甘藷澱粉粕からペクチンの調製とその性状*

高峯和則**, 安部淳一¹, 岩屋あまね, 下野かおり, 間世田春作, 檜作 進²

鹿児島県工業技術センター食品工業部 (899-5105 鹿児島県始良郡隼人町小田 1445-1)

¹ 鹿児島大学農学部生物資源化学科 (890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24)² 鹿児島大学 (890-0065 鹿児島市郡元 1-21-40)

Preparation of Pectin from Sweetpotato Residue and Its Characterization*

Kazunori Takamine,** Jun-ichi Abe,¹ Amane Iwaya, Kaori Shimono, Syunsaku Maseda and Susumu Hizukuri²*Kagoshima Prefectural Institute of Industrial Technology
(1445-1, Oda, Hayato-cho, Aira-gun, Kagoshima 899-5105, Japan)**¹Department of Biochemical Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kagoshima University
(1-21-24, Korimoto, Kagoshima 890-0065, Japan)**²Kagoshima University (1-21-40, Korimoto, Kagoshima 890-0065, Japan)*

The conditions for selective and effective extraction of pectin from sweetpotato residue were established. Sodium or potassium phosphate solutions of pH 7 or above were suitable for the extraction. The gelatinization of starch in the residue, which interfered with the extraction, was minimized by extraction at 63°C or below. The extract was fractionated into 4 fractions, starch, arabinogalactan and pectin of two types, by DEAE-Toyopearl 650M ion-exchange chromatography. One pectin fraction had two peaks and their molecular weightes were 795,000 and 167,000, and that of the other pectin fraction was 278,000. The uronic acid contents of the two pectin fractions were 82.4 and 92.1%, respectively.

鹿児島県の基幹農作物である甘藷は、澱粉用として年間 21 万トン生産されている。甘藷から澱粉を分離した残留物（以後、澱粉粕）は、年間約 1.5 万トン（乾物）排出され、これまでクエン酸発酵の原料としてすべて使用されてきた。しかし、外国から安価なクエン酸が輸入され、製造は休止に追い込まれ、澱粉粕の処理が大きな問題となっている。澱粉粕の有効利用方法として、著者ら¹⁾は澱粉粕から食物繊維の新しい製造方法とその物理的特性について報告し、甘藷の食物繊維画分にはペクチンが約 40% 含まれていることを明らかにした。この値は、ペクチンの供給源として有用視されている甜菜の食物繊維画分中のペクチン含量が 30%²⁾であるのと比べはるかに多い。ペクチンは食品工業において安定化剤などとして広く利用されているが、近年、便通改善、血中コレステロールレベルの上

昇抑制効果、高血圧抑制効果などの機能性が評価されている³⁾。ペクチンの抽出は、繊維質材料から熱水⁴⁾、熱希塩酸^{5,6)}やシュウ酸アンモニウム水溶液^{7,8)}が用いられている。しかしながら、甘藷澱粉粕中のペクチンは熱水や熱希塩酸ではほとんど抽出されない。その理由として、甘藷から澱粉を分離する際に、磨砕した甘藷に石灰溶液を添加し分離を容易にしているため、ペクチンのカルボキシル基のほとんどがカルシウム塩になっているためと考えられる。また、澱粉粕には約 44% の澱粉が含まれている¹⁾ため、高温下では澱粉が糊化し、澱粉とペクチンの分画が必要となる。更に、シュウ酸アンモニウムは食品添加物として認められていない。

そこで、本研究では澱粉が糊化しない条件で、かつ、食品添加物から試薬を選定し、澱粉粕からペクチンを効率よく調製する条件を検討した。また、抽出液から透析・凍結乾燥して得られたペクチンの一般的な性状についても検討した。

* 甘藷澱粉粕の高度利用に関する研究（第 2 報）

** Corresponding author.

実験方法

1. 試料および試薬

澱粉粕は、九州化工(株)から供与された温風乾燥澱粉粕を、開口部が $840\ \mu\text{m}$ の篩で皮と筋の部分(乾物比で 1.2% 含有)を除去し、以下の実験に使用した。ペクチンのけん化には、シグマ社製のペクチン(ガラクトツロン酸として 82% 含有, エステル化度 89%)を使用した。分子量測定のための標準試料は、昭和電工製の Shodex STANDARDP-82 (分子量が 0.59, 1.18, 2.28, 4.73, 11.2, 21.2, 40.4 および 78.8×10^4 のプルラン)を用いた。

