

大豆テンペの香りプロフィルの発酵温度による変化とその主成分分析

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/10.15017/23361>

出版情報：九州大学農学部学芸雑誌. 46 (1/2), pp. 17-22, 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ィルの発酵温度による変化とその主成分分析

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 Temperature

Supriyanto, ISAO HAYAKAWA and YUSAKU FUJIO

Laboratory of Food Processing, Faculty
of Agriculture, Kyushu University 46-02,
Fukuoka 812

緒 言

インドネシアの伝統的発酵食品の一つであるテンペに関して、これまで主に原料となる大豆に含まれる物質変化、栄養学的見地から多くの研究 (Wagenknecht ら, 1961; Stilling ら, 1965; 松本, 今井ら, 1990; 藤尾ら, 1990) がなされてきた。これら多くの成分変化に関する研究とは別に、テンペの香りに関する研究として、発酵温度と生成する香りプロファイル (Moroe ら, 1988)、テンペの香りプロファイルから使用したスターターの特徴づけ (スプリアントら, 1991)、が報告されている。しかし、テンペの香りの発酵温度依存性およびスターターの種類についての相互関係についてはいまだに明確にされていない。

本研究は、インドネシア由来の5種類のラギより分離した5種のリゾープス菌をスターターとして、種々の発酵温度の下でテンペを調製し、各テンペの香りの成分分析を行い、その結果を主成分分析による特徴づけによってスターター、発酵温度、生成する香り、3者の相互関係を解析しようと試みるものである。

材 料 と 方 法

1. 使用大豆：アメリカオハイオ産の輸入大豆を用いた。
2. スターター：インドネシア由来の種麴である4種類のラギから平板培養法により分離したリゾープス、

LKN, UM, CJ, WJ とオンチョムより分離したリゾープス, ON の5種のリゾープスをスターターとした。

3. テンペ調製：テンペは既報 (Sukara ら, 1988) の方法に従って調製したが、発酵温度は 30, 35, 37°C の3種とした。サンプルとして調製したテンペの呼称と同一のスターターから各温度で調製したテンペサンプルの個数は：テンペ LKN, 30°C が6個, 35°C が4個, 37°C が4個；テンペ UM, 30°C が4個, 35°C が4個, 37°C が4個；テンペ CJ, 30°C が5個, 35°C が4個, 37°C が4個；テンペ WJ, 30°C が4個, 35°C が5個, 37°C が4個；テンペ ON, 30°C が4個, 35°C が4個；の合計60個のテンペサンプルを調製した。調製したテンペサンプルは既報 (Sukara ら, 1988) の方法によって微粉化して分析に使用した。

4. 香り成分分析試料の濃縮採取とそのダイナミックヘッドスペースガスクロマトグラフ分析：香り成分の濃縮採取は既報 (Sukara ら, 1988; Wada ら, 1987) に従い、同様に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既報 (Wada ら, 1987) に従って行った。本法において、内標準物質には *n*-octanol を使用し、分析結果は、検出ピーク面積の内標準面積に対する比を面積比として表示した。同一スターターによって繰り返し調製したテンペサンプルについて、各サンプルから得られる面積比をサンプル数で除した算術平均値を平均面積比として表示した。

5. 主成分分析：ガスクロマトグラムピークよりの平均面積比を多変量データーとし、主成分分析は既報 (和田ら, 1989) の方法に従って、計算は富士統計パ

* Correspondent

パッケージプログラム, ANALYST (富士通, 1984) により, 九州大学大型計算機センター (FACOM 360 S) において行った。

結 果

1. 発酵温度とガスクロマトグラム

第1図, A (テンペ LKN), B (テンペ UM), C (テンペ CJ) より得られたガスクロマトグラムの香り成分プロファイルを代表例として示した。第1図において, a は 30°C, b は 35°C, c は 37°C で発酵したテンペの香りプロファイルを示している。テンペ ON, WJ についてもほぼ同様の結果が得られた。香り成分は低沸点成分のピークより順に番号づけを行った結果, 主要ピーク数は 54 個であった。発酵温度 30°C を基準として 35°C の場合を比較すると, 35°C におけるピーク番号 7, 11, 12, 16, 25, 26, 35 の成分の増加が 5 種のテンペ共に認められたが, ピーク 22 のみが逆に減少した。同様に 37°C の場合, テンペ ON 以外のテンペにおいて

