

令和元年6月13日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K12886

研究課題名（和文）「緩衝能」を指標とした余韻数値化法の確立

研究課題名（英文）Aftertaste evaluation of wine using TI method and relationship between buffering capacity and aftertaste

研究代表者

斉藤 史恵 (SAITO, Fumie)

山梨大学・大学院総合研究部・助教

研究者番号：00625254

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ワインの緩衝能に寄与する成分の解明と官能評価による余韻の数値化を試みた。緩衝能は有機酸が主な寄与成分であり、緩衝能の強度と総有機酸量に相関が得られた。また、中和反応時間やワインの粘度の影響についても検討を行った。官能評価では、酸味の持続時間とpHおよび滴定酸度との相関はあまり高くはなかった。一方、緩衝能との関係については、緩衝能が最大値になる際のpHが低いほど酸味の持続時間が長くなる可能性が示唆された。官能評価については、パネリストによる個人差が大きく、再度個人差を考慮した解析を行う必要性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに緩衝能が食品の味わいに関わるとされていたが、どのように寄与しているか不明確であった。本研究成果により、ワインにおいては緩衝能が酸味の持続時間に影響する可能性が示唆され、おいしさに関わる要因であることが考えられた。また本研究結果は、ヒトが余韻を認識するメカニズムや余韻を与える要因を明らかにする糸口となりうるため、引き続き官能評価の再現性と有機酸以外の緩衝能寄与成分について検討を行っている。

研究成果の概要（英文）：The aims of this study are to clarify the components which contribute to buffering capacity in wine and to analysis the relationship between buffering capacity and aftertaste. The buffering capacity was mainly contributed by organic acids, and the correlation between the strength of buffering capacity and total organic acid concentration was obtained. In addition, the effects of the neutralization time and the viscosity on buffering capacity were also investigated. In sensory evaluation, the correlations of the sourness duration with pH or titratable acidity were not high. On the other hand, it was suggested that buffer capacity parameter may correlate with the sourness duration.

研究分野：食品科学

キーワード：余韻 緩衝能 TI法

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 , CK - 19 ( 共通 )

### 1. 研究開始当初の背景

近年、海外での日本食ブームに伴い日本固有の甲州種ブドウからつくられる甲州ワインが世界中から注目を集めている。山梨県では 2010 年から海外に売り込みをはじめ、2020 年には約 15 万本の輸出を見込むほどになっており、日本のワイン業界はさらなる安定生産と品質向上のために尽力している。甲州ワインが現在抱えている課題に味の余韻の短さがあげられている。ワインにとって余韻は非常に重要な評価項目であり余韻は長いほど上質とされている。しかし、余韻に関わる成分や余韻を客観的に測定する手法が確立されておらず暗中模索の状態である。

このような状況の中、1980 年代にだしや緑茶の味の指標として用いられていた「緩衝能」に着目した。緩衝能とは酸またはアルカリを加えたときに pH 変化を小さくする能力のことであるが、この緩衝能の高さと品評会での得点に相関性があるとしている。研究代表者はワインの「酸味の余韻」にこの緩衝能を用いることができると考えた。ワインを口にすると口中で唾液が分泌されて中和反応がおこる。この時、ワインの緩衝能が高いと中和反応に時間がかかり、これが人の脳では「余韻の長さ」として認識されると推測した。この推測を証明するために本研究課題では、( 1 ) ワインの緩衝能に関わる成分の解明と ( 2 ) Time Intensity ( TI ) 法による余韻の評価を行う。これらの知見をもとに、緩衝能を指標とした余韻の数値化法の確立へと展開する。

### 2. 研究の目的

( 1 ) ワインの緩衝能に関わる成分の解明：ワイン中の pH、滴定酸度、有機酸、金属などの定量を行う。ワインの緩衝能曲線から得られる数値との相関分析により緩衝能に寄与する成分を推定する。また、成分分析値からワインを再構成して再度緩衝能を測定することで緩衝能に寄与する成分を推定する。

