

研究論文

しょうゆの生産・保存条件が成分に及ぼす影響の分析

舟橋里帆^{*1}、村上英司^{*2}、山田圭二^{*3}、柴田佳孝^{*4}

Evaluation of the Effect Caused by Production Condition or Storage Condition on Components in Soy Sauce

Riho FUNAHASHI^{*1}, Eiji MURAKAMI^{*2}, Keiji YAMADA^{*3}
and Yoshitaka SHIBATA^{*4}Research Support Department^{*1*2*4} Industrial Research Center^{*3}

代表的な発酵食品の一つであるしょうゆは、保存による風味の劣化が知られており、その劣化は成分の変化・増減に起因する。保存期間によるしょうゆの成分の増減の傾向について、全容は明らかとなっていない。本研究ではしょうゆの香気成分に着目し、ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC/MS)を用いて、生産条件と保存条件が成分の増減に与える影響を分析した。結果、風味に寄与しうる成分を 22 個見出し、それらの保存期間による増減の詳細の把握と、保存期間による成分の増減へ生産条件が与える影響の有無を確認することができた。

1. はじめに

発酵食品は、原材料に含まれていた成分のみでなく、発酵、熟成などの生産過程で作られる多種多様な有機成分を含み、それらの成分が風味に影響を与える¹⁾。各企業では、生産工程ごとに温度や時間を管理し、成分の変化・増減を制御して、よりよい風味や栄養価を有する食品を生産している。一方で、生産後の保存過程でも、成分が変化・増減し、風味(香り、味)が劣化することが知られている。保存下での経時的な成分の変化や、保存による風味の劣化に生産時の過程が及ぼす影響についての報告は未だ少ない。

そこで本研究では、代表的な発酵食品の一つであるしょうゆに着目し、保存による有機成分の増減の詳細と、その保存による成分増減へ生産条件、特に熟成期間が与える影響の有無を明らかにすることを目的とした。すなわち、保存による成分増減だけでなく、熟成期間が、各企業にて温度を制御し成分を変化・増減させられる工程であることから、保存による風味の劣化を抑えられるパラメータになりうるかを検討した。

しょうゆの成分のうち、特に香気成分に注目し研究を行った。ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC/MS)を用いて、官能試験で風味差が明らかだった 2 試料の比較をはじめに行い、風味の劣化に寄与しうる成分を絞り込んだ。続いて、見出された成分の保存期間による増減の分析、増減への生産条件(熟成期間)の影響の分析を行った。

2. 実験方法

2.1 試料

試料として、生産条件(熟成期間)・保存条件の異なるしょうゆを使用した。各試料の条件は表 1 のとおりである。

表 1 試料の生産条件(熟成期間)・保存条件

熟成期間	保存条件
4 か月	保存無し
	30℃(5週間、1週間ごと試料採取)
	35℃(4週間、1週間ごと試料採取)
	40℃(4週間、1週間ごと試料採取)
7 か月	保存無し
	30℃(5 週間、1 週間ごと試料採取)
	35℃(4 週間、1 週間ごと試料採取)
	40℃(3 週間、1 週間ごと試料採取)

各試料は保存期間終了後、GC/MS での測定まで、劣化が進まないとされた 4℃で最大 6 か月保管した。各試料をバイアルに約 1 ml 入れ、測定に供した。

2.2 GC/MS による香気成分の測定

測定には、GC/MS(GCMS-TQ8040、(株)島津製作所製)を用いた。分析条件を表 2 に示す。風味のうち、特に香気成分を検討するため、揮発性成分を濃縮し高感度に検出できる固相マイクロ抽出(SPME)法を用いて測定を行った。

^{*1} 共同研究支援部 計測分析室 (現技術支援部 計測分析室) ^{*2} 共同研究支援部 計測分析室 (現企画連携部 企画室) ^{*3} 産業技術センター 化学材料室 ^{*4} 共同研究支援部 計測分析室 (現産業科学技術課)

