

〔報告〕 ノリウツギから得られたネリの黒変原因調査とその対策

西田 典由・倉島 玲央・長田 雅裕*・小林 和楽*・
錦織 正智**・鈴木 三男***・早川 典子

1. はじめに

紙を漉く際、木材パルプや楮などの繊維の他に、繊維を分散させるためのネリと呼ばれる成分が必要である。化学的に合成されたネリも広く用いられているが、伝統的な和紙では植物から抽出した粘液が用いられてきた。中でも、ノリウツギ (*Hydrangea paniculata*) の内樹皮から抽出される粘液がかつての日本では広く用いられており、現在でも、掛軸の総裏紙に用いる宇陀紙ではネリとして専らノリウツギが選択されるなど、植物由来のネリは文化財修復に欠かせない¹⁾。ノリウツギは、かつては北海道各地で採取され、日本各地の紙産地に出荷されていた。しかし、ノリウツギ採取の収益性の悪さや採取者の高齢化、生育地の地権者への利用許可の困難さ等によって、採取業者は次々と廃業していき、このままでは文化財修復に用いる紙を漉けなくなる事態に陥ることが懸念されていた²⁾。そのような中、北海道標津郡標津町に、ノリウツギが大量に群生していることが明らかになった。資源量は町全体で10,000本を超えると見積もられ、長期間の安定供給が可能と考えられた。また、ノリウツギは山間部にまばらに自生している場合が多いが、標津町では平地にまとまって自生しており、採取が比較的容易であるという利点もあった。さらに、標津町が行政主体事業として生産に取り組むことになり、高齢化や地権についての課題も、解決の可能性があるが見出された。そのため、筆者らは2020年より標津町のノリウツギを紙産地に安定供給することを目指した活動を行っており、2022年には初の商業的な出荷が行われた。しかし、標津町のノリウツギを紙産地に提供してネリの抽出を行った際、加熱によりネリを抽出すると黒変するという事態が発生した。このままでは、ネリを加熱抽出している紙産地では使用することができないことになるため、黒変の原因の解明および対策を検討した。

2. ノリウツギから得られたネリとその黒変

2-1. ノリウツギの概要

ネリは、近代的な抄紙では化学的に合成されたものを用いる場合が多いが、伝統的には植物から抽出された粘液が用いられてきた。かつては様々な植物から抽出されてきたが、今日ではノリウツギ樹皮またはトロロアオイ (*Abelmoschus manihot*) 根から抽出される場合がほとんどである³⁾⁴⁾。ノリウツギはかつては紙産地の近郊で採取したものを用いていたが、寒冷地のノリウツギの方が良質なネリが得られるとされ、遅くとも明治40年代には北海道で採取したノリウツギを全国各地の紙産地に出荷するようになっていた。初期は樹皮をそのまま樽などに詰めて出荷していたが、大正時代にはホルムアルデヒド水溶液に浸漬することで防腐処理を施してから出荷されるようになった³⁾⁵⁾⁶⁾。出荷されたノリウツギを用いて、各紙産地でネリの抽出を行うが、その抽出法は紙産地により様々であり、冷水に漬け込むだけの場合もあるが、熱

*標津町役場、**北海道立総合研究機構森林研究本部林業試験場、***東北大学

水抽出を行う場合もある。また、ノリウツギを長期保存するために、防腐剤としてホルムアルデヒドを添加する紙産地がほとんどであるが、その添加量も産地により様々である。

2-2. ネリの黒変

2022年6月7日に標津町内で採取して冷凍保存していたノリウツギ樹皮を用いて、2022年秋に紙産地の手漉き和紙生産者が樹皮を冷凍庫から取り出し加熱してネリを抽出したところ、ネリが黒変するという事象が発生した。黒変の影響が漉いた紙にも及ぶ可能性があるため、このままでは紙漉きに用いることはできないとの指摘が手漉き和紙生産者からあった。該当のノリウツギは複数の紙産地に送られ、各地でネリが抽出されたが、黒変が見られたのは1か所の紙産地のみであり、その紙産地では、ノリウツギ樹皮と水を釜に入れてポイラー蒸気で加熱することでネリの抽出を行っていた。冷水にノリウツギ樹皮を漬けても黒変することはないので、加熱が黒変の一因となっていると考えられた。しかし、この紙産地では、それ以前から過去にも加熱によりノリウツギからネリを抽出していたが黒変が起きたことはなかったとのことである、加熱以外の要因も存在すると考えられた。

