

<令和元年度助成>

多段階水熱処理を利用した廃棄ワカメからの 機能性食品原料の創製に関する研究

佐々木 千鶴

(徳島大学大学院 社会産業理工学研究部)

1. はじめに

ワカメは古来より我々の食卓には欠かせない食品の1つである。徳島県では鳴門市を中心にワカメの養殖産業が盛んである。食用ワカメはワカメ全体のうちの葉部の部分であり、太い茎の部分や仮根と呼ばれる養殖用ロープに巻き付く部分は廃棄される。これらの廃棄部分の多くは焼却処理や埋立処理されるが、処理費用の負担などから産業廃棄物としての利用価値が模索されている。そこで、本研究では、廃棄ワカメの有効利用を目的とし、水熱処理の1種であるマイクロ波処理を用いての低温度域と高温度域のそれぞれの処理により機能性ペプチドおよび有価糖(フコイダン)を効率的に創製することとした。

2. 実験方法

2.1 試料

実験に用いた廃棄ワカメ試料は、徳島県北灘漁業協同組合より供与頂いた。実験に供する前に、試料に含まれる貝殻、微生物等のワカメ以外の物質を取り除き、ナイフで3 cm片程度に裁断したのち、フードプロセッサを用いてさらに細かく裁断した。乾燥重量当たりのタンパク質および炭水化物含有率はそれぞれ11.1、58.8%であった。

2.2 廃棄ワカメの低温度域マイクロ波処理によるペプチドの創製

マイクロ波装置専用の反応試験管にワカメを乾燥重量0.3 gあるいは0.5 gを入れ、蒸留水を20 ml添加し、マイクロ波照射を行った(ワカメ濃度は

15 g/Lあるいは25 g/Lとなる)。装置はバイオタージ・ジャパン(株)のinitiator+(イニシエータープラス)を用いた。マイクロ波処理温度は55、80、100、120、140および160℃とし、処理時間は20分とした(ただし、ワカメ濃度25 g/Lの場合は、処理温度は55、80、100および120℃とした)。マイクロ波処理後の試料は遠心分離をし、上清に含まれるペプチド量をLowry法により定量した。また、以下のアンジオテンシン阻害活性試験に供した。

2.3 ペプチドのアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性試験

血管の収縮と血圧上昇に関与するアンジオテンシン変換酵素(ACE)を阻害することで、血圧上昇の抑制に繋がる。本活性の程度については、O-フタルアルデヒドを用いた蛍光強度測定法により測定した。

2.4 廃棄ワカメの高温度域マイクロ波処理によるフコイダンの創製

2.2と同反応試験管にワカメを乾燥重量0.6 gを入れ、蒸留水を15 ml添加し、マイクロ波照射を行った。マイクロ波処理温度は120、150、170および190℃とし、処理時間はそれぞれの温度について1、10、30分とした。マイクロ波処理後の試料は図1に示す手順にてフコイダンを創製した。マイクロ波処理による水熱処理の比較として、オートクレーブ処理(AC、120℃において1分、10分、30分)による処理も行い、同手順によりフコイダンを創製し、比較した。

