

寒冷地植物の貯蔵多糖類から機能性オリゴ糖製造に関する研究 (第2報)

— イヌロオリゴ糖の食品加工特性の検討 —

本堂 正明, 清水 條資, 塩見 徳夫*

Preparation of functional Oligosaccharides from Inulin in Chikory Roots (PartII)
— Functional Properties of Inulo-oligosaccharides —

Masaaki HONDO, Jyohsuke SHIMIZU, Norio SHIOMI*

抄 録

イヌロオリゴ糖が有用な機能性甘味料と考えられるため、食品への利用を目的に食品加工特性を調べた。対照試料に単糖はフラクトース、グルコース、オリゴ糖はシュークロース、マルトース、ラフィノース、糖アルコールはソルビトールを用いて比較した。本糖の特徴を以下に要約した。加熱着色性ではメイラード反応とカラメル化反応ともに反応性が高く、着色性が強かった。酸加熱分解性では硫酸酸性下で加熱したが、加水分解されやすく、対照糖質の中では最も耐酸性が弱かった。水分活性はソルビトールを除く対照糖質と同様の傾向であった。吸湿性は対照試料中フラクトースと同様に高かった。凍結温度は対照糖質の中では最も高かった。

1. 緒 言

近年消費者の嗜好性が多様化し、加工食品においても高級感・完全調理・ダイエット・自然・健康・低農薬・高機能などの志向性を有する特徴のあるものの開発が進んでいる。その中で使用甘味料の主体は甘味質や加工適性に優れた特性を有することから、現在もショ糖であり、飲料 キャンディー、チョコレート、調味料、パン、菓子類をはじめ、多くのあらゆる加工食品に欠かせない重要な甘味料である。しかし一方には甘味料の素材に関しても食品の甘さを抑えた低甘味性のもの、あるいは低カロリー性の糖質などが社会的に要求され、加工食品に一部普及し定着してきている。と同時に新規糖質のテクスチャや甘味質やその他の食品加工特性などの諸性質の検

討も食品加工上重要な課題となっている。また近年諸疾患の原因がショ糖の過剰摂取によると言われ、虫歯の原因や各種の成人病などの弊害を生んでいるため、これらショ糖の欠点を補う糖質や更にショ糖にない新たな機能を付加し、食品加工上や品質保持上、ショ糖と同等以上の加工特性を持つものが要求されている。天然のものとして大豆オリゴ糖¹⁾やビートオリゴ糖など、デンプンより各種酵素で生成する直鎖(マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース²⁾、グリコシルシュークロース³⁾など、分岐(イソマルトトリオース、イソマルトテトラオースなど)、環状(サイクロデキストリンなど)のデンプンオリゴ糖など、ショ糖から転移酵素で生成するフラクトオリゴ糖⁴⁾やパラチノース⁵⁾などが代表的なオリゴ糖として開発製品化されている。

当场でも寒冷地植物のチコリなどに含有する貯蔵多糖類イヌリンの有効利用を目的に、新しいオリゴ糖の開発

* 酪農学園大学 (Rakunou Gakuen University)

研究を行い、多糖類加水分解型糖質であるイヌロオリゴ糖を DEAE ートヨパール 650M ゲル固定化エンド型イヌリナーゼを充填したカラムリアクタ法で調製した⁶⁾。

本研究ではイヌロオリゴ糖が新規・新機能甘味料と考えられるため、食品素材や加工食品への利用の可能性の検討を行った。以下、本糖質の食品加工特性の基礎的資料が得られたので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

イヌロオリゴ糖は固定化エンド型イヌリナーゼを充填したカラムリアクタ法⁶⁾で調製したもので、酪農学園大学より提供を受けた。この乾燥粉末から、5、10、20、30、40、50、60% (w/v) になるように所定量精ひょう後、蒸留水で溶解して使用した。