3. 実験

3-1. ネリ黒変の再現実験

黒変が確認されたのは1か所の紙産地のみであったため、水質・抽出に用いた器具など、当該紙産地固有の条件で発生した可能性を考えた。そこで、その産地とは異なる水質・器具を使用しノリウツギ採取地の標津町で再現実験を行うこととした。2022年11月、ステンレス製の鍋の中に、2-2. のノリウツギ樹皮370 gと樹皮全体が浸漬するよう水道水を入れて、ガスコンロで煮沸して、黒変するか確認を行った。また、比較のため、標津町とは異なる産地のノリウツギ樹皮(2022年6月に採取して-20℃で凍結保存していたもの)に、樹皮全体が浸漬するよう水道水を入れ、ホットプレートで煮沸して、黒変するか確認を行った。使用した道具や水は、実際の紙産地での使用状況を踏まえて選択した。

3-2. 黒変の原因物質の同定

3-1. で得られた抽出物を80メッシュのナイロン網でろ過し、得られたろ液を凍結乾燥した。得られた凍結乾燥物を熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析装置(Py-GC/MS)を用いて分析した。Py-GC/MSの分析条件は以下の通りである。

Py: フロンティア・ラボ PY-3030D、熱分解温度: 550℃、

インターフェース温度: 320℃、試料量: 1.0 mg

GC: Agilent 7890A、注入口温度: 320℃、カラム: DB-5ms (l=30 m, i.d.=0.25 mm、

df=0.25 μm)、オープン温度: 50℃ 3 min -10℃/min -320℃ 3 min、

カラム流量: 1.0 mL/min(He)、スプリット比: 1/10、

MS: Agilent 5975C、走査質量範囲: m/z=33-500

また、得られたマススペクトルのライブラリサーチ(Wiley/NIST Combined MS Library revision W9N08)により熱分解生成物の定性を行った。定性はライブラリサーチのみに拠り、完全な定性がなされた訳ではない。

3-3. ホルムアルデヒドの影響

従来、多くのノリウツギの産地で防腐剤としてホルムアルデヒドを添加していたが、新規産

地である標津町ではホルムアルデヒドを用いず冷凍で保存したため、ホルムアルデヒドが黒変を抑制していた可能性があると考えた。そこで、冷凍保存していた標津町産ノリウツギ樹皮を10 g採取し、ホルムアルデヒド液（富士フィルム和光純薬（株）、ホルムアルデヒド含量37%）を水道水で希釈した溶液50 mLと共に100 mL コニカルビーカーに入れ、ホットプレート上で90分間煮沸して観察した。ホルムアルデヒドの濃度は0%、0.019%、0.037%、0.074%、0.093%、0.19%、0.28%、0.37%、0.74%、1.1%、1.9%、3.7%に調整した。

3-4. 保存温度および保存時間の影響

先述した通り、標津町ではノリウツギ樹皮は冷凍庫（-18℃）で保存しているが、従来ノリウツギを生産していたほとんどの産地ではホルムアルデヒド液に浸漬後、室温で保存していた。保存温度や保存時間によって黒変が発生する可能性があると考えたため、樹皮を室温・冷蔵（5℃）・冷凍（-18℃）で保存して、一定時間毎にネリの抽出実験を行った。個体差を考慮して、1回の試料採取の際、近接して自生する3個体のノリウツギから樹皮を採取し、各種の保存法で保存した後、ネリを抽出して比較を行った。ネリの抽出方法は3-3.と同様である。抽出に用いた試料の一覧を表1に示す。

