植物からの有用物質の新規製造・抽出分離法の開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/14656

氏　　名	武　春美
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	博甲第828号
学位授与の日付	平成18年3月22日
学位授与の要件	課程博士（学位規則第4条第1項）
学位授与の題目	植物からの有用物質の新規製造・抽出分離法の開発
論文審査委員(主査)	中村　嘉利（自然科学研究科・助教授）
論文審査委員(副査)	清水　宣明（自然計測応用研究センター・教授）， 中本　義章（自然科学研究科・教授），池本　良子（自然科学研究科・教授）， 寺沢　なお子（教育学部・助教授）

Methane fermentation of woody waste was carried out using various pretreatment methods for delignification to evaluate the efficient pretreatment method for producing methane gas from woody waste. Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) chips were used as sample of woody waste. As pretreatment methods, refiner treatment, steaming treatment, steaming treatment followed by refiner treatment, basidiomycete treatment, and steam explosion treatment were attempted and the methane gas evolved from treated wood chips were compared. The steam explosion treatment resulted in the most effective pretreatment method for methane fermentation from woody waste among the pretreatment methods. The steam explosion at a steam pressure of 4.51 MPa and a steaming time of 5 min was the optimal pretreatment method for obtaining a large amount of methane gas, i.e. about 180 mL, from 1 g dry treated wood chips in energy saving. The strong correlation between the amount of methane gas evolved and the ratio of amount of Klason lignin, a high molecular weight lignin, in the treated wood chips was observed and the necessity of the pretreatment method for delignification was confirmed.

In order to convert woody waste into methane gas efficiently, the pretreatment effect of steam explosion and the additive effect of soybean curd residue, *okara*, were clarified. 180 ml of methane gas was obtained from 1 g of steam-exploded Japanese cedar chips at a steam pressure of 4.51 MPa and a steaming time of 5 min while no methane gas was produced from untreated chips. The addition of *okara* into the chips was attempted and the optimal condition, i.e. C/N of 18, increased the methane gas produced to 315 ml.

近年、石油、石炭、天然ガス等の化石資源の枯渇にともなう代替エネルギーとして、再生可能な天然の有機資源である植物をエタノールやメタンなどの燃料物質に変換する方法が注目されている。また、地球温暖化対策としてバイオマスの大量導入が提唱されており、平成14年12月の「バイオマスニッポン総合戦略」閣議決定により、利活用の動きが加速している。これまで、ボード材料や飼料などへ有効活用されてきた植物性バイオマスは一部で、大部分は焼却処分されてきた。しかし、平成12年に施行されたダイオキシン類特別措置法により、焼却炉の使用が困難となった。そこで、従来は余剰汚泥の減量化といった水処理技術の一つに過ぎなかったメタン発酵を、間伐材やおからなどの廃棄バイオマスを含む植物性バイオマスを用い、エネルギー生産を行う方法として応用することが注目されている[1-4]。メタン発酵法は、地球環境に優しく、将来のエネルギー生産の一手段としての活用が予想されるリサイクル技術であるが、余剰汚泥や浄化槽汚泥の分解率は低い。経済的にも優れたプロセスにするためには、分解率を高めるための化学的・物理的前処理法とメタン発酵法とを組み合わせた技術開発が望まれる。また、メタン発酵技術導入の促進のためには、装置のスペースが制限されること、生ゴミの窒素含有量が高いこと、消化液や残渣の還元が困難であることなどの日本の社会のシステムに合った技術の開発が重要となる。

これらの技術に用いる植物のうち、木質物質は約70％の多糖類と25～30％のリグニンから成り、直接資源化できる多糖類は木質物質細胞壁中においてリグニンのネットワークに覆われた状態(リグニフィケーション)で存在する[5]。木質物質をそのまま資源化することは技術的にも困難なばかりかコストの面からも期待できない。木質物質を資源化するためには、表面積を増やす、多孔性とする、リグニンを低分子化させる、あるいは除去する、セルロースの結晶化度を低下させる等の前処理が必要となる。これらの方法としては微粉砕、蒸煮・爆砕、マイクロ波、化学処理、細菌によるリグニン分解などがある[5]。その中でも爆砕法は植物性バイオマスを高温高圧の水蒸気で加水分解した後、瞬間的に減圧することにより生成物の破砕を行う2つの操作からなり、近年、注目されている[6-8]。爆砕法を用いた林産バイオマスの資源化はIOTEC社[9]、STAKE社[10]、棚橋ら[11-13]やSaddlerら[14,15]などに報告されており、著者らも種々の植物性バイオマスを原料として爆砕の前処理効果を研究してきた[16-20]。

