

4. 結果及び考察

4.1 バイオセラミックスの機能化変換

4.1.1 全リン、リン酸の測定結果

モリブデン青法¹⁴⁾を用いて、市販アパタイト、合成アパタイト 1、2、発泡スラグのリン吸着能を測定した。Fig.27 にリンの吸着挙動の経時変化を、Table 2 にリンの最大吸着能の測定結果を示す。

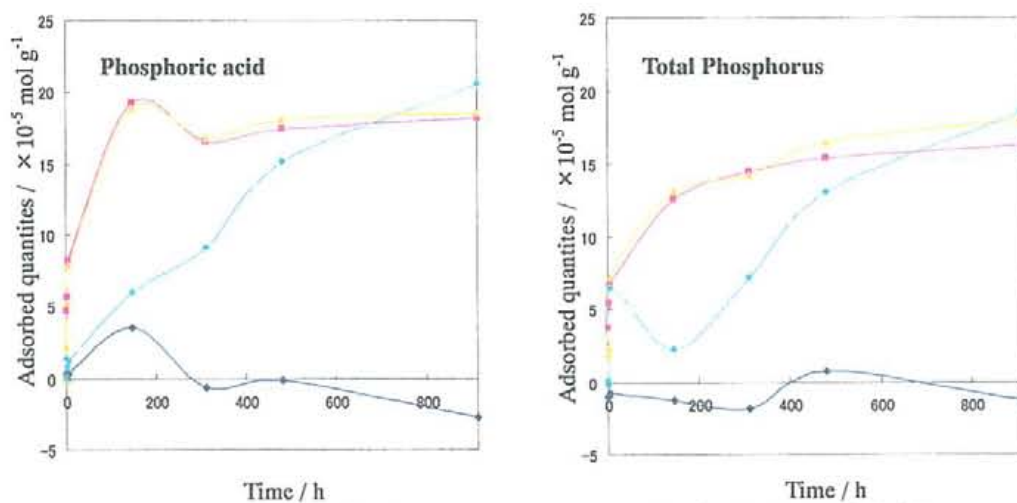


Fig.27 バイオセラミックスを用いたリン酸イオンの吸着挙動

◆; Commercial HAP ■; Synthesized HAP 1 ▲; Synthesized HAP 2 ▼; Slag Foam

Table 2 バイオセラミックスを用いたリン酸イオンの最大吸着量

Adsorbents	Adsorption quantities ($\times 10^{-5} \text{ mol g}^{-1}$)		pH change after 915 h	
	Phosphoric acid	Total Phosphorus	Initial	Final
Commercial Apatite	-2.77	-1.30	8.08	7.27
Synthesized Apatite 1	18.16	16.26	8.47	9.32
Synthesized Apatite 2	18.55	17.95	8.33	8.3
Slag Foam	20.58	18.52	8.21	8.79
Blank	109.0	100.6	8.10	-

リン酸測定では、市販アパタイト、合成アパタイト 1、合成アパタイト 2、発泡スラグの順に高い吸着能が得られた。全リン測定でも同様の傾向が得られた。

これらの反応を 915 h で終了させ、リン酸、全リン、ともに、市販アパタイト以外では、リンの吸着が認められ、発泡スラグの吸着能が最も高いことが分かった。また、吸着前後の溶液中の pH に、あまり大きな変化は見られなかった。

4.1.2 Ca 測定結果

リン酸中の Ca 測定をフレーム型原子吸光度計にて行った結果の数値を Table 3 に、グラフにしたものを Fig.28 として示す。

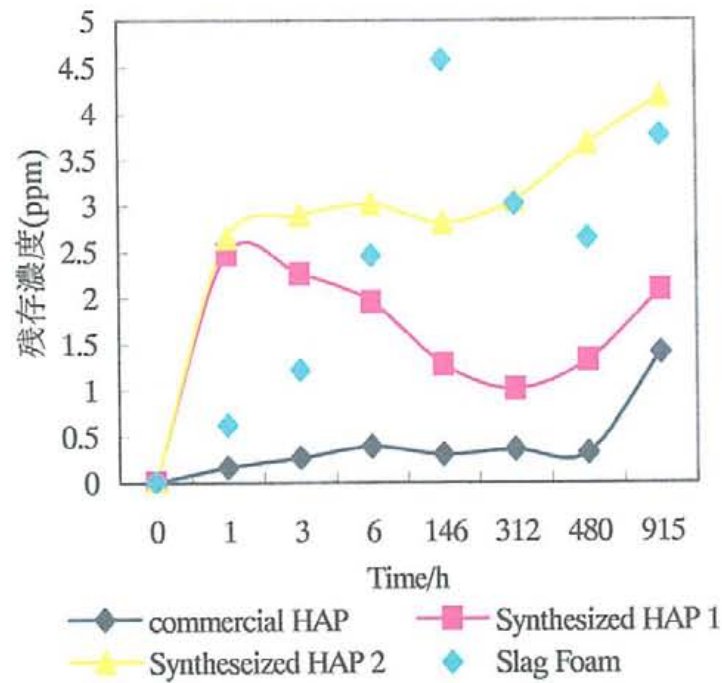


Fig.28 リン酸中の Ca 測定結果(1-915h)

Table 3 リン酸中の Ca 残存濃度(1-915h/ppm)

h/ppm	commercial Apatatite	Synthesized Apatatite 1	Synthesized Apatatite 2	Slag Foam
0	0	0	0	0
1	0.16	2.47	2.65	0.62
3	0.27	2.26	2.89	1.22
6	0.39	1.96	3.02	2.46
146	0.31	1.27	2.81	4.58
312	0.36	1.01	3.06	3.01

Table 3 より時間経過と共に Ca 残存濃度が上昇しており、Fig.28 より 1h で Synthesized HAP 1, Synthesized HAP 2 の残存濃度は上昇しその後 Synthesized HAP 1 は 312h 以降、Synthesized HAP 2 は 146h 以降再度上昇をしている事が判明した。これは Ca が可逆反応を示して水溶液中に溶出しているのではないかと考えられる。

Fig.28 で Slag Foam は 146h 付近までは緩やかに残存濃度が上昇し 146h を過ぎた時点より 480h まで減少をしておりその後 915h までに再度上昇していることが判明した。Slag Foam の 146h 時点から残存量が減少したのは多孔質中の Ca が溶液中に溶出していったのではないかと考えられる。Commercial HAP は 480h まで緩やかな上昇と減少を繰り返し、その後 915h までに急上昇している事が判明した。HAP は Synthesized HAP 等に比べて間隔が少ないと思われピークの変化が乏しいものと考えられるが、915h までに急上昇したのは水溶液中の OH と Ca がイオン交換したのではないかと考えられる。

4.1.3 IR 測定結果

リンの吸着実験を、915 h で反応を終了させ、実験後のバイオセラミックスを乾燥後、KBr 法により、リンの吸着前後の IR 測定を行った。各 FT-IR スペクトルを、Fig.29、Table 4 に示す。

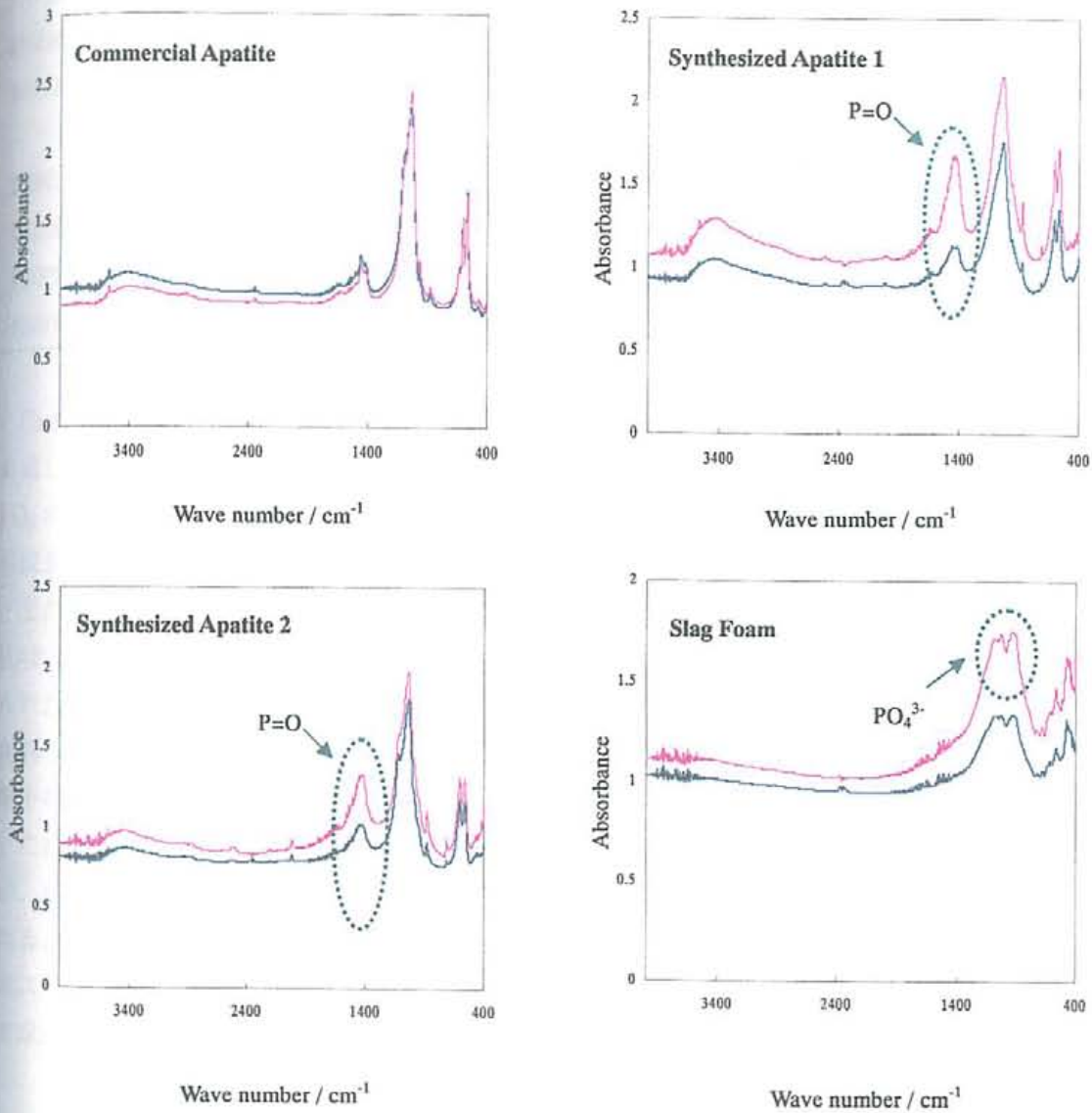


Fig.29 バイオセラミックスを用いたリン酸イオンの
FT-IRスペクトル

— ; Standard, — ; After Adsorption

Table 4 各 FT-IR スペクトルの帰属表

吸光波数文献値 (cm^{-1})	原子団	Commercial HAP	Synthesized HAP 1	Synthesized HAP 2	Slag Foam
3300±100	OH	3300-3500	3200-3400	3200-3400	—
3165±135	NH_4^+	2950-3100	—	—	—
2850±350	OH	2800-2900	—	2800-2900	—
2630±70	P-OH	—	2450-2550	2500-2600	—
—	KBr	2350-2400	2300-2400	2350-2400	2350-2400
2395±70	PH	—	2250-2350	2200-2300	—
1300±50	>P=O	1400-1600	1500-1600	1400-1600	—
1300±50	>P=O	1100-1200	1175-1225	1175-1225	—
1050±50	PO_4^-	850-900	850-950	850-950	1200-1300

