

超臨界二酸化炭素抽出法による鮭鱒皮の脱脂

清水英樹・熊林義晃・河野慎一・山崎邦雄

Removal of Lipids from Salmon and Trout Skin Using Supercritical Carbon Dioxide Extraction

Hideki SHIMIZU, Yoshiteru KUMABAYASHI, Shinichi KONO and Kunio YAMAZAKI

For the process of purifying collagen from trout skin, supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction was investigated as a method for removing lipids. Selected conditions such as extraction pressure, time of exposure and sample moisture content were evaluated in an effort to determine their significance regarding lipid removal. Freeze-drying and increasing extraction pressure and time were found to be effective in improving lipid removal.

The effect of ethanol as an entrainer was also evaluated and found to significantly enhance the lipid yield under all experimental conditions. Collagen extracted from trout skin defatted with SC-CO₂ was not damaged by this treatment.

超臨界二酸化炭素抽出法は、臨界温度(31.1°C)、臨界圧力(74 kgf/cm²)以上の超臨界状態の二酸化炭素を抽出溶剤として、原料物質から有価物を抽出・精製、あるいは不要な物質を抽出・除去する分離法である。その特徴については多くの総説^{1)~5)}で述べられているが、従来の溶媒抽出法と比較した場合、1)溶媒の留去が不要であること、2)毒性や引火の危険性がないこと、3)臨界温度が常温付近であるため成分の熱的分解や損失が少ないことなどの利点があり、食品・医薬品の分野をはじめ、各方面で研究・実用化されている。

一方、著者らはこれまで水産廃棄物である鮭鱒皮の有効利用を目的として、これらに存在する酸可溶性コラーゲンの抽出・精製およびその利用法について検討を行ってきた^{6)~8)}。コラーゲンには、食品素材・医用材料をはじめさまざまな用途があるが、特に医用材料として利用する場合は高度な精製が必要となる。鮭鱒皮には乾量基準で約20%の脂質が存在しており、高純度のコラーゲンを得るにはこれらの脂質を除去するための脱脂工程が不可欠である。

本研究では、超臨界二酸化炭素抽出法が前述のような利点を有することに着目し、この方法が鮭鱒皮コラーゲンを抽出・精製する際の脱脂方法として有効であるかど

うかを検討した。

実験方法

1. 試料

試料には以下の2種類を用いた。

- 1) 凍結保存した鱒皮を約2 cm角に細断したもの。
- 2) 凍結保存した鱒皮を約2 cm角に細断後凍結乾燥したもの。

2. 装置

超臨界抽出装置は、三菱重工業株式会社製 MSCF-5型(抽出槽500 ml、許容圧力300 kgf/cm²)を使用した。装置のプロセスフローの概略を図1に示した。

3. 抽出条件及び方法

(1) 抽出操作

抽出操作は、試料10 g(凍結乾燥試料の場合は5 g)を円筒濾紙に秤取して抽出槽に入れ、循環ポンプで抽出槽内部の抽出媒体を1時間循環させた後、5 l/minの速度で合計500 lの抽出媒体を排出することにより行った。

(2) 抽出温度及び圧力

抽出温度は、コラーゲンの変性を極力抑えるために二酸化炭素の臨界温度下限に近い40°Cとした。

また抽出圧力は、圧力の違いによる抽出量の変化を確

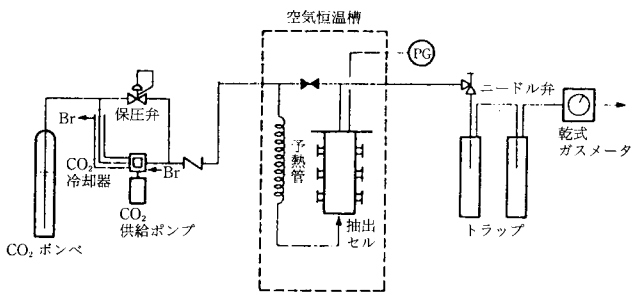


図1 超臨界二酸化炭素抽出装置のプロセスフロー

認するために、100, 150, 200, 250 kgf/cm²とした。

(3) エントレーナー（抽出助剤）

エントレーナーとしてエタノールを用い、各圧力条件下で、使用した場合と使用しない場合について比較した。エントレーナーは、抽出槽への連続供給が装置上不可能であるため、抽出操作毎に試料と接触しないようにビーカーに入れて抽出槽内にセットした。使用量は50 ml/バッチとした。（抽出媒体である二酸化炭素に対し、10% (V/V)）。

