

## 生醤油の香気寄与成分の解明と加熱による変化

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者	金子, 秀
巻/号	110巻1号
掲載ページ	p. 20-25
発行年月	2015年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



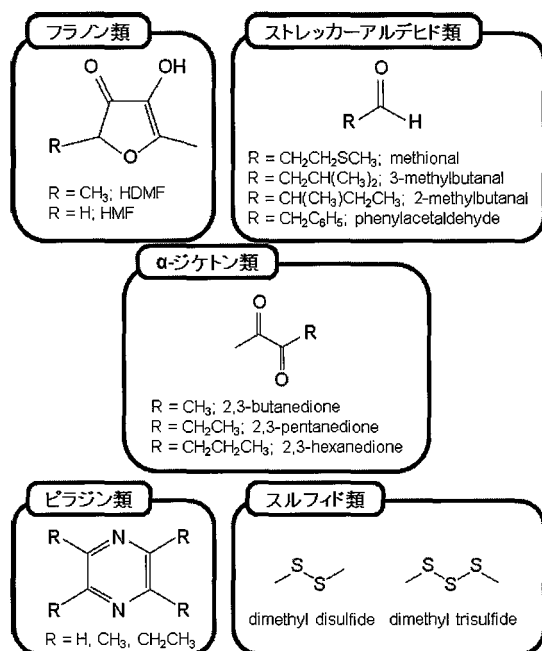
# 生醤油の香気寄与成分の解明と加熱による変化

生（なま）醤油は火入れを行わず火入れの殺菌処理と同等な処理を行った新しいタイプの製品で普及しつつある。そこで、著者は生醤油に比べて、火入れ醤油において、AEDA法により、高いFD-factorを示した成分の中で、2-methoxy-4-vinylphenolと2,6-dimethoxy-4-vinylphenolのみが顕著に増加し、さらに、標準添加法により、3-methylbutanal, 2-methylbutanal, methional, phenylacetaldehyde, HDMFが有意に増加していることを明らかにしたので、解説いただいた。生醤油に興味のある方は是非ご一読いただきたい。

金子 秀

## 1. はじめに

生醤油は、通常の醤油と異なり火入れ工程を経ない新しいタイプの製品として普及しつつある。火入れによって付与される火香に関与する成分は、これま



第1図 醤油の火入れにより生成する成分

でフラノン類、ストレッカーアルデヒド類などのいわゆるアミノカルボニル反応生成物がいくつも報告されている(第1図)<sup>1)</sup>。

一方、一般に嗅覚で検知する香気成分は検知閾値を有しており、閾値以下の濃度ではにおいを感じない。検知閾値は化合物により大きく異なり、数%~数pptレベルまで非常に広範囲に及ぶ。そのため、含有量の多い成分が必ずしも香りにとって重要な成分ではなく、また通常の分析では検出できないほど微量な成分が重要な香気成分である可能性もある。従って、生醤油の香りについても、これまでの研究報告で重要な香気成分が十分に明らかにされているかどうか不明である。

そこで本稿では、近年の香気寄与成分の探索手法として主流となっている Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) を生醤油に適用した例を紹介する<sup>2)</sup>。AEDAは、段階的に希釈した香気濃縮物を順次 Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) にて分析する方法であり、成分の検出を人の鼻で行うため、各成分の重要性は含有量ではなく、検知閾値の何倍含まれているか (FD-factor) によって判断される。

さらに、生醤油と火入れ醤油の香気特徴の違いを明らかにするために、火入れ相当の加熱を行った生醤油(本稿では、「火入れ醤油」と記載する)にもAEDAを適用し、生醤油との比較を行った。また、生醤油と火

入れ醤油で差の認められた香り寄与成分について、官能評価（アディクションテスト）による比較を行った<sup>2)</sup>。

## 2. AEDA 法による生醤油の香り寄与成分の解明

生醤油及び火入れ醤油の香り寄与成分を明らかにするために、生醤油香气濃縮物へ AEDA を適用し、多数の香り寄与成分を同定した（第 2 図）。これら成分は、過去の火入れされた濃口醤油中の香り寄与成分としても報告されており<sup>3,4)</sup>、生醤油においても重要であることが確認できた。また、第 3 図に示した成分は生醤油の香り寄与成分として醤油中より初めて同定又は推定した。