比較糖質試料は市販試薬を用いた。グルコース(無水) ($C_6H_{12}O_6$) (キシダ化学製)、フラクトース ($C_6H_{12}O_6$) (キシダ化学製)、シュクロース ($C_{12}H_{22}O_{11}$) (キシダ化学製)、マルトース-水和物 ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$) (米山薬品工業製) 及び無水結晶マルトース (林原製)、ラフィノース ($C_{18}H_{32}O_{16} \cdot 5H_2O$) (東京化成工業製)、ソルビトール (関東化学製) の各試薬を精ひょうし、同様に 5 ~ 60% になるよう蒸留水で溶解して使用した。

2.2 高速液体クロマトグラフィ

各糖質の加熱安定性または酸分解性を TOSOH 高速液体クロマトグラフシステム (CCP & 8010 シリーズ) を用いて分析した。移動相溶媒はマイクロフィルター (アドバンテック製, $0.45 \mu m$) でろ過した蒸留水を用いた。固定相カラムはオリゴ糖などの分離に適した高速ゲルろ過クロマトグラフィ用担体を用い、TOSOH 製の TSK gel G-oligo-PW カラム (7.8mm ID×30cm) を 2 本連結し、先頭部に専用ガードカラム (6.0mm ID×4.0 cm) を着けて使用した。流速は 0.8ml/min, カラム温度は 50°C, 試料注入量は $10 \mu l$ とした。

高速液体クロマトグラフィ (以下 HPLC と略記) 分析用の標準糖として、2.1 のフラクトース、シュクロース、マルトース、ラフィノース、イヌロオリゴ糖を用いた。それぞれ 0.5、1.0、1.5% (w/v) 濃度の糖水溶液を調製して、スタンダード試料の検量線を作成した。これより対象試料中の各糖質の濃度を求めた。但し、供試イ

ヌロオリゴ糖の場合は、予備試験としてペーパークロマトグラフィを行った結果 (図 1) と図 2 に示した HPLC 分析の結果より溶出順にピーク 1、2、3、4、5、が明らかに認められ、それぞれ 5、4、3、2、単糖に相当し、単糖、2 糖が極微量で、主に 3、4、5 糖のイヌロオリゴ糖からなると考えられた。3、4、5、糖のピーク面積を足してイヌロオリゴ糖量とし、このトータル面積より、イヌロオリゴ糖の検量線を作成した。

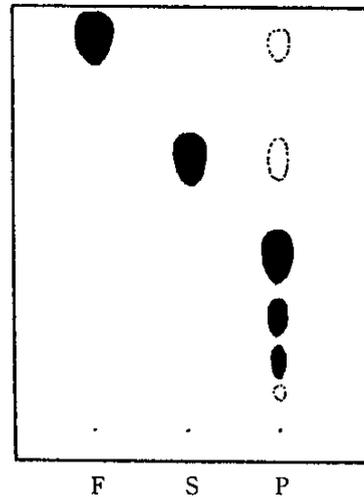


図 1 イヌリン加水分解生成物のペーパー・クロマトグラム

多重展開上昇法, 東洋ろ紙 No.51

展開溶媒, N-プロパノール・酢酸エチル・水 (7 : 1 : 2) (v/v)

糖発色試薬, アニジジン・リン酸試薬

F : フラクトース

S : シュクロース

P : イヌリン加水分解生成物

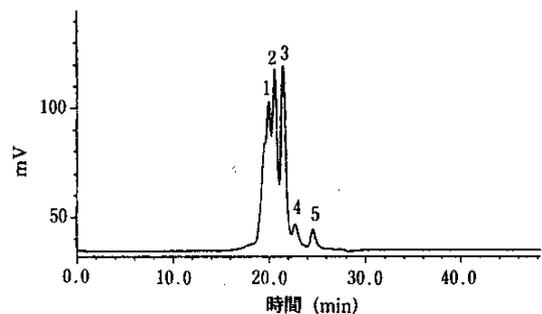


図 2 イヌロオリゴ糖の高速液体クロマトグラム

イヌロオリゴ糖 : 1.5% (w/v)