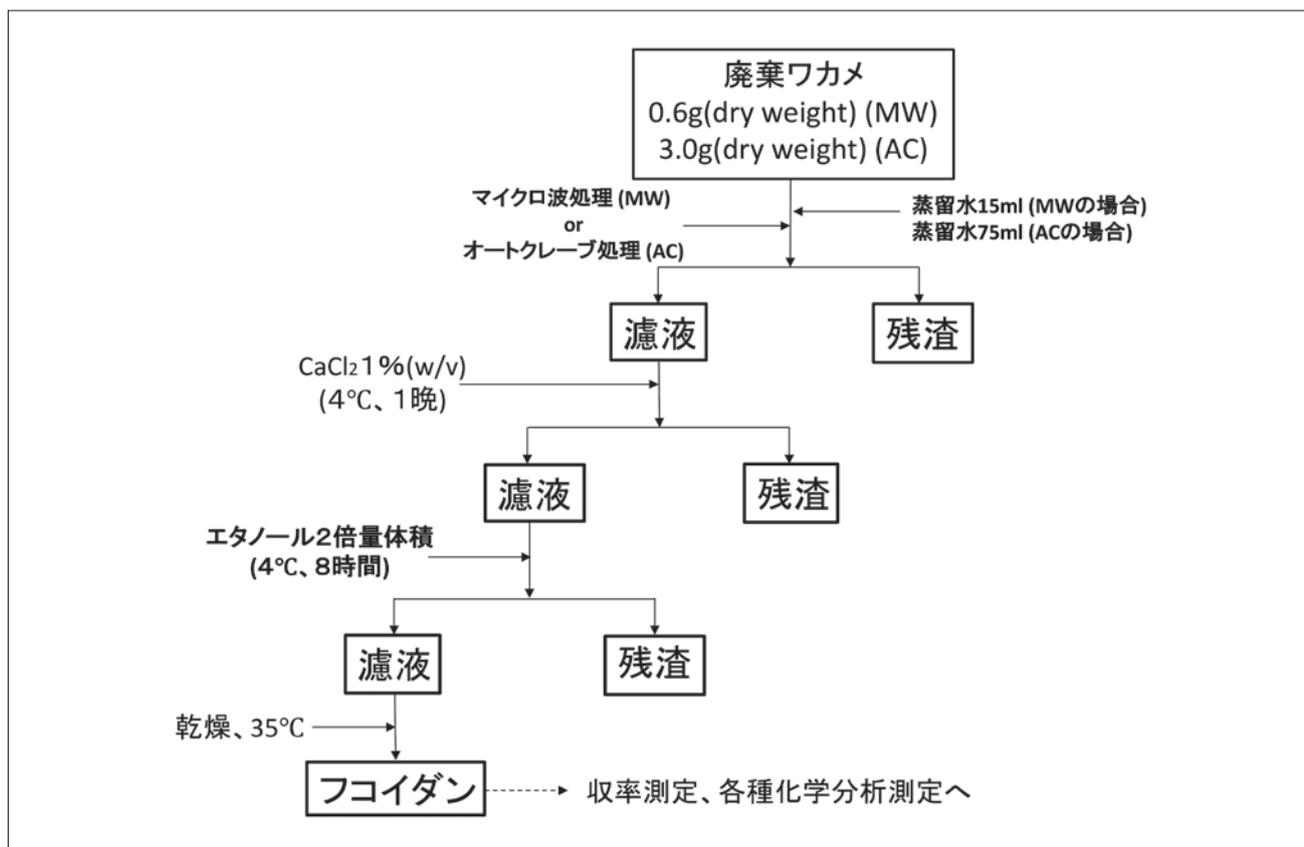


図1 廃棄ワカメを用いたフコイダンの創製法

2.5 創製フコイダンの化学的特性分析

創製したフコイダンの構造解析は、KBr 錠剤法による FT-IR スペクトルを測定し、市販のワカメ由来フコイダン (Sigma-Aldrich 製) と比較した。また、創製フコイダンに含まれる全糖量は、硫酸加水分解を行ったのち、フェノール硫酸法により定量し求めた。さらに、全糖量中のフコースの含有量は、HPLC (Aminex HPX-87H カラム、流速 1.0 ml/min、5 mM 硫酸水溶液) により定量した。

3. 結果と考察

3.1 廃棄ワカメの低温度域マイクロ波処理によるペプチドの創製とその機能性

図2 (上段) にワカメの処理濃度 15 g/L および 25 g/L でマイクロ波処理して得られたワカメに含まれるタンパク質当たりのペプチド収率を示す。ワカメ処理濃度 15 g/L と 25 g/L の共通処理温度である 55、80、100、120°C のいずれの温度においても

