

醤油中のアミノ酸に関する研究

(第3報) 加温速醸諸味における主要アミノ酸の消長

藤原耕三・石川 浩・難波敦子

Studies on Amino Acids in Japanese Soy Sauce

(III) Changes in the Amounts of the Main Amino Acids during the Mash Process Accelerated with Elevating Temperature.

Kozo Fujiwara (Dept. Ferment. Techn., Facult. Engin. Osaka Univ.)

Hiroshi Ishikawa (Tatsuno Shyoyu Co. Ltd., Tatsuno)

Atsuko Nanba (Osaka Joshigakuen Junior Colleg)

Quantitative changes of free arginine, glutamic acid, glycine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine and valine were investigated during the mash process which was accelerated by keeping the temperature of the mash to 30°C.

The changes of the amounts of these amino acids, except for arginine and glutamic acid, during the mash process were observed so as to be able to divide them into three stages.

The first three days of the mash process correspond to the first stage where each of the water soluble free amino acids considerably increased to the extent of about one third of the total amount of amino acids.

The second stage, is the period between the 3rd and 30th day after the preparation of the mash. At this stage, each of the free amino acids continued to increase, though the increase at this stage was less than that during the first stage. By the end of this stage, the amount of the individual free amino acids in the mash came to occupy about 60% of the total amount of the amino acids.

The third stage corresponds to the rest period (after 30 day's development) during which the increase of the individual free amino acids was very little.

Free arginine in the mash showed a decrease in the maturing period and the increase of free glutamic acid was considerably less than those of other amino acids.

緒 言

醤油醸造上の問題点の中最も重要なものの一つとしてその醸造期間が1年以上の長期に亘ると云うことが挙げられる。ために大量の醤油を醸造する場合には諸味熟成に広大な場所を要し、且つ原料仕込時期より製品になる迄の期間が長ければ経済的にも不利となる。したがって醤油醸造期間の短縮は古くからとりあげられた研究問題であり、現在二、三の方法がとられている。その一つは鉍酸を用いて蛋白質を含む原料を加水分解する方法、いわゆる化学醤油の製造である。しかし実際には酸分解液では糖類、香気成分、有機酸等が欠除するため諸味の増量剂的な使用法がとられている。この方法をより醤油醸造に近づけたのが新式醤油である。1944年新式一号が、1948年新式二号が野田醤油KKから発表されこの方法による醤油醸造が行なわれつつある。これらの方法では利点も多い反面、鉍酸による原料分解が行なわれるため醸造醤油に含まれない化合物が現われることも欠点である。

一方醱酵工業においては管理条件を適当にすることによって良好な結果を得るものであり、この意味から加温速醸型式も検討されている。この型式では醸造のみで製造するものであるから、鉍酸使用時に生成される化合物の如き醸造醤油にない成分の混入は極めて少ないと考えられる。しかし加温速醸については目下固定した方法がとられるには至らず、池宮氏¹⁾、渋谷氏等²⁾、後安氏³⁾等がそれぞれの方法について述べている。そこで著者等はより基礎的な資料を得るため、諸味品温を30°Cに保つ型式の加温速醸における主要アミノ酸の消長を検討したので報告する。

実験の部

I 実験方法

i) 試料及び試料の調整：試料は昭和35年5月28日 (No. 1), 29日 (No. 2), 30日 (No. 3) 仕込のもの3種で、いずれも仕込配合、諸味管理は同一とした。仕込配合は脱脂大豆 720 kg, 小麦 720 kg, ポーメ 19° の塩水 2.916 kl である。諸味品温は実験期間を通じ30°C附近に保った。

試料の採取及び調理方法は前報⁴⁾に述べた通りである。ただ仕込直後の試料は麴を直接理論値の水で抽出する方法をとった。すなわち室内の異なった位置の麴蓋10枚を選び、各々よく混ぜてから約 100 g 宛を集め、これを更に混ぜてからその 100.0 g を秤量し仕込配合より計算した理論上の塩水を加えて諸味と考え、このものの抽出を行なった。

仕込後90日経過諸味については一般分析を行なうための諸味の濾液を調整した。

ii) 分析方法：一般分析は常法によった、個々のアミノ酸の分析は総てバイオアッセイによった。その詳細は第1報⁵⁾に述べた通りである。

II 結果及び考察

供試諸味の仕込後90日経過の一般分析結果を示すと Table 1 の通りである。Table 1 では諸味の濾液 100 ml 当りの各成分をg数で示してある。

Table 1. Composition of Soy Sauces obtained from mash after 90 days fermentation.