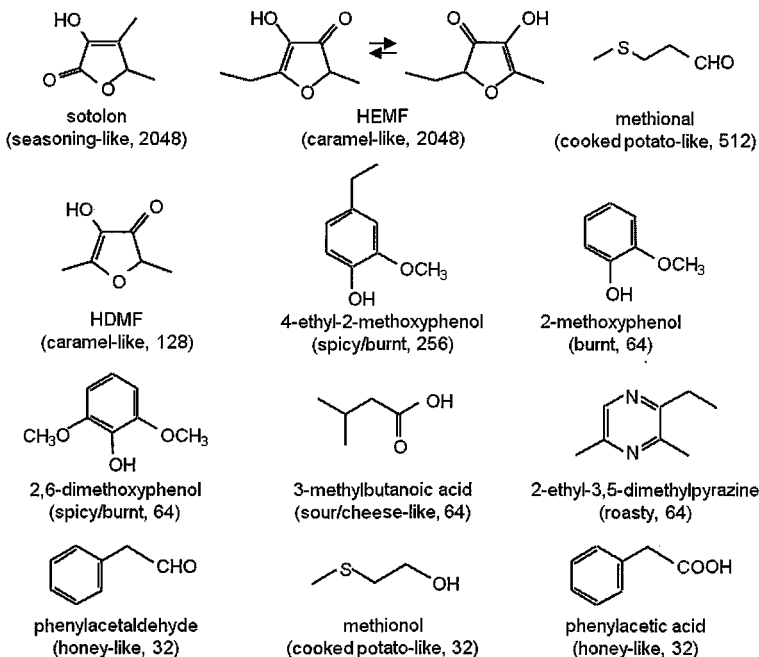
## 3. 生醤油と火入れ醤油の AEDA 比較

生醤油と火入れ醤油の AEDA を比較したところ、高い FD-factor を示した成分の中で顕著な差が認められた成分は 2-methoxy-4-vinylphenol 及び 2,6-dimethoxy-4-vinylphenol のみであった（第 1 表）。しかし

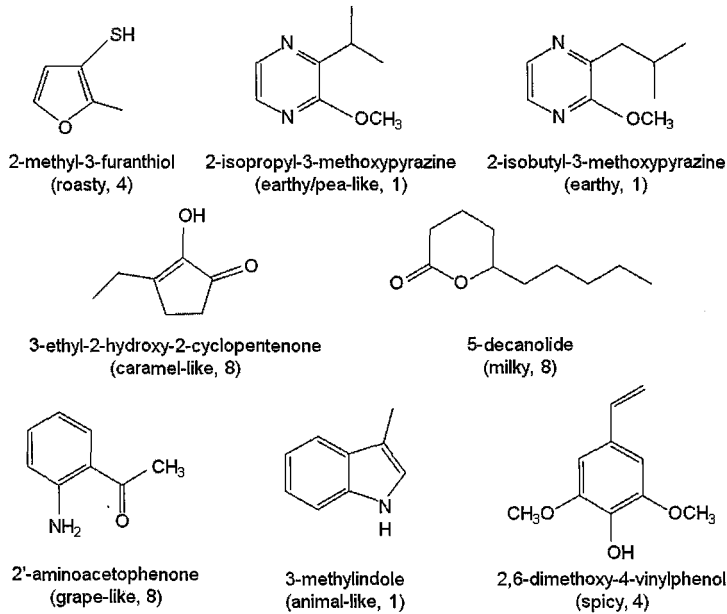
ながら、標準添加法による定量を行い、より詳細な比較を行ったところ、前述の 2 成分以外にも、3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 3-(methylthio)propanal (methional), phenylacetaldehyde 及び 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF) が有意に増加していることが判明した（第 1 表）。このことは、Maillard 反応生成物をはじめとして、多くの加熱反応生成物が生醤油の火入れ過程で増加することが知られているが、醤油の香気に影響を与える成分はごく一部であることを示唆している。

