

オカラの水溶性多糖抽出製造法に関する工学的研究

Kinetic Study of Extraction of Water-Soluble Polysaccharides from "Okara"

吉井英文(富山工業高等専門学校物質工学科)

古田 武(鳥取大学工学部生物応用工学科)

Hidefumi YOSHII¹ and Takeshi FURUTA²

¹Department of Biochemical Engineering, Toyama National College of Technology, Toyama 939

²Department of Biotechnology, Tottori University, Tottori 680

ABSTRACT

Kinetics of okara-hydrolysis was investigated with an autoclave at pH 4.5 in the two folds of water to the initial wet-okara with or without the chelator, 0.5-2% sodium hexametaphosphate. The reaction of okara-hydrolysis proceeded with the surface degradation mechanism without chelator. The characterization of the extracted water-soluble polysaccharides (WSP) suggested that the egg-box regions in okara were labile for the degradation with chelator and the non-egg-box regions were in higher content of WSP bound with hydrophobic proteins. The molecular weight of WSP higher than 10^5 and the content of WSP bound with proteins was important for emulsifying characteristics of WSP. The hydrolysis of okara without chelator was effective for obtaining WSP as emulsifier. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **16**, 41-45, 1995.

豆腐や大豆たん白質の製造の際に副生するオカラは、従来から家畜の飼料として利用されてきたが、食生活の変化や輸入飼料の増加に伴い食品廃棄物としてその処分方法が社会問題になっている。オカラは、水分を除くと約50%が炭水化物であり、そのうち約35%は繊維質であるため不溶性の性質を持っている。その繊維質の大部分は、ポリガラクトロン酸で構成されたペクチン質であり、その他若干の多糖が含まれている。この水溶性多糖を抽出し、乳化剤、増粘剤に有効に利用する技術が開発されている¹⁾。しかし、他の増粘剤、乳化剤等と同様に使用されるためには水溶性多糖抽出プロセスが省エネルギー型のプロセスでなければならない。また、オカラは保水性が非常に高く脱水が極めて困難であり、この脱水性の悪さが乾燥、焼却に多くのエネルギーを要し、オカラの処理費用を大きくしている。そのため、加水分解オカラからの水溶性多糖抽出操作において、脱水操作の効率化が必須である。

よって、本研究では、オカラから水溶性多糖を効率

良く抽出するために、加水分解操作、脱水操作に関して、オカラの加水分解反応のモデル化および脱水操作法の改善を目的に、オカラの加水分解による水溶性多糖抽出量、水溶性多糖の特質、加水分解オカラの脱水特性について検討した。

実験方法

実験材料及び薬品

オカラは、凍結オカラを不二製油より供与してもらったものを使用した。オカラ加水分解時に使用した塩化カルシウム、ヘキサメタリン酸ナトリウム(HMP)等は、和光純薬製特級試薬を用いた。水溶性多糖分子量測定標準分子量物質として昭和電工製のプルランを用いた。

加水分解操作

ステンレス容器(直径10cm×高さ6cm)に融解オカラを約15g～50g秤量し、1～3倍重量の蒸留水を

加えた後、1 N HClでpH 4.5に調整した。加水分解時に塩化カルシウム（オカラ重量に対して0.1～1重量%）、HMP（0.5～2重量%）、またはEDTA Na（1～2重量%）を添加する場合は、添加剤を加えた後、pH調整を行った。pH 4.5に調整したオカラを、オートクレーブ（トミー製、SS-245）を用いて120°Cで5～60分間加熱加水分解処理を行った。

加水分解率の測定

加水分解率は、加水分解前の乾燥オカラ重量 W_0 に対する加水分解・脱水洗浄後のオカラ残渣乾燥重量 W の比を用いて加水分解率 X （ $X = 1 - W/W_0$ ）を求めた。

加水分解オカラの圧搾脱水操作及び加水分解オカラ残渣の保水率の測定

加水分解オカラ約40 gをオカラ圧搾脱水機に入れ、脱水機に50°Cの循環水を流し、コンプレッサーでピストンの圧力を所定の圧力10 kg/cm²に調節後、脱水操作を30～60分間行った。連続的にろ液の重量を天秤で測定する事により、圧搾ろ過特性を測定した。ろ液を凍結乾燥機で凍結乾燥し、水溶性多糖を得た。圧搾後、加水分解オカラ残渣を80°Cで15時間真空乾燥を行い、乾燥前後の残渣重量から、残渣の保水率を求めた。

