

果皮由来 β -クリプトキサンチン高濃度含有液の低コスト製造に関する検討

山田和男*

Study on a Method for Producing Highly Concentrated β -Cryptoxanthin-Containing Solution Originated from Citrus peel at a Low Cost

Kazuo Yamada

1. 緒言

山口県には国内では数少ない温州みかん果汁の加工業者が存在し、多量の搾汁残渣が排出されて廃棄物として処理されている。この残渣のうち外果皮(以下:果皮)中にはカロテノイド、ポリフェノールなどの有用な有機化合物がまだ多く残っており、特に温州みかんは抗酸化物質である β -クリプトキサンチン(以下: β -CRY)を豊富に含んでいるため有効利用法の開発が望まれて来た。しかし工業用 β -CRYは、ヘキサン抽出~分取 HPLC 分離・精製と言う高コストな処理により製造されており^{1),2)}、結果的に高価格(1mgあたり¥3,000程度)となってしまう利用が進んでこなかった。

一方我々は、先ず超臨界炭酸ガスを用いて β -CRY抽出効率を高め低コスト化を実現する製造方法について検討を行ったが、弊所所有の装置では圧力上限が低く抽出効率を十分に上げられなかったため目標を達成できなかった³⁾。

そこで本研究では、従来からある一般的で簡易な手法を効果的に組み合わせ、残渣から低コストで高濃度 β -CRY含有溶液を製造する方法について検討を行ったので結果を報告する。

2. 実験方法

2.1 サンプル溶液の試作

β -CRY含有サンプル溶液は以下の手法を組み合わせで作成した。なお全ての検討について果皮の荒粉砕は最低限実施し、特記がある場合を除き投入した果皮約2gに対して溶媒(エタノール)を40ml使用した。

2.1.1 荒粉砕

冷凍保存した温州みかん果皮(搾汁前に取り除いたもの)を、そのまま市販のチョッパー(ツインパード社 KC-4817)を使用して荒粉砕した。

2.1.2 再粉砕(前処理)

荒粉砕した果皮を再度チョッパーに投入し、追加の粉砕を実施した。

2.1.3 摩砕(前処理)

荒粉砕した果皮を磁製乳鉢に移し、乳棒を用いて手作業にてすり潰した。摩砕後サンプルの回収には処理用溶媒を使用量の範囲内で流用した。

2.1.4 超音波処理

ナスフラスコに果皮と溶媒を入れ、エバポレーターの回

転部(東京理化機械製 N-1110AN型)に取り付けた後、超音波洗浄機(アズワン製 ASU-2)中で回転させながら、設定温度にて所定の時間処理を行った。

2.1.5 通常加熱

果皮と溶剤を入れたナスフラスコに還流管を取り付け、市販のホットティングスターラー(東京理化機械製 RCH-20L型)を用いて処理温度にて所定時間加熱処理した。

2.1.6 高周波加熱【30W】

マイクロ波前処理システム(CEM社製 MARS5)を用い、出力30Wにて設定温度になるよう制御しながら所定時間加熱処理した。

2.1.7 触媒添加

仕込み時(粉砕後、前処理前)に触媒を所定量添加した。

2.1.8 高周波処理【500W】

ナスフラスコに果皮と溶媒を入れ、家庭用電子レンジ(500W)で10sec加熱した。

2.2 β -CRY含有量の評価

サンプル溶液中の β -CRY含有量については日本食品標準成分表の分析法⁴⁾に準じ、スケールのみを1/10に変更して評価を実施した。

なお定量分析には高速液体クロマトグラフ装置(島津製作所製 HPLC)を用いた(図1)。

2.3 溶媒の分析

赤外分光分析装置(日本分光製 FT/IR-6300)にダイヤモンド結晶を装備した全反射測定ユニット(ATR PRO 670H-S)を取り付け、回収した溶媒を滴下した後スペクトル測定を行なった。

