

各種食品廃棄物に含まれる糖類の分析

久松 眞・福本 貴子・野田 高弘*・寺西 克倫・山田 哲也

三重大学生物資源学部食品化学研究室, *農林水産省九州農業試験場

Sugar Compositions of Polysaccharide Fractions from Various Industrial Food Wastes

Makoto HISAMATSU, Takako FUKUMOTO, Takahiro NODA*,
Katsunori TERANISHI and Tetsuya YAMADA

Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Bioresources,
Mie University, Tsu 514, Japan

*Kyuusyu National Agricultural Experiment Station,
Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Kumamoto 861-11, Japan

Summary

Polysaccharide fractions from various industrial food wastes were obtained by sequential extraction with hot water and 24% KOH. The sugar compositions of alkaline extracts, which thought to be composed of hemicellulose, were determined. The hemicellulose from corn peel, sesame peel and bagasse appeared to consist mainly of arabinoxylan. The fraction from yeast had high glucose and mannose, suggesting the presence of glucan and mannan. Arabinogalactan thought to be main component in hemicellulosic fractions from okara and sweet potato starch residue. The alkaline extract fractionous from sakekasu, soy sauce kasu and cell of *Acetobacter* showed high glucose contents.

Key words : polysaccharide, food waste, sugar composition, hemicellulose

緒 言

豆腐, 胡麻, 澱粉, 酒, 食酢, 砂糖等を生産している食品産業では, 毎日多量の廃棄物が生じる。例えば, 豆腐を製造する際に, 大豆 1Kg につき, 1.4Kg のおからが生産されるという。従って大規模の豆腐工場では, 一日当たり数トンのおからが生産される¹⁾。又, 鹿児島県を中心とした南九州地方において, サツマイモ澱粉が製造され, その際に, 副産物として澱粉粕が生じる。その量は, 年間, 1万5千トン~1万8千トンに達するといわれている。さらに, 世界有数の砂糖原産国であるオー

ストラリアでは, 380万トンの原糖を砂糖きびから生産しており, 排出されるバガスは, 砂糖生産量の3~4倍の量にもなる。これらは, 一部家畜の飼料として利用される他は, 焼却または投棄されているのが現状である。一方, 肉の自由化と人件費の高騰から畜産経営の合理化が進み, 家畜の飼料は自動化で与える傾向にある。水分含量の多いこれらの食品廃棄物は, 自動化された飼料供給のラインをつまらせ, 飼料の腐敗につながる原因となるので敬遠され出した。しかし, 地球環境の問題から今後とも投棄を続けられると考えることは難しく, 焼却しか選択が残されていない。このことは, 製品コストを上げ

るばかりではなく、化石燃料の浪費と、地球の温暖化に結びつき極めて深刻な問題である。

そこで、食品廃棄物と考えられていたものから付加価値のあるヘミセルロース、 β -グルカン等の有効成分を取り出せば、廃棄物の量が軽減される。このことは、廃棄物の焼却量が減少することを意味し、相当量のエネルギーの節約となる。また、細胞壁に由来するオリゴ糖が植物の伸長や分化器官形成、生体防御などを制御する重要な因子であることが判明してきており²⁾、得られた多糖や部分加水分解して得られるオリゴ糖には、食品添加物、微生物や植物細胞の生長促進物質、土壌改良剤、細胞安定剤等の未知なる利用法が考えられる。したがって、新規の産業分野を開拓できる可能性がある。

本研究では、食品廃棄物を未利用資源と認識し、有効利用法の開発を目的として、各種食品廃棄物から多糖をアルカリ抽出し^{3),4)}、糖組成の特徴から含まれている多糖の種類を推察することを試みた。

実験方法

1. 実験試料

オカラ、バガス、胡麻外皮、トウモロコシ外皮、サツマイモ澱粉粕、乾燥酵母、醤油滓、酒粕、食酢菌体を試料とした。含水試料は、凍結乾燥し、植物の種皮はミルで粉碎した。オカラ、酒粕は三重県工業技術センターより、バガス、サツマイモ澱粉粕は農林水産省九州農業試験場より、胡麻外皮は九鬼産業(株)より、トウモロコシ外皮はサンエイ糖化(株)より、醤油滓はサンジシ(株)より、食酢菌体は中壱酢店(株)より入手した。乾燥酵母は和光純薬より購入した。

