



Title	醤油中の主要アミノ酸に関する研究主として遊離アミノ酸の消長よりみた天然醸造法と速醸法との比較検討
Author(s)	藤原, 耕三
Citation	大阪大学, 1963, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/2429">https://hdl.handle.net/11094/2429</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 醬油中の主要アミノ酸に関する研究

主として遊離アミノ酸の消長よりみた

天然醸造法と速醸法との比較検討

藤 原 耕 三

# 醤油中の主要アミノ酸に関する研究

主として遊離アミノ酸の消長よりみた天然醸造法と速醸法との比較検討

緒 言 .....	1
第 1 章 バイオアッセイによる醤油中の主要アミノ酸定量の吟味 .....	3
第 1 節 各種アミノ酸のバイオアッセイ .....	4
第 2 節 パラオキシ安息香酸ブチルエステルのバイオアッセイに及ぼす影響 .....	13
要 約 .....	16
第 2 章 醤油原料の主要アミノ酸含量 .....	17
第 3 章 各種醤油の主要アミノ酸含量 .....	20
第 1 節 供試各種醤油の一般組成 .....	20
第 2 節 各種アミノ酸含量 .....	22
要 約 .....	30
第 4 章 天然醸造諸味に於ける主要アミノ酸の消長 .....	31
第 1 節 一般成分の変化 .....	31
第 2 節 各種アミノ酸の消長 .....	38
第 3 節 原料利用率 .....	50
要 約 .....	53
第 5 章 加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長 .....	55
第 1 節 加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長 .....	56
第 2 節 原料利用率 .....	72
第 3 節 一型式の加温速醸に於けるグルタミン酸の消長 .....	76
第 4 節 小醸酵試験に於けるグルタミン酸の消長に及ぼす温度の影響と 諸味添加の効果 .....	81
第 5 節 アミノ酸の消長よりみた加温速醸の批判及びその対策 .....	91
要 約 .....	93
総 括 .....	95
文 献 .....	98

醤油は古くから使われて来たわが国独自の調味料である。一説によれば、1234年禅僧覚心が紀州有田郡湯浅にて醸造したのが最初と云われるが、その起源は明らかでない。しかし江戸時代初期には既に紀州湯浅、播州竜野、下総野田、銚子、尾張名古屋に企業としての醤油醸造が勃興し、わが国の食生活に大きな役割を果たして来た。現在、年間生産量は130万トン以上に及んでおり、1955年乃至1959年に於ける統計<sup>1)</sup>では各年度とも国民1人1日当たり37～40gの供給がなされたことを示している。又露口氏等<sup>2)</sup>が大阪市内2184世帯について実際に消費した量を調査した結果でも、1日1人当たり約30mlであったと云う。

醤油は約20%の食塩を含むものであるから、1日1人当たり消費量中に含まれる食塩量は5g以上となり、これは成人1人1日必要量とされている約15gの1/3に相当する量であって、醤油は日本人の食塩供給源として重要な役割を果たしている。このように、醤油が日本人の食塩供給源として重要な役割を果たしているのは、その風味が日本人の嗜好に適しているからであり、従って、醤油では食塩以外の成分の持つ複雑な風味が重要である。その一成分としてアミノ酸があげられる。醸造醤油では1.5%程度の全窒素が含まれる。

醤油中のアミノ酸では呈味成分として最も重要なものはグルタミン酸であり、醤油中のグルタミン酸に関しては、有働<sup>3)</sup>、石塚<sup>4)</sup>、堀<sup>5)</sup>諸氏の研究がある。しかし、醤油中のアミノ酸ではグリシン、アラニンの如き甘味を持ったアミノ酸の呈味成分としての役割も少なくなろう。

本来、醤油は調味料であるから、醤油中のアミノ酸に関しては呈味成分としてのみ取扱われて来た。しかし先に述べたように醸造醤油には1.5%程度の全窒素を含むものであるから、1日1人消費量を30mlとした場合3g程度のアミノ酸を摂取し得ることになる。これを日本人の蛋白質摂取源としてみる場

合は1日必要量の5%以下であって殆ど問題にし難いが、蛋白質の代謝では必須アミノ酸の摂取が問題であり、屢々、不足している特定の必須アミノ酸を10mg乃至100mg order 投与するだけで大きな補足効果を挙げる事が知られている。このような必須アミノ酸の補足効果を挙げる意味に於いては、醤油中の必須アミノ酸は今後注目されて然るべき点もあろう。このような意味に於いて、著者は醤油中のグルタミン酸、グリシン及び必須アミノ酸について一連の研究を行った。

先ず第1章では本研究のアミノ酸定量法として使用したバイオアッセイの吟味を行った。第2章に於いては醤油の主要原料である小麦、蕎麦、大豆、脱脂大豆の主要アミノ酸含量について述べ、第3章に於いては各種醤油中の主要アミノ酸組成を明らかにした。しかし、著者の最も重視したのは諸味熟成中に於ける遊離アミノ酸の消長である。従来、醤油諸味に於いては諸味熟成中に原料蛋白質から麹菌の蛋白質分解酵素によってアミノ酸が遊離されるものと考えられて来ている。事実、諸味熟成中には水溶性区分に於ける全窒素及びアミノ態窒素の増加が認められる。しかし、諸味中に於ける遊離アミノ酸の動向は決して単純なものでないと考えられる。一度遊離されたアミノ酸の変化消失が当然考えられるところである。1956年堀氏等<sup>5)</sup>は醤油諸味では一度遊離されたグルタミン酸がピロ化することを指摘した。従って、各種アミノ酸の消長は全窒素或はアミノ態窒素の消長に類似するものであるが否かは明らかでない。然るに醤油諸味熟成中に於ける各種アミノ酸の消長は殆ど明らかにされていない。著者は第4章に於いて天然醸造諸味に於ける9種遊離アミノ酸の消長を検討した。続いて第5章では加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長を明らかにして天然醸造諸味に於けるそれと比較検討し、加温速醸法の基礎的資料を得ると共にその改良に一指針を与えた。

要するに本論文では醤油原料、醸造期間、醤油製品についてその主要アミノ酸に関して述べるものである。

## 第1章 バイオアッセイによる醤油中の主要アミノ酸 定量の吟味

各種アミノ酸の定量法は旧くから種々研究されて来ているが、現在利用される一般的微量定量法としてはクロマトグラフ法、酵素法、バイオアッセイ等があげられる。クロマトグラフ法は適当な吸着剤を使用して分離定量する方法で数多くの研究がなされ、<sup>6)~10)</sup> 特に S. Moore, W. H. Stein<sup>11)~15)</sup> は輝かしい業績をあげた。この方法は一試料の全アミノ酸組成を知るには優れた方法であるが、特定アミノ酸の定量を多くの試料について行うには尚操作上困難な点がある。酵素法は、酵素反応に於いては酵素と基質との間に特異的な関係が成立することを利用して、各種アミノ酸にそれぞれ特異的な酵素を用いて定量する方法である。O. Schales<sup>16)</sup> 等は南瓜のグルタミン酸脱炭酸酵素を用いてグルタミン酸の定量を行っている。この方法は迅速に定量できる点及び光学的特異性を持った化合物を特異的に定量できる点等利点があるが、多種類のアミノ酸分析法は未だ確立されていない。バイオアッセイは微生物の栄養要求を基にしてアミノ酸の定量を行う方法で、特定アミノ酸を要求する菌株を選び、そのアミノ酸だけを除いて他の栄養素の完備した培地を作り、これに特定アミノ酸を低濃度に段階的に添加し接種すると添加アミノ酸量に response して生育又は生酸することを利用したものである。1943 年 Kuiken 等<sup>17)</sup> が *Lact. ambinosus* に 9 種アミノ酸が必須であることを認め、その中イソロイシン、ロイシン、バリンの 3 種のアミノ酸の定量が可能であることを報告した。同年 12 月彼等は微生物によるアミノ酸の定量法の操作と、ゼラチンその他 4 種の食品中のイソロイシン、ロイシン、バリン定量値を報告した<sup>18)</sup> が以来 Lyman Stockes, Snell, Dunn, Elevehjem, Kuiken 等によって更に研究が進められた。本法の解説としては Snell,<sup>19)~21)</sup> Dunn,<sup>23)</sup> 田村等,<sup>23)</sup> 角田<sup>24)</sup> 鈴木, 村岡<sup>25)</sup> の総説がある。この方法は一試料に於ける多種類のアミノ酸の定量には適当とは云い難いが、反対に多数試料中の特定アミノ酸の定量を行う

には優れた方法である。そこで著者はこの方法によって各種醤油のアミノ酸含量を測定することとした。

バイオアッセイによるアミノ酸の定量法は一応確立されているが微生物の生育を基に行う方法であるから、その発育促進物質乃至は阻害物質が試料中に混在する場合は全く用をなさない。角田氏等<sup>26)</sup>はこの方法で天然醸造醤油中のアミノ酸の定量を行っているが尙検討すべき問題点もある。そこでバイオアッセイによる各種醤油中のアミノ酸の定量に関する検討を行った。

## 第1節 各種アミノ酸のバイオアッセイ

### 1. 実験方法

#### i) 操作

バイオアッセイの操作は橋田氏等<sup>27)</sup>の方法によった。その概略を示すと次の通りである。

定量すべきアミノ酸を除いた基礎培地を  $3/2$  濃度に作製しこの培地を内径 15 mm の殺菌綿栓試験管に 2ml 宛分注した。次に定量すべきアミノ酸の結晶を用い所定濃度の標準溶液を 10 段階に作成しその 1ml 宛を先の試験管に加えた。別に測定すべき試料を適当に稀釈し、その 1ml 宛を先に培地 2ml を分注した試験管に加えた。同一内容物を含む試験管は、標準溶液を含むものはそれぞれ 4 本、試料を含むものは各々 3 本宛用意した。尙同一試料について稀釈度の異なるものを 2 種宛用意した。又各定量毎に回収率を測定するために次の内容物を含む試験管をそれぞれ 3 本宛用意した。

即ち、先の培地 2ml に適当に稀釈した試料 0.5ml を加え、更に既知量の定量すべきアミノ酸を含む水溶液 0.5ml を添加した試験管である。この場合添加アミノ酸量は適当な 4 段階の濃度に用いた。

以上の後各試験管をオートクレーブして殺菌した。この場合 15lb を越える蒸気圧，15分を越える滅菌時間ではカルメライズして菌の生育に悪影響を及ぼすため条件は 10lb, 10 分間とした。

殺菌の終わった培養試験管には試験菌を接種する。接種方法は次の通り行った。接種すべき 24 時間前に保存培地から殺菌前培養培地に一白全耳接種した。前培養培地は完全合成培地を使用した。Lact.-arabinosus を用いる場合は 37℃ で Leuc.mesenteroides P-60 を用いる場合は 30℃ で培養した。前培養 24 時間後培養液を無菌的に遠心分離した。遠心分離は 3,000 r.p.m. 7 分とした。次に無菌箱内で上澄液を捨て菌体を滅菌生理食塩水にて洗滌し再び遠心分離した。この操作を 2 回くり返した後 Heavy inoculum では前培養液の 5 倍量の Light inoculum では 100 倍量の滅菌生理食塩水に懸濁し接種菌液を作った。この接種菌液を滅菌ピペットを用い各培養試験管に 1 滴宛接種した。

接種後の培養試験管は Lact.arabinosus の場合は 37℃ で Leuc.mesenteroides の場合は 30℃ で培養した。72 時間培養<sup>後</sup>（グリシン定量時は 48 時間）殺菌し、滴定は B.T.B. と N.R. の混合指示薬を用い、Lact.arabinosus 培養時は  $N/10$  NaOH soln. で Leuc.mesenteroides 培養時は  $N/20$  NaOH soln. で行った。滴定値より標準溶液の添加アミノ酸量と生酸量から標準曲線を求め、試料含有試験管の滴定値から含有アミノ酸量を求めた。

## ii) 菌株の保存

本研究に使用した乳酸菌は Lact.arabinosus. Leuc.mesenteroides P-60 の 2 株で何れも次の方法で保存した。酵母エキス 0.5% , ペプトン 1% , 肉エキス 0.5% , 食塩 0.1% , 寒天 2~3% を含む培地を pH6.8 に調節し試験管に 10ml 宛分注し殺菌して保存培地を作成する。この保存培地に種菌を穿刺し、30℃ 20 時間培養後 5℃ の冷蔵庫内に貯



蔵した。2～3週間毎に植えつぎを行った。

iii) 定量用基本培地

定量用培地は田村氏等<sup>28)</sup>のものを用いた。その基本培地組成を示すと次の通りである。

DL-Alanine	200 <i>mg</i> /L	Thiamine Hcl	1000 <i>γ</i> /L
DL-Aspartic acid	400	Riboflavin	1000
L-Arginine Hcl	200	Pyridoxine	1000
L-Cystine	100	Pyridoxal	200
L-Glutamic acid	500	Ca-Pantothenate	1000
Glycine	100	Nicotinic acid	1000
L-Histidine	100	PABA	200
DL-Isoleucine	200	Biotin	10
L-Leucine	200	Folic acid	10
L-Lysine Hcl	200		
DL-Methionine	200	Glucose	20 <i>g</i> /L
DL-Phenylalanine	200		
L-Proline	100	Na-acetate	20 <i>g</i> /L
DL-Serine	100	NH <sub>4</sub> cl	3 <i>g</i> /L
DL-Threonine	200		
DL-Tryptophan	100	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500 <i>mg</i> /L
L-Tyrosine	100	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	500
DL-Valine	200		
		MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	200 <i>mg</i> /L
Adenine SO <sub>4</sub>	10 <i>mg</i> /L	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	10
Guanine Hcl	10	MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	10
Uracil	10	Nacl	10
Xanthine	10		

PH 6.8

## 2. 各種アミノ酸の標準曲線及び回収率

各種アミノ酸の定量について得られた標準曲線及び回収率の1例宛をあげると以下の通りである。尚回収率は何れも8例の平均値を示してある。

### i) アルギニン

第 I-1 図 アルギニン標準曲線

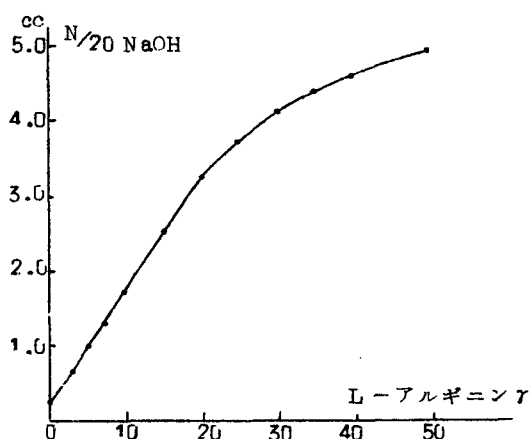
アルギニンの標準曲線は第 I-1 図に示した。

使用菌株: *Leuc.mesenteroides* P-60

接種菌濃度: 1:100

回収率:  $102.3 \pm 2.9\%$

標準溶液はL-アルギニン塩酸塩を用いL-アルギニンに換算した。

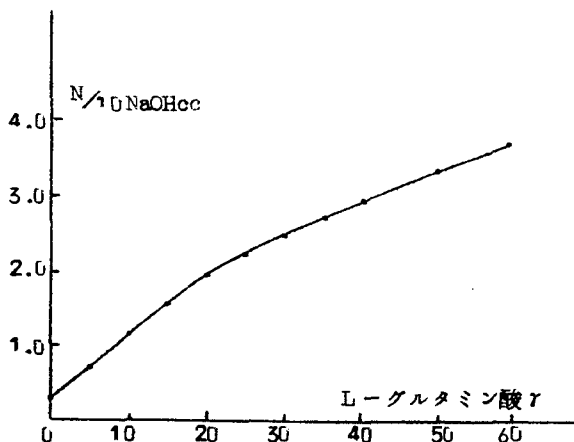


### ii) グルタミン酸

グルタミン酸の標準曲線は第 I-2 図に示した。

使用菌株: *Lact.arabinosus*.

第 I-2 図 グルタミン酸標準曲線



接種菌濃度: 1:5

回収率:  $99.3 \pm 2.6\%$

基礎培地は田村氏等の基本培地よりアスパラギン酸を除きアスパラギンを加えPHは6.0に調整した。Baumgarten<sup>29)</sup>によって指摘されたように生酸量を増大せしめLagを解消せしめる為である。

### iii) グリシン

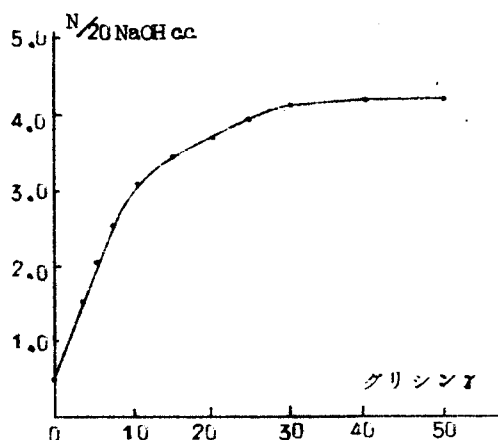
グリシンは培養時間が長いと合成能が現れてHigh blank となるため培養時間は48時間とした。得られた標準曲線の1例は第I-3図に示した。

使用菌株：Leuc.mesenteroides P-60

接種菌濃度：1 : 100

回収率：98.7±3.0%

第I-3図 グリシン標準曲線



### iv) イソロイシン

使用菌株：Leuc.mesenteroides P-60

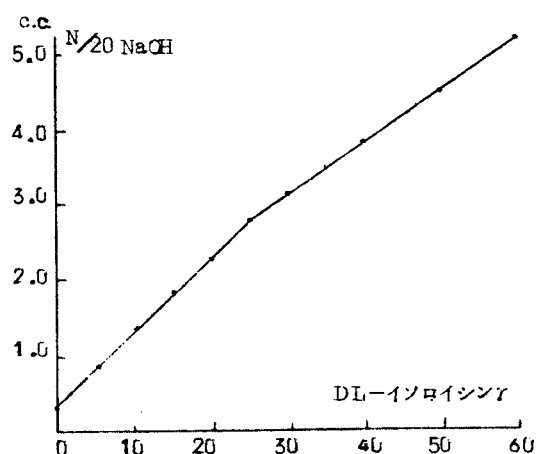
接種菌濃度：1 : 5

回収率：99.5±0.9%

標準曲線を第I-4図に示した。

イソロイシン定量時にはロイシン，バリンの拮抗阻害を受けるため，先の基本培地のロイシン，バリンの量を何れも1/4に減じて使用した。

第I-4図 イソロイシン標準曲線



v) ロイシン

使用菌株：Lact.

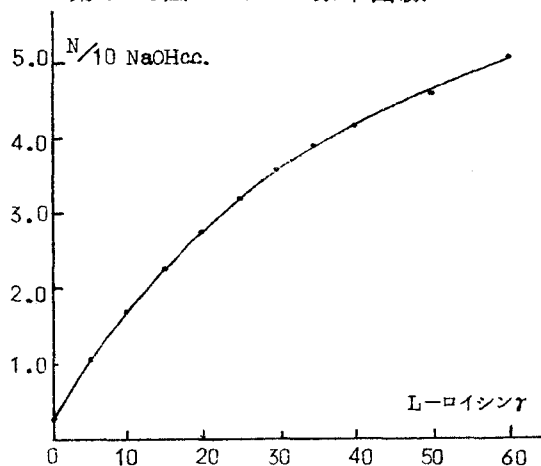
arabinosus

接種菌濃度：1：100

回収率：100.0±1.4%

標準曲線の1例を第I-5図  
に示した。

第I-5図 ロイシン標準曲線



vi) リジン

使用菌株：Leuc.mesen-  
teroides P-60

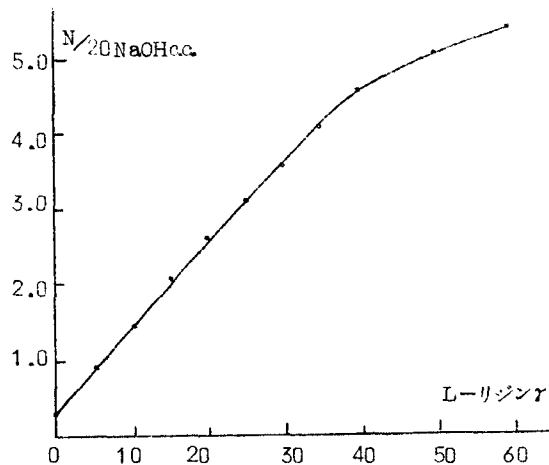
接種菌濃度：1：100

回収率：100.3±1.3%

標準曲線の1例を第I-6図  
に示した。

標準溶液はリジン塩酸塩を用  
いて作成しこれよりL-リジ  
ンに換算した。

第I-6図 リジン標準曲線



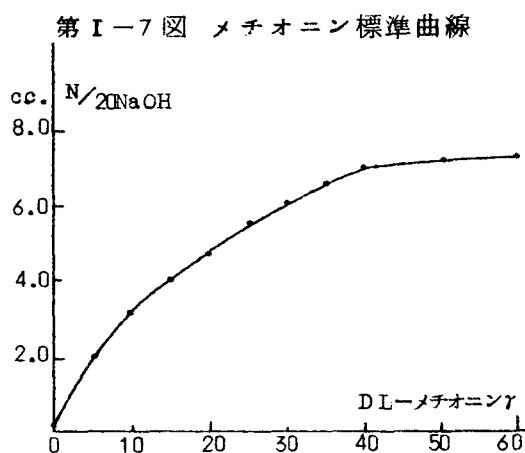
vii) メチオニン

使用菌株: Leuc.mesenteroides P-60

接種菌濃度: 1 : 100

回収率:  $98.5 \pm 2.0\%$

標準曲線の1例を第I-7図に示した。



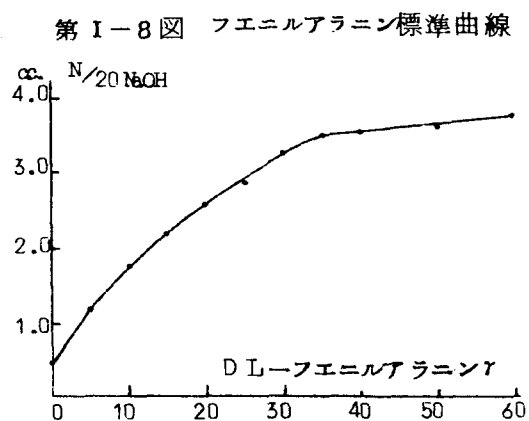
viii) フェニルアラニン

使用菌株: Leuc.mesenteroides P-60

接種菌濃度: 1 : 100

回収率:  $99.6 \pm 1.3\%$

標準曲線の1例を第I-8図に示した。



ix) スレオニン

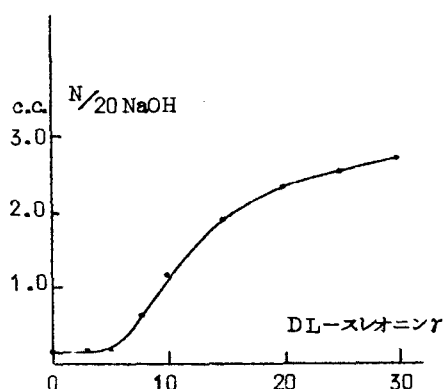
使用菌株: Leuc.mesenteroides P-60

接種菌濃度: 1 : 100

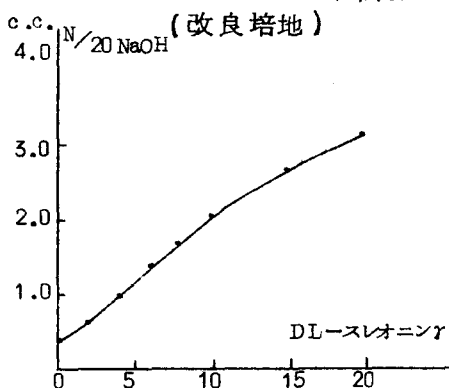
Leuc.mesenteroidesを用いたスレオニンのバイオアッセイでは通常標準曲線にlagを生じる。これはL-セリンのスレオニンに対する拮抗

作用による阻害のためで田村氏等も基本培地のセリン量を $\frac{1}{2}$ に減じてスレオニン定量に供することとしている。しかし尙 lag を完全に消滅することはできない。著者がこの条件で行ったバイオアッセイの標準曲線を示すと第 I-9 図の如くである。これは角田氏等の示した標準曲線<sup>28)</sup>と大差ない。即ち一般にスレオニンの定量にこの標準曲線を使い得る。

第 I-9 図 スレオニン標準曲線



第 I-10 図 スレオニン標準曲線  
(改良培地)



しかし醤油を試料として定量した場合の回収率を測定した結果では第 I-1 表に示す如く極めて不良であった。

第 I-1 表 スレオニン回収率

試料番号	スレオニン添加量 r	滴定値平均 cc	測定量 r	回収率 %
R-0	0	1,083	9.8	—
R-1	5	1,437	12.2	68
R-2	10	1,767	14.7	49
R-3	15	2,200	19.8	66

その原因は醤油中に存在するセリンにあると思われる。Steel,<sup>31)</sup> Sauberlich 等が *Leuc.mesenteroides* についてセリンによるスレオニン利用の阻害度を調べた結果では、D-セリンは阻害しないが L-セリ

ンの阻害は大きい。12r/2mlのスレオニンに対しては50rのセリンの存在では影響はないが、100rのL-セリンを添加した場合は12%、160rのD-L-セリンを添加すると20%、350rのL-セリン添加では45%の阻害度に達することを認めている。一方、角田氏等<sup>26)</sup>の測定によれば醤油中のセリン量は多く、醸造醤油のセリン含量はL-型として9.4mg/ccであったと報告している。第I-9図より明らかなようにスレオニンの定量では定量範囲は10~20rが好ましく試料の醤油の希釈には限度がある。従って、醤油のスレオニン定量時には相当量のセリンが混在する結果となる。

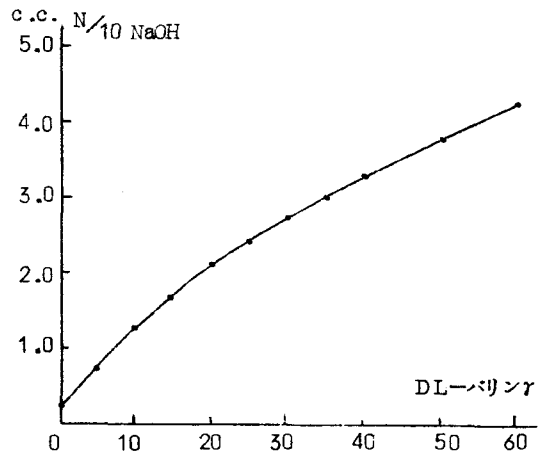
そこで、醤油中のスレオニンを定量する場合には特にセリン含量を低減させる必要がある。このためには試料の希釈率を高めると及び定量用培地中のセリン量を出来るだけ減少せしめることが考えられる。そこで予め定量用培地に試験管当り5r程度のスレオニンが含有されるようにスレオニンを添加してlagを消失させた。その結果10r以下のスレオニンも測定可能となるから試料を更に希釈して定量し得た。又定量用培地に用いるセリン量も試験管当り30rで充分であり、田村氏等の培地でのセリン量を30mg/Lに使用した。その結果得られた標準曲線は第I-10図に示した。blankのものにもスレオニンが予め添加されているから当然High blankとなるが、同時に求めた回収率は97.0±4.2%であって、分析精度を高め得た。

x) バ リ ン

使用菌株：Lact.