1650 cm^{-1} 付近にある水由来の吸収についてピーク高さを測定し、検量線法により含まれる水分量を簡易定量した。



図1 HPLC装置

3. 実験結果

3.1 簡易手法による β -CRY高濃度含有溶液製造条件の検討

3.1.1 果皮形状(前処理)の影響

先ず投入する果皮の形状がサンプル溶液に含まれる β -CRY量に与える影響について検討を行った。荒粉砕のみ、荒粉砕+再粉砕、荒粉砕+摩砕の3種について比較したところ、投入する果皮の形状を小さくする程サンプル溶液に含まれる β -CRY量が多くなる傾向が見られた(図2)。

* 企業支援部環境技術グループ

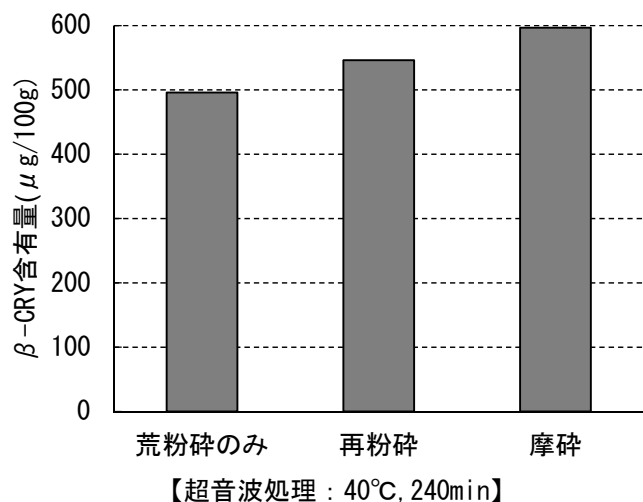


図2 果皮形状(前処理)の影響

3・1・2 加熱方法の影響

次に加熱方法の違いがβ-CRY含有量に与える影響について検討した。通常加熱(80°C, overnight), 超音波処理(40°C, 30min)並びに高周波加熱【30W】(90°C, 60min)について比較した結果, 超音波または高周波を利用した方がより高い含有量のサンプル溶液を調整できる可能性がある事がわかった(図3)。

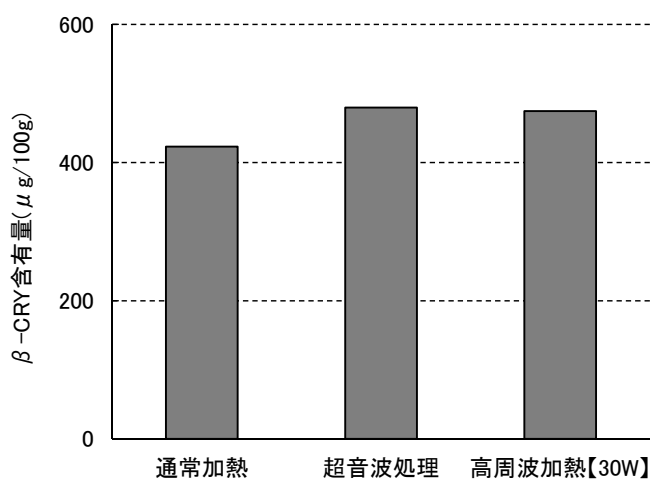


図3 加熱方法の影響

3・1・3 処理時間の影響

続いて加熱処理時間がβ-CRY含有量に与える影響について検討を行った。前処理として荒粉碎のみを施した果皮を用い, 通常加熱(60°C)による処理を, 処理時間を変えて実施し, 得られたサンプル溶液中のβ-CRY含有量を比較した。

その結果, 処理時間が延びてもサンプル溶液中のβ-CRY含有量は大きく変化しない事が確認できた(図4)。このことから, 処理時間は必要十分な時間(今回の処理条件であれば30min以内)を取れば問題無く, 不要な長時間処理は含有量の低下は招かないものの無駄となる可能性が高いと推察された。