2. 多糖画分の分画

各試料(A)を10g秤量し、蒸留水を150ml加え、120°C、30分オートクレーブした。これらを遠心分離し、上澄みと残渣に分けた。残渣を蒸留水、メタノール、アセトンの順に洗浄し、一夜真空乾燥した(C)。上澄みは濃縮し、凍結乾燥した(B)。

オートクレーブによる熱水不溶性残渣Cの2.5gを、24%水酸化カリウム溶液100mlに懸濁し、窒素置換しながら、一夜4°Cで攪拌し、アルカリ可溶画分の抽出を行った。次いで、遠心分離を行い、残渣は少量の水で3

回洗浄した。この洗浄液は上澄みに加えた。得られた残渣に1N HClを適量加え、中和後、メタノール、アセトンの順で洗浄し、一晚真空乾燥した(E)。一方、上澄みは6N HClで中和後、濃縮し、これに3倍量のエタノールを加え、ヘミセルロースと考えられる物質を沈殿させた。この沈殿物を遠心分離により回収したが、この沈殿物中には塩の析出物も含まれていたため、これを除去する目的で、沈殿物に適量の蒸留水を加え溶解し、3倍量のエタノールを加える操作を3回繰り返し脱塩処理を行った後、少量の蒸留水に溶かし凍結乾燥した(D)。

3. 試料中のタンパク質含有量測定法⁵⁾

各試料中のタンパク質含有量はケルダール法(N×6.25)により測定した。

4. 各画分の糖含有量測定法

各試料中の全糖量はフェノール-硫酸法⁶⁾、ウロン酸含量はカルバゾール硫酸法⁶⁾により測定した。

5. 各画分の中性糖組成分析

各画分の中性糖組成は、アルジトールアセテート誘導体にしてガスクロマトグラフィーで分析を行った⁷⁾。まず、ねじ付き試験管に、試料5mgをとり、2Nトリフルオロ酢酸(1.0ml)を加え、120°Cで1時間加水分解を行った。次いで、イソプロピルアルコール(1.0ml)を加えてスプレー乾固を2回行った。この分解液に水酸化ホウ素ナトリウム溶液(NaBH₄ 10mg/1M NH₄OH 1ml) 0.5mlおよびガスクロマトグラフィーの内部標準物質としてイノシトール溶液(1mg/ml) 0.1mlを加え室温で1時間放置し、分解液中の糖を糖アルコールに還元させた。反応後、氷冷しながら、5N酢酸0.1mlを加え、過剰の水酸化ホウ素ナトリウムを分解した。その後、ホウ酸、水、酢酸を除去する目的で、酢酸-メタノール溶液(酢酸:メタノール=1:9) 1.0mlを加えてスプレー乾固した。この操作を3回繰り返し、更に適量のメタノールを加えてスプレー乾固を3回行って、一夜真空乾燥した。ピリジン0.25mlと無水酢酸0.25mlを加え、ねじ付き試験管のキャップをしっかりと止め、120°Cで20分間反応させ、糖アルコールのアセチル誘導体を調製した。反応後、氷冷し、蒸留水0.25ml、メタノール1ml、トルエン0.25mlを加え、40°Cにてスプレー

乾固した。その後、メタノールを適量加えてスプレー乾固を2回行った。次に塩化メチレン2mlと水1mlを加えて振盪し、アルジトールアセテート体の抽出を行った。遠心分離をして水層と塩化メチレン層に分け、水層を除去した。更に、水を適量加えて、塩化メチレン層を2回洗浄した後、塩化メチレン層を乾燥した別のスクリーバイアルに移し、スプレー乾固した。最後にアセトン0.2-0.5mlを加えてアルジトールアセテート体を溶解し、これをガスクロマトグラフィーの試料とした。ガスクロマトグラフィーは下記の条件で行った。

注入温度：250℃

カラム温度：140~210℃ (5℃min⁻¹)

