(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4061661号
(P4061661)

(45)発行日　平成20年3月19日(2008.3.19)　(24)登録日　平成20年1月11日(2008.1.11)

(51)Int.Cl.　　F I
C08B 15/00 (2006.01)　　C08B 15/00
D21H 17/25 (2006.01)　　D21H 17/25

請求項の数 3　(全 13 頁)

(21)出願番号　特願平8-151860
(22)出願日　平成8年5月24日(1996.5.24)
(65)公開番号　特開平9-316102
(43)公開日　平成9年12月9日(1997.12.9)
審査請求日　平成15年2月10日(2003.2.10)

前置審査

(73)特許権者　000000066
味の素株式会社
東京都中央区京橋１丁目１５番１号
(74)代理人　100100181
弁理士　阿部　正博
(72)発明者　田原　直樹
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号
株式会社バイオ
ポリマー・リサーチ内
(72)発明者　渡部　乙比古
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号
株式会社バイオ
ポリマー・リサーチ内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】バクテリアセルロース濃縮物の処理方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
バクテリアセルロースの水性懸濁液を、該バクテリアセルロースの含有量が１０重量％以上７５重量％未満となるように一旦濃縮し、その後に再び水性液に分散させ、該分散液中でバクテリアセルロースを離解処理することを特徴とする、バクテリアセルロースの分散性及び懸濁安定性向上方法。
【請求項２】
離解処理を受けたバクテリアセルロースの水性懸濁液を、該バクテリアセルロースの含有量が６重量％以上７５重量％未満となるように一旦濃縮し、その後に再び水性液に分散させることにより得られたバクテリアセルロース濃縮物を、製紙用填料歩留まり剤として使用することから成る、濾水度の向上方法。
【請求項３】
離解処理を受けたバクテリアセルロースの水性懸濁液を、該バクテリアセルロースの含有量が６重量％以上３０重量％未満となるように一旦濃縮し、その後に再び水性液に分散させることにより得られたバクテリアセルロース濃縮物を、製紙用填料歩留まり剤として使用することから成る、濾水度の向上方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【発明の属する技術分野】
本発明は、セルロース生産菌を培養することによって製造し得るセルロース性物質（以下

、「バクテリアセルロース」又は「ＢＣ」という。）の濃縮物、並びにバクテリアセルロースの分散性及び懸濁安定性向上方法、及びバクテリアセルロースの製紙特性向上方法等に係わるものである。

【０００２】

【従来の技術】

ＢＣ（バクテリアセルロース）は可食性であり無味無臭であるため、食品分野で利用されるほか、水系分散性に優れているので食品、化粧品又は塗料等の粘度の保持、食品原料生地の強化、水分の保持、食品安定性向上、低カロリー添加物又は乳化安定化助剤としての産業上利用価値がある。

ＢＣは木材パルプ等から製造されるセルロースに較べ、フィブリル（又は微細繊維）の断面幅が２ケタ程度も小さいことを特徴とする。

従って、ＢＣの離解物はフィブリルのかかる構造的物理的特徴に基づき高分子、特に水系高分子用補強剤として各種の産業用用途がある。このようなセルロース性離解物を紙状または固型状に固化した物質は高い引張弾性率を示すのでフィブリルの構造的特徴に基づくすぐれた機械特性が期待され、各種産業用素材としての応用がある。

【０００３】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、かかるＢＣの離解物等を水性懸濁液又は分散液の状態のままで扱う際には、セルロース成分に対して数倍～数百倍の重量で存在する水等の溶媒のために、保存スペースの増大、保存及び輸送コストの増大、保存中の微生物による分解等、種々の問題点がある。

そこで、このような課題を解決するために、本発明者等によって、既に、バクテリアセルロースを含有する水性懸濁液にバクテリアセルロースと水以外の第３成分を加えた後に脱水乾燥することを特徴とする、バクテリアセルロースの乾燥方法が提案されている（特願平７－３２９４７２）。該方法によって、乾燥状態（水分含量２５重量％以下）から復水させたときに、ＢＣの溶解性、分散性、沈降度及び粘度等の諸特性が復元することが可能になった。

一方、ＢＣは製紙用添加剤、特に填料歩留り向上剤として使用されるが、抄紙時濾水性を低下させるという問題があった。

そこで、本発明者等は、上記課題を解決するとともに、分散性、懸濁安定性及び粘度等の諸物性が更に向上したＢＣをより簡便で経済的に生産する方法を検討することによって、本発明を完成させた。

【０００４】

【課題を解決するための手段】

即ち、本発明は、未離解バクテリアセルロースを１０重量％以上７５重量％未満、好ましくは、２５重量％を超えて７０重量％未満の範囲で含有することを特徴とする、バクテリアセルロース濃縮物に係わる。

