かつお節だし中のイノシン酸および遊離 アミノ酸の呈味効果について*

鴻巣章二・前田安彦・藤田孝夫

(1959年8月3日受理)

EVALUATION OF INOSINIC ACID AND FREE AMINO ACIDS AS TASTING SUBSTANCE IN THE KATSUWOBUSHI STOCK

Shōji Kōnosu, Yasuhiko MAEDA and Takao FUJITA**

The role of inosinic acid and free amino acids in make-up of the taste of Katsuwobushi stock was surveyed by sensory tests. As shown in Table 1, several kinds of test solution were prepared on the basis of the analytical values of these ingredients reported in the previous papers^{2,3)} and tested by a panel of about twenty judges in paired comparisons. The results obtained may be summarized as follows:

The combination of inosinic acid and amino acids is judged to be more delicious than inosinic acid alone and to have a distinct meaty flavor fairly similar to that of the original stock. The amino acids, on the other hand, are almost tasteless in the concentration tested, but they clearly exert an enhancing effect on the taste of inosinic acid. The most abundant amino acid, histidine, reveals no such an effect, and the taste becomes considerably weak, if the other amino acids are omitted, though they are rather scanty in quantity. It seems probable from these results that the greater part of delicious and meaty flavor of the stock is attributed to inosinic acid, enhanced by the amino acids other than histidine.

No conclusive judgement is obtained in the comparison between histidine inosinate and sodium salt (Table 2), and this disagrees with the KODAMA's view¹⁾ that the organic salt is more delicious than the inorganic one.

かつお節は水産加工品のうちでも特に優れた風味を有し調味料として広く使用されている。古く小玉¹⁾がかつお節より分離したイノシン酸とヒスチジンとより塩をつくり、これが濃厚な旨味を有することを指摘して以来、かつお節の旨味の主成分はイノシン酸のヒスチジン塩であるとされて来た。その後かつお節の味についてはいくつかの報告があるが、いずれも単に呈味成分と思われるものの定量分析結果から間接的に味を論じているに過ぎず、またその分析値の信頼度も低かった。そこで著者らは前報^{2,3)}のごとく精度の高い方法で味に関係が深いと考えられるアミノ酸とイノシン酸の分析を行ない、その組成と含量を再検討したが、今回はさらに進んでその分析結果をもとにして味覚試験を行ない、これらの物質がどのようにかつお節の味に関係しているかを調べてみた。以下その結果を報告する。

実験ならびに方法

アミノ酸およびイノシン酸 アミノ酸は G. B. I. 社製の L 型を使用した。ただしリジンのみは塩酸塩を脱塩酸して用いた。

イノシン酸は市販のサバ筋肉より MARMUR らの方法⁴⁾にしたがってバリウム塩として分離し 2 回再結晶後 (収量約 0.06%) Dowex 50 (H 型) を用いてバリウムを除き水溶液の 250 μ における吸光値より濃度を算出し (分子吸光係数 12800), 適宜稀釈して用いた。

* 1959 年 4 月 3 日, 日本水産学会大会において講演した。

** 東京大学農学部 (Lab. of Fish. Chem., Fac. Agr., The Univ. Tokyo).

イノシン酸ヒスチジン塩 (Fig. 1) 上述のごとく脱塩したイノシン酸水溶液に当量のヒスチジンを加え減圧濃縮して放置すると、無色長針状の結晶を析出する。これを 50% エタノールより 2 回再結晶して調製した。分析結果は次の通りで、ヒスチジンとイノシン酸のモル比 (1 : 1) は再結晶を繰返しても変らなかった。

202°C で褐変, 208°C で分解 (未補正)。

分析値: 物質 6.488 mg

イノシン酸 4.462 mg, ヒスチジン 1.913 mg

計算値: $(C_{10}H_{12}N_4O_8P \cdot C_6H_9N_3O_2)$

イノシン酸 4.488 mg, ヒスチジン 2.000 mg

分析値: 物質 6.432 mg

燐 0.401 mg, リボース 1.747 mg

計算値: (同上)

燐 0.397 mg, リボース 1.705 mg

ただしイノシン酸は 250 μ m における吸光値より算出, ヒスチジンはニンヒドリン法⁵⁾, 燐は FISKE & SUBBAROW 法⁶⁾, リボースは MEJBAUM 法⁷⁾ により定量した。

この塩は小玉の記載通りかつお節だしに似た濃厚な旨味を有する。

イノシン酸ナトリウム塩 イノシン酸バリウム塩の水溶液に当量の硫酸ソーダ水溶液を加え, 生ずる硫酸バリウムを汙別, 汙液を減圧濃縮して生ずる結晶を 70% エタノールより 2 回再結晶した。分析結果はつぎの通りである。これもヒスチジン塩と同様に旨味を有する。