表 2 分析条件

GC/MS :	株式会社島津製作所製 GCMS-TQ8040
オートサンプラー :	AOC-6000
[SPME]	
Fiber :	SUPELCO 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS, Stableflex (2 cm)
Incubation Temperature :	50 $^{\circ}$ C
Incubation Time :	5 min
Agitator Speed :	250 rpm
Sample Extract Tim :	30 min
Sample Desorb Time :	1 min
[GC]	
分離カラム :	VF-WAXms (長さ 60 m, 膜厚 0.5 μ m 内径 0.25 mmID)
カラムオープン温度 :	50 $^{\circ}$ C (3 min) - 4 $^{\circ}$ C/min - 110 $^{\circ}$ C (0 min) - 8 $^{\circ}$ C/min - 250 $^{\circ}$ C (10 min)
気化室温度 :	250 $^{\circ}$ C
注入モード :	スプリットレス
制御モード :	圧力
圧力 :	137.2 kPa
[MS]	
イオン源温度 :	200 $^{\circ}$ C
インタフェース温度 :	250 $^{\circ}$ C
イオン化法 :	EI
測定モード :	Q3scan
測定範囲 :	m/z 29-350 (1.6 - 45.5 min)

2.3 風味の劣化に伴う変化成分の選定

熟成期間が 7 か月で保存試験を行っていない試料、及び、熟成期間が 7 か月で 40 $^{\circ}$ Cでの保存を 2 週間行った試料（官能試験で風味の劣化が確認された試料）を GC/MS で測定し、2 試料間で強度差のあるトータルイオンクロマトグラム(TIC)のピークを選別した。TIC の各ピークの質量スペクトルをライブラリ検索し、最も一致率の高かった成分名を採用した。

2.4 全ての試料の測定及び解析

全ての試料を GC/MS で測定し、得たデータについて、各成分の TIC ピークの面積値の算出を行った。それぞれの試料について 3 回測定し、平均値を算出し、成分量と熟成期間・保存条件との関連性の解析を行った。

3. 実験結果及び考察

3.1 風味の劣化に伴う評価成分の選定の結果

上述の風味劣化が比較確認された試料の GC/MS の結果から、明らかな強度差があったピークを 22 個見出した(表 3)。以降は成分 1~22 と記述し、これらの成分について検討した。

3.2 保存期間による成分の増減

一般的に、加速試験では温度が高いものほど反応が速く進むことから、40 $^{\circ}$ Cで保存された試料は、本研究において最も成分変化が進みやすいと予想された。熟成期間が 7 か月、保存温度が 40 $^{\circ}$ Cの試料で、見出された 22 成分の量が、保存期間によりどのように変化したの

か解析を行った。40 $^{\circ}$ Cの保存期間による増減を図 1 に示す。

成分 5、7、9、10、11、14、16 は 4 週間以内では増加し続けた(図 1(a))。成分 2、6、15、20、21、22 は増加し 4 週間以内に増加が止まった(図 1(b)、図 1(c))。成分 17、18、19 は減少し 4 週間以内に停滞した(図 1(d))。なお、成分 17、22 は強度の関係で図 1 に不掲載とした。

成分 1、成分 3、成分 12、成分 13 の成分量は、保存試験をしなかった試料と 40 $^{\circ}$ Cで保存試験を 2 週間行った試料では差があったものの、40 $^{\circ}$ Cでの保存期間に対する一定の増減傾向が無く、他の要因があると予想される。図 2 に例として成分 3、13 を示す。成分 4、8 については保存期間に対して増加することが示唆されたが 3 回測定した際のばらつきが大きかった。

表 3 の 22 成分について、35 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ Cでの増減量を解析した。図 3 に、解析結果の例として成分 10、12、17 を示す。40 $^{\circ}$ Cの保存期間に対して増減していた成分は、35 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ Cでは変化量の減少する様子が確認された。変化量の減少の程度は成分によって異なり、成分 10 のように、保存の際に温度がかかれば、増減が顕著に抑えられる成分があることが分かった。

