

琉球大学学術リポジトリ

甘蔗バガスの利用法：(2)

マッシュルーム栽培とその脂質の分析(農芸化学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 知念, 功, 宮里, 博文, 与儀, 真昌, 亀川, 富知子, 新垣, 光子, 福渡, 七郎, Chinen, Isao, Miyazato, Hirofumi, Yogi, Shinsho, Kamekawa, Fuchiko, Arakaki, Mituko, Fukuwatari, Hichiro メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4298

甘蔗バガスの利用法

(2) マッシュルーム栽培とその脂質の分析

知念 功* 宮里博文** 与儀真昌*** 亀川富知子****
新垣光子***** 福渡七郎*****

Isao CHINEN, Hirofumi MIYAZATO, Shinsho YOGI, Fuchiko KAMEKAWA,
Mituko ARAKAKI and Hichiro FUKUWATARI : Utilization of sugar cane
bagasse, by-product of cane sugar industry. (2) Cultivation and lipid
analysis of mushroom.

I 緒 論

マッシュルームは、茸の1種であり、日本人が松茸を賞味するように、欧米人の嗜好に適する1種の高級野菜であると考えられるものである。欧米殊にフランス、イギリス、オランダ、西ドイツ、ベルギー、デンマーク等の北欧諸国、およびアメリカ、東洋では日本、台湾等でその栽培が盛んに行なわれている。¹⁾ 従来日本においては、稲ワラを原料にし、合成コンポストをつくり、それにマッシュルームを栽培しており、⁴⁾ 甘蔗バガスを用いた栽培は、数少ない現状である。沖縄県においては、甘蔗栽培は、主幹産業であり、その副産物である甘蔗バガスは、現在豊富に存在するためこれまでに著者等は、その甘蔗バガスの利用を考慮し、その基礎研究として甘蔗バガスの脂質の分析を行い、³⁾ その脂質の脂肪酸組成等を明らかにしてきた。本研究では、その甘蔗バガスの応用利用面として、甘蔗バガスを原料としてマッシュルーム栽培用合成コンポストをつくり、それにマッシュルームを栽培した。またその収穫されたマッシュルームについては栄養学的見地からその脂質の成分分析を行った。以下にこれらの研究の詳細について記述する。

II 栽培方法および実験方法

1 コンポスト作成

甘蔗バガス 322 kg, 石灰窒素 3.2 kg, 尿素 1.6 kg, 米ヌカ 9.1 kg に水 230 l を加え、よく攪拌した後 1メートル四方で高さが約15cmのフレームを用いて、その混合物を1メートル立法に積み上げて発酵を行なった。なお、その甘蔗バガス混合物の発酵中には、毎日午前10時と午後3時に2回、その混合物の三方に温度計を差し込み温度を測定した。その際外気温、湿度も併せて測定した。積み込みを行って10日後に第1回目の切り返しを行い、それから10日後に2回目の切り返しを行った。その際、硫酸 4.2 kg を加えた。さらに6日後に、第3回目の切り返しを行ない、続いて7日後に、第4回目の切り返しを行なった。

* 琉球大学農学部農芸化学科

** 沖縄理化学研究所

*** 那覇保健所

**** 沖縄サントリー

***** グロリアンインターナショナル

***** 兵庫県西宮市中屋町 6-19

その際、過リン酸石灰 9.6 kg を加えた。さらに 8 日後に第 5 回目の最後の切り返しを行った。その後出来上がった合成コンポストについて殺菌処理を行った。殺菌処理法としては、蒸気殺菌法とクロロホルム殺菌法を試みた。蒸気殺菌法の場合は、合成コンポストを蒸器につめ、1 時間加熱殺菌を行った。一方クロロホルム殺菌法では、合成コンポストに対しクロロホルムを 5% 加え、よくかき混ぜ、5 日間ふたをして放置した。次に種菌植付を行った。

