

## Screening and partial characterization of *Aspergillus oryzae* which can grow on raw potato pulp

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-10-07 キーワード (Ja): キーワード (En): biomass, agricultural waste 作成者: 鈴木, 聡, 福岡, 真里, 楠本, 憲一, 柏木, 豊 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24514/00002847">https://doi.org/10.24514/00002847</a>

## 研究ノート

## 生馬鈴薯デンプン滓上にて生育可能な麹菌株

鈴木 聡<sup>§</sup> , 福岡 真里<sup>§</sup> , 楠本 憲一<sup>§</sup> , 柏木 豊<sup>§</sup>Screening and partial characterization of *Aspergillus oryzae*  
which can grow on raw potato pulpSatoshi Suzuki<sup>§</sup> , Mari Fukuoka<sup>§</sup> , Ken-Ichi Kusumoto<sup>§</sup> , Yutaka Kashiwagi<sup>§</sup><sup>§</sup>National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642 Japan

## Abstract

To utilize the potato pulp, which is mostly disposed as industrial waste, we studied fermentation of potato pulp by *Aspergillus oryzae*. At first we chose *A. oryzae* strains which can grow on potato pulp. We measured growth rate of *A. oryzae* on potato pulp and a change of the dry weight of potato pulp during fermentation. As a result, the strain NFRI 1163 was selected and this strain grew on potato pulp well. During fermentation, dry weight of potato pulp was decreased and mass of protein was increased four times than that of the potato pulp without fermentation.

Key words: biomass, agricultural waste

## 緒言

近年我が国の馬鈴薯澱粉工業では毎年100万トンの馬鈴薯原料を使用し、デンプン抽出工程の後、原料重量に対して約1割が馬鈴薯デンプン滓として排出されている。馬鈴薯デンプン滓は馬鈴薯からデンプンを抽出した残渣であるが、デンプン、セルロース、ヘミセルロース、ペクチン、及びタンパク質を含む農産未利用資源である<sup>1)</sup>。馬鈴薯デンプン滓の利用を困難としている最大の理由は、排出時水分含量80%の高水分含量で腐敗しやすいため、輸送が困難であるという点である。そのため、馬鈴薯デンプン滓の利用は、長距離の移動の必要のない馬鈴薯澱粉工場付近において、サイレージ化され飼料として、あるいは堆肥化されて畑地還元されるが、その割合はごくわずかであり、大半は廃棄物となり、処理にコストを要している。飼料化

にあたっては、タンパク質含量の不足が問題となっており、麹菌による発酵によって微生物タンパク質の向上を目指す研究がなされた<sup>2),3)</sup>。また、乳酸発酵系状菌を利用した飼料化も研究されている<sup>1),4)</sup>。これら二つの研究は、どちらも蒸煮滅菌した馬鈴薯デンプン滓を試料としており、従って供試された各菌株の生馬鈴薯デンプン滓における生育に関しては不明である。海外においては、馬鈴薯デンプン滓を化石燃料を用いて乾燥し、飼料として利用している場合もあるが<sup>5)</sup>、我が国においては化石燃料のコストが膨大なものであるため、デンプン滓乾燥工程を有する馬鈴薯澱粉工場は一箇所のみであり、大半の工場では多量の水分を含んだままデンプン滓を排出している。従って、低コストにて腐敗を防ぐことが可能な程度にデンプン滓を乾燥させる技術が開発されれば、この農産未利用資源の利用範囲が大きく広がることとなる。

そこで、微生物発酵熱を利用した乾燥にて馬鈴薯デ

ンブン滓の水分含量を低減させ、かつ微生物タンパク質含量を増大させて成形性を高め、ペレット状とすることで長期保存、長距離移動のコストを低減する技術を開発することを考案した。このようなデンブン - 蛋白質混合物のペレットは生分解性樹脂原料として、比較的強度を必要としない土壌還元型農業資材として成形し製品化できる。本研究では、その前段階として生馬鈴薯デンブン滓上にて生育可能な糸状菌を探索し、その性状の一部を明らかにした。

