- (3) 金子・赤堀：日本生化, 14, 185 (昭, 15)
- (4) DIECKMANN : *Ann.*, 317, 51 (1901) ;
BOUREAULT : *Bull. soc. chim.* (4) 3, 440 (1908); *Compt. rend.*, 146, 82 (1908) ;
DOBSON : *J. Chem. Soc.* 95, 2015 (1909) ;
LINSTED : *J. Chem. Soc.* 1934. II. 935.
- (5) *Org. Synth* : 5, 9 (1925)
- (6) 村橋：理研彙報, 22, 476 (昭, 18)
- (7) DIECKMANN : *Ber.*, 33, 579 (1900)

Summary

The method of synthesizing α -aminoadipic acid (VIII) from cyclohexanol (I) was studied. Ethyl cyclopentanone carboxylate (IV), one of the intermediate compounds, was obtained quantitatively by the use of excess amount of sodium, addition of absolute alcohol and grinding the reaction mixture at the initial stage of the reaction, (VIII) was obtained by the catalytic reduction of α -oximino-adipic ester (V) through the ester of the amino-acid (VII).

Both synthetic amino-adipic acid and its mono-sodium salt are far faint in taste as compared with glutamic acid and its salt.

醱酵による繊維の精練に就て

(第6報) 黒黴による桑皮の醱酵精練に就て

朝井勇宜, 佐野 實, 井上五郎 (東京大學農學部農藝化學教室)

昭和24年9月26日受理

Microbiological Degumming of Fibers.

Part VI. Retting of Mulberry Fiber by *Aspergillus niger*.

By T. ASAI, M. SANO and G. INOUE.

(Dept. Agr. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo)

從來桑皮の醱酵精練については2,3の研究が爲されているが, 細菌による精練は桑皮に含有せられるタンニン質のためにその發育が阻害を受け, 解膠能の發現も從つて抑制せられるという缺點があり, 他の植物纖維, 苧麻, 大麻に對するようには容易には解膠されない。併し竹下等⁽¹⁾は桑皮抽出液を基本培地とし, これに各種の桑皮を投入し, タンニンの溶存せる状態において細菌の分離を試み, 解膠能高き好氣性菌假稱 MB 17, MB 113 を得てタンク培養精練による中間工業試験に良好な成績を収めている。著者等はこれと別個の立場で, さきにマニラ麻の醱酵精練に黒かび *Asp. niger* を適用して良い成績を得た。又 *Asp. niger* はベクチナーゼのみならず, タンナーゼをも強力に分泌するのでこの點に着目し, 該菌を用いる桑皮の醱酵精練の研究を行つた。尙 *Asp. niger* は糖質源より蓚酸を生成するを以て, 蓚酸自體の解膠に對する態度に關しても若干の検討を行つた。

實 驗 の 部

1 種菌： さきに茶殻より分離し, 保存して置いたベクチナーゼの強力な *Asp. niger* var. (茶) を使用した。

2. 種菌用培地： 實用を主にして先ず桑皮の浸出液 — 桑皮の廢棄部分を利用し得る — 桑皮に10倍量の水を加え100°にて1hr. 抽出し, その濾液を用いて菌を接種するに十分に繁殖が行われるのを認めた。コルベン培養の實驗室的操作では接種法は問題とならないが, 大規模に實施する場合には考慮を要する。著者等は鋸屑を基質とし, これに栄養源を添加し固形培地の上に菌を繁殖せしめる方法, 即ち黒かびの麹を作製し, これを種

菌として使用する方法を試みた。榮養源としての副原料には上記桑皮浸出液も考えられるが、他に C 源及び N 源の給源として、玄米粉、茶殻、桑皮屑、桑葉粉末、大豆粕浸出液 (10%) 等を實驗に加え、ペトリシャーレに鋸屑 (松) 10 g を入れ各種副原料を添加し滅菌し、*Asp. niger* var. (茶) の寒天斜面培養の胞子を接種し、菌の繁殖を検したところ、Table 1 の如くであった。

