

# 食品廃棄物由来ペクチンと大豆たん白質の加熱縮合反応による 新規乳化剤の開発

吉井英文\*・古田 武

鳥取大学工学部

## Development of a New Emulsifier with the Conjugation Between Soy Protein and Pectin from Food Waste

Hidefumi YOSHII and Takeshi FURUTA

Faculty of Engineering, Tottori University, Tottori 680-8552

### ABSTRACT

Depolymerized citrus pectin has emulsifying properties. It is thought that the presence of a protein moiety in the depolymerized pectin plays a major functional role. In this study, the kinetic characterization of acid hydrolysis was investigated with high-methoxy (HM) pectin and soy protein to obtain water-soluble polysaccharides (WSP). A 6% by weight solution of HM-pectin and soy protein (5:1 w/w) at pH3-5 was incubated at a constant temperature (80°C-120°C) in an autoclave. Acid degradation kinetics of HM-pectin indicated a first-order degradation rate as the viscosity change of WSP. The change of mean emulsion diameter of d-limonene with WSP from HM-pectin and soy protein also showed a first-order rate. Both kinetic activation energies (42 kJ/mol) were obtained at pH 3.0. *Soy Protein Research, Japan* **6**, 29-33, 2003.

Key words : pectin, hydrolysis, conjugates, emulsifier

植物食品残渣の主成分である植物の細胞壁や中葉組織は、ペクチン質、ヘミセルロース、セルロースで構成されている。植物細胞壁を多く含む各種食品残渣物中のペクチン質の比率は、植物によって異なる。近年、各種植物性食品残渣のペクチン質の有効利用技術開発が盛んに行われている。

一方で、植物性たん白質の乳化能は、植物性たん白質が持つ基本的特質である。対照的に、多糖は優れた

親水性特質を持つために、油-水境界面での界面活性能が現れず、一部の例外を除き水溶性多糖のみでは、乳化剤として機能しない。しかし、アラビアガム(GA)は、オレンジオイル等フレーバーオイルの乳化剤として広く酸性域の食品飲料に用いられている。GAは、高度に枝分かれした構造の多糖に少量のたん白質が共有結合したWattle Blossom Model構造<sup>1)</sup>が提案されている。Dickinson<sup>2)</sup>は、GAの乳化特性におけるたん白質結合多糖の重要性を示唆している。さらに、Akhtar<sup>3)</sup>、およびLeroux<sup>4)</sup>は、分解ペクチンあるい

\* 〒680-8552 鳥取市湖山町南4-101

は各種ペクチンの乳化特性について検討しており、乳化特性に及ぼすたん白質結合多糖の重要性を指摘している。しかし、ペクチンとたん白質の縮合反応によるたん白質結合多糖の生成機構、生成速度に関する知見は、高橋ら<sup>9)</sup>が報告している以外に殆どないのが現状である。

よって、本研究では、ペクチンとたん白質の縮合反応を用いた新規乳化剤の開発を目的にHM-ペクチンと大豆たん白質の混合物を種々条件で加熱処理して得られた水溶性多糖の特質について調べた。さらに、たん白質結合多糖の生成機構、生成速度を推定するために一次分解速度定数の活性化エネルギーも求めた。

## 実験方法

### 試料

モデルペクチン質として、HM-ペクチン (HMP, 三晶社製)、水溶性多糖 (SSPS, ソヤファイブEN, 不二製油製) を用いた。大豆たん白質 (SPI) は、ニューフジプロV (不二製油製) を用いた。食品残渣として、ライム粕 (Agros社製)、ポテト粕 (Avebe社製) を用いた。その他の薬品は、和光純薬工業製試薬特級を用いた。加水分解には、高圧蒸気滅菌器 (EV-50, 平山製) を用いた。