Commercial HAP, Synthesized HAP 1, Synthesized HAP 2, Slag Foam の IR 測定より共通して $3300 \pm 100 \text{ cm}^{-1}$ 付近に OH, $1300 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$ 付近に >P=O, $1050 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$ 付近に PO_4^- の波長が見受けられた。Slag foam においては $1050 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$ 付近の PO_4^- のみに共通の波長があった。

また Commercial HAP では吸着前後に特に大きな変化は見られなかったが、Synthesized HAP 1, 2 には特徴的な波長が $2630 \pm 70 \text{ cm}^{-1}$ 付近に P-OH, $2395 \pm 70 \text{ cm}^{-1}$ 付近に PH と見られたのに加え $1050 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$ 付近の PO_4^- が吸着前よりピークが著しくシフトしている事が判った。Synthesized HAP 1, 2 の吸着前に比べ吸着後にピークがシフトしたのは、リン酸中の PO_4^- がさらに吸着した為と思われる。

これは、結合の伸縮振動が変化したものと考えられる。伸縮運動は二原子分子間の振動が、球体は小さく結合バネが強い程振動が速くなり、球体が大きく結合バネが弱い程遅くなる。FT-IR は赤外線領域(波長 $2 \sim 200 \mu$)に現れる振動エネルギーを吸収または発光された光スペクトルである。振動数(ν)は周期(T) より $T\nu=1$ と求める事が出来る。また波数(cm^{-1})を求める場合は、 $1/\text{波長}(\lambda)$ から求められる。

4.1.4 まとめ

合成アパタイト 1 では、PO 二重結合の振動が大幅に増加し、発泡スラグでは、スラグ特有の振動に、リン酸イオンの振動が重なり、増加したと考えられ、両者のリンの吸着メカニズムが異なると考えた。

Fig.30 のように、合成アパタイトには、カルシウムイオンが過剰に含まれ、溶液中のリン酸イオンとキレート化合物を生じるため、PO 二重結合に強い吸収が得られたと考えられる。

以上より、合成アパタイト、発泡スラグには、リンの回収能があると分かった。

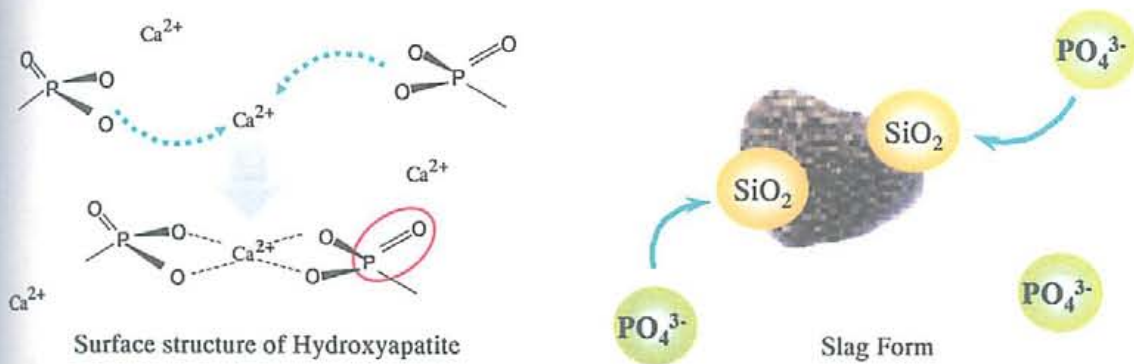


Fig.30 バイオセラミックスの吸着メカニズム

4.2 植物バイオマスから基幹化合物の抽出

4.2.1 レモン・コーヒー残渣の経時変化の観察結果

コーヒー、及びレモンに生鶏糞を接触させ、経時変化を観察した。

〈コーヒー〉

コーヒー豆は、市販の焙煎粉碎豆をコーヒーメーカーで熱水抽出した残渣を使用した。それらを乾燥させたものと、抽出直後のものを、また、有機栽培されたコーヒー豆の抽出後のものを用意し、生鶏糞を接触させた。