培養温度 30°, 培養期間 3 日及び 5 日。

Table 1

Materials Exp. No.	Saw dust (g)	Powder of unhulled rice (g)	Tea husk (g)	Mulberry waste (g)	Powder of mulberry leaf (g)	Decoction of mulberry fibers (cc)	Soybean extract (cc)	Water (cc)	Growth of fungus
1	10	—	—	—	—	—	20	—	+
2	10	2	—	—	—	—	20	—	++
3	—	—	10	—	—	—	—	20	++
4	10	—	4	—	—	—	—	25	++
5	10	—	2	—	—	—	—	20	++ (5 days)
6	10	—	—	4	—	—	—	25	++
7	10	—	—	2	—	—	—	20	++ (5 days)
8	10	—	—	2	—	20	—	—	++
9	10	—	—	—	2	—	—	20	++
10	10	—	—	—	—	20	—	—	+

上記實驗結果より、經濟的見地から見て茶殻、桑皮屑、桑皮煮汁を用いるを適當と認めた。

3. 精練の實驗：種菌用培地としては鋸屑 10 部、茶殻 2 部、水 20 部の混合物を使用し、これに *Asp. 3iger* var. (茶) の胞子を接種し 30° にて 5 日間製麹したものを種菌とし、桑皮 10 g に水 150 cc を加えて 100 cc 容エルレンマイヤー瓶中で 20 lb. 30 min. 及び 100°, 30 min. 3 日間滅菌せるものに 2 g 宛加え、30° にて培養精練効果を見た。結果は Table 2 に示す如くである。

Table 2

Exp. No.	Initial pH	2 days	3 d.	4 d.	5 d.	6 d.	7 d.	8 d.	9 d.
A	1	5.8	+	++	++	++ pH (++) 3.4	—	—	—
	2	5.8	+	++	++	++ pH (++) 3.4	++	++ pH (++) 3.2	—
	3	5.8	+	++	++	++ pH (++) 3.4	++	++ pH (++) 3.2	++ pH 1.8
B	1	5.6	+	++	++	++ pH (++) 3.4	—	—	—
	2	5.6	+	++	++	++ pH (++) 3.4	++	++ pH (++) 3.0	—
	3	5.6	+	++	++	++ pH (++) 3.4	++	++ pH (++) 3.0	++ pH 1.8

註：A は常法による滅菌、B は 20 lb. 30 min. 滅菌、

++ は繁殖の程度、(+) は精練の程度。

A, B 系列共精練 (觸感及び分析による) 5 日ないし 7 日間で十分であり、同時に pH の酸性側への著しい推移が認められた。酸の定性を行つて蓚酸なることを確認し、滴定數と過マンガン酸加里法による定量値はほぼ一致し、蓚酸として 0.23 g、原桑皮に對して 2.3% の生成が認められた。培養濾液には尙ベクチナーゼの活性が期待されるので A, B 兩系列につき培養液 5 日、7 日、9 日目の濾液につき夫々無殺菌桑皮 (pH 著しく酸性側の爲コンタミネーションのおそれなしと見て) 7 g を投入し 30° にて精練効果を検した。その結果は Table 4 の如くである。

Table 3

	Pectin (as Ca-pectate) (%)	pectin de-composed (%)
Mulberry fiber	23.33	—
A After 5 days cult.	8.35	63.68
After 7 days cult.	2.00	90.65

備考：ペクチンは Nanji & Norman⁽²⁾ 氏法に據る

菌の繁殖の悪いのは桑皮が液中に浸漬されたためであると考えられる。併し精練効果が早く現われるのは前培養におけるペクチナーゼの activity によるものと考えられ、

且つ No. 3' において特にその作用の著しいのは (始發 pH 1.8) 萆酸の賦活作用或は萆酸それ自身の解膠作用が考慮される。又かゝる酸性度においては桑皮を無殺菌のまゝ使用し得ることの可能性が指摘され得る。

4. 精練に対する最適温度： 實驗の結果 30~35° が適温と認められた。

5. 桑皮に対する添加水量： 7~10 倍が適量。

6. 菌株の選擇： 坂口研究室保存の *Asp. niger* 及び他の數種の *Asp.* 屬につき精練効果を試験した。實驗にはすべて 300 cc 容のエrlenmeyer 瓶を用い桑皮 10 g につき水 100 cc を加え、100°, 30 min. 3 日殺菌したものに麴 (餅屑 10 g に茶殻 2 g, 水 20 cc を混じて製したもの) 5 日目のもの 2 g 宛を加え 30° にて培養した。供試菌 77 種中精練効果の良好なものを挙げれば Table 5 の如くである。

