

天然物エキスの脱色プロセス設計に向けた基礎検討

吉田 誠一郎, 松嶋 景一郎, 鎌田 樹志*

A Fundamental Study of Decolorization Process for Natural Product Extracts

Seiichiro YOSHIDA, Keiichiro MATSUSHIMA, Tatsuyuki KAMADA*

抄 録

吸着分離技術は天然物エキス等の脱色に広く用いられるが、吸着材の種類膨大さや脱色現象の複雑さ等から、体系化はされていない。本研究では、多孔質炭素材料である活性炭の吸着特性の評価技術を確認するために、着色物質のメラノイジンをモデルとした基礎検討を行った。その結果、多孔質炭素材料の特定の細孔がメラノイジンの吸着特性を支配していること、それが実際のエキスの脱色にフィードバック可能なことを明らかにした。

キーワード：脱色, 活性炭, 吸着分離, 天然物エキス, 多孔質炭素材料

1. はじめに

北海道は農水畜産物に由来する種々の天然資源が豊富に存在しており、これらを加熱、抽出したエキス形態の商品が数多く存在している（図1）。その一方で、多くのエキスは製造工程の加熱などで着色しており、そのままでは化粧品や医薬品といった高度な用途への展開が困難であった。そのため、吸着などによりエキスを脱色するプロセスを導入する必要があるが、着色物質や液相吸着そのものの複雑さなどから、そのプロセス設計は容易ではない。

エキスの着色の原因物質は、おもに糖やアミノ酸等が加熱等で反応することで生じる褐色物質のメラノイジンである¹⁻³⁾。メラノイジンは糖やアミノ酸の種類、熱履歴などにより、様々な構造を取るため、メラノイジンの分離に適した効率的な吸着材の選定は非常に困難である。

液相の脱色プロセスに用いられる吸着材は、多くの場合活性炭であり、複数のメーカーから活性炭が販売されている。しかしながら、活性炭の性状は多様であり、脱色用の活性炭であっても、メラノイジンに対する脱色能は活性炭の種類によって大きく異なる。例として、液重量に対して1wt%の活性炭を添加したメラノイジン水溶液の、活性炭除去後のろ液の写真を図2に示す。活性炭Aを用いた場合は溶液の色は

原液と変わらないが、Bでは色が薄く、Cでは完全に透明となった。このように、活性炭によって脱色の度合いは大きく異なる。このような事実から、実際の脱色プロセスを設計する際には、種々の脱色用活性炭をスクリーニングする必要があり、これが設計上のボトルネックであった。



図1 道産天然資源エキスの利活用イメージ

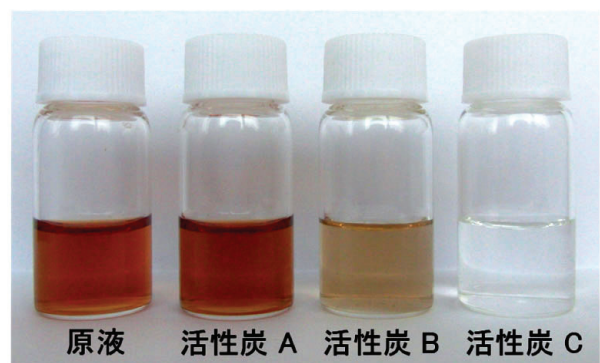


図2 活性炭を1wt%添加したメラノイジン水溶液 (24h後、活性炭除去後のろ液)

* エネルギー・環境・地質研究所,

*Research Institute of Energy, Environment and Geology

事業名：奨励研究

課題名：道産天然資源の高度利用に向けた吸着分離技術の開発

そこで本研究では、効率的に脱色プロセスを設計するための基礎研究として、種々の活性炭を用いたメラノイジンの脱色をモデルとして、活性炭の特性と脱色性能の関係を明らかにすることとした。

