

## 醤油中のアミノ酸に関する研究

(第2報) 天然醸造諸味における主要アミノ酸の消長

藤原耕三・徳田 陸・難波敦子

### Studies on Amino Acids in Japanese Soy Sauce (II) Changes in the Amounts of the Main Amino Acids during Ordinary Mash Process

Kozo Fujiwara (Dept. Ferment. Techn., Facult. Engin., Osaka Univ.),  
Mutsumi Tokuda and Atsuko Nanba (Osaka Joshigakuen Junior College)

Change in quantities of free arginine, glutamic acid, glycine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine and valine during the mash process of soy sauce was studied by microbioassay.

Results obtained were as follows: Considerable amounts of free arginine disappeared in the course of maturation of the mash.

The amounts of free isoleucine, leucine, methionine and phenylalanine steadily increased in the course of maturation ranged between the beginning of mash process and 396th day, while free glutamic acid, glycine, lysine and valine showed mixima.

In 47 day-mash, the ratio of each free amino acid to the total corresponding amino acid content of the acid hydrolyzate of the mash was found to be about 45% in regard to many amino acids estimated.

However, higher ratio was found with regard to lysine and the ratios concerning glutamic acid and leucine were somewhat lower.

The above-mentioned ratio was about 68% in the mash aged for 396 days, while glutamic acid showed lower ratio, and with arginine, the ratio was less than 20%.

## 緒 言

醤油諸味は約1ヶ年熟成される。この間に原料蛋白質からアミノ酸が遊離されるものと考えられている。しかし、諸味中における遊離アミノ酸の動向は決して単純なものではないはずである。古く有働氏<sup>1)</sup>は長期熟成諸味では遊離グルタミン酸が減少することを認め、また石塚氏等<sup>2)</sup>も諸味中の遊離グルタミン酸の消長を検討して仕込後10ヶ月頃に最大値を示すことを報告している。堀氏等<sup>3)</sup>は醤油諸味では原料蛋白質から遊離されたグルタミン酸及びグルタミンが逐次ピログルタミン酸に変化することを述べている。また著者<sup>4)</sup>等の測定した生場醤油中の遊離アルギニン量に極めて少ないものであり、原料蛋白質からの遊離が充分行なわれないか、あるいは一度遊離されたアルギニンが消失することが示唆された。このように醤油諸味中の各アミノ酸の動向は複雑であるが諸味熟成中の各種アミノ酸の消長はほとんど明らかにされていない。そこで著者等は天然醸造諸味におけるアルギニン、グルタミン酸、グリシン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェルニルアラニン、パリンの消長を検討したので報告する。

なお醤油醸造時におけるアミノ酸の変化については仕込直後に著しいものがあるが、本研究では同一試料で同時に有機酸、無機成分等の諸成分の変化についても上田氏等<sup>5)6)</sup>が検討を試みたものであり、主として長期熟成中の各種アミノ酸の消長に主眼を置いた。

## 実 験 の 部

### I 実験方法

#### i) 試料及び試料の調整

実験は昭和32年11月4日及び5日仕込の3本の諸味について行なった。これら諸味はいずれも同一条件で管理されたもので仕込方法は次の通りである。脱脂大豆130kg、小麦90kg、蕎麦40kg、蒸煮は撒水120~125%行ない、13lb、40分間加熱後650mmHgにて30分間冷却した。

試料の採取は仕込桶内の異なる位置11カ所から行なった。各々約1lの諸味を

採取し、これを混合攪拌したものをその時期の諸味とみなした。

従来諸味の各種成分分析を行なう場合、諸味をそのまま濾過しその濾液の一定量について行なう方法がとられている。しかしこの方法では諸味の固形分については考慮されていないから、この方法で求めた分析値は諸味濾液中の各種成分の濃度を示すことになり各種成分の消長を検討するという見地からすれば適当でない。そこで著者等は諸味一定重量当りの水溶性区分の遊離アミノ酸の変化を検討した。すなわち先の方法で採取した諸味 300g を秤量し、これを小型手動圧搾機にて圧搾し、3 回水洗して全容量を 750ml としたものを試料とした。本法では諸味の水溶性成分の浸出は完全とはいえないが一般醤油製造時の条件を考え併せて極端な条件での浸出を避けた。諸味抽出液を更に稀釈して 1/20 稀釈液を作製し、これを試験管内に封入し常法により蒸気殺菌を施した後アミノ酸定量用試料とした。

なお従来の分析値と比較するため、一般分析用試料として諸味の濾液も作製した。

## ii) 分析方法

一般分析は常方によった。個々のアミノ酸の定量は総てバイオアッセイによったその詳細は前報<sup>4)</sup>の通りである。

## II 結果及び考察

本実験を行なった 3 種の諸味の最終的な一般分析結果を示すと Table 1 の通りである。No. 1 は仕込後 395 日の、No. 2 及び No. 3 は仕込後 396 日の

Table 1. Composition of soy sauces obtained from mash after 396 days fermentation.