210°C 附近で褐変 (未補正)。

分析値: 物質 6.844 mg 燐 0.538 mg, リボース 2.388 mg

計算値: $(C_{10}H_{10}N_4O_8PNa_2)$ 燐 0.540 mg, リボース 2.318 mg

試験液の調製 イノシン酸のヒスチジン塩が強い旨味を呈するということから並びにヒスチジンが遊離アミノ酸の過半を占めること²⁾を考慮して, イノシン酸, ヒスチジンおよびヒスチジン以外のアミノ酸の 3 つのグループに分け, これを種々組合わせて Table 1 のごとく試験液を調製した。各成分の濃度は本枯節の分析値^{2,3)}をもととしかつお節 (乾物) を 3% 使用しただし中の濃度に相当するようにした。また pH は塩酸または苛性ソーダで 5.8 に調節した⁸⁾。

味覚試験⁹⁾ 試験室の設備, 環境, 被験者の識別能力など味覚試験法には種々問題はあるが, ここでは一応研究室員 20 名内外を被験者とし実験室内で試験を行なつた。試験法としては判定をできるだけ容易にするよう 2 つの試料を組にして比較するいわゆる 2 点比較法を採用し「吸物としてどちらが美味か」を判定させ, ついでそれぞれの味について意見を述べさせた。被験者には試料について全く予備知識を与えず, また他の被験者と相談できぬよう個別に試飲させた。2 つの試料の試飲順序は各自の選択に委せたが, 大部分は順序を換えて 2 ないし 3 回比較していた。

結果ならびに考察

結果は Table 1 および Table 2 にあげたが, 試験 1, 2 および 4 では危険率 1% の検定で有意の差があると判定され, 試験 3 および 5 では危険率 5% の検定で差があるとはいえないと判定された⁹⁾。

試験 1. まずアミノ酸のみの試料 II とそれにイノシン酸を加えた試料 I とを比較した。その結果は全員が一致してイノシン酸を含む試料 I の方が美味であると判定し, またほとんどすべての者が旨味を有すると述べた。これに反しイノシン酸を欠いたアミノ酸のみの試料 II については約半数が味を感じないとし, また数人はごく淡い酸味または苦味を感じると答えた。したがって試料 I の旨味はイノシン酸によるもので, アミノ酸はヒスチジンも含めて単独ではほとんど呈味効果がないものと判断される。

Fig. 1. Crystals of histidine inosinate.
($\times 150$)

Table 1. Results of sensory test in paired comparisons.*

Test No.	Pair	Ranking	Number of judges		
			Male	Female	Total
1	(I) Inosinic acid+Amino acids	I > II	18	5	23
		I < II	0	0	0
	(II) Amino acids**	I = II	0	0	0
2	(I) Inosinic acid+Amino acids	I > III	14	4	18
		I < III	1	0	1
	(III) Inosinic acid	I = III	0	1	1
3	(I) Inosinic acid+Amino acids	I > IV	5	2	7
		I < IV	4	3	7
	(IV) Inosinic acid+Amino acids without histidine	I = IV	6	0	6
4	(I) Inosinic acid+Amino acids	I > V	12	5	17
		I < V	0	0	0
	(V) Inosinic acid+Histidine	I = V	3	0	3

* Two samples are presented simultaneously and each judge is requested to answer the question: "Which is the more delicious of the two?"

The concentration (mg%) of each component is as follows; inosinic acid 19.0, histidine 90.9, taurine 10.8, lysine 2.6, alanine 1.6, glutamic acid 1.3, leucine 0.9, glycine 0.8, phenylalanine 0.6, valine 0.6, serine 0.5, threonine 0.5, isoleucine 0.4, proline 0.4, aspartic acid 0.3, methionine 0.3, and tyrosine 0.1.

The values are based on the analytical results given in the previous papers^{2, 3)} and represent the approximate concentration of each component in the stock prepared by using 3% of Katsuwobushi.

** Most of the judges stated that the sample II is almost tasteless.

Table 2. Comparison between histidine inosinate and sodium inosinate.*

Test No.	Ranking	Number of judges		
		Male	Female	Total
5	Na inosinate > Histidine inosinate	4	1	5
	Na inosinate < Histidine inosinate	6	4	10
	Na inosinate = Histidine inosinate	4	0	4

* The concentration is adjusted to 19 mg% as to inosinic acid and pH to 5.8.

The testing method is the same as shown in Table 1.

試験 2. つぎにイノシン酸単独の試料Ⅲとこれにアミノ酸を加えた試料Ⅰとを比較した結果 20 名中 18 名がアミノ酸の共存する試料Ⅰの方が美味であるとし、1 名のみが試料Ⅲをとり、残りの 1 名は差がないと答えている。またイノシン酸のみの試料Ⅲについては 13 名が旨味はあるが試料Ⅰより淡いとし、4 名は味を感じないと述べ、2 名はある種の味を感じるが旨味ではないと述べ、他の 1 名は意見を述べなかつた。

試験 1 および 2 の結果からアミノ酸単独ではほとんど味を呈しないが、これにイノシン酸が加わるとイノシン酸単独の場合よりも旨味が強く感じられることが明らかである。いい換えればイノシン酸の旨味はアミノ酸の存在により増強される。この意味でアミノ酸もまたかつお節だしの補助的呈味物質として重要な役割を有しているものといえよう。

