

摘果みかんを生分解性プラスチックへII

—部位別の糖類抽出—

2年3組 家藤 香澄 2年3組 石田 優

2年3組 梅崎 美冬 2年3組 蔵谷さくら

指導者 高橋 寛

1 課題設定の理由

愛媛県の特産品として知られているみかんは、品質の良いものを作るために栽培の途中で未成熟なみかんを摘果している。このように摘み取られたみかんを摘果みかんと呼び、それらは基本的にすべて廃棄処分されており、有効利用する方法が必要とされている。

昨年度、宇和島東高校では摘果みかんを生分解性プラスチックに変換することを目的とした研究（岡森ら、2016）を行っており、洗濯用洗剤中に含まれる酵素を用いて摘果みかんの皮に含まれるセルロースをグルコースに加水分解することを検討していた。しかし、洗剤中の酵素では目的とするグルコースを得ることが難しいこと、摘果みかんの果皮の部位ごとに成分が異なるため必要な処理が異なると考えられることなど、まだまだ課題が多く、グルコースを得ることに成功していなかった。私たちは、先輩たちの進めていた摘果みかんを生分解性プラスチックに変換する研究を継続し、みかんからプラスチックを合成するプロセスを開発したいと考え、この課題を設定した。

2 研究の背景と目標

乳酸から生分解性プラスチックを合成する研究（八木ら、2006）を最終目標に、摘果みかんの果皮に含まれるセルロースをグルコースに加水分解し、得られたグルコースを乳酸発酵することで乳酸を得ることが本研究の目標である。

植物中のセルロースは、下記のような基本構造が連なった構造をしており（図1）、その結合は同じ炭水化物であるデンプンと比べても強く、分解することが難しいことが知られている。

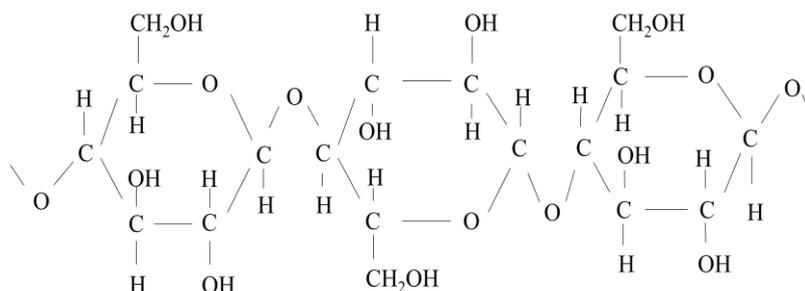


図1：セルロースの構造

本研究では、みかんの皮を部位ごとに区別し、それぞれの部位に含まれるセルロースをグルコースへ分解する手法を明らかにすることを目標として研究を進めた。

3 研究の仮説

本研究では、以下の2つの仮説について検討した。

(1) 企業から頂いた酵素による評価

愛媛県の理科学習資料「探究」において、タオルの再資源化に取り組む日本環境設計（株）が酢酸緩衝溶液下でセルラーゼを使い、廃棄タオルに含まれるセルロースをグルコースに加水分解しているという記述があった³⁾。私たちは、このセルラーゼが摘果みかんの果皮にも作用し、グルコースを得ることができるのではないかと考えた。日本環境設計（株）に問い

合わせたところ、快く酵素セルラーゼ（以下、酵素 I）を提供して下さった。

(2) 塩酸による処理の評価

みかんの缶詰を作る際、塩酸での処理により果肉周りの薄皮を取り除いていることが知られている。私たちはこの処理に着目し、摘果みかんの皮に塩酸での処理を行うことで、グルコースを得ることができるのではないかと考えた。

