

塩蔵オキアミの利用に関する研究 (第1報)

——イソプロピルアルコール抽出法によるオキアミ
たん白質濃縮物 (KPC) およびエキスの調製——

河端 信, 田口邦子, 大槻耕三, 田中敬子*

Studies on Utilization of Salted Antarctic Krill (*Euphausia superba*)

I-Preparation of the Krill Protein Concentrate (KPC) and Extractives
from the Salted Antarctic Krill by Isopropyl Alcohol Extraction

MAKOTO KAWABATA, KUNIKO TAGUCHI, KOZO OHTSUKI
and YOSHIKO TANAKA*

An attempt was made to prepare the active krill protein concentrate (KPC) from salted antarctic krill by the extraction with isopropyl alcohol (iso-PrOH) without heat treatment. Salted krills were homogenized and filtered with Nylon gauze to remove the exoskeleton. Pink milky juice was mixed with an equal volume of iso-PrOH. As iso-PrOH does not miscible with salt solution, the miscella was separated into three layers by the centrifugation at 3,000 rpm for 10 min. The upper solvent layer contains lipids, pigments and other fat soluble vitamins. The krill protein was concentrated in the middle layer and non-protein nitrogen fraction, "the extractives", and the greater part of NaCl were recovered in the bottom aqueous layer. One of the typical KPC from salted krill contains 84% crude protein, 4% ash, 1% NaCl and 0.3% lipid and was rich in essential amino acids comparable to beef protein.

緒 言

南極オキアミ (*Euphausia superba*) は新しいたん白質資源として注目され, 各国で利用に関する研究が進められているが, オキアミを人類の食糧として利用する場合多くの難点がある。その中でも次の二点が最も困難な問題となっている。(1), 輸送および加工に大量のエネルギーとコストを必要とする。(2), オキアミが持っている自己消化酵素および酸化酵素が低温においても極めて活性であること。特に第二点の問題を解決する手段として, 漁獲後直ちに加熱して酵素を失活させる方法が多くの場合行なわれている。した

がって, これらから得られたたん白質はすでに熱変性を受けているので機能特性が失われ, その用途も限られる。

著者らは古くから水産物の貯蔵法として行なわれている塩蔵法に注目し, 漁獲後直ちに塩蔵を行なって諸酵素の活性を抑制して持ち帰った試料から, イソプロピルアルコール (iso-PrOH) が塩類溶液に溶けない性質を利用して, 脱脂, 脱色, 脱臭, 脱塩されたオキアミたん白質濃縮物 (KPC) を調製し, 同時に天然調味料として利用できるオキアミエキスを分離することができたのでそれらの化学成分の分析結果と共に報告する。

*光華女子短期大学

実験方法

1 実験材料

塩蔵オキアミ：1976年2月11日，南緯 65°59′ 東経 56°38′ において大洋漁業により漁獲された南極オキアミ (*Euphausia superba*) 70 kg を直ちに飽和食塩水中 (海水 70 kg に食塩 26 kg を加えたもの) に30分間浸漬してひきあげ20分水切りしたのち，さらに食塩 26 kg を 5~7 cm 層毎にまいて漬け込み，5℃ に貯蔵して日本へ持ち帰り1976年4月26日以降は-25℃ に貯蔵しておいたもの。

生凍結オキアミ：1976年12月21日，日本水産により漁獲されたものをそのまま -25℃ に冷凍貯蔵したもの。

2 化学成分の分析法

成分組成は以下の方法で測定した。水分は赤外線水分計 (ケット製 F-IA 型) により，粗たん白質は AOAC のマイクロケルダール法により全窒素を求め 6.25 を乗じて求めた。粗脂肪はソックスレー抽出器を用いてエチルエーテルで10時間抽出を行なった。粗灰分は直接灰化法，リンは灰化した試料を塩酸で溶解した供試液につき Allen の中村による変法¹⁾，カルシウム，マグネシウム，鉄および銅は硝酸-過塩素酸により湿式分解した供試液につき日立原子吸光光度計508A型を使用して原子吸光分析法，ナトリウムは炎光分析法で測定した。