第I-11図 バリン標準曲線

arabinosus  
接種菌濃度：1 : 100  
回 収 率：99.5 ± 1.3%  
得られた標準曲線の1例を第  
I-11図に示した。



第 2 節    パラオキシ安息香酸ブチルエステルのバイオアッセイに  
及ぼす影響

市販醤油には通常防黴剤が添加される。従って、防黴剤のバイオアッセイに及ぼす影響を検討する必要がある。

醤油の防黴剤として深井氏等は<sup>32~34</sup>低級脂肪酸及びその誘導体が有効であることを認めたが主として香気を害する点で実用性に乏しい。又、芥子油は昔から醤油の防黴剤として有名であるがこれも醤油の香気に相当影響を与えるので現在では殆ど使用されていない。<sup>35</sup>塚本氏等はロダン酢酸エチルエステルを防黴剤として使用する特許を得ているが現在ではその使用が禁止されている。又富安氏等<sup>36</sup>、梅田氏等<sup>37</sup>の報告に示されるように、醤油の防黴剤としてビタミンK<sub>3</sub>が有効であり、1955年その使用が許可されたが現在ではまだ高価なため一般には使用されていないようである。

一方安息香酸及びその誘導体は諸外国に於いて各種飲食物の防黴剤として相当広範囲に使用されており、わが国でも1950年安息香酸として0.06%



の使用が許可された。これら化合物は醤油中で安定であり香気，味にも殆ど影響を与えないことより現在最も一般的に利用されている。蠟詰に使用する場合はパラオキシ安息香酸ブチルエステルが使用され，その使用量は梅田氏<sup>38)</sup>等によって示されたように0.005～0.006% が普通である。そこで市販醤油のバイオアッセイでは当然パラオキシ安息香酸ブチルエステルの影響が問題になるので検討した。

特定アミノ酸欠培地2mlに、特定アミノ酸の既知量を含有する標準溶液0.5ml及び所定濃度のパラオキシ安息香酸ブチルエステルの水溶液0.5mlを加えた試験管を作成し、バイオアッセイによる測定値を検討した。パラオキシ安息香酸ブチルエステル濃度は，醤油中では上記の通り0.005%程度と考えられるが，醤油中の各種アミノ酸をバイオアッセイにて定量する場合，対象とするアミノ酸によって差異はあるが1/50～1/1000に稀釈されることから，実際定量を行う場合は更に低濃度となる。著者の行ったバイオアッセイでは使用する試料は1mlであり，市販醤油原液ではこの中に0.05mgのパラオキシ安息香酸ブチルエステルが混在するが実際定量時には0.0005mg程度となる。従って，一試験管当たり0.01～0.0005mgのパラオキシ安息香酸ブチルエステルを添加した。得られた結果の2，3例を示すと第1—2表～第1—4表の如くである。

第1—2表 パラオキシ安息香酸ブチルエステルのグリシン定量に及ぼす影響(*Leuc.mesenteroides.*)

グリシン添加量( $\gamma$ )	P.O.B.B.添加量 (mg/tube)	滴定値( $\gamma$ )	測定値( $\gamma$ )
5.0	0	2.24	5.0
〃	0.01	2.22	4.9
〃	0.005	2.32	5.2
〃	0.001	2.25	5.0
〃	0.0001	2.22	4.9

第 I-3 表 パラオキシ安息香酸ブチルエステル の リジン 測定値に  
及ぼす影響 (*Leuc.mesenteroides.*)

リジン添加量( $\gamma$ )	P.O.B.B.添加量 ( $mg/tube$ )	滴定値( $\phi$ )	測定値( $\gamma$ )
25	0	3.89	25.0
〃	0.01	3.87	24.9
〃	0.005	3.87	24.9
〃	0.001	3.88	25.0
〃	0.0005	3.93	25.3

第 I-4 表 パラオキシ安息香酸ブチルエステル の ロイシン 測定値に  
及ぼす影響 (*Lact.arabinosus.*)

ロイシン添加量( $\gamma$ )	P.O.B.B.添加量 ( $mg/tube$ )	滴定値( $\phi$ )	測定値( $\gamma$ )
10	0	2.49	10.0
〃	0.01	2.49	10.0
〃	0.005	2.51	10.1
〃	0.001	2.47	9.9
〃	0.0005	2.45	9.7

第 I-2 表～第 I-4 表の結果より明らかなように, *Lauc.mesenteroides*,  
*Lact.arabinosus* 両菌株を用いたバイオアッセイで得られた測定値の誤  
差は最大 4% 以下であり, 且つ測定値にみられる誤差と添加されたパラオキ  
シ安息香酸ブチルエステル量とは無関係であって, この程度のパラオキシ安  
息香酸ブチルエステルは両菌株を使用したバイオアッセイには影響を与えな  
い。

バイオアッセイによる醤油中のアルギニン，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，スレオニン，バリンの定量を検討した。

基本培地は田村氏等のものを用い試験菌株は *Lact.arabinosus* 及び *Leuc.mesenteroides* P-60 の 2 株を適宜使用した。最終容量を 3ml とし，培養は *Lact.arabinosus* は 37℃，*Leuc.mesenteroides* P-60 は 30℃ で 72 時間行った。但しグリシン定量時は培養時間を 48 時間とした。培養後殺菌し N.R. と B.T.B. の混合指示薬を用い，*Lact.arabinosus* 培養液は  $N/10$  NaOH soln. にて，*Leuc.mesenteroides* P-60 培養液は  $N/20$  NaOH soln. にて滴定した。この方法で上記アミノ酸の殆どは  $100 \pm 3\%$  の精度で定量し得た。

たゞスレオニンの定量では醤油に含有されるセリンの影響が大きくこれを防止する手段が必要である。この為に基礎培地中のセリンを  $30 \text{ mg/L}$  に使用し且つ試験管当り 5 r 程度のスレオニンが含有されるように予め基礎培地にスレオニンを添加することによって Lag. を防止し低濃度のスレオニンの定量を可能ならしめることによって試料の希釈率を高め好結果を得た。

又，市販醤油中に含まれるパラオキシ安息香酸ブチルエステルのバイオアッセイに及ぼす影響を検討し，これがバイオアッセイの際に混入される程度の濃度では影響を与えないことを認めた。

## 第2章 醤油原料の主要アミノ酸含量

醤油原料は大豆，小麦，食塩及び水であるが蛋白質源としては前二者であることは言を俟つまでもない。大豆は丸太豆の他に脱脂大豆の利用も多く，又小麦と共に蕎麦も用いられる。これら原料中に含まれる蛋白質及びアミノ酸は醸造期間を通じて変化を受けその多量が醤油中に含まれるようになる。即ち，醤油に含有されるアミノ酸は殆ど原料蛋白質からくる。従って，醤油原料のアミノ酸含有量は醤油醸造上重要な意味を持つものである。

近時，アミノ酸の定量法が発達し，種々の食品のアミノ酸含量は次第に明らかにされつつある。大豆，小麦のような一般的な食品のアミノ酸含量については既にM.L.Orr及びB.K.Watt<sup>39)</sup>の食品のアミノ酸含量表に示されている。しかし，蕎麦の如き特殊なもののアミノ酸組成は明らかでない。そこで先づ醤油原料中の主要アミノ酸含量を測定した。

### 1. 実験方法

一般分析は常法によった。

アミノ酸含量の測定は次の通り行った。試料をミキサーを用いて粉碎しその一定量に6NHClを加えてオートクレーブした後減圧濃縮をくり返してHClを可及的に駆逐した。然る後NaOHにてpH4迄中和して過し，更にpH6.8迄NaOHで中和してから定容となした。酸分解物は試験管に分注封入した後蒸気殺菌を施して定量時迄冷蔵庫に保存した。アミノ酸の定量は総てバイオアッセイによった。

### 2. 結果及び考察

使用した大豆，脱脂大豆，小麦，蕎麦の一般組成を示すと第II-1表の通りである。

第Ⅱ－１表 一般分析結果 %

	水分	炭水化物	全窒素	脂肪	灰分
大豆	13.1	16.50	5.15	16.79	3.35
脱脂大豆	11.6	19.51	7.64	2.51	4.52
小麦	12.9	64.21	1.75	2.00	1.38
蕎麦	13.6	47.36	1.84	2.21	5.03

大豆，脱脂大豆，小麦，蕎麦の主要アミノ酸含量は第Ⅱ－２表に示した。

第Ⅱ－２表では四種材料 1g 当りの含有アミノ酸量を mg で示してある。

第Ⅱ－２表 醤油原料の主要アミノ酸含量 mg/g

	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	フェニルアラニン	バリン
大豆	26.38	76.14	15.7	20.18	30.00	21.75	19.38	19.3
脱脂大豆	29.75	97.24	19.7	24.86	37.05	25.25	22.75	24.1
小麦	6.00	32.98	5.00	5.31	7.61	3.48	5.75	5.85
蕎麦	8.99	25.45	7.15	5.72	9.75	3.45	5.94	7.35

大豆，小麦中のアミノ酸量は M.L.Orr and B.K.Watt の示した数値とよく一致した。大豆蛋白質のアミノ酸組成と小麦のそれとの最も差異の大きい所は小麦ではリジンの相対量が少い点であった。試料の全窒素比率は小麦 1 に対して大豆 3.5 であるがリジン含量は小麦 1 に対して大豆では 8 となる。又大豆と小麦の全窒素比率を基準に考えた場合は小麦ではグルタミン酸，グリシンの相対的量は大豆に比べて多いと云える。脱脂大豆のアミノ酸組成は大豆のそれと大差なく全窒素の増加量だけ絶対量が多くなるが，小麦と蕎麦ではアミノ酸組成は異なるものである。多くのアミノ酸は小麦中よりも蕎麦に於いて多量存在するがグルタミン酸は逆に蕎麦に少かった。グルタミン酸は小麦表皮部では内部よりも少いと考えられる。

要

約

大豆，脱脂大豆，小麦，醤油のアルギニン，グルタミン酸，グリシン，イソロイシン，ロイシン，リジン，フェニルアラニン，バリン含量を測定した。脱脂大豆のアミノ酸量は勿論大豆のそれよりは多いが各種アミノ酸比率は大豆と大差ない。醤油のアミノ酸含量は小麦のアミノ酸含量より一般に多いが，グルタミン酸含量は逆に少かった。

### 第3章 各種醤油の主要アミノ酸含量

醤油中のアミノ酸に関する研究には旧くは鈴木<sup>40)</sup>、麻生<sup>3)</sup>、有働<sup>41)</sup>、金子<sup>42)</sup>、石田<sup>43)</sup>、吉村<sup>44)</sup>諸氏の業績がある。しかし当時に於いてはアミノ酸の定量が容易でなかった為、多種類のアミノ酸について充分検討されるには至らなかった。1952年角田<sup>29)</sup>、石塚氏等はバイオアッセイを適用して醤油中のアミノ酸を定量し17種のアミノ酸の定量値を報告した。彼等は典型的な醸造醤油と考えられる一試料を選び、その含有する各種アミノ酸を遊離態、結合態に分けて検討した。しかし、醤油は可成り巾の広い混合物であり、又醤油にも幾つかの種類がある。従って、一試料に於ける分析値が一般醤油の各種アミノ酸量を充分代表するものであるとは云い難い。そこで、著者は各種醤油25種について特に栄養上重要なアミノ酸及び呈味成分として重視されるアミノ酸10種を選びその含有量を求めた。

#### 第1節 供試各種醤油の一般組成

##### 1. 試料

試料としては生揚醤油7種、アミノ酸液5種及び市販醤油11種を選んだ。生揚醤油及びアミノ酸液は製造工場より恵与されたものであり、市販醤油は昭和31年6月大阪市内にて購入したものである。

##### 2. 実験方法

全窒素はマイクロエルダール法により、アミノ態窒素はマイクロヴァンスライク法により測定した。全糖はベルトランド法によりグルコースとして求めた。全酸はエーテル抽出後 $\frac{N}{100}$  NaOH soln.にて滴定し乳酸として求めた。又直接滴定酸も乳酸として表わした。ボーメ、全固形分、灰分、食塩、アンモニア態窒素は常法により測定した。純エキ스는全固形分より

灰分を差引いて求めた。

### 3. 結 果

得られた結果は総括して第Ⅲ－1表に示した。第Ⅲ－1表では  $B\theta$  以外の数値は何れも  $100ml$  当りの  $g$  数で示してある。

第Ⅲ－1表 各種醤油の一般分析結果 ( $g/100ml$ )

試 料	$B\theta$ (15C)	全窒素	$NH_2-N$	$NH_3-N$	全糖	全酸	滴定酸	全固 形分	灰分	NaCl	純 エキス
生 揚 A	23.00	1.394	0.790	0.174	1.10	1.63	0.99	39.75	20.54	19.44	19.21
〃 B	21.90	1.078	0.594	0.139	1.80	1.45	0.95	32.63	20.96	20.02	11.67
溜 生 揚 A	25.90	2.438	1.289	0.278	1.56	1.43	1.08	51.58	19.31	18.62	32.27
〃 B	24.15	1.743	0.909	0.230	2.02	1.28	1.02	49.36	19.65	19.15	29.71
速 醸 A	21.45	1.347	0.766	0.171	1.98	1.80	1.23	32.18	18.13	17.69	14.05
〃 B	21.25	1.342	0.766	0.171	2.00	1.67	1.37	31.79	18.00	17.42	13.79
アミノ酸液 A	24.40	1.479	1.012	0.145	trace	1.84	0.80	41.30	23.70	21.54	17.60
〃 B	23.55	2.032	1.224	0.240	none	1.87	1.28	40.17	22.58	21.20	17.59
2号アミノ酸液 A	23.40	2.220	1.418	0.280	none	2.28	1.53	42.11	23.18	21.31	18.93
B	24.00	2.200	1.510	0.032	none	2.09	0.92	41.24	20.63	18.68	20.61
C	24.35	2.410	1.590	0.034	none	2.50	1.16	41.82	20.02	18.22	21.80
市 販 A	21.90	1.200	0.590	0.137	4.12	1.67	1.15	32.02	19.79	18.61	12.23
B	25.80	1.538	0.835	0.153	5.30	1.89	1.25	40.23	20.97	19.65	19.26
C	22.45	1.131	0.663	0.117	1.33	1.66	0.80	32.55	22.41	21.23	10.14
D	22.55	1.245	0.699	0.149	2.50	1.90	1.16	34.41	19.53	18.61	14.88
E	22.50	1.223	0.649	0.145	2.20	1.41	1.06	34.23	19.76	18.49	14.47
F	22.45	1.163	0.580	0.152	1.70	1.83	1.20	33.02	18.92	18.22	14.10
G	19.60	0.423	0.267	0.046	0.74	0.34	0.25	24.55	20.20	19.12	4.35
H	21.60	1.199	0.627	0.140	2.06	—	0.91	31.90	18.86	17.78	13.04
I	21.60	0.897	0.504	0.111	1.18	—	0.85	29.96	20.93	19.56	9.03
J	24.65	1.418	0.817	0.139	3.95	2.10	1.34	43.83	19.30	17.80	24.53
K	24.90	1.620	0.851	0.199	3.78	1.67	1.58	40.12	18.78	17.86	21.34



## 第2節 各種アミノ酸含量

### 1) 実験方法

醤油を加熱すると沈澱物を生じる為、予め稀釈して封管した。即ち醤油の  $1/20$  稀釈液を作り試験管に分注した後封管し常法により蒸気殺菌を施して定量に供する迄保存した。個々のアミノ酸の定量は総てバイオアッセイによった。

### 2) 結果及び考察

各種醤油中のアルギニン、グルタミン酸、グリシン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオン、フェニルアラニン、スレオニン、バリン量を第Ⅲ-2表に示した。第Ⅲ-2表ではこれらアミノ酸は総てL-型として示してある。第Ⅲ-2表では各種醤油のアミノ酸含量を1ml当りmgで示したがその数値は広範囲に分布している。即ち各種醤油に含まれる種々のアミノ酸の絶対量は極めて異ったものである。このことは供試各種醤油の全窒素に相当差異のあることより考えて当然である。そこで、各種醤油のアミノ酸含量を検討する場合は寧ろ醤油中に含まれる各種アミノ酸比率即ち相対的な量関係に着目すべきであろう。この意味で供試醤油の全窒素を1%に換算した場合の各種アミノ酸含量を算出した。結果は第Ⅲ-3表に示した。第Ⅲ-3表にみられるように、醤油の全窒素を一定に換算した場合は各種アミノ酸量は同一種類の醤油については比較的近似した値を示す。このことは醤油の製造条件を区分して考える場合は醤油の全窒素量から各種アミノ酸量を推定し得ることを意味する。

個々のアミノ酸に関しては以下に述べる通りである。

第Ⅲ-2表 各種醬油のアミノ酸含量 (mg/tc)

試料	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	スレオニン	バリン
生 場 A	1.00	11.15	3.47	3.52	5.40	4.03	0.90	3.54	3.12	4.04
B	0.77	8.17	2.64	2.82	4.07	2.98	0.73	3.16	2.64	3.17
溜 生 場 A	2.07	11.63	5.05	5.46	8.16	7.62	1.36	4.78	5.92	6.93
B	0.47	8.21	3.11	3.99	6.36	4.86	0.99	—	4.32	4.68
速 醸 A	0.81	8.75					0.91	4.12	2.76	3.66
B	0.64	8.32					1.01	4.07	2.88	3.81
C	0.86						0.86	3.58	2.72	3.59
アミノ酸液 A	4.95	14.69	4.19	3.91	6.98	5.78	0.75	4.30	4.40	5.03
B	5.50	17.21	6.65	4.83	9.38	6.50	1.47	5.26	5.28	6.83
2号アミノ酸液 A	6.75	10.61	8.68	6.61	11.06	3.92	1.88	10.90	11.20	9.38
B	6.01	11.53	8.12	5.89	7.36	11.20	0.89	6.10	8.16	9.58
C	5.64	12.61	8.32	6.82	8.08	10.88	0.70	9.91	7.92	9.58
市 販 A	2.21	6.26	2.38	2.38	3.83	2.75	0.57	2.45	2.08	—
B	2.61	6.84	2.90	3.53	4.79	3.56	0.84	3.75	2.96	3.99
C	3.24	5.69	2.59	2.52	4.21	3.55	0.42	2.96	3.04	3.62
D	1.60	7.23	2.51	3.02	4.54	3.32	0.78	2.82	2.84	3.60
E	1.43	8.06	2.43	2.82	4.30	2.76	0.66	2.71	2.88	3.69
F	2.30	6.03	2.25	3.01	4.58	3.17	0.21	0.96	0.84	—
G	1.11	3.21	1.13	0.64	1.77	1.34	0.77	3.64	2.52	3.39
H	2.92	9.25	2.67	2.73	4.80	3.43	0.60	3.58	2.52	3.20
I	2.87	6.07	2.45	2.38	3.94	2.93	—	3.13	1.60	2.95
J	2.67	8.13	3.95	3.41	5.09	4.80	0.66	3.54	2.52	4.35
K	1.70	8.07	3.39	3.55	5.54	4.00	0.94	3.63	2.32	4.17

第Ⅲ－３表 全窒素＝1.00%とした場合のアミノ酸含量 (mg/cc)

試料	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	チロニン	フェニルアラニン	スロニン	バリン
生 場 A	0.72	8.00	2.49	2.53	3.95	2.89	0.65	2.54	2.24	2.90
B	0.71	7.58	2.45	2.64	3.78	2.76	0.69	2.93	2.45	2.94
溜 生 場 A	0.85	4.77	2.07	2.24	3.35	3.07	0.56	1.96	2.43	2.84
B	0.27	4.71	1.84	2.29	3.65	2.78	0.57	—	2.47	2.68
速 醸 A	0.60	6.50					0.67	3.08	2.05	2.72
B	0.48	6.20					0.75	3.03	2.15	2.84
C	0.67						0.67	2.81	2.13	2.81
アミノ酸液 A	3.28	10.08	2.83	2.64	4.70	3.90	0.51	2.90	2.97	3.40
B	2.71	8.47	3.27	2.38	4.62	3.18	0.72	2.59	2.60	3.36
2号アミノ酸液 A	3.04	4.78	3.90	2.98	4.98	1.76	0.85	4.91	5.05	4.23
B	2.73	5.28	3.69	2.68	3.35	4.63	0.40	2.76	3.71	4.35
C	2.34	5.02	3.45	2.83	3.35	4.51	0.29	4.11	3.29	3.98
市 販 A	1.84	5.31	1.82	1.98	3.19	2.29	0.48	2.04	1.73	—
B	1.70	5.44	1.24	2.28	3.11	2.31	0.55	2.44	1.92	2.59
C	2.87	5.03	2.29	2.23	3.72	3.13	0.39	3.09	2.69	3.20
D	1.29	5.81	2.02	2.43	3.64	2.66	0.63	2.26	2.28	2.90
E	1.17	5.28	1.99	2.31	3.51	2.26	0.54	2.22	2.35	3.02
F	5.44	5.18	1.93	2.59	3.94	2.72	0.50	2.11	1.99	—
G	0.95	7.59	2.67	1.50	4.16	3.15	0.66	3.11	2.17	2.91
H	2.44	7.71	2.23	2.28	4.00	2.86	0.50	3.00	1.11	2.67
I	3.20	6.76	2.73	2.65	4.39	3.26	—	3.59	1.78	3.27
J	1.88	5.73	2.79	2.41	3.59	3.38	0.47	2.50	1.78	3.07
K	1.05	4.98	2.03	2.19	3.43	2.46	0.58	2.24	1.43	2.57

### i) アルギニン

生揚げ醤油中のアルギニン量は  $1\text{mg/cc}$  程度の少量で、溜生場の一試料で  $2\text{mg/cc}$  の存在が認められたに過ぎず、これはここに測定した 10 種アミノ酸中メチオニンと共に最も少いものであった。一方、アミノ酸液、2 号アミノ酸液では  $5\text{mg/cc}$  以上の存在が認められ、これは他のアミノ酸に較べて少いものでない。全窒素を 1% に換算した場合、アルギニン含量は生揚げ醤油で  $0.7\text{mg/cc}$  程度であり、アミノ酸液では  $3\text{mg/cc}$  程度となる。

第 2 章に述べた醤油原料中の各アミノ酸含量からみる時、大豆、小麦中に含まれるアルギニン量はイソロイシン、リジン等より若干多いものである。アミノ酸液中のアルギニン量とイソロイシン、リジン量との比率はほぼ原料中のこれらアミノ酸比率を示しているのに反して、醸造醤油ではアルギニンは極めて少量である。このことは醤油醸造に於いてはアルギニンの遊離が少いか、又は一度遊離されたアルギニンが諸味熟成中に消失することを示唆するものである。各種市販醤油中のアルギニン量は  $1\text{mg/cc} \sim 3\text{mg/cc}$  であったが、全窒素を 1% とした場合も  $1 \sim 3 \text{mg/cc}$  を示し、市販醤油中のアルギニンは絶対量のみならず他のアミノ酸との相対的な量に於いても相異なるものであることが認められた。これは市販醤油製品にする場合、生揚げ醤油及び各種アミノ酸液を適宜混合したり塩水で希釈したりするためであると考えられる。

### ii) グルタミン酸

グルタミン酸は旨味のあるアミノ酸であり醤油の呈味成分の主要なものの一つに数えられる。当然その含量も多く生揚げ醤油中には  $8\text{mg/cc}$  以上存在し多いものでは  $11\text{mg/cc}$  以上の存在が認められた。アミノ酸液中では  $15\text{mg/cc}$ 、2 号アミノ酸液でも  $10\text{mg/cc}$  以上であった。市販醤油では少いものでは  $3\text{mg/cc}$ 、多いものでは  $9\text{mg/cc}$  以上含まれその分布は非常に巾の広いものであった。これを全窒素 1% の醤油に換算した場合、生揚げ醤油では  $8\text{mg/cc}$  となり速醸生揚げはやく低く  $6\text{mg/cc}$  であり、溜生場では  $5\text{mg/cc}$  弱となった。アミノ酸液で

は多く  $8 \sim 10 \text{ mg/cc}$  , 2号アミノ酸液では  $5 \text{ mg/cc}$  市販醤油では  $4 \sim 8 \text{ mg/cc}$  を示した。市販醤油中のグルタミン酸含量が全窒素を  $1\%$  としても尙相当の相異を示すのは、醤油製品とする場合の生揚醤油と各種アミノ酸液の混合比の差異によるところが大きいと思われる。又全体としてグルタミン酸含有量の少い理由として、火入れ、貯蔵中に一部ピロ化されることが考えられる。堀氏等<sup>5)</sup>が市販醤油3種について遊離グルタミン酸量の経時変化を調べた結果では、開栓直後を  $100$  として1ヶ月後では平均  $99.2\%$  , 2ヶ月後で  $97.4\%$  , 3ヶ月後  $96.9\%$  , 4ヶ月後  $91.9\%$  と次第に減少したと述べている。

著者が実験に使用した市販醤油は大阪市内で任意に購入したものであって、その貯蔵期間が明らかでないから貯蔵期間中の遊離グルタミン酸の減少も又同一でない。従って、貯蔵中に於けるピロ化による遊離グルタミン酸含量の低下も、測定した市販醤油のグルタミン酸含量に相当の差異を生じた一部の原因となっていると考えられる。

### iii) グリシン

グリシンは甘味のあるアミノ酸で、アミノ酸としては呈味成分の一要素と考えられる。生揚醤油中にはグリシンは  $3 \text{ mg/cc}$  程度存在し、溜の一試料では  $5 \text{ mg/cc}$  が認められた。アミノ酸液中のグリシン量は絶対量で  $4 \sim 6 \text{ mg/cc}$  であったが、2号アミノ酸液では更に多く  $8 \text{ mg/cc}$  以上であった。これらを全窒素  $1\%$  の醤油に換算した場合、その数値は各種醤油毎に比較的近似した値を示し、生揚醤油では  $2.5 \text{ mg/cc}$  溜生場で約  $2 \text{ mg/cc}$  アミノ酸液では  $3 \text{ mg/cc}$  , 2号アミノ酸液では  $3.5 \text{ mg/cc}$  であった。尙2号アミノ酸液の試料Aは他の分析値からも併せ考えて原料がB,C,とは相当異ったものであると思われる。生揚醤油中の遊離グリシンはアミノ酸液に比較して少いが角田氏等<sup>26)</sup>は生揚醤油を塩酸分解した場合他のアミノ酸に比べてグリシン増加量の大きいことを述べており、アミノ酸液

の方が分解率が高いことを示す。市販醤油のグリシン含量は  $1\text{mg/cc} \sim 4\text{mg/cc}$  であったが、全窒素を 1% に換算した場合は  $2 \sim 3 \text{mg/cc}$  を示した。

iv) イソロイシン

生揚醤油中のイソロイシン量は  $2.8 \sim 5.5\text{mg/cc}$  であったが、全窒素を 1% の醤油に換算した場合、何れも  $2.5\text{mg/cc}$  となり溜では僅かに低いがほぼ一致した含量を示した。この数値はグリシン含量と殆ど同一である。アミノ酸液中では  $4 \sim 5\text{mg/cc}$  の存在が認められたが、全窒素を 1% に換算した場合は約  $2.5\text{mg/cc}$  となって生揚醤油と大差はない。2号アミノ酸液中のイソロイシン量は  $6\text{mg/cc}$  程度であって、全窒素を 1% に換算した場合は  $2.6 \sim 3.0\text{mg/cc}$  となって生揚醤油のそれよりも僅かに多量である。

v) ロイシン

ロイシンは醤油中に含まれるアミノ酸としては多量に存在するものの一つである。生揚醤油では  $4 \text{mg/cc}$  以上の存在が認められ、全窒素 1% の醤油に換算した場合  $4 \text{mg/cc}$  弱となる。溜醤油では  $3.5 \text{mg/cc}$  程度である。アミノ酸液中のロイシン量は多く、全窒素を 1% に換算した場合  $4.5 \text{mg/cc}$  以上であった。2号アミノ酸液中では全窒素 1% に換算した場合、試料 A では  $5 \text{mg/cc}$  の多量であるが他の試料では  $3.3 \text{mg/cc}$  程度であり生揚醤油より僅かに低い値を示した。市販醤油中のロイシン量は  $1.8\text{mg/cc} \sim 5.5\text{mg/cc}$  の分布がみられたが、全窒素を 1% に換算した場合は  $3.1 \sim 4.4 \text{mg/cc}$  であった。

vi) リジン

生揚醤油中のリジン量は  $3 \text{mg/cc} \sim 8 \text{mg/cc}$  であったが、全窒素を 1% に換算した場合  $2.8 \text{mg/cc}$  程度であって溜醤油も同一含量を示した。アミノ酸液中のリジン量は約  $6 \text{mg/cc}$ 、2号アミノ酸液中では  $10 \text{mg/cc}$  で

あって、これを全窒素 1 % に換算した場合 3  $mg/cc$  以上、特に後者は 4.5  $mg/cc$  以上を示した。2 号アミノ酸液の一試料では極めて少いものが存在したが前述のように原料が特殊なものであると考えられる。市販醤油中のリジン量は相当差異がみられたが、全窒素を 1 % とした場合は 2.3 ~ 3.4  $mg/cc$  を示した。

vii) メチオニン

醤油のメチオニン含量は少く、生揚醤油では 1  $mg/cc$  程度であった。速醸、溜生揚でもほぼ同程度で、これらは全窒素を 1 % の醤油に換算した場合、溜生揚では 0.6  $mg/cc$ 、他は 0.7  $mg/cc$  程度であった。アミノ酸液中のメチオニンも少く、全窒素を 1 % に換算した場合は生揚醤油中の量と大差なく、2 号アミノ酸でも大差ないが更に少い量であって一試料では 0.3  $mg/cc$  の少量であった。市販醤油中のメチオニン量は全窒素を 1 % とした場合は 0.4 ~ 0.7  $mg/cc$  であった。

viii) フェニルアラニン

生揚醤油のフェニルアラニン含量は 3 ~ 3.5  $mg/cc$ 、溜生揚は 4.7  $mg/cc$ 、速醸で 3.5 ~ 4  $mg/cc$  であった。これらを全窒素 1 % の醤油に換算した場合、溜生揚では 2  $mg/cc$  であり、他は 2.5 ~ 3  $mg/cc$  程度となる。アミノ酸液中のフェニルアラニンは 4 ~ 5  $mg/cc$  であったが、全窒素を 1 % とした場合は 2.5 ~ 3  $mg/cc$  となって生揚醤油と大差ない。しかし、2 号アミノ酸では多量含有するものもあり 1 試料では 10  $mg/cc$  以上の存在が認められ、これは全窒素を 1 % としても尚 5  $mg/cc$  の多量で生揚醤油のほぼ倍量に相当する。2 号アミノ酸でも試料 B では全窒素を 1 % に換算した場合は 2.76  $mg/cc$  であって生揚醤油と大差はない。要するに 2 号アミノ酸液中のフェニルアラニン量は相当差異のあるものである。市販醤油のフェニルアラニン含量は相当広範囲に分布し、最低 0.96  $mg/cc$ 、最大 3.75  $mg/cc$  であって、全窒素を 1 % に換算した場合も 2.0 ~ 3.6  $mg/cc$  の差異