又、本発明は、離解処理を受けたバクテリアセルロースを４重量％以上７５重量％未満、好ましくは、１０重量％以上７５重量％未満の範囲で含有することを特徴とする、バクテリアセルロース濃縮物に係わる。

また、本発明は、バクテリアセルロースの水性懸濁液を、該バクテリアセルロースの含有量が１０重量％以上７５重量％未満となるように一旦濃縮し、その後に再び水性液に分散させ、該分散液中でバクテリアセルロースを離解処理することを特徴とする、バクテリアセルロース分散性及び懸濁安定性向上方法、及び該方法によって得られたバクテリアセルロースの水性懸濁液に係わる。

更に、本発明は、離解処理を受けたバクテリアセルロースの水性懸濁液を、該バクテリアセルロースの含有量が４重量％以上、好ましくは、６重量％以上７５重量％未満の範囲となるように一旦濃縮し、その後に再び水性液に分散させることから成る、バクテリアセルロースの製紙特性向上方法及び該製紙特性向上方法よって得られたバクテリアセルロースの水性懸濁液にも係わるものである。

以上に述べた離解処理は機械的剪断力、超音波、高圧処理、酸加水分解、酵素を用いた加水分解若しくは漂白剤又はそれらの組合せによって実施することができる。

【０００５】

上記のバクテリアセルロースの濃縮物及び懸濁液又は分散液には、上記特願平７－３２９４７２に第３成分として記載されている、例えば、グリセリン、エチレングリコール、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、界面活性剤、乳酸、グルコン酸及びデルタグルコノラクトン並びにそれら１つ以上の混合物のような親水性液体、又は、例えば、水溶性低分子及び水溶性高分子等の水溶性物質、並びに水不溶性物質及び水難溶性物質のような親水性固体が含まれていても良い。

これら第３成分の添加量は、当業者であれば物質の種類等に応じて適宜選択することができ、通常ＢＣの重量に対して２重量％～１，０００重量％である。

更に、第３成分が含まれるバクテリアセルロース水性懸濁液の例として、セルロース生産菌の培養液そのもの又はそれに上記第３成分が含有されたものを使用することもできる。

又、水性分散液中のバクテリアセルロースの濃度は濃縮物中の濃度と較べて有意に低いものであり、当業者が適宜選ぶことができるが、通常０．０１重量％～３重量％である。

【０００６】

本発明の濃縮物は、バクテリアセルロース水性懸濁液をフィルタープレス、ベルトプレス、遠心分離、吸引濾過、又は乾燥等の公知手段で脱水処理することによって調製することが出来る。又、本発明方法における濃縮操作も同様の手段で実施することが出来る。

上記乾燥処理も、従来公知の、例えば、スプレードライ、風乾、熱風乾燥、及び真空乾燥等によって実施することが出来る。

【０００７】

バクテリアセルロースの離解現象は、機械的外力等によってセルロース内部に発生した応力が、これを変形・破壊することによる現象と考えられる。従って、本発明に於いて、バクテリアセルロースの離解処理は、バクテリアセルロースに機械的外力を与えることにより行なえる。更に酸及び／又はアルカリ加水分解、酵素を用いた加水分解及び漂白剤によっても離解処理を行なうことができる。

ここでいう機械的外力とは、例えば、引っ張り、曲げ、圧縮、ねじり、衝撃及び剪断等の応力が挙げられるが、一般的には圧縮、衝撃及び剪断応力が主体である。

実際にこれら機械的外力をバクテリアセルロースに与える場合は、例えば、ミキサー、ポリトロン又は超音波発振機等を使用することで達成できる。

ミキサーによる離解処理においては、機械的外力は攪拌羽根とバクテリアセルロースが衝突することによる衝撃力と、媒体の速度差によるズレ現象によって発生する剪断力が主体となる。

ポリトロンによる離解処理においては、機械的外力はバクテリアセルロースが外歯と内歯に挟まることによる圧縮力、高速に回転する歯とバクテリアセルロースが衝突することによる衝撃力、静止している外歯と高速に回転する内歯の隙間に存在する媒体に発生する剪断応力が主体となる。

超音波粉砕機、例えば、ソノレータと呼ばれている自励式超音波粉砕機による離解においては、機械的外力は超音波発振部の発振により媒体中にキャビテーション（空洞現象）が連続的に発生し、局部的に生じる著しい剪断応力が主体となる。

本発明の離解処理は、バクテリアセルロースに一定の負荷（機械的外力）を与えることができれば、上記具体例以外のいかなる方法でも行ない得る。

その他の離解処理条件は当業者が適宜選択することが出来る。

【０００８】

以上、離解処理について説明したが、本発明でいう離解処理が、セルロース生産菌の攪拌培養後、培養液から分離・精製されたバクテリアセルロースに対して行なう、独立した二次的な操作のみに限定されないことは、当業者には自明のことである。