### ペクチンの加水分解

水溶性多糖粉末 (WSP) の作成はSPI, HMPを70℃, 24 hで真空乾燥を行った。ついで、SPIとHMPを1:2または1:5で6.0 g混合し、溶媒94.0 g (蒸留水、または20 mmol緩衝液) をステンレス丸型ポット (100 $\phi$ ×60 mm) に加え、6.0 wt%の溶液を作った。ペクチン大豆たん白質スラリー溶液を、オートクレーブ加熱を行った後、遠心分離 (3,500 rpm, 20 min) により、上澄み溶液を得た。この溶液のpH測定を行った。上澄み溶液を300 mL用ナス型フラスコに入れた後、凍結乾燥 (24 h) した。さらに真空乾燥 (50℃, 24 h) を行い、得た粉末の重さを量り収率を求めた。

### 乳化能測定

水溶性多糖粉末0.5 g, Glycerol 0.75 g, 0.1M-クエン酸緩衝液3.75 gを試験管 (15 $\phi$ ×130 mm) にいれVortex mixerで混合した。その後d-Limonene : MCT : SAIB (=20 : 30 : 50) 0.5 g を添加しVortex mixerで混合した。水冷しながらホモゲナイザー (回転速度No. 8, ホモゲナイズ時間 30 sec×2) で乳化した。作成したエマルジョン径を、SALD-3000 (島津) で測定した。ねじ口マイティバイアル瓶 (24 $\phi$ ×50 mm) に乳化液をいれ、冷蔵庫中で保存し2週間後の

粒子径を測定した。

### ペクチン水溶液の粘度測定

水溶性多糖粉末0.5 gを蒸留水10 mLに溶解して、ねじ口マイティバイアル瓶 (24 $\phi$ ×50 mm) に添加した。Brookfield DV-II+Viscometerで粘度を測定 (25℃) した。

## 結果と考察

### ペクチンの加水分解のpH依存性

SPIとHMP (1:5) の6.0% (w/w) 混合物 (溶媒: 蒸留水) を、120℃でpH3.0~5.0, 10~90分間加熱してWSPを得た。50 mg/mL WSP溶液の粘度を測定した。水溶性多糖の粘度を、粘度が分子量と比例するとして見掛けの1次分解速度定数を得た。その結果をFig. 1に示す。横軸は、オートクレーブ内の温度が一定に保たれた時間、縦軸は粘度を表している。Fig. 2に、Fig. 1から得た1次分解速度定数をpHに対してプロットした図を示す。同様に、pHの異なる10% SSPS溶液を120℃で加熱加水分解した場合の粘度低下から、見かけの1次分解速度定数を求めた。SSPSの1次分解速度定数とペクチン分解を還元基生成速度で測定したKrallらの文献値<sup>6)</sup>を併せて示す。Fig. 2に示すようにHMPの1次分解速度定数は、pH値が上がるにつれ大きくなった。それに対して、SSPSの場合はpHが低下するにつれ、分解速度が大きくなっている。これは、SSPSの構造上、酸加水分解が主反応であるためであると推察される。Krallらのペクチン分解速度のpH依存性はペクチンのメチルエステル化度が70%の場合について図に示した。ペクチンのメチルエステル化度により、分解機構が異なることから、WSPの生成反応制御においてpHが重要であると考えられる。

### ペクチン-大豆たん白質の加水分解物より得られた水溶性多糖溶液の乳化特質

Table 1に、120℃, pH3.0, 30 minの加水分解条件でSPI-HMP, SPI-ライム粕, SPI-ポテト粕を加水分解して得たWSPを用いてd-limonene乳化エマルジョンの作成直後、4℃で2週間静置後の平均エマルジョン径を示す。Table 1より、ペクチンのみの加水分解分解物の場合、SSPS同様に平均エマルジョン径約1.73 $\mu$ mを得た。これはDickinsonらも推察しているが、ペクチン自身が持っているたん白質とペクチンの結合物が乳化能を持っているためと考えられる。SPIのみの場合は非常に大きな平均エマルジョン径を得た。よって、WSPが乳化能を高めるために必須であることが明らかである。ライム粕由来ペクチンまたはポテト粕由来ペ

