吸着剤および蛋白凝集剤等による米酢の 二次沈澱防止

東出敏男*・奥村 一*・川村吉也*
久松 眞**・山田哲也**

Prevention of Secondary Sedimentation of Rice Vinegar

Toshio HIGASHIDE*, Hajime OKUMURA*, Yoshiya KAWAMURA*,
Makoto HISAMATSU** and Tetsuya YAMADA**

* Nakano Central Research Institute, Nakano Vinegar Co., Ltd.,
2-6, Nakamura-cho, Handa-shi, Aichi-ken 475

** Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Bioresources, Mie
University, 1515, Kamihama-cho, Tsu-shi, Mie-ken 514

Sediment formation of rice vinegar was studied to maintain vinegar quality for a longer period. The main component in the sediment was protein. The browning component of the sediment was extracted with a chloroform-methanol solvent and was mainly attributed to the hydrolysates of rice, koji and enzymes used in the fermentation process. Perfect prevention of the sediment formation in rice vinegar was attained by ultra-filtration with a membrane cutting off at molecular size up to 13000. The sediment preventive activity of many substances (polysaccharides, synthetic high molecular compounds, adsorbents and coagulants) were tested, and it was found that an addition of xanthan gum, carboxy methyl cellulose (CMC) and sodium polyacrylate to vinegar was useful. An addition of bentonite was also effective at 80°C. Xanthan gum, CMC and sodium polyacrylate dissolved in vinegar may act as stabilizer for the prevention of the secondary sediment. Ultra-filtration and bentonite-treatment could only remove the sediments from rice vinegar and it was presumed that no artificial materials were remained in rice vinegar obtained from ultra-filtration and bentonite-treatment. From the above results, the ultra-filtration process and bentonite treatment at 80°C were found to be favorable in maintaining rice vinegar quality against the secondary sedimentation.
(Received Nov. 13, 1992)

原料の種類や使用割合の違いにより各種の食酢が製品化されているが、高級志向化に伴い、米酢の需要が伸びるとともに、更に成分濃度の高い米酢が求められる様になった。しかしながら、米酢の成分が豊富になるにつれて、製品段階で発生する沈澱、いわゆる二次沈澱の発生が起りやすくなり、品質安定化のための対策が強く求められている。食酢と同様な米を原料とするものとして

清酒、味醂があるが、清酒の蛋白混濁（白ぼけ）に関しては秋山^{1)~3)}、堀^{4)~9)}、杉田^{10)~16)}らが報告を行っている。また、味醂の煮切りに関しては山下¹⁷⁾らの研究がある。しかしながら、食酢に関しては従来は成分濃度が低いものが多く、二次沈澱が発生することが少なかった。知見も非常に少ない。ただ小麦を原料として使用した食酢のみキレート樹脂、ナイロン、セルロースなどで処理

* (株)中埜酢店中埜中央研究所 (〒475 愛知県半田市市村町 2-6)

** 三重大学生物資源学部 (〒514 三重県津市上浜町 1515)

する二次沈澱の防止法^{18)~20)}が報告されている。本報告では、米酢の二次沈澱に関する成分分析を行い、さらに各種処理剤を利用した防止方法を検討した。

実 験 方 法

1. 試 料

(1) 米酢サンプルの調製

米酢サンプルは Fig. 1 に示した製造工程に従って調製した。粉碎した米懸濁液 (35% (w/v)) に麴 0.3% (w/v) 及び酵素 (α -アミラーゼ 0.06% (w/v) (液化酵素 SP: 天野製薬), グルコアミラーゼ 0.3% (w/v) (スミチム AL: 新日本化学), プロテアーゼ 0.01% (w/v) (プロテアーゼアミノ A: 天野製薬)) を作用させ、液化、蒸着及び糖化後圧搾して得られた糖化液に種酢, アルコール及び水を酸度 2.8% (w/v), アルコール濃度 2.8% (v/v) になるように加えて仕込み, 約 2 週間の表面酢酸発酵と約 1 カ月間の熟成の後, ろ過, 殺菌工程を経て米酢サンプルとした。なお米酢サンプルの一般分析値は酸度 4.53% (w/v), 全糖 8.3% (w/v), 全窒素 0.14% (w/v) であった。

