

帝塚山大学オリジナル味噌の製法とうま味成分

The manufacture of Tezukayama Miso (Soybean Paste) and umami taste

藤原 永年*, 中屋 慎**

FUJIWARA Nagatoshi NAKAYA Makoto

Japanese Miso (Soybean Paste) is one of the traditional fermented-food. Fujiwara laboratory is trying to make our original miso (Tezukayama Miso) from 2014. At first, we carefully selected rice and soybean as raw materials, and complete our plan, manufacturing, quality test, and sales. We have completed our delicious soybean paste. In this study, we showed our protocol of the original miso manufacturing, and analyzed the free amino acids and organic acids by using LC/MS/MS, Shimadzu LCMS-8060 system. These components are important as umami components. Finally, the umami taste was evaluated by the electric tongue system, TS-5000Z. As the results, the feature of our Tezukayama Miso is partially clarified.

1. 緒言

数ある醗酵食品の中で、日本味噌は古くから伝わる伝統的な食品である。最古の記録として、901年の「日本三代実録」に「味噌」の文字が記されている¹⁾。今から1,100年以上前のことである。味噌は大豆と米麴が主要原料である。醗酵に利用される麴菌 (*Aspergillus oryzae*) は、味噌、しょう油、清酒などに必須の微生物であり、麴菌の特性がその品質に重要な影響を与えると考えられる。味噌に用いられる麴菌は、蒸し米に植菌して先ず米麴を作製する。その後、大豆と混合してさらに醗酵が促進される。麴菌は、味噌の主要原料となる大豆のタンパク質を分解するタンパク分解酵素(プロテアーゼ)と米の糖質を分解する糖分解酵素(アミラーゼ)を併せ持ち、その分解能力が優れていることが求められる。食品として栄養のバランスが取れた味噌は、日本食には欠かせない味噌汁としても多用される。近年、味噌の栄養・健康に関する研究が進み、機能性成分として、胃潰瘍予防効果、消化促進、整腸作用、美肌効果、脳卒中の予防効果などが報告されている^{2,3)}。

帝塚山大学・藤原研究室では、微生物利用食品の研究として、美味しい味噌の企画から製造、品質管理、成分分析、販売といった一連の商品化を実践する試みを2014年から開始した。当初は、麴菌の選定、主要原材料である米や大豆の品質、製法研究を検討した。その後、手作り味噌「甚五郎」(大阪府和泉市)の協力を得て、「帝塚山大学オリジナル味噌」(帝塚山味噌)として特徴的な白味噌を完成させた。製法確立のための検討内容、成分分析や経時的な味噌の味覚・成分変化について現状をまとめたので報告する。

2. 材料と方法

2.1 帝塚山大学オリジナル味噌の原材料

麴菌； 丸福種麴^{もやし}(日本醸造工業株式会社製、茨城県日立市)

米； 粘性の低い古米を厳選(東北産)

大豆； 鶴娘(北の大地特選豆、株式会社松田商店製、北海道北斗市)

塩； 並塩(株式会社日本海水、東京都千代田区)

* 食物栄養学科 教授

** 大手前栄養学院専門学校 栄養学科 講師

2.2 アミノ酸及び有機酸の分析

遊離アミノ酸 20 種類と有機酸 18 種類を LC/MS/MS 分析法により同定・定量した。トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8060（島津製作所、京都市）のメソッドパッケージ（ソフト）を使用した。MS によって得られるターゲットイオンの m/z と MS/MS 分析によりターゲットイオンの開裂で得られたフラグメントイオンの m/z から物質を同定し、多重反応モニタリングにより定量した。本法により構造異性体の分離・検出が可能になり、ロイシン、イソロイシンを含む 20 種類のアミノ酸定量分析を実施した⁴⁾。

2.3 味認識装置による味覚分析

味覚分析は、味認識装置 TS-5000Z（株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー、神奈川県厚木市）を用いた。各味噌サンプル 15.0 g を 90°C に保温した純水 135 g に加え、十分に攪拌した後、紙茶こしで濾過した。室温まで水冷した濾液を試料として味覚分析に供した。この測定試料を用いて、酸味、苦味雑味、渋味刺激、塩味、苦味、旨味コクを測定した。次に、測定試料を基準液により 64 倍希釈し、旨味先味を測定した^{5,6)}。