2 種菌作成

寒天培地に、マッシュルーム菌糸を培養し、得られた菌糸をオカクズ培地に移し培養した。得られた菌糸を種菌として用いた。なお寒天培地は、細片した馬鈴薯を煮沸したのち口過し、その口液を寒天と加熱混合し作成した。その際、その pH は、6.8~7.0 に調整した。またオカクズ培地は、オカクズに水を加え、水分含量が 65~70% になるようにし、それに米ヌカを少量添加して作成した。この場合も、その培地の pH は、炭酸カルシュームを用いて 6.8~7.0 になるように調整した。

3 栽培

ビニールカゴ (30×40×12 cm) に殺菌処理を行った合成コンポストをつめたのち、20 cm 間隔で種菌植付を行い、ビニールハウスに入れ、水を用いて冷し、室内が 24~25℃ になるようにした。2 週間後に覆土を行った。この覆土土壌は、沖縄本島北部土壌 (pH 4.7) を用い、あらかじめクロロホルム殺菌処理を行った後、炭酸カルシュームで pH 調整を行ったものを用いた。また栽培中は、2~3 日おきに水を散布した。この散布は、夕方から夜間にかけて行い、散布後は、菌床表面の水分を蒸発させるため、ビニールハウスに換気孔を作り、換気を行った。

4 脂質分析法

1) マッシュルーム脂質の抽出

Folch 法¹⁾に従い、マッシュルーム一定量に 20 倍容のクロロホルム-メタノール (2:1, v/v) を加え、40℃ で 30 分間加温し、脂質を抽出した。さらにその脂質を精製するため濾過し、その濾液に 20% 容の水を加え、ゆるやかに振り一夜放置したのち上層を除去した。下層は、窒素ガスを吹き込みながら減圧濃縮したのち少量の石油エーテルに溶解し、下記の実験に用いるまで冷凍庫内に保存した。

2) マッシュルーム脂質の薄層クロマトグラフィー

シリカゲル G (メルク社) を塗布したガラスプレート (20×20 cm) にマッシュルーム脂質抽出液を 1.5 cm 間隔でスポットしたのち、冷蔵内 (5℃) で展開を行った。展開溶媒は、石油エーテル:エチルエーテル:氷酢酸 (80:20:1, v/v/v) を用いた。発色剤としてはヨウ素蒸気を用いた。標準物質としては、トリグリセリドとしてトリオレインを用い、ステロールとしてはコレステロールを用い、遊離脂肪酸としてはパルミチン酸を用いた。

3) マッシュルーム脂質のケン化、メチル化

脂質抽出液一定量に窒素ガスを吹き込み、溶媒を除去したのち、ケン化液 (33% 苛性カリ:エタノール=94:6 v/v) 5 ml を加え、40℃ で 1 時間加温した。室温まで冷却したのち、等容の水を加え、石油エーテルで不ケン化物を抽出除去した。次に塩酸 (塩酸:水=1:1 v/v) 0.5 ml を加え、酸性にし、石油エーテルで脂肪酸を抽出した。この抽出液に窒素ガスを吹き込み溶媒を除去したのち、三フッ化ホウ素酸溶液 (60% 三フッ化ホウ素酸をメタノールで 4 倍に希釈した溶液) 2 ml を加え、80℃ で 3 分間加温し脂肪酸をメチル化した。冷却後 5 ml の水を加え、石油エーテルでその脂肪酸メチルエステルを抽出した。

4) ガスクロマトグラフィーの操作

ガスクロマトグラフは、柳本ガスクロマトグラフGCG-5DH型を用いた。カラムは、内径3mm、長さ750mmのカラム3本を用いた。またカラム充填剤としては、ジエチレングリコールサクシネートポリエステル（ガスクロ工業株式会社）80~100メッシュを用いた。検出器は、水素イオン検出器を用いカラム温度は190℃、試料注入口温度は250℃、試料排出口温度は250℃、TCD恒温槽温度300℃で行った。

