

(308)

(佐藤, 麻生) リンゴの利用に関する研究(第13報)

リンゴの利用に関する研究 (第13報) ペクチンの製造試験

佐藤 昭雄・麻生 清 (東北大学農学部農産物利用研究室)

我が國で昔から果物加工の副産物よりペクチンの製造試験が数多く行われたが、本格的操業に入るほどのよい成績があがらず、昨今は殆ど輸入によつて賄われている現状である。然るに目下果汁工業が大に振興しつつあるとき、其の搾粕の利用の一つとしてペクチンの製造を積極的に行うべき段階にあるのであるが、扱てどの方法を採用したらよいか大に迷う所である。

粉末ペクチン製造法として搾粕からのペクチン抽出液を drum-drying, spray-drying, 又は freeze-drying 等による乾燥法と、有機溶剤、鹽析又は金屬イオン等による沈澱法とがある。我が國では主にアルコール類による沈澱法が研究され、最近では銅イオンによる沈澱法の工業化が企圖されているのであるが、アルコール沈澱法はアルコールの回収率と価格が問題であり、銅イオン沈澱法は其の銅イオンの徹底的除去の困難さからくる食品衛生上の問題が難點である。それで我々は先づ JOSEPH 等¹⁾の AlCl_3 による沈澱法をリンゴペクチン製造に採用して実験を行つて見た。

次にリンゴの low-methoxyl-pectin (LMP と略す) の製造試験を行つた。普通のペクチンは適当なゼリー形成のために可溶性固形物50%以上を必要とするが、メトキシル含量7%以下の LMP は Ca の如き微量の多價陽イオンの存在に於いて可溶性固形物50%以下で強いゲルを形成する事が出来る。時として可溶性固形物1%以下でもゲル形成が起るとされ、又 LMP として適当なメトキシル含量は2.5~4.5%とされている²⁾。其の LMP を調製するにはエステル分解の時期をペクチン抽出の前、中及び後のいずれにするか、又エステル分解をアルカリ、酸及び酵素のいずれを用いて行うかによつて種々の方法が考えられるが、我々は GRAHAM 等の方法³⁾を採用して抽出後アルカリによるエステル分解を行つて LMP を試製して見た。

実験の部

A. ペクチンの試製

1) 原料リンゴ粕 昭和28年産リンゴ(國光)の新鮮な壓搾粕を初め80~90°Cで、水分が25%前後になつたら65~70°Cに調節して乾燥したもの1.5kgを原料とした。其の分析は第1表〔A〕に示す。

Table 1. Chemical analysis of dried apple pomace

	〔A〕	〔B〕		〔A〕	〔B〕
Moisture	11.35%	26.79%	Total sugar ^{b)}	42.64%	42.40%
Ash	1.11	1.62	Reducing sugar ^{c)}	24.45	28.11
Total pectin ^{a)}	18.20	12.44	Sucrose	5.06	3.32
Soluble pectin ^{a)}	3.34	4.20	Acid	1.47	—

a) as Ca-pectate, b) as glucose, c) as fructose, d) as malic acid.

2) 前處理及び抽出 原料粕を温水に2~3時間浸漬後布袋で水を切り、後約10 lの冷水を加えて1時間放置して再び水切りをし、此の冷水洗滌を4回繰り返したものに亜硫酸と熱水を加え、pHを2.2、温度を95°Cにして45分間抽出したものを布袋に入れ、手動式プレスで熱いうちに搾汁する事3回繰り返す、其の合液(pH 2.4)を放冷しながら通氣して出来るだけ SO_2 を追出すときは pH が約2.6位になつた。

3) 濾過清澄 抽出液を一夜放置して得た上層部の液に濾過助剤として1%量の celite を、沈澱部には2%量を添加して吸引濾過を行つた。尚抽出液は沃度澱粉反應を示さなかつたので特に diastase 處理をせず、其の濾液は赤橙色半透明な粘稠液で約30 l、此の中のペクチン含量は Ca-pectate として0.7%で、ペクチンの回収率は不溶性ペクチンに對し94.2%であつた。

4) AlCl_3 によるペクチン沈澱、壓搾並びに洗滌 Na_2CO_3 を加え抽出液の pH を4.0~4.2に調節し、20% AlCl_3 水溶液の所要量を強く攪拌しながら注加すると AlCl_3 の加水分解で出來たコロイダルの $\text{Al}(\text{OH})_3$ がペクチンと結合して凝固し、氣泡を含んで上層に浮ぶ。 AlCl_3 の所要量は少量のサンプルにつき豫備試験して決めた、これを布袋に入れ手動式プレスで壓搾脱液してチーズ狀生ペクチン(green pectin)を得た。之を破碎し、