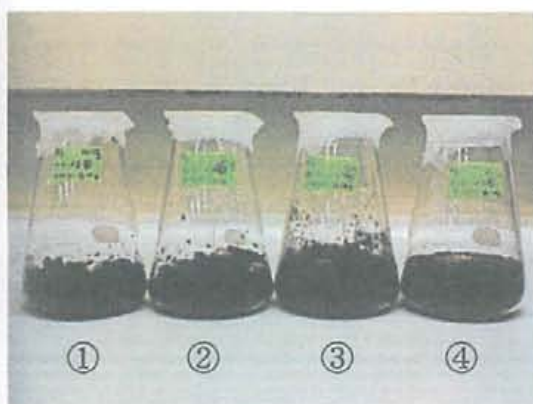
コーヒー①：湿潤した状態で、生鶏糞 0.14 g のもの

コーヒー②：湿潤した状態で、生鶏糞 1.03 g のもの

コーヒー③：有機栽培され湿潤した状態で、生鶏糞 0.14 g のもの

コーヒー④：乾燥した状態で、生鶏糞 0.14 g のもの

2008年8月9日から2009年1月30日にかけて、経時変化を観察した。



2008/08/09



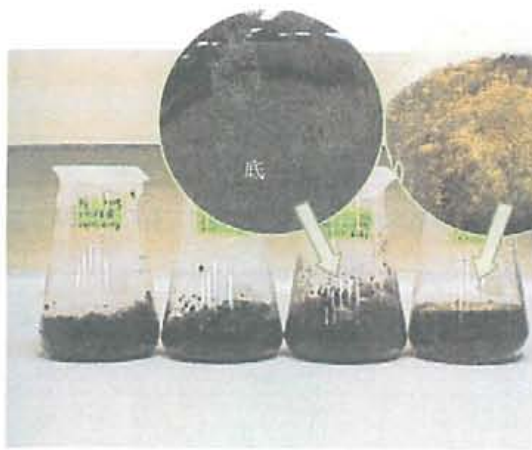
2008/08/12



2008/08/19



2008/08/21



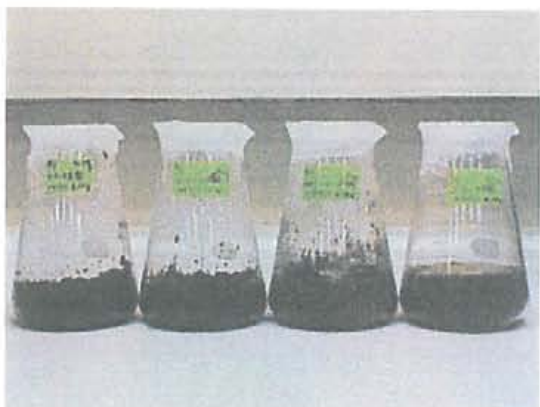
2008/08/22



2008/08/25



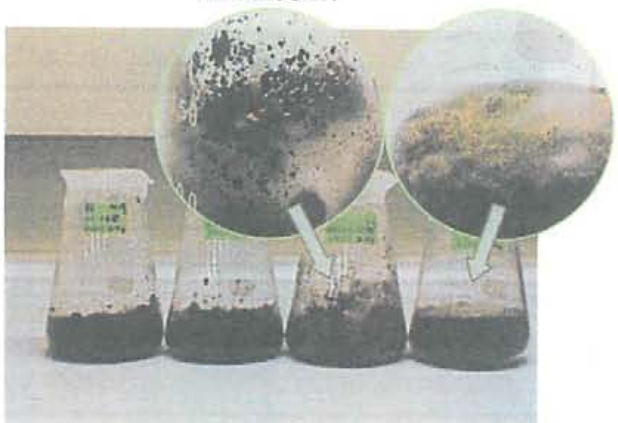
2008/08/26



2008/08/27



2008/08/29



2008/08/31



2008/09/01



2008/09/11



2008/09/12



2008/09/18



2008/09/19



2008/09/25



2008/09/26



2008/10/02



2008/10/03



2008/10/09



2008/10/10



2008/10/16



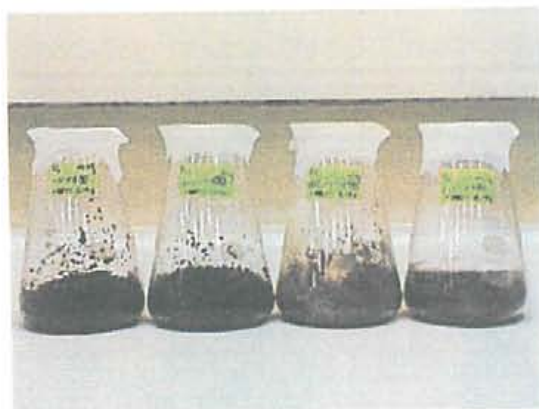
2008/10/17



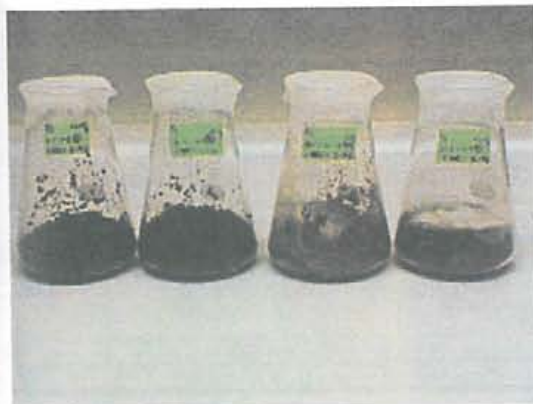
2008/10/23



2008/10/24



2008/10/30



2008/10/31



2008/11/06

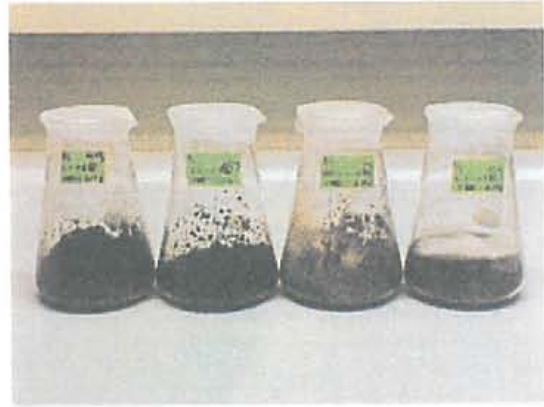


2008/11/07

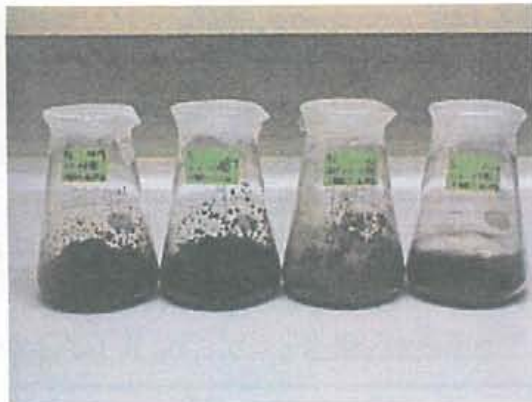
2008/11/14



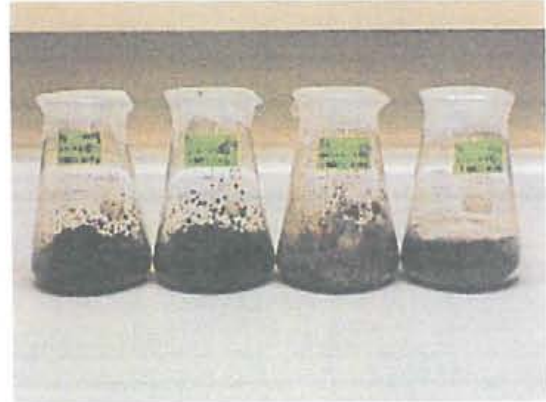
2008/12/04



2008/12/12



2008/12/18



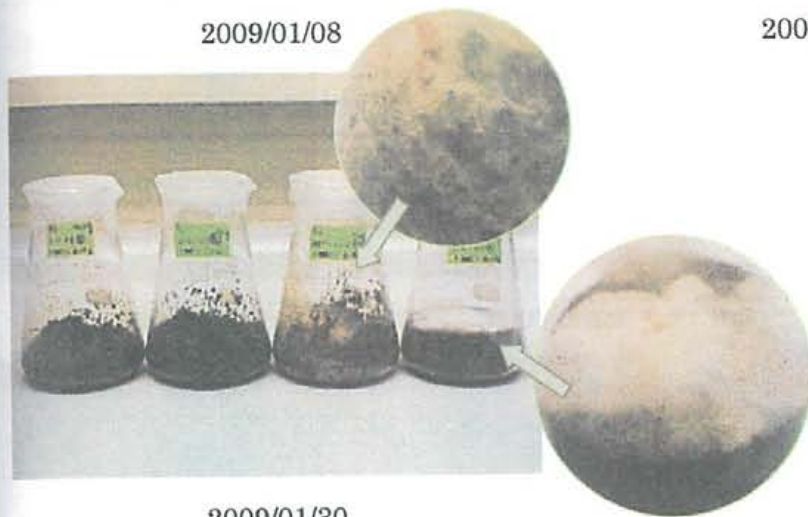
2008/12/27



2009/01/08



2009/01/22



2009/01/30

コーヒー①、②に関しては、観察を始めてからあまり変化は見られなかった。これは、コーヒーに含まれる生理活性物質等が菌を抑制していると思われる。

コーヒー③は、生鶏糞を接触させた部分から周囲に白色の菌が繁殖していった。最終的にその菌は茶色く変色した。また、ビーカー壁面にも菌の繁殖が見られた。

コーヒー④は、初め、黄色の菌が繁殖し、それを覆うように白色の菌が繁殖していった。2009年1月30日では、底面に水分がわずかだが見られた。

〈レモン〉

市販レモンは、防腐剤が付着しているのので、沸騰湯浴中に約 1 分浸し、防腐剤を除去する。防腐剤が付着状態のものと、防腐剤を除去したものを用意し、生鶏糞を接触させた。

レモン①：防腐剤有

レモン②：防腐剤無

2008 年 7 月 31 日から 2009 年 1 月 30 日にかけて、経時変化を観察した。





2008/08/19

2008/08/21

2008/08/22



2008/08/25

2008/08/26

2008/08/27



2008/08/29

2008/08/31

2008/09/01



2008/09/11

2008/09/12

2008/09/18



2008/09/19



2008/09/25



2008/09/26



2008/10/02



2008/10/03



2008/10/09



2008/10/10



2008/10/16



2008/10/17



2008/10/23



2008/10/24



2008/10/30



2008/10/31



2008/11/06



2008/11/07



2008/11/14



2008/11/21



2008/12/04



2008/12/12



2008/12/18



2008/12/27



2009/01/08



2009/01/22



2009/01/30

レモン①は、初め、表面に毛状の菌が繁殖し、レモン全体を覆っていった。2008年9月11日に皮表面から、蜜の様な液体が見られた。また、2008年10月16日より、水分がたまり始めた。

レモン②は、果皮が徐々に変色し、2008年8月4日では、遮光されている面に白色の菌が生え始めた。最終的に、外皮表面に白色の菌が全体的に繁殖し、所々に黒ずんだコロニーが存在した。

レモン①とレモン②は、明らかに菌の繁殖の仕方が違うといえる。レモン①は果皮表面から繁殖しているのに対し、レモン②は果皮内部からゆるやかに繁殖していると果皮表面の変色から考えられる。

抽出後乾燥したコーヒー、有機栽培によるコーヒー、抽出直後のコーヒー、また、防腐剤を除去したレモン、防腐剤を残留させたままのレモン、それぞれに、家畜糞を接触させ、2008年7月31日、8月9日から2009年1月30日まで観察したところ、廃棄された状態により、腐植の状況が異なることが分かった。

4.2.2 市販焙煎コーヒー豆の細胞壁分解

4.2.2.1 有機酸の除去

コーヒー残渣 50 g を、ヘキサン 500 mL に室温で 1 週間浸した。その後、濾過し、残渣は洗浄後凍結乾燥させ、濾液はエバポレータにかけ抽出物を得た。

なお、コーヒー残渣の重量は、50 g から 37.7363 g となり、

$$(50 - 37.7363 / 50) \times 100 = 24.5274 \approx 24.5 \%$$

24.5 % も有機酸が含まれていたといえる。

4.2.2.2 セルラーゼの分解率

121°C、60 分間オートクレーブでアルカリ処理したコーヒー残渣 2 g 量り、1 % セルラーゼ溶液 (*Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, Blank) 16 mL を混合し、24 時間、培養 (40°C)・攪拌 (1200 rpm) し、重量測定した。それを Table 5 に示す。

Table 5 コーヒー残渣の重量

	アルカリ処理後	培養・攪拌後	Total 分解率
<i>Trichoderma viride</i>	2.0002 g	0.4902 g	75.5 %
<i>Aspergillus niger</i>	2.0025 g	1.8308 g	8.57 %
Blank	2.0003 g	2.0292 g	-1.44 %

分解率は、*Trichoderma viride* が 75.5 % と最も高く、次に *Aspergillus niger* 8.57 %、Blank -1.44 % となった。

このことから、効率よいセルラーゼ分解を行えるのは、*Trichoderma viride* であるとわかった。

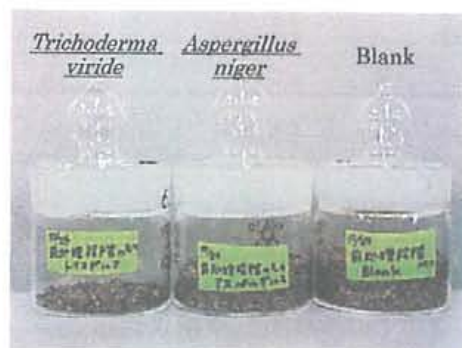


Fig.31 セルラーゼ分解後のコーヒー残渣

4.2.2.3 逐次的アルカリ処理とセルラーゼ分解の分解率

下記のコーヒー残渣4種を用いて、アルカリ処理・セルラーゼ分解を2回逐次分解した。

Sample 1: ヘキサン抽出をし、*Trichoderma viride*セルラーゼ分解を行った。

Sample 2: ヘキサン抽出をし、Blankセルラーゼ分解を行った。

Sample 3: ヘキサン抽出をせず、*Trichoderma viride*セルラーゼ分解を行った。

Sample 4: ヘキサン抽出をせず、Blankセルラーゼ分解を行った。

Table 6に各段階の重量を、Table 7に各段階毎の分解率を、Table 8に累積分解率を示す。

Table 6 コーヒー残渣の各段階の重量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
After Na ₂ CO ₃	1.5169	1.5534	1.3727	1.2933
First extraction	1.4086	1.3240	1.1563	1.0529
First digestion	0.7939	1.1749	0.5644	0.9605
Second extraction	0.5447	0.9136	0.4016	0.7605
Second digestion	0.2026	0.8368	0.1501	0.5372

Table 7 コーヒー残渣の各段階毎の分解率

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	7.14	14.77	15.76	18.59
First digestion	43.64	11.26	51.19	8.78
Second extraction	31.39	22.24	28.84	20.82
Second digestion	62.81	8.41	62.62	29.36

Table 8 コーヒー残渣の累積分解率

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	7.14	14.77	15.76	18.59
First digestion	47.66	24.37	58.88	25.73
Second extraction	64.09	41.19	70.74	41.20
Second digestion	86.64	46.13	89.07	58.46

以上より、ヘキサン抽出有無のSample 1とSample 3の、Sample 2とSample 4の差異は見られず、*Trichoderma viride*セルラーゼ分解では1次、2次ともにBlankよりも分解率が2倍以上高かった。また、最終分解率は、Sample 1が86.64%、Sample 2が46.13%、Sample 3が89.07%、Sample 4が58.46%となった。

4.2.3 市販レモンの細胞壁分解

4.2.3.1 有機酸の除去

市販レモンは、果汁を含んだままミキサーにかけ保存したものと、果汁を搾り重量の約4分の3 mLのエタノールに室温で4日間浸した。エタノール抽出したものは、濾過し、残渣は洗浄後凍結乾燥させ、濾液はエバポレータにかけ抽出物を得た。

なお、レモン残渣の重量は、3344.96 g から 2778.20 g となり、

$$(3344.96 - 2778.20 / 3344.96) \times 100 = 16.9437 \approx 16.9 \%$$

16.9%も有機酸が含まれていたといえる。

4.2.3.2 逐次的アルカリ処理とセルラーゼ分解の分解率

下記のレモン残渣4種を用いて、アルカリ処理・セルラーゼ分解を2回逐次分解した。

Sample 1: エタノール抽出をし、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行った。

Sample 2: エタノール抽出をし、Blank セルラーゼ分解を行った。

Sample 3: エタノール抽出をせず、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行った。

Sample 4: エタノール抽出をせず、Blank セルラーゼ分解を行った。

Table 9 に各段階の重量を、Table 10 に各段階毎の分解率を、Table 11 に累積分解率を示す。

Table 9 レモン残渣の各段階の重量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
After Na ₂ CO ₃	1.3830	0.9530	1.0625	1.2947
First extraction	0.7442	0.6672	0.5854	0.5781
First digestion	0.0464	0.5342	0.0172	0.4362
Second extraction	0.0121	0.3224	0.0123	0.2445
Second digestion	0.0097	0.3110	0.0042	0.2325

Table 10 レモン残渣の各段階毎の分解率

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	46.19	29.99	44.90	55.35
First digestion	93.77	19.93	97.06	24.55
Second extraction	73.92	39.65	28.49	43.95
Second digestion	19.83	3.54	65.85	4.91

Table 11 レモン残渣の累積分解率

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	46.19	29.99	44.90	55.35
First digestion	96.64	43.95	98.38	66.31
Second extraction	99.13	66.17	98.84	81.12
Second digestion	99.30	67.37	99.60	82.04

以上より、エタノール抽出有無の Sample 1 と Sample 3 の、Sample 2 と Sample 4 の差異は見られず、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解では 1 次セルラーゼ分解ですでに、90%以上が分解され、Blank よりも分解率が 3 倍以上高かった。また、最終分解率は、Sample 1 が 99.30%、Sample 2 が 67.37%、Sample 3 が 99.60%、Sample 4 が 82.04% となった。

