

## 大豆テンペの香りプロファイルの発酵時間による変化

スプリアント  
九州大学農学部食品製造工学教室

早川, 功  
九州大学農学部食品製造工学教室

藤尾, 雄策  
九州大学農学部食品製造工学教室

<https://doi.org/10.15017/23360>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 46 (1/2), pp.9-15, 1991-10. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：

## 大豆テンペの香りプロファイルの 発酵時間による変化

スプリアント・早川 功・藤尾雄策\*  
九州大学農学部食品製造工学教室  
(1991年5月14日 受理)

### Changes of Tempeh Aroma in Fermentation Time

SUPRIYANTO, ISAO HAYAKAWA and YUSAKU FUJIO  
Laboratory of Food Processing, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University 46-02, Fukuoka 812

#### 緒 言

大豆を原料とし、スターターで適当な時間発酵した大豆テンペは、古来から伝わるインドネシアの伝統的大豆発酵食品 (Saono ら, 1982; Winarno, 1979) である。発酵は通常ラギと称する餅麴, または純粹分離したリゾープス菌をスターターとして, これを蒸煮大豆に接種して行われる。ラギにはテンペ用, タベ (インドネシア甘酒) 用, アルコール発酵用, など目的に応じたラギがあり, テンペ用のラギ (Hadisepoetro, *et al.*, 1979; Liem, *et al.*, 1977; Tanuwidjaja and Roestamsjah, 1985) も, インドネシア各地方, 各工場ですべて独特のものが使用されている。タベの香りに関する研究 (Suprianto, *et al.*, 1989) では, タベ用ラギに含まれる酵母 (*Endomycopsis*) がタベの香り生成に重要な役割を持つと報告されている。テンペ用ラギの微生物相については以前より研究 (Hasseltine *et al.*, 1963; Sorenson and Hasseltine, 1966) されており, 主要菌は *Rhizopus oligosporus* とされているが, リゾープス以外の糸状菌, 酵母, 細菌, などと共に構成されていると報告されている。大豆テンペの香り生成には, これら各菌も関係していると考えられる。大豆テンペの香りに関しては, *R. oligosporus* をスターターとした大豆テンペの香り成分の同定 (佐藤, 1988), *Rhizopus* 菌および各種ラギをスターターとした大豆テンペの香りに及ぼすスターターの特性 (スプリアントら, 1991) が報告されている。大豆テンペの

香り生成は, スターターの種類, 発酵時間, 温度などによっても変化するものと考えられ, 生成したテンペの香りは, テンペの品質を決定する一つの重要な因子と考えられるが, この点に関する研究はこれまでみられない。

本報告では2種の *Rhizopus* 菌と3種のインドネシア産ラギをスターターとして大豆テンペを製造し, その香りをガスクロマトグラフ (GC) 分析して生成した香りの GC クロマトグラムプロファイルの変化と発酵時間との関係を主成分分析法によって分析, 評価しようとするものである。

#### 材料と方法

**使用大豆:** アメリカオハイオ産の大豆を用いた。  
**スターター:** スターターは, 単菌として *Rhizopus* sp. QUM 186F (Sukara and Doelle, 1989), *R. javanicus* IFO 5442 の2種, ラギとしてインドネシア産, ラギ No. 1 (ボゴールのテンペ工場由来), ラギ No. 2 (ペカロンガン由来), ラギ No. 3 (国立栄養研究所由来), の5種を使用した。3種のラギはいずれも粉末状 (灰白色) にして使用した。  
**テンペ調製方法:** 大豆200gを室温で水道水に3時間浸した後, 十分の水を加えて20分間煮沸した。これを冷却し, 表皮を除去した後, 120°Cで20分間加圧蒸煮した。十分に水切した後, プラスチック袋に入れ, これにラギを0.2% (w/w) 接種した。*Rhizopus* 菌単独の場合には, 試験管斜面に十分成育した *Rhizopus* 菌に10mlの滅菌水を入れ, 十分攪拌して孢子・菌糸懸濁液を作り, この2mlを接種した。テンペの発酵温度は30°

