

味噌の有機酸に関する研究 (第1報) 市販味噌の有機酸組成

豊 島 治 男 (神戸森女子短期大学)

上 田 隆 蔵 (阪大工学部醸酵工学教室)

緒 言

味噌は古くより醤油と共に広く普及された醸造品である。

此味噌に関する研究としては、原料に関するもの、製造法に関するもの、熟成中の成分変化に関するもの、熟成と微生物の関係に関するもの、栄養価に関するもの等多数の研究成果が発表されている。

著者等は味噌成分中の有機酸に就いてその分布状態を明にする目的で実験を行なった。

味噌の有機酸はその味・香に大きく関係し、品質の良否に影響を及ぼすものである。しかし醸酵経過が悪く酸敗を起した場合、或は貯蔵法の悪い場合に起る酸成分の変化は品質を劣化し害を与えるものである。

味噌の酸成分に関する研究としては桜井¹⁾の研究があり、信州、仙台、八丁味噌に就いてエーテル可溶性の有機酸を分離し、乳酸、酢酸、蟻酸、琥珀酸を認め、之等は大部分結合状態にあり、遊離のものは少量なりとした。又百合山・長谷川等²⁾は Paper chromatography により信州系で乳酸、酒石酸、蔞酸、琥珀酸を、仙台系で乳酸、酒石酸、蔞酸を認め、カプリン酸、ステアリン酸らしきスポットも見出した。

著者等はすでに上田³⁾が醤油に就いて行なったシリカゲルを用いた Partition chromatography によつて市販味噌11種類に就いて、その有機酸組成を検討したのでその結果を報告する。

実 験 之 部

第1表 一般分析 g/100g

	全窒素	アミノ酸窒素	還元糖	総 酸	食 塩	水 分
八 丁	3.58	0.61	2.71	1.99	9.36	48.45
名古屋	3.03	0.54	1.82	1.23	10.78	50.22
信 州	2.07	0.37	11.20	0.64	11.99	50.01
越 中	1.82	0.33	15.40	1.35	15.42	49.25
白	1.47	0.24	22.60	0.56	6.99	46.74
天 然	1.72	0.28	16.10	0.56	15.46	45.93
備 前	1.89	0.30	9.10	0.55	13.28	48.44
防 長	2.39	0.41	8.60	0.45	14.50	50.31
佐 度	1.83	0.52	6.00	0.58	12.87	47.33
黄 金	3.06	0.61	3.25	0.35	13.45	54.94
赤出し	2.74	0.44	12.00	0.54	13.48	50.72

1 供試品の一般分析

大阪市内百貨店より求めた味噌の11種類についての一般分析は固体試料と浸出液試料とに分け各々分析法⁴⁾によつて試料を調製実験に供した。

実験結果は第1表の通りである。

2 試料の調製

供試味噌50gを秤取して、300ml容ビーカーに投入し、200mlの温水を注入、よく攪拌して60~70°Cの湯煎中に浸し60分温浸する。粒状物多き試料は乳鉢にて磨砕後前記操作を行う。泥状液を遠沈管に分注して遠心分離し、上澄液を傾瀉して集める。之を数回繰返して上澄液が酸性を呈せざるに至

れば、集めた液を苛性ソーダにて中和、減圧濃縮して液量を60~70mlとする。

3 有機酸の抽出

有機酸の抽出法としては酸性に於いてエーテル抽出を行なう方法と、イオン交換樹脂を用いる方法⁵⁾がある。前者は抽出され難い有機酸もあるが著者等は酸性エーテル連続抽出法を採用した。即、上の濃縮液(60~70ml)を硫酸にてpH2.0となし90時間エーテル抽出を行なう。後エーテルを溜去し、一定容となして展開試料とする。

4 分析方法

① 有機酸の分離定量法

MARVEL⁶⁾の方法に準じた Silica gel column による Partition chromatography に依て行なった。即ち Mallinkrodt 製シリカゲル20gと0.5N H₂SO₄12mlとをよく混合した後、クロロホルムを加えて攪拌し、かゆ状にして径17mmのColumnに注入し、Silica gelを沈降する。此上端に試料を添加後次の組成の展開液で展開する。