また、木質物質の構成物質は窒素含有量が大変低く、メタン発酵に関与する微生物増殖効率が悪いため、窒素源の添加することにより効果的に行う必要がある。これには、単一成分の添加による調整ではなく、窒素含有量の高い生ゴミである厨芥廃棄物により調整する事が植物性バイオマスの有効利用と廃棄物の減量化の観点から好ましい方法といえる。

植物性バイオマスのうち、食品加工製造により排出される残渣には、豆腐製造によるおからやジュース製造による絞り粕などがあるが、食品として十分に利用できるものが多い。食品廃棄物であるおからがもつ機能性は、植物性たんぱく質や良質の脂質、抗酸化物質などに加え、現代人に欠けている食物繊維を豊富に含むことが最大の特徴であり、大腸ガン、高脂血症、糖尿病といった生活習慣病と食物繊維の摂取は負の相関関係があることがわかっており[21,22]、食品として摂取することが望ましい。このように、食品として利用価値が高いおからであるが、日持ちの悪さ、食の趣向などから

最近は食されることが少ない。一方で、高齢者の介護食には、栄養面から高たんぱくで便秘の予防の面から食物繊維が多く、また、食べやすく、調理用途の豊富な食品が求められており、食物繊維は十分ではないが、豆腐や豆腐加工食品が多く用いられている。最近、新潟県老人福祉施設協議会は、高齢者ソフト食の献立を考案した本を出版し[23]、豆腐におから混ぜた献立を推薦している。豆腐に食物繊維を含んだ豆腐様食品があれば、介護食の材料として利用価値が高い食品となり、廃棄物フリーの食品となり経済面、環境面からも好ましい食品になる。

さらに、植物の有用物質はセルロース系物質だけではなく、未知の有用物質が多く含まれており、その機能の一つに抗酸化能がある。すでに、各種野菜[24,25]、麦茶[26,27]、緑茶[28]、ゴマ[29]、大豆[30]、ハーブ[31]など、多くの食品において抗酸化能や活性酸素消去能が認められ、抗酸化物質や抗菌物質などの機能性物質を多く含んでいるので、この有用物質や有用成分を高効率で生産および抽出分離する方法の確立は天然資源の有効利用の面からだけでなく、植物性廃棄物の削減の面からも早急に実現されなければならない研究課題である。

本研究では、植物からの燃料物質(メタン)の効率的生産、安全かつ廃棄物フリーの栄養食品の開発、抗酸化物質の新規抽出分離法について研究した。

第1章では、「種々の脱リグニン処理法を用いた杉からのメタンガスの効率的生産」として、木質物質である杉を効率的にメタン化するための前処理(物理作用があるリファイナー処理、化学作用がある蒸煮処理、担子菌によってリグニンを分解する微生物処理、物理作用と化学作用の両面性を持つ水蒸気爆砕法)を行い、これらの前処理物のメタン発酵におけるメタン発生量から脱リグニン作用が最も大きい前処理を検討した。また、前処理における消費エネルギーを推算し、省エネルギーかつ脱リグニン作用が大きい前処理条件を解析結果から求めた。

水蒸気爆砕法において杉チップを水蒸気圧4.51MPaで種々の蒸煮時間爆砕した時の爆砕生成物の写真をFig.1に示す。蒸煮時間1minでは、繊維の縦方向にのみ裁断され、繊維はまだ残っていたが、3minでは、大半が繊維の横方向にも裁断化(フィブリル化)されて褐色の泥状となり、10minでは全体がフィブリル化され、褐色の泥状となった。

