

## 酵母の種類が味噌の香気成分形成に及ぼす効果

菅原悦子\*・高橋 清\*\*

(1998年6月30日)

### 緒 言

味噌に対する消費者の嗜好が変化してきており、味噌を製造する側においても消費者の要求を的確に把握し、解決することが求められている。近年、多くの消費者は塩味が薄く、甘口で、好ましい香りの高い味噌を求める傾向にある。これに対応して、味噌は麴歩合を多くし、塩分濃度をできるだけ低下させ、さらに酵母を添加して醸造されるようになった。味噌の製造で酵母は非常に重要な役割を果たしており、特に熟成中の特徴的な香気成分の形成に対しては寄与の大きいことが判明している(菅原, 1991a; 菅原, 1991b; Sugawara et al., 1994a)。

宮城県味噌醤油工業協同組合では試験研究において1300種の酵母から、仙台味噌醸造に適した特に優良な酵母を2種類選抜した(高橋, 1994)。本研究ではこの2種の酵母と従来より味噌に利用されている酵母を添加し、実際に味噌を製造した。さらに対象として酵母を添加しない味噌を製造し、製品となったそれぞれの味噌の一般成分や色度、香気成分組成を比較した。この結果から、味噌の味や色、香りへの酵母の種類による影響を考察した。特に選抜された酵母の香気成分形成への寄与を明確にし、より優れた香気を有する味噌の醸造に適した酵母を特定することを目的とした。

### 実験方法

#### 1. 試料

試料とした味噌は米麴 14.38kg, 蒸煮大豆 31.50kg, 食塩 7.66kg, 種水 6.35l で調製し、仕込量 59.89kg である。仕込の際に3種の酵母を  $1.0 \times 10^5$  cells/g で添加した味噌と酵母を添加しない味噌を調製し、27°C で 60 日間熟成させた。

酵母添加試験の供試菌株は以下の3種である。*Zygosaccharomyces rouxii* S96 は新潟県食品研究所において分離された酵母(今井, 1984)で、現在味噌の醸造に広く使用されている。*Zygosaccharomyces rouxii* No. 088 と *Zygosaccharomyces rouxii* No. 061 は宮城県味噌醤油工業協同組合において仙台味噌の製造に適することを目的として選抜された酵母である。宮城県全域で生産されている自家醸造味噌を分離源として分析調査、微生物分離作業を行い、得られた1300株より耐塩性試験や生育温度試験、アルコール耐性試験、官能検査を行い、優良である

\* 岩手大学教育学部

\*\* 宮城県味噌醤油工業協同組合

と判断された酵母である。以後、酵母を添加しなかった味噌を無添加味噌、*Z. rouxii* S96 を添加した味噌を S96 味噌、*Z. rouxii* No. 088 と *Z. rouxii* No. 061 を添加した味噌をそれぞれ 088 味噌と 061 味噌と略す。

試料とした味噌の一般成分は基準味噌分析法によって分析した。また、各味噌の色度は測色色差計を用いて測定し、Y%, x 値, y 値を求めた。

## 2. 香気濃縮物の調製及び香気成分の分離、同定

各味噌 40g に蒸留水 160ml を加え、味噌懸濁液を調製した。これを 5°C, 3000rpm で 15 分間、遠心分離し、上澄液を得た。この上澄液を Tenax TA 2.0g を充填したカラムに流し、エーテル 50ml で脱着する方法(カラム濃縮法)で香気濃縮物を調製した。エーテル溶出液に内部標準物質として n-decyl alcohol を添加し、常法どおり濃縮した。

得られた香気濃縮物は GC (FID, FPD 同時分析) 及び GC-MS 分析を行った。ピーク面積計算是島津クロマトパック C-R6A によった。各成分の濃度は内部標準物質とのピーク面積比から算出した。化合物の同定は文献値のマスマスペクトルデータおよび標準物質との GC の保持時間の一致によった。GC 分析用カラムは PEG20M 系の FS-WCOT を使い、MS は EI 法で、データ処理は全てコンピューターによった。各実験は 3 回繰り返して行い、結果は 3 回の平均値とした。詳細な分析条件は図に示した。

