

コーヒーかすのエクストルーダー処理によるヒラタケ生産

橋本 一哉, 岡崎 由朗, 加瀬谷泰介
宮川キミ枝, 山崎 昭子, 日置タツエ

Production of *Pleurotus spp.* on Spent Coffee Grounds with Extrusion Processing

Kazuya Hashimoto, Yoshiro Okazaki, Taisuke Kasetani
Kimie Miyagawa, Akiko Yamazaki and Tatsue Hioki.

Spent coffee grounds are major by-product of the canned drink industry, representing about 48% of the coffee bean on a dry weight basis. According to information on coffee drink production in Japan, there is an estimated domestic availability of about 300,000 tons of wet spent coffee grounds per year.

Continuous accumulation of those wastes which could be used as a source of lignocellulosic materials create environmental pollution. Disposal of the plant waste material becomes a serious problem and much expensive. Some of the spent coffee grounds are used as fertilizers or soil conditioners but much of these unused resources are disposed by burning, which is a terrific loss of energy that conserved through the process of photosynthesis by green plants.

Pleurotus spp. live in nature on dead wood as saprophytic fungi and primary decomposers. Production of those species rose rapidly in the last decade and reached second phase behind the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in the world. A sterilized substrate of sawdust and rice bran is the most widely used for cultivation of wood decaying edible fungi in Japan. Although this method can ensure very efficient mycelial growth on substrate, it is quite uneconomical on a commercial scale.

The aim of our investigation is to introduce the pasteurization for continuous pretreatment of waste materials to serve as a suitable substrate for large scale cultivation of *Pleurotus spp.* In this technique, the spent coffee grounds supplemented with rice bran are subjected to 60-100°C for 60 seconds by thermal treatment with extrusion processing and then cooled before spawning. The spawned substrates are filled aseptically into plastic bottles or bags. When the mycelium completely colonized the substrate after a period of 3 weeks, they were transferred into a cultivation chamber. *P. ostreatus* are able to give good commercial yields from 140~160g of fresh fruit bodies per kg of wet substrate. With certain strains, total yields are obtained quickly within 40 days after spawning. Application of the extrusion processing for preparation of substrates from spent coffee grounds are well-suited to the cultivation of *P.ostreatus*, *P. cornucopiae* and *P. eryngii*.

Key words : *Pleurotus* species, spent coffee grounds, extrusion processing pasteurization, lignocellulosic waste, environmental pollution.

ヒラタケ属は腐生性の木材腐朽菌に属するが希には寄生性を示し、温帯から亜熱帯地方にかけて広く分布する。世界で約40種が認められており、植物性残渣のリグノセルロースを効率的に分解する能力が高い白色腐朽菌であり、その子実体は食用としても優れた種類が多い。植物性の廃棄物であるリグノセルロースを腐朽菌によって食用きのこに変換する意義は生態的にも経済的にも非常に重要であろうと思われる。

わが国で行われている人工栽培は、木粉培地を充填した容器を蒸気で高圧滅菌し冷却後に接種し完全な無菌状態で培養される。この方法は純粋培養法で、菌糸の育成にはもっとも有効な技術であるが、大量の腐敗しやすい食品廃棄物から速やかに培地を調製する栽培法としては不適當で、熱エネルギーの損失でもあり必ずしも合理的ではない。

すでに植物性廃棄物をヒラタケ栽培に利用した例としては、小麦わらやヒマワリの茎葉 (Zadrajil et al.)¹⁰⁾、小麦わらやトウモロコシ (Kalberer)⁵⁾、稲わら (Zakia Bano et al.; 橋本ら)¹⁰⁾³⁾ 砂糖きび絞りかす (Nicolini et al.)⁸⁾、コーヒールプの発酵物 (Martinez)⁷⁾、ココナツの繊維 (Senyah et al.)⁹⁾、廃綿 (Leong et al.)⁶⁾、廃紙 (Hashimoto et al.)⁴⁾ などさまざまな物質を培地に利用する試みがなされている。また小麦わらの前処理にマッシュルーム栽培で確立しているコンポストの低温殺菌の理論 (Wood et al.)¹²⁾ から類推した大量生産方式が提案されている (Zadrajil et al.)¹⁰⁾。