(432)

(豊島, 上田) 味噌の有機酸に関する研究 (第1報)

100ml	Chloroform	100%
"	"	95% + Butanol 5%
"	"	90% + " 10%
"	"	85% + " 15%
"	"	80% + " 20%
"	"	75% + " 25%
"	"	70% + " 30%
150ml	"	60% + " 40%
150ml	"	50% + " 50%

各区分は5 ml宛とり, 水で抽出後 Phenol red を指示薬として N/100 NaOH にて滴定する. 之より各 Peak の酸量を算出する.

(2) 琥珀酸・乳酸の分離

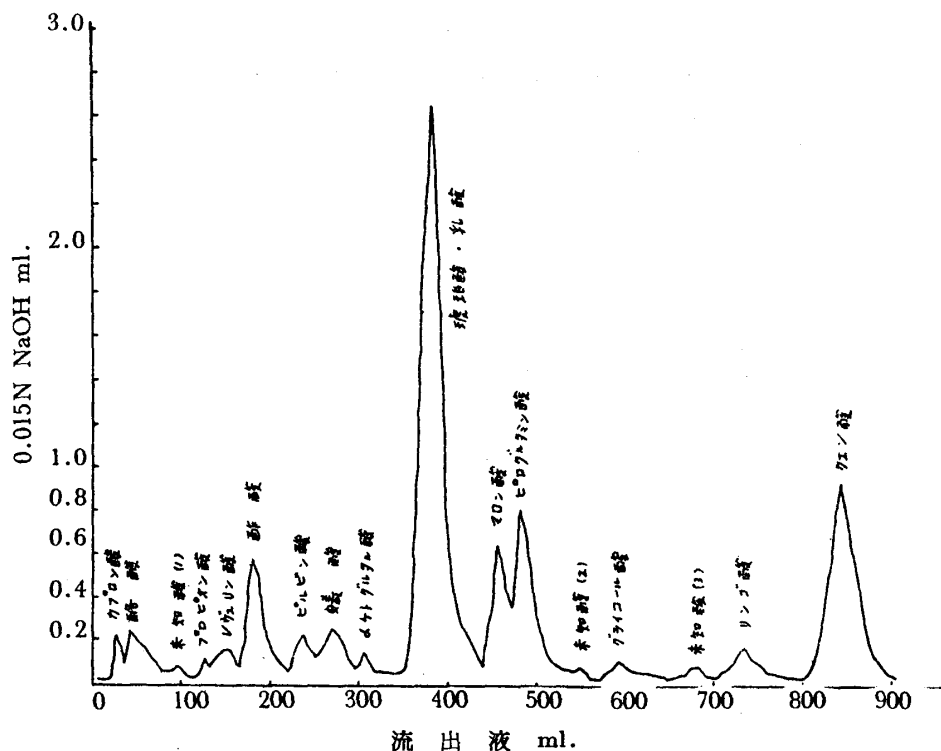
琥珀酸と乳酸は分離不可能で同一の Peak に流出して来るので BULLEN²⁾の方法に準じて Partition chromatography を行なつた. 即ち両酸の混合液を減圧濃縮後, 硫酸酸性 pH2.0 となしエーテル抽出を行ない, 之を試料として Silica gel 8g 0.5N-H₂SO₄ 5ml を混合後, 径 14

mm の Column を作り, ベンゼン85%, ブタノール15%の展開液で展開し分離定量を行つた.

5 結果及び考察

本 Partition chromatography の結果を示すと第1図の様である.