(2) 多糖類, 合成高分子, 吸着剤及び蛋白凝集剤

すべて市販品を利用した。多糖類: カラギーナン, ペクチン, グアーガム及びアルギン酸ソーダ (片山化学), キサンタンガム (太陽化学), カルボキシメチルセルロース (CMC) (ダイセル), セルロースパウダー及び寒天 (和光純薬), キチン (東京化成), デキストリン (松谷化学), 合成高分子: 6-ナイロンパウダー (宇部興産), シリカゲル (片山化学), ポリアクリル酸ソーダ (日本純薬), 吸着剤及び蛋白凝集剤: ベントナイト及びベンゲル (精製ベントナイト) (片山化学), 酸性白土及びタンニン (和光純薬), 活性炭 (武田薬品)。

2. 沈澱の採取

米酢をびんに密封し, 60°C で 15 日間保存した。発生した沈澱は遠心分離 (3 000 rpm, 1 hr, 1 700×G) により回収後, 4.5% 酢酸溶液にて洗浄し, 真空デシケーター中で乾燥させ分析試料とした。

3. 沈澱物の分析

(1) 全窒素量及び粗蛋白質量

ケルダール法で分析した。通常の分解条件で分解後, 試料は全窒素分析装置 (MC 1 MODEL TN-01, 三菱化成工業(株)) で測定した。粗蛋白質量は常法に従い全窒素量に 6.25 を乗じて求めた。

(2) 全糖量及び糖組成

試料 5 mg に 2 M トリフルオロ酢酸 (TFA) を 5

Rice

↓

Milling

add α -Amylase, Water

↓

Cooking

at 70°C for 30min, heat up to 120°C, and keep at 120°C for 30min, add Glucoamylase, Protease, Rice koji

↓

Saccharification

keep at 58°C for 20hr

↓

Filtration with press

↓

Saccharified rice solution

add Seed culture of vinegar, Alcohol, Water

↓

Acetic acid fermentation

keep at 30°C for 15days

↓

Filtration

↓

Aging

keep at room temperature for 2 months

↓

Filtration & Sterilization

heat at 75°C for 20seconds

↓

Rice vinegar

Fig. 1 Schematic outline of rice vinegar production process

ml 加え²¹⁾, 沸騰湯浴中で約 3 時間還流して加水分解を行った。TFA を減圧留去後, アンスロン-硫酸法²²⁾で比色定量し, グルコース換算量として全糖量を算出した。本分解液を用いシリカゲル薄層クロマトグラフィーにて糖組成を検索した。

(3) フィチン酸

試料 5 mg に 6 N-HCl を 5 ml 加え, 密封し, 110 °C で 24 時間加水分解²³⁾を行った。加水分解液を減圧濃縮後 Na_2CO_3 で中和し, 真空乾燥した。試料に TMS-HT 試薬 (東京化成) 1 ml を加え, シリル化し, イノシトールを内部標準とするガスクロマトグラフィーでフィチン酸を定量した。

分析条件 機器: 日立 163 型カラムクロマトグラフ,

担体: 10% SE-30 (3 mm×2 m ガラス), カラム温度: 220°C, 検出器: FID

(4) アミノ酸組成

試料約 5 mg に 6 N-HCl を 5 ml 加え, 密栓し, 110°C 24 時間加水分解を行った. 0.45 μ m のメンブランフィルター (Advantec Toyo) で不溶物を除去後濾液を減圧乾固した. これにクエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.24) を 4 ml 加え, アミノ酸分析計 (日立 KLA 5 型) で全アミノ酸を測定した.

(5) 灰分及び灰分組成

試料 10 mg を石英製蒸発皿に精秤し, 550°C で 24 時間加熱処理した.

得られた灰分に 6 N-HCl を 1 ml 加え, 沸騰湯浴中で蒸発乾固させた. これに 1 N-HCl を 10 ml 加え, No. 5 c 濾紙 (Advantec Toyo) で濾別して試料液とした. 灰分組成のうち Fe_2O_3 , MgO , CaO については日立 207 型原子吸光分析計を用いて, また他成分については島津 AA 650 型原子吸光分析計+GFA-2 型フレームレスアトマイザーを用いて原子吸光分析した. ただし, リンは ALLEN 法²⁴⁾による比色定量で測定した. なお, 1 N-HCl 不溶物質は濾紙とともに再度灰化し, 秤量して SiO_2 として計算した.