2. 実験方法

2.1 試薬等

メラノイジンは公益財団法人日本醸造協会から入手した。グルコース、グリシン、炭酸水素ナトリウムは富士フィルム和光純薬工業株式会社から入手した。N-(2,4-Dinitrophenyl)-L-Alanine (分子量 255), シトクロームC (分子量 12,400), α -キモトリプシン (分子量 25,000), ウシ血清アルブミン (分子量 66,000), ブルーデキストラン (分子量 200,000) はSigma Aldrichから入手した。活性炭はフタムラ化学株式会社, 武田薬品工業株式会社 (現大阪ガスケミカル株式会社), 三菱化学カルボン株式会社 (現カルボンカーボン社), 日本ノリット株式会社 (現キャボットコーポレーション), カーボンテック (現株式会社MCエバテック) からそれぞれ入手したものをを用いた。

2.2 活性炭によるメラノイジンの脱色試験

メラノイジンの1,000mg/L水溶液を以下の手順で調製した。メラノイジン500mgを0.1mol/L水酸化ナトリウム水溶液33.3mLに溶解した。このメラノイジン水溶液を0.04mol/Lクエン酸緩衝溶液250mLで希釈し、0.1mol/L塩酸水溶液でpH7に調整した。その後、メラノイジン水溶液を脱イオン水で500mLにメスアップし、孔径0.45 μ mのメンブレンフィルターでろ過したものを吸着実験に用いた。

1,000mg/Lのメラノイジン水溶液に対して、所定量の活性炭を加え、25 $^{\circ}$ Cの恒温槽で24h振とうした(100rpm)。吸着が終了したメラノイジン水溶液から、0.45 μ mのメンブレンフィルターで活性炭を除き、波長420nmにおけるろ液吸光度を測定した。吸光度からろ液中のメラノイジンの濃度を求め、活性炭に対するメラノイジンの吸着量 q を以下の式(1)で計算した。

$$q = (C_0 - C) \frac{V}{m} \quad (1)$$

ここで、 C_0 および C は、初期および24h後の吸着質であるメラノイジンの濃度、 V はメラノイジン水溶液の液量、 m は添加した吸着材である活性炭の重量である。

活性炭の添加量を変えて実験を行い、吸着量と濃度の関係を吸着等温線としてプロットした。吸着等温線は、実験式の一種であるFreundlich式⁴⁾(2)により解析した。

$$q = K_F C^{1/n} \quad (2)$$

ここで、 K_F は吸着材と吸着質の親和性と吸着量を表す定数、 n は吸着材と吸着質の親和性を表す定数である。

2.3 窒素吸着試験による活性炭の細孔特性評価

活性炭の細孔特性は、窒素吸着実験により評価した。前処理として、活性炭を150 $^{\circ}$ Cで6h真空加熱脱気することにより、吸着している水分やガスを除いた。その後、BELSORP MAX (Microtrac BEL Corp.)を用い、77Kでの吸脱着等温線を測定した。得られた等温線から、Dollimore-Heal (DH)法を用いてメソ細孔表面積を計算した。

2.4 高分子量メラノイジンの合成

既報³⁾に従って、市販品とは分子量の異なるメラノイジンを合成した。グルコース1mol/L, グリシン1mol/L, 炭酸水素ナトリウム0.1mol/Lを含む水溶液を調製し、120 $^{\circ}$ Cのオートクレーブで加熱した。加熱時間が3hおよび6hのものをそれぞれ分画分子量5,000Da, 50,000Daの平膜で処理し低分子画分を除いた。分画後の固形分を凍結乾燥し、得られた粉末を高分子量メラノイジンとした。なお、高分子メラノイジンの吸着実験においては、メラノイジンの初期濃度を200mg/Lとした。

