

## みそ熟成中の香気成分の変化

菅原悦子\*

## Change in Aroma Components of Miso with Aging

Etsuko SUGAWARA\*

\* Faculty of Education, Iwate University, Ueda, Morioka 020

Aroma concentrates were prepared from rice mold (kome kouji), cooked soybeans and miso at different stage of aging by a method with a porous polymer column. They were analyzed by GC and GC-MS. HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2 H)-furanone) contributing to the sweet aroma of miso was not identified in rice mold, cooked soybeans and miso immediately after miso mash. HEMF was identified in miso aged for 30 days after miso mash, and increased gradually with aging. Maltol and HDMF (4-hydroxy-2, 5-dimethyl-3 (2 H)-furanone) with sweet aroma were identified in cooked soybeans, and did not increase during aging. HEMF was considered to be made by yeast, and maltol and HDMF were considered to be generated by amino-carbonyl reaction in cooked soybeans. The aroma compounds remarkably increased with aging of miso were 4 aliphatic alcohols, 5 aromatics, 5 aliphatic ethyl esters and 3 others (methionol, 5-methyl-2-furfural and HEMF). They were considered to be responsible for the formation of miso-like aroma during aging.

(Received May 9, 1991)

我々はこれまでにみその香気成分について次のようなことを報告してきた。みその香気成分の分離濃縮にはポラスポリマーを用いたカラム濃縮法が最も効果的であった<sup>1)</sup>。そしてこの方法を用いて3種類4点のみその香気成分を分析するとともに官能検査を実施したところ、みそにとって甘い香気は好ましさの重要な要素であり、これには Maltol や HDMF (4-hydroxy-2, 5-dimethyl-3 (2 H)-furanone) が寄与すると考えられた<sup>2)</sup>。しかし、Maltol は試料としたみそに共通して同定され量的な主要成分の一つであって特に好まれたみそに多い成分ではなかった。HDMF も共通して同定され、しかも極めて少量であった。そこで、みその甘い香気成分についてさらに詳細に検討し、みその香気成分として初めて HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2 H)-furanone) を同定した<sup>3)</sup>。HEMF は布村ら<sup>4)</sup>によって本醸造しょうゆ中に初めて同定された化合物である。また、甘いケーキ様の強烈な香りを持ち、濃度によってはしょうゆの芳香を強く感じる、本醸

造しょうゆの特徴香を示す物質の本体とされている。そこで HEMF のみそ香気への寄与を明らかにするために HEMF 含量の少ないみそ懸濁液へ一定量の HEMF を添加し、無添加のものと官能検査を実施して比較した。その結果、HEMF 添加みそ懸濁液が有意にみそ様の香気が強いと評価され、その重要性が明かになった<sup>3)</sup>。

また、HEMF はしょうゆでは酵母によって生産される特殊な化合物であると報告されている<sup>5)</sup>。みそにおいてもみそらしい甘い香気は熟成が進行するとともに増加することから、同様に生産されていると考えられる。そこで本研究では、みその原料となっている米麹や蒸煮大豆及びみそ熟成中の各段階の試料から香気濃縮物を調製し、各香気成分の熟成中の定性的、定量的変化を比較検討した。特に HEMF の熟成期間中の生成や定量的変化に着目し、みそ様の香気成分における HEMF の重要性を明確にしたいと考えた。この時、HEMF と同様に甘いカラメル様の香気を持つ Maltol や HDMF についてもその生成経路を検討し、みそ香気への寄与を

\* 岩手大学教育学部 (〒020 岩手県盛岡市上田 3-18-33)