Table 4

Exp. No.	Initial pH	2 days	3 d.	4 d.	5 d.	6 d.
A { 1'	3.4	+	+	+	+ pH (卅) 2.8	+
	2'	+	+	+	+ pH (卅) 2.6	+
	3'	+	+	+	+ pH (卅) 1.8	+
B { 1'	3.4	+	+	+	+ pH (卅) 2.8	+
	2'	+	+	+	+ pH (卅) 2.5	+
	3'	+	+	+	+ pH (卅) 2.0	+

(註) 1'...培養後 5 日目の濾液 2'...7 日目の濾液
3'...9 日目の濾液

Table 5

Fungus species	Initial pH	2 days pH ret.	3 d. pH ret.	5 d. pH ret.	Fungus species	initial pH	2 days pH ret.	3 d. pH ret.	5 d. pH ret.
Black long I 1	5.6	3.6 +	2.8 +	2.2 +	Black short I 12	5.4	5.3 -	5.2 +	4.6 +
" 3	5.6	5.2 +	4.0 +	3.0 +	" 13	5.4	5.0 +	3.6 +	2.8 +
" 4	5.6	4.6 +	3.6 +	2.0 +	" 14	5.4	5.2 +	4.0 +	2.7 +
" 6	5.6	3.4 +	2.5 +	1.9 +	" 15	5.4	4.8 +	3.6 +	2.5 +
" 10	5.6	3.6 +	2.6 +	1.8 +	" 21	5.4	4.7 +	3.5 +	3.3 +
Black long II 12	5.6	3.8 +	2.7 +	1.8 +	Black short II 24	5.6	5.3 +	3.7 +	3.6 +
" 19	5.4	5.0 ±	3.3 +	2.0 +	" 25	5.6	5.2 +	4.1 +	3.3 +
" 20	5.4	4.7 -	3.4 +	2.0 +	" 24	5.6	5.3 +	3.7 +	3.6 +
" 21	5.4	4.8 -	4.0 +	3.4 +	" 27	5.5	4.6 +	3.1 +	2.7 +
" 25	5.4	4.8 -	3.8 +	3.2 +	" 28	5.6	4.8 +	4.0 +	4.0 +
Black short I 1	5.4	5.1 -	5.1 +	5.1 +	Japo I-1	5.6	3.6 +	3.4 +	3.4 +
" 2	5.4	5.3 -	3.7 +	3.2 +	Black var. 3	5.6	4.6 -	3.6 +	3.6 +
" 4	5.4	4.6 +	3.6 +	3.5 +	<i>Asp. niger</i> var. (Tea)	5.4	4.2 +	3.4 +	2.7 +

Note : ret. retting.

以上の結果より見て酸度の高きものは常に精練効果が大であるが、Black 短 I の 1 (pH 5.1), Black 短 II の 12 (pH 4.6), Black 短 III の 28 (pH 4.0) の如く、比較的高い pH 側で精練効果の發現しているものの存することから、萆酸の協同作用以外にペクチナーゼ自體の酵素力に大きく依存する場合が考慮される。實用的には雑菌侵染の機会をふせぐために pH が酸性側に強く移行する菌種が望ましい。この觀點から 7 種を選んでペクチン分解率を検した結果は Table 6 の如くである。實驗方法は前第 7 項と同様である。