また 40 $^{\circ}$ Cの保存期間に対して増減傾向が見られなかった成分について、35 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ Cでの成分量の変化を解析したが、40 $^{\circ}$ Cの場合と同様に、温度に対して増減傾向は見られなかった。

以上のように、保存期間及び温度に対して成分ごとの増減の傾向が把握された。

表 3 風味差が確認された 2 試料の比較から見出された 22 成分

番号	保持時間(分)	ライブラリ検索により推定された成分名
1	6.69	Ethyl acetate
2	7.08	2-Butanone
3	9.76	Isobutyl acetate
4	11.9	Dimethyl Disulfide
5	19.5	Imidazole-4-acetic acid
6	20.5	2-propanone, 1-hydroxy-
7	21.4	Pyrazine, 2,6-dimethyl-
8	23.0	Dimethyl trisulfide
9	23.0	2-Methyl-6-ethylpyrazine
10	27.8	6,7-Dodecanedione
11	28.4	Hexanal,4,4-dimethyl
12	29.2	Butanedioic acid, diethyl ester
13	29.5	Benzoic acid, ethyl ester
14	30.4	1,3-Dioxolane-4-methanol,2-ethyl-
15	32.3	Dibutyl 2,2'-(2,2'-oxybis(ethane-2,1-diyl)bis(oxy))diacetate
16	34.5	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-
17	38.1	Palmitate <ethyl>-
18	42.1	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester
19	43.1	Linoleic acid ethyl ester
20	43.7	Decanedioic acid
21	44.4	Dimethyl 2-methylnonane-1,9-dioate
22	29.3	Benzeneacetaldehyde

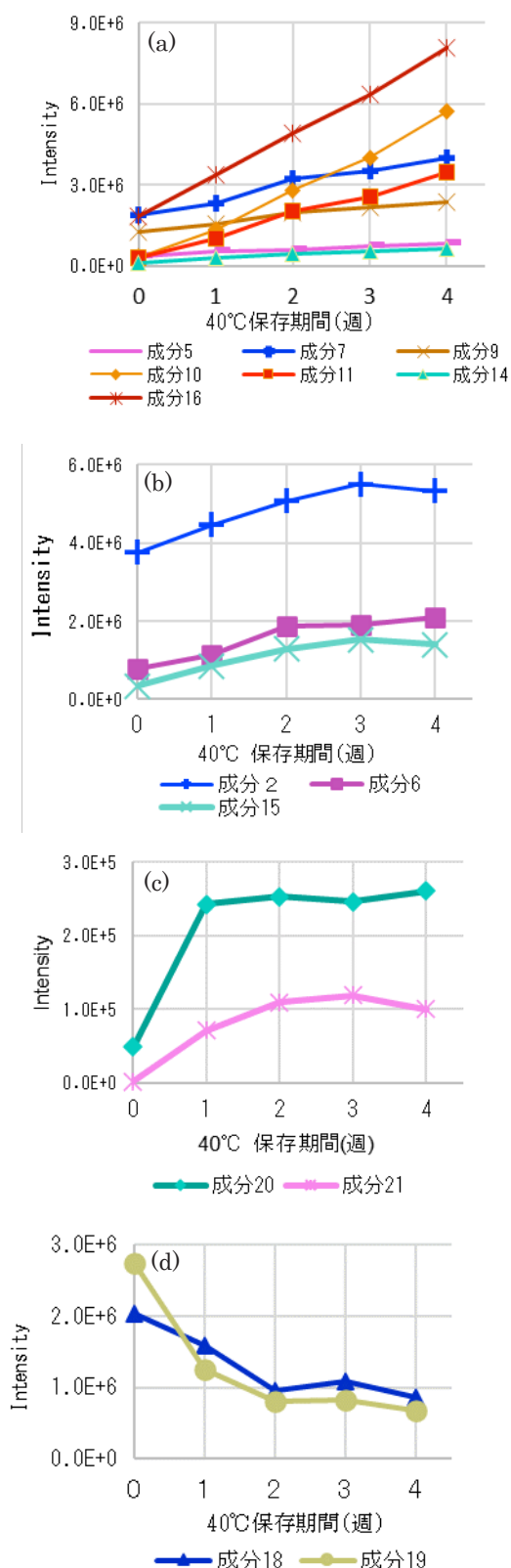


図1 7か月熟成したしょうゆに含まれる各成分の40℃での保存期間による増減
(a) 増加し続けた成分
(b) (c) 増加が止まった成分
(d) 減少し停滞した成分