なお、後述するように、攪拌操作にはバクテリアセルロースを離解する作用があり、攪拌培養においては、培養を目的とした攪拌作用によってもバクテリアセルロースを離解処理

することが十分に可能であるからである。
更に、攪拌培養により得たバクテリアセルロースを分離、洗浄、精製及び輸送する操作においても同様のことが言え、これらの操作において付加的に離解処理を行なうことも本発明の離解処理に包含されることに留意されたい。
【０００９】
尚、本発明で用いるＢＣを生産するセルロース生産菌は、例えば、ＢＰＲ２００１株に代表されるアセトバクター・キシリナム・サブスピーシーズ・シュクロファーメンタンス（Acetobacter xylinum subsp. sucrofermentans）、アセトバクター・キシリナム（Acetobacter xylinum ）ＡＴＣＣ２３７６８、アセトバクター・キシリナムＡＴＣＣ２３７６９、アセトバクター・パスツリアヌス（A. pasteurianus ）ＡＴＣＣ１０２４５、アセトバクター・キシリナムＡＴＣＣ１４８５１、アセトバクター・キシリナムＡＴＣＣ１１１４２及びアセトバクター・キシリナムＡＴＣＣ１０８２１等の酢酸菌（アセトバクター属）、その他に、アグロバクテリウム属、リゾビウム属、サルシナ属、シュードモナス属、アクロモバクター属、アルカリゲネス属、アエロバクター属、アゾトバクター属及びズーグレア属並びにそれらをＮＴＧ（ニトロソグアニジン）等を用いる公知の方法によって変異処理することにより創製される各種変異株である。
尚、ＢＰＲ２００１株は、平成５年２月２４日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所特許微生物寄託センターに寄託され（受託番号ＦＥＲＭ　Ｐ－１３４６６）、その後１９９４年２月７日付で特許手続上の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に基づく寄託（受託番号ＦＥＲＭ　ＢＰ－４５４５）に移管されている。
【００１０】
ＮＴＧ等の変異剤を用いての化学的変異処理方法には、例えば、Bio Factors, Vol. l, p.297－302 (1988)及び J. Gen. Microbiol, Vol. 135, p.2917－2929 (1989) 等に記載されているものがある。従って、当業者であればこれら公知の方法に基づき本発明で用いる変異株を得ることができる。また、本発明で用いる変異株は他の変異方法、例えば放射線照射等によっても得ることができる。
上述の方法によって創製されるセルロース生産菌の中でも、通気攪拌培養することによって、ポリスチレン換算の重量平均重合度が１．６×10^4 以上、好ましくは１．７×10^4 以上である高重合度のバクテリアセルロースを製造するか、又は、静置培養することによって、ポリスチレン換算の重量平均重合度が２．０×10^4 以上である高重合度のバクテリアセルロースを製造する菌株が好ましい。
本発明で使用し得る高重合度のバクテリアセルロースの生産菌のうち、ＢＰＲ３００１Ａは、平成７年６月１２日付で通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所特許微生物寄託センターに寄託され、受託番号ＦＥＲＭ　Ｐ－１４９８２を付されている。
一般的に、高分子材料の強度や弾性率は、高分子の重合度が高いほど、高いものとなることが知られている。バクテリアセルロースの場合にも同様で、高重合度のバクテリアセルロースを原料として得られた各種製品は、相対的に低い重合度のバクテリアセルロースを原料として得られたものと比較して、その強度や弾性率が高い。従って、高強度や弾性率のものを製造したい場合には、先に述べたような高重合度のバクテリアセルロースを用いた方が高い効果が得られる。
【００１１】
本発明におけるＢＣ等の各種セルロースの重量平均重合度は、検出器としてＲＩを内蔵したＧＰＣシステム（Tosoh ＨＬＣ－８０２０）を用いて以下のようにして測定する。
各種セルロース試料を発煙硝酸－五酸化リン溶液で W.J. Alexander, R.L. Mitchell, Analytical chemistry 21, 12, 1497-1500 (1949) の方法によりニトロ化する。
コントロールとして同時にニトロ化したコットンリンターを用いる。
セルロースニトロ化物はＴＨＦ（和光純薬　１級）に０．０５％濃度で溶かしたのち、１．０μｍポアサイズのフィルターで濾過する。
ＧＰＣの溶離液にもＴＨＦを用いる。
流速は０．５ml／min 、圧力は１０～１３kg f／cm^2 、サンプル注入量は１００μl とす

