

清酒の呈味性に影響を及ぼすアミノ酸の探索

岩野君夫・高橋和弘・伊藤俊彦・中沢伸重

日本醸造協会誌（醸協）第99巻第9号 659～664頁別刷（2004）

日 本 醸 造 学 会

清酒の呈味性に影響を及ぼすアミノ酸の探索

岩野君夫・高橋和弘・伊藤俊彦・中沢伸重

(秋田県立大学)

平成 15 年 12 月 24 日受理

Search for amino acids affecting the taste of Japanese sake

Kimio IWANO, Kazuhiro TAKAHASHI, Toshihiko ITO, Nobushige NAKAZAWA

(Akita Prefectural University, Nakano Shimo-Shinryo, Akita 010-0195)

The effect of twenty kinds of amino acid on the taste of Japanese sake was investigated. Results of tests by a three point discernment taste examining method using pure composition Japanese sake indicated four kinds of amino acids — alanine, arginine, glutamic acid, and aspartic acid — as the amino acids which affect taste. Alanine was determined to be the amino acid producing sweetness. Arginine was judged as the amino acid causing bitterness. Glutamic and aspartic acid yielded acidity, astringency, and added flavor, and were judged as those amino acids producing unpleasant taste.

Key words : 純合成清酒, アミノ酸, 呈味性

緒 論

酵母の育種技術の進歩により香気成分を多量に生成する優良清酒酵母が種々の機関で造成され、吟醸や純米酒造りで香りの高い清酒が容易に造れるようになった。一方、全国新酒鑑評会や各県の清酒鑑評会の一般公開に参加してきき酒をすると、香りは高いが味が伴わない香味不調和な吟醸酒や純米酒が散見される。香味のバランスの優れた吟醸酒や純米酒を造るためには味の研究が大きな研究課題であるが、清酒の味は糖類、有機酸、アミノ酸、無機成分、その他微量成分など様々な成分が関わっており、その解析は極めて難しいものと考えられる。著者らは、吟醸酒、純米酒、本醸造酒及び普通酒のアミノ酸組成の違いを調べ、これら4製造区分の間でアミノ酸組成に大きな違いがあることを報告¹⁾した。アミノ酸は水溶液中では種類により甘味、苦味、酸味、旨味、無味など呈味性が異なることが知られている²⁾が、清酒に含まれる濃度で呈味性を示すかどうか詳しくは分かっていない。清酒中のアミノ酸の呈味性は、アルコール、乳酸、コハク酸、リ

ンゴ酸、グルコースなどが存在した中での呈味性であり、呈味性を示す濃度が異なることが予想される。そこで、筆者らは清酒中に含まれるアミノ酸濃度で呈味性が識別できるかどうか、純合成清酒を造り、3点識別嗜好試験法で官能検査を行った。その結果、純合成清酒中ではグルタミン酸、アスパラギン酸、アルギニン、アラニンの4つのアミノ酸が清酒に含まれる濃度で呈味に関わっていることを知ったので報告する。

実験方法

1. 純合成清酒

純合成清酒の配合は岩野ら³⁾の報告を参考として新たに香気性分を加えた配合を設定し Table-1 に示した。アルコールは95%醸造アルコール(秋田県発酵工業(株))を使用した。グルコース、コハク酸、乳酸、NaCl、KH₂PO₄、イソアミルアルコール、酢酸イソアミル、n-カプロン酸エチルは和光純薬(株)の試薬特級を使用した。製品の成分濃度は Table-1 に示した。

2. アミノ酸

アミノ酸はすべてL型アミノ酸(和光純薬(株))を

Table 1 Components of pure synthetic sake.

Material	Amount	Conc.
20% Ethanol	800 ml	16.0%
Glucose	20 g	2.0%
Succinic acid	576 mg	576 ppm
Lactic acid	325 mg	325 ppm
NaCl	124 mg	124 ppm
KH ₂ PO ₄	53 mg	53 ppm
10,000 ppm isoamylalcohol	10 ml	100 ppm
1,000 ppm isoamylacetate	5 ml	5 ppm
1,000 ppm ethylcaproate	10 ml	10 ppm
Amino acid		25-3,000 ppm
Distilled water added up to 1l.	1,000 ml	

(Note) A fragrance ingredient is a 20% alcoholic solution.