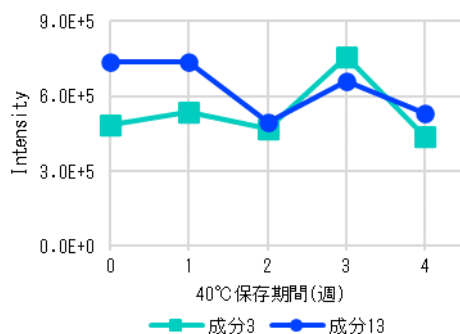


図2 7か月熟成したしょうゆの成分3、13の40℃保存下での成分量変化

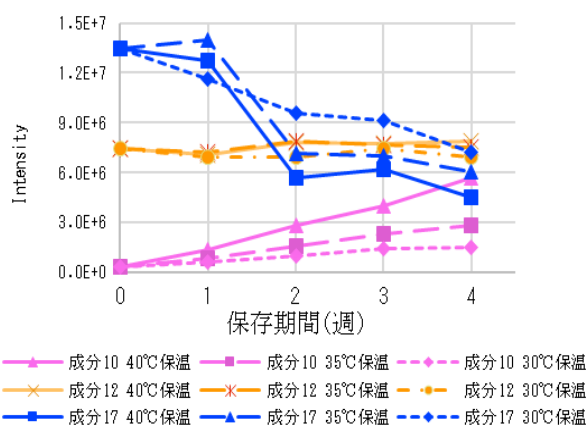


図3 7か月熟成したしょうゆでの、保存温度の違いによる保存期間での成分増減への影響の例

しょうゆは保存により風味が劣化することが知られている。そのため保存により増加した成分 2、5、6、7、9、10、11、14、15、16、20、21、22 は、それ自体が好ましくない風味を呈する成分、または良い風味の知覚を阻害する成分であると推測される。減少した成分 17、18、19 は、それ自体が好ましい風味を呈する成分、または良い風味の知覚を増強する成分であると推測される。

3.3 保存による成分量増減へ熟成期間が及ぼす影響

熟成期間が異なる試料は、生産過程で試料にかかる時間の合計が異なる。そのため成分が変化しうる時間に差が生じ、保存時の成分の増減が少なくなる、または未反応の成分が残ることで成分増減が大きくなるなど、熟成条件が、保存による成分増減へ影響を及ぼすのではないかという仮説を立て、熟成期間による影響を探った。

35℃での保存を行った試料について解析を行った。4か月熟成し35℃で保存試験を実施した試料と、7か月熟成し35℃で保存試験を実施した試料について、成分量の増減の差を解析した。解析した35℃での保存期間に対する成分量増減の、熟成期間による変化の例を図4に示す。

22成分のうち、熟成期間によって14成分(成分2、4、8、10、11、12、13、14、15、17、18、19、20、21)の成分量に影響が見られた。熟成期間による影響が見ら

れなかったものは8成分あった。熟成期間による影響の例として、熟成7か月の試料と熟成4か月の試料の、35℃での保存による成分2、11、19、20の増減を、図4(a)、(b)に記載する。

保存による成分増減への影響を解析したところ、成分量に影響があった14成分のうち、35℃の保存期間に対する成分量増減の、傾きが熟成期間によって変化したのは10成分(成分10、11、13、14、15、17、18、19、20、21)であった。保存により成分量が減少する成分は、成分19のように、熟成期間が短くなると減少の挙動が変化し、保存により成分量が増加する成分は、成分11、20のように、熟成期間が短い試料の方がより増加の傾きが大きく、成分量が大きくなる傾向があった。成分2のように、増加の傾きに熟成期間の長短による差はなかったが、熟成期間で成分量に差が生じた成分も存在した。

