

食塩が塩麴の加工プロセスと品質へ及ぼす影響の解明

長谷川 撰¹, 船越 吾郎²

¹あいち産業科学技術総合センター食品工業技術センター,

²あいち産業科学技術総合センター共同研究支援部

概要 家庭で作られる塩麴は室温で数週間寝かすことで製造される。一方、工業的には 50~60°C で数日間処理して製造されることがある。食塩を添加せずにこのような高温で処理すれば甘酒になるが、甘酒と塩麴を分ける具体的な食塩濃度は定義されていない。そこで本研究では、塩麴と甘酒の違いを明らかにするとともに、高品質な塩麴の製造条件を見出すこととした。

食塩量の違いが香りに与える影響を確認するため、塩麴と甘酒の官能評価を行ったところ、両者には識別可能なおいの差が認められた。また、におい識別装置を用いてにおいの評価を行ったところ、においは食塩濃度の変化に伴い連続的に変化していた。甘酒に食塩を添加してしばらく保存しても、塩麴のにおいに近づくことはなく、塩麴の風味の生成には消化の初期から食塩が存在していることが重要であることが分かった。

50°C で消化した場合、プロテアーゼ活性は食塩濃度が高いほど、 α -アミラーゼ活性は食塩濃度が低いほど低下しにくかった。消化により生成する直接還元糖量は食塩濃度あまり依存せず、アミノ態窒素量は食塩濃度が低いほど多くなる傾向が示された。

消化時の温度条件を 45°C~55°C の間で設定した場合、消化初期には温度が高いほど直接還元糖量、アミノ態窒素量が多くなる傾向が見られたが、その差はわずかであり、48 時間後にはその差はほとんどなくなった。 α -アミラーゼ活性は消化温度が高いと低下が著しく、プロテアーゼ活性は α -アミラーゼ活性ほど温度に影響されなかった。

また、45°C と 55°C とでは、官能的においの差が認められたが、45°C と 50°C、50°C と 55°C との間にはにおいの差は認められなかった。そのため、微生物の制御や製品の酵素活性を考慮して製造時に 5°C 程度の温度条件の変更を行っても、風味にはほとんど影響しないと考えられた。

塩麴を 5°C~35°C で保存した場合、35°C では α -アミラーゼ活性の低下が認められた。アミノ態窒素量については、5°C ではほとんど変化が見られないが、25°C、35°C では緩やかに増加し、温度が高いほど増加量が多かった。プロテアーゼ活性や直接還元糖量はどの温度においてもほとんど変化が見られなかった。

1. 研究目的

家庭で作られる塩麴は、麴に塩と水を加え、室温で数週間寝かすことで製造される。一方、工業的に製造される塩麴は、短時間で製造するために 50~60°C で消化することがある。このような高温での処理を行う場合、微生物汚染の心配がないため、食塩濃度を低くすることも可能である。食塩を添加せずに 50~60°C で消化すれば甘酒になるが、甘酒と塩麴を分ける具体的な食塩濃度は定義され

ていない。

そこで本研究では、塩麴と甘酒の違いを明らかにするとともに、食塩濃度を始めとする塩麴製造の諸条件が塩麴の品質に与える影響を解明し、高品質な塩麴の製造条件を見出すこととした。

2. 研究方法

2.1 塩麴および甘酒の調製

麴は乾燥麴(みやここうじ(バラ), 株式会社伊勢惣)を使用した。麴と水の割合は 3:5 とし、食塩濃度が 13.0%、11.1%、9.1%、7.0%、4.8%、2.4%となるよう食塩を添加して混合した後、45°C、50°C、55°Cで 4~96 時間保持して消化を行い、各食塩濃度の塩麴を調製した。食塩の添加量を 0%とし、同様に処理したものを甘酒とした。また、甘酒に食塩濃度が 13.0%となるように食塩を添加したものを食塩添加甘酒とした。

2. 2 酵素活性の測定

試料を 12,000 rpm、10 分間遠心分離し、上清と沈殿に分けた。沈殿には水を加えて懸濁し、同様に遠心分離した。上清を集めて定容し、再度遠心分離を行い、上清をろ過した。これを一定量取り、1 晩透析したものを定容し、酵素抽出液とした。

プロテアーゼ活性は基準みそ分析法¹⁾に示された方法を元に、酵素反応時間を 10 分間から 60 分間に改変して測定した。pH6.0 において 30°Cで 60 分間酵素反応を行った際に、1 分間に 1 µg のチロシンを遊離させる力価を 1 U とし、麴 1 g あたりで示した。

