

醤油膜ろ過残液処理法の検討(第4報) —ろ過膜孔径の違いが生揚成分の膜透過性に与える影響—

川口 友彰*1 野田 義治*2 植木 達朗*2 脇山 元気*2 坂田 文彦*1 野見山 修治*3

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

- Effect of Pore Size on Permeability in the Cross-flow Filtration -

Tomoaki Kawaguchi, Yoshiharu Noda, Tatsuro Ueki, Motoki Wakiyama, Fumihiko Sakata and Shuji Nomiyama

醤油のクロスフロー膜ろ過処理は混濁成分および菌体を除去する一方、多糖類を含む高分子量成分の膜透過をも阻止し、醤油成分ロスと残液処理困難性につながっている。そこで本研究では、膜孔径を従来使用されている0.1 μm から0.45 μm とし、生揚成分の膜透過性の変化を調べた。その結果、膜孔径0.45 μm では113 kDa以下の高分子量成分の膜透過性が高まること、火入れ歪（おり）タンパクは膜に保持され、火入れ後も歪が発生しないことを明らかにした。膜ろ過残液の高分子量成分は33 %エタノールで沈殿する分子量と一致し、エタノール処理でほとんど残存することなく除去することができた。生揚の膜ろ過において、膜孔径0.45 μm の膜適用は、醤油成分保持および副産物（膜ろ過残液）処理において有効であることが判明した。

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の清澄化、無菌化、火入れ歪処理軽減等の利点を有する。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。

これまでに我々は、生揚と膜ろ過残液の分子量分布の比較から、膜ろ過（膜孔径0.1 μm ）により6.2 kDa以上の高分子量成分が膜に保持されることを明らかにした²⁾。膜ろ過残液中に存在するこれらの高分子量成分は、アルカリ条件下でのカルシウム処理³⁾やエタノール処理²⁾により沈殿・除去でき、膜ろ過残液からの低粘度清澄醤油の回収が可能であったことから、膜ろ過残液の主な粘性成分であることを確認している。したがって、これら高分子量成分を回収（膜透過）することで、生揚成分のロス削減と、粘性成分減少による膜ろ過残液の処理性向上が期待できる。そこで本研究では、生揚のクロスフロー膜ろ過において、精密ろ過膜の膜孔径を従来使用されている0.1 μm から0.45 μm

とし、生揚成分の透過性および膜ろ過残液の処理性を調べた。

2 研究, 実験方法

2-1 試料

醤油膜ろ過透過液・残液および醤油歪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。膜ろ過は、原料生揚を85 $^{\circ}\text{C}$ で加熱後、膜孔径0.1 μm あるいは0.45 μm の精密ろ過膜で行った。

2-2 火入れ

膜ろ過透過液の火入れは、瓶に入れて60 $^{\circ}\text{C}$ で2時間加熱後、85 $^{\circ}\text{C}$ で1時間加熱することにより行った。メスシリンダーに移し、5日静置後の歪容量を測定した。

2-3 SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)

醤油歪1 mLを水と混合し遠心分離し、得られた沈殿を水に懸濁した。遠心上清が透明となるまで繰り返し、沈殿をサンプルバッファーで溶解した。100 $^{\circ}\text{C}$ で5分加熱した後電気泳動に供した。

膜ろ過残液1 mLに0.2 mLの100 % (w/v) トリクロロ酢酸 (TCA) を加え15,000 \times gで5分遠心分離を行った。得られた沈殿を20 % TCA 1 mLで懸濁した。上記TCA処理を計3回行った後、沈殿に2 mLのエタノールを加え、TCA処理と同様の操作で2回洗浄を行った。沈殿をサンプルバッファーに溶解し、100 $^{\circ}\text{C}$ で5分加熱した後電気泳動に供した。

*1 生物食品研究所

*2 福岡県醤油醸造協同組合

*3 福岡県商工部

電気泳動はLaemmliの方法で行い、分離ゲルは10 % ポリアクリルアミドゲルを用いた。

2-4 膜ろ過残液のエタノール処理

膜孔径0.45 μm で膜ろ過して生じた膜ろ過残液20 mLにエタノール10 mLを加え、2,330 \times gで15分間遠心分離し上清を回収した。

2-5 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 $^{\circ}\text{C}$, 内部ヒーター30 $^{\circ}\text{C}$, 検出は示差屈折率で行った。アミノ酸は全自動アミノ酸分析機(日本電子(株)JLC-500/V2)により、粘度はTVB10形粘度計(東機産業)を用いて25 $^{\circ}\text{C}$ で測定した。