## 実験方法

### 1. 供試馬鈴薯デンブン滓の調製法

試料として用いた馬鈴薯デンブン滓は、2007年及び2008年に上川北部農協合理化澱粉工場にて産出、乾燥されたポテトパルプ、及び2007年南十勝農工連澱粉工場にて産出された生馬鈴薯デンブン滓である。ポテトパルプ使用に際しては、最終試料水分量を実験条件に合わせて適宜調整するために水を加え、さらに、各1%終濃度(W/W)尿素、リン酸第一アンモニウムを添加した。これを成分調整ポテトパルプとし、試験に供した。生馬鈴薯デンブン滓には固体の尿素、リン酸第一アンモニウムを各1%終濃度(W/W)にて添加し攪拌、均一化した。これを成分調整生デンブン滓とし試験に用いた。成分調整ポテトパルプ及び成分調整生デンブン滓はともに、蒸煮滅菌あるいはその他の加熱をいっさい行わず、試験に供した。ただし、ポテトパルプ自体の乾燥工程に加熱工程が含まれている(フラッシュドライヤーにて約500度、数秒間)。また、本論文中では成分調整ポテトパルプに麹菌を培養したものをポテトパルプ麹、成分調整生デンブン滓に麹菌を培養したものを生デンブン滓麹と定義した。

### 2. 供試菌

食総研保存菌株のうち *Aspergillus oryzae*, *A. sojae* 及び *A. tamarii* として同定されている菌株44株、及び対照菌として *A. niger* IFO31125株及び *Emericella nidulans* IFO4340株を用いた(表1)。

### 3. 生育観察

保存されている各菌株をポテトデキストロース寒天斜面培地による培養後、9cmプラスチックシャーレに敷き詰めた成分調整生デンブン滓の中心に1白金耳量を植菌した。これを25℃にて培養し生育経過を5日間にわたり観察した。

表1 成分調整生デンブン滓上での麹菌生育

菌株名	デンブン滓培養	由来・別名等
1064		IAM2640
1091		<i>A. oryzae</i> 中国麹
1111		味噌製造用
1113		味噌製造用
1114		味噌製造用
1115		味噌製造用
1116	+	味噌製造用
1130		IFO4181
1131		IFO4377
1132		IFO5786
1133		IFO30104
1135		IFO4242
1136		IFO30102
1137		IFO30103
1138		IFO4249
1139		IFO4278
1140		IFO4203
1141		IFO4261
1143	+	IFO5768
1144		IFO30113
1147		<i>A. sojae</i> IFO4241
1148	+	<i>A. sojae</i> IFO4244
1149		<i>A. sojae</i> IFO4279
1150		<i>A. sojae</i> IFO4386
1158	++	
1159		IAM2649
1160		IAM2671
1161		IAM2683
1162		IAM2736
1163	+++	
1164		IAM2719
1165		IAM2660
1166		IAM2956
1167		IAM2957
1168		IAM2749
1169		IAM2603
1170	+	IAM2776
1171		<i>A. sojae</i> IAM2138
1172		<i>A. tamarii</i> IAM2138
1245		IFO4390
1598		RIB23
1599		RIB40
1601		RIB155
1605		RIB642
1618	+	<i>A. tamarii</i> JCM2259
<i>E. nidulans</i>		IFO4340
<i>A. niger</i>	+	IFO31125

### 4. 菌体量測定

成分調整ポテトパルプに麹菌を接種し、30℃にて培養したポテトパルプ麹中で生育中の麹菌株の菌体量の測定は藤井等の方法<sup>6)</sup>により麹菌細胞壁を分解し遊離させたN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)をReissig