があった。

ix) スレオニン

生揚醤油のスレオニン含量は $2.5 \sim 3.0 \text{ mg/cc}$ であった。全窒素を1%に換算した場合 $2.5 \text{ mg/cc}$ 弱であって、同様な数値で比較すれば溜生揚、速醸も特に大差はない。アミノ酸液では全窒素を1%とした場合は $2.6 \sim 3.0 \text{ mg/cc}$ であって生揚醤油より若干多量となる。2号アミノ酸液中のスレオニン量は多量で全窒素を1%に換算した場合 $3 \text{ mg/cc}$ 以上となり $5 \text{ mg/cc}$ に達するものがあった。

x) バリン

バリンは生揚醤油中に $3 \sim 4 \text{ mg/cc}$ 存在したが、全窒素を1%に換算した場合 $2.9 \text{ mg/cc}$ であった。溜生揚では多いものでは $7 \text{ mg/cc}$ の存在が認められたが、これも全窒素を1%とした場合は $2.84 \text{ mg/cc}$ であり、速醸のものも全窒素を1%とした場合は $2.8 \text{ mg/cc}$ であって、生揚醤油と大差はない。アミノ酸液中のバリン量は多く、絶対量で $5 \text{ mg/cc}$ 以上、その全窒素を1%とした場合 $3.4 \text{ mg/cc}$ 程度であった。2号アミノ酸液ではバリンは更に多量存在し、全窒素を1%とした場合 $4 \text{ mg/cc}$ 以上であった。

以上述べたように、醤油に含まれる各種アミノ酸量はその絶対量では相当差異がある。しかし、全窒素を一定に換算した場合は醸造醤油では比較的近似した数値を示した。たゞ、醸造醤油と種々のアミノ酸液では各種アミノ酸組成は相当異なるものであり、種々のアミノ酸液中のアミノ酸組成にも相当大きな差異がある。特に2号アミノ酸液では、主として原料の差異に基くものと考えられるが、そのアミノ酸組成は相当異ったものであり、単に全窒素を目安として生揚醤油に混入する時はできた醤油のアミノ酸組成は加えたアミノ酸液が異ると相当異なる結果となる。



醸造醤油，アミノ酸液，市販醤油等各種醤油中の主要アミノ酸10種の定量をバイオアッセイにより行った。各種醤油中のアミノ酸の絶対量は相当異なるが，全窒素1%の醤油に換算した場合はそれぞれの醤油について比較的近似した値を示した。たゞ種々のアミノ酸液，従って市販醤油では必ずしも近似するとは限らなかったが一応次の結果を得た。

以下全窒素1%の醤油に換算した場合，醸造醤油中のアルギニン量は0.7  $mg/cc$ であり，アミノ酸液では3  $mg/cc$ であった。醤油原料中のアルギニン量から考えて醤油醸造に於いてはアルギニンの遊離が少いか，一度遊離したアルギニンが消失することが示唆された。グルタミン酸は生揚醤油では8  $mg/cc$ であり，溜，速醸では少く，アミノ酸液には多かった。グリシンは醸造醤油では2.0～2.5  $mg/cc$ であるがアミノ酸液，2号アミノ酸液ではそれより多量であった。イソロイシンは若干の差異はあるが各種醤油共2.5  $mg/cc$ 程度であった。ロイシンは醸造醤油では3.5～4  $mg/cc$ で，アミノ酸液ではそれより多く，2号アミノ酸液では少かった。リジンは醸造醤油では2.8  $mg/cc$ 程度であり，アミノ酸液では多量であった。メチオニンは生揚醤油，速醸では0.7  $mg/cc$ であり，溜は僅かに少く，2号アミノ酸液では少かった。フェニルアラニンは醸造醤油では2.5～3.0  $mg/cc$ 含有されており，アミノ酸液も同程度であるが2号アミノ酸液に多かった。スレオニンは醸造醤油中に2.5  $mg/cc$ 弱存在し，アミノ酸液，2号アミノ酸液ではそれより多かった。バリンは醸造醤油には2.7～2.9  $mg/cc$ 存在しアミノ酸液では3.4  $mg/cc$ ，2号アミノ酸液では4  $mg/cc$ 以上であった。

## 第4章 天然醸造諸味に於ける主要アミノ酸の消長

醤油諸味は約1ヶ年熟成される。しかし、これは従来の慣習によって行われているものであり、夏期醗酵を経過し適当に着色濃化した所謂熟成諸味を得るのに約1ヶ年を要すると云うに過ぎない。この間に於ける各種成分の消長は充分明らかにはされていない。勿論糖分、アルコール、酸度、全窒素、食塩等一般分析結果は各工場が必要に応じて測定されており、その結果も明らかにされているが、より詳細な個々の成分の消長は殆ど明らかにされていない。最近上田氏等<sup>45)</sup>、田中氏等<sup>46)</sup>は著者と同一試料を用いて醤油の天然醸造に於ける有機酸及び無機質の消長を検討したが各種アミノ酸の消長については殆ど不明であつて、古く有働氏<sup>3)</sup>がグルタミン酸及びアスパラギン酸の動向を検討した報告及び石塚氏等<sup>3)</sup>がグルタミン酸の消長を検討した報告がみられる程度である。そこで著者は醤油の天然醸造に於ける主要アミノ酸の消長を検討した。全窒素の消長よりすれば各種アミノ酸の遊離は仕込後1ヶ月以内に著しいものがあると考えられるが有働、石塚両氏のグルタミン酸の消長に関する研究では長期熟成中の変化も少くないので、主としてこの点に重点を置き醤油の天然醸造諸味に於けるアルギニン、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。

### 第1節 一般成分の変化

#### 1. 実験方法

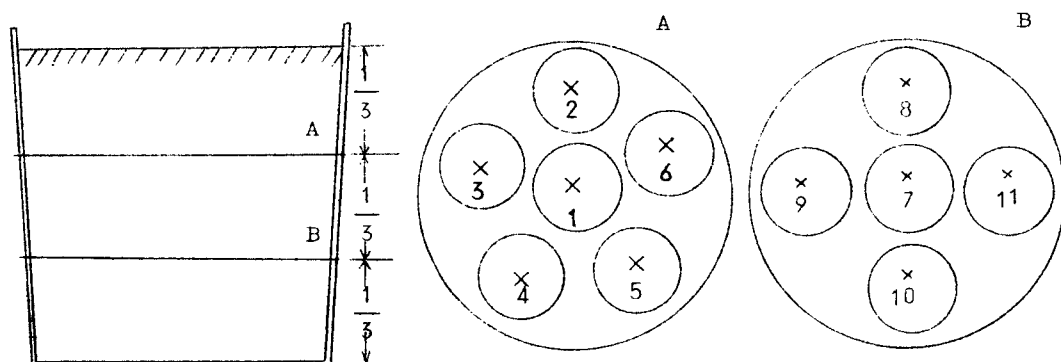
##### 1) 試料及び試料採取法

実験は昭和32年11月4日及び5日仕込の3本の諸味について行った。これらの諸味は何れも同一条件で管理されたもので仕込方法は次の通り

である。1単位当り脱脂大豆 130<sup>Kg</sup>, 小麦 90<sup>Kg</sup>, 正麦 40<sup>Kg</sup>, 蒸煮は撒水 120 ~ 125% 行い, 131b 40 分間加熱後 650<sup>mm</sup> Hg にて 30 分間冷却した。

仕込桶から試料を採取する場合, その位置によって差異の生じることが考えられる。そこで, これらの誤差を防止する為に第 IV - 1 図に示したような 11ヶ所の位置から諸味を約 1<sup>ℓ</sup> 採取し, これを混合攪拌したものをその時期に諸味と見做した。

第 IV - 1 図 諸味採取法



従来, 諸味の各種成分分析を行う場合, 諸味をそのまま通過しその濾液の一定量について行う方法がとられている。従って, 本実験に於いても諸味管理を比較検討するために一般分析は諸味の濾液一定容量について行った。しかし, この方法では諸味の固形分については考慮されていない点が問題である。即ち一定量の濾液を得るに必要な諸味量は諸味熟成時期によって異なるからである。この方法で求めた分析値は諸味濾液中の各種成分の濃度を示すことにはなるが, 各種成分の消長を検討すると云う見地からすれば適当でない。そこで, 著者は別に諸味一定重量当りの水溶性区分の成分変化を検討した。即ち先の方法で採取した諸味 300・0<sup>g</sup> を秤量し, これ

を小型手働圧搾機にて圧搾し、3 回水洗して全容を 750ml としたものを試料とした。本法では諸味の水溶性成分の浸出は尙完全と云い難いが、一般醤油製造時には諸味を圧搾して醤油とすることより極端な条件は反って適当でないと考える。又水洗を少なくする場合は圧搾条件によって生じる誤差が大きく、同一諸味を使用して水洗回数を変えその抽出液の食塩分析値を比較した結果では上の条件が最も適当であると判断された。この方法によれば常に諸味一定量に含まれる水溶性成分の量を知ることができるから諸味の水分蒸発を考慮すれば諸味中の各種成分の消長が従来の方法に比して一層正確に把握できると考えられる。

試料の採取は 1 ヶ月 1 回程度行った。

#### ii) 分析方法

醤油に関する分析法は 1959 年日本醤油技術会に於いて基準醤油分析法<sup>47)</sup>が選定された。著者の実験はそれ以前に行ったが基準醤油分析法と殆ど大差はない。著者の行った分析法の概略は次の通りである。

比重：ボーマ計によった。

食塩：クロム酸カリウム液を指示薬とし  $N/50$  硝酸銀にて滴定、補正係数を掛けて算定した。

エキス：乾燥法にて秤量後食塩量を差引いて求めた。

全窒素：マイクロエルダール法によった。

アミノ態窒素：ヴァンスライク法によった。

還元糖：ベルトランド法によりグルコースとして求めた。

pH：ガラス電極 pH メーターにて測定した。

アルコール：試料を水蒸気蒸溜しその一定溜液を重クロム酸カリ及び硫酸で酸化、ヨードカリ液を加え残余の重クロム酸カリウムでヨードを遊離せしめ  $N/10$  チオ硫酸ソーダで滴定算出した。

比 色：光電光度計（日立 EpO-B 型）を用い 3 mm のキューベットに試料を入れ 400 ～ 663m $\mu$  の各波長でより吸光度を測定，これを段階的に稀釈した試料につき行い吸光度が大体直線を示す波長を検定，530m $\mu$  を選びこの波長により蒸溜水の吸光度を 0 として比色した。

全 酸：エーテル抽出後  $N/100$  苛性ソーダにて滴定し乳酸として求めた。

## 2. 結果及び考察

得られた結果は第 IV-1 表～第 IV-6 表に示した。3 本の桶についてそれぞれ従来の方法による分析値即ち諸味の醗液一定量当りの分析値と著者の方法即ち諸味の一定重量当りの水溶性成分との 2 種の分析値を示してある。

第 IV-1 表，第 IV-3 表，第 IV-5 表の分析値に見られるように本実験を行った 3 種の諸味の醗造過程は一般秋仕込諸味の典型的なものであって仕込後 395 日には No. 1，No. 2，No. 3 の何れの桶からも食塩 1.8% 強，全窒素 1.4% 強の醬油を得た。従って第 2 節に述べる各種アミノ酸の消長は秋仕込天然醗造に於ける普遍的なものであると考える。

著者の行った方法では従来の方法によるものに比べてその分析値は当然低い値を示す。これは著者の方法では粕を含めて求めた数値であるからであるが，従来の方法による分析値に対する著者の方法による分析値の比率が各成分により多少異なるのは試料調整時に行った 2 回の水洗の為であると考えられる。

第Ⅳ－１表 №１（昭３２・１１・４・仕込）一般成分の変化（濾液100ml 当り）

経過 日数	ボーメ	還元糖 %	全窒素 %	アミノ態 窒素 %	PH	アルコール %	比 色	エキス %	食 塩 %
47	23.68	7.44	1.12	0.71	4.8	0.03	0.91	20.59	18.10
81	22.55	7.69	1.16	0.81	5.4	0.07	1.06	22.24	18.42
109	23.65	7.09	1.15	0.74	5.4	0.49	1.10	20.62	18.04
148	24.05	6.49	1.22	0.76	5.4	0.03	0.99	20.83	18.48
172	24.21	8.37	1.23	0.80	5.4			21.35	18.42
207	24.85	8.11	1.32	0.88	5.0	0.07	1.27	22.72	18.59
237	24.00	7.78	1.27	0.84	5.2	0.14	1.07	22.35	17.63
268	23.39	5.27	1.35	0.90	4.6	0.97	1.29	20.13	17.95
299	23.11	3.79	1.41	0.92	4.6	1.37	1.68	19.16	18.07
337	23.08	3.46	1.45	0.924	4.6	1.41	2.57	18.08	18.59
365	22.87	3.29	1.41	0.974	4.6	1.79	2.46	18.18	18.24
395	22.70	2.90	1.41	0.977	4.6	1.62	2.45	17.97	18.18

第Ⅳ－２表 №１（昭３２・１１・４・仕込）一般成分の変化

（諸味一定重量の水溶性成分）

経過 日数	諸 味 石 数	還元糖 %	全窒素 %	アミノ態 窒素 %	全 酸 %	エキス %	灰 分 %	食 塩 %
47	27,173	4.99	0.85	0.61	0.154	24.84	13.76	13.72
81	26,875	5.45	0.92	0.77	0.564	26.89	14.69	14.45
109	26,994	5.03	0.88	0.61	0.831	25.69	14.48	13.87
148		3.80	0.93	0.67	1.154	26.27	14.10	13.93
172	26,935		0.89		1.105	26.14		13.87
207	26,794	5.30	0.89	0.69		25.70	13.23	12.77
237	26,875	5.94	0.97	0.67	1.576	27.23	14.19	13.73
268	26,934	3.95	1.08	0.65	1.589	27.43	14.70	13.80
299	26,458	2.80	1.13	0.80	1.651	27.15	14.80	14.67
337	26,220		1.15		1.535	27.56	15.06	14.75
365	26,279	2.29	1.14	0.84	1.708	27.65	15.20	14.47
395	25,982	2.21	1.31	1.00	1.679	26.94		16.40

第Ⅳ－3表 №2 (昭32・11・4・仕込) 一般成分の変化 (濾液 100ml 当り)

経過 日数	ボーメ	還元糖 %	全窒素 %	アミノ態 窒素 %	pH	アルコール %	比 色	エキス %	食 塩 %
47	23.33	6.77	1.138	0.733	4.8	0.022	1.13	20.02	17.92
81	23.76	7.21	1.169	0.840	5.4	0.075	1.13	20.41	18.30
109	23.49	6.73	1.180	0.792	5.6	0.447	1.19	20.33	17.98
148	23.82	6.37	1.263	0.855	5.2	0.015	1.07	20.67	18.24
172	23.87	7.60	1.245	0.838	5.0			20.65	18.33
207	24.49	7.54	1.299	0.892	4.8	0.073	1.23	22.17	18.39
237	23.82	6.78	1.281	0.820	5.0	0.224	1.03	21.48	17.83
268	22.05	4.63	1.334	0.862	4.6	1.048	1.43	17.14	17.69
299	22.83	3.14	1.408	0.904	4.6	1.463	1.59	18.45	18.04
338	22.70	2.92	1.438	0.886	4.6	1.592	2.66	17.69	18.27
366	22.61	2.81	1.417	0.925	4.6	1.760	2.50	17.63	18.18
396	22.48	2.65	1.407	0.965	4.6	1.561	2.56	17.10	18.33

第Ⅳ－4表 №2 (昭32・11・4・仕込) 一般成分の変化  
( 諸味一定重量の水溶性成分 )

経過 日数	諸 味 石 数	還元糖 %	全窒素 %	アミノ態 窒素 %	全 酸 %	エキス %	灰 分 %	食 塩 %
47	27,132	4.35	0.853	0.630		27.25	14.55	13.87
81	26,898	4.74	0.867	0.705	0.579	19.45	13.57	13.36
109	27,016	4.51	0.753	0.655	0.670	26.97	14.99	13.38
148		4.16	0.918	0.615	1.098	24.43	13.77	13.73
172	26,840		0.865		1.435	26.97	13.81	13.50
207	26,840	5.38	0.850	0.672	1.515	24.70	13.71	12.93
237	26,722	4.94	0.937	0.637	1.537	26.32	13.66	13.38
268	26,487	3.40	1.050	0.645	1.748	27.17	14.84	13.95
299	26,134	2.16	1.093	0.703	1.653	27.25	14.65	14.60
338	25,899		1.130		1.501	27.60	15.18	14.25
366	25,958	1.82	1.088	0.860	1.869	27.28	15.00	14.47
396	25,664	1.71	1.145	0.857	1.674	27.74	15.15	14.18

第Ⅳ－5 №3 (昭32・11・5・仕込) 一般成分の変化 (濾液 100ml 当り)

経過 日数	ボーメ	還元糖 %	全窒素 %	アミノ態 窒素 %	pH	アルコール %	比 色	エキス %	食 塩 %
48	23.40	6.84	1.144	0.726	4.8	0.022	1.02	19.76	18.15
82	22.15	6.38	1.084	0.772	5.4	0.084	1.06	16.30	18.24
110	23.52	6.81	1.180	0.793	5.6	0.455	1.18	20.17	18.10
149	23.86	6.22	1.264	0.813	5.0	0.015	1.03	20.62	18.33
173	23.92	7.31	1.250	0.844	5.0			20.78	18.33
208	23.75	6.95	1.267	0.867	4.8	0.116	1.15	21.17	17.89
238	23.86	7.14	1.294	0.829	5.0	0.113	1.07	21.69	17.77
269	23.39	5.45	1.347	0.865	4.6	0.773	1.31	20.07	17.98
300	22.90	3.71	1.397	0.900	4.6	1.242	1.67	18.79	17.98
338	22.97	3.51	1.442	0.897	4.6	1.330	2.43	18.10	18.42
366	22.93	2.64	1.392	0.927	4.6	1.592	2.54	18.68	18.07
396	22.85	2.96	1.405	0.972	4.6	1.420	2.52	18.31	18.21

第Ⅳ－6表 №3 (昭32・11・5・仕込) 一般成分の変化  
( 諸味一定重量の水溶性成分 )

経過 日数	諸 味 石 数	還元糖 %	全窒素 %	アミノ態 窒素 %	全 酸 %	エキス %	灰 分 %	食 塩 %
48	26,076	4.23	0.830	0.585		25.47	13.82	13.33
82	25,668	4.54	0.883	0.698	0.757	25.61	13.94	13.87
110	25,956	4.39	0.913	0.665	1.296	27.45	13.54	13.87
149		4.59	0.918	0.652	1.210	24.43	14.21	13.73
173	25,610		0.927		1.331	26.97	13.64	13.50
208	25,490	5.51	0.930	0.700	1.460	27.65	14.70	13.15
238	25,375	5.20	0.987	0.693	1.849	25.60	14.40	13.87
269	25,142	4.15	1.025	0.694	1.885	27.25	14.64	13.95
300	24,909	2.99	1.120	0.960	1.771	25.80	14.89	14.70
338	24,617		1.152		1.751	23.85	15.14	14.82
366	24,733	2.04	1.052	0.865	1.839	24.82	14.74	13.95
396	24,383	2.04	1.147	0.867	1.748	25.35	15.03	14.18



## 第2節 各種アミノ酸の消長

### 1. 実験方法

#### i) 試料

試料には前記方法で採取した諸味抽出物を用いた。これら抽出液は諸味を2.5倍に稀釈したものであるが、尙濃厚であり加熱によって沈澱を生じるため更に8倍に稀釈し諸味の $1/20$ 稀釈液を作製しこれを試験管に分注して封入し、常法により蒸気殺菌を施して保存した。

#### ii) 分析方法

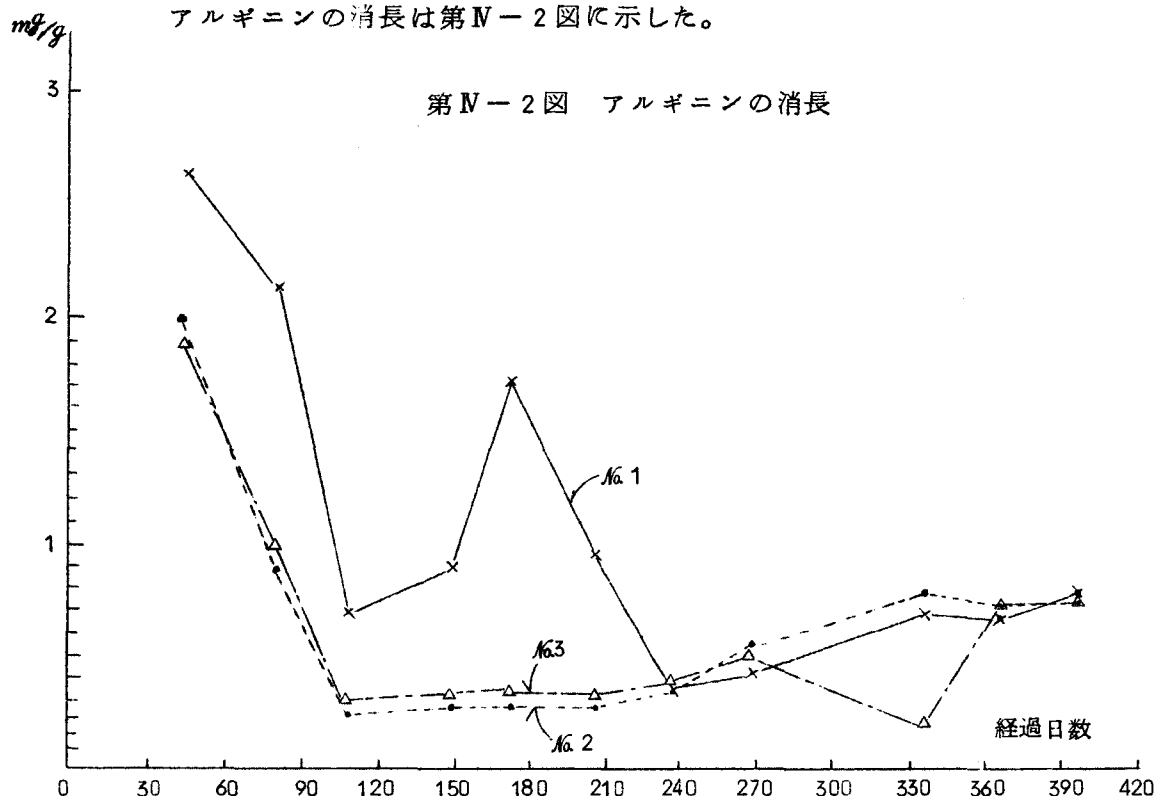
各種アミノ酸の定量は総てバイオアッセイによった。

### 2. 結果

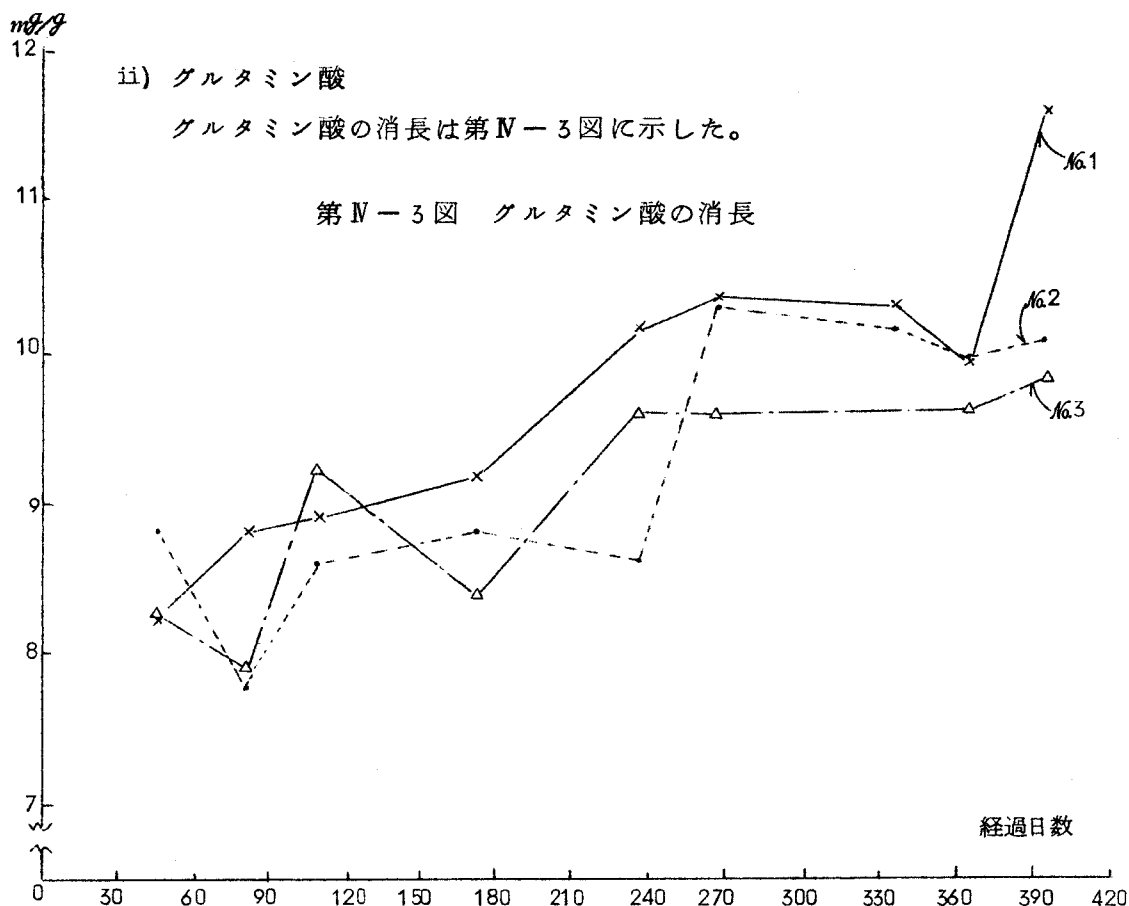
諸味1g当りの水溶性遊離（乳酸菌利用可能，以下便宜上遊離と称す）アミノ酸の消長は以下に述べる通りである。以下に述べるアミノ酸量は総てL-型としてある。

i) アルギニン

アルギニンの消長は第Ⅳ-2図に示した。



醤油諸味熟成中の水溶性遊離アルギニンの消長は極めて特異であって仕込後47日の諸味中には約 $2\text{mg/g}$ 乃至それ以上の存在が見られるが、以後相当急激な減少がみられ仕込後109日ではNo. 1で約 $0.7\text{mg/g}$ 、No. 2及びNo. 3では $0.3\text{mg/g}$ を示した。No. 1に於ける消長は他に比べてやゝ異なるが109日以後の諸味中の水溶性遊離アルギニン量は237日迄殆ど変化なく、その後337日以後は約 $0.8\text{mg/g}$ を示す程度迄僅かな増加を示した。先の原料分析値より諸味1g中に存在する全アルギニン量を計算すると約 $5\text{mg}$ 程度となる。従って、仕込後47日の諸味中に存在する水溶性遊離アルギニン $2\sim 2.7\text{mg}$ は諸味中に存在する全アルギニンの40～50%に相当し、この比率は他のアミノ酸の比率に比べて特に異なるものではない。然るに他のアミノ酸ではそれ以後に増加をみるのに反しアルギニンは減少する。

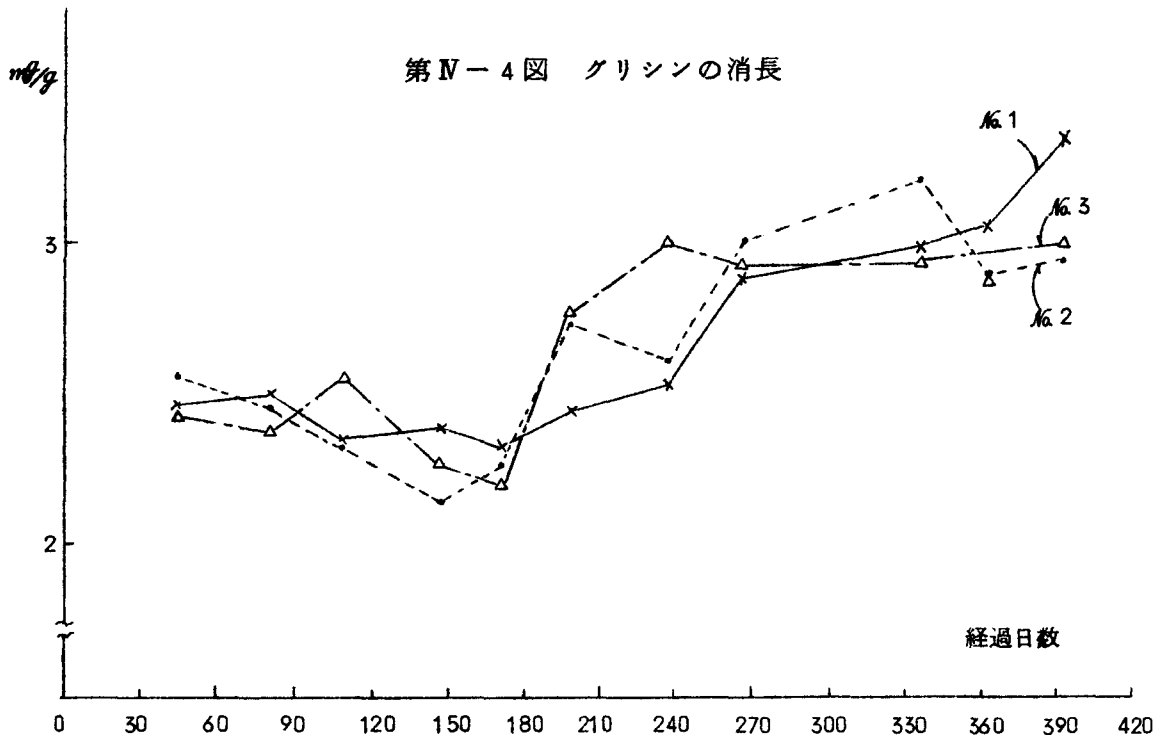


仕込後 47 日の諸味中には約  $8\text{mg/g}$  の水溶性遊離グルタミン酸が存在し、その後 172 日迄は大した変化は認められなかった。仕込後 172 日～237 日に於いて約  $1.5\text{mg/g}$  の増加が認められたがこの期間は季節の上では 5～7 月に相当する。アミノ態窒素の増加は仕込後 269 日以後に大きなものがみられたのに比してそれよりも早い時期に増加が認められた。仕込後 268 日で  $10\text{mg/g}$  の水溶性遊離グルタミン酸の存在が認められたがその後の増加は認められなかった。石塚氏、<sup>4)</sup> 斎藤氏、は Olcott 法によって諸味中のグルタミン酸の分析を行っているが、この場合も仕込後 10 ヶ月で最高値を示す結果を得ており、著者の結果と一致する。