( 2 ) TI 法による余韻の評価：余韻を評価するため味の強度変化を時間軸でとらえることができる TI 法を採用する。また、官能評価の精度を高めるために、パネルの育成と訓練を実施する。TI 曲線から得られる感覚的数値パラメーターと緩衝能曲線から得られる数値パラメーターとの相関分析を行い、余韻との関係性を検証する。

### 3. 研究の方法

#### ( 1 ) 試薬

官能評価に用いる試薬は、和光純薬株式会社の食品添加物グレードを使用し、その他の試薬は特級グレードを使用した。

#### ( 2 ) 試料ワイン

試料ワインには、市販のシャルドネ ( CHD ) 白ワイン 32 本、ソーヴィニヨンブラン ( SB ) 白ワイン 14 本、甲州 ( KOS ) 白ワイン 39 本の合計 85 本を使用した。

#### ( 3 ) ワインの成分分析

pH は pH メーター ( F-54 堀場製作所製 ) で測定した。滴定酸度は自動滴定装置 ( COM-1700、平沼産業製 ) で測定した。有機酸 ( クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、酢酸 ) は高速液体クロマトグラフ有機酸分析システム ( 島津製作所製 ) で測定した。金属 ( Na, K, Mg, Ca ) は偏光ゼーマン原子吸光光度計 ( ZA3000、日立ハイテクサイエンス製 ) で測定した。

#### ( 4 ) ワインの緩衝能測定

試料ワイン 40 mL をビーカーにとり、Fine クールスターラー ( FDC-900、東京硝子機械製 ) で攪拌しながら 15.5 ( ±0.5 ) °C に維持した。ここに pH メーターを挿入し、1.0 M NaOH 溶液を 0.1 mL 滴下することに pH を記録し、pH が 8.2 を超えるまで測定を行った。得られた滴定曲線は、式 1 を用いて緩衝能曲線に変換した。緩衝能曲線からは、最大緩衝能 ( β<sub>max</sub> ) と最大緩衝能時の pH ( pH<sub>βmax</sub> ) をファクターとして抽出した。

$$\beta = \frac{F \times M \times V_n}{\Delta pH \times V_s} \quad \dots \dots \dots \text{式 1}$$

β：緩衝能，F：滴定試薬のファクター，M：滴定試薬のモル濃度 ( mol/L )，V<sub>n</sub>：滴加量 ( L )，V<sub>s</sub>：試料量 ( L )

#### ( 5 ) ワインの中和反応時間測定

試料ワインの中和 ( pH 8.2 を終点とする ) に必要な 1M NaOH 溶液の液量は、あらかじめ滴定酸度を測定することで算出した。試料ワイン 40 mL をビーカーにとり、Fine クールスターラー ( FDC-900、東京硝子機械製 ) で攪拌しながら 15.0 ( ±0.5 ) °C に維持した。ここに pH メーターを挿入し、中和に必要な 1M NaOH 溶液を一度に加え、pH の上昇と経時変化を動画で記録した。

#### ( 6 ) ワインの粘度測定

ワインの粘度は、キャノンフェンスケ型粘度計 ( SO-7Y09 ) を用い、水温を 25°C にした水槽中で測定を行った。動粘度係数から動粘度 ( mPa・s ) を算出した。

## (7) 官能評価

パネルは男性 9 名、女性 4 名の合計 13 名で構成した。官能評価試験の前にパネリストは次の訓練を行った。第一段階では、480 mg/L 酒石酸水溶液と 456 mg/L リンゴ酸水溶液を 3 点識別法で認識できるか確認した。第二段階は、酸味の強弱を判断する訓練であり、5 段階の濃度に調製した酒石酸溶液 (48, 240, 480, 720, 960 mg/L) とリンゴ酸溶液 (45.6, 228, 456, 683, 911 mg/L) を濃度順に並べさせた。第三段階では、TI ソフトウェアを用いて有機酸溶液の酸味測定を行った。TI ソフトウェアは Time Intensity 2014 (アルストピア社) を用いた。

