

みその香気成分と官能評価の解析

菅原悦子*・雑賀 優**・小林彰夫***

Relationships between Aroma Components and Sensory Evaluation of Miso

Etsuko SUGAWARA*, Suguru SAIGA** and Akio KOBAYASHI***

* Faculty of Education, Iwate University, 3-18-33,
Ueda, Morioka-shi, Iwate 020

** Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8,
Ueda, Morioka-shi, Iwate 020

*** Laboratory of Food Chemistry, Ochanomizu University,
2-1-1, Ohtsuka, Bunkyo-ku, Tokyo 112

Aroma concentrates were prepared by absorbing aroma compounds to porous polymer and eluting them with ether from 48 kinds of rice miso which were exhibited at the 32nd National Miso Competition. Aroma concentrates were analyzed by gas chromatography (GC) and GC-mass spectrometry (MS), and concentrations of the selected 92 peaks were used as variables for statistical analyses. These rice miso were evaluated and classified to three classes by sensory test. The compound having the highest correlation coefficient between the variables and sensory scores was HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl 3 (2H)-furanone). By the stepwise discriminant analysis of 46 major peaks, HEMF was also selected by step 1 and evaluated as the most contributing compound. From these results, HEMF was considered to contribute remarkably to sensory evaluation and classification. Fourteen peaks were selected by the stepwise discriminant analysis. The 14 peaks variables were able to explain on 76% of the total variation. Using the 14 peaks variables, all rice miso were classified correctly into three classes by canonical discriminant analysis.

(Received Apr. 13, 1992)

みその香気成分については従来多くの報告^{1)~3)}があるが、それらの研究は蒸留による抽出方法であったため香気の変化が大きく、みその香気の解明は遅れていた。我々はみその水抽出物をポーラスポリマーを充填したカラムに通し、その後、脱着して濃縮することにより、みその香気により近い香気濃縮物が回収されることをみいだし⁴⁾、この方法を用いてみその主要香気成分と考えられる、HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2H)-furanone) を新たに同定した⁵⁾。さら

にみそ熟成中の香気成分の変化を検討して、HEMF はみそ熟成中に酵母の関与によって形成されることも明らかにした⁶⁾。

一方、みそには多くの種類があり、香気特性も多岐にわたっている。本研究では多種類の米みそを対象とし、ポーラスポリマーを用いて香気濃縮物を調製し、これのガスクロマトグラフ分析を行った。この分析結果と官能評価との関係について、しょうゆ⁷⁾⁸⁾やコーヒー⁹⁾¹⁰⁾などの香気の解析に導入されてよい結果が得られている統

* 岩手大学教育学部 (〒020 盛岡市上田 3-18-33)

** 岩手大学農学部 (〒020 盛岡市上田 3-18-8)

*** お茶の水女子大学家政学部 (〒112 東京都文京区大塚 2-1-1)

計的手法を用いて検討することとした。そして米みその官能評価に強く関与する香気成分や米みそがランクわけされる時に重要な役割を持つ香気成分を明らかにすることを主目的に研究を行った。

実験方法

1. 試料

実験試料は第32回全国味噌鑑評会(1989年, 11月)に出品された米(から口粒)みそ48種を中央味噌研究所から提供いただいた。出品されたみそは色, 香り, 味, 組成, 総合評価について全国味噌鑑評会で従来から行われている格付け法で審査されている。即ち, 上位の品質のものを1, 中位を2, 劣っているものを3とし, 出品されたみそ一つ一つについて, 12名(または10名)の審査員の評価点数がつけられた。12名の審査員で審査された区分は一番よい点と悪い点が1個ずつ削除されて集計され, 評価点数とされた。また, 審査員の総合評価点数については10~12点を秀, 13~18点を優, 19~26点を良, 27~30点を可としてクラス分けを行う。ただし, 第32回鑑評会では総合評価で可とされたみそは全くなかった¹⁾。統計処理にはこのようにして評価された項目の中から, 香りの点数を用いた。また, 総合評価のクラスわけにならって香りについても評価点数を3段階にわけ, 10~12点の評価の高いみそをクラス1, 13~18点の中位をクラス2, 19~26点の評価の低いみそをクラス3とした。そして, 各クラスから平均的な点数のみそを15~17点ずつ抽出し, あわせて48点を試料として用いることとした。Table 1に各クラスの試料数, 評価点数の平均点を示した。

