ポリビニルポリピロリドン処理廃糖蜜に対する 各種担子菌の脱色性ならびに糖資化性の検討†

玉城 一*・岸原士郎*・藤井 聡*

河本正彦*・有田郁夫**・平塚直秀**

Decolorizing Activity and Sugar Assimilation of Basidiomycetes for Polyvinylpolypyrrolidone-treated Molasses

(Decolorization of Cane Sugar Molasses by Action of
Basidiomycetes Part II)

Hajime TAMAKI*, Shiro KISHIHARA*, Satoshi FUJII*,
Masahiko KOMOTO*, Ikuo ARITA** and Naohide HIRATSUKA**

* Kobe University, Kobe-shi, Hyogo 657

** The Tottori Micological Institute, Tottori-shi, Tottori, 689-11

When the molasses was decolorized by the action of wood-white-rotting basidiomycetes in growing culture, often a coloration of molasses was observed in early stage. Generally, basidiomycete has polyphenol oxidase (PPO) activity and molasses contains various kinds of phenolics. Hence, it was considered that the coloration was caused by oxidation of the phenolics by the action of PPO of basidiomycetes. These phenolics were removed from the sample molasses using polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) which is a specific adsorbent of phenolics. PVPP-treated molasses could be decolorized without being accompanied with coloring phenomenon. *Coriolus versicolor* IFO 4937 (Dec%, 84.4%), *Coriolus hirsutus* IFO 4917 (82.8%) and *Lenzites betulina* IFO 6266 (80.6%) had higher decolorizing activity, but they assimilated sucrose. As one index of decolorizing activity with lesser consumption of sucrose, we defined a S/A value. Based on this value, *Pleurotus ostreatus* IFO 6519 (S/A value, 18.56) and *Oxyporus populinus* TMI 50016 (17.08) belonging to Type 2 were selected as basidiomycetes which was suitable for decolorization of PVPP-treated molasses in growing culture.

(Received Sep. 12, 1985)

廃糖蜜は、木材腐朽菌として知られているいくつかの担子菌によってよく脱色されることを前報¹⁾により明らかにした。しかし廃糖蜜に対し、脱色能を有する担子菌の検索を行った場合、廃糖蜜を逆に着色する菌がしばしば見られた。また、高脱色能を有する担子菌でも、その廃糖蜜中での培養初期には着色現象を示すことが分かった。この着色現象は、担子菌のポリフェノールオキシダーゼ (PPO) による廃糖蜜中のポリフェノール化合物の酸化によるものであり、従って脱色と並行して起こると

考えられる²⁾ので、前に報告した各担子菌の脱色能¹⁾は真の値を示していない可能性がある。そこで、ポリビニルポリピロリドン (PVPP) を用いて、フェノール類を除去した廃糖蜜を用いて、高脱色能を有する担子菌の再検索を行った。ところで廃糖蜜の担子菌処理による脱色処理に際して、スクロースの減少はできるだけ避ける必要がある。そこでなるべくスクロースを消費せずに廃糖蜜の脱色を行うための指標に従来用いてきた脱色率以外に、単位吸光度に対する残存スクロース量を表す値とし

† 担子菌による甘蔗廃糖蜜の脱色 (第2報) (前報, 文献 1))

* 神戸大学 (〒657 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1-1)

** 鳥取きのこセンター菌叢研究所 (〒689-11 鳥取県鳥取市古郡家広畑町 211)

て S/A 値を導入した。この S/A 値を用いて廃糖蜜の脱色に適した担子菌の選抜を行った。

材料と方法

1. 供試担子菌

IFO 保存菌の 16 菌株, TMI 保存菌の 8 菌株の計 24

Table 1 Composition of cane sugar molasses

	%*
Moisture	16.2
Sucrose	41.5
Glucose	5.0
Fructose	1.3
Ash	21.4
Crude ptein	5.4
Crude fat	0.3

* Values based on solid except moisture.

菌株を本実験に用いた。

2. 供試廃糖蜜

1982 年度沖縄産廃糖蜜を供試廃糖蜜として用いた。その成分組成を Table 1 に示す。その廃糖蜜を 5° Brix に希釈した後、その溶液 2000 ml を水で膨潤させた PVPP を詰めたカラム (10.5×30 cm) に流速 6 ml/min で通液した。その通過液の塩化第二鉄反応が陰性の画分を試料とした。

3. 脱色試験法

乾熱滅菌した綿栓付試験管 (18×180 mm) に、2% になるようにグルコースを添加したジャガイモ抽出液 5ml を入れ、加圧滅菌 (121°C, 15 min) した後、菌を接種し、30°C で 5 日間振とうし、予備培養を行った。この全量を 2. で調製した試料 100 ml を入れた坂口フラスコ (500 ml 容) 中に無菌的に注入し、振とう数 114 回/min、振幅 6 cm、30°C で 10 日間培養した。この間、被検液を

