

報告番号	甲 第 11593 号
------	-------------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 **Application of liquefied dimethyl ether for lipid extraction from wet biomass and amino acid crystallization (液化ジメチルエーテルの湿潤バイオマスからの油脂抽出およびアミノ酸晶析への適用)**

氏 名 **星野 倫太郎**

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

世界のエネルギー消費量は年々増え続けており、今後ますます深刻化していくと考えられる。更に我々人類の生活や経済を支える石油や石炭、天然ガスといった化石燃料の枯渇も懸念されており、世界中で再生可能エネルギーの利用に関する研究が進められている。中でも、微細藻類や食品加工残渣といった高含水バイオマスに含まれるバイオオイルの有効活用が求められている。微細藻類は、単位面積当たりの光合成能力に優れており、オイルの含有量が高いため小面積でのエネルギー収穫が可能である。また、食糧競合しないため次世代のバイオマス燃料源として期待されている。一方、食品製造過程で生じる加工残渣も未利用バイオマスとして注目されている。本研究で用いた柑橘の果皮や葉の場合、それらの含水率は80%前後と高いため、廃棄物重量を増加させ、廃棄コストを増大させてしまう問題がある。更に、市場価値の高い天然香料原料や、抗酸化作用・抗炎症作用の高い機能性物質を多く含んだまま廃棄処理されている現状があり、その有効利用法が求められている。

通常、微細藻類中のオイルは、Soxhlet法やBligh-Dyer法といった有機溶媒を用いた抽出法を基に、『藻の選別→培養→収穫→乾燥→細胞破碎→オイル抽出→抽出溶媒の加熱蒸発による回収→改質反応→オイル精製』といった一連の工程で得られる。しかしながら、乾燥・細胞破碎・溶媒の加熱蒸発の工程に対して、微細藻類からの獲得エネルギーを大幅に上回るエネルギーを投入することとなり、エネルギー収支がマイナスになる問題が生じてしまう。また、人体に有毒な有機溶媒の使用や、環境汚染問題も抱えている。これらの問題は、食品

加工残渣中からの機能性物質抽出においても同様である。近年では、グリーン溶媒である二酸化炭素 (CO₂) を使用した超臨界 CO₂ 抽出法が用いられ、天然物からオイルや様々な機能性物質の抽出が可能となったが、CO₂ が無極性であることから、湿潤原料には不向きであることや高圧設備などによる装置コストが高いことなどが問題としてある。

これに対して、我々は、2002 年に神田らによって開発された液化ジメチルエーテル (DME) 抽出法を用いてバイオマス燃料の低コスト化を目指した。本手法は、高含水バイオマスからの油脂抽出において重要な『乾燥・細胞破碎・溶媒の加熱除去』の工程が不要となる省エネルギー性に優れた抽出法である。DME とは、液化状態で油と完全混合し、水と部分混合する性質を持つエーテルの一種であり、人体への毒性はヘキサンよりも少なく、また燃焼時に過酸化物を生成せず環境にも優しいことから、中国では燃料として普及している。また、標準沸点が -24.8°C と低く、20°C での飽和蒸気圧は 0.51 MPa であるため、比較的温和な温度・圧力条件での実験操作が可能である。また、LPG 用パッキンを腐食する強い浸透性を持つ為、原料の細胞破碎処理も不要である。

本研究では、液化 DME 抽出法の実用化を目指し、様々な植物・藻類バイオマスに対してその適用可能性を検討した。具体的には、食品加工残渣である柑橘果皮や葉、マンゴスチン果皮から、抗ガン作用の高い柑橘精油やキサントンといった高価な機能性物質の抽出を検討した。また、3 種類の藻類 (オーランチオキトリウム、円石藻、藍藻スピルリナ) からそれぞれ油脂を抽出し、その脂肪酸組成について比較検討を行った。また、抽出油脂にカロテノイドや EPA, DHA といった高価な機能性物質が含有されているかについても検討し、バイオマス燃料との併産によるバイオマス燃料の低コスト化についてもその可能性を探った。さらに、DME を貧溶媒として用いたアミノ酸 (グリシン) 晶析についても検討した。

【液化 DME を用いた植物バイオマスからの機能性物質抽出】

植物バイオマスとして、食品加工残渣であるユズ (*Citrus junos*) やポンカン (*Citrus tangerine*) の果皮と葉、またマンゴスチン (*Garcinia mangostana* Linn.) の果皮を使用し液化 DME 抽出法を用いて柑橘精油やフラボノイド、キサントンの抽出を検討した。

実験では半流通式の液化 DME 抽出装置を用いた。抽出カラムに生の果皮や葉 (含水率: 60-80 wt%) を、乾燥や細胞破碎処理を施すことなく充填し、20°C、0.51 MPa の液化 DME を流速 10 cm³/min⁻¹ で供給した。抽出後、大気圧に減圧し、DME を気化させ、溶媒のみ除去した。また、柑橘精油の抽出量は水蒸気蒸留法 (SD) 法、柑橘フラボノイドやキサントンの抽出量は有機溶媒抽出法と比較し、抽出物に含まれる香気成分やフラボノイドについては、HPLC および GC-MS を用いて各種分析を行った。

結果として、液化 DME 抽出法により、ポンカン果皮から SD 法と同等量の精油が得られた。さらに、含有水分の 70% 以上が抽出され、残渣は乾燥状態であった。また、GC-MS を用いて、ポンカン果皮精油の香気成分組成を分析した結果、DME 抽出法では、柑橘特有の香気成分である Limonene や Linalool, γ -Terpinene などが抽出されており、SD 法と比較