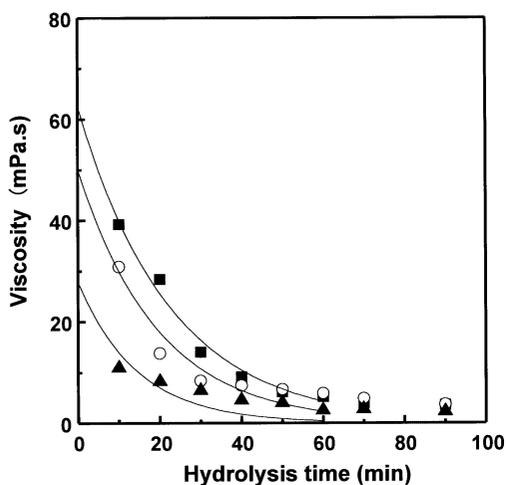


Fig. 1. Viscosity change of water-soluble polysaccharides in the hydrolysis of HM-pectin and soy protein (5/1, HM-pectin/SPI) at 120°C. ■, pH3; ○, pH4; ▲, pH5. The lines were obtained with the first-order degradation rate equation of  $\eta = \eta_0 \exp(-k(t+1980))$ .

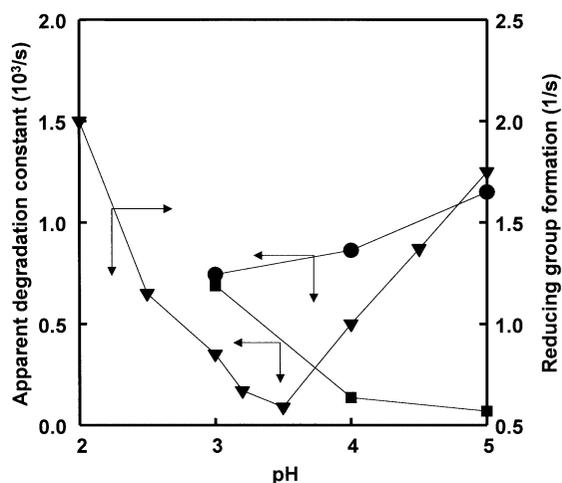


Fig. 2. Apparent degradation constant of HM-pectin. ●, HM-pectin; ■, SSPS; ▼, HM-pectin by Krall *et al.*

Table 1. Mean emulsion diameter of d-limonene with various water-soluble polysaccharides obtained by hydrolysis at 120°C and pH3 for 30 min

Source	Emulsion particle size ( $\mu\text{m}$ )		Emulsifier rightness
	0 day	14 days	
SPI	16.2 $\mu\text{m}$	Phase separation	×
HMP	1.73 $\mu\text{m}$	Phase separation	×
SPI/HMP (1/2)	1.30 $\mu\text{m}$	1.20 $\mu\text{m}$	○
SPI/HMP (1/5)	1.07 $\mu\text{m}$	1.06 $\mu\text{m}$	○
SPI/Lime residue (1/5)	1.37 $\mu\text{m}$	1.54 $\mu\text{m}$	○
SPI/Potato residue (1/5)	3.76 $\mu\text{m}$	1.73 $\mu\text{m}$	△

クチンと (5:1) の混合物からの水溶性多糖の場合、1.37  $\mu\text{m}$ とライム粕由来ペクチンを用いたほうが、若干平均エマルジョン径が小さかった。これらの結果より、SPIとペクチンを加水分解することにより乳化能の優れたWSPが得られることが解った。

#### HMP-SPI縮合物反応生成温度依存性

HMPとSPI (5:1) の混合物を、pH3.0において80, 90, 100, 110, 120°Cで一定時間加熱加水分解して得たWSPを用いて乳化d-limoneneエマルジョン径を測定した結果を、Fig. 3(a)に示す。横軸はオートクレーブ内の温度が一定に保たれた時間、縦軸は平均エマルジョン径を表している。図中の線は、平均エマルジョン径変化が時間履歴を考慮した1次分解速度で表されるとして求めた計算線である。温度が110°C, 120°Cで比