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^{4)~6)}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。即ち, 48種の米みそ, それぞれ40gに蒸留水60mlを加え懸濁液とした。これを5℃, 3000rpmで15分間遠心分離し, 上澄液を得

Table 1 The average scores of each class by sensory test

Class	n	Score ^{b)}
1	17	11.4 ± 0.71
2	15	17.0 ± 0.00
3	16	22.8 ± 1.11
All	48	17.0 ± 4.83

^{b)} : 10 (best)~30 (worst)

た。これを精製した Tenax GC 0.6g を充填したガラスカラムに流し, 前報^{4)~6)}どおり処理して香気濃縮物を得た。同種のみそについて3回同様の実験を繰り返して行った。

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。内部標準物質として *n*-decyl alcohol を用い, その他の分析条件は前報^{4)~6)}と同様である。

3. 統計的手法

各香気成分の含有量は内部標準法によってみその生重量に対する ppm で計算した。この値と香りの官能評価点数との相関を求めた。さらに, クラス1と2, クラス1と3, クラス2と3において各香気成分の含有量についても検定を行い, それぞれで有意差のある香気成分を検索した。また, クラス1, 2, 3に分類し, 識別するために有効に働いている香気成分を検索するために, 逐次変数選択法による判別分析を行った。さらにこの時, 選択された変数を用いて正準判別分析を行った。なお, これらの統計処理はすべて SAS 統計パッケージを用いて行われた。

実験結果及び考察

1. 各香気成分と官能評価の相関

米みそから得られた香気濃縮物の一般的なガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。ほとんどのみそから92のピークが検出された。その中で同定あるいは推定された成分は Fig. 1 の下に記載した。これら92種の香気成分の含有量と香りの官能評価点数の相関を求めた。Table 2 に, 1%以下の危険率で有意に相関の高かった香気成分と, その香気成分の全体と3クラスの平均含有量を示した。

最も官能評価の点数と相関係数の高かった香気成分は HEMF (4-Hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2H)-furanone) であった。先の研究⁵⁾において, HEMF はその含量の少ないみそ懸濁液へ添加されることによってみそ様の香気を強める効果のあることが確認されている。HEMF 含量と官能評価の高い相関はこの結果を支持することになり, 米みその香気にとって HEMF は極めて重要な成分であることが明らかとなった。

この他に相関の高かった成分は Methionol, 2-Phenyl-2-butenal, 2-Phenyl-1-ethanol, 1-Butanol, Ethyl (Z, Z)-9,12-octadecadienoate, 2-Phenylethyl acetate とピーク16であった。ピーク16は成分名は不