鹽酸酸性エタノール(エタノール:HCl:水=55:6.5:38.5)を加えて pH 1.0 附近にして約30分間放置後同様に壓搾するときは $\text{Al}(\text{OH})_3$ がエタノール溶液可溶の AlCl_3 になつて洗い出される。之に要した鹽酸酸性エタノールは約1.8lであつた。次に残余の AlCl_3 及び HCl を除く爲に60%エタノールで同様に3回洗滌, 最終の洗滌液は pH 1.8になり, 60%エタノール所要量は3.4lであつた。

5) pHの調製及び乾燥 尙残存する HCl とペクチン中の遊離酸基を中和する爲, アンモニアを含む75%エタノールに pH 4.0 に於いて30分間浸漬後壓搾し, 次に75%エタノール, 更に無水エタノールに浸漬後壓搾したものを減圧下にエタノールの大半を追出した後, 65~70°Cで乾燥, 粉碎, 篩別して製品とした。この粉末ペクチンは僅かに赤味を帯びた白色で, 其の收量, 回収率及び成分分析は第2表の通りである。

Table 2. Yield and chemical analysis of pectin

Yield g	99.5	Moisture %	8.02
Recovery % ^{a)}	44.6	Ash %	0.43
		Methoxyl % ^{b)}	10.58
		Ca %	0.09
		pH ^{c)}	2.8

a) on insoluble pectin basis

b) by Hinton' saponification method³⁾

c) with 1% pectin solution

6) 製品の grade 測定並びに jelly 化試験

Jelly grade 或は jelly 強度の測定に種々の方

法が提出されているが, 我々は装置器具の関係上先づ BAKER の粘度法¹⁰⁾で grade の近似値を求め, 次にそれを参考として米國農務省制定の C. P. P. F. (Commercial Pectin Preparation, Food)⁹⁾ 法に従つて grade を決定した。然し此の方法も5%内外の誤差は免れない。試料として粉末ペクチン0.5%水溶液(pH 2.5)を調製し, 26°Cで粘度を測定した値から BAKER 等のグラフによつて grade の近似値を得た。次に農林省食糧研究所から頂いた 150 grade pectin を標準として pH 3.0, 65%蔗糖でゼリーを調製し, 之と同一條件下に試料ペクチンの濃度を種々に變えて作つたゼリーを26°C18時間放置後一定の厚さの切片にし, finger test でその堅さ等の諸性質を標準ゼリーと比較して試料ペクチンの grade を決めた。第3表に試料ペクチンの grade 並びにゼリーの setting time や MP を示す。

Table 3. Some properties of our prepared pectin

Relative viscosity	9.4
Grade by viscosity measurement	195
Grade by C. P. P. F. method	215
Setting time of jelly, min	55
Melting point of jelly, °C	62~66

然るに食糧研究所の三浦洋技官に測定して貰つた jelly grade は145であつて, その測定方法¹¹⁾は Delaware jelly strength tester により破砕張度を測定し, Bender の方式により grade を算出されたとの事である。

考察 以上試製したペクチンは grade 及び jelly の諸性質から見て充分利用出来るものと思われ, 之が setting time や MP から見て slowset pectin⁵⁾に属するものである。收率が44%に止まつたのは主として AlCl_3 による沈澱形成及び鹽酸酸性アルコールによる洗滌の段階での損失によるものと考えられ, 原料粕の前處理洗滌で失われるペクチンはゼリー形成能力の低いものであつて質的にも量的にも餘り問題にならないものと思う。それからアルコール所要量はアルコール沈澱法に比べ%以下で足りる。

B. Low-methoxyl pectin の試製

1) 原料粕, 前處理, 抽出並びに濾過清澄 先の原料と同様にして作つた粕1kgを試料とした。その成分分析は第1表[B]に示す。

前處理もAの2)の場合と同様にし, 抽出液として硫酸液を用い, 初めの pH 1.9, 温度は90°C, 抽出時間は50分である。GRAHAM 等によると抽出液のペクチン濃度は以後の處理過程を通じて重要な意味を有し, 0.6~1.0%を要求されているので抽出液の濃縮を避ける爲に抽出回数を2回に止めた。全抽出液量は10.4l, 其のペクチン濃度は0.73% (Ca-pectate として), ペクチン回収率は92.13% (不溶性ペクチン量に對して)であつて, 此の液に約1%量の celite を加えて吸引濾過清澄にした。

