

## 赤色辛口系米味噌における大豆蒸熟と熟成温度が 香気成分形成に及ぼす影響

賀来由夏\*・菅原悦子\*・高橋 清\*\*

Effect of the Manufacturing Process (the Hardness of Steamed-cooked Soybeans and the Temperature During the Aging Process) on the Formation of Aroma Components of Red Salty Rice *Miso* with Aging

Yuka KAKU\*, Etsuko SUGAWARA\* and Kiyoshi TAKAHASHI\*\*

\* Faculty of Education, Iwate University, 3-18-33 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550

\*\* Miyagi Miso and Soysauce Industrial Cooperation, 2-11-1, Ichiban-cho, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-0811

The influence of the hardness of steam-cooked soybeans and of the temperature during the aging process was investigated on the formation of aroma compounds of red salty rice *miso*. Soybeans with two levels of hardness were prepared by the conditions used for steam-cooking, and the temperature during aging process was set at 25°C or 30°C. The resulting four types of *miso* sample were analyzed after being aged for 0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days. The principal constituents of each *miso* sample were evaluated by the standard method for *miso* analysis. An aroma concentrate of each *miso* sample was prepared by adsorption to a porous polymer, and then analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). 3-Methyl-1-butanol and 2-phenylethanol, which are quantitatively the main aroma compounds in red salty rice *miso*, and methionol, which is one of the characteristic compounds in *miso*, each showed a high concentration during the aging process at 25°C. In contrast, 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone(HEMF), a character-impact compound in *miso*, was present in greater quantity during the aging process at 30°C. The concentrations of these aroma components were little influenced by the hardness of the steam-cooked soybeans. The value for Y (%) in the chromaticity diagram decreased markedly during the aging process at 30°C. The formation of HEMF was considered to relate to the decrease of the value for Y(%).

(Received May 1, 2000 ; Accepted Sep. 14, 2000)

味噌にとって香りはその品質を左右する重要な因子である。米味噌は大豆、米麴、食塩を原料とし、製麴、大豆の加熱など様々な工程を経て製造されており、各工程の条件が味噌の香りをはじめとする品質に重大な影響を及ぼす。味噌の香気成分については多くの研究<sup>1)~3)</sup>があり、製品となった味噌の香気は200種以上の成分より構成されていることが報告<sup>4)</sup>されている。著者ら<sup>5)~7)</sup>はHEMF(4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-

furanone) と methionol が赤色辛口系米味噌を代表とする発酵型米味噌や麦味噌の特有香気成分であることを明らかにした。しかしながら、これら香気成分の製造条件による変動については解明されていない。本研究では赤色辛口系味噌の香気成分形成に影響をおよぼす様々な製造条件の中から、特に大豆の加熱条件と熟成温度の二つに焦点をしばり、特有香気成分であるHEMFとmethionolやその他の香気成分の熟成中の消長への影

\* 岩手大学教育学部 (〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-33)

\*\* 宮城県味噌醤油工業協同組合 (〒980-0811 宮城県仙台市青葉区一番町 2-11-1)

響を明らかにすることを目的とした。また、味噌を醸造する際に品質管理等の目的で測定される一般成分や色調の変動と香気成分の消長との関係の解明も試みた。

## 実験方法

### 1. 試料

大豆は1996年産アメリカ産白目大豆、乾燥時重量2.50 kgを使用した。洗穀後、一晚浸漬させ、加圧蒸熟処理条件を変化させて、大豆硬度を柔らかい300 gと硬い700 gに設定した。大豆硬度300 gの加圧蒸熟処理条件は0.75 kg/cm<sup>2</sup>・37分間、硬度700 gが0.75 kg/cm<sup>2</sup>・13分間であった。大豆硬度は蒸熟後40℃に冷却した処理大豆を2 kgの台秤に乗せ、人差し指で押し、大豆が潰れたときの目盛りを読み、20粒の平均とした。一般的に、大豆硬度800 g以上の処理大豆を使用した場合にはざらつきが生じ、硬度300 g以下ではネバルとともに発酵不足になりやすいと報告<sup>8)</sup>されている。仙台味噌の醸造では大豆硬度は400 gの場合が多く、300 gとしているところもある<sup>9)</sup>。また、大豆硬度700 gは信州味噌の醸造に一般的に用いられている<sup>9)</sup>。従って、本研究では実際に赤色辛口系味噌の醸造に使用されている最も柔らかい蒸煮大豆と硬い蒸煮大豆を用いた。