α-アミラーゼ活性は α-アミラーゼ測定キット(キッコーマンバイオケミファ株式会社)を用いて測定した。酵素抽出液は適宜希釈し、酵素反応は 37°Cで 10 分間行った。

2. 3 試料浸出液の調製

試料 10 g に約 100 mL の熱水を加えて加熱し、1 分間弱く煮沸し、ただちにろ過した。これを 250 mL に定容したものを試料浸出液とした。

2. 4 アミノ態窒素の測定

アミノ態窒素は試料浸出液を用いてホルモール滴定法により測定したホルモール窒素をアミノ態窒素とし、麴 100 g あたりの量として示した。

2. 5 直接還元糖の測定

直接還元糖は試料浸出液を用いてフェーリング・レーマン・シュール法で測定し、麴 100 g あたりのグルコース量として示した。

2. 6 官能評価

2 サンプル間のにおいの識別が可能かどうか評価するため、1 対 2 比較法で官能評価を行った。試料約 6 g を 90 mL 容のプラスチック容器に入れ、蓋をしたものをパネリストに提示した。

2. 7 におい識別装置による解析

麴として 3.75 g に相当する量の試料をにおい識別装置(株式会社島津製作所 FF-2020)を用いて分析を行い、任意の 2 つのガスを基準ガスとするユーザーモードでの解析を行った。

2. 8 塩麴と甘酒のにおいの評価

50°Cで 24 時間保持して調製した食塩濃度 13.0%の塩麴、甘酒、食塩添加甘酒および調製後に 35°Cで 2 週間保存した食塩濃度 13.0%の塩麴、食塩添加甘酒について、調製直後の食塩濃度 13.0%の塩麴と甘酒のヘッドスペースガスを基準ガスとして測定を行った。

2. 9 食塩濃度の違いが塩麴の品質に及ぼす影響

50°Cで 24 時間保持して調製した食塩濃度 13.0%~2.4%の塩麴、甘酒について、酵素活性、直接還元糖、アミノ態窒素の測定を行った。においについては、におい識別装置を用いて食塩濃度 13.0%の塩麴と甘酒のヘッドスペースガスを基準ガスとして測定を行った。また、食塩濃度 13.0%の塩麴と甘酒については、1 対 2 比較法でのにおいの識別を目的とした官能評価を行った。

2. 10 消化時間の違いが塩麴の品質に及ぼす影響

消化時間が塩麴の品質に与える影響を確認するため、食塩濃度 13.0%、7.0%の塩麴と甘酒を 50°Cで 4 時間から 96 時間消化し、酵素活性、直接還元糖、アミノ態窒素を測定した。

2. 11 消化温度の影響

消化温度が塩麴の品質に与える影響を確認するため、食塩濃度 13.0%の塩麴を 45°C、50°C、55°Cで 24 時間から 96 時間消化し、酵素活性、直接還元糖、アミノ態窒素を測定した。また、24 時間消化した塩麴について 1 対 2 比較法でのにおいの識別の官能評価を行った。

2. 12 保存中の品質変化

調製後の品質の変化を確認するため、食塩濃度 13.0%で 24 時間消化した塩麴を 5°C、25°C、35°Cで 12 週間保存し、酵素活性、直接還元糖、アミノ態窒素を測定した。

3. 研究結果

3. 1 塩麴と甘酒のにおい

50°Cで 24 時間保持して調製した食塩濃度 13.0%の塩麴、甘酒、食塩添加甘酒および調製後に 35°Cで 2 週間保存した食塩濃度 13.0%の塩麴、食塩添加甘酒のにおいをにおい識別装置で測定し、調製直後の塩麴または甘酒と

のにおいの類似度を比較した結果を Fig. 1 に示した。甘酒に食塩を添加することで甘酒とのにおいの類似度は 59%に減少したが、塩麴との類似度は 0%であった。また、食塩添加甘酒は 2 週間経過しても塩麴との類似度は 0%のままであり、さらに、甘酒との類似度も 22%に減少した。

3. 2 食塩濃度の違いが塩麴の品質に及ぼす影響

食塩濃度 13.0%~2.4%の塩麴および甘酒の α -アミラーゼ活性、プロテアーゼ活性、直接還元糖、アミノ態窒素を Fig. 2 および Fig. 3 に示した。 α -アミラーゼ活性、プロ

