

カキ中の超臨界流動体抽出脂質

中塚正博, 太田隆男, 松田芳和, 大久保雅啓, 柴田幸雄
(日本クリニック(株)・中央研究所)

Supercritical Fluid Extraction of Lipids in Oyster

Masahiro Nakatsuka, Takao Ohta, Yoshikazu Matsuda, Masahiro Ohkubo and Yukio Shibata
Japan Clinic Co., Ltd., Central Research Institute

Lipids of oyster contain available components such as eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. But, phospholipids and chlorophyll derivatives are also extracted by n-hexan method. Lipids of oyster extracted by this method are easily oxidized and polymerized. So we could not use them easily.

But lipid extract by supercritical carbon dioxide method (S.C.E.) is known to be not oxidized and polymerized.

S.C.E. does not extract the polar lipids such as triacylglycerol, carbohydrate and free fatty acids. S.C.E. is the safe extraction method, because the S.C.E. extraction does not contain chlorophyll and chlorophyll derivatives, and also the extraction solvent (carbon dioxide) is easily removed from the extract compared with n-hexan method.

We have studied about the utilization of S.C.E. in the extraction of oyster lipids. And we analyzed the lipids components to compare the both extraction methods.

一般に、カキ (*Crassostrea gigas*) の脂質中にはエイコサペンタエン酸 (以下 EPA), ドコサヘキサエン酸 (以下 DHA) などの薬理的に有効な成分が非常に高い比率 (全不飽和脂肪酸の約50%) で含まれているので、生理作用を期待した食品素材への利用が期待できる。しかし、これら脂質成分のうち、特にリン脂質などの極性脂質は、安定性がきわめて悪く、酸化、重合などを引き起こす。このため、カキオイルを単独で取り出した製品は今日までなかった。

カキを利用した製品としては、「パオユー」等がある。

これはカキの煮汁の加熱濃縮物であって、脂質は2~3%しか含まずカキオイルとは本質的に異なるものである。

また、最近注目されているカキ肉エキスは、原料のカキを熱水で抽出した後、抽出物をパウダー状にしたもので、糖質、タンパク質、各種アミノ酸を主成分とし、脂質は約1%しか含まない。したがって、

カキオイルとは、組成、製法とも異なるものである。

カキオイルを抽出しようとする場合、最も一般的に考えられる方法は、現在食用油の抽出に用いられている n-ヘキサンによって抽出する方法である。しかし、n-ヘキサンによる抽出法は次の欠点を有する。

第一に、抽出されるカキオイルは、主に中性脂質と極性脂質からなる。このうち極性脂質は、その主成分がリン脂質であるので、n-ヘキサン抽出物は茶褐色の外観を呈する。さらに、空気中の酸素によって酸敗・重合を起こしやすく、保存性がきわめて悪い。

2番目は、カキは微細藻類を餌にしているので、その消化管（中腸腺）に藻類由来のクロロフィル及びその分解誘導体であるフェオフォルバイド、フェオフィチン等を含んでいる。このフェオフォルバイドは、光過敏症の直接的な原因となる。その上、クロロフィルを長時間放置すればその誘導体に分解してしまうこともある。したがって、人体への影響を考えるならば、これらの化合物を排除しなければならない。

しかし、カキにおいては中腸腺を肉質から切除することは困難なため、これらを同時に抽出操作にかけることになるが、クロロフィル及び分解誘導体はともに親油性を示すため、n-ヘキサンによって脂質中に同時に抽出される。これらの化合物を除去しようとする、カラム操作などの煩雑な作業を必要とし、しかも完全に除去することは困難である。

3番目に、n-ヘキサンでカキオイルを抽出すると、その抽出操作の過程において、熱ヘキサン抽出や、常温抽出後の溶媒の加熱除去によってオイル自身が熱変成を受けることが考えられる。

以上のように、カキには、通常魚類には存在しないクロロフィル及びその分解誘導体を含むこと、またリン脂質も併せて含有しているため、これらを排除しなければ取り出したオイルの安全性、安定性を確保できないものと思われる。

そこで、特異な溶解能力を有する超臨界流体による抽出を検討した。超臨界炭酸ガスを用いたカキオイルの抽出では、クロロフィルとその分解誘導体および極性脂質が溶出されないことに着目し、品質の安定したカキオイルの製造を可能にするための実験を行った。