米はタイ産の丸米2.00 kgを使用し製麴した。食塩の使用量は1.25 kgであった。蒸熟処理大豆、麴、食塩を混合し、その際種水900 mlを添加した。種水は耐塩性酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* (商品名「まろい1株」<sup>10)11)</sup>)を味噌1 gあたり10<sup>5</sup>個になるように調製した。この結果、原料配合は麴歩合8歩、食塩12.5%、水分47%となった。仕込み量は各10 kgとした。

熟成温度は25℃と30℃とした。一般的に、麴の酵素による分解作用と微生物の発酵とのバランスが大切な辛口米味噌では有用微生物の生育に適温である30℃前後で熟成させる<sup>8)</sup>。本研究に用いた酵母の生育温度試験では、27.5℃で最も増殖がよかった<sup>10)</sup>。そこで、適温より高い30℃と低い25℃に設定し、熟成温度の影響を検討した。

以上により、大豆硬度と熟成温度の組み合わせで以下の4種類の味噌を調製した。大豆硬度300 g-管理温度25℃、(以下300 g-25℃と略す)、大豆硬度700 g-管理温度25℃(以下700 g-25℃と略す)、大豆硬度300 g-管理温度30℃(以下300 g-30℃と略す)、大豆硬度700 g-管理温度30℃(以下700 g-30℃と略す)の4種類である。熟成期間は6ヶ月とし、仕込み直後から30日間隔でサンプリングを行った。従って、仕込み直後、30、60、90、

120、150、180日目の7回サンプリングし、合計28種を試料として用いた。

### 2. 香気濃縮物の調製及び香気成分の分離・同定

香気濃縮物は著者ら<sup>12)</sup>によって味噌の香気研究にその有用性が報告されているポーラスポリマーを用いたカラム濃縮法で調製した。試料味噌40 gに蒸留水160 mlを添加して20%懸濁液とし、冷却遠心分離器(HITACHI 18PR-52)で、5℃、5000 rpmで15分間処理し上澄液を得た。これを精製したTenax TA 2.5 gを充填した内径1 cmのガラスカラムに流し、既報<sup>12)</sup>と同様に処理して香気濃縮物を得た。同一試料に対して3回、実験を繰り返した。

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。分析条件は既報<sup>12)</sup>と同様である。各香気成分の濃度はGC分析の結果をもとに内部標準物質(*n*-decyl alcohol)とのピーク面積比から、試料とした味噌の重量に対するppmで算出した。

### 3. 一般成分、色調の測定方法

試料は30日間隔でサンプリングした際に基準味噌分析法<sup>13)</sup>に従って一般成分を分析した。分析項目は水分、食塩、水溶性窒素、アミノ態窒素、全窒素、直接還元糖、滴定酸度、pH、エタノールおよび色調であった。測色は日本電色工業(株)製測色々度計1001型を用い、Y(%), x, yで表示した。

## 結果および考察

### 1. 味噌熟成中の香気成分の消長

Fig. 1に300 g-30℃の90日目の試料から調製した香気濃縮物を分析した際のガスクロマトグラムを示した。試料とした4種類の各熟成段階の味噌から得られたガスクロマトグラムを比較検討し、99のピークを選択して各種香気成分の濃度を算出し、香気成分の生成量を比較した。特に、3-methyl-1-butanol(ピーク No. 17)、2-phenylethanol(ピーク No. 65)、methionol(ピーク No. 51)とHEMF(ピーク No. 76)に注目し、その変動について検討した。

