

醤油膜ろ過残液処理法の検討(第1報) —産業用酵素による醤油膜ろ過残液中多糖類の分解—

川口 友彰*1 植木 達朗*2 野田 義治*2

Study on Processing Method of the Shoyu Cross-flow Filtration Retentate

- Enzymatic Digestion of Shoyu-polysaccharides -

Tomoaki Kawaguchi, Tatsuro Ueki and Yoshiharu Noda

醤油の清澄化および無菌化のためクロスフロー膜ろ過処理が行われているが、発生する高粘性・高濁度の濃縮残液（膜ろ過残液）による歩留り低下や処理困難性が問題となっている。膜ろ過残液の主成分で粘性に寄与する多糖類の分解により、これらの問題を解決できる可能性があるがこれまで十分な検討はされていなかった。そこで本研究では、産業用酵素による醤油膜ろ過残液中の多糖類分解を試みた。産業用酵素剤23種について多糖類消化性を分子量分布の変化を指標に調べた結果、2倍希釈した醤油膜ろ過残液中で単独で多糖類を分解し粘度低減効果をしめす酵素剤を1種、粗抽出した多糖類に対して単独で消化性をしめす酵素剤を2種、2種混合で消化性をしめす酵素剤の組み合わせ1種を見出すことができた。

1 はじめに

近年、醤油製造においてクロスフロー方式の膜ろ過が普及している。クロスフロー膜ろ過処理は、醤油もろみを圧搾して得た生揚醤油の清澄化、無菌化、火入れ滅処理不要化等といった利点を有する。一方、膜を通過しない多糖類や菌体を含む高粘性・高濁度の難分解性濃縮残液が処理生揚醤油の5～10%程度発生し、歩留まり低下、排水処理、廃棄コスト等が問題となっている¹⁾。特に、膜ろ過残液中には多量の醤油を含むため、何らかの醤油回収方法が求められている。

膜ろ過残液からの醤油分回収方法としては、野田らによる希釈・加熱処理法、希釈・酵素処理法が報告されている¹⁾。これらは、膜ろ過残液を2倍希釈し85℃1時間加熱あるいはペクチナーゼ剤処理後にセラミック膜で再ろ過することにより80%の醤油分を回収可能とする技術である。また、特別な処理を必要としない、膜ろ過残液を直接もろみに5%程度返送する技術¹⁾は実用化されているものの処理量に限界があるため、異なる処理技術での膜ろ過残液併用処理化が求められている。そこで本研究では、これまで希釈・酵素処理法で検討された特定の酵素剤に加え、種々処理条件で産業用酵素の醤油多糖類分解性を網羅的に調べ、膜ろ過

残液処理法としての有用性を検討した。対象酵素剤としては、膜ろ過残液中の主成分が酸性多糖類であること¹⁾、複雑に分枝した側鎖構造を有し酵素消化耐性を有すること^{2, 3)}、ペクチナーゼおよびヘミセルラーゼ活性により分解されること⁴⁾がこれまでに報告されているため、主にこれらの活性を有すると想定される酵素剤（ペクチナーゼ・ヘミセルラーゼ・セルラーゼ）とした。

2 研究, 実験方法

2-1 試料

醤油膜ろ過残液は福岡県醤油醸造協同組合より提供されたものを使用した。膜ろ過残液の粗抽出多糖類は以下の手順により得た。膜ろ過残液に対して3倍量のエタノールを添加後、遠心分離にて沈殿を回収した。沈殿を純水で溶解後、純水を外液として透析し、初発の膜ろ過残液容量に調整したものを粗抽出多糖類とした。産業用酵素は表1にしめす6社23種を使用した。分子量標準物質としてプルラン（昭和電工(株)）を使用した。

2-2 酵素反応

膜ろ過残液または粗抽出多糖類1 mLを種々条件（40～60℃, 0.1～1%酵素剤, pH 2～7, 1～3倍希釈）で酵素反応に供した。反応終了後、3 mLのエタノールを加え残存多糖類を沈殿させた。沈殿を純水で溶解して

*1 生物食品研究所

*2 福岡県醤油醸造協同組合

1 mLとした後、0.45 μmシリンジフィルターでろ過し分析用試料とした。同一メーカーの酵素剤については、各酵素剤が記載する濃度となるよう全酵素剤を混合して反応を行った。分子量分布に変化が見られたメーカー製の酵素剤については単独、組み合わせでの反応を行った。

2-3 分析

HPLC(Waters Alliance HPLCシステム)により分子量分布を測定した。カラムは東ソー(株)製TSKgel guardcolumn G3000PW_{XL}, G6000PW_{XL}, G3000PW_{XL}を連結して使用した。溶離液20 mM Na-acetate(pH 5.0), 流速0.6 mL/min, 注入量50 μL, カラム温度25 °C, 内部ヒーター30 °C, 検出は示差屈折率で行った。

