3% の濃度に溶解したものを酵素液とした。試料として充分水洗乾燥したテングサ (下関市吉見産) 30 g を三角フラスコに入れ、これに前記酵素液 900 ml を加えて、トルエン存在下 40°C で一定時間酵素処理した。酵素液を分離した後、処理藻をよく水洗し、水道水中に一夜浸漬して充分水切りした後、3 等分し、それぞれ還流冷却器を付した丸底フラスコに入れ、500 ml の蒸溜水とともに沸騰水浴で一定時間加熱して寒天質を抽出した。これを布ごしして残渣を分離し、抽出液を凝固、細断、凍結、融解、脱水、乾燥して寒天を得た。対照として酵素剤を含まない緩衝溶液で原藻を処理し同様に寒天を得た。

Table 2. Effect of cellulase treatment of agar-seaweeds on the extraction of agar-agar.  
cellulase treatment : pH 4.0, 40°C, 6 hrs. extraction of agar : boiling water bath

Extraction time (hr.)	TOKOROTEN		Agar-agar		Residual (%)
	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	Wt. (g)	Yield (%)	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	
1 { treated	430	445	29	990	64
1 { control	420	462	31	920	62
3 { treated	480	464	36	1000	47
3 { control	590	454	36	1000	53
5 { treated	510	467	38	910	44
5 { control	510	470	39	990	41

Table 3. Effect of cellulase treatment of agar-seaweeds on the extraction of agar-agar.  
cellulase treatment : pH 4.0, 40°C, 12 hrs.  
extraction of agar : boiling water bath

Extraction time (hr.)	TOKOROTEN		Agar-agar		Residual (%)
	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	Wt. (g)	Yield (%)	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	
1 { treated	320	455	26	1040	58
1 { control	230	460	23	1040	67
3 { treated	460	459	34	1070	49
3 { control	430	462	29	1080	52
5 { treated	520	457	39	970	49
5 { control	570	465	40	1040	47

Table 4. Effect of cellulase treatment of agar-seaweeds on the extraction of agar-agar.  
cellulase treatment : pH 4.0, 40°C, 24 hrs.  
extraction of agar : boiling water bath

Extraction time (hr.)	TOKOROTEN		Agar-agar		Residual (%)
	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	Wt. (g)	Yield (%)	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	
1 { treated	440	492	32	1100	52
1 { control	340	444	21	880	57
3 { treated	550	433	35	940	38
3 { control	430	461	33	990	55
5 { treated	440	—	40	880	38
5 { control	440	449	34	1040	52

結果：第2, 3および4表に示すとおりである。これらの実験は原藻をセルラーゼ処理することにより寒天質の抽出が容易になり、沸騰水浴中の加熱で抽出されることを期待して行なった。セルラーゼ処理した原藻は肉眼的に対照と差が認められず、また酵素液中にも還元糖の増加は見られなかった。しかしその後の煮熟により、セルラーゼ処理したものは対照より藻体がくずれ易く、また残渣も柔らかいのに対し、対照はかたくて両者の間に明らかな差が見られた。表に示すように6時間のセルラーゼ処理ではその効果はほとんど現われていない。しかし12時間の処理では短時間の加熱においては効果が見られ、24時間処理では寒天収率はいずれも対照より多く、また残渣量は少なく処理の効果が現われている。一般に酵素処理したも

のはトコロテンゾルの粘性が大きく、布ごしによりトコロテンゾルを残渣から完全に分離することが困難で、そのために残渣量は対照より少ないのに収量はそれほど向上しない場合がかなりあった。

### 3-2 セルラーゼ処理原藻の加圧煮熱

3-1 で述べたようにセルラーゼ処理した原藻は、口過の際トコロテンゾルの粘性が大きく、処理の効果が収率に反映されない場合があった。そこで加熱温度を高くして高粘性物質の一部を分解させ、収率の向上を試みた。