る。
カラムはＴＳＫｇｅｌ　ＧＭＨ－ＨＲ（Ｓ）（７．５ＩＤ×３００㎜×２本）とガードカラム（ＨＨＲ（Ｓ））(Tosoh Co., Ltd.) を用い３５℃で測定する。分子量算出のためにスタンダードポリスチレン(Tosoh) を用いポリスチレン換算の相対分子量を求める。
2×10^7 から２６３０の分子量のポリスチレンを用い、溶出時間（ｔ）と分子量の対数（ｌｏｇＭ）について、３次式：（$\log M = At^3 + Bt^2 + Ct + D$）による近似を行いスタンダード曲線を作製する。
分子量はTosoh のデータ処理専用機（ＳＣ－８０２０）に内蔵されたプログラム（ｖｅｒ．３，１０）により重量平均分子量を計算する。
これらの分子量の値からニトロ化後の置換度を考慮して重量平均重合度を計算する。

【００１２】
本発明方法に於いて、培養に用いる培地の組成物中、炭素源としてはシュクロース、グルコース、フラクトース、マンニトール、ソルビトール、ガラクトース、マルトース、エリスリット、グリセリン、エチレングリコール、エタノール等を単独或いは併用して使用することができる。更にはこれらのものを含有する澱粉水解物、シトラスモラセス、ビートモラセス、ビート搾汁、サトウキビ搾汁、柑橘類を始めとする果汁等をシュクロースに加えて使用することもできる。また、窒素源としては硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム等のアンモニウム塩、硝酸塩、尿素等有機或いは無機の窒素源を使用することができ、或いは Bacto-Peptone、 Bacto-Soytone、 Yeast-Extract、豆濃などの含窒素天然栄養源を使用してもよい。有機微量栄養素としてアミノ酸、ビタミン、脂肪酸、核酸、２，７，９－トリカルボキシ－１Ｈピロロ〔２，３，５〕－キノリン－４，５－ジオン、亜硫酸パルプ廃液、リグニンスルホン酸等を添加してもよい。

【００１３】
生育にアミノ酸等を要求する栄養要求性変異株を使用する場合には、要求される栄養素を補添することが必要である。無機塩類としてはリン酸塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、鉄塩、マンガン塩、コバルト塩、モリブデン酸塩、赤血塩、キレート金属類等が使用される。
更に、イノシトール、フィチン酸、ピロロキノリンキノン（ＰＱＱ）（特公平５－１７１８号公報；高井光男，紙パ技協誌，第４２巻，第３号，第２３７～２４４頁）、カルボン酸又はその塩（特願平５－１９１４６７号）、インベルターゼ（特願平５－３３１４９１号）及びメチオニン（特願平５－３３５７６４号）等のセルロース生成促進因子を適宜培地中に添加することもできる。
例えば、酢酸菌を生産菌として用いる場合には、培養のｐＨは３ないし７に、好ましくは５付近に制御する。培養温度は１０～４０℃、好ましくは２５～３５℃の範囲で行う。培養装置に供給する酸素濃度は１～１００％、望ましくは２１～８０％であれば良い。これら培地中の各成分の組成割合及び培地に対する菌体の接種等は培養方法に応じて当業者が適宜選択し得るものである。

【００１４】
本発明のバクテリアセルロースは、従来より、微生物を培養する培養形式として公知の、振盪又は通気攪拌培養等の方法で製造することができる。培養操作法としては、いわゆる回分発酵法、流加回分発酵法、反復回分発酵法及び連続発酵法等がある。
ここで、攪拌培養とは、培養液を攪拌しながら行なう培養法であり、当該攪拌培養中に受ける攪拌作用によって、バクテリアセルロースの構造が、例えば、結晶化指数が低下して非晶部が増すように変化する。
攪拌手段としては、例えばインペラー、エアーリフト発酵槽、発酵ブロスのポンプ駆動循環、及びこれら手段の組合せ等を使用することができる。
更に、本出願人名義の特願平６－１９２２８７号に記載された培養装置と分離装置の間で菌体を含む培養液を循環させるセルロース性物質の製造方法であって、該分離装置に於いて、生産物であるセルロース性物質を菌体及び培養液から分離することを特徴とする前記方法や、同じく、本出願人名義の特願平６－１９２２８８号に記載されたセルロース生産

菌を培養してセルロース性物質を製造する方法であって、培養期間中、培養系からの培養液の引き抜き及び該引き抜き量とほぼ等容量の新たな培養液の供給を連続的に行なうことによって、培養中の培養液に於けるセルロース性物質の濃度を低く維持することを特徴とする前記製造方法がある。

【００１５】

前記攪拌培養を行なうための槽としては、例えば、ジャーファーメンター及びタンク等の攪拌槽、並びにバッフル付きフラスコ、坂口フラスコ及びエアーリフト型の攪拌槽が使用可能であるがこの限りではない。