粘度は東機産業(株)TVB10形粘度計を用いて25 °Cで測定した。

表1 使用した酵素剤

メーカー	商品名
ノボザイムジャパン(株)	Viscozyme L
	Pectinex Ultra SP-L
	Celluclast 1.5L
三菱ケミカルフーズ(株)	スクラーゼN
	スクラーゼS
	スクラーゼC
	スクラーゼX
	スクラーゼA
天野エンザイム(株)	ペクチナーゼ G「アマノ」
	ペクチナーゼ PL「アマノ」
	セルラーゼ A「アマノ」3
	セルラーゼ T「アマノ」4
エイチビィアイ(株)	ヘミセルラーゼ 「アマノ」90
	可溶性ペクチナーゼT
	セルロシン HC100
長瀬産業(株)	セルロシン TP25
	ペクチナーゼXP-534Neo
	セルラーゼXL-531
ヤクルト薬品工業(株)	セルラーゼSS
	マセロチーム
	セルラーゼ”オノズカ”
	ペクチナーゼSS
	セルラーゼY-NC

3 結果と考察

3-1 酵素剤処理による分子量分布変化

醬油膜ろ過残液中には高濃度の食塩(約16%)が存在し、耐塩性を有さない酵素については反応が困難である。そのため、酵素剤の多糖類消化性評価が難しいことが予想された。そこで、膜ろ過残液より多糖類を抽出し、抽出多糖類への消化性を評価することとした。

粗抽出多糖類および同一メーカーの酵素剤を各1%含む溶液で、40 °Cで24時間反応させた後、分子量分布の変化を調べた。その結果、図1に示す三菱ケミカルフーズ(株)製の5種混合酵素剤処理(黒細実線)により粗抽出多糖類(黒太実線)の分子量分布が、低分子側(分子量が大きい順に溶出するため溶出時間が長い方)にシフトすることがわかった。また、酵素剤添加量(0.1, 0.2, 0.5, 1%)の影響を調べた結果、添加量依存的に低分子化することがわかった。また、検討した反応温度における消化性は40>50>60 °Cの順で高かった(データ未掲載)。

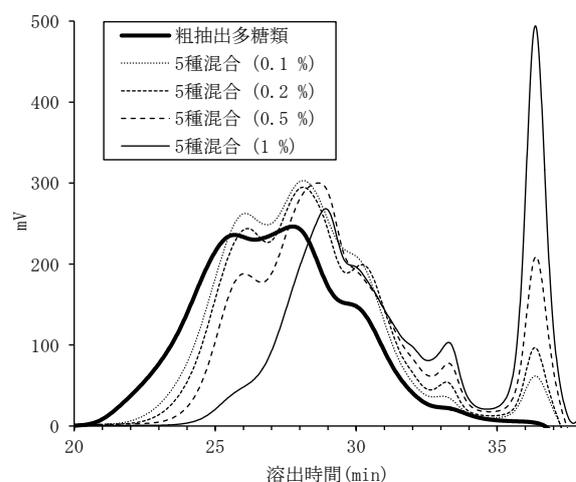


図1 酵素剤(三菱ケミカルフーズ(株)製5種混合)処理による粗抽出多糖類の分子量分布変化と添加濃度の影響

5種混合した酵素剤のどの酵素剤が粗抽出多糖類分解に有効であるかを調べるために、単一酵素剤、複数酵素剤組み合わせで多糖類消化性評価を行った。結果を図2に示す。酵素剤処理前の粗抽出多糖類(黒太実線)は6.2~736 kDa(図中矢印)の範囲を超える分子量分布を有するが、スクラーゼN単独(細実線)およびスクラーゼS, C併用(破線)処理後はいずれの酵素剤の場合もほとんどの高分子量成分が消失しているこ

とがわかる。このことから、スクラーゼN単独およびスクラーゼS, C併用処理に多糖類消化性が認められることがわかった。

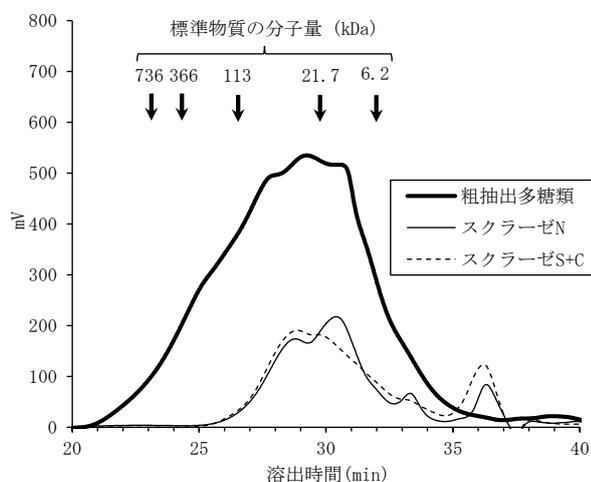


図2 酵素剤(各1%)処理による粗抽出多糖類の分子量分布の変化

これら粗抽出多糖類に対する有効酵素剤の膜ろ過残液あるいは希釈液中での多糖類分解活性を評価したが、低分子化は認められなかった。pH 2~7での反応も行ったが、低分子化は認められなかった(データ未掲載)。

