

## 油脂等の機能性素材の高品質化と応用技術の開発（第1報）

Development of technology and applying high-quality fat-soluble functional materials(1st Report)

### カニ殻からのアスタキサンチンの抽出

Extraction technology of astaxanthin from red snow crab shell

有福一郎

Ichiro Arifuku

食品開発研究所 アグリ食品科

キチン製造工程において塩酸に浸漬して脱カルシウム処理したカニ殻に最終濃度が60%(w/w)になるようにエタノール製剤を加え、50℃程度の温度で浸漬することにより、アスタキサンチンを効率よく抽出できるようになった。この抽出液に油脂を加えて減圧濃縮によりエタノールを除去し、遠心分離を行って油脂層を回収することによりカニ殻からアスタキサンチンを含有した油脂を調製する技術を開発した。

#### 1. はじめに

アスタキサンチンは、自然界に広く分布する天然の赤い色素で、エビ・カニなどの甲殻類の殻、サケ・タイなど魚類に含まれるカロテノイドの一種で、強い抗酸化作用を持つ成分として知られ、健康食品や化粧品の分野で注目されている素材である。現在、市場に流通しているアスタキサンチンは、ヘマトコッカス (*Haematococcus* spp.) 藻から抽出されたものが大半を占めている。

ベニズワイガニの水揚げの豊富な鳥取県では、加工された後に排出されるベニズワイガニの殻を使ったキチン・キトサン、グルコサミンの製造が行われている。カニ殻に含まれるアスタキサンチンは、キチン・キトサン製造においては着色の要因になっている。

甲殻類の殻からアスタキサンチンを抽出する方法として特許化されたものがあるが<sup>1)</sup>、防爆設備の整った施設や装置などが必要となるため、実用化には至っていない。

そこで本研究では、キチン・キトサン製造に利用されているカニ殻に着目し、キチン・キトサンの製造工程を利用して、キチン・キトサンの生産量に影響することなく産業的にアスタキサンチンを効率的

に抽出する技術について検討したので報告する。

#### 2. 実験方法

##### 2.1 供試材料

###### 2.1.1 カニ殻

カニ殻は、境港に水揚げされ身出し加工された後、キチン製造原料として(株)オーク昭和町工場で使用されているベニズワイガニの殻を用いた。

###### 2.1.2 脱カルシウム処理したカニ殻

脱カルシウム処理したカニ殻(以下、脱灰カニ殻と称する。)は、(株)オーク昭和町工場のキチン製造工程において、カニ殻を塩酸に浸漬してカルシウムを溶解除去した後に、水洗したカニ殻を用いた。脱灰カニ殻の水分は70%(w/w)であった。

###### 2.1.3 抽出用エタノール製剤

カニ殻からのアスタキサンチンの抽出には、エタノールを主成分とするエタノール製剤(エタノール濃度83.2%(w/w))を使用した。

###### 2.1.4 展溶用食用油脂

カニ殻からエタノール抽出したアスタキサンチンは、食用油脂(花王株式会社製ココナードMT)を加えた後、減圧濃縮してエタノールを除去して展溶させた。

## 2.2 抽出条件の検討

### 2.1.1 カニ殻と脱灰カニ殻との比較

カニ殻 100g および脱灰カニ殻 100g に対して、最終エタノール濃度が 60%(w/w) になるように調整しながらカニ殻が完全に浸かるまでエタノール製剤を加え、50℃で3時間抽出した後、ろ過してアスタキサンチン抽出液を調製した。

エタノール製剤の量が最も生産コストに影響することから、アスタキサンチンの抽出に必要なエタノール製剤量を比較した。

また抽出液中に溶出するタンパク質はアスタキサンチンの精製や品質に影響することから、抽出液中に溶出したタンパク質の総量をケルダール法により測定し比較した。

抽出液中のアスタキサンチン濃度は、分光光度計によりスペクトルを測定し、極大吸収波長における吸光度を測定して比較した。

### 2.1.2 従来特許法と開発法との比較

従来特許法は、特許第 3918103 号に記載の方法に従ってカニ殻を塩酸に浸漬して脱カルシウム処理した後、濃度 5%の水酸化ナトリウム溶液に4~5時間浸漬して、タンパク質を分離除去したカニ殻（水分 65%(w/w)）5 kg に、エタノール製剤 10 kg を添加し、60℃で4時間抽出して、アスタキサンチン抽出液を調製した。