材料および方法： トコロテンゾルの粘性の大きい韓国産テングサを使用し、3-1 と全く同じ方法で酵素処理した。それを 500 ml の蒸溜水とともに、オートクレーブ中で 105°C、1 時間加熱して寒天質を抽出し、以下 3-1 と同様にして寒天を得た。対照として酵素剤を含まない酢酸塩緩衝溶液で原藻を処理して、上と同様にして寒天を得た。

Table 5. Effect of cellulase treatment of agar-seaweeds on the extraction of agar-agar.  
cellulase treatment : pH 4.0, 40°C  
extraction of agar : 105°C, 1 hr.

Cellulase treatment (hr.)	TOKOROTEN		Agar-agar		Residual (%)
	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	Wt. (g)	Yield (%)	Jelly strength (g/cm <sup>2</sup> )	
6 { treated	550	453	51	690	36
6 { control	530	442	50	710	41
12 { treated	510	450	52	620	35
12 { control *	490	484	55	650	37
18 { treated	520	476	55	660	32
18 { control	540	451	53	660	40
24 { treated	570	452	54	700	34
24 { control	540	456	49	670	42

\* : The temperature rose to 110°C temporarily.

結果： 第5表に示すとおりである。いずれもトコロテンゾルの粘性は幾分低下し、残渣の分離が多少改善された。処理したものの残渣量はいずれも対照より少なく、寒天は処理したものが好収率を得た。また処理時間の増加にしたがい収率はわずかながら向上する傾向が見られた。

### 4 アルカリ処理した原藻のセルラーゼ処理

後に述べるようにアルカリ処理したテングサは、組織のヨウ素-ヨウ素カリウム染色性において変化が見られた。そこでまずテングサをアルカリ処理し、次いでセルラーゼ処理して寒天の製造を試みた。

材料および方法： 試料としてポルトガル産テングサを使用し、これを 1.5% 水酸化ナトリウム溶液とともに 60°C で 3 時間加熱し、以下常法にしたがいアルカリ処理テングサを得た。酵素剤としてメイセラゼ P (明治製菓 K.K. 製, *Trichoderma koningi* の生産酵素で口紙崩壊度法による力価は 1,000 単位、至適 pH 4.6~4.7、至適温度 45~50°C、溶解性は良好で水に完全に溶解したが、セルラーゼ "オノヅカ" と違って酵素剤 1 g 当たり約 0.541 g の還元性物質が含まれていた。) を pH 4.6 の酢酸塩緩衝溶液に所定濃度に溶解し遠心分離して上澄液を使用した。

前述のアルカリ処理テングサを細切乾燥し、5 g を精秤しセルラーゼ溶液 200 ml を加えてトルエン存在下、40°C で 24 時間酵素処理した。テングサを口別後、酵素液の還元糖をベルトラン法によりグルコースと

して定量し酵素剤自身の還元糖を差しひいた。一方酵素処理したテングサは水洗乾燥後、重量を測定し、これを蒸溜水 200 ml とともに還流冷却器を付した三角フラスコに入れ、直火で3時間加熱して寒天質を抽出し布でろ過した。抽出残渣は沸騰水でもみしぼる操作を2回くりかえして寒天質をできるだけしぼりだし、その液は前のロ液に合わせ以下常法にしたがい冷凍法により寒天を得た。別に酵素剤を含まない酢酸塩緩衝溶液でテングサを処理し、上と同じ操作により寒天を得、対照とした。

Table 6. Effect of cellulase treatment of alkali-treated seaweeds on the extraction of agar-agar.  
cellulase treatment : pH 4.6, 40°C, 24 hrs.  
extraction of agar : 100°C, 3 hrs.