HEMF と比較した。さらに HEMF の他に熟成期間中に生成し、増加する香気成分もみそ様の香気生成に寄与すると考えられるのであわせて検討した。

## 実験方法

### 1. 試料

仙台みそ（仙台味噌醤油社製）を仕込直後の 1990 年 4 月 3 日から製品となる仕込後 120 日までに、30 日間隔で 5 回採取して試料とした。原料の配合割合は前報<sup>2)</sup>と同じである。また、仕込に用いた蒸煮大豆と米麴も試料とした。なお、各段階のみそについて仙台味噌醤油株式会社研究部が基準味噌分析法に従って一般成分の分析をし、品質を検査した。その結果を Table 1 に示す。

### 2. 香気濃縮物の調製及び香気成分の分離・同定

香気濃縮物は前報<sup>1-3)</sup>と同様に、ポーラスポリマーを用いたカラム濃縮法で調製した。各段階のみそ及び蒸煮大豆、米麴それぞれ 40 g に蒸留水 160 ml 加えて懸濁液とした。これを 5°C、3 000 rpm で 15 分間、遠心分離し、上澄液を得た。これを精製した Tenax GC 0.6 g を充填したガラスカラムに流し、前報どおり処理して香気濃縮物を得た。

得られた香気濃縮物はガスクロマトグラフ (GC)、及び GC に直結したマススペクトロメーター (GC-MS) を用いて分析した。分析条件は前報<sup>3)</sup>と同様である。

## 結果及び考察

### 1. みその甘い香気成分の熟成に伴う変化

みそから検出された甘いカラメル様香気を持つ成分の熟成に伴う定量的な変化を Table 2 に示した。

仕込後 120 日の製品となったみそから検出された甘い香気を持つ成分は Maltol とフラノン化合物の HEMF と HDMF の 3 成分であったが、蒸煮大豆からはさらに HMF が検出された。これら成分の仕込直後から製品になるまでの定量的な変化から Maltol, HMF, HDMF と HEMF ではその生成経路に明かな相違があることが判明した。

Maltol と HMF, HDMF は蒸煮大豆から検出され、その後熟成に伴い量的に増加することはなかった。この結果から Maltol, HMF, HDMF は大豆を蒸煮したときのアミノ-カルボニル反応によって生成し、蒸煮大豆の甘い香気に寄与している成分であると考えられた。また、Maltol は熟成が進むにつれてむしろ減少しており、大豆を蒸煮した際に生成した Maltol が残留しただけであると思われる。

これに対し、HEMF は原料の蒸煮大豆、米麴及び仕込直後には全く検出されなかったが、30 日後には 2.31 ppm まで増加し、60 日後は 2.33 ppm となり、熟成中に生成することは明かであった。HEMF は横塚らによるとしょうゆにおいては酵母の生産物であると報告されている<sup>5)</sup>。みそにおいても HEMF は熟成中に酵母が関与して生産される香気成分であると考えられる。とこ

Table 1 General constituents of Miso

Constituent	0 day	30 days	60 days	90 days	120 days
moisture (%)	44.3	44.7	44.9	44.6	45.0
NaCl (%)	12.8	13.1	13.1	13.2	13.3
T.N. (%)	1.91	1.89	1.92	1.97	1.97
W.S.N. (%)	0.97	1.21	1.27	1.36	1.37
F.N. (%)	0.313	0.452	0.455	0.441	0.447
T.S. (%)	19.7	18.6	16.2	16.2	15.4
R.S. (%)	15.9	15.0	13.7	14.0	14.0
Alcohol (mg/100 g)	104	339	460	569	443
Acid I (ml)	6.0	9.2	11.4	12.7	13.6
Acid II (ml)	7.9	10.2	11.1	12.4	13.1
PH	5.45	5.26	5.16	5.01	4.96

T.N.: Total nitrogen, W.S.N.: Water soluble nitrogen, F.N.: Formol nitrogen, T.S.: Total Sugar, R.S.: Reducing sugar

Table 2 Change of sweet caramel-like aroma compounds during aging of Miso\*

compound	rice mold	cooked soybean	0 day	30 days	60 days	90 days	120 days
maltol	—	2.98	1.43	0.78	0.58	0.65	0.24
HMF	—	0.01	—	—	—	—	—
HDMF	—	0.03	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
HEMF	—	—	—	2.31	2.33	1.84	0.81