	Specific gravity (Bé)	Sugar * **	Total nitrogen *	Amino nitrogen *	pH	Alcohol*	Extract*	Sodium chloride *
No. 1	22.70	2.90	1.41	0.977	4.6	1.62	17.97	18.18
No. 2	22.48	2.65	1.41	0.965	4.6	1.56	17.10	18.33
No. 3	22.85	2.96	1.41	0.972	4.6	1.42	18.31	18.21

\* Expressed in g/100ml.

\*\* Expressed as glucose.

諸味の一般分析結果である。また Table 1 の分析結果は諸味の濾液について行なったものである。

諸味熟成中の各種アミノ酸の消長は Table 2 乃至 Table 4 に示した。表中アミノ酸量は総て L-型で示してある。

アルギニン：醤油諸味熟成中の水溶性遊離アルギニンの消長は極めて特異であって、仕入後47日の諸味中には約 2 mg/g 乃至それ以上の存在が見られるが以後相当急激に減少し、仕込後 109 日では No. 1 では約 0.7mg/g, No. 2 及び No. 3 では 0.3mg/g となった。No. 1 における消長は他とやや異なるが 109 日以後の諸味中の水溶性遊離アルギニン量は仕込後 237 日迄ほとんど変化なくその後僅かに増加して仕込後 396 日には 0.8mg/g となった。著者等は先に醸造醤油中のアルギニン量はその原料中のアルギニン量に比べて極めて少ないことを認めたが、その原因は諸味熟成中に一度遊離されたアルギニンが消失することにある。諸味熟成中に一度遊離したアルギニンの消失する量は決して少ないものでなく、且つ仕込桶によって減少する時期が一定しないことにより諸味中に存在する微生物によって資化されるものと考えられる。

グルタミン酸：仕込後47日の諸味中には約 8 mg/g の水溶性遊離グルタミン酸が存在し、その後 172 日迄は大した変化は認められなかつた。仕込後 172 日～237 日において約 1.5 mg/g の増加が認められたが、この期間は季節の上では 5～7 月に相当する。アミノ態窒素の増加は 268 日以後に相当みられるが、この時期にはグルタミン酸の増加はなくそれより早い時期に増加が認められた。

石塚氏等<sup>2)</sup> はオルコット法によって諸味中のグルタミン酸の定量を行ない、仕込後10ヶ月で最高値を示すことを認めているが、著者等の実験結果も同様である。

仕込後 47 日以後における諸味中の遊離グルタミン酸の増加量は比較的少なく、仕込後47日の諸味中に存在した量の20%程度が増加するに過ぎなかった。

グリシン：仕込後47日の諸味には約 2.5 mg/g の水溶性遊離グリシンが存在

Table 2. Changes in the amounts of the main amino acids during the ordinary mash process (No.1).

Aging (Days)	Total volume of mash (koku)	mg per lml of filtrate of mash			mg per lg of mash									
		Total nitrogen	Amino nitrogen	Total nitrogen	Total nitrogen	Amino nitrogen	Arginine	Glutamic acid	Glycine	Isoleucine	Leucine	Lysine	Methionine	Phenylalanine
47	27.132	11.38	7.33	8.53	6.30	1.98	8.83	2.55	2.23	2.94	2.66	0.71	1.93	2.14
81	26.898	11.69	8.40	8.67	7.05	0.84	7.80	2.43	2.20	3.48	2.52	0.70	1.88	2.18
109	27.016	11.80	7.92	7.53	6.55	0.24	8.61	—	2.28	3.18	2.44	0.72	1.74	2.28
148	—	12.63	8.55	9.18	6.15	0.26	—	2.13	2.38	2.91	2.58	0.87	2.02	2.35
172	26.840	12.45	8.38	8.65	—	0.26	8.83	2.25	2.33	2.88	2.70	0.86	2.05	2.32
207	26.840	12.99	8.92	8.50	6.72	0.26	—	2.72	2.40	3.21	2.58	0.78	2.07	2.40
237	26.722	12.81	8.20	9.37	6.37	0.34	8.62	2.60	2.40	3.09	2.72	0.90	2.22	2.55
268	26.487	13.34	8.62	10.50	6.45	0.54	10.31	3.00	2.90	3.99	2.96	0.96	2.25	2.29
299	26.134	14.08	9.04	10.93	7.03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
338	25.899	14.38	8.86	11.30	—	0.78	10.15	3.20	3.05	3.99	3.16	1.05	2.51	3.21
366	25.958	14.17	9.25	10.88	8.60	0.72	9.94	2.88	2.95	4.23	3.24	1.11	2.62	3.20
396	25.664	14.07	9.65	11.45	8.57	0.75	10.09	2.92	3.15	4.29	2.90	1.25	2.67	2.95

Table 3. Changes in the amounts of the main amino acids during the ordinary mash process (No.2).