一方わが国のコーヒール輸入量はアメリカ、ドイツに次ぎ世界第3位に達し、最近の容器詰め飲料の普及に伴って、缶ドリンクコーヒールの総生産量は260万klに達している。通常、生豆は煤煎によって20%、抽出で40%が減るから、1トンのコーヒール豆から480kgの抽出かすが生じる (Adams et al.)¹⁾。換算すると年間30万トンの抽出かすを排出したと推定される。その大部分は有効な利用もされず廃棄されており、環境保護の観点から好ましくないばかりか光合成によって蓄積されたエネルギーの浪費である。そこで排出されたコーヒールかすをヒラタケ栽培の炭素源に再利用するために、大量処理に適合し、雑菌汚染を阻止し、ヒラタケ菌だけを速やかに活発に成育させる前処理法について考察した。食品廃棄物を連続殺菌する方法についてエクストルーダーを応用し熱処理、冷却、接種、容器に充填する栽培法を従来法と比較して示した (Fig. 1)。

培地調製の目的は、ヒラタケ菌と栄養的に競合する競争菌や病原菌の防除と予防である。また湿熱によりコーヒールかすを膨潤させヒラタケ菌の酵素分解を助長させるためである。

本報ではコーヒールかすの廃棄による環境汚染の防止と資源の有効利用を目的とし、培地の調製とヒラタケ子実体の生産について報告する。

実験材料と方法

工場から排出直後のコーヒールかすの水分含量は75~80%である。直ちに水分20%以下に天日乾燥し蓋付容器に保存した。実験に際しては水道水を用いて加湿し63~68%に調製した。コーヒールかすは近畿コカ・コーラ ボトリング株式会社京都工場より分譲を受けた。

コーヒールかすを連続殺菌するため、1軸型20mmエクストルーダーを使用した。その主な構造は原料補給用フィーダー、加熱板を装備したバレル、スクリュエ搬送軸よりなる装置である。加湿したコーヒールかすはホッパー出口付近でブリッジを生じ供給不能となりやすいため、スクレーパーと螺旋を組み合わせた円筒を回転し、閉塞を防止しながら強制的に原料を移送できるよう工夫した (Fig. 2)。