仕込後 47 日以後に於ける諸味中の遊離グルタミン酸の増加量は比較的少く、仕込後 47 日の諸味中に存在した量の約 20% が増加するに過ぎずこれは他のアミノ酸に比べて少いものであった。

iii) グリシン

グリシンの消長は第Ⅳ-4図に示した。

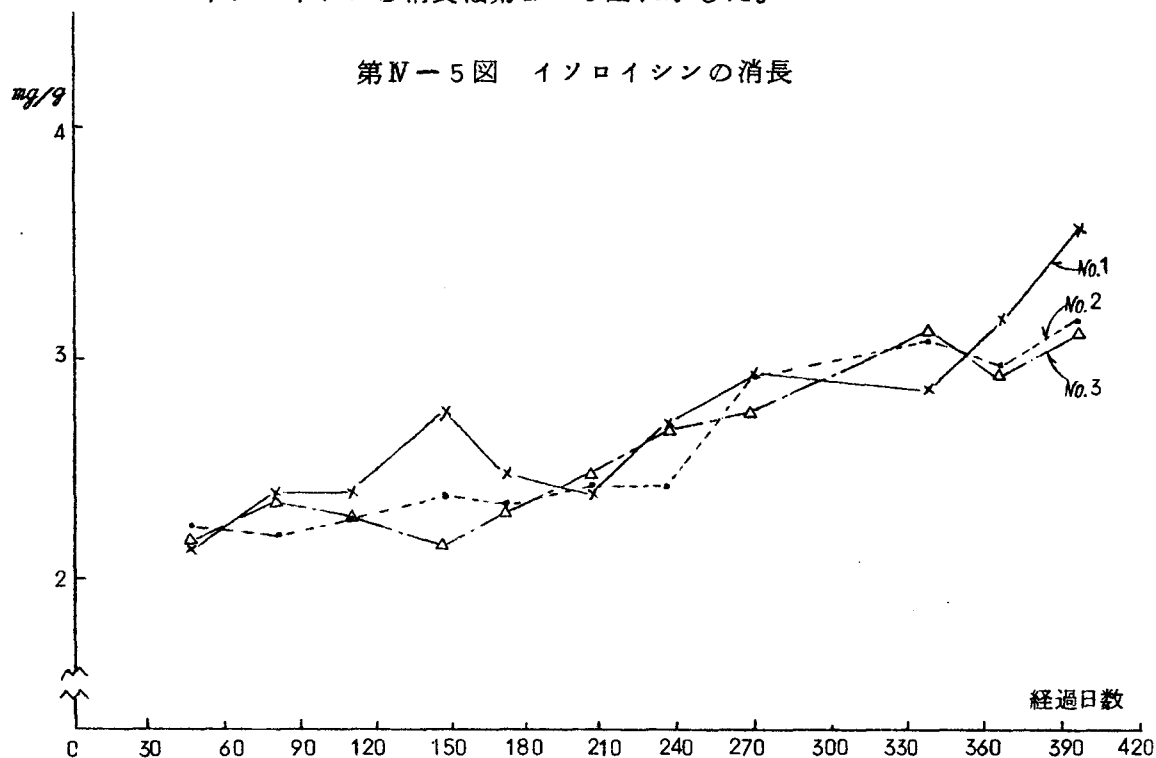


仕込後 47 日の諸味には約  $2.5\text{mg/g}$  の水溶性遊離グリシンが認められ、その後 147 日迄は殆ど増加しないか稍減少する傾向を示した。然る後仕込後 172 乃至 237 日に約  $0.5\text{mg/g}$  増加し  $3\text{mg/g}$  程度となった。この時期は 5～7 月に相当する。以後は再び大きな変化を示さずほぼ  $3\text{mg/g}$  を示し、その増減の傾向はグルタミン酸のそれと類似したものであった。これらの型にみられる消長はアミノ態窒素の消長と一致するものでなく、第Ⅲ-2 表、第Ⅲ-4 表、第Ⅲ-6 表に示されるように、アミノ態窒素は 269 日以後に大きな増加を示すのに反しグルタミン酸及びグリシンではこの間に殆ど増加を示さない。即ち、アミノ態窒素の増加が大きくなる時期より約 3 ヶ月以前に大きな増加がみられるものである。

iv) イソロイシン

イソロイシンの消長は第Ⅳ-5図に示した。

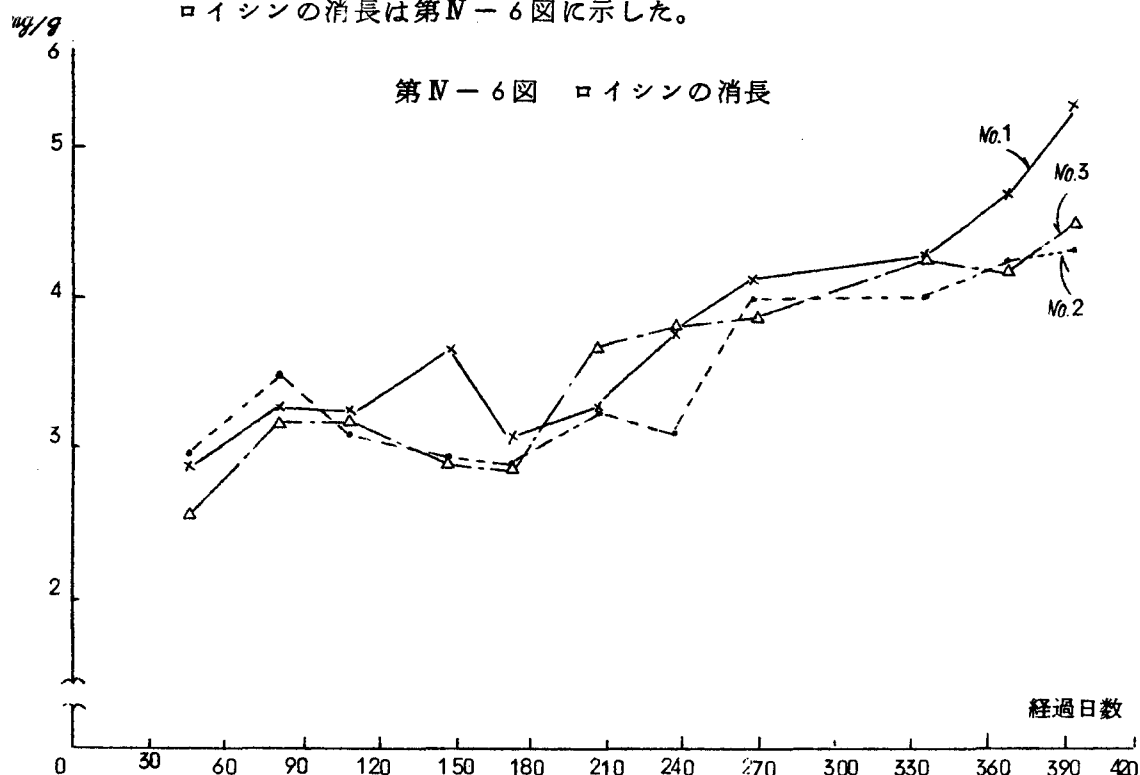
第Ⅳ-5図 イソロイシンの消長



仕込後 47 日の諸味中には約  $2.2\text{mg/g}$  の水溶性遊離イソロイシンが存在し、以後仕込後 395 日に至る全実験期間を通じて徐々に増加した。仕込後 395 日の諸味中に存在する水溶性遊離イソロイシン量は約  $3.1\text{mg/g}$  であり、この期間に仕込後 47 日の諸味に存在したイソロイシンの約 50% が増加した。

v) ロイシン

ロイシンの消長は第Ⅳ-6図に示した。

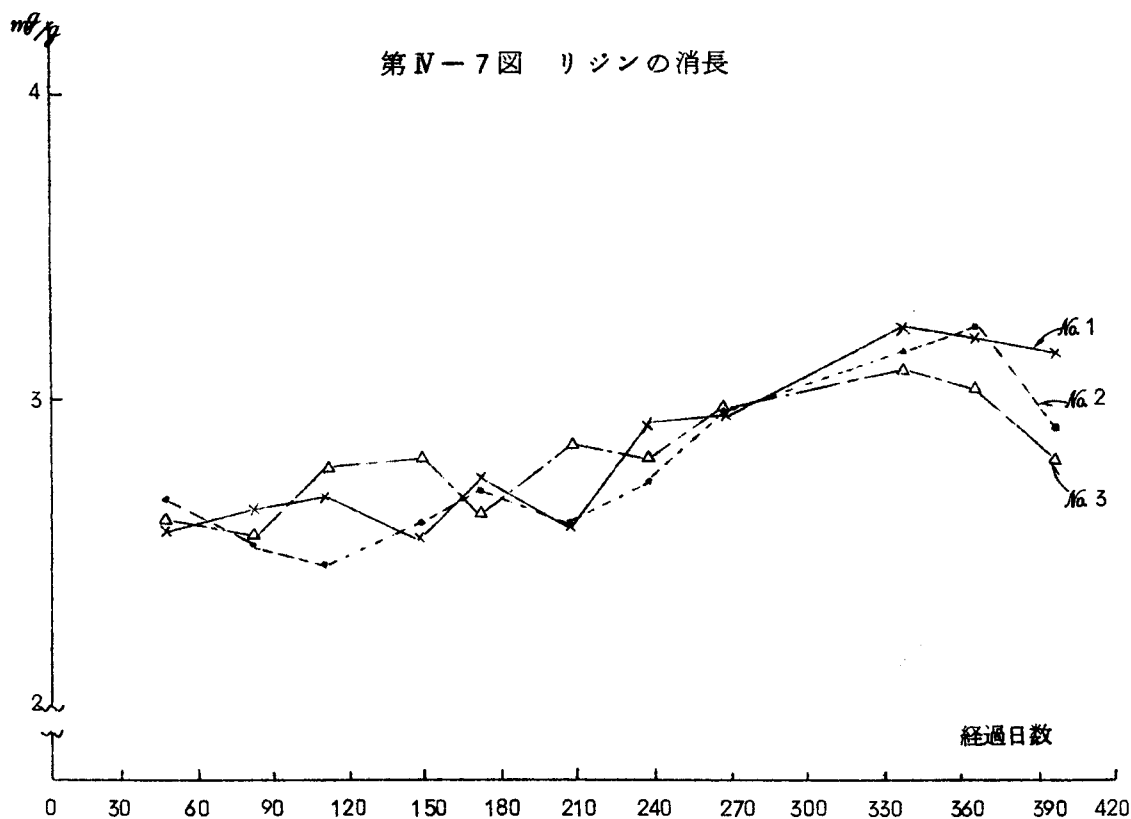


仕込後 47 日の諸味中に存在する水溶性遊離ロイシンは約  $2.8\text{mg/g}$  であり仕込後 81 日で  $3.2\text{mg}$  程度に増加した。その後は殆ど増加しない時期があり、200 日以後に再び明らかな増加がみられ仕込後 396 日の諸味には  $4.5\text{mg/g}$  乃至それ以上の水溶性遊離ロイシンが認められた。仕込後 47 日以後の増加量は仕込後 47 日の諸味中に存在する量の 60% に達する大きいものであった。

# vi) リジン

リジンの消長は第Ⅳ-7図に示した。

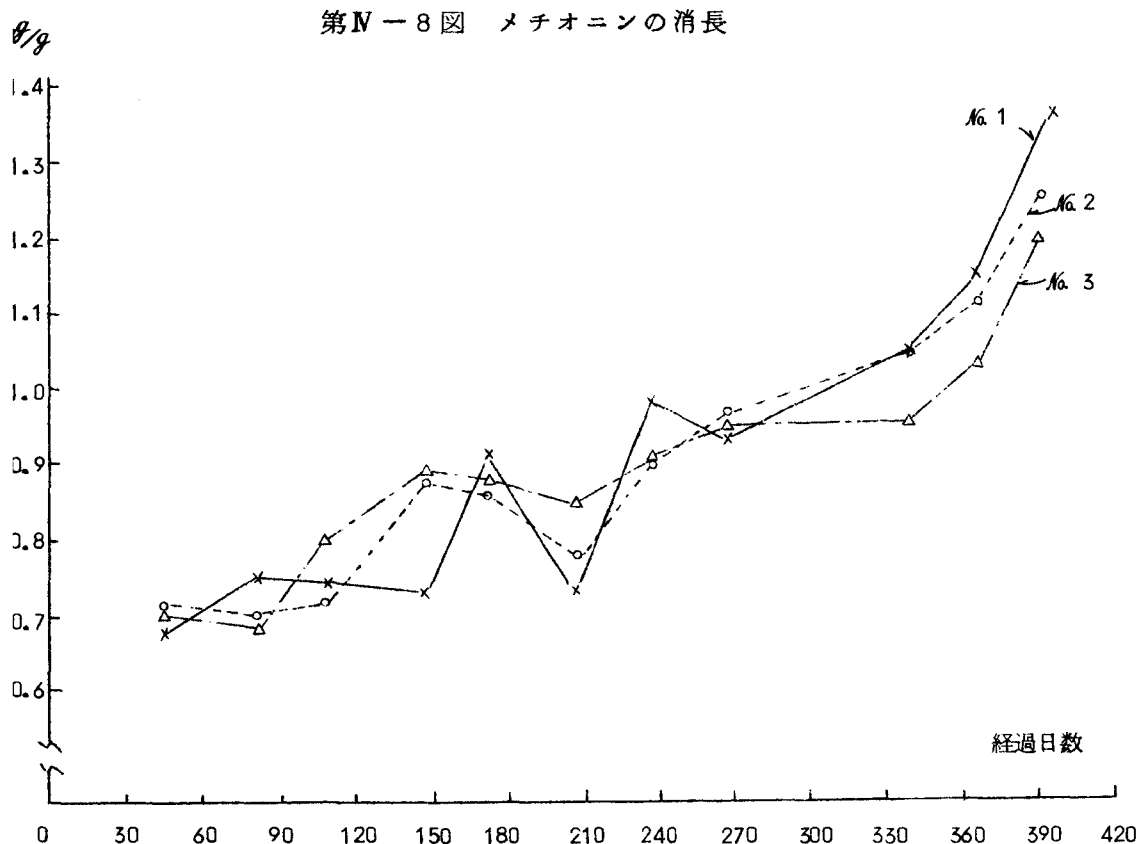
仕込後 47 日の諸味中には約  $2.6\text{mg/g}$  の水溶性遊離リジンが認められその後殆ど増減の認められない状態が仕込後 237 日頃迄続いた。仕込後 237 日以後は先に述べたように諸味品温の最も高い時期であるがこの時期に僅かな増加がみられた。しかしその増加量は大して大きいものでなく、仕込後 338 日に  $3.2\text{mg/g}$  程度を示したがその後再び減少し仕込後 396 日には  $3\text{mg/g}$  弱となった。従って仕込後 396 日の諸味では仕込後 47 日以後の増加量が仕込後 47 日の諸味中に存在した量の僅か 20% 程度でしかない。諸味中の水溶性遊離リジンは仕込後 11 ヶ月頃に最大値を示すようである。



vii) メチオニン

メチオニンの消長は第Ⅳ-8図に示した。

メチオニンの消長はリジンのそれとは全く反対に仕込後47日の諸味中には約 $0.7\text{mg/g}$ 程度しか存在せず，その後仕込後396日に至る迄増加して $1.2\text{mg/g}$ 乃至それ以上に達した。この間の増加量は仕込後47日の諸味中に存在した量の60%に達し，大きいものであった。しかも実験期間中に，リジンにみられたようなピークが存在しないのみか，寧ろ仕込後11ヶ月以後の増加が著しい傾向を示した。



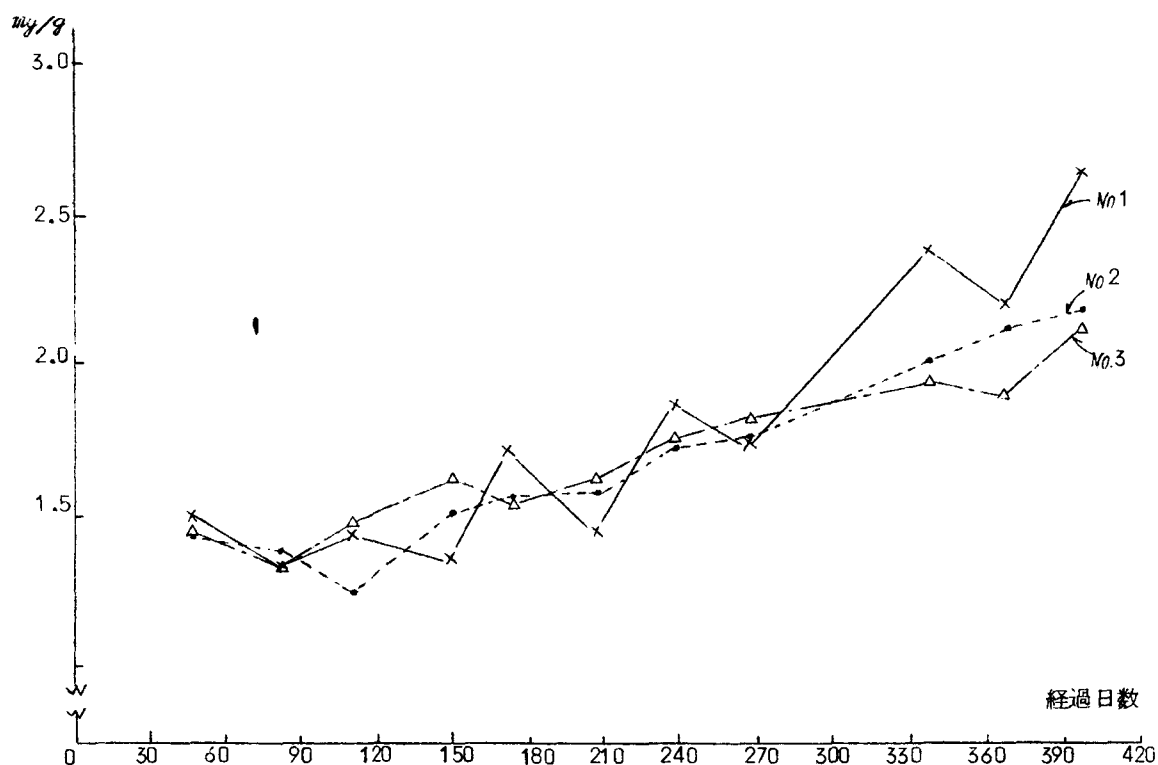


viii) フェニルアラニン

フェニルアラニンの消長は第Ⅳ－9図に示した。

仕込後47日の諸味には約  $2mg/g$  の水溶性遊離フェニルアラニンが存在し仕込後396日に約  $2.8mg/g$  に達する迄測定全期間を通じて徐々に直線的な増加を示した。その消長はイソロイシンのそれと類似するものであった。仕込後47日以後396日迄の増加量は仕込後47日の諸味中に存在するフェニルアラニンの約40%に相当した。

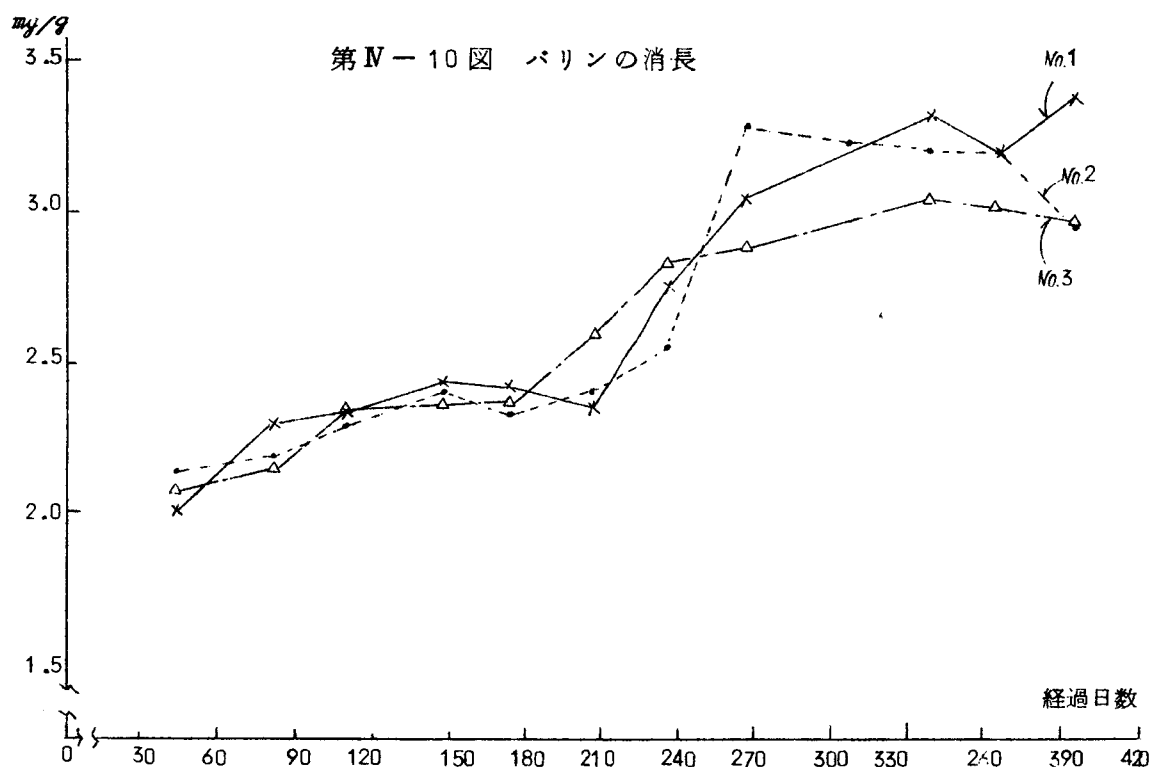
第Ⅳ－9図 フェニルアラニンの消長



# ix) バ リ ン

バリンの消長は第Ⅳ－10図に示した。

水溶性遊離バリンは仕込後47日の諸味中に約 $2mg/g$ 存在する。その後仕込後109日に約 $0.2mg$ の増加がみられたがそれ以後は仕込後172日に至る迄殆ど変化を示さなかった。仕込後207日に至って急激な増加を示し仕込後268日には水溶性遊離バリンは $3mg/g$ に達した。この期間は6～8月に相当し諸味の温度が上昇する時期である。しかし仕込後268日以後は再び殆ど変化を示さず、仕込後10ヶ月前後に水溶性遊離バリンは最大量に達することを示した。

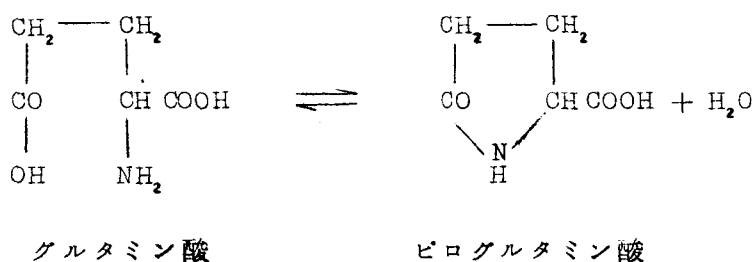


### 3. 考 察

従来諸味中のアミノ態窒素を測定することによって諸味中の遊離アミノ酸の消長を推定して来た。しかしアミノ態窒素の消長は個々のアミノ酸の消長の総和として表わされるものであるから、個々のアミノ酸の消長は必ずしもアミノ態窒素の消長と類似するものではない。著者の測定した9種アミノ酸でも相当異なる消長を示した。一部アミノ酸では、仕込後395日に至る諸味熟成期間を通じて一方的に増加し続けた。イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン等はこの型のアミノ酸である。又一部アミノ酸では、仕込後395日に至る間に既に遊離アミノ酸の最高値を示す時期が存在し、諸味熟成の後期には増加が認められなかった。例えば、グルタミン酸、リジン、バリン等はその例である。又、アルギニンの如く極めて特異な消長を示すものもあった。即ちアルギニンは諸味熟成中に極端に減少する時期があり、諸味熟成後期には初期に存在した遊離アルギニンの大半が消失して<sup>了</sup>う。しかも各諸味によってその消長は異り、一度減少してから再び相当量の増加をみるものなどあって一定しない。諸味中の遊離アルギニンが減少する問題については、化学変化による減少及び諸味中に存在する微生物によって資化されることの2点について考察されねばならない。しかし、後者に依る所が大きいと思われる。即ち、その減少が特定の時期に極めて多くなされること、各諸味によってその消長が相当異なること、又諸味熟成後期に一部増加が認められること等の事実は単に化学変化だけでは説明し難いからである。一方著者が測定を行った同一試料で上田氏等<sup>45)</sup>が各種有機酸の消長を検討したが、3種諸味では若干異なる点も認められた。特にアルギニンの消長が異ったNo.1では初期の諸味の乳酸生成量は他に比べて少く、又148日を経過する迄の酢酸生成量も他の2者に比べれば若干少いものであった。又第1節に示した一般分析結果にも示されるように他の諸味では全酸の増加が相当みられる仕込後148日乃至172日にNo.1では減少した。この時期にNo.1では

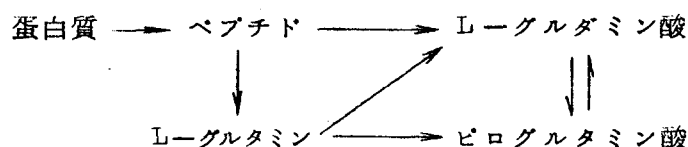
遊離アルギニンの増加がみられるのは興味あることである。これらの結果は各諸味中の乳酸菌，酢酸菌の分布並びにその動向が異なるものであることを示し特にNo. 1では他の諸味との相違が著しいと解釈できる。これらの菌の活動が異なることは他の微生物の分布も異なるであろうことを推定するのを妨げるものではない。従って諸味中の遊離アルギニンは諸味中に存在する或種微生物によって資化されるものであり，微生物の分布が各諸味によって相違するためアルギニンの消長も他のアミノ酸とは異り各諸味によって相違するものと考えられる。又No. 1に見られた一時減少後の増加量は少いものでなく、これがこの時期に原料蛋白質から遊離されたと考えるには多量でありこの増加にも或は微生物が関与しているかも知れない。

諸味熟成期間中に於ける遊離グルタミン酸の増加比率が他のアミノ酸のそれに比較して少く、且つ熟成後期に増加がみられない点も重視されるべき問題である。その原因の一つとして一度遊離されたグルタミン酸が逐次ピロ化されることが挙げられる。グルタミン酸，ピログルタミン酸の平衡関係は Wilson Cannan<sup>48)</sup>により示されたものでグルタミン酸は水溶液中では次のような平衡関係を示す。



2%のグルタミン酸溶液では PH 4 で 105℃ に 5 時間保つと 98% がピロ化して平衡状態に達する。<sup>5)</sup>堀氏等はこの関係が醤油諸味に於いても成立し、諸味中の遊離グルタミン酸は変化することを認めた。又、醤油原料の蛋白質中にはグルタミン酸はグルタミンの形で存在しているものも多く、グルタミ

ンからも直接ピログルタミン酸が生成するものとして、次の如き経過で諸味中にピログルタミン酸が生成するものと推定している。



しかし、その後石塚氏等<sup>49)</sup>が検討した結果では諸味中のピログルタミン酸は醸造初期には増加するが必ずしも全期間を通じて増加しないことを認め、同時に諸味中ピログルタミン酸を含めた全グルタミン酸が醸造期間の延長に伴って減少することを認めており、諸味中のグルタミン酸のピロ化が必ずしも Wilson Cannan の平衡式の通り行われるものでないことを指摘している。従って、諸味中の遊離グルタミン酸はピロ化以外の変化も受ける訳であり、これらの問題については今後検討されるべき問題が多い。又、グリシンも<sup>26)</sup>醤油中では結合態として多いアミノ酸の一つであるが、諸味中の遊離グリシンの消長がグルタミン酸のそれと類似しているのは興味ある事実である。

### 第3節 原料利用率

先に述べた諸味中の各種遊離アミノ酸が原料蛋白質に対して如何程の量に相当するが検討した。

#### 1. 実験方法

諸味中に含まれる各種アミノ酸の全量を知る為に、仕込後47日の諸味の酸分解物を調整した。酸分解物の調整は常法によった。即ち、前述の方法で桶の各部より採取した諸味を乳鉢にて可及的に磨砕し、その5.0gを100ml容フラスコにとり、これに6N HCl 50mlを加え封管した後30℃ 4時間オー

トクレーブした。得られた酸分解物は減圧濃縮し塩酸を駆逐しこの操作を3回繰返した後NaOHにてpH4.0に調整して濾過した。濾液は更にNaOHにてpH6.8に調整してから一定容となした。一定容に調整した酸分解液は試験管内に封入し蒸気殺菌を施して定量に供した。

