

和紙原料（桑皮）の醱酵精練に就て

Ⅲ 常圧殺菌を施した原料の醱酵

梶 明

On the retting of plant fiber materials (barks of Mulberry-tree)
for Japanese paper manufactureⅢ On the fermentation-retting of the materials
sterilized under ordinary pressure

By

Akira KAJI

(Laboratory of Technical Microbiology)

緒 言

第1報(1)及び第2報(2)に於て著者は桑皮に加圧殺菌を施したときの醱酵精練について実験を行い最適醱酵条件等を決定して報告した。

桑皮に加圧殺菌処理を施せば、繊維を膠着するペクチン質は若干の分解を受けその一部は水溶性となり、従つて表皮は容易に剝皮し得ると共に繊維は僅少ではあるがその結束が緩かになり微生物の作用が著しく有効的になるものと考察される。故に桑皮に常圧殺菌処理を施した場合の醱酵精練が果して同様な効果を有するや否やは検討の必要がある。

茲に於て著者は原料桑皮に常圧殺菌処理を施した場合のアセトン・ブタノール醱酵細菌による醱酵精練に関する実験を行い本報に報告する。

実 験

I. 殺菌条件とペクチン分解率

(1) 試料及び使用細菌

桑皮は昭和25年3月採取したもので、実験時には採取後45日経過していた。品種は白桑(改良鼠返)である。

使用細菌は *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整理番号K17号菌である。

(2) 操 作

桑皮の殺菌方法として次の4種類を採用した。

(a) 約7cmの長さに截断した桑皮25gを内容500ccの平底フラスコにとり水500ccを加えて常圧殺菌を5回施す。

(b) 桑皮25gを内容500ccの平底フラスコにとり140°Cにて15分間乾熱殺菌を施し、別個に作製した殺菌水500ccを注加する。

(c) 120°Cにて2時間乾熱殺菌を施す。其他は(b)と同様。

(d) 桑皮25gと水500ccとを内容500ccの平底フラスコにとり2kg/cm²にて30分間加圧殺菌を施す。

上記操作中120°C以上の高温度にて桑皮に長時間乾熱殺菌を施すときは桑皮がこげるおそれがある。従つて(b)及び(c)の操作は桑皮がこげない程度の温度と時間を選択した。尙乾熱殺菌の実施が桑皮の醱酵に影響を及ぼすことの有無を明快にする目的を以て常圧蒸気殺菌を施した実験(a)を併せて行つた。

殺菌終了後は何れも炭酸ソーダ溶液にてpHを7.0に調節し、K17号菌の砂培養より出発した同一の玉蜀黍膠を接種し、42°Cに於て96時間醱酵せしめ、終了後桑皮を取出し、剝皮、水洗、乾燥粉碎してNanji and Norman法によるペクチンの定量を試み、一方醱酵液につきpH及び酸度の定量を行つた。

(3) 殺菌終了後の桑皮の状況

加圧殺菌を施した後の桑皮と常圧殺菌を施した後の桑皮とは次表の如く相当状態を異にしている。此の差は醗酵精練効果に大なる影響を與えると考察せられる。第1表に各種の殺菌を施した桑皮を観察した結果である。

第1表 殺菌後の桑皮の状態

殺菌条件	表皮除去の状況	繊維の開織
常圧殺菌	剥皮困難	桑皮を繊維の方向に分割し得るか繊維束を細く開くことは不可能
高圧殺菌	剥皮容易	機械的処理を強く行えば僅かではあるが繊維の開織が可能

(4) 実験結果

(i) 醗酵の状況

第2表 醗酵の状況

殺菌条件	湧付	主醗酵	後醗酵
常圧殺菌 (乾熱殺菌後蒸気殺菌)	接種後 3h	13—58h旺盛に発泡する	72h後少量の発泡を認める
高圧殺菌	接種後 2h	13—36h旺盛に発泡するも58h後には既に発泡減少する	72h後常圧殺菌より尙少量の発泡を認める

即ち高圧殺菌を施した桑皮の醗酵は比較的速かであり、常圧殺菌のときは比較的遅い傾向にあつた。

(ii) ペクチン分解率

各種の殺菌処理を施した桑皮の醗酵後の状況は第3表の通りであつた。

第3表 殺菌条件と繊維の開織状況及び残存ペクチン量

実験番号	殺菌条件	pH	酸度	繊維の開織状況	ペクチン酸石灰%
a	常圧蒸気殺菌	4.1	3.0	卅	1.65
b	乾熱殺菌 (140°C 15min) 及び常圧蒸気殺菌	4.1	3.8	卅	—
c	乾熱殺菌 (130°C 2h) 及び常圧蒸気殺菌	4.1	3.9	卅	1.78
d	高圧殺菌 (2kg/cm ² 30min)	4.1	3.3	卅	1.05

