

赤色系・辛口・米味噌の大豆蒸熟と熟成温度の 香気成分形成に及ぼす影響

かねて、醤油の特香成分とされていた HEMF を、はじめて味噌から分離されたのは著者である。近年、HEMF は強い抗酸化性を持ち、その機能性が注目されている。著者は、HEMF が特に赤色系・辛口・米味噌を代表とする発酵型熟成の米味噌や麦味噌の特有香気成分であることも明らかにされた（本誌，94，435（1999）参照）。今回は、HEMF を含めて、赤色系・辛口・米味噌の香気成分形成に及ぼす製造条件（大豆加熱条件，熟成温度）の影響，ならびに一般成分，色調変動との関係について解説いただいた。実際の醸造の場において，香りの優れた，機能性の高い味噌の製造におおいに役立つ示唆を与えられたものと思います。

菅原悦子・賀来由夏

1. はじめに

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にも関わらず，醤油と比較してなかなか解明が進まなかった。著者ら¹⁾はポーラスポリマーを用いたカラム濃縮法を用いて，市販されている味噌の約80%を占める赤色系・辛口・米味噌の香気成分を分析し，初めてHEMF (4-hydroxy-2 (or 5)-ethyl-5 (or 2)-methyl-3 (2H)-furanone) を同定した²⁾。HEMF は強く甘い香気を持ち，濃度によって醤油様の芳香を強く感じる醤油の特香成分 (Character Impact Compound) とされていたが，著者らは官能評価等の実験により，味噌と醤油に共通する特有香気成分であることを明らかにし，その経緯についてはすでに解説した³⁾。近年，HEMF は強い抗酸化性を持ち，胃がんの発生を抑制したり，放射線被害を予防する等，香気成分としての役割に加えて，優れた生理作用のあることが報告され⁴⁾，味噌の食品機能研究では注目される成分のひとつとなっている。また，味噌は原料麴や発酵条件の組み合わせによって多種多様の製品が醸造されているが，赤色系・辛口・米味噌とこれら各種味噌の香気成分組成を比較し，HEMF やその他の特徴的な香気成分組成の差異についても検討し

た⁵⁾。その結果，HEMF は赤色系・辛口・米味噌を代表とする発酵型熟成の米味噌や麦味噌の特有香気成分であることも明らかにし，本誌でも解説した⁶⁾。

また，赤色系・辛口・米味噌は大豆，米，食塩を原料とし，大豆の加熱処理，製麴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。味噌の香気はHEMF を含め，200種以上の成分より構成されている^{1,7)}が，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。本稿では，赤色系・辛口・米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った。そして，これら2条件の，特有香気成分であるHEMF やその他の香気成分の熟成中の変動に対する影響を明らかにするとともに，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の関係を考察した⁸⁾ので解説する。

2. 試験用味噌の仕込み

試料大豆は1996年のアメリカ産白目大豆，乾燥時重量2.50kgを使用した。洗穀後，一晚浸漬させ，蒸しの条件を変化させて，大豆硬度を柔らかい300gと硬い700gに設定した。前者の蒸しは0.75kg/cm²・

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
Etsuko SUGAWARA and Yuka KAKU (Faculty of Education, Iwate University)

37分間、硬度700gが0.75 kg/cm²・13分間であった。大豆硬度は蒸熟後40°Cに冷却した処理大豆を2kg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800g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300g以下ではネバルとともに発酵不足になりやすいと報告されている⁹⁾。仙台味噌の醸造では大豆硬度は400gの場合が多く、300gとしているところもある¹⁰⁾。また、大豆硬度700gは信州味噌の醸造に一般的に用いられている⁹⁾。従って、本研究では実際に赤色系・辛口・米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2.00kgを使用し製麴した。食塩の使用量は1.25kgであった。蒸煮大豆、麴、食塩及び決められた食塩の一部を用いて濃度10%に調整した種水900mlを混合し、6mm目の漉し網を通した。種水は耐塩性酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* (商品名「まろい1株」^{11,12)}) を味噌1gあたり10⁵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10kgとした。

熟成温度は25°Cと30°Cとした。一般的に、麴の酵素による分解作用と酵母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°C前後で熟成させる⁹⁾。本研究に用いた酵母の生育温度試験では、27.5°Cで最も増殖がよかった¹¹⁾。そこで、適温より高い30°Cと低い25°C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300g-管理温度25°C、(以下300g-25°Cと略す)、大豆硬度700g-管理温度25°C(以下700g-25°Cと略す)、大豆硬度300g-管理温度30°C(以下300g-30°Cと略す)、大豆硬度700g-管理温度30°C(以下700g-30°C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。

3. 熟成中の味噌香気成分の変動

香気濃縮物は著者ら¹⁾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ラスポリマーを用いたカラム濃縮法で調製した。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。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。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。