各種アミノ酸の定量は総てバイオアッセイによった。

## 2. 結果及び考察

測定は3種の諸味について行ったが各測定値は近似した値を示したのでその平均値を第Ⅳ-8表に示した。第Ⅳ-8表には仕込後47日の諸味1gに含有される各種アミノ酸の全量を示してある。同時に、仕込後47日及び仕込後395日の諸味に存在する各種アミノ酸の水溶性遊離態がそれぞれ全アミノ酸の何%に相当するかを示してある。ここに示した%は仕込後

第Ⅳ-8表 各種アミノ酸の遊離比率

アミノ酸	全アミノ酸 mg/g	仕込後47日諸味中の遊離態		仕込後395日諸味中の遊離態	
		mg/g	全アミノ酸に対する%	mg/g	全アミノ酸に対する%
アルギニン	4.15	2.16	52.0	0.75	18.1
グルタミン酸	20.4	8.45	41.4	10.52	51.5
イソロイシン	4.69	2.18	46.5	3.26	69.7
ロイシン	7.03	2.80	39.9	4.64	66.2
ロジン	4.37	2.61	59.7	2.96	68.0
メチオニン	1.76	0.70	40.0	1.27	72.1
フェニルアラニン	4.19	1.95	46.5	2.81	68.0
バリン	4.91	2.08	42.5	3.19	65.0

47日の諸味の酸分解物中のアミノ酸に対するものであるから仕込後395日の諸味に於けるアミノ酸分布を示すものでなく、原料利用的な意味を持つものである。

アルギニンは仕込後47日で諸味中に含まれる全量の52%が水溶性遊離

態として存在した。この値は他のアミノ酸に比べて高いものである。アルギニンは諸味中で次第に消失することは先に述べた。従って仕込後47日の諸味に含まれる全アルギニンも原料中に存在したアルギニンの全量と等しいか否かは疑問である。そこで、第2章に述べた原料中のアミノ酸量より計算値として求めてみるに、諸味1g当たり約5mgとなり実測値として示した4.15mg/gは若干低い値を示す。他のアミノ酸の実測値は計算値と殆ど一致するものが多いことより、仕込後47日の諸味の全アルギニンは既に一部減少したものであると考えられ、原料利用率として考える場合は52%より低い値をとらねばならない。アルギニンは諸味熟成中に減少するから、仕込後395日の諸味での水溶性遊離態は僅かに18%を示すに過ぎなかった。グルタミン酸は仕込後47日の諸味では全グルタミン酸の41%が遊離態として存在し、他のアミノ酸のそれと比較した場合中間的なものであった。しかし仕込後395日迄の増加量が他のアミノ酸に比べて少いからこの時期の水溶性遊離態の全グルタミン酸に対する比率は51.5%となり、他のアミノ酸に比べて若干低い値を示した。ロイシンは仕込後47日では全ロイシンの約40%が水溶性遊離態として存在し、仕込後395日では66%となる。遊離態の比率は初期には他のアミノ酸に比べて低いものの一つであるが最終値では少いものでない。イソロイシン、フェニルアラニン、バリンは何れも仕込後47日で全アミノ酸の45%程度が水溶性遊離態となり、仕込後395日では全アミノ酸の65~70%に相当する量が遊離態として存在することが示された。リジンは遊離態の増加が初期に著しく仕込後47日の諸味では既に全量の60%近くが遊離態として存在する。先に水溶性リジンはグルタミン酸同様仕込後47日以後395日に至る間の増加量が少いことを述べた。しかし、この場合は仕込後47日に既に多量が遊離態として存在するためであり、全体としてリジンは初期に遊離される結果以後の増加量が少くなるものである。従って、グルタミン酸、リジンの両者は仕込後47日以後395

日に至る間の遊離態の増加が少いものであったが、これは全く異った原因に基く結果である。仕込後 395 日の諸味では、全リジンの 68% に相当する量が遊離態として存在し、他のアミノ酸に比べて少いものではない。反対に、メチオンは仕込後 47 日以後 395 日に至る間の増加量が大きいものであったが、仕込後 47 日では遊離態は全メチオンの 40% とやゝ低く、仕込後 395 日では高い値を示した。

以上のように仕込後 47 日の諸味では、多くのアミノ酸は諸味中に含まれるそれぞれの全量の 45% 程度が水溶性遊離態として存在するが、リジンは 60% の高率であり、ロイシン、メチオニンは 40% とやゝ低率であった。又、仕込後 395 日の諸味では、一般にそれぞれの全アミノ酸に対する遊離態の比率は 65～70% を示したが、グルタミン酸は若干低率であり、アルギニンは極めて低率で 20% に達しなかった。尚、仕込後 395 日に関する数値はその時期の諸味 1g 当りの遊離アミノ酸量を用いたから、諸味全量からみた場合水分蒸発に伴う諸味量の減少があり、原料利用率としてはそれぞれの値の 5% に相当する程度を差引いた値となろう。

## ・ 要 約

醤油の天然醸造諸味に於ける主要アミノ酸の遊離態の消長を検討した。

諸味中の各種アミノ酸の消長はアミノ態窒素の消長と類似するものも少くないが極めて異った消長を示すものもあって単一でない。例えばアルギニンは全く特異な消長を示し仕込後 47 日以後に大きな減少がみられる。その原因は諸味中の微生物によって資化されることにあると考えられる。又グルタミン酸、グリシンは仕込後 47 日以後の増加量の比較的少いものであるが、その増加は仕込後 172～237 日に主としてみられ、これはアミノ態窒素の増加の大きい時期より早いものであった。グルタミン酸、グリシンは他のア



ミノ酸の増加量の多い諸味品温の高い時期に増加が認められず、仕込後10ヶ月以後は殆ど増加を示さなかった。リジン、バリンも又仕込後10ヶ月頃に最大量に達する。これに反して、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニンでは仕込後395日に至る迄全期間を通じて増加した。

これら諸味中の各種遊離アミノ酸が、それぞれ諸味中に含まれる各種アミノ酸の全量に対して如何程の割合になるかを検討した結果では、仕込後47日では45%に相当するものが多く、たゞリジンは高率で60%に相当し、反対にロイシン、メチオニンは40%と若干低い値を示した。又仕込後395日の諸味に存在する遊離アミノ酸は、それぞれ全アミノ酸量の65～70%に相当するものが多く、グルタミン酸が少々低くアルギニンは20%以下の低率であった。

## 第5章 加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長

醤油醸造上の問題点の中最も重大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。為に、大量の醤油を醸造する場合には諸味熟成に広大な場所が必要となり、又原料仕込時期より製品となる迄の期間が長ければ採算上好ましくない。従って、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、現在醸造期間の短縮の為に二、三の方法がとられている。その一つは、鉱酸を用いて種々の蛋白質原料を加水分解する方法、所謂化学醤油の製造である。この方法は本来醸造とは異った方法であるが、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、諸味の増量剤として使用する型式がとられている<sup>50)</sup>。所謂化学醤油は、アミノ酸の分解率が高いと云う利点はあるが香気に欠点がありその組成も天然醸造醤油とは異なるものである。次に、この化学醤油の利点を利用し、より醸造醤油に近似させるため化学薬品及び微生物を併用する方法がある。この方法についても古くから多数の研究、特許が発表されているが、1944年醤油粕を塩酸で分解中和したものに醤油粕麴を加え熟成させる新式一号が野田醤油K.K.から発表され、続いて1948年大豆ミール、脱脂大豆を塩酸で分解中和したものに麴を加えて熟成させる新式二号の発表をみて一応の標準となった。この方法は単に醸造期間の短縮のみならず多くの利点もあるが、鉱酸による分解を行うものであるから例えば混在する炭水化物の分解も附随して起りこの点に問題がある。一方、一般醸造工業に於いては微生物の作用の最適条件で酸酵させる型式は常にとられる方法であるのに反し、醤油醸造に於いては殆ど諸味は放置させている現状である。しかも、醤油醸造に古くから“夏を越さねば醤油にならぬ”と云われている通り、醤油諸味は品温の高い時期を経過する必要がある、この点に着目して諸味を加温して速醸する試みがなされつゝある。即ち加温速醸型式は諸味を適当な条件で管理することによって醸造期間を短縮しようとするも

のであって、本来の天然醸造醤油に最も近いものが得られる可能性を持つものである。その型式については現在尙決定的なものは見出されておらず、池宮<sup>58)</sup>氏、渋谷<sup>59)</sup>氏等、後安<sup>60)</sup>氏等がそれぞれ見解を述べている。著者は二、三の加温速醸を行い、そのアミノ酸の消長からこの方法を検討した。

### 第1節 加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長

加温速醸型式は現在尙検討されつゝある問題であるが、本実験では一応諸味品温を30℃に保った場合の各種アミノ酸の消長を検討した。

#### 1. 実験方法

##### 1) 試料及び試料の調整

試料は昭和35年5月28日(№1)、29日(№2)、30日(№3)仕込のもの3種で何れも仕込配合、諸味管理は同一とした。仕込配合は脱脂大豆720Kg、小麦720Kg、ポーメ19°の塩水2・916Kg、諸味品温は仕込直後から実験期間を通じ30℃附近に保った。

試料の採取は仕込直後に重点を置き、仕込直後、1日、3日、5日、10日、20日、30日、45日、60日、90日後の10回行った。試料の採取及び調整方法は次の通りである。仕込直後の試料以外は第3章第1節に述べた方法によった。即ち、仕込桶の11ヶ所より採取した諸味の一定量を圧搾水洗後一定容となした。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。室内の異った位置の麴蓋10枚を選び、各々よく混ぜてから約100g宛を集め、これを更に混和してその100・0g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った。

各時期の抽出液は更に適当に希釈して試験管内に封入し、常法にて蒸気殺菌を施した後定量に供した。

又仕込後 90 日諸味については一般分析を行う為諸味を濾過した濾液を調整した。従来の天然醸造に於ける分析値との比較を容易にする為に一般に行われる試料採取法をとったものである。

## ii) 分析 方法

一般分析は常法によった。その概略は第 3 章第 1 節に述べた通りである。個々のアミノ酸の定量は総てバイオアッセイによった。

## 2. 結 果

供試諸味の仕込後 90 日の一般分析結果を示すと第 V-1 表の通りである。第 V-1 表では諸味の濾液 100ml 当りの各成分を % 数で示してある。

第 V-1 表 一般分析結果 (仕込後 90 日)

試料	ポーメ	食塩	全窒素	フォル モール 窒素	pH	エキス	還元糖	アルコー ル	比色	比色 全窒素	1) N-性	2) 単位当り 諸味量	3) 全窒素 利用率	鑑 定
No 1	22.68	18.91	1,414	0.771	4.7	16.43	2.37	1.65	0.595	0.423	(-)	0.675	75.4	可
No 2	22.87	18.56	1,397	0.759	4.6	17.58	3.23	1.79	0.493	0.353	(-)	0.679	74.9	微に異臭
No 3	22.91	18.62	1,389	0.760	4.6	17.58	3.03	1.84	0.523	0.379	(-)	0.666	75.0	可

1) 醬油に 6 ~ 10 倍の水を加えて食塩濃度を低下せしめて煮沸した場合混濁を生じたり沈澱を生じたりすることがある。未変性蛋白質の混在によって生じるもので、これを仮りに N 性と称し混在なき場合を (-) とした。

2) 単位当り諸味量とは、脱脂大豆 120Kg, 小麦 120Kg, 塩水 (ポーメ 1%) 0.486Kℓ を仕込 1 単位とした場合の熟成諸味量 Kℓ である。本実験での諸味量は 6 単位に相当する。

3) 利用率は垂歩合 90% とした場合の実利用率である。

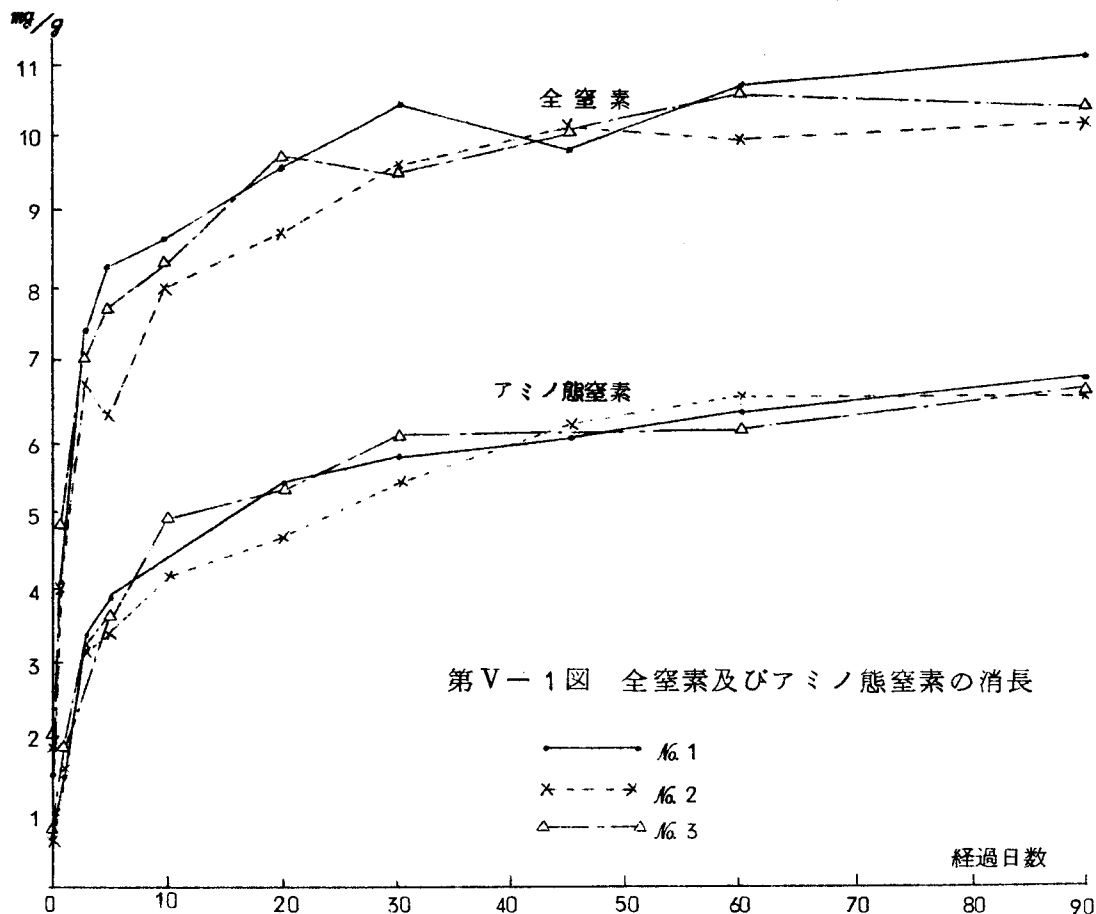
第 V-1 表に明らかなように 3 種の諸味は仕込後 90 日では殆ど同一の組成を示し、これらの分析値は天然醸造諸味の 1 年経過したもの<sup>61)</sup>に比べて還元糖が少々多い他は殆ど差異はない。森口氏が本実験と全く同一の仕込

配合で天然醸造を行い、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を加えているが、12ヶ月経過諸味の窒素利用率は7月、8月の夏期仕込のものは68%程度で低く、9月、10月仕込で72%、5月、6月仕込のものは75%、3月、4月、11月、12月、仕込のもので約76%、1月、2月仕込で78%であったと述べている。本実験では、一応諸味品温を30℃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何れも75%となり、森口氏の結果と比較した場合最適仕込時期と考えられる1月、2月に仕込まれた諸味に比べてはやゝ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。即ち本実験で行った加温速醸では仕込後90日諸味で、天然醸造の12ヶ月経過諸味と殆ど同一組成のものが得られ、加温速醸の目的は一般分析の上からは一応達せられたと考えられる。

全窒素、アミノ態窒素並びに各種アミノ酸の消長は以下に述べる通りである。何れも各時期に於ける諸味1gの水溶性区分に含まれる量を示したものであり、各種アミノ酸は何れもL-型として示してある。

# i) 全窒素及びアミノ態窒素

全窒素及びアミノ態窒素の消長は第V-1図に示した。

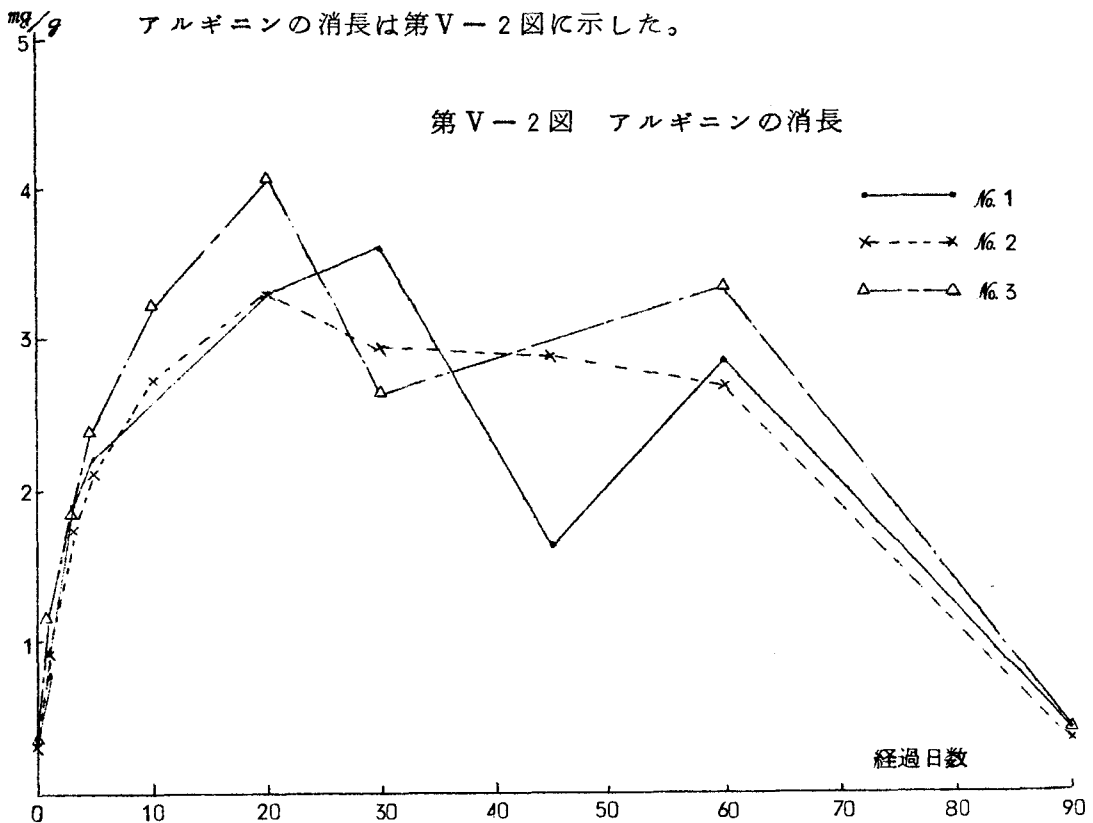


全窒素は仕込直後の諸味で1.5~2.0mg/g以上となった。仕込後3日で約7mg/gに達する迄の増加は急激でありその後増加はやゝ緩慢となり仕込後30日10mg/gに達した。仕込後30日以後90日に至る間では極めて僅かな増加がみられるに過ぎなかった。

仕込直後の諸味の水溶性区分には0.7~0.8mg/gのアミノ態窒素が存在し以後3日間に増加して仕込後3日の諸味では3.3mg/gと4倍強になった。以後は全窒素と同様に増加はやゝ緩慢となるが仕込後30日迄は尚相当の増加がみられ仕込後30日で5.5~6mg/gに達した。仕込後30日乃至90日では僅かな増加がみられた。

ii) アルギニン

mg/g アルギニンの消長は第V-2図に示した。

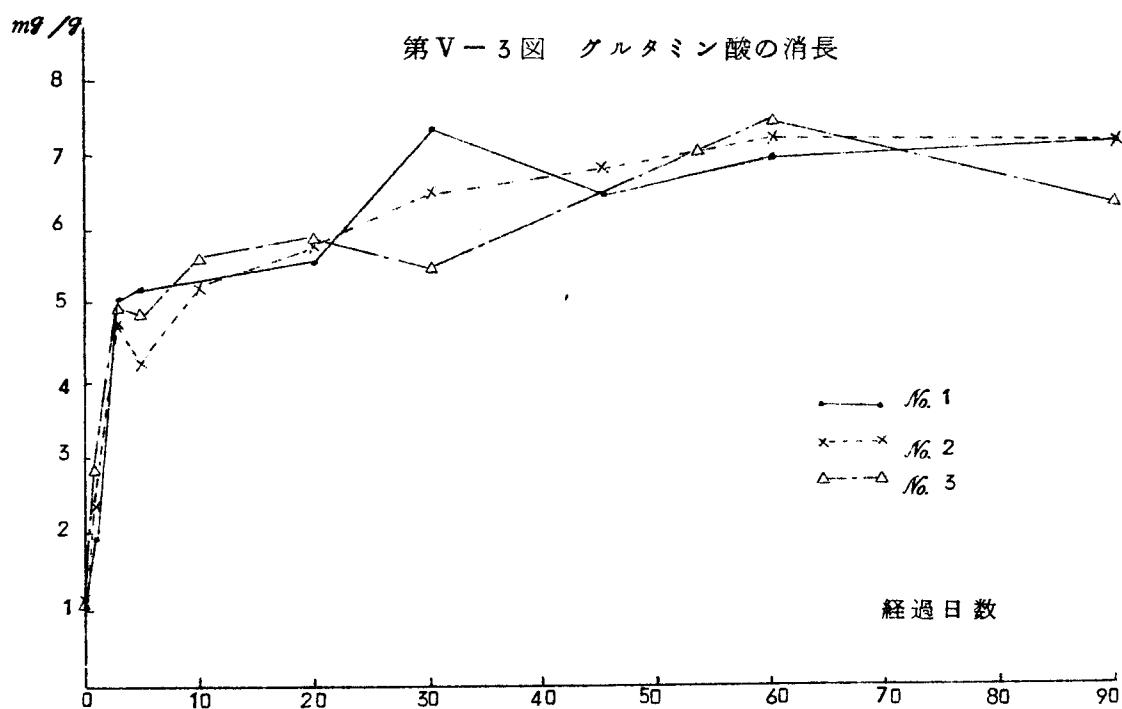


天然醸造諸味に於ける水溶性遊離アルギニンの動向は極めて特異なものであったが加温速醸諸味に於いても亦同様である。即ち諸味熟成期間中に著しい減少がみられる。加温速醸諸味中の水溶性遊離アルギニンは第V-2図に示されるように仕込直後では $0.3\text{mg/g}$ 程度存在する。仕込後1日で約 $1\text{mg/g}$ に増加し、3日後には $1.9\text{mg/g}$ となり、5日後には $2\text{mg/g}$ 以上に達した。その後の増加は仕込桶によって多少異り、No. 1では仕込後30日に最大量 $3.6\text{mg/g}$ を示し、No. 2, No. 3では仕込後20日に最高値を示しそれぞれ $3.9\text{mg/g}$ ,  $4\text{mg/g}$ であった。その後は何れも減少したが特にNo. 1では著しく、最高値を示した30日以後15日間に約 $2\text{mg/g}$ が減少し、仕込後45日諸味では僅かに $1.6\text{mg/g}$ となり、仕込後60日には再び $2.8\text{mg/g}$ を示す迄増加した。No. 3に於いても最高値を示した

仕込後 20 日以後に相当量の減少がみられ仕込後 30 日の諸味では 2.6  $mg/g$  となり以後若干の増加がみられた。No. 2 では最高値を示した 20 日以後にやはり減少がみられたが No. 1, No. 3 に比べては少く、且つ仕込後 60 日に 2.7  $mg/g$  となる迄徐々に減少した。結局仕込後 20 日乃至 60 日の水溶性遊離アルギニンは各諸味によって相当異なる消長を示したが、経過日数 60 日を越えてからは再び 3 種の諸味共減少を示し、仕込後 90 日では何れも 0.4  $mg/g$  の少量となった。

### iii) グルタミン酸

グルタミン酸の消長は第 V-3 図に示した。



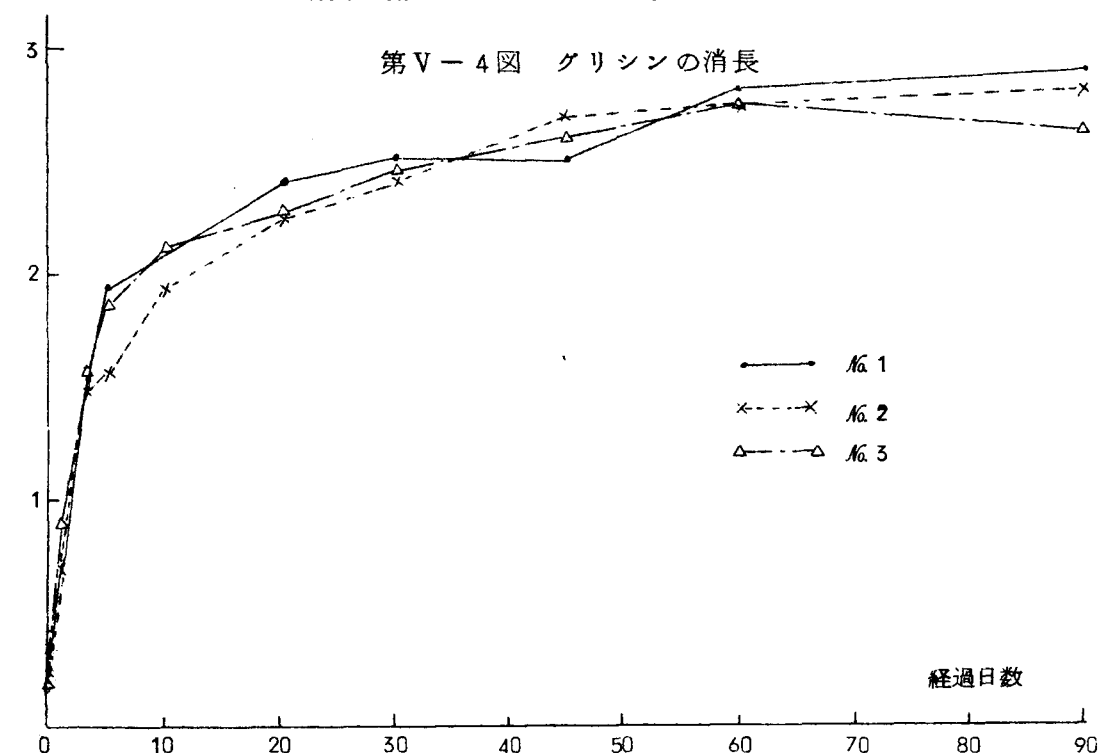
仕込直後の諸味中には遊離グルタミン酸は 1.3  $mg/g$  程度に存在し、3 日後には約 5.3  $mg/g$  に増加した。この間の増加量は仕込直後の量の約 4 倍であって一般に他のアミノ酸にみられる増加比率である。しかし、仕込後 3 日以後は遊離グルタミン酸の増加は極めて緩慢となり、仕込後 60 日を経過して約 7.5  $mg/g$  に達した。経過日数 60 日以後に於いては増



