

色落ち海苔の新規用途開発

土谷紀美*・松田茂樹*・平川玄太**・島田修**・堀尾倫子***・岩原正宜***

* 微生物応用部、** 株式会社王樹製菓、*** 崇城大学

Development of a New Use of the Low Quality *Nori*

Kimi TSUCHIYA*, Shigeki MATSUDA*, Genta HIRAKAWA**, Osamu SHIMADA**, Rinko HORIO*** and Masayoshi IWAHARA***

水産業由来バイオマスである色落ち海苔等の低級海苔の有効利用を目的に、新規用途開発に取り組んだ。色落ち海苔は通常海苔よりもアミノ酸含量が少ないが、海苔抽出液においては加圧下での酸処理やペプチダーゼ系の酵素処理により、顕著な遊離アミノ酸濃度の増加が見られた。また、海苔のグルタミン酸を利用して、血圧調整作用を有する機能性成分として注目される γ -アミノ酪酸(GABA)を生産する製法を検討した。その結果、色落ち海苔の抽出液が GABA 生成能を有する乳酸菌の発酵基材として優れていることを見いだした。さらに、海苔色素の利用を図るため色素抽出についても検討を行い、色素液の清澄化試験の結果、膜処理利用が有効であった。

1. はじめに

熊本県では、平成15年度から17年度にかけ都市エリア産学官連携促進事業において、「バイオマスの効率的処理技術の確立」について産学官による取り組みを行った。当センターでは分担テーマ「バイオマスからの生理活性物質の生産技術の開発」について研究を行った。その中で、水産業由来バイオマスである色落ち海苔の有効利用について研究を行い、現在廃棄されている色落ち海苔等の低級海苔の新規用途開発に取り組んだ。

近年、植物プランクトンの増殖が引き金となり海域の栄養塩が不足することによって海苔の色落ちが生じ、低品質の海苔が年間平均約400~800トン製造されており、収穫されないものも含めると相当量発生している。色落ち海苔は外見が黒みに乏しく、著しく市場価値が低下するので、この海苔の有効利用は水産業にとって重大な課題の一つとなっている。

色落ち海苔の有効利用に関するこれまでの研究には、海苔が有する呈味成分を利用した調味料製造に関するものや機能性を有する多糖類に関する報告、 β -カロチンを利用した産卵鶏用飼料に関する報告がある^{1)~2)}。色落ち海苔は通常海苔と比較すると色素やタンパク質含量等が低下する傾向にあるが、色落ち海苔であっても様々な特徴ある栄養素を多く含んでいる。

今回、色落ち海苔から遊離アミノ酸の抽出法について、酸分解法や酵素処理法等を検討した。また、遊離アミノ酸の一つであるグルタミン酸に注目し、乳酸発酵を利用してグルタミン酸から、血圧上昇抑制作用を有する機能性成分であるGABA^{3)~4)}を生産する方法を検討し、色落ち海苔等の低品質海苔から健康食品素材あるいは健康飲料素材を製造する用途開発を行った。また、海苔色素の有効

利用を目的として、色素抽出についても検討を行った。

2. 実験

2.1 色落ち海苔からの遊離アミノ酸の抽出条件の検討

〈試料〉色落ち海苔は株式会社王樹製菓から供与された熊本県漁業協同組合連合会(平成17年度産)のものである。サイクロテックにより砕砕して使用した。

〈遊離アミノ酸定量〉遊離アミノ酸は AccQ・TagTM 法(Waters)により測定した。各試験液を、0.45 μ m フィルターでろ過し、50倍希釈した試料10 μ lをホウ酸緩衝液70 μ Lで希釈し、AccQ・Flour 試薬20 μ Lを加え、直ちに攪拌後、55°C、10分間加熱して蛍光誘導体化した。アミノ酸の標準試料は、Amino Acid Standard H (PIERCE)を用い、内部標準液には α -アミノ酪酸を用いた。蛍光誘導体化した試料をHPLCを用いて遊離アミノ酸の定量を行った。システムは以下のとおり(ポンプ: Waters 616、インジェクター: Waters 717、蛍光検出器: Waters 470、カラム: Waters P/N=52885)。

