

## ライ小麦を麴原料に用いた新規味噌の開発

宇野豊子・山木 携・奥村幸広・本堂正明

### Development of Miso Using Triticale as a Koji Material

Toyoko UNO, Tazusa YAMAKI, Yukihiro OKUMURA and Masaaki HONDO

Triticale is a hybrid cross of rye and wheat that combines rye's strong nature with wheat's high productivity. The Hokkaido Agricultural Research Institute is currently studying Hokkaido Prefecture's potential for Triticale cultivation.

In this study, the possibility of producing miso using Triticale koji was investigated. Pure Triticale koji and a Triticale-rice koji were prepared using a conventional method that incorporated "Kyushu junpaku tane koji." For reference, pure rice koji was also prepared. To produce miso, each koji was combined with cooked soybeans in a raw material weight ratio of 12:10. Sodium chloride was added and samples were incubated at 25°C and 30°C. In all cases, the fermented miso possessed a pleasing taste and delicious flavor.

ライ小麦は約100年前にライ麦と小麦を交配して作られ、改良が加えられて、ライ麦、小麦よりも多収性で、強健性を併せ持った栽培しやすい作物として、アメリカ、カナダ、オーストラリアなどでは盛んに栽培されている。日本においては実用的には飼料用として栽培されている

のみであるが、養分を吸収する力が強く、クリーンな栽培に適しているため、これからの作物として北海道農業試験場において、北海道に適した品種及び栽培法などが研究されている。

ライ小麦のたんぱく質含量は栽培地域、気候に左右されるが、一般的に小麦に比べて多く、グルテンが少なく、水溶性のたんぱく質が多いという特徴がある。

このライ小麦を麴原料として、新しい風味を有する味噌の開発とライ小麦の用途拡大を目的に試験を行った。すなわち、未精麦のライ小麦と80%精麦したライ小麦で製麴し、それぞれの麴について、煮熟大豆、食塩と混合して仕込み、発酵・熟成させた。熟成過程における各成分の変化及び調製された味噌の特徴を比較検討した。

以下に、80%精麦ライ小麦を使用して行った結果を主体に報告する。

### 実験方法

#### 1. 原料

ライ小麦は、北海道農業試験場から提供された「プレスト」種を用いた。未精麦のライ小麦と80%精麦したライ小麦の両方を使用した。米は「きらら397」の市販の精白米を使用した。大豆は中国産中粒の皮付きを使用した。食塩は精製塩を使用した。

#### 2. ライ小麦と米の浸漬、水切りと蒸し

ライ小麦と米を洗浄後、一晚(16~17 hr.)浸漬し、1.5時間前後水切りした後、蒸米機で0.3 kg/cm<sup>2</sup>、30分間蒸した。

#### 3. 製麴

##### (1) 未精麦ライ小麦

浸漬・水切りした未精麦ライ小麦を用いて、蒸す前に、フードカッターで大まかに2~3ヶに破碎したもの、及びスタンプミルと乳鉢で押し潰したもの、蒸す代わりに、パットライス試験機(光陽機械製)により、10 kg/cm<sup>2</sup>で10分間、加圧・加熱して、膨化・ $\alpha$ 化したものを調製した。これら前処理した試料と未処理のもの4種類を麴原料に用いた。それぞれ、放冷後、高プロテアーゼ活性のヒグチモヤシ“麦味噌用”種麴を標準の倍量以上散布し、

麴蓋に盛って、30°C、RH 97%の恒温恒湿装置内で3日間製麴した。

#### (2) 80%精麦ライ小麦

80%精麦したライ小麦単独、80%精麦ライ小麦と米を(5+1)混合したもの及び対照として米単独の3種類を麴原料に用いた。前2者の場合には、蒸し・放冷後、淡色系で、プロテアーゼ活性が中程度、アミラーゼ活性が高めのヒグチモヤシ“九州純白”を、後者のものでは、ヒグチモヤシ“W-20”を使用して、未精麦小麦と同様の方法で製麴した。以後、得られた麴をそれぞれライ小麦麴、混合麴及び米麴と記述する。

### 4. 大豆処理

大豆は洗浄、一晚浸漬、水切りして、真空加圧蒸練機で0.7 kg/cm<sup>2</sup>、110°Cで30分間。煮熟し、放冷、チョッパーで荒砕きした後、それぞれの麴を使用して、味噌の仕込みを行った。

