[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.64, No.2, pp.171~176, 1990]

異なる調製法によるみそ香気成分の比較

菅原悦子, 伊東哲雄*, 小田切 敏*

久保田紀久枝**, 小林彰夫**

(岩手大学教育学部, *岩手大学農学部, **お茶の水女子大学家政学部)

平成元年7月21日受理

Comparison of Miso Aroma Components in Preparations by Different Methods

Etsuko SUGAWARA, Tetsuo ITO*, Satoshi ODAGIRI*,

Kikue KUBOTA** and Akio KOBAYASHI**

Faculty of Education, Iwate University, Ueda, Morioka 020

**Department of Agricultural Chemistry, Iwate University, Ueda, Morioka 020*

***Laboratory of Food Chemistry, Ochanomizu University,*

Bunkyo-ku, Tokyo 112

The aroma concentrates of two varieties of miso (fermented soybeans paste) were prepared by vacuum distillation(VE), simultaneous distillation and extraction with ether (SDE-E) or dichloromethane (SDE-D), and adsorption by a porous polymer, Porapak Q(PA). The aroma concentrates by PA had a strong, heavy and sweet miso-like aroma and closely resembled the original aroma in sensory evaluations. The concentrates were analyzed by GLC and GC-MS. The identified constituents were almost the same by SDE-E, SDE-D and VE, but PA results were different. The major component by PA was maltol. Nine components containing 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone which were identified by PA have not been reported previously as aroma constituents of miso. PA were considered to be efficient method to study on the aroma of miso.

(Received July 21, 1989)

緒 言

みそはしょうゆと並ぶ日本の伝統的な大豆発酵食品である。しょうゆの香気成分については多種の化合物の存在が確認⁽¹⁾され、しょうゆの香気として重要な成分も明らかにされるなど詳細で多様な研究⁽²⁾がなされている。みその香気についても多くの研究があり⁽³⁻⁸⁾, 200 種に近い化合物の存在が明確になったが、しょうゆの研究に比較して香気成分の寄与について不明な点が多い。みそにとって香りはしょうゆと同様にその品質に重要な価値を持つにもかかわらず、研究が進まない理由の一つにみそが水分の比較的多い半固形状であることが挙げられる。みそは水を加えるとコロイド状となり、微量の香気成分を取り出すのはきわめて困難である。さらにみそ懸

濁液は加熱すると容易に香気が変化することが知られており、これらが香気成分の研究上の問題点となっている。また、みそは原料の大豆、米、麦の処理加工、原料配合、熟成管理(加熱、添加物、製造期間)などによって多くの種類があり、香気特性も多岐にわたっている。したがって、標準的な、あるいは望ましい香りについての評価の基準も不明確な点が多い。

みその香気を研究するには、みその種類による香気の違いを適正に再現し、香気成分研究上の問題点を克服した分離濃縮方法の確立が重要な課題であると考えられる。そこで、香気成分の分離抽出方法として広く利用されている連続蒸留抽出法、加熱の影響の少ない減圧蒸留法、加熱操作がなく、水溶液中の香気成分を回収できるポーラスポリマーを用いる吸着法^(9,10)の3法により香気濃縮

物を調製した。得られた香氣濃縮物は官能検査によりみその香氣の再現性を比較した。次いで各香氣濃縮物を GC および GC-MS 分析して、香氣成分を同定または推定するとともに、検出された成分数とその定量値を比較し、みその香氣成分の研究に適した方法を検討した。

実験方法

1. 試料 仙台みそ(S) (仙台味噌醤油社製)と岩手大農学部附属農場で生産されたみそ(G)の2種類を供試試料とした。Sは日本産の大豆を原料とし、原料の70%の米麴と12%となるように食塩を添加した天然醸造品で熟成期間は18カ月である。Gは蒸煮した大豆に煎って荒砕きした玄米を原料大豆の50%混合し、種麴を添加して麴を製造する。これに11%となるように食塩を加え、天然醸造で8カ月間熟成させた製品である。いずれも赤色辛口系のみそに分類される製品である。

2. 香氣濃縮物の調製 (1) 連続蒸留抽出法(SDE): 各みそ360gに蒸留水(脱イオン水を蒸留精製した水)1440mlを加えた20%の懸濁液を試料とした。これをLikens-Nickerson型連続蒸留抽出装置により、常圧下試料フラスコ内98~99°Cで3時間抽出した。抽出溶媒としてエーテルあるいはジクロルメタン各70mlを用いた。各抽出液に内部標準物質としてBHTを加え、無水硫酸ナトリウムで脱水後、常圧にて蒸留濃縮し香氣濃縮物とした。抽出溶媒をエーテルとした場合をSDE-E、ジクロルメタンをSDE-Dとする。

