

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05469

研究課題名（和文）食品加工残渣の亜臨界水処理における特性予測法の開発

研究課題名（英文）Development of a characterization prediction method for subcritical water treatment of food processing residues

研究代表者

小林 敬（Kobayashi, Takashi）

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：70416311

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：食品加工残渣を亜臨界水処理する際のモデルとして、本研究では糖類に着目し、亜臨界水中での反応挙動を解析した。そして、処理結果の予測を試みたが、AIによる予測は困難であった。そこで、糖類の反応挙動を解析し、希少糖生産プロセスの開発にターゲットを変更した。還元糖を亜臨界水処理する際には異性化が起こり希少糖が生成するが、従来は低収率であった。そこで、緩衝液または卵殻を添加し、添加物が異性化挙動に及ぼす影響を検討し、希少糖の生成挙動を解析した。その結果、緩衝液中や卵殻添加で還元糖が容易に異性化した。また、副生する有機酸を中和し、希少糖の収率を改善できた。さらに、カルシウムイオン濃度も高めることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化などに伴うフレイルにより、社会支出の増加に繋がっている。希少糖はフレイルのリスク低減に資すると考えられる。本研究では、還元糖の異性化により希少糖を製造する技術を提案できた。また、副生する有機酸により、溶液中のカルシウムイオン濃度も高めることができ、新規機能性食品素材の製造法ともなり得ることが示唆された。このように、希少糖とカルシウムの双方を含む食品原料を提供できるようになれば、健康増進社会の推進に資するとともに、亜臨界水処理に関連する技術革新と関連産業の発展にも寄与できる。

研究成果の概要（英文）：As a model for subcritical water treatment of food processing residues, this study focused on sugars and analyzed their reaction behavior in subcritical water. We then attempted to predict and express the results of the treatment, but it was difficult to predict by AI. Therefore, we analyzed the reaction behavior of sugars and changed the target to the development of rare sugar production process.

When reducing sugars are treated with subcritical water, isomerization occurs and rare sugars are produced; but the yield has conventionally been low. Therefore, we added buffer solution or eggshells, and investigated the effects of the additives on behaviors of the rare sugar formation. As a result, reducing sugars were easily isomerized in buffer solution or in the presence of eggshells, and the yield of rare sugars was improved by neutralizing byproducts, i.e. organic acids. Furthermore, the calcium ion concentration could be also increased.

研究分野：食品工学

キーワード：亜臨界水 希少糖 異性化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人口増加により食糧の確保は重要な社会課題となっている。一方、食品ロスや加工残渣などの食品関連廃棄物の量は食糧の全生産量の 1/3 にも及んでいる。これらの残渣を食糧に転化できれば、環境への負荷を大幅に軽減できる。ここで残渣を適切に加工処理することにより、食品素材となる可能性がある。そこで、残渣を亜臨界水処理することで食糧資源化(可食化)が実現することを企図して研究を開始した。

亜臨界水は沸点以上で加圧により液体状態を保つ水であり、常温の水と比較して高い抽出能と触媒能を有する。そこで、加工残渣を亜臨界水と共存させると、機能性食品成分などを抽出でき、非可食性成分の低分子化による可食化が見込める。このように、亜臨界水処理は安全で無害な水のみを用いて加工残渣を食糧に転化しうる、環境負荷の小さい技術である。そして、亜臨界水処理が実用化できれば、食品加工残渣の高機能化と有効利用に資することができ、機能性食品の製造などを通じて食糧問題解決への糸口を提供できる。

2. 研究の目的

食品加工残渣を亜臨界水処理する際、処理において生起する反応挙動に着目し、処理結果を予測・表現する。予測の実現により、加工残渣からの機能性食品製造に弾みがつき、健康増進と食糧問題解決にも資することになる。本研究では、食品の主成分である糖類に着目し、亜臨界水中での反応挙動を解析した。

また、糖類の高付加価値化として、自然界での存在量が少ない希少糖の生成に着目した。希少糖には種々のものが存在し、血糖値上昇抑制などの生理活性を有するものもある。しかし、希少糖は一部を除いて生産法さえ確立されておらず、新たな生理活性の評価を行うための量も確保できない。そこで、亜臨界水中での希少糖の生成挙動も併せて検証し、希少糖を実用的に生産するための条件を探索した。また、加工残渣の 1 つである卵殻あるいはその構成成分を用い、その含有成分がガラクトースの異性化による希少糖生成挙動に及ぼす影響を検討した。