	Specific gravity (Be°)	Sodium chloride (g/100ml)	Total nitrogen (g/100ml)	Formol nitrogen (g/100ml)	pH	Extract (g/100ml)	Sugar* (g/100ml)	Alcohol (g/100ml)	The ratio of utilized total nitrogen to total nitrogen in raw materials. (%)
No.1	22.68	18.91	1.414	0.771	4.7	16.43	2.37	1.65	75.4
No.2	22.87	18.56	1.397	0.759	4.6	17.58	3.23	1.79	74.9
No.3	22.91	18.62	1.389	0.760	4.6	17.58	3.03	1.84	75.0

* Figures expressed as glucose

Table 1 に明らかなように、3種諸味は仕込後90日でほとんど同一の組成を示し、これらの分析値は天然醸造諸味の1年経過したものと大差がない。

森口氏⁶⁾が本実験と全く同一の仕込配合で天然醸造を行ない、仕込時期を変えて一定期間熟成した場合の諸味成分について検討しているが、12ヶ月経過の諸味での窒素利用率は夏期仕込のものは68%程度で低く、9、10月仕込では72%、1、2月仕込で78%であり他は75~76%であったと述べている。本実験では一応品温を30°Cに保つ加温速醸型式をとったが経過日数90日で全窒素利用率はいずれも75%となり、森口氏の結果と比較した場合、1、2月に仕込まれた諸味にはやや劣るが他の時期に仕込まれた天然醸造に劣るものではない。

熟成期間中における全窒素、アミノ態窒素ならびに各種アミノ酸の消長は以下に述べる通りである。いずれも各時期の諸味1gの水溶性区分に含まれる量を示したものであり、各種アミノ酸はいずれもL-型として示してある。

全窒素及びアミノ態窒素の消長は Fig 1 に示した。

全窒素は仕込直後の諸味で 1.5~2.0 mg/g を示し1日後には 4 mg/g 以上となった。仕込後3日で約 7 mg/g に達する迄の増加は急激であり、その後増加はやや緩慢となり仕込後30日で 10 mg/g に達した。仕込後30日以後90日に至る間では極めて僅かな増加がみられるに過ぎなかった。

アミノ態窒素は仕込直後の諸味では 0.7~0.8 mg/g 程度存在し、以後3日間に急激に増加して仕込後3日の諸味では 3.3 mg/g と4倍強に増加した。以後は全窒素と同様に増加はやや緩慢となるが、仕込後30日迄はなお相当の増加がみられ、仕込後30日で 5.5~6 mg/g に達した。仕込後30日乃至90日では僅

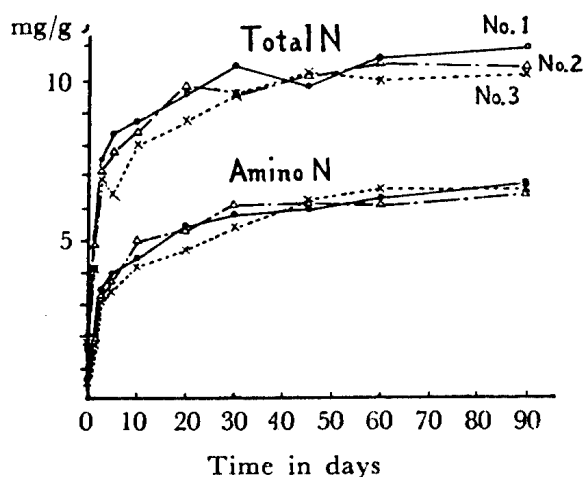


Fig. 1. Changes in the amounts of total-N and amino-N during the mash process.