(2) 減圧蒸留法(VE): 各みそ100gに蒸留水400mlを加えた20%懸濁液を試料とした。これをロータリーエバポレーターで回転しながら、40°Cの湯浴上43mmHgの減圧下で蒸留を行い、留出液は氷-食塩で冷却したトラップ管で捕集した。塩析後香氣成分をエーテル50mlで4回抽出した。エーテル抽出液を合わせ、SDEと同様に処理して香氣濃縮物を得た。これをVEとする。

(3) Porapak Q吸着剤による吸着法(PA): 各みそ60gに蒸留水240mlを加え20%懸濁液を調製後、5°C、3000rpmで15分間、遠心分離した。この上澄液を試料とし、精製したPorapak Q吸着剤3gを充填したガラスカラム(内径1cm×高さ11cm)に1ml/minの流速で流し、香氣成分を吸着剤に吸着させた。吸着された香氣成分は100mlのエーテルを1ml/minで流し、溶出させた。エーテル溶出液はSDEと同様に処理して香氣濃縮物を得た。これをPAとする。

(4) Maltolの回収実験: Maltolは蒸留水で50ppmの水溶液とし、SDE-E、SDE-D、PAの試料とした。分離濃縮条件はそれぞれみそ懸濁液の場合と同様である。

各調製方法による実験は3回繰り返して行った。

3. 香氣濃縮物の官能検査 試料Sから4法で得られた香氣濃縮物について食物学研究室のパネル7名による官能検査を実施した。使用したみその香氣特性に最も近い香氣濃縮物を1位とする順位法によって行い、結果はクレーマーの検定により有意差を判定した。

4. 香氣成分の分離・同定 ガスクロマトグラフ(GC)および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。化合物の同定は文献値のマス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。分析条件を以下に示す。

(1) GC: 島津GC-14A型ガスクロマトグラフ。検出器:FID。カラム:化学結合型シリカキャピラリーカラムDB-WAX(ϕ 0.25mm×30m, 0.25 μ m film)。オープン温度:40°C(5min hold)→200°C(3°C/min)。キャリアーガス:He, カラム内流速0.8ml/min。ピーク面積計算は島津クロマトパックC-R2Aによった。

(2) GC-MS: HITACHI G 3000 ガスクロマトグラフ直結 HITACHI M-2000 マススペクトロメーター。イオン化電圧:70eV。カラム:化学結合型シリカキャピラリーカラム Supelco wax 10(ϕ 0.25mm×30m, 0.25 μ m film)。オープン温度:40°C(5min hold)→200°C(3°C/min)。MSデータ処理:HITACHI M-0201形システム。

結果および考察

1. 香氣濃縮物の官能検査

4法で得られた香氣濃縮物の順位法による官能検査の結果をTable Iに示した。これより、PAが他の方法よ

Table I. Ranked Data of Aroma Concentrates of Miso

Sample	PA	SDE-E	SDE-D	VE
Rank sum	11	15	16	28
Determining significance	*			**

$t=4$ (samples), $n=7$ (panelists).

* Significance at the 5% level.

** Significance at the 1% level.

Table II. Constituents of Aroma Concentrates from Miso (fermented soybeans paste)*