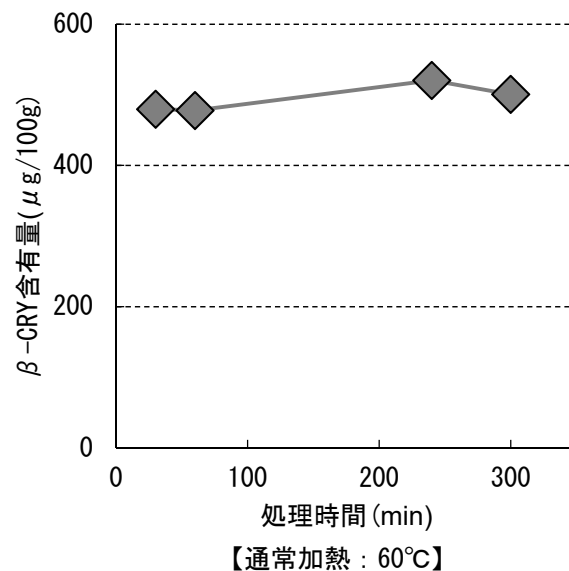


図4 処理時間の影響

3・1・4 触媒添加の効果

果皮中に含まれる被加水分解物を, 化学反応により処理と並行して小分子化する事で得られる溶液中のβ-CRY含有量を向上できるのではないかと考え, その効果を確認するため, 仕込み時に触媒を所定量添加する検討を実施した(図5)。

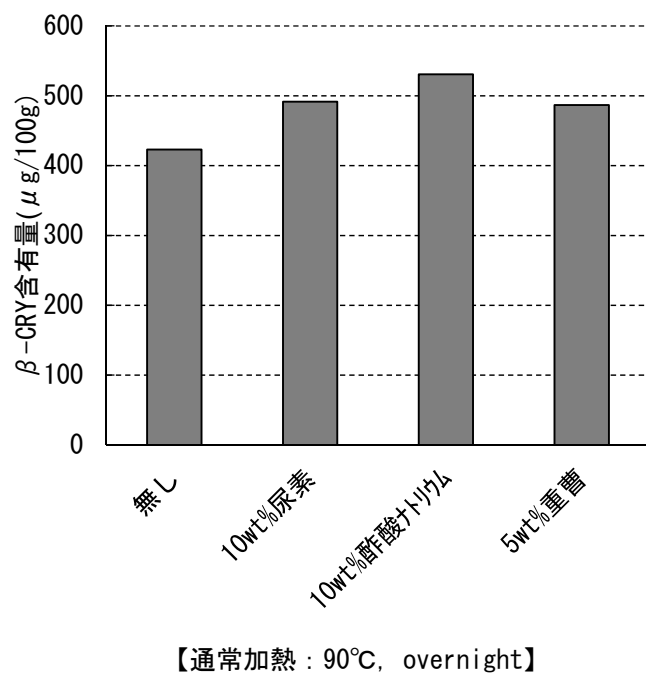


図5 触媒添加の効果

その結果, 触媒添加した方がより高い含有率の溶液を製造できることが判明した。特に重曹のような食品添加物で効果が出たので, 含有液の用途も考慮して, 次の検討には重曹を触媒として用いる事とした。

3・1・5 組み合わせ処理とその効果

ここまでの検討で, 各処理は得られる溶液のβ-CRY含有量を向上させる効果はあるものの, その程度はそれほど高くない事が判明した。そこでこれら処理を組み合わせると

り高含有率の溶液を作成する方法について検討した。具体的には荒破碎の後に、①触媒として重曹を 10wt%加え、②乳鉢にて摩擦した後、③攪拌しながら超音波処理を 40℃, 30min, ④その後高周波加熱【30W】を 90℃で 30min 行った。その結果、得られた溶液中の β -CRY 含有量は個別に処理する場合と比べて大きく向上した(図 6 中 ALL)。