(1) 3-methyl-1-butanolと2-phenylethanolの変動  
すっきりとしたアルコール香の3-methyl-1-butanolとバラ様の芳香をもつ2-phenylethanol<sup>14)</sup>の濃度は熟成中のいずれの段階においても、検出された99ピークの香気成分の濃度を合計した値の40~65%を占めており、量的に主要な香気成分であることが確認された。従って、これら2成分の変動は醸造された味噌の香気の特徴

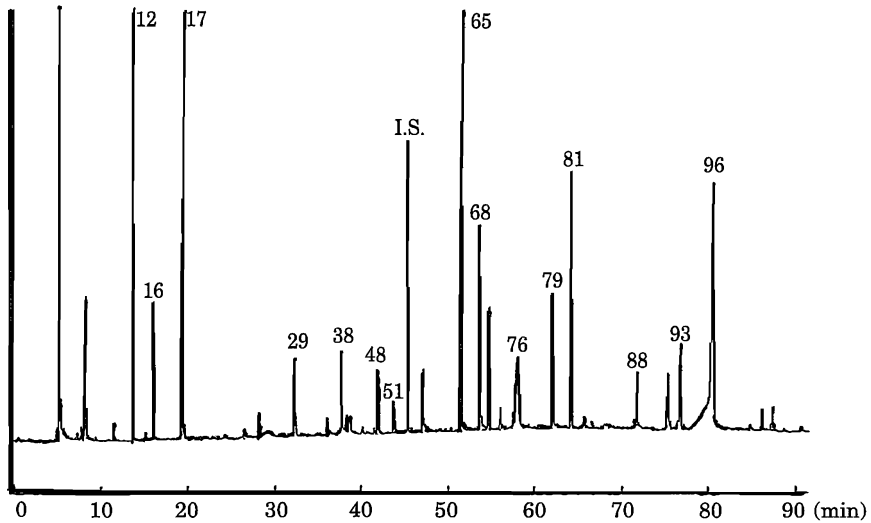


Fig. 1 A gas chromatogram of the aroma concentrate of *miso* (300 g-30°C) aged for 90 days after the *miso* mash

Peak No. 17 : 3-methyl-1-butanol, Peak No. 51 : methionol, Peak No. 65 : 2-phenylethanol, Peak No.76 : HEMF, I.S. : internal standard.

に影響を与えるとともに、香気成分全量の変動をも示唆すると考えられた。そこで3-methyl-1-butanolと2-phenylethanolの熟成中の濃度変化をFig. 2に示した。これら両化合物は、熟成の初期段階から高濃度に生成さ

れるが大豆硬度の影響はほとんど受けないことが判明した。また両化合物の濃度は、25°C区が30°C区よりも全期間を通じてやや高い傾向が認められ、30°C区、25°C区ともに60~90日目に最高値に達することが判明した。