### 5. 味噌の仕込み・熟成

#### (1) 未精麦ライ小麦麴

4種類の麴の中で、フードカッター破砕処理した未精麦ライ小麦麴を使用して、麴歩合10、水分47%、食塩濃度12%を目標に煮熟大豆、食塩、種水、酵母培養液(菌数 $1 \times 10^5$ /g添加)と混合して、約25 kgの仕込みを行った。

30°Cで1週間保持後、25°Cで約40日間発酵・熟成し、その後は15°Cで保存した。

#### (2) 80%精麦ライ小麦麴

ライ小麦麴、混合麴と米麴、それぞれの麴について、煮熟大豆、食塩、種水、酵母培養液(菌数 $1 \times 10^5$ /g添加)と混合し、麴歩合12、水分48%、食塩濃度12~13%を目標に、前2者の麴では各18 kg、後者の麴では9 kgの仕込みを行った。

30°Cで1週間、25°Cで50日、さらに30°Cで30日間熟成後、冷蔵保存した。仕込み後20日に一度、切り返しを行った。

### 6. 分析方法

#### (1) 麴の酵素活性と菌体量

「国税庁所定分析法注解」の固体麴酵素活性測定法に準じて測定した<sup>1)</sup>。

グルコアミラーゼ活性：40°C、60分間の酵素反応で、可溶性でん粉から1 mgのグルコースが生成する活性を1単位とした。

$\alpha$ -アミラーゼ活性：40°C、30分間で分解される1%可溶性でん粉量(ml)として表示した。

酸性プロテアーゼ(pH 3)と中性プロテアーゼ

(pH 6)：カゼインを基質として、それぞれ、pH 3、pH 6で40°C、60分間酵素反応させ、1  $\mu$ gのチロシン相当量の呈色を示す活性を1単位とした。

麴の菌体量はYatalase酵素によるグルコサミン定量法により測定した<sup>2)</sup>。

#### (2) 味噌の官能審査

試醸した各味噌の色調、香気、味、組成などについて、官能審査を行い、ライ小麦味噌の特色を比較評価した。

#### (3) 味噌のpH、酸度などと栄養成分

pH、酸度、水溶性窒素、ホルモール窒素、全糖及び還元糖は基準味噌分析法<sup>3)</sup>に基づいて、栄養成分は栄養成分分析法<sup>4)</sup>に基づいて行った。色度はミノルタ色彩色差計CR-300により測定した。

#### (4) エタノール

ベーリンガーマンハイム社のFキットによる酵素法で測定した。

#### (5) 食物繊維

日本食品食物繊維成分表の作成に用いられたプロスキー変法により、不溶性と水溶性食物繊維量を分別定量した<sup>5)</sup>。

#### (6) SDSゲル電気泳動

ATTO製のミニスラブ電気泳動装置を使用した。ライ小麦は全粒粉砕物を、味噌は凍結乾燥試料を約60 mg試験管に採り、0.5 M-Tris緩衝液(pH 6.8) 690  $\mu$ lを加えて、ミキサーで2分間。攪拌混合した後、10%SDS 100  $\mu$ l、2-メルカプトエタノール10  $\mu$ l、グリセロール200  $\mu$ lを加え、攪拌し、2分間。煮沸後、遠心分離した上澄液10  $\mu$ lをポリアクリルアミド濃度10%及び15%のゲルに添加して泳動した。マーカーとして、Promega製、たんぱく質分子量マーカーを使用した。

#### (7) アミノ酸組成<sup>6)</sup>

全アミノ酸：味噌約10~20 mgを試験管に秤取し、エチルエーテルで脱脂・乾燥後、6 N-塩酸で加水分解し、フェニルイソチオシアネートによるPTC化を行った。

遊離アミノ酸：味噌2 gに水20 mlを加え、超音波処理して溶解し、遠心分離した上澄みをPTC化した。

PTCアミノ酸を高速液体クロマトグラフ(HPLC)東ソーSC-8010により、和光純薬製専用カラム“WAKOPAK WS-PTC”及び溶離液を使用して測定した。濃度既知の標準試料を同様にPTC化、HPLC分析し、ピーク面積比から試料中の組成アミノ酸濃度を算出した。