3-5. 植物内の酵素による影響の確認

植物の細胞内には様々な酵素が存在し、植物の生体内で多様な物質を生成する作用を持っている。しかし、5℃や-18℃の保存温度では酵素の活性は完全には失われ⁷⁾ない。そのため、保存中に何らかの酵素の作用によって黒色物質が生成されている可能性が想定された。この想定が正しければ、保存する前にあらかじめ酵素を失活させておけば、黒変は起きないということになる。そこで、新鮮なノリウツギ樹皮を液体窒素により急冷して酵素を失活させた後にネリ

表1 ネリの保存温度および保存時間の影響確認試験の試料一覧

試料採取日	保存温度および日数	試料記号
2023/10/8	冷蔵4日	Or4
	冷蔵23日	Or23
	冷蔵37日	Or37
	冷蔵4日 + 冷凍2日	Or4f2
	冷蔵4日 + 冷凍19日	Or4f19
	冷蔵4日 + 冷凍33日	Or4f33
2023/11/10	冷蔵3日	Nr3
	冷蔵10日	Nr10
	冷蔵3日 + 冷凍1日	Nr3f1
	冷蔵4日 + 室温6日	Nr4a6

表2 液体窒素処理試験の試料一覧

試料採取日	保存温度および日数	試料記号
2023/11/10	冷蔵3日	Nr3
	冷蔵3日 + 液体窒素	Nr3n

を抽出し、黒変が起きるかどうか確認した。樹皮10 gをガラス製コンカルビーカー (100 mL) に入れた後、液体窒素を試料全体が浸漬されるよう速やかに注ぎ入れた。室温で液体窒素が蒸発してさらに樹皮が室温に戻った後、4-3. と同様の方法でネリの抽出を行った。試料一覧を表2に示す。

4. 結果および考察

4-1. 再現実験

再現実験の結果を図1に示す。加熱前には黄褐色だった樹皮は、加熱により黒変した。また、得られたネリも黒変した。再現実験は黒変が確認された紙産地ではなく標津町の水道水と鍋を用いており、それでも黒変が確認されたことから、黒変は、水質や器具などのネリ抽出を行った紙産地特有の条件により生じるのではなく、加熱抽出すると再現されることが確認された。



図1 再現実験の様子と結果

A: 加熱前 B: 加熱中 C: 加熱後の樹皮および抽出物

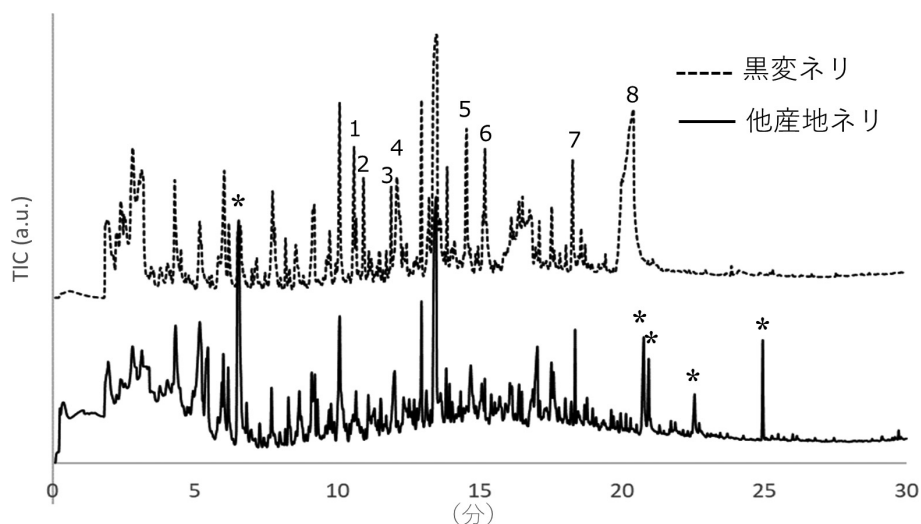


図2 ネリ凍結乾燥物の Py-GC/MS 分析結果

- | | | |
|---------------|---------------------|---------------|
| 1: フェネチルアルコール | 2: 2-フェニルプロピオンアルデヒド | 3: p-トルイル酸メチル |
| 4: カテコール | 5: 4-エチルカテコール | 6: イソオイゲノール |
| 7: 7-メトキシマリン | 8: ウンベリフェロン | |

