

黒酢もろみの機能性成分分析

— 高級脂肪酸及び金属イオン —

鎌田 薩男*・野村 孝文**・橋口 和典***

Analysis of Solid Components of Brewed Vinegar (Kurozu Moromi) — Higher Fatty Acids and Metal Ions —

Satsuo KAMATA, Takafumi NOMURA, and Kazunori HASHIGUCHI

Recently, brewed vinegar such as Kurozu has attracted attention because of a pharmacological effect on the human body. On the other hand, the solid components of brewed vinegar (Kurozu Moromi) containing many amino acid compounds have also been recognized as having positive pharmacological effects on serum cholesterol. In this report, we have investigated an analysis of the higher fatty acids and metal ions which are contained in Kurozu Moromi. It is found that the unsaturated fatty acids (oleic and linoleic acids) are $42\pm 3\%$ of total higher fatty acid contents in Kurozu Moromi, and that the ratio of sodium and potassium in Moromi is 1:2. These results point to the fact that both unsaturated fatty acids and potassium ion work well for the decrease of serum cholesterol and blood pressure respectively.

Key words: Brewed vinegar, Kurozu Moromi, Linoleic acid, Oleic acid, Metal ions, Cholesterol

1 緒言

食生活の欧米化に伴い肥満、高血圧、高脂血症、糖尿病等の生活習慣病が著しく増加している。このような生活習慣病には、血漿中の総コレステロールの増加が顕著に認められ、その予防、治療には食生活の改善が重要とされている。近年特に関心が高まってきている健康食品としての醸造酢、黒酢が注目されているが、これにはコレステロール値の低下や赤血球変形能の改善などに有効であるとされている[1]。一方、黒酢の絞り粕「黒酢もろみ」にも顕著な効果があるとされ、臨床試験に於いて血清コレステロール値の低下、赤血球変形能の改善が多くの例で認められている[2]。しかし、黒酢もろみの成分については殆ど検討されていないが、生理機能の解明には重要であるためその分析化学的検討が望まれている。食品中の不飽和脂肪酸は、コレステロール値を低下させるものとして、特に魚の脂に含まれているEPA（エイコサペンタエン酸C20:5）やDHA（ドコサヘキサエ

ン酸C22:5）などは、動脈硬化の予防に有効であると見て注目されている[3]。

本研究では、黒酢もろみの成分のうち特にコレステロール値や血圧に影響を与える不飽和脂肪酸及び金属イオンに着目し、その成分及び組成の分析化学的検討を目的とした。これらの成果を報告する。

2 実験方法

2-1 黒酢もろみの採取

原料の米を仕込み後、壺の底部に堆積している固形物を採取して液体の黒酢を濾別し、これを24時間110℃のもとで乾燥し、更に微粉碎して試料に供した。もろみ試料には、仕込み後1,3,6,12及び24カ月のものを用いた。試料の水分含量は、 $4.47\pm 0.29\%$ である。

2-2 もろみ試料の脂肪酸抽出及びその分析

もろみ試料0.1gを純水4ml、塩化ナトリウム0.2g及びヘプタデカン酸1mgを含む溶液と混合し、これをジエチルエーテル及びペンタノール(1:1)混合溶液を用いて15分間攪拌抽出する操作を3回繰り返し、さらに抽出液を塩化ナトリウム飽和溶液5mlと15分間攪拌抽出し、遠心分離した。分別した有機相は無水硫酸ナトリウムで脱水後、窒素ガスを流入してゆっくり固化させた。ここ

平成11年5月31日受理

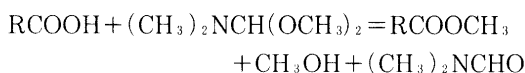
*応用化学工学科

**現在、山口銀行

***坂元醸造(株)研究開発部

で、ヘプタデカン酸はもろみ中に存在しないことを確認し、内部標準物質として抽出操作中に添加している。

脂肪酸の分析は次のように行った。まず、固化した黒酢もろみ約50 mgにメチルエステル化剤、Methyl 8 (ジメチルホルムアミドジメチルアセタール 2 meq/ml を含むピリジン溶液) を1 ml添加して60℃に15分間保温し、次式反応によりエステル化を完了させた。



このエステル化物はエーテルで10倍に希釈し、GC-MSを用いて分析した。GC-MS装置には、Hewlett Packard社製のG1800A GCDシステムを用い、カラムには0.25 mm×60 mのJ&W Science製のDB-WAXを使用した。なお、150~230℃の間は5 cc/minの昇温速度で加温した。