2.1.1 水抽出

粉碎した色落ち海苔を規定量三角フラスコに入れ、1mの冷却管を装着し、各温度(50°C、65°C、80°C、95°C)で、各時間スターラーで攪拌した。

2.1.2 塩酸抽出

0%、0.2%、0.5%、1.0%、2.5%の塩酸溶液200mlに5%量の海苔を添加し、95°Cで抽出。抽出液をさらし布でろ過をして、残渣重量とろ液量を測定した。残渣は105°C、5時間乾燥し、残渣重量とした。

2.1.3 加圧加熱抽出

加圧器はオートクレーブ(㈱トミー工業 SS-305)を用いて、121°Cの条件で行った。加圧時間によるアミノ酸量経

過は1時間毎に常圧に戻してサンプリングを行った。

2.1.4 酵素処理

使用した酵素剤6種を表1に示す。これらの酵素を至適温度、至適 pH にて海苔の懸濁液に一定時間作用させ、遊離したアミノ酸量を測定した。さらに処理効果を上げるため、種類の異なる酵素を2種併用する方法や2種を2段階に分けて処理する方法、また加圧処理した海苔懸濁液に酵素を作用させる方法等を検討した。

A	ペプチダーゼ
B	ヘミセルラーゼ1
C	ヘミセルラーゼ2
D	セルラーゼ
E	アルギン酸リアーゼ
F	プロテアーゼ

2.2 乳酸菌による GABA 生産条件の検討

乳酸菌は、NBRC12005 株(*Lactobacillus brevis*)を使用した。

水に1%、3%、5%量の海苔を添加し、クエン酸と重曹で pH4.2 に調整し、121°C、15 分滅菌。これを乳酸菌の培地(海苔培地)とし、乳酸菌を1%量植菌し、30°Cで3日間培養する。その間、1日ごとに、サンプリングしてGABAを測定した。また、乳酸菌の測定は、滅菌した生理食塩水で適宜希釈し、100 μL ずつシャーレに分注し、滅菌後50°C程度に冷却したBCP加プレート・カウント・アガーを分注し、37°Cで3日間培養後にコロニーを計測した。

発酵条件の検討事項として、海苔培地の調製時のろ過の有無、すなわち残渣の有無が発酵に及ぼす影響を見るために、残渣入りと残渣無しの場合で比較した。また、塩酸処理した場合に、中和による塩分濃度が乳酸菌発酵に及ぼす影響を検討するために、上の方法で水を希塩酸水に代えた場合と比較試験を行った。また、酸分解や酵素処理によってグルタミン酸を増加させた海苔培地、及び安価なグルタミン酸ナトリウムを添加した海苔培地での発酵試験も行った。

2.3 色落ち海苔からの色素抽出試験

抽出は水及びエタノールで1時間行い、抽出温度による比較を行うため、分光光度計(V-560, 日本分光株)により吸収スペクトルを測定した。

水抽出液は、水溶性多糖が高濃度に含まれるため、高粘度でろ過性が悪く、清澄液を得るのが困難である。そこで、逆洗ラインを有するモジュール型ろ過膜を利用することによって、ろ過効率が改善されるか検討した。清澄化工程に使用した装置は、ベンチスケールの膜処理テスト機(旭化成株式会社)を用い、膜はマイクロザ MF ラボモジ

ュール(UMP-153)を使った。膜仕様は、膜材質PVDF(ポリビニリデンフロライド)、膜面積 0.08m²、透水量 0.1m³/hr、孔径 0.2 μm で微生物も除去できるものである。ろ過時間 200 秒、逆洗時間 20 秒のサイクルで運転を行った。入口圧は 0.05MPa 以下に、循環流量を 20~25 L/ min に調整した。

ろ過試験に用いた海苔抽出液は、2%海苔抽出液(50°C抽出)と5%海苔抽出液(20°C抽出)の2種類を各 10L 規模で用いた。

3. 結果及び考察

3.1 色落ち海苔からの遊離アミノ酸の抽出条件の検討

3.1.1 水抽出

海苔の遊離アミノ酸を水で抽出する場合の温度の影響を図1に示した。海苔添加量は5%、1時間攪拌である。抽出温度を上げても遊離アミノ酸の増加は見られず、逆に95°Cの場合は減少していた。また、抽出されるアミノ酸組成は、温度によってはほとんど変化せず、50°Cの場合、タウリン 37%、グルタミン酸 35%、アラニン 13%、アスパラギン酸 11%で、4成分で総遊離アミノ酸の96%を占めていた。また、抽出時間に関しては、1時間以降は遊離アミノ酸量に変化は見られず、1時間程度で十分であることが分かった。水の抽出では、海苔の不溶成分が多量に残渣として生じ、また、抽出液に生臭さを感じた。