*はポリスチレンの熱分解生成物であるスチレンモノマーやスチレンオリゴマーであり、ポリスチレン製容器からのコンタミネーションである。

4-2. Py-GC/MS 分析結果

Py-GC/MS によるネリ凍結乾燥物の分析結果と、黒変ネリのみを検出され他産地のネリからは検出されなかった（または痕跡量しか検出されなかった）主な熱分解生成物のリストを図2に示す。黒変したネリからのみ、ウンベリフェロンと推定される巨大なピークが出現した。ウンベリフェロンはポリフェノール類の部分構造であり、ポリフェノール分子が熱分解して遊離したものと考えられる。それ以外にもポリフェノールの熱分解生成物と推定されるピークが黒変ネリのみを観察され、樹皮やネリの黒変原因物質はポリフェノール類であると考えられる。

4-3. ホルムアルデヒドの影響

得られたネリの写真を図3に示す。ホルムアルデヒド濃度が高いほど変色は抑えられ、濃度が低下すると褐色を帯びてくる。ホルムアルデヒド濃度が0.093%になると、加熱後の樹皮の色が紫色を帯び、さらに0.037%になると、抽出液の色も紫色を帯びてくる。0%では黒く変色したが、極めて濃い紫色で黒く見えていると考えられる。これらのことから、ホルムアルデヒドの存在はネリの変色を抑制する効果があることが明らかとなった。先述した通り、標津町以外のノリウツギ産地では保存にホルムアルデヒドを用いているため、これが黒変を抑制していた可能性がある。ホルムアルデヒドがネリの黒変を抑制するメカニズムは定かではないが、ネリの黒変原因と推定されるポリフェノール類とホルムアルデヒドは強く反応することが知られており⁸⁾、これによってポリフェノールの着色が何らかの要因で抑制されているのではないかと推測される。

4-4. 保存温度および保存時間の影響

保存温度および保存時間の異なるノリウツギ樹皮からネリを抽出した結果を図4に示す。どのような保存方法であれ、保存時間が長くなるほど黒変が進むことが確認された。また、黒変の進む速度は冷蔵が最も遅く、室温や冷凍により促進されることが確認された。このような違いが生じる原因は未解明であるが、室温保存時は腐敗や自己融解により⁹⁾、冷凍時には氷晶の成長により¹⁰⁾、時間が経つにつれて組織が破壊されることに起因すると考えられる。

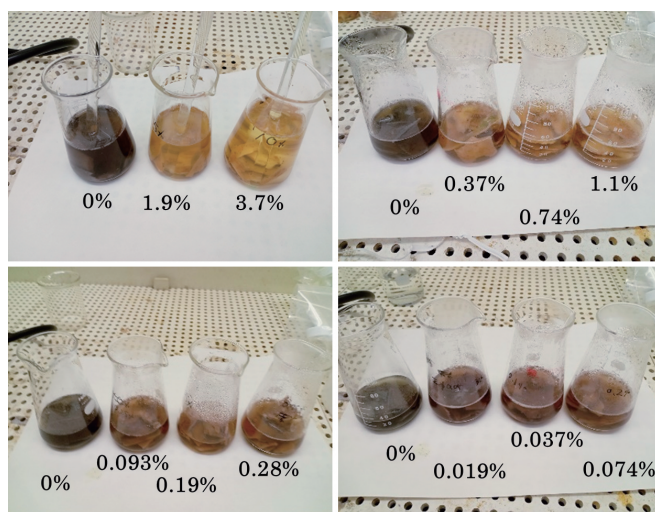


図3 加熱後のネリの黒変の状況

- a : ホルムアルデヒド濃度0%、1.9%、3.7%
 - b : ホルムアルデヒド濃度0%、0.74%、0.37%、1.1%
 - c : ホルムアルデヒド濃度0%、0.093%、0.19%、0.28%
 - d : ホルムアルデヒド濃度0%、0.019%、0.037%、0.074%
- まず a の条件で加熱実験を行い、黒変が見られないため、さらに希釈した b、c、d の順に加熱実験を行った。