2. 澱粉粕からペクチンの抽出

1) 澱粉粕懸濁液の調製

澱粉粕懸濁液は以下の方法で調製した。すなわち、澱粉粕 1.0 g (乾物当たり)に蒸留水を加え 12,000 rpm で 30 秒間ホモジナイズ後、 $1650 \times g$ で 10 分間遠心分離した。この工程を再度行い、得られた沈澱画分を蒸留水で 100.0 g とし澱粉粕懸濁液とした。

2) 抽出方法および定量方法

澱粉粕からペクチンの抽出は、澱粉粕懸濁液をスターラーで十分に攪拌しながら 1.5 mL 容のプラスチックチューブに 0.95 mL 分注し、あらかじめ 1.0 M に調製した Table1 に示す試薬を 50 μL 添加し十分に攪拌し、 $5 \sim 70^\circ\text{C}$ でときどき攪拌しながら 24 時間抽出した。その後、抽出液全量を 50 mL 容のプラスチック遠心分離管に移し、蒸留水で 40.0 g とし攪拌後、 $1650 \times g$ で 10 分間遠心分離した。ペクチンの構成糖の大部分はガラクトツロン酸であることが明らかにされている⁹⁾。したがって、得られた上澄み液について、ウロン酸は *m*-ヒドロキシジフェニル法¹⁰⁾で無水ガラクトツロン酸として定量した。また、全糖はフェノール-硫酸法¹¹⁾でグルコースとして定量した。

3. イオン交換クロマトグラフィー

抽出液のイオン交換クロマトグラフィーは Noda ら⁸⁾の方法を一部改変して行った。すなわち、0.025 M リン酸緩衝液 (pH 5.8) で平衡化した DEAE-Toyopearl 650M のカラム ($3.0\ \text{cm} \times 30\ \text{cm}$) に抽出液を 10 mL 流し、0.025, 0.05, 0.1, 0.25 および 0.5 M リン酸緩衝液 (pH 5.8) の順でそれぞれ 52, 24, 24, 76 および 24 分間、次に 0.2 および 0.5 N 水酸化ナトリウムの順でそれぞれ 60 分間、最後に 0.025 M リン酸緩衝液 (pH 5.8) を 52 分間、流速 2.8 mL/min で溶出させた。4 分間ずつ分取し、各フラクションについて、全糖およびウロン酸量をそれぞれフェノール-硫酸法および *m*-ヒド

ロキシジフェニル法で定量した。各画分は、セロファンチューブ(和光純薬社製)で蒸留水を用いて透析し、凍結乾燥した。

4. 各画分の糖組成および分子量測定

イオン交換クロマトグラフィーで分画して得られた凍結乾燥物 2 mg に蒸留水 1 mL を添加し、冷蔵庫内で 24 時間放置後十分に攪拌し溶解した。なお、この操作で溶解しない試料は沸騰浴中で溶解した。この溶液の一部は分子量測定に供し、100 μL は 0.5 M 硫酸溶液 1 mL に添加し、 121°C で 2 時間加水分解した。この溶液を 10 mL に定容後、*m*-ヒドロキシジフェニル法でウロン酸を定量し、残りの全量を日本ダイオネクス社の OnGuard-A で脱硫酸後、日本ダイオネクス社の高速液体クロマトグラフ DX500 で中性糖を定量した。分析条件は Shibamura ら¹²⁾の方法に従った。

分子量の測定は、日本ウォーターズ社製のウルトラハイドロジェル 250 および 1000 ($7.8\ \text{mm} \times 300\ \text{mm}$) カラムによるゲル濾過により、検出器は示差屈折計(日本分光社製 RID-300)、溶媒は 0.1 M 硝酸ナトリウム、流速は 0.6 mL/min、カラム温度は 40°C で行った。

5. ペクチンのけん化およびけん化したペクチンの可溶性

1) ペクチンのけん化

ペクチンのけん化は、0.3% に調製したペクチン溶液 1.0 mL に 1.0% 水酸化カルシウム懸濁液 0.1 mL を添加し、 5°C で 16 時間保存した。

2) けん化したペクチンの可溶性

けん化したペクチンの可溶性は、Table 2 に示す溶液を添加し十分に攪拌後、 60°C で 5 時間ときどき攪拌して行った。その後、 $8400 \times g$ で 10 分間遠心分離し、得られた上澄み液の全糖をフェノール-硫酸法で無水ガラクトツロン酸を標準として定量した。