4.2.4 まとめ

有機 oil、有機酸の除去を行った。

前処理として、脱脂後のコーヒー残渣をアルカリ処理し、2 g 量り、*Trichoderma viride*、*Aspergillus niger*、Blank とそれぞれ 1%セルラーゼ溶液で培養・攪拌した。その結果、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解では 75.5%、*Aspergillus niger* セルラーゼ分解 8.57%、Blank 分解 1.44% となり、*Trichoderma viride* 由来のセルラーゼが最も良い事が分かった。

逐次的アルカリ処理、セルラーゼ分解の分解率は、コーヒーは 2 次セルラーゼ分解で 86.6%、レモンは 1 次セルラーゼ分解で 96.6% となり、レモンは 1 次セルラーゼ分解でほぼ分解されたといえる。また、ヘキサン、エタノール抽出有無に関係なく、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行えたことにより、有機 oil、有機酸等の生理活性物質の影響がないといえる。

4.3 植物バイオマス分解物の上清の分析結果

逐次的アルカリ処理とセルラーゼ分解より分離した上清を用いて、タンパク質測定、ウロン酸測定、全糖測定、還元糖測定を行った。タンパク質はブラッドフォード法を、ウロン酸はカルバゾール硫酸法を、全糖はフェノール硫酸法を、還元糖はソモジネルソン法を用いて定量した。

4.3.1 タンパク質の定量結果

ブラッドフォード法を用いて、タンパク質の定量を行った。Fig.32, 33 にタンパク質量と累積量を、Table 12, 13 にタンパク質量を示す。

〈コーヒー〉

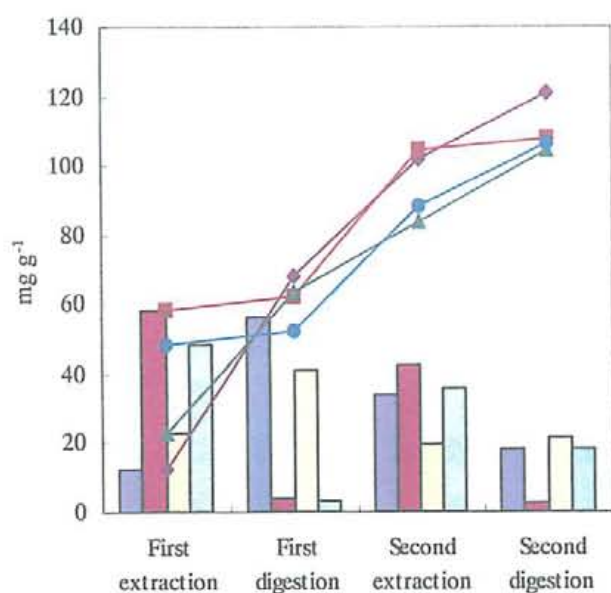


Fig.32 コーヒー残渣によるタンパク質の定量値

■; Sample 1, ■; Sample 2, □; Sample 3, □; Sample 4,
 ◆; Cumulative Sample 1, ◆; Cumulative Sample 2, ▲; Cumulative Sample 3, ●; Cumulative Sample 4,

Table 12 コーヒー残渣のタンパク質量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	12.243	58.159	22.801	48.560
First digestion	55.951	3.972	40.942	3.578
Second extraction	34.166	42.845	19.726	36.013
Second digestion	18.380	2.894	21.382	18.590
Total protein	120.740	107.870	104.852	106.742

Fig.32, Table 12 より、タンパク質の抽出量は、1次, 2次アルカリ処理では共に Sample 2 が最も高く、1次セルラーゼ分解では Sample 1 が、2次セルラーゼ分解では Sample 3 が最も高い値となった。また、全体の抽出量を見ると、sample 1 が僅差でもっとも高い値を得た。

〈レモン〉

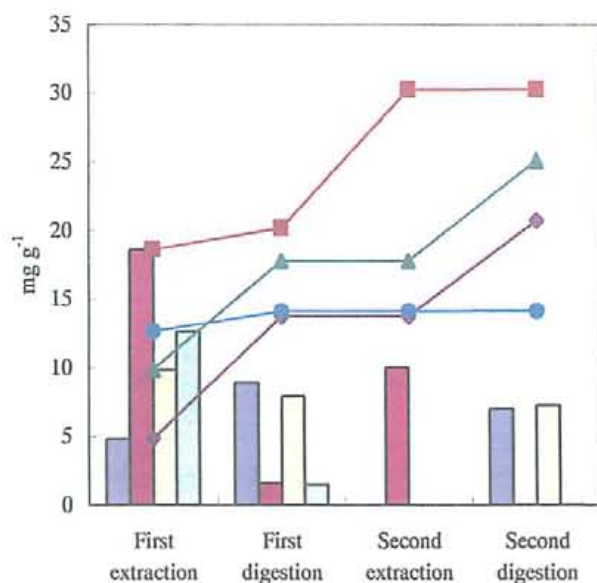


Fig.33 レモン残渣によるタンパク質の定量値

■ ; Sample 1, ■ ; Sample 2, □ ; Sample 3, □ ; Sample 4,
 ◆ ; Cumulative Sample 1, ◆ ; Cumulative Sample 2, ▲ ; Cumulative Sample 3, ● ; Cumulative Sample 4,

Table 13 レモン残渣のタンパク質量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	4.840	18.589	9.855	12.626
First digestion	8.888	1.581	7.939	1.470
Second extraction	—	10.033	—	—
Second digestion	6.999	0.021	7.264	0.034
Total protein	20.727	30.224	25.058	14.130

Fig.33, Table 13 より、タンパク質の抽出量は、1次アルカリ処理では Sample 2 が最も高く、1次, 2次セルラーゼ分解では Sample 1, 4 が同等に高い値となった。また、1次アルカリ処理のタンパク質抽出量が、全逐次分解中で最も高い値を得た。

4.3.2 ウロン酸の定量結果

カルバゾール硫酸法を用いて、ウロン酸の定量を行った。Fig.34, 35 にウロン酸量と累積量を、Table 14, 15 にウロン酸量を示す。

〈コーヒー〉

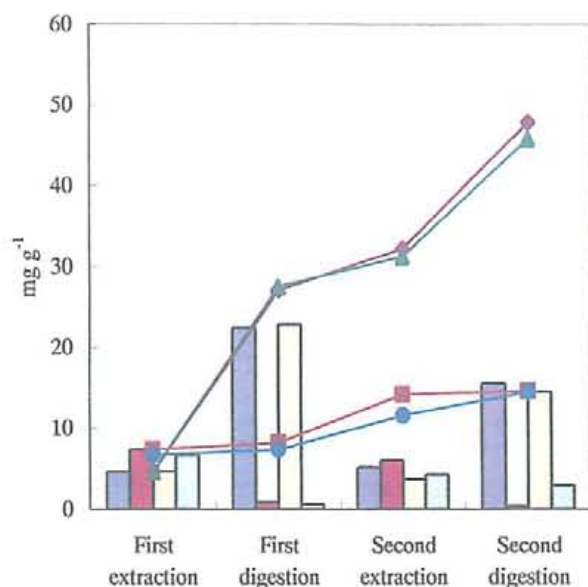


Fig.34 コーヒー残渣によるウロン酸の定量値

■ ; Sample 1, ■ ; Sample 2, □ ; Sample 3, □ ; Sample 4,
 ◆ ; Cumulative Sample 1, ◆ ; Cumulative Sample 2, ▲ ; Cumulative Sample 3, ● ; Cumulative Sample 4,

Table 14 コーヒー残渣のウロン酸量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	4.617	7.336	4.652	6.688
First digestion	22.480	0.837	22.906	0.607
Second extraction	5.145	5.984	3.680	4.250
Second digestion	15.555	0.402	14.545	2.934
Total uronic acid	47.796	14.559	45.782	14.479

Fig.34, Table 14 より、ウロン酸の抽出量は、1次,2次アルカリ処理では全 Sample がほぼ同等の値となり、1次,2次セルラーゼ分解では Sample 1, 3 が同等の値を得た。また、1次セルラーゼ分解の Sample 1, 3 がほぼ同等に、全逐次分解中で最も多くウロン酸の抽出量を得た。

〈レモン〉

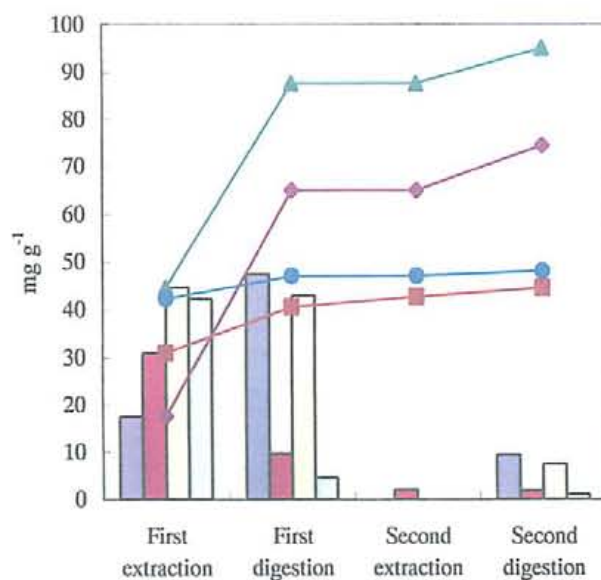


Fig.35 レモン残渣によるウロン酸の定量値

; Sample 1,
 ; Sample 2,
 ; Sample 3,
 ; Sample 4,

◆ ; Cumulative Sample 1,
 ■ ; Cumulative Sample 2,
 ▲ ; Cumulative Sample 3,
 ● ; Cumulative Sample 4,

Table 15 レモン残渣のウロン酸量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	17.619	30.856	44.635	42.293
First digestion	47.389	9.700	42.944	4.689
Second extraction	—	2.033	—	—
Second digestion	9.397	1.848	7.444	1.040
Total uronic acid	74.405	44.437	95.023	48.021

Fig. 35, Table 15 より、ウロン酸の抽出量は、1次アルカリ処理では Sample 3, 4 がほぼ同等の高い値となり、1次、2次セルラーゼ分解では Sample 1, 3 がほぼ同等の高い値を得た。

4.3.3 全糖の定量結果

フェノール硫酸法を用いて、全糖の定量を行った。Fig.36, 37 に全糖量と累積量を、Table 16, 17 に全糖量を示す。

〈コーヒー〉

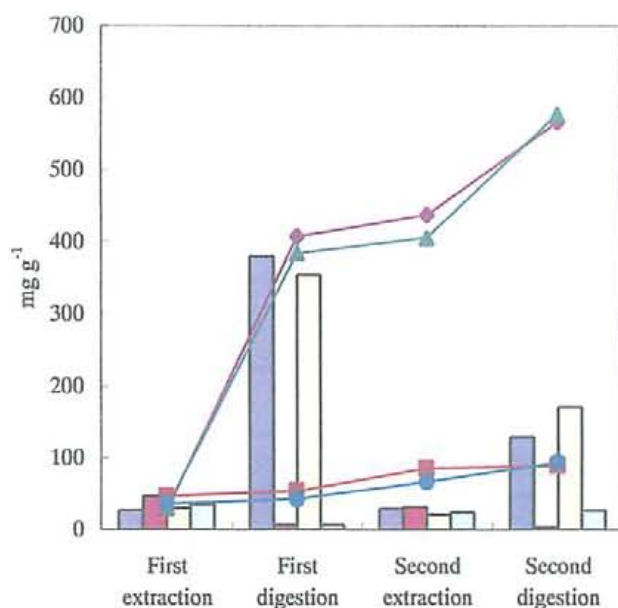


Fig.36 コーヒー残渣による全糖の定量値

■ ; Sample 1, ■ ; Sample 2, □ ; Sample 3, □ ; Sample 4,
 ◆ ; Cumulative Sample 1, ◆ ; Cumulative Sample 2, ▲ ; Cumulative Sample 3, ● ; Cumulative Sample 4,