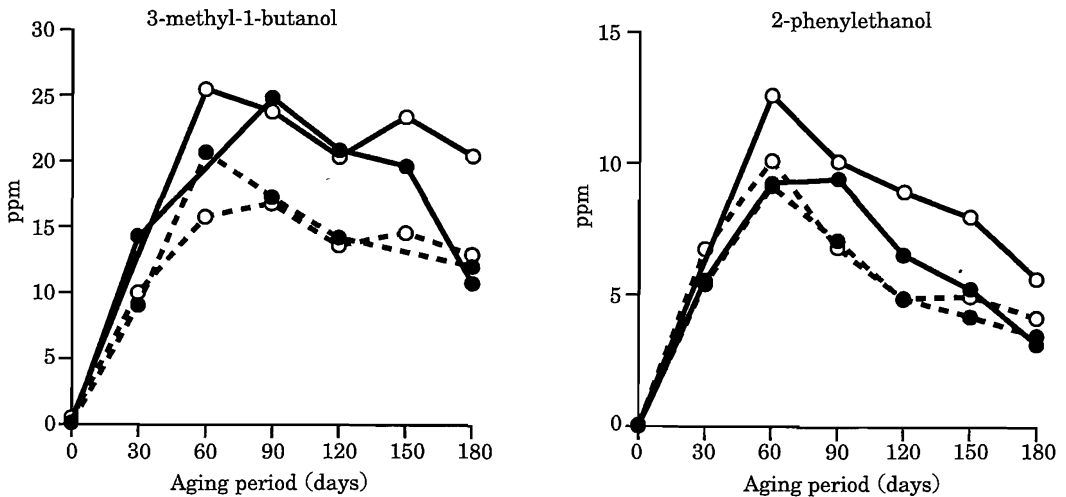


Fig. 2 Changes of the concentrations of quantitatively main aroma compounds in *miso* during the aging process

—●—, 300 g-25°C ; —○—, 700 g-25°C ; ...●..., 300 g-30°C ; ...○..., 700 g-30°C

## (2) 特有香气成分の変動

特有香气成分のひとつである methionol はやや香ばしく、濃度によっては醤油様である<sup>14)</sup>。味噌熟成中の methionol の濃度変化を Fig. 3 に示した。methionol の全期間を通しての変動は先に述べた 3-methyl-1-butanol と類似し、大豆硬度より熟成温度の影響が大きいことが示唆された。30℃区では 60 日目にはピークを迎えたが、25℃区は 120 日目がピークとなり、その時の濃度は 30℃区の約 2 倍であり、低温でゆっくりと熟成した場合に高濃度になる可能性が示唆された。

HEMF は官能的には甘いカラメル様の強烈な香気で、味噌の香気に甘さをもたらす成分で、閾値は 0.04 ppb 以下であると報告<sup>5)</sup>されている。熟成中の HEMF の濃度変化を Fig. 4 に示した。HEMF はいずれの試料においても仕込み直後の味噌からは全く検出されなかった。熟成中の HEMF の生成は大豆硬度には影響されなかったが、熟成温度に大きく影響された。30℃区における HEMF 濃度は仕込み直後から急激に上昇し、60 日目に最高値を示したがそれ以降は急激に低下した。HEMF は不安定な化合物であるため、熟成中に一部分解する可能性のあることが示唆された。25℃区においては、仕込み後ゆるやかに上昇し 120 日目に濃度のピークを迎えたが、ピーク時の濃度は 30℃区の 1/3 に過ぎなかった。清酒などの醸造食品にも共通する香气成分の 3-methyl-1-butanol や 2-phenylethanol は 25℃区での生成量が多

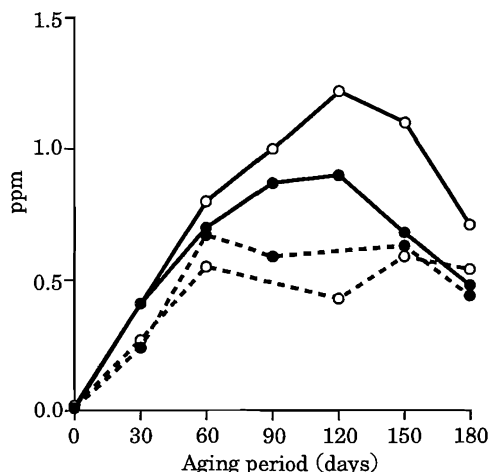


Fig. 3 Changes of the concentration of methionol in *miso* during the aging process

The symbols are the same as indicated in Fig. 2.