1　　3　　5　　10 min

Fig.1 杉チップの爆砕生成物の写真（水蒸気圧4.51MPa）

Fig.2 は種々の前処理をした杉チップをリファイナー処理(1回、30 回通し)した後の顕微鏡写真を示す。前処理にかかわらず1回通しより 30 回通しの方がより細かく切断されている。リファイナー処理が分子レベルでどの程度影響しているかはまだ不明ではあるが、外見上で観察すると表面が削れていたり、クラップ(裂け目)があったりと表面(リグニン)に何らかのダメージがあることがわかった。さらに、リファイナー処理する前に何らかの処理をすることにより、よりクラップが大きくなることがわかった。それゆえ、リファイナー処理は回数を増やすほど、また何らかの前処理と組み合わせることにより大きな効果が期待される。種々の前処理のうち、水蒸気圧 4.51MPa, 蒸煮時間 5min の時が最も効果的で、爆砕杉 1g(乾燥重量)を基質としたメタン発酵から、約 180mL のメタンガスが得られた。(Table 1)

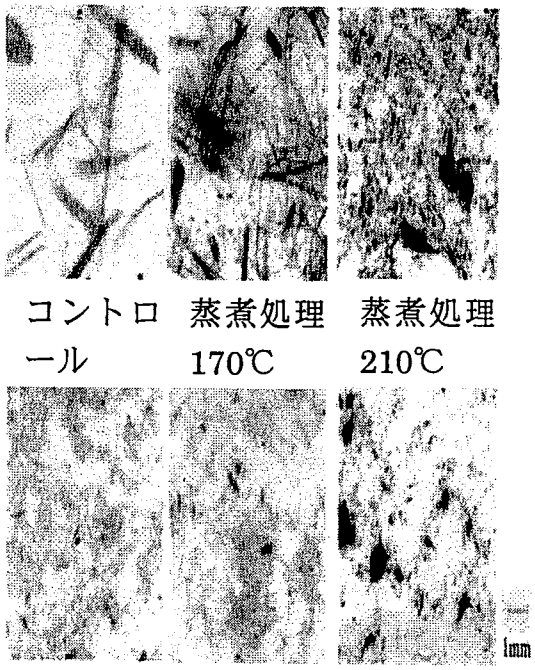

Fig.2 リファイナ - 処理された杉チップの顕微鏡写真

Table 1
種々の前処理した乾燥杉チップ1gから生成された総ガス量とメタンガス量の最大値

Pretreatment method			Total gas evolved [mL]	Methane gas evolved [mL]
Refiner	Treatment frequency [time]			
	1		15	8
	5		23	10
	7		24	12
	10		26	13
	30		19	9
Steaming (170 °C, 30 min)			62	28
Steaming (170 °C, 30 min) + refiner (1time)			90	45
Fungal treatment (20 d)	Basidiomycete			
	Ischnoderma resinosum AW 04-02		34	15
	Fomitella fraxinea AW 04-03		61	27
	Mycoleptodonoides aitchisonii AW 04-04		10	5
	Trichaptum abietinum AW 04-05W		14	4
	Cyathus stercoreus AW 03-72		85	43
	Trametes hirsuta NBRC 4917		72	30
Steam explosion	Steam pressure [MPa]	Steaming time [min]		
	3.53 (243 °C)	1	0	0
		3	0	0
		5	160	75
		10	290	130
	4.51 (258 °C)	1	131	60
		3	194	90
		5	365	180
		10	220	105

Fig. 3 に蒸煮時間による水蒸気爆砕に必要なエネルギーの結果と水蒸気圧 4.51MPa で処理した爆砕杉の乾燥重量 1g から得られた発生したメタンガス量の燃焼エネルギーと水蒸気爆砕で消費するエネルギーに対するメタンガス発生の燃焼エネルギーの影響を明らかにした。水蒸気圧 4.51MPa の時に必要なエネルギーは、以前に報告した方法により計算し[3]、蒸煮時間の経過とともに除々に増加し、蒸煮時間 10min の時には、約 0.73kcal/g に到達した。発生したメタンガスの燃焼エネルギーは 5min の時に最大値 1.73kcal/g となり、その後は急速に減少した。エネルギー効率は、蒸煮時間の経過とともに急速に増加し、最大値約 3.84 となり、それから、急激に減少したので、水蒸気圧 4.51MPa、蒸煮時間 5min の時、消費エネルギーが低く、最も多くのメタンガスを獲得するための効率的な水蒸気爆砕の条件といえる。