5) 脂肪酸の同定

ガスクロマトグラム上の脂肪酸の同定は、片対数方眼紙を用いて、炭素数と保持時間の関係により求めた。そのうちで $C_{16:0}$ と $C_{18:2}$ は、標準脂肪酸を用いて求めた。また $C_{16:1}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ は、前報の値を基にして求めた。

III 実験結果

1 コンポスト作成課程の温度変化

前記の方法でコンポストを作成した場合、第1回目の積み込みでは、温度は徐々に上昇し6日目では、約50℃で最高に達した。それ以後は、その温度を持続した。その他10日目に第1回目の切り返しを行った。第2回目の積み込みでは、6日目で50℃に達し、9日目で55℃に達した。そのため10日目には、第2回目の切り返しを行った。第3回目の積み込みでは、4日目で47℃になったが、5日目ではその温度は、降下した。そのため6日目に第3回目の切り返しを行った。第4回目の積み込みでは、4日目で53℃に達し、以後は、徐々に降下した。そのため7日目には、最後の切り返しを行った。第5回目の積み込みでは3日目で39℃に達し、以後は、その温度を持続したので、そこで合成コンポストの出来上りとした。その経過は、第1図に示した。

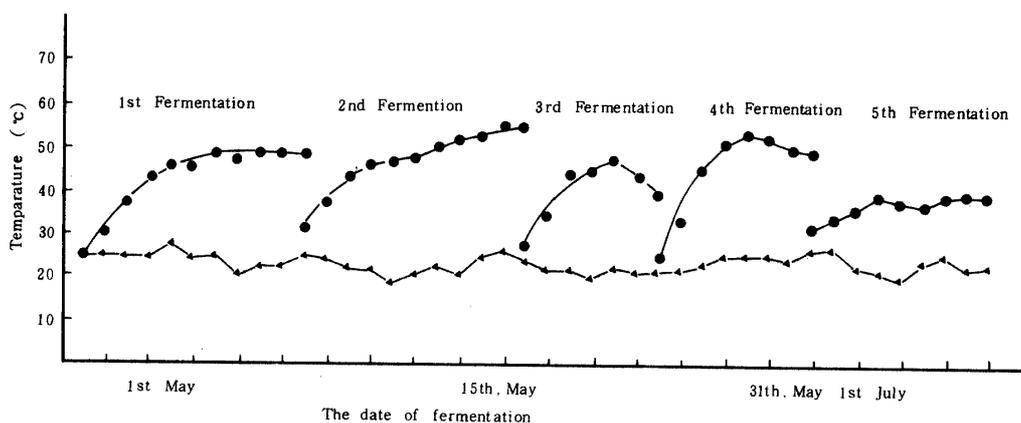


Fig. 1. Fermentation temperature of synthetic compost

●——● Temperature of synthetic compost fermented
▲——▲ Atmospheric temperature

2 マッシュルーム子実体の収量

種菌を植付けて5週間後に、子実体が現れた。本研究では、栄養学的見地からマッシュルーム脂質を分析する必要上、マッシュルーム子実体の収穫は、ボタン階段とフラット階段で行った。なおその成長段階については、第2図に示した。その収量は、合成コンポストの殺菌処理法別に比較してみると、クロロホルム処理殺菌を行った方が蒸気殺菌を行った場合よりも、収穫本数、総重量、1本当りの平均重量で、まさっていた。その結果は、第1表に示した。