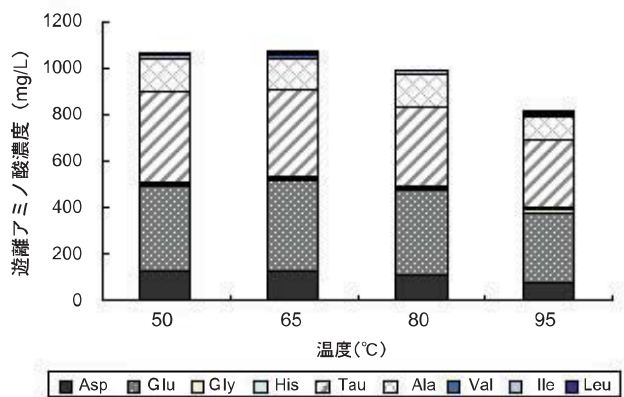


図1 水抽出における温度の影響

3.1.2 塩酸抽出

海苔の遊離アミノ酸を酸で抽出する方法を検討した。酸は0.5%の希塩酸を使用し、95°Cで処理した場合のろ液量と残渣量を図2に示す。海苔添加量は5%、7.5%、10%の3試験区、対照試験として塩酸0%の区を左端に記載した。

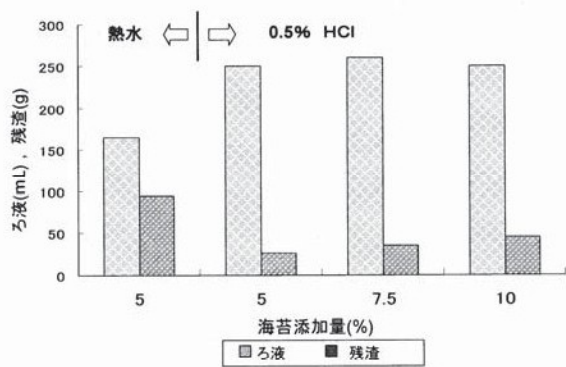


図2 酸抽出による残渣及びろ液量の変化

希塩酸処理により、残渣量は3分の1に減少し、ろ液量は50%増加した。水抽出の場合は10%重量の海苔は不溶性成分が多く溶解できないが、0.5%希塩酸を用いると10%でも溶解が可能で、酸抽出が有効であることが確認できた。また、生臭さも感じなかった。

3.1.3 加圧加熱抽出

加圧抽出法による遊離アミノ酸濃度への効果についての検討を行った結果を図3に示した。塩酸を加えない水抽出の場合は、加圧加熱による効果は見られなかったが、1%塩酸抽出液の場合は、30分で2倍近くの遊離アミノ酸濃度となっており、加圧加熱下で酸抽出することによって、アミノ酸の遊離が促進されることが分かった。

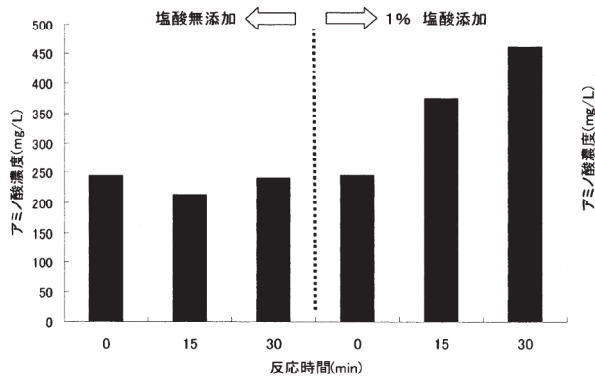


図3 海苔抽出時の加圧加熱効果の検討

さらに、長時間(20時間)加圧加熱下で、抽出を行った結果を図4に示した。塩酸濃度が0.5%の場合、常圧下と比較すると、約10倍近いアミノ酸を遊離しており、塩酸濃度が2.5%の場合は、4倍以上となった。加圧加熱下においては0.5%程度の希塩酸処理でも時間をかけることによって、遊離アミノ酸が増大する効果があることが確認できた。