加は殆ど認められなかった。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。他のアミノ酸では仕込後90日経過諸味中に含まれる遊離アミノ酸量が天然醸造12ヶ月諸味に含まれる量とほぼ等しいのに対して、グルタミン酸では少ないのは仕込後3日以後の増加量が少いと云う点にかかっている。

iv) グリシン

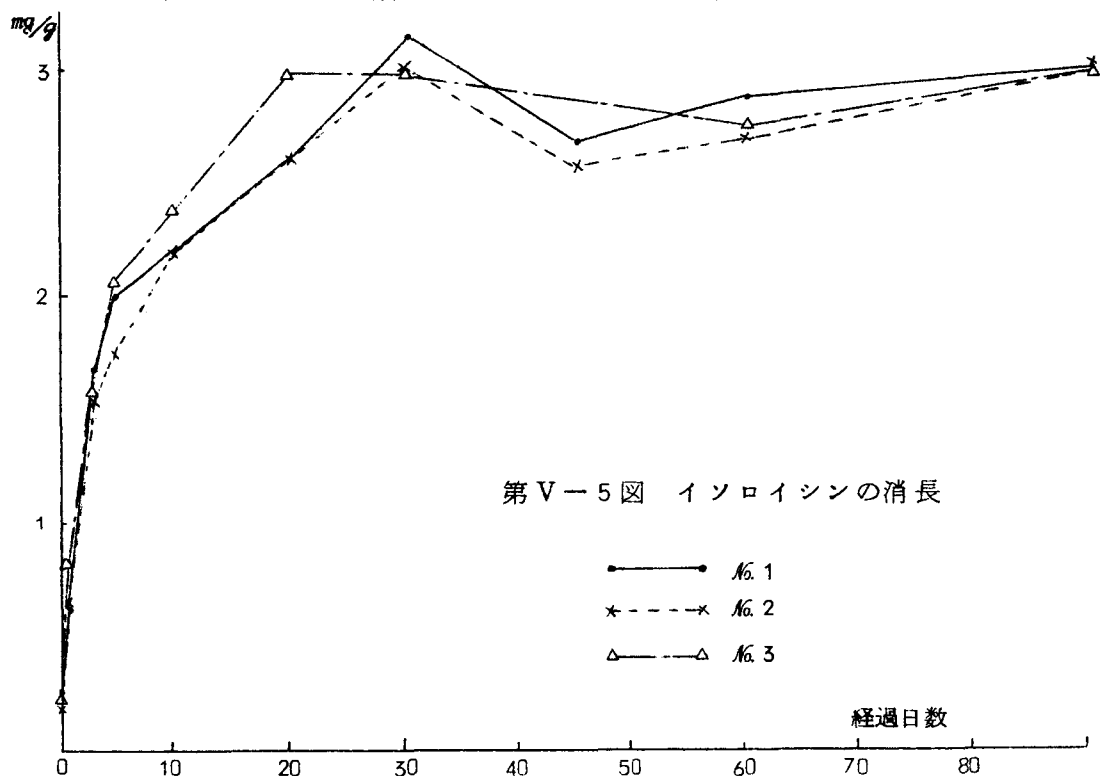
mg/g      グリシンの消長は第V-4図に示した。



仕込直後の諸味には約0.3mg/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1.5mg/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2.5mg/g、60日を経過した諸味では約2.8mg/gであった。その消長はアミノ酸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諸味の12ヶ月経過のものと大差はない。

v) イソロイシン

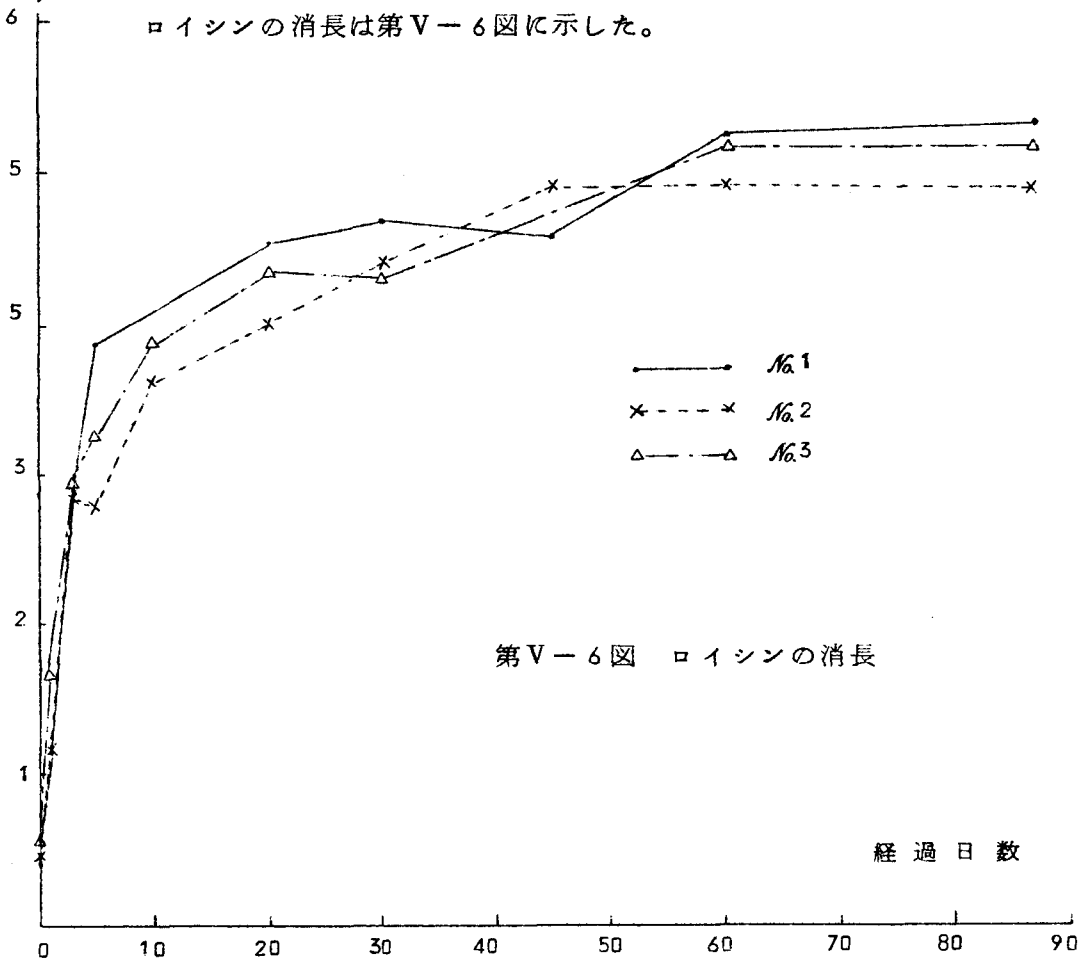
イソロイシンの消長は第V-5図に示した。



仕込直後の諸味には約  $0.2\text{mg/g}$  の水溶性遊離イソロイシンが存在し、経過日数3日で約  $1.6\text{mg/g}$  に増加した。即ち仕込後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  $3\text{mg/g}$  に達したが、以後は全く増加しなかった。加温速醸諸味ではイソロイシンの浸出は仕込後1ヶ月以内になされるようである。天然醸造諸味に於いては仕込後47日で約  $2.2\text{mg/g}$  であり、以後396日を経過する間徐々に増加して  $3\text{mg/g}$  に達したが、この間になされる水溶性区分の浸出が加温速醸では1ヶ月で行われることになる。

vi) ロイシン

ロイシンの消長は第V-6図に示した。



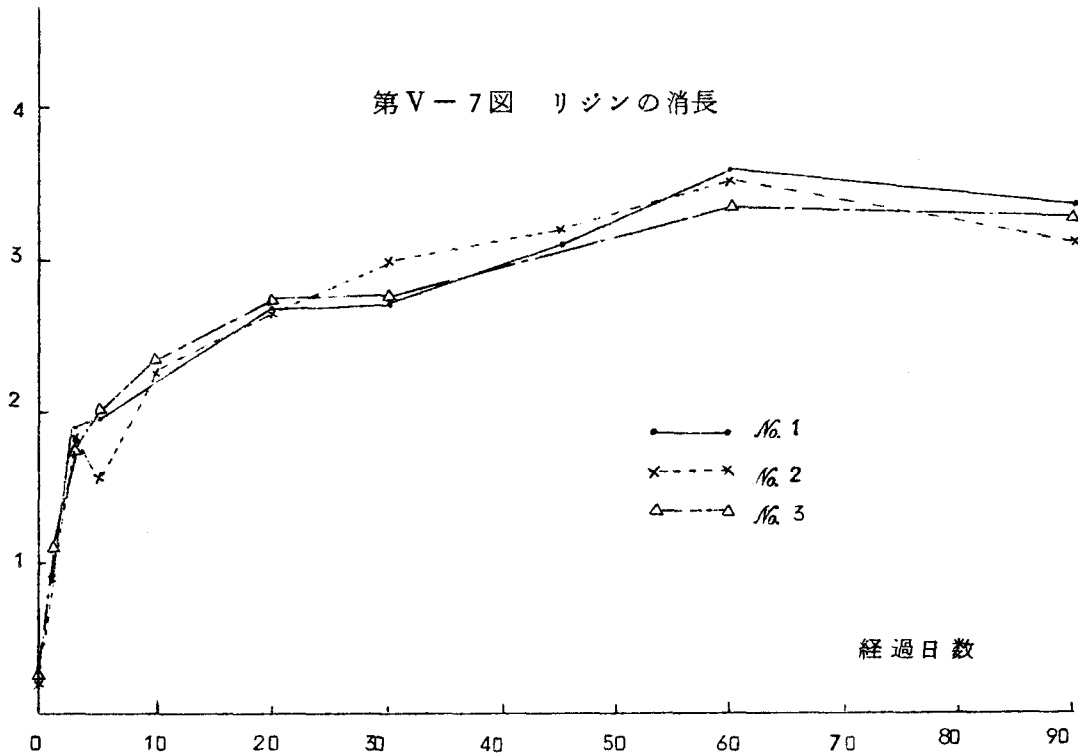
第V-6図 ロイシンの消長

ロイシンは仕込直後の諸味に約  $0.5 \text{ mg/g}$  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  $2.9 \text{ mg/g}$  となる。以後は増加量はそれ以前に比べて低減するが経過日数60日頃迄は増加を示し、仕込後60日の諸味では約  $5 \text{ mg/g}$  に達した。仕込後60日以降は殆ど増加は認められなかった。天然醸造諸味では水溶性遊離ロイシンは経過日数47日では約  $2.8 \text{ mg/g}$  であり、その後増加して経過日数396日で  $5 \text{ mg/g}$  程度に達するものであり、加温速醸諸味の経過数60日以後のものでは熟成された諸味と同程度のロイシンを含むことになる。

vii) リジン

リジンの消長は第V-7図に示した。

mg/g



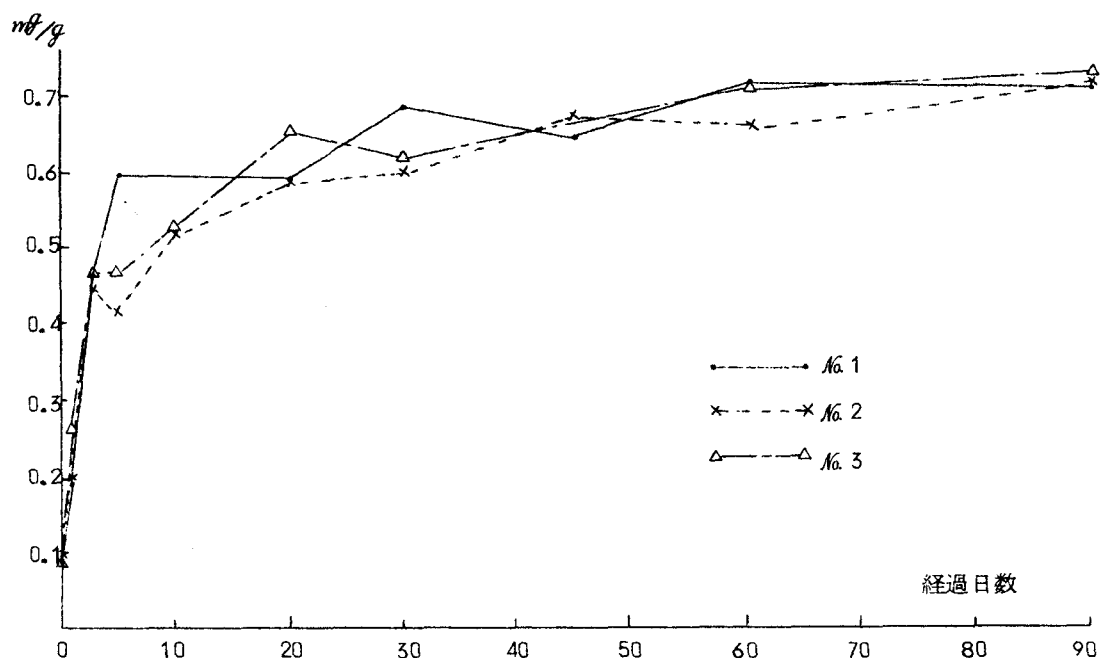
仕込直後の諸味中の水溶性遊離リジンは約  $0.3\text{mg/g}$  であり、3日後には約  $1.7\text{mg/g}$  程度となる。その後増加は次第に緩慢となるが、60日を経過する迄は増加を示し  $3.5\text{mg/g}$  に達した。以後は増加しないのみか、<sup>62)</sup> 反ってやゝ減少する傾向すら認められた。日野氏は加温速醸諸味では水溶性遊離リジンの増加は仕込後20日迄にみられ、それ以後の増加は認められなかったと述べているが、著者の場合は経過日数60日迄は明らかな増加が認められた。日野氏等は10ℓの小醸酵試験を行った結果であり、一般に仕込量の少い場合は熟成は早い為このような結果を生じたものと思われる。

viii) メチオニン

メチオニンの消長は第V-8図に示した。

viii)

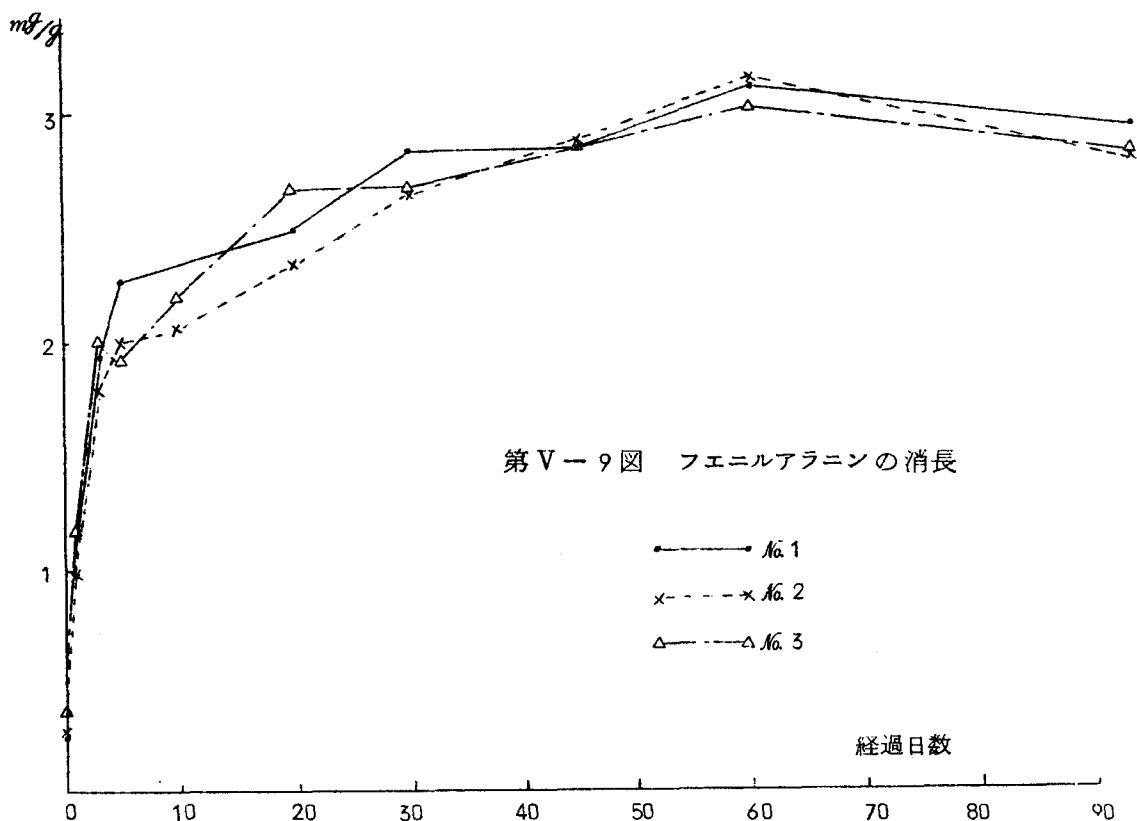
第V-8図 メチオニンの消長



仕込直後の諸味中の水溶性遊離メチオニンは約  $0.08\text{mg/g}$  であり、3日後には約  $0.45\text{mg/g}$  に増加した。以後は徐々に増加して仕込後60日で約  $0.7\text{mg/g}$  に達した。その消長型はアミノ態窒素の消長と類似したものであった。

ix) フェニルアラニン

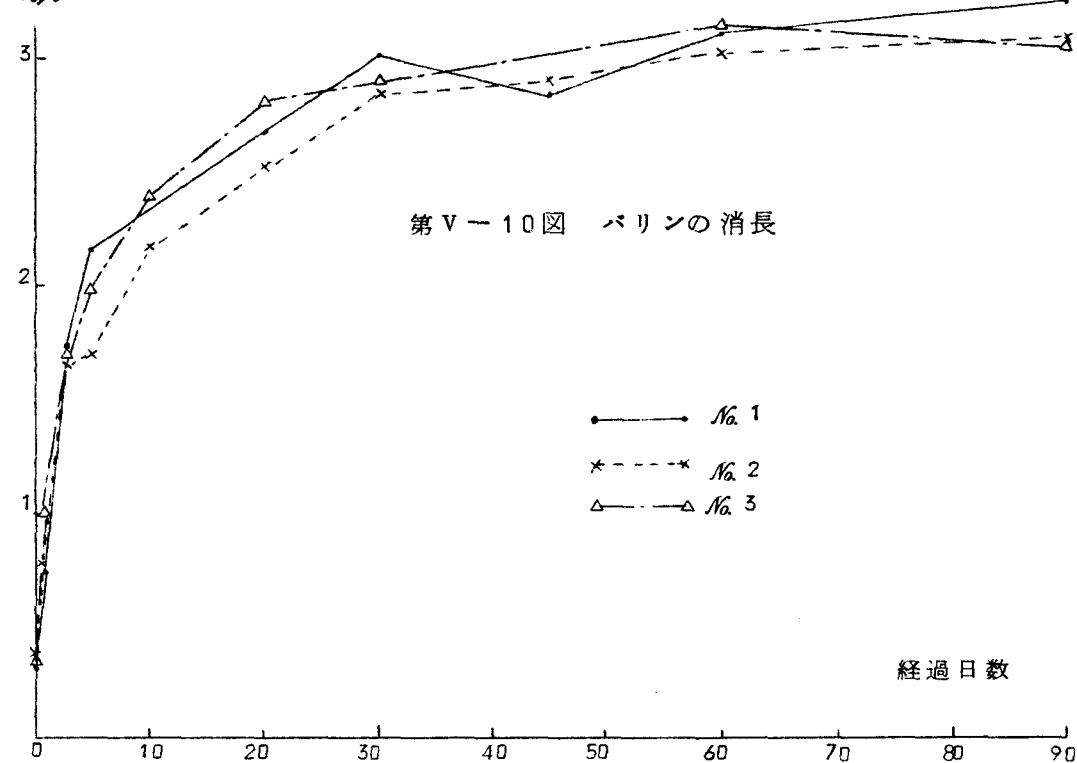
フェニルアラニンの消長は第V-9図に示した。



仕込直後の諸味には遊離フェニルアラニンは約 $0.3\text{mg/g}$ 存在する。以後3日間で $2\text{mg/g}$ に迄増加し、以後は増加量は低減するが仕込後60日を経過する迄は一方的に増加して、60日経過諸味では約 $3\text{mg/g}$ の遊離フェニルアラニンが認められた。経過日数60日以後に於いては若干減少して仕込後90日の諸味では $2.8\text{mg/g}$ 程度であった。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ヶ月経過諸味のそれと大差ない。

z) バ リ ン

mg/g バリンの消長は第V-10図に示した。



諸味中の水溶性遊離バリンは仕込直後で約  $0.35\text{mg/g}$  であり、3日後に約  $1.7\text{mg/g}$  に増加した。その後は増加量は次第に低減するが30日を経過する迄は尙相当の増加を示し、30日経過諸味では  $3\text{mg/g}$  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  $3.1\text{mg/g}$  以上を示した。この数値は天然醸造諸味では経過日数300日以後のものと等しい。加温速醸諸味に於けるバリンの消長はアミノ態窒素の消長に類似した型式を示す。

### 3. 考 察

加温速醸諸味に於ける水溶性区分の全窒素，アミノ態窒素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) 仕込直後から3日間      この間は水溶性区分の全窒素並びに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，アミノ態窒素は尙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極めて僅少となる。

この3期は全窒素についても又アミノ態窒素についても明確に区分され得るものであり、且つ両者は共に同じ時期に同一の傾向を示すが、たゞ各時期に於ける増加比率は異り、仕込直後の諸味の水溶性区分に存在する量を1とすれば全窒素では3日後に約3.5倍となり30日後に約5倍となるが、アミノ態窒素は仕込後3日では約4倍、仕込後30日では約8倍となって特に第2期の増加比率は全窒素に比べて大きい。従って、全窒素に対するアミノ態窒素の比率は次第に増加することになる。3種の諸味に於ける、アミノ態窒素の全窒素に対する比率を示すと第V-2表の通りである。

第V-2表 全窒素に対するアミノ態窒素の比率%

経過日数 試料	0	1	3	5	10	20	30	45	60	90
No. 1	46.6	37.8	45.4	46.5	—	56.1	55.3	61.4	62.9	61.4
No. 2	36.4	40.5	47.6	54.0	52.0	53.1	56.1	61.2	65.6	64.3
No. 3	40.0	39.2	46.7	47.4	59.4	55.0	63.3	—	57.7	63.9

この結果を先の3期と対比させれば、第1期ではアミノ態窒素の全窒素に対する比率は40～45%であり、第2期では45～55%に増加し、第3期では更に増加して仕込後45日を経過して60%以上を示すことになる。即ち第1



期では比較的大きな分子で水溶性区分に浸出するものも多量であるが第2期ではそれが緩慢となりそれに伴ってアミノ態窒素の増加も緩慢となるが水溶性ペプチドは更に分解されており、第3期に至って大きな分子での浸出は殆どみられないが水溶性ペプチドは逐次アミノ酸に分解されていると考えられる。

個々のアミノ酸の消長も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ほぼ同様である。即ち一般に仕込後3日間に水溶性区分の遊離態が急激に増加し、その後1ヶ月は尙相当の増加がみられるがそれ以前に比べては緩慢であり、経過日数30日以後では僅かな増加がみられるか若しくは殆ど増加しない。その結果、仕込後90日を経過した諸味では天然醸造の12ヶ月経過諸味とほぼ同程度の各種アミノ酸が水溶性遊離態として存在する。しかし、アルギニン、グルタミン酸は例外である。アルギニンは第1期の増加は他のアミノ酸と同様にみられ、その後も経過日数20日迄は他のアミノ酸と同様に増加を示す。しかし、経過日数20日以後に於いては相当量の減少がみられる。その減少の時期或は量は3種の諸味では異なるものであった。しかも、一度減少してから再び増加するなど、他のアミノ酸に比べて特異な消長を示した。経過日数60日以後では3種諸味とも減少を示し、仕込後90日経過諸味では水溶性遊離アルギニンは殆ど消失して、仕込直後に存在した量と同程度となった。諸味熟成中に水溶性遊離アルギニンが減少すると云うことは天然醸造に於いても認められた事実であり、しかも、各諸味によって不規則にみられることから、おそらく諸味中に存在する微生物が関与して起る現象であると考えられる。即ち、諸味中にはアルギニンを特異的に要求する微生物が存在し、その分布が各諸味によって若干異なるものと考えられる。

加温速醸諸味中の遊離グルタミン酸の消長は第2期以後の増加が少い点で他のアミノ酸の消長型式と異なるものである。仕込後3日間に遊離グルタミ

ン酸は仕込直後の約4倍量に増加し、この点は他の消長と異なるものではないが、それ以後の増加量が少い。従って、仕込後90日を経過した諸味中の他の遊離アミノ酸は天然醸造諸味12ヶ月経過のものと大差ないのに反して、グルタミン酸では相当少い結果となった。後安氏<sup>60)</sup>は加温速醸による醤油中の遊離グルタミン酸を測定して天然醸造のそれより少いことを報じており、著者の実験結果と一致するものである。その原因については、諸味中に遊離グルタミン酸が増加する面からと、遊離されたグルタミン酸が変化消失する面の2面から考察されねばならない。諸味中の遊離グルタミン酸の増加については、蛋白質分解酵素による原料蛋白質からの遊離及び諸味中の微生物による糖又は他物質からのグルタミン酸の生成が挙げられるが、前者がその殆ど総てを占めている。現在、醤油諸味中で微生物によってグルタミン酸が生成されると云う事実は認められていない。一方、減少に関しては、遊離グルタミン酸の化学変化及び微生物による資化が挙げられる。化学変化については現在ピロ化が知られていることは既に述べた。しかし、加温速醸諸味での遊離グルタミン酸が少い第1の理由としてピロ化が激しいと云う考え方は当を得ないと思われる。何故ならば、天然醸造諸味に於いても本実験に於ける程度の品温は一応経過するものであり、且つ長期に亘るからである。茂木氏等<sup>63)</sup>は液体麴法による醤油の製造を検討して、酵素液を43℃で作用させた場合もピロ化が特に大きな問題とならなかったことを述べている。

醤油中のアミノ酸の中、グルタミン酸及びアスパラギン酸は醤油を加水分解することによって多量増加することは角田氏等<sup>26)</sup>によって指摘された。その後、堀氏等<sup>5)</sup>は醤油中のグルタミン酸はペプチドとして存在するものは少く、ピログルタミン酸として多量存在することを報告したが、一方、田村氏等<sup>64)</sup>が清酒のアミノ酸組成を調べた結果でも、グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸は結合型が多いことを認め、更に高橋氏等<sup>65)</sup>は清酒のペプチドを分離して結合アミノ酸を検討した結果、グルタミン酸、アスパラギン酸は分離さ

れた総てのペプチドの構成分子であったことを報告している。又、茂木氏等<sup>63)</sup>は麴の酵素液を無菌的に醤油原料に作用させた結果、全窒素の溶出の大きい pH と遊離グルタミン酸の生成の著しい pH は異なるものであることを報告している。これらの結果から、麴菌の持つ蛋白質分解酵素中、グルタミン酸、アスパラギン酸を構成分子に持つペプチドに作用力をもつ酵素が特異なものであると考えられる。これらアミノ酸はジカルボン酸であり、これらアミノ酸を構成分子とするペプチドには両末端にカルボキシル基を持つものが考えられるが、このようなペプチドに作用する酵素が、麴菌の持つ他の蛋白質分解酵素とは極めて異った動行を示すのではないかと考えられる。

## 第2節 原料利用率

加温速醸に於ける全窒素利用率は既に述べたように75%に達し、最適仕込時期に仕込まれた天然醸造諸味の12ヶ月経過のものに比べれば若干低いものであるが他の時期に仕込まれたものに比べて劣るものでない。

こゝでは、各アミノ酸の遊離態が諸味中に含まれた各アミノ酸の全量に対して如何程の比率になるかを述べるものである。

### 1. 実験方法

諸味中に含まれる各種アミノ酸の全量を知るために、仕込後1日の諸味の酸分解物を調整した。試料調整法は第3章第3節に述べた通りである。

各種アミノ酸の定量は総てバイオアッセイによった。

### 2. 結果及び考察

仕込後1日経過諸味1g中に含まれる各種アミノ酸の全量を示すと第V-3表の通りである。第V-3表では3種諸味についての測定値の平均値を示してある。

第V-3表 諸味中の各種アミノ酸の全量 (mg/g)

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	フェニルアラニン	バリン
5.02	18.5	3.98	4.90	7.55	4.80	4.30	4.82

各時期に於ける各種遊離アミノ酸量がそれぞれのアミノ酸の全量に対して何%になるかを示したのが第V-11図である。第V-11図では3種諸味について、各遊離アミノ酸の仕込後1日経過諸味中に含まれる各全アミノ酸に対する比率をそれぞれ求め、その平均値を示してある。従って、ここに示した%はその時期の諸味に於ける遊離アミノ酸の分布を示すものではなく、原料利用率的な意味を持つものである。又既に述べたようにアルギニンの消長は各諸味によって相当異ったものであったから、ここに示した平均値は意味の薄いものであるが、仕込後20日迄の消長は3種諸味共比較的類似したものであったので他のアミノ酸と同様に示した。

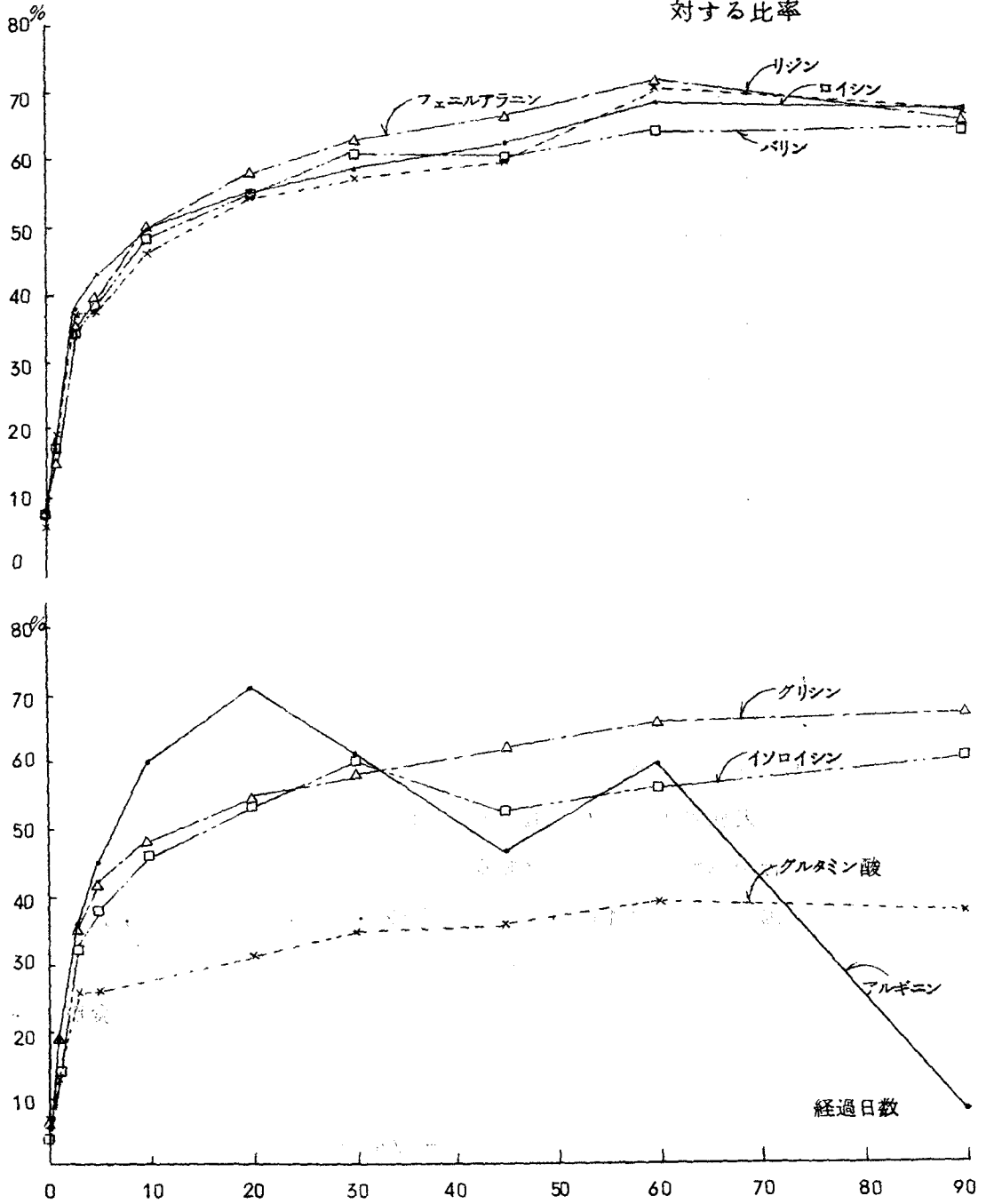
第V-11図に明らかなように、アルギニン、グルタミン酸を除いてはほぼ同一の結果を得た。即ち、仕込直後の諸味に存在する各種遊離アミノ酸は、それぞれのアミノ酸の全量の5~7%程度に相当し、以後3日間で、各種アミノ酸はそれぞれ全量の35%に相当する量まで遊離される。先に述べた遊離アミノ酸の増加の著しい第1期で全アミノ酸の35%が遊離されることになる。然る後、経過日数10日で、諸味中の各種アミノ酸は、それぞれの全量の約50%が遊離され、仕込後30日で約60%に相当する量が遊離態として存在するようになる。即ち、先に述べた第2期の終りには原料中の各種アミノ酸はそれぞれ約60%に相当する量が遊離されることになる。以後は僅かな増加があるか若しくは殆ど増加がなく、仕込後90日経過諸味では遊離アミノ酸の全アミノ酸に対する比率は65%程度を示した。この値は天然醸造395日経過のものと殆ど同一である。結局加温速醸では多くのアミノ酸は原料中に存在した全量の殆どに相当する量が第1期に遊離態となって水溶性区分に現われ、更に殆どに相当する量