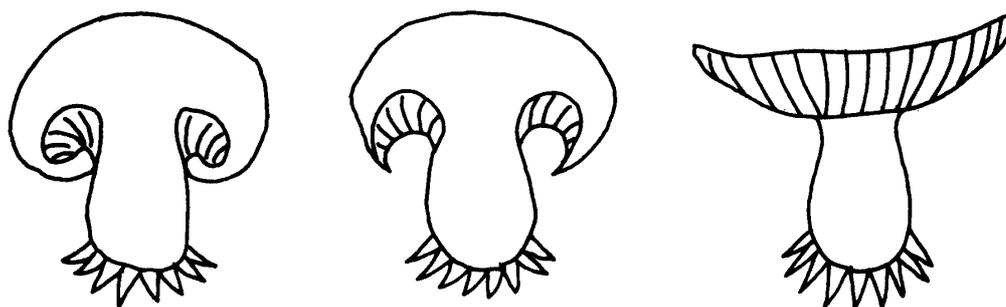


Fig. 2. Growth steps of mushroom fruit body

Table 1. Yield of mushroom fruit body

	Numbers	Weight (g.)	Mean weight (g.)
# 4	10	154	15.4
# 19	15	207	13.8
# 20	8	67	8.4
# 5	4	36	9.0
# 1	10	54	5.4

3 マッシュルーム脂質の脂肪酸組成

ケン化、メチル化して得られたマッシュルーム脂質の脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフにかけた場合、第3図に示すようなチャートが得られ、19の脂肪酸ピークがあらわれた。そのピークの固定は、チャート番号15と19は、標準脂肪酸を用いて同定し、 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:2}$ であることがわかった。またチャート番号16, 17, 18は、文献値³⁾より、 $C_{16:1}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ であることがわかった。これらの同定値を基にして、他の脂肪酸は炭素数と保持時間の関係を用いて同定した。その結果は、第4図に示した。

前述のように、マッシュルームの栽培は、蒸気殺菌合成コンポストとクロロホルム殺菌合成コンポストで栽培しているため、その両者より収穫されたマッシュルーム子実体の脂質の脂肪酸組成を比較した。その両者の脂質の脂肪酸組成は、良く類似しており、 $C_{18:2}$ が最も多く61~73%であり、 $C_{16:0}$ 、 $C_{11:1}$ がそれに次で多かった。またその脂肪酸組成をマッシュルーム子実体の成長段階別に比較すると、ボタン段階では、 $C_{18:2}$ が著しく多く60~70%であったのに対し、フラット段階では、 $C_{18:2}$ の占める割合