注入量 : $10 \mu l$

2.3 食品加工特性

2.3.1 加熱着色性

糖とアミノ酸によるメイラード反応と糖自身によるカラメル化反応に基づく加熱着色性の検討を行い、北條の報告⁷⁾を参考にして、試料を調製し着色性を測定した。

1) メイラード反応

耐圧密封管(ガスクロ工業製)に pH7.0, 50mM リン酸緩衝液 0.4ml, 1%アラニン溶液 (pH7.0, 50mM リン酸緩衝液で溶解) (w/v) 0.4ml, 5%各種糖溶液(グルコース, フラクトース, シュークロース, マルトース, ラフィノース, イヌロオリゴ糖を蒸留水で溶解後定容) (w/v) 0.2ml をマイクロピペット(エッペンドルフ製)で添加し, アスピレータで脱気減圧後封管した。続いて, 油浴中で, スライダッグで投込み式ヒータを調節しながら, 所定の条件(加熱温度 100, 120, 140, 160℃, 加熱時間 60 分)で各検液を加熱後, 水道水で急冷した。3ml 蒸留水を加え, 総量を 4ml にし, 4 倍希釈で, 400 nm の吸光度を分光光度計(日立製, 200-20 型)を用いて測定して褐変性を比較した。

2) カラメル化反応

耐圧密封管に 20%各種糖溶液(グルコース, フラクトース, シュークロース, マルトース, ラフィノース, イヌロオリゴ糖を蒸留水で溶解後定容) (w/v) 0.25ml と pH7.0, 50mM リン酸緩衝液 0.25ml をマイクロピペット(エッペンドルフ製)で添加して総量を 0.5ml とし, 脱気減圧後封管した。上記と同様の加熱方法で, 油浴中, 所定の条件(加熱温度 140, 160, 180℃, 加熱時間 60 分)で加熱した。水道水で急冷後, 3.5ml の蒸留水を加え, 総量を 4ml にし, 8 倍希釈で, 分光光度計を用いて 400nm の吸光度を測定した。

2.3.2 加熱安定性

1) 酸加熱安定性(酸分解性・耐酸性)

シュークロース, マルトース, ラフィノース, イヌロオリゴ糖の各種 5%糖溶液(蒸留水で溶解後定容) (w/v) 0.1ml と各規定度(1, 0.1, 0.01N)の硫酸溶液 0.9ml を, 耐圧密封管にマイクロピペットを使用して添加後, 加熱温度 60, 80, 100, 120℃(但し 60℃の場合, 共栓キャップ付き目盛り付き試験管と恒温水槽を使用)で, 加熱時間 30 分の条件で加水分解した。直ちに水道水で冷却後, 所定の規定度(1, 0.1, 0.01N)の水酸化ナトリウム 0.9 ml で中和後, 0.1ml の蒸留水を加えて総量を 2ml にし

た。これを酸加水分解処理による各糖の残存糖定量のための HPLC 用検液とした。

2) 中性域 pH 加熱安定性

各 pH (5.0, 6.0, 7.0, 8.0) に調整した 50mM リン酸緩衝液 0.9ml に 5%イヌロオリゴ糖 0.1ml を加え, 総量 1ml を用いた。酸分解性の検討と同様の加熱方法と加熱条件で加熱後, 直ちに水道水で冷却した。直接 HPLC 用検液として残存糖を HPLC で測定した。

2.3.3 水分活性

グルコース, シュークロース, マルトース, イヌロオリゴ糖及びソルビトールを用いた。それぞれ 10, 20, 30, 40, 50 及び 60%水溶液(w/v)の水分活性を水分活性測定装置(novasina 製)を用いて測定した。0.5ml の試料量を試料セルに入れ, 25℃で 70~120 分間保持して安定化後, 水分活性値を読みとった。

2.3.4 吸湿性

グルコース, フラクトース, シュークロース, マルトース(マルトースは結晶性無水マルトースを用いた)とイヌロオリゴ糖の各種糖質粉末を, それぞれ約 0.6g, アルミニウム容器に取り, 相対湿度 86%, 温度 25℃に調整した恒温恒湿装置(model FH-L, 平山製)に入れて, 経時的に重量を測定し, 水分の吸収性を比較した。