2-3 もろみ中の金属イオンの分析

金属イオン分析試料には、仕込み後12カ月の黒酢もろみ試料を用いて検討した。もろみ乾燥粉末を磁性ろみにつばに取りガスバーナで炭化させた後、550℃の電気炉中24時間放置して灰化させた。これを3.3 Mの塩酸を用いて分解し、湯浴上で加熱乾固させた後、2.4 M塩酸に溶解し蒸留水で希釈して測定溶液とした[4]。ICPによりこの溶液中の8元素(Na, K, Fe, Mg, Ca, Mn, Cu及びP)を同時分析定量した。ICP装置には、日本ジャーレルアッシュ社製のICAP-575を使用した。

3 結果及び考察

3-1 黒酢もろみ中の高級脂肪酸

もろみ中の脂肪酸に対するGC-MS分析によって得られたトータルイオンクロマトグラムの一例をFig.1に示す。図中のピーク3は、内部標準物質として添加したペンタデカン酸のメチルエステルであるが、もろみ中には

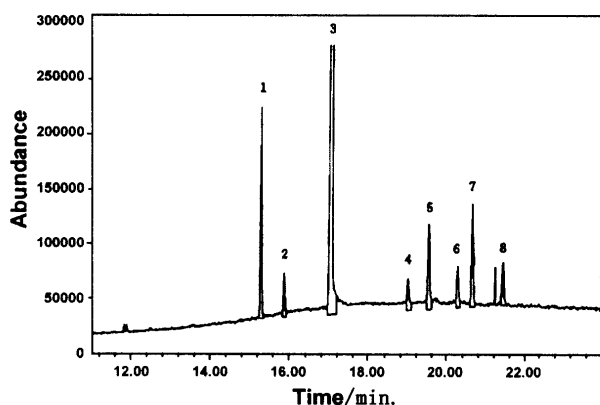


Fig. 1 Total ion chromatogram of GC-MS for the extracted solution of Moromi (12 month stored)

Table 1 Retention time and peak area obtained from total ion chromatogram of GC-MS. for the extracted Moromi solution.

No.	R.T(min.)	Symbol	Common name	Peak area	I.S ratio(%)
1	15.265	C16:0-Me	methyl palmitate	444000	8.320
2	15.855	C16:0-Et	ethyl palmitate	102355	1.918
3	17.035	C17:0-Me	methyl heptadecanoate	5336740	100.000
4	18.987	C18:0-Me	methyl stearate	115065	2.156
5	19.505	C18:1-Me	methyl oleate	266953	5.002
6	20.250	C18:1-Et	ethyl oleate	125165	2.345
7	20.627	C18:2-Me	methyl linoleate	331054	6.203
8	21.434	C18:2-Et	ethyl linoleate	138064	2.587
Total				6859396	128.532

Table 2 Fatty acids and esters in Kurozu Moromi, and their structural formula

Symbol	Structural formula
C16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
C16:0-Et	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOCH}_2\text{CH}_3$
C18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
C18:1(9)	n-9 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
C18:1(9)-Et	n-9 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOCH}_2\text{CH}_3$
C18:1(9,12)	n-6 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
C18:1(9,12)-Et	n-6 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOCH}_2\text{CH}_3$

7種の高級脂肪酸エステルが観測された。ピークの同定は、各ピークのマススペクトルと同じスペクトルを示す物質を、データベースより検索してそれらの一致率及び分子量を検査し、これより予想される脂肪酸のGC-MSを測定し、リテンションタイムの一致を確認して最終的にピークを同定した。Table 1には各エステルのリテンションタイム(R.T), 及びTable 2には検出された脂肪酸及び脂肪酸エステルとその構造を示す。これより黒酢もろみ中には、炭素数16以上の高級脂肪酸として、飽和脂肪酸(パルミチン酸, ステアリン酸), 不飽和脂肪酸(オレイン酸, リノール酸)及び脂肪酸エステル(パルミチン酸エチル, オレイン酸エチル, リノール酸エチル)の7種の成分の存在が確認された。黒酢もろみ中に含まれる脂肪酸の量は、Table 1の内部標準物質(ペンタデカン酸)のピーク面積と各脂肪酸のそれとの比較より、もろみ100 gに含まれる脂肪酸として算出した。この結果を仕込み期間に対する黒酢もろみ中の各脂肪酸含有量の関係をFig.2に示す。