実験に使用した原料桑皮中及び殺菌を施した後の桑皮白皮中のペクチンの含量は第4表の通りであつた。

第4表 原料桑皮中のペクチン量

試料の種類	ペクチン酸石灰%
原料桑皮	10.53
常圧殺菌後剥皮した白皮※	12.16
高圧殺菌後剥皮した白皮	5.25

※ 手による剥皮は困難である故にナイフを以て表皮を除去した

一方原料桑皮中のペクチンの定量結果は第4表に示した如くペクチン酸石灰として10.52%であるが、常圧殺菌後剥皮した白皮中のペクチン酸石灰は12.16%であつた。即ち表皮中のペクチン含量は比較的小である故に白皮単独とすれば、原料桑皮より更にペクチン含量が大となることが観察された。又桑皮に高圧殺菌を施した後剥皮した白皮中のペクチン酸石灰は5.25%であつた。即ち高圧殺菌処理によつて桑皮中のペクチン質の一部は水溶性となつて液相へ移り、繊維中のペクチン酸石灰として定量される量

実験結果によれば醗酵終了時の繊維中の残存ペクチン酸石灰の量は、常圧殺菌を施した場合が高圧殺菌に比較して大であつた。然して繊維の開織状況も明らかに高圧殺菌を施した繊維が良好であつた。

桑皮に乾熱殺菌を施した場合と常圧蒸気殺菌のみを施した場合とは醗酵状態は前者が旺盛であり、残存ペクチン酸石灰量も小であつた。

は約2分の1に減少していた。

醗酵精練後の桑皮は前記の如く表皮を除去した後ペクチンの定量を行つた。従つて醗酵によつて分解されたペクチンの量を考察するときは、原料桑皮中のペクチン量と比較するよりも上記の殺菌後剥皮した白皮中のペクチン量と比較する方がより妥当である。

今原料桑皮及び殺菌後の白皮中のペクチン量を基礎とした両分解率を表示すれば次の通りである。

第5表 殺菌条件とペクチン分解率

殺菌条件	ペクチン分解率	
	原料桑皮中のペクチン酸石灰量を基礎としたとき	殺菌後の白皮中のペクチン酸石灰量を基礎としたとき
常圧蒸気殺菌	84.32%	86.43%
乾熱殺菌(120°C, 2h)及び常圧蒸気殺菌	87.83%	89.47%
高压殺菌(2kg/cm ² , 30min)	90.02%	80.00%

II. 殺菌条件と細菌の繁殖数

実験(I)の結果に示す如く、醗酵終了後の桑皮中の残存ペクチン量は高压殺菌を施したときが常圧殺菌を施したときより小であつた。従つて繊維の開繊状況も優秀であつた。桑皮の醗酵精練効果は細菌の繁殖数に比例すべきである故、上記精練効果の相異を究明する目的を以て、両殺菌を施した桑皮の醗酵中の細菌数を測定した。元來アセトン・ブタノール醗酵細菌による桑皮の醗酵に於て助成料無添加のときは細菌は桑皮中に著しく繁殖が良好であつて、液中には比較的少数の細菌の存在が観察出来るのみである。従つて細菌数の測定は桑皮中及び液中の両者について実施した。

(1) 操作

(a) 120°Cにて2時間乾熱殺菌を施した桑皮の醗酵

(b) 2kg/cm²にて30分間加压殺菌を施した桑皮の醗酵

上記の両醗酵中の液中及び桑皮中の細菌数を Thoma の血球計により測定した。即ち種膠を移植後 12, 24, 36, 48, 72時間毎にフラスコをよく振盪して液 1cc及び桑皮の一片を取出し、桑皮はその表面に附着せる液を濾紙にて除去し可及的同形の部分を 1g切りとり、これに殺菌水を 1cc添加して充分に繊維中の液と均一ならしめこの混合液中に存在する細菌数を以て桑皮中の細菌数とした。一方液はそのまゝ測定に使用した。

(2) 実験結果

第6表 醗酵中の細菌数(助成料無添加)

番号	殺菌条件及び測定箇所	各培養時間後の細菌数 × 10 ⁴				
		12	24	36	48	72
a	乾熱殺菌及び常圧蒸気殺菌 液 中 桑 皮 中	4,520	8,400	7,049	6,496	1,024
			13,600	14,200	13,600	3,936
b	高 压 殺 菌 液 中 桑 皮 中	6,581	6,500	4,833	4,256	2,160
			40,000	39,000	15,400	4,208