3. 結果

3.1 味噌の製造

帝塚山味噌は全工程を手作業で行い、添加物を一切加えない、火入れを行わない手作りの生きた味噌とした。各工程の概略を下記に示した。

米麴の作製工程

- 1) 古米を蒸気で蒸し、室温まで自然冷却した。
- 2) 丸福種麴を均一に蒸し米に分散させた。大きな布で覆い、室の中で醗酵させた。
- 3) 12-24 時間後に、醗酵熱により室全体の温度が 30°C 以上に上昇していること、蒸し米に麴菌が入って広がっていることを確認した。
- 4) 醗酵を促進するため、24 時間後に薄型段ボール箱に 1 箱あたり 970 g の蒸し米を薄く広げた。
- 5) 蒸気を吹き付けた竹蓋で蓋をして、十分に通気ができる間隔で 1 箱おきに積み重ね、室の中で醗酵を継続した（図 1a）。
- 6) 部屋の温度が 30°C 前後で一定するように常時監視した。通常は醗酵が進むと温度上昇が激しくなるので、外気を入れて温度を下げるよう管理する必要があった。
- 7) 約 24 時間の醗酵で、麴菌が蒸し米の中心まで入り込んだ綿状の米麴が出来上がった（図 1a）。

蒸し大豆の準備

- 1) 前夜から水につけた鶴娘大豆 27 kg を十分に水切りした。その後、蒸気で 4 時間蒸した。鶴娘大豆は大粒で皮が薄い。ゆでるのではなく、蒸すことによって薄皮の剥がれを抑え、栄養価を逃がさない工夫をした。
- 2) 大豆粉砕機で蒸し大豆を潰した（図 1b）。この段階で蒸し大豆は水分を吸っているため、約 54 kg となった。

米麴と大豆の混合

- 1) 米麴 36 枚（約 36 kg）と潰した蒸し大豆 54 kg を混合器に入れた。さらに並塩 2.0 kg、種水 3 L 程度を加え、7 分間攪拌混合した（図 1c）。種水の量で粘性度を調整した（大豆の蒸し湯は利用しない）。

- 2) 樽に取り出し、上から強く押さえることで空気を抜いた。
- 3) 表面に飽和食塩水を加えて、均一に抺げた。布で覆い 4-10°C 程度の保管庫で自然醗酵した (図 1d)。
- 4) 10 日毎に樽の上下を入れ替える天地返しを行い、均一な醗酵を促した。
- 5) 通常 2 ヶ月程度で塩辛さが引き、甘みの勝ったお味噌に仕上がった。

a. 室での米麴作製



b. 大豆の粉砕



c. 麴・大豆・塩の混合



d. 樽詰め



図 1 味噌製造フローチャート

3.2 主要成分の分析

遊離アミノ酸

大豆は高タンパク質食材であり、麴菌のプロテアーゼによりアミノ酸に分解される。タンパク質構成アミノ酸に比べ、遊離アミノ酸は量的には少ないと考えられるが、うま味成分として舌の味蕾に接触して味を伝えている。代表的なうま味成分としてグルタミン酸が挙げられる。味噌の美味しさを測る指標として重要である。また、同様にコハク酸などの有機酸もうま味成分として挙げられる。LC/MS/MS 分析で、20 種類のアミノ酸を定量した。帝塚山味噌の遊離アミノ酸成分を、市販品 M と比較して、図 2 にまとめた。帝塚山味噌の遊離アミノ酸量が市販品 M に比べて全て低めであることがわかった。どちらの味噌も、アスパラギン、システイン、ロイシン、フェニルアラニンの含量が他のアミノ酸に比べて突出して高かった。全体のパターンとして、市販品 M は、アミノ酸間での含量が不揃いであるのに比べ、帝塚山味噌は上記の含量の多い 4 種類以外のアミノ酸含量はおしなべて均衡がとれていることが特徴であった。