\* Correspondent

Cとし、発酵時間は18, 22, 48時間とした。実験条件の異なる15種類のテンペ試料を調製したが、同一実験条件下で数個のテンペ試料を調製した。各試料の呼称、同一条件で調製した試料数は、リゾープステンペ、A1(6), A2(8), A3(6) (*R. sp.*, 186F 単菌をスターターとし、発酵時間 A1, 18時間; A2, 22時間; A3, 48時間; 6試料調製, 以下同様)、リゾープステンペ、B1(6), B2(7), B3(5) (*R. javanicus* IFO 5442), ラギテンペ C1(5), C2(6), C3(5), (スターター, ラギ No.1), ラ

ギテンペ D1(6), D2(5), D3(4) (ラギ No.2), ラギテンペ E1(6), E2(10), E3(6), (ラギ No.3) とし、全部で93個の試料を調製した。ヘッドスペースガスクロマトグラフ分析: 試料から香り成分の濃縮採取するダイナミックヘッドスペースガスクロマトグラフ分析は、下田らの報告 (Shimoda, *et al.*, 1984) を参考とし、*n*-octanol を内標準としたスプリアントらの報告 (スプリアントら, 1991) と同一条件で行った。検出された各ピークの面積は内標準ピーク面積に基づいた面積

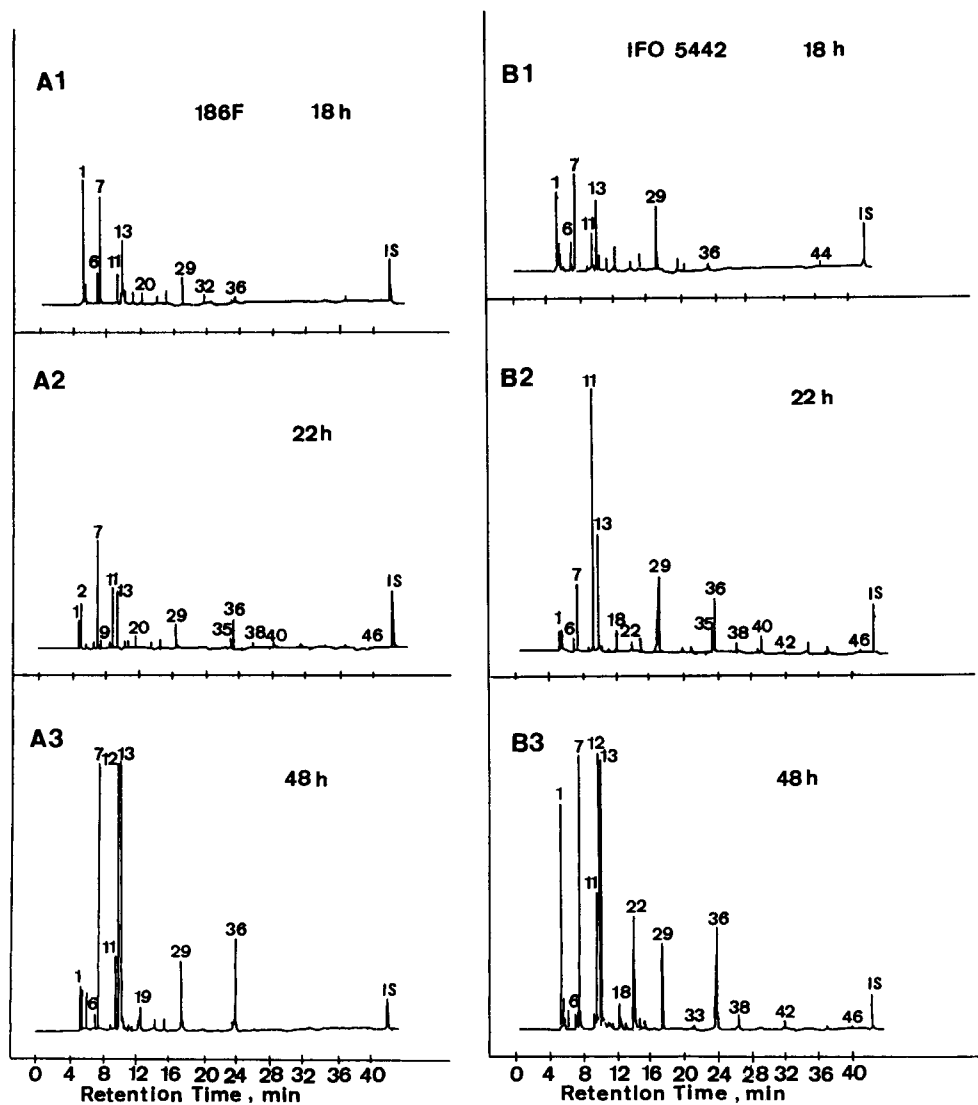


Fig. 1. Typical Chromatograms of *Rhizopus* Tempes  
*Rhizopus sp.* QUM 186F ; A1 (18 h), A2 (22 h), A3 (48 h)  
*Rhizopus javanicus* IFO 5442 ; B1 (18 h), B2 (22 h), B3 (48 h)