(6) 粗脂肪及び脂肪酸組成

試料 50 mg を 10 ml 共栓付き遠沈管に精秤し, クロロホルム-メタノール (2:1) 混液 5 ml を加え振盪抽出 (振幅 40 mm, 振盪速度 200 回/分, 30 分) 後, 遠心分離 (3000 rpm, 5 min, 966×G) を行った. 得られた沈澱物について, さらにこの操作を 8 回繰り返した. はじめ黒褐色を呈していた抽出液は最終的にはほぼ無色透明になった. これらの抽出液 (上澄液) を合わせた後, No. 5 c 濾紙で濾過後, 濾液を湯浴上 (約 40°C) で濃縮乾固させ, 更に 105°C 30 分間乾燥させ残留物を得た. (抽出法 ①)

また, クロロホルム-メタノール混液の代わりにエーテルを用いて同様の操作を行い抽出物を得た. (抽出法 ②)

脂肪酸組成の分析については, 抽出法 ① で得られた抽出物 5 mg に塩酸-メタノール液を 1 ml 加え, 80°C で 5 時間保持した後, 水を 3 ml 加え, n-ヘキサン 10 ml を用いて抽出した. 抽出操作を 3 回繰り返した. これらの抽出液を合わせた後, 無水 Na_2SO_4 で脱水し, 濃縮後, ガスクロマトグラフィーで定量した.

分析条件 機器: 日立 163 型カラムクロマトグラフ, 担体: 15% DEGS (3 mm×2 m ガラス), カラム温

度: 160°C, 検出器: FID

(7) 紫外外部吸収分析

試料を N/10 NaOH に溶解した後, 日立 320 分光光度計にて 220~320 nm までの紫外外部吸収を測定した.

(8) ゲル濾過分析

N/10 NaOH 1 ml にて溶解させた試料 10 mg を 0.05 M KH_2PO_4 緩衝液 (pH 7.5) にて平衡化させたセファデックス G-75 カラム (2.5×55 cm) を用いてゲル濾過を行った. 溶出は同じ緩衝液を用いて, 流速 18 ml/hr で行い, 検出は UV 検出器 (島津 SPD-6 AV) にて 280 nm の紫外外部吸収を測定することにより行った.

4. 二次沈澱防止処理

(1) 処理剤使用による二次沈澱防止

供試米酢サンプルを各温度に加熱し, 処理剤を添加し, 30 分間ないし 1 時間攪拌後, 室温まで冷却し, 約 1 時間静置し, 上澄液を 0.45 μ m のメンブランフィルター (東洋濾紙製 TM-2) にて濾過し, 150 ml のガラスびんに詰め, 75°C 達温殺菌後 60°C 恒温水槽に保存して, 15 日間沈澱発生経過を観察した.

(2) 限外濾過による二次沈澱防止

旭化成限外濾過システムを用いた. 使用したモジュールはモジュール型式 AIP-1010 (C.M.W. 6 000), モジュール型式 ACP-1010 (C.M.W. 13 000), モジュール型式 AIV-1010 (C.M.W. 50 000) の 3 種類で, 材質はポリアクリルニトリル製, 中空糸サイズ (外径 1.4 mm, 内径 0.8 mm), 有効膜面積 0.2 m², モジュール径 42 mm, モジュール長 347 mm であった. 各モジュールにより濾過された米酢サンプルを 150 ml のガラスびんに詰め, 75°C 達温殺菌後 60°C 恒温水槽に保存して, 15 日間沈澱発生経過を観察した.

実験結果及び考察

1. 沈澱物の分析

米酢試料から得られた沈澱物の収量は, 米酢 18 l に対して 180.5 mg となり, 10 mg/l であった.