カラム：SUPELCO SP-2330 0.25mm×30mlD

注入量：1μl

なお、スタンダード(既知試料)として、(1)ラムノース、(2)フコース、(3)リボース、(4)アラビノース、(5)キシロース、(6)マンノース、(7)ガラクトース、(8)グルコース、(9)イノシトールを使用した。上述の操作でスタンダードを調整したときのガスクロマトグラムをFig.1に示す。

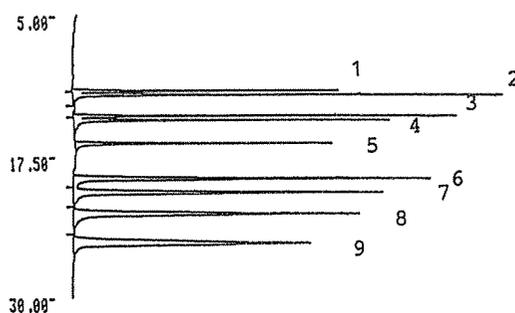


Fig. 1 Gas chromatogram of authentic alditol acetates.

1. Rhamnose, 2. Fucose, 3. Ribose,
4. Arabinose, 5. Xylose, 6. Mnnose,
7. Galactose, 8. Glucose, 9. Inositol
(internal standard)

結 果

1. 熱水及びアルカリ抽出による収量

上述の抽出法により得られた試料の収量及び収率をTable 1に示した。サツマイモ澱粉粕、酒粕は熱水に半分以上溶解することが判明した。他の試料については原材料の60%~80%が水不溶画分となった。オカラ、

Table 1 Yields of each fraction from various industrial food wastes (10g)

Food wastes	Hot water extract (B) (g)	Residue after hot water extraction (C) (g)	Alkaline extract (D) (g)	Residue after alkaline extraction (E) (g)
Okara	1.62	6.72	4.56	0.60
Corn peel	0.71	7.85	2.79	1.69
Sesame peel	0.82	7.53	2.79	3.80
Bagasse	2.93	7.65	1.84	4.51
Sweet potato	6.66	3.34	1.19	1.01
Cell of <i>Acetobacter</i>	2.87	6.58	1.02	—
Soy sauce kasu	0.53	7.37	0.55	2.84
Yeast	2.99	6.27	4.01	0.94
Sakekasu 50	7.08	2.56	1.33	—
Sakekasu 70	4.67	4.16	2.04	0.42

Each industrial food waste (A) was suspended in 150ml of distilled water, autoclaved for 30min, and centrifuged. The supernatant (B) was lyophilized, and the precipitate (C) was rinsed with distilled water and then dried with methanol and acetone. The fiber-like materials (C) was treated with 24% KOH in order to extract hemicellulosic materials (D). Insoluble materials (E) in the alkaline solution were collected by centrifugation, neutralized with 1 N HCl and dried with methanol and acetone.

— : not determined.

とうもろこし外皮, バガス, 酵母, 酒粕のアルカリ可溶画分の収量が高かった。胡麻外皮, バガスはアルカリ不溶画分の割合も大きいことが判った。

2. タンパク質

各試料 (A) のタンパク質含有量は Table 2 に示すように, 食酢菌体が約 60%, 酵母が約 40% と高い値を示した。植物起源の試料の中では, オカラが約 20% と若干高かった。サツマイモ澱粉粕, バガスはともに低く, 2% に満たなかった。アルカリ可溶画分 (D) のタンパク質含有量は, 食酢菌体が 25% であったが, 他の試料については, 6% 未満であった。

3. 糖類

各多糖画分に含まれる全糖量, ウロン酸含有量を Table 3 に示した。アルカリ可溶画分 (D) の多糖含有量についてはトウモロコシ外皮, バガスが約 90% と高く, ウロン酸含有量は, サツマイモ澱粉粕, オカラ, トウモロコシ外皮, バガス, 醤油滓の植物起源の試料について, 比較的高い値を示した。

中性糖組成分析の結果 (Table 4) をみると, アルカリ可溶画分 (D) の中性糖は, トウモロコシ外皮, バガスはキシロース, オカラ, サツマイモ澱粉粕はガラクトース, その他の試料はグルコースが最も多く含んでいることがわかった。この画分を占める中性糖組成比のバター

Table 2 Protein content of each fraction

Food wastes	Total food waste (A) (%)	Residue after hot water extraction (D) (%)
Okara	19.4	1.7
Corn peel	9.9	0.4
Sesami peel	7.2	—
Bagasse	1.9	ND
Sweet potato	1.1	0.2
Cell of <i>Acetobacter</i>	57.3	24.9
Soy sauce kasu	20.4	4.2
Yeast	39.7	5.3
Sakekasu 50	17.1	—
Sakekasu 70	37.1	4.2

ND: Not detected, —: Not determined.

