

## 和紙原料の醱酵精練に就て

### Ⅶ アセトン・ブタノール醱酵細菌による楮の醱酵精練に就て

梶 明, 穴 吹 吉 夫, 齊 藤 博

On the retting of plant fiber materials  
for Japanese paper manufacture

### Ⅶ On the retting of barks of paper mulberry tree by acetone butanol fermentation bacteria

By

A. KAJI, Y. ANABUKI and H. SAITO

(Laboratory of Technical Microbiology)

既報に於て著者等はアセトン・ブタノール醱酵細菌K17号による桑皮及び三椶の醱酵精練について報告した。続いて楮について実験した結果を本報に報告する。

### 実 験

#### I. 醱酵によるペクチンの分解

(1) 試 料 楮黒皮, 昭和24年徳島縣産のものを使用した。

(2) 使用細菌 *Clostridium acetobutyricum* に属する菌株で京都大学農学部片桐研究室で分離された菌株番号 K17 である。

(3) 操 作 楮25g, 井水 500cc の配合とし, 既報と同様の方法により殺菌し, pH を無菌的に 7.0 に調節し, K17号細菌の玉蜀黍培養液を接種して 42°C に於て 96時間醱酵した。醱酵後は楮を取出し, 表皮を除去し, 充分水洗した後繊維の開織状況を観察し, 乾燥, 粉砕してペクチンの分析を試みた。一方醱酵液をとり pH 及び酸度を測定した。

(4) 分析方法 ペクチンの分析は Nanji and Norman<sup>(1)</sup> の方法によつた。pH は東洋濾紙水素イオン濃度試験紙によつた。酸度は醱酵液 10cc をとり煮沸後フェノールフタレインを指示薬として N/10 苛性ソーダ溶液にて中和滴定して所要 cc 数を以て表示した。

#### (5) 実験結果

第1表 楮の醱酵成績

実 験 番 号	助 成 料	添 加 料 (対溶液%)	加 圧 殺 菌 の 部			常 圧 殺 菌 の 部		
			p H	酸 度	ペクチン 酸石灰%	p H	酸 度	ペクチン 酸石灰%
1	なし		4.2	2.3	0.80	4.0	2.2	1.37
2	米 糠	0.5	4.2	3.1		4.4	2.0	
3	〃	1.0	4.1	3.6		4.2	2.9	
4	大豆 粕	0.5	4.2	2.5		4.0	2.7	
5	〃	1.0	4.1	3.2		4.2	2.3	
6	蛹 粕	0.5	4.2	2.4	0.70	4.2	2.6	0.78
7	〃	1.0	4.2	2.7	0.71	4.2	3.2	0.69
8	玉蜀黍	0.5	4.2	3.5	0.58	4.0	3.6	0.98
9	〃	1.0	4.0	4.5	0.81	4.0	3.9	0.63
10	大豆 粕 (混合培養)	0.5	4.2	2.8	0.55			

(備考) 1. 原皮のペクチン酸石灰含量は加圧殺菌の部が 8.1%, 常圧殺菌の部が 6.66%

2. ペクチン酸石灰含量は対風乾体百分率
3. 混合培養は第4報<sup>(6)</sup>に於けると同様に、K17号細菌及びD2細菌の両菌株を接種した
4. 開繊状況は大差なかつた

II. 醱酵時間と繊維の化学成分量の変化

試料及び使用細菌は前記同様とし、助成料として大豆粕1% (対溶液百分率) を使用した。始發pHを7.0に調節して42°Cに於て培養した。醱酵時間12, 24, 48, 72, 96, 120, 168時間 毎にフラスコを取出して醱酵液のpH及び酸度を測定し、繊維については前記同様処理して第2報<sup>(2)</sup>に記載した如き標準木材分析法により分析を実施した。実験結果は第2表及び第3表に示す通りであつた。

第2表 醱酵液のpH及び酸度

醱酵時間	12	24	48	72	96	120	168
pH	4.2	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
酸度	1.7	2.4	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3

