

焼酎粕中の酵母菌体の回収と破碎*

野崎 直樹^{*2}・工藤 哲三^{*1}・甲斐 孝憲^{*2}・岩井 謙一^{*3}・章 超^{*3}
上米良壽誕^{*2}・山下 實^{*4}

Release and Recovery of Effective Substance from Yeasts in Shochu Distillery Waste

Naoki NOZAKI, Tetsuzo KUDO, Takanori KAI, Kenichi IWAI, Cyou SYOU
Toshihiro KAMIMERA and Makoto YAMASHITA

焼酎粕中の有用成分回収を目的に粕中の酵母菌体の破碎を試みた。焼酎粕中の酵母菌体は蒸留時の加熱によるタンパク変性のためか生酵母より破碎効率が悪かったが、媒体攪拌型ビーズミルやプロテアーゼ系酵素製剤による酵素処理は、90%以上の破碎率であった。

キーワード：焼酎粕、酵母、ダイノームル、超高压ホモジナイザー、プロテアーゼ製剤

1 はじめに

焼酎粕は焼酎製造時に副生する有機性の廃棄物であり、これまで処理に力点をおいた研究や実用プラントが稼働しているが、アミノ酸やビタミン等の有効成分を含んでいる。特に酵母菌体内には豊富にビタミンB群や核酸類を蓄えており、酵母菌体を破壊することにより、それらの利用の可能性が展開できるのではないかと考え、菌体の分離と効率的破碎法について検討した。

2 実験方法

2-1 電磁式篩振とう機による焼酎粕からの酵母分離試験

焼酎粕をあらかじめ、ジュースセパレーター(オートマティックシノアc-120 ロボクープ社製)で荒ろ過し、電磁式ふるい振とう機 AS200 (株式会社 レッチェ製)により、425 μ m、355 μ m、212 μ m、150 μ m、100 μ m、53 μ mのサイズを用い篩い分け試験を実施した。

2-2 超高压ホモジナイザーによる菌体破碎

超高压ホモジナイザー NS2006L Pony型 (ウ

エストファリアー(株)製)を用い焼酎粕の破碎試験を実施した。詰まり防止の為、焼酎粕は前処理として前述のジュースセパレーターにて荒ろ過を行い、原料粕などを除去した後、1300~1500barにて破碎試験に供した。なお、焼酎酵母を純粋培養して集菌した生酵母菌体も同様に破碎試験に供した。

2-3 媒体攪拌型ビーズミルによる菌体破碎

ダイノームル(シンマルエンタープライゼス製)を用い焼酎粕と生酵母菌体液の粉碎試験を実施した。詰まり防止の為、焼酎粕は前述のジュースセパレーターにて荒ろ過を行い、焼酎粕および酵母菌体液を流量7L/hrで周速を8, 10, 14m/secと変化させ酵母粉碎率の測定を行った。

2-4 酵素製剤による溶解試験

プロテアーゼ系の酵素剤を用い、1/15Mリン酸バッファー(pH7.5)1mlと酵母懸濁液を3.0ml混合し、約35℃にて5分間放置後、酵素溶液(0.5~1.5YsU/ml)を1.0ml加え直ちに振り混ぜ、35 \pm 0.5℃で正確に30分放置後、顕微鏡にて確認した。

2-5 焼酎粕の成分分析

日本食品分析センターへ酵母菌体溶液の粉碎および未粉碎溶液、そば製焼酎粕の粉碎および未粉碎液、甘藷製焼酎粕の粉碎および未粉碎溶液のビタミン類、核酸類、脂肪酸、グルタチオンについ