#### (8) 香気成分

ヘッドスペースガスクロマトグラフ(HSV-GC)分析及びポーラスポリマー(Tenax-TA)による濃縮後、ガ

スクロマトグラフ-マススペクトル (GC-MS) 分析を行った。

HSV-GC 法は味噌 1g をバイアル瓶に採り、水 3ml 及び内部標準物質として n-アミルアルコール (濃度 100 mg/l) を加え、懸濁して、ヘッドスペースガスをサンプラー (ShimadzuHSS-3) で ShimadzuGC-14 A に注入した。カラムは、TC-WAX 0.32 mm×30 m (0.2 μm フィルム) (GL サイエンス製) を使用し、初期温度; 40°C, 昇温速度; 3°C/min., 最終温度; 210°C で、キャリアガスにヘリウムガス (2 kg/cm<sup>2</sup>), 検出器には水素炎イオン化検出器を使用して測定した。

Tenax-TA による香気成分の濃縮は鷲野ら<sup>7)</sup>の方法に従って行った。精製した Tenax-TA をカラムに詰め、このカラムに味噌 20g を水 80 ml に溶解し、低温で遠心分離した上澄みを約 1 ml/min で流し、香気成分を吸着させた。次いで、エチルエーテルを流して香気成分を脱着し、無水硫酸ナトリウムで脱水、常圧、40°C前後でエチルエーテルを留去して、香気成分濃縮物を得た。この濃縮物をエチルエーテル 1 ml に溶解し、GC-MS (HITACHI M-2500) 分析した。GC 分析は、上記と同様のカラムを使用し、初期温度; 40°C, 昇温速度; 5°C/min., 最終温度; 240°C で、キャリアガスにヘリウムガス (2 kg/cm<sup>2</sup>), 検出器に水素炎イオン化検出器を用いて行った。MS 分析では、EI イオン化法で、イオン化電圧 70 eV で測定した。

**実験結果及び考察**

**1. 未精麦ライ小麦麴の酵素活性及び試醸味噌の分析・**

**官能審査結果**

表 1 に 3 種類 (未処理, フードカッター破碎処理とパットライス試験機による膨化・α 化処理) の未精麦ライ小麦麴の酵素活性を示した。調製した麴はいずれもプロテアーゼ活性が予想外に高かった。しかし、それに比較して、アミラーゼ活性は低かった。また、パットライス試

験機による膨化・α 化後のライ小麦は水分含量が低く、製麴には加湿が必要であった。

フードカッター破碎処理未精麦ライ小麦麴を使用して仕込んだ味噌の発酵・熟成は順調に進行し、香りも良好であった。試醸した味噌の分析結果を表 2 に示した。たんばく質の溶解率 (水溶性窒素/全窒素), 分解率 (ホルモール窒素/全窒素) はそれぞれ, 63.8%, 30.3% と高く、旨味が強かったが、糖の分解率 (直接還元糖/全糖) は 59.4% と一般的な米味噌などの 80% 前後以上に比べるとかなり低かった。また、発酵・熟成後も種皮はあまり溶解せず、粒味噌では組成に影響した。0.8 mm 目のチョッパーによる濃し味噌は滑らかとなったが、麴のプロテアーゼ活性が高く、分解が進んだためと種皮が混入して着色が強かった。

**2. 80%精麦ライ小麦麴の酵素活性と試醸味噌の分析・官能審査結果**

ライ小麦の種皮は種子に比べてたんばく質含量が高く、食物繊維も豊富なので、未脱皮、未精麦で利用することを検討したが、発酵・熟成によっても種皮は溶解せず、製麴においても破精込みの妨げとなったので、歩留まり 80% 前後に精麦して使用した。

「麦味噌用」種麴はプロテアーゼ活性は高かったが、ア

**表 2 未精麦ライ小麦麴味噌の一般分析値**

水分	(%)	47.5
食塩	(%)	11.9
pH		5.19
酸度 I	(ml)	8.5
滴定酸度	(ml)	19.2
全糖	(%)	15.3
可溶性糖	(%)	9.10
全窒素	(%)	1.85
水溶性窒素	(%)	1.18
ホルモール窒素	(%)	0.56
色度 Y	(%)	13.22
x		0.40
y		0.39