等<sup>7)</sup>の方法により定量した。すなわち、湿重15gのポテトパルプ麩を平山製作所製乾熱滅菌器により100℃で1晩乾燥させ、乳棒による打撃にて粉碎した。粉碎物に50mMリン酸バッファー(pH 7.0)を10ml加えけん濁、膨潤させた。これに5%(W/W)タカジアスターゼ(三共)、0.1%(W/W)セルロシンPE60(阪急バイオインダストリー)を加え、42℃で一晩振とう培養した。これを50mMリン酸バッファー(pH 7.0)にて3回遠心洗浄した後、10mlの50mMリン酸バッファー(pH 7.0)にけん濁し、10mgのYATALASE(タカラバイオ)を加えて37℃にて1時間振とうした。上清500μlを分取し、0.8M四ホウ酸カリウム100μlを加えて100℃3分間加熱し、直ちに氷冷した。これにp-ジメチルアミノベンズアルデヒド(DMAB)試薬を3ml加え、37℃20分反応させた後氷冷し、直ちに585nmの吸光度を測定した。DMAB試薬は、5gのDMABを36%濃塩酸(約12N)6.25mlに溶解し、氷酢酸を加えてメスアップにて50mlとしたものをストック溶液とし、用時氷酢酸にて10倍希釈して用いた。予め、GlcNAc標品にて検量線を作成した。また、GlcNAc量139μgを麹菌菌体量1mgとした。

### 5. ポテトパルプ麩の乾物重量測定

湿重15gのポテトパルプ麩を100℃で一晩乾燥させた後、ポテトパルプ麩全体の乾燥重量を測定した。また、ポテトパルプ麩乾燥重量から上記4にて求めた麹菌菌体量を差し引いた値をポテトパルプ麩乾物重量とした。測定は2回行い平均値をグラフ化した。

### 6. ポテトパルプ麩の成分分析

1Lビーカーにて、400gの成分調整ポテトパルプ中にて1163株を5日間培養した。ここから湿重約100gを秤取り日本食品分析センターにて受託分析を行った。水分含量は常圧加熱乾燥法にて測定した。タンパク質量はケルダール法にて全窒素量を測定し窒素・タンパク質換算係数6.25を乗じた。純タンパク質はパルンスタイン法によって測定した。デンプン含量は50%エタノール不溶分をグルコアミラーゼ処理し、ブドウ糖量を測定した。

### 7. 水分活性測定

水分活性は、アクアラブCX-3TE(アイネクス株式会社)により測定した。ディスポーザブル試料トレイに適量の試料を載せ、測定器の説明に従って測定した。

## 結果及び考察

### 1. 生育優良菌の選択

水分含量約80%、終濃度各1%のリン酸一アンモニウム、尿素を含む成分調整生デンプン滓へ、PDA斜面培地上の各供試菌を1白金耳量植菌し、成分調整生デンプン滓上での生育程度により生育優良菌を選択した。表1に示すように、ほとんどの麹菌は成分調整生デンプン滓上に生育することは出来なかった。それに対して、良好な生育を示したのが1158株、及び1163株であった。これら2株は25~5日間培養で、直径3cm程度のコロニーを形成し、旺盛に孢子を生成した。また、これらの生デンプン滓麩では、麹菌が優占し、比較的他の雑菌の生育が抑えられている様子が目視により観察された。特に1163株は旺盛な生育が観察されたので、以後は1163株を供試して検討を進めた。

### 2. 菌体重量の測定

1163株の生育を定量的に確認するため、菌体量の測定を行った。本来成分調整生デンプン滓上での生育菌体の菌体量を測るべきであったが、生デンプン滓試料の入手が9月から11月に限られるため、必要量準備することが出来なかった。そこで、1163株と対照のRIB40株の成分調整ポテトパルプ上での菌体量を測定した。図1のように、1163株は成分調整ポテトパルプ上で経時的に菌体量が増大した。RIB40株の菌体量の増加率は1163株を下回った。同様に1163株では経時的に成分調整ポテトパルプの乾物重量を大幅に減少させたが、RIB40株では乾物重量の減少はわずかであった。このことから、成分調整ポテトパルプ上では1163株は旺盛に生育し、成分調整ポテトパルプを発酵の基質として有効に利用しうることが明らかになった。