しても大きな差異は見られなかった。さらに、HPLC による柑橘フラボノイドの定量分析では、ビタミン P であるヘスペリジンや、抗ガン作用を持つタンゲレチンなどの抽出を確認した。また、マンゴスチン果皮からは様々なキサントン由来の化合物が抽出されており、特に α -Mangostin の抽出量が多く、エタノール抽出とほぼ同等の回収率であった。

【液化 DME を用いた藻類バイオマスからの乾燥・細胞破碎・有毒抽剤不要な油脂抽出】

藻類バイオマスとして、炭化水素オイルを生産するオーランチオキトリウム (*Aurantiochytrium limacinum*)、細胞表面に炭酸カルシウムを合成する円石藻 (*Pleurochrysis carterae*)、カロテノイド色素やフィコシアニンといった機能性物質を生産する藍藻スピルリナ (*Arthrospira platensis*) の 3 種を使用し、液化 DME 抽出法が適用可能か検証すると共に、乾燥と細胞破碎処理が必要な超臨界 CO₂ 抽出法、さらに溶媒除去も必要な Soxhelt 法及び Bligh-Dyer 法との比較検討を行った。

実験手順としては、液化 DME 抽出法では、乾燥や細胞処理を施していない含水率 60-80 wt% の湿潤原料を抽出カラムに充填し、25°C、0.59 MPa の液化 DME を流速 10 cm³/min⁻¹ で送液し、油脂と水を抽出した。抽出後、減圧操作によって、抽出液から DME を気化させ、油脂重量を測定した。一方で、超臨界 CO₂ 抽出法では、半流通式の実験装置を使用し、乾燥・細胞破碎処理を施した原料を抽出カラムに充填し、超臨界 CO₂ を送液し抽出した。温度は 60-120°C、圧力は 40 MPa、CO₂ 流量は 7 mL/min で検討した。また、Soxhelt 法では、乾燥・細胞破碎処理を施した原料に 200 mL のヘキサンを加え、ソックスレー抽出器を用いて 70°C、15 時間抽出操作を行った。Bligh-Dyer 法では、細胞破碎処理を施した湿潤原料に対し、メタノール/クロロホルム (1:1, v/v) の混合液を加え、5 分間攪拌し抽出した。得られた抽出液はエバポレーターで溶媒を除去し、油脂を得た。また、各抽出法で得られた油脂の性状分析として、総脂肪酸の割合を GC-MS を用いて分析すると共に、CHN コーダーによる油脂の元素分析や高位発熱量分析、HPLC による油脂の分子量分布や機能性物質の定量分析、SEM による油脂及び残渣の形態観察、TG-DTA による残渣の挙動把握のための熱重量分析を行った。

結果として、液化 DME 抽出法により、どの藻類においても湿潤原料に含まれる水分の 90% 以上を脱水した。また、油脂抽出量は、有機溶媒抽出法（細胞破碎有り）とほぼ同等であり、乾燥・細胞破碎を要する超臨界 CO₂ 抽出法よりも優れていた。また、DME 抽出油脂の脂肪酸組成は、C16:0 の割合が最も多く、それ以外の脂肪酸が殆ど含まれていなかったため、精製が容易な油脂であることが明らかとなった。さらに、DME 抽出油脂の元素組成において、発熱量に寄与する C と H の比率が原料より高く、高品位な油脂であることが示唆された。一方で、藍藻スピルリナに含まれる機能性タンパク質である青色色素のフィコシアニンは、抽出されなかったため、たんぱく質は DME に不溶であるためことが明らかとなった。

【液化 DME を用いたグリシンの貧溶媒晶析】

DME にタンパク質が不溶である性質を利用し、DME を貧溶媒としてアミノ酸晶析に利用可能かどうか検討した。DME は常温で蒸発・凝縮する性質を有するため、太陽光や海水の未利用の熱エネルギーを利用して、蒸発・液化することが可能である。そのため、従来の貧溶媒と比べ、貧溶媒の水との分離時における投入エネルギーを大幅に削減することができる。また、DME の高い極性と浸透力の高さから晶析後の結晶から水を除去でき、安定性を向上できると考えた。目的物質は、晶析研究のモデル物質として使用されるグリシンを使用した。

実験では、あらかじめカラムに液化 DME を充填し、その表面に向けて飽和濃度の半分の濃度のグリシン水溶液を噴霧し、その勢いによって液化 DME 中が攪拌され貧溶媒現象が起こり、グリシンの晶析が確認された。しかし、得られたグリシン結晶は多くの水分を含んでいたため、そこに DME を通液しながらカラム下部から水と DME の混合液を回収することで、グリシン結晶の脱水を行った。

結果として、乾燥状態のグリシン結晶を得ることに成功し、これらの結晶を XRD で確認したところ、準安定形の多形である α -グリシンであることが確認された。また、グリシン水溶液の濃度を飽和濃度に変更し、同様の晶析操作を行い、さらに、そこへ液化 DME を通液し続けることにより、 α -グリシンではなく安定形の γ -グリシンの結晶が得られることが分かった。このことから、 α -グリシンから γ -グリシンへの転移は、水と液化 DME の混合液中で起こることが明らかとなった。今後は、濃度による核形成の違いや転移が起こる条件などを明らかにしていく。

【結言】

液化 DME を抽出溶媒に用いることにより、乾燥や細胞破碎といった前処理を施すことなく、植物・藻類バイオマスから水と油脂、様々な機能性物質を抽出することに成功した。また、本手法は、抽出溶媒の加熱除去工程も不要であるため、従来法である有機溶媒抽出法や超臨界 CO₂ 抽出法よりも省エネルギーで燃料に適した油脂を抽出可能であることが分かった。このことから、液化 DME 抽出法は、食品加工残渣の利活用や次世代バイオマスエネルギー生産に有効であると考えられる。今後は液化 DME による物質の抽出挙動および抽出メカニズムを検討する予定である。