**表 1 前処理と酵素活性との関係**

前処理		なし (種皮付き)	フードカッター破碎	パットライス
水分	(%)	28.6	24.9	29.1
菌体量	(mg/g)	1.8	3.2	0.7
グルコアミラーゼ活性	(U/g)	298.7	284.4	190.8
α-アミラーゼ	//	930.0	1,666.7	1,818.2
酸性プロテアーゼ	//	13,917.5	17,723.0	21,687.6
中性プロテアーゼ	//	6,368.9	12,436.1	16,957.6

ミラーゼ活性が低く、着色も強かったので、淡色系で、プロテアーゼ活性が中程度、アミラーゼ活性が高めの“九州純白”種麵を使用した。

(1) ライ小麦麵、混合麵と米麵

各麵の酵素活性を表3に示した。本試験では、ライ小麦麵に比べ、混合麵の活性が高めであった。

(2) 試醸味噌の熟成及び成分

熟成の指標とされる pH、酸度、水溶性窒素、ホルモール窒素、可溶性糖濃度などの変化から熟成度を判定した。仕込み時の pH は米味噌 5.7、混合味噌 5.6、ライ小麦味噌 5.6 であった。30°C に 1 週間保持後、25°C で熟成させたが、40 日後においても、pH はいずれも 5.3、酸度 I は順に 7.3、6.3、7.8、また、たんぱく質溶解率は 45.1、50.0、51.2% で分解・発酵が緩慢であることを示していた。そこで、温度を 30°C に上昇させた。その結果、後半は熟成が順調に進行した。

表4に試醸味噌の分析値を示した。通常、米味噌のたんぱく質溶解率は60%前後、たんぱく質分解率は20~25%前後、糖分解率は80%前後とされている。ライ

小麦味噌のたんぱく質溶解率、たんぱく質分解率、糖分解率は 65.7、31.3、82.8% と高い値を示した。米味噌のたんぱく質溶解率は低めであったが、糖分解率が高かった。

(3) SDS ゲル電気泳動

図1にライ小麦全粒、ライ小麦味噌、混合味噌と米味噌

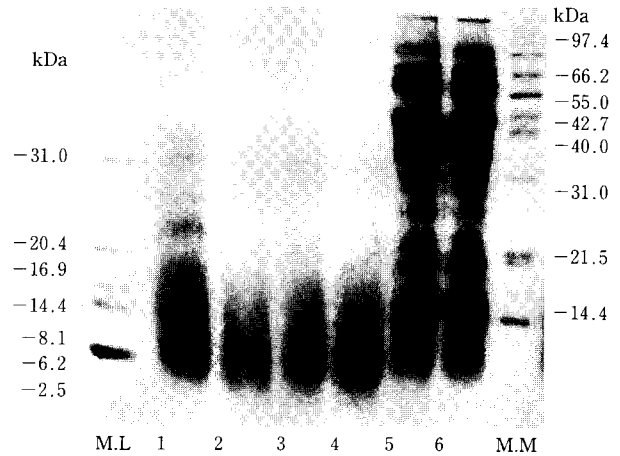


図1 SDS ゲル電気泳動

表3 麵の酵素活性

(U/g)

	グルコアミラーゼ	$\alpha$ -アミラーゼ	酸性プロテアーゼ	中性プロテアーゼ
米麵	319	490	2,512	2,136
米+ライ小麦麵	331	720	2,988	4,130
ライ小麦麵	304	600	2,159	2,571

表4 試醸味噌の一般分析値

	米 味 噌	混 合 味 噌	ライ小麦味噌
水分 (%)	49.4	49.7	48.9
pH	4.93	4.88	4.90
酸度 I (ml)	10.6	9.8	9.6
食塩 (%)	11.6	13.3	13.6
全窒素 (%)	1.64	1.64	1.66
水溶性窒素 (%)	0.99	1.03	1.20
ホルモール窒素 (%)	0.36	0.47	0.52
たんぱく溶解率 (%)	55.5	62.8	65.7
たんぱく分解率 (%)	22.0	28.3	31.3
全糖 (%)	16.2	14.0	14.5
可溶性糖 (%)	14.0	10.2	12.0
糖分解率 (%)	86.4	72.9	82.8
エタノール (%)	2.1	1.2	1.1
食物繊維 水不溶性 (%)	6.7	7.3	7.7
〃 水溶性 (%)	1.9	2.0	2.0
色度 Y (%)	18.9	23.1	22.7
X	0.43	0.42	0.42
Y	0.40	0.39	0.42