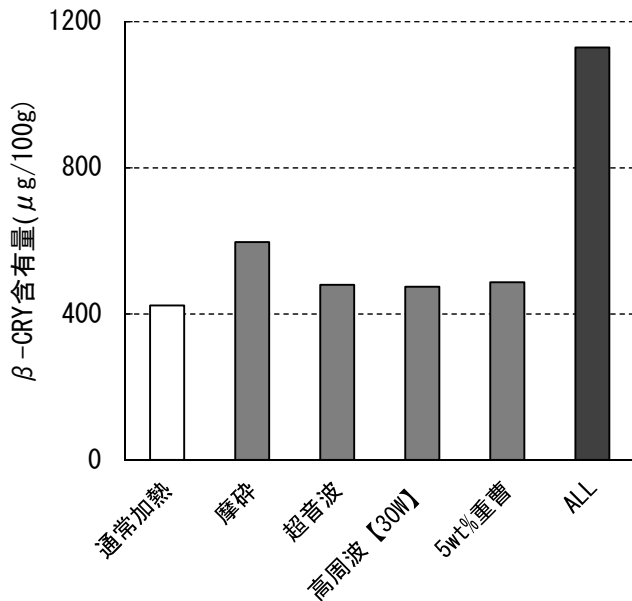


図 6 組み合わせ処理と個別処理との比較

次に、この組み合わせ処理により果皮中からどの程度の β -CRY を取り出す事ができたかを確認するために、処理済み残渣を再度処理した際の溶液中に含まれる β -CRY 量を確認する実験を行った。すなわち 1 回目の組み合わせ処理(荒破碎した果皮 2g に溶媒 40ml と、10wt%の重曹を加えたものを 40℃で 30min 超音波処理した後、90℃で 60min 高周波加熱【30w】し、溶液を分離)して回収した残渣全量に対し、再び溶媒 40ml を加えて 90℃で 60min 高周波加熱【30w】した後溶液を回収し、各々の β -CRY 含有量を比較した。結果を図 7 に示した。

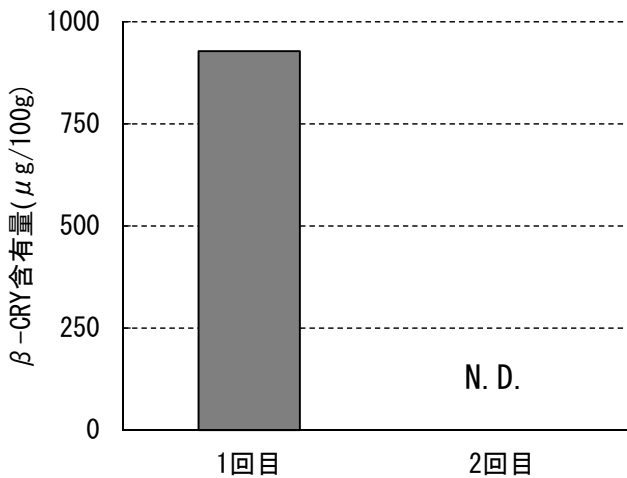


図 7 組み合わせ処理の効果検証

図示したとおり、再処理時(2 回目)のサンプル溶液中からは β -CRY を検出できなかった。このことから、1 度(1 回)

の組み合わせ処理で、回収可能な β -CRY をほぼ全量回収できている事が確認できた。

3・2 製造コスト低減に関する検討

3・2・1 組み合わせ処理のコスト試算

先の検討から、簡易な手法でもそれを組み合わせる事で β -CRY 高含有溶液を作成する事が可能となった。一方で、実験室スケールではあるが処理フローを基に製造コストの試算を実施したところ、その製造コストは β -CRY 含有量 1mg あたり 9 千円強と高額であり実用上の問題が残ることが明らかになった(図 8)。