第3表 楮の醱酵精練に於ける化学成分量の変化

醱酵時間	12	24	48	72	96	120	168	原皮
水分	9.24	8.72	7.50	7.09	7.44	8.50	9.05	10.84
灰分	1.91	1.36	0.85	0.50	0.32	0.33	0.34	3.14
アルコール・ベンゼン抽出量	5.42	3.88	2.19	2.09	2.02	—	2.06	17.13
1% NaOH抽出量	33.73	24.53	17.47	14.95	15.62	14.07	13.02	51.16
ペクチン酸石灰	8.61	3.89	1.63	0.70	0.71	—	0.70	9.87
全繊維素	66.93	77.34	81.15	82.06	—	—	84.07	46.13
全繊維素中 { a	—	83.28	81.20	83.26	83.28	—	83.46	80.65
{ β+γ	—	16.72	18.80	16.74	16.72	—	16.54	19.35

III. 苛性ソーダによる楮の煮熟中の化学成分量の変化

醱酵法と比較する目的を以て0.2N苛性ソーダ溶液により楮を煮熟してその時間と化学成分量の変化との関係を観察した。実験結果は第4表に示す通りであつた。

第4表 0.2N苛性ソーダ溶液による楮の煮熟中の化学成分量の変化

煮沸時間(分)	1	3	6	12	30
水分	11.30	8.38	8.25	7.53	7.25
灰分	2.56	1.17	0.83	0.69	0.67
アルコール・ベンゼン抽出量	3.64	1.81	1.87	1.89	1.89
1% NaOH抽出量	26.01	18.83	13.12	12.91	7.07
ペクチン酸石灰	8.30	4.90	2.28	0.63	0.23
全繊維素	68.91	74.27	85.93	84.09	85.58
全繊維素中 { a	—	79.86	79.98	85.14	68.92
{ β+γ	—	20.14	20.02	14.86	31.08

(備考) 第3, 4表中水分は風乾体百分率, 他は絶乾体百分率

化学成分量の変化を醱酵精練中の変化と比較すれば次の通りである。

(1) 灰分 灰分量の減少はアルカリ法が最初急激であるが、約10分間煮熟より後は恒量となる。これに対し醱酵法は最初やや緩かに減少するが結局は減少度がアルカリ法より著しい。即ち精練繊維中の灰分残存量は醱酵法がアルカリ法より小である。これは楮のみならず、桑皮、三桠を通じて共通に観察出来る処である。

(2) 1%苛性ソーダ抽出量 減少率は醱酵法に於て緩慢で長時間醱酵後もアルカリ法とは尙減少率に於て12%の差を認める。

(3) アルコール・ベンゼン抽出量 醱酵法にては48時間後既に恒量となり、以後は如何に長時間醱酵を継続するも減少を認め得ない。アルカリ法は醱酵法より急激に減少し3分間の煮沸により殆ど恒量となり以後は減少しない。即ち醱酵、アルカリ両方法を通じて他成分と大なる相異をその減少状態に観察し得る。尙アルカリ法のみについては三極を使用して同様の傾向を前松<sup>(8)</sup>が観察している。

(4) 全繊維素及び $\alpha$ -繊維素 全繊維素量は醱酵、アルカリ両方法間に差を認め得ないが、 $\alpha$ -繊維素量は大なる相異を観察し得る。即ち醱酵法によるときは $\alpha$ -繊維素は比較的速かに一定量となり以後は醱酵を長く継続するもこの量に変化を認めない。これに対しアルカリ法によるときは12分間の煮沸を施した繊維中に最高値を認め、以後は減少する。

(5) ペクチン 醱酵72時間後、アルカリ煮沸12分間迄は減少曲線が殆ど同一であるが、醱酵法に於ては以後は減少を認め得ないに反し、アルカリ法では煮沸時間と共に漸減し30分後には含量が0.23%に迄低下する。即ち醱酵法によれば一定量以下には減少しないが、アルカリ法では含量皆無に近く、長時間煮沸すれば零になるものと推察される。

#### IV. 抄紙試験

桑皮<sup>(4)</sup>及び三極<sup>(5)</sup>の抄紙試験と同様にして楮の醱酵精練繊維を使用して抄紙試験を実施した。尙比較の目的を以て0.2N苛性ソーダ溶液を以て楮を煮熟した抄紙試験を併せて行つた。

##### (A) 醱酵緩慢なる楮を使用した抄紙試験

試料として昭和23年産の愛媛縣産楮を使用した。長期間貯蔵して細菌の酵素作用を受ける度がやゝ緩かである。

(1) 醱酵精練繊維 表皮を除去した楮830gを使用し、助成料として大豆粕を0.5%(対溶液百分率)添加して醱酵した。醱酵条件は前記実験(I)及び(II)と同様に実施し、時間は96時間とした。繊維の開繊は未だ完全でなかつた。醱酵液のpHは4.0、酸度は5.3であつた。又叩解後のショツパー・リーグラの叩解度は11であつた。