即ちこれ等 7 種の菌は何れも 90% 近く著しくはそれ以上の分解率を示めし、同時に pH を著しく酸性側に移

Table 6

Fungus species	Initial pH	2 days pH ret.	3 d. pH ret.	4 d. pH ret.	5 d. pH ret.	Residual pectin (Ca-pect.) (%)	Pectin decom- posed (%)	Oxalic acid (g)	Oxalic acid/ mulberry fibers (%)
Black long I, 4	5.4	4.4 +	3.6 ++	2.3 ++	2.1 ++	2.42	88.8	0.180	1.80
" 6	5.4	3.4 +	2.5 ++	2.2 ++	1.9 ++	1.98	90.7	0.212	2.12
" 10	5.4	3.6 +	2.6 ++	2.0 ++	1.9 ++	1.03	94.6	0.225	2.25
Black long II, 12	5.4	3.8 +	2.7 ++	1.9 ++	1.9 ++	2.20	90.5	0.216	2.16
" 19	5.4	5.0 +	3.2 +	2.6 ++	2.0 ++	2.00	90.6	0.171	1.71
" 20	5.4	4.7 +	3.4 +	2.6 ++	2.0 ++	2.20	89.8	0.200	2.00
<i>Asp. niger</i> var. (Tea)	5.4	4.6 +	3.8 ++	2.4 ++	1.9 ++	2.04	90.4	0.230	2.30

行し蓴酸の回収をはかりつゝ工業的精練に適するものと思惟せられる。

7. 精練に對するペクチン分解酵素と蓴酸の態度：前記實驗よりペクチナーゼ以外に蓴酸自體も亦解膠作用にあずかることが考えられる。二つの因子を別箇に分けて試験し、その何れが大きな役割を果たしているかを確かめる爲、次の實驗を行つた。原料桑皮〔水分 12.80% ペクチン(ペクチン酸石灰として) 14.48% 對絕對乾物〕を長さ約 7.5 cm に截斷してその 29 g を 500 cc 容エルレンマイヤー瓶に入れ水 300 cc を加え 125~130° にて 45 min 滅菌して試料とする。

實驗 No. 1: 試料に *Asp. niger* var. (茶) を 1 白金耳接種す。

實驗 No. 2: 試料に滅菌せる沈降性炭酸カルシウム 2 g を加え (pH = 5.8) これに同菌を 1 白金耳接種す。

實驗 No. 3: 試料に蓴酸 5% 溶液 10 cc を加えて放置す。

實驗 No. 4: 試料に順次に 5% 蓴酸溶液を添加し、實驗 No. 1 に於ける培養経過の pH と近似の pH をたどる如くす。

以上何れの場合も 30° に保ち、時々振盪し、12 日目に取り出して分析に供した。結果は Table 7 の如くである。

以上の實驗結果より次の事實が推定される。即ち桑皮は *Aspergillus niger* var. (茶) により完全に精練され、且つその際副産物として原料桑皮に對し 2~3% 程度の蓴酸が生成されること。但し培養液に CaCO_3 を加えると解膠作用は殆んど停止すること、蓴酸のみにても或る程度精練は行はれ、その程度は蓴酸の濃度の大きくなるときに大きいこと、而してこれ等の事實より *Asp. niger* の解膠作用には副産物たる蓴酸が重要な役割を爲すと考えられ、その作用としては次の三つが考えられる。1) 蓴酸自身による解膠作用。2) 蓴酸により pH が酸性に傾むき、これがペクチン分解酵素の作用を助ける。3) 蓴酸により pH が酸性に傾むきこれがペクチン分解酵素の生成を助ける。併しながら蓴酸自體の解膠作用が重要な因子であることは看逃し得ない。

以上の點を解明する爲に更に次の酵素實驗を行つた。

8. ペクチンに對する *Asp. niger* var. (茶) の酵素液及び蓴酸の態度：試料ペクチンとして水溶性の夏蜜柑より抽出せるペクチンを用い、酵素液としては前記實驗の酸酵液を 600 cc に稀釋し、その 10 cc を採り試験した。即ちペクチン 0.2 g を蒸留水 10 cc に溶解し、これに酵素液を加え緩衝液使用の場合はペクチンを直接緩衝液に溶解した。緩衝液としては N/10 醋酸及 N/10 醋酸曹達を使用した。試料にトルオールを加え、30° に 42 時間

Table 7

Exp. No.	Change of pH (after following days)				Vol. of medium (cc)	Reducing sugar produced (as g/lucose) (g)	Oxalic acid produced (g)	Weight (g)	Moisture (%)	Obtained fibres Residual Pectin (g)	Pectin decomposed (%)
	Initial	4	9	12							
No. 1	5.2	4.0	2.4	1.8	180	0.137	0.604	3.2 (16%)	8.74	0	100
No. 2	5.8	—	—	6.4	200	0.072	0.125	4.7 (23.5%)	12.48	0.235	6.9
No. 3	3.0	—	—	3.6	220	0.290	—	6.0 (30%)	12.29	0.187	25.7
No. 4	4.0	4.0	2.6	1.8	210	0.368	—	5.3 (26.5%)	10.23	0.065	74.2