Table 2 Decolorization of PVPP-treated molasses by the action of basidiomycetes

No.	Species	IFO No.	Decolorization (%)
1	<i>Ganoderma lucidm</i>	8 346	36.0
2	<i>Fuscoporia obliqua</i>	8 681	22.7
3	<i>Trametes gibbosa</i>	4 946	28.0
4	<i>Coriolus unicolor</i>	6 265	36.0
5	<i>Schizophyllum commune</i>	4 928	22.2
6	<i>Coriolus versicolor</i>	4 937	84.4
7	<i>Pleurotus ostreatus</i>	6 519	59.1
8	<i>Gloeophyllum striatum</i>	6 429	-7.9
9	<i>Flammulina velטיפes</i>	4 901	9.2
10	<i>Agaricus bisporus</i>	7 124	11.3
11	<i>Favolus arcularius</i>	4 959	20.9
12	<i>Coriolus consors</i>	9 078	75.7
13	<i>Coriolus pargamenus</i>	6 500	41.0
14	<i>Irpex lacteus</i>	5 367	40.1
15	<i>Coriolus hirsutus</i>	4 917	81.8
16	<i>Lenzites betulina</i>	6 266	80.6
		TMI No.	
17	<i>Oxyporus populinus</i>	50 016	45.1
18	<i>Lopharia mirabilis</i>	50 017	6.6
19	<i>Polyporellus brumalis</i>	50 019	-3.8
20	<i>Coriolus pubescence</i>	50 021	72.3
21	<i>Hirschioporus fusco-violaceus</i>	50 023	39.9
22	<i>Fomitopsisina</i>	50 025	64.8
23	<i>Fomitopsis rhodophaea</i>	50 024	28.4
24	<i>Inonotus hispidus</i>	50 027	25.8

4 ml ずつ経時的に採取し、遠心分離 (3 500 rpm, 10 min) し、菌体を除去した後、その上澄液について脱色率と糖分含量の測定を行った。

a) 脱色率の測定

採取した上澄液を McIlvaine 氏緩衝液 (pH 5. 5) で 5 倍に希釈し、分光光度計 (日立 UVIDECE-320) によって 470 nm の吸光度を測定した。脱色率は次式により算出した。

$$\text{脱色率 (\%)} = (1 - \text{処理後の吸光度} / \text{処理前の吸光度}) \times 100$$

b) 糖分含量の測定

採取した上澄液 0.5 ml に、内部標準として、5 % マルトース溶液 0.5 ml を加え、それに陽イオン交換樹脂 Amberlite IRC-50 (H 形) を 0.1 g、陰イオン交換樹脂 Dowex 1×8 (Cl 形) 0.1 g を加え、30 秒間激しく振とうした後、遠心分離し菌体と樹脂を除去した。得られた上澄液を孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過し、そのろ過液 10 μl を HPLC 分析にかけた。HPLC は本体は日立 635 A 型高速液体クロマトグラフを、検出器には示差屈折計、昭和電気 Shodex RI SE-11 型を、カラムは、半井コスモシリル (NH₂) を用い、アセトニトリル：水 = 78 : 22 の溶離液で、流速 1.0 ml/min で行った。

結果及び考察

Table 2 に結果を示した。PVPP 処理した廃糖蜜をもちいると、ほとんどの菌で、着色せずに脱色させることが出来たが、*G. striatum* (脱色率, -7.9%), *P. bru-*

malis (-3.8%) では着色していた。この着色は、PPO による酸化以外の他の着色系が関係しているのかも知れない。供試担子菌 24 菌株のうち、13 菌株が、10 日目で 30% を超える高い脱色能を示した。その中でも、*C. versicolor* (84.4%), *C. hirsutus* (81.8%), *L. betulins*

Fig. 1 Decolorization curves of PVPP-treated molasses and original molasses by the action of *Coriolus versicolor* in growing culture.