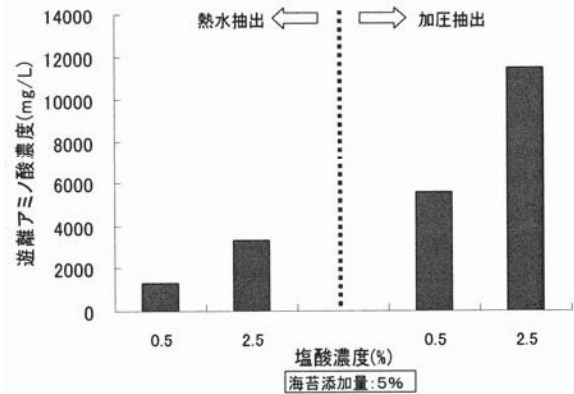


図4 加圧加熱時の塩酸濃度による遊離アミノ酸濃度の変化

3.1.4 酵素処理

6種類の酵素剤を各至適pH及び至適温度で5時間反応させ、遊離アミノ酸濃度を比較したところ、ペプチダーゼ酵素にのみ、遊離アミノ酸を増加させる効果が見られた。そこで、海苔の添加量を1%、3%、5%、また酵素の添加量を海苔重量に対して0.5%で、0.05%とした時の遊離アミノ酸の経時変化を図5に示した。この濃度帯では3時間を超えると、それ以降は遊離アミノ酸濃度は増加せず、また、酵素添加量が0.5%の場合は、初発のアミノ酸量の約10倍の遊離アミノ酸が得られ、酵素添加量が0.05%では初発の約5倍量に増加しており、このペプチダーゼによる酵素反応が遊離アミノ酸の増加には効果があることが分かった。

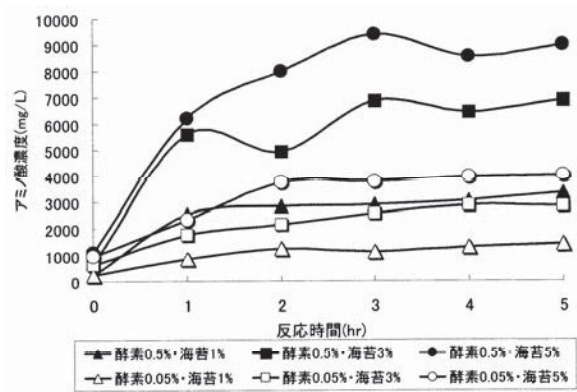


図5 ペプチダーゼ酵素による海苔からのアミノ酸抽出

海苔に塩酸処理を施して、海苔の細胞組織をある程度壊した後に酵素反応を行えば、遊離アミノ酸が増加すると考え、図4で示した加圧塩酸抽出液を利用して、その抽出液を酵素の至適pHに調整後、ペプチダーゼを用いた酵素試験を行った。結果は図6に示したとおり、初発のアミノ酸濃度を考慮すれば、5時間酵素反応後の遊離アミノ酸濃度では、ブランク(酸処理工程無し)と大きな差は見られなかった。

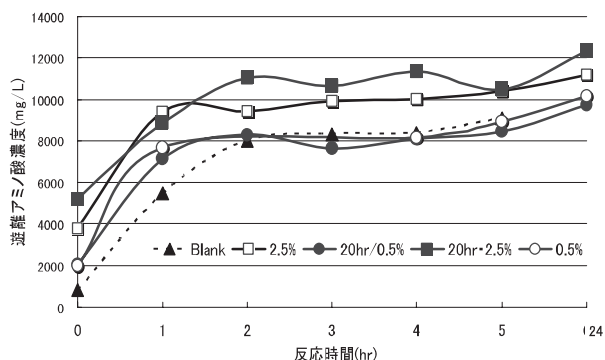


図6 海苔酸分解液のペプチダーゼ酵素処理試験

単独では遊離アミノ酸濃度の増加に効果がない酵素群の中には、海苔の細胞組織を破壊する作用を期待できるものがあるので、ペプチダーゼとの併用処理の試験を行った。ペプチダーゼと至適 pH や至適温度に近い酵素群について、同時に2種類の酵素を反応させた(各 0.5%酵素濃度)。その結果、図7に示したとおり、ペプチダーゼ単独の効果を超越するものはなかった。