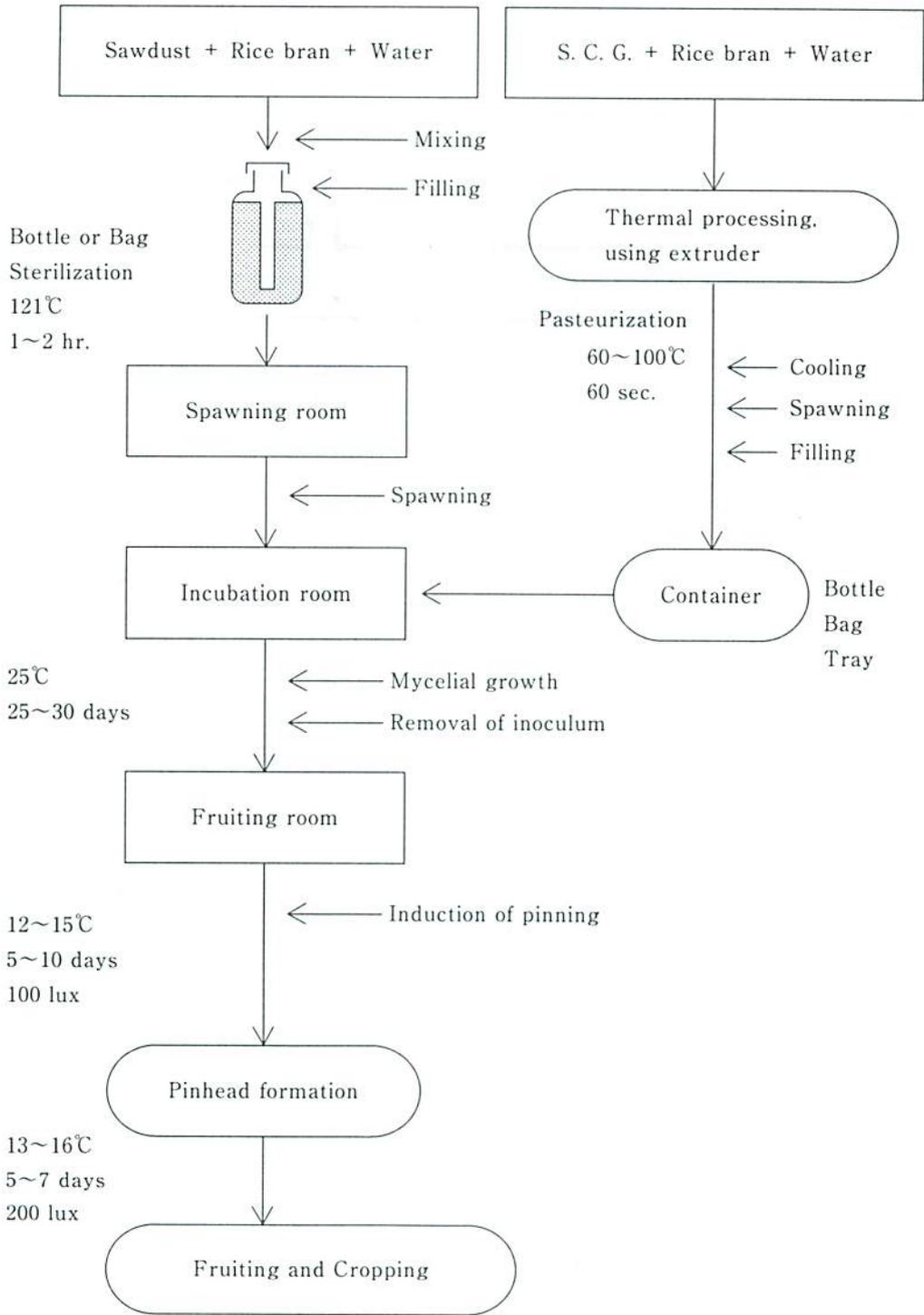


Fig. 1. Comparison of typical sawdust cultivating and the extrusion processing for growing *Pleurotus spp.*

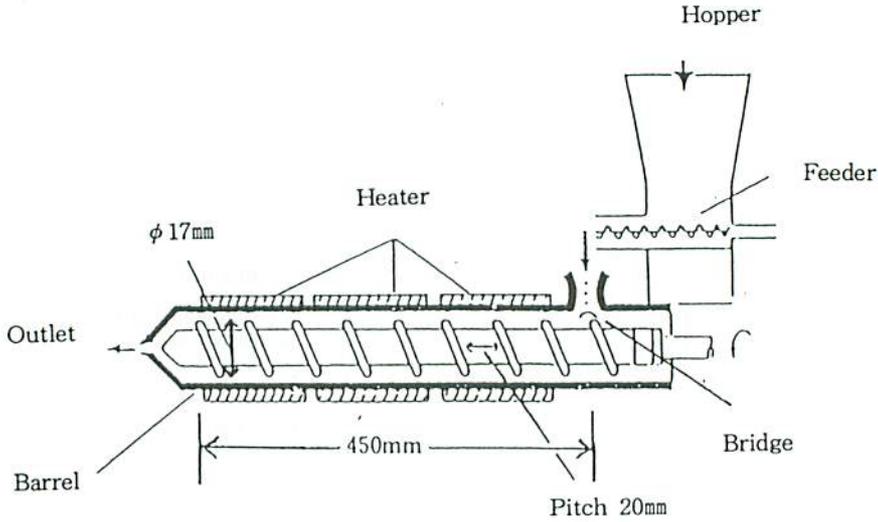


Fig. 2. Diagram of the extruder for continuous preparation of substrate.

種菌はコーヒーかすまたは穀粒を121℃、30分間加圧滅菌した培地に寒天保存培地から菌叢周辺部の菌糸体を移植し2～3週間培養し培地全域に繁茂したものを接種源とした。供試した菌株は、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*)、エリンギ (*Pleurotus eryngii*)、タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae*) の3種を用いた。

コーヒーかすの標準培地 (Table 1) は、必要に応じ大豆かす、ふすま、粃殻など副資材を添加して用いた。殺菌処理の終了した培地は、冷却後5%の種菌と混合しながらポリ瓶またはポリ袋にそれぞれ500g、1kgずつ充填した。室温22℃、湿度75%の暗所で培養し、菌糸が培地に蔓延した後に、容器の口を開き、培地表面の厚い菌糸層を掻き取り、培地に注水し6時間冠水後に排水した。次に容器を発生室に移動し、室温15℃湿度90%RHの条件で、培地から発生するCO₂を換気により0.1%濃度以下に保ち、1日12時間100luxの光照射を継続した。菌糸体に生じた傷害部位は回復のため細胞分裂が刺激を受けるとともに、温度降下と水分補給により原基の誘導がおきる。この処理によって数日後、原基が形成され子実体に成長した。茸傘の径が1～3cmに成長した後に採集し秤量した。測定値は5サンプルの平均で示した。

Table 1. Substrate materials based on spent coffee grounds.