Table 16 コーヒー残渣の全糖量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	27.739	46.581	30.315	35.951
First digestion	379.675	6.750	354.021	6.447
Second extraction	29.479	31.867	21.078	24.133
Second digestion	128.960	3.703	171.463	27.017
Total sugar	565.852	88.902	576.878	93.549

Fig. 36, Table 16 より、全糖の抽出量は、1次、2次アルカリ処理では全 Sample がほぼ同等の値となり、1次、2次セルラーゼ分解では Sample 1, 3 がほぼ同等の高い値となった。また、1次セルラーゼ分解の Sample 1, 3 がほぼ同等に、全逐次分解中で最も多くの全糖の抽出量を得た。

〈レモン〉

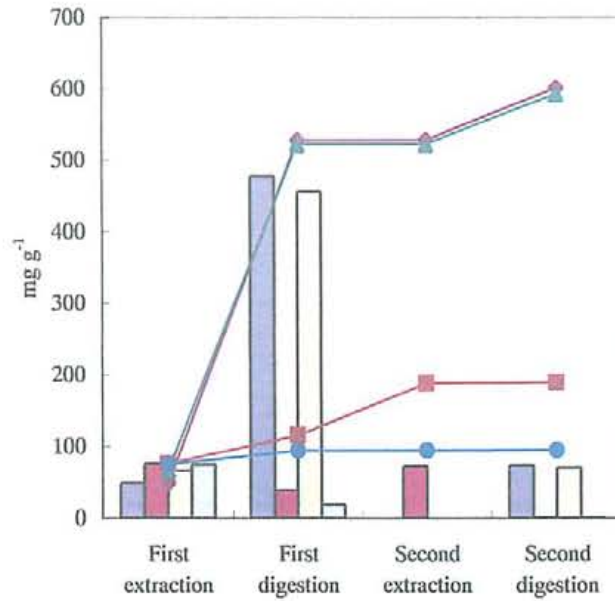


Fig.37 レモン残渣による全糖の定量値

■ ; Sample 1, ■ ; Sample 2, □ ; Sample 3, □ ; Sample 4,
 ◆ ; Cumulative Sample 1, ■ ; Cumulative Sample 2, ▲ ; Cumulative Sample 3, ● ; Cumulative Sample 4,

Table 17 レモン残渣の全糖量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	49.504	75.966	66.380	74.698
First digestion	477.522	39.264	455.563	19.055
Second extraction	—	72.279	—	—
Second digestion	73.300	0.932	70.412	0.855
Total sugar	600.326	188.440	592.354	94.608

Fig. 37, Table 17 より、全糖の抽出量は、1次アルカリ処理では全 Sample がほぼ同等の値となり、1次、2次セルラーゼ分解では Sample 1, 3 がほぼ同等の高い値となった。また、1次セルラーゼ分解の Sample 1, 3 がほぼ同等に、全逐次分解中で最も多く全糖の抽出量を得た。

4.3.4 還元糖の定量結果

ソモジネルソン法を用いて、還元糖の定量を行った。Fig.38, 39 に還元糖量と累積量を、Table 18, 19 に還元糖量を示す。

〈コーヒー〉

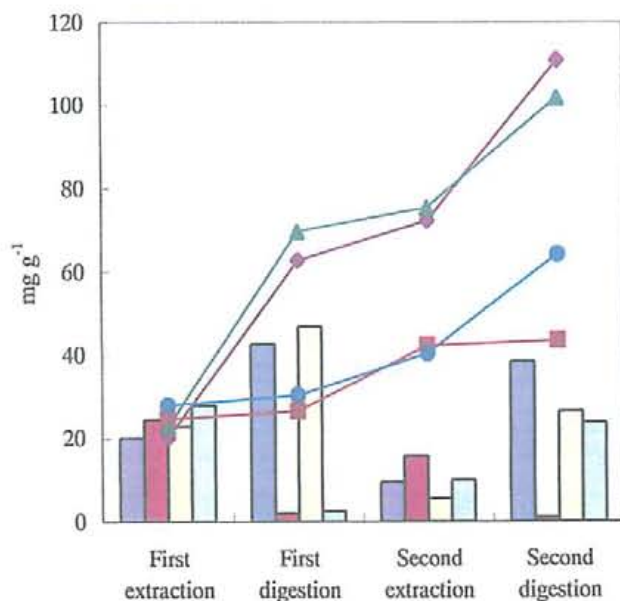


Fig.38 コーヒー残渣による還元糖の定量値

■; Sample 1, ■; Sample 2, □; Sample 3, □; Sample 4,
◆; Cumulative Sample 1, ■; Cumulative Sample 2, ▲; Cumulative Sample 3, ●; Cumulative Sample 4,

Table 18 コーヒー残渣の還元糖量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	20.056	24.500	22.833	27.833
First digestion	42.689	2.037	46.911	2.449
Second extraction	9.488	15.777	5.548	10.028
Second digestion	38.467	1.071	26.467	23.800
Total reducing sugar	110.699	43.384	101.759	64.110

Fig. 38, Table 18 より、還元糖の抽出量は、1次アルカリ処理では全 Sample がほぼ同等の値となり、1次セルラーゼ分解では Sample 1, 3 がほぼ同等の値となった。また、1次セルラーゼ分解の Sample 1, 3 がほぼ同等に、全逐次分解中で最も多く還元糖の抽出量を得た。

〈レモン〉

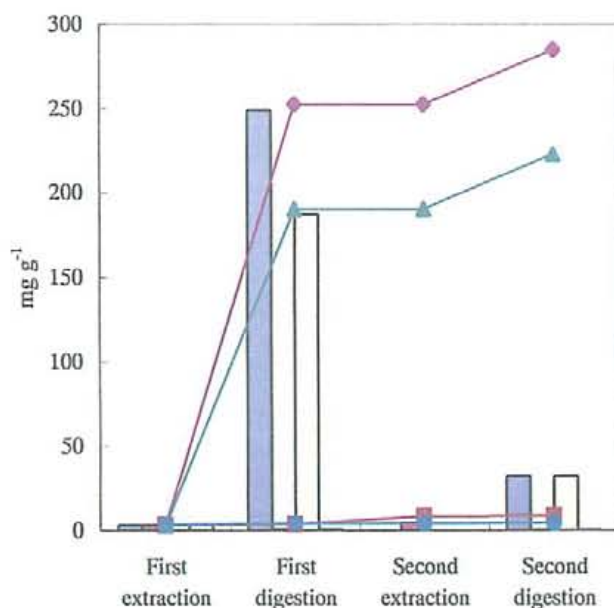


Fig.39 レモン残渣による還元糖の定量値

■ ; Sample 1, ■ ; Sample 2, ; Sample 3, ; Sample 4,
◆ ; Cumulative Sample 1, ◆ ; Cumulative Sample 2, ◆ ; Cumulative Sample 3, ◆ ; Cumulative Sample 4,

Table 19 レモン残渣の還元糖量

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
First extraction	3.135	3.155	3.400	3.368
First digestion	249.333	0.534	187.111	0.712
Second extraction	—	4.524	—	—
Second digestion	32.467	0.247	32.467	0.152
Total reducing sugar	284.935	8.459	222.978	4.232

Fig. 39, Table 19 より、還元糖の抽出量は、1次アルカリ処理では全 Sample がほぼ同等の値となり、1次セルラーゼ分解では Sample 1 が最も高い値となり、2次セルラーゼ分解では Sample 1, 3 がほぼ同等の値となった。また、1次セルラーゼ分解の Sample 1 が、全逐次分解中で最も多く還元糖の抽出量を得た。

4.3.5 顕微鏡観察 (染色) 結果

Fig.40 にコーヒー細胞壁とレモンの代わりにカボス細胞壁の顕微鏡写真を示す。

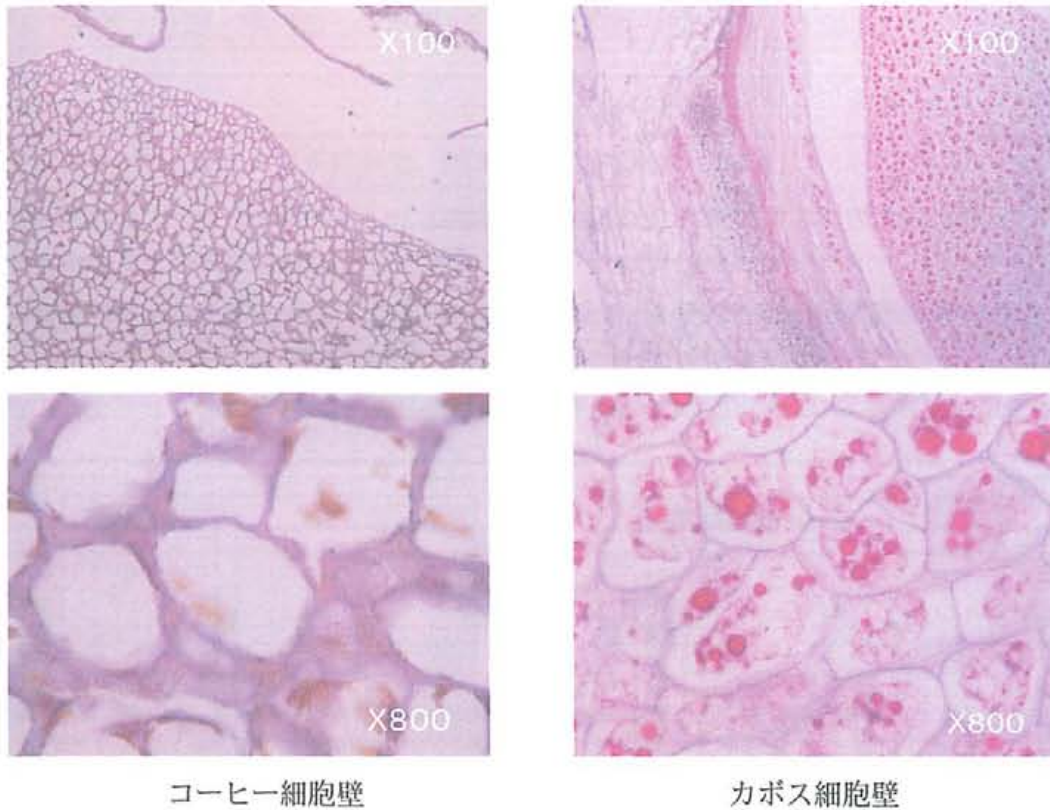


Fig.40 コーヒーとカボスの細胞壁の顕微鏡写真¹⁵⁾

顕微鏡写真から、コーヒーの細胞壁は厚く、カボスは薄いことがわかる。また、コーヒー残渣は堅く、レモン残渣と同様の柑橘類であるカボスは柔らかいことから、コーヒーは難分解性であり、レモンは容易に分解できるといえる。