3 アミノ酸組成の分析法

試料に 6N-HCl を加えて減圧封管し，110℃ で24時間加水分解したものにつき日立 KLA-5 型アミノ酸自動分析機を用いて分析を行なった。なお，トリプトファンは P-ジメチルアミノベンズアルデヒド (DAB) 法²⁾ により，オルニチンは吸光比により求めたりジンとのモル比から計算により求め，ベタインは AOAC の分析法³⁾ により測定した。

4 セファデックス G-25 によるゲルろ過

3.0 × 28 cm のカラムに蒸留水で膨潤させたセファデックス G-25 のゲルをつめ，エキスの10倍希釈液 1 ml (N 2.2 mg 含有) につきゲルろ過を行ない，溶出液 3.5 ml ずつをフラクションコレクターで分取し，各試験管につき，260 nm，280 nm の吸光度測定，塩濃度は電導度計 (CD-35 M エムエス機器製) 糖はフェノール硫酸法⁴⁾，アミノ基はニンヒドリン反応⁵⁾ 着色物質 (褐色) は 450 nm の吸光度により測定を行なった。

5 核酸関連物質の同定

セファデックス G-25 によるゲルろ過を行ない分画された各画分を集め，糖およびリンの定量，さらに

Dowex-1 によるカラム処理⁶⁾ を行なった各画分の紫外外部吸収スペクトルの測定を124型ダブルビーム日立分光光度計で行ない物質の同定を行なった。

実験結果

1 塩蔵オキアミの化学組成

この実験に使用した塩蔵オキアミおよび生凍結オキアミの成分組成を (Table 1) に示す。

Table 1. Chemical Composition of Salted Krill

	Salted Krill (%)	Raw Frozen Krill (%)
Moisture	56.1	80.1
Crude protein*	13.6	11.6
Crude Fat	3.9	2.7
Crude Ash	23.2	2.3
NaCl	22.9	0.8
Ca	0.4	0.3
Mg	—	0.07
P	0.1	0.2
Protein N	(36.3)	(61.9)
Nonprotein N	(63.7)	(38.1)

* N × 6.25

values in brackets are % to the total N

2 iso-PrOH 層分離に及ぼす食塩濃度の影響

KPC 調製の際，たん白質の沈殿および iso-PrOH 層とエキス層の分離を完全に行なうための最適な食塩と iso-PrOH の濃度関係を検討した。食塩 0.3~1.0 飽和溶液に同容の iso-PrOH を加え分離した iso-PrOH と食塩溶液の容積比および iso-PrOH 層へ移行した食塩量を測定した結果を (Fig. 1) に示す。食塩 0.4 飽和以下では iso-PrOH 層は分離せず，食塩 0.8 飽和以上では食塩が析出する。したがって，搾汁に iso-PrOH を同容加えるとき，食塩を 0.5~0.7 飽和の範囲に調整する必要がある。

3 オキアミたん白質濃縮物 (KPC) の調製

塩蔵オキアミ 200 g に 100 ml の水を加えてホモジナイザーで磨砕する (7,000 rpm, 1min)。ホモジネートをナイロンゴースでろ過し，ピンク色ミルク状の搾汁 240 ml を得る。残渣は甲殻部分であるが，水洗の後乾燥した。(収量約 4g)。

搾汁に同容の iso-PrOH を加えてよく攪拌し，混合液を 3,000 rpm, 10分間遠心分離を行なうと，上中下三層に分離する。上層は溶媒，脂質，色素等を含み，中間層にたん白質沈殿が集まり，下層の水層には