備考 ペクチンは Nanji & Norman 氏法により定量した。又前記と同様の條件にて調製せる桑皮の煮汁につき還元糖の定量を行つた結果は、煮汁 300 cc 中 0.2453 g (葡萄糖として) であつて、表中の生産還元糖はこれを差し引いたものである。

放置して酵素力を試験した。試験の方法としては片桐・中濱⁽³⁾等の方法に従い、反応後 0.2 g の CaCO_3 , 次いでエタノール 60 cc を加えて残存せる未反応ペクチンを濾別し、湯煎上にてエタノールを追出し、これを 10cc とし、Bertrand 法にて還元力を測定し、酵素液中の還元力を減じたものと同量のペクチンを鹽酸で分解して生ずる還元力とを比較して、作用率を算出した。

Table 8

Exp. No.	Kinds of Samples examined	pH		KMnO_4 required (cc)	Pectin decomposed (%)
		Initial	Final		
No. 1	前項實驗 7 の No. 2 の醱酵液	6.2	3.6	3.4	25
No. 2	No. 1 を 30 分間煮沸したもの	6.4	5.8	1.0	0
No. 3	前項實驗 7 の No. 1 の醱酵液	3.4	3.4	5.25	42
No. 4	No. 3 を $\text{Ca}(\text{OH})_2$ にて中和したもの	6.0	4.0	4.3	32
No. 5	No. 3 を過剰の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ にて中和したもの	6.4	5.8	1.4	2
No. 6	No. 1 に 0.1 g の CaCO_3 を加えたもの	5.8	6.0	1.4	4
No. 7	No. 4 を 30 分間煮沸したもの	6.4	5.8	1.25	0
No. 8	No. 4 に Acetate Buffer (pH 3.6) を加えたもの	3.6	3.6	3.8	27
No. 9	Acetate Buffer (pH 3.6) のみ	3.6	3.6	0	0
No. 10	No. 4 に Acetate Buffer (pH 5.6) を加えたもの	5.6	5.2	2.55	13
No. 11	Acetate Buffer (pH 5.6) のみ	5.6	5.4	0.5	5
No. 12	蓚酸を加えたもの	2.6	2.6	0	0
No. 13	蓚酸を加えたもの	4.0	4.0	0	0

備考 1) Pectin 0.2 g を鹽酸にて分解した場合の還元力は KMnO_4 9.5 cc に相當す。2) No. 1, No. 2 の 10 cc 中の還元性物質はそれぞれ KMnO_4 1.25 cc, KMnO_4 1.0 cc に相當し、ペクチン分解率(作用率)にはこれを減ず。

以上の結果から、前項實驗 7 の No. 1 及び No. 2 の醱酵液中にはペクチンを還元性物質に分解する酵素、即ち Pectinase を含有することが明らかであり、且つ No. 3~11 の實驗によりペクチンの分解作用は pH が酸性側にある程大であることがわかる。これは Pectinase の最適 pH が酸性側にあることによるか、又は生成された蓚酸(酸性の原因は Galacturonic acid 及び蓚酸によると考えられるが、ペクチンより蓚酸が生成されるか否かは後述する)によるものと考えられるが、No. 12, 13 の實驗により蓚酸はペクチンを還元性物質に分解する作用なく、従つて Pectinase の最適 pH が酸性側にあることがわかる。このことは前項 7 の醱酵實驗を裏書きするものであるが、更にこれを確認しその最適 pH を見るために次の實驗を行つた。酵素液としては前項 8 の No. 1 と同一條件で醱酵させた醱酵液(培養日数 10 日、終末 pH 1.8)を用い、この醱酵液を 250cc とし CaCO_3 にて中和し、pH 6 とし濾過したものを用いた。

以上により *Asp. niger* var(茶)の Pectinase 最適 pH は 3~5 の間にあり、細菌の Pectinase の最適 pH が 7 前後⁽⁴⁾であるに反して著しく酸性側にあることがわかる。

