

食品廃棄物から有価物回収試験

湯之上雅子*・松田茂樹*・中川 優*

* 微生物応用部

Test on Reclaiming Valuable Resources from Food Factory Waste

Masako YUNOUE*, Shigeki MATSUDA* and Masaru NAKAGAWA*

食品工場からの廃棄物である焼酎粕の遠心分離液で麹菌を培養し、培養菌体からキチン・キトサンを抽出することを試みた。24種類の麹菌から、キトサン生産量の多い麹菌を1種類選抜した。選抜した1種類の麹菌を焼酎粕培地(pH4.5、Bx8.7)で培養して得られたキトサンは0.5g/L、キチンを含むアルカリ・酸不溶物は5.55g/Lであった。キトサン収量を増加させるために焼酎粕にグルコース、酵母エキス、ポリペプトンを添加して培養を行った結果、効果がなかったため、pH調整のみで培養に用いられることを確認した。

1. はじめに

食品工場から排出される廃棄物の中には、食品としての有効成分を含有するものが少なくないと考えられる。

一方、工場廃棄物の処理に関しては、海洋投棄が禁止されるので、少しでも廃棄物量を減少させることが必要とされている。

そこで、有効成分を回収し利用することが考えられるが、醸造食品工業で使用される麹菌や酵母などの微生物には細胞壁多糖の成分であるキチン・キトサンが含まれると期待できる。主として、エビやカニの殻から抽出されるキチン・キトサンは食品のみならず様々な分野での応用が進行中である¹⁾。

Mucor 属接合菌の Mucoraceae 科や Absidia 科の糸状菌からキチン・キトサンを抽出する研究が行われているが²⁾、焼酎製造や味噌・醤油などの醸造食品工業の中で用いられる Aspergillus 属の麹菌から抽出する研究は行われていない。

本研究では、焼酎粕遠心分離液で麹菌を培養した菌体からキチン・キトサンを抽出することを試み、廃棄物量の減少と有効成分の回収の可能性について検討した。

2. 実験方法

2.1 培養試験

使用した YPD 培地の組成を表 1 に示した。

表1 YPD 培地組成

	組成(%)
Yeast Extract	1
Polypeptone	2
D-glucose	2

YPD 培地に表 2 に示した 24 種類の麹菌 0.1g を接種し、

30°C で 72 時間、150rpm で振とう培養した後、菌体を吸い取ってろ紙上に捕集した。

表 2 使用した麹菌の種類

NO.	使用区分	NO.	使用区分
1	麦赤	13	IFO
2	麦赤	14	IFO
3	白みそ用	15	IFO
4	白みそ用	16	IFO
5	IFO	17	IFO
6	IFO	18	IFO
7	IFO	19	IFO
8	IFO	20	IFO
9	IFO	21	IFO
10	IFO	22	IFO
11	IFO	23	IFO
12	IFO	24	IFO

焼酎粕の遠心分離液は、pH を 4.5 に調整した後、滅菌処理し培地とした。YPD 培地での培養と同様に試験を行った。

また、炭素源としてグルコースの添加試験と、窒素源として酵母エキスとポリペプトンの添加試験も pH を 4.5 に調整して同様に行った。

2.2 キトサン抽出試験

培養試験で得た麹菌体から図 1 に示すフローシートに従ってキトサン抽出を行い²⁾、キトサン生産量の多い麹菌を選んだ。

2.3 脱アセチル化処理

アルカリ処理と酸処理の不溶物(AAIM)に脱アセチル化処理を行うことによりキトサンを得ることができるが、40%NaOH を加えて、ブロックヒーターで 130°C 1 時間の処理を行った。フローシートを図 2 に示した³⁾。