(1) 主成分の分析

Table 1 に示したように, 沈澱物の主成分は蛋白質あるいは蛋白質由来化合物と考えられた. この沈澱物を前記抽出法 ① で抽出すると, N/10 NaOH に可溶な着色物質が得られたが, この量は沈澱物質の 37% (w/w) であった. 一方, 抽出法 ② で抽出すると抽出量は沈澱物質の 1% (w/w) 以下と非常に少量であった. また抽出法 ① で得られた抽出物の脂肪酸を調べると, 脂肪

Table 1 Composition of the secondary sediment of rice vinegar

Component	% (w/w)
Total Nitrogen (as Crude Protein ¹⁾)	9.9 (62.0)
Crude Fat ²⁾	trace (<1)
Total Sugar ³⁾	4.3
Ash	1.3
Phytic acid	trace (<1)
Moisture	6.0

¹⁾ Crude Protein was presented as amount of 6.25 TN (Total Nitrogen).

²⁾ Crude Fat was presented as extracts by ethyl ether.

³⁾ Total Sugar was presented as glucose.

酸メチルエステルとして沈澱物質の0.4% (w/w) しか検出されなかった。そこで得られた着色物質の全窒素を測定したところ6% (w/w) となり、窒素含有化合物が相当量含まれていることが示唆された。一般にクロロホルム-メタノール混液で蛋白質が抽出されたとは想定しにくい。この窒素含有化合物を低分子物質のペプチドとして全窒素から計算すると着色物質の約37%にしかならない。そこで沈澱発生条件を考慮すると60℃, 15日間とかなりの高温処理であり、また抽出物質が着色物質であることからこの物質の主成分はアミノ酸又はペプチド様物質が還元糖とメイラード反応によりアミノカルボニル化合物を生成し、これが二次反応により抽出法①の溶剤で可溶性の褐変物質になったものと考えられる。従って一般的なエーテル抽出法では粗脂肪として抽出されなかった理由も理解できる。又沈澱物質のその他の成分としては、全糖4.3%, 灰分1.3% 及び微量のフィチン酸が検出された。(Table 1)

(2) 糖組成

Fig. 2 に示したように、沈澱物の糖組成で呈色度から判断すると最も多く含まれているものはグルコースであったが、その他マンノース、キシロース、ラムノース及び未知糖も検出された。グルコースが多いことより米酢の二次沈澱物の糖質関連部分は原料米由来成分が関与していることが示唆された。また清酒の蛋白混濁物質中の糖組成に関して、秋山³⁾は糖化酵素や麹菌体由来するマンノースが多いことを報告しているが、本研究でもマンノースが検出されたことから、沈澱発生に酵素や麹菌体の関与も考えられた。

(3) 灰分組成

Table 2 に示したように、沈澱灰分の大部分は Cu であり、沈澱の発生に Cu が関与していることが示唆された。実際、供試米酢サンプルの沈澱発生前の Cu 含量は 0.13 mg/l であったのに対し、沈澱発生後の上澄

Fig. 2 Thin-Layer Chromatogram of the hydrolyzed secondary sediment of rice vinegar. Precoated TLC silicagel 60 plates (Merck Art No. 5715) was impregnated with NaH_2PO_4 . Silicagel plate was developed by a solvent (acetone: iso-propanol: 0.1 M lactic acid = 40: 40: 20) and detected with a reagent (aniline: diphenylamine: acetone: phosphoric acid = 4 ml: 4 g: 200 ml: 30 ml).

1: sample of sediment, 2: glucose, 3: mannose, 4: xylose 5: rhamnose

Table 2 Composition of ash of the secondary sediment of rice vinegar

Metal-oxide	(%)
CuO	85
P ₂ O ₅	11
Fe ₂ O ₃	2.8
Al ₂ O ₃	0.8
MgO	0.3
Total ¹⁾	100

¹⁾ Contents of CaO, PbO, CdO, NiO, Cr₂O₃, MnO₂ and SiO₂ were trace.

液 (0.45 μ m メンブランフィルター透過液) では 0.01 mg/l と激減しており Cu の沈澱物への移行が裏付けられた。原料米や酵素剤にはわずかながら Cu が含まれており, Cu が沈澱発生の重要因子である可能性が示唆された。