水溶性多糖の分子量²⁾及び蛍光測定

抽出した水溶性多糖の分子量は、20 mMリン酸緩衝液、pH 7.0、0.1 M Na₂SO₄で水溶性多糖濃度10 mg/mLに調整した後、HPLCにより測定した。水溶性多糖

粉末を0.1 M リン酸緩衝液（pH 7.0）で水溶性多糖濃度1 mg/mLに調整した後、蛍光光度計（日本分光製、FP-777）で温度25°Cで $E_{\lambda} = 280$ nm, $E_m = 350$ nmで蛍光強度を測定した。

乳化特性の測定

水溶性多糖の乳化性はPearceら³⁾の方法を用いて測定した。1/15 Mリン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4）に水溶性多糖を1%溶液になるように溶解させた。この試料溶液3 mLに大豆油を1 mL加え、ポリトロンを用いてNo. 8の回転数で、1分間ホモゲナイズした。このエマルジョンを0～30分間後、100 μ Lずつ試験管底部より採取し、0.1% SDS 5 mL中に入れ、その500 nmの吸光度を測定した。

水溶性多糖中のウロン酸含量測定

m-phenylphenol法⁴⁾により、水溶性多糖中のウロン酸（ガラクトツロン酸）含有量を測定した。

結果と考察

オカラの加水分解反応特性

Fig. 1に、加水分解オカラ乾燥重量を初期オカラ乾燥重量で割ったものの1/3乗の変化（見掛けのオカラ粒径比）を加水分解時間に対してプロットして示す。加水分解時にオカラに添加剤を加えない場合（以後NAと記述）、 $(W/W_0)^{1/3}$ が加水分解時間に対して直線的に減少しており、加水分解機構が表面分解反応機構であ

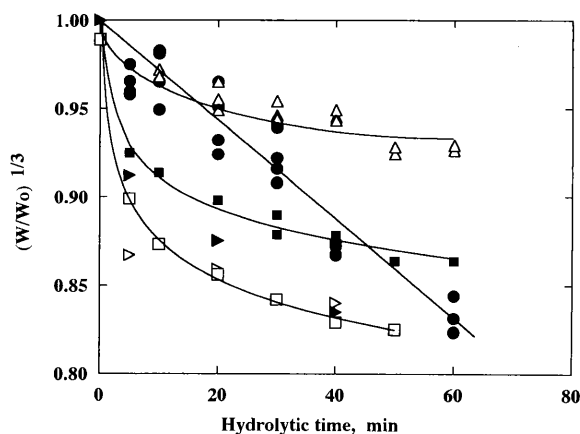


Fig. 1. Effect of CaCl₂, EDTA, or HMP on the hydrolysis reaction mechanism of okara.

△, 1% CaCl₂; ►, 1% EDTA; ▽, 2% EDTA; ■, 0.5% HMP; □, 2% HMP; ●, NA

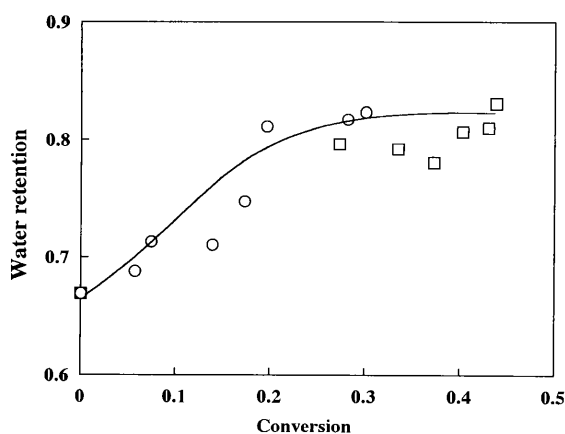


Fig. 2. Water retention of hydrolyzed-okara as function of hydrolysis conversion.

○, NA; □, 2% HMP.

ることを示していると考えられる。

1%塩化カルシウム、0.5%又は2%HMP、もしくは2%EDTAを添加して加水分解した場合のデータもFig. 1に併せて示すが、キレーターであるHMP、EDTAを添加した場合、加水分解初期に急激に分解し、加水分解時間と共に、 $(W/W_0)^{1/3}$ の塩化カルシウム添加の場合と同様の減少率を示す。オカラの構造⁵⁾は、ガラクトツロン酸を骨格にガラクトタン、アラビナン等が含まれ、分子鎖にねじれを持った繊維がからみ合った3次元網膜構造を形成していると考えられ、カルシウムの存在が繊維質の安定性に重要な因子になっ