噌の SDS 電気泳動結果を示した。両端の M.L. と M.M. はそれぞれ低分子量、中分子量のたんぱく質マーカーである。1 は米味噌、2 は混合味噌、3 と 4 はライ小麦味噌、5 と 6 はライ小麦全粒のたんぱくバンドの泳動パターンである。ライ小麦全粒では低分子から高分子まで多数のバンドが見られたが、熟成後の味噌は低分子成分が多かった。米味噌では分子量 2~4 万前後にバンドが確認されたが、混合味噌及びライ小麦味噌では分子量 2 万前後以下に集中しており、窒素の溶解、分解率が高く、たんぱく質の低分子化、分解がより進んでいるものと考えられる。

(4) アミノ酸組成

味噌の全アミノ酸組成を図 2 に、遊離アミノ酸組成を図 3 に示した。本試験の結果では、全アミノ酸濃度は混合味噌が高く、旨味成分であるアスパラギン酸、グルタミン酸濃度が高かった。遊離アミノ酸はライ小麦味噌が全般に高く、アスパラギン酸、グルタミン酸とともにアラニン、プロリン、ロイシン、フェニルアラニンなども多く、特にプロリンの濃度が高かった。ライ小麦全粒のアミノ酸組成はグルタミン酸が  $20 \times 10^{-5}$  mole/ と最も高かったが、次いでプロリンが  $8.6 \times 10^{-5}$  mole/g 含まれており、そのためと思われる。

(5) 香気成分

本試験で試醸されたライ小麦味噌には、対照の米味噌

とは異なった特有の香りがあり、それがライ小麦味噌を特徴づけるものと思われた。食品の香気では 1 種ないし数種の特定の香気物質だけで香りを再現するのは非常に困難とされているが、米味噌とライ小麦味噌の香気成分に何らかの違いがあるものか、香気成分の分析を行った。

米味噌の香気成分については菅原ら<sup>9)</sup>によって、また、醤油の香気成分については横塚ら<sup>9)</sup>によって多数の成分が分離・同定されている。

各味噌の HSV-GC クロマトグラフィにより、多数のピークが検出されたが、表 5 に代表的な成分である酢酸エチル、エタノール、iso-アミルアルコールについて n-アミルアルコールとのピーク面積比から算出した濃度を示した。エタノールは F-キットで測定したよりも低い値となった。

味噌の香気は加熱により、容易に変化し、また、濃縮方法によって検出される成分が異なってくる。ポーラスポリマー (Tenax-TA) による濃縮は加熱操作がなく、水溶液中から香気成分を再現性良く濃縮することができるとされている。

濃縮成分の GC-MS 分析の結果、MS のライブラリーデータとの一致から、酢酸、1-ヘキサノール、マルトール、iso-アミルアルコール、フルフラールなどの成分含有