開発法は、脱灰カニ殻 10 kg に、エタノール製剤 20 kg を添加し、60℃で4時間抽出して、アスタキサンチン抽出液を調製した。

得られた各抽出液 600 ml に対して食用油脂 100 ml を添加し、ロータリーエバポレータで減圧濃縮してエタノールを除去し、遠心分離を行ってアスタキサンチンを展溶させた油脂層をそれぞれ回収した。

回収した油脂中のアスタキサンチン含量は、高速液体クロマトグラフ（HPLC）により、以下の条件で定量した。分離カラムは、イナードシル ODS2（4.6 mmID.×250 mm）、カラム温度 40℃、移動相アセトニトリル/水（90/10）、流速 1 ml/min、紫外

可視吸光度検出器で波長 478 nm で測定した。

### 2.1.3 エタノール濃度の影響

脱灰カニ殻 100g に、最終濃度が 60%(w/w)になるようにエタノール製剤 200g を添加して、カニ殻全体が完全に浸かる状態で、50℃で3時間抽出した後、ろ過してアスタキサンチン抽出液を調製した。

同様に脱灰カニ殻 100g に、最終濃度が 40%(w/w)になるように調製したエタノール溶液 200g を添加して、カニ殻全体が完全に浸かる状態で、50℃で3時間抽出した後、ろ過してアスタキサンチン抽出液を調製した。

得られた抽出液のアスタキサンチン濃度は、分光光度計によりスペクトルを測定し、極大吸収波長における吸光度を測定して比較した。

### 2.1.4 洗浄による油脂中のタンパク質含量の低減

2.1.2 に記載の開発法により調製し、回収したアスタキサンチン含有油脂と、このアスタキサンチン含有油脂 100 ml を分液ロートに採取し、水 100 ml を加えてよく混合した後、静置して得られた水層を除くことにより得られるアスタキサンチン含有油脂中のタンパク質含量をケルダール法により測定し、洗浄によるタンパク質含量の低減効果を調べた。

### 2.1.5 LC/MS によるアスタキサンチンの定性

カニ殻から抽出したアスタキサンチンは、日本化薬フードテクノ(株)に依頼し、LC/MS による定性分析を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 カニ殻と脱灰カニ殻の比較

アスタキサンチンの抽出原料としての適性を検討するため、カニ殻と脱灰カニ殻について比較した。

カニ殻 100g からの抽出に必要なエタノール製剤量、カニ殻 100g から抽出液に溶出したタンパク質の総量、抽出液のアスタキサンチン濃度（脱灰カニ殻の吸光度を 100 とした相対値）を表 1 に示した。

脱灰前のカニ殻は、カルシウムが残存しているために殻が硬く、細かく裁断しても容積が大きくかさばるためにエタノール製剤の使用量が多く、脱灰カ

ニ殻は、水分量が多いにも関わらず殻が軟らかくかさばらないためエタノール製剤量は少なく済むことが確認された。

表1 カニ殻と脱灰カニ殻の比較

	カニ殻	脱灰カニ殻
カニ殻重量	100g	100g
エタノール製剤使用量	285g	185g
溶出タンパク質総量	34.5g	23.8g
アスタキサンチン濃度 (479nm)	87.1	100

また、脱灰前のカニ殻からは、脱灰カニ殻よりもタンパク質が多く溶出することが明らかになった。カニ殻に含まれるタンパク質の一部が塩酸により溶出するため、減少したものと推定される。

抽出液のアスタキサンチン濃度を吸光度法で確認したところ、脱灰カニ殻の方が高く、抽出されやすくなっていることが確認された。

カニ殻からアスタキサンチンを抽出する場合、カニ殻からそのまま抽出するよりも、塩酸で脱灰してから抽出の方がより効率的であることが明らかになった。

### 3.2 従来特許法と開発法との比較

特許第 3918103 号に記載の方法に従って抽出して調製したアスタキサンチン含有油脂と開発法により抽出したアスタキサンチン含有油脂のアスタキサンチン含有量を高速液体クロマトグラフ法で定量した結果を表 2 に示した。