		Concentration of cellulase (%)				
		0.0	0.2	0.4	0.6	1.0
sample wt.	(g)	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wt. after cellulase treatment	(g)	4.49	4.26	4.17	4.00	3.86
Reducing sugar per 1 g of sample	(mg)	0	11.6	18.7	17.5	51.4
Yield of agar-agar	(%)	46.9	49.2	48.1	45.6	46.7
Jelly strength of agar-agar	(g/cm <sup>2</sup> )	540	610	740	720	690
Residual	(%)	31.1	25.2	23.6	23.4	21.1

結果：第6表に示すとおりである。アルカリ処理テングサをセルラーゼ処理すれば15~23%の重量減少が見られた。これに対し対照は約10%の減少であった。またテングサを直接セルラーゼ処理した場合には還元糖の生成が認められなかったのに対し、この場合それが認められ、酵素量の増加とともに生成量も増加した。寒天収率はセルラーゼ処理区が幾分良好のように見受けられるが、かなりのバラツキがあり特に有意とは思われない。

この実験においても前の場合と同様、酵素処理後のテングサの形態には何ら変化がないが、煮熟操作において対照は長時間原形を保ちくずれにくく、液の粘性もあまり増大しないのに対し、酵素処理したものは約10分の煮熟で形のくずれ、液の粘性の増大が認められ、また抽出残渣が泥状となり、対照と明らかな差が観察された。

## 5 セルラーゼ処理テングサの顕微鏡観察

セルラーゼ処理によるテングサの組織の形態的变化を知る目的で、ポルトガル産テングサを使用して顕微鏡観察を行なった。

材料および方法：試料としてはポルトガル産のテングサ、アルカリ処理したテングサならびに0.4%のセルラーゼ溶液により40°Cで24時間処理したテングサを用いた。これらを氷結マイクローム法により20~30μの厚さに横断して切片をつくり、これをヨウ素—ヨウ素カリウム溶液で染色して検鏡した。

結果：第3、4および5図に示すとおりである。図からわかるようにセルラーゼ処理あるいはアルカリ処理によって、テングサの組織の形態には何ら変化が認められない。しかし処理を施していないテングサ(第3図)はヨウ素—ヨウ素カリウム溶液により染色されないのに対し、アルカリ処理したテングサ(第4図)は中央部分の髄部の細胞が赤紫色に染色され、またセルラーゼ処理したテングサ(第5図)は髄部細胞が暗紫色に、細胞間隙が赤褐色に染色された。相見<sup>10)</sup>によれば、デンプンおよびアミロデキストリンは青

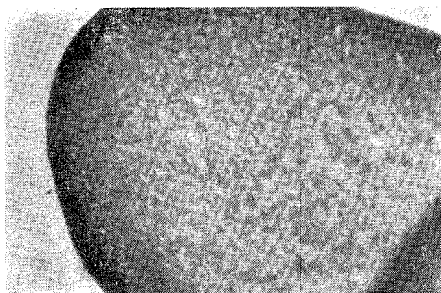


Fig. 3. Microscopic photograph of cross-sectioned algal body. (*Gelidium*)  
Cells can not stain by I<sub>2</sub>-KI solution.

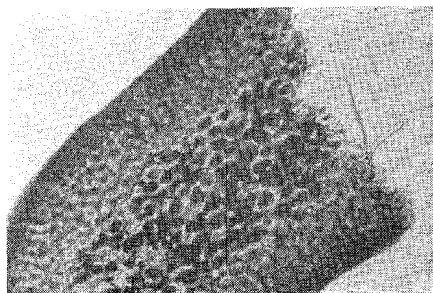


Fig. 4. Microscopic photograph of cross-sectioned algal body. (*Gelidium* treated with 1.5 % solution of sodium hydroxide at 60°C for 3 hrs.)

Medullary cells are stained in reddish violet by I<sub>2</sub>-KI solution.