Raw materials	Weight
Spent coffee grounds ¹⁾	5 kg
Rice bran	1 kg
Calcium carbonate	50 g
Calcium sulphate	100 g

Added tap water to the raw materials in order to adjust the substrate moisture to 65%.

¹⁾: Air dried after drainage.

結 果

1 ヒラタケ子実体と培地原料の化学組成

ヒラタケは乾物量当たり、糖質60%、蛋白質22%、脂質1.6%、灰分6.3%を含む。糖質の大部分は高分子多糖類であるが、遊離糖としてはマンニットとトレハロースが含まれる。窒素には非蛋白質のキチンが細胞壁に含まれるため、蛋白質含量は $N \times 4.38$ で算出した。

原料豆は抽出によって48%がコーヒーかすとして排出され、その化学組成はリグノセルロースであると報告されている (Sivetz et al.)¹⁰⁾。一般にリグノセルロースの窒素含量は極めて少ないが、木粉に比較すれば窒素は3.5倍、灰分は6倍と多く、さらに水分を大量に含んでおり水分補給の必要がなく培地の調製には有利である。米ぬかは窒素源の補充とビタミン強化に有効である (Table 2)。コーヒーかすを培地基材としてヒラタケを培養した例は、乾燥コーヒーかすに2倍量の0.5%酵母抽出液を加えた滅菌培地を用いて実験的に子実体を得た (Thielke)¹¹⁾。またメキシコではコーヒー生豆を果実から分離した際に生ずる大量 (乾燥生豆の28.7%) の果肉を堆積発酵したコンポストを用いてヒラタケ栽培が準工業化された (Bressani)²⁾。

コーヒーかすは炭素源としての機能とともに栄養成長に必要な水分を保持し、外部からの O_2 の供給と生成した CO_2 の排出に必要な空隙を維持する物理性が主な役割である。しかし粒度分布は90%が1 mm以下の微粒子であり、通気性が劣るため過湿状態では細菌の汚染を受け菌糸の育成を阻止しやすい (Fig. 3)。

Table 2. Compositions of *Pleurotus ostreatus* and substrate materials used.

Composition	Fruit-bodies of <i>Pleurotus ostreatus</i> %	Substrate materials		
		Spent coffee grounds %	Pine-sawdust %	Rice bran %
Moisture	88.5	68.0	18.9	13.5
Fat	1.6	4.1	5.4	23.6
Total nitrogen	5.1	2.1	0.6	2.8
Protein	22.3*	13.1**	3.8**	17.9**
Crude fibre	10.6	56.4	67.7	8.2
Carbohydrates	59.2	25.2	22.9	38.7
Ash	6.3	1.2	0.2	11.6

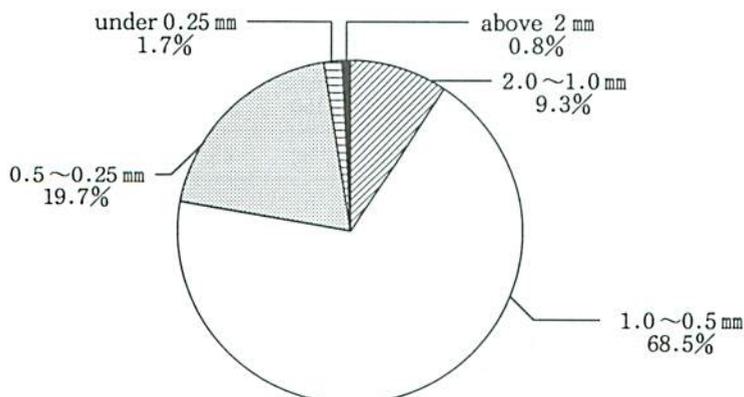
* $N \times 4.38$ ** $N \times 6.25$ 

Fig. 3. Particle size of spent coffee grounds.