Table 3 Total sugar and uronic acid contents of each fraction

Food wastes	Hot water extract (B) (%)		Residue after hot water extraction (D) (%)		Residue after alkaline extraction (E) (%)	
	Total sugar	Uronic acid	Total sugar	Uronic acid	Total sugar	Uronic acid
Okara	44.4	5.1	33.5	7.0	48.0	17.5
Corn peel	90.7	14.0	89.4	8.2	27.2	4.0
Sesami peel	59.0	13.8	12.1	4.8	41.3	11.3
Bagasse	59.8	5.3	92.7	8.0	26.0	3.8
Sweet potato	79.0	8.3	64.7	35.2	91.1	1.0
Cell of <i>Acetobacter</i>	82.0	3.3	17.8	1.8	—	—
Soy sauce kasu	28.1	3.8	58.6	7.3	37.0	6.5
Yeast	47.7	2.5	19.8	1.4	66.0	4.3
Sakekasu 50	83.3	3.8	17.2	2.4	—	—
Sakekasu 70	70.0	4.8	22.5	0.3	29.5	4.3

—: Not determined.

Table 4 Neutral sugar compositions of alkaline extraction (D) from various industrial food wastes

Food wastes	Neutral sugar composition (% w/w)							
	Rha	Fuc	Rib	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc
Okara	3	4	ND	26	8	ND	52	7
Corn peel	ND	ND	ND	21	55	ND	8	16
Sesame peel	ND	ND	ND	33	29	ND	ND	38
Bagasse	ND	ND	ND	10	82	ND	ND	8
Sweet potato	12	ND	ND	16	8	ND	34	30
Cell of <i>Acetobacter</i>	26	ND	ND	9	ND	4	11	50
Soy sauce kasu	ND	ND	ND	15	31	2	3	48
Yeast	ND	ND	ND	5	ND	38	ND	57
Sakekasu 50	ND	ND	ND	3	4	ND	ND	93
Sakekasu 70	ND	ND	ND	5	ND	3	4	88

ND : Not detected.

Table 5 Neutral sugar compositions of hot water extract (B) from various industrial food wastes

Food wastes	Neutral sugar composition (% w/w)							
	Rha	Fuc	Rib	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc
Okara	3	2	ND	16	3	3	43	29
Corn peel	ND	ND	ND	34	39	ND	8	20
Sesame peel	8	ND	ND	11	6	4	17	53
Bagasse	ND	ND	ND	2	3	ND	ND	94
Sweet potato	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3	97
Cell of <i>Acetobacter</i>	15	ND	ND	1	ND	1	4	79
Soy sauce kasu	7	6	ND	11	13	9	17	36
Yeast	ND	ND	4	2	ND	40	ND	54
Sakekasu 50	ND	ND	ND	1	1	1	ND	97
Sakekasu 70	ND	ND	ND	1	3	1	1	95

ND : Not detected.

Table 6 Neutral sugar compositions of residue after alkaline extraction (E) from various industrial food wastes

Food wastes	Neutral sugar composition (% w/w)							
	Rha	Fuc	Rib	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc
Okara	3	3	ND	22	7	3	36	24
Corn peel	ND	ND	ND	ND	8	14	ND	77
Sesame peel	ND	ND	ND	19	18	ND	ND	63
Bagasse	ND	ND	ND	11	40	ND	ND	49
Sweet potato	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	99
Soy sauce kasu	ND	ND	ND	18	18	5	6	52
Yeast	ND	ND	ND	1	ND	2	ND	97
Sakekasu 50	ND	ND	ND	2	1	ND	ND	97
Sakekasu 70	ND	ND	ND	2	ND	2	4	93

Neutral sugar composition of fraction E from cell of *Acetobacter* was not analyzed.