それぞれのメラノイジンの分子量はサイズ排除クロマトグラフィー (SEC)により、タンパク質を標準物質として求めた。SECの測定において、カラムはTSKgel G2000SWXL (7.8mm \times 300mm \times 2), 溶離液は0.3mol/L塩化ナトリウムを含む0.1mol/Lリン酸緩衝溶液を用いた。流速は1.0mL/min, カラム温度は25 $^{\circ}$ Cとし、検出部には示差屈折率 (RI) 検出器を用いた。校正曲線の標準物質には、N-(2,4-Dinitrophenyl)-L-Alanine, シトクロームC, α -キモトリプシン, ウシ血清アルブミン, ブルーデキストランを用いた。SEC測定で得られたメラノイジンの分子量を表1に示した。

表1. メラノイジンの分子量

	重量平均分子量 / Da
市販品	7,000
加熱時間 3 h	37,000
加熱時間 6 h	177,000

3. 実験結果と考察

3.1 市販のメラノイジンを対象としたモデル吸着実験

まず、市販されている種々の活性炭を用いて市販のメラノイジン水溶液をモデルとした吸着実験を行った。図3に代表的な吸着等温線を示した。これらの吸着等温線は、どれもFreundlich式で良く近似することができ、活性炭に対するメラノイジンの吸着量は活性炭によって大きく異なることがわかる。この差を活性炭の細孔構造と定量的に比較するために、Freundlich式中の K_F に対して、活性炭のメソ細孔表面積をプロットしたところ、相関係数が約0.97の直線関係が得られた (図4)。よって、メラノイジンがおもにメソ細孔 (直径 2~50nm) に対して吸着していると考えられる。メ

ラノイジンの分子量は約7,000であり比較的分子サイズが大きいと予想されるためこの結果は妥当なものと考えられる。

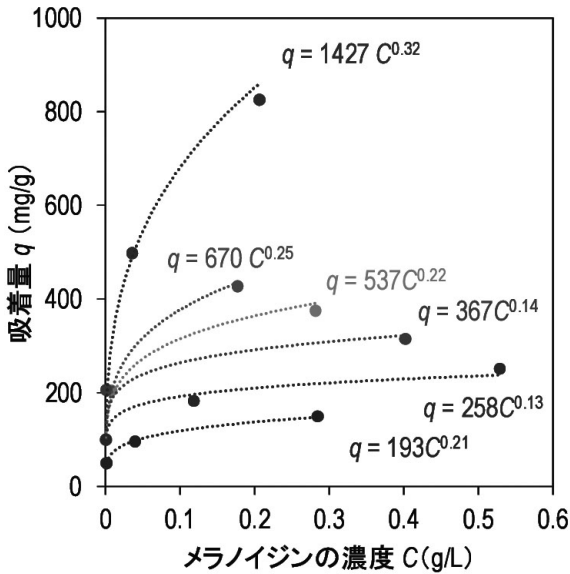


図3 活性炭へのメラノイジンの吸着等温線の例 (25°C)

3.2 実際の食品エキスの吸着実験

上記のモデル実験の結果を実際の食品エキスの脱色にフィードバックするために、企業から提供を受けた着色エキスの吸着実験を実施し、その結果をモデル実験と比較した。実際の実験に対して、前述のモデル実験で使用したものと同一活性炭を1wt%加えた場合の脱色率Dを式(3)で求め図5に示した。