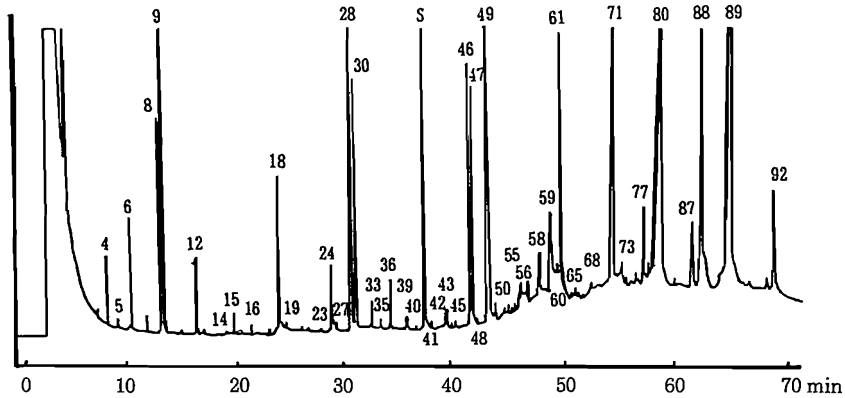


Fig. 1 A gas chromatogram of the aroma concentrate of miso

1: ethanol, 4: 2-methyl-1-propanol, 6: 1-butanol, 8: 2-methyl-1-butanol, 9: 3-methyl-1-butanol, 12: 3-hydroxy-2-butanone, 15: 1-hexanol, 18: 1-octen-3-ol, 19: acetic acid, 24: L-2,3-butandiol, 27: 5-methyl-2-furfural, 28: meso-2,3-butandiol, 33: phenylacetaldehyde, 35: ethyl benzoate, 36: 2-ethoxythiazole*, 39: methionol, 42: 2-phenylethyl acetate, 47: benzyl alcohol, 49: 2-phenyl-1-ethanol, 50: 2-phenyl-2-butenal, 55: acetylpyrrole, 56: maltol, 61: HEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2H)-furanone), 65: methyl hexadecanoate, 68: 2-methoxy-4-vinylphenol, 71: ethyl hexadecanoate, 80: decanoic acid*, 87: ethyl octadecanoate, 88: ethyl (Z)-9-octadecenoate, 89: ethyl (Z, Z)-9, 12-octadecadienoate, 92: ethyl (Z, Z, Z)-9, 12, 15-octadecatrienoate, S: internal standard.

*: tentatively identified.

Column: 0.25 mm × 30 m, fused silica capillary column, DB-WAX.

Column Temp.: 40°C hold for 5 min., 40°C to 200°C at a rate 3°C/min

Table 2 The correlations between sensory score and concentrations of each volatile compound in miso

Peak No.	Corr. ¹⁾	Compound	Mean concentration ²⁾			
			Grand Mean	Class 1	Class 2	Class 3
61	-0.59**	HEMF	1.88	2.49 ± 1.07	2.43 ± 1.17	0.72 ± 0.70
39	-0.51**	methionol	0.12	0.15 ± 0.07	0.15 ± 0.06	0.07 ± 0.05
50	-0.45**	2-phenyl-2-butenal	0.05	0.08 ± 0.05	0.04 ± 0.03	0.04 ± 0.03
49	-0.44**	2-phenyl-1-ethanol	4.67	5.89 ± 3.15	5.87 ± 4.15	2.25 ± 2.08
6	-0.42**	1-butanol	0.29	0.37 ± 0.23	0.39 ± 0.32	0.11 ± 0.14
16	-0.39**		0.04	0.06 ± 0.07	0.04 ± 0.03	0.02 ± 0.03
89	-0.38**	ethyl (Z, Z)-9, 12-octadecadienoate	22.13	37.12 ± 41.21	20.39 ± 24.55	7.84 ± 11.44
42	-0.37**	2-phenylethyl acetate	0.04	0.06 ± 0.05	0.05 ± 0.03	0.02 ± 0.02

¹⁾: correlation, ** : p < 0.01

²⁾: ppm in miso

明であるが、これ以外の成分は先の研究⁶⁾で、みそ熟成中に生成されてくることが確認されている。従って統計的データからみそ香気の官能評価に深く関与するとされた成分と熟成中に生成し、みそ様の香気生成に関与している成分はほぼ一致することが判明した。

2. クラスわけへの香気成分の影響

クラス1と2, クラス1と3, クラス2と3の違いに影響を与える香気成分を明らかにするためにそれぞれの群でt検定を行い、有意差のある成分を検索してTable 3に示した。クラス1と2の群間に有意差が認められた成分は5%以下の危険率でも2-Phenyl-2-butenalのみであった。この成分はみそにおいては特に熟成の後期に生成することが確認されており⁶⁾, クラス1と2は熟成の後期にその差が現れることもあると推察された。クラス2と3では1%以下の危険率でHEMF, Methionol, 1-Butanol, 2-Phenyl-1-ethanolとピーク40で有意差が認められた。ピーク40は成分名は不明であるが、HEMF, Methionol, 1-Butanol, 2-Phenyl-1-ethanolの成分は官能評価との相関も高く、みその香気の評価に大きな影響があると推定される。クラス1とクラス3では、クラス2と3の群間に有意差が認められたHEMF, Methionol, 2-Phenyl-ethanol, 1-Butanol

に加えて, Ethyl hexadecanoate, L-2, 3-Butandiol, の各成分でも有意差が認められた。以上のことから、クラス1と2を構成している各香気成分の濃度の差に比較して、クラス2と3を構成している香気成分の濃度の差が大きいことが示唆された。