2.3.5 凍結温度

糖質はグルコース, フラクトース, シュークロース, マルトース, ラフィノース, イヌロオリゴ糖を用いた。それぞれ 10, 20, 30, 40, 50, 60%水溶液(w/v)を調製して, -80℃の冷凍貯蔵庫(超低温フリーザー, サンヨー製)に入れ, 各濃度の凍結曲線を作成した。すなわち糖溶液試料の入ったサンプル瓶を庫内に固定し, 温度センサー付き温度指示計を差し込み, 品温を測定して, 凍結曲線を作成し, 実際の最大氷結晶生成帯を通過する温度(凍結点あるいは氷結点)を凍結曲線より求めた。

3. 実験結果と考察

3.1 加熱褐変性

食品の色調は美味しさや食欲を感じさせる食品の重要な基本機能の一つである。加工用途・目的・原料などによって食品の色調は異なるが, 食品の種類によって着色

を低減しなければならないもの、逆に着色が必要なものなどがあると考えられる。食品の着色性の中で、糖質に由来する褐変性について低いか高いかどちらのタイプに属するか検討した。

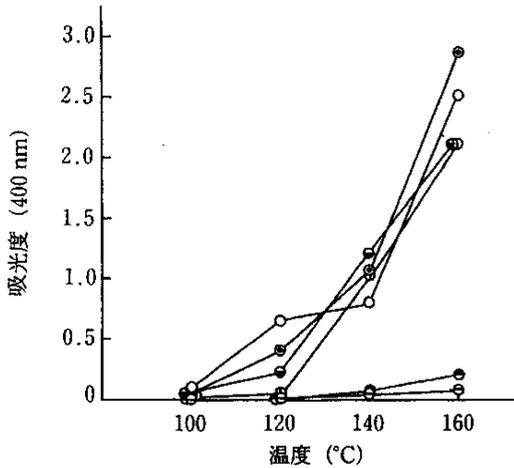


図3 各種糖質のメイラード反応による褐変性

⊙: フラクトース, ○: グルコース, ●: イヌロオリゴ糖
 ⊕: マルトース, ⊖: ラフィノース, ⊕: シュークロース

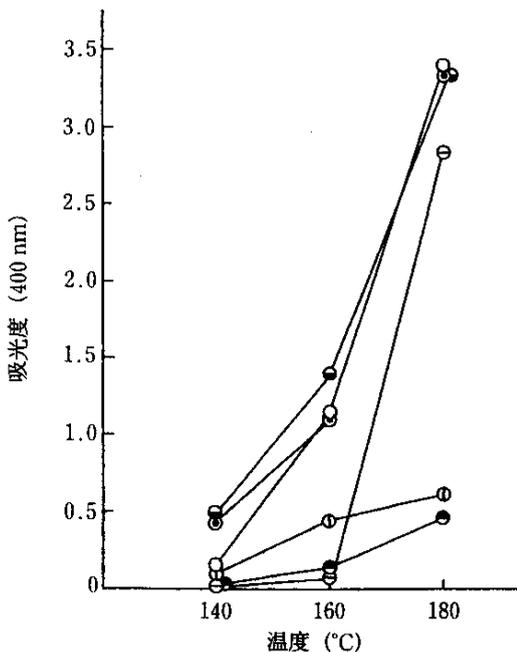


図4 各種糖質のカラメル化反応による褐変性

⊙: フラクトース, ○: グルコース, ●: イヌロオリゴ糖
 ⊕: シュークロース, ⊕: マルトース, ●: ラフィノース

図3に糖とアミノ酸のメイラード反応による各糖質の褐変性を示した。シュークロースやラフィノースは褐変度が低かった。イヌロオリゴ糖, マルトース, フラクトース, グルコースは褐変度が高かった。前者は反応性に富む還元末端を持ち, 後者は還元末端を持たないためと考えられた。