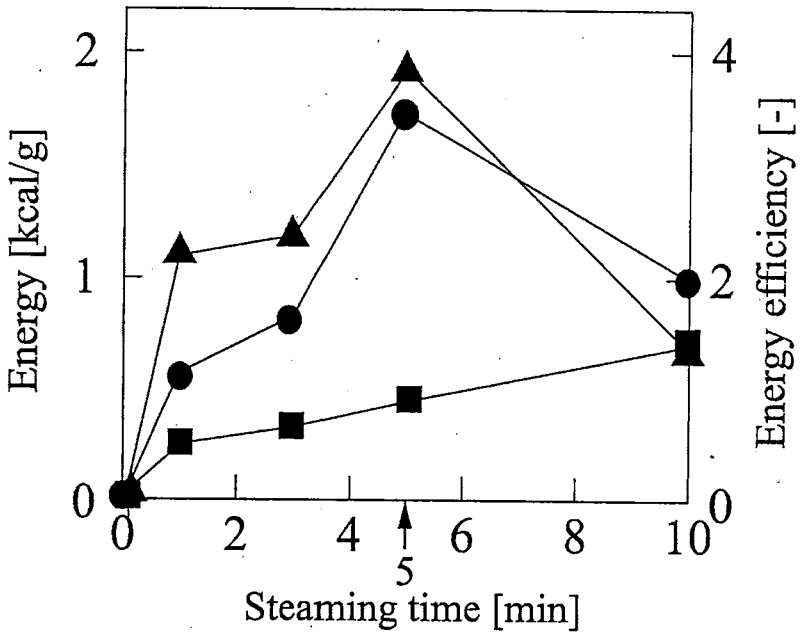

Fig. 3 蒸煮時間による水蒸気爆砕に必要なエネルギーと水蒸気圧4.51MPaで処理した爆砕杉の乾燥重量1gから得られたメタンガスの燃焼エネルギーとエネルギー効率(水蒸気爆砕の必要エネルギーに対する発生したメタンガスの燃焼エネルギー比)
Symbols: ●, combustion energy of methane gas, ■, consumption energy of steam explosion, ▲, energy efficiency.

第2章では、「メタン発酵促進のための豆腐残渣物(おから)の添加効果」として、第1章で行った前処理によるメタン発酵の効率化をより高めるために、木質物質は、炭素に対して窒素含有量が低いことから、メタン発酵が迅速に進まないことを改善するために、窒素含有量が高い厨芥廃棄物であるおからを様々な割合で加えてC/N比を調整したメタン発酵を行った結果をTable 2に示した。爆砕杉とおからの総量は、乾燥重量で1gに調整した。総ガスとメタンガスともに様々なC/N比で発生した。爆砕杉とおから、それぞれ1gから180,271mLのメタンガスが生成したが、爆砕杉0.33gとおから0.67g、C/N比18の時は、315mLのメタンガスが発生した。これは、C/N比が低い場合に対する事実で、C/N比が高い場合には、窒素源の不足によりメタン菌の成長が制限され、多くの窒素源から生成されたアンモニアにより阻害される。おからのみのC/N比12から得られた最大メタンガス量と比較すると、廃材におからのような窒素源豊富な物質を加えることはメタンガス生成に必要であるといえる。この結果もまた、排泄物のようなC/N比の高い物質に関しても示唆され、廃材からのメタン生成をより効果的にできるかもしれないし、この方法はまた、小麦、バカス、甘蔗などの様々な植物へ適用し易いといえる。将来の研究で、異なる基質を混ぜ、最適なC/Nにすることによって、より効果的なメタン発酵に焦点があたるだろう。

Table 2 爆砕杉におからを添加したメタン発酵の結果

Sample		C/N ratio [-]	Total gas evolved [ml]	Methane gas evolved [ml]
Steam-exploded wood chips [g]	*Okara* [g]			
1	0	257	305	180
0.91	0.09	98	310	196
0.77	0.23	49	320	205
0.50	0.57	24	420	280
0.33	0.67	18	480	315
0	1	12	411	271