### 3. 成分調整ポテトパルプの水分活性

発酵乾燥に関わる要素の一つとして、水分活性が上げられる。すなわち、微生物の活動とともに、呼吸熱、蒸散作用などにより、培地中の水分は次第に失われるが、微生物の生育は、その培地中の水分活性が、その微生物の生育限界まで低下した時点で停止する。そのため、発酵乾燥を行う際には、使用する微生物の耐乾性を考慮せねばならない。一般に糸状菌は細菌に比べ低水分活性でも生育が可能であり、中でも麹菌の属する *Aspergillus* 属は比較的乾燥に耐える。あらかじめ水分含量を調整した成分調整ポテトパルプの水分活性を

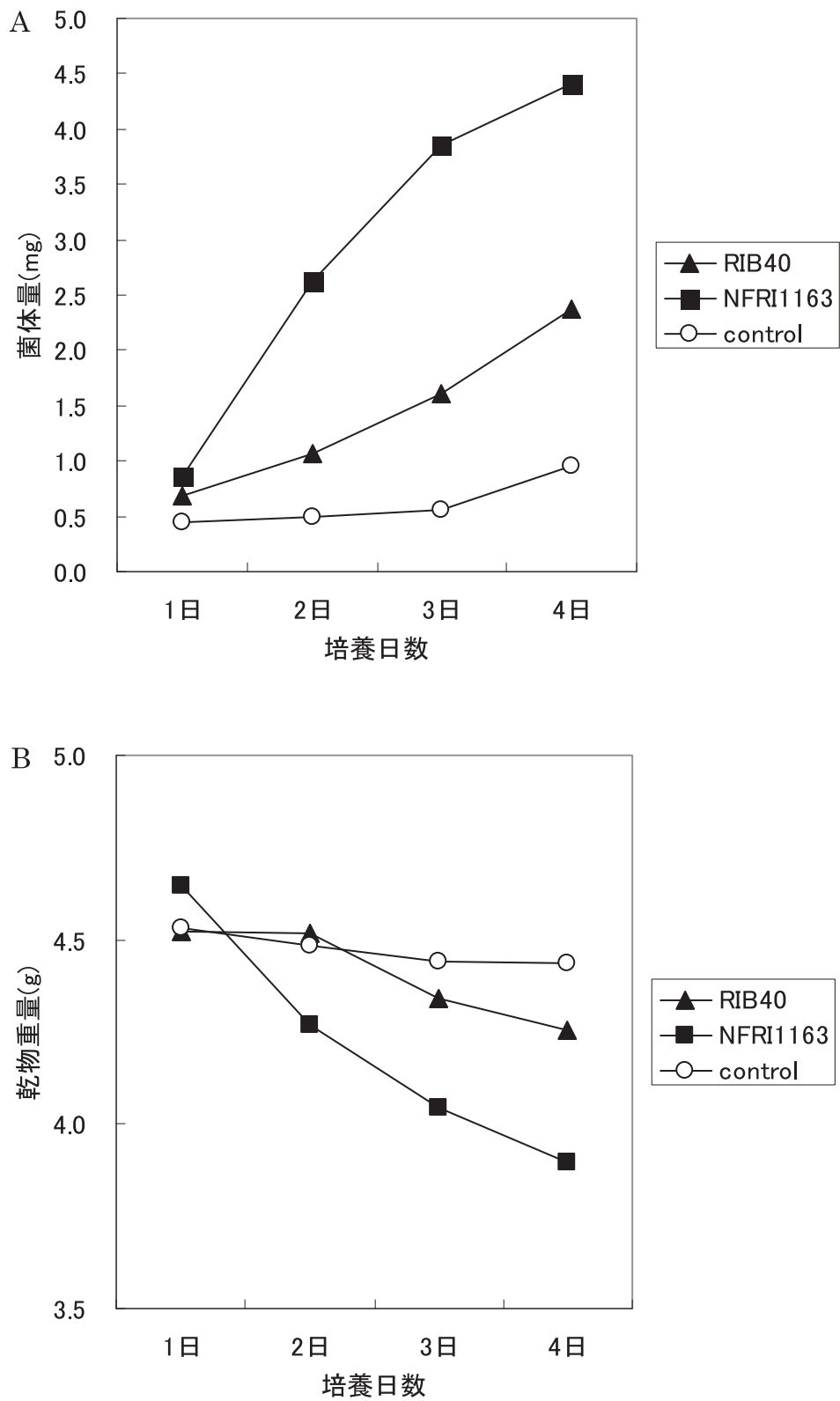


図1 菌体量(A)及び、乾物重量(B)の経時変化

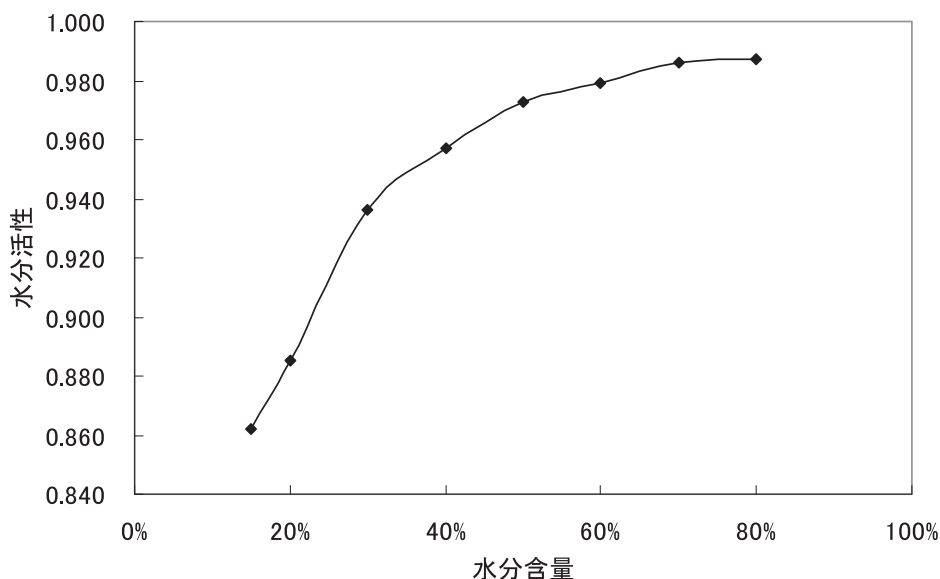


図2 成分調整ポテトパルプにおける水分含量 - 水分活性相関

測定し、水分含量 - 水分活性の相関を図2に示した。図2によれば、水分含量15%の成分調整ポテトパルプの水分活性は0.862であり、成分調整ポテトパルプ上には1163株は生育できなかった。しかし、水分含量30%に調整した成分調整ポテトパルプ上では1163株はかろうじて弱い生育をすることができた。従って本菌株を用いた発酵乾燥により水分含量30%程度までは、水分含量の低減が可能であると推定される。