比で表示した。

**主成分分析：**Shimoda et al.の報告(1984)を参考にして、富士通 FACOM 380S(九州大学大型計算機センター)を使用し、富士通パッケージプログラム ANALYST(富士通, 1984)を使用して行った。

## 結果と考察

### 1. テンペ香り成分のガスクロマトグラム

リゾーステンペ A1, A2, A3; B1, B2, B3 のガスクロマトグラムの典型例を第1図に示した。各テンペとも時間経過に従ってピーク数, 大きさ, とともに増加する傾向が認められた。特に, 22時間から48時間にかけてピーク7, 12, 13, 36が顕著に増加した。同様に, ラギテンペの典型例を C1, C2, C3; C1, D2, D3; E1, E2, E3 のガスクロマトグラムを第2図に示した。ラギテンペ発酵18時間目および22時間目では, ピーク数, 大きさ共にラギテンペ D1, D2 が一番少なく, ついでラギテンペ C1, C2, ラギテンペ E1, E2 が最も多

かった。発酵48時間目では, いずれのテンペも大差はないが, 22時間目と比較すると, ピーク数, 大きさ共に増加した。

第1, 第2図から, リゾーステンペとラギテンペの香り成分を比較すると, 全体としてラギテンペの方が, 保持時間10分以下の低沸点成分に属するピーク数, 大きさ共に増加する傾向が認められるものの大差はなかった。双方のテンペとも, ピーク7, 12, 13, 29, 36の消長が発酵の時間経過に関係していると考えられる。

### 2. 主要成分ピークの平均面積比

発酵18, 22, 48時間のリゾーステンペ, ラギテンペ試料(合計, 15試料)より得られるガスクロマトグラム上の46ピークについて, 主要21ピークの平均面積比(同一条件で作った試料の各ピーク面積比の算術平均値)を第1表A(18時間発酵), B(22時間発酵), C(48時間発酵)に示した。ラギテンペE以外は, 全体として発酵18時間と22時間では平均面積比の変化は小さい