第3章では、「おからフリーの新規豆腐様食品の製造法の開発」として、第2章で、廃棄物の有効利用として用いたおからの食品としての機能性を重視し、おからを排出しない新規豆腐様食品の製造と開発および機能性の評価を行った。

おからは豆腐製造工程における豆腐の副産物で、年間80万トン排出され、一部は食用、飼料となるが、大部分は厨芥廃棄物として、埋め立て、焼却処理されている。しかし、おからは、植物性たんぱく質や良質の脂質、抗酸化物質などに加え、現代人に欠けている食物繊維を豊富に含むことが最大の特徴を持っている。今日の高齢化社会において、低栄養の改善のために高たんぱくで調理用途の多く食べやすいことから、豆腐食品は、食のバリアフリーとされる'ソフト食'(介護食)として用いられている。また、高齢者の難題の一つとされる便秘の予防のために食物繊維含有率が高い食品も求められているため、従来の豆腐食品におからを含んだものがあれば、大変好ましい食品となる。そこで、おからを出さないことから、豆腐よりも栄養価の高い豆腐様食品の製造と開発を行った。製造したおからフリーの新規豆腐様食品は、通常の豆腐製造工程の大部分である破砕と加熱の工程を水蒸気爆砕装置により一括で行ったので、爆砕豆腐と称した。爆砕豆腐の評価は、通常の方法でおからを出さずに作った丸ごと大豆木綿豆腐と比較した。豆腐の製造工程をFig.4に示す。製造工程の所要時間を比較すると、爆砕豆腐の工程は、水蒸気爆砕装置で蒸煮と破砕を一度にできるため、通常のミキサーによる破砕に加え、加熱時間を約1/30に短縮できる。また、最小限の加水により呉を作ることが可能であり、密閉状態にあるため、食品添加物である消泡剤の必要がない。完成した爆砕豆腐と通常の方法で作った、丸ごと大豆木綿豆腐の収量を比較しても大差はなく、爆砕による収量の減少はみられなかった。豆腐の物性をTable 3に示した。完成した豆腐の成分に大差は無かったので、製造工程に水蒸気爆砕装置を用いても成分への影響はないように思われる。