15 g/L の処理濃度の方が高いペプチド収率を示した。また、最大のペプチド収率を示したのは、140°C での処理のものであり、67.8%であった。加水分解法の比較対照として、プロテアーゼ酵素によるペプチドの生産も行った(図2 下段)。酵素は、アルカラゼ (Alc)、オリエンターゼ 22BF (22BF) およびヌクレイシン (Nuc) を用いた。酵素による加水分解法においても、ワカメの処理濃度は 15 g/L の方がより高いペプチド収率を与えることがわかった。また、加水分解反応時間は長い方がペプチド収率は高い傾向が見られ、最大のペプチド収率は Nuc で 6 時間加水分解した場合であり、51.5%であった。以上の結果から、マイクロ波処理を用いたペプチド生産法においては、短時間 (20 分) で効率的に高いペプチド収率を得ることが可能であることがわかり、また、処理の際の濃度は 25 g/L よりも低い 15 g/L の濃度での処理が適していることが明らかとなった。

次に、ワカメから得られたペプチドの機能性として、血圧上昇抑制作用の指標である ACE 阻害活性に

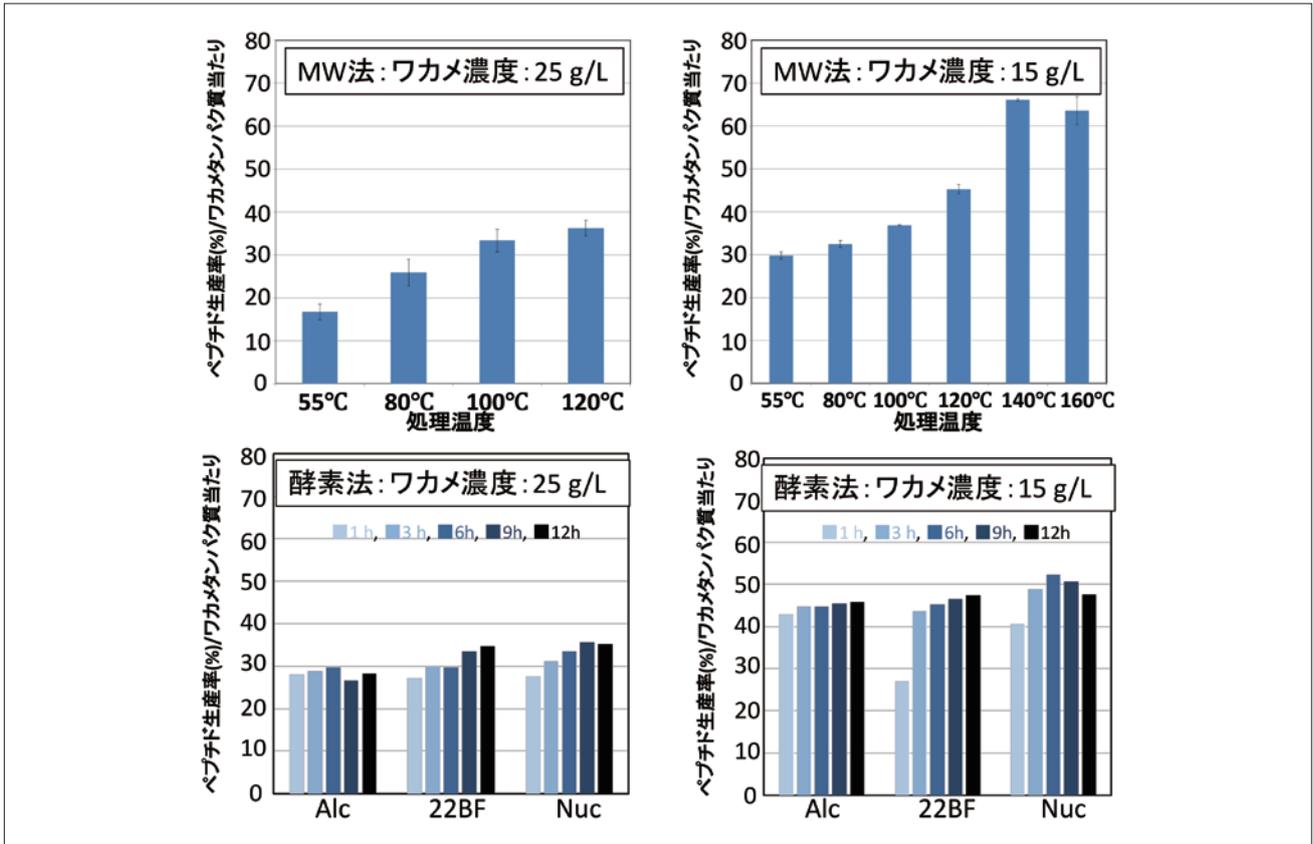


図2 マイクロ波処理（上段）および酵素加水分解法（下段）によるワカメタンパク質当たりのペプチド生産率（%）

