

鹿児島工業高等専門学校 学 ○村山陵 正 山田真義 木原正人 正 山内正仁
鹿児島大学 八木史郎 宮崎大学 正 増田純雄 東洋ツール工業（株）是枝清上

1. はじめに

焼酎及びでん粉製造過程で発生する焼酎粕、でん粉粕は臭い（悪臭）が強く、その臭いは腐敗が進行することで更に悪化するため、製造工場内やその周辺の環境に悪影響を与えている。悪臭は典型7公害の一つであり、その苦情件数は、公害事象の総苦情件数のうち20%前後を占めており、騒音について2番目に多い公害である。しかし、これら食品廃棄物は悪臭がある一方で、焼酎粕は栄養成分が豊富であり、きのこの生長に必要な栄養分を含有していること、でん粉粕は保水性が高く、繊維質が豊富で、きのこの栽培で用いられるおが屑に性質が似ている特徴を有する。このことから、筆者らは焼酎粕乾燥固形物とでん粉粕をきのこの栽培用培地の原料として利用することを考案し、これまでにヤマブシタケ、ヒラタケなどの食用きのこの栽培することに成功している。また、その際、栽培終了後の培地から食品廃棄物由来の臭いが消失しており、発生した子実体にも食品廃棄物由来の臭いが認められず、培地中の臭気物質はきのこの菌糸により処理されていることが示唆された。また、これまでに焼酎粕・でん粉粕培地に含まれる臭気物質の同定と定量を試み、アセトイン、酪酸、ジアセチルが主成分となり、これらにその他の臭気物質が混ざり合うことで独特の不快な臭いを発していることを明らかにしている。本研究では、まず、これらの主要臭気物質の消失がきのこの菌糸によるものであるか、主要臭気物質の経時的变化を調査した。また、液体培地でのきのこの菌糸を培養後、培養液およびそのろ液に臭気物質を添加し、臭気物質消臭メカニズムを検討した。

2. 試験方法

1) 主要臭気物質の経時的变化：焼酎粕・でん粉粕培地の主要臭気物質であるアセトイン、酪酸、ジアセチルの培養日数に伴う主要臭気物質の残存率を調査した。供試菌株にはヤマブシタケを使用し、表-1の条件で培地を作製した。本試験では、臭気物質が培養期間中に自然に揮発して消失している可能性もあるため、菌を接種した培地と、菌を接種しない培地（以下、対照区）を準備し、これらを比較した。また、対照区については発生室内でキャップを外す段階で菌を接種した培地と同様、キャップを外すものと、キャップを付けた状態のものを準備した。両培地とも、0日目、8日目、16日目、25日目、30日目、33日目、40日目、47日目、54日目について主要臭気成分を分析した。アセトイン、ジアセチルについてはDNPH法（2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法）を用い、酪酸についてはイオンクロマトグラフ法を用いた。

2) 臭気物質消失メカニズムの検討：蒸留水1,000mLに酵母エキスを4g、麦芽エキスを10g、ブドウ糖4gを加え、液体培地を作製し、滅菌処理（20分間、121℃）を行った。滅菌処理後、液体培地の温度を室温まで低下させ、クリーンベンチ内で滅菌済み三角フラスコ（100mL）に液体培地40mLを分注した。これを20本用意した。分注した三角フラスコにヤマブシタケ菌糸を白金耳接種したものを16本、菌を接種しないものを4本用意した。そして、それぞれにシリコ栓をし、振とう培養（温度：25±1℃、回転数：100rpm.）を行い、菌糸体のペレットの大きさが直径1.0cm程度になるまで約3週間培養した。

培養終了後、まず、クリーンベンチ内で同条件の4本の培養液を滅菌済み200mLメスシリンダーに入れ、しばらく放置し、菌糸体を沈殿させた。菌糸体沈殿後、培養液の総量が40mLになるように上澄み液を取り除き、それを三角フラスコ（100mL）に入れ、シリコ栓をした。これを同様に5セット（菌接種あり：4セット、菌接種なし：1セット）用意した。このうち、菌を接種した3セットにそれぞれ主要臭気物質（10,000ppm）を1.0mL添加し、臭気物質の動態を調査した。なお、サンプリングはクリーンベンチ内で行い、培養液0.2mLをその都度、採取した。菌の湿重量は各条件とも約3.5gであった。また、残りの培養液はろ過後、そのろ液4.0mLに主要臭気物質（1,000ppm）を1.0mL添加し、3日間振とうさせ、臭気物質の動態を調査した。