ピーク数, ピーク面積ともに減少する傾向にあるが, テンペ UM のみがピーク 37, 40 の大幅な増加が観察された。

2. 平均面積比とテンペ香りに対する発酵温度の影響

第1表に 5 種類のスターターによるテンペの各温度について得られた主要 13 ピーク (テンペ調製条件で変動の大きい成分ピーク) の平均面積比を示した。ここで, ピーク平均面積比をパラメーターとした発酵温度に対して相互比較するため, 各温度について, スターターの種類によるピーク平均面積比の標準誤差をその平均値 (代表値) で除した値 (変動係数, 第2表) を計算して比較した。一定発酵温度の下で与えられる標準偏差の大きさがスターターの相異によるピーク変動の指標と考え, 計算した 13 ピークの変動係数の大きさを発酵温度に対して比較すると, 発酵温度 37°C の場合が 13 ピークの内 10 ピークの変動係数が最大の値をとり, 最もピーク数が多い。このことは, 37°C で調製し

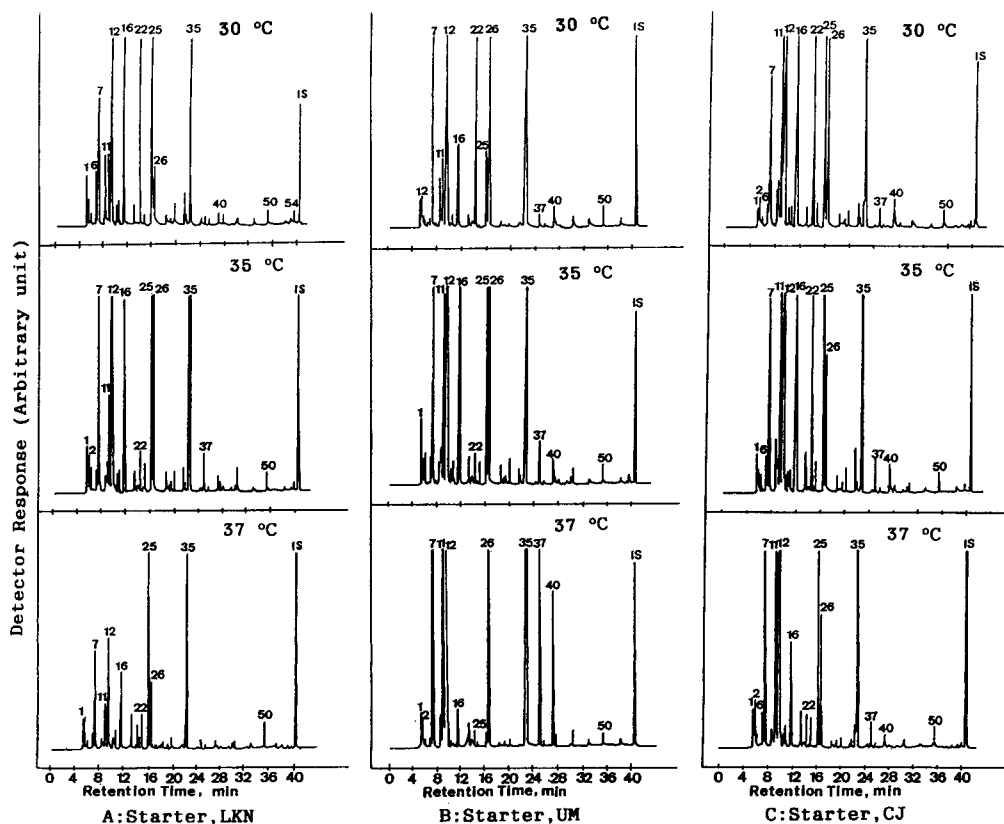


Fig. 1. Typical Gas Chromatograms of Headspace Volatile Aroma Compounds from Tempehs (Starter, A: LKN, B: UM and C: CJ) at 30, 35 and 37 °C for 24 h.

Table 1. The Average Ratios of Major 13 Peaks to Internal Standard Peak of Five Kinds Temeph at Various Fermentation Temperatures