また, Cu がグルコマンナンやキシランと結合して不溶物を造ることは知られており, 多糖類が沈澱発生に関与する可能性も考えられる。

(4) アミノ酸組成

Fig. 3 (A) に米酢二次沈澱の主成分である蛋白質のアミノ酸分析結果を示した。アスパラギン酸とグルタミン酸が他のアミノ酸に比べて著しく多く, どちらも 20% 近くの値を示した。米酢の原料である米に含まれる蛋白質とアミノ酸パターンを Fig. 3 (B) に示したが, グルタミン酸のみが他のアミノ酸よりも多くて, 約 20% であった。なお, アスパラギン酸はそのつぎに多いものの, 約 10% にすぎなかった。一方, Fig. 3 (C) に主要酵素剤の一つ (プロテアーゼアミノ A) のアミノ酸パターンを示したが, アスパラギン酸がグルタミン酸を 5% 程度上回り, 米の蛋白質のアミノ酸パターンとは対照的であった。清酒の蛋白混濁は麹の酵素に起因すると言われており, その混濁物質のアミノ酸パターンはアスパラギン酸がグルタミン酸よりも多く含まれることが明らかになっている³⁾¹²⁾。米酢沈澱, 米, 酵素剤のア

ミノ酸パターンを比較すると, 米酢沈澱は米と酵素剤のちょうど中間的なパターンを示した。従って米酢の二次沈澱物は単に米に由来するだけでなく, プロテアーゼや類似のアミノ酸パターンを示すグルコアミラーゼ等の諸酵素も関与しているものと推定された。

(5) 紫外外部吸収分析

一般に蛋白質は 275~280 nm, 核酸系物質は 250~260 nm に顕著な吸収を示すことはよく知られているが, N/10 NaOH に溶解させた米酢の二次沈澱物及びそのクロロホルム-メタノール (2:1) 抽出物の 220~320 nm の紫外外部吸収を測定するとどちらも 275 nm 付近に最大吸収を示したことから蛋白質あるいはペプチド関連物質の存在が推定された。また, 250~260 nm にはピークがなく, 核酸系物質の存在は示されなかった。

(Fig. 4)

(6) ゲル透過分析

Fig. 5 に米酢二次沈澱物のゲル透過溶出パターンを示した。ボイド容量付近に小さなピークが認められ, また MW 5 000~50 000 ぐらいにブロードなピークが認められた。したがって, この沈澱物は主に一部の高分子蛋白質と比較的低分子の蛋白質やペプチドあるいはそれらに起因するメイラード反応物から成り立っていることが示唆された。

Fig. 3 Amino acid compositions of protein in the secondary sediment of rice vinegar (A), protein contained in rice (B) and enzyme* (C)

* A protease Amano A was used as an enzyme sample.

Fig. 4 UV absorption curves of secondary sediment of rice vinegar (A) and its extract with a solvent (chloroform : methanol = 2 : 1) (B)

Fig. 5 Gel filtration of secondary sediment of rice vinegar

10 mg of the sample dissolved in N/10 NaOH were applied on a Sephadex G-75 column (2.5 × 55 cm) equilibrated with 0.05 M KH_2PO_4 buffer (pH 7.5) and eluted with the same buffer. Flow rate, 18 ml/h. Absorbance at 280 nm was measured. Elution positions of molecular weight marker substances are shown by the arrows (A, B)

A : Blue dextran B : DNP-L-alanine

2. 沈澱防止試験

沈澱物の分析結果より、主として米及び酵素由来の蛋白質が米酢の二次沈澱発生に強く関与していることが示唆された。そこで蛋白質の除去を主目的として処理剤（多糖類、合成高分子、吸着剤及び蛋白凝集剤）並びに限外汙過処理の検討を行った。

(1) 処理剤使用による二次沈澱防止

供試米酢サンプルに実験方法 1 の (2) 項に記載の処理剤を添加し、室温で 1 時間攪拌後、静置し、上澄液を $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターにて汙過し 150 ml のガラスびんに詰め、75℃ 達温殺菌後実験方法 2 項に示したように 60℃ 恒温水槽に保存して 15 日間沈澱発生経過を観察した。なお、ポリアクリル酸ソーダに関してはあらかじめ 1% 溶液を作成しておき、これを添加した。デキストリンの添加量については特開昭 52-15838²⁵⁾を参考にしたが、その他の処理剤の添加量については食酢への溶解が可能な範囲までとし、かつ添加後の汙過が容易な範囲で変化させた。