<組み合わせ処理フロー>

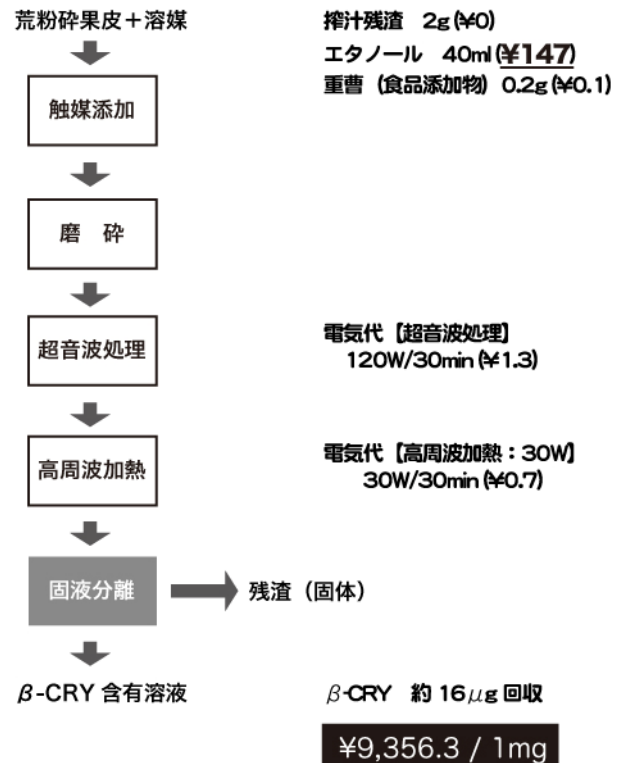


図 8 組み合わせ処理フローとコスト試算

そこで製造コストの大半を占める溶媒代に注目し、使用溶媒量を削減し低コスト化を実現する事を目的として、固液分離後の溶液からエバポレーターによる溶媒の回収と、その再利用について検討を行う事とした。

3・2・2 再利用による溶媒への影響

まず、回収操作(再利用)による溶媒変質の有無について赤外吸収スペクトルによる確認を行った(図 9)。回収した溶媒のスペクトルは、新品と比べて 3350 cm^{-1} 付近の吸収が大きくなると共に 1650 cm^{-1} 付近に新たな吸収が見られるようになった。両者の差スペクトルを計算してデータベース検索したところ、この違いは水の有無に由来する事が判明し、回収溶媒中には果皮由来の水分が共存している事が明らかになった。

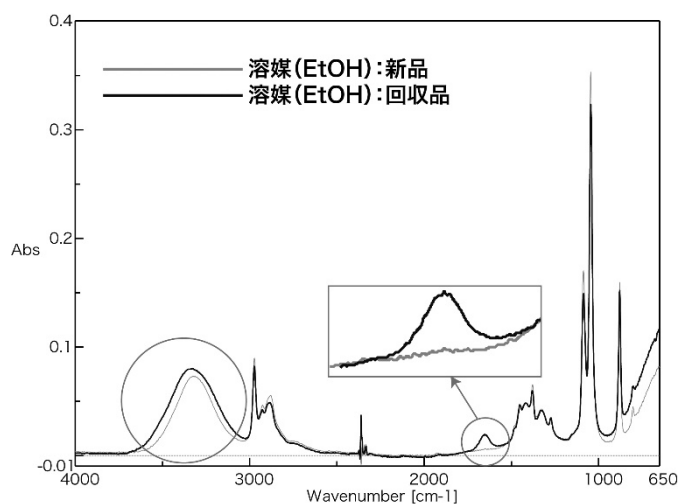


図9 再利用による溶媒の変質

3・2・3 溶媒含水量が β -CRY含有量に与える影響

回収溶媒中に水の共存が確認されたので、続いて溶媒中に含まれる水の量がサンプル溶液中の β -CRY含有量に与える影響について確認を行った。新品の溶媒(エタノール)に含水量が各々0, 5, 10並びに20(v/v%)となる様イオン交換水を加えて調整した溶媒40mlに荒粉碎した果皮2gを加え、高周波処理【500W】の後に超音波処理(50°C, 30min)を施した。得られた溶液中の β -CRY含有量を分析した結果、溶媒の含水量が大きいほどこの値は低下し、特に20(v/v%)以上ではその低下量が大きくなる事が判明した(図10)。この結果から、回収溶媒を溶液製造に利用する場合、含まれる水分量を多くとも10(v/v%)程度になるよう制御する必要があると判断した。