4 研究の方法

仕分けにより、摘果みかんを図 2 に示すような外皮・甘皮・薄皮・実の 4 つに分けた。

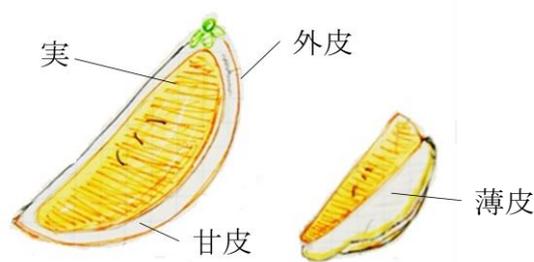


図 2：本研究における摘果みかんの部位名称

(1) 酵素 I による抽出

酵素 I は、茶褐色の粘性のある液体（図 3）で、甘酸っぱいにおいがした。酵素 I を糖度計（株）アタゴ、Pen-J）により評価したところ、もともと糖分が約 56%含まれていた。したがって、初期の値からどれほど糖度が上昇しているかを評価する必要がある。

酵素 I と pH 5 に調整した酢酸緩衝溶液を 1：1 で混ぜた液 50mL に対し、外皮・薄皮・甘皮をそれぞれ 0.5g ずつ入れ、恒温槽を用いて 50°C で一日処理した。図 4 に処理容器の様子を示す。

pH 5 の緩衝溶液は、酢酸と酢酸ナトリウムにより準備した。比較を行うため、蒸留水 50ml にも外皮・薄皮・甘皮をそれぞれ 0.5g ずつ入れ同様の処理を行った。処理後の溶液について、それぞれ糖度計で糖度を評価した。



図 3：酵素 I



図 4：酵素 I による処理
(恒温槽で静地)

(2) 塩酸による処理

まず、仮説を立てる際に参考にした薄皮の塩酸処理について、塩酸の濃度を変えて評価した。具体的には、塩酸の濃度を 0.2mol/L, 1.0mol/L, 2.0mol/L とし、各濃度の塩酸 50mL に摘果みかんの薄皮を 0.5g ずつ投入し、1 週間静置した。処理前後の糖度について糖度計（同上）で評価するとともに、フェーリング反応により糖の検出を行った。

次に、その他の外皮、甘皮について 2.0mol/L の塩酸で同様に処理し、糖度の変化を評価するとともに、フェーリング反応により糖の検出を行った。

5 結果及び考察

(1) 酵素 I による処理

酵素 I での処理前後の糖度変化について、次の表 1 に示す。酵素 I による処理により、反

応前より糖度が3.5~5.4%上昇していた。この結果では酵素 I による処理は、効果があると考えられた。しかし、糖度計は溶液につけて測定する際、溶液の屈折率を用いて糖度を測定するという方法で糖度を評価している。酵素 I にはセルラーゼをはじめ他の物質が多く溶けていると考えられ、正確に測れているか疑問がある。フェーリング反応による沈殿物の量を正確に評価すれば、比較可能であると考えが、うまく沈殿物を回収することができず、評価できていない。

表 1：酵素 I 及び蒸留水での処理後糖度

	反応前の糖度	外皮	薄皮	甘皮
酵素 I	27.8%	31.3%	32.4%	33.2%
蒸留水	0.0%	0.1%	0.2%	0.3%

(2) 塩酸による処理

前述の通り、糖度計は屈折率を利用して糖度を測定しており、本実験においては塩酸の濃度による影響を考慮する必要がある。したがって、空試験としてそれぞれの濃度における塩酸についても糖度を評価した。図 5 には、薄皮をそれぞれの濃度の塩酸で処理した結果及び、空試験の結果及び、空試験の値を補正した結果を示している。図中の◆で示すように、塩酸のみ（空試験）においても糖があると検出されており、予想したように糖度計だけを用いて糖度を評価することはふさわしくないと考える。ただ、抽出液は塩酸のみ（空試験）による糖度以上の値を示しており、塩酸処理をすることにより糖類が抽出されていると考える。

