

膜分離による機能性食品原料の精製

鎌田 樹志, 松嶋 景一郎

Purification of Functional Food Materials by Membrane Separation Technology

Tatsuyuki KAMADA, Keiichiro MATSUSHIMA

キーワード：機能性食品，膜分離

1. はじめに

北海道は国内随一の食料供給地域であり、食品の供給に伴い発生する未低利用資源が多く発生する。これら未低利用資源には糖やタンパクなどを多く含むものがあり、これらから機能性物質を製造し、高付加価値製品として商品化する技術開発が盛んになっている。その製造プロセスの一つとして膜分離技術が有効と考えられる。最近では高性能な膜の開発が進み、新たな利用方法が見込まれている。当場ではこれまで、小規模排水処理における膜分離活性汚泥技術の活用や、機能性食品開発における限外ろ過 (Ultrafiltration, 以下UF)、逆浸透法 (Reverse Osmosis, 以下RO)、電気透析 (Electrodialysis, 以下ED) 等を利用した精製プロセスの開発に係る技術支援を行ってきたが、さらに高度な膜利用技術が求められている。

UFはタンパク質、多糖類のような高分子化合物の分離精製・濃縮等に利用されている。その分画分子量は1万前後から数十万の範囲といわれており、各膜メーカーから各種分画分子量を仕様とした膜が市販され、目的物質により最適な膜を選定する必要がある^{1),2)}。

一方、昆布は道内全海域で漁獲されており、昆布生産で排出される昆布仮根は機能性物質 (アルギン酸、フコイダン、ミネラル等) が含まれていることで注目され、有効利用されている。これら機能性物質の中で、フコイダンは昆布仮根特有の構造も見つかっており、機能性の検討が行われてきた。そこで本研究では、昆布仮根から抽出したエキスを試料として、おもにフコイダンに注目し、膜分離による精製方法を検討したので報告する。

2. 昆布仮根エキスからの高分子分画

2.1 昆布仮根エキスの調製

水洗により夾雑物を除いた昆布仮根 (水分約75%, 福島町産) をジューサーミキサーで数秒間粉碎し、粉碎物について4℃冷蔵下、抽出溶媒に3週程度浸漬した。なお、抽出溶媒として水、希塩酸 (0.1N)、希酢酸 (5%) の3種を用いた。次に、冷蔵下の試料を室温に戻し超音波攪拌後、けい藻土をろ過助剤とした減圧ろ過を行い、清澄化した抽出液3種 (水抽出エキス、希塩酸抽出エキス、希酢酸抽出エキス) を得た。表1に昆布仮根から得られたエキス量を示す。

表1 昆布仮根からのエキス量

抽出溶媒	昆布仮根 (wet) 量 (g)	抽出溶媒量 (ml)	抽出エキス量 (g)
水	316.8	1200	923
希塩酸	316.5	1200	867
希酢酸	317.0	1200	1009

抽出エキスには、高分子物質 (目的となるフコイタンを含む) とともに、不要なアミノ酸や塩類 (抽出溶媒由来分も含む) が含まれており、分離精製が必要である。フコイダンの分子量は数百から数十万の幅広い分子量分布を持つといわれているが、高分子のフコイタンには、分画分子量が数万のUF膜による精製を検討した。また、塩類の除去や一部アミノ酸の除去が可能なEDについても比較試験を行った。

2.2 平膜UF処理による精製

平膜UF処理では、平膜試験機B-28 (旧ダイセル化学工業 (株) 製) を使用した。この試験機は有効膜面積28 cm²、最大処理量300ml、窒素による加圧方式で、攪拌機を備えたバッチ式試験機である。UF膜は分画分子量1万 (UH010)、5万 (UP050) の平膜 (ダイセン・メンブレン・システムズ (株) 製、材質ポリエーテルサルホン) の2種類を使用した。各エキス150mlを、ろ過圧力4 kg/cm²でUF処理し、ろ液量が120ml