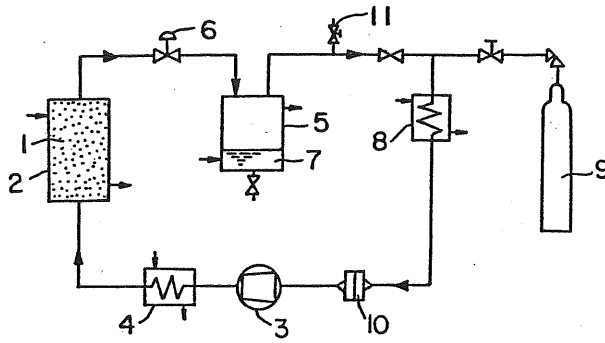
実験方法

Fig. 1 は、抽出工程のフローチャートである。

生ガキを凍結乾燥し、抽出槽に収容する。抽出剤には炭酸ガスを用い、これを加圧器で加圧、加熱器で加熱して、抽出層に送る。抽出槽内で超臨界状態の炭酸ガスをカキに接触させ、脂質を抽出する。その後減圧し、回収槽に脂質を回収する。臨界圧力以下の炭酸ガスは、脂質に対する親和性を失うので脂質を容易に回収できる。

ここで回収された脂質はトリグリセリド、炭化水素、遊離脂肪酸などから成り、極性脂質およびクロロフィルやその分解誘導体は含まれない。また、親油性に乏しいもの、例えばグリコーゲン、タウリン、アミノ酸、タンパク質、ミネラル、ビタミン類などの栄養成分が残っているので、脂質抽出後、所定成分を取り出すことができる。

Fig. 2 は、炭酸ガスの圧力・温度の状態図である。臨界圧力を 75.2kg/cm^2 を越える超臨界圧力とし、



Extraction process of S.C.E. and H.E.

- | | |
|--------------------|------------------------------|
| 1. Raw material | 2. Extraction tank |
| 3. Compressor | 4. Heater |
| 5. Collection tank | 6. Pressure regulation valve |
| 7. Extracted lipid | 8. Condenser |
| 9. Carbon dioxide | 10. Filter |
| 11. Exhaust valve | |

Fig. 1 Extraction process of supercritical carbon dioxide extraction and n-hexane extraction.

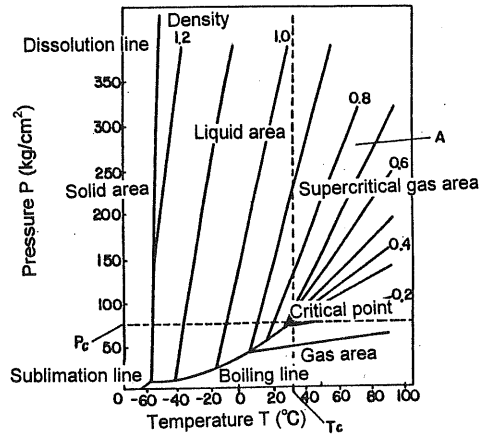


Fig. 2 Phase diagram of pressure and temperature of carbon dioxide.

さらに臨界温度を31.1℃を越える超臨界温度とすると、超臨界ガス域の炭酸ガスとなる。

Fig. 3は、超臨界抽出とn-ヘキサン抽出における抽出工程を示したものである。

生ガキの凍結乾燥品を試料とする。超臨界二酸化炭素抽出では、条件として温度35度、圧力400kg/cm²、平均流量4.85kg/hrで11時間抽出し、脂質と残渣に分離する。n-ヘキサン抽出では、温度30度で12時間抽出し、濾過行程を経て脂質を得る。

Preparation method of S.C.E. and H.E.

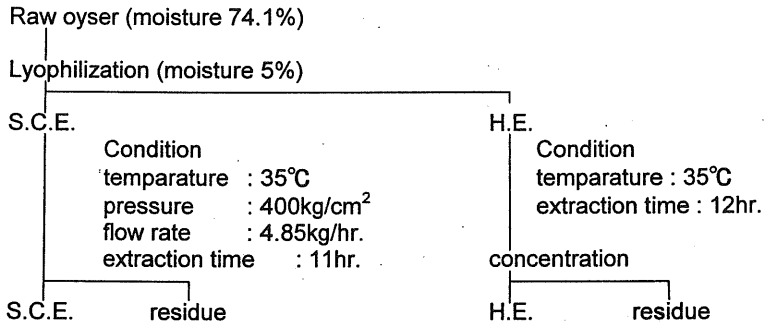


Fig. 3 preparation method supercritical carbon dioxide extraction and n-hexane extraction.