ワインの官能評価は次のように設定した。パネリストには空腹及び満腹時を避け、測定前 2 時間は食事を摂らず、測定前 30 分間はコーヒー、紅茶なども控えさせた。評価前にあらかじめ酸溶液を口に含み、酸味を覚えてから評価試験を実施した。試料ワインを口に含み 15 秒後に吐き出させた。TI ソフトウェアでの評価時間は 2 分間とし、評価終了後の休憩時間を 1 分間とした。休憩時は、ミネラルウォーターと無塩クラッカーで口中の洗浄を行った。各試料ともブラインドにて評価した。TI 曲線からは図 1 に示した 8 つのパラメーター ( $I_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $I$ ,  $D$ ,  $AUC$ ,  $I_{area}$ ,  $D_{area}$ ,  $Dur$ ) を抽出した。

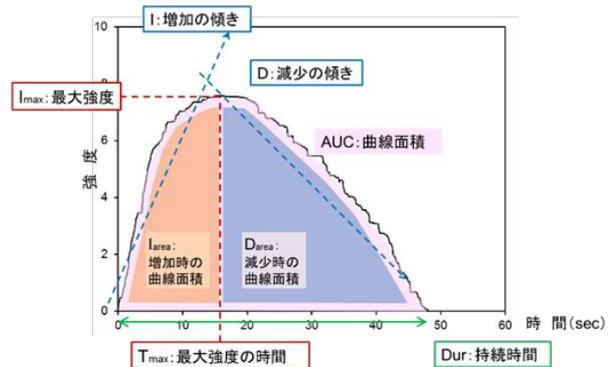


図 1: Time Intensity パラメーター

## (8) 統計解析

統計処理は統計ソフト(JMP®13,SAS Institute Inc.製)を用いて実施した。

## 4. 研究成果

### (1) ワインの成分分析

ワインの成分分析値を品種間で比較したところ、KOS ワインの pH は CHD や SB に比べて低い値を示した。酒石酸の含有量および総有機酸量に対する酒石酸の割合が KOS は他の 2 品種に比べて高かった。また、KOS の K 含有量は、他の 2 品種に比べて低かった。また、総有機酸量に対する Na と K 量の割合も KOS ワインでは低かった。これまでに、KOS ワインの pH が他品種に比べ低くなる傾向にあることは指摘されていたが、その原因は明確ではなかった。本研究により、有機酸組成や Na と K 含有量、さらに総有機酸量に対する Na, K 量の割合が関係していることが明らかとなった(現在、論文投稿中)。これらの成分値の違いは、ワインの品種特性を決める要因の一つと考えられる。また、有機酸はワインの緩衝能に関わる成分であり、ブドウ品種によって緩衝能が異なることも推測された。

### (2) ワインの緩衝能と成分値との相関

白ワイン 32 本の緩衝能曲線は、形状から 3 つに分類された。ピークがない曲線(図 2A)が 5 本、ピークが 1 つの曲線(図 2B)が 24 本、ピークが 2 つの曲線(図 2C)が 3 本であった。緩衝能曲線の  $\beta_{max}$ ,  $pH_{\beta_{max}}$  とワインの成分分析値との相関分析を行った。ワインの緩衝能は滴定酸度の値と関係があることは報告されている。本研究では  $\beta_{max}$  に対して滴定酸度との相関係数 ( $r=0.653$ ) よりも総有機酸量との相関係数 ( $r=0.865$ ) が高い値を示した。 $pH_{\beta_{max}}$  に対しては、pH、酒石酸、コハク酸、K 含有量と 0.694, -0.655, 0.584, 0.659 の相関係数を示した。酒石酸およびコハク酸自体の  $pH_{\beta_{max}}$  はそれぞれ pH 2.98, 4.21 付近である。したがって酒石酸の含有量が高ければ  $pH_{\beta_{max}}$  は低く、コハク酸の含有量が高ければ  $pH_{\beta_{max}}$  は高くなると推測された。また、pH が高いほど  $pH_{\beta_{max}}$  が高くなるのは当然であり、pH は K 含有量と正の相関があるため、これらのファクターに高い相関値がでたと考えられた。したがって、同じ pH のワインについて再度相関分析する必要がある。また、ワインと同組成の有機酸溶液について緩衝能を測定したところ、曲線の形状が一致しなかった。すなわち、有機酸以外の成分が緩衝能に寄与していると推測された。緩衝能に寄与する成分としてアミノ酸が報告されている。そこで、ワイン中で含有量の多いプロリン、アラニン、グルタミン酸、 $\gamma$ -アミノ酪酸をワイン中で含まれる範囲内で有機酸溶液に添加したが、緩衝能曲線の形状に変化は見られなかった。従って、ワインの緩衝能にアミノ酸が寄与する可能性は少ないと考えられた。