ND : Not detected.

ンは、試料により、かなり異なった。一方、熱水抽出画分 (Table 5), アルカリ不溶画分 (Table 6) の中性糖は、たいていの試料において、グルコースの割合が高かったが、オカラの熱水抽出、アルカリ不溶画分はガラクトース、トウモロコシ外皮の熱水抽出画分はキシロースが最も高かった。また、バガスのアルカリ不溶画分にはグルコースにほぼ匹敵するくらいのキシロースが含まれていた。

考 察

アルカリ抽出に先だち、熱水抽出を行い、サツマイモ澱粉粕、酒粕の熱水可溶性画分 (B) の割合が断然高い値となった。この理由として、後にも述べるが、これらの試料には澱粉が多く含まれるためと考えられた。熱水不溶画分 (C) のアルカリ抽出について分離操作でろ過も試みたが、非常に粘性が高く、長時間かかったため、遠心による分離が望ましいと考えられた。アルカリ溶液を中和した際に白沈を生じる試料もあったが、分離はせずにそのまま次の操作を行った。また、脱塩のためアルカリ可溶画分の透析を試みたが、収率が非常に低かったため、低分子性物質が多く、膜を通過して水中に溶出したと考えられた。このため透析は行わず、2倍量のアセトンで沈殿させることを試みた。しかし、KClの塩も同時に析出したため、アセトンではなく、3倍量のエタノールを用いた。このようにして、アルカリ可溶物質を得た結果、収量の比較的多かったものとして、オカラ、トウモロコシ外皮、酵母、酒粕をあげることができた。これらはヘミセルロース性の多糖の供給源として有望と考えられた。タンパク質含量は菌体起源の試料やオカラでは高い値となり、これらの食品廃棄物の利用にあたっては、タンパク質の有効利用についても考慮する必要があると思われた。ウロン酸含有量を調べた結果、オカラ、サツマイモ澱粉粕、トウモロコシ外皮、胡麻外皮、バガス、醤油滓のような植物起源の試料については高い値を示し、ペクチン性多糖、または粘質性の多糖を多く含むと考えられた。

水溶性画分、アルカリ可溶画分、アルカリ不溶画分につき、ガスクロマトグラフィーで糖組成を分析した結果、画分の違いにより、糖組成もかなり異なることが判明した。サツマイモ澱粉粕の水溶性画分はグルコースが大部

分であり、やはり、残存澱粉で構成されていると考えられた。酒粕もグルコースが断然多く、これも原料の米澱粉かその分解物に由来するものと考察できた。また、バガスも同様にグルコースが大半を占め、これは、残存するショ糖などに由来するものと考えられた。一方トウモロコシ外皮はアラビノース、キシロースの割合が高く、オカラはガラクトースが最も高かったことより、これらの試料では熱水抽出でも、ペクチンまたはヘミセルロースがかなり溶解することが示唆できた。アルカリ抽出画分の結果をみると、トウモロコシ外皮、胡麻外皮ではアラビノースとキシロースがともに多く、アラビノキシランが主体となっていることが示唆された。バガスはキシロースの占める割合が特に高く、以前の報告⁹⁾通り、直鎖状のアラビノキシランが主成分であると推定できた。バガス中に含まれる直鎖状のアラビノキシランは、キシラナーゼで分解し、便性改善効果などの機能性を有する直鎖のキシロオリゴ糖の原料として利用していくことが有望と考えられた。醤油滓はグルコース、キシロースの順に高かった。キシロースは原料小麦のアラビノキシランに由来するものと推定できたが、グルコースがどこから由来するものか断定するには、さらに検討が必要であった。酵母はグルコースとマンノースが大部分で、グルカン、マンナンが多いと考えられた。食酢菌体はグルコースを最も多く含んでいたが、ラムノースも *Acetobacter* の細胞壁構成成分として、かなりの割合を占めるものと考えられた。一方、酒粕はこの画分においてもグルコースが断然高く、除去しきれなかった澱粉、またはその分解物の混入が考えられた。なお、本研究では、アルカリ抽出に先だって、シュウ酸アンモニウムのようなペクチンを特異的に可溶化させる溶媒での抽出を行わなかった。そのため、オカラ、サツマイモ澱粉粕のアルカリ可溶画分には、ペクチン性多糖であるアラビノガラクトタンが多く溶出したことが示唆される結果となった。サツマイモ澱粉粕のアルカリ可溶画分にはラムノースも認められ、また、ウロン酸含有量も多かったことより、アラビノガラクトタンのみならずラムノガラクトチュロナンも存在することが推察でき、以前の報告⁹⁾を指示する結果となった。アルカリ不溶画分の成分は、ほとんどの試料において、グルコースがかなりを占め、たいていは、セルロースに由来するものと考えられた。しかしながら、バガスではキシロース、オカラではガラクトースの占める割合がこ

