

【研究区分：地域課題解決研究】

研究テーマ：広島県産醤油の高品質化に向けた醤油の風味評価に関する研究	
研究代表者：生物資源科学部 地域資源開発学科 准教授 馬淵良太	連絡先：mabuchi@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者：広島県立総合技術研究所 食品工業技術センター 生物利用研究部 主任研究員 坂井智加子，副部長 藪宏典，主任研究員 藤原朋子	
<b>【研究概要】</b> 本研究は、広島県醤油の品質向上及び独自醸造酵母・乳酸菌の開発に向け、醤油の新たな風味評価系を構築し、ラボレベルで製造した醤油に適用させた。GC-MS を用いて醤油中の呈味成分と香气成分の網羅的解析法を確立し、さらにこれらの醤油試料で官能評価を行い、成分との相関性解析により、官能的に感じる風味に寄与する成分を探索した。この風味評価系により、「香り・エステル・白ワイン」など風味成分と相関する官能評価項目を特定した。本研究で構築した風味評価系の有効性が示された。	

**【研究内容・成果】**

**研究内容（背景・目的）**

醤油は、様々な地域で特徴ある商品が製造され、日常的に各家庭で使用されている日本人の食生活に欠かせない調味料の一つである。醤油は、大豆、小麦、塩を原料に麹菌、乳酸菌、酵母が発酵に関与し製造される。これらの製造工程での醸造微生物の関わりは非常に複雑である。広島県の醤油業界のニーズとして、県独自の酵母の開発や全国鑑評会などで入賞する醤油の特徴的成分を明らかにし、品質向上に活かしたいという要望がある。醤油は、窒素分、アルコール濃度、pH、塩分等の理化学分析（醤油の一般分析）と官能評価（色、味、香り）を併せて品質を評価しているが、醤油の一般分析と官能評価結果との関係性の解釈は難しい。その理由として、醤油は、多種多様な成分で構成されており、特定の成分の有無で評価できるものではないこと、従来測定していた成分のみでは評価できないことが挙げられる。さらに官能的に感じる風味に寄与する呈味・香气成分を風味成分とすると、それぞれには閾値が存在するため、成分量の大小がそのまま風味として表現されるわけではないことも挙げられる。そのため、醤油に含まれる特徴的な風味成分の特定及びその成分データから品質改善・向上に繋げた研究事例は少ない。

最近、このような食品に含まれる成分量とヒトが感じる官能評価等の関係性を明らかにする新しい研究手法としてメタボローム解析が注目されているが、醤油醸造における醸造微生物と代謝物との関係性に加え、醤油製品の官能評価との関係性については検討されていない。そこで本研究では、メタボローム解析手法に基づいて新たな風味評価系を構築し、醸造微生物が醤油成分に与える影響の把握及び醤油成分が官能評価に与える影響を評価した。

**研究成果**

1. 試料調製：試料は、酵母の有無、酵母の種類、乳酸菌の有無、火入れの有無の条件を変えたときの成分の変化を把握するために、酵母の影響把握のための小仕込み試験①、酵母と乳酸菌の相互作用の把握のための小仕込み試験②及び火入れ条件の比較試験を実施した。火入れ条件の比較には、中国醤油醸造協同組合で製造されている生揚げ醤油を使用した。

2. GC-MS 分析による風味成分の分析及び官能評価

ア. 水溶性一次代謝成分（主に呈味成分）の分析系の確立

これまでに確立した食品を対象とした GC-MS メタボローム解析手法をベースに醤油に適用させた。まず、小仕込み試験①の試料を分析したところ、約 200 の成分が検出された。多変量解析は、試料間の差を明確にするため、OPLS-DA による判別分析を行った。その結果、第一主成分（横軸）の右側に「酵母あり」の区が位置し、左側に「酵母なし」が位置し、酵母の有無による差異が一次代謝成分から明確に区別できた。また、「酵母あり」の区については、D 試料のみ他と区別できる傾向が見られた。次に、重要な変数である VIP 値を算出し