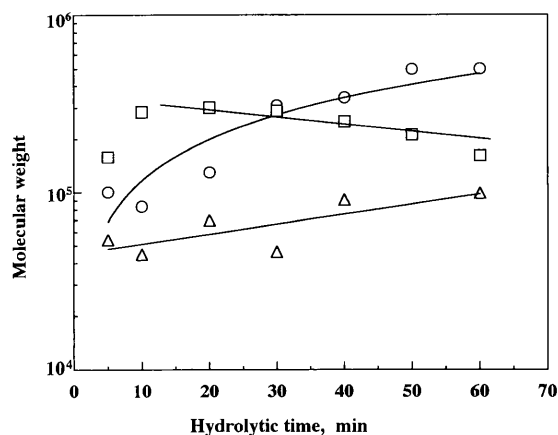


Fig. 3. Change of molecular weight of WSP from okara with hydrolytic time.
○, NA; △, 1% CaCl_2 ; □, 2% HMP.

ていると推察される。そのため、塩化カルシウムを添加した場合、ウロン酸（ガラクトツロン酸）を主成分とするEgg-box領域⁶⁾の構造が安定化されるためにオカラの分解率が悪く、それに対してキレーター添加の場合Egg-box領域のカルシウムが除去される事により、加水分解初期に大部分が加水分解されると考えられる。よって、Egg-box領域はカルシウム除去により非常に加水分解されやすい構造を持つと考えられる。

Fig. 2に、加水分解オカラ残渣の保水率を加水分解率に対して示す。2%HMP添加、無添加に拘わらず、加水分解率に対応してオカラ残渣の保水率が増加しており、加水分解オカラ残渣の保水率は加水分解率で相関できた。

水溶性多糖の特質

Fig. 3に加水分解時間に対する水溶性多糖の分子量変化を示す。塩化カルシウムを添加した場合、分解時間が長くなっても分子量は殆ど増加しなかった。逆に2%HMPを添加した場合、10分頃までは分子量が増加したが、その後減少している。これは、HMPを添加すると、カルシウム除去されたEgg-box領域が加水分解初期に急激に分解し、その後は水溶性多糖の分解反応が徐々に進む為であると考えられる。NAの場合は、徐々に分解率が上昇していくので、それに伴って分子量が増加している。

Fig. 4に、加水分解時に、無添加、1%塩化カルシウム添加あるいは2%HMP添加によって得られた水溶性多糖の分子量、ガラクトツロン酸含有率および蛍光の関係を示すが、それぞれの加水分解特性に対応して水

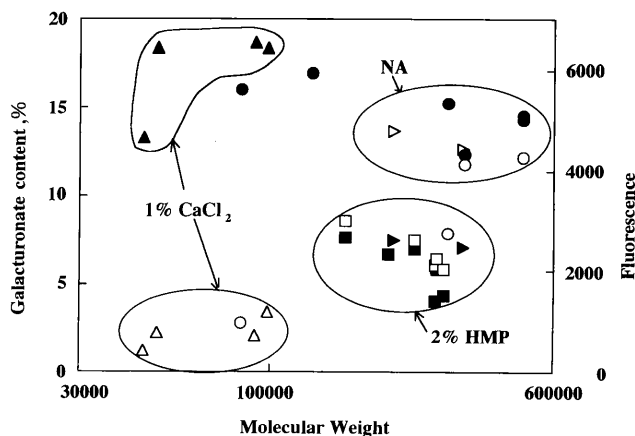


Fig. 4. Characterization of WSP from okara.

Galacturonate, %	Fluorescence
○, NA	●, NA
△, 1% CaCl_2	▲, 1% CaCl_2
□, 2% HMP	■, 2% HMP

溶性多糖を特徴的に分類する事ができた。1%塩化カルシウム添加の場合では、加水分解反応があまり進まないで分子量、ガラクトuron酸含有率ともに小さいが、蛍光強度だけが大きくなっている。HMP添加の場合では、ある程度分子量は大きくなっているが、ガラクトuron酸量、蛍光強度ともにやや小さくなっている。

これらの事より、Egg-box領域以外の部分にペプチドが多く存在していると考えられる。NAの場合では、加水分解時間が長くなるのに伴って徐々に分解反応が行われる為、低分子量から高分子量まで広く分布しているが、高分子量領域を一群と見る事ができる。

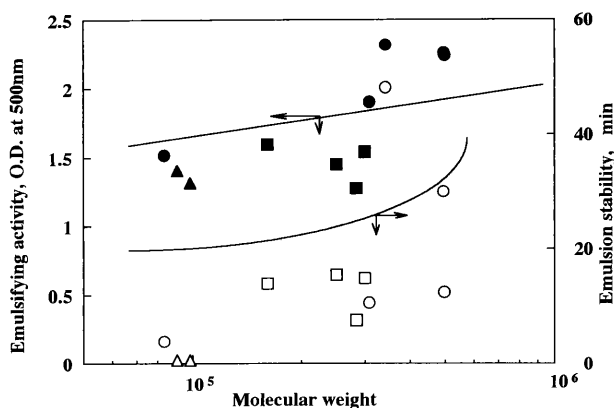


Fig. 5. Relationship between molecular weight of WSP and emulsifying properties.