3. 判別分析によるクラスわけと香気成分の解析

48種のみそについて、クラス1, 2, 3への判別分析を行うために、みその香気成分として検出された92ピークから再現性や含有量、香気の質等を考慮して46ピークを選択した。Fig. 1においてピークナンバーが明示されたピークが、選択された46成分である。この46ピークのそれぞれの濃度を変数とし、逐次変数選択法による判別分析を行い、クラス1, 2, 3を識別するのに有効なピークを検討し、結果をTable 4に示した。これによるとステップ1で選択されたピークはHEMFで、F値も他の成分に比較して高く、HEMFはクラス1, 2, 3の識別には最も有効な成分であることが判明した。ステップ2ではmeso-2,3-Butandiol, ステップ3では2-Phenyl-2-butenalがそれぞれ選択された。また、ASCCは判別空間の方向すべてまたはほとんどが二つ以上のグループに明確に分かれていることを示していれば、1に近づく。この値がHEMFでは0.21であり、HEMFのみで全変動の21%が説明できることになり、この点からもHEMFのクラスわけへの寄与は高いといえる。

一方、3群の分類にはできるだけ少数の成分で、しかもできるだけ誤判別のないことが期待される。そこでASCCを求めたところ、Table 4に示したように、ステップ14では0.76, ステップ20では0.85になった。これはそれぞれ全変動の76%, 85%を説明していることを示している。さらに、見かけの適中率を求めたところ、Table 4に示した14成分ですでに100%に達していた。13成分では見かけの適中率は97.9%となるため、変数の選択はステップ14で終了することにした。

次に逐次変数選択法による判別分析で選択された14成分を用いて正準判別分析を行った。各ピークの正準判別係数をTable 5に示した。標準化された正準判別係数から、第1正準判別係数ではピーク58, ピーク61, ピーク48, ピーク28が、第2ではピーク43, ピーク49, ピーク40が大きく関与していることが示された。もう一つの正準判別係数は素データをそのまま用いて判別を行うための係数で、濃度の低いピークの係数が小さい傾向になっている。また、この時の固有値、正準相関

Table 3 The peaks which showed the significant difference between classes by t test

Class	Peak	Compound	t ¹⁾
1=2	50	2-phenyl-2-butenal	2.42*
2=3	61	HEMF	4.95**
	39	methionol	3.77**
	6	1-butanol	3.11**
	49	2-phenyl-1-ethanol	3.05**
	40		2.78**
1=3	61	HEMF	5.73**
	39	methionol	3.98**
	49	2-phenyl-1-ethanol	3.90**
	6	1-butanol	3.86**
	71	ethyl hexadecanoate	3.31**
	24	L-2, 3-butandiol	3.08**
	50	2-phenyl-2-butenal	2.99**
	59		2.87**

¹⁾ *: P<0.05, **: P<0.01

Table 4 The peaks selected by the stepwise discriminant analysis¹⁾

Step	Peak	Compound	R ²	F	ASCC ²⁾
1	61	HEMF	0.43	16.62	0.21
2	28	meso-2, 3-butandiol	0.17	4.40	0.26
3	50	2-phenyl-2-butenal	0.16	4.14	0.34
4	40		0.19	4.95	0.42
5	8	2-methyl-1-butanol	0.13	2.93	0.45
6	80		0.18	4.33	0.49
7	43		0.14	3.11	0.53
8	48		0.14	3.13	0.56
9	89	ethyl (Z, Z)-9, 12-octadecadienoate	0.15	3.19	0.61
10	49	2-phenyl-1-ethanol	0.24	5.74	0.66
11	58		0.19	4.03	0.69
12	56	maltol	0.20	4.24	0.72
13	41		0.20	4.10	0.74
14	68	2-methoxy-4-vinyl-phenol	0.17	3.15	0.76