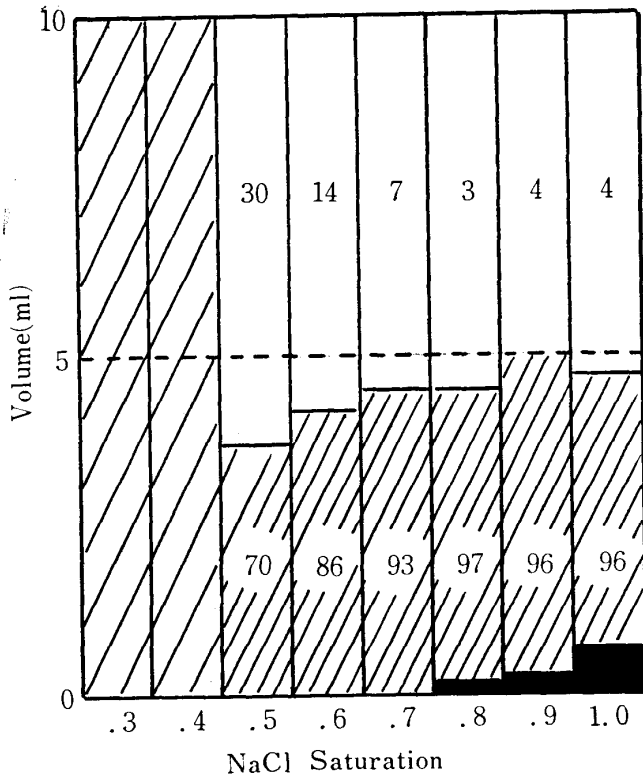


Fig. 1. Distribution of NaCl to the iso-PrOH—Brine System

□ iso-PrOH
 ▨ Brine
 ■ Solid NaCl
 figures are % to the total NaCl

遊離のアミノ酸を主成分とする非たん白態窒素化合物と食塩の大部分が回収される。

中間層に集められたたん白質沈殿は、さらに50% iso-PrOH で2回、95% iso-PrOH で2回抽出して脂質、色素等を完全に除き真空乾燥し、オキアミたん白質濃縮物 (KPC) を得る。収量は塩蔵オキアミ 200 g から約 8 g であった。

このものはまだ乾物重量当り約6%の食塩を含んでいるのでさらに水に対して透析を行なうか、0.03 M クエン酸緩衝液または酢酸で pH 4.5 に調整した液で洗浄したのち乾燥した試料も調製した。これらの KPC の収量はそれぞれ約 7 g であった。

4 オキアミエキスの調製

さきの遠心分離により分離した下層の水溶層をロータリーエバポレーターを用いて約1/3容にまで濃縮すると、大部分の食塩が結晶として除かれるとともに飽和食塩水中に濃縮されたオキアミエキス約 50 ml を得る。