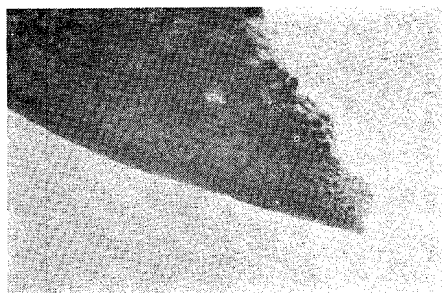


Fig. 5. Microscopic photograph of cross-sectioned algal body. (*Gelidium* treated with 0.4 % solution of cellulase preparation at 40°C, pH 4.6 for 24 hrs.)

By I<sub>2</sub>-KI solution, medullary cells are stained in dark violet, and intercellular substance in reddish brown.

く、エリスロデキストリンは赤く染色される。アルカリ処理やセルラーゼ処理を行なったテングサの染色が何を意味するかは明らかでないが、いずれにせよこれらの処理により形態的にはなんら変化が起こっていないにもかかわらず、組織の染色性には明らかな変化が起こることを示している。

## 考 察

近年の説<sup>1)~3)</sup>を総合するとセルロース分解性の酵素セルラーゼには2つの型すなわち C<sub>1</sub> および C<sub>x</sub> セルラーゼが存在するといわれている。C<sub>1</sub> セルラーゼは天然セルロースを膨潤させて C<sub>x</sub> セルラーゼの作用を受け易くするか、あるいは同じ目的で水素結合を破壊するかのいずれかの作用が考えられている。これに C<sub>x</sub> セルラーゼが作用してセロビオースにまで分解し、さらにセロビアーゼ、β-グルコシダーゼによりグルコースに分解されるといわれる。実験に使った酵素剤はこれらの酵素群の混合物と考えられ、セルロースを含む基質を酵素処理した時、その効果を判定するにはセロオリゴ糖などを指標とするのが直接的で妥当であ

ると考えられるが、本実験では実験の簡便さを考慮して還元糖の生成量を比較して酵素処理の効果を判定する指標とした。

テングサの加圧煮熟残渣を酵素処理した場合(第2図), pHが4.0あるいは5.0のいずれの場合も18時間付近から反応速度が幾分ゆるやかになっているが、これはpHの変化(24時間後にpH4.0および5.0の処理液がそれぞれ4.9および5.6に上昇した。),あるいは西沢<sup>3)</sup>が述べているように生成糖による酵素活性の阻害あるいは酵素の作用しにくい結晶部分だけが残るなどの理由が考えられる。

*Trichoderma koningi* を培養して得られたセルロース分解性の酵素メイセララーゼ(明治製菓K.K.製)はセルラーゼのほかに、アミラーゼ、キシラナーゼ、ペクチナーゼ、マルターゼ、サッカラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼその他の酵素を含む<sup>13)</sup>といわれる。実験に使用した *Trichoderma viride* の生産する酵素剤にも寒天分解力はわずかながら認められ(第1表)還元糖の生成量は対照より幾分多かったが、ゼリー強度の低下は対照とほとんど差がなかった。この実験に使った寒天は天然の紅藻中に存在するものを100°C以上に数時間加熱して抽出し、粉碎、乾燥などの処理を経て得られたものであり、重合度や結晶化度も天然のものより低下し、また分子もゆるんでいるものと考えられる。また100メッシュの粉末であるので表面積は大きく、酵素との接触反応も行なわれ易い状態にあるものと考えられる。それでもなお酵素による分解がごくわずかであることを考えると、天然の紅藻に存在する寒天質はセルラーゼ処理によりほとんど影響を受けないと考えても妥当であろう。

酵素液で処理した原藻は外観的には対照とほとんど差がないが、組織のヨウ素—ヨウ素カリウム染色性において変化が観察され、その後の煮熟により対照と顕著な差が現われた。このことは外山<sup>8)</sup>も述べているように、セルラーゼ処理は肉眼的に基質に変化が現われるまで行なわなくても、案外、基質の構造に変化が起こっていて、なんらかの後処理により変化が現われることを示している。