$$D = \frac{C_0 - C}{C_0} \quad (3)$$

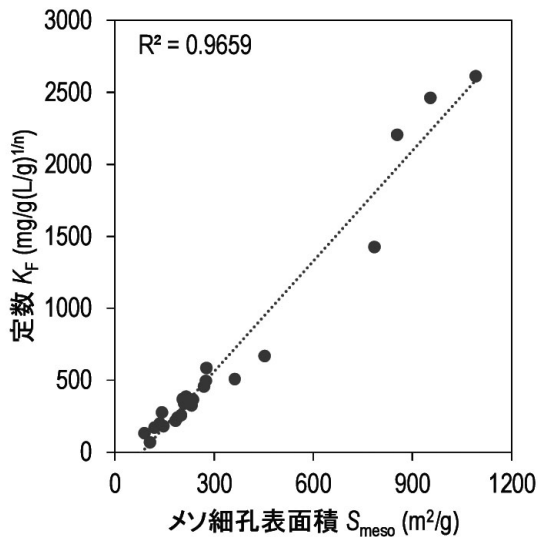


図4 活性炭のメソ細孔表面積と定数 K_F の関係

得られた結果を見ると、活性炭の種類によって脱色率は11～99%と差が大きい。そこでこの結果をモデル実験の結果と比較するために、モデル実験で得られた K_F に対して実際の

エキスの脱色率Dをプロットした(図6)。その結果、 K_F が大きいほど脱色率が大きいという関係が見られた(図6中の丸で表下プロット)。実際の実験に含まれるメラノイジンの量は測定が困難であるため、Freundlich式が実際の実験でも成立すると仮定して、活性炭の添加量をシミュレートした。 n が一定であるとの仮定のもと、(1)、(2)、(3)の式を連立して、 K_F とDの関係を表す式を求め、定数部分をaとまとめると(4)式が得られる。

$$K_F = \frac{C_0}{C_0^{1/n}} \frac{V}{m} \frac{D}{(1-D)^{1/n}} = a \frac{D}{(1-D)^{1/n}} \quad (4)$$

モデル実験で得られたnの平均値4.0、活性炭の添加量1wt%を(4)式に代入し、カーブフィッティングすると、実験的に得られた K_F とDの関係を良く表すことができた。続いて、活性炭の添加量を0.1～0.5wt%と変えた際の脱色率をシミュレートすると、図6に示すような曲線群が得られた。この結果から、たとえば95%以上の脱色率を目標とした場合、 K_F が約1,200以上の活性炭では、添加量を1.0wt%から0.5wt%と半分減らせることがわかる。このようなシミュレーションを元に、活性炭の価格や活性炭の分離の容易さを勘案することで、具体的なプロセス設計が可能となる。

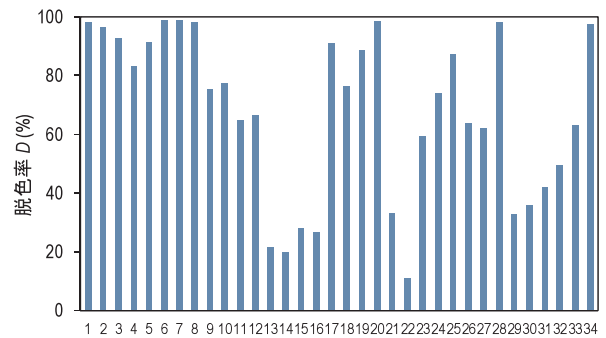


図5 実際の実験の脱色率(活性炭1wt%, 番号は便宜的)