培養終了後、まず、クリーンベンチ内で同条件の4本の培養液を滅菌済み200mLメスシリンダーに入れ、しばらく放置し、菌糸体を沈殿させた。菌糸体沈殿後、培養液の総量が40mLになるように上澄み液を取り除き、それを三角フラスコ（100mL）に入れ、シリコ栓をした。これを同様に5セット（菌接種あり：4セット、菌接種なし：1セット）用意した。このうち、菌を接種した3セットにそれぞれ主要臭気物質（10,000ppm）を1.0mL添加し、臭気物質の動態を調査した。なお、サンプリングはクリーンベンチ内で行い、培養液0.2mLをその都度、採取した。菌の湿重量は各条件とも約3.5gであった。また、残りの培養液はろ過後、そのろ液4.0mLに主要臭気物質（1,000ppm）を1.0mL添加し、3日間振とうさせ、臭気物質の動態を調査した。

3. 試験結果

1) 主要臭気物質の経時的变化：図-1にアセトインの培地残存率の経時変化を示す。菌を接種した培地では培養8日目から徐々に減少する傾向を示した。培養30日目にアセトインは培地から消失し、それ以降も検出されなかった。したがって、菌周り完了までに培地中からアセトインは消失していることが明らかになった。一方、菌を接種しない培地ではアセトインの残存率は90%以上を示し、培養54日目まで殆ど変化なく培地中に残存していた。なお、キャップの開閉によるアセトインの変化は殆どなかった。このことから、アセトインは培養期間中に揮発などをして自然に消失する可能性は少なく、培地中に殆ど変化なく残存していると考えら

表-1 培地条件

試験区	培地組成（乾物重量%）					瓶詰め重量 (g)	水分率* (%)
	培地基材		培地栄養材		その他		
	でん粉粕	広葉樹おが屑	甘藷焼酎粕乾燥固形物	ホミニフィード	貝化石		
焼酎粕・でん粉粕培地	46		50		4	540	64.2
標準培地		62.7		33.3	4	580	63.8

*滅菌後の水分率

れた。図-2に酪酸の培地残存率の経時変化を示す。菌を接種した培地では、アセトインと同様な傾向を示し、培養30日目に培地中から消失し、それ以降も検出されなかった。菌を接種しない培地についてもアセトインと同様な傾向を示した。図-3にジアセチルの培地残存率の経時変化を示す。菌を接種した培地

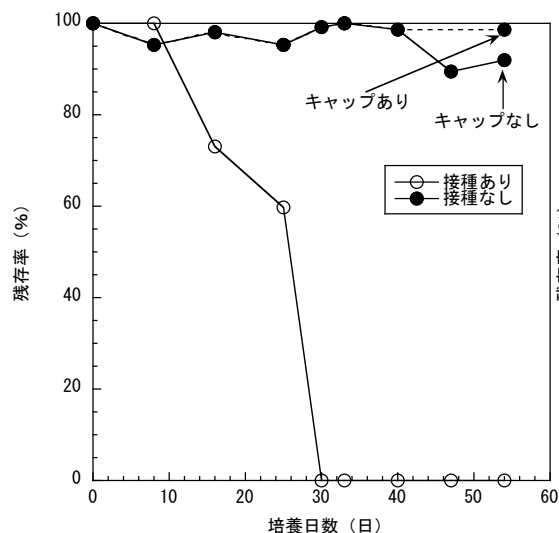


図-1 アセトインの経時変化

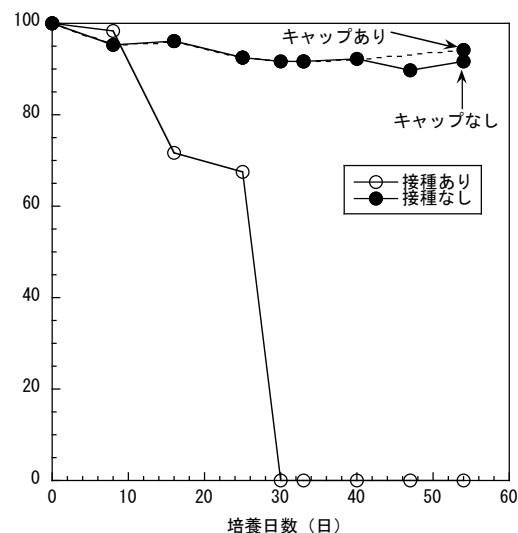


図-2 酪酸の経時変化

地では培養開始時から急激に減少し、培養16日目には培地への残存率は27%まで減少した。アセトイン、酪酸と比較すると早い段階で減少することがわかった。それ以降も減少し、培養33日目に培地中から消失した。また、菌を接種しない培地においてもジアセチルはアセトイン、酪酸と比較すると培養が進むにつれて明らかに減少していた。これはジアセチルの沸点が88℃で、他の物質の沸点（アセトイン：148℃、酪酸：164℃）と比較して低いため、揮発し易いことが影響していると考えられる。以上の結果から、焼酎粕・でん粉粕培地の主要臭気物質であるアセトイン、酪酸、ジアセチルはそれぞれの培地で残存率の経時的変化に差が認められた。このため、これら主要臭気物質の消失は、一部は揮発によって消失する可能性はあるが、消失のほとんどはきのこ菌糸の働きによるものであることが明らかになった。