3 結果と考察

3-1 膜孔径による透過成分および保持成分の変化

膜孔径の違いが生揚成分の膜透過性にどのように影響するかを分子量分布の変化により調べた(図1)。

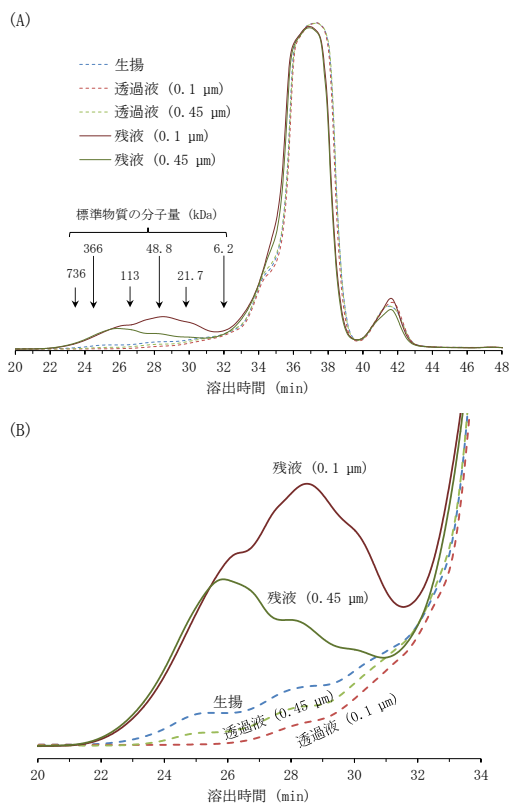


図1 膜ろ過透過液・残液の分子量分布

(A)クロマトグラム全体, (B)高分子領域拡大

6.2 kDaより低分子の領域(溶出時間33分以降)においては、透過液(破線)、残液(実線)の分布は膜孔径が異なってもよく一致しており、検討した膜孔径において低分子成分の透過性に顕著な差はないことがわかった(図1A)。一方、溶出時間33分より前の高分子量側では膜孔径の差による分子量分布の違いが認められた(図1B)。生揚にはもともと高分子量成分が存在しているが、いずれの膜孔径による膜ろ過においても、透過液は高分子量成分が除かれ、残液はその高分子量成分が蓄積することがみてとれる。膜孔径によりその程度が異なっており、膜孔径0.1 μm ではおよそ113 kDa以上(溶出時間26.6分以前)の高分子量成分の膜透過を阻止し、およそ113 kDaより小さな成分(溶出時間26.6~29分)についても半分以上膜透過を阻止していることがわかった。一方、膜孔径0.45 μm では、0.1 μm と比較し生揚成分の透過性が高く、およそ113 kDa以下の成分の半分以上が透過した。その結果として、膜孔径0.45 μm の残液にはおよそ113 kDa以下の成分が、膜孔径0.1 μm の残液よりも少なかった。

図2に、アミノ酸分析結果をしめす。膜ろ過透過液(図2A)、残液(図2B)ともに、生揚(斜線棒)と比較し、膜孔径による大きな差は見られなかった(膜孔径0.1 μm の残液においてわずかに減少がみられた)。この結果は、前述の低分子量成分のクロマトグラムにみられた結果を支持するものであった。

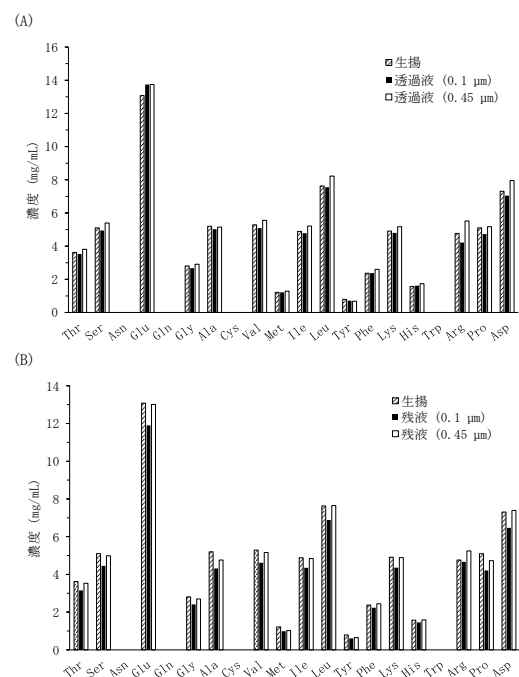


図2 膜ろ過透過液 (A)・残液 (B) のアミノ酸含量

また、膜ろ過前後の粘度に膜孔径による違いは認められなかった(表1)。

表1 膜ろ過透過・残液の粘度

生揚	膜ろ過透過液		膜ろ過残液	
	0.1 μm	0.45 μm	0.1 μm	0.45 μm
粘度 (mPa \cdot s)	3.8	2.72	28.5	29.7

以上の結果より、膜孔径0.45 μm での膜ろ過は0.1 μm に比べ、高分子量成分の透過性が高まること(醤油成分ロスを削減できること)がわかった。

一方で、透過する高分子量成分中に歪の原因となるタンパクも存在する可能性が考えられたため、火入れ試験およびSDS-PAGEによるタンパク分析を行った。火入れ試験の結果、いずれの膜孔径の膜ろ過透過液においても歪は生じなかった(データ未掲載)。図3にSDS-PAGEの結果をしめす。醤油歪にみられる45.1, 32.2, 30 kDa付近の濃い複数のバンド等のバンドパターンを、いずれの膜孔径の膜ろ過残液も有しており、歪の原因となるタンパクが膜で阻止されていると考えられる結果であった。火入れ試験の結果とあわせ、膜孔径0.45 μm の膜ろ過においても、火入れ歪が生じる程の歪タンパクの透過は無いと考えられた。