3. 研究の方法

(1) 連続昇温におけるガラクトースの反応挙動解析

オイルバスに HPLC チューブ (0.8 mm I.D × 5 m) を浸し、そこへ 5% ガラクトース水溶液を滞留時間が 2 min となるように供給し、亜臨界水処理を実施した。ここで、オイルバスの温度は室温から 160 °C まで約 2 °C/min で連続昇温する条件とした。得られた処理液をフォトダイオードアレイ検出器 (PDA) に通液し、処理温度ごとの多数のスペクトルを得た。

(2) リン酸緩衝液中での各種希少糖生成挙動の解析

各種単糖(グルコース、ガラクトース、キシロース、アラビノース)または二糖(マルトース、ラクトース)を 10 mmol/L リン酸 Na 緩衝液 (pH7.0) に溶解した。次いで、3.1 と同様の亜臨界水処理装置を用い、溶液を処理装置に供給し、140 °C で亜臨界水処理した。出口液中の糖類の組成を HPLC で定量した。

(3) 卵殻または炭酸カルシウムの添加が希少糖の生成挙動に及ぼす影響

ガラクトースを終濃度が 5 wt% になるように蒸留水に溶解し、原料糖溶液とした。反応器であるネジ口試験管 (内径 15 mm) に原料糖溶液 5 mL および卵殻または炭酸カルシウム 500 mg を加え、密閉した。なお、対照として、卵殻無添加の場合も検討した。反応器をヒートブロックに入れ、105 ~ 120 °C で 0 ~ 120 min 加熱し、反応させた。5 min に 1 回試験管をヒートブロックから取り出し手で震盪した。反応後に、反応器を氷浴中で急冷し、反応を停止した。

(4) 処理液中の糖の分析

処理液中のガラクトースおよび生成した希少糖を HPLC で定量した。送液ユニット (LC-10ADVP、島津製作所、京都) に COSMOIL Sugar-D カラム (3.0 mm I.D × 250 mm、ナカライテスク、京都) 及び示差屈折率検出器 (RID-20A、島津) を接続した。移動相には 80% (v/v) アセトニトリル (富士フイルム和光純薬) を用い、流速を 0.4 mL/min とした。カラム温度はカラムオープン (CTO-10AVP、島津) を用いて 40 °C に制御した。処理液 5 µL を HPLC に注入し、各糖を定量した。各処理液の pH は pH メーター (D-71、HORIBA、京都) を用いて室温で測定した。

(5) 処理液中の有機酸分析

有機酸の定量は HPLC で実施した。送液ユニット (LC-20AD、島津) に RSpak KC-811 カラム (8.0 mm I.D × 300 mm、昭和電工、東京) RSpak KC-G8B ガードカラム (8.0 mm I.D × 50 mm、昭和電工) 及び示差屈折率検出器 (RID-20A) を接続した。移動相は 0.1% (v/v) リン酸水溶液 (富士フイルム和光純薬) として、流速を 0.8 mL/min とした。処理液 5 µL を HPLC に注入し、各有機酸を定量した。

(6) 処理液中のカルシウムイオン濃度

処理液のカルシウムイオン濃度をキレート滴定によって測定した。処理液 200 µL を蒸留水で

30 倍希釈した。次いで、6 mol/L 水酸化カリウム水溶液 60 μ L、NN 指示薬 20 μ L を加え溶液を赤紫色にした。0.010 mol/L EDTA 溶液を滴下し、溶液の色が青色に変化した点を終点とした。各処理液に対し本操作を 3 回実施した。

4. 研究成果

(1) 連続昇温におけるガラクトースの反応挙動解析

PDA から得られたスペクトルを特性データとして用いて、人工知能による解析で処理温度との関連付けを実施した。人工知能のライブラリとして TensorFlow を用いて、処理条件と処理物の特性を関連付ける回帰分析が可能か検討した。その結果、モデルの設計が不十分であり、結果的に関連付けが可能であるものの、予測精度は低く、十分な予測に用いることはできなかった。そこで方針を変更し、ガラクトースの反応挙動の速度解析を実施することとした。