Compounds	SDE-E		SDE-D		VE		PA	
	S	G	S	G	S	G	S	G
Aliphatic alcohols								
ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+
1-propanol	3.16	—	—	—	0.08	+	—	—
2-methyl-1-propanol	6.39	—	0.84	0.93	1.31	0.34	0.43	0.04
1-butanol	7.24	—	1.02	0.13	3.99	0.08	0.71	—
3-methyl-1-butanol	18.91	+	4.22	4.73	4.98	1.58	1.74	0.12
1-pentanol	—	0.07	0.04	—	—	—	—	+
1-hexanol	0.10	+	—	—	—	+	—	—
2-heptanol	—	—	—	—	—	—	+	—
3-octanol	0.04	—	—	—	—	—	—	—
Aliphatic aldehydes								
(E)-2-butenal	—	+	—	—	—	—	—	—
2-methylbutanal	+	+	+	—	+	—	—	—
3-methylbutanal	+	1.04	+	—	—	—	0.08	0.09
(E)-2-pentenal	—	+	—	—	—	—	—	—
hexanal	—	0.04	—	—	—	—	—	—
2,4-decadienal	—	+	—	—	—	—	—	—
myrtenal*	—	—	—	—	—	—	+	—
Aliphatic ketones								
2-pentanone	—	—	—	—	—	—	—	+
2-methyl-3-pentanone	—	—	—	—	—	—	0.35	0.18
3-hydroxy-2-butanone	—	+	—	—	—	—	+	—
2,3-butanedione	—	—	—	—	—	—	—	+
Aliphatic ethyl ester								
ethyl acetate	0.95	0.30	—	—	—	—	+	+
ethyl propanoate	+	—	—	—	—	—	+	—
ethyl butanoate	+	—	—	—	—	—	+	—
ethyl hexanoate	0.02	—	0.21	—	—	—	+	—
ethyl octanoate	0.19	0.07	0.03	—	—	—	0.08	—
ethyl tetradecanoate	0.57	0.04	0.50	0.26	0.20	0.08	+	+
ethyl pentadecanoate	0.34	+	0.05	—	0.03	+	—	—
ethyl hexadecanoate	7.03	0.06	0.21	5.90	1.68	0.76	2.63	0.46
ethyl octadecanoate	—	—	+	—	+	0.05	+	+
ethyl (Z)-9-octadecenoate	+	+	6.01	1.85	0.99	—	2.27	+
ethyl (Z,Z)-9,12-octadecadienoate	9.45	+	8.12	5.11	1.57	0.10	3.41	+
ethyl (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoate	11.22	+	0.87	1.33	—	0.01	+	+
Other esters								
butyl acetate	0.63	—	—	—	—	—	+	—
2-methylpropyl acetate	+	—	—	—	—	—	+	—
2-methylbutyl acetate	+	—	0.16	0.13	—	0.03	—	—
1-hexyl acetate	—	—	—	—	—	—	0.03	—
methyl 2-methylpropanoate	+	—	0.03	—	—	—	—	—
methyl hexadecanoate	—	+	0.21	—	—	—	—	+
Aliphatic acids								
acetic acid	0.28	—	—	—	—	0.31	0.08	0.81
3-methylpropanoic acid	—	—	—	—	—	—	0.02	0.22
3-methylbutanoic acid	—	—	—	—	—	0.06	—	4.30
2-methyl-2-butenic acid	—	—	—	—	—	—	—	0.93
pentanoic acid	—	—	—	—	—	—	0.20	—

Compounds	SDE-E		SDE-D		VE		PA	
	S	G	S	G	S	G	S	G
hexanoic acid	—	—	—	—	—	—	0.24	—
Aromatics								
benzyl alcohol	—	—	—	—	—	0.03	—	—
2-phenyl-1-ethanol	2.06	—	0.40	0.30	0.77	0.22	1.09	—
benzaldehyde	0.22	0.06	0.11	0.06	0.35	0.03	—	0.09
phenylacetaldehyde	+	1.33	0.04	0.37	0.07	—	—	+
2-phenyl-2-butenal	0.18	0.03	0.24	0.17	0.20	0.10	+	+
methyl phenyl ketone	—	—	—	—	—	—	+	—
ethyl benzoate	7.43	+	3.10	—	0.44	1.18	+	—
ethyl phenylacetate	0.15	—	0.05	0.09	0.04	0.06	+	—
2-phenylethyl acetate	0.15	—	0.06	0.13	0.06	0.08	—	—
phenol	—	—	—	—	0.05	—	—	—
2-methoxyphenol	—	—	—	—	—	0.11	—	+
2-methoxy-4-vinylphenol	—	—	—	0.30	—	+	—	+
benzoic acid	—	—	—	—	—	—	0.13	+
Furans								
furfuryl alcohol	0.01	0.05	—	1.37	—	0.06	0.06	—
furfural	1.39	0.71	0.59	1.47	0.05	0.02	+	+
5-methyl-2-furfural	0.28	0.05	0.19	0.16	0.04	0.03	—	+
acetylfuran	0.04	0.03	—	0.15	—	—	—	—
2-ethyl-3-hydroxyfuran*	0.12	+	—	0.13	—	0.04	—	—
Nitrogen and/or sulfur compound								
pyridine	—	0.01	—	—	—	—	—	—
methylpyrazine	—	+	—	+	—	—	—	—
2,5-dimethylpyrazine	—	—	—	—	—	—	—	+
2,5-dimethyl-3-ethylpyrazine	—	—	—	—	—	—	—	+
2-acetylpyrrole	0.26	0.11	0.11	0.39	—	0.05	0.12	—
4-hydroxypyrimidine*	+	—	—	—	—	—	—	—
3-methylthiopropional	—	—	—	—	—	0.11	—	—
3-methylthiopropanol	0.14	—	+	—	—	—	0.04	—
2-ethoxythiazol*	0.11	—	0.01	—	0.07	—	+	0.05
Others								
maltol	—	—	—	—	—	—	2.14	10.91
2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2 <i>H</i>)-furanone	—	—	—	—	—	—	0.11	0.07
3-methyl-2(5 <i>H</i>)-furanone*	—	—	—	—	—	—	0.04	—
4-butanolide	—	—	—	—	—	—	—	+
undecane	—	—	—	—	—	—	+	—
naphthalene	—	—	—	—	—	—	+	—
2-methyl-1-octene*	—	—	+	—	—	—	—	—