ついて検討した。図3に各々のマイクロ波処理条件にて得られたペプチドのACE阻害活性を示し、比較対照である酵素加水分解法では、ワカメ濃度15 g/Lにおける各々の酵素により得られたペプチドのACE阻害活性について示した。評価はIC₅₀値（50%の阻害が起こる際の濃度、値が低い方が活性が高い）を用いて行った。

25 g/Lのワカメ処理濃度では80°Cで処理して得

られるペプチドの活性が高いことがわかった（IC₅₀値は0.23 g/L）。15 g/Lのワカメ濃度で処理した場合は、80°Cと140°Cにて処理した場合の活性が高いことがわかり、それぞれのIC₅₀値は0.22 g/Lおよび0.18 g/Lであった。マイクロ波処理温度によるIC₅₀値結果の高低については、今後さらに実験数を増やしてその要因を追求していきたい。以上の結果から、マイクロ波処理で得られたペプチドはACE阻

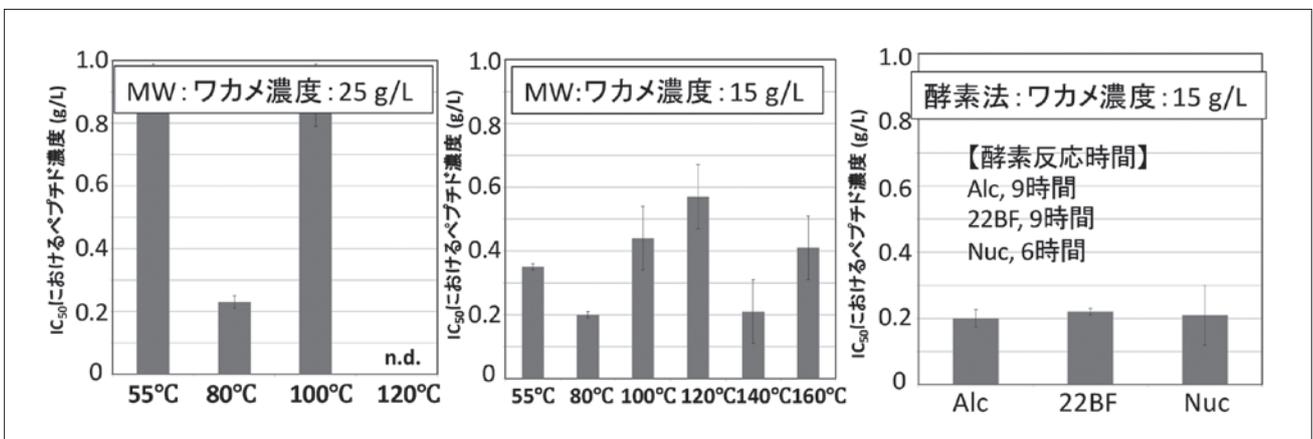


図3 マイクロ波処理（左図2つ）および酵素加水分解法（右図）により得られるペプチドのACE阻害活性（IC₅₀）

害活性を有することが示唆された。一方、酵素加水分解法（ワカメ濃度 15 g/L）で得られたペプチドの ACE 阻害活性の IC₅₀ 値は、いずれの酵素においても 0.2 g/L 程度であることがわかった。