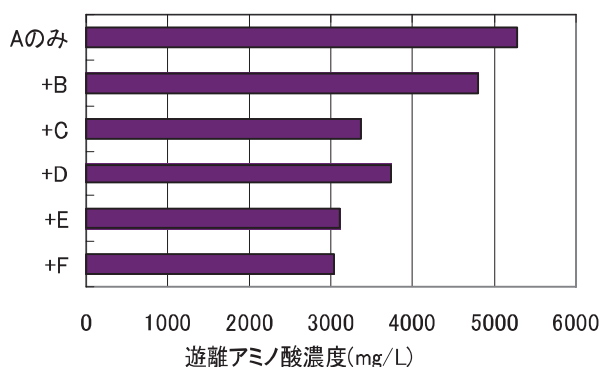


図7 海苔の酵素処理—2種併用試験—

さらに、ペプチダーゼを反応させる前に、予め他の酵素で5時間反応する2段階酵素反応を試みた結果を図8に示す。E(アルギン酸リアーゼ)で前処理した場合には単独に比べて約20%の遊離アミノ酸量の増加があり、若干の効果が見られたが、その他の酵素群での前処理では効果は得られなかった。

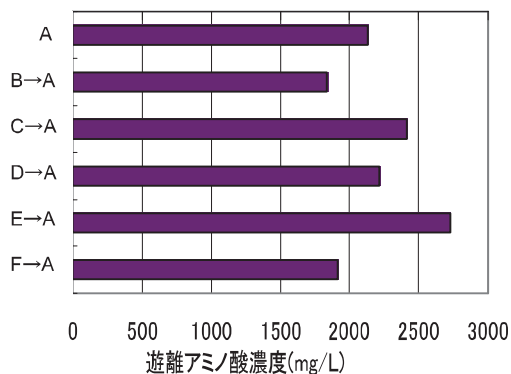


図8 海苔の酵素処理—2段階作用試験—

3.2 乳酸菌による GABA 生産条件の検討

海苔の抽出液を GABA 生産用乳酸菌の培地として利用できるか検討を行った結果を図9に示す。上段に培養3日後の乳酸菌数、下段に生成 GABA 濃度を示したが、海苔重量1%添加区でも乳酸菌が増殖して GABA を生産しており、海苔抽出液は乳酸菌増殖に必要な栄養素を全て含有していることを見出した。海苔重量が3%、5%と増加するに従って濃度依存的に乳酸菌数も増加した。また、海苔由来遊離グルタミン酸が増加することから GABA 生産量も増加し、海苔抽出液が優れた GABA 生産基材であることが分かった。

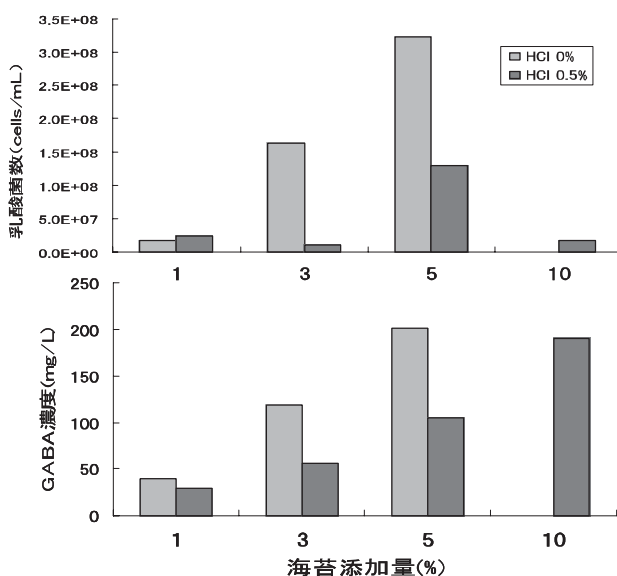


図9 海苔培地を利用した乳酸菌発酵における菌数と GABA 濃度

また、塩酸抽出した海苔培地を用いた場合には、生じた塩の影響で発酵が抑制される事が示唆されたので、抽出する塩酸濃度が GABA 生成に及ぼす影響を調べ、図10に示した。残渣なしの場合には塩酸濃度が高くなると GABA 生成量が低下しており、それは上段に示すとおり乳酸菌増殖自体が抑えられることに起因するものと考えられた。しかし、残渣を入れた海苔培地においては、乳酸菌の増殖自体は抑えられるものの、GABA 生成量は塩酸濃度 1.0%までは酸を用いない場合と差がなかった。酵素の作用に、残渣が何らかの影響を与えているものと考えられる。塩酸濃度 2.5%になると、乳酸菌自体が増殖できないことが分かった。