テアーゼ活性を麴と比較した場合、どの食塩濃度でもそれぞれ 85%以上、80%以上残存していた。直接還元糖の量は食塩濃度による違いはあまり見られず、麴 100g あたりグルコースとして 65~70 g であった。これは、麴由来の炭水化物がすべて糖類であると仮定すると、75%以上がグルコースに変換されている量である。アミノ態窒素は食塩濃度 13.0%では麴 100 g あたり 0.16 g であったが、食塩濃度が低いほど多くなり、甘酒では麴 100 g あたり 0.31 g であった。アミノ態窒素量の多かった甘酒であっても、アミノ態窒素は麴の全窒素(分析結果は示していない)の約 32

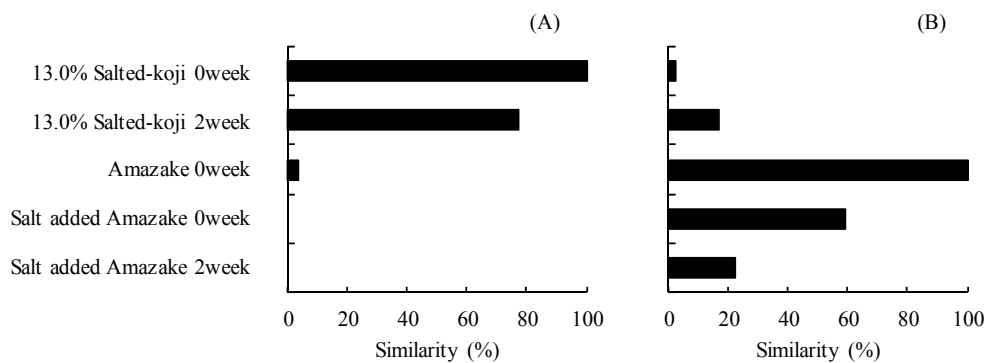


Fig. 1. Flavor similarity of salted-koji, amazake and salt-added amazake (A) Similarity to salted-koji containing 13.0% NaCl. (B) Similarity to amazake.

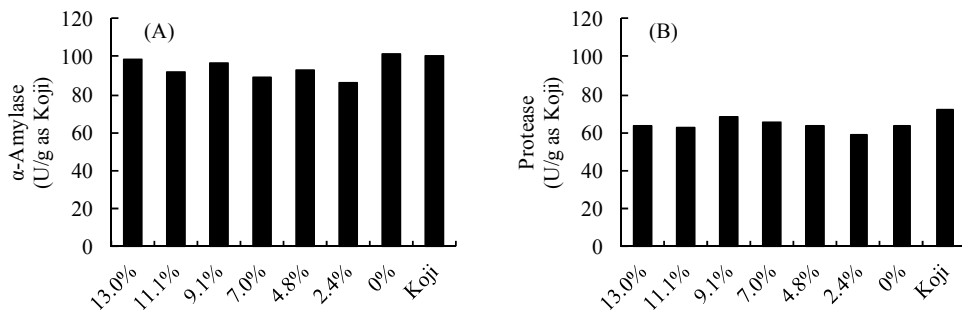


Fig. 2. α -Amylase and protease activity of salted-koji containing various amount of salt (A) α -Amylase activity. (B) Protease activity.

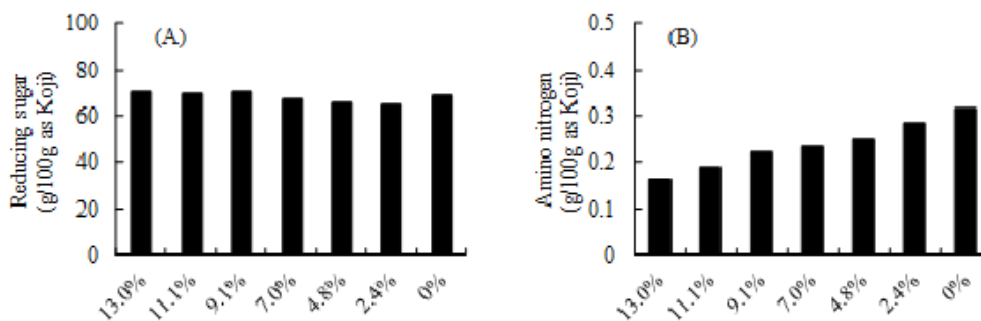


Fig. 3. Reducing sugar and amino nitrogen in salted-koji containing various amount of salt (A) Reducing sugar. (B) Amino nitrogen.