Emulsifying activity

●, NA ; ■, 2% HMP ; ▲, 1% CaCl₂

Emulsion stability

○, NA ; □, 2% HMP ; △, 1% CaCl₂

—, the regression line for soy-protein polysaccharides conjugates by Kato *et al.*

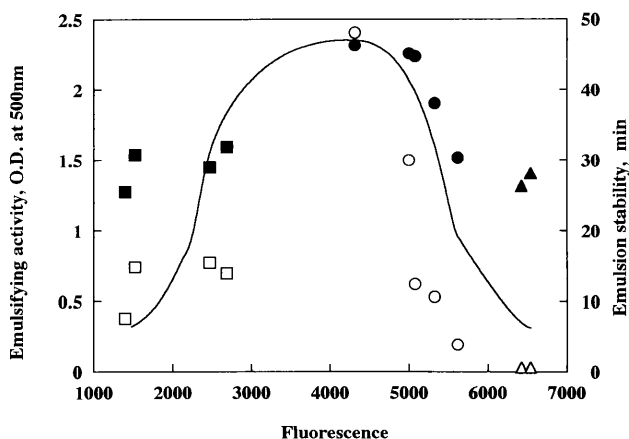


Fig. 6. Emulsifying properties as function of the fluorescence of WSP solution. The symbols were the same as in Fig. 5.

水溶性多糖の乳化特性

Fig. 5 に、水溶性多糖分子量と乳化活性、乳化安定性の関係について示す。図中の実線は加藤ら⁷⁾が大豆たん白質と種々の糖との複合体の乳化活性、乳化安定性を測定した結果である。乳化活性については、合成複合体にほぼ近い結果を得たが、乳化安定性については殆どがそれらを下回った結果になった。加藤らの結果と同様に、水溶性多糖の平均分子量が大きいものほど、乳化活性、乳化安定性が優れている傾向がある。

Fig. 6 に、乳化特性に及ぼすペプチド含有量の影響を水溶性多糖の蛍光強度を用いて示す。水溶性多糖の 350 nm の蛍光強度と乳化特性の間に、NA の分解時間 40 分の試料を極大値とする上に凸の曲線が得られた。このことから、水溶性多糖が大きな乳化特性を示す為には疎水性ペプチド量の最適値が存在すると考えられる。

以上の結果をまとめると、1) オカラの加水分解反応は、表面分解反応機構と推察される。2) オカラの Egg-box 領域は、キレーター添加により非常に分解しやすい構造であり、Egg-box 領域以外の部分に疎水性たん白質が結合していると推察される。3) 本実験条件では、オカラにキレーターを添加しない加水分解条件 (NA) のほうが、乳化安定性の高い水溶性多糖を得ることができた。

文 献

- 1) 前田裕一(1992): 水溶性大豆多糖の開発と応用。食品の開発と応用, **27**, 47-49.
- 2) Deckers HA, Olieman C, Rombouts FM and Pilnil W (1986): Calibration and application of high-performance size exclusion columns for molecular weight distribution of pectins. *Carbohydrate Polymer*, **6**, 361-378.
- 3) Pearce KM and Kinsella JE (1978): Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J Agric Food Chem*, **26**, 716-723.
- 4) Blumenkranz N and Asboe-Hansen G (1973): New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem*, **54**, 484-489.
- 5) Lababitich JM, Freeman LE and Ablbersheim P (1976): Structure of plant cell walls. *J Biol Chem*, **251**, 5904-5910.
- 6) Rees DA, Morris ER, Thom D and Madden, JK (1982): "The Polysaccharides", vol. 1, Aspinall GO ed., Academic Press, New York, pp.195-290.
- 7) 加藤昭夫, 木原由代, 佐原重弘(1994): 多糖修飾大豆たん白質の高品質化に及ぼす糖鎖長の影響。大豆たん白質研究会会誌, **15**, 7-12.