* ppm in Miso.

* Tentatively identified.

りも 5% の危険率で有意に元の香気に近いことが判明した。

2. 分離濃縮方法による同定成分の比較

各分離濃縮方法で同定または推定された化合物を Table II に示した。各成分の定量値は内部標準物質とのピーク面積比から算出した。香氣濃縮物の収量は PA が 95 mg/生みそ 100 g で最も高く、以下 SDE-E 15 mg/

100 g, SDE-D 11 mg/100 g, VE 12 mg/100 g であった。

蒸留法の SDE と VE では香氣濃縮物の収率において差はなく、同定または推定された成分もほとんどが共通していた。各香氣成分の回収率は SDE-E が SDE-D, VE より若干高かった。

PA は抽出の際加熱操作がなく、揮発成分の蒸留を行わない点で他の 2 法とは異なる。そのため PA では香氣

収率も高く、同定された成分も他の方法によるものと大きな相違があった。他の方法と共通する化合物 36 種に加えて PA においてのみ同定された成分は両試料あわせて 18 種あり、そのうち 2-heptanol, 2-pentanone, 2-methyl-3-pentanone, 1-hexyl acetate, 2-methyl-2-butenic acid, methylphenylketone, 2,5-dimethyl-3-ethylpyrazine, 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanone, 4-butanolide の 9 種はみそから初めて同定されたものである。また、PA では maltol が 2 種のみそのいずれでも量的に主要な香気成分であったが SDE, VE では全く検出されなかった。さらに PA では 3-methyl propanoic acid をはじめ 6 種の低級の有機酸が同定されたが、SDE, VE では acetic acid と 3-methyl butanoic acid の 2 種であり量的にも少なかった。SDE では水あるいは水溶液中の共存成分に対して親和性の高い成分の回収が悪いといわれている⁽¹¹⁾。PA ではこのような影響が少ないために上記成分の回収が優れていたと考えられる。

SDE では加熱香気の代表的な成分であるフラン化合物が 4 種と acetylpyrrole が同定された。VE でも SDE より少量であったが、これらほとんどの成分が検出された。これに対して抽出の際加熱することがない PA ではこれらの加熱香気成分は数も少なく、きわめて少量であった。また、みそ汁を加熱した時に生成すると報告されている⁽⁶⁾低級脂肪酸アルデヒド類は SDE では 5 種同定されたが、VE, PA ではそれぞれ 1 種のみであった。したがって SDE においては蒸留中に加熱香気が生じたと考えられる。PA は加温することなく香気成分を回収でき、加熱香気の生成がないという点でも優れていると考えられた。

SDE では量的な主要成分は低級脂肪酸アルコール類と芳香族のアルコール、アルデヒド、エステルであったが、PA ではこれら化合物は不検出または低い値を示した。これら低級脂肪酸アルコール類、芳香族化合物は SDE の操作中に生じたとは考えにくく、これら成分の回収に関しては SDE が PA より効果的であると考えられた。

3. Maltol の回収実験

Maltol は PA では主要な香気成分として同定されたが、他の 2 法では全く検出できなかった。そこで SDE-E, SDE-D, PA で maltol の回収率を求めた。その結果、PA は 48.03% であるのに対し SDE-E は 0.03%, SDE-D は 0.13% であった。したがって maltol は