開発法である脱灰カニ殻からアスタキサンチンを抽出する方法は、既に特許化されている方法よりも効率的にアスタキサンチンが抽出できることが明らかになった。

表 2 従来特許法と開発法のアスタキサンチン含量の比較

	従来特許法	開発法
アスタキサンチン含量 (HPLC 法)	0.5mg	23mg



図 1 脱灰カニ殻から製造したアスタキサンチン含有油脂

### 3.3 エタノール濃度の影響

消防法で濃度 60%(w/w)以上のエタノールは、危険物第四類 アルコール類に指定されるために使用や保管において制限を受けることから、抽出に使用するエタノールの濃度はできるだけ低濃度であることが望ましい。

最終濃度が 60%(w/w)および 40%(w/w)になるように調製した条件で脱灰カニ殻からアスタキサンチンを抽出し、エタノール濃度の影響を確認した。

最終エタノール濃度 40%(w/w)と 60%(w/w)で抽出した抽出液を図 2 に示した。



図 2 アスタキサンチン抽出へのエタノール濃度の影響

左：最終濃度 40%(w/w)、右：最終濃度 60%(w/w)

最終エタノール濃度 40%(w/w)と 60%(w/w)で抽出した抽出液のアスタキサンチン濃度（最終エタノール濃度 60%(w/w)の吸光度を 100 とした相対値）を表 3 に示した。

表 3 に示すように最終エタノール濃度 40%(w/w) では、アスタキサンチンはほとんど抽出できないことが明らかになった。

表 3 最終エタノール濃度と脱灰カニ殻から抽出されたアスタキサンチン濃度の関係

最終エタノール濃度	40%(w/w)	60%(w/w)
アスタキサンチン濃度 (480 nm)	1.1	100

### 3.4 洗浄による油脂中のタンパク質含量の低減

カニやエビは、食品のアレルギー物質としてこれらを原材料とする加工食品において表示が義務化されている特定原材料である。

カニ殻を原材料とするアスタキサンチン含有油脂も表示が必要となるが、できるだけアレルギー物質となるタンパク質を含まないようにすることが望まれている。

アスタキサンチンは脂溶性で、水には溶解しないことから、アスタキサンチン含有油脂中のタンパク質を低減する方法として、水洗によるタンパク質低減効果を検討し、表 4 に示した。

表 4 水洗によるアスタキサンチン含有油脂中のタンパク質の低減効果

	水洗前	水洗後
タンパク質濃度	0.06%	0.02%

水洗という簡易な工程でもアスタキサンチン含有油脂中のタンパク質含量を低減することが可能であった。水洗を繰り返し行うことにより、さらにタンパク質含量を低減することも可能であった。

### 3.5 LC/MS によるアスタキサンチンの定性

カニ殻から抽出したアスタキサンチンを LC/MS で定性分析した結果を表 5 に示した。

主ピークは、アスタキサンチンであることが確認された。アスタキサンチン以外に同じ分子量を持つが極大吸収波長の異なる成分も検出されたが、これらは異性体であると推定された。

表 5 LC/MS によるアスタキサンチン含有油脂の分析結果

Peak No.	m/z	極大吸収(nm)	備考
1	597	478	アスタキサンチン
2	597	466	異性体
3	597	466	異性体

## 4. おわりに

カニ殻に含まれているアスタキサンチンは、抽出効率が低く、危険物となるエタノールを使用するためにコストが高く産業的に利用されてこなかった。本研究で開発した抽出法は、キチン・キトサンの製造工程に組み込むことが可能で、キチン・キトサンの生産量にも影響を与えることなく、効率的にカニ殻からアスタキサンチンを抽出できることから、「キチン・アスタキサンチン分離生産方法」として特許出願を行った<sup>2)</sup>。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、カニ殻を提供いただきました株式会社オーク並びにアスタキサンチンの分析に協力いただきました日本化薬フードテクノ株式会社に深く感謝いたします。

本研究において開発した特許の共同発明者である有限会社カンダ技工 中山 哉氏、八幡物産株式会社 池淵建夫氏、元鳥取県産業技術センター食品開発研究所 高橋祐介氏に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 特許第 3918103 号「エビ、カニの殻からアスタキサンチンを抽出する方法及び装置」
- 2) 特開 2012-206987 「キチン・アスタキサンチン分離生産方法」