2) アンモニアによるエステル分解並びに硫酸による沈澱形成 上記の濾液に強い攪拌下に濃アンモニア水を0.77%濃度になる迄注加し, 以後もゲル化を防ぐため時々攪拌する。其のエステル分解の経過を第4表に示す。

エステル分解後強く攪拌し乍ら靜かに硫酸を注加して pH を 1.5 以下に調節し20~30分放置した。この間に酸性ゲルの形成が促される。

(310)

(佐藤, 麻生) リンゴの利用に関する研究(第13報)

Table 4. Changes in methoxyl content of pectin with time during deesterification at temp. $10 \pm 2^\circ\text{C}$ and initial pH 10.8

Elapsed deesterification time, min	Observed methoxyl content %
0	9.8
120	6.4
185	5.2
250	4.1
290	3.5
340	2.9

所要量は10.2g.

此の中和ゲルを初め 65°C に短時間次いで 55°C で乾燥後、乳鉢で粉碎篩別して褐色の LMP 53.5g (回収率64.9%)を得た。其の製品の分析は第5表に示す通りであつて、此の型の製品は灰分含量が高く10~14%が普通とされている。

4) **Grade 測定とゲル化試験** grade は BAKER の粘度法により1%溶液 (pH4.5) を用い、 26°C で測定した。

ゲル形成に必要な LMP の量並びに之を對する Ca の必要量の決定には可溶固形物 (蔗糖) 30%, pH 3.0 (クエン酸ソーダとクエン酸で調節) の條件でベクチンと Ca の濃度を色々變えてゲルを作り、これらのゼリーと食糧研究所から頂いた 150 grade のベクチンの標準ゼリーとの finger test による比較を行つた。その結果は第6表の通りである。尙食研三浦技官に測定して貰つた所、先の普通ベクチンの測定法と同じやり方で grade が 75.7 であつた。又蔗糖 1%, pH3.0 に於いて標準ゼリーと同じ堅さのゲルを作る爲には試製品の濃度は 1.7 %が必要であつた。

考察 LMP の製造法並びに使用法については多くの解決すべき問題があり、その特殊な性質の故に使用上制限があるのであるが、反面その重要性が近來益々高まりつゝあり、將來は普通ベクチンを凌駕するだろうと云われている⁶⁾。今回追試した酸沈澱法以外に溶劑或は Ca の様な多價陽イオンによる沈澱法¹²⁾がある。尙アルカリによるエステル分解の際に特殊な二價陽イオンの存在で脱メチル化が促進されると云う報告⁷⁾があるが今回は之に關して實驗を行わなかつた。

それから從來メトキシル含量の減少と共に粘度が低下するものと考えられていたが、MYERS 等の實驗⁸⁾によるとエステル分解の際酸又はアルカリでガラクトキロン酸重合體の長鎖が切れて平均分子量が減少する爲に起る事が明らかにされている。

普通ゲル形成の爲に必要な LMP の量は 1~數%とされ、又 Ca の必要量は LMP 1g に對し 1~60mg とされている。収量並びに製品の色調については今後研究をつづける積りである。

要 約

リンゴの搾粕の亜硫酸抽出液から AlCl_3 沈澱法で普通ベクチンを、又アンモニアによるエステル分解後硫酸による沈澱法で低メトキシルベクチンの試製を行つた。

終りに此の實驗は青森縣からの委託で行つたものであり、試製ベクチンの grade を測定して頂いた食糧研究所三浦洋技官に深謝する。

3) **壓搾、水洗、中和並びに乾燥** 酸性ゲルを布袋に入れ、手動式プレスで靜かに壓力を加えながら母液をなるべく搾出した後、ゲルに少量宛水を注加しながら pH 1.8 になる迄洗滌した。此のゲルを壓搾後、數回小粒子に破碎壓搾をくりかえして成るべく脱水に努めたが、含水量 73% なので次の中和の操作で望ましい水分は 65~70% とされているので 45°C 2 時間位乾燥を行い水分 68.7% にした。この破碎ゲルに尙も殘存する硫酸及びベクチンの遊離酸基を中和する爲に粉末重曹を撒布してよくまぜ合せて pH4.5 に調節し、一夜放置して平衡に達せしめた。重曹の

Table 5. Chemical analysis of low methoxyl pectin

Moisture	14.89%
Ash ^{a)}	12.12%
Ash-minus-carbonate	6.62%
Methoxyl ^{b)}	2.80%
Ca ^{b)}	0.07%
pH ^{c)}	4.5

a) on moisture-free basis

b) on moisture-free and ash-minus-carbonate-free basis

c) with 1% solution

Table 6. Some properties of low-methoxyl pectin

Relative viscosity	6.2
Grade by viscosity measurement	75
LMP Required for gelling	1.4%
Ca requirement per g. of LMP	15~17mg
Setting time of gel	18min