醗酵液中の細菌繁殖数は、第6表に示す如く加压殺菌の場合が常圧殺菌の場合より小であるが、最大値に達するのは速かである。

これに反し桑皮中の細菌数は、加压殺菌の場合が遙に大である。

III. 玉蜀黍添加の影響

上記の如く常圧殺菌を施した桑皮の醗酵精練効果は、高压殺菌処理に比較して明らかに劣る故に助成料を添加して醗酵を行い細菌数を大ならしめて精練効果が上昇する状況を観察した。

(1) 操 作

実験(I)と同様に桑皮をフラスコに入れ、120°Cにて2時間乾熱殺菌し、別に玉蜀黍1%膠を3kg/cm²にて30分間加圧蒸煮し、これに前記桑皮を投入し放置後pHを7.0に調節し、K17号菌を接種し、42°Cにて醗酵せしめ、実験(II)と同様に細菌数を測定し醗酵後前記同様処理した。

(2) 実 験 結 果

第7表 醗酵中の細菌数(玉蜀黍添加)

番 号	殺菌条件及び測定箇所	各培養時間後の細菌数 × 10 ⁴						
		12	24	36	48	60	72	
c	乾熱殺菌及び 常圧蒸気殺菌	液中	8,691	23,700	21,500	8,330	9,360	3,120
		桑皮中		15,520	18,900	23,500	11,040	8,000

細菌の増殖状況は第7表に示す如くである。即ち醗酵液中の細菌数は著しく増加したが、桑皮中の細菌数は助成料無添加の醗酵に比較して僅かに増大したにすぎない。

繊維の開織状況其他は次表に示す如くであつた。

第8表 玉蜀黍添加醗酵の結果

pH	酸 度	繊維の開織状況	ペクテン酸 石 灰 %	ペクテン分解率	
				黒皮中のペクテンを基礎としたとき	白皮中のペクテンを基礎としたとき
4.1	4.3	甚だ良好	0.85	91.92%	93.01%

実験結果によれば繊維の開織状況は甚だ良好にして、残存ペクテンの量も又助成料無添加の常圧殺菌は勿論高圧殺菌を施した桑皮の醗酵の場合より低含量であつた。

III. 各種助成料添加の影響

前実験により玉蜀黍添加醗酵による精練効果が著しく良好なることが明確になつた故、其他の助成料について同様に実験を行つた。

(1) 操 作

実験(III)と同様の操作により玉蜀黍の代りに甘藷粉 1%、米糠、蛹粕、大豆粕各々 0.5% (対溶液百分率)の膠を予め加圧殺菌し、これに桑皮を投入して醗酵せしめ前実験同様に分析を試みた。

(2) 実 験 結 果

第9表 各種助成料添加醗酵の結果

助成料の種類	添加量 (対溶液%)	pH	酸 度	繊維の開織状況	ペクテン酸 石 灰 %	ペクテン 分解率%	色 調
甘 藷 粉	1.0	4.2	5.1	卅	0.78	93.59	最も白色度高し
米 糠	0.5	4.3	3.0	卅	1.87	84.62	やゝ褐色
蛹 粕	0.5	4.2	4.6	卅	1.24	89.80	やゝ褐色
大 豆 粕	0.5	4.2	3.8	卅	0.82	93.26	最も白色度高し

備考 1. 米糠は予め水洗した

2. ペクテン分解率は殺菌直後の白皮中のペクテンを基礎とした

実験結果によれば大豆粕及び甘藷粉の添加によつて著しい効果をあげ得ることが観察された。

考 察

(1) 常圧殺菌及び高圧殺菌を施した原料の醗酵精練効果の相異

実験(I)の結果によれば、助成料無添加の醗酵に於て高圧殺菌を施した桑皮の残存ペクテン量は1.05%であつたに比較し、常圧殺菌を施したものは1.28%であつた。又繊維の開織状況も同様の優劣が

明かに観察出来た。

此の兩者の精練効果の相異の基因する主なる事項は次の通りと考察される。即ち桑皮を加圧殺菌することによつて水に不溶性のプロトペクチンの一部は可溶性となり溶液中に溶出し、一方には繊維の開織が僅少なながらも既に起つていて、細菌が繊維間に容易に浸入し、又他方には細菌が作用する基質たるプロトペクチンの絶対量も低下して残存ペクチンの量が常圧殺菌の場合より小になるものと考察される。これに反し常圧殺菌を施すことによつてはプロトペクチンは可溶性のペクチン質に変化せず、従つて繊維の開織は起らず、細菌の繊維間に浸入する率が少く、又作用基質たるプロトペクチンも絶対量大であり、醱酵後の繊維中に残存するペクチン量が大きくなるものと考察される。