Peak No.	LKN			CJ			ON		WJ			UM		
	30	35	37	30	35	37	30	35	30	35	37	30	35	37
6	0.19	0.12	0.04	0.12	0.31	0.21	0.30	0.37	0.01	0.01	0.01	0.04	0.21	0.03
7	0.93	1.66	0.23	1.16	1.90	1.33	1.74	1.70	2.00	2.48	2.42	0.94	1.68	1.24
11	0.57	0.79	0.17	1.11	3.49	2.60	1.67	2.58	1.38	1.60	1.59	0.59	1.65	0.44
12	2.33	3.86	0.49	1.72	5.41	3.49	6.08	6.46	6.02	8.38	7.64	3.34	8.69	1.23
14	0.16	0.14	0.04	0.09	0.24	0.11	0.11	0.16	0.11	0.14	0.10	0.03	0.19	0.02
15	0.18	0.15	0.05	0.10	0.20	0.12	0.11	0.22	0.18	0.12	0.09	0.06	0.18	0.01
16	1.30	1.55	0.30	1.45	3.07	0.83	1.11	3.27	0.94	1.56	0.66	0.87	1.33	0.13
22	1.72	0.18	0.04	1.85	1.98	0.18	2.86	0.16	1.80	1.10	0.13	1.38	0.23	0.08
25	2.31	2.07	0.62	1.62	3.58	1.33	2.74	5.47	1.83	2.31	1.32	0.42	4.22	0.03
26	0.48	1.66	0.18	1.29	1.12	0.75	0.91	0.57	0.19	0.31	0.27	1.44	0.84	0.70
35	2.48	6.93	1.02	3.46	3.85	2.69	5.20	2.38	2.87	2.24	2.12	5.39	7.66	4.55
37	0.12	0.10	0.01	0.06	0.17	0.10	0.43	0.42	0.17	0.15	0.01	0.05	0.02	1.40
40	0.11	0.01	0.01	0.20	0.01	0.01	0.36	0.07	0.27	0.01	0.01	0.03	0.04	0.51

Table 2. Coefficient of Variation Based on Temeph Fermentation Temperature

Peak No.	Fermentation temperature		
	30°C	35°C	37°C
6	0.79	0.59	1.10
7	0.32	0.16	0.75
11	0.40	0.46	0.81
12	0.50	0.28	0.87
14	0.42	0.22	0.57
15	0.37	0.21	0.61
16	0.19	0.39	0.58
22	0.25	0.98	0.48
25	0.44	0.36	0.66
26	0.55	0.52	0.53
35	0.31	0.55	0.51
37	0.84	0.78	1.55
40	0.60	0.86	1.60

Table 3. The Sum of The Average Ratio of Peak Area in Temeph Aroma Component at Various Fermentation Temperatures

Temp. °C	Kind of starter				
	LKN	CJ	ON	WJ	UM
30	15.9	18.0	27.9	20.9	16.4
35	21.8	29.0	28.2	22.9	32.9
37	4.1	15.4	-	18.4	13.2

たテンペの香りはスターターに依存する度合いが大きいことを示している。一方、35°C の場合には 13 ピークの内 8 ピークの変動係数が最小の値をとり、発酵温度 35°C のテンペの香りはスターターの種類による影響が最も少ないことを示している。つまり、発酵温度を 37°C とすれば、テンペの香りにスターターの種類が大きく影響し、35°C (ついで 30°C) では最も影響が小さくなると言える。

3. テンペ香り成分の総量

第 3 表に各温度で調製したそれぞれのテンペより得られる 54 ピーク平均面積比の総和を示した。第 3 表の各値は内標準を基準としたテンペ香り成分の総量に相当するものと考えられ、テンペ調製条件の相異で香り

の総量が変わることを示している。スターターの種類に拘らず、発酵温度が 37°C で調製したテンペの香りの総量が最も少なく、35°C の場合が最も多いことがわかる。スターターの種類による香り総量は、少ない順に、発酵温度 30°C で LKN, UM, CJ, WJ, ON ; 35°C で、LKN, WJ, ON, CJ, UM ; 37°C で、LKN, UM, CJ, WJ (37°C の ON は測定値なし) の順であった。つまり、スターターとして LKN を使用すると、香りの総量は少なくなると言える。

4. テンペ香りの発酵温度による変化の主成分分析

a. 変数の選択

主成分分析の目的、つまり 5 種類のスターターを使用したそれぞれのテンペの香りが発酵温度でどのように特徴づけられるか、を知るためには、まず、適切な変数 (ピーク、多変量データ) の選択をする必要がある。ここでは、まずガスクロマトグラムから得られた 54 ピークの平均面積比のすべてを変数として主成分分析を行い、第 1 主成分と第 2 主成分を 2 軸とする因子負荷量の散布図から各主成分に ± 0.5 以上の相関を