* みやざき産業クラスター創出促進事業
* 1 応用微生物部
* 2 雲海酒造(株)
* 3 霧島酒造(株)
* 4 南九州大学

て含有量の分析を依頼した。

3 結果及び考察

3-1 篩い分けによる焼酎粕からの酵母分離試験

前処理を行わずに直接ふるい処理を行うと、50 μ に麦の黒条が多く残り、早い段階で目詰まり状態を引き起こした。そこで前処理としてジュースセパレーターを使用することにより、目詰まりを若干緩和出来るようになった。麦、そば焼酎粕は最終的に53 μ で詰まりが生じてしまい、それより目の小さい篩での分離が出来なかった。タンパクと思われる物質が阻害している様であった。甘藷製焼酎粕に関しては、53 μ を通過することができたが、顕微鏡観察を行った結果、大部分が酵母菌体と思われる菌体を観察することはできたが、麹由来の孢子等も混在していると考えられた。酵母菌体は顕微鏡下ではラクビーボール状で5~10 \times 3~6 μ m程度の大きさであるものの、実際には発酵残渣等の夾雑物も共存するためか、それよりかなり大きい目の篩でないと通過できなかつたが、酵母菌体濃度を高めた区分の調製はある程度可能であった。

ちなみに常圧麦焼酎粕を荒濾過後篩い分けした場合53 μ m篩を通過した懸濁液中の懸濁物質量は粕全体の懸濁物質の83%を占めた。

3-2 超高压ホモジナイザーによる菌体破碎

ジュースセパレーターを使用し、荒ろ過を行った後に、超高压ホモジナイザーでの粉碎試験を行った。その結果、非加熱の生酵母は良好な粉碎率を得られたが、焼酎粕においては、原料に関係なく良好な粉碎率を得ることが出来なかつた(表1)。菌体中のタンパクの熱変性に伴う菌体の物性の变化により、酵母の細胞壁破碎が困難になっていると考えられた。

3-3 媒体攪拌型ビーズミルによる菌体破碎

酵母培養液及び焼酎粕を流量7L/hrで周速を8, 10, 14m/secと変化させて酵母菌体破碎率を測定した。その結果を表2に示す。周速や焼酎粕原料の違いにかかわらず良好な破碎効率が得られた。図1にはビーズミル処理前後のそば製焼酎粕の電子顕微鏡写真を示す。

表1 超高压ホモジナイザーによる酵母菌体の破碎

試料	酵母数 (cells/ml)	破碎率 (%)
生酵母溶液		
原液	6.6×10^7	
ホモジナイザー処理液	1.2×10^6	98.2
甘藷製焼酎粕		
原液	2.1×10^8	
ホモジナイザー処理液	1.7×10^8	18.3
そば製焼酎粕		
原液	6.0×10^8	
ホモジナイザー処理液	3.1×10^8	48.6

表2 媒体攪拌ビーズミルによる酵母菌体の破碎試験

試料	酵母数 (cells/ml)	破碎率 (%)
生酵母溶液		
原液	6.7×10^8	
ビーズミル処理液	2.1×10^7	97.0
甘藷製焼酎粕		
原液	2.0×10^8	
ビーズミル処理液	1.6×10^8	98.4
大麦製焼酎粕		
原液	4.4×10^8	
ビーズミル処理液	2.2×10^7	95.0
そば製焼酎粕		
原液	2.8×10^8	
ビーズミル処理液	4.8×10^6	98.3