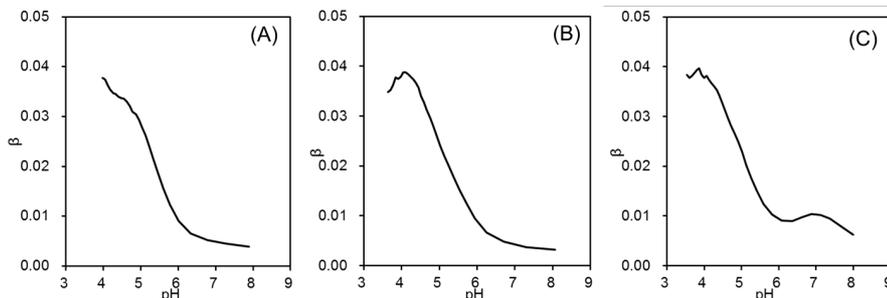


図 2 ワインの緩衝能曲線

### (3) ワインの中和反応時間

酸味の持続時間に関係する要因として新たにワインの中和時間に着目した。ワインを口に含むと口中の pH が低下することで酸味を感じ、中和によって再びもとの pH に戻ることによって酸味はなくなる。すなわち、中和に要する時間と酸味の持続時間に関係性があると推測した。様々なワインに NaOH 水溶液を一度に加えた際に、pH 7 に達するまでの時間がワインによって異なることがわかった(図 3)。しかしながら、pH 電極により中和反応時間が異なる結果となった。また、温度による中和反応時間の変化も大きく再現性を得るのが困難であった。従って、中和反応時間と余韻との関係について考察に至ることはできなかった。

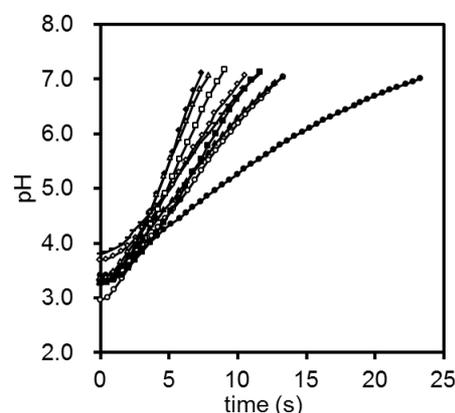


図 3 ワインの中和反応曲線

### (4) ワインの粘度と緩衝能パラメーターとの関係

白ワイン 20 本について動粘度を測定した結果、平均値は 1.42 mPa・s で最小および最大値はそれぞれ 1.37, 1.46 と 1.42 mPa・s であった。緩衝能パラメーターとの相関分析では、動粘度と  $\text{pH}_{\beta_{\max}}$  および  $\beta_{\max}$  との相関係数はそれぞれ 0.25, 0.0096 であり関係性は認められなかった。一般に粘度は味わいに影響するとされている。しかしながら、ワインにおいては粘度の差が小さく味わいの差に粘度が影響する可能性は少ないと考えられる。さらに測定本数を増やし、粘度の影響を検証する必要がある。