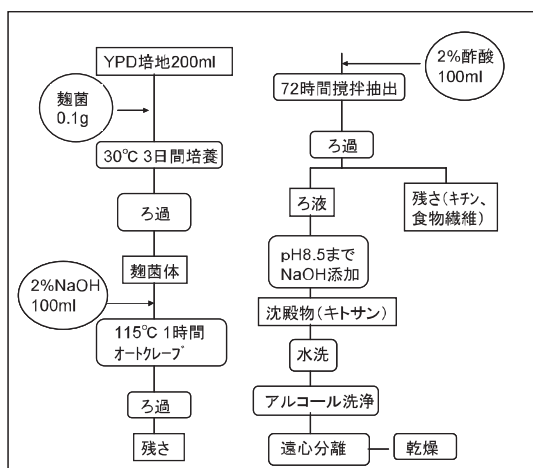


図1 キトサン抽出フローシート

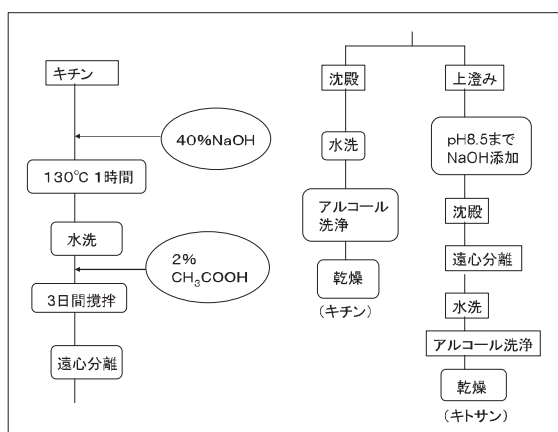


図2 脱アセチル化処理フローシート

2.4 FT-IR (フーリエ変換赤外分光分析装置) による確認試験

抽出したキチンとキトサンの確認のために日本分光(株)製 FT-IR (FT-IR-700) で測定した。

3. 実験結果及び考察

3.1 キトサン抽出試験

3.1.1 YPD 培地による培養試験

24 種類の麹菌を YPD 培地 200ml で培養し、菌体からキトサンを抽出した結果を表 3 に示した。

この表のキトサンには FT-IR で測定した結果、酢酸ナトリウムが混入しているのが分かったため、この後の試験では抽出したキトサンを水で 2~3 回洗浄し、酢酸ナトリウムを除去した結果を示した。

この結果から 15 種類を選び、YPD 培地での培養からキトサン抽出までの試験を 2 回行い、表 4 の結果から 3 種類を選んだ。

表 3 キトサン抽出量による麹菌の選抜

麹菌NO.	キトサン(g)	麹菌NO.	キトサン(g)
1	0.3096	13	0.2888
2		14	0.2359
3	0.1236	15	0.1681
4		16	
5		17	
6		18	0.2208
7		19	0.32
8	0.0961	20	0.1563
9	0.2155	21	0.3029
10		22	0.2254
11	0.0821	23	0.0913
12		24	0.043

※キトサン(g)は洗浄前の値

表 4 キトサン抽出量による麹菌の選抜試験結果

(YPD 培地: 1 L)

麹菌NO.	キトサン(g)
1	0.1929
13	0.1255
21	0.21

※キトサン (g) は水で 2~3 回洗浄すると酢酸ナトリウムが除去され、重量がかなり減少するため、表 3 の数字と比較すると低い値となった。

3.1.2 焼酎粕培地による培養試験

表 4 の 3 種類の麹菌を焼酎粕の遠心分離液 (Bx8.1~8.7) 300ml を pH4.5 に調整した培地で培養し、菌体からキトサンを抽出した結果を図 3 に示した。