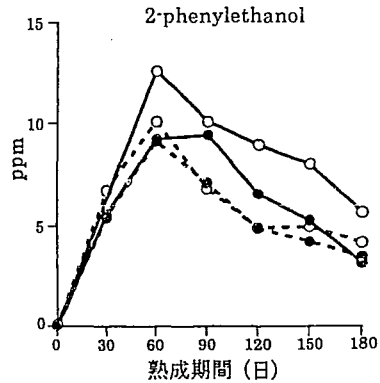
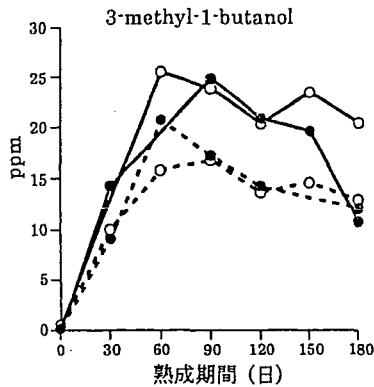
(1) 量的な主要香気成分の3-methyl-1-butanolと2-phenylethanolの変動

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-phenylethanol¹³⁾の合計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に影響を与えると同時に、香気成分全体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第1図に示した。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。

(2) 味噌の特有香気成分のmethionolとHEMFの変動

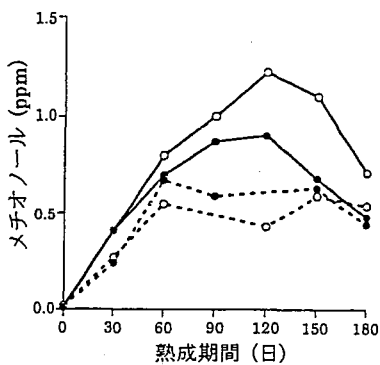
特有香気成分のひとつであるmethionolはやや香ばしく、濃度によっては醤油様である¹³⁾。味噌熟成中のmethionolの濃度変化を第2図に示した。methionolの全期間を通しての変動は先に述べた3-methyl-1-butanolと類似し、大豆硬度より熟成温度の影響が大きいたことが示唆された。30°C区では60日目にはピークを迎えたが、25°C区は120日目がピークとなり、その時の濃度は30°C区の約2倍であり、低温でゆっくりと熟成した場合に高濃度になる可能性が示唆された。

熟成中のHEMFの濃度変化を第3図に示した。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

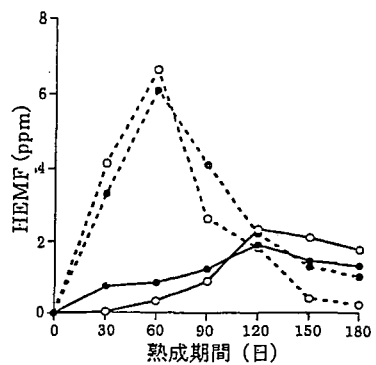


第1図 味噌熟成中の主要香气成分の濃度変化

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



第2図 味噌熟成中のメチオノールの濃度変化
 表示: 第1図参照



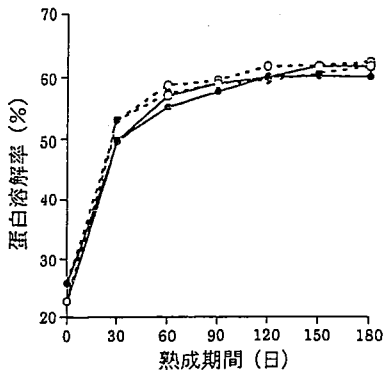
第3図 味噌熟成中のHEMFの濃度変化
 表示: 第1図参照

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°C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°C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°C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°C区での生成量の多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。

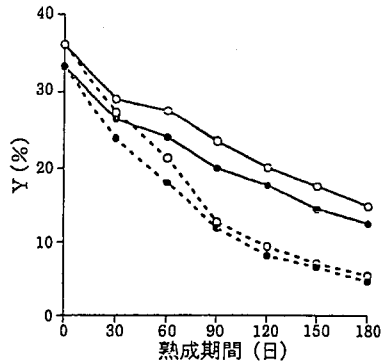
4. 香气成分の生成と蛋白溶解率, pHの変動

量的な主香气成分である3-methyl-1-butanolと2-phenylethanol, 特有香气成分であるmethionolはそれぞれアミノ酸のロイシン, フェニルアラニン, メチオニンから主発酵酵母的作用によって生成されると報告^{13,15)}されている。従って、これら香气成分の熟成中の消長はアミノ酸量と関連する可能性がある。そこで30日間隔でサンプリングした際に基準味噌分析法¹⁴⁾に従って分析された一般成分の分析値の中から、アミノ酸変動の指標として蛋白溶解率とpHについて注目することにした。

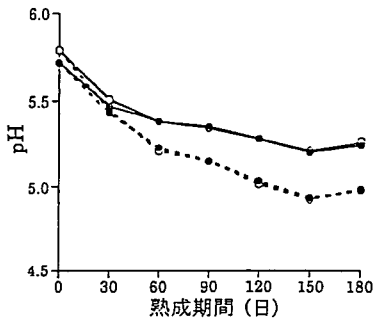
味噌の味に影響を与えるとともに味噌の熟成の目安とされている蛋白溶解率(全窒素(T.N.%)に対する水溶性窒素(W.S.N.%)の比)の熟成中の変化