¹⁾ : Maximum step was designated at 14²⁾ : Average squared canonical correlation

Table 5 Standardized and raw canonical coefficients

Step	Peak	standardized		raw	
		Can 1	Can 2	Can 1	Can 2
1	61	1.15	0.34	0.91	0.27
2	28	1.03	-0.15	0.70	-0.10
3	50	-0.42	0.66	-9.99	15.58
4	40	0.17	-1.13	10.37	-67.82
5	8	-0.66	-0.54	-1.37	-1.12
6	80	-0.81	-0.02	-0.38	-0.01
7	43	0.43	-1.23	9.99	-28.49
8	48	-1.07	0.45	-26.69	11.31
9	89	-0.69	0.87	-0.02	0.03
10	49	0.60	1.21	0.17	0.34
11	58	1.30	0.11	5.41	0.45
12	56	0.94	-0.43	1.45	-0.67
13	41	-0.81	0.01	-33.07	0.16
14	68	0.49	-0.35	1.53	-1.07

Can 1 : first canonical coefficient

Can 2 : second canonical coefficient

係数等を Table 6 に示した。これによると第 1 固有値の寄与率は 72%，第 2 固有値は 28% であった。正準判別変量の有意性を WINKS' Lambda, PILLAI's Trace, HOTELLING-LAWLEY Trace, および ROY's Greatest Root の 4 個の多変量統計量を用いて検定した結果、す

べてが有意となり、判別分析が有効であったことが示された。さらに、各クラスのマハラノビス距離を計算したところ、Table 7 に示したように 3 群は有意に離れていることが判明した。

各群間の差異を視覚的に解釈するためにここで計算さ

Table 6 Eigen values, contribution and canonical correlations

	Can 1	Can 2
Eigen value	5.54	2.13
Contribution (proportion)	0.72	0.28
Canonical correlation	0.92	0.83

Table 7 Mahalanobis Distances

Class	Distance	F ^D
1:2	3.86	5.32**
1:3	4.87	7.49**
2:3	6.14	13.31**

^D** : p < 0.01

れた正準判別係数を用いて2次元平面にプロットし、Fig. 2 に示した。これからも3群が明らかに識別されていることがわかる。さらに、Fig. 2 からクラス1、2と3は第1正準判別係数のみで識別できるがクラス1、2、3を識別するには第1正準判別係数と第2正準判別係数の両方を用いなければならないことが示唆されている。また、マハラノビス距離もクラス1と2(3.86)に比較して、1と3(4.87)及び2と3(6.14)は離れており、クラス1と2の香気成分の濃度の違いに比較して、クラス1とクラス3、およびクラス2とクラス3の香気成分の濃度の違いが大きいことを示していると考えられる。また、クラス1と3の距離をクラス2と3の距離よりも近づけた成分は、香気の質の点では審査員の判断に影響を与えていないのではないかと推論される。このような結果は香気成分の濃度をもとにした判別分析で解析したためと考えられるが、詳細については不明である。

以上の結果から、クラス1、2、3の3群は逐次変数選択法による判別分析で選択された14成分を用い、正準判別分析を行い、得られた正準判別係数を用いることによって識別できると推定された。また、クラス1と2を構成している各香気成分の濃度の違いに比較して、クラス1とクラス3、およびクラス2とクラス3の香気成分の濃度の違いが大きいのではないかと考えられた。

要 約

全国味噌鑑評会において、審査員により香りについて官能評価され、これをもとに3段階にランク分けされた

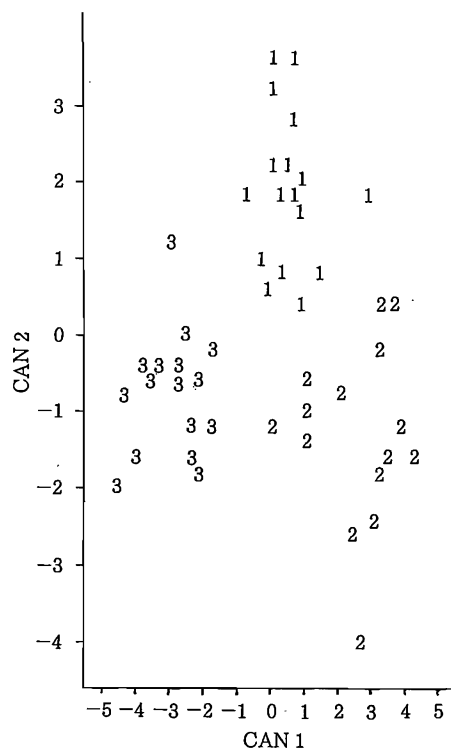


Fig. 2 The canonical plot of miso samples
Canonical variables were computed from the 14 peaks selected in the stepwise discriminant analysis.