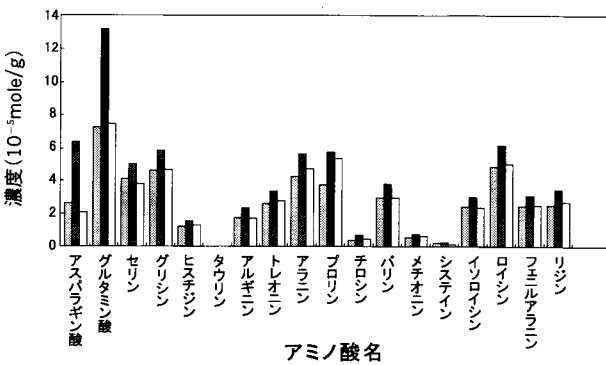


図 2 味噌の全アミノ酸組成

■ 米味噌 ■ 米+ライ小麦味噌 □ ライ小麦味噌

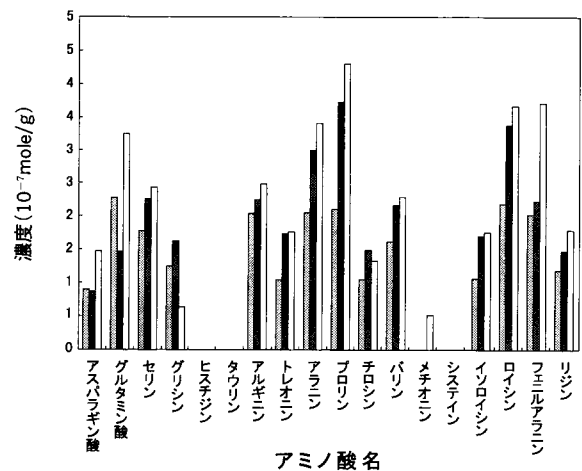


図 3 味噌の遊離アミノ酸組成

■ 米味噌 ■ 米+ライ小麦味噌 □ ライ小麦味噌

表 5 HSV-GC による味噌の香気成分

	米 味 噌	混 合 味 噌	ライ小麦味噌
酢酸エチル (ppm)	96	94	91
エタノール (%)	0.7	0.4	0.4
iso-アミルアルコール (ppm)	69	30	26

が推定された。大豆の蒸煮によって生成され、熟成前の味噌にも比較的高濃度で含有されるといわれているマルトール、iso-アミルアルコールは米、ライ小麦の両方の味噌に検出され、酢酸は米味噌のみに、1-ヘキサノールはライ小麦味噌に検出された。

また、ライ小麦味噌には発酵・熟成が進むと生成され、甘いケーキ様の香りを持ち、極微量で味噌、醤油特有の芳香を示すとされている HEMF (4-Hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone) の GC 保持時間、MS データと一致するピークが検出された。

#### (6) 官能審査

試醸したライ小麦味噌、混合味噌は香り高く、旨味と、こくがあった。香りは米味噌とは少し異なった特有の香りであった。80%精麦した場合にも、種皮は完全には溶解されず、粒味噌では少し評価を下げたが、漉し味噌では組成も滑らかであった。

### 要 約

未精麦のライ小麦と80%精麦したライ小麦を麴原料とした新規味噌の開発を行った。後者を用いた試験結果を要約する。80%精麦ライ小麦単独、80%精麦ライ小麦と米が(5+1)の混合物及び対照として米単独の3種類を麴原料として用い、種麴として、前2者では、ヒグチモヤシ“九州純白”を、後者では、ヒグチモヤシ“W-20”を使用した。次に、製麴して得られたライ小麦麴、混合麴と米麴を使い、味噌を試醸した。発酵・熟成経過及び熟成後の味噌の成分分析、官能審査を行った。その結果、ライ小麦味噌及び(ライ小麦+米)の混合味噌はいずれも、うま味やこくがあり、香りが高く、官能的にも良好

であったが、後者の味噌より前者の味噌の方がより特色のある味噌となった。これらの味噌は米味噌とは異なった風味をもち、米味噌よりたんぱく質の溶解率と分解率が高かった。

### 文 献

- 1) 国税庁所定分析法注解：日本醸造協会 (1981)
- 2) 五味勝也, 岡崎直人, 田中利雄, 熊谷知栄子, 他：醸協誌, **82**, 130 (1987)
- 3) 基準味噌分析法：全国味噌技術会 (1968)
- 4) 味噌の栄養成分分析法：全国味噌工業協同組合連合会 (1988)
- 5) Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., et.al: J. Assoc. of Anal. Chem., **71**, 1017 (1988)
- 6) 桑野和民, 酒巻千波, 三田村敏男：農化, **61**, 55 (1987)
- 7) 鷲野由紀, 久保田紀久枝, 小林彰夫：家政誌, **40**, 265, (1989)
- 8) 菅原悦子, 伊東哲雄, 小田切敏, 久保田紀久枝, 小林彰夫：農化, **64**, 171 (1990), 菅原悦子：日本食工会誌, **38**, 6, 491 (1991)
- 9) 横塚保, 佐々木正興, 布村伸武, 浅尾保夫：醸協, **75**, 516, 717 (1980)

### 謝 辞

この試験を行うに当たりまして、ライ小麦の提供、その他でご協力いただきました北海道農業試験場生産環境部の唐澤敏彦氏に感謝いたします。

また、香気成分の GC-MS 分析にご協力いただきましたセンターの清水英樹氏に感謝いたします。