Aging (Days)	Total volume of mash (koku)	mg per lml filtrate of mash		mg per lg of mash											
		Total nitrogen	Amino nitrogen	Total nitrogen	Amino nitrogen	Arginine	Glutam- ic acid	Glycine	Isoleu- cine	Leucine	Lysine	Methio- nine	Phenyl- alanine	Valine	
48	26.076	11.44	7.26	8.30	5.85	1.87	8.29	2.43	2.18	2.58	2.60	0.71	1.93	2.03	
82	25.668	10.84	7.72	8.83	6.98	0.99	7.90	2.37	2.35	3.15	2.54	0.68	1.85	2.16	
110	25.956	11.80	7.93	9.13	6.65	0.30	9.25	2.55	2.28	3.18	2.78	0.80	1.98	2.35	
149	—	12.64	8.13	9.18	6.52	0.32	—	2.28	2.15	2.91	2.80	0.89	2.13	2.36	
173	25.610	12.50	8.44	9.27	—	0.31	8.38	2.19	2.30	2.85	2.62	0.88	2.05	2.36	
208	25.490	12.67	8.67	9.30	7.00	0.31	—	2.76	2.48	3.66	2.86	0.84	2.13	2.59	
238	25.375	12.94	8.29	9.87	6.93	0.39	9.60	3.00	2.65	3.78	2.80	0.90	2.25	2.83	
269	25.142	13.47	8.65	10.25	6.94	0.51	9.58	2.92	2.75	3.84	2.96	0.95	2.32	2.89	
300	24.909	13.97	9.00	11.20	9.60	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
338	24.617	14.42	8.87	11.52	—	0.19	—	2.92	3.10	4.23	3.10	0.96	2.44	3.05	
366	24.733	13.92	9.27	10.52	8.65	0.72	9.62	2.84	2.90	4.17	3.04	1.02	2.40	3.02	
396	24.383	14.05	9.72	11.47	8.67	0.72	9.87	3.00	3.08	4.47	2.82	1.19	2.62	2.99	

Table 4. Changes in the amounts of the main amino acids during the ordinary mash process (No.3).

Aging (Days)	Total volume of mash (koku)	mg per lml of filtrate of mash		mg per lg of mash										
		Total nitrogen	Amino nitrogen	Total nitrogen	Amino nitrogen	Arginine	Glutamic acid	Glycine	Isoleucine	Leucine	Lysine	Methionine	Phenylalanine	Valine
47	27.173	11.2	7.1	8.5	6.1	2.64	8.23	2.46	2.13	2.88	2.56	0.68	2.00	2.01
81	26.875	11.6	8.1	9.2	7.7	2.13	8.81	2.46	2.38	3.24	2.64	0.75	1.84	2.31
109	26.994	11.5	7.4	8.8	6.1	0.68	8.91	2.34	2.38	3.21	2.68	0.74	1.93	2.33
148	—	12.2	7.6	9.3	6.7	0.88	—	2.37	2.75	3.63	2.54	0.73	1.85	2.44
172	26.935	12.3	8.0	8.9	—	1.71	9.17	2.34	2.45	3.06	2.76	0.91	2.22	2.41
207	26.794	13.2	8.8	8.9	6.9	0.93	—	2.44	2.38	3.27	2.58	0.73	1.95	2.35
237	26.875	12.7	8.4	9.7	6.7	0.37	10.19	2.52	2.68	3.75	2.92	0.98	2.37	2.76
268	26.934	13.5	9.0	10.8	6.5	0.42	10.35	2.88	2.90	4.11	2.94	0.93	2.24	3.07
299	26.458	14.1	9.2	11.3	8.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
337	26.220	14.5	9.24	11.5	—	0.69	10.30	2.98	2.83	4.26	3.24	1.05	2.88	3.23
365	26.279	14.1	9.74	11.4	8.4	0.66	9.91	3.04	3.15	4.68	3.20	1.14	2.70	3.21
395	25.982	14.1	9.77	13.1	1.00	0.78	11.60	3.36	3.55	5.28	3.16	1.36	3.14	3.38