多種類の米みそを試料とし、ポーラスポリマーを用いて香気濃縮物を調製した。この香気濃縮物のGC分析によって検出された92成分の含有量と官能評価の関係について統計的解析を行い、官能評価に深く関与する香気成分や米みそがクラス分けされる時に重要な役割を持つ香気成分の特定を主目的に検討した。

(1) 官能評価の点数と最も相関が高かった香気成分はHEMFであり、米みそにとって重要な香気成分であることが明らかとなった。またHEMFをはじめとして有意に相関の高かった香気成分はほとんどが先の研究でみそ熟成中に生成することが確認された成分であった。

(2) クラス分けに関与する香気成分をt検定で検討したところ、有意差のある香気成分はクラス1と2では5%以下の危険率でも2-Phenyl-2-butenalのみであったが、クラス2と3では1%以下の危険率で5種存在した。

(3) 含有量の高かった46成分を用いて、クラスわけ

に有効なピークを逐次変数選択法による判別分析を行い、検討した。この時、ステップ 1 で選択されたピークは HEMF で、3 種の識別には最も有効な成分であることが判明した。また、ステップ 2 では meso-2, 3-butanediol がステップ 3 では 2-phenyl-2-butenal が選択された。また、この方法で選択された 14 成分で全変動の 76% が説明できることが判明した。

(4) 逐次変数選択法による判別分析で選択された 14 成分を用いて正準判別分析を行い、各成分の正準判別係数を求め、正準判別変量の有意性を検定した結果、有意となり、判別分析が有効であったことが示された。

(5) t 検定や正準判別分析などの結果からクラス 1, 2 を構成している各香気成分の濃度の違いに比較して、これらとクラス 3 の香気成分の濃度の違いが大きいと考えられた。

終わりに臨み、本研究の一部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、試料をご提供下さいますとともに貴重なご助言を下さいました中央味噌研究所長海老根英雄先生にお礼申し上げます。また、本研究を行うにあたりご指導ご助言を賜りました岩手

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) 本間伸夫・渋谷歌子・石原和夫・岡田玲子：家政誌, 24, 259 (1973).
- 2) 岩淵せつ子・柴崎一雄：日食工誌, 20, 48 (1973).
- 3) 本間伸夫：醸協, 82, 471, 547 (1987).
- 4) 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).
- 5) 菅原悦子：日食工誌, 38, 491 (1991).
- 6) 菅原悦子：日食工誌, 38, 1093 (1991).
- 7) AISHIMA, T.: *J. Food Sci.*, 47, 1562 (1982).
- 8) 相島鐵郎：農化, 57, 235 (1983).
- 9) WADA, K., OHGAMA, S., SHIMODA, M. and OSAJIMA, Y; *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1745 (1987).
- 10) 和田浩二・田中慶教・下田満哉・大釜清一・箴島豊：日食工誌, 36, 1485, 1493 (1989).
- 11) 島崎寿賀子・藤波博子・広木恵美子・綾部浩太郎・海老根英雄：味噌の科学と技術, 38, 322 (1990).

(平成 4 年 4 月 13 日受理)

新 刊 紹 介

Food Science and Human Nutrition

George CHARALAMBOUS 編

Elsevier 社の Developments in Food Science シリーズの第 29 巻である。1991 年に Samos で行われた同名の国際会議に提出された論文の中から、63 の論文を選んで掲載したものである。ただし題名にある Human Nutrition についての論文は少ない。その多くは食品の嗜好成分に関するものである。とくに食品加工とフレーバーについての論文が多い。エクストルージョンクッキングや超臨界ガス抽出など新技術と香気成分との関係などが収められている。プロシーディングではあるが、参考文献と索引が完備しており、最近の進歩を知るには都合がよい。(T)

166 × 240 mm, 821 頁, 1992 年刊 ISBN 0-444-88834-9

Elsevier Science Publishers B.V.

P.O.Box 211, 1000 AE Amsterdam, The Netherlands