第4図 味噌熟成中の蛋白溶解率の変化
表示：第1図参照



第6図 味噌熟成中の Y 値の変化
表示：第1図参照



第5図 味噌熟成中の pH の変化
表示：第1図参照

を第4図に示した。仕込み直後は硬度300gの味噌が25.8%，700g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°C区が約50%，30°C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は観察できなかった。第5図に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⁹⁾。pHは仕込み時には硬度300g、700g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差が顕著になった。適度に熟成した味噌のpHは一般的には5.1~4.9である。この値に最も近づき、両区分が同じpH5.2とな

った時期は、25°C区で150日目30°C区で60日目で、90日の差が認められた。

蛋白溶解率やpHの変動から、一般的なアミノ酸の生成は30°C区が25°C区より速く、量も多いと推測された。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^{11,12)}。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。

5. HEMFの生成と色調Y(%)の変化

Blankら¹⁶⁾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¹⁷⁾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¹⁸⁾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^{19,20)}についても著者らと同様の提案をしている。

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⁹⁾。そこで、第6図に仕込み直後から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300gと700gの味噌間で約3%の差が認められた。これは300gの場合蒸し時間が、700g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25°C区より、30日目を降Y%は著しく低下しており、アミノカルボニル反応が急速に進行したと判断された。

HEMFは、30°C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日目を降の急激な低下との関連が示唆された。一方、25°C区ではHEMFは120日目までゆるやかに生成した。30°C区の60日目のY値は18.0%と21.3%、25°C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、低下する速度が速い場合に生成量が多くなると推測された。

6. おわりに

味噌は原料として用いる麴の種類、味、色の濃淡によって多種類存在する。これらの味噌はそれぞれ特徴的な香りを持っており、それゆえ、味噌の香気成分組成は複雑になっている。そこで、共通で用いられる大豆の加熱処理条件や麴の原料、仕込後の温度管理や熟成期間等の製造工程が各種味噌の香気形成へ及ぼす影響について明らかにした。特に、赤色系・辛口・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気成分形成への影響を検討したところ、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。赤色系・辛口・米味噌の各種香気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気成分の一つであるmethionolの濃度は全期間を通して熟成温度25°Cでやや高く推移した。これら香気成分の熟成中の消長には、前駆物質となるアミノ酸の生成と関連する蛋白溶解率やpHの変動よりも、醸造に使用された酵母の性質の影響が大きいことが示唆された。特有香気成分のHEMFは熟成温度30°Cで形成量が多く、他の主な香気成分の熟成中の消長と大きな相違が認められ、独自の生成機構を持つ化合物であると推測された。熟成中のHEMFの生成は色調Y(%)の変化と関連があり、熟成中のアミノカルボニル反応の進行に影響されることが示唆された。

以上のように、味噌の香気にとって重要な香気成分の熟成中の変動が明らかになったが、実際の味噌の品質には、多数の香気成分のバランスが最も重要であることは言うまでもない。得られた結果が多少なりとも、実際の味噌醸造に生かされ、香りの優れた、機能性の高い製品が醸造されることを願っている。また、本研究室では、発酵型熟成味噌と醤油の共通する特有香気成分であるHEMFの前駆物質の推定と酵母の役割について研究を継続しており、生成機構の解明をさらに進めたいと考えている。そして、より消費者の嗜好に合った香気を有する味噌の製造に貢献し、日本の優れた大豆発酵食品である味噌の消費拡大につなげていければ幸いである。

終わりに臨み、本稿をまとめる機会をお与え下さいました好井久雄先生に感謝いたします。また、本研究にご協力下さいました宮城県味噌醤油共同組合高橋清氏、貴重なご助言を下さいました岩手大学櫻井米吉名誉教授に感謝いたします。 <岩手大学>

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: 日食工誌, **38**, 491 (1991)
- 3) 菅原悦子: 醸協, **86**, 411 (1991)
- 4) 海老根英雄: 味噌の科学と技術, **43**, 339 (1995)
- 5) 菅原悦子, 米倉裕一: 食科工, **45**, 323 (1998)
- 6) 菅原悦子: 醸協, **94**, 435 (1999)
- 7) 本間伸夫: 醸協, **82**, 471, 547 (1987)

- 8) 賀来由夏, 菅原悦子, 高橋 清: 食科工, **47**, 919 (2000)
 - 9) 今井誠一, 松本伊左尾: 味噌技術読本, 新潟県味噌工業協同組合連合会新潟県味噌技術会, 光進堂企画 (1990)
 - 10) 松本伊佐雄, 熊井啓治: 醸協, **93**, 932 (1998)
 - 11) 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)
 - 12) 高橋 清: 醸協, **92**, 241 (1997)
 - 13) 中台忠信: 香料, No. 200, 69 (1998)
 - 14) 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)
 - 15) 横塚 保, 佐々木正興, 布村伸武, 浅尾康夫: 醸協, **75**, 516, 717 (1980)
 - 16) I. Blank and L. B. Fay: J. Agric. Food Chem, **44**, 531 (1996)
 - 17) Sugawara, E., 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)
 - 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)
-