

発酵食品工場副産物の利用研究

— 醤油粕の有効利用について —

漆原 栄治*

1. 緒 言

県内には27の醤油メーカーがあり、醤油の総生産高は約1万kl/年である。この生産により副生する醤油粕量を試算すると約833t/年となるが、昨今の後継者不足、醸造設備の老朽化及び受注量の低迷等により、県外から生醤油を仕入れ市販醤油に加工（この場合、醤油粕が副生しない）し出荷するメーカーが増え、実数は約700t/年と見られる。

かつて、醤油粕は家畜飼料に利用されていたが、配合飼料の普及にともない、粕の多くが産業廃棄物として焼却・埋め立て処分されているのが現状である。折しも、地球環境保全の立場から省資源、省エネルギー及び産業廃棄物のリサイクル対策等が急務となっている。

最近、松田らは醤油粕のリサイクルを目的に粕中の抗酸化物質について研究を行い、イソフラボンであるダイゼイン及びゲニステインの2成分の存在を明らかにした。そこで、著者はこのことについて有効利用への可否を検討するため、県内の醤油粕に含まれるイソフラボン量を明らかにすると共に、新たに有価物質の検索を行ったので、その結果を報告する。

2. 試験方法

2.1 供試薬

アセトニトリル:液体クロマト用。酢酸メチル:試薬特級を再蒸留し用いた。イソフラボン標準品:フナコシ(株)より購入。脂肪酸エステル:東京化成工業(株)製。その他の試薬:市販の試薬特級。

2.2 醤油粕中のイソフラボンの分析

1) 供試醤油粕

濃口醤油の仕込み方を異にする5種類の醤油粕、即ち本醸造、本醸造丸大豆、新式醸造及び再仕込み（一次及び二次）醤油の製造時に副生する醤油粕を醤油メーカーから各々5Kg採取し、分析日まで-20℃に保存した。

2) イソフラボンの抽出方法

5Kgより四分法にて分取した約300g醤油粕をミキサーで破碎均一化後、6gを精秤し80%メタノール水溶液60mlを加えホモジナイザー（ジェネレータ式、5分間）で攪拌抽出し、遠心分離（5000rpm,10分間）し、沈殿物について同様の抽出操作をさらに2回繰り返す。上清液を合わせて200ml定容とし、イソフラボン分析の供試液とした。

3) 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるイソフラボンの分析

3.1) HPLC装置

(株)島津製作所製の高速液体クロマトグラフ10A。

但し、フォトダイオードアレイ検出器はウオーターズ社製991J型。

3.2) HPLC分析条件

カラム恒温槽温度:40℃。分析カラム:Shim-pack, ODS,4.6

φ×150mm。移動相:直線グラジエント、アセトニトリル水溶液12→40% (20min) / 0.1%酢酸を含む、流量:1ml/min。分析供試液:3倍希釈後10μlを注入。検出波長:定量時260nm。定量法:ピーク面積による絶対検量線法。

2.3 醤油粕中の有価物質検索

1) 供試液の調製

イソフラボン抽出後の本醸造醤油粕に酢酸メチル60mlを加え、ホモジナイザーで攪拌抽出(5分間)し、遠心分離する。沈殿物について同様の操作を繰り返す。酢酸メチル層を合わせ無水硫酸ナトリウムを加え脱水し、ロータリーエバポレーターで濃縮し10ml定容とする。この液をガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)の供試液とした。

2) GC-MSによる分析

2.1) GCMS装置

GCMS:(株)島津製作所製GCMS-9100MK, データ処理ソフトウェア:島津製作所製PAC-1500。

2.2) GCMS条件

GCカラム:信和化工(株)製, キャピラリーカラムHR-20M, 0.32mm×25m, 膜厚0.50μm。カラム温度:40℃ (1.5min) → 230℃, 4℃/min, 気化室温度:200℃, 注入量:1μl (スプリットレス)。イオン源温度:250℃, イオン化法:EI, イオン化電圧:70eV。