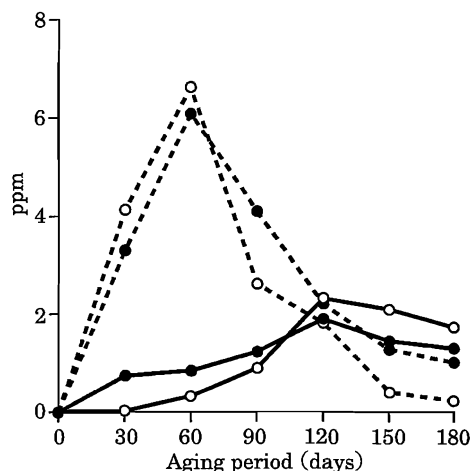


Fig. 4 Changes of the concentration of HEMF in *miso* during the aging process

The symbols are the same as indicated in Fig. 2.

いことが明らかとなっており、HEMF はこれらの香气成分とは異なる独自の生成機構を持つ化合物であることが示唆された。

## 2. 蛋白溶解率、pH の変動と香气成分の生成

3-methyl-1-butanol, 2-phenylethanol, methionol は主発酵酵母の作用によって、それぞれアミノ酸のロイシン、フェニルアラニン、メチオニンから生成すると報告<sup>14)15)</sup>されている。熟成中のこれら香气成分の消長はアミノ酸の変動と関連すると推察される。そこで熟成中のアミノ酸変動の指標として一般成分の分析値の中から蛋白溶解率と pH について注目し検討した。

味噌の味に影響を与えるとともに味噌の熟成の目安とされている蛋白溶解率(全窒素(T.N.%)に対する水溶性窒素(W.S.N.%)の比)の熟成中の変化を Fig. 5 に示した。仕込み直後は硬度 300 g の味噌が 25.8%, 700 g の味噌は 22.7% で約 3% の差があった。30 日目には全試料で蛋白溶解率の値は急増し、25℃区が約 50%, 30℃区が約 53% となり、温度による影響が出現した。60 日目には温度による差は縮小し、それ以降は全試料とも値に大きな変動が認められなくなり平衡状態に達した。蛋白溶解率は仕込み後 30 日目までは熟成温度による差が多少あったが、その後は硬度や熟成温度の影響を観察できなかった。Fig. 6 に pH の変動を示した。pH の低下はアミノ酸や有機酸の生成を示しており、特にアミノ酸の生成が 40~50% 寄与しているといわれている<sup>8)</sup>。pH は

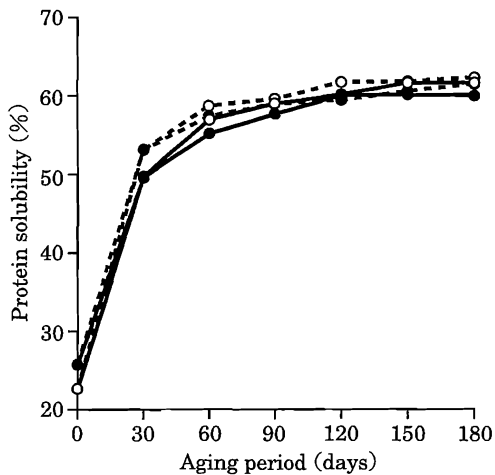


Fig. 5 Changes of the rate of nitrogenous solubility in *miso* during the aging process

The symbols are the same as indicated in Fig. 2.

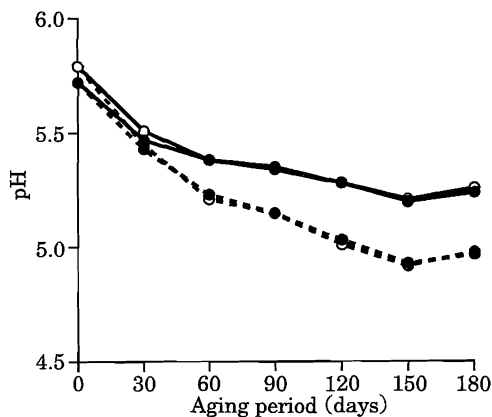


Fig. 6 Changes of pH in *miso* during the aging process

The symbols are the same as indicated in Fig. 2.