(2) リン酸緩衝液中での各種希少糖生成挙動の解析

リン酸緩衝液中で各種単糖または二糖を亜臨界水処理することでアルドースからケトースへの異性化が起こり、対応する各種希ケトースが生成した (Fig. 1)。この反応により、グルコースからフルクトース、ガラクトースからタガトース、キシロースからキシルロース、アラビノースからリブロース、マルトースからマルツロース、ラクトースからラクツロースが得られた。一方、非還元性のトレハロースからの希少糖の生成は観測されなかった。これ以降、断りのない限り、トレハロース以外の結果を示す。いずれの糖についても、亜臨界水処理による希少糖の収率は約 90 ~ 120 s においてほぼ最高に達し、さらに反応時間を延長しても収率はほとんど上昇せず、下降もしなかった。

異性化収率に関しては、二糖であるマルツロースやラクツロースの収率が単糖のそれと比較して高かった。これらの二糖は還元末端がグルコース残基であり、その 4 位が α -グルコースまたは β -ガラクトースで置換されている。本検討結果より、4 位の置換によって異性化の促進が示唆される。異性化収率はマルツロースがもっとも高く、最高で 26.8 % であった。ラクツロースについては 21.5 % であり、4 位の置換基の種類および結合様式は異性化挙動に大きく影響する。

他のケトース(単糖)については、収率の高い順にフルクトース、タガトース、キシルロース、リブロースとなり、最高収率はそれぞれ 15.8%、13.1%、8.9%、5.9% であった。このことから、六炭糖は五炭糖よりも異性化しやすく、かつ、グルコース型の糖(フルクトース、キシルロース)がその 4 位のエピマーであるガラクトース型の糖(タガトース、リブロース)よりも生成しやすかった。

次に、副生成物の生成挙動に及ぼす糖の種類の影響を Fig. 2 に示す。糖の種類によって生成する有機酸や副生成物の構成(濃度)は大きく異なった。主な副生成物として、グリコール酸、ギ酸、酢酸、ヒドロキシアセトン、ジヒドロキシアセトンが観測され、何れの場合にも、pH は酸性を示した。一方、グリセルアルデヒドやピルブアルデヒド、乳酸の生成は確認されなかった。

また、ガラクトースをはじめとした各種還元糖を緩衝液中で亜臨界水処理した。その結果、緩衝液濃度に応じて副生成物の生成挙動が異なり、緩衝液濃度が高いほど希少糖が生成しやすかった。一方、副生成物である有機酸生成も緩衝液濃度の上昇により促進された。これらの結果より、異性化反応に関連する反応速度定数は緩衝液濃度の影響を受けやすく、速度定数が大きく変

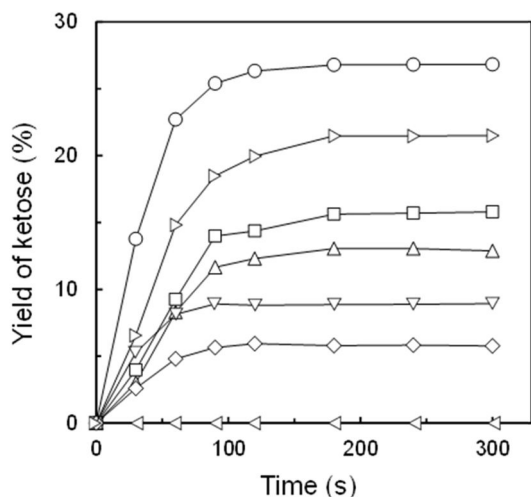


Fig. 1. 種々の糖類をリン酸緩衝液中で亜臨界水処理した際の希少糖の生成挙動
 (□) フルクトース, (△) タガトース, (▽) キシルロース, (◇) リブロース, (○) マルツロース, (▷) ラクツロース, (◁) トレハロース由来の希少糖.