第 1 図



11種類の試料に就いての Chromatogram の結果から, 流出してくる明瞭な Peak は17個である. 琥珀酸・乳酸の Peak effluent volume は極めて近似しているので少なく共18種類の有機酸が存在する. 即ち既知酸の Chromatogram と比較するとカプロン酸(イソ缬草酸)・酪酸・プロピオン酸・レヴェリン酸・酢酸・ピルビン酸・蟻酸・α-ケトグルタル酸・琥珀酸・乳酸・マロン酸・ピログルタミン酸・グリコール酸・リンゴ酸・クエン酸の有機酸が存在する様である. 尚100ml附近と700ml附近に有機酸が存在するが, 既知酸の Peak effluent volume と一致するものがなく, 量的にも少ないので確認するに至っていない. 而してカプロン酸・イソ缬草酸の Peak は一つとなり, 何れか一方のみか, 両者が含まれるか, 酸量が少く判定する事は困難であつたので本結果ではカプロン酸として表した. 酪酸・イソ酪酸は両有機酸の Peak effluent volume が近似しているため, 両酸の定量が可能なるものもあつたが, 多くは不能であつたので, この両酸を酪酸として表した. ラクチル乳酸(エーテル抽出中に乳酸が重合して形成せられた³⁾)ピルビン酸・フマル酸も同様に Peak effluent volume が近似している. フマル酸は量的にも少ない故確認する事は出来なかつたが, そのChromatogram からその存在は確実と考えられる. それ故之等をピルビン酸として表した. ピログルタミン酸とグリコール酸との間に, 有機酸が存在するが,

これは修酸の Peak と近似するも、これを未知酸として表した。

○ 主要有機酸の定性・確認

① 揮発酸

水蒸気蒸溜によつて揮発酸をヒドラジン・ヒドラート水溶液中に導き捕集する。濃縮後130°C 5時間加熱してヒドラジッドとなし之を Paper chromatography にかけて定性確認する。

展開剤：イソ・アミルアルコール：ピリジン：水 (100 : 20 : 10)

発色剤：アンモニア性硝酸銀

上昇法により蟻酸・酢酸を確認した。

② 不揮発酸

エーテル抽出試料の濃厚液をスポットして展開した。

展開剤：イソ・アミルアルコール + 5 M 蟻酸

(1 : 1 混合の上層液)

発色剤：ブロム チモール ブルー

上昇法によりクエン酸、リンゴ酸、ピログルタミン酸、マロン酸、乳酸、琥珀酸を確認した。

味噌試料11種についての分析結果は第2表に示した。

第2表 味噌中の有機酸組成 mg/100g

	カ ブ ロ ン 酸	酪 酸	プ ロ ピ オ ン 酸	レ ヴ ユ リ ン 酸	酢 酸	ピ ル ビ ン 酸	蟻 酸	α ・ ケ ト グ ル タ ル 酸	琥 珀 酸	乳 酸	マ ロ ン 酸	ピ ロ グ ル タ ミ ン 酸	グ ラ イ コ ー ル 酸	リ ン ゴ 酸	ク エ ン 酸	合 計
八丁	11.3	21.6	2.8	16.9	20.7	17.8	12.7	8.3	81.2	165.2	26.4	109.9	14.8	10.8	87.1	617.5
名古屋	2.2	12.0	3.1	14.9	114.6	25.6	29.8	31.5	117.1	440.2	17.1	75.7	37.5	48.0	103.9	1073.2
信州	／	／	3.6	7.4	102.4	4.3	1.9	2.8	54.5	64.1	5.6	5.0	11.4	15.4	60.0	338.4
越中	1.0	1.1	4.1	5.5	45.0	7.5	11.8	5.3	34.4	67.5	10.5	18.4	8.5	15.1	53.6	289.2
白	／	2.1	2.4	2.5	14.8	4.1	3.1	2.2	6.5	22.1	5.1	7.4	1.6	8.5	17.8	101.2
天然 (北海道)	／	15.0	8.1	14.4	101.5	22.9	25.9	8.9	91.2	345.4	6.2	66.2	5.5	21.7	70.6	803.5
備前	1.7	3.3	2.9	5.8	72.6	8.2	14.8	3.9	60.9	169.2	20.9	48.7	7.1	26.1	49.6	496.2
防長	／	6.8	1.8	3.6	101.2	／	23.4	2.0	46.1	131.4	8.3	15.7	8.8	12.8	39.7	401.6
佐渡	／	5.5	3.2	6.4	48.9	15.6	4.6	3.1	69.0	283.5	23.6	82.3	11.1	36.7	76.9	670.4
黄金	／	／	3.1	5.4	36.2	2.8	7.6	3.5	20.2	79.5	5.8	12.1	6.6	8.7	27.7	219.2
赤出し	3.4	11.9	3.0	9.2	64.5	17.0	11.9	3.6	50.3	110.1	28.7	6.9	2.7	23.3	72.4	418.9