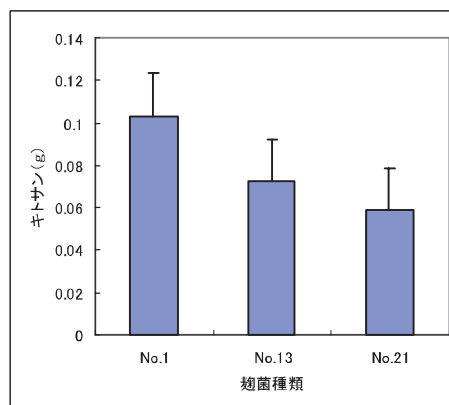


図3 焼酎粕培地によるキトサン抽出量

この結果から、1 種類の麹菌を選んだ。

選んだ麹菌(No.1)を、炭素源としてグルコースを量を変えて添加した焼酎粕培地 200ml で培養し、菌体からキトサンを抽出した結果を図 4 に示した。

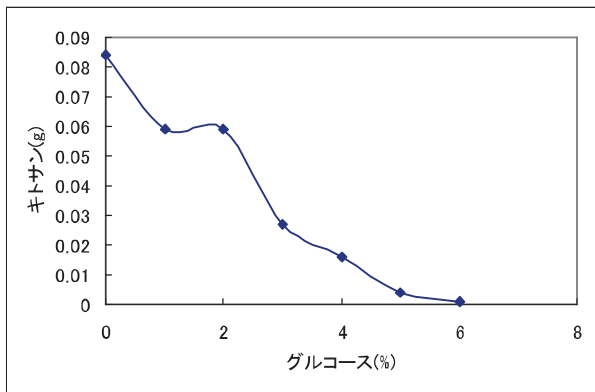


図4 グルコース添加試験結果

さらに、窒素源として酵母エキスとポリペプトンを量を変えて添加した焼酎粕培地 200ml で培養し、同様に試験した結果を表5に示した。

図4と表5の結果を見ると、グルコースや酵母エキス、ポリペプトンは添加しない方がキトサン収量が高いことが分かったので、焼酎粕の遠心分離液を培地にする場合、pHを4.5に調整するだけで、炭素源や窒素源を添加しない方が良いという結果となった。

焼酎粕遠心分離液の Bx は 8.1~8.7 であるが、pH 調整するだけで培地として使えることは利点といえる。

表5 窒素源添加試験結果

酵母エキス添加量 (%)	ポリペプトン添加量 (%)	キトサン (g)
0	0	0.084
0.2	0.1	0.031
0.4	0.2	0.038
0.6	0.3	0.041
0.8	0.4	0.046
1	0.5	0.074

次に、焼酎粕遠心分離液 2.4L で麹菌を培養した結果、1L 当たり 0.5g のキトサンと 5.6g のキチン(アルカリ・酸不溶物)が得られた。この結果は *Mucoraceae* 科糸状菌から得られるキトサン量 (0.5~1g/L)²⁾ とほぼ同等である。収量は少ないが醸造工業で用いられる麹菌から得たという安全性の面で、健康食品などへの利用も可能であるという利点が考えられる。

3.2 FT-IR による確認試験

標準品のキチンとキトサン、麹菌体から抽出した酸可溶物(キトサン)とアルカリ・酸不溶物及びアルカリ・酸不溶物を脱アセチル化処理して得たキトサン及び脱アセチル化処理後の酸不溶物を FT-IR で測定した結果を図5~8に示した。