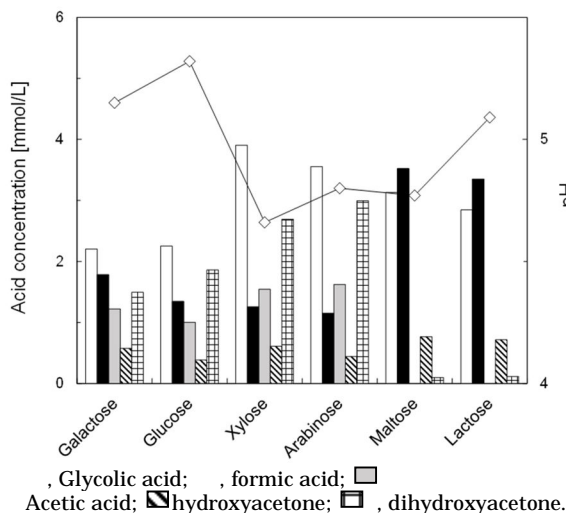


Fig. 2. 種々の糖をリン酸緩衝液中で亜臨界水処理した際の各種有機酸の生成挙動および pH
 ()

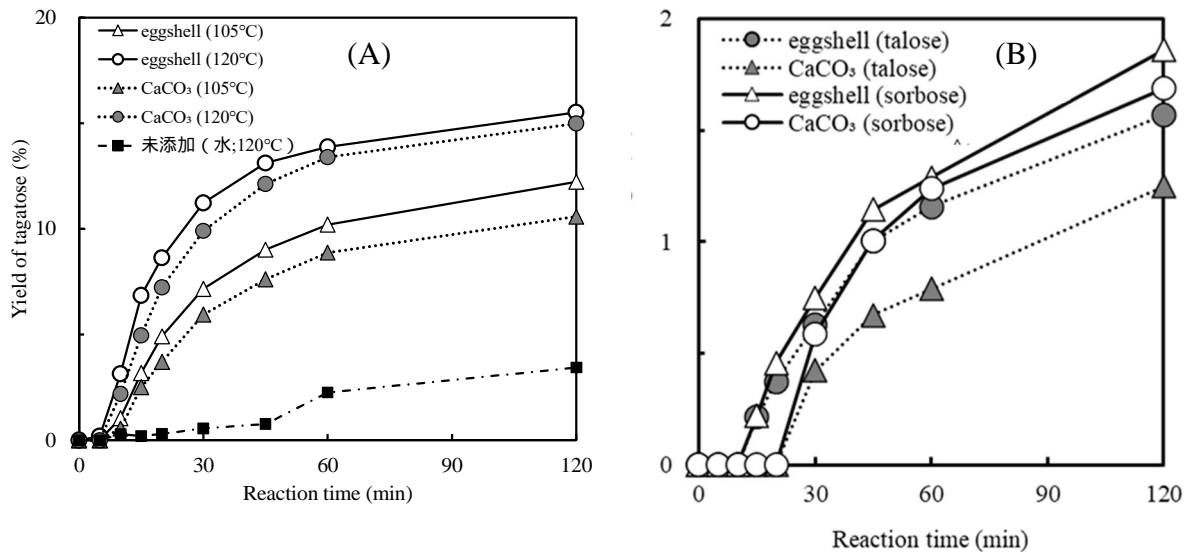


Fig. 3. 卵殻及び炭酸カルシウム添加が各種希少糖((A) タガトース、(B) タロースおよびソルボース)の収率に及ぼす影響

化することが示唆された。食品は種々の塩類を含む緩衝液系と見なせるため、ここで観測された結果が食品加工残渣の亜臨界水処理において生起する現象を予測することに繋がることを示唆された。

(3) 卵殻及び卵殻主成分がガラクトースの異性化に及ぼす影響

Fig. 3 に卵殻及び炭酸カルシウムがガラクトースの異性化に及ぼす影響を示す。105、120 共に卵殻や炭酸カルシウムを添加すると、未添加の場合よりよりもタガトース収率が上昇した。そして、卵殻を用いた方が収率は高かった。タガトース収率は最高で 15.5%を達成した。一方、タロースおよびソルボースについても 1~2%の収率での生成が認められた。このように、卵殻がガラクトースの異性化に有効であると示唆される。また、卵殻には主成分として炭酸カルシウムが含まれている。炭酸カルシウムについても、卵殻と同様の効果を示しており、卵殻主成分の影響が顕著に表れたことが示唆される。