3.2 廃棄ワカメの高温域マイクロ波処理によるフコイダンの創製とその化学的特性

図 4 にワカメを処理して得られるワカメ含有炭水

化物当たりのフコイタン収率を示す。マイクロ波処理温度 120℃、150℃では処理時間が長いほど（30分）収率が增大した。しかし、170℃と190℃では、処理時間は1分で高い収率を示し、14.2%および16.6%であった。一方で、120℃での AC 水熱処理では、処理時間 30分においても収率は 9.1%であった。この結果から、ワカメからフコイタンを創製するためには、マイクロ波処理は 170～190℃におい

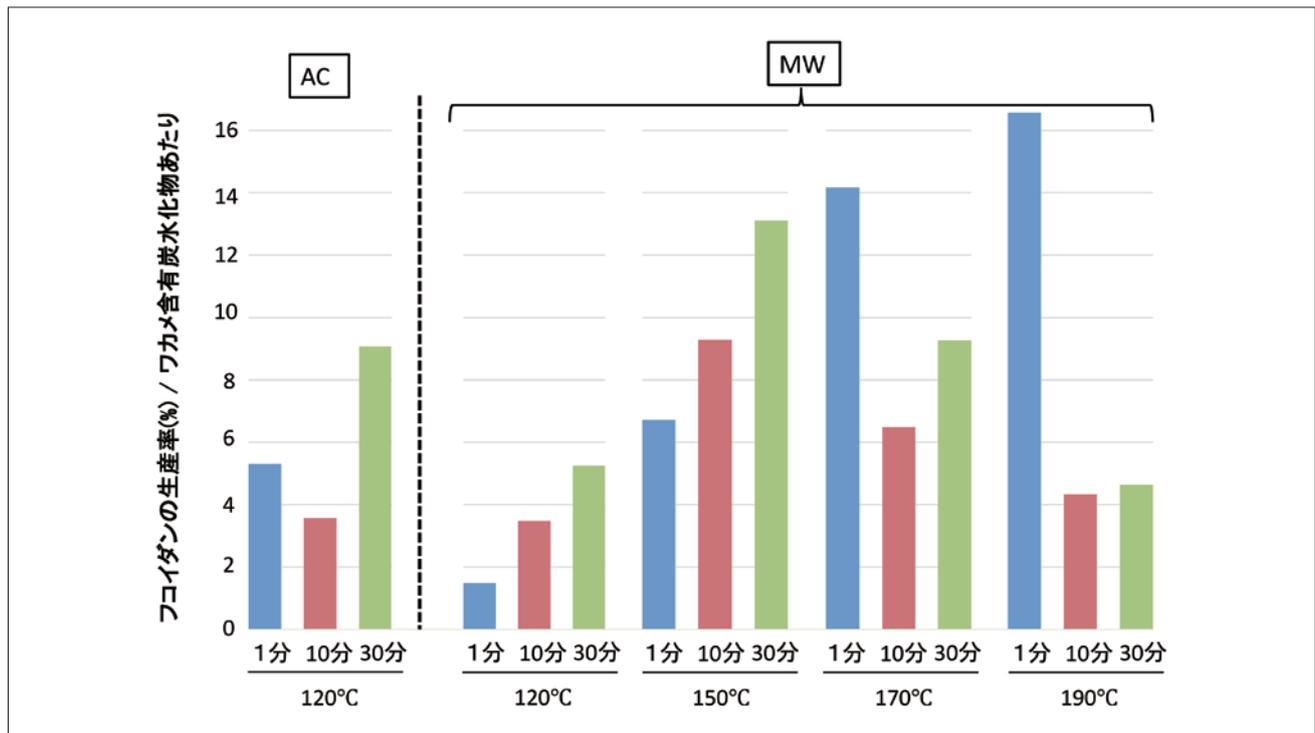


図 4 種々のマイクロ波処理およびオートクレーブ処理条件にて得られたワカメ含有炭水化物当たりのフコイタン収率 (%)