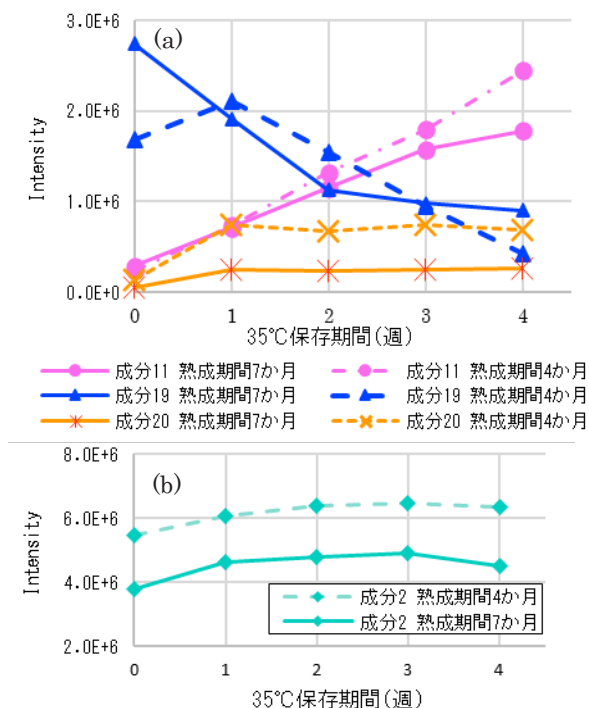


図4 熟成期間ごとのしょうゆの35℃保存による成分量変化への影響の例

- (a) 熟成期間の長短で増減の傾き・挙動が変化した成分
(b) 熟成期間の長短で傾きは変化せず成分量に変化した成分

熟成期間が長いほど、保存による成分の増加は小さくなることが分かった。その理由について、熟成期間が長くなるにつれて、ある成分が増加するのに重要な別の成分が消費されたため、熟成期間が長い試料では保存に対

する成分の増加量が少なくなったため、または、熟成期間が長くなるにつれ、風味を悪くする成分が増加することを阻害する物質が生産され、熟成期間が長い試料でより保存に対する成分の増加量が少なくなったためと考えられる。

なお、保存期間に対する増減について、40℃で保存試験を行った試料と30℃で保存試験を行った試料について、熟成期間による影響は35℃保存試料とほぼ同様であった。成分16のみ、35℃保存よりも40℃保存試料にて熟成期間の影響が示唆されたが、わずかなものであった。

4. 結び

本研究では、保存による風味の劣化が知られているしょうゆについて、風味の劣化に寄与しうる成分の増減の分析を行った。本研究の結果として、22成分を風味の劣化に寄与しうる成分として見出した。また、見出した成分について、保存期間による増減の傾向と、熟成期間が保存期間に対する成分の増減に影響するか否かを把握することができた。

保存期間に対する増減傾向が、成分によって異なっていたことから、保存期間や温度が制御に有用なパラメータであるか否かは、成分によって異なると推測された。

GC/MSを用いた測定によって成分の増減傾向の詳細が把握できることで、より良い風味を追求するため熟成期間や保存期間を検討したり、増減が停滞する保存期間内でよりコストを抑える保存期間を選択したりするといった場面への適用が期待される。

成分名は、ライブラリでの検索にとどまったため、今後、標品との比較やリテンションインデックスなどを用いて追究する余地がある。成分名が判明すれば、先行研究からその成分が風味へどのように影響しているかの情報が得られ、成分の増加、または減少のどちらを目指すのかの判断や、必要な条件の検討をさらに進められると期待される。

謝辞

本研究の実施にあたり、試料提供及び官能試験を実施いただいたイチビキ株式会社にお礼申し上げます。

文献

- 1) 横塚保, 佐々木正興, 布村伸武, 浅尾保夫: 日本醸造協会雑誌, **75**(6), 516(1980)