もつ 36 ピークをまず選択し、同様の操作を再度繰り返して最終的に第 2 図にプロットした 11 ピーク (ピーク 6, 7, 11, 12, 14, 15, 16, 22, 25, 26, 27) を多変量変数として選択した。

b. 因子負荷量の散布図

第 2 図に示されるように、a. 項で選択した 11 ピークの第 1 主成分と第 2 主成分に対する因子負荷量の散布図から、第 1 主成分には全香り情報の 61.5% が要約され、同様に、第 2 主成分に 12.7% が要約された。第 1, 第 2 主成分を併せて 74.2% の情報が要約されており、この値は第 3 主成分以下を考慮する必要のない、必要十分な情報量であると同時に、最終的に選択した 11 ピークが多変量変数として妥当であることを示している。

c. 第 1, 第 2 主成分の意味づけ

第 1 主成分には 61.5% もの高い香り情報が要約されており、ガスクロマトグラフで分析された香り成分の殆どの情報を持っていると考えてよい。第 2 図にプロットされているように、ピーク 6, 14, 15, 25 は第 1 主成分と +0.9 以上の高い相関を示し、ピーク 11, 12, 16, 27 も +0.7 以上の相関をもっている。従って、第 1 主成分の +側は、テンペ香りうち、これらの高い相関を示すピーク成分群が与える複合した香りを与えていると推定できる。一方、第 2 主成分は、情報量が 12.7% と少ないが、ピーク 22 の成分が持つ香りを与えていると推定できる。

d. 主成分得点の散布図

第 3 図に各スターターによるテンペ香り成分の主成

分得点の第 1, 第 2 主成分を 2 軸とした 2 次元散布図を示す。第 2 図の 2 次元平面上の位置は、それぞれ因子負荷量との相関によって意味づけられた各軸のもつ情報量に応じた主成分得点の位置を与える。従って、第 3 図にプロットされた各点相互間の差は、テンペ調製条件に依存するテンペ香りの相異を与えているものと考えてよい。第 3 図から WJ 以外のスターターで調製したテンペの香りは温度によってかなり主成分得点変動することが示されている。例えば、CJ をスターターとして使用すると、発酵温度 30°C ではピーク 22 の香りが高いが、35°C ではピーク 16, 15, 25, 14, 6, 11, 27 の複合した強い香りになり、更に、37°C では、弱い 35°C の香りへと変化していることがわかる。これらのことから、同一のスターターを使用しても、発酵温度はテンペの香りに大きく影響することが、主成分分析の結果より明瞭となった。

考 察

1. 香り分析で得られる各ピークの面積比は分析操作で生じる誤差を最小にする方法である。同時に、同一条件で調製した数個のサンプル分析から得られる平均面積比は調製したサンプル間の調製誤差を少なくする。従って、調製条件の異なるテンペの香りを比較する目的には、平均面積比の採用が最も信頼し得る方法である。温度をパラメーターとして、各種のスターターで調製したテンペ香り成分の平均面積比間の標準偏差の大きさは、各スターターに依存する香り成分の変動の度合を示している、と考えてよい。本研究の場合、

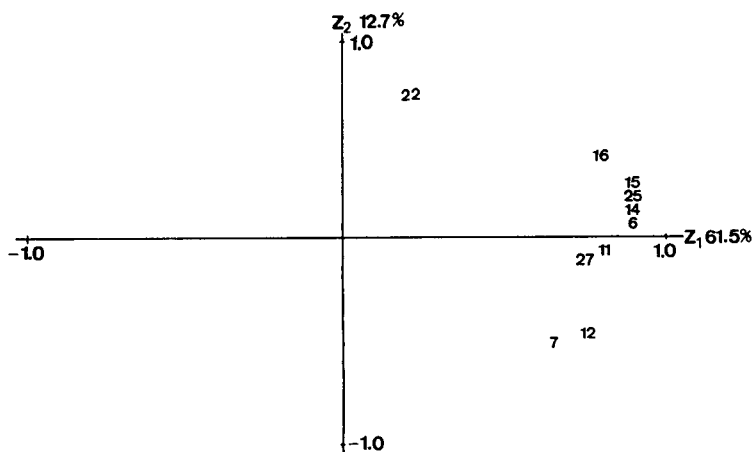


Fig. 2. Scattergram of Factor Loading for 11 Selected peaks against First and Second Principal Component.

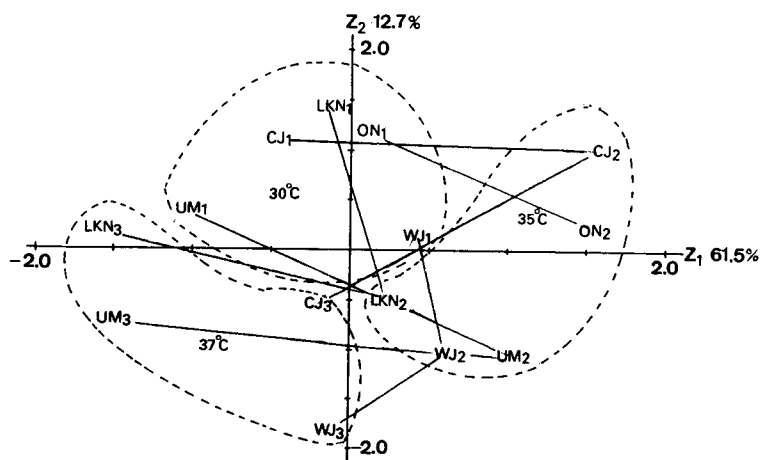


Fig. 3. Scattergram of Principal Component Scores of 14 Tempeh Samples (processed with Different Fermentation Temperature and Various Starters) against First and Second Principal Component Axes.