本発明でいう攪拌培養においては、攪拌と同時に、必要に応じて、通気を行なっても良い。ここでいう通気とは、例えば空気等の酸素を含有するガス、並びに例えばアルゴン及び窒素等の酸素を含有しないガスのいずれを通気しても良く、これらガスは培養系の条件に合わせて当業者により適宜、選択されよう。

例えば、嫌気性の微生物の場合は、不活性ガスを通気をすれば、その気泡によって培養液を攪拌することができる。

好気性の微生物の場合には、酸素を含有するガスを通気することで微生物の成育に必要な酸素を供給すると同時に、培養液を攪拌することができる。

通気攪拌培養等により得たバクテリアセルロースを遠心分離法又は濾過法等により培養液から分離する。

【００１６】

本発明の方法によって製造されるバクテリアセルロースは菌体はそのまま回収してもよく、さらに本物質中に含まれる菌体を含むセルロース性物質以外の不純物を取り除く処理を施すことが出来る。

不純物を取り除くためには、水洗、加圧脱水、希酸洗浄、アルカリ洗浄、次亜塩素酸ソーダ及び過酸化水素などの漂白剤による処理、リゾチームなどの菌体溶解酵素による処理、ラウリル硫酸ソーダ、デオキシコール酸などの界面活性剤による処理、常温から２００℃の範囲の加熱洗浄などを単独及び併用して行い、セルロース性物質から不純物をほぼ完全に除去することができる。

このようにして得られた本発明でいうセルロース性物質とは、セルロース及び、セルロースを主鎖としたヘテロ多糖を含むもの及びβ－１，３、β－１，２等のグルカンを含むものである。ヘテロ多糖の場合のセルロース以外の構成成分はマンノース、フラクトース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、ラムノース、グルクロン酸等の六炭糖、五炭糖及び有機酸等である。

なおこれ等の多糖が単一物質である場合もあるし２種以上の多糖が水素結合等により混在してもよい。

【００１７】

【発明の実施の形態】

以下、実施例により本発明をより詳細に説明するが、実施例は本発明を限定するものではない。各実施例に於いて、特記のない限り、ＢＣの含有量を示す（％）は重量％である。尚、各実施例に於いて、諸特性値は以下のように測定した。

分散性

懸濁液の分散性については肉眼で、乾燥前の離解物との比較をおこなった。

懸濁液の遠心沈降度

遠心沈降度の測定方法は、バクテリアセルロース（ＢＣ）濃度０．２％の懸濁液１０mlをFalcon製の１５mlのチューブにいれたものを３０００回転で１５分間遠心分離した後に沈降部分の体積の全体に対する比率で表した。沈降度の値が大きいほど沈降しにくく、分散していることになる。また、沈降度復元率として（乾燥後復水後の離解物の沈降度／乾燥前の離解物の沈降度）の値を用いた。

【００１８】

粘度

本発明での粘度とは、ＢＣ含量０．１％の水性懸濁液を動的液体粘弾性測定法により測定

したときの、３０℃における角周波数１０rad/sec での複素粘性率の絶対値（以下、単に粘度という）をいい、以下の式により表される。

複素粘性率の絶対値（P）　$|\eta^*| = |G^*| / \omega$

$|G^*| = (G'^2 + G''^2)^{1/2}$

（ただし、$|G^*|$；複素弾性率の絶対値（dyn/cm^2）、　G'；貯蔵弾性率（　dyn/cm^2）、　G''；損失弾性率（dyn/cm^2）、　ω；平行円板の振動の角周波数（rad/s)を表す。）

より具体的には、動的液体粘度測定装置（Rheometrics 社製の「FLUIDS SPECTROMETER RFS II」を使用し、直径５cmの平行回転円盤の間に濃度０．１％のＢＣ離解物の水性懸濁液を２mlはさんで、温度３０℃に調整後、Frequency sweep モードにおいてひずみを１０％に設定し、角周波数を１～１００rad/s まで１０段階で上昇させて円板を振動させた際の角周波数１０rad/s において測定された粘度である。なお、この場合のひずみは以下の式によって表される。

ひずみ（％）　$\gamma = R / H \times \theta \times 100$

（ただし、Ｒ；平行回転円板の半径（mm）、　Ｈ；平行円板間に挟まれた試料の厚み（mm）、　θ；平行円板の振動の振幅（rad)を表す。）

【００１９】

【実施例】

バクテリアセルロースの製造及び離解処理（参考例）

（１）　シード菌液の調製（菌体の増殖）

セルロース生産菌をフラスコ培養法によって菌体を増殖させた。

フラクトース４０ｇ／Ｌ、リン酸－カリウム１．０ｇ／Ｌ、硫酸マグネシウム０．３ｇ／Ｌ、硫酸アンモニウム３ｇ／Ｌ、バクトーペプトン５ｇ／Ｌ、乳酸１．４ml／Ｌ、初発ｐＨ５．０の組成の基本培地１００mlを張り込んだ７５０ml容Ｒｏｕｘフラスコに、ＢＰＲ２００１株（ＦＥＲＭ　ＢＰ－４５４５）の凍結保存菌液１mlを植菌し、定温培養器内で２８℃で３日間静置培養を行なった。このシード培養後、前記Ｒｏｕｘフラスコをよく振盪した後、無菌条件下で内容物をガーゼ濾過し、シード菌液を得た。