各酸量の総計に対する各酸の比率を求め、これを第3表に示した。

第3表 有機酸組成比 %

	カ ブ ロ ン 酸	酪 酸	プ ロ ピ オ ン 酸	レ ヴ ユ リ ン 酸	酢 酸	ピ ル ビ ン 酸	蟻 酸	α ・ ケ ト グ ル タ ル 酸	琥 珀 酸	乳 酸	マ ロ ン 酸	ピ ロ グ ル タ ミ ン 酸	グ ラ イ コ ー ル 酸	リ ン ゴ 酸	ク エ ン 酸
八丁	1.82	3.49	0.45	2.73	4.97	2.89	2.06	1.35	13.15	26.75	4.27	17.80	2.39	1.74	14.11
名古屋	0.11	1.11	0.29	1.39	10.68	2.38	2.78	2.93	10.90	41.02	1.59	7.05	3.49	4.47	9.69

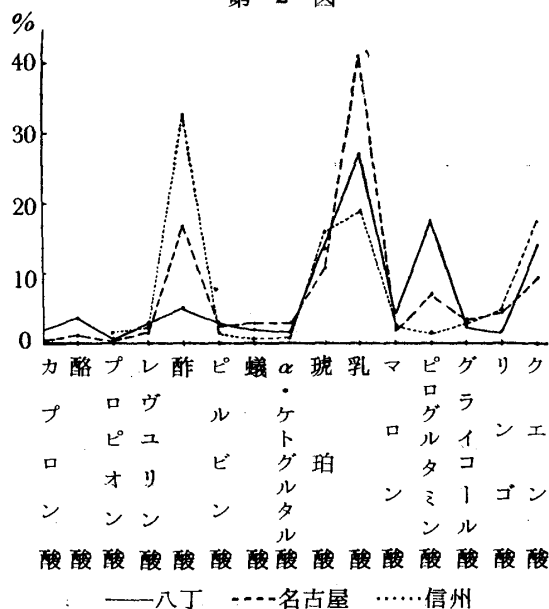
(434)

(豊島, 上田) 味噌の有機酸に関する研究 (第1報)

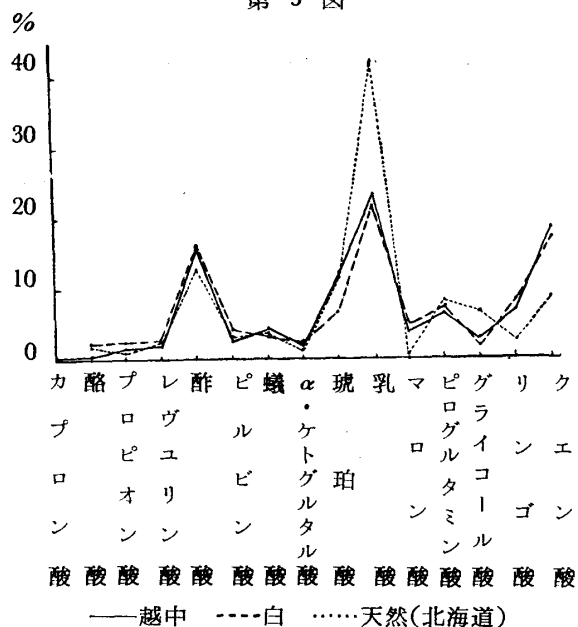
信州	／	／	1.07	2.08	30.27	1.27	0.59	0.83	16.09	19.20	1.66	1.48	3.35	4.53	17.72
越中	0.34	0.38	1.42	1.88	15.57	2.60	4.09	1.81	11.84	23.35	3.62	6.35	2.92	5.21	18.55
白	／	2.02	2.32	2.42	15.60	4.05	3.08	2.17	6.47	21.87	5.00	7.36	1.59	8.42	17.57
天然 (北海道)	／	1.87	1.00	1.79	12.63	2.84	3.22	1.11	11.35	42.18	0.78	8.24	0.69	2.70	8.75
備前	0.33	0.67	0.58	1.16	14.64	1.67	2.79	0.79	12.28	34.18	4.21	9.82	1.42	5.26	10.00
防長	／	1.65	0.44	0.96	25.19	／	5.81	0.49	11.49	32.72	2.06	3.91	2.19	3.18	9.88
佐渡	／	0.82	0.47	0.96	7.29	2.32	0.69	0.45	12.88	42.29	3.52	12.28	1.66	5.47	11.46
黄金	／	／	1.42	2.47	16.51	1.27	3.44	1.58	9.24	36.28	2.64	5.54	3.02	3.96	12.63
赤出し	0.79	2.84	0.72	2.20	15.39	4.05	2.83	0.85	11.99	26.29	6.86	1.64	0.65	5.56	17.39