### (5) TI 法によるワインの官能評価パラメーターと成分値および緩衝能パラメーターとの関係

白ワイン 8 本について TI 法による官能評価を行った。酸味の強度は pH および滴定酸度と相関があることはすでに報告されている。本研究においても、 $I_{\max}$  と pH および滴定酸度と相関性が得られた。一方、余韻に関する味の持続時間 Dur は、pH や滴定酸度とそれほど高い相関性は得られなかった。すなわち、単純に酸味が強くなれば余韻も長くなるわけではないことが考えられる。緩衝能パラメーターについて、 $\beta_{\max}$  は TI パラメーターとの相関は認められなかった。一方、 $\text{pH}_{\beta_{\max}}$  は Dur と負の相関が得られた(図 4)。このことから、 $\text{pH}_{\beta_{\max}}$  が低いワインは口中でおこなわれる中和の際に低 pH の状態が維持されやすく、これが酸味を長く感じる要因になると推測された。一方、パネリスト間における Dur のバラツキが大きい結果となっていた。今回の統計解析では、全パネリストの官能評価パラメーターを平均処理しており、パネリストの個人差を考慮していない。したがって、個人差による影響を除去したうえで、ワイン間の差を再度分析する必要がある。また TI パラメーター間の相関分析により  $I_{\max}$  と Dur との間に相関が認められた。 $I_{\max}$  と pH、滴定酸度の間、 $I_{\max}$  と Dur との間に相関が得られれば、Dur と pH、滴定酸度の間にも相関が得られるはずであるが今回の相関分析では相関が得られず矛盾が生じた。本官能評価で使用したワインは、pH および滴定酸度の値にバラツキがあるものを選抜しており、緩衝能パラメーターの差は考慮しなかった。そこで、再度ワインの緩衝能測定を実施し、緩衝能パラメーターにバラツキがあるワインを官能評価試料として選抜することを行っている。さらに、パネリストの個人差を考慮した統計処理を行う必要がある。

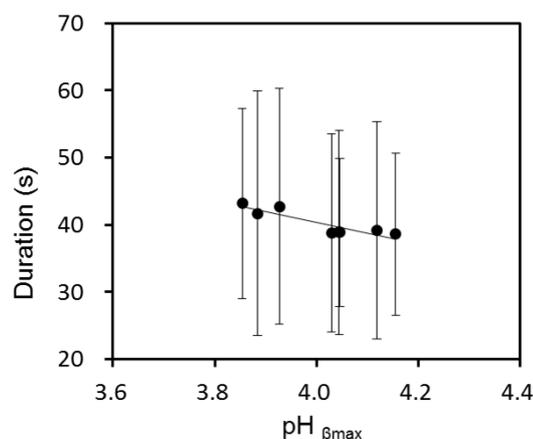


図 4 酸味の持続時間と  $\text{pH}_{\beta_{\max}}$  との相関

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

齋藤 史恵, 下村豪志, 新海有貴, 久本雅嗣, 奥田徹, 白ワインの酸味に影響する因子について, 日本農芸化学会 2018 年度名古屋大会, 2018 年 3 月 16 日, 名城大学(愛知県・名古屋市)

新海 有貴, 長尾 洋輝, 奥田 徹, 久本 雅嗣, 渡辺(齋藤) 史恵, 白ワインにおける中和反応時間と滴定酸度および pH の関係性について, 日本食品科学工学会平成 30 年度関東支部大会, 2018 年 3 月 3 日, 女子栄養大学(埼玉県・坂戸市)

〔その他〕

ホームページ等

山梨大学研究者総覧

[http://erdb.yamanashi.ac.jp/rdb/A\\_DisInfo.Scholar/0/0E8ECBF25FE69BE0.html](http://erdb.yamanashi.ac.jp/rdb/A_DisInfo.Scholar/0/0E8ECBF25FE69BE0.html)

ワイン科学研究センター機能成分学研究部門

<http://www.wine.yamanashi.ac.jp/biofunctional/biofunctional.html>

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。