図4に各糖質のカラメル化反応による褐変性を示した。イヌロオリゴ糖は, グルコース, フラクトースと同様なパターンを示し, 加熱温度の上昇とともに褐変度が高まった。シュークロースは160℃までは褐変度は低かったが, 180℃では同様な着色性を示した。一方, マルトースとラフィノースは同一のパターンを示し, 前者の糖質群と比べて褐変度が低かった。

3.2 加熱安定性

ジュースや飲料タイプの食品の場合には, 有機酸などの存在あるいは酸味料などの添加により pH が比較的低い。また加熱殺菌処理などを行う。従って, 加工処理工程での酸や熱安定性などが重要な問題となるため, 各糖質の硫酸酸性下の酸安定性と中性域 pH 安定性の検討を行った。

図5に1N硫酸処理に対する各糖オリゴ糖の安定性を示した。糖質に1N硫酸を添加した検液のpHは1.0を

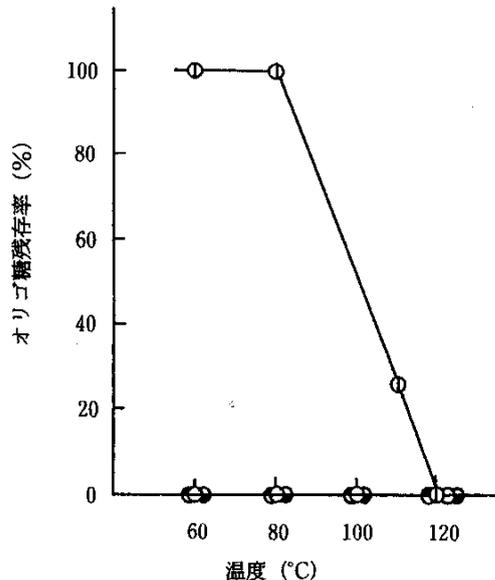


図5 各種オリゴ糖の酸安定性 (1N硫酸処理)

⊕: マルトース, ●: イヌロオリゴ糖
 ⊖: シュークロース, ●: ラフィノース

示し、低 pH での加水分解処理であった。イヌロオリゴ糖、シュクロース、ラフィノースの糖質の場合は元の糖質は 100% 残存しなかった。一方マルトースは 80℃ までは 100% 残存し、120℃ で完全に加水分解された。マル

トースは前者の糖質群に比べ、比較的強酸に安定であったが、イヌロオリゴ糖を含めそれ以外の糖質は強酸に対しては安定性がなかった。

図 6 に 0.1N 硫酸処理に対する各種オリゴ糖の安定性を示した。実質的な検液の pH は 1.5 であった。イヌロオリゴ糖はこの条件下でも完全に 100% 加水分解を受けた。シュクロースとラフィノースは 60℃ では約 30% 残存した。マルトースは 100℃ でも、まだ 100% 残存し、加水分解を受けなかった。

図 7 に 0.01N 硫酸処理に対する各種オリゴ糖の安定性を示した。検液の pH は 2.0 であった。イヌロオリゴ糖は 60℃ では約半分近く残存したが、100℃ 以上では全く残存しなかった。シュクロースとラフィノースはイヌロオリゴ糖に比べ、60℃、80℃ では残存率が高かった。その結果イヌロオリゴ糖は非常に酸に対して弱いオリゴ糖であることが判明した。

表 1 に微酸性と中性域 pH に対するイヌロオリゴ糖の安定性を示した。イヌロオリゴ糖が低 pH 域で非常に不安定であるので、微酸性及び中性域でも加水分解される可能性があると考えられたため検討したが、5 付近まではイヌロオリゴ糖は 100% 残存した。今後、イヌロオリゴ糖添加食品や飲料などを実際に製造する場合、5 以下の pH 域でまた有機酸存在下での加熱処理の影響などを