以上の数値より各味噌タイプの酸分散状態を比較するために第2図～第5図までを示した。

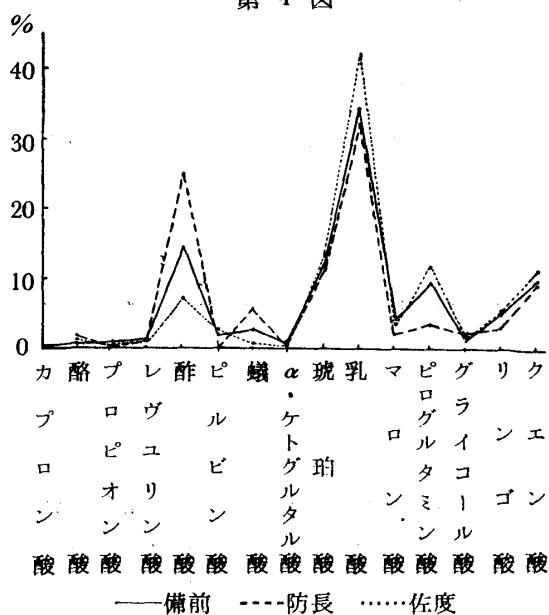
第2図



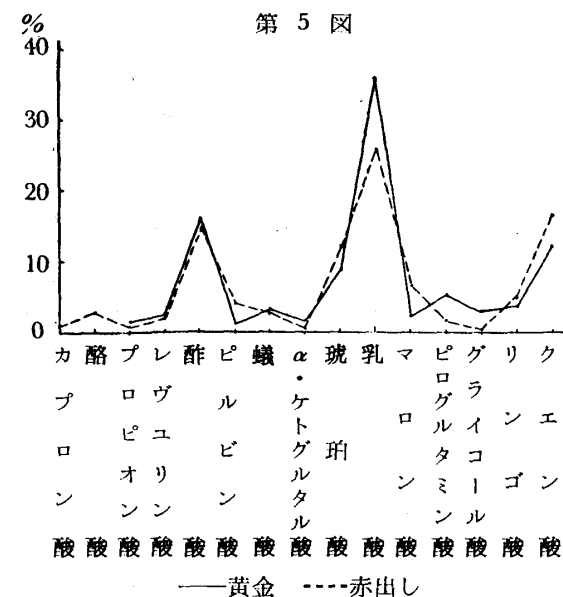
第3図



第4図



第5図



エーテル可溶性有機酸量は、その品種によつて相当の差異が認められ、試料100g当り100~1000mgの範囲にあつた。信州・越中・白・黄金は比較的lowく100~300mg, 防長・赤出し・八丁はその中間に位して400~600mg, 備前・佐渡・天然・名古屋は700~1000mgで最も高い値を示した。此様な差異は仕込配合, 熟成期間, 醸造型式の差異によるものと考えられるが興味ある事である。