## 3. GC パターン類似率の算出

各種味噌から得られた香気濃縮物のガスクロマトグラムのパターン類似率を求めた。GC 分析の結果、84 本のピークが検出された。各ピークの測定値を数値群とし、これを 0 を原点とする 84 次元空間の位置ベクトルの成分と考え、各試料間のパターン類似率を算出した(相島, 1992)。

# 結 果

## 1. 味噌の一般成分と色度

試料とした味噌の一般成分と色度は表 1 に示したとおりであった。無添加味噌は 3 種の酵母添加味噌より、糖分の濃度が高く、アルコールの濃度が低かった。しかし、3 種の酵母添加味噌間においては一般成分に大きな差は認められなかった。

また、味噌の色の濃淡(明るさ)を示す値である Y% で 4 種の色を比較すると、4 種とも 17.0-15.7% の範囲で通常の仙台味噌の色よりは薄かった。088 味噌が 17.0 と最も薄く、S96 味噌が 15.7 と幾分濃かった。

## 2. 香気成分組成の比較

カラム濃縮法で得られた各種味噌の香気濃縮物を GC 分析したところ、得られたガスクロマトグラムは極めてよく類似していた。そこで図には 088 味噌のガスクロマトグラムのみを示した。4 種の味噌から、84 種以上の成分が検出され、41 種の香気成分が同定あるいは推定された。同定または推定された化合物は官能基別にまとめ、さらに各化合物の濃度は内部標準物質とのピーク面積比から算出して、表 2 に示した。ピーク番号は図に対応させた。

表 2 に従って、各種味噌の香気成分組成の差異について述べる。

低級脂肪酸アルコールは 8 種検出された。この中で、特に低沸点部に検出される、2-methyl-1-propanol (ピーク No. 6), 1-butanol (ピーク No. 8), 3-methyl-1-butanol (ピーク No. 9)

表1 味噌の一般成分と色度

分析項目	サンプル			
	無添加	S 96	061	088
水分 %	46.53	49.15	48.30	48.36
総窒素 %	1.787	1.800	1.819	1.831
水溶性窒素%	0.906	1.020	1.057	1.010
アミノ態窒素%	0.378	0.368	0.384	0.352
食塩 %	12.65	12.60	12.85	13.28
糖分%	19.54	14.51	14.87	14.77
pH	5.23	5.27	5.26	5.26
酸度 I	9.10	8.36	8.68	8.79
酸度 II	8.84	8.66	9.02	8.34
総酸度	17.94	17.02	17.70	17.13
アルコール %	0.023	1.252	0.979	0.997
色度	Y%	16.1	15.7	16.2
	x	0.464	0.467	0.465
	y	0.407	0.403	0.404

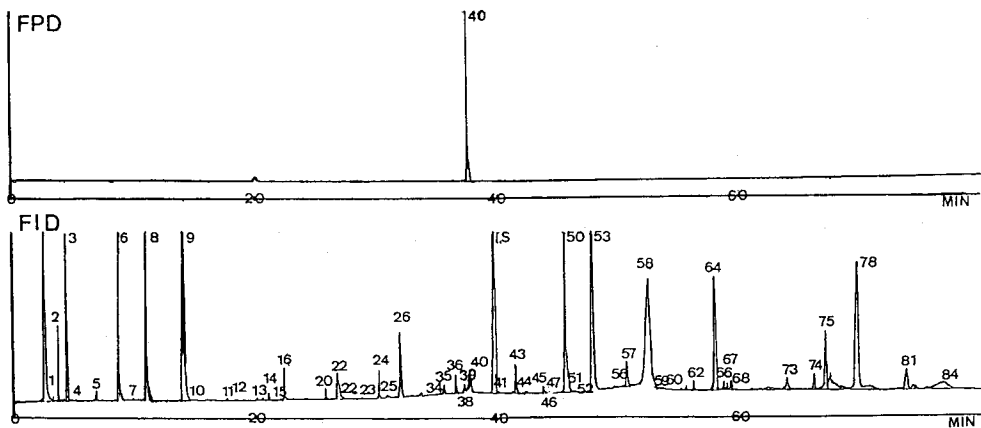


図 088 味噌から得られた香気濃縮物のガスクロマトグラム

I. S : internal standard.

Column : FS-WCOT, Supelcowax 10(30m x 0.25mm, 0.25 μ m film).