は減少し、40～50%になった。逆にC_{11:1}は、フラット段階で増加していた。これらの結果は、第2・3表に示した。

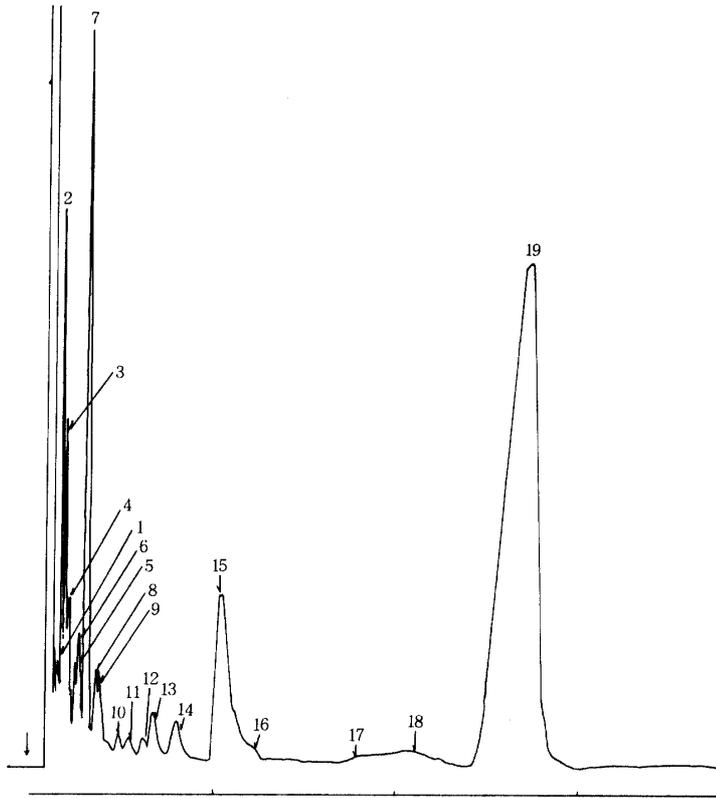


Fig. 3. Chromatogram of fatty acids of mushroom fruit body lipids

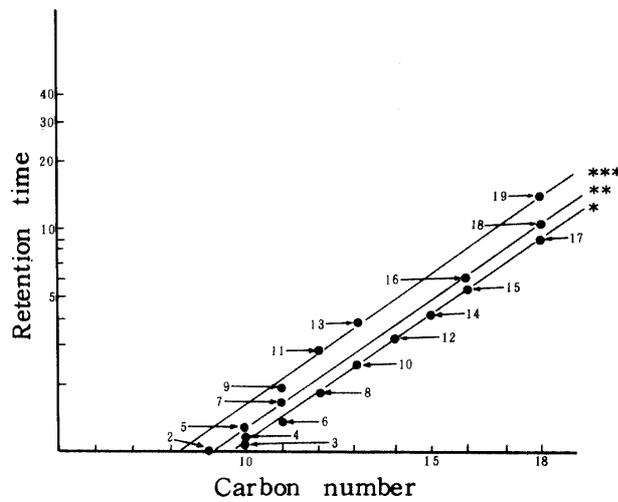


Fig. 4. Identification of fatty acids of mushroom fruits body lipids
 * Saturated fatty acid. ** Monounsaturated fatty acid.
 *** Diunsaturated fatty acid.

Table 2. Fatty acid composition of total lipids of mushroom fruit body in button step

Peak no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Unk	$C_{9:1}$ or $C_{9:2}$	$C_{10:0}$	$C_{10:1}$	$C_{10:2}$	$C_{11:0}$	$C_{11:1}$	$C_{11:2}$	$C_{12:0}$	$C_{11:2}$ or $C_{13:1}$	$C_{12:3}$	$C_{14:0}$	$C_{13:2}$	$C_{15:0}$	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	
# 5*	0.14	1.17	1.17	0.45	0.42	0.65	4.97	0.63	0.72	0.29	0.21	0.49	0.73	0.67	9.03	-	1.50	2.25	72.86
# 19**	0.40	3.97	2.19	0.91	0.53	0.79	7.22	0.74	0.97	0.31	0.28	0.55	0.84	0.73	8.79	-	1.35	2.06	67.30
# 20**	0.28	4.45	2.87	1.22	0.73	1.17	10.62	1.14	0.25	0.44	0.37	0.48	1.31	1.32	7.78	1.15	0.87	1.31	61.13

* Using synthetic compost sterilized by steam.

** Using synthetic compost sterilized by chloroform.

*** First number is carbon chain length, and second number of double bonds.

Table 3. Fatty acid composition of total lipids of mushroom fruit body in flat step

Peak no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Unk	$C_{9:1}$ or $C_{9:2}$	$C_{10:0}$	$C_{10:1}$	$C_{10:2}$	$C_{11:0}$	$C_{11:1}$	$C_{11:2}$	$C_{12:0}$	$C_{11:2}$ or $C_{13:1}$	$C_{12:3}$	$C_{14:0}$	$C_{13:2}$	$C_{15:0}$	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{16:2}$	$C_{18:3}$	$C_{20:0}$	
# 5*	2.86	3.09	1.58	0.59	1.56	2.09	15.56	2.13	3.80	0.99	1.10	2.16	3.10	2.59	9.34	1.71	1.39	3.18	40.48	0.58		
# 20**	1.44	2.23	1.34	0.58	1.57	2.32	10.19	2.40	3.01	1.11	0.73	1.64	3.00	1.93	10.05	2.14	1.35	3.01	47.54	0.68	0.75	0.91

* Using synthetic compost sterilized by steam.