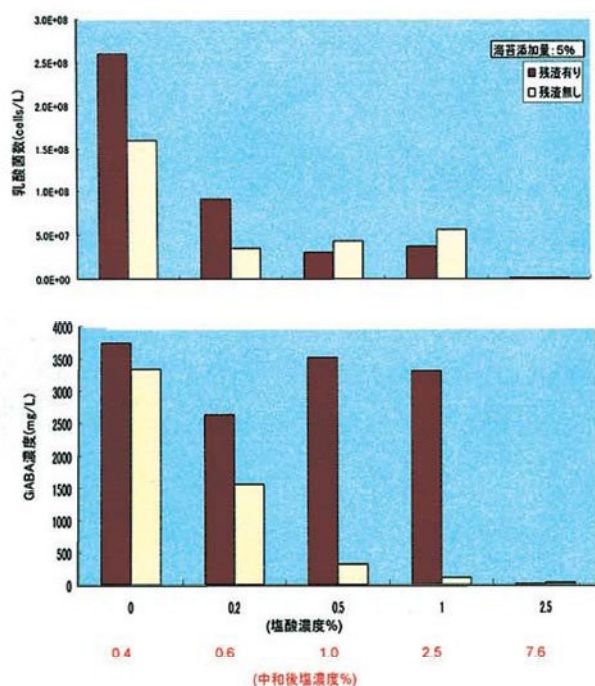


図 10 GABA 生成乳酸発酵に対する塩及び残渣の影響

3.3 色落ち海苔からの色素抽出試験

色落ち海苔は色素含量に乏しい特徴があるものの、海苔の水抽出液の清澄液は鮮やかな赤色を、また、エタノール抽出液は緑色を呈している。これらを天然色素として有効利用するために、色素の抽出及び色素の特性について検討を行った。海苔を水で抽出した場合の抽出温度による影響を見た結果を、吸収スペクトルとともに図 11 に示した。常温(20℃)で1時間抽出時には鮮やかな赤色を呈していたが、抽出温度が高くなるに従って消失した。最大吸収スペクトルによると、この赤色色素はフィコエリスリンと推定され、タンパク質と複合体を形成していると報告されている。90℃の抽出温度では、フィコエリスリンの吸収はほとんどが失われており、この色素は熱に弱い性質を持つことが分かった。

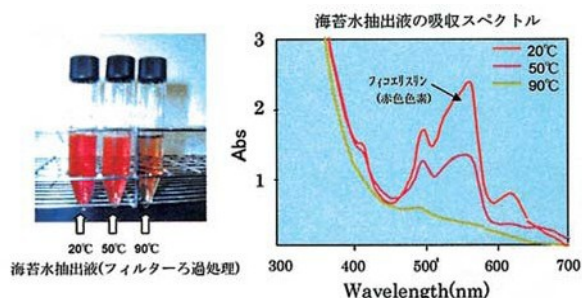


図 11 海苔赤色色素フィコエリスリンの抽出試験

色落ち海苔をエタノールで抽出した結果を図12に示す。左に、常温抽出した場合と熱抽出した場合の比較の写真、右がその吸収スペクトルである。約 660nm にクロロフィル a の吸収が、400nm 付近に β カロテンと考えられるスペクトルが見られる。赤色色素と逆に抽出温度が高いほど色素濃度は高かった。