母数となるスターターの数が少なく、精度が低いのが欠点であろう。更に、第3表に示す変動係数でパラメーターとした各温度間の比較を行った。この変動係数が大きいことは、その温度でスターター間の香り成分の相対的変動が大きいことを示している。この方法は複雑な調製条件の下で調製される食品成分の変化等を解析する有用な手段と考えられる。

2. 主成分分析は基本的に多変量データの持つ情報を要約する手段として有用であるが、得られた結果の意味づけができない限り、目的に対する情報が要約されたか否か、不明である。従って、重要なのは多変量データが目的情報を含んでいるか否かにつ着く。多変量データが目的とする情報を含むことが確実であっても、主成分分析の結果、目的に対する主成分の情報要約度が低く、発散する場合には、主成分の意味づけができず、意味はもたない。食品の香り分析等の場合、多変量データが目的とする情報を含んでいることは確実で、主成分分析が成功するか否かは、数多い多変量データから目的に合致したデータの選択にかかっている。本研究では、選択の基準として、因子負荷量と主成分の相関度の高いデータを全データから選択した。結果から判断すると、主成分に必要な情報が要約され、適用した選択の基準は正しく、この方法は、複雑な条件下での多成分系の分析結果に影響する因子選択等への情報要約に発展が期待される。

要 約

各種条件下で調製したテンペ香り成分の温度に対する挙動をガスクロマトグラフピーク平均面積比および主成分分析で解析した。その結果、平均面積比からは、テンペ香りは温度依存性が高く、35°Cではスターターの影響は少ないが、37°Cでは影響が大きいことが判明した。主成分分析の結果から、使用した5種類のテンペスターターによって生成するテンペ香りの発酵温度依存性をスターターの特徴として判別することが可能であった。

文 献

- 富士通 1984 *FACOM OSIV ANALYST*.
- 藤尾雄策, スプリアント, 早川 功 1990 API-ZYM システムによるテンペ抽出液の酵素と原料大豆たん白質可溶性画分の変化, 九大農学芸誌, **45**(1・2): 37-40.
- 諸江三千夫, 佐藤朗好, 吉田利男 1985 テンペのフレーバー, アジア「無塩発酵大豆会議」要旨集, 筑波, 210-218.
- 松本伊左尾, 今井誠一 1990 テンペ発酵中の成分変化, 日食工誌, **37**: 130-138.
- Stillings, B. R. and L. R. Hacker 1965 Amino Acid Studies on the Effect of Fermentation Time and Heat-Processing of Tempeh. *J. Food Sci.*, **30**: 1043-1048.
- Sukara, E., K. Wada and Y. Fujio 1988 Gas Chromatographic Analysis of the Flavours in Tempehs Produced by Three Different Strains

- of Rhizopus. *ICBiotech.*, **11**: 432-435.
- Wagenknecht, A. C., Mattick, L. R. and L. M. Lewin
1961 Changes in Soybean Lipids During
Tempeh Fermentation. *J. Food Sci.*, **26**: 373-
376.
- 和田浩二, 田中慶教, 下田満哉, 大釜清一, 箴島 豊
1984 コーヒー香気の機器分析データと官能検査.
農化, **63**: 1485-1491.
- Wada, K., S. Ohgama, H. Sasaki, M. Shimoda and
Y. Osajima 1987 Classification of Various
Trade Varieties of Coffee by Coupling of Sen-
sory Data and Multivariate Analysis. *Agric.
Biol. Chem.*, **51**: 1745-1752.

SYNOPSIS

The effect of fermentation temperature on the tempeh aromas from numerous starters (including Rhizopus strains) were evaluated by means of the average area ratio of gas chromatographic peak and principal component analysis. As a result, fermentation temperature was found to be a factor affecting tempeh aromas from several starters. The tempeh aroma was noticeably enhanced at 37°C but was slightly influenced at 35°C or at 30°C. The variations in the tempeh aromas of different kinds of starter used were also markedly exhibited at higher temperature. It was found that temperature characterization of several tempeh starters by aroma analysis was effectively accomplished by means of principal component analysis based on gas chromatographic data.