が第2期に遊離態となるが第3期の遊離態の増加量は少く、 $\frac{1}{2}$ は他の形として残ると考えてよからう。アルギニン第1期の終りに全アルギニンの約35%が遊離態として存在しこの点は他のアミノ酸と同様である。その後暫くは他のアミノ酸より寧ろ高い比率で遊離態が増加するが、経過日数20日以後に極端な減少がみられるから、仕込後90日経過諸味中の遊離アルギニンは仕込直後の諸味に存在した全アルギニンの僅かに8%程度に過ぎず、これは仕込直後の諸味の比率と変らない。従って、アルギニンは原料利用率の極めて悪いアミノ酸であるが同様の現象は天然醸造に於いてもみられるものであり、加温速醸に基因すると云うよりも醤油醸造上の一般的問題としてとりあげられるべきであらう。

加温速醸諸味に於ける遊離グルタミン酸の全グルタミン酸に対する比率も亦低いものである。しかし、この場合も仕込直後3日間、即ち第1期では他のアミノ酸の遊離比率に若干劣る程度で、3日経過諸味中の遊離グルタミン酸量は諸味中の全グルタミン酸の27%に相当する。たゞ、それ以後の増加量が少いから、90日経過諸味の遊離グルタミン酸量は仕込直後の諸味に存在した全グルタミン酸の40%程度に過ぎない。天然醸造に於いても、遊離グルタミン酸の全グルタミン酸に対する比率は、他のアミノ酸のそれに比べて低いものであったが、加温速醸では更に低い比率を示した。

以上述べたように、加温速醸諸味に於ける遊離アミノ酸の全アミノ酸に対する比率は、アルギニン、グルタミン酸を除いては、天然醸造に於けるそれと殆ど大差なく原料利用率は天然醸造に殆ど近いものである。たゞ問題は醤油中のアミノ酸として最も重要と考えられる遊離グルタミン酸が少いと云う点である。此の場合著者の測定は遊離態のみについて行ったから原料利用率が悪いと云うことには直結しないが、少くとも遊離グルタミン酸が少いと云う問題は醤油に関する限り大きな意味を持つものであり、アミノ酸の消長から加温速醸をみた場合、遊離グルタミン酸の増加を計る点に問題をしぼることができよう。

第V-11図 遊離アミノ酸の全アミノ酸に  
対する比率



尚、以上述べた%は諸味中の全アミノ酸として仕込直後の諸味1gをとり、遊離アミノ酸量は各時期の諸味1g当りの含量を求めたから、経過日数の多いものでは水分蒸発に伴う諸味全量の減少があり、真の原料利用率としてはこれより若干低い値となる。

### 第3節 一型式の加温速醸に於けるグルタミン酸の消長

第1節に述べた醤油の加温速醸では、グルタミン酸以外の主要アミノ酸の浸出は天然醸造に比べて劣るものではなかった。しかし、加温速醸を行った場合は諸味中の水溶性遊離グルタミン酸量は天然醸造に比べて明らかに少く、この点に問題があった。しかし、加温速醸型式に検討を加えることによって、或は異った結果が得られるかも知れない。池宮氏<sup>58)</sup>は微生物の淘汰、プロテアーゼの作用を最適ならしめるため、酸酵の一時期に40℃の高温に保持する方法を提唱している。

かゝる意味で、第1節の加温速醸とは異った型式の加温速醸に於けるグルタミン酸の消長を調べた。本実験を行った加温速醸は、仕込後60日迄は25°~30℃に保ち、それ以後に徐々に品温を上げて、仕込後70~80日に40℃に達せしめ、再び温度を下げて仕込後90日以後は30℃以下とする型式である。

#### 1. 実験方法

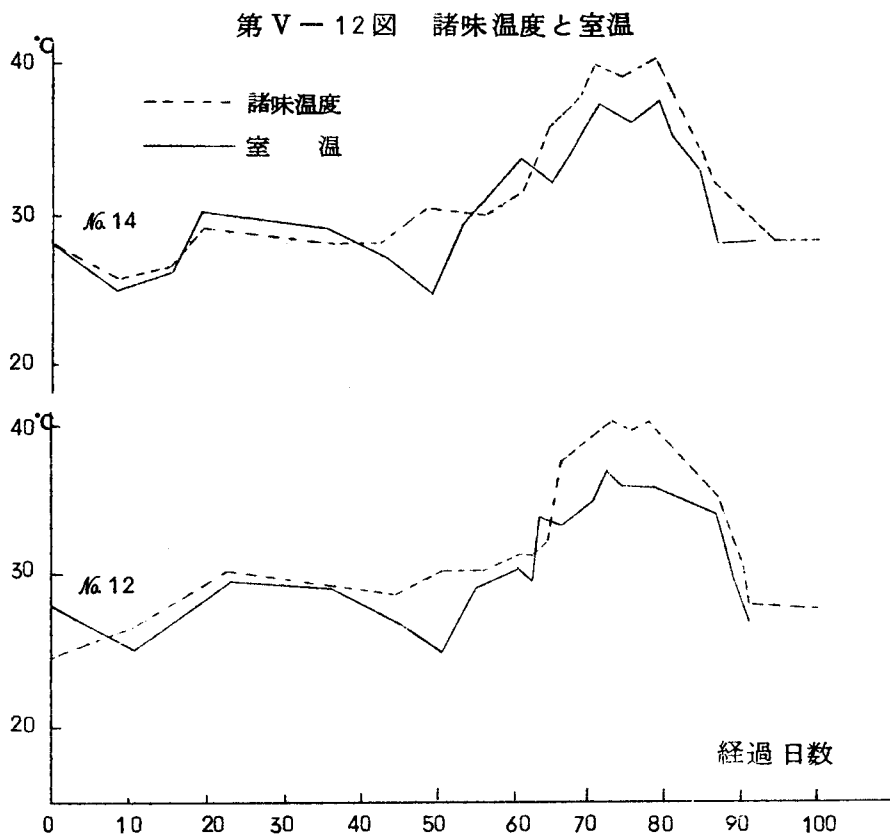
##### 1) 試料

実験はNo.12及びNo.14の2種の諸味について行った。各々の仕込配合を示すと次の通りである。

No.12 大豆 1485.0 Kg, 小麦 798.0 Kg, 醬麦 660 Kg, 食塩 22.04%,  
汲水 5481.2 l

No.14 大豆 1485.0 Kg, 小麦 798.0 Kg, 醬麦 660 Kg, 食塩 22.16%,  
汲水 5479.6 l

№ 12 は 5 月 13 日 , № 14 は 5 月 15 日に仕込何れも加温された室内で熟成したが,その室温及び諸味品温の経過を示すと第 V - 12 図の通りである。



第 V - 12 図に明らかなように,両者共仕込後 60 日迄は 30 °C 以下に保たれ,以後温度は上昇し 70 ~ 80 日に 40 °C に達し,以後は再び低下して仕込後 90 日以後は 30 °C 以下をたどる経過を示し,殆ど同一温度経過を示した。

試料の採取は 15 日毎に行った。各桶の 11ヶ所より採取した諸味をよく攪拌した後濾過しその濾液を試料とした。以下の分析値は何れも濾液一定量当りについて求めたものである。又グルタミン酸の定量の場合



は塩液の 1/250 稀釈液を試験管に封入し蒸気殺菌を施してから使用した。

## ii) 分析方法

一般分析は総て常法によった。

グルタミン酸の定量はバイオアッセイによった。

## 2. 結果及び考察

### i) 一般分析結果

№ 12 , 及び № 14 の諸味に於ける一般成分の消長は,それぞれ第 V-4 表, 第 V-5 表に示した。

第 V-4 表 12 号諸味に於ける一般組成の変化

経過 日数	Be'	食塩 %	全窒素%	アミノ態 窒素 %	アンモニア 態窒素%	全糖 %	還元糖%	アルコール%	PH
15	23.00	18.02	1.162	0.680	0.183	6.91	5.91	0.060	5.19
30	23.25	17.80	1.313	0.808	0.210	6.55	5.92	0.102	4.85
45	23.45	17.84	1.353	0.797	0.237	6.37	5.70	0.123	4.81
60	23.30	18.11	1.366	0.850	0.235	6.08	5.48	0.140	4.78
75	24.10	18.52	1.456	0.877	0.266	6.07	5.65	0.135	4.70
90	23.75	18.16	1.464	0.902	0.256	5.61	5.27	0.277	4.69
105	23.85	18.46	1.476	0.921	0.247	5.11	5.07	0.220	4.66
120	23.90	18.48	1.481	0.927	0.220	4.80	4.03	0.261	4.60

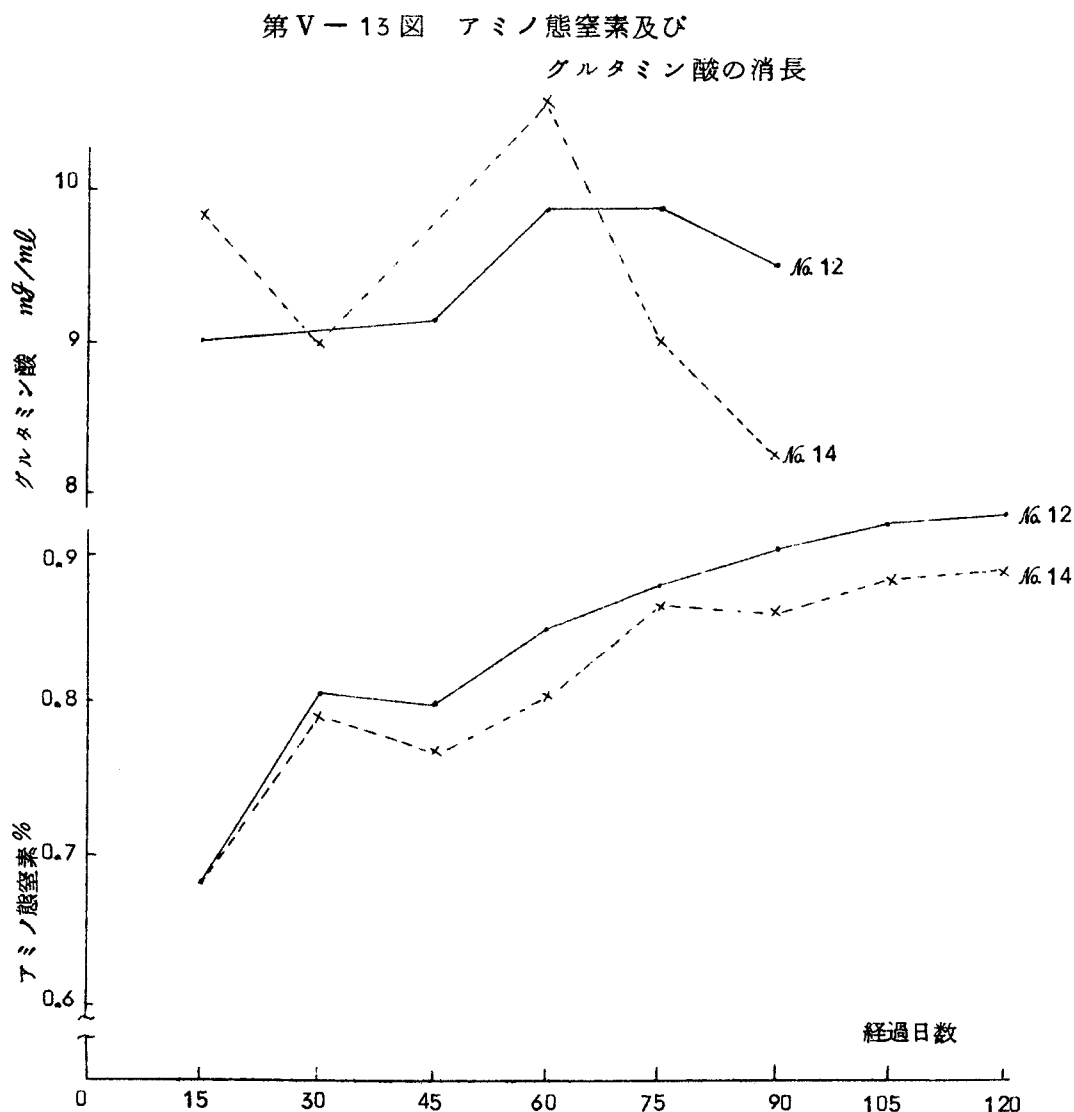
第 V-5 表 14 号諸味に於ける一般組成の変化

経過 日数	Be'	食塩 %	全窒素%	アミノ態 窒素 %	アンモニア 態窒素%	全糖 %	還元糖%	アルコール%	PH
15	23.05	17.90	1.141	0.684	0.167	6.87	5.97	0.060	5.18
30	23.10	17.62	1.294	0.790	0.210	6.45	5.44	0.138	4.80
45	23.15	17.57	1.353	0.768	0.208	6.40	5.44	0.124	4.82
60	23.10	17.75	1.349	0.803	0.247	6.07	5.35	0.177	4.72
75	23.40	18.16	1.408	0.863	0.239	5.72	5.12	0.200	4.68
90	23.20	17.81	1.400	0.860	0.240	4.12	3.60	0.211	4.66
105	23.30	17.93	1.412	0.882	0.213	3.24	2.99	0.260	4.66
120	23.35	18.01	1.428	0.890	0.180	3.11	3.09	0.300	4.64

第V-4表, 第V-5表に示されるように両者の一般組成の変化は殆ど同一であった。又仕込後120日に得られた醗液はアルコールが少い点を除いては略々一般醤油の組成と一致した組成を示した。

ii) グルタミン酸の消長

グルタミン酸の消長は第V-13図に示した。



第V-13図には比較のためアミノ態窒素の消長を併記した。両諸味に於ける遊離グルタミン酸の消長は若干異り、No.12では仕込後15日で $9\text{ mg/cc}$ であり、その後1ヶ月は大して変わらず、経過日数45日以後60日に至る間に約 $1\text{ mg/cc}$ の増加があつて $10\text{ mg/cc}$ 程度になり、その後は増加しないのみか仕込後75日以後に僅かな減少がみられた。一方No.14に於いては、仕込後15日の諸味醗液中の遊離グルタミン酸は $9.8\text{ mg/cc}$ であり、その後減少してから再び増加し、仕込後60日に $10.5\text{ mg/cc}$ に達した。しかし経過日数60日以後に於いては相当急激な減少がみられ、90日経過諸味では $8.3\text{ mg/cc}$ に過ぎなかった。アミノ態窒素の消長も両諸味では若干異なるものであつたが、その傾向は殆ど同一であり、たゞNo.14の方が少いに過ぎなかった。この場合、両諸味について共通した点は、アミノ態窒素の増加と遊離グルタミン酸の増加は必ずしも対応しないと云うことである。即ちアミノ態窒素の増加の大きい時期に遊離グルタミン酸は必ずしも増加せず、又仕込後15日以後90日に至る間にアミノ態窒素は逐次増加して約30%の増加をみるのに反して、グルタミン酸はNo.12で約5%の増加であり、No.14では逆に減少した。更に、両諸味に共通してみられる点は、仕込後60日以後に遊離グルタミン酸は増加せず逆に減少することが認められた点である。本実験では両諸味共品温は経過日数60日迄は $30^{\circ}\text{C}$ 乃至それ以下に保たれ、60日以後に $40^{\circ}\text{C}$ の高温に上げられた。この諸味品温を上昇せしめた時期にアミノ態窒素の増加はみられたが遊離グルタミン酸は増加しないのみが反って減少した。即ち、諸味品温の上昇は、遊離グルタミン酸の増加をはかる上に悪影響をもたらす。この結果は第1節に述べた事実と一致するものである。

尚、第V-13図のグルタミン酸量は $\text{mg/cc}$ で示したため、第V-3図に比べて絶対値が高く表われるものである。第1節の実験では経過日数90日の諸味醗液の全窒素は約1.4%であり、この諸味1g当り水溶性区分の

全窒素は約 10mg 強であった。本実験に於ける諸味醗液の全窒素は、90 日経過のもので、No. 12 は 1.46%、No. 14 は 1.40% であるから先の実験に於ける場合と大差なく、諸味 1g 当りの水溶性区分の全窒素は 10~11mg 程度となろう。従って、第 V-13 図のグルタミン酸量を諸味 1g 当りの mg で示した場合は醗液 1cc 当りの含量の 70~80% に相当することになり、先の実験結果と一致する。

以上要するに、加温速醗諸味では遊離グルタミン酸は天然醸造に比べて少いことを再確認し、且つ諸味品温を高める場合は更に低減するものであることを認めた。

#### 第 4 節 小醗酵試験に於けるグルタミン酸の消長に

##### 及ぼす温度の影響と諸味添加の効果

醤油の加温速醗に於ける問題点は、アミノ酸の面からみた場合遊離グルタミン酸の増加をはかると云うことにしほり得る。既に述べたように加温速醗の異った 2 つの型式で遊離グルタミン酸を測定した結果では何れも天然醸造に比べて少いものであり、諸味温度の上昇は遊離グルタミン酸の低下をもたらすようであった。この点をより明確にするために、同一仕込で温度経過を変えた場合の遊離グルタミン酸の消長を、70% 程度の小醗酵試験により検討した。

一方、醸造工業に於いては通常種菌が添加されるが、現在醤油醸造に於いては添加されないのが一般である。これは、醤油では諸味中の微生物が多種類に亘ること<sup>67)</sup>に起因するものと考えられる。しかし、一部酵母<sup>67)</sup>及び乳酸菌の添加が試みられ、又醗酵初期の諸味を添加する方法も提唱<sup>68)</sup>されている。天然醸造諸味を一部添加することによって加温速醗を改良し得るかも知れない。かゝる見地から加温速醗の初期に天然醸造諸味を添加してその効果を併せ検討した。

## 1. 実験方法

### i) 試料

仕込は5月17日に行った。仕込配合は脱脂大豆 120Kg, 小麦 120Kg 撒水 120 ~ 125Kg, 13 ポンド 40 分間加熱後 30 分間真空冷却(650 mmHg) した。諸味熟成には 40 cm × 40 cm × 60 cm の珽瑯バットを使用した。麴に塩水を加え 5 日間室温に静置した後攪拌し、72ℓ宛を珽瑯バットに入れて恒温室にて所定温度に調節した。温度の管理は室温で行い、常温に放置するもの (A), 28℃ に保持するもの (B), 初期の 30 日間を 34℃ に保つた後 28℃ に保つもの (C) の 3 条件を選んだ。

同時に、これら条件で天然醸造諸味を添加した場合の効果を検討するために、各条件に天然醸造諸味を一部添加したもの (A') (B') (C') の熟成を行った。諸味添加は異った時期に 2 回行った。先づ仕込後 5 日、温度調節を行い始めた時に 1 ケ月経過諸味を 1 割添加し、更に仕込後 50 日に 7 ケ月経過<sup>45)</sup>諸味を添加した。上田氏等の研究によれば天然醸造諸味に於ける各種有機酸の消長には一定の順序があり、従って各時期に於ける諸味中の微生物の分布並びに動行は若干異ると考えられるからである。尚、添加した 7 ケ月経過諸味の原料配合は脱脂大豆 130Kg, 小麦 70Kg, 蕎麦 40Kg であった。

試料の調整は次の如く行った。各諸味を充分攪拌した後一定量を採取して、その 200.0g を秤量し、第 3 章第 1 節に述べた方法で水にて抽出し 500 ml と成して試料とした。定量は総て諸味一定量中の水溶性区分に存在する量として行われた。試料採取は熟成初期に於いては 15 日毎に、後期に於いては 20 乃至 25 日毎に行った。

### ii) 分析方法

一般分析は常法によった。全窒素はキュルダール法, アミノ態窒素はヴァンスライク法によった。直接還元糖はベルトラント法によりグルコー

スとして求めた。アルコールは過マンガン酸カリ酸化法，食塩は硝酸銀の滴定により定量した。全酸はエーテル抽出 (pH2.0) 後,アルカリにて滴定し乳酸として表わした。

グルタミン酸の定量はバイオアッセイによった。

## 2. 結果及び考察

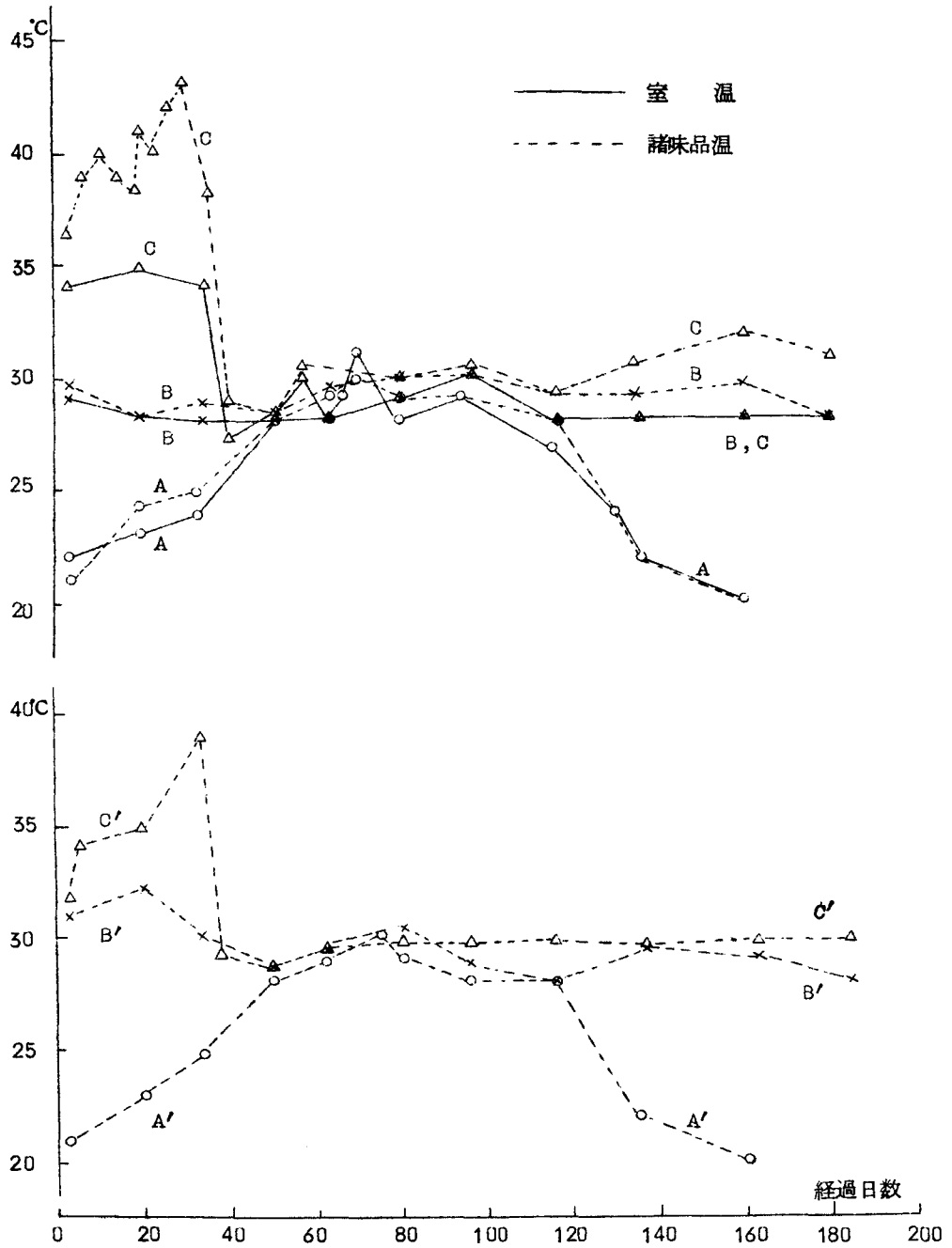
外温を常温(A)，28℃(B)，34℃→28℃(C)に保った場合の諸味品温の変化，及びそれぞれの条件で天然醸造諸味を一部添加して熟成したもの (A') (B') (C') の品温の変化は第V-14図に示した。

常温及び28℃に保った場合は外温と諸味品温の差は余りなく約1℃程度であった。諸味を添加したものでも同様であった。しかし外温を34℃に保った場合は諸味品温はそれよりも相当高温を示した。この場合諸味添加のものでは徐々に上昇して30日経過後に39℃を示したが無添加の場合は急激で1週間後に39℃に達し、15日後には最高43℃を示した。尚、仕込時期が5月17日であったため、比較的気温が高く、60日経過後110日に於いては常温に放置したものと28℃に保ったものとは殆ど同じ温度経過を示した。

諸味の醱酵状態は常温に放置したもの(A)と28℃に保ったもの(B)には顕著な差異は認められなかった。諸味を添加したものも特に異なる所はなかった。しかし、34℃→28℃型の場合は他とは相当異なり(C)では温度調節を行ってから15日間は急激なガス発生が伴い1ヶ月後には上澄を生じた。諸味添加を行ったもの (C') でもガス発生が認められたが無添加のものに比べてはその程度は低く上澄も生じなかった。34℃に保ったものはこの温度で30日を経過してからは28℃に下げたが仕込後50日を経過してから再醱酵し160日を経過する迄は他の諸味と差異はなかった。しかし、185日後には諸味を添加しなかったものは再び上澄を生じた。諸味品温を高温にした場合は諸味添加は若干の保護効果があるようである。

実験を行った6種諸味の一般成分の変化は第V-6表~第V-11表に示した。これらの表では諸味100g当りで示してある。諸味品温を高めた場合は初期の全窒素増加量が多量となる。しかし、熟成期間の延長に伴いその傾向は消滅した。諸味添加の影響は全窒素の消長には特に顕著には現われなかった。アミノ態窒素の消長も全窒素の消長に類似したものであり、諸味品温の高いものでは初期の増加量が大きい。諸味添加の影響はさして認められなかった。又、糖の消長も諸味添加、無添加には余り関係がなく、温度の影響の方が大きかった。常温及び28℃に保った場合は顕著な差異は認められず20日後までは糖は増加して約6%となり、50日後に5%程度に減少し以後は急激に減少した。しかし、減少の程度は常温の方が著しいものであった。一方、34°→28℃型では急激な糖の減少は仕込後65日以後からであって15日間のずれが認められた。アルコールの消長にも諸味添加は特に大きな影響を与えるものではなかった。諸味添加のものと無添加のものとの間に殆ど差異は認められない。温度変化による影響は、常温静置のものと28℃に保ったものの間には特に認められなかったが、34°→28℃型に現われた。即ち、前2者では仕込後35日迄は0.1%以下であり以後相当急激な増加がみられるのに反し、34°→28℃ではこの増加は仕込後50日以後に現われ、34℃の高温に保たれた間はアルコールの蓄積は殆どなかった。諸味添加効果が最も著しいのは有機酸の消長に於いてである。初期の諸味添加直後に於ける有機酸量の増加は無添加のものに比べて極めて多かった。たゞ、此の場合も温度の影響は大きく、高温になる程有機酸生成量は少い。

第 V - 14 図 室温，品温の変化





第V-6表 室温静置(A)の一般分析結果(%)