4-5. 植物内の酵素による影響の確認

結果を図5に示す。新鮮なノリウツギ樹皮を加熱しても黒変は発生しないが、新鮮なノリウツギ樹皮を液体窒素処理して加熱すると黒変するという想定外の結果となった。液体窒素による瞬間的な凍結でも、生体組織には微小な氷晶は形成されることが報告されており¹¹⁾、4-4.での考察と同じく氷晶の形成による組織の破壊が液体窒素処理による黒変の要因と考えられる。この結果は、冷凍保存中、酵素の活性がなくても黒変は起きうるが、酵素の活性が黒変に参与している可能性は否定されないことを示している。確認するには、酵素阻害剤の利用など別の試験法を検討する必要がある。

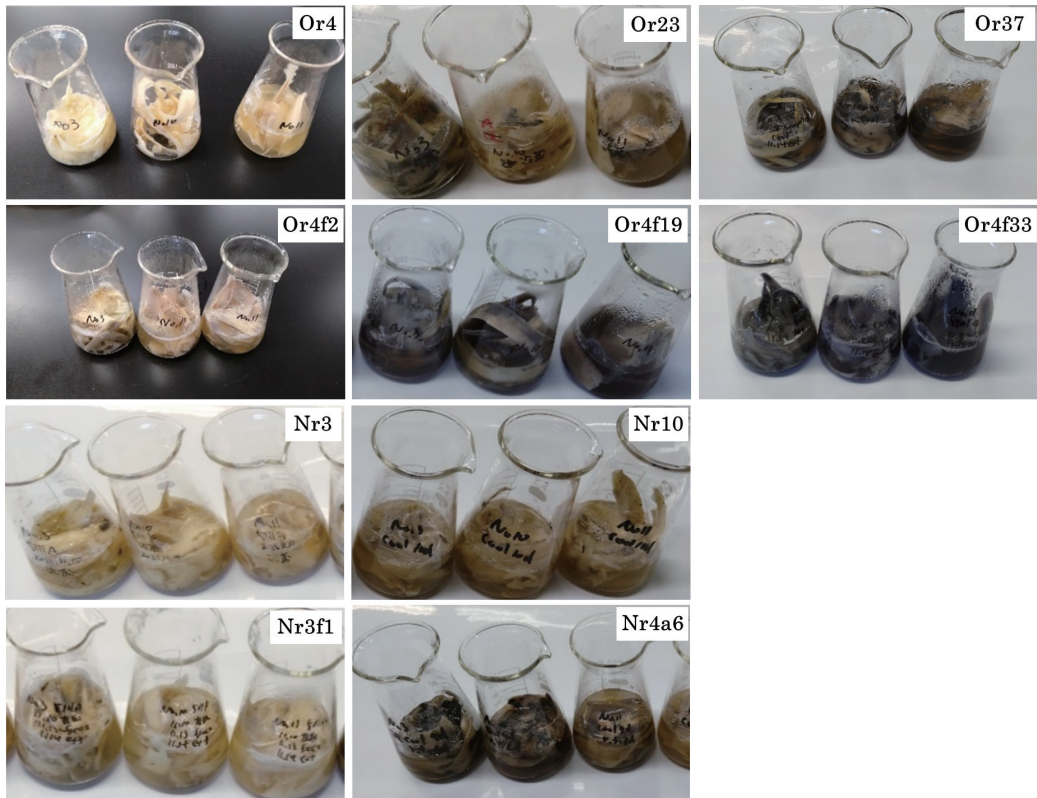


図4 保存温度および保存期間による変色

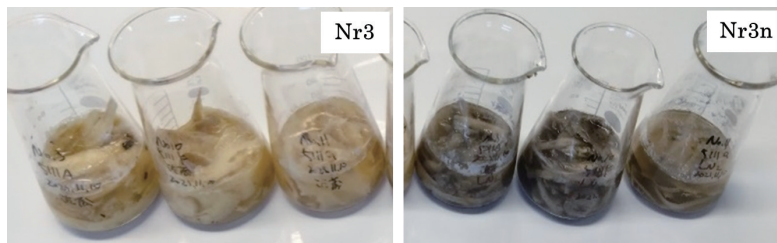


図5 液体窒素処理による変色

5. まとめ

紙産地におけるノリウツギから得られたネリの黒変は、加熱・長期保存・ホルムアルデヒド不使用の3条件が重なった時に発生することが確認された。そのため、これら3つのうちいずれかを抑制すれば、黒変は発生しないことが示唆される結果が得られた。ノリウツギの黒変原因物質はポリフェノール類であることがPy-GC/MSによる分析結果から明らかになった。ポリフェノール類は植物において生体防御機能を持つことが知られているため¹²⁾、ノリウツギ樹皮の組織が腐敗・自己融解・氷晶の成長など何らかの要因で破壊された後、さらに加熱することにより発現すると考えられる。しかし、組織が破壊された後、どのような機構でポリフェノールの黒変が発生するのかについては不明である。

謝辞

本研究を行うにあたり、京都大学大学院農学研究科森林科学専攻の栗野達也助教、ならびに福井工業高等専門学校電子情報工学科の嶋田千香特命准教授には、多大なご助言ご協力を頂きました。また、各地の紙産地の方々にも多大なご協力を頂きました。記して感謝いたします。

参考文献

- 1) 菊池理予、林圭史、渡瀬綾乃：文化財の視点からみたトロロアオイ生産技術の現状—茨城県小美玉市の事例を通じて—、無形文化遺産研究報告、14、79-100 (2020)
- 2) https://www.bunka.go.jp/seisaku/bunkashingikai/kondankaito/bunkazaisyuri/03/pdf/93801701_04.pdf (2023年11月23日参照)
- 3) 町田誠之：和紙の道しるべ：その歴史と化学、淡交社 (2000)
- 4) 町田誠之：日本の手漉紙、繊維学会誌、33、275-279 (1977)
- 5) 錦織正智：北海道産ノリウツギと和紙の関係、光珠内季報、202、19-23 (2022)
- 6) 錦織正智：初山別村から見た和紙の原料ノリウツギの記録 (未発表)
- 7) 吉田秋比古：低温貯蔵、生活衛生、30、278-284 (1986)
- 8) 矢崎義和：木質用天然物 (タンニン) 系接着剤、日本接着学会誌、37、494-499 (2001)
- 9) 保尊隆享：オーキシンによる細胞壁代謝の調節、植物の化学調節、25、40-56 (1990)
- 10) 僧都博：生細胞の凍結による障害と保護の機構、化学と生物、18、78-87 (1980)