みその香気成分として多量に存在することがより明確になった。maltol は水あるいはみそ懸濁液中の種々の成分との親和力が強く SDE では検出されなかったものと考えられる。また、maltol は加熱香気の代表的な成分であるが、試料みそには加熱殺菌の工程はなく、その生成経路にも興味を持たれる。

4. 分離濃縮方法と香気特性の関係

PA で得られた香気濃縮物が最も元のみその香気に近く、とくに特徴的な甘いにおいの強い理由としては、maltol が多量に存在したこととともに関値の低い 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanone の存在が考えられる。また、有機酸は多量に存在する場合にはみその香りを損なうといわれているが、適量存在する場合には香りに深みをだし、PA の香気濃縮物が強いみそ様香気を呈した一因になっていると推察された。このようにみその香気にとって重要な役割を果たすと考えられる成分が PA では効率よく回収されることが判明した。

下田ら⁽⁹⁾は市販のビールの香気成分の濃縮にポーラスポリマーカラム法と減圧連続蒸留抽出法を比較し、前者が酸性およびフェノール性画分、塩基性画分の回収に優れ、任意に選ばれたピークの再現性も良かったと報告している。みその香気捕集においてもほぼ同様な結果であり、ポーラスポリマーカラム法がみその香気成分研究には非常に有効であると判断された。しかし、SDE が PA より回収率で優れている香気成分もあり併用して多面的に解析するとより効果的であろうと考えられた。

要 約

みそは水を加えるとコロイド状となり、微量の香気成分を取り出すのに困難であるうに、加熱により香気容易に変化する。そこで、香気分離濃縮方法を検討するために連続蒸留抽出法で抽出溶媒をエーテルとジクロルメタンの 2 種を用いた方法、減圧蒸留法、Porapak Q 吸着剤を用いる吸着法の 4 法を比較した。2 種のみそを用いて香気再現性を官能検査と比較するとともに、GC, GC-MS により香気成分の分離、同定を行い、特徴的な成分について定量的な検討も行った。

(1) 得られた香気濃縮物はすべてみそ様の香気を持っていたが官能検査の結果、PA が香気再現性において最も優れていた。

(2) PA では 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanone を含む 9 種の成分がみそから初めて同定された。

また他の2法では検出されなかった maltol が2種のみ
そこに共通して主要成分となっているなど他の方法で得ら
れた香気濃縮物の成分組成とは相違点が多かった。

(3) SDE-E, SDE-D, VE では低級脂肪酸アルコール、および芳香族化合物が多種類検出されたが、PA ではこれら成分の回収は低かった。

(4) みその香気研究には香気の再現性がよく、加熱香気の形成がなく、しかも水あるいは水溶液中の共存成分の影響が少ない PA が最も優れていると考えられる。また低級脂肪酸アルコール、芳香族化合物の回収率の高い SDE を併用するとさらに有効である。

本研究は文部省科学研究費(奨励 A, 課題番号: 62780097)によって行ったことを記し、謝意を表します。

また、本研究を行うにあたり、御助言を賜りました岩手大学櫻井米吉先生に深く感謝いたします。試料を御提

供くださいました仙台味噌醤油株式会社にお礼申し上げます。

- (1) 横塚 保, 佐々木正興, 布村伸武, 浅尾保夫: 醸協, **75**, 516, 717 (1980).
- (2) 相島鐵郎: 化学と生物, **20**, 460 (1982).
- (3) 本間伸夫: 醸協, **82**, 471, 547 (1987).
- (4) 安平仁美: 醸協, **75**, 506 (1980).
- (5) 本間伸夫, 渋谷歌子, 石原和夫, 岡田玲子: 家政誌, **24**, 259 (1973).
- (6) 岩淵せつ子, 柴崎一雄: 日食工誌, **20**, 48 (1973).
- (7) 森 隆, 木内 幹: 醸協, **80**, 274 (1985).
- (8) N. Nunomura, M. Sasaki and T. Yokotuka: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1361 (1979).
- (9) 下田満哉, 平野好司, 箆島 豊: 分化, **36**, 792 (1987).
- (10) 鷲野由紀, 久保田紀久枝, 小林彰夫: 家政誌, **40**, 265 (1989).
- (11) 箆島 豊: 日食工誌, **36**, 609 (1989).