以上の KPC およびオキアミエキスの調製法の概要を (Scheme 1) に示す。

5 KPC の化学組成

塩蔵オキアミから上記の方法で抽出して得られた KPC は無臭の淡桃色の粉末で、その成分

Scheme 1. Preparation of KPC from Salted Krill

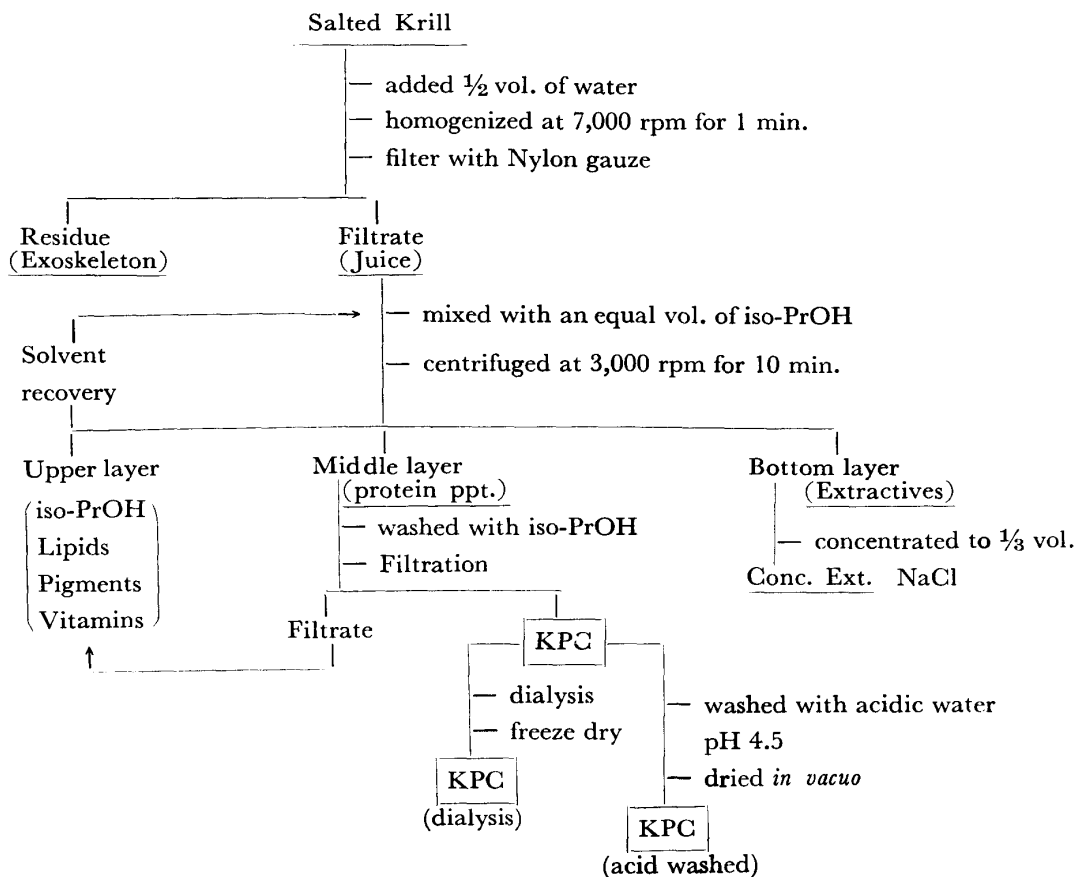


Table 2. Chemical Composition of the Krill Protein Concentrate

	KPC (%)				
	Salted Krill				Raw Frozen Krill
	(1)	(2)	(3)	(4)	
Moisture	10.9	9.5	11.0	9.0	8.5
Crude Protein*	68.1	68.8	84.4	89.4	77.2
Crude Fat	—	0.3	—	—	0.2
Crude Ash	15.7	12.8	4.0	2.1	7.4
NaCl	6.0	0.8	1.0	0.5	0.3
Ca	2.2	3.6	0.7	0.4	2.0
Mg	0.4	0.6	0.03	0.05	0.5
P	1.6	0.5	0.3	0.05	1.1

* N×6.25

(1) untreated

(2) dialyzed

(3) pH was adjusted to 4.5 with acetic acid

(4) washed with citrate buffer (0.03M, pH 4.5)

Table 3. Amino Acid Composition of the Krill Protein Concentrate (g/N 16 g)

	Krill Protein Concentrate		Jack Mackerel*	Beef*
	Salted KPC	Raw Frozen KPC		
Trp	1.0*2	1.2*2	1.3	1.3
Lys	8.7	8.1	8.8	9.1
His	2.3	2.6		
Arg	6.2	6.7		
Asp	14.1	13.4		
Thr	4.7	5.8	4.2	4.5
Ser	4.5	5.3		
Glu	16.0	15.5		
Pro	4.4	5.1		
Gly	5.1	4.6		
Ala	6.0	6.0		
Cys	0.8	1.5	1.1	1.2
Val	6.4	6.5	5.0	5.4
Met	3.1	3.6	2.7	2.2
Ileu	7.5	6.8	4.5	4.8
Leu	10.2	10.1	7.2	8.8
Tyr	5.6	5.1	2.9	3.5
Phe	6.6	6.1	3.5	3.5

* from Standard Table of Food Composition

*2 DAB method

組成の分析結果を (Table 2) に示す。

さらに水に対して透析を行なうことにより食塩 1% 以下クエン酸緩衝液 (0.03 M pH 4.5) および酢酸溶液 (pH 4.5) で洗浄処理を行なうことにより、カルシ

Table 4. Chemical Composition of Concentrated Extractives from Salted Krill

Extractives			
Moisture	68.3 (%)	Ca	31.3 (mg%)
Crude protein	11.6	Fe	1.6
Crude Ash	23.4	Cu	1.4
NaCl	19.8	P	12.5

Table 5. Amino Acid Composition of the Krill Extractives (mg/100 ml of Extractives)

	Free	Peptide-Composing*
Trp	48	
Lys	1073	
His	178	
Arg	993	87
CySO ₃ H	29	98
Asp	286	719
Thr	396	
Ser	331	68
Glu	279	685
Pro	593	294
Gly	709	229
Ala	717	
CyS	0	
Val	299	135
Met	201	
Ileu	374	
Leu	544	
Tyr	82	
Phe	206	
Orn	137	
Tau	919	
NH ₃	4	

* The amounts are calculated from the difference between the values before and after hydrolysis