(4) 抽出時間

抽出時間の検討は前述のバッチ操作を繰り返すことにより行った。1バッチの抽出時間は1時間とし、繰り返し回数は最高4回とした。その際の抽出条件は以下のように設定した。

試料：凍結乾燥試料

抽出温度：40°C

抽出圧力：200 kgf/cm²

エントレーナー：エタノール 50 ml/バッチ

4. 脱脂後の酸可溶性コラーゲンの抽出法

酸可溶性コラーゲンの抽出は、以下のように行った。脱脂試料を20倍量の0.2 M 酢酸溶液に浸漬し、5°Cで24時間静置した後ろ過し、ろ液を遠心分離して不溶分を除去した。上澄に塩化ナトリウムを加えて塩析後、遠心分離で沈澱を集め、0.2 M 酢酸溶液に溶解した。この操作を2回繰り返した後、蒸留水に対して透析し、凍結乾燥することにより酸可溶性コラーゲンを得た。

得られた酸可溶性コラーゲンについては、凍結乾燥後の収率を求め、さらに SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、それらのバンドを比較した。

実験結果及び考察

1. 各処理条件下における脂質残存率

脂質残存率は、脱脂処理前後の試料中に存在する脂質を Bligh & Dyer⁹⁾の方法により抽出し、以下の式により

求めた。

$$\text{脂質残存率 (\%)} = \frac{\text{脱脂処理後の脂質量}}{\text{脱脂処理前の脂質量}} \times 100$$

各条件下における脂質残存率を図2, 3に示した。図2は凍結乾燥未処理試料、図3は凍結乾燥試料における結果である。なお、凍結乾燥処理は、鮭鱒皮コラーゲンの変性温度が約16°Cと低く、本試験における温度条件下ではコラーゲンの熱変性が考えられるため、試料水分の違いによる変性の有無および脂質残存率への影響を確認するために行った。

また、エントレーナーとしてのエタノール添加効果に

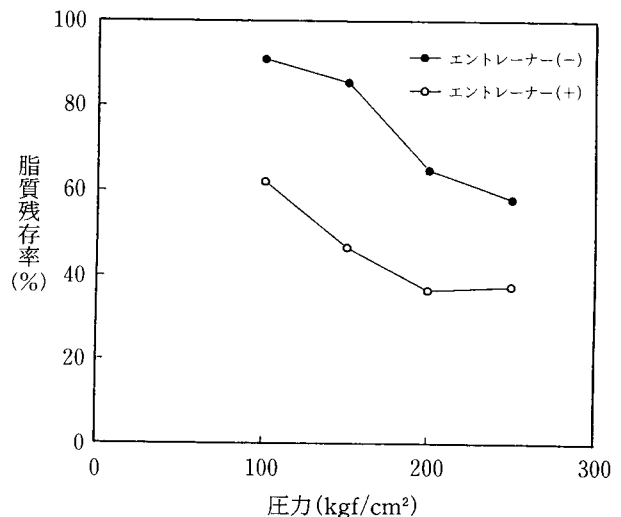


図2 各圧力条件下における脂質残存率 (試料：凍結乾燥未処理)

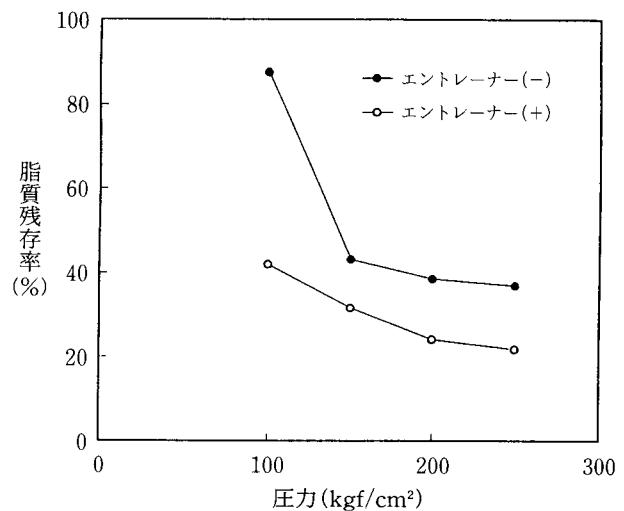


図3 各圧力条件下における脂質残存率 (試料：凍結乾燥処理)