%であったことから、塩麹中にはアミノ酸まで分解されていないたんぱく質やペプチドなどの窒素成分が多く残存していると考えられた。

試料のおおいを、におい識別装置を用いて測定した結果を Fig. 4 に示した。食塩濃度が低くなるにつれ、食塩濃度 13%の塩麹とのにおいの類似度は小さくなり、甘酒との類似度が高くなった。においの類似度は食塩濃度に依存して変化していた。

食塩濃度 13.0%の塩麹と甘酒について 1 対 2 比較法でのにおいの識別の官能評価を行ったところ、のべ 40 名のパネリストのうち 31 名が正しいサンプルを選択し、 $p < 0.001$ でのにおいに有意差があることが確認できた。

3. 3 消化時間の違いが塩麹の品質に及ぼす影響

食塩濃度 13.0%、7.0%の塩麹と甘酒を 96 時間消化したときの、 α -アミラーゼ活性、プロテアーゼ活性、直接還元糖、アミノ態窒素の経時的な変化を Fig. 5 および Fig. 6 に

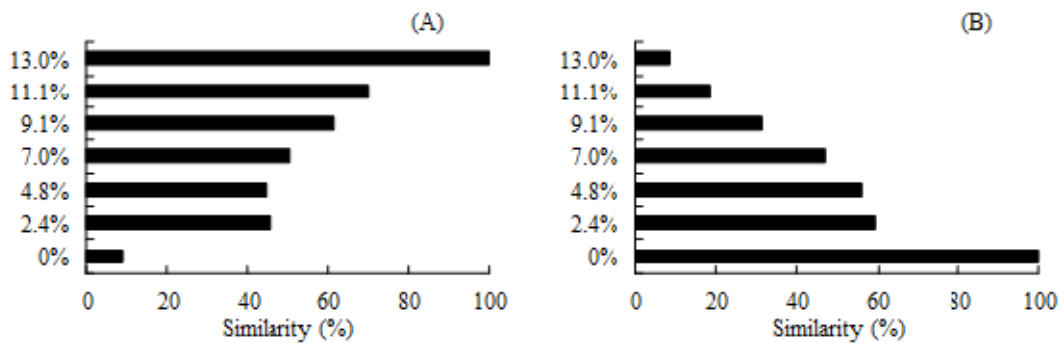


Fig. 4. Flavor similarity of salted-koji containing various amount of salt (A) Similarity to salted-koji containing 13.0% NaCl. (B) Similarity to amazake.

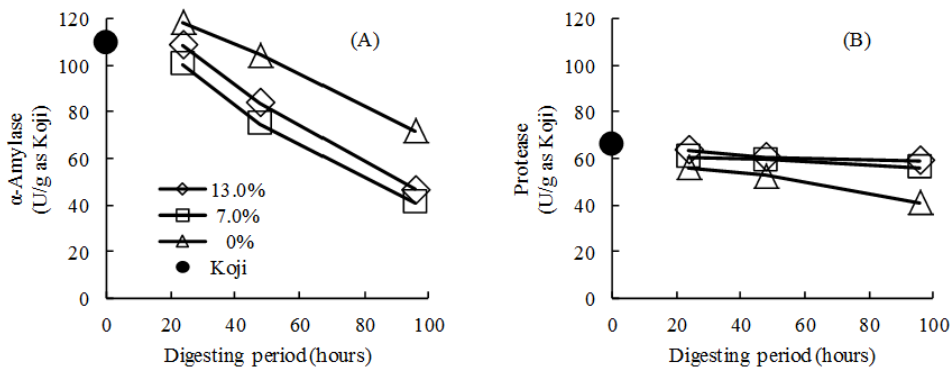


Fig. 5. Effects of NaCl on stability to enzyme activities of salted-koji and amazake (A) α -Amylase activity. (B) Protease activity.

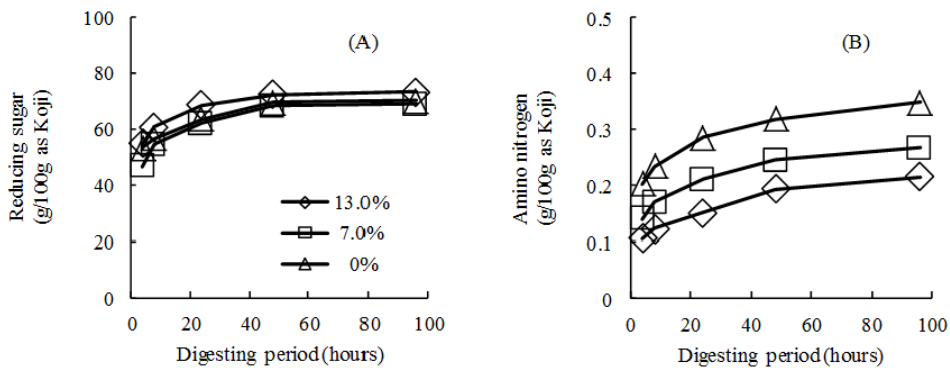


Fig. 6. Effects of NaCl on reducing sugar and amino nitrogen production in salted-koji and amazake (A) Reducing sugar. (B) Amino nitrogen.