4.3.6 まとめ

逐次的アルカリ処理とセルラーゼ分解より分離したコーヒー、レモン上清を用いて、タンパク質測定、ウロン酸測定、全糖測定、還元糖測定を行った。

〈コーヒー〉

下記のコーヒー残渣4種を用いて、逐次分解の評価を行なった。

Sample 1: ヘキササン抽出をし、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行った。

Sample 2: ヘキササン抽出をし、Blank セルラーゼ分解を行った。

Sample 3: ヘキササン抽出をせず、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行った。

Sample 4: ヘキササン抽出をせず、Blank セルラーゼ分解を行った。

Fig.41 にコーヒー残渣の逐次分解による抽出量と累積量、Table 20 に最終累積量を示す。

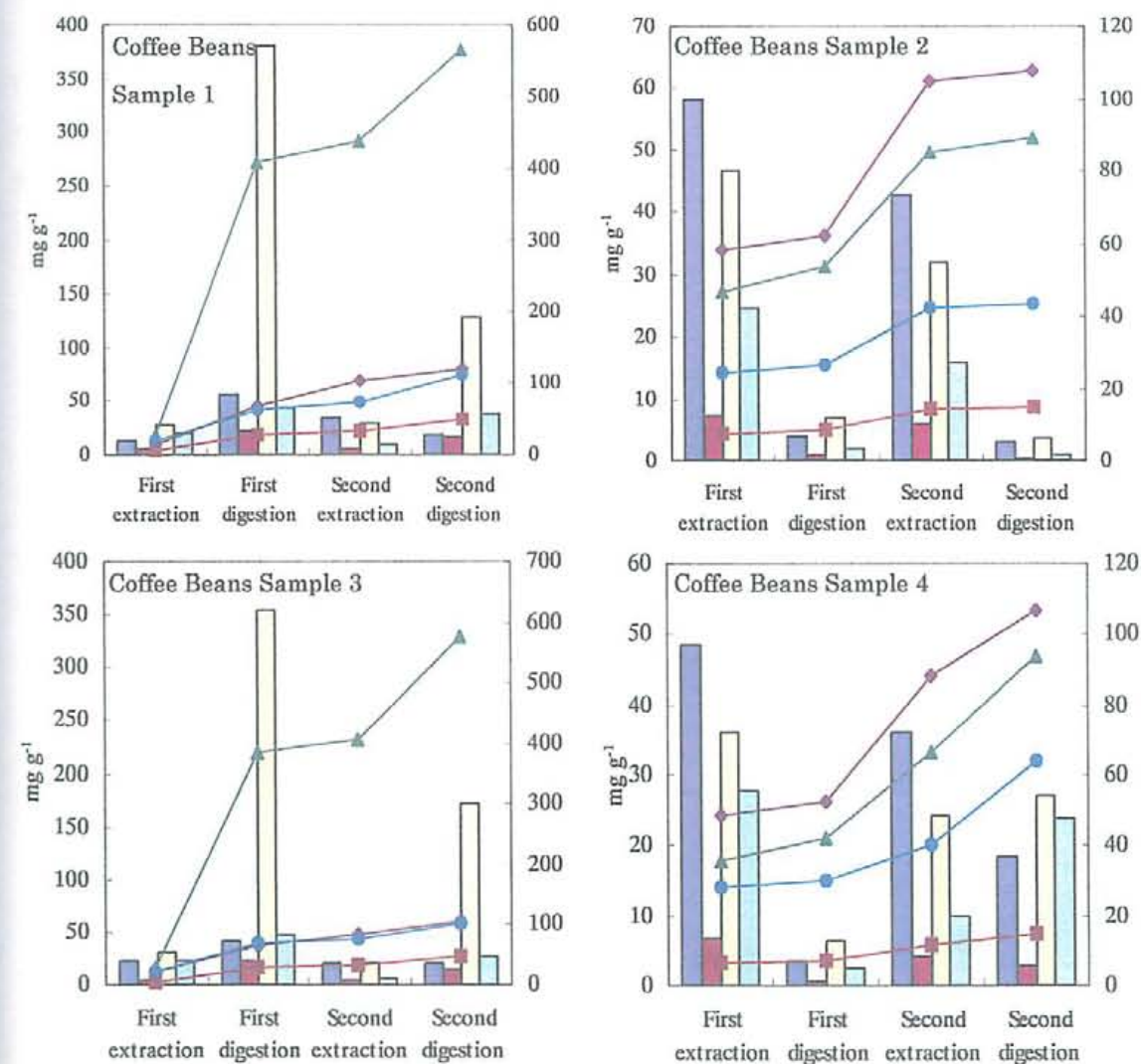


Fig.41 コーヒー残渣の逐次分解評価

■ ; Sample 1, ■ ; Sample 2, ■ ; Sample 3, ■ ; Sample 4,
 ◆ ; Cumulative Sample 1, ◆ ; Cumulative Sample 2, ▲ ; Cumulative Sample 3, ● ; Cumulative Sample 4,

Table 20 コーヒー残渣の最終累積量 (mg g⁻¹)

	A literature value ⁹⁾	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
protein	108.4	120.74	107.87	104.85	106.74
Uronic acid	21.8	47.80	14.56	45.78	14.48
Total Sugar	643.8	565.85	88.90	576.88	93.55
Reducing Sugar	—	110.70	43.38	101.76	64.11

Fig.41 の棒グラフは各項目量、折れ線グラフは各累積量である。Sample 1, 3 と Sample 2, 4 では、セルラーゼを用いた方が全体的に抽出量は多く、特に全糖が最も多く得られた。Table 20 からヘキササン抽出有無の抽出量の差は、見られなかった。このより、抽出後のコーヒー殻では、生理活性物質の影響がないといえる。また、タンパク質量が比較的多い事から、糖にまで分解されていないと考えられる。

Sample 1 と文献の値を比較すると、ほぼ同等の分解値を得ることが出来た。なかでも、ウロン酸は2倍以上の分解値を得た。焙煎豆を飲用せず、そのままヘキササン抽出しており、ヘキササンという有機溶媒を用いるよりも、飲用後の廃棄コーヒー殻を用いる方が、糖への分解率が速やかである事がわかった。

〈レモン〉

下記のレモン残渣4種を用いて、逐次分解の評価を行なった。

Sample 1 : エタノール抽出をし、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行った。

Sample 2 : エタノール抽出をし、Blank セルラーゼ分解を行った。

Sample 3 : エタノール抽出をせず、*Trichoderma viride* セルラーゼ分解を行った。

Sample 4 : エタノール抽出をせず、Blank セルラーゼ分解を行った。

Fig.42 にコーヒー残渣の逐次分解による抽出量と累積量、Table 21 に最終累積量を示す。

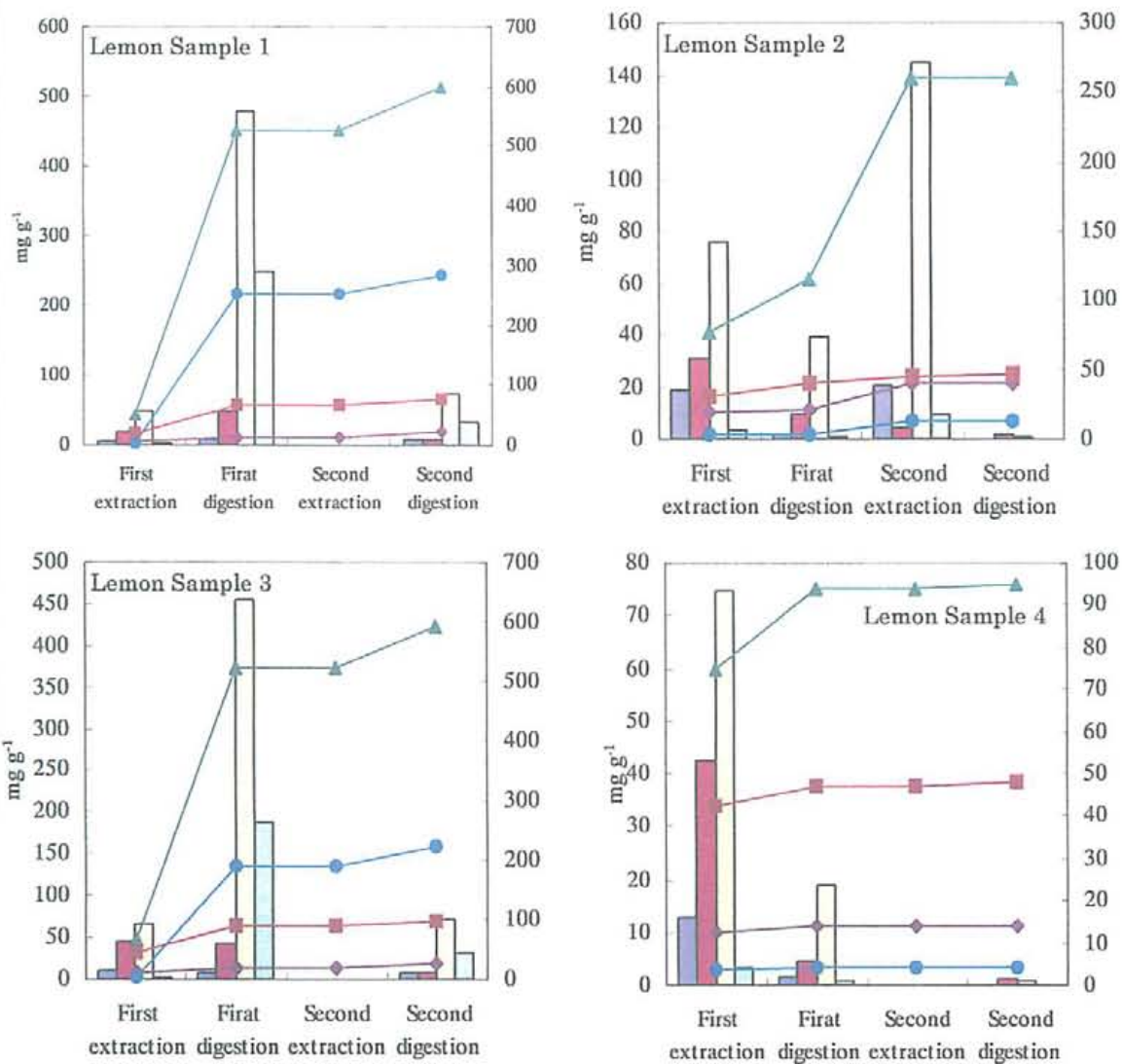


Fig.42 レモン残渣の逐次分解評価

; Sample 1,
 ; Sample 2,
 ; Sample 3,
 ; Sample 4,

; Cumulative Sample 1,
 ; Cumulative Sample 2,
 ; Cumulative Sample 3,
 ; Cumulative Sample 4,

Table 21 レモン残渣の最終累積量 (mg g^{-1})

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Protein	20.73	40.26	25.06	14.13
Uronic acid	74.40	46.47	95.02	48.02
Total Sugar	600.33	260.72	592.35	94.61
Reducing Sugar	284.94	12.98	222.98	4.23

細胞壁のうすいレモンでも試みた結果、Sample 1, 3の方が抽出量は相対的に多く、特に還元糖はコーヒーの約2倍多く抽出され、1次セルラーゼ添加でほぼ還元糖にまで分解された。今回は、還元糖の値が著しく高いことから、コーヒーと比べ細胞壁が薄いため、ウロン酸ではなく還元糖まで分解が進んだと考えられる。

5. 結論

5.1 全体考察

現在我々の生活を支えている化石燃料は枯渇資源であり、代替材料としてバイオマスを中心とした研究が多方面から行われている。バイオマスの中でも、環境面に対しても最適なのが廃棄系バイオマスである。我国における廃棄系バイオマスの排出量は、一例として家畜糞は約 8900 万トン、製鋼時に副産物として産出されるスラグは約 5000 万トン、食品残渣は約 2200 万トン、農作物非食用部は約 1300 万トンにも上る。そこで我々は廃棄系バイオマスのうち、比較的廃棄量の多い家畜糞、スラグ、食品残渣に着目した。