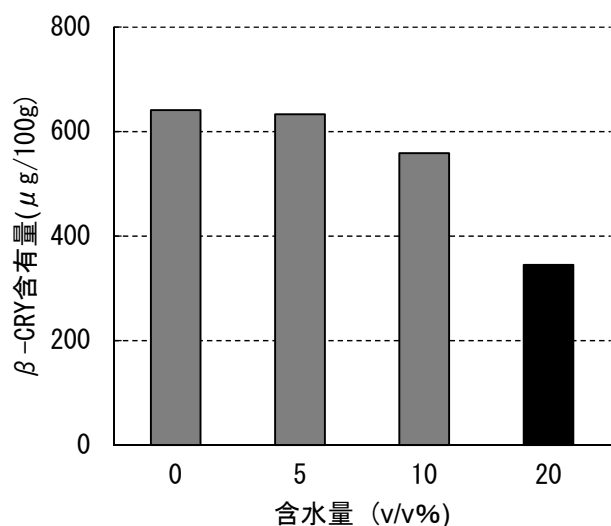


図10 溶媒含水量の影響

3・2・4 再利用回数が回収溶媒含水量に与える影響

続いて、再利用を繰り返す事で溶媒の含水量がどのように変化して行くか確認を行った。先の検討と同様の条件で、溶媒のみ回収品に新品を補充して所定量(40ml)なるように調整した系にて再利用を繰り返し、確認試験を行った。

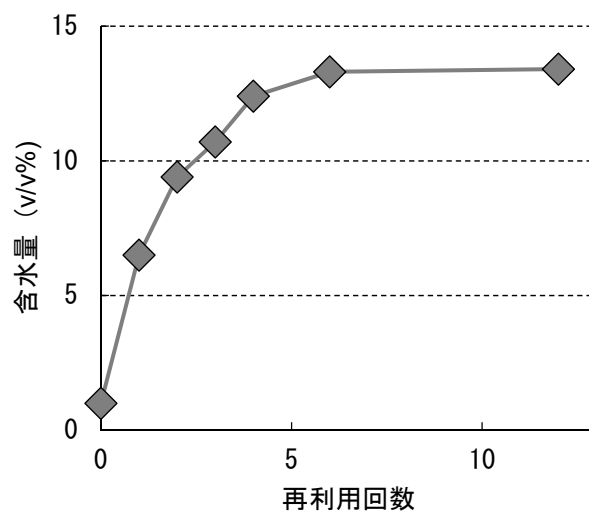


図11 溶媒再利用回数増加に伴う含水量の推移

試験の結果、図11に示した様に溶媒の再利用回数5回前後で含水量は約13(v/v%)となり、その後は大きく変化しない事が明らかになった。

この結果と先の検討結果と併せて考えると、回収溶媒の水分量を調整することなく再利用を進めることで1回処理あたりのサンプル溶液中 β -CRY含有量は若干下がるものの、そのまま再利用を繰り返しても大きな低下は無いと判断できた。そのため本研究では、回収溶媒については操作によるロスを補充するのみで、無調整のまま再利用する事とした。

3・2・5 溶媒再利用による低コスト製造法の確認

これまでの検討により溶媒の回収・再利用について概ね知見が集まったので、本手法の有効性を確認するために、実際にサンプル溶液の作成～溶媒回収・再利用の操作を繰り返す実証試験を行った。試験結果を図12に示した。