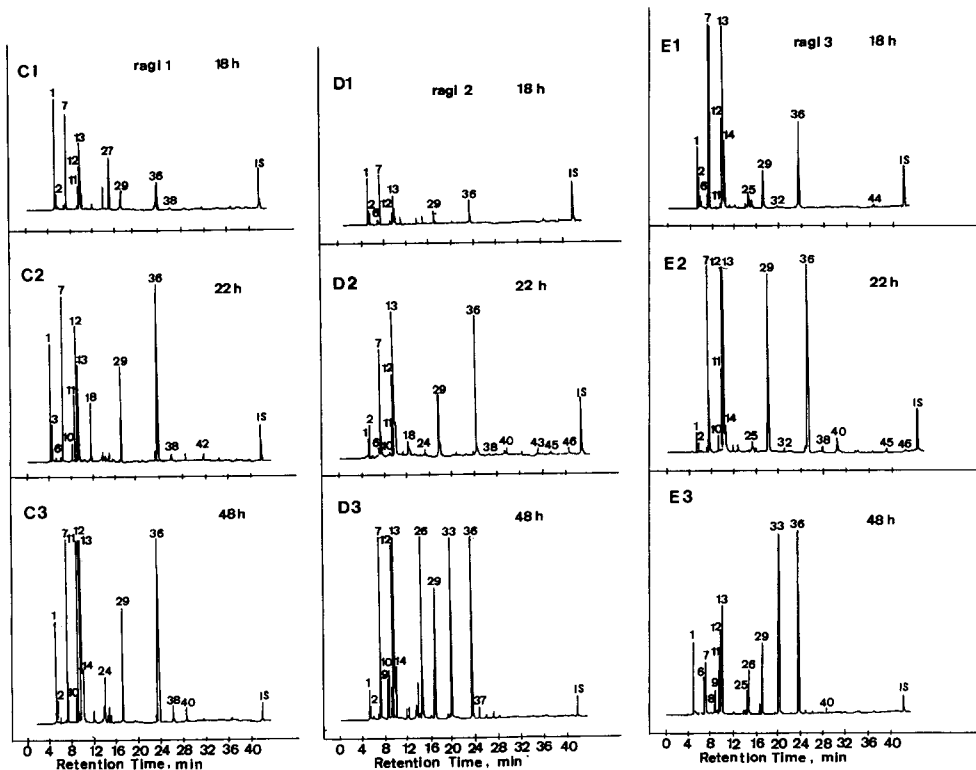


Fig. 2. Typical Chromatograms of Ragi Tempes

Ragi No. 1; C1 (18 h), C2 (22 h), C3 (48 h)

Ragi No. 2; D1 (18 h), D2 (22 h), D3 (48 h)

Ragi No. 3; E1 (18 h), E2 (22 h), E3 (48 h)

**Table 1-A** The Average Peak Area Ratio to Internal Standard of Major Aroma Components in Tempeh Fermented at 30 °C 18 h

Peak No.	186F	5442	Tempeh ragil	ragi2	ragi3
4	0.06	0.06	0.03	0.02	0.03
6	0.19	0.38	0.08	0.13	0.27
7	1.17	2.27	1.74	1.01	5.08
10	0.06	0.05	0.03	0.08	0.03
11	0.55	5.66	0.23	0.08	0.13
12	0.22	0.37	0.71	0.28	1.82
13	0.40	1.29	1.09	0.69	8.14
14	1.13	0.36	0.44	0.39	1.59
15	tr	0.09	tr	tr	tr
17	0.31	0.24	0.08	0.19	0.14
20	0.11	0.37	0.16	0.05	0.12
25	0.03	0.05	0.05	0.06	tr
27	0.28	0.37	0.62	0.02	0.27
29	0.41	1.10	0.55	0.48	1.45
33	0.09	0.08	0.04	0.04	0.04
34	0.18	0.15	0.03	0.08	0.05
35	0.13	0.12	0.10	0.07	0.11
36	0.64	0.47	1.29	0.69	3.48
40	0.04	0.05	0.06	0.05	0.03
42	0.06	0.04	0.06	0.07	0.05
44	0.09	0.14	0.07	0.10	0.11

**Table 1-B** (Con't) Major Aroma Components in Tempeh Fermented at 30 °C for 48 h

Peak No.	186F	5442	Tempeh ragil	ragi2	ragi3
4	0.02	0.02	0.04	0.03	0.10
6	0.10	0.12	0.08	0.11	0.22
7	1.49	1.22	3.90	1.83	11.82
10	0.03	0.02	0.96	0.08	0.62
11	0.98	3.99	2.20	1.03	2.85
12	0.61	0.62	2.78	1.14	8.55
13	0.77	1.86	2.68	2.03	14.40
14	0.11	0.04	0.22	0.10	1.94
15	0.03	tr	0.09	0.02	0.13
17	0.06	0.13	0.08	0.09	0.19
20	0.12	0.60	tr	0.08	0.14
25	0.02	0.04	0.16	0.08	0.58
27	0.07	0.13	0.06	0.06	0.26
29	0.52	1.54	3.34	1.74	6.69
33	0.04	0.01	0.03	0.03	0.04
34	0.04	0.05	0.06	0.05	0.05
35	0.27	0.62	0.16	0.16	0.10
36	0.96	1.02	9.59	4.28	27.09
40	0.07	0.14	0.43	0.10	0.52
42	0.08	0.05	0.10	0.05	0.09
44	0.07	0.14	0.08	0.08	0.13