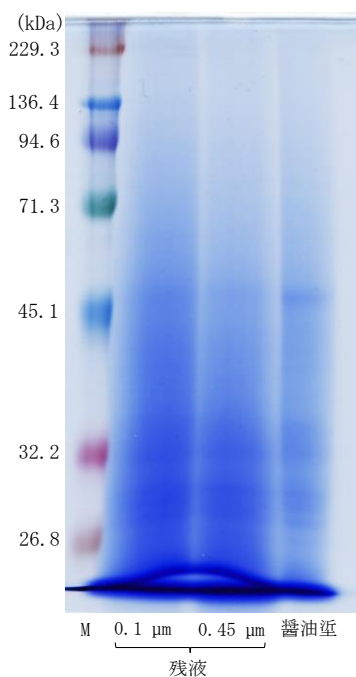


図3 膜ろ過残液と醤油歪の電気泳動結果

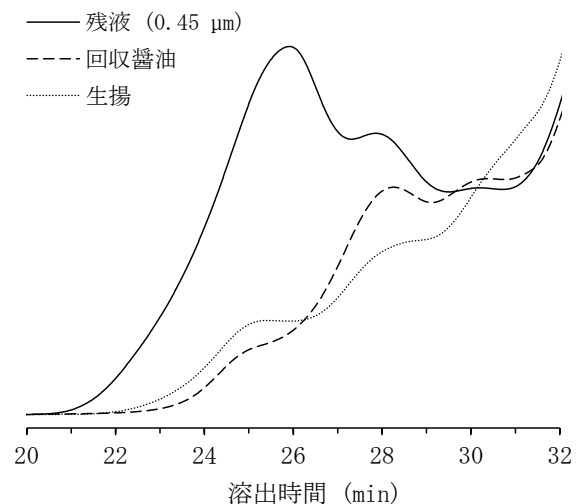
M: 分子量マーカー

3-2 膜ろ過残液のエタノール処理性

膜孔径0.45 μm による膜ろ過では、図1にしめすように溶出時間26分付近をピークとする成分が蓄積した。この分子量分布のパターンは33 %エタノール存在下で沈殿する膜ろ過残液(膜孔径0.1 μm)成分の分布パターン²⁾とよく一致しており、33 %エタノール処理により、蓄積成分の残存が少ない低粘度・清澄醤油を回収できることが考えられた。そこで、膜ろ過残液(膜孔径0.45 μm)を33 %エタノール処理後、回収した清澄醤油の分子量分布を調べた。

その結果、図4Aのように、回収醤油の分子量分布(破線)は、膜ろ過残液(実線)から高分子量成分が除去され、生揚(点線)のパターンに近づくことがわかった。回収醤油の粘度も同様に、生揚と同等の値をしめした(図4B)。

(A)



(B)

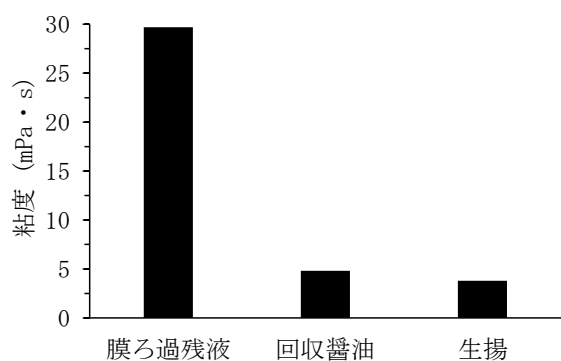


図4 膜ろ過残液エタノール処理によって得られた回収醤油の分子量分布(A)および粘度(B)

4 まとめ

生揚のクロスフロー膜ろ過処理において残液に蓄積する高分子量成分は、醤油成分ロス・膜ろ過残液処理困難性につながる。そこで本研究では、膜孔径変更によるこれらの問題改善を目的とし、生揚成分の膜透過性を調べた。その結果、膜孔径を0.1 μm から0.45 μm にすることで高分子量成分の膜透過性が高まり、成分ロスを削減できることがわかった。また、膜ろ過で生じた残液は、蓄積成分をほとんど残存することなく33 %エタノール処理で除去でき、清澄醤油回収可能であることがわかった。生揚の膜ろ過において、膜孔径0.45 μm の膜適用は、醤油成分保持および副産物（膜ろ過残液）処理において有効であると思われた。

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) 川口友彰, 野田義治, 植木達朗, 脇山元気, 野見山修治: 醤油の研究と技術, 45巻(2号), pp. 103-109(2019)
- 3) 川口友彰, 植木達朗, 野田義治: 福岡県工業技術センター研究報告, 28号, pp. 24-26 (2018)