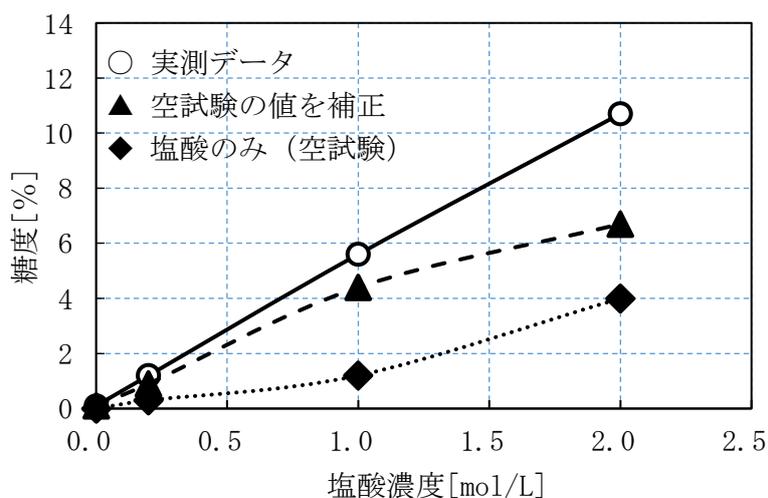


図 5：薄皮の塩酸処理濃度と処理後糖度の関係

糖類の存在を確認するためにフェーリング反応を行った結果を図 6 に示す。塩酸の濃度が上昇するにつれてフェーリング反応によって生じる酸化銅(I)の赤色沈殿の量が濃くなる傾向にあった。具体的には、0.2mol/L での塩酸処理後溶液では試験管下部に少量の赤色沈殿を生じたが、1.0mol/L での塩酸処理後溶液では全体がオレンジ色になり、2.0mol/L の塩酸処理後溶液では全体が赤色となった。したがって、薄皮を塩酸処理することで糖類が生成し、その量は処理する塩酸の濃度が高いほど多いと考えられた。ただし、糖類の存在量を厳密に評価するならば、生成した赤色沈殿の質量を元に糖類の生成量を比較する必要がある。

表 2 に示したのは、摘果みかんの各部位を 2.0mol/L の塩酸で処理した後の糖度計による糖度測定の結果とフェーリング反応の比較である。糖度はほぼ同等の値を示しているものの、フェーリング反応の結果から、薄皮と甘皮については塩酸処理することで糖が得られることが分かった。したがって、糖度計の値はあまり正確ではなく、フェーリング反応の結果によ

って糖の有無及び量を判断することが望ましいと考える。また、フェーリング反応の赤色の濃さから甘皮よりも薄皮の方が多く糖を得られていると判断した。ただし、生成量については前述のとおり赤色沈殿の質量から判断する必要がある。



図6：処理後溶液のフェーリング反応結果
(左から、2.0mol/L、1.0mol/L、0.2mol/L、蒸留水、比較用グルコース)

表2：塩酸処理後の糖度とフェーリング反応の比較

	薄皮	甘皮	外皮
処理後の糖度	10.7	10.8	10.8
フェーリング反応	◎ (全体・濃い赤)	○ (全体・橙)	△ (下部・少量赤)

6 まとめと今後の課題

企業からいただいた酵素 I 及び塩酸による処理で、摘果みかんの各部位から糖類を得る手法について検討した。酵素 I による処理では、糖度計による評価では正確な評価が難しく、評価方法の変更が必要であった。塩酸による処理では、薄皮及び甘皮から糖類を得ることができ、薄皮については塩酸の濃度が高いほど多く糖類が得られると考えられた。

今後は、糖類の生成量についてフェーリング反応の赤色沈殿の量から評価したい。また、摘果みかんの皮を部位ごとに分けるのは手間とコストがかかることから現実的ではなく、元の状態で処理を行うことを検討するとともに、得られた糖類を乳酸発酵させて乳酸とし、最終目標であるプラスチックを合成するところまで研究を進めたい。

謝辞

今回の研究を進めるにあたり日本環境設計株式会社より酵素を提供いただきました。この場を借りて心よりお礼申し上げます。

参考文献

- ・榎竜盛・岡森積至・川上夢叶・山本雅隆(2017)「摘果みかんを生分解性プラスチックへ～セルロースを ATTACK!～」『平成 28 年度 SSH 生徒課題研究論文集』愛媛県立宇和島東高等学校 p91~94
- ・八木康行(2006)「生分解性プラスチックの合成方法の研究ーポリ乳酸(PLA)の合成実験の教材化ー」平成 18 年度日本理化学協会賞研究論文 <http://nirika.jp/ronbun/18kyokaisyo-chm.pdf>
- ・愛媛県理科学習資料「探究」p80~82, 愛媛県高等学校教育研究会理科部会