(2) 乾熱殺菌の影響

原料桑皮に常圧殺菌を施して醱酵試験を行うときは、やゝもすれば原料中に存在する球菌が発生し勝ちである。従つて可及的高温度に於て乾熱殺菌を施すことが望ましいのであるが、120°C以上の高温度に長時間放置すれば桑皮がこげのおそれがあり、140°Cに於ては約15分間の殺菌が行い得るのみであった。本実験中には前記の如く140°Cにて15分間及び120°Cにて2時間の二種類の乾熱殺菌を施したが何れの場合も常圧蒸気殺菌のみを施した桑皮の醱酵に比較して精練効果は優れていた。即ち桑皮に乾熱殺菌を施すことは何等醱酵に悪影響を及ぼさなかつた。

(3) 細菌の繁殖数とペクチン分解率

第6表に示す如く醱酵中の桑皮の繊維束間に繁殖する細菌の数は、高圧殺菌を施した桑皮に於て常圧殺菌を施した場合より著しく大であつた。然してその最大値は前者は後者の2.8倍に達した。この桑皮中の細菌繁殖数の相異は、第1表に示した如き殺菌後の桑皮の物理的状態の相異によるものと考えられこの細菌数の相異が第3表に示す如き高圧及び常圧殺菌を施した桑皮の醱酵精練効果の相異を起したものと考察される。

液中の細菌繁殖数は第6表に示す如く兩者間に大差はないが、高圧殺菌を施した桑皮の液中の最大細菌数が細菌接種後12~24時間に確認されたに反し、常圧殺菌を施した場合は24時間後に於て観察された。

(4) 助成料添加の影響

実験(Ⅲ)に示した如く玉蜀黍を醱酵液に対し1%添加した結果は、ペクチン分解率が98.01%に上昇し著しい効果があつた。(第8表)

この醱酵中の細菌の繁殖は第7表に示す如く助成料無添加の醱酵に比較して良好であり、特に溶液中の繁殖数は著しく大となつた。本結果によれば桑皮中の繁殖が左程増大しなくても、溶液中の細菌数が大となれば桑皮のペクチン分解率は著しく上昇することが確認出来た。

玉蜀黍以外の助成料添加の効果は第9表に示した如く大豆粕が最も効果的で甘藷粉も1.0%の添加量にて良結果を與えている。この結果は第1報(1)に報告した如く桑皮に高圧殺菌を施したときの醱酵に於けると同類である。

要 旨

(1) 桑皮黒皮に常圧殺菌を施してK17号細菌により醱酵精練した結果は、残存ペクチン量が1.28% (ペクチン酸石灰として)であつた。本結果は高圧殺菌を施した桑皮の醱酵に比較し精練効果が劣る。

(2) 上記の差は高圧殺菌を施すことにより桑皮中のプロトペクチンの一部が水に可溶性となつて溶出し、従つて繊維の開織が僅かではあるが進行し桑皮中の細菌の繁殖数が著しく大となることに基因すると観察された。

(3) 常圧殺菌を施した桑皮の醱酵精練に於ても予め蒸煮した玉蜀黍、大豆粕、甘藷等の助成料を0.5~1.0%添加することにより効果を著しく高くすることが出来た。

終りに本実験中終始御懇篤なる御指導を賜つた京都大学片桐英郎教授に深甚の謝意を表し、実験に助力された三野正浩君に感謝する。

文 献

- (1) 梶、三野：香川農専研究報告、1, 57 (昭24)
- (2) 梶、三野：同上、1, 64 (昭24)

Résumé

In the previous papers (part I—II), fermentation retting of barks of Mulberry-tree was carried out with the fiber material previously autoclaved.

In this paper, experiments were repeated with the material sterilized under ordinary pressure.

I used a strain of *Clostridium acetobutyricum* (No. K17). Initial pH value of medium was adjusted to 7.0, kept the temperature at 42°C, and fermentation continued for 96 hrs.

The results of the experiments are summarized as follows:

1. When the material was sterilized under ordinary pressure, the amount of calcium pectate of fermented products was found to be 1.28—1.65% on air dried matter. While the calcium pectate decreased to 1.05% when the material being autoclaved was used.

2. (a) When the material was autoclaved, fiber of the bark was separated slightly, and the amount of calcium pectate decreased to 5.25% from 10.52%. Therefore a part of protopectin in the material changed into water soluble form.

(b) In the course of fermentation maximum number of the bacteria in the autoclaved fiber was found to be 2.8 times of that the material sterilized under ordinary pressure.

3. When 1% corn (per cent on medium) was used for nutrient, calcium pectate in fermented material decreased to 0.85%, and nearly the same effect was observed when dry sweet potato, rice bran, soy bean cake, or chrysalis cake were employed for nutrient.