Oven Temp.: 40°C(5min hold)→3°C/min→200°C, Carrier Gas : He, 0.8 ml/min,

Inj. Temp.: 200°C, Detector: FID(210°C), FPD(230°C).

表2 酵母の種類による味噌香気成分組成の比較

Peak No.	化合物	無添加	S 96	088	061
aliphatic alcohols					ppm
8	1-butanol	0.01	2.25	3.07	2.63
6	2-methyl-1-propanol	0.59	2.02	2.66	2.03
9	3-methyl-1-butanol	2.23	10.70	11.00	9.76
16	1-hexanol	0.03	0.32	0.32	0.23
22	1-octen-3-ol	+	+	0.01	+
24	L-2, 3-butanediol	0.03	0.04	0.29	0.30
26	meso-2, 3-butanediol	0.06	0.88	0.81	0.64
43	decadienol	0.02	0.33	0.30	0.34
carbonyl and acid compounds					
22	acetic acid	0.56	0.54	0.58	0.61
46	hexanoic acid	0.01	+	0.03	0.01
73	decanoic acid	0.04	0.49	0.51	0.58
2	3-methylbutanal	0.69	0.38	0.35	0.51
aromatic compounds					
62	2-methoxy-4-vinylphenol	0.44	0.43	0.24	0.31
47	benzylalcohol	+	0.04	0.03	0.03
50	2-phenylethanol	2.41	5.21	4.37	5.02
23	benzaldehyde	0.03	0.02	0.02	0.01
34	phenylacetaldehyde	+	+	0.02	0.03
51	2-phenyl-2-butenal	0.03	0.03	0.02	0.18
35	ethylbenzoate	0.13	0.15	0.15	0.23
37	2-phenylethyl acetate	0.01	0.01	0.03	0.03
41	ethylphenyl acetate	+	+	0.01	+
furans					
25	5-methyl-2-furfural	0.03	0.05	0.02	0.07
38	furfuryl alcohol	+	0.03	0.04	0.03
furanones, pyrones					
39	3-methyl-2(5 <i>H</i> )-furanone	+	0.24	0.24	0.19
52	3-hydroxy-2, 6-dimethoxy-4 <i>H</i> -pyran-4-one	+	+	+	+
59	HMMF* <sup>1</sup>	+	+	+	+
56	HDMF* <sup>2</sup>	0.03	+	0.04	+
58	HEMF* <sup>3</sup>	1.33	7.01	7.09	12.22
53	maltol	6.62	5.21	5.23	8.89
67	DMDP* <sup>4</sup>	+	+	+	+
sulfur-containing compounds					
40	methionol	0.07	0.31	0.33	0.50
esters					
7	3-methylbutyl acetate	+	0.02	0.03	0.03
36	diethyl butandioate	+	0.03	0.16	0.17
45	ethyl dodecanoate	0.03	0.04	0.13	0.12
57	ethyl tetradecanoate	0.07	0.40	0.43	0.44
59	ethyl pentadecanoate	0.01	0.03	0.02	0.02
64	ethyl hexadecanoate	4.27	2.20	1.91	3.50
74	ethyl octadecanoate	+	0.53	0.45	0.67
75	ethyl (Z)-9-octadecenoate	0.26	2.73	1.76	3.34
78	ethyl (Z, Z)-9, 12-octadecadienoate	2.39	5.06	4.31	9.10
81	ethyl (Z, Z, Z)-9, 12, 15-octadecatrienoate	+	0.94	0.65	2.20

\*1 4-hydroxy-5-methyl-3(2*H*)-furanone\*2 4-hydroxy-2, 5-dimethyl-3(2*H*)-furanone\*3 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2*H*)-furanone\*4 3, 5-dihydroxy-6-methyl-2, 5-dihydro-4*H*-pyran-4-one

は味噌のトップノートを構成する香気成分である。これらの濃度は無添加味噌では特に低く、酵母添加味噌ではほぼ同レベルであったが088味噌が他の2種より幾分か高かった。