示した。

麴の酵素活性を基準とした場合、 α -アミラーゼ活性は食塩濃度 13.0%、7.0%では 96 時間後には約 40%に低下していたが、甘酒では 65%以上残存していた。プロテアーゼ活性は 96 時間後には食塩を添加したものは 85%以上の酵素活性を有しており、甘酒は約 60%に低下していた。

直接還元糖は、食塩濃度 13.0%のものが他のものよりもやや多めに推移したが、その差はあまり大きくなく、いずれも 48 時間後にはほぼ最大値に達した。麴由来の炭水化物がすべて糖類であると仮定すると、48 時間後には 80%以上がグルコースに変換されていることになる。

アミノ態窒素はどの食塩濃度でも 96 時間後まで増加を続けていたが、時間経過とともに増加量は少なくなってい

った。また、食塩濃度が低いほど高い値となった。96 時間消化した甘酒のアミノ態窒素は全窒素の約 36%であり、消化時間を延ばしてもアミノ態窒素はあまり増加しなかった。

3. 4 消化温度の影響

食塩濃度 13.0%の塩麴を 45°C、50°C、55°Cで 24 時間から 96 時間消化したときの、 α -アミラーゼ活性、プロテアーゼ活性、直接還元糖、アミノ態窒素を Fig. 7 および Fig. 8 に示した。 α -アミラーゼ活性は 96 時間後において 45°Cでは麴 1 g あたり 108 Uであったが、55°Cでは 2 Uであり、ほぼ失活していた。プロテアーゼ活性は 96 時間後において 45°Cでは麴 1 g あたり 72 U、55°Cでは 52 Uであった。プロテアーゼ活性は消化温度が高いほど酵素活性が低下していたが、 α -アミラーゼ活性の低下と比べると穏やか

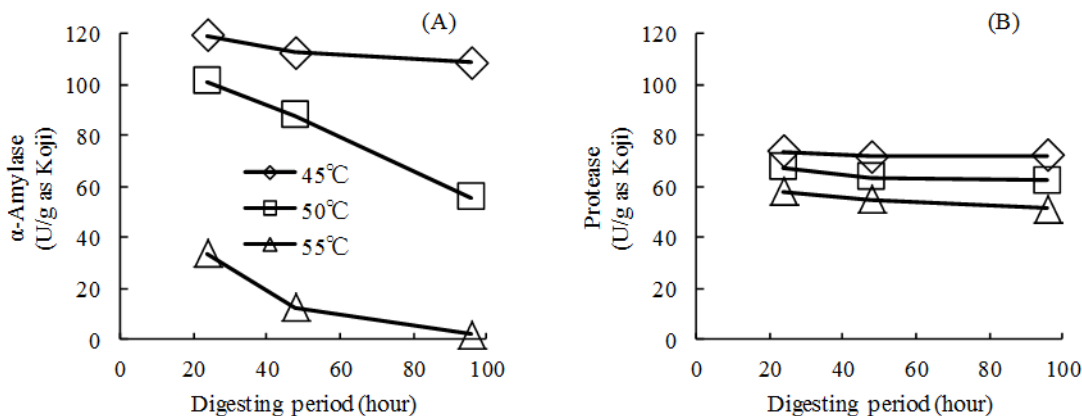


Fig. 7. Effects of digesting temperature on stability to enzyme activities of salted-koji

(A) α -Amylase activity. (B) Protease activity.