**Table 1-C** (Con't) Major Aroma Components in Tempeh Fermented at °C for 22 h

Peak No.	186F	5442	Tempeh ragil	ragi2	ragi3
4	0.16	0.06	0.05	tr	0.01
6	0.21	0.44	0.20	0.17	0.73
7	4.35	6.08	13.61	8.18	4.63
10	0.06	0.73	1.14	1.46	0.81
11	1.27	5.84	9.81	0.88	0.96
12	4.29	9.29	17.87	9.83	5.00
13	10.14	12.33	7.34	7.70	10.84
14	0.24	0.94	2.90	1.62	3.01
15	0.13	0.23	0.48	tr	tr
17	0.08	0.22	0.01	0.06	0.06
20	0.38	1.26	0.57	0.41	0.30
25	0.03	0.44	0.46	0.33	0.89
27	0.02	0.01	0.31	0.24	0.12
29	1.83	4.98	6.09	5.71	5.04
33	0.04	0.07	0.23	15.01	10.37
34	0.06	0.12	0.06	0.09	0.06
35	0.06	0.24	0.08	0.07	0.12
36	2.97	6.93	33.03	15.57	15.47
40	0.09	0.18	1.51	0.32	0.18
42	0.04	0.27	0.06	0.06	0.08
44	0.08	0.19	0.17	0.11	0.08

が、22時間を経過して48時間になると、殆どのピーク平均面積比は急激に増大した。この事実はテンペ発酵が22-48時間の間に不連続的に変化する、つまり発酵に関係している菌群の変遷が起こるのではないかと推定される。特に、発酵の消長の指標と考えたピーク7、12、13、29、36の平均面積比は特に変化が著しかった。ラギテンペEの場合は、その他のテンペと異なり、これらピーク平均面積比の発酵時間に対する変化が18時間から22時間の間に認められ、ピーク7、12、13、36の平均面積比は、発酵22時間から48時間の間に減少している。この事実は、ラギ No.3の特性がその他のスターターと異なることを意味している。

### 3. 主成分分析

発酵時間、スターターの種類、同一条件で作った試料の個数、合計個数96個のテンペ試料について、それぞれ46の主要ピークの面積比を得た。まず、この46ピークを変数とし、相当する面積比を多変量データとして用いた。まず、各ピークの第1主成分に対する因子負荷量を計算し(第2表)、面積比の大きさに拘わらず、因子負荷量の値が±0.5以上の12ピーク、即ち、ピーク7、10、11、12、13、14、15、25、29、33、36、40を変数として選択し、改めて主成分分析を行った。第1主成分に全情報の66.5%が、第2主成分に18.1%

**Table 2.** Factor Loading of 46 Peaks on The First and Second Principal Component

Peak No.	PC1	PC2	Peaks No.	PC1	PC2
1	0.569	-0.382	24	0.625	-0.087
2	0.700	-0.311	25	0.743	-0.172
3	-0.097	-0.270	26	0.367	0.835
4	0.131	-0.450	27	-0.154	0.100
5	0.575	-0.313	28	0.504	0.670
6	0.440	0.043	29	0.915	0.155
7	0.894	0.032	30	0.099	0.239
8	-0.447	-0.035	31	0.600	0.596
9	0.338	0.818	32	0.110	0.303
10	0.821	0.428	33	0.350	0.885
11	0.690	-0.467	34	0.118	-0.104
12	0.959	0.040	35	-0.158	-0.302
13	0.778	-0.021	36	0.825	0.107
14	0.767	0.258	37	0.304	0.856
15	0.738	-0.480	38	0.864	-0.330
16	0.542	-0.644	39	0.491	0.646
17	-0.220	-0.395	40	0.746	-0.084
18	0.129	0.213	41	0.797	-0.457
19	0.335	-0.343	42	0.483	-0.408
20	0.663	-0.235	43	-0.255	-0.149
21	0.469	0.620	44	0.696	-0.432
22	0.602	-0.061	45	-0.406	0.028
23	0.767	-0.280	46	0.576	-0.448

PC1; first principal component,  
PC2; second principal component

(第3主成分, 5.8%), 都合84.6%が第1, 第2主成分に要約された。第3図Aに, 第1, 第2主成分を2軸とする平面上に各テンペ(スターター5種類, 発酵時間3種類の15種)の主成分得点をプロットした散布図を示した。それぞれの主成分得点が相対的なテンペの香りの質の相違を示すものとする, 発酵時間に関しては, 第3図AからラギテンペC, E以外のテンペは発酵18時間目と22時間目の香りの質は大差なく, 発酵48時間目に至ってから香りの質が大きく変化することがわかる。リゾープステンペAは48時間までの発酵時間に対する香りの質の変動が最も少なく, 安定しているといえる。これに対して, ラギテンペC, Eは発酵時間に対する香りの質の変動が最も大きく, 不安定な発酵をしていると考えられる。