事業名：経常研究

課題名：膜分離に関する基盤的研究

程度になるまで採取し、濃縮精製された内液について固形物量や核磁気共鳴 (NMR) スペクトル (JNM-ECZR600MHz, 日本電子(株)) による成分分析を行った。表 2 に、UF 処理から得たる液、内液量及び内液の固形物量 (凍結乾燥して測定)、また原料の昆布仮根に対する内液固形物の歩留まりを示す。さらに、図 1、2 に水抽出液エキスと希塩酸抽出エキスにおけるUH010とUP050の処理速度を比較するため、ろ液量の経時変化を示す。

表 2 平膜UF処理の内液、ろ液量と固形物量

	抽出溶媒	処理時間 (min)	ろ液量 (g)	内液量 (g)	内液固形物量 (g)	原料からの歩留まり (%)
UH010	水	80	122.9	25.5	0.318	0.62
	希塩酸	67	123.5	22.2	0.288	0.53
	希酢酸	—	125.0	28.8	0.444	0.94
UP050	水	78	122.9	22.9	0.262	0.59
	希塩酸	60	124.7	21.9	0.278	0.55
	希酢酸	48	123.7	25.2	0.368	0.78

(UH010による希塩酸抽出液の処理時間はろ圧力の調整を行ったため未測定)

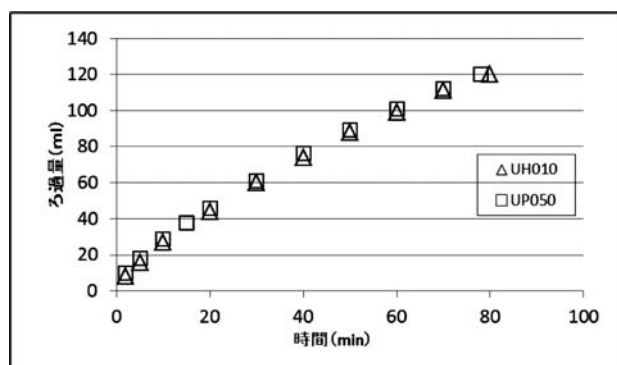


図 1 水抽出エキスのろ過速度(平膜)

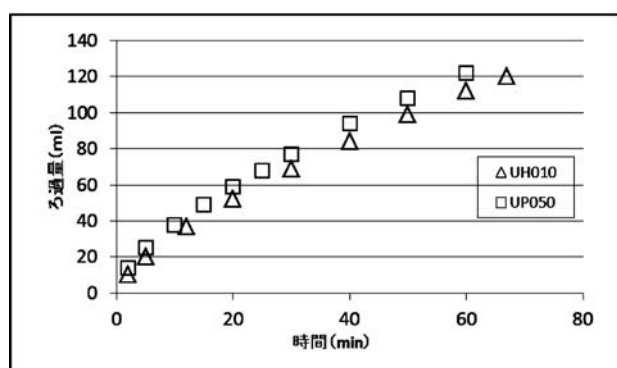


図 2 希塩酸抽出エキスのろ過速度(平膜)

分画分子量の異なる 2 種の UF 処理の結果、抽出・UF 処理精製した固形物量は希酢酸抽出エキスが一番多く、水抽出エキスと希塩酸抽出エキスはほぼ同じであった。当然ながら分画分子量が小さい UH010 の方が、UP050 より固形物量は

多い傾向であった。しかし、図 1、図 2 に示すとおり、ろ過速度に大きな差は見られなかった。清水のろ過において UP050 は UH010 の約 1.6 倍 (メーカー値) のろ過速度であり、エキス処理において UF 050 が UF 010 と変わらないろ過速度であったことから、抽出エキスには UF 050 を詰まらせる分子量 5 万程度の成分が含まれ、ろ過速度を低下させたと考えられる。得られた固形物量から算出した昆布仮根原料からの歩留まり (原料昆布仮根と抽出精製固形物の比率) は 0.53 ~ 0.94% であった。

2-3 ED処理による精製

ED 処理では、電気透析装置としてアシライザー-S3 (旭化成(株)製) を、透析膜は AC-220-550 (有効膜面積 550 cm²) を、電解液は 5% 硫酸ナトリウムを使用した。なお、AC-220 は 2 価の塩類も透過するイオン交換膜であり一部のアミノ酸も透過すると考えられる。ED 処理条件は試料の電気伝導率によって 3 段階に電圧値が設定される定電圧モードで行った。3 種の抽出エキスをそれぞれ 400g 使用し、各エキスの電気伝導率 11.3 ~ 13.0 mS/cm が、1.0 mS/cm 程度に到達した時点で ED 処理終了と判断した。表 3 に、ED 処理後の液量と固形物量を示す。