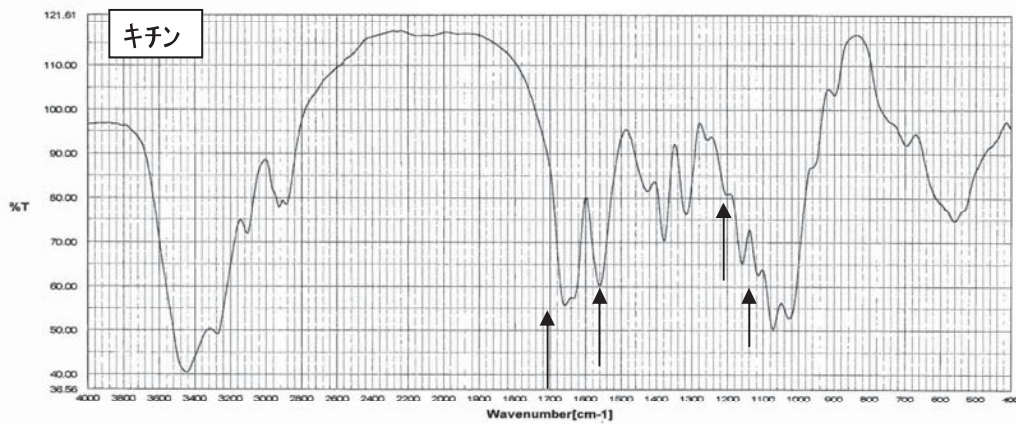


図5

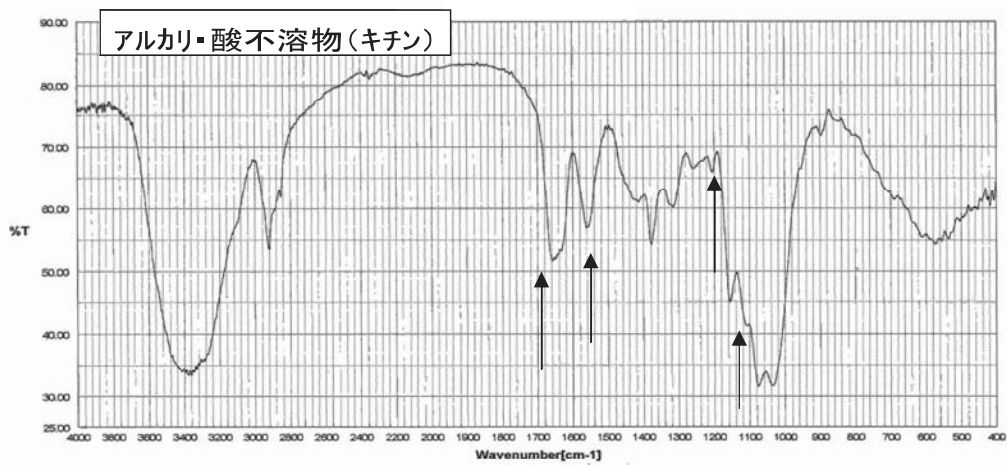


図 6

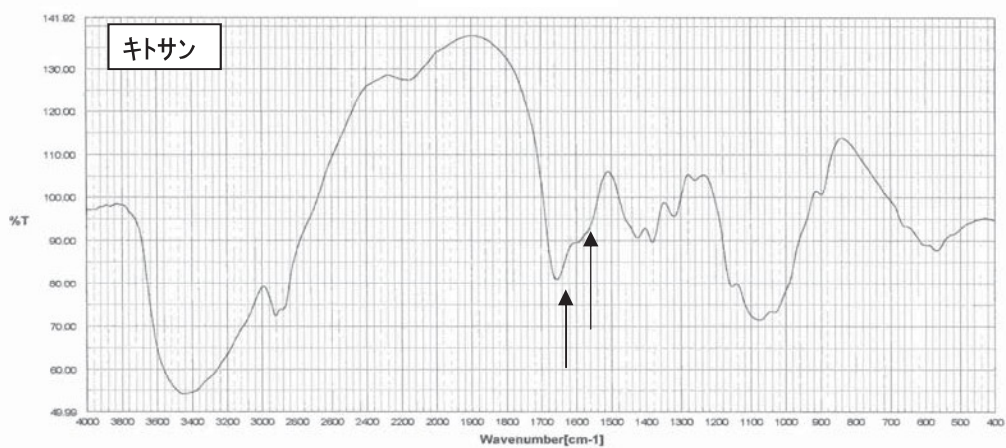


図 7

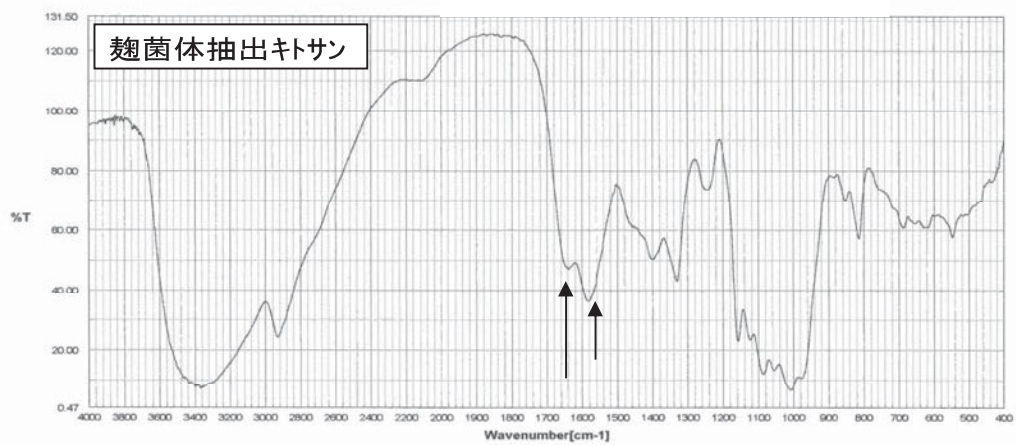


図 8

これらの図を見ると、キチン標準品と麹菌体から抽出したアルカリ・酸不溶物（キチン）では、矢印で示した 1660cm^{-1} のアミド I バンドと 1560cm^{-1} のアミド II バンドの吸収と 1200cm^{-1} と 1120cm^{-1} のアセチル基の吸収が見られるが、キトサン標準品と麹菌体から抽出した酸可溶物（キトサン）では、 1200cm^{-1} と 1120cm^{-1} のアセチル基の吸収が見られない。キトサンはキチンのアセトアミノ基が脱アセチル化されたものであるということを確認した。

また、図には示さなかったが、麹菌から抽出したキチンを脱アセチル化処理した酸不溶物と酸可溶物でもキチンとキトサンと同様の FT-IR 図が得られた。

この結果から、酸可溶物はキトサン、アルカリ・酸不溶物はキチン、脱アセチル化後の酸可溶物はキトサン、酸不溶物はキチンであることを確認した。脱アセチル化処理することにより、キトサンが得られるが、この処理は過酷な条件であり、高温高压が必要なので、キチンのままで利用する方法も検討することが必要と思われる。

エビやカニの殻から得られるキチンと比較して、微生物から得られるキチンは、結晶構造が緩く、脱アセチル化、酵素による分解、酸による分解などに高い反応性を有している⁴⁾とされ、応用の面でも有利である。

エビやカニ等の海洋資源の減少が懸念されることを考えると、キチン・キトサンの原料として培養微生物の利用も考慮することが必要になるとと思われるので、廃棄物を利用して、廃棄物処理とキチン・キトサンの回収を同時に行うことが可能になるのではないかと考えられる。