かな増加がみられた。

3種諸味における各種アミノ酸の消長は、Table 2, Table 3, Table 4 に示した。

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

Aging days	Arginine	Glutamic acid	Glycine	Isoleucine	Leucine	Lysine	Methionine	Phenylalanine	Valine
0	0.275	1.15	0.32	0.24	0.43	0.38	0.086	0.26	0.34
1	0.795	1.90	0.69	0.62	1.16	1.08	0.184	0.98	0.74
3	1.80	5.10	1.52	1.67	2.90	2.37	0.465	1.92	1.73
5	2.21	5.22	1.92	2.01	3.84	2.44	0.594	2.26	2.16
10	—	—	—	—	4.00	2.90	—	—	—
20	3.32	5.58	2.40	2.60	4.50	3.31	0.589	2.48	2.68
30	3.61	7.32	2.50	3.14	4.68	3.38	0.683	2.82	3.01
45	1.65	6.44	2.49	2.67	4.56	3.89	0.647	2.82	2.83
60	2.86	6.92	2.81	2.88	5.24	4.49	0.712	3.09	3.11
90	0.402	7.16	2.91	3.01	5.30	4.23	0.709	2.88	3.25

Figures expressed as mg/g

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

Aging days	Arginine	Glutamic acid	Glycine	Isoleucine	Leucine	Lysine	Methionine	Phenylalanine	Valine
0	0.295	1.01	0.27	0.16	0.47	0.27	0.076	0.29	0.36
1	0.910	2.32	0.70	0.64	1.14	1.10	0.202	0.98	0.77
3	1.72	4.75	1.48	1.55	2.83	2.27	0.446	2.06	1.67
5	2.13	4.26	1.56	1.74	2.76	1.96	0.417	1.78	1.70
10	2.73	5.25	1.93	2.19	3.60	2.80	0.520	2.00	2.16
20	3.30	5.81	2.25	2.60	3.97	3.29	0.587	2.32	2.51
30	2.95	6.48	2.41	3.01	4.38	3.72	0.596	2.62	2.84
45	2.89	6.80	2.69	2.64	4.88	4.01	0.672	2.86	2.90
60	2.70	7.22	2.75	2.69	4.89	4.38	0.653	3.12	3.02
90	0.324	7.14	2.82	3.01	4.83	3.90	0.715	2.75	3.07

Figures expressed as mg/g

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

Aging days	Arginine	Glutamic acid	Glycine	Isoleucine	Leucine	Lysine	Methionine	Phenylalanine	Valine
0	0.319	1.02	0.24	0.23	0.57	0.30	0.087	0.38	0.35
1	1.19	2.85	0.92	0.82	1.66	1.38	0.263	1.17	1.01
3	1.88	5.01	1.55	1.66	2.92	2.29	0.466	2.00	1.70
5	2.40	4.89	1.88	2.06	3.27	2.50	0.469	1.92	1.98
10	3.22	5.66	2.12	2.37	3.84	2.90	0.527	2.19	2.40
20	4.08	5.90	2.36	2.99	4.33	3.42	0.651	2.64	2.82
30	2.65	5.50	2.46	2.98	4.28	3.45	0.617	2.64	2.89
45	—	—	—	2.88	—	3.90	—	—	—
60	3.36	7.42	2.75	2.74	5.18	4.20	0.709	2.99	3.14
90	0.402	6.34	2.67	3.01	5.16	4.10	0.730	2.77	3.05

Figures expressed as mg/g

アルギニン：天然醸造諸味における水溶性遊離アルギニンの消長は極めて特異なものであったが、加温速醸諸味においてもまた同様である。すなわち諸味熟成期間中に著しい減少がみられる。加温速醸諸味中の水溶性遊離アルギニンは仕込直後では 0.3 mg/g 程度であり、3日後には 1.8 mg/g に増加した。その後は増加はやや緩慢となるが仕込後20日までは増加を続け最高 4 mg/g に達した。以後は仕込桶によって異なった経過を辿ったが仕込後 60 日迄は増減があり、仕込後 60 日を経過してから 3 種諸味共減少して 90 日経過諸味では僅かに 0.4 mg/g の少量となった。これは仕込直後に存在した量より僅かに多い程度であって、90日の諸味熟成中に、一度遊離したアルギニンが再び消失してしまうことになる。

グルタミン酸：仕込直後の諸味中には遊離グルタミン酸は 1 mg/g 程度存在し、3日後には約 5 mg/g に増加した。しかし、仕込後 3 日以後においては遊離グルタミン酸の増加は極めて緩慢となり、仕込後60日を経過して約 7 mg/g に達した。経過日数60日以後ではほとんど増加が認められなかった。仕込後90日経過諸味に含まれる遊離グルタミン酸量は天然醸造12ヶ月経過諸味に比較し