仕込み時には硬度 300 g, 700 g の味噌ともに約 5.7 と差はなかった。しかし 60 日目には 25°C 区がともに 5.4, 30°C 区はともに 5.2 と熟成温度による差が出現し、その後熟成期間が長くなるにしたがって熟成温度による pH 値の差は顕著になった。適度に熟成した味噌の pH は一般的には 5.1~4.9 である。この値から熟成したと判断さ

れる時期は 25°C 区では 5.2 以下となった 150 日目, 30°C 区も 5.2 以下となった 90 日目であり, 熟成温度によって 60 日の差が認められた。

蛋白溶解率や pH の変動より, 一般的なアミノ酸の生成は 30°C 区が 25°C 区より速く, 量も多い推測された。しかし, 3-methyl-1-butanol, 2-phenylethanol, methionol の濃度はともに 25°C 区で高く推移した。一方, 本研究に用いた *Z. rouxii* (まろい 1 株) は 30°C より 25°C で活発に発酵するという特徴がある<sup>10)11)</sup>。従って, 3 種の香気成分の生成は, 前駆物質となるアミノ酸の生成よりこれを香気成分に変換する酵母の性質に大きく影響されると推察された。

### 3. 色調 Y (%) の変化と HEMF の生成

BLANK ら<sup>16)</sup> はアラニンと五炭糖を加熱した際のアミノカルボニル反応による HEMF の生成機構を提案し, HEMF はアミノカルボニル反応初期に生成した炭素数 5 の 1-deoxydiketose と, アラニンのストレッカー分解によって生成したアセトアルデヒドが結合し, 環化, 還元されて生成すると報告している。著者ら<sup>17)</sup> は, 味噌の HEMF は熟成中にアミノカルボニル反応によって生成される前駆物質に酵母が作用して形成される可能性が高いことを報告し, HEMF の前駆物質は BLANK らが提案した炭素数 5 の 1-deoxydiketose と同様の化合物であろうと想定している。また林田ら<sup>18)</sup> は麦味噌では 30°C 以上の熟成温度で HEMF が顕著に生成されることや HEMF の形成機構<sup>19)20)</sup> についても著者らと同様の報告をしている。

一方, Y (%) は味噌の熟成度の判断に用いられ, 熟成初期の急激な低下は味噌中の溶存酵素が消費されるまでの酸化に伴うもので, 中期から後期の低下はアミノカルボニル反応によるといわれている<sup>8)</sup>。そこで, Fig. 7 に仕込み直後から 180 日目までの Y (%) の変化を示し, 味噌熟成中のアミノカルボニル反応の進行状況を示す指標とし, HEMF の消長との関連を検討した。

仕込み直後の Y% には硬度 300 g と 700 g の味噌間で約 3% の差が認められた。これは加圧蒸熟処理時間が 300 g の場合, 700 g の 2 倍以上かけられていることに起因する。また, 仙台味噌の出荷レベルである Y=12~15% に達した時期は, 30°C 区では硬度に関係なく 90 日目であったが, 25°C 区では 180 日目であった。従って, 5°C の熟成温度差は Y% の値で約 90 日の熟成期間の差となった。また, 30°C 区と 25°C 区の熟成温度による Y% の差は熟成 30 日目から 60 日目において出現した。30°C 区では, 30 日目以降 Y% は 25°C 区より急速に低下

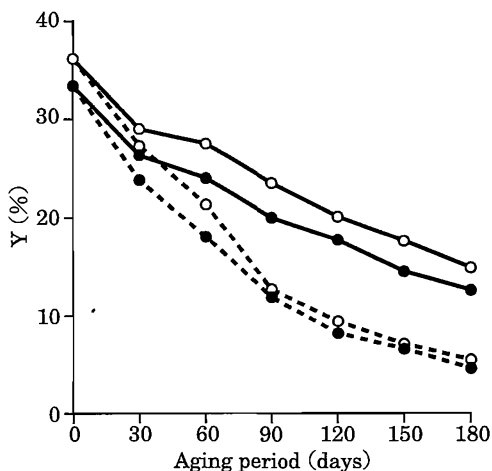


Fig.7 Changes of the value for Y (%) in miso during the aging process

The symbols are the same as indicated in Fig. 2.