（２）　攪拌培養によるバクテリアセルロースの製造

上記シード菌液６０mlを滅菌済みの後述する攪拌培養用の培地５４０mlを張り込んだ小型ジャーファーメンター（全容量１０００ml）に無菌的に植菌し、３０℃で２０時間又は３０時間、ｐＨをアンモニアガス又は１Ｎ　H_2SO_4 で５．０にコントロールしながら、また、攪拌回転数を初発４００rpm で、溶存酸素量（ＤＯ）が３．０～２１．０％内に入るように回転数を自動制御しながらジャーファーメンターで攪拌培養を行なった。

攪拌培養には、以下の組成の培地を用いた。

【００２０】

【表１】

ＣＳＬ－Ｆｒｕ培地

フルクトース	4．0 (%)
KH_2PO_4	0．1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0．025
$(NH_4)_2SO_4$	0．33
ビタミン混合液	1．0
塩類混合液	1．0
ＣＳＬ（コーンステープリカー）	4．0
ｐＨ	5．0

【００２１】
【表２】
塩類混合液

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	３６０mg／Ｌ
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	１４７０mg／Ｌ
$Na_2MoO_2 \cdot 2H_2O$	２４２mg／Ｌ
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	１７３mg／Ｌ
$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	１３９mg／Ｌ
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	５mg／Ｌ

【００２２】
【表３】
ビタミン混合物

化合物	mg／Ｌ
イノシトール	２００
ナイアシン	４０
ピリドキシンＨＣｌ	４０
チアミンＨＣｌ	４０
パントテン酸カルシウム	２０
リボフラビン	２０
ｐ－アミノ安息香酸	２０
葉　酸	０．２
ビオチン	０．２

【００２３】
培養終了後、ジャーファーメンター内の固形物を集積し、水洗して培地成分を除去した後、１％ＮａＯＨ水溶液中で８０℃、一晩処理して菌体を除去した。さらに、硫酸で中和したのち、洗浄液が中性付近になるまで生成セルロースを水洗して精製バクテリアセルロースを得た。
【００２４】
（３）　バクテリアセルロースの離解処理
（２）の攪拌培養法により得られた洗浄バクテリアセルロースに水を加え、約０．１重量％の離解処理濃度（バクテリアセルロース乾燥重量／容量）の懸濁液を調製した。次いで、この懸濁液を攪拌機（オースター社製ブレンダー）により２５℃で３分間離解した。攪拌機の回転数は最高レベルに設定した。
なお、上記におけるＢＣの濃度は、培養液から遠心分離で湿潤状態の固形分を取りだした後に、この固形分の２０倍量の０．２規定の水酸化ナトリウム溶液中で１００℃で１時間

浸漬することで、バクテリアセルロース以外の菌体や培地成分を取り除いた後に、十分水洗乾燥して測定した乾燥重量から計算した。

【００２５】

実施例１

参考例（２）の方法で得られた精製ＢＣの０．４％懸濁液８００Ｌを調製し、これをフィード液として、以下の仕様のフィルタープレスを用いて濾過した。濾過条件は以下のとおりである。

(1) フィルタープレス仕様：濾過面積２．６７m^2（濾過板サイズ７５０mm角）、濾室数４室、圧搾機構付、濾過板、圧搾板ともにポリプロピレン製

(2) 濾過方法：濾過圧力４kg／cm^2 の定圧濾過

(3) 圧搾方法：圧搾圧力６kg／cm^2 、圧搾時間２０分

(4) 処理温度：６０℃

(5) 濾布：テトロン製、通気度３０cc／cm^2 ／sec

濾過終了後、圧搾工程に入り、２０分圧搾後得られたＢＣケークの濃度は２５．８～２９．３％であった。このケークの形態は板状の固形物であり、非常に堅いものであった。さらに、水分の漏出は全くなく、濾布からの剥離性は良好であり、ＢＣの付着はほとんど見られなかった。また、容易に運搬が可能であった。