Comparison of amount of lipids with S.C.E. and H.E.

	S.C.E (g/100g sample)	H.E. (g/100g sample)
Total lipids	18.8	18.8
Lipids in extraction	8.8	4.6
Lipids in Residue	9.8	14.2

Lipids were measured by Bligh-Dyer method

Fig. 4 Amount of lipids in extraction and residue.

結果と考察

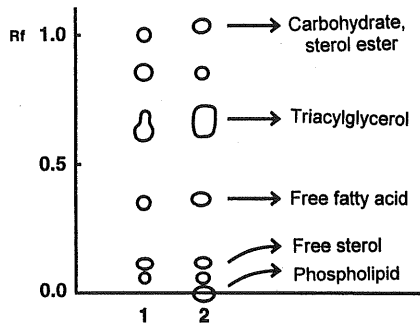
Fig. 4 は、この抽出法に従って抽出実験を行った結果である。

超臨界抽出法では、抽出脂質量は 8.8g/試料 100g, n-ヘキサン抽出では 4.4g/試料 100g となった。

従って、総脂質量からのカキオイルの抽出効率は、超臨界抽出では47%に達するのに対し、n-ヘキサン抽出では24%であった。このことから、超臨界抽出では n-ヘキサン抽出に比べて脂質の溶出能力が極めて高く、効率的な抽出ができるものと思われる。

Fig. 5 は、超臨界炭酸ガス及び n-ヘキサンによる抽出脂質分を薄層クロマトグラフにかけた結果である。超臨界炭酸ガスによる抽出では、原料のカキから、トリグリセリド、炭化水素、遊離脂肪酸、ステロール、ステロールエステル及びカロチノイド等の脂質を選択的に溶出でき、リン脂質等の極性脂質やクロロフィル化合物は認められなかった。これに対して、n-ヘキサンによる抽出では、このほか、茶色に呈色したリン脂質が原点に認められ、さらに緑色に呈色したクロロフィル化合物と推定されるスポットも認められた。従って、n-ヘキサンを代表とする通常の有機溶剤抽出では、極性脂質やクロロフィルなどは他の脂質と同時に抽出成分に移行することが確認できた。

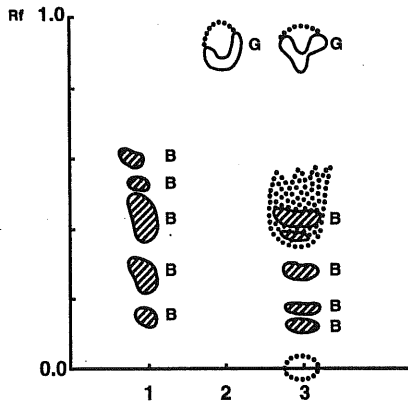
次に、薄層クロマトグラムにおいて原点付近に止まっている脂質分の成分を確認するため、クロロホルム、メタノール、水の溶媒を用いて薄層クロマトグラフを行った。Fig. 6 はその結果である。超臨界



Qualitative analysis of extraction lipids by thin layer chromatography

Sample 1 : S.C.E.
 2 : H.E.
 Plate : DC Alufolien Kieselgel-60(Merck)
 Develop solvent : n-hexan,diethylether,acetic acid(90:10:1)
 Detected reagent: Bichromate sulfuric acid

Fig. 5 Results of thin layer chromatography of supercritical carbon dioxide extraction and n-hexane extraction.



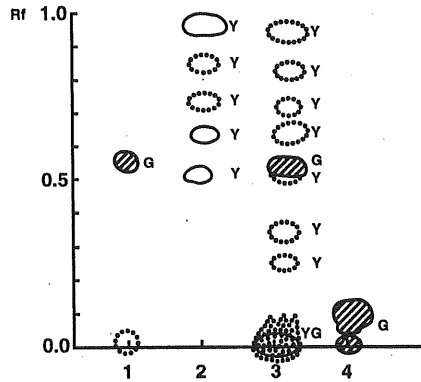
Detection of phospholipid by thin layer chromatography.