3. 結果及び考察

3.1 醤油粕中のイソフラボンについて

1) HPLCによるイソフラボンの同定

本醸造醤油粕のイソフラボン及び標準品のHPLCクロマトグラムを図1に、各ピークの紫外外部吸収スペクトルを図2及び3に示した。図1においてピークA及びBの保持時間が各々標準品のダイゼイン、ゲニステインの保持時間と、また図2及び図3においてピークA及びBの吸収スペクトルが各々標準品のスペクトルと良く一致した。これらの結果からピークAがダイゼイン、Bはゲニステインと同定した。他の供試醤油粕についても同様の結果が得られた。

2) 醤油粕中のイソフラボン含有量

供試醤油粕のイソフラボン含有量を表1に示した。調査した範囲では最低0.12%, 最高0.24%, 平均で0.17%の値であった。平均的な大豆中のイソフラボン量は約0.2%で、その構成成分の多くが配糖体として存在している。一方、粕にはイソフラボンアグリコンであるダイゼイン、ゲニステインが蓄積しており、いずれの粕もダイゼインに比しゲニステイン量が多い傾向が認められた。

最近、ダイゼイン、ゲニステインに抗酸化性及び抗腫瘍性³⁾等の生理活性作用が報告されており、醤油粕は当該物質の供給源としての可能性を秘めている。

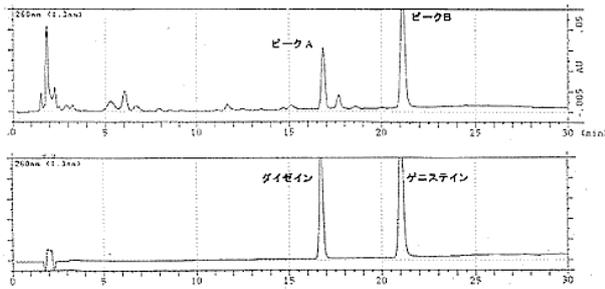


図1 醤油粕及びイソフラボン標準品のクロマトグラム

表1 醤油粕中のイソフラボン量
μg/g(乾燥重)

イソフラボン 成分名	μg/g(乾燥重)				
	本醸造	新式醸造	丸大豆仕込み	再仕込み1次	再仕込み2次
ダイゼイン	711	509	583	1,032	724
ゲニステイン	1,148	733	709	1,354	937
合計	1,859	1,242	1,292	2,386	1,661

3.2 醤油粕中の有価物質の検索

GC-MSより得られたトータルイオンクロマトグラムを図4に示した。各ピークのマススペクトルを手掛かりに成分を検索し、標準品の保持時間との一致性から各ピーク成分の同定を試みた。その結果、ピーク1:パルミチン酸メチル、2:パルミチン酸エチル、3:ステアリン酸メチル、4:オレイン酸メチル、5:リノール酸メチル、6:リノール酸エチル、7:リノレン酸メチルと同定した。ピーク8については、標準品の入手が困難なため、クロマトグラム上における脂肪酸エステル出現順位を考慮してリノレン酸エチルと同定した。

醤油には、既に上記の脂肪酸エチルエステル⁴⁾が確認されているが、醤油粕には脂肪酸メチル及びエチルエステルが共存していることが、今回の調査で分かった。リノール酸とリノレン酸は人や動物にとって欠くことの出来ない必須栄養素である。このことから、粕中の当該エステル成分を有効利用できないか今後検討したい。

3.3 有価物質抽出後の醤油粕の性状

イソフラボン分析のためメタノール水溶液で抽出された醤油粕は、いずれも微弱な醤油香を残していた。更に、有価物質検索のため本醸造醤油粕を酢酸メチル抽出したところ、溶媒揮散後の醤油粕は醤油香が無く、淡褐色、粉状を呈し、従来から醤油粕の再利用を阻んでいた強い臭気、濃い色、扱いづらい形状等の欠点が改善されており今後は食品、飼料等への利用を検討したい。