\* : ppm in rice mold, cooked soybean and miso, respectively

HMF : 4-hydroxy-5-methyl-3 (2 H)-furanone

HDMF : 4-hydroxy-2, 5-dimethyl-3 (2 H)-furanone

HEMF : 4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2 H)-furanone

tr. : trace

ろで HEMF は 60 日後をピークに 90 日後には 1.84 ppm になり、120 日後には、0.81 ppm とかなり減少した。Table 1 に示したようにみその一般成分の分析結果から、120 日後のみそはすでに熟成が進みすぎていることがわかる。そのために 120 日後には HEMF 量が著しく減少したのではないかと推測される。今後 HEMF の生産量と酵母の菌数などについてさらに詳細に検討し、HEMF の酵母による生成経路を解明したいと考えている。

以上、Maltol と HEMF のみそ中の含量のレベルは同程度であるが、Maltol は蒸煮大豆由来の成分であり、HEMF は酵母により生成され、生成経路は全く異なっていると考えられる。また、10.1 ppm に調製した HEMF の水溶液を Tenax GC を用いたカラム濃縮法を用い、試料と同様の条件で処理して HEMF の回収率を求めたところ、9.8% であった<sup>9)</sup>ので、HEMF は 120 日後のかなり減少した段階でも実際には約 8.3 ppm 存在していることになる。HEMF の閾値は 0.04 ppb 以下と報告されている<sup>9)</sup>ことを考え併せるとみその香りへの寄与はこの段階でも極めて高いと考えられる。このように閾値や、含量、生成経路から HEMF のみその香りへの寄与は非常に高く、熟成中のみそ様の香り生成に重要な役割を持つと考えられた。

## 2. 熟成期間に増加したみその香り成分

HEMF に加えて、熟成中のみそ様の香り生成に関与する成分を明らかにするため、米麴、蒸煮大豆及び仕込み直後には検出されなかったが製品になるまでの期間に定量的に増加傾向の見られた香り成分と米麴、蒸煮大豆及び仕込直後にも検出されたがその後の増加が著しい香り成分を整理して Table 3 に示した。

Table 3 に示されたように熟成期間中に増加を示す

多くの香り成分は仕込後 30 日ですでに検出され、その後 90 日までは増加傾向があった。しかし、120 日後には減少する成分も多くみられた。このみその熟成過程は Table 1 に示した一般成分の分析の結果から、90 日後の発酵状態が最も良く、120 日後では発酵がおわり、良い状態とは言えないという経過であった。個々の香り成分の量は多少のずれがあるものの全体としてそれと同様に変化していることが判明した。よってこれらの香り成分は酵母の増殖が活発になると一斉に生成し始め、その後徐々に増加したが、発酵が終わり減少する成分もあったと考えられる。

熟成中に生成し、増加した香り成分は脂肪族アルコール類 4 種、芳香族化合物 5 種、脂肪酸のエチルエステル 5 種、その他の化合物として Methionol, 5-Methyl-2-furfural, HEMF であった。脂肪族アルコールでは 1-Butanol, 2-Methyl-1-propanol, 2-Methyl-1-butanol, 3-Methyl-1-butanol の 4 成分に増加がみられた。これらは醸造食品に共通する発酵生産成分である<sup>7)</sup>。安平は 1-Butanol の量が多いほどみその官能検査の結果も良かった<sup>8)</sup>と報告しており、1-Butanol を初めとするこれらの成分はみそ様の香りの生成に寄与していると考えられる。

芳香族化合物で特に増加が著しかった成分はバラ様の芳香を呈する成分としてよく知られている 2-Phenyl-1-ethanol であった。この成分は米麴、蒸煮大豆でも検出され、また多くの醸造食品においても発酵過程で酵母により生産され、増加することが知られている。次に増加が著しかった成分は 2, 6-Dimethoxyphenol であった。この成分はしょうゆの特香成分の一つとされていたが、これまでにみそに検出されていなかった。この成分は蒸煮大豆においても検出されたが、仕込後 90 日