** Using synthetic compost sterilized by steam.

次にボタン段階のマッシュルーム子実体脂質を薄層クロマトグラフィーによりリン脂質，ステロールおよびモノジグリセリド，遊離脂肪酸，トリグリセリド，炭化水素系に分画し，各分画の脂肪酸組成を調べた。リン脂質の脂肪酸組成は，総脂質の脂肪酸組成と類似し， $C_{18:2}$ が64%であり，次に $C_{16:0}$ が18%をしめていた。ステロース，モノ・ジグリセリド分画では， $C_{16:0}$ の割合が高く18%であり，次に $C_{11:1}$ が14%， $C_{18:1}$ が11%であった。遊離脂肪酸分画では， $C_{16:0}$ と $C_{13:2}$ の割合が高く，両者とも約20%であり，次に $C_{11:1}$ ， $C_{12:0}$ が高かった。トリグリセリド分画では， $C_{13:2}$ の割合が高く18%であり，次に $C_{16:0}$ が17%であった。炭化水素系では， $C_{16:0}$ が高く42%であり，次に $C_{11:1}$ が高かった。それらの結果は第4表に示した。

Table 4. Fatty acid composition of lipid fractions of mushroom fruit body (Percent for total fatty acids)

Peak no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Unk	$C_{9:1}$ or $C_{9:2}$	$C_{10:0}$	$C_{10:1}$	$C_{10:2}$	$C_{11:0}$	$C_{11:1}$	$C_{12:0}$	$C_{11:0}$
Total lipids	0.27	3.19	2.07	0.86	0.56	0.87	7.60	0.83	0.98
Phospholipids	0.48	0.55	0.78	—	0.17	0.30	4.02	0.86	0.90
Sterols and mono-, diglycerides	4.90	2.06	1.07	—	0.96	2.19	13.84	5.37	2.89
Free fatty acids	1.36	0.57	0.40	—	1.24	2.35	9.71	7.15	3.54
Triglycerides	2.34	0.74	0.97	—	1.30	2.66	11.88	6.90	3.42
Hydrocarbons	2.62	1.12	0.58	—	0.76	1.46	8.60	3.86	2.24

	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	$C_{13:0}$ or $C_{13:1}$	$C_{12:2}$	$C_{14:0}$	$C_{13:2}$	$C_{15:0}$	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{16:2}$
	0.34	0.28	0.50	0.96	0.90	8.53	0.38	1.24	1.87	67.09	—
	0.52	0.58	0.60	1.92	0.58	17.76	0.18	3.22	2.34	63.80	0.30
	3.89	4.51	0.86	14.68	4.08	18.13	1.80	1.19	1.73	11.15	4.52
	5.10	5.70	1.26	19.37	5.91	19.93	2.10	1.32	2.31	3.42	7.11
	4.95	5.59	1.03	18.52	5.21	17.21	2.27	1.77	2.46	4.39	6.72
	2.89	3.31	1.80	11.59	3.18	41.76	1.80	1.05	1.90	5.04	4.11

IV 考 察

マッシュルーム子実体の発生適温は、13~18°Cであり、それを沖縄本島で栽培するとなると1~2月にそれが収穫出来るように合成コンポストを作成するのが妥当であるが、本研究では、試験的に夏季に収穫出来るようにし、合成コンポストを4月末日に作り始め、殺菌、種菌植付までに約2ヶ月を要し、9~10月にかけて収穫するようにした。また栽培の際には、氷等を用いて温度調節を行った。したがって収穫量は、1~2月の収穫量⁹⁾に比べると著しく低く1/2程度であった。合成コンポスト作成過程では、積込中の発酵温度が最高55°Cであり、わずかに低いようにも思われたが、それ以外には問題はなく順調に出来上った。

なおマッシュルーム子実体の脂質の分析にあたっては、成長段階別にボタン段階とフラット段階で分析を行ったが、その結果では、ボタン段階でC_{18:2}が70%近くを占め、フラット段階では、それが40%であり、その割合が著しく減少していた。このことから、C_{18:2}が栄養学的に必須脂肪酸であり、重要であるためこのマッシュルーム子実体の収穫は、このC_{18:2}含量の高いボタン段階で行った方が良いと云えよう。またこのようにリノール酸含量が高いことから、マッシュルーム脂質は、リノール酸源としても重要である。またこのマッシュルーム脂質を簿層クロマトグラフィーによって分画して、得られるリン脂質の脂肪酸組成は、第4表に示したように総脂質の脂肪酸組成と類似し、C_{18:2}が著しく多く70%も示していたが、他の分画では、C_{18:2}は、低かった。このことから恐らくは、C_{18:2}は、ほとんどがリン脂質の構成成分をなしているものと思われる。