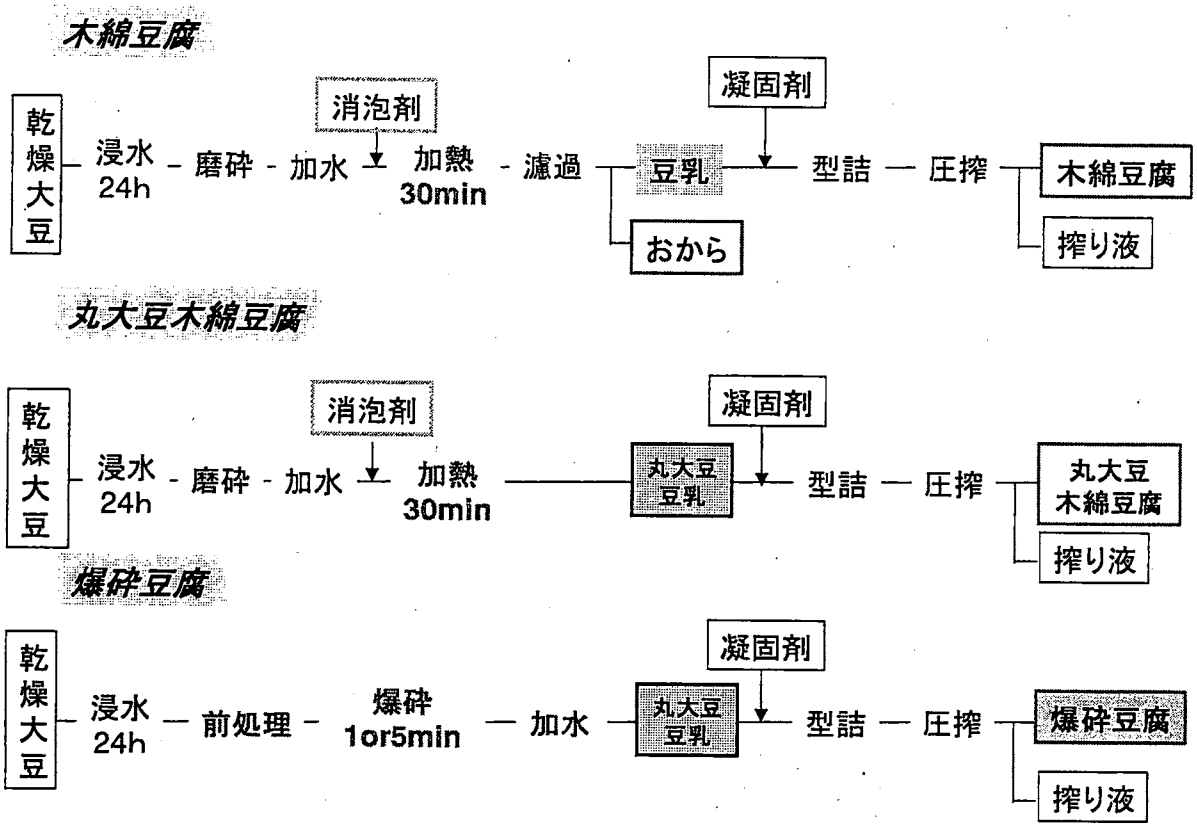

Fig.4 豆腐製造工程

Table 3 豆腐の物性

試料	物性						
	灰分 [g/100g]	水分 [g/100g]	脂質 [g/100g]	たんぱく質 [g/100g]	食物繊維 [g/100g]	収率 [g/100g]	pH [−]
爆砕豆腐 (100℃,5min:MgCl 1g)	1.01±0.047	79.69±0.33	3.06±0.26	6.44±0.47	4.16±0.051	52.43±0.37	5.35
爆砕豆腐 (100℃,5min:MgCl 2g)	1.07±0.025	79.44±0.98	2.22±1.63	5.41±0.23	4.06±0.090	63.17±0.20	5.32
爆砕豆腐 (110℃,1min:MgCl 1g)	0.80±0.02	79.00±0.21	2.36±0.50	7.49±0.10	3.86±0.47	53.87±0.29	5.46
爆砕豆腐 (110℃,1min:MgCl 2g)	1.11±0.045	79.45±0.26	2.07±1.29	6.92±0.021	4.01±0.061	53.55±0.78	5.39
丸ごと大豆木綿豆腐 (MgCl 1g)	0.88±0.038	80.93±0.50	2.26±0.86	7.18±0.30	4.23±0.26	62.21±0.099	5.68
丸ごと大豆木綿豆腐 (MgCl 2g)	0.99±0.042	81.66±0.86	2.20±0.25	6.35±0.26	4.12±0.015	72.28±0.12	5.58

Table 4 に本研究で製造した豆腐の破断強度(N)を示す。凝固剤の濃度による差はなく、丸大豆木綿豆腐とも大差がみられないため、水蒸気爆砕装置を用いた豆腐の製造は、物性にも影響がない方法であるといえる。

Table 4 豆腐の破断試験

	爆砕豆腐 (100℃,5min :MgCl 1g)	爆砕豆腐 (100℃,5min :MgCl 2g)	爆砕豆腐 (110℃,1min :MgCl 1g)	爆砕豆腐 (110℃,1min :MgCl 2g)	丸ごと大豆 木綿豆腐 (MgCl 1g)	丸ごと大豆 木綿豆腐 (MgCl 2g)
破断強度 (N)	4.96	3.93	4.57	4.63	4.66	5.51

水蒸気爆砕装置を用いることにより、時間および製造プロセスの短縮と添加物の減量化で食物繊維が豊富な原料大豆のもつ機能性を最大限に生かした、介護食への利用の可能性の高い、おからフリーの新規豆腐様食品を開発した。

