

ばれいしょ澱粉工場廃液からの新規機能性食材の開発（平成12年度）

研究開発課 三野宮利江、大庭 潔
コスモ食品株式会社 宮坂春生
帯広畜産大学地域共同研究センター 宮本啓二

1. 背景・目的

本道の主要産業の一つであるばれいしょ澱粉工場から排出されるものは、大きく分けて、残さポテトパルプ(澱粉滓)とポテトジュースと呼ばれる廃液がある。ポテトパルプの一部は豚や牛の飼料や堆肥として利用されたり、廃液については様々な方法による水処理を施した後河川へ放流されたりしているのが現状である。これらの処理には多大な費用がかかるとともに環境への悪影響も懸念されている。また、この廃液には約5～6%の蛋白質が含まれており、道内各地にある10数カ所の澱粉工場15,000トン以上もの蛋白質が廃棄されていると試算される。

そこで、本試験では従来廃棄されるのみであった澱粉廃液中からポテトペプチドの精製、分画技術を開発するとともに、血圧上昇抑制効果の高いペプチドを生成し、全く新しい機能性食品素材としての活用の可能性を検討した。

2. 内容・方法

〔試料〕 美幌農工連澱粉工場製

澱粉工場から排出される廃液を濃縮することにより、析出してきた残さをろ過後、熱風乾燥したものを試料とした。

〔ポテトペプチドの精製〕

試料500gに4,500mlの蒸留水を加え、攪拌後NaOHを用いてpH6.5に調製し、加熱殺菌後（95℃）70℃まで冷却した後アマノAD（アミラーゼ）を0.8g添加し1時間攪拌した。その後、55℃に温度を調整しアルカラーゼ0.6Lを8g添加し4時間攪拌。さらに、50℃に温度を調整しフレーバーザイムLを4g添加し20時間攪拌しながら加水分解を行った。反応終了後98℃で30分間酵素の加熱失活を行い、放冷後イオン交換樹脂を用いて精製、さらにろ過を行い、電気透析により脱塩し、凍結乾燥して粗ポテトペプチド128.4gを得た。

使用酵素は、アマノAD（天野製薬製）、アルカラーゼ0.6L及びフレーバーザイムL（ノボノルディスク製）を用いた。

〔ACE阻害活性を有するポテトペプチドの精製〕

ポテトペプチド10gを500mlの蒸留水に溶解し、ODS樹脂20gを加え、2時間攪拌後吸引ろ過した。ODS樹脂を水で洗浄した後、10%、30%、50%のエタノールで順次溶出した。得られた活性画分をゲルろ過（Sephadex G-25）カラムに供した。さらに、ゲルろ過により得られた活性画分を集め、イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー（ファルマシア製 SP-Sephadex C-25）に供した。得られた活性画分は濃縮し、脱塩後、東ソー製TSKゲルODS-80Tsのカラムを用いた逆相系高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分析した。

〔ACE（アンジオテンシン 変換酵素）阻害活性の測定〕

ACE阻害活性の測定は、Cushman-Cheungの測定法に準じた。ACEが合成基質に作用することにより、Bz-Gly(馬尿酸)とHis-Leuが生成されることから、その中の馬尿酸を酢酸エチルで抽出し、228nmの吸光度を測定した。また、阻害率が50%となるときの反応液中の試料蛋白質濃度をIC₅₀とした。なお、蛋白質量はNa₂SO₄-TNBS 法により測定した。

〔アミノ酸分析〕

ACE阻害ペプチドのアミノ酸分析は、塩酸加水分解後、高速液体クロマトグラフィーを用いたNBD-F法で行った。

3. 結果・成果

〔ポテトペプチドの調製〕

粗蛋白質の回収率はポテトペプチドにすることにより20.8%となった。また、凍結乾燥により得られたポテトペプチド粉末に含まれる粗蛋白質量は50.3%であった。

〔ポテトペプチドに存在する

ACE阻害ペプチドの精製〕

ポテトペプチドをODS樹脂に通し得られた画分をTris-HCLに溶解し、ACE阻害活性の測定を行った結果、水溶出

画分にだけ活性が認められ、 $IC_{50} = 464 \mu\text{g/ml}$ であった。この水溶出画分をSephadex G-25のカラムに供し活性画分を得、さらにこの活性画分をイオン交換カラム (SP-Sephadex C-25) に供したところ、0.01M酢酸緩衝液溶出画分において2つのフラクションを得、それぞれを、とした。また、0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液溶出画分においては1つの活性画分が得られとした(図1)。得られた3つの溶出画分を濃縮後、ODSカラムを用いた逆相系HPLCにより分析を行った。3つの活性画分とも7分付近に220nmでの吸収が認められ、この画分に阻害活性が認められた(図2)。さらに、アミノ酸組成を表1に示した。