擬て纖維の醱酵精練に於いては纖維を結合するプロトペクチンが水溶性となればよいので、必ずしも還元性物質まで分解するを要しないのであるから、片桐・中濱⁽⁵⁾等の報告の如く Pectinase よりむしろ Protopectinase が問題となる。従つて菌の Protopectinase 及び生成する蓚酸のプロトペクチンに対する作用の検討が重要である。依つて次の實驗を試みた。

Protopectinase 試験：原料桑皮 2 g を細かく截斷し、これに Pectinase 試験と同様に調製した酵素液

Table 9

Exp. No.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Data				
Buffer	$\left\{ \begin{array}{l} N/10 \text{ Tartaric acid } 32 \\ N/10 \text{ Na-tartrate } 1 \end{array} \right.$	// 8 // 1	// 1 // 1	// 1 // 20
Initial pH	2.4	2.6	3.4	5.4
Final pH	2.6	2.6	3.2	4.6
Reducing power KMnO_4 (cc)	11.00	11.76	13.75	13.20
Pectin decomposed (%)	34.0	38	48	45

50 cc を加え、これに緩衝液 (N. 10 酒石酸, 酒石酸曹達) 50 cc を加え、トルオールを添加し、300 cc のエルレンマイヤーフラスコに入れ、30° に4時間放置後取り出し、桑皮は充分洗滌後常法により残存ペクチンを定量し、原料桑皮中のペクチンと比較して作用率を算出した。

Table 10

Exp. No.	Kinds of Samples examined	pH		Reducing power KMnO ₄ required (cc)	Residual pectin (g)	Pectin decomposed (%)
		Initial	Final			
No. 1	Enzyme solution and Buffer	2.4	2.6	68.4	0.112	37
No. 2	Buffer soln. only	2.0	2.2	5.6	0.205	—
No. 3	Enzyme and Buffer soln.	3.4	3.4	57.1	0.152	21
No. 4	Buffer soln.	3.0	3.2	5.9	0.205	—
No. 5	Enzyme and Buffer soln.	5.4	5.6	17.4	0.230	0
No. 6	Buffer soln.	4.6	4.8	8.5	0.230	—
No. 7	Ammonium oxalate.	5.8	5.8	8.2	0.230	9
No. 8	Oxalic acid.	4.2	4.8	9.5	0.210	17

備考 1) 原料桑皮 2 g 中のペクチンは 0.252 g (ペクチン酸石灰として)。2) 作用率の計算には Buffer の対照試験の結果を差し引いた。

以上の結果より Protopectinase の最適 pH は著しく酸性側に傾くこと、及び蓚酸、蓚酸アンモニウムだけでも常温に於て Protopectin を或る程度水溶性にする作用があること (これはペクチンの定量法よりも容易に窺ひ知られる) が知られた。

9. *Asp. niger* var. (茶) によるペクチンより蓚酸の生成: 桑皮の *Asp. niger* による酸酵精練の場合副産物として常に蓚酸が生成されるが、これの基質として他の炭水化物の他にペクチンも一應考慮され得るのである。以下の実験を行つた。炭素源として夏みかんより精製せるペクチン 1.5 g を用い、他は Czapek 培地と同様の培養液 (pH 6.2) 50 cc に *Asp. niger* var (茶) を接種し、30° にて7日培養し後酸酵液について蓚酸の有無を検した。

実験結果: 酸酵後液 pH 5.0, 蓚酸確認, 蓚酸量 0.059 g (對ペクチン約4%)。

即ちペクチンより蓚酸の生成されることが確かめられた。この場合蓚酸の収量の少ない一原因として培地中の Buffer 作用の爲 pH 酸性に傾かず、ペクチン分解酵素の活性小なることが考えられる。

要 約

黒黴 *Asp. niger* による桑皮の酸酵精練に関する実験を行つた。

1. *Asp. niger* var. (茶) による精練の実施方法として種菌用培地に桑皮屑、桑皮煮汁を添加せる銚屑培地を用いるのが適当な一方法である。

2. 桑皮の精練は *Asp. niger* var. (茶) により完全に行はれる。その際副産物として桑皮に對し2~3%の蓚酸を生じ、ペクチンが蓚酸の基質であることを證明した。