使用した。リジンとヒスチジンは塩酸塩を用いた。チロシンは純合成清酒には溶け難いため0.1 M 乳酸緩衝液 (pH 3.0) で10倍量を溶解してからその一部を所定量使用した。対照にはチロシンを含まない乳酸緩衝液を同量加えた。他のアミノ酸は直接純合成清酒に溶解した。

3. 3点識別嗜好試験法

3点識別嗜好試験法は官能検査ハンドブック (日科技連)⁴⁾ に準じて行った。パネルは5名 (教官3名, 卒論学生2名) で, 試料酒は供試アミノ酸を一つだけ加えた純合成清酒を1点, 加えないものを2点の3点を1組として5組をつくり, 合計25回の判定回数とした。それぞれの組について, 質問1は「3つの試料酒の中で味の異なる試料酒を一つ選び出してください」として識別試験を, 質問2は「選んだ試料酒が官能的に良い, 悪い, どちらでもない, を指摘してください」として嗜好試験を, 質問3は「選んだ試料酒の味の特性 (甘味, 酸味, 苦味, 旨味, 塩味, 渋味, どれにも当てはまらない) を指摘してください」として特性試験を行った。有意性の判定は識別試験ではランダムに答えて正解する確率が1/3であるから $p=1/3$ として, 嗜好試験では質問1の正解数に対する判定であることから $p=1/6$ として最小正解数を求めて判定した。最小正解数はBCOJ官能評価法⁵⁾に記載の(1)式により求めた。

$$(X) = 0.4714 z \sqrt{n} + ((2n+3)/m) \dots\dots (1)$$

(小数点以下は切り上げとする。)

n ; 判定回数

z ; 1.64 ($\alpha \leq 0.05$), 2.3 ($\alpha \leq 0.01$),

3.10 ($\alpha \leq 0.001$)

m ; 6 (3点識別試験), 12 (3点嗜好試験)

4. 除外試験

20種類のアミノ酸が全て含まれる純合成清酒を対照とし, 呈味性を評価するアミノ酸だけを除いた供試清酒を造り, 対照酒を2点, 供試清酒を1点の3点を1組とし5組をつくり, パネル5名で3点識別嗜好試験を行った。アミノ酸の濃度は市販吟醸酒のアミノ酸を調べた前報¹⁾のデータから最大値を採用した。

実験結果

1. 市販清酒のアミノ酸濃度の10倍量での呈味性

初めに市販清酒に含まれているアミノ酸濃度の10倍量のアミノ酸を1個ずつ純合成清酒に加えて3点識別嗜好試験を行い統計的に有意差が認められるアミノ酸を探索した。アミノ酸濃度は前報¹⁾のデータを参考にした。アミノ酸の添加量及び3点識別嗜好試験の結果をTable-2に示した。グルタミン酸, アルギニン, アラニン, アスパラギン酸の4種類のアミノ酸が有意水準0.1%で有意差ありと判定された。特にグルタミン酸は判定回数25回の全てが正解であり, アルギニンの正解数は23, アラニンとアスパラギン酸の正解数は20で極めて高い有意水準で判定された。その他の16種類のアミノ酸は, 10倍量という実際には存在しない高い濃度にもかかわらず有意差が認められな

Table 2 Sensory test of the taste of the amino acid by a triangular difference testing method (The addition of 10 times the amino acid concentration of Japanese sake)

Amino acid	Conc. (ppm)	Triangular difference test	
		Correct answer	Significance
Glutamic acid	2,000	25/25	***
Arginine	1,500	23/25	***
Alanine	3,000	20/25	***
Aspartic acid	600	20/25	***
Serine	600	12/25	—
Proline	1,000	11/25	—
Valine	1,000	11/25	—
Tyrosine	1,000	11/25	—
Threonine	350	10/25	—
Leucine	1,200	10/25	—
Glycine	900	9/25	—
Glutamin	800	9/25	—
Phenylalanine	600	9/25	—
Methionine	210	9/25	—
Lysine-HCl	650	8/25	—
Isoleucine	600	8/25	—
Histidine-HCl	400	8/25	—
Asparagine	700	7/25	—
Tryptophan	40	6/25	—
Cysteine	300	5/25	—

Sensory test ; 5 panels, 5 repetitions, 25 evaluations

*** : 0.1% level of significant

** : 1% level of significant

* : 5% level of significant

— : no difference

った。今回のパネル構成は、学生と教官というほとんど訓練や経験のないパネルである。しかし嗜好調査を目的とした官能検査はできるだけ広い層から無作為に人選した方が調査の目的にかなっている⁹⁾とされていることからパネルの選定は適切であり結果も信頼できるものと判断した。3点識別試験で有意差ありと判定された4種類のアミノ酸についての3点嗜好試験の結果は、Table-3から明らかのようにグルタミン酸、アルギニン及びアスパラギン酸は悪いとする判定回数が多く、有意水準0.1%で官能的に望ましくないアミノ酸と判定された。一方、アラニンが良いと判定された回数が多く、有意水準0.1%で官能的に望ましいアミ