し、特に酵母の有無に寄与する重要な成分を抽出した。このように本方法が醤油試料に適用可能であることが確認された。

#### イ. SA-SBSE 法による香気成分の分析系の確立

香気成分の抽出及び分析は、SA-SBSE-LD-LVI 法によって行った。試料は、醤油 5mL で行い、食塩は最終塩分濃度が 20%になるように、内標は 3-octanol を終濃度 25ppm になるように添加した。得られたデータの処理は、MassHunter Qualitative Analysis を用いて、ピークの検出及び面積値を得た。最終的には、内標ピーク的面積値で各ピーク的面積値を除算した内標比面積値について、アライメント処理を行った。小仕込み試験①の試料での分析では、732 のピークが検出された。これらのデータを一覧化し、ア. と同様に解析を行った。その結果、酵母の有無の他、火入れの有無で区別できた。このことにより、条件間を区別するとき、一次代謝成分よりも香気成分が大きく影響することが確認された。また、判別に重要な香気成分を VIP 値から抽出した。このように、本研究で醤油試料の網羅的な香気成分分析の実験系が確立された。

#### ウ. 官能評価

醤油の特徴を表現するために、官能評価項目を設定した。本研究において、71 項目を定義した。香りは 30 項目、味は 14 項目とし、一般的な五味と渋味、エグミに、醤油に感じられるコクを加えた。後味は、味わった後に 5~10 秒後も感じる味とした。風味は 24 項目、食感 3 項目とした。強度は、感じなかったら 0、わずかに感じたら 1、感じたら 2、強く感じたら 3 とした。官能評価は、90 オンスカップに醤油を 10mL 入れて、蓋をして 30 分以上経過してから行った。1 回に供する試料は、ランダムに 10 個を選んで、3 桁の数字を付けた。試料の摂取する順番と水は自由摂取とした。得られたデータは一覧化し、OPLS-DA に供した。その結果、官能評価においても酵母及び火入れの有無の違いを示す傾向が認められた。

#### 3. 風味成分と官能評価の相関性解析

風味成分データを  $x$  (説明) 変数、官能評価データを  $y$  (応答) 変数にし、O2PLS 解析に供し、有意な相関がある官能評価項目を特定し、その項目と相関性が高い風味成分を探索した。これにより官能的に感じる風味に寄与する成分を以下のように特定した。

小仕込み試験①：O2PLS 解析により、「香り・エステル・白ワイン」が有意な官能評価項目であった。この項目について、さらに OPLS-R (回帰分析) に供したところ、有効な予測回帰式が作成された。また、「香り・エステル・白ワイン」と相関性が高い  $x$  変数を VIP 値から算出した。官能的に感じる風味に寄与する成分を特定することができた。

小仕込み試験②：O2PLS 解析で、小仕込み試験①に比べ、多くの官能評価項目で有意差を示した。有意差を示した項目は、「香り・感覚・レム臭」、「香り・甘い・綿菓子」、「香り・すーっとする・エタノール臭」、「香り・だし・鰹だし」、「風味・コゲ・炭」であった。

小仕込み試験①と②の比較：乳酸菌添加による影響を検討した。まず、風味成分及び官能評価で主成分分析に供した。その結果、乳酸菌あり (②) なし (①) で区別できた。このように乳酸菌添加は、醤油中の風味成分及び官能に大きく影響することが確認できた。このデータでも同様に相関性解析したところ、O2PLS 解析で 19 項目において有意差が得られた。差のあった官能評価項目は乳酸菌添加で変化した可能性が高く、これに寄与する風味成分が官能に影響している可能性が考えられた。

火入れ条件の検討：非加熱と 65°C1 時間加熱が第一主成分の右側に、65°C1 時間加熱後 80°C で 30 分追加加熱と 80°C で 30 分加熱が左側に位置した。80°C の加熱処理が風味成分やその官能に影響を与える可能性が示唆された。O2PLS 解析で有意差があるものは認められなかったが、最も寄与していた項目は、「香-エステル-花」であった ( $p=0.237695$ )。

以上本研究では、メタボローム解析手法に基づいた醤油の新たな風味評価系を確立し、小仕込み試験及び火入れ条件の検討により、ラボレベルで製造した醤油の評価に適用できた。今後、本評価系は、醤油だけでなく、様々な発酵食品への展開が期待される