第 4 章では、「天然機能性物質の新規抽出法の開発と抗酸化活性の評価」天然機能性物質で未利用植物である笹の新規抽出法の開発と抗酸化活性の評価を行った。種々の方法で抽出した笹の抽出液のラジカル消去能を Fig. 5 に示した。未処理と熱水に対して、超音波洗浄機(20kHz)と超音波ホモジナイザー(10W)以外は効果がみられた。蒸煮効果のあるオートクレーブと破砕効果のあるホモジナイザーよりも蒸煮と破砕効果をあわせもつ水蒸気爆砕が最も効果的で、150℃,蒸煮時間 1min の時にラジカル消去能 88%で最も高かった。同じ 121℃の場合でもオートクレーブより効果的であったのは、蒸煮による加水分解効果だけでなく、笹の細胞壁や細胞膜の破壊により、溶媒に関わらず抽出しやすくなったためと思われる。また、成分の合成や重合の効果も予想される。

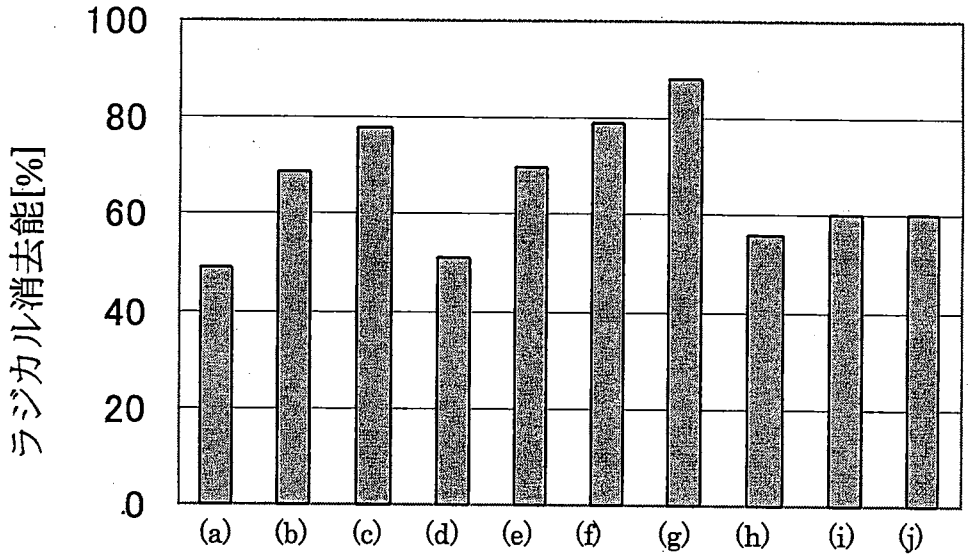

Fig. 5 種々の方法で抽出した笹の抽出物のラジカル消去能

(a)未処理, (b)熱水, (c)オートクレーブ(121℃), (d)超音波洗浄機(20kHz), (e)ホモジナイザー, (f)水蒸気爆砕(121℃, 1min), (g)水蒸気爆砕(150℃, 1min) (h)超音波ホモジナイザー(10W), (i)超音波ホモジナイザー(30W), (j)超音波ホモジナイザー(50W)

植物から天然機能性物質を種々の抽出法を行うことにより抽出効果を高めることができた。食品に用いることができる植物から抽出された抗酸化成分は魅力ある研究課題であり、その実用化が期待される分野で、体内の抗酸化機構に対して抗酸化成分がどのように寄与するかを定量的に解析することが必要となってくる。そのためには、抗酸化成分を特定し、種々の成分の性質や抗酸化活性の大きさを測定する必要がある。