#### 4. NFRI1163株培養による成分調整ポテトパルプの成分変化

麹菌培養前の成分調整ポテトパルプ及び5日間1163株を培養した後のポテトパルプ麹の成分比較を表2に示した。水分含量を80%に調整し成分調整ポテトパルプ400gをガラスビーカーに充填し30℃にて静置培養した。そのうち約100gを分析用試料とした。5日間の発酵により、水分含量は80%から75%へと低下した。全窒素量に変化はなく、純タンパク質量は約4倍に増加した。これは、添加された尿素、リン酸第一アンモニウムが麹菌発酵によりタンパク質に変換されたと考えられる。一方デンプン含量は約10分の1に低下した。これは、麹菌の糖化酵素により成分調整ポテトパルプ中のデンプンが速やかに利用されたものと考えられる。

以上より、成分調整生デンプン滓及び成分調整ポテトパルプにて良好に生育する麹菌株NFRI1163株が得られ、培養日数に従って菌体量が増加し、成分調整ポ

表2 成分調整ポテトパルプとポテトパルプ麹の成分比較

	成分調整ポテトパルプ	ポテトパルプ麹
水分含量	81.1%	74.8%
全窒素量(タンパク質換算)	23.3%	23.8%
純タンパク質量	3.1%	11.5%
デンプン含量	24.3%	2.4%