2 バレル温度と培地温度の関係

微生物の死滅条件は加熱温度と時間に影響する。ここでの培地の処理は無菌状態を目的とするのではなく、培地基材を60~100℃で数時間処理し培養中に菌糸の育成を妨害する病原菌や競争菌の栄養細胞のみを殺滅する方法である (Zadrazil *et al.*,)¹⁹⁾。さらに短時間処理による殺菌効果の低下を防ぐため、エクストルーダーの可能性について考察した。エクストルーダーのバレル部の加熱温度と吐出口での培地温度は比例するが、バレル温度を120℃以上に上昇しても培地との温度差が拡大し、相当した殺菌効果の向上は認められなかった (Table 3)。バレル温度が150℃以上になると殺菌中にコーヒーかすが乾燥、炭化、逆流、突沸を起こし殺菌不能となった。連続処理の速度から殺菌時間を60秒に規定した結果、バレル温度を100~130℃で処理すれば汚染を防止でき栽培の目的を達成した。

Table 3. Comparison of temperature between barrel and substrate materials on the extrusion processing.

Barrel temperature °C ¹⁾	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150
Substrate °C	41	49	55	59	65	72	77	79	80	84
Difference °C	19	21	25	31	35	38	43	51	60	66

¹⁾ Substrate materials were treated with heat for 60 seconds at each temperature.

3 殺菌条件と培地の関係

バレル温度と処理時間が栄養成長と子実体発生に及ぼす影響を考察した。(Table 4.)。

エクストルーダーによる前処理はコーヒーかす培地の水分が大きな影響を与えており、有効な殺菌効果を得るには含水率60%以上が必要である。50%以下ではバレル温度150℃の高温でも培養中に汚染され栽培不能となった。60%以上では100℃、60秒の殺菌で汚染が妨げられた。この現象はバレルからの熱伝導率の向上をもたらす湿熱効果が共存菌死滅に大きく関与している証拠であろうと考えられる。

Table 4. Influence of moisture content of substrate materials on the fruiting by different temperature and time.

Moisture %	20			50			60		
Barrel temperature °C	150	120	100	150	120	100	150	120	100
Thermal process sec.	32	43	60	32	43	60	32	43	60
Mycerial growth	d.	d.	d.	n.	v.	v.	v.	v.	v.
Fruiting	n.	n.	n.	n.	○	○	○	◎	◎

d.: Discarded before induction due to heavy contamination.

v.: Vigorous mycelial growth.

◎: Good yield of fruit-bodies.

○: Relatively low yield.

n.: No inducing.

4 殺菌効果と菌糸の成育

各バレル温度で60秒間エクストルーダーにより加熱処理したコーヒーかす培地の生菌数, ヒラタケ属菌糸の成育と子実体発生との関係を示した (Table 5).

調製直後では培地の生菌数は 1.3×10^5 /gであるが, バレル温度100℃ (品温65℃) の処理によって98%が死滅し, さらに昇温すると徐々に生菌数が減り, 130℃ (品温79℃) では検出されず, 残存率0%となった.

一方菌糸の成育状況は, それぞれヒラタケ100℃, エリンギ110℃, タモギタケ120℃, のバレル温度での前処理によって活発な増殖を示し, 共存する競争菌に打ち勝ち培養中の汚染が起きなかった培地のみ正常な子実体の形成を確認した. 前処理温度の相違は共存菌との競合関係において, それぞれヒラタケ属の種類によって, その抵抗性に相違があることを示している.

Table 5. Sterilizing effect of the extrusion processing on the fruiting of *Pleurotus spp.*

Barrel temperature	Substrate* temperature	Number of viable cells	Survival rate	Confirm of fruiting
Control	Room temp.	1.3×10^5 / g	100 %	Contamination
100℃	65℃	2.5×10^2	1.92	P.o
110	72	1.5×10	0.012	P.o, P.e
120	77	1.0×10	0.004	P.o, P.e, P.c
130	79	0	0	P.o, P.e, P.c

Extrusion time: 60 seconds (screw rotation: 24rpm)

* : Temperature of substrate materials just before outlet.