し、その後 147 日迄はほとんど増加しないか稍減少する傾向を示した。しかる後仕込後 172 日乃至 237 日に約 0.5 mg/g 増加し 3 mg/g 程度となり、以後は大きな変化を示さなかった。グリシンもまたアミノ態窒素の増加の大きい時期より早い時期に増加しこの点はグルタミン酸の消長と類似している。

イソロイシン：仕込後 47 日の諸味中には約 2.2 mg/g の水溶性遊離イソロイシンが存在し、以後 395 日に至る全実験期間を通じて徐々に増加した。仕込後 395 日の諸味中に存在する水溶性遊離イソロイシン量は約 3.1 mg/g であり、この期間に仕込後 47 日の諸味中に存在したイソロイシンの約 50% が増加した。

ロイシン：仕込後 47 日の諸味中に存在する水溶性遊離ロイシンは約 2.8 mg/g であり、仕込後 81 日で 3.2 mg/g 程度に増加した。その後はほとんど増加しない時期があり、200 日経過後に再び明らかな増加がみられ、仕込後 396 日の諸味には 4.5 mg/g 乃至それ以上の水溶性遊離ロイシンが認められた。仕込後 47 日以後の増加量は仕込後 47 日の諸味中に存在する量の 60% に達する大きいものであった。

リジン：仕込後 47 日の諸味中には約 2.6 mg/g の水溶性遊離リジンが存在し、その後ほとんど増減の認められない状態が仕込後 237 日迄続いた。仕込後 237 日以後は諸味品温の最も高い時期であったが、この時期に僅かな増加が認められた。しかしその増加量は大きいものでなく、仕込後 338 日に 3.2 mg/g 程度となり、その後は減少して仕込後 396 日には 3 mg/g となった。諸味中の遊離リジンは仕込後 11ヶ月頃に最大となるようである。仕込後 47 日以後における遊離リジンの増加量は他のアミノ酸に比べた場合僅少であり、仕込後 47 日以後 396 日に至る間の増加量は仕込後 47 日の諸味に存在した量の 20% 程度である。

メチオニン：メチオニンの消長はリジンのそれとは全く反対に仕込後 47 日の諸味中には約 0.7 mg/g 程度に存在するものが 396 日を経過する迄増加して 1.2 mg/g 乃至それ以上に達した。この間の増加量は仕込後 47 日の諸味中に存在した量の 60% に達する大きいものであった。しかも実験期間中にリジンにみ



られたようなピークが存在しないのみかむしろ仕込後11ヶ月以後の増加が著しい傾向を示した。

フェニルアラニン：仕込後47日の諸味には約 2 mg/g の水溶性遊離フェニルアラニンが存在し仕込後 396 日に約 2.8 mg/g に達する迄測定全期間を通じて徐々に増加した。その消長はイソロイシンのそれと類似するものであった。仕込後47日以後 396 日に至る間の増加量は仕込後47日の諸味に存在した量の約40%に相当した。

バリン：水溶性遊離バリンは仕込後47日経過諸味では約 2 mg/g 存在した。

その後仕込後 109 日迄に約 0.2 mg/g の増加が認められたがそれ以後は仕込後 172 日に至る迄ほとんど変化を示さなかった。仕込後 207 日に至って急激な増加を示し、仕込後 268 日には 3 mg/g に達した。この期間は 6～8 月に相当し諸味品温の上昇する時期である。しかし仕込後 268 日以後は再び大きな変化が認められず、諸味中の水溶性遊離バリンは仕込後10ヶ月前後で最大量に達することが示された。仕込後47日乃至 396日に至る間の増加量は仕込後 47日の諸味に存在した量の約50%であった。

Table 5. The ratio of each free amino acid to the corresponding total amino acid in the mash.

Amino acid	Total amino acid in the mash* [A] (mg/g)	Free amino acid in the mash after 46 days fermentation		Free amino acid in the mash after 369 days fermentation	
		Content of free amino acid [B] (mg/g)	$\frac{[B]}{[A]} \times 100$	Content of free amino acid [C] (mg/g)	$\frac{[C]}{[A]} \times 100$
Arginine	4.15	2.19	52.0	0.75	18.1
Glutamic acid	20.4	8.45	41.4	10.52	51.5
Isoleucine	4.69	2.18	46.5	3.26	69.7
Leucine	7.03	2.80	39.9	4.64	66.2
Lysine	4.37	2.61	59.7	2.96	68.0
Phenylalanine	4.19	1.95	46.5	2.81	68.0
Valine	4.91	2.08	42.5	3.19	68.5

\* The mash after 47 days fermentation was hydrolyzed by hydrochloric acid to estimate total amino acid content.