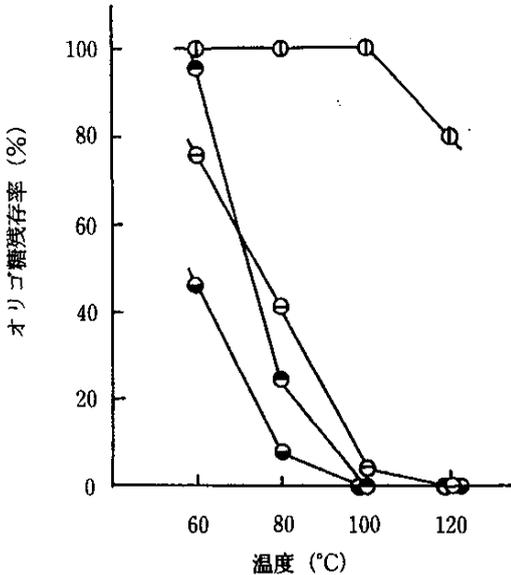


図 6 各種オリゴ糖の酸安定性(0.1N硫酸処理)

○：マルトース、●：イヌロオリゴ糖
○：シュクロース、●：ラフィノース

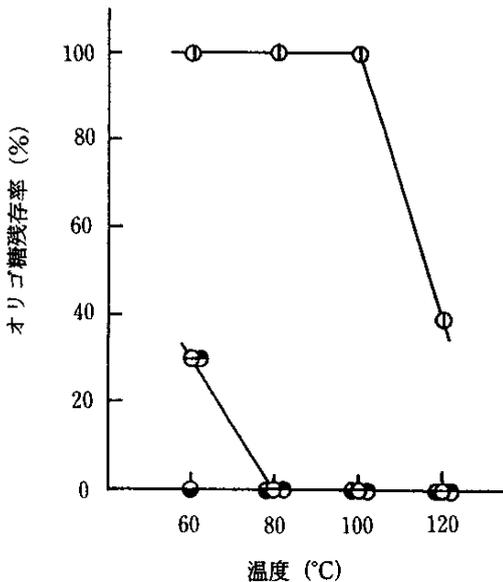


図 7 各種オリゴ糖の酸安定性(0.01N硫酸処理)

○：マルトース、●：イヌロオリゴ糖
○：シュクロース、●：ラフィノース

表 1 中性・微酸性域 pH での加熱分解性とイヌロオリゴ糖残存率 (%)

オリゴ糖	温度 (°C)	pH			
		5	6	7	8
イヌロオリゴ糖	60	100	100	100	100
	80	100	100	100	100
	100	100	100	100	100
	120	100	100	100	100
ショ糖	60	100	100	100	100

調べる必要がある。

3.3 水分活性

食品に含まれる水分をみるのに、直接水分含量を測定する場合と、微生物の生育や酵素反応に利用される自由水がどの程度に存在するのかを測定する場合がある。後者は水分活性(Water Activity, Aw) という尺度が用いられる。水分活性は、 $A_w = P/P_o$ の式で求められ、P は食品を入れた密閉容器内の水蒸気圧、Po はその温度に

における最大水蒸気圧である。純粋の場合は、 A_w の値は当然 1.00 であるが、 A_w の値が小さいほど自由水が少なく、微生物などが利用できる水分が減少していくことになり、結果的に繁殖や増殖ができなくなる。保存食品としての塩漬け、砂糖漬け、ジャムなどが良い例である。

図 8 に各糖質の 10~60% における水分活性を示した。グルコース、シュクロース、マルトース、イヌロオリゴ糖溶液の水分活性はほぼ同様のパターンを示した。60% (w/v) 糖濃度での水分活性は大体 0.93~0.95 であった。例えば、ジャムなどの砂糖が約 65% (w/w) 含まれる食品では水分活性は 0.91 ぐらいである。ソルビトールは前者の糖質群に比べて、水分活性が低く、60% 糖濃度で 0.89 であった。所定の水分活性保持には、ソルビトールは最も少ない量ですむことになる。