一方、テングサの加圧煮熟残渣あるいはアルカリ処理テングサのセルラーゼ処理液には還元糖が生成された(第1図および第5表)。これは加圧煮熟あるいはアルカリ処理などの操作によりテングサの組織になんらかの変化がおこり酵素が作用し易くなるためと考えられる。

セルラーゼ処理したテングサから寒天を製造する場合、外山<sup>8)9)</sup>が述べているような短時間(2~6時間)の酵素処理では収率に対する効果はなかったが24時間処理では幾分効果があった。しかしこの実験に使用した酵素剤は原藻重量の9%であり、外山は20~30%を使用している。現在酵素剤1gあたりの価格はテングサの約10倍であると思われるが、そのように高価なものを原藻の10%あるいはそれ以上使わねば効果が得られない現状では、寒天製造工業におけるセルラーゼの利用は困難であると思われる。

岡村ら<sup>14)</sup>によると、テングサにおいては寒天質は細胞間物質として存在し、特に髓部のやや大きい細胞間に多く存在し、また髓部細胞内にも少量存在するといわれる。このことから考えるとテングサに直接セルラーゼを作用させるより、まず藻体の表皮部の細胞を cell separating enzyme<sup>15)</sup> のようなもので破壊し、更にセルラーゼを作用させるなどの手段を用いた方がより効果的ではないかと考えられる。

## 総 括

寒天製造におけるセルラーゼの利用を検討し、次の結果を得た。

1. テングサの加圧煮熟残渣は *Trichoderma viride* のセルラーゼにより分解され還元糖を生成したが(第1, 2図), 粉末寒天はほとんど分解されなかった(第1表)。
2. セルラーゼ処理したテングサから寒天を製造する場合、6時間処理のものはほとんど効果がなかったが、24時間の処理により幾分収率が向上した(第2, 3, 4, 5表)。しかしながら酵素剤の価格ならびに使用量を考え合わせると、現在の段階では寒天製造工業におけるセルラーゼの利用は困難であろう。
3. テングサのセルラーゼ処理により外形的に組織の変化は認められなかったが、細胞のヨウ素—ヨウ素カ



リウム染色性に明らかな変化が認められた(第3, 4, 5図)。

終りに、有益な御助言と御援助をいただいた宮崎大学農学部 外山信男教授、酵素剤を提供していただいた近畿ヤクルトK.K. および明治製菓 K.K., 顕微鏡観察に協力をいただいた本校、尾形英二助教授ならびに実験に協力された太田義国、大内敏三の両氏に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 外山信男, 1957 : 醸酵工学, 35, 196~251.
- 2) ———, 1961 : ———, 39, 511~516, 627~631.
- 3) 西沢一俊, 1957 : 蛋核酵, 2, 12~21.
- 4) たとえば佐瀬 勝, 1962 : 食品工業, 5, 11号.
- 5) 田崎竜一・大上清治, 1961 : セルラーゼ研究会第1回シンポジウム記録, p. 23.
- 6) 伊木尚幸・大嶋二郎, 1963 : セルラーゼ研究会第2・3回シンポジウム記録, p. 64.
- 7) たとえば  
島藺平雄・安松克二・堀 四郎・備中住子, 1963 : セルラーゼ研究会第4回シンポジウム講演
- 8) 外山信男, 1962 : 醸酵工学, 40, 199.
- 9) ———, 1963 : 特許公報, 昭38—14364.
- 10) 八賀迪夫・林 金雄, 1963 : セルラーゼ研究会第4回シンポジウム講演
- 11) 北御門敬之・外山信男, 1961 : セルラーゼ研究会第1回シンポジウム記録, p. 1.
- 12) 相見霊三, 1953 : 細胞生理実験法, p. 188, 養賢堂.
- 13) 明治製菓株式会社, 1962 : “メイセラーゼ”.
- 14) 岡村金太郎・大石芳三, 1905 : 水講, 3, 93.
- 15) 外山信男, 1965 : 私信.