Table 3 Aroma compounds increasing remarkably with aging of Miso\*

Compound	rice mold	cooked soybean	0 day	30 days	60 days	90 days	120 days
Aliphatic alcohols							
1-butanol	—	—	—	0.22	0.18	0.36	0.17
2-methyl-1-propanol	—	—	—	0.24	0.24	0.58	0.23
2-methyl-1-butanol	—	—	0.22	0.77	0.95	2.86	2.09
3-methyl-1-butanol	—	—	1.09	2.37	2.62	6.99	4.76
Aromatic compounds							
2-phenyl-1-ethanol	0.02	0.02	0.37	2.29	4.53	8.18	6.62
2, 6-dimethoxyphenol	—	0.15	0.02	0.18	0.26	0.31	0.17
ethyl benzoate	—	—	—	0.01	0.03	0.15	0.10
2-phenylethyl acetate	—	—	—	—	0.03	0.05	0.06
2-phenyl-2-butenal	—	—	—	—	—	0.04	0.04
Aliphatic ethyl ester							
hexadecanoate	0.71	—	0.16	1.21	3.28	2.31	1.02
octadecanoate	—	—	—	0.11	0.48	0.23	0.19
(Z)-9-octadecanoate	1.73	—	0.15	3.63	5.16	2.70	1.36
(Z, Z)-9, 12-octadecadienoate	1.13	—	0.30	2.61	6.77	4.37	1.98
(Z, Z, Z)-9, 12, 15-octadecatrienoate	—	—	—	0.09	0.49	0.38	0.16
Others							
methionol	—	—	—	0.25	0.17	0.34	0.19
5-methyl-2-furfural	—	—	—	—	—	0.10	0.03
2-ethoxythiazol**	—	—	—	—	—	0.03	0.03
HEMF	—	—	—	2.31	2.33	1.84	0.81

\* : ppm in rice mold, cooked soybean and miso, respectively

\*\* : tentatively identified

までには蒸煮大豆での含量を超え、0.31 ppm に達し、熟成とともに増加していた。よってみその香気にも寄与し、しょうゆと共通する香気成分であると考えられる。しかし、しょうゆの特徴香のひとつとされ、同じフェノール化合物である 4-Ethylguaiaicol と 4-Ethylphenol はどの段階からも検出することができなかった。これら 2 成分はしょうゆ醸造中に *Torula* 族の酵母によりそれぞれフェルラ酸とクマリン酸より生じることが確かめられており<sup>9)</sup>、これら成分の存在の有無がみそとしょうゆの香気の相違の一つではないかと推定される。そのほかに Ethyl benzoate, 2-Phenylethyl acetate の 2 種のエステルと 2-Phenyl-2-butenal に増加がみられた。前者の 2 成分はいずれも果実または花様の香気を有しており、みその香気に寄与する化合物であると考えられる。2-Phenyl-2-butenal は米糠より検出されている<sup>10)</sup>が、

みそにおいては特に熟成の後期に生成することから後熟香になんらかの寄与があるものと考えられる。

脂肪酸エチルエステルでは Table 3 に示した 5 成分の増加が著しかった。これらの化合物は他に比べても含量が非常に高く、Ethyl (Z, Z)-9, 12-octadecadienoate は 60 日後には 6.77 ppm にまで達した。みそには大豆由来の脂質の含量が高く、これら成分は高級脂肪酸と発酵によって生成したエチルアルコールから生成する。高級脂肪酸のエチルエステルはこれ自体は特徴的な強い香気を持たないが、エステルに共通する芳香を持っており、他の香気の保留や引き立て等に役立つ重要な成分であると考えられる<sup>11)</sup>。一般にエステルは主に酵母により生産され、菌種によりエステルの生産量や組成は異なり、酵母の増殖、発酵とエステル生成は並行し、発酵が終わると減少することがあると報告されている<sup>12)</sup>。み