4. まとめ

食品廃棄物の中で醸造食品で用いる微生物に含有される細胞壁多糖のキチン・キトサンを抽出し、健康食品などに利用することを目的として試験を行い、次のことを明らかにした。

1. 焼酎粕の遠心分離液で培養した麹菌体からキトサンを抽出する方法について検討し、pH 調整のみで培地として用いることが可能であること、 0.5g/L のキトサン、 5g/L のキチン含有物が得られることが分かった。
2. 脱アセチル化処理により、キチン含有物から、キトサン(酸可溶物)と脱アセチル化度の低いキトサン及びキチン(酸不溶物)が得られる。
3. 醸造工業で用いられる麹菌を培養して、その菌体からキチン・キトサンを抽出することで食品としての安全性が得られる。
4. 廃棄物処理とキチン・キトサンの回収が同時に可能となる。

5. 謝辞

本研究を行うにあたり、キチン・キトサンに関して特別研究員としてご教示いただきました独立行政法人産業技術総合研究所関西センター環境化学技術研究部門 バイオベースポリマーグループ 相羽誠一 グループ長にお礼申し上げます。

文献

- 1) 平野茂博監修, キチン・キトサンの開発と応用, シーエムシー出版, 2004
- 2) 宮岡俊介, 新谷智吉, 相羽誠一, 村木永之介, 玉井洋一, 木場洋次郎, *Mucoraceae* 科糸状菌によるキトサンの発酵生産とそのキトサンの性質, キチン・キトサン研究, Vol.10, No. 1, p13~20, 2004
- 3) キチン・キトサン研究会編, キチン・キトサン実験マニュアル, 技報堂出版, p9~17, 1991
- 4) S. MIYAOKA, T. SHINTANI, S. AIBA, E. MURAI, Y. TAMAI and Y. KOBAYASHI, Properties of Microbe Chitin Isolated from *Absidia fusca*, キチン・キトサン研究, Vol.10, No. 3, p237~244, 2004