経過日数	直 糖	全窒素	アミノ態窒素	全有機酸量	アルコール	全固形分	食 塩	灰 分	純エキス	備 考
5	4.43	0.551	0.338	0.219	—	20.75	13.52	13.68	7.07	
20	5.77	0.813	0.455	0.345	0.067	25.00	13.42	14.11	10.89	
35	5.32	0.862	0.609	0.820	0.096	26.50	13.66	14.13	12.37	
50	4.81	0.936	0.621	1.298	0.344	26.50	13.52	14.66	11.84	
65	1.89	0.981	0.633	1.396	1.086	25.60	14.03	14.66	10.94	68.8 ℓ
80	1.33	1.014	0.639	1.205	1.080	25.50	13.90	14.44	11.07	
95	1.32	0.982	0.624	1.121	1.177	25.40	13.91	14.33	11.07	68.0 ℓ
115	1.43	0.993	0.633	1.278	1.516	25.75	13.83	14.46	11.29	67.2 ℓ
135	0.78	1.023	0.640	1.121	1.349	25.50	14.08	14.68	10.82	63.2 ℓ
160	—	0.997	0.628	1.008	1.174	25.20	13.95	14.26	10.94	
185	0.71	1.014	0.639	1.117	1.176	25.65	14.06	—	—	

第V-7表 28℃静置(B)の一般分析結果(%)

経過日数	直 糖	全窒素	アミノ態窒素	全有機酸量	アルコール	全固形分	食 塩	灰 分	純エキス	備 考
5	4.43	0.540	0.345	0.194	—	21.38	13.64	14.02	7.36	
20	5.95	0.869	0.497	0.394	0.073	26.00	14.02	14.36	11.64	
35	5.38	0.873	0.574	0.782	0.084	27.00	13.90	14.27	12.73	
50	5.48	0.980	0.612	1.148	0.254	28.15	14.24	14.94	13.21	
65	3.28	0.976	0.609	0.968	0.889	26.30	14.41	14.94	11.36	68.8 ℓ
80	2.22	0.992	0.621	0.932	1.105	26.10	14.25	14.82	11.28	
95	2.08	0.972	0.622	0.962	1.263	27.85	14.25	14.72	13.13	68.8 ℓ
115	2.32	0.995	0.625	0.959	1.671	25.10	14.32	14.79	10.31	66.4 ℓ
135	1.61	1.024	0.634	0.831	1.148	25.05	14.18	14.68	10.37	64.0 ℓ
160	1.62	0.992	0.623	0.871	1.090	24.95	14.05	14.46	10.49	
185	1.67	1.025	0.658	0.886	1.176	26.16	14.35			

第V-8表 34℃→28℃(C)の一般分析結果(%)

経過日数	直 糖	全窒素	アミノ酸 窒 素	全有機 酸 量	アルコール	全固形分	食 塩	灰 分	純エキス	備 考
5	4.97	0.621	0.365	—	—	20.63	12.95	13.43	7.20	上 澄 28℃とする 通常の諸 味の状態
20	5.97	0.953	0.567	0.377	0.074	28.35	14.94	15.63	12.74	
35	5.85	0.923	0.568	0.353	0.092	27.70	14.19	14.59	13.11	
50	5.39	0.939	0.579	—	0.062	27.50	14.59	15.48	12.02	
65	5.13	0.981	0.581	0.410	0.459	26.75	15.03	15.48	11.27	
80	2.63	0.962	0.579	0.530	1.045	25.20	14.61	15.18	10.02	65.4 ℓ 64.8 ℓ
95	2.31	0.959	0.573	0.387	1.521	27.50	14.68	15.17	12.33	
115	1.89	0.953	0.575	0.389	1.591	25.21	14.56	15.00	10.21	
135	1.41	1.023	0.564	0.249	1.440	26.10	14.85	15.58	10.52	
160	—	—	0.552	0.332	1.120	26.08	14.71	15.42	10.66	
185	1.67	1.016	0.561	0.403	1.148	26.40	14.69	—	—	上 澄

第V-9表 室温，諸味添加(A<sup>+</sup>)の一般分析結果(%)

経過日数	直 糖	全窒素	アミノ酸 窒 素	全有機 酸 量	アルコール	全固形分	食 塩	灰 分	純エキス	備 考
5	4.04	0.558	0.318	0.171	—	19.89	13.50	12.29	7.60	1ヶ月経過 諸味添加
20	5.12	0.780	0.462	0.947	0.074	24.50	13.71	14.14	10.36	
35	5.32	0.833	0.622	1.209	0.092	26.60	13.83	14.33	12.27	
50	3.42	0.912	0.625	1.369	0.405	26.80	13.90	14.99	11.81	7ヶ月経過 諸味添加 69.6 ℓ
65	2.08	0.973	0.634	1.651	1.176	24.75	14.22	14.99	9.76	
80	1.11	0.987	0.629	1.295	1.133	25.00	14.11	14.66	10.34	
95	0.71	0.968	0.625	1.309	1.205	24.95	13.98	14.42	10.53	70.4 ℓ
115	1.30	0.978	0.620	1.423	1.591	25.40	14.46	15.02	10.38	68.0 ℓ
135	0.91	1.015	0.633	1.191	1.119	24.90	14.02	14.73	10.17	65.6 ℓ
160	0.79	0.989	0.624	1.355	1.148	24.20	13.95	14.50	9.70	
185	0.76	1.016	0.633	1.335	1.148	15.35	14.26	—	—	

第V-10表 28℃, 諸味添加 (B') の一般分析結果 (%)

経過日数	直 糖	全窒素	アミノ酸 窒 素	全有機 酸 量	アルコール	全固形分	食 塩	灰 分	純エキス	備 考
5	4.38	0.631	0.401	0.339	—	21.75	13.33	13.74	8.01	1ヶ月経過 諸味添加
20	5.65	0.919	0.581	1.074	0.071	26.70	14.08	14.78	11.92	
35	5.38	0.893	0.609	1.096	0.093	27.40	13.90	14.39	13.01	7ヶ月経過 諸味添加
50	5.01	0.981	0.624	0.949	0.332	28.60	13.84	14.83	13.77	
65	2.58	1.021	0.632	1.133	0.947	25.05	14.28	14.83	10.22	69.5 ℓ
80	2.22	0.984	0.615	1.184	1.085	24.70	13.96	14.42	10.28	69.9 ℓ
95	2.18	0.979	0.621	1.104	1.234	24.90	13.80	14.07	10.83	
115	1.92	0.985	0.629	0.998	1.608	24.50	13.96	14.24	10.28	67.2 ℓ
135	1.50	1.025	0.631	0.968	0.976	25.10	13.95	14.47	10.63	65.5 ℓ
160	—	0.992	0.614	0.991	1.005	24.45	13.89	14.01	10.44	
185	1.51	1.032	0.643	1.049	1.033	25.65	14.19	—	—	

第V-11表 34℃→28℃, 諸味添加 (C') の一般分析結果 (%)

経過日数	直 糖	全窒素	アミノ酸 窒 素	全有機 酸 量	アルコール	全固形分	食 塩	灰 分	純エキス	備 考
5	4.24	0.574	0.365	0.307	—	20.75	12.71	13.39	7.36	1ヶ月経過 諸味添加
20	5.97	0.953	0.602	0.744	0.087	27.30	14.31	14.89	12.41	
35	5.68	0.938	0.568	0.755	0.078	27.50	13.83	14.33	13.17	28℃とする 7ヶ月経過 諸味添加
50	5.83	0.986	0.595	0.976	0.063	28.50	14.03	14.94	13.56	
65	4.14	1.025	0.614	0.993	0.573	26.75	14.41	14.94	11.81	68.0 ℓ
80	3.06	0.995	0.620	—	0.777	25.40	13.97	14.57	10.83	65.5 ℓ
95	2.79	0.989	0.615	0.939	0.976	25.85	13.77	14.27	11.58	
115	2.23	0.970	0.603	1.027	1.413	25.80	14.04	14.75	11.05	64.8 ℓ
135	1.74	1.024	0.624	0.985	1.234	25.10	13.80	14.56	10.54	64.0 ℓ
160	1.69	0.984	0.621	0.908	1.033	24.90	13.88	14.02	10.88	
185	1.67	1.053	0.636	0.842	1.148	25.60	14.25	—	—	

6種諸味に於けるグルタミン酸の消長は第V-12表に示した。第V-12表では諸味1g当りの遊離グルタミン酸量の変化を示してある。

第V-12表 グルタミン酸の消長 (mg/g)

経過日数	常 温 (A)	常温, 諸味 添加 (A')	28°C (B)	28°C 諸味添加 (B')	34°C→28°C (C)	34°C→28°C 諸味添加 (C')
5	7.40	—	6.32	—	—	—
20	7.70	—	7.68	7.60	—	7.60
35	8.76	7.20	7.96	8.04	7.04	—
50	8.56	8.00	8.00	7.88	6.40	7.40
65	9.52	8.48	8.24	8.32	6.52	7.91
80	9.40	8.12	8.08	7.90	6.14	7.52
95	9.26	8.04	8.40	8.12	6.44	—
115	9.22	8.68	7.90	7.92	6.36	7.52
135	9.24	8.22	7.78	7.78	6.44	7.34
160	8.78	8.48	7.68	7.80	6.32	7.52
180	8.74	8.62	7.88	8.32	7.00	7.90

常温静置(A)の場合は仕込後5日で7.4mg/gの遊離グルタミン酸が存在し、以後65日を経過する迄増加して9.5mg/gに達した。その後は増加せず若干の減少が認められた。この結果は第3章の実験結果と一見相違するようであるがその原因は仕込時期の差異によるものであると考えられる。第3章の天然醸造に於けるグルタミン酸の消長でも5月乃至7月に遊離グルタミン酸の増加が認められ諸味品温の最も高い8月以後に増加はなかったが本実験では仕込時期が5月17日であり以後65日間の増加が大きく、それ以後に増加がない訳であって全く一致した結果とみることができる。この場合諸味添加を行うと、(A') 反って遊離グルタミン酸量は低減する結果となった。諸味を添加した場合は、生酸量が多くpHが速かに低下するた

めに悪影響を及ぼすものと考えられる。28℃に保った場合(B)は、常温静置の場合よりも遊離グルタミン酸量は少く、仕込後35日以後は8 mg/g程度であり殆ど増加は認められなかった。この結果は第1節の結果とよく一致するものである。この場合に諸味を添加しても(B')遊離グルタミン酸の消長には殆ど差異は認められなかった。28℃に保った場合も、諸味を添加したものでは有機酸の生成量は速かに増大したからその影響はあると考えられるが諸味品温を高く保つこと自体が既に遊離グルタミン酸の増加に悪影響を大きく与えるものであり、ために初期のpH低下による影響は顕著に現われないものと考えられる。28℃に保った場合は諸味添加の有無に拘らず、その遊離グルタミン酸量は常温静置の諸味添加のものより更に低いものであった。34℃→28℃型(C)の諸味中の遊離グルタミン酸量は最も少く仕込後35日以後には殆ど増加せず僅かに6.5 mg/g程度を示すに過ぎなかった。この場合、諸味を添加したものでは無添加のものに比べて相当多量となり7.5 mg/gの存在が認められた。勿論、この場合の諸味添加のものでは有機酸生成量が初期には多かったが、第V-14図に明らかなように、諸味添加のものでは無添加のものに比べ仕込後35日迄の品温が5℃程度低く保たれたため、温度上昇に伴う影響が少く、無添加のものより好結果を得たものと考えられる。

以上要するに、諸味品温を上昇せしめた場合は諸味中の遊離グルタミン酸は低減することが明らかになった。特に、熟成初期を40℃以上の高温で経過する場合は、全窒素の増加は速に行われるが遊離グルタミン酸は増加せず天然醸造のものに比べて極めて少量となる。既にある程度熟成された諸味を添加しても加温速醸に於ける遊離グルタミン酸の増加をもたらす効果はなく、低温で熟成する場合には反って悪影響を及ぼした。これらの結果から、諸味の品温が高いこと自体が遊離グルタミン酸量を低減させる原因であり、pHの低下も好ましくない結果をもたらすものであると考えられる。

## 第5節 アミノ酸の消長よりみた加温速醸の批判及びその対策

諸味の品温を上昇せしめてその熟成を促進しようとする試みは、全窒素、アミノ態窒素の消長からみるときはほぼ目的を達していると考えられる。第1節に述べたように、加温速醸に於ける全窒素利用率は天然醸造のそれに比べて特に劣るものではない。又、主要アミノ酸の消長を検討した結果でも、グルタミン酸を除いては、遊離態の増加が速に行われ、品温を30℃に保つ型式で3ヶ月経過した諸味中の遊離アミノ酸は天然醸造1年経過のものと殆ど差異はなく、原料蛋白質の利用率も天然醸造と殆ど変らなかった。しかし、加温速醸では遊離グルタミン酸量が少いと云う問題がある。しかも、醤油中のグルタミン酸は最も重要な呈味成分の一つであり、この点は重視されるべき問題である。

加温速醸で遊離グルタミン酸量が少い理由は明らかでないが、第4節に述べたように諸味品温を高めること自体が遊離グルタミン酸の増加を低減させるようである。特に品温が40℃以上に達するような経過では遊離グルタミン酸量は著しく低減する。後安氏<sup>60)</sup>は加温速醸による醤油中の遊離グルタミン酸が少い理由としてpHの低下による蛋白分解酵素の作用力の低下をあげているが、著者の実験結果ではpHの低下も悪影響を及ぼすが温度上昇の影響の方がより大きいと考えられた。従って、加温速醸では品温を著しく高めることは得策でない。池宮氏<sup>58)</sup>は醸酵の一時期に40℃の高温に保持する方法を提唱しているが、アミノ酸の消長からみた場合は好ましくないと考えられる。一般的には、諸味品温は30℃乃至それ以下に保持することが好ましく、又アミノ酸の消長よりみた場合はこの温度で充分である。上田氏等<sup>45)</sup>が有機酸の消長を検討した結果でもほぼ同様な結果を得ている。

品温を30℃に保つ場合は、仕込後1ヶ月迄は多くのアミノ酸は遊離態が増加し、原料蛋白質に含まれていた量の60%程度が遊離態として存在するようになり、以後は遊離態の増加は極めて少くなる。しかし、二、三のアミノ酸では

遊離態の増加は仕込後60日迄は明らかに認められるものであり、又この時期に至ってアミノ態窒素の全窒素に対する比率が60%強となる。従って、品温を30℃に保つ場合は最低2ヶ月以上経過することが必要であり、更に1ヶ月程度の延長が好ましい。

加温速醸での遊離グルタミン酸の増加をはかるためには、その低減する理由をより詳細に検討しなければならない。或は遊離されたグルタミン酸の変化消失が大きな原因となっているかも知れない。しかし、天然醸造に於ける遊離グルタミン酸の増加が全窒素の増加がみられる夏期の諸味品温の高い時期にはみられず、それより若干低温の時期に多いこと、及び天然醸造諸味でも夏期には相当高温を経過し且つ諸味熟成期間が長いにも拘らず遊離グルタミン酸が多いこと並びに高温で熟成した場合、遊離グルタミン酸が必ずしも一定時期から減少しない点等からみて考え難い。寧ろ、酵素作用の差異に問題があると考えられる。即ち麴中に存在する、グルタミン酸の遊離に関係ある酵素の作用活性若しくは安定性が高温及び低いpHでは低減するために加温速醸での遊離グルタミン酸量が少くなると考えるものである。この意味で加温速醸にはそれに適した麴の製造を考える必要があろう。

加温速醸による醤油中のグルタミン酸量を増加させる方法として、他の方法で作られたグルタミン酸を添加することが考えられる。その一つとして、蛋白質原料の酸分解物、所謂アミノ酸液の添加があげられる。この場合、第3章に述べたように、2号アミノ酸液ではグルタミン酸は少量でその添加は用をなさない。1号アミノ酸液中の遊離アミノ酸量は天然醸造醤油中のそれよりも多いものではあるがその差は少く、1号アミノ酸液の添加によって遊離グルタミン酸の増加をはかる場合は可成り多量の添加が必要であり、その結果他成分の混入はまぬがれない。従って、1号アミノ酸液の添加によって遊離グルタミン酸の増強を行うことは適当とは云い難い。

一方グルタミン酸は近時グルコースから酸酵法によって製造することに成

功し工業的規模での製造がなされている。従って、グルタミン酸に関する限り特に原料蛋白質の利用を重視する必要はないと考えられる。現段階に於ける加温速醸では他のアミノ酸量は天然醸造醤油と殆ど同一であり、単にグルタミン酸だけが少い。この意味に於いて、加温速醸にグルタミン酸酸酵を連結せしめることは極めて有効な方法であると考えられる。今後、加温速醸＋グルタミン酸酸酵なる型式を検討すべきである。

## 要 約

加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長を検討し、この面から醤油の加温速醸型式を批判した。

諸味品温を 30℃に保持する型式では、窒素成分の増加は 3 期に分けて考えられ、第 1 期は仕込直後からの 3 日間であり、この時期に各種アミノ酸は諸味中に含まれるそれぞれの全量の 50% に相当する量が遊離態となる。第 2 期は仕込後 3 日乃至 30 日で、この期間は第 1 期に比べては増加が緩慢となるが尚相当の増加がみられ、第 2 期の終りには各種遊離アミノ酸はそれぞれの全量の約 60% 程度に相当する量となる。第 3 期は仕込後 30 日以後であり、この時期に於いては諸味中の遊離アミノ酸の増加は極めて僅少である。その結果、経過日数 90 日の諸味では天然醸造 1 年経過の諸味中に含まれる遊離アミノ酸とほぼ同程度の遊離アミノ酸を含有し、全窒素利用率は天然醸造に比べて特に劣るものではなかった。たゞ、アルギニン、グルタミン酸の消長は上とは異ったものであり、アルギニンは諸味熟成期間中に著しい減少が認められ、グルタミン酸は第 2 期以後の増加量が少かった。その結果、加温速醸による醤油中の遊離グルタミン酸は天然醸造に比べて少いものとなり、この点が加温速醸の重要な問題となった。加温速醸諸味中の遊離グルタミン酸を増加させる目的で二、三の型式による加温速醸を試みたが有効なものではなかった。此の場合諸味品



温を高めること自体が諸味中の遊離グルタミン酸量を低減させるようであり、pH が下がることも悪影響を与えるようであった。従って、加温速醸では必要以上の高温は避けるべきであり、アミノ酸の消長からみた場合 30℃乃至それ以下で充分であった。加温速醸による醤油中の遊離グルタミン酸量は天然醸造に比べて少いことより、今後加温速醸＋グルタミン<sup>酸</sup>酵なる型式を検討すべきであろう。

## 総 括

この論文は醤油原料，醤油醸造過程及び醤油製品に於ける，グルタミン酸，グリシン等呈味成分として重要なアミノ酸及び栄養上不可欠のアミノ酸等主要なアミノ酸の分布を明らかにし，天然醸造の際のこれら遊離アミノ酸の動向を知ると共に，速醸法による醤油製造過程に於ける遊離アミノ酸の消長を検討して，この方法による醤油醸造に関してアミノ酸の面から検討を加えた結果をまとめたものである。

第1章に於いては，本研究のアミノ酸定量法として使用したバイオアッセイの吟味を行った。醤油中の遊離アルギニン，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，バリンの定量には，一般に用いられるバイオアッセイで $100 \pm 3\%$ 程度の回収率が得られたが，スレオニンの定量では醤油中に含有されるセリン量が多いため，この点を考慮する必要があった。即ち基礎培地中のセリン量を $30\text{mg/L}$ 程度に低減し，且つ， $5\text{ r/tube}$ 程度のスレオニンを予め基礎培地に添加して $1\text{ag}$ を消失せしめることによって好結果を得た。また醤油製品に防黴剤として添加されるパラオキシ安息香酸ブチルエステルのバイオアッセイに及ぼす影響を検討した結果では，一般に使用される濃度では定量時に希釈されるため影響のないことを認めた。

第2章に於いては，醤油原料中に含まれる主要アミノ酸について述べた。即ち醤油原料たる小麦，蕎麦，大豆，脱脂大豆の主要アミノ酸含量を検討し，特に蕎麦の主要アミノ酸組成を初めて明らかにした。蕎麦のアミノ酸含量は一般に小麦のそれよりも多いがグルタミン酸含量は逆に小麦より少ないことを示した。

第3章に於いては，天然醸造醤油，アミノ酸液，2号アミノ酸液，市販醤油等各種醤油23種について主要アミノ酸10種の含量を示した。各種醤油

の遊離アミノ酸含量は相当異なるものであったが、その全窒素を一定に換算した場合、醸造醤油では比較的近似したアミノ酸組成を有するものである。ただし、種々のアミノ酸液、従って市販醤油では、その全窒素を一定に換算しても各アミノ酸含量は必ずしも近似した値を示さなかった。塩酸分解によって作られる種々のアミノ酸液と醸造醤油とではアミノ酸組成はかなり異なるが、最も含量に差異のあるアミノ酸はアルギニンであって、全窒素1%の醤油に換算した場合、酸分解されたものでは  $mg/cc$  であるのに反して醸造醤油では  $0.7mg/cc$  程度であり、醤油醸造時のアルギニンの動向が問題であることを示した。

第4章に於いては、天然醸造諸味に於ける遊離アルギニン、グルタミン酸、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、フェニルアラニン、バリンの消長について述べ、これらアミノ酸の消長はそれぞれに異なるものであって、全窒素、アミノ態窒素の消長と必ずしも類似するものでないことを示した。最も特異的な消長を示すのは遊離アルギニンであって、仕込後47日の諸味には  $2 \sim 3 mg/cc$  の遊離アルギニンが存在したが、以後相当急激に減少して諸味熟成中に  $0.7mg/cc$  程度まで消失することを認めた。又、遊離イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニンは仕込後396日に至る諸味熟成中を通じて増加が認められたが、遊離グルタミン酸、グリシン、リジン、バリンは396日を経過する迄の一時期に最大量に達した。

第5章に於いては、加温速醸法による諸味熟成について、そのアミノ酸の消長の面から検討した。先づ、諸味品温を  $30^{\circ}C$  に保つ場合の遊離アミノ酸の消長を検討した。その結果、一般に遊離アミノ酸の消長は3期に分けて考えられた。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アミノ酸の全量の  $\frac{1}{3}$  程度となる。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較べて増加量は低減する。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、諸味中の遊離アミノ酸の増加は極めて僅少となる。従って、遊離アミノ酸の、原料中のアミノ酸に対する比率は加温速醸90日で天然醸造12ヶ月のそれに劣るものでなかったが、遊離アルギニン、グルタミン酸の消長は先述の型式を示さず、加温速醸では遊離グルタミン酸が少い欠点があった。加温速醸に於いても遊離アルギニンの消失は認められたが、これは天然醸造に於いても認められるものであり、従って、加温速醸に於ける遊離アミノ酸の消長では遊離グルタミン酸の増加をはかる点が問題となった。遊離グルタミン酸の消長を種々の加温速醸型式によって検討した結果、高い諸味品温及び低いpHが悪影響を与えることを示した。その結果、諸味品温を上げるとは多くのアミノ酸の遊離溶出を促進する効果があり、諸味熟成期間の短縮は充分果し得るが、遊離グルタミン酸の生成が低減することから、将来、加温速醸+グルタミン<sup>酸</sup>入酵なる型式の醤油醸造法を検討すべきことを提案した。

## 参 考 文 献

- 1) 経済企画庁： 国民生活白書 192 (1959)
- 2) 露口等： 大阪女子学園短大紀要 (投稿中)
- 3) 有働： 農化 7 322,853 (1931)
- 4) 石塚等： 調味科学 1 29 No.1 (1953)
- 5) 堀等： 農化 30 519 (1956)
- 6) R.L.M.SYNGE： Biochem.J. 38 285 (1944)
- 7) "： " 44 542 (1949)
- 8) G.R.TRISTRAM： Biochem.J. 40 721 (1946)
- 9) " Advance in Protein Chem. 5 83 (1949)
- 10) G.L.MILLS： Biochem.J. 40 721 (1946)
- 11) W.H.STEIN,S.MOORE： J.Biol.Chem. 176 337 (1948)
- 12) S.MOORE,W.H.STEIN： " 176 367 (1948)
- 13) S.MOORE,W.H.STEIN： " 178 53 (1949)
- 14) W.H.STEIN,S.MOORE： " 178 79 (1949)
- 15) S.MOORE,W.H.STEIN： " 192 663 (1951)
- 16) O.SCHALES,S.SCHALES： Arch.Biochem. 11 445 (1946)
- 17) K.A.KUIKEN etal. Science 98 266 (1943)
- 18) " J.Biol.Chem. 151 615 (1943)
- 19) E.E.SNELL： Nutrition Abstr.& Rev. 16 497 (1946 ~1947)
- 20) "： Advance in Protein Chem. 2 85 (1945)
- 21) "： Wallerstein Lab.Commum. 11 81 (1948)
- 22) M.S.DUNN： Physiological Rev. 29 No.3 219 (1949)
- 23) 田村等： Japan Analyst. 1 37 (1952)
- 24) 角田： 赤堀，水島編 蛋白質化学 vol.1 282 (1952)

- |                            |  |
|----------------------------|--|
| 25) 鈴木，村岡：                 | ビタミン，アミノ酸の微生物定量法(1954)                                 |
| 26) 角田等：                   | 農化 26 477 (1952)                                       |
| 27) 橋田等：                   | 醸工 33 364 (1955)                                       |
| 28) 田村等：                   | 農化 26 464 (1952)                                       |
| 29) BAUMGARTEN：            | Cereal Chem. 22 514 (1945)                             |
| 30) 赤堀，水島編：                | 蛋白質化学 vol.1 304 (1952)                                 |
| 31) STELL.SAUBERLICH：      | J.Biol.Chem. 177 533 (1949)                            |
| 32) 深井等：                   | 醸試 106 110 186,169 (1930)                              |
| 33) 深井：                    | 〃 119 209 (1934)                                       |
| 34) 深井：                    | 〃 119 213 (1934)                                       |
| 35) 塚本：                    | 特許 176,661 (1948)                                      |
| 36) 富安等：                   | 醸工 30 1 (1952)   |
| 37) 梅田等：                   | 野田醤油報告 XI 368 (1951)                                   |
| 38) 梅田等：                   | 醸試 46 328 (1951)                                       |
| 39) M.L.ORR and B.K.WATT：  | Amino Acid Content of Food<br>U.S.Dept. of Agr. (1957) |
| 40) 鈴木，麻生：                 | 東化 28 363 (1907)                                       |
| 41) 大村：                    | 醸工 9 2号 (1931)   |
| 42) 金子：                    | 日化 60 539 (1939)                                       |
| 43) 石田：                    | 醸試 94 342 (1926)                                       |
| 44) 吉村：                    | 東化 30 43 (1909)  |
| 45) 上田等：                   | 醸工 37 99 (1959)  |
| 46) 田中等：                   | 調味科学 8 No.4 16,23 (1961)                               |
| 47) 食糧庁：                   | 基礎醤油分析法 3～23 (1959)                                    |
| 48) H.WILSON and K.CANNAN： | J.Biol.Chem. 119 309 (1937)                            |
| 49) 石塚等：                   | 日本醤油技術会講演会 (1956)                                      |
| 50) 堀：                     | 微生物工学講座 8巻 P.225 (1956)                                |

- 51) 大久保： 醸工 29 51 (1951)
- 52) 上野： 野田醤油報告 1 19 (1956)
- 53) 梅田等： 醸協 44 16 (1949)
- 54) 村上等： “ 44 66 (1949)
- 55) 荒川： “ 45 107 (1950)
- 56) 館野等： 野田醤油報告 X 15 (1950)
- 57) 梅田： 微生物工学講座 8 巻 P.202
- 58) 池宮： 調味科学 2 1 (1954)
- 59) 渋谷： 醤油と技術 34 号 (1953), 118 号 (1955)
- 60) 後安： 調味科学 7 7 (1959)
- 61) 森口： 淡口醤油に関する研究 P.182
- 62) 日野等： 農化 34 22 (1960)
- 63) 茂木等： 醸工 39 658 (1961)
- 64) 田村等： 農化 26 480 (1952)
- 65) 高橋等： 醸工 35 404 (1957)
- 66) 矢内等： 調味科学 3 No.4 18 (1955)
- 67) 風間等： “ 6 No.2 32 (1958)
- 68) 小貫： 醤油 P.377

## 本論文に關聯ある主な報告

### 醬油中のアミノ酸に関する研究

- 第1報 各種醬油のアミノ酸含量について 醸工 40 321 (1962)
- 第2報 天然醸造諸味に於ける主要アミノ酸の消長 醸工 40 327 (1962)
- 第3報 加温速醸諸味に於ける主要アミノ酸の消長 醸工 40 384 (1962)
- 第4報 加温速醸諸味に於ける各種アミノ酸の消長 大阪醸造学会第13回  
講演会に報告
- 第5報 カラムクロマトグラフィーによるアミノ酸定量法の  
醬油試料への応用について 昭和37年度日農化大会に報告
- 第6報 夏仕込諸味に於ける水溶性区分の遊離アミノ酸及び全アミノ酸の消  
長 昭和37年度日本醸酵工学会に報告



終りに臨み、本研究を行うに当り終始御懇篤なる御指導を賜った恩師大阪大学工学部教授寺本四郎先生，照井堯造先生，芝崎勲先生並びに上田隆蔵先生に謹んで感謝の意を表します。

又，本研究に御指導，御便宜を戴いた大阪女子学園短期大学学長，下田吉人先生，事務局長，中川孝史先生に深く感謝致します。

本研究には森口繁弘，田中恵隆，石川浩，藤田栄子，徳田睦，難波敦子の諸氏の御協力を賜りました。茲に，厚く御礼申し上げます。

更に本研究に終始御協力戴いた竜野醤油 K.K. に深謝致します。