P.o : *Pleurotus ostreatus*

P.e : *Pleurotus eryngii*

P.c : *Pleurotus cornucopiae*

5 バレル温度と収量の関係

加熱による殺菌効果は, 熱を培地全域に速く均一に伝達できるかどうか重要な条件となる. スクリューの搬送速度を60秒間に設定し, バレル温度と収量の関係を示した (Table 6).

バレル温度80℃以下では汚染されやすい. おそらくバレル側から熱が供給されるので, 低温ではスクリュー軸に近い部分に位置した培地基材は熱伝達が均等に達成されず低温のままバレルを通過するためと考えられる. ヒラタケはバレル温度100℃の加熱による殺菌効果と原料成分の熱変成による可溶性糖質やフェノール性物質の固定, さらには菌自体の抗菌作用によって二次汚染を防止していると推定される.

6 殺菌時間と収量の関係

殺菌時間の影響を確認するためバレル温度を100℃に設定し, 25秒から164秒間の処理によってヒラタケを培養した結果 (Table 7). 収量は処理時間が長いほど有効であった. 30秒以下の短時間処理では, 培地に最低限必要な60℃以上の殺菌温度に達せず, 培養中に激しく汚染され栽培は不可能となった.

Table 6. Influence of barrel temperature on the fruiting of *Pleurotus ostreatus*.

Barrel temperature ℃	Mycelial growth (days)	Inducing ~Pinning (days)	Pinnig ~Cropping (days)	yield ¹⁾ (g)	yield ²⁾ (%)
60	23	16.3	6.3	34.5	6.9
80	23	14.7	6.8	41.1	8.2
100	23	11.3	6.5	70.5	14.1
120	23	8.4	5.2	76.4	15.2
150	23	6.5	5.6	73.6	14.7

¹⁾ Weight of fresh fruit-bodies per 500g of substrate wet weight.

²⁾ Ratio of fresh fruit-bodies to substrate.

Table 7. Influence of thermal times at 100℃ on the extrusion processing for yield of *Pleurotus ostreatus*.

Extrusion time (seconds)	Mycelial growth (days)	Inducing ~Pinning (days)	Pinnig ~Cropping (days)	yield ¹⁾ (g)	yield ²⁾ (%)
25	21	d ³⁾	d	0	0
30	21	d	d	0	0
60	21	12.0	5.2	72.1	14.4
99	21	12.7	4.3	76.4	15.3
164	21	11.2	7.3	83.2	16.6

¹⁾ Weight of fresh fruit-bodies per 500g of substrate wet weight.

²⁾ Ratio of fresh fruit-bodies to substrate.

³⁾ d: Discarded before induction due to heavy contamination.

7 ヒラタケ属3種の栽培パターン

ヒラタケ、タモギタケ、エリンギの3種について、栽培の特性を知るため、上記の環境条件で比較した。ヒラタケ属は温帯から亜熱帯地方まで広く分布しており、ほとんどの種類で栄養成長の最適温度が20~30℃の範囲に入る。育成中の自然発熱を考慮し室温22℃で培養した。菌糸体が培地全体に蔓延するのに要する培養日数は、それぞれ20日、11日、29日でタモギタケが速く、次がヒラタケ、エリンギは約1ヶ月と長期を要した。子実体の発生適温はヒラタケは8~14℃、タモギタケは16~28℃、エリンギは18~25℃であるが、本実験では便宜上すべて15℃で発生処理した。その結果、原基の誘導にヒラタケは6.2日、タモギタケは3.6日、エリンギは8日間を要した。第1発生は、それぞれ3日、7.6日、8日後に得られた。ヒラタケとタモギタケは第2発生までに全収量の約85%を得たが、第1と2発生の間隔が10日以上を要した。エリンギは4日の間隔で6回の発生を繰り返した。発生環境はそれぞれの菌種に応じた最適条件として、発生の間隔を短縮する必要がある (Fig. 4. 5)。

考 察

コーヒーかすは大量に排出される食品産業廃棄物であるが、燃料、肥料、土壌改良剤として一部利用されている程度で有効な資源としての活用法は確立していない。そこでヒラタケ属栽培の