較的小さな乳化エマルジョン径が得られた。HMP-SPIの縮合反応には高い温度が必要であると解った。110°C, 20~30 min加熱では約0.7  $\mu\text{m}$ , 120°C, 5~10 min加熱では約0.8  $\mu\text{m}$ の平均エマルジョン径を得た。よって、緩やかな縮合反応により、乳化剤として良好なWSPを生産できることが解った。

#### HMPの分解温度依存性

HMPとSPI (5:1) の混合物を、pH3.0において80, 90, 100, 110, 120°Cで一定時間加熱加水分解して得たWSPを用いて粘度測定を行った結果をFig. 3(b)に示す。横軸はオートクレーブ内の温度が一定に保たれた時間、縦軸は粘度を表している。図より、加熱温度が高くなるにつれ水溶性多糖溶液の粘度が低下した。よって、HMPの分解には比較的高い温度が必要である

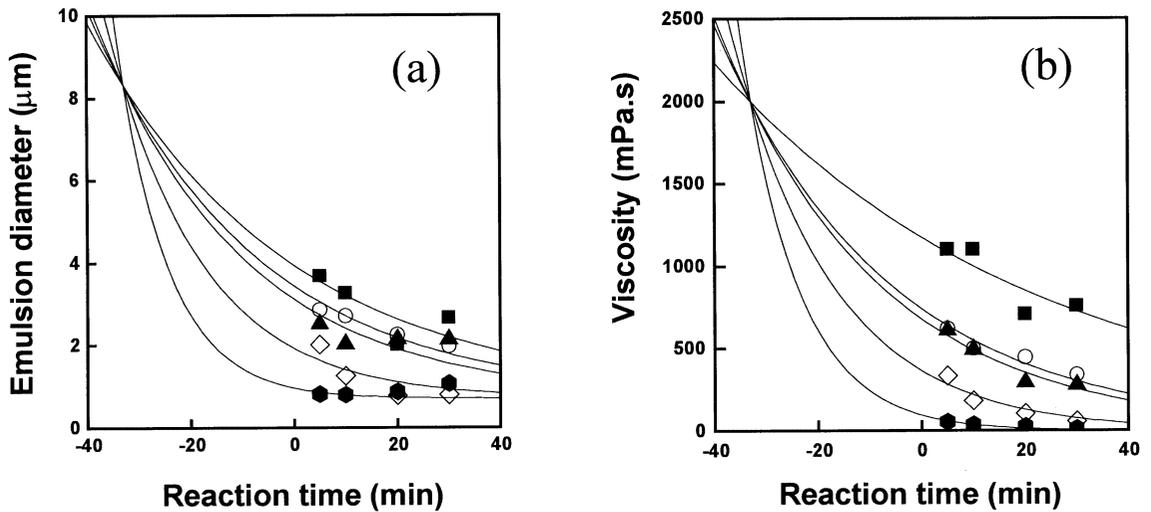


Fig. 3. Emulsion diameter change (a) and viscosity change (b) of water-soluble polysaccharides at pH3. Hydrolysis temperature: ■, 80°C; ○, 90°C; ▲, 100°C; ◇, 110°C; ●, 120°C. The lines were calculated lines with the first-order degradation rate equation of  $d = d_0 \exp(-k(t+1980))$  and  $\eta = \eta_0 \exp(-k(t+1980))$ , respectively.