表 3 ED処理の液量と固形物量

抽出溶媒	処理時間 (min)	処理前電気伝導率 (mS/cm)	処理後電気伝導率 (mS/cm)	処理後液量 (g)	処理後固形物量 (g)	原料からの歩留まり (%)
水	35	11.3	1.0	385.4	1.012	0.74
希塩酸	35	12.9	1.0	386.6	1.697	1.16
希酢酸	45	13.0	1.1	368.4	1.555	1.24

ED 処理後のエキス液量は 368 ~ 385 g であり、固形物量は、希塩酸抽出エキスと希酢酸抽出エキスが水抽出エキスより多かった。原料からの歩留まりは希酢酸抽出エキス、希塩酸抽出エキスが高く水抽出エキスは低かった。

平膜 UF 処理と ED 処理を比較すると、ED 処理の方が原料からの歩留まりは高くなった。この差は昆布仮根の抽出エキスに含まれる無機塩類と一部アミノ酸以外の分子量数百 ~ 数万の物質が、平膜 UF 処理により除去・精製されたためと推定される。

図 3 に、水抽出エキスの平膜 UF 処理後固形物 (UH010) の NMR スペクトルを示す。スペクトルの横軸は δ (化学シフト) でプロトン(H)の化学的環境により変化し、測定物質の分子構造を解析できる。フコイダンは δ 5.5, 5.0, 1.2 ~ 1.4 付近 (図中 ABC) に特有のピークが検出される³⁾が、平膜 UF 処理後固形物の NMR スペクトル分析結果で、フコイダン由来のピークが検出され、UF 処理によるフコイダンの精製を確認できた。しかし、平膜 UF 処理ではフコイダンのピークは弱く、他の糖質またはポリペプチドに帰属されるピーク

(δ 1~2.2, δ 3.65~3.85, δ 8.6) が強く検出され、さらに精製が必要であることがわかった。

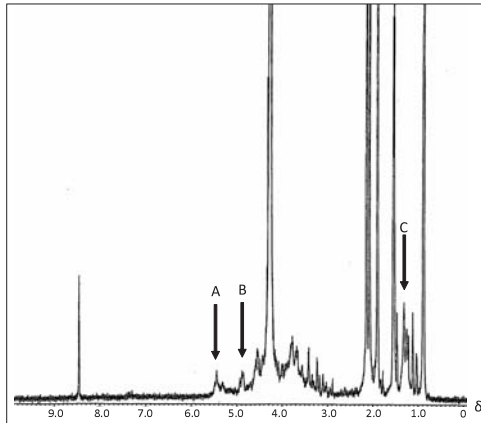


図3 水抽出エキス平膜UF処理後固形物のNMRスペクトル (A, B, Cがフコイダン由来ピーク)

3. 中空糸膜によるUF処理

平膜UF処理による精製効果が確認されたことから、スケールアップのため中空糸膜UF処理を検討した。抽出液は2.2節の調製方法により、昆布仮根4.083kgを13Lの水で抽出して得られた10.86kgの水抽出エキス、及び昆布仮根4.119kgを13Lの希酢酸で抽出して得られた9.73kgの希酢酸抽出エキスを用いた。

図4に、中空糸膜UF試験装置の概略を示す。中空糸膜UF処理は、内液流速で常に膜面の洗浄効果が得られるクロスフロー方式である。試験装置はインバータに接続したポンプ(EBARA FDFP 5.75A)で、原料エキスを内液とし膜モジュールに送液し、中空糸内部を内液が通過する。送液する圧力によりUF膜で低分子がろ過され、外液として排出される。低分子が低減した内液は原料タンクに戻り循環処理される。循環ポンプ駆動周波数と膜出口に設置したバルブで、循環流量と膜に加えるろ過圧力を調整する。中空糸膜は膜面積1 m²、分画分子量13,000のACP-2013(旭化成(株)製、材質ポリアクリロニトリル)を使用した。