- 11) 島田公夫 他：急速凍結融解された腫瘍細胞の生存 VI：細胞内氷晶の電子顕微鏡観察、低温科学. 生物篇、30、65-75 (1972)
- 12) 農業・生物系特定産業技術研究機構編：最新農業技術事典、農産漁村文化協会 (2006)

キーワード：ノリウツギ (*Hydrangea paniculata*)；ネリ (*neri, mucilage*)；黒変 (*blackening*)；ポリフェノール類 (*polyphenols*)；ホルムアルデヒド (*formaldehyde*)

Investigation of the Cause and Countermeasures for the Blackening of Noriutsugi (*Hydrangea paniculata*) Mucilage

NISHIDA Noriyoshi, KURASHIMA Reo, OSADA Masahiro*,
KOBAYASHI Aira*, NISHIKOORI Masatomo**, SUZUKI Mitsuo***
and HAYAKAWA Noriko

Neri, a mucilage extracted from Noriutsugi (*Hydrangea paniculata*), is indispensable for making Japanese paper used in the restoration of cultural properties. However, a problem arose when *neri* collected from Noriutsugi in Shibetsu Town, Hokkaido, turned black. Since the *neri* cannot be used for papermaking in this state, the cause of the blackening was analyzed and countermeasures were taken. The results revealed that the blackening occurred when the following three conditions were combined: heating, long-term storage, and non-use of formaldehyde as a preservative. Blackening did not occur if one of these factors was removed. The substance responsible for the blackening was presumed to be polyphenols, although the details are yet to be investigated.

* Shibetsu town, Hokkaido

** Hokkaido Research Organization Forest Research Department Forestry Research Institute

*** Tohoku University