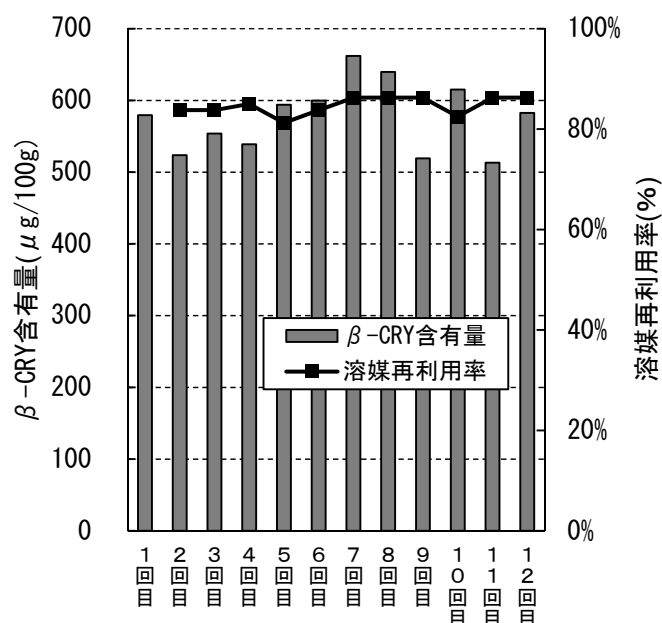


図12 繰り返し試験結果

検討期間短縮のため工程の一部を省略・簡略化したため含有量の値は低めに出てしまったが、繰返し回数に関わらず、本法の利用時に高い溶媒再利用率と安定した含有量を維持した溶液の製造が可能である事が確認できた。この結果により溶媒使用量を大幅に抑えた工程が実現可能である事が判明したので、先述の処理フローを低コスト版に更新して製造コストの再計算を実施した(図 13)。

試算の結果、製造コストは β -CRY 含有量 1mg あたり 1.4 千円弱となり、検討前の 15%以下まで下げる事が可能となった。(約 85%カット)

4. 結 言

温州みかん果汁作成時に廃棄される外果皮から、超音波処理と高周波加熱を併用する事で β -CRY 高含有溶液を製造する事ができた。また使用した溶媒を回収・再利用する事で製造コストを低く抑える事にも成功した。一方でその製造コストは β -CRY 含有量 1mg あたり 1.4 千円であり、実用化のためには更なる低コスト化が必要となるものとなった。

参考文献

- 1) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構, 日本果実工業株式会社: カロテノイド組成物の製造方法, 高濃度カロテノイド組成物の製造方法, 高純度遊離型カロテノイド組成物の製造方法, カロテノイド組成物, 高濃度カロテノイド組成物, 及び高純度遊離型カロテノイド組成物, 特開 2011-241197.
- 2) 稲畑香料株式会社: β -クリプトキサンチンを含有する抽出物からなる食品素材の製造方法, 特開 2012-213359.
- 3) 山田和男: 超臨界炭酸ガスを用いた研究事例, 山口県産業技術センター技術発表会要旨(2014).
- 4) 安藤教博, 竹内昌昭, 安井明美, 渡邊智子: 五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル, 建帛社, p. 83-87 (2006).

<低コスト化検討結果>

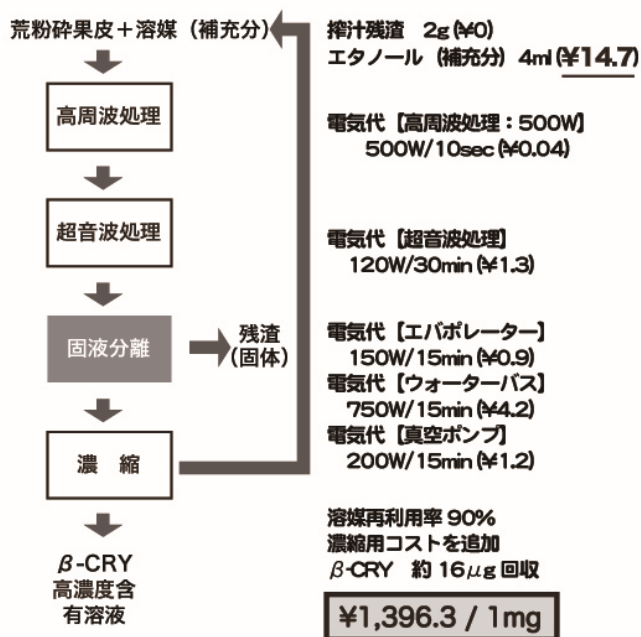


図 13 組み合わせ処理フロー(低コスト化検討後)