テトパルプをよく資化してその乾物重量を低減させることが明らかとなった。また、発酵乾燥並びにタンパク質含量の増加が観察された。デンプン滓を蒸煮することにより、馬鈴薯細胞の破壊、デンプンの $\alpha$ 化及び雑菌の滅菌を行うことができる。そのため、デンプン滓に麹菌を生育させるには蒸煮滅菌を行った方がよい。しかしながら、澱粉工場にて産出されるデンプン滓は多量であり、化石燃料を用いた蒸煮滅菌はコスト面から現実的ではない。本研究にて選択した麹菌は、成分調整生デンプン滓上で優占して生育することができる。同時に生デンプン分解酵素活性の高い*A. niger*を比較対照として成分調整生デンプン滓上での生育を調べたが、わずかに生育するのみであった。斉藤等<sup>4)</sup>によれば、デンプン滓乳酸発酵系状菌はペクチン分解活性が高く、そのためデンプン滓をよく分解利用できるが、麹菌におけるペクチン分解活性と麹菌の成分調整生デンプン滓上での生育との関係は不明である。

本研究にて見いだされた1163株は、成分調整生デンプン滓にて良好に生育することが明らかとなった。その

ため本菌株は馬鈴薯澱粉工場から排出されるデンプン滓の発酵乾燥に利用することが期待される。今後は成形材料の開発に適した1163株の発酵乾燥条件を検討していきたい。

## 謝 辞

本研究は農林水産省委託研究プロジェクト「地域活性化のためのバイオマス利用技術の開発（マテリアル・D2110）」の一部として行われた。

## 要 約

農産未利用資源として大半が廃棄処理されている馬鈴薯デンプン滓の有効利用のため、醸造食品製造に用いられる麹菌を利用した発酵ペレット化技術の開発を目指して基礎的研究をおこなった。まず、食総研保存菌株の中から成分調整馬鈴薯生デンプン滓上で良好に生育する麹菌株を選択した。次に成分調整ポテトパルプ上で生育中の菌体量の増加率と、成分調整ポテトパルプ乾物重量の変化を測定した。その結果 NFR1163 株が成分調整馬鈴薯生デンプン滓上で良好に生育する菌株として取得された。発酵により成分調整ポテトパルプの乾物重量が大きく減少し、純タンパク質含量は初発成分調整ポテトパルプの約4倍となった。

## 文 献

- 1) Y. Oda, K. Saito, H. Yamauchi and M. Mori, Lactic acid fermentation of potato pulp by the fungus *Rhizopus oryzae*, *Curr. Microbiol.*, **45**, 1-4 (2002)
- 2) 森 勝美, 柳本正勝, 岡田憲幸, 柳井昭二, 固体培養法による馬鈴薯デンプン粕の蛋白質強化, 食品総合研究所研究報告, 48, 15-20 (1986)
- 3) 阿部英則, 森 勝美, 柳本正勝, 麹かびの固体培養による馬鈴薯でん粉粕からの蛋白質生産, 滝畜研報, 25, 11-18 (1990)
- 4) K. Saito, Y. Kawamura, Y. Oda, Role of the pectinolytic enzyme in the lactic acid fermentation of potato pulp by *Rhizopus oryzae*, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **30**, 440-444 (2003)
- 5) F. Mayer and J.-O. Hillebrandt, Potato pulp: microbiological characterization, physical modification, and application of this agricultural waste product, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **48**, 435-440 (1997)
- 6) 藤井史子, 尾関健二, 神田晃敬, 浜地正昭, 布川弥太郎, 市販酵素剤を利用した麹菌体量簡易測定法, 醸協, 87, 757-759 (1992)
- 7) J. L. Reissig, J. L. Storminger, L. F. Leloir, A modified colorimetric method for the estimation of *N*-acetylamino sugars, *J. Biol. Chem.*, **217**, 959-966 (1955)