(2) アルカリ精練繊維 上記と同様なる試料を620gとり、10倍量の0.2N苛性ソーダ溶液にて30分間煮沸した。叩解度は10であつた。

##### (B) 醱酵順調なる楮を使用した抄紙試験

試料として昭和24年産の徳島縣産楮を使用した。細菌の酵素作用が順調に作用しペクチン分解状況も良好であつた。

(3) 醱酵精練繊維 実験(1)と同様に抄紙試験を実施した。醱酵液のpHは4.0、酸度は3.4、繊維の叩解度は12であつた。

(4) アルカリ精練繊維 実験(2)と同様に抄紙試験を実施した。叩解度は12であつた。

##### 紙の強度

第6報<sup>(6)</sup>と同様の測定器を使用して紙の物理的性質を測定した結果は第5表に示す通りであつた。

実験結果によれば試料の差による強度の差は認め得る。即ちペクチン分解やゝ困難なる紙実験番号(1)及び(2)はペクチン分解容易なる試料の紙実験番号(3)及び(4)より強度が大であつた。これに対し醱酵、アルカリ両方法の方法の差による強度の差は大なるものでなかつた。即ち第5表中(1)、(2)の間及び(3)、(4)の間には大差を認めない。

尚紙の白色度及び光沢についても四種類の紙の間に大差はなかつた。唯実験番号(1)の紙即ちペクチン分解やゝ困難なる試料を使用して醱酵法により抄紙した紙は少量の繊維束を認めた。

第5表 紙の強度

精練条件	厚さ (1/10mm)	重量 (g/m <sup>2</sup> )	緊度 (kg)	破裂強 (kg/cm <sup>2</sup> )	比破裂強 (%)	
(A)	(1) 醱酵法	0.59	32	0.54	1.73	5.46
	(2) アルカリ法	0.59	28	0.48	1.40	4.95
(B)	(3) 醱酵法	0.61	32	0.52	1.55	4.87
	(4) アルカリ法	0.50	27	0.55	1.23	4.48

抗張力 (kg)		断裂長 (km)		伸張率 (%)	
縦	横	縦	横	縦	横
4.53	1.28	8.31	2.40	1.55	0.76
3.93	1.59	8.09	3.40	1.16	0.45
2.76	2.11	5.35	4.08	0.99	1.08
2.32	1.67	6.23	2.95	1.13	1.21

(備考) 1. 実験番号は文中の番号と同じ 2. 強度測定時の温度は 14°C, 湿度は 75% であった.

紙の化学分析

紙を粉碎して分析した結果は第6表に示す通りであった.

第6表 紙の化学分析値

精練条件	(A) ペクチン分解や、困難なる楮を使用		(B) ペクチン分解順調なる楮を使用	
	(1) 醱酵法	(2) アルカリ法	(3) 醱酵法	(4) アルカリ法
水分	8.35	8.17	8.17	7.81
灰分	2.05	1.59	1.02	1.26
アルコール・ベンゼン抽出量	2.28	2.48	1.32	1.76
冷水抽出量	4.31	3.90	0.66	1.51
温水抽出量	4.33	4.29	1.30	2.29
1% NaOH抽出量	14.54	10.84	7.94	6.62
ペクチン酸石灰	2.64	0.92	0.51	0.31
全繊維素	89.24	95.27	94.30	95.32
全繊維素中	90.33	91.38	90.06	89.78
α	9.62	8.62	9.94	10.22
β+γ	9.50	8.33	8.56	7.69
ペンタザン	1.02	1.02	1.01	0.92
リグニン				

(備考) 水分は風乾体百分率, 他は絶乾体百分率

実験結果により試料を異にする紙の間の相異を観察すれば、ペクチン分解困難なる試料を使用した紙、第6表中の番号 (1) 及び (2)、はペクチンのみならず灰分、冷水、熱水、1%苛性ソーダ溶液、アルコール・ベンゼン各抽出量が何れもペクチン分解容易なる試料を使用した紙、第6表中の番号 (3) 及び (4)、の紙より含量大となつている。