実験結果および考察

1. 澱粉粕からペクチンの抽出条件

1) 澱粉粕中のウロン酸含量

著者ら¹⁾は澱粉粕中の食物繊維は 49.7% で、その 41.3% がペクチンであると報告した。ペクチン中のウロン酸量を定量した結果 68.5% であったことから、澱粉粕中のウロン酸は乾物当たり 14.1% と計算された。この値を用いて以下の実験におけるウロン酸の抽出率を求めた。

2) 抽出試薬の影響

澱粉粕からのペクチンの抽出は、Table1 に示す試

葉を 50 mM になるように澱粉粕懸濁液に添加し 60°C で 24 時間行った。その結果、柑橘類からペクチンを抽出する際に使用されているクエン酸、塩酸およびリン酸では、ウロン酸の抽出率は 5–11% 程度であった。缶詰や瓶詰食品のみに使用可能な EDTA や、ペクチンの分析に通常用いられているシュウ酸アンモニウムでは、ウロン酸の抽出率はそれぞれ 94.2 および 82.8% と高い値であった。一方、抽出液の最終 pH が中性から弱アルカリ性となるリン酸二カリウム、リン酸三カリウムおよびリン酸二ナトリウムでは、ウロン酸の抽出率がそれぞれ 80.9, 76.9 および 81.8% であった。しかし、抽出液の最終 pH が 6 以下であるリン酸一カリウムとリン酸一ナトリウムでは、ウロン酸はほとんど抽出されなかった。リン酸塩でも抽出率に大きな差が生じることが認められた。

甘藷澱粉製造工程において甘藷を磨砕後、磨砕液に石灰溶液を添加し澱粉と澱粉粕の分離を容易にしている。これは、甘藷食物繊維のペクチンがアルカリ溶液中でカルシウムでけん化され、そのカルシウムがペクチンのカルボキシル基間を介在し、見かけ上高分子のペクチンとなり強固なゲルを形成する⁹⁾ことを利用している。そのため、澱粉粕からペクチンを抽出するためには、抽出液中で 2 価以上のリン酸イオンになるように pH を調整する必要があると考えられる。なお、

リン酸の pKa は 2.12, 7.21 および 12.32¹³⁾である。

そこで、エステル化度 89% のペクチンを水酸化カルシウムでけん化することで、不溶性ペクチンとし、可溶化に及ぼすリン酸塩溶液の pH の影響について検討した。その結果を Table 2 および Fig. 1 に示す。リン酸二ナトリウム溶液と酢酸緩衝液 (pH 4.3–5.9) の混合液を用いた場合、不溶性ペクチンは可溶化しなかった。しかし、リン酸二ナトリウム溶液とリン酸緩衝液 (pH 6.8) との混合液およびリン酸二ナトリウム溶液のみでは、不溶性ペクチンが可溶化することが認められた。一方、リン酸一ナトリウム溶液と水酸化ナトリウム溶液の混合液の場合、pH 7.1 以上で不溶性ペクチンが可溶化された。このことから、リン酸塩を用いて澱粉粕からペクチンを可溶化させるためには、抽出液中のリン酸イオンが 2 価以上になるように pH を調整することが必要であることが認められた。

3) 抽出温度の影響

竹田ら¹⁴⁾は、さつまいも澱粉は 65°C 付近から糊化が始まり、78°C では完全に糊化されると報告している。澱粉粕からペクチンを抽出した溶液から、ペクチンをエタノール沈澱法などで回収するためには、澱粉が糊化しない条件で行う必要がある。そこで、1% 澱粉粕懸濁液にリン酸二ナトリウムが 50 mM になるように添加し、ペクチンの抽出を行った。その結果、Fig. 2 に示すように、40°C 以上でウロン酸の抽出率が急上昇し、70°C で約 82% と最も高い値であった。一方、全糖は、60°C 付近でわずかに上昇したが、66°C 以上で急激に増加した。これは澱粉粕中の澱粉が糊化したためと考えられる。このことから、ペクチンの抽出温度は澱粉の糊化を伴わない 63°C を至適温度とした。