ウム、マグネシウムおよびリンがかなり除かれたたん白質含量の高い KPC を得ることができた。

KPC のアミノ酸分析の結果を (Table 3) に示す。グルタミン酸、アスパラギン酸、ロイシン、リジン、イソロイシンを多く含み、魚肉 (アジ)、牛肉たん白質のアミノ酸組成⁷⁾ と比較すると必須アミノ酸含量においてもやや高い値を示している。

6 オキアミエキスの化学組成

上記の方法で得られたオキアミエキスは食塩が飽和したエビ臭のある濃褐色の溶液で、その成分組成

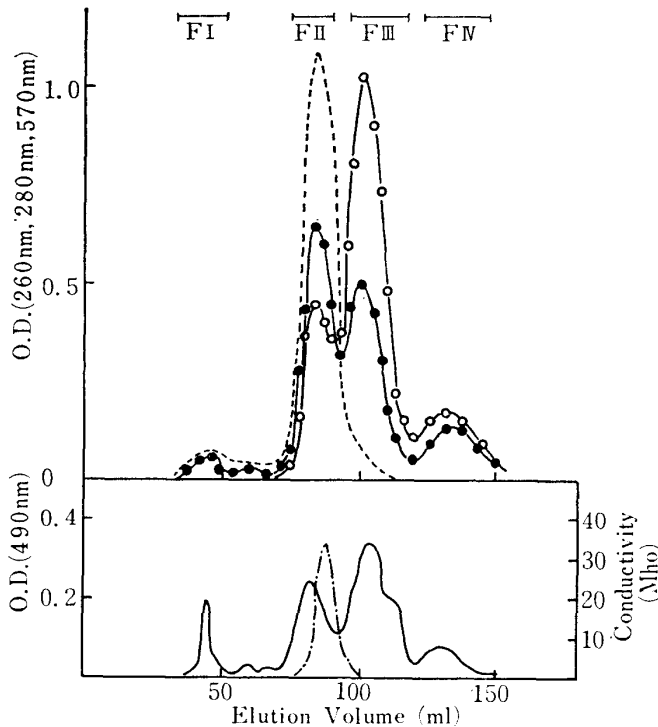


Fig. 2. Gel Filtration Pattern of Krill Extractives on Sephadex G-25
 Column size : 3.0×28 cm
 ○—○ 260 nm — 490 nm
 ●—● 280 nm - - - Mho
 - - - - 570 nm

を (Table 4) に アミノ酸分析の結果を (Table 5) に示す。

遊離のアミノ酸はリジンについてアルギニン, アラニン, グリシンおよびロイシンの含量が多く, またベタインも 15.1 mg/ml 含まれ, タウリンおよびオルニチンの存在も認められた。

加水分解前と後の組成を比較した結果からペプチド部分を構成するアミノ酸としては, アスパラギン酸, グルタミン酸が特に多く, その他プロリン, グリシン, バリンからなっていることが認められた。このように呈味力の強いグリシン, アラニンなどが多く含まれていることが, オキアミエキスが旨味を呈する要因となっている。

7 オキアミエキスのセファデックス G-25 によるゲルろ過

オキアミエキスのセファデックス G-25 によるゲルろ過パターンを (Fig. 2) に示す。

void volume で溶出する高分子物質はほとんど含まれておらず, わずかに糖反応を呈する着色物質が溶出している (F I)。第2の画分 (F II) はニンヒドリン反応による呈色が非常に高く, ピークの後半は塩溶出画分と重なっていることから, 窒素化合物のうち

低分子のペプチドおよび遊離のアミノ酸が溶出していると考えられる。

第3 (F III), 第4 (F IV) 画分は吸光度が $E_{260nm} > E_{280nm}$ の値を示し, F III は糖反応のピークが複数であることから単一成分ではない。F III, F IVともにリンの反応がマイナスを示すことから核酸関連物質としてはヌクレオシドの形をとっていることが予想された。

8 オキアミエキスの紫外外部吸収スペクトルの測定

セファデックス G-25 によりゲルろ過を行なって分画された F III, F IV をそれぞれ集め, Dowex-1 によるカラム処理を行ない紫外外部吸収スペクトルの測定を行なった。標準品の吸収スペクトル⁸⁾と比較した結果, F III はイノシンとグアノシン, F IV はアデノシンの存在が確認された。