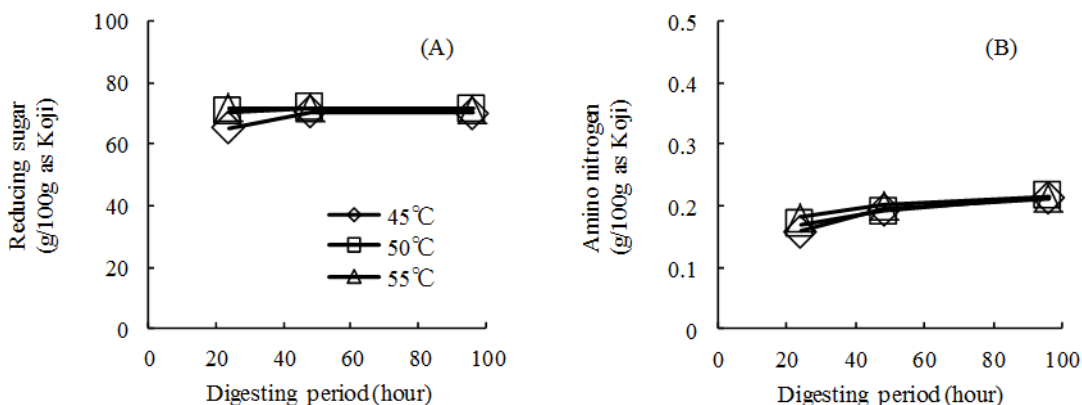


Fig. 8. Effects of digesting temperature on reducing sugar and amino nitrogen production in salted-koji

(A) Reducing sugar. (B) Amino nitrogen.

であった。直接還元糖は24時間後では45°Cで消化したものが他のものと比べてやや低い値となったが、48時間以上ではいずれも麴100gあたり70~72gとなり、ほとんど差がみられなかった。アミノ態窒素は24時間後では消化温度が高いほど多くなる傾向があったが、その差はごくわずかであり、時間の経過とともに差は小さくなり、96時間後には麴100gあたり0.21~0.22gとなった。

24時間消化した塩麴について1対2比較法での識別の官能評価を行った。消化温度45°Cと55°Cとの比較では、のべ30名のパネリストのうち21名が正しいサンプル

ルを選択し、 $p < 0.05$ において有意差があることが確認できた。45°Cと50°C、50°Cと55°Cでは正しいサンプルを選択したパネリストの数はのべ30名のうちそれぞれ15名、16名であり、において有意差はないと判定された。

3.5 保存中の品質変化

食塩濃度13.0%で24時間消化した塩麴を5°C、25°C、35°Cで4週間保存したときの、 α -アミラーゼ活性、プロテアーゼ活性、直接還元糖、アミノ態窒素を **Fig. 9** および **Fig. 10** に示した。

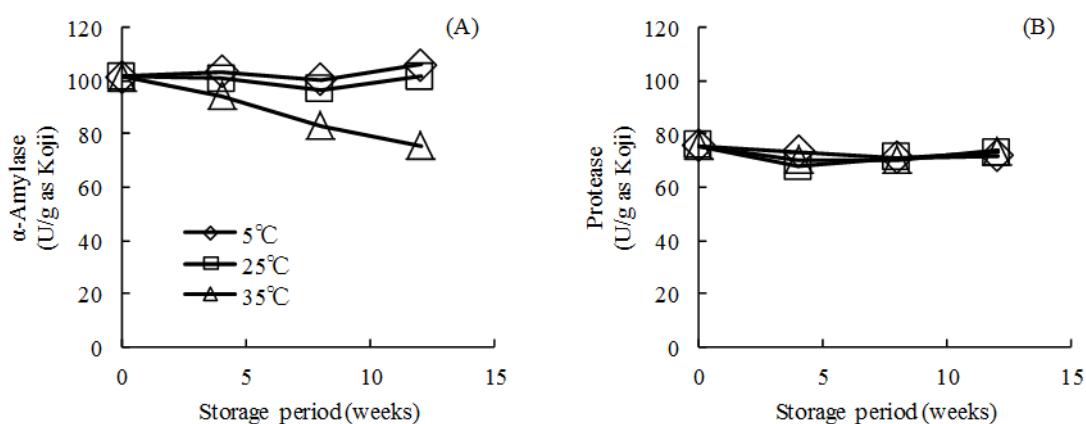


Fig. 9. Effects of storage temperature on stability to enzyme activities of salted-koji

(A) α -Amylase activity. (B) Protease activity.