2. 抽出液のイオン交換クロマトグラフィーによる分画

3% 澱粉粕懸濁液 200 mL にリン酸二ナトリウムが 50 mM になるように添加し、63°C で 24 時間ときどき攪拌しながらペクチンの抽出を行った。その後、18,400×g で 20 分間遠心分離した結果、180 mL の上澄み液が得られ、ウロン酸含量が 3.91 mg/mL であった。この溶液の一部を 0.45 μm のフィルターで濾過した後、DEAE-Toyopearl 650M カラムで分画した。その結果、Fig. 3 に示すように、0.025 M リン酸緩衝液で溶出される F1 画分 (Fraction No. 9–16)、0.25 M リン酸緩衝液で溶出される F2 画分 (Fraction No. 41–45)、0.2 N 水酸化ナトリウム溶液で溶出される F3 画分 (Fraction No. 61–69) および 0.5 N 水酸化ナトリウム

Table 1. Extraction of pectin.

Reagent*	Final pH	Extraction (%)
Potassium dihydrogenphosphate	5.7	2.3
Dipotassium hydrogenphosphate	7.5	80.9
Tripotassium phosphate	10.0	76.9
Sodium dihydrogenphosphate	5.9	2.2
Disodium hydrogenphosphate	7.6	81.8
Trisodium phosphate	10.5	79.3
Trisodium citrate	7.6	81.4
Sodium carbonate	10.0	66.4
Sodium chloride	6.3	0.5
Citric acid	2.5	5.4
Hydrochloric acid	1.6	8.1
Phosphoric acid	1.9	10.8
EDTA	8.4	94.2
Ammonium oxalate	6.2	82.8

*One M of each reagent (50 μL) was added to a sweet-potato residue suspension (0.95 mL). The mixture was stood for 24 h at 60°C, with occasional stirring and centrifuged at 1600×g for 10 min.

Table 2. Solution for solubilization of the saponificated pectin.^a

50 mM-Disodium hydrogenphosphate (μL)	1 M-Acetate buffer pH	(μL)	1 M-Phosphate buffer pH	(μL)	Distilled water (μL)	pH ^b
180	3.4	100		0	0	4.3
180	4.0	100		0	0	4.4
180	4.2	100		0	0	4.7
180	4.9	100		0	0	5.4
180	5.6	100		0	0	6.1
180	5.9	100		0	0	6.6
180	—	0	6.8	100	0	7.1
180	—	0	—	0	100	8.0

50 mM-Sodium dihydrogenphosphate (μL)	0.1 N-Sodium hydroxide (μL)	Distilled water (μL)	pH ^b
180	10	90	6.8
180	20	80	7.0
180	30	70	7.1
180	50	50	7.3
180	100	0	8.0
180	400	0	11.1

^aSee text. ^bpH of mixture of the solution and the saponificated pectin. **Fig. 1.** Effect of pH of phosphate solution on the solubilization pectin gel.

○, sodium dihydrogenphosphate adjusted pH with sodium hydroxide; ●, disodium hydrogenphosphate adjusted pH with acetate buffer and phosphate buffer. Conditions: see Table 2.

Fig. 2. Effect of extraction temperature.

^a) Percentage of extracted total sugar as glucose for sweetpotato starch residue. ○, uronic acid; ●, total sugar.

Fig. 3. DEAE-Toyopearl 650M ion-exchange chromatograms of extracted solution.

○, uronic acid; ●, total sugar (as Glucose). A, B, C, D and E were 0.025, 0.05, 0.1, 0.25 and 0.5 M phosphate buffer (pH 5.8), respectively. F and G were 0.2 and 0.5 M sodium hydroxide, respectively.

Fig. 4. Gel filtration chromatograms of Fraction 1 (A), Fraction 2 (B), Fraction 3 (C) and Fraction 4 (D).

溶液で溶出される F4 画分 (Fraction No. 78-88) の四つの画分が得られた。F1 および F2 画分はウロン酸が検出されなかった。それぞれの画分を透析、凍結乾燥した。

3. 各画分の糖組成と分子量

各画分の凍結乾燥物の重量比は、F1 が 5.4%, F2 が 5.6%, F3 が 64.7% および F4 が 24.3% であり、F3 および F4 で 90% 以上を占めることが認められた。

構成糖は Table 3 に示すように、F1 画分はグルコースが 76.8% を占めることから主に、澱粉が可溶化した画分と考えられる。F2 画分は主に L-アラビノース

Table 3. Sugar compositions of fractions of DEAE-Toyopearl 650M column chromatography.