○—○: PVPP-treated molasses,
△—△: original molasses

Table 3 S/A value and decolorization by the action of some basidiomycetes having high-decolorizing Activity

	Dec. (%)	S/A value Incubation time (day)					
		0	1	2	3	6	10
<i>C. versicolor</i>	84.4	8.80	5.95	0	0	0	0
<i>C. hirsutus</i>	81.8	8.80	7.93	8.38	0.50	0	0
<i>L. betulina</i>	80.6	8.80	8.40	2.30	0	0	0
<i>C. consors</i>	75.7	8.80	10.37	10.37	0	0	0
<i>C. pubescens</i>	72.3	8.80	10.48	0.88	1.22	0	0
<i>F. cytisina</i>	64.8	8.80	13.07	13.76	18.12	18.16	11.47
<i>P. ostreatus</i>	59.1	8.80	8.33	8.71	9.71	13.60	18.59
<i>O. populinus</i>	45.1	8.80	10.13	10.32	10.50	12.92	17.08
<i>C. pargamensis</i>	41.0	8.80	9.73	9.49	10.90	9.90	13.26
<i>I. lacteus</i>	40.1	8.80	8.51	8.41	10.61	11.20	11.70

(80.6%) は特に高い脱色能を有していた。これらの菌は何れも前報で高脱色能を有する担子菌として選抜されたものであり、その脱色能の順位もほとんど変わらなかった。着色せずに脱色できた一例として、一番脱色能の高かった *C. versicolor* の脱色曲線をしめす (Fig. 1)。

さて、担子菌を用いて、廃糖蜜の脱色処理を行う場合その脱色率のみならず、スクロースの分解が大きな問題となる。すなわち、スクロースを、なるべく分解せずに、かつ大きな脱色率を得る条件を調べる必要がある。

そこで我々は、各担子菌の廃糖蜜処理への応用の可否或は、最適処理条件（ここでは、処理時間）を決定する簡便な指標の一つとして処理廃糖蜜のスクロース含量 (%) をその吸光度 (OD 470 nm) で除した値 (S/A 値) を導入した。Table 3 に、脱色率の大きい 10 菌株について、その S/A 値と脱色率を示す。前報で我々は、高脱色能を有する担子菌の糖の質化性を検討し、グルコース及びフルクトースは質化するが、スクロースは質化しない菌 (Type 1)、グルコースを質化するがスクロース及びフルクトースを質化しない菌 (Type 2)、グルコース、フルクトース、スクロースの 3 種の糖とも質化する菌 (Type 3) の 3 つのタイプがあることを報告した。廃糖蜜を PVPP 処理したものを用いてもその質化性のパターンは変わらなかった。本実験で、脱色率の高い菌は、上位 6 菌株まで、Type 3 の菌であった。これらの菌はスクロースの分解を伴うため、その S/A 値の増加はほとんど望めなかったが、*F. cyticina* は、これらの菌のなかではスクロースの分解速度が比較的小さいため、6 日間で 18.16 という大きな値を示した。その時点での *F. cyticina* の脱色率は 49% で、スクロースの残存率は 85% であった。残りの 4 菌株は、いずれも 10 日目で最も高い S/A 値を示した。そのなかでも *P. ostreatus* および *O. populinus* は、それぞれ、18.56 および 17.08 という高い S/A 値を示した。この 2 菌株は、何れも前

報では Type 2 に分類されている菌であった。

以上のことより廃糖蜜の担子菌処理には、Type 2 に属するこの 2 菌株が適していると考えられる。しかし Type 3 の菌は高い脱色率を示すものが多く、かつ、最大の脱色率が得られるまでの時間が短いため、廃糖蜜を用いた発酵工業の廃液などのスクロースの分解が問題にならない場合には、有力な菌株として用いることが出来ると考えられる。

要 約

廃糖蜜を担子菌の生育菌体で脱色処理する場合、担子菌中の PPO による着色があった。廃糖蜜を PVPP 処理し、PPO の基質となるポリフェノールを除くことにより、ほとんどの菌で、初期の着色現象なしに脱色させることが出来た。PVPP 処理廃糖蜜にたいして高脱色能を有する担子菌としては、*Coriolus versicolor* IFO 4937 (脱色率, 84.4%), *Coriolus hirsutus* IFO 4917 (81.8%), *Lenzites betulina* IFO 6266 (80.6%) 等が挙げられたが、これらの菌はいずれもスクロースを質化する Type の菌であった。スクロースを消費せずに廃糖蜜を脱色する担子菌の一つの指標として S/A 値を導入した。その値に基づいて優良担子菌を選抜すると、グルコースのみを質化する Type に属する *Pleurotus ostreatus* IFO 6519 (S/A 値 18.56), *Oxyporus populinus* TMI 50016 (17.08) が優良菌株として挙げられた。

文 献

- 1) TAMAKI, H., UMETANI, I., TSUCHIDA, H., KOMOTO, M., ARITA, I. and HIRATSUKA, N.: *Memoirs of the Graduate School of Science and Technology Kobe University*, 3-A, 63 (1985).
- 2) 江橋 正: 精糖技術研究会誌, 30, 33 (1982).
(昭和 60 年 9 月 12 日受理)