家畜糞、スラグはアパタイト、バイオセラミックスの合成を行い、りん資源の回収とアパタイトの機能化変換を検討した。

予備実験の結果から、リン酸、全リンの吸着挙動は共に僅差で発砲スラグが最も高く、次いで合成アパタイトの順に高かった。

この実験で扱った合成アパタイトは市販アパタイトと比べると、カルシウムの溶出が多量であることから、アパタイトよりハイドロキシアパタイトの前駆体である TCP に近い構造を有しているのではないかと考えられる。また、合成アパタイトは溶出量の増減が見られた為、カルシウムとリンの可逆反応が見られた。

FT-IR 測定結果より、合成アパタイトは特徴的な波長が $2630 \pm 70 \text{ cm}^{-1}$ 付近に P-OH、 $2395 \pm 70 \text{ cm}^{-1}$ 付近に PH と見られたのに加え $1050 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$ 付近の PO_4 が吸着前よりピークが著しくシフトしている事から、合成アパタイトの主成分の 1 つであるカルシウムイオンと溶液中のリン酸イオンがキレート化合物を生じていると考えられる。また、発砲スラグは、組成成分であるシリカの振動にリン酸イオンの振動が重なり、増加したと考えられ、合成アパタイトと発砲スラグのリンの吸着メカニズムは異なると考えられる (Fig. 40)。

以上より、合成アパタイト、発砲スラグにはリンの回収能があり、アパタイトへ変換したと示唆された。

このことから、河川や湖沼の富栄養化原因物質であるリンの回収が、アパタイトへの変換の他に水質浄化にも繋がることが考えられる。

一方、食品残渣は世界中で産出されているコーヒー、レモンに焦点を当てた。コーヒー、レモン残渣には、セルロースやヘミセルロースが豊富に含まれ、セルラーゼを用いた生化学によるエネルギー変換の基幹化合物となる二糖類、単糖への分解を検討した。

ここでセルラーゼを選定する為に、脱脂後のコーヒー残渣をアルカリ処理し、*Trichoderma viride* と *Aspergillus niger* 由来の 1%セルラーゼ溶液で培養・攪拌した結果、*Trichoderma viride* 由来のセルラーゼ分解では 75.5%、*Aspergillus niger* 由来のセルラーゼ分解では、8.57% となり、セルロース糖化に対して酵素活性が優れている *Trichoderma viride* 由来のセルラーゼが最も良いといえる。また、セルラーゼ分解を行う際、コーヒーに含まれるアルカロイド系化合物、レモンに含まれる有機酸、有機 oil などの生理活性物質が

阻害剤となる可能性もある為、コーヒーはヘキサン、レモンはエタノール水溶液にて抽出除去し、レモンに塗布されている防腐剤も阻害剤となる可能性がある為、熱水にて洗浄を行った (Fig.43)。

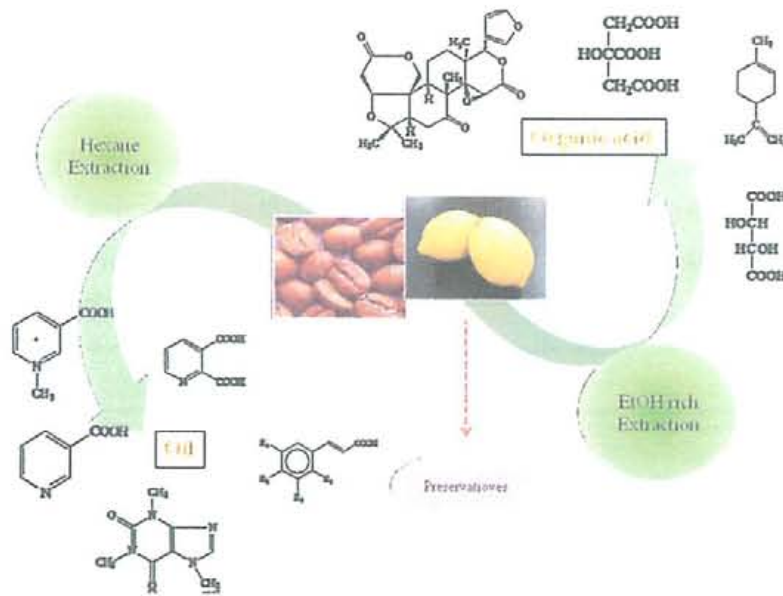


Fig. 43 コーヒー・レモンに含まれる生理活性物質

アルカリ処理, *Trichoderma viride* 由来のセルラーゼ分解を 2 回逐次分解し、各段階で抽出した上清に含まれるタンパク質、ウロン酸、全糖、還元糖の定量分析を行った結果、コーヒーでは 86.6 %ウロン酸や還元糖に分解し、レモンでは 1 次アルカリ処理, セルラーゼ分解だけで、96.6%ほぼ還元糖に分解したことが分かった。これより、ウロン酸は還元糖の前駆体と考えられ、レモンはコーヒーと比べ細胞壁が薄いため、ウロン酸ではなく還元糖にまで分解されたと考えられる (Fig.44)。

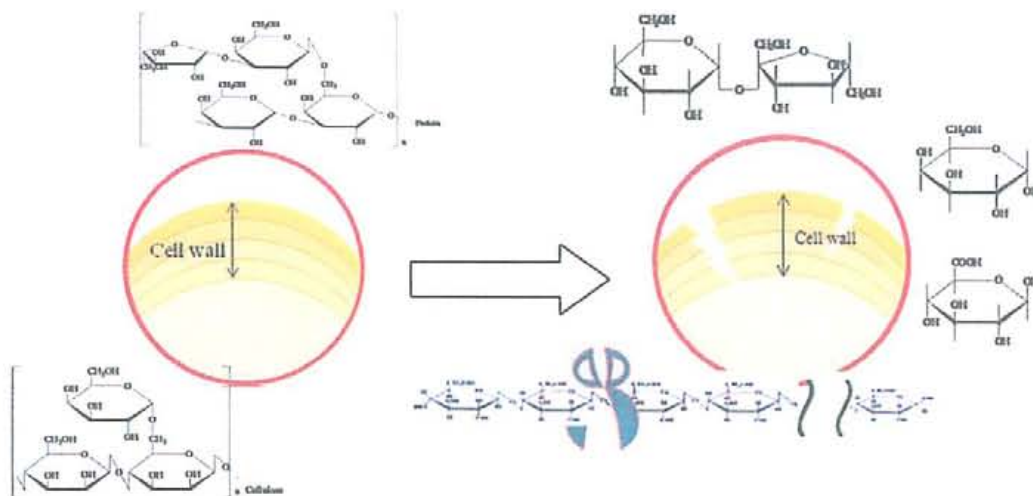


Fig. 44 コーヒー細胞壁のセルラーゼ分解

また、ヘキサン、エタノール水溶液抽出有無の抽出量に差がなかった為、飲用後のコーヒー殻、レモン残渣には、生理活性物質の影響がないといえる。さらに、コーヒーに関しては、飲用前の焙煎豆を用いた文献によると単糖はマンノースがもっとも多く検出されていたが、本実験では文献以上に反応が進んでいた為、マンノースの他にグルコースや他の単糖も得られている可能性がある。今後、詳細な分析を検討している。レモンも短期間で分解し、なおかつ、有機溶媒を用いらず飲用後の廃棄コーヒー殻を用いる方が糖の抽出量が高いということは、環境面からも理想的な簡易分解が出来たと考えられる。

これらの糖は、基幹化合物として、腐植質、トウモロコシに代わるバイオエタノール、また、これまでに研究されてきた、コズに含まれる配糖体を合成した増粘剤や機能性材料などへの変換が示唆された (Fig.45)。

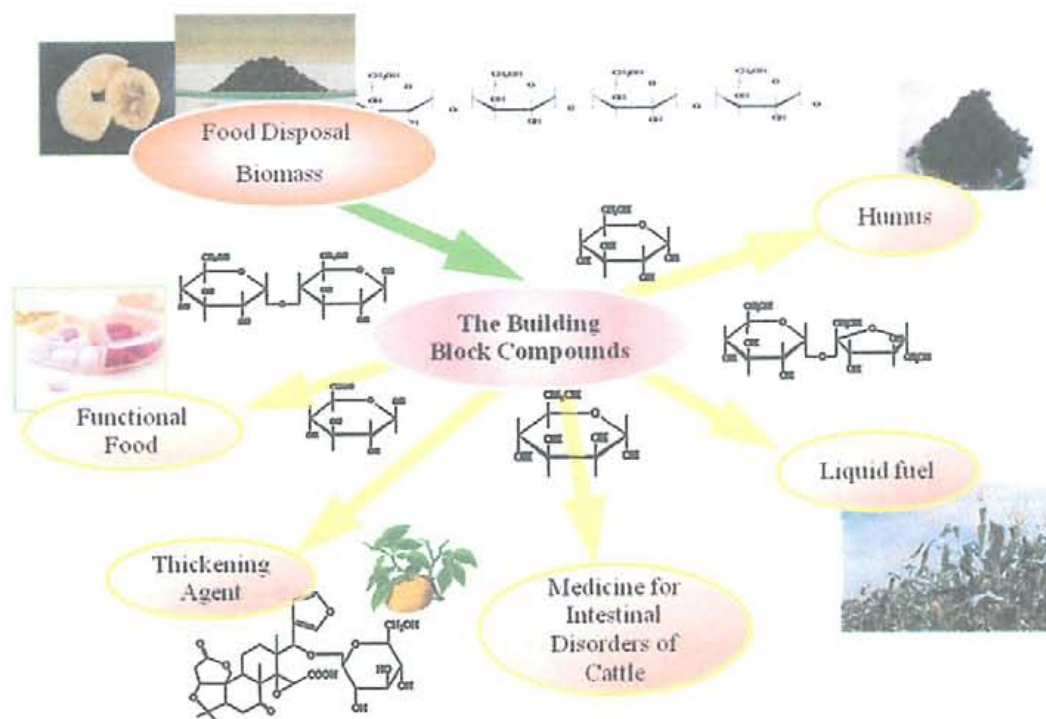


Fig.45 食品廃棄系バイオマスからの基幹化合物

また、抽出後乾燥したコーヒー、有機栽培によるコーヒー、抽出直後のコーヒー、防腐剤を除去したレモン、防腐剤を残留させたままのレモンに、家畜糞を接触させ菌の繁殖と分解の経時変化を観察した結果、廃棄された状態により腐植の状況が異なり、菌が繁殖しなかったものに対しては、残渣に含まれる生理活性物質等が菌を抑制していると考えられる。

5.2 今後の展望

現在、コーヒー及びレモンに生鶏糞を接触させ、経時変化を観察しているが、反応を終了させ、抽出物、生成物の分析を検討する。

植物バイオマスから基幹化合物の抽出実験より、コーヒー・レモン残渣から糖が得られ、また、この抽出した糖の詳細はTMS化を用いて分析し、基幹化合物として腐植質、バイオエタノール、増粘剤、整腸剤、機能性食品などへの変換が示唆されたので、それらの合成法の確立を検討する (Fig.45)。