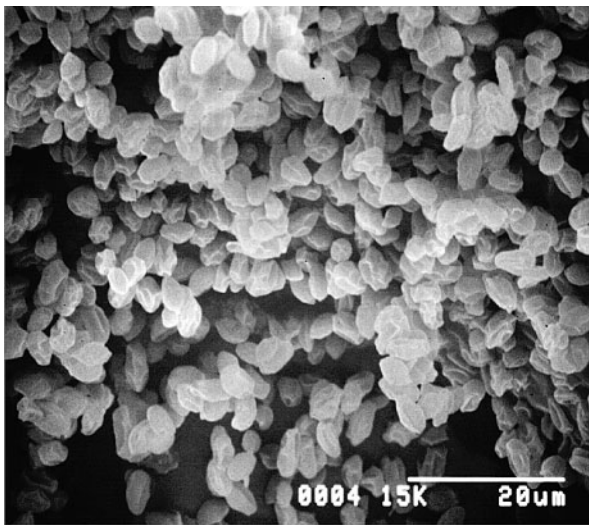
3-4 酵素製剤による溶解試験

プロテアーゼ系の酵素剤を用い、酵母の溶解試験を実施した。通常生酵母の溶菌に使用されるザイモリアーゼ等は、非加熱の生酵母は良好な粉碎率が得られるものの、加熱処理した酵母では良好な粉碎率を得ることは出来なかつた。そこで、プロテアーゼ系の酵素剤を試みたところ、生酵母では破碎率は30%程度に留まるものの加熱処理酵母では逆に92%の破碎率を得ることができた。

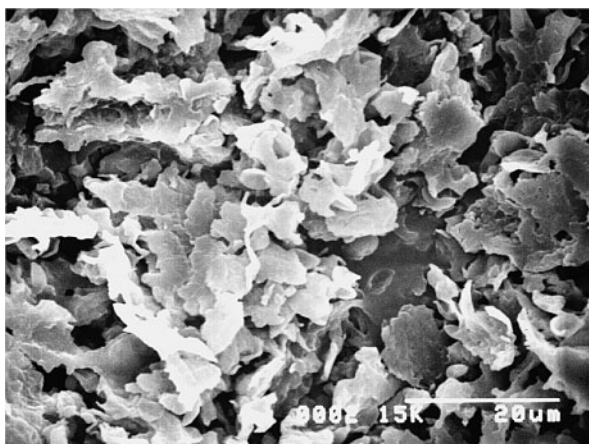
3-5 破碎処理によるビタミンB群、核酸等の溶出

表3に破碎処理による焼酎粕中の酵母菌体からのビタミンB群と核酸類の溶出を調べた結果を示した。破碎処理により、これらの有用成分が酵母菌体からの溶出したためいくつかの成分に増加が見られた。また、グルタチオンについては検出

できず、処理前後において脂肪酸組成にも変化がなかった。



(a) 処理前



(b) 処理後

図1 ビーズミルによる破碎処理前後のそば製焼酎粕の電子顕微鏡写真

表4 酵母破碎によるビタミンB群，核酸類抽出効果（そば製焼酎粕）

成分名	無処理(/100g)	酵母破碎処理
チアミン(B1)	0.10mg	0.10mg
リボフラビン(B2)	0.12mg	0.12mg
ビタミンB6	0.14mg	0.15mg
ビタミンB12	0.10 μg	0.13 μg
葉酸	24 μg	22 μg
パントテン酸	0.56mg	0.62mg
ビオチン	5.3 μg	6.4 μg
イノシトール	79mg	81mg
ナイアシン	2.07 μg	1.66 μg
コリン	0.05 μg	0.05 μg
5'-アデニル酸	nd	0.02g
5'-イノシン酸	nd	nd
5'-ウリジン酸	nd	0.01g
5'-グアニル酸	nd	0.02g
5'-シチジル酸	nd	0.01g
5'-チミジル酸	nd	nd

4 まとめ

焼酎粕の有効利用を目的に、酵母菌体の破碎によるビタミンB群などの有用成分が回収可能か検討した。焼酎粕中の酵母菌体は蒸留工程での加熱によるタンパク変性に起因する物性変化のためか、生酵母菌体より破碎しにくかったが、媒体攪拌型ビーズミルを使った破碎法では、90%以上破碎が可能だった。また、プロテアーゼ系酵素製剤では逆に生酵母での破碎率は低いものの、加熱処理酵母では90%以上の破碎率を得ることができると分かった。

5 参考文献

- 1) 松本幹治, 吉川ユミ, 田辺誠, 生物工学, 72, 164(1994)
- 2) 加藤 威, 泉 保廣, 醸工, 53, 177(1975)
- 3) 生化学実験講座5 酵素研究法(上), 東京化学同人, p173