3.4 吸湿性

吸湿が望ましくない食品、逆に乾燥が望ましくない保湿度が必要な食品など多様な形態の食品がある。食品の柔軟性の保持、デンプンの老化や離水の防止などの目的には、ある程度の吸湿性が要求されるであろう。

図 9 に各糖質の吸湿性を示した。グルコース、シュクロースは全く吸湿性を示さなかったが、これは結晶性になっているためと考えられる。非結晶性のイヌロオリゴ糖とフラクトースは 24 時間後には、前者では約 26%、水分の吸収で重量が増加した。後者ではで約 47% 増加した。イヌロオリゴ糖はフラクトースほどではないが、吸湿性の高い糖質と考えられる。またイヌロオリゴ糖が加

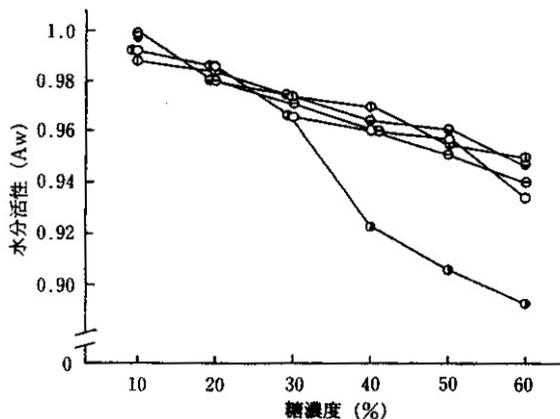


図 8 各種糖質の水分活性

⊕: マルトース, ●: イヌロオリゴ糖, ⊖: シュクロース
○: グルコース, ⊙: ソルビトール

水分分解されると、フラクトースが生じるため、処理によっては更に吸湿性が高まる可能性がある。

3.5 凍結温度

糖質の種類、成分組成や濃度により、凍結温度は異なると考えられるため、アイスクリームやシャーベットな

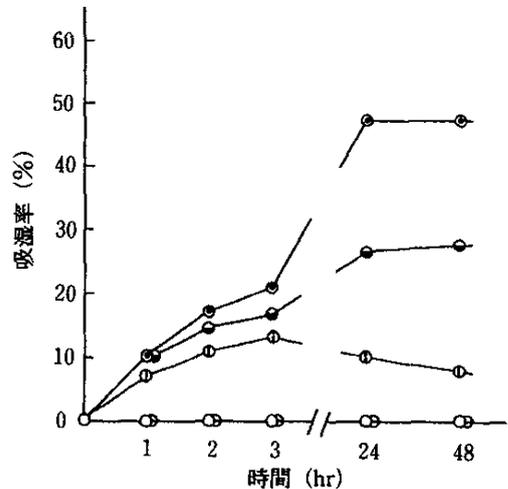


図 9 各種糖質の吸湿性

⊙: フラクトース, ●: イヌロオリゴ糖, ⊕: マルトース
○: グルコース, ⊖: シュクロース

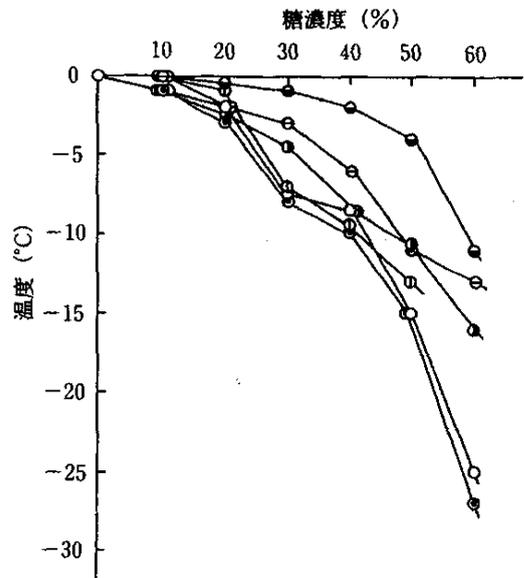


図 10 各種糖質の凍結温度

●: イヌロオリゴ糖, ⊖: シュクロース, ⊙: ソルビトール
○: グルコース, ⊙: フラクトース

どの氷菓の凍結温度の調節などに利用できる。各糖質の10～60% (w/v) 糖濃度における凍結点を調べた。

図10に各種の凍結温度曲線を示した。フラクトースとグルコースの凍結温度曲線は同一のパターンを示した。60%糖濃度では最も低く、-25℃以下であった。シュエクロース、マルトース、ソルビトールの凍結温度曲線はほぼ類似のパターンを示し、60%糖濃度では-15℃近辺であった。一方イヌロオリゴ糖はその他の糖質より各糖濃度において凍結温度が高かった。