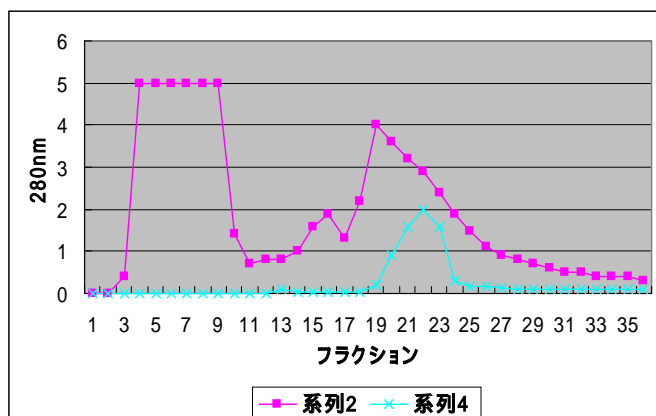


図1 Sephadex G-25 より溶出された活性画分の SP-SephadexC-25 によるカラムクロマトグラム

表1 活性画分のアミノ酸組成

アミノ酸	($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)	(ng/ml)
アスパラギン酸	2.1	3,578	0
グルタミン酸	4.6	127	0
セリン	1.9	571	105
グリシン	2.2	319	358
ヒスチジン	0	246	0
スレオニン	2.9	468	228
アラニン	2.4	877	0
プロリン	4.3	2,481	0
アルギニン	2.3	0	428
バリン	3.2	464	354
イソロイシン	1.2	234	270
ロイシン	1.2	362	291
フェニルアラニン	0.5	209	0
リジン	0	70	0
チロシン	0	158	0

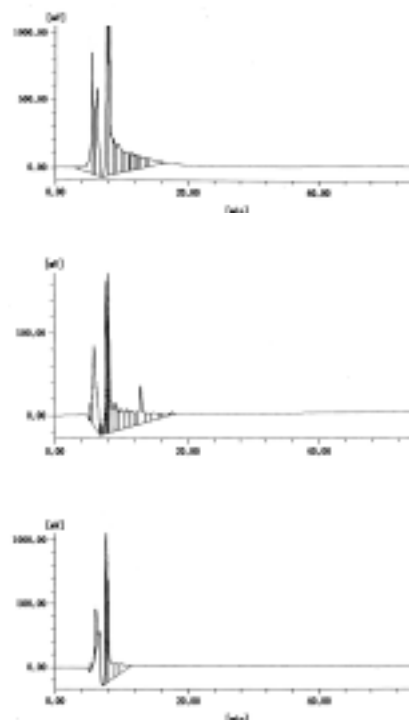


図2 3つの活性画分(, ,)の逆相系 HPLC によるクロマトグラム

4．考察

本試験において、濃縮廃液より調整された粗ポテトペプチドから得られた3つの画分を逆相系HPLCによる分析を行った結果、同一のリテンションタイムに活性ピークが観察された。また、アミノ酸組成を検討したところ、画分1については含まれるアミノ酸含量は低いがACE阻害活性が最も高いという結果になった。これは、ポテトペプチド以外の何らかの物質による影響も考えられる。

5．今後の展望

ばれいしょ澱粉工場から排出される廃液は、新しい天然系調味料としての用途が考えられ、特に低分子ペプチドは今後の新しい食品用素材としてさらなる発展が期待される。また、本試験で得られた粗ポテトペプチドにはACE阻害活性が見出され、これら天然系調味料は、これまででない全く新しい「機能性ポテトペプチド原料」としての販売の可能性が示唆された。

今後、事業化を行う上で、製造プロセスについての様々な課題は残っている。これらの課題を一つ一つ解決することにより、未利用資源の有効利用と環境負荷低減の両面に有効となるであろう。

なお、本試験は（財）北海道科学・産業振興財団（RSP事業）より一部ご協力を受けて実施されたものである。