Sample 1 : yolk lecithin
 2 : S.C.E.
 3 : H.E.
 Plate : Silicagel 60F
 Develop solvent : Chloroform, methanol, water (65:25:4)
 Detected reagent: Dittmer reagent
 Abbr. : B: blue G: green

Fig. 6 Thin layer chromatography using chloroform, methanol and water investigated in order to analyze lipids staying around the starting point.

抽出では、レシチンに相当するスポットは現れていない。従って、リン脂質を初め極性脂質をすべて排除できることが確認された。n-ヘキサン抽出物は、レシチンに相当するスポットが確認できた。このように、ヘキサン抽出では、種々の極性脂質が混在している。

Fig. 7は、石油エーテル、アセトン系溶媒で展開したもので、クロロフィル化合物の存在の有無を検討した結果である。超臨界抽出物では、クロロフィルやフェオフォルバイドに相当するスポットは全く



Detection of chlorophyll and chlorophyll derivatives by thin layer chromatography

Sample 1 : standard, chlorophyll a (Wako)
 2 : S.C.E.
 3 : H.E.
 4 : standard, pheophorbide a (Wako)
 Plate : Silica gel 60F
 Develop solvent : petroleum ether, acetone (70:30)
 Abbr. : G :green Y :yellow YG :yellow green

Fig. 7 Thin layer chromatography about the chlorophyll derivatives using petroleum ether and acetone as solvent.

Comparison of appearance, POV, TBA with S.C.E. and H.E.

	S.C.E. lipid	H.E. lipid
difference in appearance	low viscosity oil that show vivid orange by carotenoid	high viscosity oil that show brown by chlorophyll derivatives
fragrance	good	smell of acid
POV (meq/kg)	17.6	41.7
TBA*	3.2	10.8

* : Absorbance at λ max 530nm of 1g sample lipid

Fig. 8 Comparison of appearance, fragrance, peroxide value (POV) and thiobarbiturate value (TBA)

現れなかった。これに対し、n-ヘキサン抽出物には緑色に呈色したスポットが認められ、クロロフィル化合物の存在を示唆している。

Fig. 8は、抽出脂質分の酸敗度と性状を比較したものである。酸敗度として、過酸化値（以下POVという）及びチオバルピツール酸値（以下TBAという）を測定し、性状として、色沢、粘性、香りの差異を比較した。超臨界抽出物はn-ヘキサン抽出物と比べて、TBAでは1/3以下、POVは1/2以下の数値を示しており、脂質の酸敗度がきわめて低いことが確認できた。性状の面においては、超臨界抽出分はカロチノイド色素による鮮やかなオレンジ色を示し、粘性は低く、香りに酸敗臭は認められなかった。それに対して、n-ヘキサン抽出物では、クロロフィル化合物やリン脂質などにより茶褐色を示し、粘性が高く、酸敗臭が強く認められた。

要 約

超臨界抽出で脂質の抽出を行えば、主にトリグリセリド、炭化水素、遊離脂肪酸、ステロールなどの脂質を取り出すことができ、リン脂質をはじめとする極性脂質は残渣に残るので、酸化、重合等の変敗を起こしにくい。

n-ヘキサン抽出では除去するのが困難なクロロフィルや、その分解誘導体が全く認められないので、光過敏症等を引き起こすことがなく、安全性が高い。また、残渣中にクロロフィルが含まれるので、適切に抽出すれば、化粧品や着色料等として有効利用ができる。

超臨界抽出では、n-ヘキサン抽出と比べ、熱変性が少なく、抽出分や抽出残渣に含まれる栄養分、有効成分、呈味成分の変性が最大限に抑えられる。

超臨界状態においては炭酸ガスは液体に近い密度を持ち、高い溶出力を有する。つまり、抽出表面積及び接触の流速をともに大きくできるので、抽出効率が低い。従来の抽出法においては、たとえばn-ヘキサン、クロロホルム、メチレンクロライド等が、脂質中に残留するおそれがあるが、超臨界抽出では炭酸ガスを用い、これは気体であるため抽出脂質分にガスが残留することは起こりにくい。

以上のことより、超臨界抽出法による脂質の抽出は、品質面、安全性の上でn-ヘキサン抽出法よりも優れているものと考えられる。