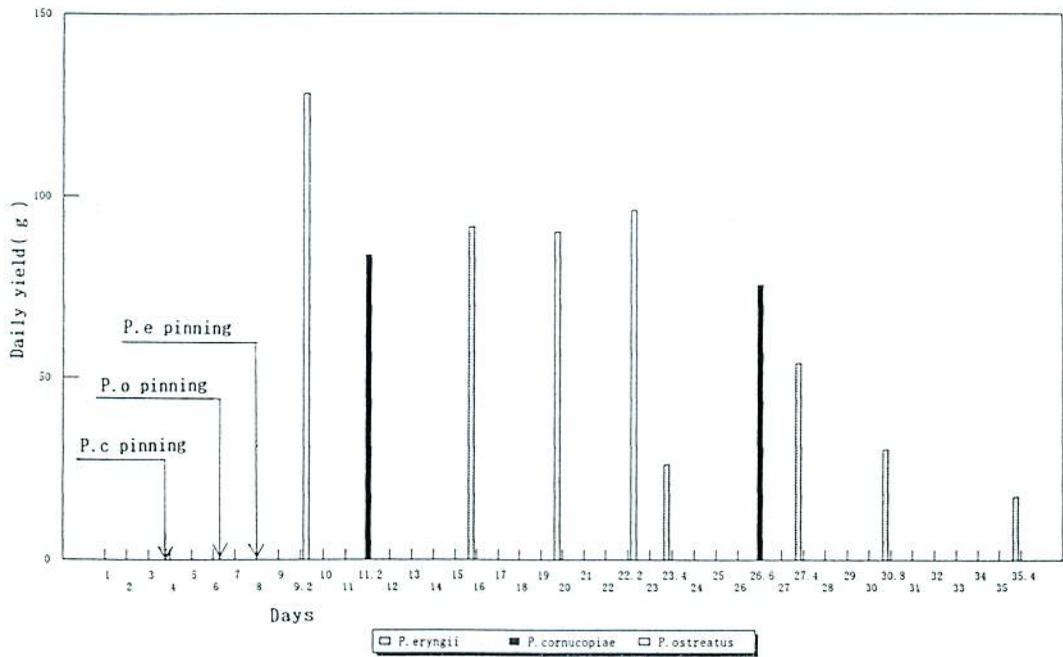


Fig. 4. Yield of three strains of *Pleurotus* spp. .