もろみ中に含まれる脂肪酸含有量は、いずれも1カ月より3カ月で低下し、6カ月で上昇、再び12カ月で低下する傾向を示しているが、その後24カ月になると不飽和脂肪酸のリノール酸, オレイン酸及び飽和脂肪酸のパルミチン酸が著しく上昇し他の脂肪酸はほぼ12カ月値に等しく変化していないことがわかる。一方、液体の黒酢に

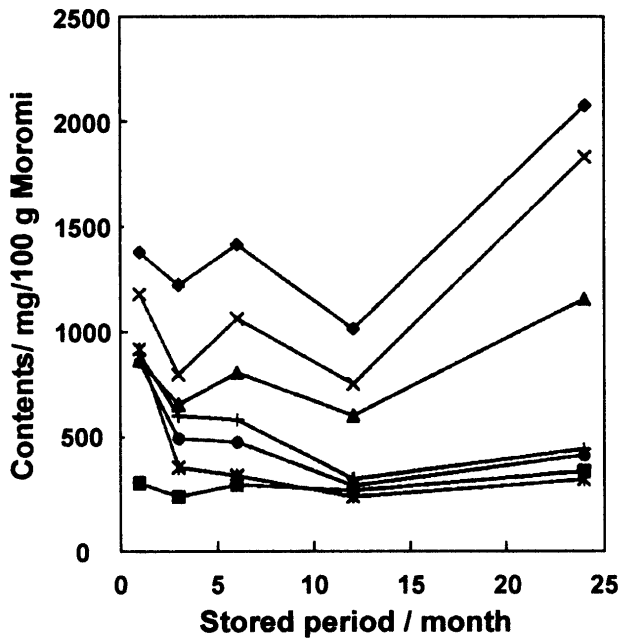


Fig. 2 Acid and ester contents vs. stored period of Moromi
 ◆ : palmitic acid, × : linoleic acid, ▲ : oleic acid,
 ■ : stearic acid, + : ethyl linoleate ● : ethyl oleate,
 * : ethyl palmitate

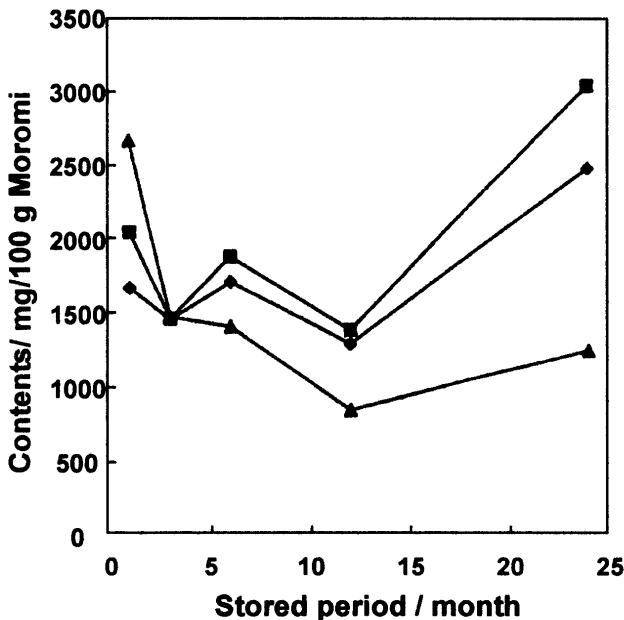


Fig. 3 Total contents of saturated, unsaturated and ester vs. stored period of Moromi.
 ■ : unsaturated, ◆ : saturated ▲ : ester

についても、固形のもろみと同様に脂肪酸分析を試みたが、GC-MSによる高級脂肪酸の存在の確認は困難であった。もろみ中に含まれる各脂肪酸の全高級脂肪酸に対する割合を Fig.3 に示した。仕込み期間が長くなるほど不飽

和脂肪酸及びパルミチン酸が増加している。また血清コレステロール値を低下させる不飽和脂肪酸（リノール酸及びオレイン酸）は、仕込み後1カ月の時点では黒酢もろみ100g中に約2000mgが含まれており、以後仕込み期間と共に徐々に上昇する傾向にあることがわかった。従って、黒酢もろみ中の不飽和脂肪酸は血清コレステロール値の低下に大きく貢献していることが考えられる。液体の黒酢に較べて固形のもろみ中に高級脂肪酸が多量に含まれるのは、次のように考えられる。