有機酸は含量が高くなると酸臭がし、官能評価の低下につながるが酵母添加の有無や種類による差は特に認められなかった。

芳香族化合物は味噌の香気に華やかさを加える成分である。これらの成分は無添加、添加味噌に共通して9種類検出された。無添加味噌ではこれら成分の濃度も全体として低く、3種の酵母添加味噌では特に大きな差や一定の傾向はみられなかった。これら成分の中で濃度も高く、バラ様の特徴的な香気を持つ2-phenylethanol (ピーク No. 50) は無添加味噌では酵母添加味噌の約1/2の濃度であった。3種の酵母添加味噌ではこの成分は088味噌の濃度が多少低いが大きな差ではなかった。

フラン化合物は大豆を蒸煮した際、さらには熟成中にアミノカルボニル反応で形成される。これら成分は2種検出されたが濃度において差はみられなかった。

フラノン、ピロン化合物はそれぞれ特徴的な香気を持つ成分が多い。その中で、特に濃度の高いHEMF (4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone.) (ピーク No. 58) と maltol (ピーク No. 53) に着目した。甘いカラメル様の強烈な香りを持ち、閾値も0.04ppb以下で発酵型熟成味噌の特徴的な香気成分であり、米味噌の香気成分として極めて重要であることが判明しているHEMF (Sugawara et al., 1994b; 菅原ら, 1998) は無添加味噌及び酵母添加味噌に共通して検出された。しかし、無添加味噌では1.33ppmと極めて少量であるのに対し、酵母添加味噌はその6~10倍検出された。また、S96味噌と088味噌は同レベルの約7ppmであったが061味噌は12.22ppmとかなり高い値であった。

maltolも甘いカラメル様の香気をもつが、先の研究によりこの成分の濃度が増加すると官能評価が低下することが示唆された (Sugawara et al., 1994b)。これは maltol と同じような挙動をする不快な香気を持つ閾値の低い他の成分が存在することによると想定している。maltol はS96味噌と088味噌では5.21ppmと5.23ppmで大差はなく、無添加では6.62ppmと幾分か高くなっていた。また、061味噌では8.89ppmとかなり高くなっていた。

methionol は閾値も1ppbと報告され、やや香ばしく濃度によっては醤油様の香気を示す醤油特有香気成分のひとつである。味噌においてもHEMF同様に酵母によって形成され、各種味噌の香気の特徴を左右する重要な成分であることが判明している (菅原ら, 1998)。methionol の濃度も無添加味噌では明らかに低く、061味噌は他の2種の酵母添加味噌よりも幾分か高かった。

### 3. 4種の味噌の全体の香気成分組成

4種味噌の香気特性の全体像を知り、全体としての類似度を把握するために各種味噌のパターン類似率を求め、表3に示した。無添加味噌は3種の酵母添加味噌と明らかに類似度が低かった。一方、3種の酵母を添加した味噌の類似率は全体に高く、特にS96味噌と088味噌の類似率は高かった。

表3 味噌のGCによるパターン類似率<sup>a)</sup>

	S 96	0 6 1	0 8 8
0 6 1	0.964		
0 8 8	0.993	0.953	
無 添 加	0.618	0.634	0.618

a) :  $S_{(A, B)}$ , the similarity between gas chromatogram A and gas chromatogram B.

$$S_{(A, B)} = \frac{\sum_{i=1}^{84} ai bi}{\sqrt{\sum_{i=1}^{84} ai^2} \sqrt{\sum_{i=1}^{84} bi^2}}$$

$ai$ , concentration of peak  $i$  on GC A.

$bi$ , concentration of peak  $i$  on GC B.