試験の結果については Table 3 及び Table 4 に示した。Table 3 においては酸性多糖であるキサンタンガムと CMC 0.05% 添加区のみにも効果がみられたが、カラギーナン、ペクチンではみられなかった。また、中性多糖であるグアーガムも効果がなかった。アルギン酸ソーダでは逆に沈澱形成は早くなった。セルロース、キチン、ナイロン、シリカゲルについては食酢に不溶あるいは難溶であり、食酢中に分散、接触させただけである。また各種 DE を有するデキストリンについても試験を実施したが、前記参考特許²⁵⁾に記載されているような効果は、添加量が少量であったためか、ほとんどみられなかった。ポリアクリル酸ソーダの試験結果についても Table 3 に示したが、Aronbisu GL, SS 及び M をそれぞれ 0.1% 使用した場合に効果が見られた。なお効果の発現機構について詳細は不明だがキサンタンガム、CMC 及びポリアクリル酸ソーダでそれぞれ処理した直後に沈澱あるいは混濁は見られなかったもので、その後の汙過で原因物質を除去したというよりも、むしろ沈澱物の発生を抑制する安定剤的な働きを示したものと思われる。なお、沈澱防止に効果のあったキサンタンガム、CMC 及びポリアクリル酸ソーダはいずれも水可溶性であり食酢中への残留が考えられるので実用化には問題がある。

次に吸着剤及び蛋白凝集剤の二次沈澱防止効果を試験した。ベントナイト、ベンゲル及び酸性白土を用いてまず処理条件 a (70℃ 達温加熱後処理剤添加、自然放冷

Table 3 Effect of natural polysaccharides and synthetic polymers on the prevention of the secondary sediment of rice vinegar

Additives	Days required for the formation of the secondary sediment	The form of the secondary sediment
Control (none)	9~11	flocky
Carrageenan 0.01%	9	flocky
Carrageenan 0.05%	10	flocky
Xanthan gum 0.01%	>15	
Xanthan gum 0.05%	>15	
Guar gum 0.01%	12	flocky
Guar gum 0.05%	12	flocky
Pectin 0.01%	10~11	powdery
Pectin 0.05%	10~11	powdery
Sodium alginate 0.01%	4	flocky
Sodium alginate 0.05%	6	flocky
CMC 0.01%	11	flocky
CMC 0.05%	>15	
Cellulose powder 0.05%	11	flocky
Cellulose powder 0.1%	12	flocky
Chitin 0.1%	11~12	flocky
Chitin 0.2%	12	flocky
Agar 0.05%	8	flocky
Agar 0.1%	8	flocky
6-Nylon powder 0.05%	10	flocky
6-Nylon powder 0.1%	10	flocky
Silica gel 0.05%	11~12	flocky
Silica gel 0.1%	10~11	flocky
Aronbisu GL ¹⁾ 0.05%	11	flocky
Aronbisu GL 0.1%	>15	
Aronbisu GL 0.25%	11	flocky
Aronbisu SS ²⁾ 0.05%	8	flocky
Aronbisu SS 0.1%	>15	
Aronbisu S ³⁾ 0.05%	9	flocky
Aronbisu S 0.1%	10~11	flocky
Aronbisu M ⁴⁾ 0.05%	8	flocky
Aronbisu M 0.1%	>15	

Aronbisu (sodium polyacrylate: Nippon Junyaku).

¹⁾ Viscosity of Aronbisu GL=450-600 cps.

²⁾ Viscosity of Aronbisu SS=400-600 cps.

³⁾ Viscosity of Aronbisu S=400-600 cps.

⁴⁾ Viscosity of Aronbisu M=200-350 cps.

Each vinegar sample with any additive was stirred at room temperature for 30 min, filtrated through a membrane filter (0.45 μ m), heated at 75°C for sterilization and held in a glass bottle (150 ml) at 60°C for 15 days.

Table 4 Effect of bentonite, bengel and acid clay on the prevention of the secondary sediment of rice vinegar

	a		b		c		d		control	
	Treatment temperature									
	70°C (cooled naturally)		70°C (held)		80°C (held)		room temp. (held)		no treatment	
Control (none)	9 ²⁾	floppy ³⁾	9	floppy	9	floppy	9	floppy	9	floppy
Bentonite 0.05%	2	floppy	10	powdery	>15		—		—	
Bentonite 0.5%	1	floppy	5	powdery	10	turbid	0	turbid	—	
Bengel 0.05%	2	floppy	11	powdery	>15		—		—	
Bengel 0.5%	1	floppy	7	powdery	10	turbid	0	turbid	—	
Acid clay 0.05%	2	floppy	10	powdery	10	floppy	—		—	
Acid clay 0.5%	2	floppy	9	powdery	11	turbid	0	turbid	—	

¹⁾ Time for stirring at conditions of a, b, c and d was 30 min. Conditions for sterilization was 75°C in all conditions.