しており、アミノカルボニル反応の進行に差が生じていると判断された。

HEMF は、30℃区では30日目から60日目に急速に多量に生成されており、Y%の30日目以降の急激な低下との関連が示唆された。一方、25℃区ではHEMFは120日目までゆるやかに生成した。30℃区の60日目のY値は18.0%と21.3%、25℃区の120日目のY値は17.7%と20.1%となり、ともに約20%であった。Y値が約20%にまで低下する過程でアミノカルボニル反応が進行し、HEMFの前駆物質が生成されると推測され、低下する速度が速い場合に前駆物質の生成量が多くなると推測された。

#### 要 約

赤色辛口系米味噌の製造時における大豆の加熱処理条件と熟成温度の熟成中の香り成分形成への影響を検討した。

(1) 赤色辛口系米味噌の熟成中の香り成分形成には熟成温度による影響は大きかったが大豆の加熱処理条件の影響は少なかった。

(2) 赤色辛口系米味噌の各種香り成分の濃度を合計した値の40~65%を占め、他の醸造食品にも共通して存在する3-methyl-1-butanolや2-phenylethanolの濃度と味噌の特有香り成分の一つであるmethionolの濃度

は全期間を通して熟成温度25℃でやや高く推移した。

(3) 3-methyl-1-butanol, 2-phenylethanol, methionolの熟成中の消長には蛋白溶解率やpHの変動の影響は少なく、醸造に使用した酵母の影響が大きいことが示唆された。

(4) 特有香り成分のHEMFは熟成温度30℃で形成量が多く、他の主な香り成分の熟成中の消長と大きな差が認められ、独自の生成機構を持つ化合物であると推測された。

(5) 熟成中のHEMFの生成は色調Y(%)の変化と関連があり、Y値で約20%に低下するまでは行われることが示唆された。

終わりに臨み、本研究を行うにあたり貴重なご助言を下さいました岩手県工業技術センター米倉裕一氏、岩手大学櫻井米吉名誉教授に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 岩淵せつ子・柴崎一雄：日食工誌，20，48 (1973)。
- 2) 安平仁美：醸協，75，506 (1980)。
- 3) 森 隆・木内 幹：醸協，80，274 (1985)。
- 4) 本間伸夫：醸協，82，471，547 (1987)。
- 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) 菅原悦子・米倉裕一：食科工，45，323 (1998)。
- 8) 今井誠一・松本伊左尾：味噌技術読本，新潟県味噌工業共同組合連合会新潟県味噌技術会，光進堂企画 (1990)。
- 9) 松本伊佐雄・熊井啓治：醸協，93，932 (1998)。
- 10) 高橋 清：平成7年度技術部報告書，宮城県味噌醤油工業協同組合技術部，1 (1995)。
- 11) 高橋 清：醸協，92，241 (1997)。
- 12) 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)。
- 13) 全国味噌技術会：みそ技術ハンドブック付基準味噌分析法，昭和印刷 (1995)。
- 14) 中台忠信：香料，200，69 (1998)。
- 15) 横塚 保・佐々木正興・布村伸武・浅尾康夫：醸協，75，516，717 (1980)。
- 16) BLANK, I. and FAY, L.B.: *J. Agric. Food Chem.*, 44, 531 (1996)。
- 17) SUGAWARA, E. and SAKURAI, Y.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 63, 749 (1999)。
- 18) 林田安生・西村賢了・J. コリン ロースター：醸協，93，730 (1998)。
- 19) 林田安生・西村賢了・J. コリン ロースター：醸

- 
- 協, 94, 77 (1999). (平成 12 年 5 月 1 日受付, 平成 12 年 9 月 14 日受理)
- 20) 林田安生・西村賢了・栗山博・J. コリン ロース  
ター: 醬研, 25, 237 (1999).
-