Fraction ^a	Sugar composition (%)						
	Rham	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man	Uronic acid ^b
F1	1.9	5.9	10.7	76.8	1.3	3.4	0.1
F2	9.1	29.0	45.8	7.9	1.4	6.8	0.0
F3	2.9	5.9	7.9	0.8	0.1	0.0	82.4
F4	1.3	2.4	3.0	0.3	0.2	0.6	92.1

^aSee Fig. 3. ^bAs galacturonic acid, anhydrous.

およびガラクトースから成っていることからアラビノガラクトンと考えられる。F3 および F4 画分はウロン酸含有がそれぞれ 82.4%, 92.1% であるペクチン画分であった。また、Fig.4 に示すように、F1, F2 および F4 画分の分子量はそれぞれ、6800, 137,000 および 278,000 にピークがある画分であった。一方、F3 画分の分子量は 795,000 と 167,000 にピークがあり、その面積比から 1 対 5 の割合であった。

要 約

甘藷澱粉粕からペクチンのみを選択的に効率よく抽出できる条件を確立した。その条件は、抽出液として pH 7 以上のリン酸塩が適していた。抽出温度は 63°C 以下に設定することで、甘藷澱粉粕中の澱粉の可溶化を最小限にすることができた。得られた抽出液は DEAE-Toyopearl 650M カラムにより、澱粉画分、アラビノガラクトン画分と二つのタイプのペクチン画分の 4 画分に分離された。一つのペクチン画分は分子量が、795,000 と 167,000 にピークがあり、もう一つの画分は 278,000 にピークがあり、それぞれウロン酸含量は 82.4% および 92.1% であった。

本研究は、科学技術庁の平成 9-11 年度科学技術振興調整費による「地域先端研究：地域糖質資源の高機能化と環境調和型利用システムの基盤研究」の一環として行ったものであり、記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 高峯和則, 安部淳一, 岩屋あまね, 間世田春作, 檜作 進: 甘藷澱粉粕から食物繊維の新しい製造方法とその物理的特性. 応用糖質科学, **47**, 67-72 (2000).
- 2) 青江誠一郎: 食品に利用される食物繊維素材について. 「食物繊維」, 印南 敏, 桐山修八編集, 第一出版, 東京, p. 341 (1995).

- 3) 山口文秀, 内田節子, 清水典子, 前田 進, 畑中千歳: 低分子ペクチン酸を配合してなる飲食品. 特開平 05-192108 (1993).
- 4) 李 拖平, 山内 亮, 加藤宏治: サンザシペクチンの分画とその性状. 応用糖質科学, **45**, 27-32 (1998).
- 5) 大塚洋子, 澤山 茂, 川端晶子: ルバーブの食物繊維とくにペクチンの理化学的性質. 日本調理科学会, **28**, 146-150 (1995).
- 6) K. Kuribayashi: Properties of pressure-extracted pectin from Satsuma mandarin. in *High Pressure and Biotechnology*, Vol. 224, C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans and P. Masson, eds., Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd., Montrouge, p. 337 (1992).
- 7) 栗林 剛, 大沢克己, 高波修一, 黒河内邦夫: 加圧抽出した温州みかんペクチンの理化学的性質に関する研究. 長野県食品工業試験場研究報告, **21**, 26-28 (1993).
- 8) T. Noda, Y. Takahata, T. Nagata and N. Shibuya: Chemical composition of cell wall material from sweet potato starch residue. *Starch/Stärke*, **46**, 232-236 (1994).
- 9) 桜井直樹, 山本良一, 加藤陽治: 「植物細胞壁と多糖類」, 培風館, 東京, p. 34 (1991).
- 10) N. Blumenkrantz and G. Asbsoe-hensen: New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.*, **54**, 484-489 (1973).
- 11) M. Dubos, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956).
- 12) K. Shibamura, K. Takamine, S. Maseda, T. Osaki, J. Abe and S. Hizukuri: Partial acid hydrolysis of corn fiber for the production of L-arabinose. *J. Appl. Glycosci.*, **46**, 249-256 (1999).
- 13) R. A. Day, Jr. and A. L. Underwood: 「定量分析化学」, 鳥居泰男, 康 智三訳, 培風館, 東京, p. 160 (1986).
- 14) 竹田千重乃, 檜作 進: 各種でんぷんの熱糊化の特徴. 農化, **48**, 23-29 (1974).

(2000 年 1 月 5 日受付; 2000 年 3 月 9 日受理)