以上諸味の遊離アミノ酸の消長について述べたが、次に原料利用率を比較する意味において諸味の酸分解物に含まれる各種アミノ酸に対するそれぞれの遊離アミノ酸の比率を求めたのが Table 5 である。Table 5 中全アミノ酸として示した量は47日経過諸味の酸分解物中のアミノ酸量を示してある。したがって仕込後 396 日の諸味における遊離態の比率はその時期における諸味中の分布を示すものではない。

アルギニンは47日経過諸味では遊離態が全アルギニンの52%に相当し他のアミノ酸の比率に較べて高かった。しかし先に述べたように諸味中ではアルギニンは消失するものであり、47日経過諸味において存在するアルギニン量が原料中に存在した全アルギニンよりも若干減少している可能性はある。事実前報に述べた原料中のアルギニン量から計算値として求めてみるに、諸味 1 g 当たり約 5 g となって実測値 4.15 mg/g は若干低い値を示す。他のアミノ酸の実測値は計算値とほとんど一致するものが多いことより、この実測値は原料中のアルギニン量より少ないと考えられ、したがって原料利用率としては52%より低い値を考えねばならない。アルギニンは諸味熟成中に著しく減少したため 369 日経過諸味では18%を示すに過ぎなかった。グルタミン酸は47日経過諸味では41%を示し、これは他のアミノ酸の比率に較べて特に低いものではないが 396 日諸味では51%程度を示すに過ぎず他のアミノ酸に比較して低いものであった。

イソロイシン、フェニルアラニン、バリンはいずれも仕込後47日諸味中に存在する遊離態はそれぞれの全アミノ酸の約45%程度であり、396日経過諸味では65~68%に相当した。ロイシンは47日経過諸味では遊離は全ロイシンの約40%で他のアミノ酸に較べて若干低かったが 396 日経過諸味では低いものではなかった。先にリジンは仕込後47日乃至 396 日に至る間の増加量が少ないことを述べたが、これは仕込後47日に遊離される量が多いためであり、仕込後47日の諸味中に存在する遊離リジンは諸味の全リジンの約60%に相当し、他のアミノ酸に較べて高率である。仕込後 396 日では68%となり他のアミノ酸と大差がない。したがって、グルタミン酸及びリジンは仕込後47日以後の増加量が少ない

アミノ酸であるが、その意味は全く異なるものである。

以上のように仕込後47日の諸味では諸味中に存在するそれぞれ全アミノ酸の45%遊離態として存在するものが多いが、リジンは60%の高率であり、ロイシン、グルタミン酸は若干低率であった。また仕込後396日の諸味では、一般にそれぞれの全アミノ酸に対する遊離態の比率は65~70%を示したがグルタミン酸では少々低率であり、アルギニンでは極めて低く20%に達しなかった。なお仕込後395日に関する数値はその時期における諸味1g当りの遊離アミノ酸量を用いたから、諸味全量からみた場合水分蒸発に伴う諸味量の減少があり、原料利用率としては更に5%程度差引いた値となる。

## 要 約

醤油の天然醸造諸味における遊離アルギニン、グルタミン酸、グリシン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、パリンの消長をバイオアッセイにより検討した。得られた結果は次の通りである。

遊離アルギニンは諸味熟成中に相当多量消失する。イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニンは仕込後396日に至る熟成期間中増加が持続されたが、グルタミン酸、グリシン、リジン、パリンは396日を経過する迄の一時期に最大量に達した。

仕込後47日の諸味の酸分解物中の各アミノ酸量に対する遊離アミノ酸比率を求めた場合、仕込後47日諸味では45%を示すものが多いが、リジンは60%の高率であり、グルタミン酸、ロイシンは若干低率であった。また396日経過諸味では68%程度を示したが、グルタミン酸では低率であり、アルギニンは20%以下の低率であつた。

終りに臨み本研究の御指導を賜った寺本四郎教授に謝意を表します。又実験の便宜をはかられた竜野醤油KKに深謝致します。

## 文 献

- 1) 有働：農化，7，322，853 (1931)
- 2) 石塚，斎藤，梅田：調味科学，1，29，No.1 (1953)

- 3) 堀, 小川, 青木, 近藤, 太田: 農化, **30**, 519 (1956)
- 4) 藤原, 田中, 藤田: 本誌 **40**, 321 (1962)
- 5) 上田, 永井, 森口: 日本農芸化学会講演会 (1959)
- 6) 田中, 上田: 調味科学, **8**, No.42 (1963)