## 考 察

### 1. 味噌の味と色への酵母の効果

味噌の一般成分の分析結果から、味においては酵母添加味噌と無添加味噌では差が認められるが酵母を添加した3種の味噌間では大差がないと判断される。

色度の分析結果から、酵母の添加の有無や種類による色への影響は60日の熟成期間では小さい。熟成期間をさらに延長し、通常の仙台味噌の色度となっていく過程で酵母の種類による影響がより鮮明になっていくものと考えられる。

### 2. 味噌の香気成分形成への酵母の効果

無添加味噌は3種の酵母添加味噌と明らかにパターン類似度が低く、これは検出された香気成分の濃度が低いことに起因する。特に、味噌のトップノートを構成する低級アルコール、味噌の香気に華やかさを与える芳香族化合物、米味噌の香気成分として極めて重要であることが判明している HEMF、醤油様の香気を示し、各種味噌の香気の特徴を左右する重要な成分であることが判明している methionol の濃度(菅原ら, 1998)がいずれも酵母添加味噌より低かった。従って、無添加味噌は酵母添加味噌より、全体として香気が弱いと判断される。

一方、3種の酵母を添加した味噌の香気成分組成は全体として非常によく類似しており、特に S96 味噌と 088 味噌の類似度は高い。S96 味噌と 088 味噌では後者が低級アルコールの濃度が高く、トップノートやや強いと考えられる。

061 味噌はパターン類似率から、3種の酵母添加味噌の中では多少特徴的な香気成分組成になっていると推察される。特に、官能検査との相関も高く、濃度が高いほど評価が高くなることが判明している HEMF (Sugawara et al., 1994b) が3種の酵母添加味噌間で最も高く、甘い香気が強くなり、全体の香気についての評価は最も高くなる可能性がある。また、061 味噌は各種味噌の香気の特徴を左右する重要な成分である methionol の濃度も他の2種よりも幾分高く特徴的な香気を有する可能性が高い。061 味噌は HEMF や methionol のように評価をあげる香気成分の濃度も maltol のように評価を下げる香気成分の濃度もともに高いことから、他の2種の味噌とは違った特徴的な香気をもつと推測される。

以上より、088 株は味噌のトップノートに貢献する低級アルコールの生成能力に優れ、香り

立ちをよくすると考えられる。061株は味噌の香気の特徴づける HEMF や methionol などの成分の生成能力に優れ、特徴的な香気形成に寄与すると判断される。

## 要 約

- 1) 味噌の一般成分や色度の測定結果から、味においては酵母添加味噌と無添加味噌では差が認められるが種類による差は認められず、色に関しては酵母の添加の有無や種類による影響は小さかった。
- 2) 香気成分の組成に関しては酵母の添加の有無が特に大きく影響し、種類による影響も認められた。
- 3) 酵母無添加味噌、酵母添加味噌において検出された香気成分の種類には差はなかったが、無添加味噌では各香気成分の濃度が低く、明らかに香気が弱いと判断された。
- 4) 3種の酵母を添加した味噌の全体の香気成分組成はよく類似していた。従来用いられている S96株と比較すると、088株はトップノートと形成する低沸点のアルコールの生成能力に優れ、061株は米味噌の香気成分として非常に重要である HEMF や methionol の生成能力に優れ、特徴的な香気形成に寄与する。

本研究にご援助下さった中村美香子さんに深く感謝します。

相島鐵郎 (1992). ケモトリックス第1版 (丸善, 東京) p 84.

今井誠一 (1984). 味噌醸造における酵母の利用に関する研究. 新潟食品研究所研究報告特別号, p 40.

菅原悦子 (1991a). みそ香気成分としての HEMF (4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone) の単離. 日本食品工業学会誌, 38, 491-493.

菅原悦子 (1991b). みそ熟成中の香気成分の変化. 日本食品工業学会誌, 38, 1093-1097.

SUGAWARA, E., HASHIMOTO, S., SAKURAI, Y. and KOBAYASHI, A. (1994a). Formation of HEMF (4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone) of Aroma Component in Miso with Aging. *Biosci. Biotec. Biochem.*, 58, 1134-1135.

SUGAWARA, E., SAIGA, S. and KOBAYASHI, A. (1994b). Multiple Regression Analysis of Aroma Components and Sensory Evaluation of Miso. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 41, 844-846.

菅原悦子, 米倉裕一 (1998). 各種味噌の香気成分組成の比較. 日本食品科学工学会誌, 45, 323-329.

高橋清 (宮城県味噌醤油工業協同組合技術部) (1994). 優良微生物の選択 (第3報). 平成5年度技術報告, 11-26.