上記の様に総有機酸量及び個々の有機酸量に差異があつても構成有機酸の種類は殆んど差異が認められなかつた。

此様な有機酸の中, 比較的多量含有せられるものは乳酸(20~40%), 酢酸(5~30%), 琥珀酸(7~12%), クエン酸(9~17%)であり, 次いでリンゴ酸(2~8%), ピログルタミン酸(2~17%), マロン酸(2~6%), 蟻酸(1~4%)が多くその他の有機酸は比較的少かつた。

マロン酸が比較的多量に存在する事は、川野等⁹⁾が清酒中のその存在を認めた以外に、他の醸造物に於いて余り見られぬ事で興味ある事実と考えられる。

乳酸は佐渡・天然(北海道)・名古屋・黄金・備前の各味噌には乳酸の割合が多く40%程度であり、八丁・防長・赤出しは25~30%, 信州・越中・白は20%程度で最も低かつた。一方酢酸は信州・防長が最も高い値で25~30%, 約15%を占めるものが最も多く、八丁・佐渡・名古屋が最もlowく10%以下であつた。

品種による琥珀酸の差異は余り認められず、クエン酸は乳酸・酢酸と琥珀酸との中間的な値を示した。

之等の事から、各品種別に於ける特徴的な差異としては、乳酸と酢酸の量的な関係が問題となる様である。之等は仕込配合, 熟成期間, 製造法の差異等によつて異なるものと考えられるが次報に於いて、これ等仕込配合, 製造日数の判明した試料について実験を行つたので報告する予定である。

これ等市販品の健全性に就いて考えて見るに異常醗酵については好井⁹⁾の研究があり、岩下¹⁰⁾は健全味噌・酸敗味噌に含有される揮発酸を比較検討している。之等から考えると上記試料は何れも酸の組成に若干の差異は認められるも健全味噌の組成を持つものと考えられる。

要 約

市販味噌11種類中に含まれるエーテル可溶性有機酸を各々分離定量しその分布状態を明にした。その結果 Chromatography で溶出される酸の Peak は17個で乳酸・琥珀酸は一つの Peak を示すから少く共18種類の有機酸存在するものと考えられる。

既に行つた既知酸の Chromatogram によつて溶出酸を比較するとカプロン酸・酪酸・プロピオン酸・レヴュリン酸・酢酸・ピルビン酸・蟻酸・ α -ケトグルタル酸・琥珀酸・乳酸・マロン酸・ピログルタミン酸・グリコール酸・リンゴ酸・クエン酸が認められた。之等の酸の中で乳酸・酢酸・クエン酸・琥珀酸が量的に多い。今之等を味噌の種別に就いて見ると、

1. 乳酸の割合の多い味噌としては八丁・佐渡・天然(北海道)・名古屋・黄金・備前・防長で、割合の少い味噌は信州・白であつた。

2. 酢酸の多い味噌は信州・白で、割合の少い味噌は八丁・佐渡であつた。

終始御懇篤なる御指導を賜つた寺本四郎教授に深甚の謝意を表します。尚実験に協力された森・山田・岩原・尾崎の諸君に深謝します。

本研究は昭和33年10月18日、大阪醸造学会にて講演した。

文 献

- 1) 桜井芳人：農化, **9**, 1326 (1933). 桜井芳人：農化, **10**, 486 (1934). 桜井芳人：農化, **11**, 349 (1935). 桜井芳人：糧食, **81**, 191 (1933).
- 2) 百合山智通, 長谷川勇司：味噌技術, **13**, 1.
- 3) 上田隆藏等：本誌, **37**, 94 (1959).
- 4) 日本薬学会：衛生試験法註解, P.315.
- 5) 堀信一, 加藤二郎等：農化, **31**, 22 (1957).
- 6) MARVEL, RANDS: J. Am. Chem. Soc., **72**, 2642 (1950).
- 7) W.A. BULLEN, J.E. VARNER: Anal. Chem., **24**, 187 (1952).
- 8) 川野義男等：合酒技報, **5**号, 5 (1954).
- 9) 好井久雄：味噌技術, **27**, 1 (1955). 好井久雄：味噌技術, **28**, 1 (1955). 好井久雄：味噌技術, **38**, 1 (1955).
- 10) 岩下晴七：本誌, **37**, 264, (1959).

(昭和34. 7. 31受理)