²⁾ Day required for the formation of the secondary sediment.

³⁾ The form of the secondary sediment.

Each vinegar sample with any additive was stirred at each temperature for 30 min, cooled down to room temperature, filtrated through a membrane filter (0.45μm), heated at 75°C and held in a glass bottle (150 ml) at 60°C for 15 days.

で 30 分攪拌) で試験したところ、全ての試験区で 1~2 日間でフロック状の沈澱が発生し、コントロール (無処理) に比べて沈澱発生が促進された。なお、同時に室温で 0.5% 添加で試験 (処理条件 d) したところ 3 処理剤とも殺菌 (75°C 加熱) 直後に混濁を生じた。処理条件 a では殺菌直後に混濁は起こらなかったことから、処理温度の違いが結果に重要な影響を与えたと考えられたので次に処理条件 b (70°C 加熱後吸着剤を添加し、70°C で 30 分攪拌後水冷) で試験した。その結果、3 処理剤とも 0.5% 添加区ではコントロール (無処理) とほとんど差がなく、少なくとも処理条件 a のように沈澱発生が促進されることはなかった。しかしながら、0.5% 添加区では処理条件 a ほどではないが沈澱発生はやや早くなった。処理条件 a 及び b の試験結果より、処理時の加熱条件をもっと過酷にすると沈澱発生が遅れることが予想されたので処理条件 c (処理条件 b の処理温度 70°C を 80°C に変更) の試験を実施した。その結果を Table 4 に示したが、ベントナイト、ベンゲルの 0.05% 添加区において明らかに二次沈澱防止効果がみられた。しかし、0.5% 添加区では混濁状態を呈し過剰な添加系においては悪影響が出ることが示唆された。酸性白土はベントナイト、ベンゲルほどの効果は示さなかった。処理条件 c の試験においてベントナイト及びベンゲルの沈澱防止に

対する有効性が実証されたが、処理条件 a~c の試験から温度が非常に重要であり、また処理剤の添加量 (処理条件 a~c を通じて共通) についても過剰になると沈澱発生が早くなったり、混濁を生じたりすることが判った。加熱のみでも、常温のベントナイト (またはベンゲル) 処理でも効果がないにもかかわらず、高温ベントナイト (またはベンゲル) 処理で効果がみられたことは興味深く、おそらく沈澱に関与する物質 (蛋白質) が加熱により変性を受け、ベントナイト (またはベンゲル) とともに凝集して米酢溶液の系外に除去されたものと推定される。いずれにしてもこの方法は先に述べた CMC などの添加による方法に比較しても、ベントナイトが食酢中に残留することが殆ど無いことからより現実的な方法であり、後述する限外濾過のような特別な設備を必要とするものもないので実際的で優れた方法である。その他には活性炭及びタンニンを試験したが、コントロールと比べて顕著な効果を示すような処理条件を見いだすことは出来なかった。

(2) 限外濾過による二次沈澱防止

旭化成限外濾過システムを用いて限外濾過処理の効果を試験した。分画分子量が 6 000, 13 000, 50 000 の 3 種類のモジュールを使用した。

無処理ではフロック状の二次沈澱が 60°C, 9~10 日間

Table 5 Effect of ultra filtration on the prevention of the secondary sediment of rice vinegar

Cut-off molecular weight	Days required for the formation of the secondary sediment	The form of the secondary sediment
Control (none)	9~10	flocky
50 000	14	flocky
13 000	>15	
6 000	>15	

Each vinegar sample treated by ultra filtration was heated at 75°C for sterilization and held in a glass bottle (150 ml) at 60°C for 15 days.