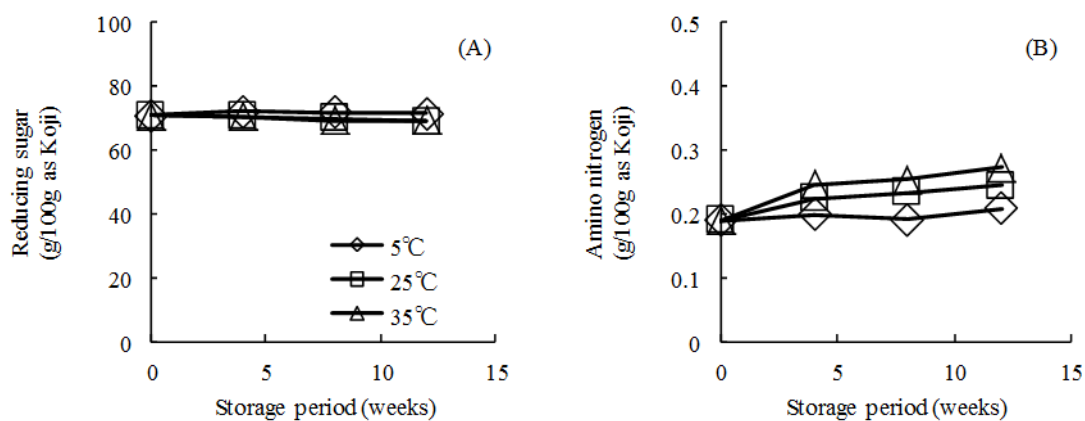


Fig. 10. Effects of storage temperature on reducing sugar and amino nitrogen production in salted-koji

(A) Reducing sugar. (B) Amino nitrogen.

調製直後の塩麴の α -アミラーゼ活性は麴 1 g あたり 102 U であった。5°C、25°Cでの保存では12週間後でも活性にほとんど変化はなかったが、35°Cでの保存では時間の経過とともに活性が低下し、12週間後には76 U となった。調製直後のプロテアーゼ活性は麴 1 g あたり 76 U であったが、いずれの温度で保存したのも活性の低下はほとんどなく、12週間で72~74 U であった。

直接還元糖はいずれの温度で保存したのもほとんど変化がなかった。調製直後のアミノ態窒素は麴 100 g あたり 0.19 g であり、時間の経過とともに増加した。温度が高いほどアミノ態窒素の増加は顕著であり、5°Cで保存したものは12週間後でも麴 100 g あたり 0.21 g であったが、35°Cで保存したものは0.27 g であった。

4. 考 察

食塩濃度 13.0%の塩麴と甘酒のにおいの官能評価で、塩麴と甘酒には識別可能なにおいの差があることが確認できた。におい識別装置による評価においても、甘酒は食塩の添加で塩麴のにおいに近づくことはなく、甘酒との類似度も小さくなった。これらの結果から、甘酒に食塩を添加することは、そのにおいを塩麴とも甘酒とも違うものにしてしまうと考えられた。塩麴のにおいを作り出すには、製造初期から食塩を添加することが重要であることが明らかとなった。また、塩麴と甘酒では、ある食塩濃度で劇的ににおいに変化するのではなく、連続的に変化していることが確認できた。

50°Cで消化した場合、食塩濃度 0%では消化時間が長くなるほどプロテアーゼ活性が低下する傾向が見られたが食塩濃度 7.0%、13.0%では96時間後でもほとんど低下しなかった。 α -アミラーゼ活性は食塩濃度が高いほど活性が低下しやすい傾向が確認された。また、直接還元糖は食塩濃度にあまり依存せず、アミノ態窒素は食塩濃度が低いほど多くなる傾向が示された。中島ら²⁾は55°Cで6~7時間糖化を行い、糖化後の Brix を比較することで食塩濃度が高いほど糖化が阻害されると述べている。今回の結果では、直接還元糖の量は食塩濃度に関係なくほぼ同じであったことから、食塩濃度が低い場合には、直接還元糖以外の物質が Brix の上昇に寄与していると思われる、そのような物質がにおいの違いにも関与している可能性が考えられた。

塩麴の調味効果は、含まれるアミノ酸や糖が旨味や甘味を付与する効果と、酵素が食材に作用し、物性を変化させたり旨味を生成したりする効果によると考えられる。そのため、塩麴由来のアミノ酸による調味効果や α -アミラーゼによる物性の変化や糖の生成を期待する場合は食塩濃度が低いほど有効であり、プロテアーゼによりたんぱく質を分解して食材を柔らかくしたり、旨味を引き出したりする場合には食塩濃度が高いほど有利であることが分かった。