ノ酸と判定された。Table-4は、有意であった4種類のアミノ酸の呈味指摘数をまとめたものであるが、二宮らが水溶液中で調べた呈味性²⁾とほぼ同じであった。グルタミン酸は、酸味の指摘が圧倒的に多く、次いで旨味、渋味の指摘があった。水溶液中でも酸味と旨味が指摘されているが、純合成清酒では渋味も感じられた。アルギニンは、苦味、甘味が指摘されたが、二宮らが水溶液中で調べた呈味性でも苦味と甘味が指摘されていることから、パネルによる味の感じ方が異なるアミノ酸と考えられる。アラニンは、甘味の指摘が多く水溶液中の呈味性と同じであるが、純合成清酒では旨味の指摘もあった。アスパラギン酸は、二宮らの報

Table 3 The preference test of synthesized Japanese sake

Amino acid addition		Triangular preference test				
Name	Addition (ppm)	Correct answer	Good	Bad	No answer	Significance
Glutamic acid	2,000	25/25	7	18	0	***
Arginine	1,500	23/25	0	20	3	***
Alanine	3,000	20/25	18	1	1	***
Aspartic acid	600	20/25	1	14	5	***

Level of significance is the same as that shown in Table 2.

Table 4 The number of taste indications of synthesized Japanese sake

Amino acid addition		The number of taste indications						
Name	Addition (ppm)	Sweet	Acidity	Bitter	Umami	Salty	Astringency	No answer
Glutamic acid	2000	0	23	0	5	1	5	0
Arginine	1500	9	0	11	0	0	0	3
Alanine	3000	15	2	0	7	0	0	1
Aspartic acid	600	0	9	5	2	0	7	0

告によると水溶液中では酸味と苦味があるとされているが、純合成清酒では酸味、苦味、渋味の指摘があった。

2. 市販清酒のアミノ酸濃度での呈味性

市販清酒の10倍量の濃度で呈味性が確認された4つにアミノ酸について、市販清酒のアミノ酸濃度範囲で呈味性が認められるかどうか調べた。濃度範囲として、最大値、最小値、平均値の3段階でアミノ酸を添加した純合成清酒を造り、3点識別嗜好試験で呈味性が官能的に感じられるかどうか調べた。結果はTable-5に示した。グルタミン酸は最大値272ppmと平均値165ppmで有意水準0.1%で有意が認められた。アルギニンとアラニンは最大値で有意水準1%で有意が認められた。アスパラギン酸は他の3つのアミノ酸に比べて市販酒中の濃度が低いアミノ酸であるが、最大値188ppmで5%の有意水準で有意であった。これらの結果から4つのアミノ酸は純合成清酒中で市販清酒に含まれる濃度で十分に呈味が感知できることが判明した。

3. 除外試験によるアミノ酸の呈味性

次に、20種類のアミノ酸が全て含まれる純合成清酒を対照として、グルタミン酸、アルギニン、アラニン、アスパラギン酸をそれぞれ除いたら官能的に判るかどうか調べた。対照酒のアミノ酸の濃度はTable-6の下欄に示したが清酒に含まれるアミノ酸の平均値とした。結果はTable-6から明らかのようにグルタミン酸が欠けた供試酒が有意水準1%で有意であった。3点嗜好試験は、グルタミン酸を除いた供試酒の方が有意水準5%で良いと判定された。呈味の指摘数はTable-7に示したが、グルタミン酸を除くと甘味が感じられた。

考 察

筆者らは、清酒に含有する20種類のアミノ酸についてそれぞれの濃度で呈味を示すかどうか知ることを目的として本研究を行なった。純合成清酒は麴と酵母による並行複発酵の工程を経ていないことから清酒特有の微量成分の存在が一般の清酒と異なる。本来ならば清酒をベースとしたアミノ酸添加試験をすべきであ

Table 5 Triangular test with Amino Acid Concentration Range of Commercial Japanese Sake

Amino acid addition		Triangular difference test		
Name	Addition (ppm)		Correct answer	Significance
Glutamic acid	Maximum	272	20/25	***
	Average	165	21/25	***
	Minimum	51	9/25	—
Arginine	Maximum	412	16/25	**
	Average	151	7/25	—
	Minimum	3	7/25	—
Alanine	Maximum	392	15/25	**
	Average	253	12/25	—
	Minimum	80	12/25	—
Aspartic acid	Maximum	188	13/25	*
	Average	63	8/25	—
	Minimum	21	9/25	—

Level of significance is the same as that shown in Table 2.