4. 要 約

イヌロオリゴ糖は機能性甘味料として加工食品素材の原料に用いられる可能性があるため、基礎的なイヌロオリゴ糖の食品加工特性を調べた。併せて代表的な各糖質と比較検討した結果を要約する。

1) 加熱褐変性

メイラード反応による褐変度はシュエクロースやラフィノースでは低く、イヌロオリゴ糖、マルトース、フラクトース、グルコースは高かった。カラメル化反応による褐変度はイヌロオリゴ糖、グルコース、フラクトース、シュエクロースでは高く、マルトースとラフィノースでは低かった。

2) 加熱安定性

1N 硫酸処理ではマルトースは80℃までは100%残存し、120℃で完全に加水分解した。イヌロオリゴ糖、シュエクロース、ラフィノースはどの温度においても元の糖質は完全に加水分解を受け、残存しなかった。0.1N 硫酸処理では、イヌロオリゴ糖は100%加水分解を受けた。シュエクロースとラフィノースは60℃では約30%残存した。マルトースは100℃でも、まだ100%残存した。0.01N 硫酸処理ではイヌロオリゴ糖は60℃では約半分近く残存したが、100℃以上では全く残存しなかった。シュエクロースとラフィノースはイヌロオリゴ糖に比べ、60℃、80℃では残存率が高かった。その結果イヌロオリゴ糖は非常に酸に対して弱いオリゴ糖であることが判明した。微酸性と中性域 pH に対しては、5 付近までの試験でイヌロオリゴ糖は100%残存した。

3) 水分活性

グルコース、シュエクロース、マルトース、イヌロオリゴ糖溶液の水分活性はほぼ同様のパターンを示した。60% (w/v) 糖濃度での水分活性は大体 0.93～0.95 で

あった。ソルビトールは前者の糖質群に比べて、水分活性が低く、60%糖濃度で0.89であった。

4) 吸湿性

非結晶性のイヌロオリゴ糖とフラクトースは24時間後には、前者では約26%、水分の吸収で重量が増加した。後者では約47%増加した。イヌロオリゴ糖はフラクトースほどではないが、吸湿性の高い糖質と考えられた。

5) 凍結温度

フラクトースとグルコースの凍結温度曲線は同一のパターンを示した。60%糖濃度では最も低く、-25℃以下であった。シュエクロース、マルトース、ソルビトールの凍結温度曲線はほぼ類似のパターンを示し、60%糖濃度では-15℃近辺であった。イヌロオリゴ糖はその他の糖質より各糖濃度において凍結温度が高かった。

本研究は平成1～2年度の2年間、酪農学園大学との共同研究で実施して得られた成果の一部をまとめたものである。

5. 引用文献

- 1) 正井輝久, 食品工業, 30, 31 (1987)
- 2) J.F.Robytt, R.J.Ackerman, Arch. Biochem. Biophys., 145, 105 (1971)
- 3) 岡田茂孝, 北畑寿美雄, 22, 日食工誌, 421 (1975)
- 4) 日高秀昌, 柴田利章, 足立堯, 斉藤安弘, 農化, 61, 915 (1987)
- 5) 中島良和, 澱粉科学, 35, 131 (1988)
- 6) 本堂正明, 清水條資, 寺井悌三, 塩見徳夫, 平成2年度共同研究報告書, 1991
- 7) 北條祥子, 栄養・食糧学会誌, 36, 105 (1983)