表 1 本研究で創製したフコイダンの全糖量およびフコース含有率

| | AC | | MW | | | 市販フコイタン |
|-----------------------------|------|------|------|------|------|---------|
| | 120℃ | 120℃ | 150℃ | 170℃ | 190℃ | |
| 全糖量 (%), 生産フコイタン当たり | | | | | | |
| 1 分 | 12.0 | —* | 12.2 | 10.2 | 12.7 | |
| 10 分 | 9.6 | 11.3 | 13.1 | 14.3 | 10.1 | 19.0 |
| 30 分 | 14.6 | 10.7 | 9.1 | 12.9 | 4.4 | |
| フコース含有率 (%), 生産フコイダンの全糖量当たり | | | | | | |
| 1 分 | 43.6 | —* | 72.7 | 70.3 | 47.1 | |
| 10 分 | 96.2 | 63.9 | 48.1 | 38.3 | n.d. | 97.2 |
| 30 分 | 41.9 | 60.1 | 74.3 | 42.6 | n.d. | |

*: 収量が少ないため未測定

て1分程度の短時間処理が有効であることがわかった。次に、高いフコイダン収率が得られた条件で得たフコイダンのFT-IRスペクトルを市販のワカメ由来フコイダンと比較した。市販フコイダンと同様に、 840 cm^{-1} および 1250 cm^{-1} に硫酸基由来の吸収、また、 3400 cm^{-1} 付近に水酸基由来の吸収があることから、生産物はフコイダンであることが確認できた。さらに、創製したフコイダンの化学的特性を調べるために、フコイダン中の全糖量およびその糖中のフコースの含有率を調査した(表1)。それぞれについて、温度依存的な傾向は見られず、全糖量とフコース含有率双方において、市販のワカメ由来フコイダンの値と比較すると低い結果となった。本研究で創製したフコイダンをさらに精製し、再度値を検討する必要がある。

4. まとめ

マイクロ波水熱処理の低温度域、高温度域におけるそれぞれの処理により、廃棄ワカメから有用化学物質を効率的に創製できる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究に対し、多大の御助成を下さいました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団および関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。貴財団の益々のご発展を祈念致します。

Microwave assisted step-by-step process for the production of functional food materials from waste brown seaweed (*Undaria pinnatifida*)

Chizuru SASAKI

*Division of Bioscience and Bioindustry, Graduate School of Technology,
Industrial and Social Sciences, Tokushima University*

Due to the trend toward greater health-consciousness, consumption of brown seaweed, Wakame (*Undaria pinnatifida*) has increased progressively in the market in Japan. However, almost all by-products, such as the thick stem and rhizoid are dumped back into the ocean or incinerated after processing. Therefore, in order to facilitate the effective use of these by-products, valuable chemicals such as functional peptides and polysaccharides were produced from the by-products, using microwave hydrothermal treatment (MW).

In the lower temperature (55-160°C) treatment with MW, functional peptides were extracted. The extraction concentrations of 15g/L and 25g/L were examined. The highest peptide yield based on the protein in the brown seaweed was 67.8%, at a treatment temperature of 140°C and an extraction concentration of 15g/L. Moreover, angiotensin converting enzyme inhibition activity was observed for the peptides through MW treatment, with an IC₅₀ value of 0.18g/L. Based on these results, MW treatment at a lower temperature could be an efficient method for the production of functional peptides from waste brown seaweed.

In the higher temperature (120-190°C) treatment with MW, the valuable polysaccharide, fucoidan was extracted. The highest fucoidan yield based on the carbohydrate in the brown seaweed was 16.6%, at a treatment temperature of 190°C and 1 min of treatment time. The FT-IR spectrum of the produced fucoidan was similar to that of standard fucoidan from *Undaria pinnatifida*. Furthermore, the total sugar content in the produced fucoidan, as well as the fucose content in the total sugar were also examined.