選択した12ピークの妥当性と各ピークの主成分との相関関係を知るため, それぞれのピークの因子負荷量を同様にプロットし, 散布図を第3図Bに示した。第3図Bから, 選択した12ピークは妥当と考えられる。各因子負荷量はピーク33のみが第2主成分に正に高い

負荷を示し, ピーク11, 15は第1主成分に正で, 第2主成分に負の負荷を示している。この事実と第1表の結果とを併せて検討すると, ピーク33はラギテンペEに独特の香り成分と考えられる。また, ピーク25はラギテンペの香りに影響を及ぼす成分と考えられる。同様に, ピーク11はリゾープステンペの香りに影響を与える成分と考えられる。ピーク29, 36は各テンペにおいて発酵経過時間に伴って生成する香り成分と考えられる。

#### 4. 変動係数による検討

第3表に主成分分析で選択した12ピークについて, 5種のスターターと3種の発酵時間について得られた全ての平均面積比から計算した標準偏差とおよび変動係数を示した。示した変動係数には, 本実験条件の範囲内すべてに対する変動とみなされる。従って, スターターの種類, 発酵時間, 個別の変動を示すものではない。これら変動係数の大きさからすると選択した12ピークはテンペ調製条件に応じてかなりの変動が認められる。つまり, テンペの調製条件(スターター種類, 発酵時間)に従って, 生成する香りが異なることを意味している。

## 要 約

大豆テンペ発酵では, スターターがリゾープス菌単独, ラギ, 双方の場合とも発酵時間に依存して香りのガスクロマトグラム上のピーク数, 大きさのプロファイルが変化した。プロファイル変化の程度は使用したスターター種に依存した。主成分分析により, スターターにリゾープス菌を単独のテンペと, ラギのテンペの香りの質はガスクロマトグラム上で特定される数個のピークで区別できた。主成分分析の結果から, 5種のテンペスターターの間では, 発酵時間18時間までは, ほぼ同質の香りとみなされるが, 時間の経過と共に, それぞれ異質で独特の香りに分離した。主成分分析法はテンペの香りの分析成分との特徴づけに有効であったが, 使用した5種のスターターに由来する各発酵時間で調製したテンペの官能検査による香り各スターター間の関係を明確にするまでには至らなかった。

## 文 献

- 富士通 1984 *FACOM OSIV ANALYST*  
Hasseltine, C. W., S. Smith, B. Bradle and K. S. Djien 1963 Investigation of tempeh, an Indonesian food, *Develop, Ind, Microbiol.*, 4: 275-287

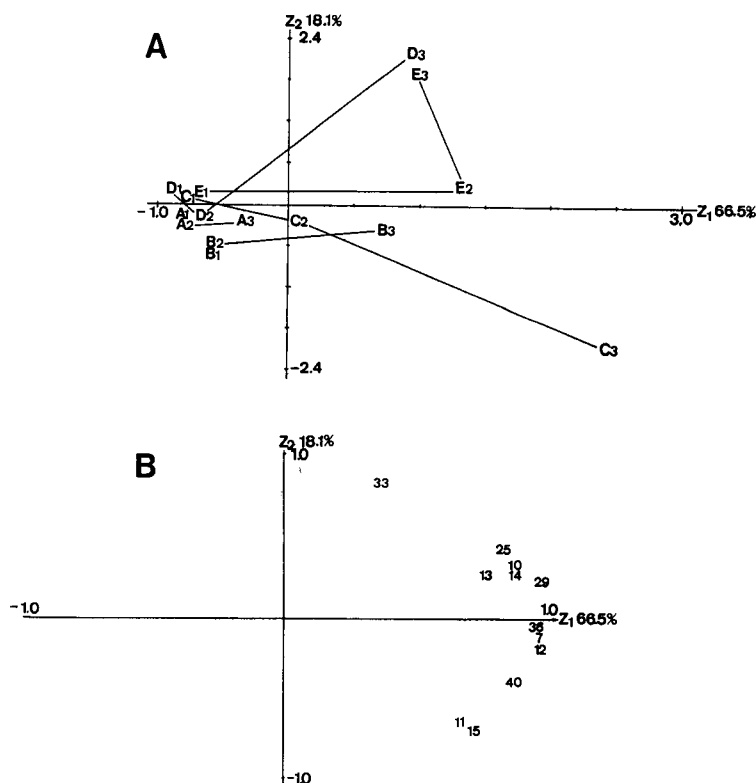


Fig. 3. Scattergrams of 15 Samples of *Rhizopus* and Ragi Tempes at Various Fermentation Temperatures (3-A), and Scattergrams of Factor loading (3-B)