又一方醱酵、アルカリ両方法の紙を比較するに、番号 (1) の醱酵法の紙を番号 (2) のアルカリ法の紙と比較すれば繊維素、ペントーザン以外の各項目の成分値に大差を認め得ないが1%苛性ソーダ抽出量、灰分は醱酵法の紙が含量大となつている。これに対してペクチン分解容易なる試料を使用した醱酵法の紙、番号 (3)、とアルカリ法の紙、番号 (4)、とを比較すれば、繊維素、ペントーザン以外の各項目の成分値は何れも醱酵法の紙に於て少量の傾向にある。唯ペクチン、1%苛性ソーダ溶液抽出量のみが醱酵法の紙に於てより大なる含量を示している。

総 括

(1) 醱酵進行に伴う化学成分量の変化

(a) 灰分 実験(II)の結果の繊維素、ペントーザン以外の成分について考察するとき、これらの成分の残存量はアルカリ法の繊維に於て少量である。唯灰分のみがアルカリ法の繊維に多量残存している。かかる灰分量の相異は唯楮についてのみならず、桑皮及び三桧についても同様であつてこれは各残存成分の形態の相異を示すものと考察される。

(b) アルコール・ベンゼン抽出量 他の成分に比較して精練中速かに減少して恒量に達する。従つて約2%量残存するこの安定なる成分が和紙の特有性に大なる影響を與えるものと考えられる。

(c)  $\alpha$ -繊維素 醗酵精練によれば全繊維素中の $\alpha$ -繊維素量は恒量に達した後は変化を認めないがアルカリ精練によれば $\alpha$ -繊維素量は煮蕪時間の延長と共に減少する。従つてK17号細菌にはセルラーゼは存在しないと考察される。

(d) ペクチン ペクチン含量は常にアルカリ法の繊維に於て少量であり、酵素作用によつてはアルカリ法の如くその量が皆無になることは観察出来ない。少量ながら残存するかかるペクチンは和紙の強度を大にする効果があるものと考察される。又試料の楮のペクチン量は三桧、桑皮より著しく少量であり、精練後の残存ペクチン量も三桧に比較すれば甚だ小である。

## (2) 紙の物理的性質と化学成分値との関係

醗酵法の紙を0.2N苛性ソーダ溶液煮蕪法の紙に比較するに物理的性質は大略類似した数値を示した。

一方和紙の繊維素以外の各残存成分量は開織充分なる範囲に於てはその量大なる程紙の強度が大になることは既に第5報<sup>(4)</sup>に於て指摘したところである。楮を原料とする抄紙試験についても前記四種類の紙の物理、化学的性質を観察すれば同様の関係が確認可能である。

終りに本実験中終始御懇篤なる御指導を賜わつた京都大学農学部片桐英郎教授に深甚なる謝意を表する。又紙の強度試験は同学部林産化学教室の設備を利用して頂いた。同教室主任館教授及び研究室各位の御援助に厚く感謝する。又実験材料は愛媛県立製紙試験場より贈られた。前松場長に深く感謝する。尙本研究費の一部は文部省科学試験研究費によつた。併せて記して感謝する。

## 文 献

- (1) D. R. NANJI and A. G. NORMAN : *Biochem. J.*, 22, 599 (1928)
- (2) 梶, 三 野 : 香川農専研究報告, 第1巻 第2号 64頁 (1949)
- (3) 前 松, 日野原 : 愛媛県製紙試験場報告, 第3巻 第1号 11頁 (1949)
- (4) 梶, 三 野, 穴 吹, 齊 藤 : 本誌, 3, 96 (1951)
- (5) 梶, 三 野, 穴 吹, 齊 藤 : *ibid.*, 3, 101 (1951)
- (6) 梶, 三 野 : *ibid.*, 3, 33 (1951)

## Résumé

In this experiment we have studied on the fermentation retting of barks of paper mulberry tree.

At various period of fermentation we took the refined fibres from the culture media and analysed their chemical compositions to compare with the refined fibres obtained by alkaline retting in which the barks were digested in 0.2N sodium hydroxide solution.

In the refined fibres obtained by fermentation retting, the amount of matters dissolved in alcohol benzene mixture or in 1% NaOH solution, and of pectic substance, was found to be larger than in the fibres refined by alkaline retting, while the amount of ash was only found smaller in the former fibres.

And we prepared papers with the fibres refined by fermentation and by alkaline retting. The physical properties of these papers were similar in both cases, although the results of chemical analysis were different as were mentioned above.