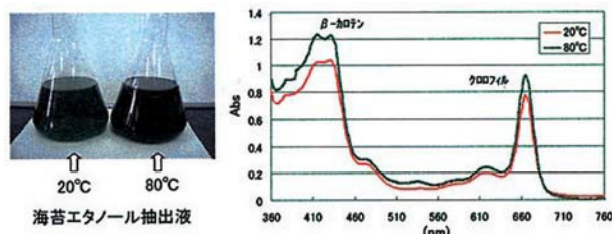


図 12 海苔緑色色素の抽出試験

海苔を水抽出するだけでは暗赤色であるが、ろ過すると鮮赤色を示す。しかし同時に多糖類も抽出されるため、ろ過性が悪く、ろ過膜はすぐに目詰まりを起こし効率が悪い。そこで、システム中に逆洗機能がついている膜ろ過機を用いて清澄化試験を行うと、短時間で効率よく赤色の清澄液を得ることができた。試験1として2%海苔重量の抽出液(50℃)をろ過した場合、約 10L の試料が約 1 時間でろ過が終了した(膜面積は約 80cm²)。原料温度が高い方が処理効率は向上するが、海苔の赤色色素フィコエリスリンは熱で色が消失してしまうので、試験 2 として常温(20℃)で抽出した5%海苔重量の抽出液のろ過試験を行った。約 5L の試料の清澄化に約1時間を要し、多糖類が多く粘度が高いこと、また試料温度が低いために試験1の半分の処理速度であった。図 13 にろ過システム写真(試験 2)と、図 14 に Flux(透水率)と濃縮倍率の時間経過を示した。多糖成分が多い海苔抽出液から効率よく赤色の清澄液を得ることができた。



図 13 海苔水抽出液のベンチスケールろ過試験

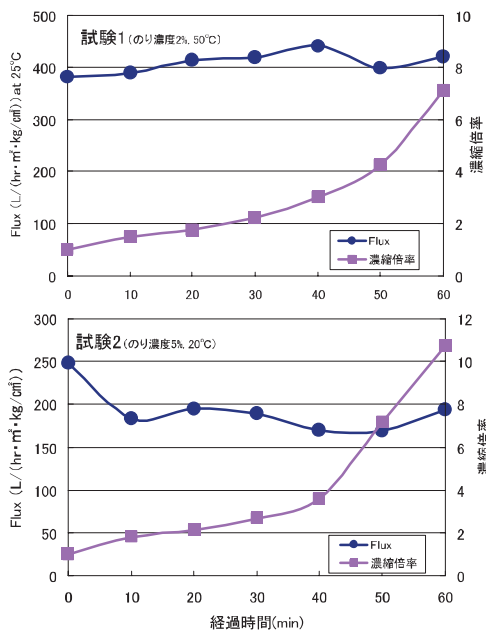


図 14 海苔抽出液ろ過における透水率と濃縮倍率

文献

- 1) Tsuge K., Okabe M., Yoshimura T., Sumi T., Tachibana H. and Yamada K., Dietary effects of Porphyran from *Porphyra yezoensis* on growth and lipid metabolism of Sprague-Dawley rats, *Food Sci. Technol. Res.*, Vol. 10, pp147-151, 2004
- 2) 細国一忠, 石橋明, 岩永致悦, 式町秀明, 色落ち海苔の給与により卵黄色が濃く、β-カロテンに富む鶏卵が生産できる, 九州沖縄農業研究成果情報, No.10, pp143-144, 2005
- 3) Stanton H.C., Mode of Action of Gamma Aminobutyric Acid on the Cardiovascular System. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, Vol. 143, pp195-204, 1963
- 4) 平野誠, 不安と脳内 GABA, 臨床精神医学, Vol. 21, pp575-584, 1992

4. まとめ

色落ち海苔等の低品質海苔の使用用途がふりかけ等に限定され、大量に廃棄処理されていることから、有効利用技術の開発を行った。色落ち海苔は通常海苔よりも遊離アミノ酸含量が少ないが、加圧下での酸処理やペプチダーゼ系の酵素処理により遊離アミノ酸を増加させることができることから、調味料としての開発が期待できる。また、アミノ酸のひとつであるグルタミン酸から、GABA を生成させて健康食品素材あるいは健康飲料素材を製造する製法を検討したところ、色落ち海苔の抽出液が GABA 生成能を有する乳酸菌の発酵基材として優れている事を見出した。乳酸発酵により、海苔抽出液の遊離グルタミン酸の 80%以上を GABA へと変換させることが可能であった。さらに、海苔色素の利用を図るために行った色素液の清澄化試験の結果、膜処理利用が有効であることが明らかとなり、天然色素素材としての用途開発が期待できる。

謝辞

本研究は、平成16～17年度に文部科学省の都市エリア産学官連携促進事業として実施したものです。本研究を遂行するにあたり貴重なご助言を頂いた熊本大学教育学部浅川牧夫教授、石田彰男教授に感謝いたします。また、膜処理テスト機を貸与頂いた株式会社旭化成に感謝いたします。