## 4. アディクションテストによる生醤油及び火入れ醤油香気の比較

次に、生醤油と火入れ醤油の香り特徴の差を把握するために、官能評価を行った。評価試料は、生醤油、火入れ醤油に加え、第 1 表で示した成分のうち、火入れによって顕著に増加した成分を生醤油に添加した試料を用いた。評価ワードは生醤油又は火入れ醤油のい



第 2 図 生醤油の香り寄与成分(括弧内は香り特徴及び FD-factor)  
 sotolon; 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone  
 HEMF; 5(or 2)-ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone  
 methional; 3-(methylthio)propanal  
 HDMF; 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone  
 methionol; 3-(methylthio)propanol



第3図 生醤油より新規に同定又は推定した香気寄与成分(括弧内は香気特徴及び<sup>b</sup>FD-factor)

第1表 生醤油及び火入れ醤油香気寄与成分のFD-factor 及び濃度

化合物 <sup>a</sup>	香気特徴	FD-factor		濃度 <sup>b</sup> (μg/L)		
		生醤油	火入れ醤油	生醤油	火入れ醤油	比
3-methylbutanal	malty	16	32	2640	3220	1.22 <sup>c</sup>
2-methylbutanal	malty	16	32	2670	3160	1.10 <sup>c</sup>
methional	cooked potato-like	512	1024	388	513	1.32 <sup>c</sup>
2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	nutty, roasty	64	64	15.2	16.4	1.08
phenylacetaldehyde	honey-like	32	32	10000	13100	1.31 <sup>c</sup>
3-methylbutanoic acid	sour, cheese-like	64	64	2340	2300	0.98
methionol	cooked potato-like	32	32	3390	3690	1.09
2-methoxyphenol	burnt	64	64	51.9	52.6	1.02
4-ethyl-2-methoxyphenol	spicy, burnt	256	256	280	266	0.95
HDMF	caramel-like	128	256	1650	2440	1.48 <sup>c</sup>
HEMF	caramel-like	2048	2048	42800	40400	0.94
2-methoxy-4-vinylphenol	spicy, burnt	16	128	98.6	1120	11.3 <sup>c</sup>
sotolon	seasoning-like	2048	2048	105	113	1.08
2,6-dimethoxyphenol	spicy, burnt	64	64	104	114	1.09
phenylacetic acid	honey-like	32	32	2480	2520	1.02
2,6-dimethoxy-4-vinylphenol	spicy	4	64	13.6	235	17.2 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>methional; 3-(methylthio)propanal, methionol; 3-(methylthio)propanol, HDMF; 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone, HEMF; 5(or 2)-ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2*H*)-furanone, sotolon; 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5*H*)-furanone.

<sup>b</sup>3回の繰り返し実験の平均値。

<sup>c</sup>2標本 T 検定により生醤油と火入れ醤油の間で有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

いずれかの試料で FD-factor が 32 以上を示した成分の香調を選択した(第2表)。malty, cooked potato-like, spicy/burnt の香調は、生醤油に比べて火入れ醤油及び生醤油に増加した成分を添加した試料が有意に強かつ

た。この結果は、火入れ時に増加した成分(3-methylbutanal (malty), 2-methylbutanal (malty), methional (cooked potato-like), 2-methoxy-4-vinylphenol (spicy, burnt), 2,6-dimethoxy-4-vinylphenol (spicy)) が生醬

第2表 生醤油及び火入れ醤油の官能評価

試料	官能スコア <sup>a</sup> (標準偏差)						
	malty	cooked potato-like	nutty	honey-like	sour	caramel-like	spicy/burnt
生醤油	3.6a (0.9)	4.0c (0.7)	3.1 (1.0)	3.7 (1.0)	3.2 (1.0)	3.8 (0.9)	3.6e (0.7)
火入れ醤油	4.8b (0.9)	4.7d (1.0)	3.4 (0.7)	3.8 (1.1)	3.6 (1.1)	4.4 (0.8)	4.8f (0.6)
生醤油+増加化合物 <sup>b</sup>	4.8b (1.0)	4.7d (0.9)	3.7 (0.9)	4.3 (1.3)	3.6 (1.0)	4.7 (1.0)	5.3f (1.0)