次に、既報の希釈・酵素処理法により酵素処理後のろ過性向上効果が認められたノボザイムジャパン(株)製のViscozyme Lについて、酵素反応による分子量分布の変化を調べた(図3)。

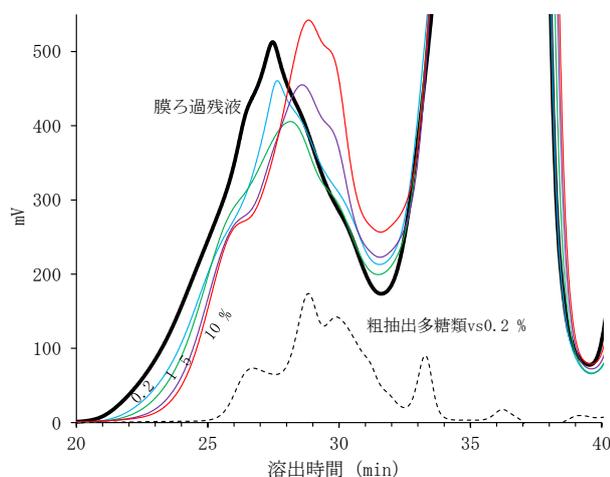


図3 Viscozyme L処理による膜ろ過残液分子量分布の変化

希釈・酵素処理法の条件(2倍希釈, 50℃, 0.2% 酵素剤添加)において粗抽出多糖類(黒破線)の低分子化が認められた。さらに、膜ろ過残液の2倍希釈溶液(黒太実線)中においても、0.2% Viscozyme L添加によりわずかではあるが多糖類が低分子化することがわかった。酵素剤添加量(0.2, 1, 5, 10%)の影響を調べた結果、変化量は小さいものの添加量依存的に低分子化することがわかった。

3-2 酵素剤処理による粘度変化

膜ろ過残液2倍希釈溶液において多糖類分解活性をしめしたViscozyme Lの粘度低減効果を評価した(図4)。0.2%添加で粘度が32%低下し、添加量10%で粘度低下率は47%となった。図3でみられた粘性成分である高分子多糖類の低分子化が粘度低下につながったものと考えられる。これらの結果より既報のろ過性向上は、高分子多糖類分解とそれに伴う粘度低下により達成されたものと考えられる。また、膜ろ過残液の原液は50 mPa・s程度の粘度をしめすが、2倍希釈液では図4の通り約8 mPa・sと大きく低下する。希釈による粘度低下も、既報の希釈・加熱法、希釈・酵素処理法の醤油回収効果に再ろ過時のろ過性向上要因として寄与しているものと考えられる。

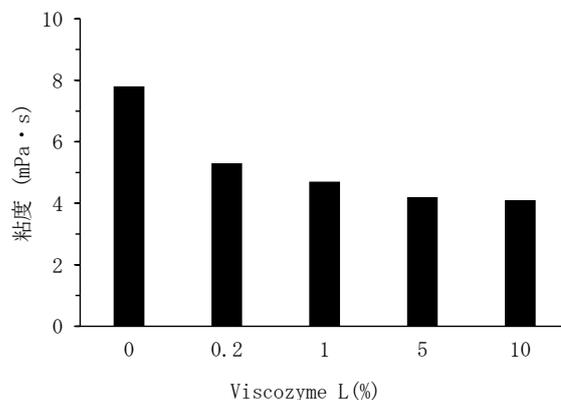


図4 Viscozyme L処理膜ろ過残液(2倍希釈)の粘度

4 まとめ

醤油膜ろ過残液処理法としての有効性を評価するため、産業用酵素による膜ろ過残液中多糖類消化性を調べた。その結果、Viscozyme Lが2倍希釈膜ろ過残液中で多糖類を低分子化し粘度を低下させることを明らかとし、既報の希釈・酵素処理法の効果を裏付ける結果を得ることができた。膜ろ過残液中での多糖類分解活

性はしめさなかったものの、抽出した多糖類に対して分解活性を有する酵素剤を新たに見出すことができた。この知見は、膜ろ過残液を食品素材として使用する際や、抽出除去した多糖の処理方法として活用できる可能性がある。

5 参考文献

- 1) 野田義治, 植木達朗, 大場和徳, 脇山元気: 醤油の研究と技術, 37巻(6号), pp. 365-369(2011)
- 2) T. Kikuchi, T. Yokotsuka: Agr. Biol. Chem., 37巻 (5号), pp. 973-979(1973)
- 3) T. Kikuchi, H. Sugimoto: Agr. Biol. Chem., 40巻 (1号), pp. 87-92(1976)
- 4) 菊地忠昭, 杉本洋, 横塚保: 日本農芸化学会誌, 50巻(6号), pp. 279-286(1976)