た場合明らかに少ないものである。

グリシン：仕込直後の諸味には約 0.3 mg/g の水溶性遊離グリシンが存在し以後 3 日間は直線的に増加し仕込後 3 日の諸味では 1.5 mg/g に達した。その後は次第に増加は緩慢となり 30 日を経過した諸味では約 2.5 mg/g 60 日を経過した諸味では約 2.8 mg/g であった。その消長はアミノ態窒素の消長と類似したものであった。経過日数 90 日の諸味に含まれる水溶性遊離グリシン量は天然醸造 12 ヶ月諸味のそれと大差はない。

イソロイシン：仕込直後の諸味には約 0.2 mg/g の水溶性遊離イソロイシンが存在し、経過日数 3 日で約 1.6 mg/g に増加した。すなわち仕込後 3 日間で仕込直後に存在した量の約 8 倍に増加するものであり、この間の増加比率は極めて大きい。その後経過日数 30 日迄は増加し約 3 mg/g に達したが以後は全く増加しなかった。天然醸造諸味においては仕込後 47 日で約 2.2 mg/g であり仕込後 396 日に至る間徐々に増加して 3 mg/g に達したが、この間になされる水溶性区分への漫出が加温速醸では 1 ヶ月で行なわれることになる。

ロイシン：ロイシンは仕込直後の諸味に約 0.5 mg/g が水溶性遊離態として存在するが、その後急激に増加して 3 日後には約 2.9 mg/g となる。以後の増加量はそれ以前に比べて低減するが経過日数 60 日頃迄は増加して仕込後 60 日の諸味では約 5 mg/g となった。仕込後 60 日以後にはほとんど増加は認められなかった。仕込後 60 日以後の諸味中の遊離ロイシン量は天然醸造 12 ヶ月経過諸味のそれと大差がない。

リジン：仕込直後の諸味中の水溶性遊離リジンは約 0.3 mg/g であり、3 日後には約 1.7 mg/g となった。その後増加は次第に緩慢となるが 60 日を経過する迄は増加を示し 3.5 mg/g に達した。以後は増加しないのみか却ってやや減少する傾向すら認められた。日野氏等⁷⁾ が 10 l の小醸酵試験で温醸を行なった結果では仕込後 20 日以後に遊離リジンの増加は認められなかったと述べているが、著者等の場合は経過日数 20 日以後においてもなお若干の増加量をみた。

メチオニン：仕込直後の諸味中の水溶性遊離メチオニンは約 0.08 mg/g で

あり、3日後には約 0.45 mg/g に増加した。以後は徐々に増加して仕込後60日では約 0.7 mg/g に達した。

フェニルアラニン：仕込直後の諸味中には約 0.3 mg/g のフェニルアラニンが存在した。以後3日間で 2 mg/g に迄増加し、以後は増加量は低減するが仕込後60日を経過する迄は増加を続け60日経過諸味では約 3 mg/g の水溶性遊離フェニルアラニンが認められた。経過日数60日以後には増加は認められず若干減少する傾向が認められた。仕込後90日の諸味中に存在する遊離フェニルアラニン量は天然醸造12ケ月経過諸味のそれと大差はない。

バリン：諸味中の水溶性遊離バリンは仕込直後で約 0.35 mg/g であり3日後に約 1.7 mg/g に増加した。その後増加量は次第に低減するが30日を経過する迄はなお相当の増加を示し30日経過諸味では 3 mg/g 弱に達した。以後経過日数90日迄は極めて徐々に増加して仕込後90日では 3.1 mg/g 以上を示した。この含量は天然醸造10ケ月経過以後の諸味のそれと等しい。

以上述べたように加温速醸諸味における窒素成分の増加については大体次の3期に分けて考えることができる。

(1) 仕込直後の3日間：この期間は水溶性区分の全窒素及びアミノ態窒素の増加が極めて大きい時期である。

(2) 仕込後3日乃至1ヶ月：水溶性区分の全窒素、アミノ態窒素はなお明らかに増加するがそれ以前に比べて緩慢となる。

(3) 仕込後1ヶ月以後：水溶性区分の全窒素、アミノ態窒素の増加は僅少となる。

この3期は全窒素、アミノ態窒素共に認められる区分である。しかし、その間の増加比率は両者では異なり、仕込直後の水溶性区分に存在した量を1とすれば全窒素は第1期で約3.5倍、第2期で5倍となるが、アミノ態窒素では第1期で約4倍、第2期で約8倍となる。したがって全窒素に対するアミノ態窒素の比率は第1期では40~45%であり、第2期では45~55%に増加し、仕込後45日以後に60%を示すようになる。