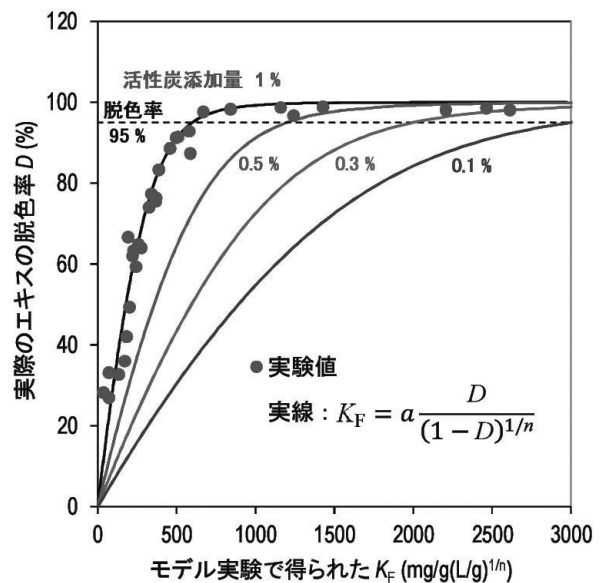


図6 モデル実験で得られた K_F と実際の食品エキスの脱色率Dの比較

以上の解析より、モデル実験の結果を実際のエキスの脱色プロセスを設計する上での指標として適用可能であることが明らかとなった。

3.3 メラノイジンの分子量が吸着に与える影響

メラノイジンは熱履歴や原料となる糖とアミノ酸の種類により、分子量が数百から数十万まで幅広く変化することが知られている。よって、より正確かつ汎用的な脱色プロセスの設計を目指した場合、メラノイジンの分子量が吸着に与える影響を調査する必要がある。そこで、合成した分子量の異なるメラノイジンの水溶液を調製し、活性炭に対する吸着実験を実施した。図7に吸着等温線の一例を示した。この等温線からわかるように、分子量が7,000の場合に比べて、分子量が大きいメラノイジンでは急激に吸着容量が低下している。これは、分子量が大きくなることで、活性炭の細孔に入り込める分子が減るためと考えられる。分子量の影響については今後も評価を続ける予定である。

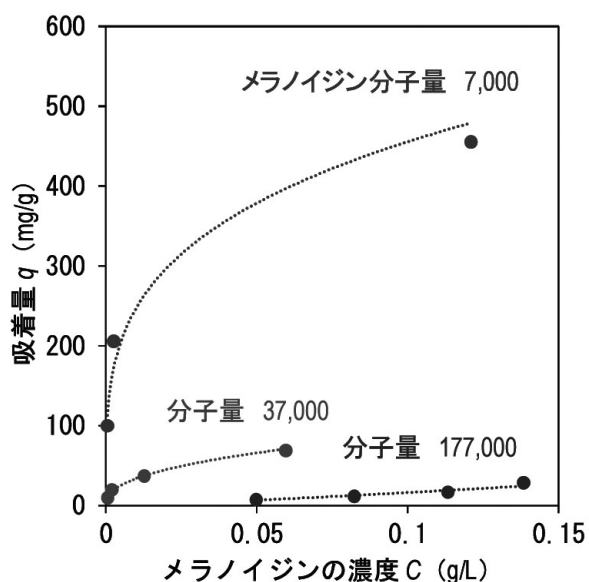


図7 活性炭に対する分子量の異なるメラノイジンの吸着等温線の例 (25°C)

4. まとめ

メラノイジンをモデルとして活性炭による脱色プロセス設計のための基礎検討を行った。活性炭の特定の細孔とメラノイジンの分子量が吸着特性を支配しており、その結果を実際のエキスの脱色にフィードバックすることができた。一方、今回の系ではモデル実験の結果を実際のエキスの脱色にフィードバックすることができたが、吸着量は分子量の影響を受けることを確認した。よって、エキスの種類によっては、今回のような議論が成り立たないことも予想される。今後も分子量の影響などを詳細に評価し、より広い範囲のエキスの脱色に適用可能な評価系の確立を目指して検討を進めていく。

謝辞

本研究で使用した BELSORP MAX は、公益財団法人 JKA の機械工業振興補助事業により整備されました。記して感謝いたします。

参考文献

- 1) 本間清一：メラノイジンに関する食品化学的研究，日本栄養・食糧学会誌，Vol.58 No.2, pp.85-98, (2005)
- 2) 臼井照幸：食品におけるメイラード反応，日本食品生活学会誌，Vol.26 No.1, pp.7-10, (2015)
- 3) 岡田憲幸・太田輝夫・海老根英雄：メラノイジンの調製および分画過程における高分子化について，日本農芸化学会誌，Vol.56 No.2, pp.93-100, (1982)
- 4) 近藤精一・石川達雄・安部郁夫：吸着の科学，丸善株式会社，228PP., (1991)