Fig. 4 に卵殻及び炭酸カルシウムがタガトース選択率に及ぼす影響について示す(反応時間が 15 min 未満ではタガトース収率が非常に低く、誤差が誇張されるため、20 min 以降の選択率のみを示す)。卵殻、炭酸カルシウムのいずれにおいても反応時間が長くなるほどタガトース選択率は低下した。

Fig. 5 に反応温度がカルシウムイオン濃度に及ぼす影響を示す。高温での反応によりカルシウムイオン濃度が増加した。すなわち、反応温度が上がると副反応である有機酸の生成が促進され、より多量の炭酸カルシウムが有機酸と反応したことが示唆される。Fig. 6 に卵殻または炭酸カルシウムを添加し、亜臨界水処理を行った際のカルシウムイオン濃度を示す。卵殻を添加した場合には、カルシウムイオン濃度は炭酸カルシウム添加の場合よりも高い値を示した。これは、卵殻を

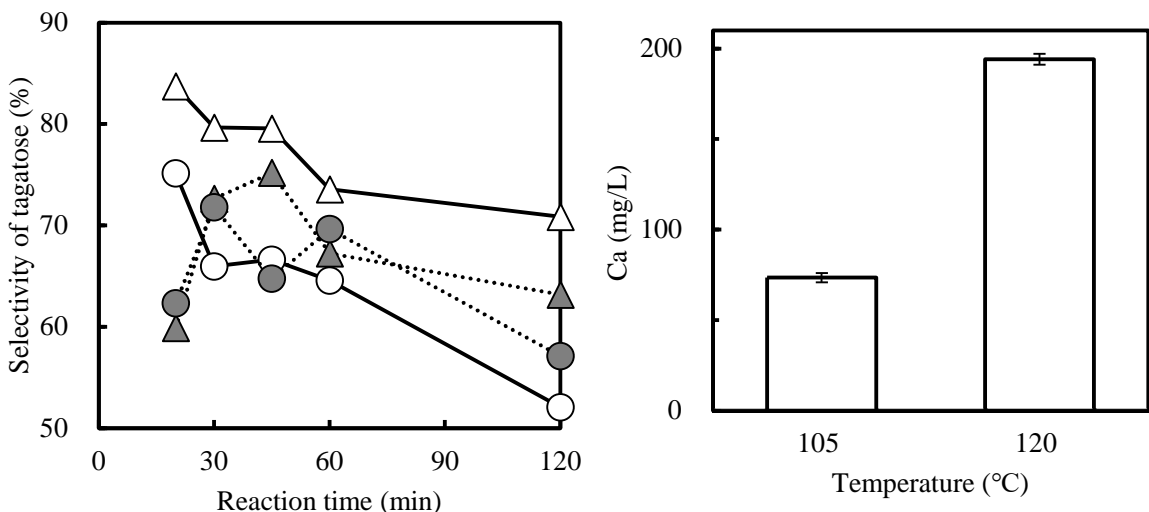


Fig. 4. 卵殻及び炭酸カルシウムがタガトース選択率に及ぼす影響

は 105°C、は 120°C; 実線は卵殻、破線は炭酸カルシウムを表す。

Fig. 5. 卵殻添加時のカルシウムイオン濃度に及ぼす反応温度の影響

反応条件: 温度 120°C; 時間 60 min.
n = 3(mean ± SE)

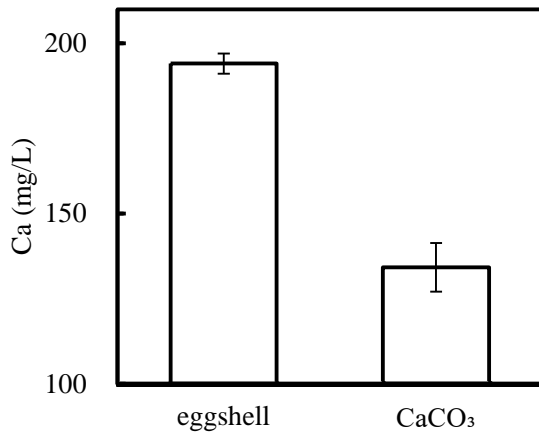


Fig. 6. 卵殻または炭酸カルシウム添加時のカルシウムイオン濃度
 反応条件: 温度 120°C; 時間 60 min, $n = 3(\text{mean} \pm \text{SE})$