【００２６】

比較例１

実施例１と同じ条件で、圧搾時間のみを２０分から５分に短縮したところ、得られたＢＣケークの濃度は１２．５～１４％であった。このケークの形態は板状の固形物であるものの、実施例１で得られたケークに比べかなり軟質であった。（指を押しつけると変形した。）水分漏出が若干あり、濾布からの剥離性は悪く、ＢＣの濾布への付着が顕著であった。また、軟質が故、崩れやすく、運搬時に板状の形態が保てなかった。

【００２７】

実施例２

実施例１と同じ条件で０．４％ＢＣ懸濁液を調製し、この懸濁液をソノレーター（超音波離解機）にて以下の条件で離解を施した。

ソノレーター（SONIC 社製）：

離解処理濃度（ＢＣ乾燥重量／容量）０．４％、液温２５℃、流量６Ｌ／分、圧５０kg／cm^2 、通り回数１回とした。音圧が最大となるように、背圧バルブとブレード位置を調製した。

この離解ＢＣをフィード液として、実施例１と同一条件にて濾過、圧搾を実施した。得られたＢＣケークの濃度は２７．３～２９％であり、状況は実施例１と同じであった。また、比較例１と同様にケークの濃度を１２．５～１４％とした場合には、比較例１と同じ状況であった。

【００２８】

実施例３

実施例２の離解物から各固液分離機によって種々の濃度のＢＣケークを得た。結果を表４に示す。

【００２９】

【表４】

固液分離機	ＢＣ濃度	形状
スクリューデカンター	３～１０％	ペースト状
バケット型遠心濾過機	２～１５％	ペースト状
分離板型遠心分離機	０．４～０．６％	ペースト状
フィルタープレス	２６～３０％	板状

【００３０】
フィルタープレースを用いて濃縮した場合には、板状のものが得られ、運搬が容易であった。
【００３１】
実施例４
参考例（３）に記載の方法で離解処理を施したＢＣ懸濁液を実験室用遠心機（日立ＣＲ５ＤＬ）を用いて濃縮してペースト状とし、更に、手漉き用濾紙に挟んで圧搾し、濃度６％、１０％及び３０％に濃縮した。
次に、バクテリアセルロースに水を加えて濃度を０．４％に調整し、攪拌機（オースター社製ブレンダー）を用いて２５℃で３０秒間処理し、再分散した。攪拌機の回転数は最低レベルに設定した。
製紙特性の評価法
▲１▼　填料歩留まり：
上述のように調製したバクテリアセルロースとＪＩＳ－Ｐ－８２０９に準拠して離解したＬＢＫＰを重量比で２．５：９７．５に混合したパルプ１００部に対し、軽質炭酸カルシウム１００部、陽性澱粉１部を添加し、この紙料を用いて、ＴＡＰＰＩ標準法Ｔ２６１に準拠して、スクリーン通過分より填料歩留まりを求めた。尚、填料分の定量はＴＡＰＰＩ標準法Ｔ２６９に準拠し、４００℃、８時間で灰化して行った。
▲２▼　濾水度：
上述のように調製したバクテリアセルロースとＪＩＳ－Ｐ－８２０９に準拠して離解したＬＢＫＰを重量比で５：９５に混合し、ＪＩＳ－Ｐ－８１２１に準拠して、カナダ式標準型濾水度（ＣＳＦ）を測定した。
結果：
【００３２】
【表５】

	填料歩留まり（%）	ＣＳＦ（cc）
実施例；　６%濃縮後再分散	３８．４	３００
１０%濃縮後再分散	３８．５	３１０
３０%濃縮後再分散	３８．０	３１０
比較例；離解のみ・濃縮せず	３８．７	２５０

【００３３】
離解物を濃縮後に再分散させることで、濾水度が向上し、しかも、もとの離解物と同等の填料歩留まり効果をもつものが得られた。
【００３４】
実施例５
参考例（２）で得られた精製ＢＣを遠心分離を用いて濃縮し、ＢＣ含量約６％、水分含量約９４％のものを得た。これを吸引濾過、または吸引濾過後に６０℃雰囲気下で風乾し、ＢＣの濃度の異なる濃縮ＢＣを調製した。これらの濃縮ＢＣに水を加え、良く攪拌し０．２％のＢＣの濃度の懸濁液（分散液）を調製した。この懸濁液１０mlをフィスコトロン（日音理機工業製）を用いて５分間ホモジナイズし離解物を調製してから、それぞれの離解物の遠心沈降度を測定した。結果を表６に示す。
【００３５】
【表６】