そにおいても同様の傾向を示し、酵母の増殖が活発であった60日から90日後までは生産量が増し、その後徐々に減少したものと考えられる。

その他の化合物では、Methionol が仕込後30日に検出され、その後90日まで増加した。Methionol はやや香ばしくしょうゆ様の香りを持ち、しょうゆの特徴香の一つであり、しょうゆでは酵母によりメチオニンから生じると報告されている<sup>9)</sup>。Methionol も HEMF と同様、みその熟成中に生成され、しょうゆと共通して存在する成分であり、みその香気への寄与も高いと考えられる。

### 要 約

みその甘い香気に寄与する重要な香気成分である HEMF の熟成期間中の生成や定量的な変化を他の甘いカラメル様の香気を持つ成分の変化と比較検討して HEMF のみそ香気における重要性を一層明確にし、さらに熟成期間中に増加する他の香気成分についても併せて検討してみそ様の香気生成に関与する成分を明らかにしたいと考えた。そこでみその原料となる米麴と蒸煮大豆及び仕込直後から製品のみそとなる120日後までに30日間隔で5回採取した試料からポーラスポリマーを用いたカラム濃縮法で香気濃縮物を調製し、GC および GC-MS 分析をして検討した。

(1) HEMF は蒸煮大豆、米麴及び仕込直後には全く検出されなかったが、30日後には2.31 ppm になり、熟成中に生成することが確認された。よって HEMF はしょうゆ同様酵母により生産され、みそ様の香気生成に重要な役割を持つと推定された。

(2) みそから検出されている他の甘い香気成分である Maltol と HDMF は蒸煮大豆から同定され、熟成中に増加が見られなかったことから、大豆を蒸煮した時のアミノカルボニル反応により生成したと考えられた。

(3) 熟成中に生成し、増加した HEMF 以外の香気成分は脂肪族アルコール4種、芳香族化合物5種、高級脂肪酸のエチルエステル5種と Methionol, 5-Methyl-2-furfural であった。これらの成分も熟成中のみそ様の香気生成に関与していると考えられた。

終わりに臨み、本研究は文部省科学研究費によったことを記し、謝意を表します。また、試料を御提供下さいますとともにみその一般成分の分析をして下さいました仙台味噌醤油株式会社にお礼申しあげます。本研究を行うに当たり御指導御助言を賜りましたお茶の水女子大学小林彰夫先生、岩手大学伊東哲雄先生、櫻井米吉先生に心から感謝いたします。

### 文 献

- 1) 菅原悦子・伊東哲雄・小田切 敏・久保田紀久枝・小林彰夫：農化，64，171 (1990)。
- 2) 菅原悦子：家政誌投稿中。
- 3) 菅原悦子：日食工誌，38，491 (1991)。
- 4) NUNOMURA, N., SASAKI, M., ASAO, Y. and YOKOTUKA, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 40, 491 (1976)。
- 5) 横塚 保・佐々木正興・布村伸武・浅尾保夫：醸協，75，516，717 (1980)。
- 6) RE, L., MAURER, B. and OHLOFF, G.: *Helv. Chim. Acta.*, 56, 1883 (1973)。
- 7) 吉沢 淑：醸協，61，481，485 (1966)。
- 8) 安平仁美：醸協，75，506 (1980)。
- 9) 浅尾保夫・逆井利夫・横塚 保：農化，41，434 (1967)。
- 10) TUGITA, T., KURATA, T. and FUJIMAKI, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 42, 643 (1978)。
- 11) 吉沢 淑：醸協，61，824 (1966)。
- 12) 吉沢 淑：醸協，61，629 (1966)。

(平成3年5月9日受理)