(三崎, 堀, 寺本) *Bacillus polymyxa* 1 變株の生成する Bacterial Polysaccharide の研究 (第3報) (311)

文 献

- 1) JOSEPH G. H., HAVIGHORST C. R.: Food Eng., 24, 87 (1952). 2) KERTESZ Z. I.: "The Pectic Substances" 511 (1951). 3) HINTON C. L.: Ibid, 234. 4) C. P. P. F. 法: Ibid, 485. 5) Ibid 470. 6) Ibid 511. 7) Ibid, 512. 8) Ibid, 162. 9) GRAHAM R. P., SHEPHERD A. D.: Agr. Food Chem., 1, 993 (1953). 10) BAKER G. L.: Food Ind., 6, 305 (1934). 11) 鹽入, 萩沼: 食研報告, 8, 197 (1953). 12) WALLERSTEIN L.: U. S. Pat. 2, 008, 999 (1935). (昭和29, 5, 10 受理)

Bacillus polymyxa 1 變株の生成する Bacterial polysaccharide の研究 (第3報) 構成糖の確認

三崎 旭・堀 一郎・寺本四郎 (大阪大學工學部醸酵工學教室)

緒 言

一般に Bacterial polysaccharide の構成糖としては葡萄糖, ガラクトース, マンノース, グルクロン酸及びアミノ糖が挙げられるが¹⁾ 最近の報告^{2) 3)} ではラムノーゼも構成糖として存在することが認められている。

前報に於ては乳糖⁴⁾を利用して粘度の大きい polysaccharide を生成する細菌を見出しその培養条件及び菌學性質について報告した。この醗酵液より苛性ソーダを含むアルコールにより分離して得た粗製物質は未だ窒素分等少量の不純物を含むものでありその精製については後報で述べる事として本報では先ず此の粗製物質について加水分解を行い一般化學分析及びペーパー・クロマトグラフィによりアルドヘキソース(葡萄糖)及びメチル・ペントース(フコース)の2種の還元糖を確認した。同時に含有されるカルシウムが或る種の有機酸鹽として存在するや否やも検討したのでこれらの結果について報告する。

實驗及び實驗結果

I. Polysaccharide の調製

前報と同様に約5%の局方乳糖, 酵母抽出液(2%又は0.5%濃度), 0.05%アスパラギン酸ソーダ, 0.05% KH_2PO_4 , 0.03% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05% KCl より成る培養液 100 ml を 500 ml 容振盪 フラスコ に夫々分注して接種と同時に沈降性炭酸カルシウムを加える。inoculum としては *B. polymyxa* var. *lactoviscosus* を1%乳糖を含む肉汁ペプトン培養(pH 7.0)に24時間培養せるものを用いた。polysaccharide 生産のためには30°Cで振盪培養し還元力の完全に消失するまで培養を續けた(所要日數約7日間)。醗酵液にアルコールを加えて20%濃度となし3000 r.p.mで30分遠心分離し可及的に菌體及び殘存カルシウムを除きその上層液を2%苛性ソーダを含む90%アルコール2.5容中に注加攪拌してゴム狀沈澱を得る。これをアルコール及びエーテルで洗つた後鹽化カルシウム上常溫で乾燥したものを試料として用いた。

Table I. Properties of crude Polysaccharide

	water %	ash %		total nitrogen %	reducing power after hydrolysis % (as glucose)
		total ash %	Ca %		
sample A *	11.62	14.38	4.97	0.36	49.9
sample B *	11.11	12.85	4.95	1.21	56.8

* Sample A was obtained in 0.5% yeast-extract medium, and B in 2.0% yeast-extract medium. Both samples were isolated with means of pouring culture-filtrate into 2.5 vol. of 90% ethanol containing 2.0% NaOH.

又この灰分殘渣を鹽酸に溶解後蔭酸法によりカルシウムを定量した。還元力の測定には試料150~200 mgを5 mlの2N硫酸と共に sealed tube 中にて100°C, 4時間加水分解後 BERTRAND 法にて定量し葡萄糖として算

斯くして得た粗製物質の水分, 灰分, 窒素分及び加水分解後の還元力を測定した結果は Table I に示す。但し水分測定は105°Cにて乾燥後秤量し, 窒素分は semi-micro-Kjeldahl 法に依り, 灰分は磁製ルツボ中にて灼熱する事により定量した。