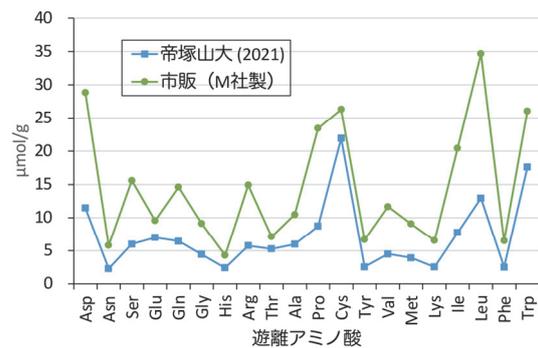


図 2 遊離アミノ酸の比較

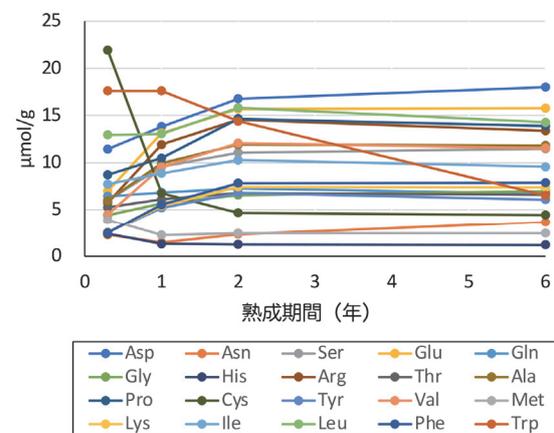


図 3 遊離アミノ酸の経時変化

次に、火入れをしていない帝塚山味噌は醗酵・熟成が常に進行している。過去6年間の保管味噌の amino 酸組成を比較してみると、ほとんどの amino 酸は醗酵後2年程度からほぼ一定の含量に落ち着いている。当初含量の高いシステインとトリプトファンは醗酵後1年間以上、徐々に含量が減って、その後安定した。醗酵2年程度まで徐々に含量が増える amino 酸も多く見られた。amino 酸含量としては醗酵後2年を経過すればほぼ定常値になることがわかった(図3)。

有機酸

有機酸については、メソッドパッケージで測定可能な9種類について検討した。ここでは、含量が多く、うま味成分との関連が指摘される酢酸(acetic acid)、クエン酸(citric acid)、乳酸(lactic acid)、コハク酸(succinic acid)について経時的な変化を図4に示した。遊離 amino 酸と同じ市販品Mを比較対照とした。帝塚山味噌は市販品Mに比べて、酢酸、乳酸、コハク酸の含量が有意に低かった。酢酸は醗酵期間が長くなるにつれて含量が減少傾向を示した。醗酵が続く限り、麹菌の生存維持、増殖のために炭素源として有機酸が消費されていることが考えられた。