水に懸濁する前の濃縮ＢＣ中のＢＣの濃度（％）	遠心沈降度（％）
６．１	２７
１２．２	３０
２７．３	３２
５３．３	３２
５８．４	３１
８４．２	２０

【００３６】
１０％以上、望ましくは２６％以上７５％未満まで濃縮したＢＣは、再び水懸濁後に離解することによって濃縮を行わないＢＣ（６．１％）の場合と比較して遠心沈降度の値が高く、分散性や懸濁安定性の優れた離解物を提供するのに好適な原料であることがわかった。
【００３７】
実施例６
実施例５で得られたＢＣ（ＢＣ含量約６％、水分含量約９４％）を０．５％のＢＣ濃度になるように水を添加して希釈して液２５０mlを、ミキサーを用いて、１８０００rpm 、１分間離解し、離解物を調製した。この離解物３０ml（含有ＢＣ０．５％）を吸引濾過と赤外線乾燥を組み合わせて濃縮し、ＢＣ含量と水分含量が種々異なる濃縮ＢＣを調製した。この濃縮ＢＣに水をＢＣ含量０．２％となるように加えてからよく攪拌して分散させた後に、実施例２と同様のソノレーターを用いて１分間離解して離解物を調製した。それぞれの離解物の遠心沈降度を測定した。結果を表７に示す。
【００３８】
【表７】

水に懸濁する前の濃縮ＢＣ中のＢＣの濃度（％）	遠心沈降度（％）
０．５	５０
４．８	５６
１０．７	６６
２１．７	６８．５
３０．０	６４．５
３６．６	６４
３９．４	６５
５０．０	６１
６０．０	６０．５

【００３９】
４．８％以上、望ましくは１０％以上、さらに望ましくは２０％～６０％の範囲まで濃縮したＢＣは、再び水懸濁後に離解することによって濃縮を行わない離解ＢＣ（０．５％）の場合と比較して遠心沈降度の値が高く、分散性や懸濁安定性の優れた離解物を提供するのに好適な原料であることがわかった。この濃縮の効果は、実施例５に述べた未離解の精製ＢＣを用いた場合よりも、さらに顕著であることがわかった。
【００４０】
実施例７
実施例５と同様の方法でＢＣ濃度の異なる３種類の濃縮ＢＣを調製し、再分散後に離解し

て遠心沈降度と粘度を測定した。結果を表８に示す。

【００４１】

【表８】

水に懸濁する前の濃縮ＢＣ中のＢＣの濃度（％）	遠心沈降度（％）	粘度（ポイズ）
６．１	２３	９．５
１８．１	２８	１４．０
２７．０	３１	１７．５

【００４２】

１０％以上、望ましくは２０％以上まで濃縮したＢＣは、再び水懸濁後に離解することによって濃縮を行わないＢＣ（６．１％）の場合と比較して遠心沈降度の値が高く、分散性や懸濁安定性が優れているばかりではなく、粘度の点でも優れた離解物を提供するのに好適な原料であることがわかった。

【００４３】

実施例８

実施例５で得られた精製ＢＣ（ＢＣ含量約６％、水分含量約９４％）を０．１％のＢＣ濃度となるように１０００mlの水に懸濁した後に、ミキサー（オステライザー）を用いて離解した。離解は最大出力で５分間行った。この離解物を遠心分離機を用いて、１８０００rpm で２０分間遠心することによって、濃度３．００％まで濃縮した。また、離解物を吸引濾過することによって、１５．６０％まで濃縮した。これらの濃縮物と、濃縮前の離解物を０．１％のＢＣ濃度となるように水を加えて希釈してから、ミキサー（エキセルホモジナイザー、日本精機製作所社製）を用いて、容量３５ml、１８０００rpm の条件で５分間離解を行った。離解後に、粘度の測定を実施した。結果を表９に示す。

【００４４】

【表９】

ミキサー離解前の離解物または濃縮物のＢＣ濃度	離解後の粘度（ポイズ）
０．１％	６．１２
３．００％	９．０６
１５．６０％	９．９６

【００４５】

一旦、離解物を濃縮してから再び水性懸濁液（分散液）とし、その中で更にバクテリアセルロースを離解することによって、濃縮を経ない場合と比較して、より高い粘度の離解物が得られることが明らかとなった。

フロントページの続き

(72)発明者　火置　信也
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号　株式会社バイオポリマー・リサーチ内
(72)発明者　森永　康
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号　株式会社バイオポリマー・リサーチ内
(72)発明者　羽上田　忠彦
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号　株式会社バイオポリマー・リサーチ内
(72)発明者　宮下　弘
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号　株式会社バイオポリマー・リサーチ内
(72)発明者　柴田　明
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号　株式会社バイオポリマー・リサーチ内
(72)発明者　扇谷　浩
神奈川県川崎市高津区坂戸３丁目２番１号　株式会社バイオポリマー・リサーチ内

審査官　今村　玲英子

(56)参考文献　特開昭６１－１１３６０１（ＪＰ，Ａ）
特開平０２－１２８６９４（ＪＰ，Ａ）
特開平０２－２５１５０１（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C08B　15/00
D21H　17/25