ついて、HARDARDOTTIR¹⁰⁾らは超臨界二酸化炭素抽出による魚肉の脂質除去に関し、エタノール添加の明確な効果を報告しており、この要因を、エタノール添加による溶媒の極性増大がリン脂質とタンパク質の解離を促進し、その結果全脂質の抽出量が増加したためと推察している。

図2, 3にみられるように本試験においてもエタノールの添加が脂質除去に効果的であることがわかった。また、圧力の増加においても脂質残存率の低下傾向が認められ、100 kgf/cm²から250 kgf/cm²への圧力増加に伴い、エタノール添加の条件下で、凍結乾燥未処理試料が62.2%から37.6%、凍結乾燥処理試料が42.0%から21.8%まで、それぞれ脂質残存率は低下した。

試料水分の違いでは、凍結乾燥試料のほうがエタノール添加の有無や圧力条件の違いによらず脂質残存率は低い傾向にあった。また、抽出処理後の凍結乾燥未処理試料は一部ゲル状の塊となっており、コラーゲンの熱変性によるゼラチン化が起こったものと考えられる。

従って、超臨界二酸化炭素抽出法による鮭鱒皮コラーゲンの脱脂は、コラーゲンの変性を防ぐために凍結乾燥により原料皮の水分を除去し、高圧力下でエタノールをエントレーナーとして使用することにより効果的に行えることがわかった。

2. 繰り返し抽出操作による脂質残存率

本試験において使用した装置は、エントレーナーの連続供給が不可能であり、一定量のエントレーナー存在下における脂質残存率の経時変化をモニタリングすることはできない。従って、バッチ抽出操作の繰り返しによる脂質残存率の経時変化を検討した。

凍結乾燥試料を用い、抽出温度40°C、抽出圧力200 kgf/cm²、エントレーナー添加の条件下で繰り返し抽出操作を行った場合の脂質残存率を図4に示した。

その結果、抽出操作の繰り返しにより脂質残存率は減少し、4回抽出操作(抽出時間:4時間)を行った試料中の脂質残存率は7%であった。これは、凍結乾燥前の原料皮に対する脂質量として換算すると0.8 WB%に相当し、従来のクロロホルム-メタノール脱脂法⁹⁾の場合とほぼ同等の良好な脱脂率であった。

なお、前述のとおり本試験で用いた装置はエントレーナーの連続供給が不可能なため、バッチ操作の繰り返しによる処理を行ったが、エントレーナーの連続供給が可能な装置を用いた場合、さらに効率的な脱脂処理が行えるものと考えられる。

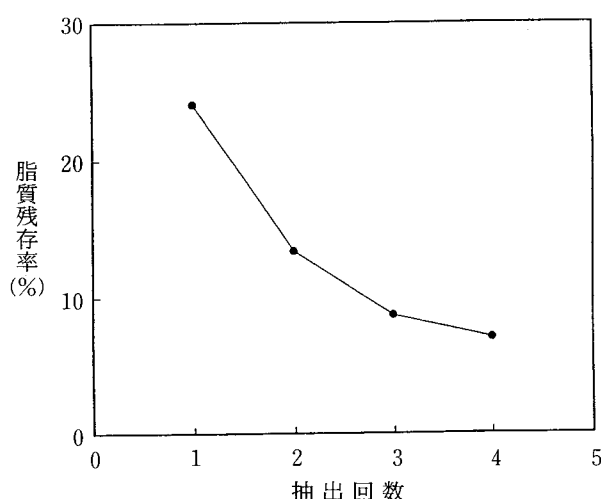


図4 繰り返し抽出操作における脂質残存率

3. 酸可溶性コラーゲンの抽出及び評価

超臨界二酸化炭素抽出法により脱脂した試料およびクロロホルム-メタノール法により脱脂した試料から抽出した酸可溶性コラーゲンの、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の結果を図5に示した。