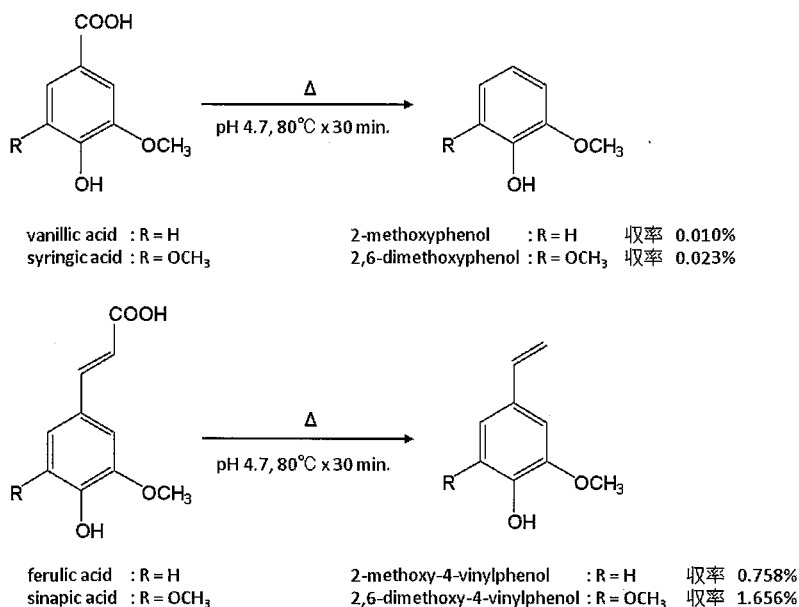
<sup>a</sup>異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり。

<sup>b</sup> 3-methylbutanal(580  $\mu\text{g/L}$ ), 2-methylbutanal(490  $\mu\text{g/L}$ ), methional(125  $\mu\text{g/L}$ ), phenylacetaldehyde(3100  $\mu\text{g/L}$ ), HDMF(790  $\mu\text{g/L}$ ), 2-methoxy-4-vinylphenol(1020  $\mu\text{g/L}$ )及び 2,6-dimethoxy-4-vinylphenol(221  $\mu\text{g/L}$ )を生醤油に添加した。

油と火入れ醤油の香気特徴の差に影響を与えていることを示している。一方、HDMF (caramel-like) は、火入れ時に大きく増加していたにも関わらず、caramel-likeの香気強度に有意な差が認められなかった。この結果は、他の caramel-like な香調を有する 5 (or 2) -ethyl-4-hydroxy-2 (or 5) -methyl-3 (2*H*) -furanone (HEMF) や 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2 (5*H*) -furanone (sotolon) などの非常に高い FD-factor を示した成分が火入れ時に変化しなかったことによると推察された。また、honey-like な香調も試料間で有意差が認められなかった。これは honey-like な香調の phenylacetaldehyde は、火入れによって大きく増加していたものの、FD-factor は 32 と寄与度があまり高くないことが原因であると考えられる。

## 5. 生醤油の火入れ時に増加するフェノール化合物の生成機構の推定

第2表の官能評価結果で示したように、フェノール化合物の香気特徴である spicy/burnt な香調は火入れにより有意な増加が認められ、火入れ醤油において 4.8 と最も高い評価点を示したことから、火入れ醤油の香気特徴の1つであると考えられた。しかしながら、第1表で示したように、フェノール化合物のうち 2-methoxy-4-vinylphenol と 2,6-dimethoxy-4-vinylphenol は生醤油の火入れ時に大きく増加したが、2-methoxyphenol と 2,6-dimethoxyphenol は増加しなかった。この反応性の違いを明らかにするために、前駆体の1つと考えられるフェノール酸の脱炭酸モデル反応を検討した(第4図)。