またこのマッシュルーム栽培過程では、合成コンポストをクロホルムで殺菌処理した方が蒸気殺菌処理よりも収穫されるマッシュルーム子実体の量は多かったが、クロホルム処理殺菌では、処理後クロホルムを除去するのに1週間以上を要した。クロホルム処理殺菌の場合は、経費と時間を要する欠点がある。

またマッシュルーム子実体の脂質の脂肪酸組成では、普通の植物性脂肪の脂肪酸組成とは、多少異なり、炭素数が奇数のもの(C_{9:1}, C_{11:0}, C_{11:1}, C_{11:2}, C_{13:0}, C_{13:2})が多く見られた。

V 要 約

沖縄産甘蔗バガスを用いてマッシュルーム栽培用合成コンポストを作成し、それをクロホルム殺菌、蒸気殺菌を行った後、マッシュルームを栽培した。その結果、クロホルム殺菌合成コンポストを用いた方が蒸気殺菌合成コンポストよりも収量が多かった。またその子実体の脂質の脂肪酸組成では、殺菌法によっては差異は見られず、両者共もC_{18:2}の値が最も高く67%であり、次にC_{16:0}, C_{11:1}が高かった。成長段階別でも、殺菌法によっては差異は見られなかった。ところがボタン段階ではC_{18:2}の値が高く67%であり、次にC_{16:1}, C_{11:1}が高かったのに対し、フラット段階ではC_{18:2}の占める割合が低くなり、43%を占め、次にC_{11:1}, C_{16:0}が高かった。また子実体の各脂質の脂肪酸組成を調べた結果では、リン脂質では、総脂質の場合とよく類似しC_{18:2}の値が最も高かった。ステロール、モノ・ジグリセリド分画、遊離脂肪酸分画、トリグリセリド分画ではC_{16:1}, C_{13:1}, C_{11:1}等の値が高かった。また炭化水素分画ではC_{16:0}の値が特に高かった。

参 考 文 献

1. Folch, J., et al 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, J. Biol Chem 226: 497

2. 野田万次郎 1967 蛋白質核酸酵素 (別冊) 生物化学実験法Ⅶ脂質実験法 P17~26 共立出版株式会社
3. 知念功, 幸地宏子, 福渡七郎 1972 沖縄産甘蔗バガスの脂質の研究 琉球大学農学部学術報告 19: 269 ~ 278
4. 藤沼智忠 1971 マッシュルームの栽培の新技術 泰文館

謝 辞

本研究を終えるにあたり、マッシュルーム種菌をご提供下さいました森食用菌ジン研究所の大野一月博士に心から感謝申し上げます。

Summary

Mushroom was cultivated by using the synthetic compost, which fermented the mixtures of cane sugar baggasse, calcium cyanamide, urea, rice bran, and water and then sterilized by steam or chloroform, and the fatty acid composition of its lipids was analyzed.

The yield which was obtained by using the synthotic compost srrerilized by chloroform was smaller than that by steam. In the fatty acid composition of total lipids of the mushroom fruit body there was little difference between the sterilizstion methods of the synthetic compost. In the fatty acid composition of its total lipids in button step, C18:2 was main fatty acid, 67% of total fatty acid, C16:0.9%, and C11:1, about 7%, but in flat step C18:2 decreased to 43%. The fatty acid composition of its phospholipids was similar with that or its toftal lipids, C18:2 was main fatty acid but in its sterols, mono-, diglycerides and free fatty acids fraction main fatty acids were consisted of C16:1, C13:1, and C11:1, and in its hydrocarbon fraetion C16:0 was main fatty acid.