と言える。図中の線は、粘度変化が時間履歴を考慮した1次分解速度で表されるとして求めた計算線である。

Fig. 3より平均エマルション径，粘度が分子量と比例するとして見掛けの1次分解速度定数を求めた。平均エマルション径測定による分解速度定数と粘度測定による分解速度定数のアレニウスプロットを行った。結果をFig. 4に示す。横軸は温度の逆数，縦軸は一次分解速度定数の対数を示す。図より，一次分解速度定数の活性化エネルギーをもとめた結果，42 kJ/molとなった。SSPS, GAの加水分解の活性化エネルギー94 kJ/mol，ペクチンの加水分解の活性化エネルギー112～124 kJ/molに比べ，低い値を得た。これらの結果より，このペクチンの加水分解反応と逆行して起こるたん白質とペクチン縮合反応について考えるとき，今後ペクチン-たん白質縮合物（水溶性多糖の分子量，構造）の構造と乳化能について検討すると共に，ペクチンの分解機構，速度の詳細を検討しなければならない。

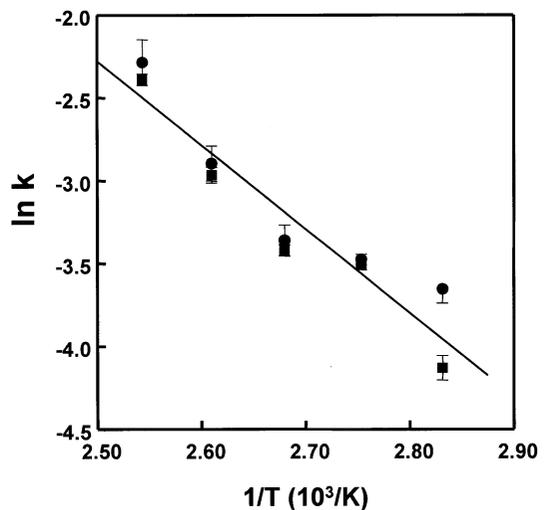


Fig. 4. Arrhenius plot of the first-order degradation rate constant with emulsion diameter change and viscosity change of water-soluble polysaccharides. Rate constant for: ■, emulsion diameter; ●, for viscosity.

## 要 約

ペクチン質を多く含む食品残渣と大豆たん白質を用いて，新規な乳化剤製造を企図し，本研究ではペクチンとたん白質の縮合反応を用いた新規乳化剤の開発を目的に，HM-ペクチンと大豆たん白質の混合物を酸加水分解処理し，得られた水溶性多糖の特質について調べた。HM-ペクチンと大豆たん白質を加水分解することにより得られた水溶性多糖を用いて，d-リモネン乳化エマルションをホモゲナイザーにより作成した。ペクチン大豆たん白質由来のこの水溶性多糖は，大豆水溶性多糖

と同様に、約1 $\mu$ mの安定なエマルションを作成できた。HM-ペクチンと大豆たん白質を、pH3において加水分解して得た水溶性多糖の粘度変化、作成エマルションの平均径の変化を、加水分解時間に対して見掛けの1次反応速度として取り扱い、分解速度定数の活性化エネルギー42 kJ/molを得た。

## 文 献

- 1) Connolly S, Fenyo JC and Vandavelde MC (1988): Effect of a proteinase on the macromolecular distribution of *Acacia senegal* gum. *Carbohydrate Polymers*, **8**, 23-32.
- 2) Dickinson E (2003): Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, **17**, 25-39.
- 3) Akhtar M, Eric Dickinson E, Mazoyer J and Langendorff V (2002): Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin, *Food Hydrocolloids*, **16**, 249-256.
- 4) Leroux J, Langendorff V, Schick G, Vaishnav V and Mazoyer J (2003): Emulsion stabilizing properties of pectin, *Food Hydrocolloids*, **17**, 455-462.
- 5) 高橋太郎, 中村彰宏, 戸邊順子, 吉田隆治, 前田裕一 (2003): 農芸化学会2003年度大会講演要旨集, P206.
- 6) Krall SM and McFeeters RF (1998): Pectin hydrolysis: effect of temperature, degree of methylation, pH, and calcium on hydrolysis rates. *J Agric Food Chem*, **46**, 1311-1315.