バイオセラミックスへのリン吸着実験より、リン酸イオン及びカルシウムイオンの可逆反応が見られたので、植物や菌などが緩やかに栄養素を吸収できるのではないだろうか。

また、本実験では菌から精製した純粋なセルラーゼを用いたが、コストがかかるので、再利用をしたいと考えている。その為、合成したバイオセラミックスを用いて酵素の固定化を検討する。

以上のことを踏まえ、コーヒーやレモンなどの食品廃棄系バイオマスから、基幹化合物を生成し、各種バイオマスエネルギーへの変換を行う際、実験を行ったバイオセラミックスが各過程での触媒としての利用や、バイオセラミックスは粘土様の無機質な多孔性セラミックである為、微生物や有機物との相互作用も良好な結果が予想され、コーヒー・レモン残渣のオンサイト分解時の触媒として活用できないかと検討する。

5.3 後輩へのメッセージ

なるべく休まず、こまめに実験データや調査資料は纏めていざという時使いやすい様にしておくと後々楽(実際にごちゃごちゃで訳分からなくなりましたので)になると思います。

ほう(報告)れん(連絡)そう(相談)は大事です。絶対に怠らないように!実験する日は特に、欠席・遅刻を止むを得ずする場合は、班員にも連絡をしましょう。

就職活動に関しては、大手企業は締め切りが早いので、狙っている人は早めの行動をお勧めします。

6. 参考文献

- 1) 農林水産省 バイオマス・ニッポン <http://www.maff.go.jp/j/biomass/>
- 2) Seiichi Yasui, Kiyosi Tsutsuki, Norimune Akashi and Yoshiaki Kimura., *Chemical Characteristics of Humic and Fulvic Acids Extracted from Anaerobically Digested Slurries of Cow Manure.*, *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 75, 347-354, 2004
- 3) Center for Research and Development Strategy Japan Science and Technology Agency., CRDS-FY 2006-GR-01:3
- 4) Hirokazu Shirage., *Recovery of Phosphate Using MAP Method.*, *Journal of Environmental Biotechnology*, vol. 4, No. 2, 109-115, 2005
- 5) Yusei Ueda, Hirokazu Miyake, Hidemitsu Kasawara, Mitunobu Aoyama., 二段階リン酸化反応による多孔質球状水酸アパタイトの粒子成長., *The Chemical Society of Japan*, No. 9, 2007
- 6) 平成 18 年度 卒業研究 植物資源を用いた機能性材料の開発 1. バイオマスゲルへのレアメタルの吸着反応
- 7) Robert Redgwell, Monica Fischer., *Coffee carbohydrates.*, *Braz. J. Plant Physiol.*, 18(1):165-174, 2006
- 8) 岩井 和也 笠井 尚哉., コーヒー豆または／およびコーヒー抽出残渣より多糖類を製造する方法.,
- 9) Naoya Kasai et al., *Efficient Digestion and Structural Characteristics of Cell Walls of Coffee Beans*, *J.Agric.Food Chem.* 2006, 54, 6336-6342
- 10) 朝日新聞 2008 年 12 月 17 日
- 11) 平成 19 年度 卒業研究 植物資源を用いた機能性材料の開発 -昆虫の摂食障害作用と抽出成分の生理活性評価-
- 12) 渡部 英一 バイオマス変換利用・酵素培養の展望 1993 年 11 月 27 日第 1 版発行 株式会社 養賢堂 p.17
- 13) 石脇 智広, コーヒー「こつ」の科学, 2008/8/25 第 2 版, 株式会社 柴田書店
- 14) 日本分析化学会北海道支部 水の分析・第 4 版・ 2000/4/20 株式会社 化学同人
- 15) Photo by Kyoko Suzuki
- 16) Mayumi Minamisawa, Hiroaki Minamisawa, Shoichiro Yoshida, Nobuharu Takai : *J.Agric.Food Chem.*,52,5606-5611 (2004).
- 17) Mayumi Minamisawa, Hiroaki Minamisawa, Shoichiro Yoshida, Nobuharu Takai : *Green Chem.*,7,595-601 (2005).
- 18) M. Minamisawa, H. Minamisawa, S. Yoshida, N. Takai, *Chemistry in Australia*, 71 (4), 7-19 (2004).

7. 謝辞

本研究を行うにあたり多大なるご指導賜りました環境科学コースの吉田章一郎先生、南澤磨優覧先生、多方面から多くのお力添えを頂いた生命工学技術科諸先生方、環境科学コースの2年生に、厚く御礼申し上げます。

3年間、本当にありがとうございました。

8. 和文要旨

廃棄系バイオマスの産出は我々の日常生活に不可欠である。我国におけるバイオマスの排出量は、一例として家畜糞は約 8900 万トン、製鋼時に副産物として産出されるスラグは約 5000 万トン、食品残渣は約 2200 万トン、農作物非食用部は約 1300 万トンにも上る。近年の社会情勢の中では、バイオマスの再利用は必須であり、現在、産業界では、廃棄系バイオマスを用いて、燃焼、生化学、エステル化、熱化学への基幹化合物の生成、これらを更に、熱、電気、ガス、液体燃料、有機化学材料へ変換するシステムの研究が、多方面から検討されている。

我々は、廃棄系バイオマスの中でも家畜糞とスラグ、食品残渣に着目した。昨年度までに家畜糞、スラグはバイオセラミックスに変換させた。また食品残渣より機能性成分を抽出し、昆虫に対しての摂食障害作用や細胞の活性補助作用を示唆する結果を得ている。他にも、これらの廃棄系バイオマスを腐植物質、又は、有機材料への変換を行い、これらの合成した物質を用いて、水質浄化や土壌改良を目指している。

本年度は、バイオセラミックスを用いた、リン資源の回収とバイオセラミックスの機能化変換を試みた。リン資源には、鉱石埋蔵量として約 1 億 4000 万トンあり、肥料・家畜用飼料・界面活性剤・金属処理等として活用されているが、活用後の廃棄物が水域へ流出することによって富栄養化と富栄養化からなる水中の生態系崩壊の原因ともなっている。そしてリン資源は枯渇すると言われており、再利用が必須と考えられる。リンの再回収法には、結晶化させる晶析法やアルカリ処理、バイオセラミックス等による吸着などが活用されている。

我々は、バイオセラミックスを用い、水中でのリン酸・全リンの吸着能実験を行なった。その結果、リンの吸着挙動はリン酸・全リン共に、発泡スラグ>合成アパタイト 1>合成アパタイト 2>市販アパタイトの順となり、合成アパタイト、発泡スラグには、リンの回収能があると分かった。

一方、食品残渣には、世界中で産出されているコーヒーやレモンを選出した。これらの残渣にはセルロース・ヘミセルロースが多量に含まれ、これらは非可食部のバイオマスエネルギーへの変換材料として注目できる。

また、エネルギー変換方法の中でも、生化学的手法を用いた、糖化、発酵を検討している。

コーヒーは、世界中で愛用され、我国でも年間約 44 万トンが消費されている。廃棄系コーヒー残渣中には、セルロース、ヘミセルロースや低分子の生理活性物質が豊富に含まれ、コーヒーの殻には約 2% のリグノセルロースが存在している。これらの構造単位分子は、創薬やバイオマスエネルギーの前駆体として注目できる。

我々は、コーヒーマトリックスであるムコ多糖より、低分子な構成糖の抽出を試みた。脱脂したコーヒー残渣をアルカリ、セルラーゼで逐次分解し、殻の細胞壁分解を行った。

殻の分解物抽出量は、1次セルラーゼ分解後が最も多く、タンパク質 56.0 mg/g、ウロン酸 22.5 mg/g、全糖 379.7 mg/g、還元糖 42.7 mg/g であり、未抽出の焙煎コーヒー豆を用いた文献値（タンパク質 4.1 ± 0.9 mg/g、ウロン酸 11.5 ± 1.0 mg/g、全糖 320.3 ± 106.3 mg/g）より、全糖以外は約 2 倍多く得られた。

レモンに関してもコーヒーと同様に、低分子な構成糖の抽出を試みた。1次セルラーゼ分解後でレモンの分解率が 96.6% となり、1次セルラーゼ分解のみでほぼ分解は終了された。

これらより、コーヒー豆からは、飲用後の廃棄物を用いた方が、糖成分の抽出が、より簡易であることが分かった。レモンは、ほぼ繊維質で構成されており、セルラーゼ分解では、容易に分解されることが分かった。また、前述で実験されたバイオセラミックスは、粘土様の無機質な多孔性セラミックであり、微生物や有機物との相互作用も良好な結果が予想され、コーヒー・レモン残渣のオンサイト分解時の触媒として活用できないかと検討している。

9. 英文要旨

The reuse of the biomass is required by the recent social conditions.

A particularly important study is establishment of the composition method of an industrial building block compound and construction of the systems which switches these materials to electricity, heat, gas, liquid fuel, organic chemistry materials from exhausted biomass materials.

The production of the disposal biomass in our country reaches domestic animal feces 89 million tons, slag about 50 million tons, food residual substance about 22 million tons, and agriculture waste about 13 million tons.

About our industry from this, it will be essential to regard the disposal biomass as important resources.

In our laboratory, we suggested that we utilized domestic animal feces, slag, disposal food from disposal biomass.

The domestic animal feces and the slag were converted to bio-ceramics.

In the presence of the bio-ceramics, the excess phosphorus resources in natural environmental water were recovered on this.

Phosphorus resources are drying up resources, and the deposits of it ore are about 14 million tons.

This ore is utilized to manure, feed for domestic animals, surface-active agents, but supply and demand balance to the natural world begins to collapse with excessive it practical use. Because excessive accumulation and release to the soil and the water of phosphorus were performed, nature cannot achieve the function of the material of the P origin which caused environmental pollution such as the eutrophication. With composed four kinds of bio-ceramics and commercial HAP, an experiment to collect phosphorus from a phosphoric acid water solution prepared artificially was performed on a laboratory scale.

The adsorption ability of the phosphorus to these bio-ceramics increased in order of Commercial HAP, Synthesis HAP 2, Synthesis HAP 1, Slag.

Also we chose another disposal biomass, Lemon and Coffee.

Especially, Coffee is considered to be a major tasty drink. The consumption of the Coffee in our country reaches 44 million tons.

Coffee beans have insoluble and thick cell walls, which are mainly made of galactomannans, arabinogalactan, hemi-cellulose, cellulose, and 2 % lingo-cellulose, while the cell walls of Lemon peel are thin, which are made of cellulose and hemi-cellulose.

Plants are organically structured carbohydrates, proteins, and so on. These structural-unit molecules are employed to the intermediate compounds, the building block, of drug development or biomass-energy.

Here, we studied that the digestion of cell walls of Coffee beans and Lemon peel were performed

using the cellulase from *Trichoderma* sp..

The digestion of the cell walls of brewed-roasted Coffee beans and Lemon peel was carried out by sequential procedures of alkali boiling (0.1 M Na₂CO₃ buffer, pH 10, and 0.1 M NaOH), cellulase digestion, autoclaving with 0.1 M NaOH, and cellulose redigestion.

The total digestion yields were >86.5% (second digestion) and >96.6 % (up to first digestion), respectively.

Our laboratory's data approximately agreed with the digestion yield of the roasted Coffee beans powder defatted with hexane of Naoya KASAI et. al.⁹⁾

Hence, we suggested that the roasted Coffee bean after the coffee extraction was essential disposal biomass for the efficient digestion of the cell walls of the Coffee beans to give several sugar.