3-A; A, *Rhizopus* sp. QUM 186F; B, *Rhizopus javanicus* IFO 5442; C, Ragi No. 1: Ragi No. 2, Ragi No. 3 (Subscript: 1, 18 h; 2, 22 h; 3, 48 h).

3-B; Each figures corresponded to peak number.

Table 3. Mean value, Standard Deviation and Coefficient of Variation of Twelve Selected Peaks

Peak No.	Mean	S. D.	C
7	4.34	4.00	0.92
10	0.41	0.50	1.21
11	2.44	2.78	1.14
12	4.15	5.15	1.24
13	5.00	5.00	1.00
14	0.92	1.00	1.00
15	0.09	0.13	1.44
25	0.22	0.26	1.19
29	2.71	2.35	0.87
33	1.74	4.53	2.63
36	8.27	10.23	1.24
40	0.25	0.39	1.50

S. D.; standard deviation, C; coefficient of variation.

Hadisepetro, E. S. S., N. Takada and Y. Oshima 1979 Microflora in ragi and usar. *J. Ferment. Technol.*, **57**: 241-259

Liem, I. T. H., K. H. Steinkraus and T. C. Cronk 1977 Production of vitamin B-12 in tempeh, a fermented soybean. *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**: 773-776

Sorenson, W. G. and C. W. Hasseltine 1966 Carbon and nitrogen utilization by *Rhizopus ologosporus*. *Mycologia*, **58**: 681-689

Saono, J. K. D., 細野明義, 友松篤信 1982 インドネシアにおけるラギとその発酵食品への応用. *日食工誌*, **29**: 685-692

Shimoda, M., K. Wada and Y. Osajima 1984 Effect of temperature of headspace trapping apparatus on quantification of coffee volatiles. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **31**: 805-809

佐藤朗好 1988 無塩発酵大豆「テンペ」の香気成分.

- 高砂香料時報, No. 95 : 21-28
- Sukara, E. and H. W. Doelle 1989 A onestep process for the production of single-cell protein and amyloglucosidase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 30 : 135-140
- Supriyanto, R. Ohba, T. Koga and S. Ueda 1989 Liquefaction of glutinous rice and aroma formation in Tape preparation by rage. *J. Ferment. & Biotechnol.*, 67 : 249-252
- スプリアント, 早川 功, 藤尾雄策 1991 各種スターターより調製したテンペの香りプロファイルとその主成分分析. *発酵工学*, 69 : 331-336
- Tanuwidjaja, L. and Roestamsyah 1985 Preparation and utilization of powder form inoculum for tempe fermentation. *Asean Food Journal*, 1, 21-24 (1985)
- Winarno, F. G. 1979 Fermented vegetable protein and related foods of southeast asia with special reference to Indonesia. *JAOCS*, 56 : 363-366

### SYNOPSIS

The aromas of tempehs, fermented by single *Rhizopus* strain or ragi as starter, were obviously dependent on the fermentation time since the profiles of volatile components shown by gas chromatographic analysis were markedly altered on the later stage of tempeh fermentation. The extent of the variations in the gas chromatograms peak profiles were also considerably influenced by the kind of starter used. Some of the peaks exhibited by the different starters, specified for principal component analysis (PCA), were definitely variable on the gas chromatogram. As a result of the PCA, 5 kinds of starters used seemed to be yielding almost the same aroma up to 18 h of fermentation time, but after that, with the continuance of fermentation, the tempeh aromas produced by different starters, contrasted each other. It was then deduced that PCA could be a useful tool for the characterization of tempeh starter using the aroma determined with a gas chromatograph. However, it was not feasible to correlate the connection of the aroma characterization of tempeh by PCA and by sensory test.