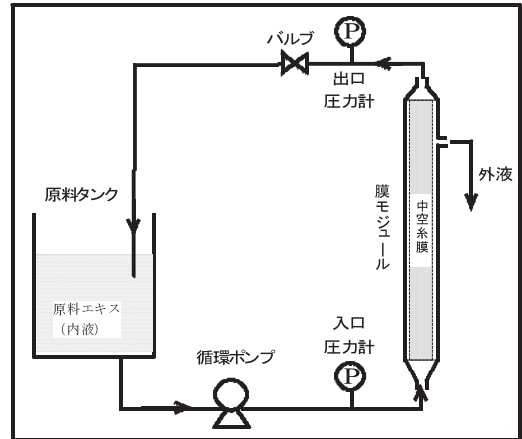


図4 中空糸膜UF処理試験装置の概略

処理条件として、内液の循環流量は膜面線速が約0.5m/sとなる14~15L/min、膜入口圧を0.1MPaとした。このとき、膜出口圧力は0.075MPaであり、処理の過程でほぼ変わらなかった。精製方法はまず抽出エキス原液を内液が循環できる最低量である3~3.5LになるまでUF処理(精製1回目)し、その後内液に10L加水し再び外液が10L得られるまで処理することを2回行い、合計3回の中空糸膜UF処理で抽出エキスを精製した。内液のBrixを測定して抽出エキス原料の値と比較することで処理中の内液固形物濃度の目安とした。図5, 6に、水抽出エキスと希酢酸抽出エキスにおける処理回数毎のろ過速度を比較するため、外液量の経時変化を示す。また、表4に各抽出エキスにおける、中空糸膜UF処理の内液、外液量と固形物量の結果を示す。

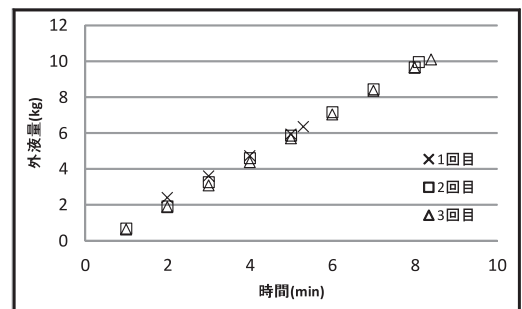


図5 水抽出エキスのろ過速度(中空糸膜)

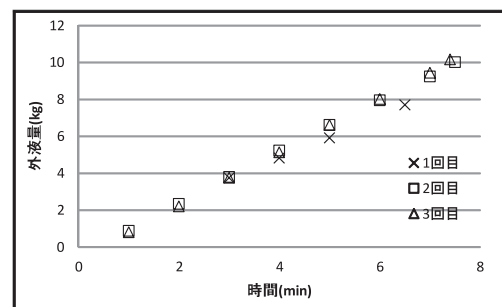


図6 希酢酸抽出エキスのろ過速度(中空糸膜)

表 4 中空糸膜 UF 処理の内液，外液量と固形物量

抽出溶媒		水	希酢酸
試料量 (kg)		9.73	10.86
固形物濃度 (%)		1.22	2.03
Brix (%)		1.3	3.0
pH		6.7	4.2
1	処理時間 (min)	5.3	6.7
	外液量 (kg)	6.35	7.7
	内液 Brix (%)	1.3	2.9
2	処理時間 (min)	8.0	7.5
	外液量 (kg)	9.95	10.02
	内液 Brix (%)	0.5	0.8
3	処理時間 (min)	8.4	7.4
	外液量 (kg)	10.1	10.16
	内液 Brix (%)	0.3	0.2
処理後内液量 (kg)		3.12	3.53
pH		7.1	4.2
固形物濃度 (%)		0.15	0.18
原料からの歩留まり (%)		0.11	0.15

中空糸膜 UF 処理は速やかに進み，2 回目 3 回目の処理時間は変わらず目詰まりの傾向はなかった。これは処理量に対し膜面積が大きかったためと考えられる。精製 1 回あたり処理時間は，10 L に 5.3～8.4 min を要したことから，本試験で使用した中空糸膜（膜面積 1 m²）では，1 時間で 60 L 程度の処理が可能と考えられる。また抽出溶媒による大きな差も見られなかった。3 回の精製について，内液 Brix は水抽出エキスで 1.3%→0.5%→0.3%，希酢酸エキスで 2.9%→0.8%→0.2% で，UF 膜を透過する低分子が外液に排出され，高分子の精製が進んでいることを確認できた。このとき，pH は水抽出エキス原料 pH 6.7→3 回目内液 pH 7.1，希酢酸抽出エキス原料 pH 4.2→3 回目内液 pH 4.2 でほぼ変わらなかった。