試験 3 および 4. 前報²⁾で示したように、かつお節エキスの遊離アミノ酸中約 80% がヒスチジンであり、また従来かつお節の呈味成分としてイノシン酸ヒスチジン塩が重視されているのでここでヒスチジンに焦点をおいて遊離アミノ酸の呈味促進効果を調べてみた。すなわちイノシン酸とヒスチジンを混合した試料Ⅴおよびイノシン酸とヒスチジン以外のアミノ酸とを混合した試料Ⅳの各々を試料Ⅰと比較した。

まずヒスチジンを欠いた試料Ⅳと試料Ⅰを比較した場合、前者を良いとする者、後者を良いとする者お

よび両者に差がないとする者がほぼ同数でヒスチジンの効果はほとんどないものと認められる。これに反しイノシン酸とヒスチジンのみの試料Vと試料Iとを比較すると、前者を良いとする者は全くなく、20名中17名が後者の方が美味であると判定している。この結果はアミノ酸の旨味増強効果はヒスチジンによるものではなく、むしろ量的には少ないがヒスチジン以外のアミノ酸によるものであることを示している。いずれのアミノ酸が味の増強上特に有効であるかは今後に残された興味ある問題である。

試験 5. 以上かつお節の旨味にはヒスチジンは必ずしも必要でないことが判つたが、さらにイノシン酸ヒスチジン塩とイノシン酸ナトリウム塩の両者の味を比較してみた。試料はいずれもイノシン酸について 100 ml 中 19mg 含むよう調製した。結果は Table 2 のごとくでナトリウム塩の方が良いとする者および両者に差がないとする者の合計が約半数で、ヒスチジンが呈味に大きい影響をおよぼしているものとは考えられない。この結果は試験3の結果と相通ずるが、イノシン酸の無機塩より有機塩基との塩の方が遙かに強い味を示すという小玉の報告¹⁾とは相違する。

以上の結果を要約すればイノシン酸はかつお節だしに似た旨味を呈するが、アミノ酸は単独ではほとんど無味である。しかしアミノ酸とイノシン酸が共存するとイノシン酸単独の場合より旨味が強くなる。このアミノ酸の旨味増強効果はヒスチジン以外のアミノ酸によるものと思われる。

清水^{10,11)}は魚種および新鮮度による食味の差異とエキス中のイミダゾール化合物的の含量およびその消長の関係を調べた結果から、ヒスチジンが赤味魚肉の味に深い関係をもつものと推測しているが、上記の結果とは相反する。なおヒスチジンのかなり濃厚な溶液 (0.5%) でも全く旨味のないことを別に確認した (ただし D-ヒスチジンはかなり強い甘味を示す)。

大石¹²⁾および著者の 1 人³⁾はかつお節の品等とイノシン酸含量との関係を調べ、いずれも一定の傾向がないと報告したが、前にも述べたようにかつお節の品等は必ずしも味だけで決められていないので、これはむしろ当然であろう。イノシン酸の含量が多ければそれだけ味が良くなることは容易に想像されるところであるが、上述の結果からみるとイノシン酸だけでなくアミノ酸の量と質もだしの味にまた大きな関連をもつものと考えられる。

さらに分析データをもとに作成したイノシン酸およびアミノ酸の混合液 (試料 I) の味は、かつお節だしの味に似ていて「魚のだしの旨味がある」と指摘した者が数名あつた。しかしだしは濃厚な味を感じさせるのに試料は著るしく淡泊な感じを与えた。これはだしの強い燻煙臭が味を濃厚に感じさせるためであるという印象を受けた。

終りに臨み、御指導を賜つた橋本芳郎助教授ならびに味覚試験について御助言を賜つた慶応大学助教授浦昭二氏に深甚なる謝意を表する。

文 献

- 1) 小玉新太郎: 東化, **34**, 751 (1913).
- 2) 鴻巣章二・橋本芳郎: 本誌, **25**, 307 (1959).
- 3) 藤田孝夫・橋本芳郎: 本誌, **25**, 312 (1959).
- 4) MARMUR, J., SCHLENK, F. and OVERLAND, R. N.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **34**, 209 (1951).
- 5) 須山三千三・鴻巣章二: 本誌, **23**, 555 (1958).
- 6) FISKE, C. H. and SUBBAROW, Y.: *J. Biol. Chem.*, **81**, 629 (1929).
- 7) MEJBAUM, W.: *Z. physiol. Chem.*, **258**, 117 (1939).
- 8) 小川鉄雄: “味の素”, 味の素株式会社, 東京 (1956), p. 81.
- 9) KRUM, J. K.: *Food Engineering*, **37**, 74 (1955).
- 10) 清水 亘・東 興光・石川 勉: 京大食研, **10**, 78 (1952).
- 11) 清水 亘・黒川慶昭・池田静徳: 京大食研, **12**, 40 (1953).
- 12) 大石圭一: 日本農芸化学会大会講演 (1958).