の画分においても比較的高く、強アルカリ条件下でも、セルロースのマイクロフィブリルになお結合している多糖の存在が示唆される結果となった。なお、サツマイモ澱粉粕のグルコースの占める割合がほぼ100%を示したことは、純粋なセルロースを得る材料としてサツマイモ澱粉粕は適していると考えられた。これまでの研究で得られた各種食品廃棄物由来の多糖の構造的特性は明確ではなく今後検討が必要である。

文 献

- 1) 下岡 尚, 小林 聡子, 篠原 康雄, 堀 均, 寺田 弘. おからより抽出したリン脂質の生化学実験材料としての有用性の検討. 栄養雑誌 50 (2) : 97-104 (1992).
- 2) 越島 哲夫. セルロース資源. 学会出版センター, p. 42-48 (1991).
- 3) 松田 和雄. 多糖の分離・精製法. 学会出版センター, p. 25-28 (1987).
- 4) 桜井 直樹, 山本 良一, 加藤 陽治. 植物細胞壁と多糖類. 培風館, p. 174-180 (1991).
- 5) 福島 正美, 菅原 潔. 生物化学実験法 蛋白質の定量法. 学会出版センター, p. 13-14 (1971).
- 6) 福井 作蔵. 生物化学実験法 還元糖の定量法. 学会出版センター, p. 45-59 (1969).
- 7) ALBERSHEIM, P., D. J. NEVINS, P. D. ENGLISH and A. KARR. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography, *Carbohydr. Res.*, 5: 340-345 (1967).
- 8) SAAVEDRA, F., S. KARACSONYI and J. ALFOLDI. Studies of the polysaccharides of sugar cane (*Saccharum officinarum*): structural features of the water-insoluble D-xylans, *Carbohydr. Res.*, 180: 61-71 (1988).
- 9) NODA, T., Y. TAKAHATA, T. NAGATA and N. SHIBUYA. Chemical composition of cell wall material from sweet potato starch residue, *Stärke*, 46: 232-236 (1994).

要 約

各種食品廃棄物を熱水、アルカリの順で抽出し、ヘミセルロースが多いと考えられるアルカリ可溶画分の構成糖を調べ、新たな用途開発のための基礎資料とすることを目的で行った。トウモロコシ外皮、胡麻外皮、バガスはアラビノキシランが多く、特に、バガスでは直鎖のアラビノキシランの存在が示唆される結果となった。酵母はグルカン、マンナンが主体であると考えられた。オカラ、サツマイモ澱粉粕はアラビノガラクトンが多く含まれると考えられた。食酢菌体、酒粕、醤油滓はグルコースを多く含むことが特徴であった。

欧文要約の和訳

各種食品産業廃棄物から、種々の多糖が、熱水抽出、次いで24% KOH抽出で調製された。ヘミセルロース画分と思われるアルカリ抽出物の糖組成を明らかにした。トウモロコシ外皮、胡麻外皮、バガスから得られたヘミセルロースは、アラビノキシランが多かった。酵母からはグルコースとマンノースが多く検出され、グルカンとマンナンの存在が推察された。オカラとサツマイモ澱粉粕からのヘミセルロース画分にはアラビノガラクトンが多く含まれていると推察した。酒粕、醤油滓、食酢菌体のアルカリ抽出画分は、グルコースを多く含んでいた。