電気泳動によるバンドは、両試料ともに同様のパターンを示し、熱変性したゼラチンのようにスメア状のパターンは認められなかった。

また、酸可溶性コラーゲンの収率はともに約12%と良好であった。

以上の結果から、超臨界二酸化炭素抽出による鮭鱒皮の脱脂は、凍結乾燥した原料皮を用い、圧力200 kgf/cm²、温度40°C、エタノール添加の条件下で、コラーゲンに対し熱や圧力による変性等の影響を与えずに行えることがわかった。また、本脱脂法は従来のクロロホルム-メタノール脱脂法のように溶媒の残留等の危険性もないため安全性の面でも優れた方法と考えられる。

要 約

鮭鱒皮コラーゲンの生産を目的として、その抽出精製工程における超臨界二酸化炭素脱脂法の有用性について検討した。

凍結乾燥鱒皮を用い、圧力200 kgf/cm²、温度40°Cの条件下でエントレーナーとしてエタノールを使用することにより良好な脱脂率が得られた。また、本法により脱脂処理した鱒皮のコラーゲンは、熱や圧力による変性もなく良好な収率で抽出できることがわかった。

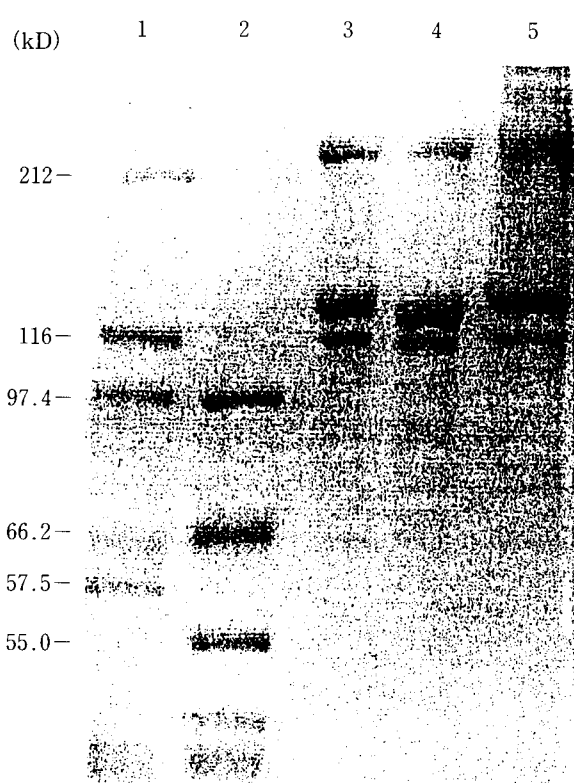


図5 脱脂処理後の魚皮から抽出した酸可溶性コラーゲンの SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動
 1: 分子量マーカー(1)
 2: 分子量マーカー(2)
 3: クロロホルム-メタノール脱脂によるコラーゲン
 4: 超臨界二酸化炭素脱脂によるコラーゲン
 5: ゼラチン

文 献

- 1) IPC 技術情報室：超臨界流体の基礎・物性・利用技術 (IPC, 東京), p.59 (1985).
- 2) 片岡義彦：食品工業, **30**, 21 (1987).
- 3) 有馬満：食品工業, **30**, 31 (1987).
- 4) 長浜邦雄：ジャパンフードサイエンス, **9**, 26 (1988).
- 5) 鈴木康夫：ジャパンフードサイエンス, **9**, 33 (1988).
- 6) 山崎邦雄・熊林義晃・清水英樹・渡辺治・清水條資：平成5年度共同研究報告書「海洋生物コラーゲンを利用した機能性膜の開発」(1994).
- 7) 山崎邦雄・熊林義晃・清水英樹・河野慎一・清水條資：平成6年度共同研究報告書「海洋生物コラーゲンを利用した機能性膜の開発」(1995).
- 8) 山崎邦雄・熊林義晃・清水英樹・河野慎一・清水條資：平成7年度共同研究報告書「海洋生物コラーゲンを利用した機能性膜の開発」(1996).
- 9) Bligh, E.G. and Dyer, W.J.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959).
- 10) Hardardottir, I. and Kinsella, J.E.: *J. Food Sci.*, **53**, 1656 (1988).