3 回の精製による内液の固形物濃度は，水抽出エキスで 0.15%，希酢酸抽出エキスで 0.18% となり，昆布仮根からの歩留まりは水抽出エキスで 0.11%，酢酸抽出エキスで 0.15% であった。これは平膜 UF 処理（UH010）の 2 割程度であり，1 回の平膜処理では通過しなかった不要物質が，クロスフロー方式で膜面が洗浄される中空糸膜 UF 処理では，3 回の精製により膜面を通過し，目的とするフコイダンを含む高分子の分画精製が進んだと考えられる²⁾。

図 7，8 に，水抽出エキス，希酢酸抽出エキスの中空糸膜 UF 処理後固形物の NMR スペクトルを示す。水抽出エキス，希酢酸抽出エキスともにフコイダン由来のピークが確認できた。水抽出エキスについて，図 3 の平膜 UF 処理後固形物 NMR スペクトルと比較すると，他の糖質やペプチド由来ピークが消え，フコイダン由来のピークが強くなっており，中空糸膜 UF 処理による精製が確認できた。

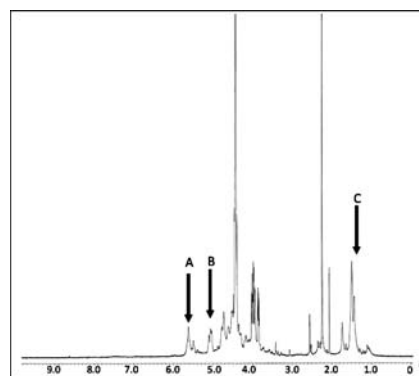


図 7 水抽出エキス中空糸膜 UF 処理後固形物の NMR スペクトル
(A, B, C がフコイダン由来ピーク)

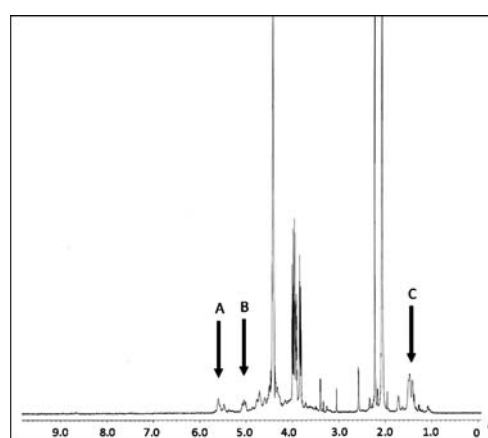


図 8 希酢酸抽出エキス中空糸膜 UF 処理後固形物の NMR スペクトル
(A, B, C がフコイダン由来ピーク)

4. まとめ

昆布仮根から抽出したエキスの精製を検討した結果，抽出エキスの含有成分について，分画分子量の異なる平膜 UF と ED 処理から塩類と数万までの物質の分画精製が可能であり，UF 処理により得られた精製固形物にはフコイダンが含まれていることが明らかになった。分画分子量 13,000 の中空糸膜を用いた UF 処理を 3 回行うことで，目的高分子の精製が可能であることを確認した。

今後，抽出効率の向上を含め，昆布仮根からの機能性食品原料の製造方法について検討を進めたい。

謝辞

本研究にあたり原料エキスの提供や精製処理物の NMR スペクトル分析等に御協力頂いたカイゲンファーマ(株)の西澤信氏に感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 食品膜・分離技術研究会25年のあゆみ-総集編-, (2013)
- 2) 膜の劣化とファウリング対策 p28-79: エヌティーエス, (2008)
- 3) 城間 力・上地俊徳・平良東紀・石原昌信・多和田真吉・田幸正邦: Isolation and Characterization of Fucoidan from *Hizikia fusiformis* (Hijiki), The Japanese Society of Applied Glycoscience, Vol.50, pp.361-365, (2003)