熟成時の温度条件を45°Cから55°Cの間で設定する場合、24時間の消化時間では温度が高いほど直接還元糖、アミノ態窒素が高くなる傾向が見られたが、その差はわずかであり、48時間の消化時間ではほとんど差が見られなかった。酵素活性は温度が低いほど高く維持されており、 α -アミラーゼ活性を期待する場合にはできるだけ低い温度で消化する方が望ましいことが分かった。一方、プロテアーゼ活性は α -アミラーゼ活性ほど温度に影響されず、55°Cであれば96時間後でも十分に酵素活性が残存していた。前橋ら³⁾は55°C熟成では1日目までに直接還元糖およびホルモール窒素が急激に増加し、2日目以降はほとんど変化がなく、プロテアーゼ活性は6日間で大きな変化はなかったが、 α -アミラーゼ活性は55°Cでは3日目~5日目の間に著しい低下が見られたことを報告しており、今回の結果も同様の傾向を示していた。また、阿部ら⁴⁾は65°C、30分の殺菌でプロテアーゼ活性よりも α -アミラーゼ活性の失活が顕著であることを報告している。微生物の増殖を抑制する観点からは消化温度が高いほど有利であるが、 α -アミラーゼ活性の維持の面からは消化温度が低い方が有利である。45°Cから55°Cの範囲では、5°C程度の温度差では官能的ににおいの違いを認識できなかったことから、製品の酵素活性や微生物汚染を考慮して5°C程度の温度条件の変更を行ってもにおいなどの品質に影響を与えないと考えられた。

塩麴を5°C、25°C、35°Cで12週間保存した場合、35°Cでは α -アミラーゼ活性の低下が認められた。アミノ態窒素については、5°Cではほとんど変化が見られないが、25°C、35°Cでは緩やかに増加し、温度が高いほど増加量が多かった。これらのことから、流通温度が35°Cであると α -アミラーゼ活性の低下を招くため好ましくないが、25°C前後であれば熟成が進み、アミノ酸由来の旨味が増加していくこと

が期待できると考えられた。

5. 今後の課題

塩麴においては食塩濃度に依存して変化することが確認できたが、食塩濃度の違いでどのようなおい成分に違いが生じるのか不明である。味噌や醤油などの食塩を含んだ発酵食品についても、減塩化に伴いにおいの変化が生じている可能性が考えられる。今後、塩麴のにおい成分を明らかにし、その生成量の違いと食塩濃度との関連が分かれば、さまざまな発酵食品の風味と食塩との関連が明らかになると期待される。

6. 文献

- 1) 「みそ技術ハンドブック」基準みそ分析法、全国味噌技術会編 (1997)
- 2) 中島奈津子、大島健司、小野和広、石橋恒男、福島県ハイテクプラザ試験研究報告(平成 24 年度) 93-96 (2012)
- 3) 前橋健二、伊藤正貴、徐載薫、柳川雅美、田中由太郎、浅利妙峰、柏木豊、日本食品科学工学会第 59 回大会講演集 p.180 (2012)
- 4) 阿部真紀、小針清子、秋田修、実践女子大学生生活科学部紀要第 50 号、171-176 (2013)

Effect of Salt on the Salted-Koji Manufacturing Process and Quality

Osamu HASEGAWA¹, Goro FUNAKOSHI²

¹ Fermentation and Biotechnology Group, Food Research Center, Aichi Center for Industry and Science Technology

² Research Support Department, Aichi Center for Industry and Science Technology

Summary

Salted-koji is a seasoning which is made from koji, salt and water. The aging method of commercial salted-koji is to keep a few days at 50-60°C, whereas homemade salted-koji is kept longer period (a few weeks) at ambient temperature. The procedure of making amazake (Japanese traditional drink made from koji and water without salt) is similar to commercial salted-koji. So we decided to clarify the difference salted-koji from amazake and find optimum processing method of salted-koji.

By sensory analysis, there was a significant difference of aroma between salted-koji containing 13.0% NaCl and amazake ($p < 0.001$). The aroma among them changed continuously. The aroma of NaCl-added amazake was different from salted-koji, so generation of salted-koji flavor needs addition of NaCl before digesting of koji.

Protease activity of salted-koji prepared at 50°C which has higher NaCl concentration was kept higher, whereas α -amylase activity was lower. Production of reducing sugar was not affected by the concentration of NaCl. Salted-koji containing lower NaCl generated higher amino nitrogen.

When salted-koji was digested at 45-55°C, digesting temperature little affected generation of reducing sugar and amino nitrogen. α -Amylase was more deactivated by higher temperature. Effect of temperature on protease activity was weak. Stability of protease for temperature was higher than α -amylase.

Effect of storage temperature at 5-35°C was remarkable for α -amylase activity. α -Amylase activity was degraded at 35°C. Concentration of amino nitrogen was slightly increased at 25-35°C. Protease activity and concentration of reducing sugar weren't affected by storage temperature.

Digesting and storage temperature more affected α -amylase activity than protease activity. Therefore, to expect cooking effect of α -amylase, control of temperature during preparation and distribution is important.