2) 臭気物質消失メカニズムの検討：液体培地で菌糸を培養し、その培養液に主要な3種の臭気物質を個別に加えたものの経時変化を調査した。その結果を図-4に示す。3種の臭気物質はいずれも時間の経過とともに減少したが、アセトインの減少速度は他の物質に比べて遅かった。また、ジアセチルは経時的に減少する一方で、アセトインが生成されることが明らかになった。酵母ではアセトインはジアセチルの還元によって生成されることが知られている。本試験においても同様な傾向が見られた。つぎに、菌糸を接種し培養した液体培地と菌糸を接種しなかった液体培地のろ液に、臭気物質を添加し、3日間反応させた。しかしいずれのろ液においても臭気物質濃度に変化は認められなかった。これらのことから、臭気物質はきのこ菌糸が存在しなければ消失しないことが明らかになった。また、きのこ菌糸培養後の液体培地のろ液のみでは臭気物質が消失しなかったことから、臭気物質の消失は菌体内酵素によるものだと考えられた。したがって、臭気物質の消失はきのこ菌糸体内に直接、臭気物質が取り込まれた後、菌体内で処理され、分解・除去されると考えられた。

4. おわりに

本研究で得られた知見を示す。1) 焼酎粕・でん粉粕培地中の主要臭気物質は、菌周りを完了頃（培養33日目）までに消失していることが明らかになった。また、これらの臭気物質は子実体に移行しないことが明らかになった。2) 液体培地で菌糸を培養後、その中に臭気物質を混入させ、臭気物質の経時的変化を調査した。その結果、固体培地（焼酎粕・でん粉粕培地）同様に臭気物質が消失した。しかし、菌糸体を経過後の培養液ではこれらの臭気物質の減少は認められなかった。このことからこれらの臭気物質は菌体外酵素によって消失する可能性は低いことが示唆された。

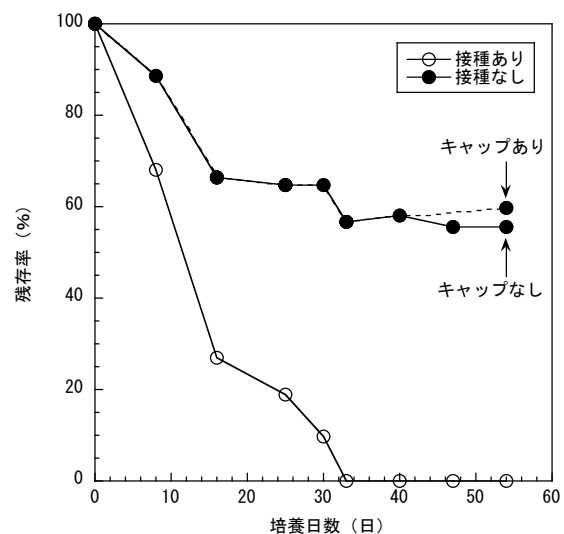


図-3 ジアセチルの経時変化

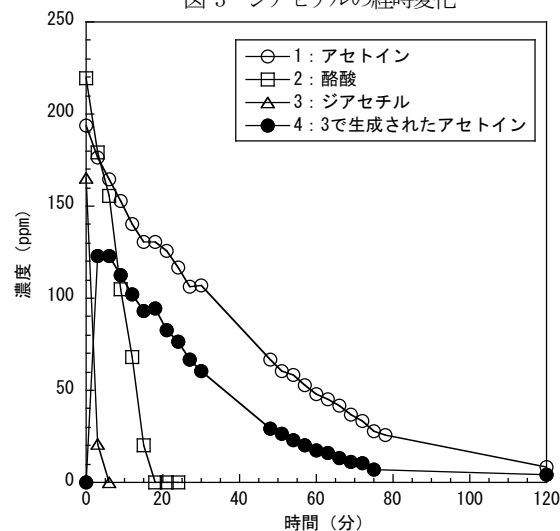


図-4 液体培地における主要臭気物質の経時変化