4. 要約

県内の醤油メーカーから採取した5種類の醤油粕中のイソフラボン(ダイゼインとゲニステインの総量)量は、0.12~0.24%(乾重)値であった。

本醸造醤油粕について有価物質の検索を行った結果、パルミチン酸メチル及びエチル、ステアリン酸メチル、オレイン酸メチル、リノール酸メチル及びエチル、リノレン酸メチル

及びエチルを検出した。

本醸造醤油粕のメタノール水溶液、更に酢酸メチル抽出により、粕を淡色・無臭にすることが出来た。

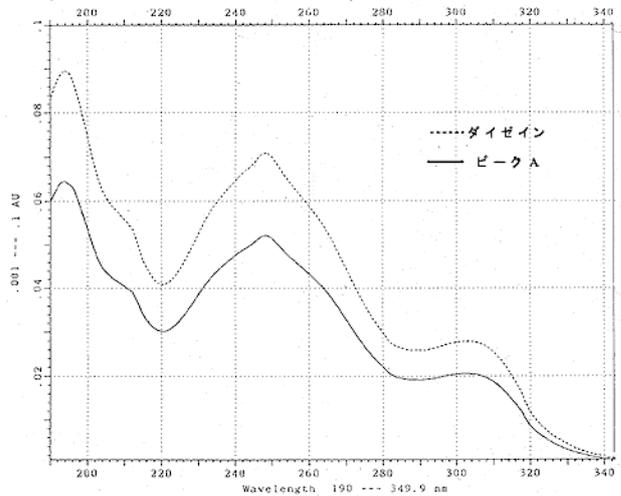


図2 ピークA及びダイゼインの吸収スペクトル

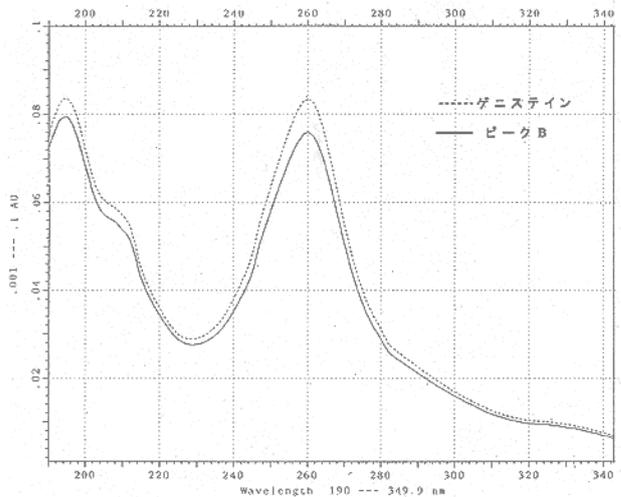


図3 ピークB及びゲニステインの吸収スペクトル

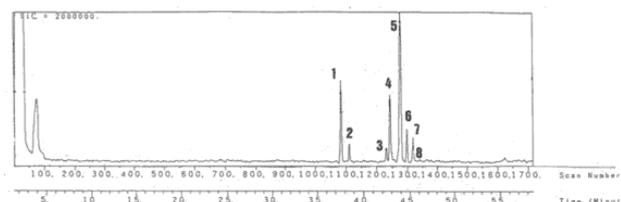


図4 有価物質検索のトータルイオンクロマトグラム

[参考文献]

- 1) 松田茂樹 湯之上雅子 醤油 23,263(1997)
- 2) H.Wang, and P.A.Murphy: *J.Agric.Food Chem.* **42**,1666 (1994)
- 3) Barnes, S.: *Biochem.Biophys.Res. Commun.*, 179,661(1991)
- 4) 野白喜久雄ら編集, 醸造の事典, 朝倉書店 p.64 (1988)