で発生するのに対し、分画分子量 6 000 及び 13 000 で限外濾過すると 15 日間の試験期間では二次沈澱が発生しなかった。また、分画分子量 50 000 の場合は、沈澱発生日数が 14 日となり、無処理と比べて 4~5 日延長されたにとどまった (Table 5)。この結果、米酢の二次沈澱物質、あるいは二次沈澱に関与する物質のうち、少なくとも分子量 13 000 以上の物質が相当量存在し、これがフロック状の沈澱の発生に関与していると考えられた。従って、分画分子量 13 000 以下の限外濾過膜を用いて限外濾過を実施すれば、米酢の二次沈澱防止に対して有効な手段となりうることが示唆された。

要 約

米酢の二次沈澱物について、主に組成分析を行い、その結果に基づいて二次沈澱発生様式を推察し、その防止法の検討を行った。

(1) 米酢の二次沈澱物の主成分は蛋白質であった。この沈澱物からクロロホルム-メタノール混液により、約 37% の褐変成分が抽出された。その二次沈澱物のアミノ酸組成は、米酢の原料として使用した米の蛋白質特有のパターンと使用した酵素に特有のパターンの中間的なアミノ酸パターンを示したことから、二次沈澱物が単に米に由来するだけでなく酵素蛋白も関与しているものと推定された。

(2) 沈澱防止方法として多糖類、合成高分子、吸着剤及び蛋白凝集剤を検討したところ、キサンタンガム、CMC、ポリアクリル酸ソーダ及び 80°C でのベントナイト処理にその効果がみられた。一方、分画分子量 13 000 の濾過膜を使用した限外濾過装置で濾過した米酢の場合も二次沈澱の発生は防止された。

(3) キサンタンガム、CMC、ポリアクリル酸ソーダは米酢に溶解するので、添加すれば米酢中に残存するこ

とになるが、ベントナイトの使用に関しては米酢にはほとんど溶解しないので米酢中への残留は無視できる。また、この点に関し限外濾過法も有効である。従って、限外濾過法か 80°C でのベントナイト処理法が米酢の二次沈澱防止の最も有効な方法であることが分かった。

文 献

- 1) 山田正一・秋山裕一・清水 敦・藤井竜二・原田雅之：農化, 31, 127 (1957).
- 2) 秋山裕一：農化, 36, 825 (1962).
- 3) 秋山裕一：農化, 36, 830 (1962).
- 4) 堀 一郎・井上信明・松葉 豊：醱酵工学, 35, 333 (1957).
- 5) 堀 一郎・井上信明：醱酵工学, 35, 419 (1957).
- 6) 堀 一郎・井上信明：醱酵工学, 35, 422 (1957).
- 7) 堀 一郎・井上信明：醱酵工学, 36, 4 (1958).
- 8) 堀 一郎・井上信明：醱酵工学, 36, 6 (1958).
- 9) 堀 一郎・井上信明：醱酵工学, 37, 189 (1959).
- 10) 杉田 脩・蔭山公男：醱酵工学, 35, 347 (1957).
- 11) 杉田 脩・水本邦彦・蔭山公男：醱酵工学, 36, 63 (1958).
- 12) 杉田 脩・蔭山公男：醱酵工学, 36, 157 (1958).
- 13) 杉田 脩：醱酵工学, 36, 326 (1958).
- 14) 杉田 脩・蔭山公男：醱酵工学, 36, 331 (1958).
- 15) 杉田 脩：醱酵工学, 36, 536 (1958).
- 16) 杉田 脩・国定則行・蔭山公男：醱酵工学, 37, 162 (1959).
- 17) 山下 勝・大倉鎮夫・河村 稔・土井新次：農化, 41, 417 (1967).
- 18) 田中健次・米山 徹：日特公, 昭 49-92294 (1974).
- 19) 田中健次・米山 徹：日特公, 昭 49-92295 (1974).
- 20) 田中健次：日特公, 昭 50-13598 (1975).
- 21) 日本生化学会：糖質の化学 (下), 生化学実験講座, 4 巻 (東京化学同人, 東京), p. 285 (1976).

-
22) 福井作蔵：還元糖の定量法，生物化学実験法 1
（東京大学出版会，東京），p. 48（1971）.	24) 高橋泰常：化学の領域増刊，34，12（1958）.
23) 福井三郎・谷 喜雄・岸部忠信：醗酵工学，33，
113（1955）.	25) 守屋雅夫：日特公，昭 52-15838（1977）.
（平成 4 年 11 月 13 日受理）
-