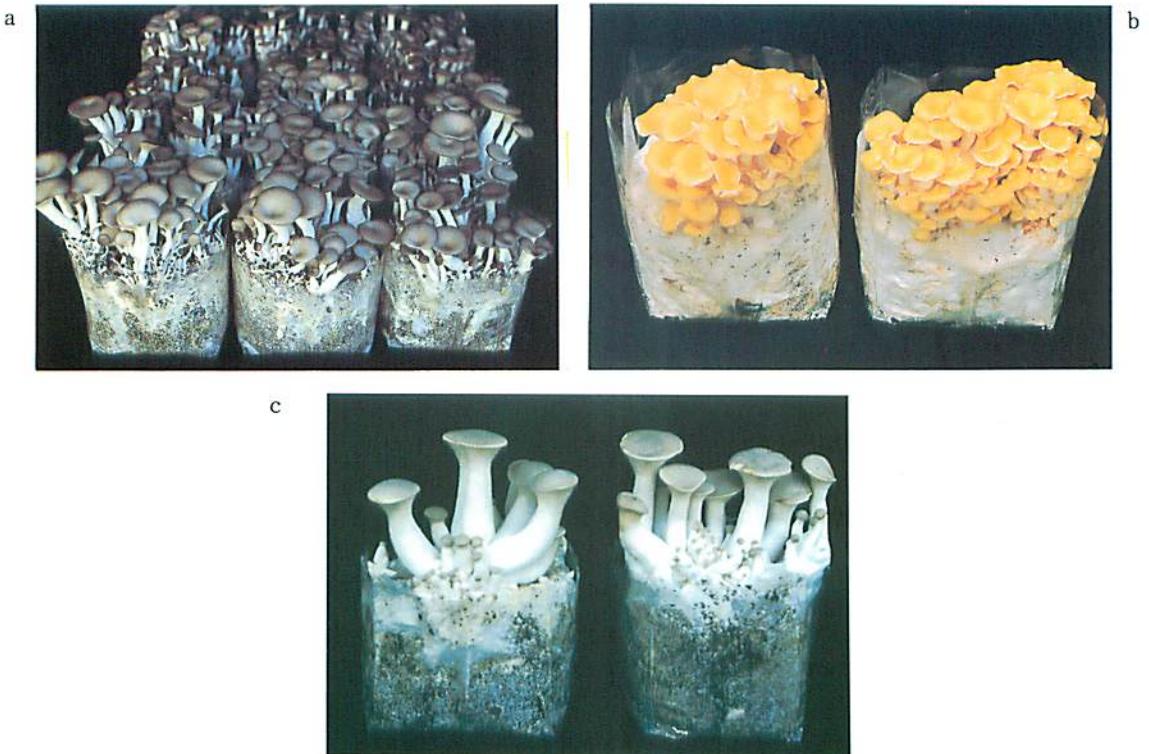


Fig. 5. *Pleurotus* fruiting on spent coffee grounds.
 a: *P. ostratus* b: *P. cornucopiae* c: *P. eryngii*

炭素源への再利用を試みた。大量に排出される含水率の高い廃棄物から効率的に培地を調製するため、従来の滅菌法に代え比較的低い加熱によって問題になる病原菌や競争菌のみを殺滅する方法を検討した。この目的のため安価で省エネルギー化できる方法として20mmエクストルーダーを用いて検討した。エクストルーダーの構造はフィーダー、バレル、スクリュウ、ヒーターからなる。スクリュウの回転によってフィーダーに供給されたコーヒーかす培地はバレル内を前方に移動する。その際にバレル面からの加熱によって殺菌される。なお短時間で加熱殺菌を完遂するには、いかにして熱を原料に早く均一に伝達するかが重要である。そのためには培地原料の水分を60%以上に保つことで解決した。

コーヒーかすを60℃以上に昇温するには、バレル温度100℃から130℃で60秒間の維持によって殺菌が可能で、安定した栄養菌糸の成育と子実体の収穫が得られた。この条件で細菌の生存率が大幅に低下していることは、湿熱効果がバレルからの熱伝達率の向上に有効に働き、栄養細胞の死滅に大きく関与している証拠である。

エクストルーダーによるコーヒーかす処理の利点は、①極めて短時間で大量の処理ができる。②省エネルギー化になる。③接種作業が容易である。④培養期間を短縮できる。⑤原料を脱水せずに利用できる。⑥培養容器の耐熱性は不必要である。

コーヒーかすに限定されず、広く含水量の高い食品産業廃棄物についても、ヒラタケ属きのこ栽培が可能となり、植物性廃棄物の処理による環境汚染の防止と再利用による資源の有効利用との両目的を解決する手段となるだろう。

引用文献

- 1) Adams, M. R. and Dougan, J.: In "Coffee" Vol 2 Technology (Waste Product) PP. 257~287. Elsevier, New York, (1987).
- 2) Bressani, R.: In "Pulpe de Cafe, Composicion, Tecnologia y Utilizaction" (J. E. Braham and R. Brassani, eds.) . C. I. I. D., Bogota. (1979).
- 3) Hashimoto, K., and Takahashi, Z.: Mushroom Sci., 9, 585~589(1976).
- 4) 橋本一哉・高橋善次郎: 缶詰時報, 55, 153~157 (1976) .
- 5) Kalberer, P. P.: Mushroom Sci., 9, 653~661 (1976).
- 6) Leong, P. C.: In "Tropical Mushrooms: Biological Nature and Cultivation Methods" (S. T. Changet al., eds), pp.349~361. Chinese Univ. Press, Hong Kong. (1982).
- 7) Martinez, D.: Mushroom Sci., 12, 169~177 (1989).
- 8) Nicolini, L, Von Hunolstein. C., and Carilli, A.: Appl. Microbiol. Biotechnol., 26, 95~98 (1987).
- 9) Senyah, J. K., Robinson R. K., and Smith, J. F.: Mushroom Sci., 12, 207~217 (1989).
- 10) Sivetz, M. and Desrosier, N, W: Coffee Technology, pp.519 AVI, Westport, Conn. (1979).
- 11) Thielke, C.: Mushroom Sci., 12, 337~343 (1989).
- 12) Wood, D. A., and Smith, J. F.: Mushroom J., 188, 655~674 (1988).
- 13) Zadrazil, F.: Mushroom Sci., 9, 621~652. (1976).
- 14) Zakia, Bano, and Rajarathnam, S.: Mushroom J., 155, 243~245 (1982).