笹から有用な天然機能性物質の抽出を効率的に行う方法は、他の植物にも代用できる有効な方法であるといえる。

参考文献

1) M.Kuwahara, .T.Kagimura, K. Takagi.：Mokuzai gakkaishi,30,9(1984)769-776
2) Y. Sonoda.Y, H.Onog：J. Ferment. Techol 45,7(1967)643-648
3) Y. Kitamura, A. Tagawa, S. Nakano, C.L.Hansen：J.SASJ,29,2(1998)69-74
4) Y. Kitamura, C. L. Hansen, N. Ishizuka：J. SASJ,30,3(1999)267-273
5) 越島哲夫　編：セルロース資源　高度利用のための技術開発とその基礎，学術出版センター(1991)
6) R. H. Marchessault, S. Coulombe, T. Hanai, and H. Morikawa：Pulp Pap. Mag. Can. Trans., 6, TR52(1980)
7) 森川弘道：化学と生物，19,(1981)286
8) M. G. S. Chua and M. Wayman：Can. J. Chem.,57(1979)1141
9) R. H. Marchessault and J. St-Pierre：Proceedings of Chemrawn Conference, Tront(1978)613
10) PRO-CELL：STAKE Technology LTD.(1980)
11) M. Tanahashi, S. Takada, T. Aoki, T. Higuchi, and S. Hanai：Wood Research, 69(1983)36
12) 棚橋光彦，樋口隆昌：高分子加工，32(1983)39
13) 棚橋光彦：木材研究資料，18(1983)51
14) J. N. Saddler, H. H. Brownell, L. P. Clermont, and N. Levitin：Biotechnol. Bioeng., 24(1982)1389
15) J. N. Saddler, M. Mes-Hartree, E. K. C. Yu, and H. H. Brownell：Biotechnol. Bioeng. Symp., 13(1983) 225
16) 中村嘉利，沢田達郎，桑原正章，元井正敏：木材学会誌，35(1989)663
17) 沢田達郎，桑原正章，中村嘉利，隈田弘：化学工学論文集，12(1986)1
18) 中村嘉利，M. Mohammed，長尾衛，沢田達郎，元井正敏：化学工学論文集，17(1991)504
19) F. Kobayashi, T. Sawada, Y. Nakamura, M. Ohnaga, M. Godliving, and T. Ushiyama：Appl. Biochem. Biotechnol. 69(1998)177
20) 中村嘉利，沢田達郎，井上英一：環境科学会誌，13(2000)562
21) 日本栄養士会編：食物繊維,第一出版,東京(1995)
22) 山口百子：食事と大腸ガン,栄養学雑誌,54(1996)71-78
23) 社団法人 新潟県老人福祉施設協議会発行：おいしいにいがたの高齢者ソフト食(2005)
24) 西堀すき江,並木和子:食科工,45(1998)144
25) 石井現相,森元幸,梅村芳樹：食科工,43(1996)962
26) 梶本五郎,鬼武直子,奥田浩子,村上智嘉子：食科工,46(1999)67
27) 梶本五郎,村上智嘉子：栄養誌,52(1999)209
28) 寺尾純二：栄養と健康のライフサイエンス,1(1996)21
29) 長島万弓,福田靖子,井藤龍平：食科工,46(1999)382
30) T. Tsuda, K. Ohshima, S. Kawakishi, T. Osawa：J. Agric. Food. Chem., 42(1994)42
31) 寺沢なお子,山崎希,福井優美子：日本食品加工学会誌,48,2(2001)99-1045)

学位論文審査結果の要旨

本学位論文に関して各審査委員によって個別に審査を行うとともに平成18年2月1日に口頭発表会と論文審査委員会を開催し、以下のように判定した。

本論文では、植物からの燃料物質（メタン）の効率的生産、安全かつ廃棄物フリーの豆腐様栄養食品の製造、天然抗酸化物質の新規抽出分離法について研究した。木質物質を迅速かつ高効率でメタン化するためには脱リグニン処理と窒素含有量の高い食品廃棄物である“おから”等の添加（C／N比約18に調整）が必要であることを示した。木質物質の脱リグニン処理として種々の前処理（物理的、化学的、生物的処理など）を行い、省エネルギーで大量のメタンを得るための最適な前処理方法と条件を決定した。次に、高温水蒸気による加水分解と瞬間的な減圧操作から成る爆砕操作を大豆や笹の可溶化に用いることにより、食物繊維を多く含み介護食に適した豆腐様栄養食品の製造や非常に高い抗酸化活性（沸騰水抽出の数十倍程度）を持つ水可溶性画分の分離・回収を行うことができた。

以上のように、本論文は種々の植物からの有用物質の生産や抽出分離のために多くの有用な知見を与えるだけでなく、エネルギー、食品および医薬等の関連分野への応用とともに実用化が待たれる研究成果であるので、博士（工学）に値すると判定した。