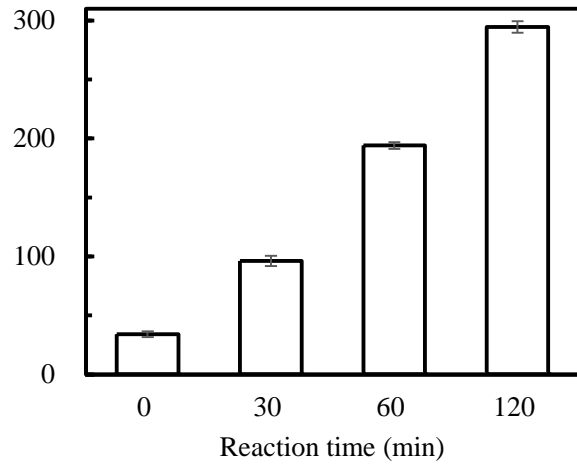


Fig. 7. カルシウムイオン濃度の経時変化
 反応条件: 温度 120°C; $n = 3(\text{mean} \pm \text{SE})$

用いた場合には有機酸の生成が顕著になり、より多くの炭酸カルシウムが有機酸と反応したためと考えられる。

Fig. 7 に 1520 での処理におけるカルシウムイオン濃度の経時変化を示す。反応時間が長くなるほどカルシウムイオン濃度は上昇した。すなわち、長時間の反応により多くの有機酸が生成し、結果としてカルシウムが溶出したと考えられる。

以上の検討の結果、りん酸緩衝液中では還元糖が容易に異性化することが明らかとなった。また、副生する有機酸を中和することにより希少糖の収率を改善することができるとともに、カルシウムイオン濃度も高めることができ、新規機能性食品素材の製造法ともなり得ることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Onishi Yuichiro, Adachi Shuji, Tani Fumito, Kobayashi Takashi	4. 巻 186
2. 論文標題 Insight into formation of various rare sugars in compressed hot phosphate buffer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Supercritical Fluids	6. 最初と最後の頁 105621 ~ 105621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.supflu.2022.105621	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 ADACHI Shuji, KHUWIJITJARU Pramote, KOBAYASHI Takashi	4. 巻 23
2. 論文標題 Continuous Production of Maltulose from Maltose in a Pressurized Hot Phosphate Buffer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japan Journal of Food Engineering	6. 最初と最後の頁 63 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11301/jsfe.22608	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Onishi Yuichiro, Furushiro Yuya, Adachi Shuji, Kobayashi Takashi	4. 巻 60
2. 論文標題 Isomerization and Epimerization of Galactose to Tagatose and Talose in a Phosphate Buffer Containing Organic Solvents under Subcritical Water Conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Industrial & Engineering Chemistry Research	6. 最初と最後の頁 5084 ~ 5089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.iecr.1c00682	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Futamata Shin, Onishi Yuichiro, Adachi Shuji, Khuwjitjaru Pramote, Watanabe Yoshiyuki, Tani Fumito, Kobayashi Takashi	4. 巻 399
2. 論文標題 Efficient synthesis of rare sugars from galactose in hot compressed water using eggshells as an environmentally friendly catalyst	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 130642 ~ 130642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biortech.2024.130642	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Onishi Yuichiro, Adachi Shuji, Tani Fumito, Kobayashi Takashi	4. 巻 434
2. 論文標題 Effect of phosphate buffer concentration on the isomerization of galactose to rare sugars under subcritical water conditions	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 137432 ~ 137432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.foodchem.2023.137432	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 尾西佑一朗、安達修二、谷史人、小林敬
2. 発表標題 亜臨界水中での希少糖の反応挙動に及ぼす緩衝液の種類の影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二俣真、尾西 佑一朗、安達修二、小林敬、谷史人
2. 発表標題 卵殻を用いた亜臨界水中でのガラクトース異性化学挙動解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 二俣真、尾西 佑一朗、安達修二、Khuwijitjaru Pramote、渡邊 義之、小林敬、谷史人
2. 発表標題 マイクロ波加熱によるガラクトースの異性化に及ぼす卵殻添加の影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 希少糖含有カルシウムサプリメントおよびその亜臨界水処理による製造法	発明者 小林敬、二俣真、尾西佑一朗	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2024-026049	出願年 2024年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------