黒酢製造のために仕込む原料米の量に対し、生成するもろみの量は、一般に百分の一に減少している。液体の黒酢中に高級脂肪酸の存在は確認されない。さらに、もろみ中の脂肪酸エステルの量が仕込み期間と共に少なくなっている。これらから判断して原料中に存在する高級脂肪酸がもろみ中に濃縮され、また脂肪酸エステルは期間の経過と共に加水分解されることより、不飽和脂肪酸のリノール酸及びオレイン酸が多量形成されたものと考えられる。

3-2 黒酢もろみ中の金属イオン

ICPで測定した黒酢もろみ100g中の金属イオン量(mg)の8元素に対する値を、比較のために測定した黒酢100gあたりのそれと共に Table 3 に示す。表より、黒酢もろみ中の金属イオン量は、液体の黒酢より2~9倍ほど多く、特に鉄、銅イオンについては著しく多量含まれていることがわかる。

血圧の低下には、カリウムイオンが有効であることが知られている[5]。Table 3より明らかなように、黒酢もろみ中のカリウムイオンは液体黒酢の約2倍量の18.82mgが含まれていることが分かる。血圧の降下は、ナトリウムとカリウムイオンの摂取量の比に関係する[6]。すなわちナトリウムが増加すると血圧が上昇するが、カリウムが増加すると血圧は低下する。1日の平均所要量はナトリウムが4g、カリウムが2~4gであることから、ナトリウム：カリウムは1：0.5~1：1が標準とされている。一方「もろみ」中に存在するナトリウム対

Table 3 Metal contents in brewed vinegar (Kurozu) and its solid component (Moromi).

Metal	Contents		B/A
	A: Kurozu (mg/100g kurozu)	B: Kurozu Moromi (mg/100g moromi)	
Na	1.70	8.90	5.24
Fe	0.20	19.88	99.40
K	9.00	18.82	2.09
Mg	3.00	11.81	3.94
Ca	2.00	6.21	3.11
Mn	0.10	0.56	5.60
Cu	0.01	2.52	252.00
P	12.00	115.55	9.63
Total	28.01	184.25	6.58

カリウムの比は1対2で、若干カリウムが多いが、バランスのとれた健康食品として血圧降下に有用であると考えられる。

4 結 言

もろみ中の高級脂肪酸はジエチルエーテル・ペンタン混合溶液に抽出し、メチルエステル化後 GC-MS で分析した。その結果、飽和脂肪酸（パルミチン酸、ステアリン酸）と不飽和脂肪酸（オレイン酸、リノール酸）、及び脂肪酸エチルエステル（パルミチン酸エチル、オレイン酸エチル、リノール酸エチル）の7種の成分が検出され、コレステロール値を低下させる不飽和脂肪酸が黒酢もろみ中に多量に含まれていることがわかった。また、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸は仕込み後、期間の経過と共に増加するのに対し、脂肪酸エチルエステルは加水分解されて減少の傾向にあることがわかった。金属成分は固形の黒酢もろみを灰化させ、塩酸に可溶化して ICP により分析した。今回分析した成分はナトリウム、カリウム、鉄、マグネシウム、カルシウム、マンガン、銅、リンの全8種類であるが、液体の黒酢中の金属と比較して黒酢もろみ中の金属イオン量は一般に2～9倍、特に鉄や銅については多量含まれていることがわかった。血圧

を低下させるカリウムイオンは液体黒酢の約2倍量含まれており、ナトリウム対カリウムの比は1対2でバランスのとれた健康食品として血圧降下に有効であると考えられる。

本研究の一部は、坂元醸造(株)から助成を受けて行なった。研究を推進するにあたり、種々ご配慮頂いた坂元醸造(株)の竹之下益實室長、及び分析にご協力頂いた鹿児島県工業技術センターの安藤浩毅氏に感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 藤野武彦, 有吉恭子, 牧角和宏, 金谷庄蔵, 大倉洋浦, 健康科学, **10**, 85 (1988).
- 2) 藤野武彦, 金谷庄蔵, 有吉恭子, 牧角和宏, 加治良一, 津田泰夫, 大倉洋浦, 健康科学, **12**, 139 (1990).
- 3) 板倉弘重, 松本明世, 辻悦子, メヂカルトリビューン, p.31 (1990).
- 4) 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾浩之, 食品分析ハンドブック, 建水社, p.261 (1991).
- 5) (社)日本化学会編, 化学総説27, 微量金属の生体作用, 学会出版センター, p.3 (1995).
- 6) 厚生省保健医療局編, 日本人の栄養所要量, 健康増進栄養課, p.74 (1989).