個々の遊離アミノ酸の消長も第3期に分けて考えられ、その型式はアミノ態窒素の消長とはほぼ同様である。しかし、アルギニン、グルタミン酸の消長は例外である。諸味中のアルギニンは第1期は他のアミノ酸同様増加するが第2期の途中から特異な消長型をとる。諸味熟成中に大量の遊離アルギニンが消失するもので、かかる現象は天然醸造諸味においてもみられたところである。おそらく諸味中に存在する微生物が関与して起るものと考えられる。また加温速醸諸味中の遊離グルタミン酸の消長は第2期以後の増加が極めて少ない点で他のアミノ酸の消長型式と異なるものである。第1期諸味中の遊離グルタミン酸は仕込直後に存在した量の約5倍に増加する。この点は他のアミノ酸の消長と異なるものではないが以後の増加は少なく、したがって90日経過の諸味中の他の遊離アミノ酸は天然醸造12ヶ月経過諸味のそれと大差のないのに比べてグルタミン酸は少ない結果となる。

加温醸で速遊離グルタミン酸量が少ないことは重要な問題である。加温速醸では天然醸造に比較して諸味品温が高く、また速かにpHが低下するが、これらの差異が如何なる点に重要な影響を与えるかは明らかでない。例えば、ピログルタミン酸の生成、あるいは酵素作用に及ぼす影響等種々の要因が考えられるが、これらの点については今後詳細に検討する予定である。

次に原料使用率的な意味において、仕込後1日経過諸味の酸分解中に含まれる各アミノ酸の全量に対する各時期のそれぞれの遊離アミノ酸比率を求めたのがTable 5である。

Table 5に明らかなように、仕込直後の諸味には原料中に存在した各アミノ酸の約5%が水溶性遊離態として存在する。その後急激に増加して先に述べた第1期全アミノ酸の約1/3が水溶性遊離態となる。第2期では全アミノ酸の60%に相当する量が水溶性遊離態となりその後若干の増加がある。ただしアルギニン及びグルタミン酸は例外である。またこの数値はそれぞれの時期における諸味1g当りの水溶性遊離アミノ酸量を仕込後1日経過諸味1gの酸分解中に含まれるアミノ酸量で除したから、経過日数の多いものでは諸味減量があり実

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

Amino acid \ Fermentation Period	0 days	3 days	30 days	90 days
Arginine	5.9	36.7	61.4	7.5
Glutamic acid	5.2	26.2	34.8	37.0
Glycine	6.6	36.2	58.6	66.6
Isoleucine	4.0	32.5	60.7	60.1
Leucine	6.4	34.1	53.5	65.4
Lysine	5.1	37.5	57.1	66.1
Phenylalanine	7.4	44.2	62.5	65.1
Valine	7.3	34.0	60.9	63.8

Figures expressed as %

際の原料利用率としては若干低いものになるろう。

要 約

諸味温度を30°Cに保つ型式の加温速醸で、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、バリンの消長を検討した。

これらアミノ酸の諸味中での変化は大体3期に分けて考えられる。第1期は仕込直後の3日間で水溶性遊離アミノ酸の増加は極めて著しく、この間に諸味の各遊離アミノ酸量はそれぞれのアミノ酸の全量の1/3程度になる。第2期は仕込後3日乃至30日でこの期間は遊離アミノ酸はなお増加するがそれ以前に比べて増加量は低減は低減する。各アミノ酸の遊離態は諸味中に存在するそれぞれの全アミノ酸の60%程度となる。第3期は仕込後30日以後で諸味中の各遊離アミノ酸は極めて僅少となる。ただしアルギニン、グルタミン酸は例外で、アルギニンは諸味熟成中に減少し、遊離グルタミン酸の増加は他のアミノ酸に比べて著しく低いものであった。

終りに臨み本研究の御指導を賜った寺本四郎教授に深甚の謝意を表します。また発表を許可された龍野醤油KK浅井常務に深謝致します。本研究は昭和37

年大阪醸造学会において発表した。

文 献

- 1) 池宮：調味科学，**2**，1 (1954)
- 2) 渋谷，篠田：醤油と技術，118号 (1954)
- 3) 後安：調味科学，**7**，No. 1，7 (1959)
- 4) 藤原，田中，藤田：本誌，**40**，327 (1962)
- 5) 藤原，徳田，難波：本誌，**40**，321 (1962)
- 6) 森口：未発表
- 7) 日野，伊藤，林，阿倍：農化，**34**，22 (1960)