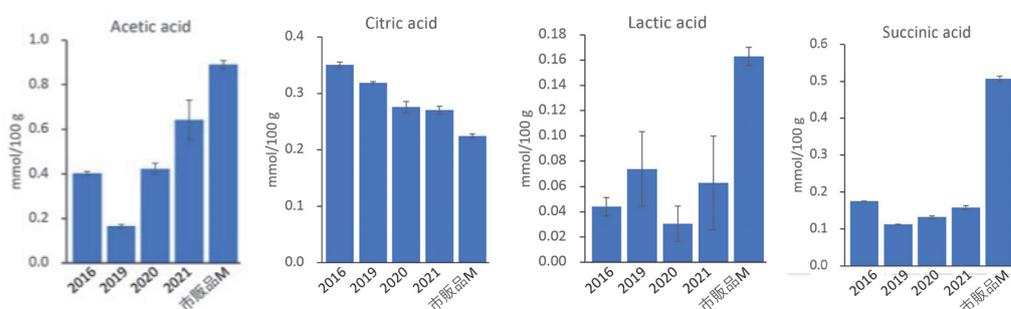


図4 有機酸の経時変化

味覚分析

味覚分析を味認識装置 TS-5000Z を用いて行った。この装置は、従来の化学分析では検知不可能であった味の違いを検出する。味覚センサーにより味を広域選択的に数値化、判定する仕組みで、苦味雑味、渋味刺激、塩味、苦味、渋味、旨味コク、旨味の表現で比較できる。図5、6に2021年に製造した帝塚山味噌を基準にしたレーダーチャートを示した。先ず、製造後6年間の各サンプルを比較したところ、全て同じパターンに収まった(図5)。苦味雑味、渋味刺激が高く、塩味が低いことが帝塚山味噌の特徴であることがわかった。品質が毎年一定している証となる。市販品Kおよび市販品Oと帝塚山味噌を比較すると、市販品2品目と明確に異なるレーダーチャートが描かれた(図6)。表1に

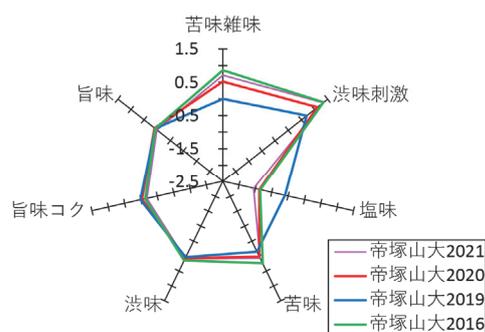


図5 経時的な味覚変化

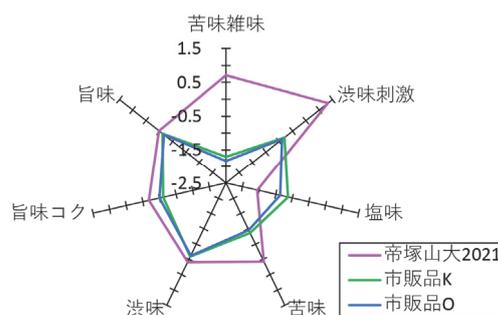


図6 市販品との味覚の比較

おける味の表現より、まろやか、すっきり、コク、深み等は購買者からの感想と一致していて、興味深い結果である。

表1 味覚センサーで評価できる味覚

	数値化	味の表現
先味 (すっきりと消える味)	酸味	すっぱい、あっさり、キレがある
	塩味	しょっぱい、穏やか
	旨味	うま味、まろやか
	苦味雑味	苦い、コクがある
	渋味刺激	渋い、すっきり、深みがある
後味 (舌に残る後ひく味)	苦味	苦い、どっしり感が残る
	渋味	渋い、複合的な感覚が残る
	旨味コク	持続的なうま味、余韻が残る

TS500Z のユーザーマニュアル参照

4. 考察

独自の味噌を企画開発するために、原材料の厳選から始め、製法や特徴をひとつひとつ検討していった。その経過のなかで手作り味噌「甚五郎」と出会い、色々と技術的なご指導を頂き、味噌の本質に迫ることができた。我々の帝塚山味噌のコンセプトとして、食品添加物などを一切使わないシンプルなものにする、火入れをせずに生きた味噌を消費者に届ける、全て手作りで製造することにした。お味噌の原材料としては、米麴と大豆、塩のみに頼っている。麴菌の活発な醗酵力によって独自の味を出すことに注力した。その中で、重要となったのは米麴と大豆の比率である。米麴由来デンプンの糖化により甘みが調節できる。麴歩合（麴の大豆に対する割合、 $\text{麴}/\text{大豆} \times 10$ ）を13割（歩）程度に設定して、甘みを強調している。減塩も考慮して、塩分濃度を2.5%以下に抑えている。毎年、秋口に仕込み、熟成期間4ヶ月以内を「若」、4ヶ月以上を「熟」と称してご要望頂いた方々にお届けしている。ほぼ2:1の割合で醗酵度の進んだ「熟」が好評である。これは嗜好の問題で、醗酵期間の短い「若」は米麴のざらざら感を残しているのに対し「熟」はしっかりとしたコクのある味に仕上がっている⁷⁾。