3. 菌株の選擇試験を行い、*Asp. niger* var. (茶) の他に6種の優秀が菌を選擇した。何れも強生酸菌で終末 pH 2.0 内外、蓚酸を多量に生産する。概して生酸力の強いものほど精練効果の大なることが選擇試験の結果から判明した。

4. 精練の際、培養液に CaCO₃ を加えると (pH 5.8~6.4) 解膠作用は殆んど停止する。蓚酸のみにててもかなり、精練は行われるから副産物の蓚酸が酸酵精練に重要な役割を爲していることがわかる。

5. *Asp. niger* var. (茶) の Protopectinase の作用は著しく酸性側 (pH < 3) にあり、Pectinase の作用も同じく酸性側 (pH 3~5) にあることを蓚酸の影響外に於いて確めた。蓚酸はプロトペクチンを可溶性ペクチンにするが、*Asp. niger* の pectinase と異なり、水溶性ペクチンを還元性物質に分解する力はない。

6. *Asp. niger* var. (茶) の桑皮に對する精練作用はその有する Protopectinase により、蓚酸の副成により酸性側に傾くことがその活性度を大にすると共に、蓚酸自體の解膠作用もあづかつて力がある。

本研究の費用は文部省科學研究費によるものである。

- (1) 竹下：三樂酒造研究所報告，川崎工場，C-16~D-52 (昭21—22).
 (2) NANJI and NORMAN : *Biochem. J.*, 22, 596 (1928)
 (3) 片桐，中濱：農化，16, 1151~1156 (昭.15)
 (4), (5) 片桐，中濱：上掲

Summary

The mulberry fibers are perfectly degummed by *Asp. niger* var. cha (cha means tea in Japanese). It was confirmed that in the retting course appreciable quantity of oxalic acid was produced accordingly to the decomposition of pectin and allied substances contained in the raw fibers. The production of oxalic acid reaches 2~3 % of raw fibers. As the result of selection of *Asp. niger* for the degumming purpose it was found that the strong acid producing strains generally showed the great activity.

Addition of CaCO_3 to neutralize oxalic acid produced in the fermentation stops almost perfectly the action of protopectinase and pectinase of *Asp. niger*, so it may be said that not only the actual pH range of the retting is in acidic side but also the oxalic acid itself acts effective in the degumming course. In truth, the oxalic acid decomposes conspicuously the protopectin into water soluble pectin. It was confirmed that the optimal pH of protopectinase of *Asp. niger* var. cha was about pH <3 and that of pectinase was in the range of about pH 3~5.

According to the facts described above, the degumming action of *Asp. niger* is due to its enzymic action especially in the acidic side which is influenced by the oxalic acid production, but it must not be overlooked that the oxalic acid itself plays the significant role in the retting course.

醱酵による繊維の精練に就て

(第7報) 黒黴の液内培養酵素液による苧麻繊維の精練に就て

朝井 勇 宣, 齋 藤 日 向 (東大農学部農藝化学教室)

昭和 25 年 9 月 26 日 受 理

Microbiological Degumming of Fibers.

Part VII. Retting of Ramie-fiber in Submerged Enzyme Produced by *Aspergillus niger*.

By Toshinobu ASAI and Hiuga SAITO

(Dept. Agr. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo)

桑皮に対する黒黴の精練作用に就いては、既に第6報に報告したが、黒黴の解膠能は苧麻繊維に對すしても充分有効に作用することを確認、その工業化に際しての缺點、即ち i) 菌生孢子による繊維の汚染、ii) 黒かびの繁殖期間、従つて精練所要時間の長大、を防ぐために液内培養形式を採り、良好な結果を得たので報告する。

實 験 の 部

豫備試験：*Asp. niger* var. (茶) 株を用い、桑皮、内地産苧麻、内地産大麻に對する解膠能を試験した。各原料 10 g を 500 cc 容エルレンマイヤー・フラスコに取り、水 150 cc を入れ綿栓殺菌した後、各 1 白金耳を接種し、30° にて静置培養を行つた。原料中ペクチンの分析方法は前報に準ずる。

菌株の選擇 I. 生酸能による選擇：豫備試験の際前報に報告したような pH の低下が見られなかつたが、精練作用に對する生成蓚酸の役割は大であるので、生酸能の旺盛なる菌株を第一次に選擇した。*Asp. niger*