第4図 フェノール酸の脱炭酸反応

100ppm に調製した各フェノール酸 (vanillic acid, syringic acid, ferulic acid, sinapic acid) 水溶液を pH = 4.7 に調整し、モデル火入れ条件として 80℃ 下 30 分加熱したところ、全反応とも低収率ではあったが、脱炭酸反応が進行した。中でも、sinapic acid から最も高い収率で 2,6-dimethoxy-4-vinylphenol が生成し、次に高い収率で ferulic acid から 2-methoxy-4-vinylphenol が生成した (第 4 図)。一方、vanillic acid と syringic acid の反応性は非常に低く、生成したフェノール化合物の収率は極めて低かった (第 4 図)。このことは、桂皮酸誘導体である ferulic acid や sinapic acid はより安定な  $\beta$ -カルボニルイオン (オレフィンへのプロトンの付加) を経由して脱炭酸反応が進行するのに対し (第 5 図)<sup>5)</sup>、安息香酸誘導体である vanillic acid や syringic acid は不安定なカルボアニオンを経由して反応が進行することに起因するためであると考えられる (第 6 図)<sup>6)</sup>。また、sinapic acid や syringic acid のような 2,6-ジメトキシ体は ferulic acid や vanillic acid のような 2-メトキシ体よりも反応性が高いことが判明した。脱炭酸の反応性は、一般にカルボアニオン中間体が安定なほど高いことが知られており、カルボン酸の m-位にメトキシ基が存在すると、その電子吸引効果 (I 効果) によって、カルボアニオン中間体がより安定化するため、2-メトキシ体よりも 2,6-ジメトキシ体の方が高い反応性を示

したと考えられる<sup>6)</sup>。

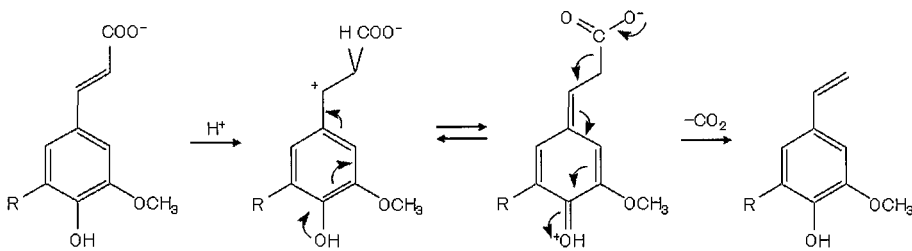
さらに、火入れによるフェノール化合物の増加がフェノール酸由来であるかどうかを確認するために、各フェノール酸の生醤油中の含有量を定量した (第 3 表)。生醤油中には syringic acid が最も多く、次いで ferulic acid, vanillic acid, sinapic acid であった。

次に、フェノール酸のモデル脱炭酸反応の収率を元に、生醤油の火入れ時にフェノール酸から生成したフェノール化合物の量を概算した (第 4 表)。2-methoxyphenol と 2,6-dimethoxyphenol の生成量はかなり少なく、生醤油の火入れではほとんど生成しないことが推定された。一方、2-methoxy-4-vinylphenol と 2,6-dimethoxy-4-vinylphenol は生醤油の火入れで対応するフェノール酸からある程度生成すると考えられたが、実際の火入れでははるかに多くの量が生成していたことから、これらの成分は、ヒドロキシ桂皮酸からのみではなく、shakuchirin や細胞壁結合型のフェルラ酸エステルなどの他の前駆体からも生成している可

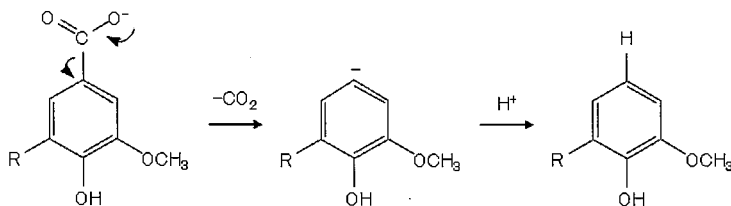
第 3 表 生醤油中のフェノール酸量

化合物	濃度 <sup>a</sup> (mg/L)	標準偏差 (mg/L)
vanillic acid	6.1	0.2
syringic acid	36.7	0.4
ferulic acid	19.7	0.1
sinapic acid	3.8	0.1