成分分析の結果、経時的な結果として、遊離アミノ酸、有機酸の組成は醗酵開始後2年間で安定期に入ることがわかった。20種類のアミノ酸全てを質量分析で同定できたが、アミノ酸の種類による含量の差異が市販品と顕著で帝塚山味噌の特徴になっている。うま味成分としては、一般的にはグルタミン酸などのアミノ酸、イノシン酸などの核酸由来成分、さらに、コハク酸などの有機酸が影響していると考えられている。確かに経時的にはグルタミン酸の量が増えてくる傾向があり、まろやかな味噌のうま味に貢献していることが示唆される。今回、味覚分析として味認識装置による分析を行った。最長6年間の熟成期間の異なる帝塚山味噌のレーダーチャートがほぼ一致したこと、市販品とパターンが有意に異なっていたことは、我々のオリジナリティーと品質の安定を証する結果となっている。舌の表面には、味細胞の集まりで甘味・苦味・塩味・酸味などを感じる味蓄^{みらい}と呼ばれる味覚センサーがあり、これらの味が複雑に混じり合い、ヒトは「おいしさ」を感じるができるはずである。今回、味認識装置で電気信号として味覚を評価した結果がアミノ酸、有機酸の分析結果と一致していたことは評価できる。本装置での味覚分析は他分野への応用も含め、有用であると考え^{8,9)}。

引き続き、独自性を追求した手作り味噌の製造と成分分析などの品質管理に注力していきたい。

謝辞

LC/MS/MS 分析は、大阪市立大学大学院医学研究科共同研究室で実施した。技術職員・江上三佳氏の支援に深謝致します。本研究は、帝塚山大学特別研究費（平成 31 年度、令和 2 年度、令和 3 年度）の助成を受け執り行われた。深く御礼申し上げます。本研究の取り組みにご協力頂いた手作り味噌「甚五郎」、啓林堂書店株式会社奈良店、新大宮店に心よりお礼申し上げます。技術的な指導を懇切丁寧に教授して頂いた「甚五郎」元代表・出原元氏は 2021 年 2 月 22 日、若くして逝去されました。承ったご厚情に感謝し、心よりご冥福をお祈りすると共に、研究協力者として本紀要を献げます。

参考文献

- 1) みそ健康づくり委員会編：みそ文化誌、全国味噌工業協同組合連合会・中央味噌研究会、2001
- 2) 渡邊敦光：お味噌の効能、醸協、第 105 巻、第 11 号、pp.714-723、2010
- 3) Watanabe H, Sasatani M, Doi T, Masaki T, Satoh K, Yoshizumi M: Protective effects of Japanese Soybean Paste (Miso) on Stroke in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats (SHRSP), *Am J Hypertens*, 8;31(1):43-47, 2017 Dec 8
- 4) Nakano Y, Konya Y, Taniguchi M, Fukusaki E: Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitative analysis of trace d-amino acids, *J Biosci Bioeng*, 123(1):134-138, 2017 Jan
- 5) Immohr LI, Turner R, Pein-Hackelbusch M: Data for a pre-performance test of self-developed electronic tongue sensors, *Data Brief*, 9:1090-1093, 2016 Nov 19
- 6) Zhang X, Zhang Y, Meng Q, Li N, Ren L: Evaluation of Beef by Electronic Tongue System TS-5000Z: Flavor assessment, recognition and chemical compositions according to its correlation with flavor, *PLoS One*, 10(9):e0137807, 2015 Sep 14
- 7) Allwood JG, Wakeling LT, Bean DC J: Fermentation and the microbial community of Japanese koji and miso: A review, *Food Sci*, 86(6):2194-2207, 2021 Jun
- 8) Rhyu MR, Kim EY: Umami taste characteristics of water extract of Doenjang, a Korean soybeanpaste: Low-molecular acidic peptides may be a possible clue to the taste, *Food Chem*, 127(3):1210-1205, 2011 Aug 1
- 9) Ling H, Shi H, Chen X, Cheng K: Detection of the microbial diversity and flavour components of northeastern Chinese soybean paste during storage, *Food Chem*, 374:131686, 2022 Apr 16