Table 6 Evaluation of Taste of Amino Acid by Omission Test

Deficiency amino acid	Triangular difference test		Triangular preference test			
	Correct answer	Significance	Good	Bad	No answer	Significance
—Alanine	14/25	*	2	9	3	***
—Arginien	6/25	—	2	4	0	*
—Glutamic acid	15/25	**	10	5	0	***
—Aspartic acid	11/25	—	3	7	1	**

Level of significance is the same as that shown in Table 2.

The amino acid content of synthesized Japanese sake

Alanine	320	ppm	Lysine-HCl	67	ppm
Arginine	190		Phenylalanine	73	
Glutamic acid	225		Serine	60	
Aspartic acid	67		Isoleucine	89	
Proline	178		Histidine-HCl	49	
Glycine	185		Threonine	30	
Leucine	165		Cysteine	53	
Tyrosine	151		Methionine	14	
Valine	192		Glutamin	162	
Asparaginee	82		Tryptophan	7	

Table 7 The number of taste indications by the amino acid omission test.

Deficient amino acid	The number of taste indications								
	Sweet	Acidity	Bitter	Umami	Salty	Astringency	Fukurami	Zatumi	No answer
-Alanine	2	3	1	0	0	3	0	0	5
-Arginine	1	1	1	0	0	3	1	0	0
-Glutamic acid	5	0	0	1	0	0	2	0	7
-Aspartic acid	0	2	0	1	2	0	0	0	6

るが、アミノ酸を全て除いた試料清酒を造ることは難しいことから純合成清酒をベースとして実験した。純合成清酒は仕込配合に示したとおりアルコール分、有機酸、グルコース、無機塩類、香氣成分を含むことから水溶液中のアミノ酸の呈味性よりは、清酒におけるアミノ酸の呈味性に近い結果が得られたものと考えた。清酒に含まれる20種類のアミノ酸のうちで、アラニン、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸の4つのアミノ酸が清酒の含有濃度で呈味性を示すことが明らかとなり、それ以外のアミノ酸は呈味性が認められなかった。アラニンは甘味アミノ酸として存在が良いと評価され、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸は苦味、酸味、渋味を示すアミノ酸として存在が悪いと評価された。特にグルタミン酸は市販清酒の平均値の濃度でも官能的に識別できるという結果は、市販清酒の官能評価とグルタミン酸濃度とが密接な関係があることを示唆するものである。除外試験の結果でもグルタミン酸は抜いた方が甘味を指摘するパネルが多く、グルタミン酸はマイナス評価のアミノ酸であることが明らかとなった。前報¹⁾で吟醸酒、純米酒、本醸造酒及び普通酒のアミノ酸組成の違いについて変数選択型の判別分析を行い6個のアミノ酸を説明変数とする判別関数が得られたことを報告したが、アラニンとグルタミン酸はこの判別関数の説明変数として選択されていることを考えると清酒中のアラニンとグルタミン酸は品質の面から重要なアミノ酸であると思われる。今後更に検討したいと考えている。

最後に、奨学寄附金を援助いただきました秋田県酒造組合に、パネルとして協力いただいた卒論生の吉川壮さん、幡宮顕仁さんに厚くお礼を申し上げます。

要 約

清酒に含まれる20種類のアミノ酸についてその含有量で呈味性が認められるかどうか調べた。純合成清酒をベースとして3点識別嗜好試験法で調べた結果、アラニン、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸の4種類のアミノ酸が呈味性を示すアミノ酸として選ばれた。アラニンは甘味・旨味を示すアミノ酸として良く評価され、アルギニンは苦味を示すアミノ酸、グルタミン酸とアスパラギン酸は酸味、渋味を示すアミノ酸として悪く評価された。

文 献

- 1) 岩野君夫, 伊藤俊彦, 中沢伸重: 醸協誌, **99** (7), 526-533 (2004)
- 2) 二宮恒彦, 池田真吾, 山口静子, 吉川知子; 品質管理, **17** (12), 1475-1479 (1966)
- 3) 岩野君夫, 秋葉哲典, 布川弥太郎; 醸協誌, **75** (12) 1000-1003 (1980)
- 4) 官能検査ハンドブック第16版 252-253頁, 日科技連, 2002年
- 5) BCQJ 官能評価法 5/5頁, ビール酒造組合編, 日本醸造協会, 2002年
- 6) 官能検査ハンドブック第16版, 578-582頁, 日科技連, 2002年