考 察

生凍結オキアミのたん白態窒素は全窒素に対して約 60% であるが⁹⁾, 塩蔵オキアミの場合は食塩により酵素の働きが抑制されるので, 1年後でも約 36% のたん白態窒素が KPC として分離可能である。さらに非たん白態窒素の大部分もオキアミエキスとして容易に分離利用できるこの塩蔵法は漁獲・輸送の際の船上装置として, 加熱・冷凍装置を必要としないので, 経済性・省エネルギーの立場から非常にすぐれている方法といえる。

また, iso-PrOH 抽出法により塩蔵オキアミからたん白質を分離調製したが, たん白態窒素に対する KPC としての窒素回収率は約 71% であり, 甲殻の部分にもたん白質の付着が考えられるので, 飼料等への利用を考慮すれば十分満足できる方法である。

KPC の分離の際に脱脂, たん白質の沈殿およびオキアミエキスの抽出分離を完全に行なうためには, 試料の塩濃度の調整ならびに最初に加える iso-PrOH の量に注意しなければならない。

ここで得られた KPC は, 生凍結の試料から松本等¹⁰⁾の方法で調製された KPC に比べて脂肪が十分除かれている。iso-PrOH を使用して生凍結試料から調製した桑野等¹¹⁾の KPC とは大体近い分析値を示している。また, FAO が示している魚肉たん白濃縮物 (FPC) の Type-A の規格¹¹⁾にも当てはまった値を示している。

さらに, 機能特性の面では一度も加熱されていないので食品加工素材としての利用に対する広範性, 脱脂されたことによる保蔵性, 栄養面では高たん白質, 低

脂肪食品としての利用上の利点は大いに注目される。

オキアミエキスにはイノシン酸が含まれずイノシン、アデノシンが含まれていることから、核酸関連物質に関係する酵素系が他の甲殻類と同じであると考えられる。

また、食塩、iso-PrOH の回収による再利用の可能性も、経済性の点で大いに役立つと考えられる。

以上のように、たん白質を主体としてほかの有価成分の全面利用をはかる上で、たん白質、オキアミエキス、甲殻、脂質、色素等が同時に回収できるこの塩蔵オキアミからの iso-PrOH 抽出法は大いに各方面で実用化に対する発展性を持っている方法と考えられる。

要 約

1 オキアミを漁獲後直ちに塩蔵して持ち帰る方法は、船上処理等の省エネルギー化、運搬経費の節減に大いに役立つ。

2 iso-PrOH により脱脂、脱色を行ない KPC、オキアミエキスを抽出分離し、さらに甲殻、脂質画分も得た。

3 KPC は無臭の淡桃色の粉末で、粗たん白質 84%、粗灰分 4%、食塩 1%、脂質 0.3% を含み、アミノ酸組成は牛肉たん白質より優秀で、一度も加熱されていないので食品加工素材としてその利用範囲は広

い。

4 オキアミエキスの窒素成分の大部分は遊離のアミノ酸で、リジン、アルギニン、アラニン、グリシン、タウリン、ベタインを多く含み、甘味を帯びた旨味を呈し、天然調味料としての利用が期待できる。

(1978年7月29日 受理)

文 献

- 1) 中村道徳：農化，**24**, 1 (1950)
- 2) 日本化学会編：実験化学講座，23巻(丸善)P. 144 (1973)
- 3) H. William: *Methods of Analysis of the AOAC* **11 ed**, p. 376 (1970)
- 4) M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton P.A. Rober, and F. Smith: *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956)
- 5) S. Moore and W.H. Stein: *J. Biol. Chem.*, **176**, 367 (1948)
- 6) 浮田忠之雄：核酸，(朝倉書店) P. 86 (1965)
- 7) 科学技術庁資源調査会：日本食品標準成分表
- 8) 浮田忠之雄：核酸 (朝倉書店) P. 67 (1965)
- 9) 築瀬正明：東海水研報，**77**, 97 (1974)
- 10) 松本恵子，一寸木宗一，浜倉大全，前川昭男，鈴木隆雄：栄養と食糧，**29**, 347 (1976)
- 11) 桑野和民，三田村敏男：日水誌，**43**, 559(1977)