<sup>a</sup> 3 回の繰り返し実験の平均値。



第 5 図 桂皮酸誘導体の推定脱炭酸反応機構<sup>5)</sup>



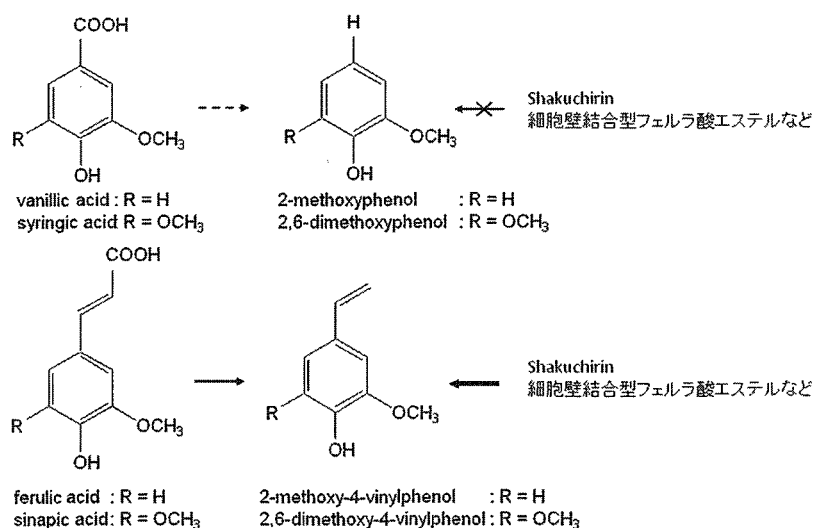
第 6 図 安息香酸誘導体の推定脱炭酸反応機構<sup>6)</sup>

第4表 火入れ中に生醤油中のフェノール酸から生成する概算フェノール量

化合物	濃度 (μg/L)		生成比 (B/A) (%)
	火入れ中の増加量 (A) <sup>a</sup>	フェノール酸からの概算生成量 (B) <sup>b</sup>	
2-methoxyphenol	0.7	0.6	84
2,6-dimethoxyphenol	9	8.3	89
2-methoxy-4-vinylphenol	1020	150	15
2,6-dimethoxy-4-vinylphenol	221	62.9	28

<sup>a</sup> 第1表から算出した生醤油と火入れ醤油の定量値の差。

<sup>b</sup> (フェノール酸からの概算生成量) = (生醤油中のフェノール酸濃度) × (脱炭酸反応の収率)。



第7図 生醤油の加熱によるフェノール化合物の推定反応機構

能性が高い (第7図)。

一方、火入れ時には増加しなかった 2-methoxyphenol と 2,6-dimethoxyphenol を含めたこれらの4成分は、生醤油中でも比較的高い FD-factor を示していた (第1表)。これらの成分は大豆の蒸煮や小麦の焙煎、あるいは醸造時の酵素反応による生成の可能性も指摘されており<sup>7)</sup>、詳細な生成要件に関してはさらなる検討が必要であろう。

## 6. おわりに

本稿では、近年ポピュラーになりつつある生醤油の香りの特徴について、AEDA法を利用した寄与成分探索手法の一例を紹介した。食品の香りを知ることは多くの研究者、製品開発者、消費者の欲求であるが、そのものの香りを簡便な方法で網羅的に解明することは現状でも困難であり、さまざまなアプローチからの研究手法を活用し、多面的に理解していく必要がある。

## 参考文献

- 1) 中台 忠信: 醬研, **34**, 274-282 (2008)
- 2) S. Kaneko, K. Kumazawa, and O. Nishimura: *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 3396-3402 (2013)
- 3) P. Steinhaus and P. Schieberle: *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 6262-6269 (2007)
- 4) S. Kaneko, K. Kumazawa, O. Nishimura: *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 3831-3836 (2012)
- 5) L. A. Cohen and W. M. Jones: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 1907-1911 (1960)
- 6) P. Sykes: Carbanions and their reactions. In *Mechanism in Organic Chemistry* sixth edition, P. Sykes, Ed., Longman Group Ltd., London, UK, 1986; pp 270-298
- 7) 日本醸造協会編: 醸造物の成分, 日本醸造協会, 476-501 (1999)