

研究の動向

大豆中のコク味付与成分に関する研究

京都大学大学院農学研究科 松村 康生
不二製油グループ本社（株） 柴田 雅之
未来創造研究所 TKC1チーム

1. はじめに

食品のおいしさを決定する大きな要因は味である。食品の味を構成する要素としては、5基本味、すなわち甘味、塩味、酸味、苦味、うま味があり、過去の味覚研究もこれらの基本味を中心に展開されてきた。しかし、実際に食品をおいしいと感じる時には、味に関しても、上記の5基本味に還元できない、もっと複雑な味を感じていることは、誰も否定できないのではないだろうか？そこには、純粋な味覚以外の要素も介在する可能性がある。たとえば、香りは味に影響し、逆に味は香りに影響する¹⁾。Flavorという言葉は、狭義には香りを指すこともあるが、一般には味や香りを含めた風味という言葉に解されることもあり、純粋な香りを意味するAromaとは区別される。このようなFlavorの使い方は、味と香りの密接な関係を表している。また、食品のもつ物性も味の感じ方に影響を与える。たとえば、液状食品の場合、粘度が高く、濃厚さ(thickness)を強く感じるほど、味や香りの感じ方は弱くなる²⁾。これらの味覚以外の感覚が味に影響を与えるという現象も非常に興味深い研究対象であり、私達の研究グループも一部そのような検討を行っているが、それらを扱うことは本稿の範囲を越えるので、これ以上は述べない。本稿では、他の感覚要素の入らない味覚の現象に話を絞って、以下述べてゆきたい。

食べ物の複雑で深みのある味を表現する際に「この料理はコクがある」などと表現する。しかし、コクをしっかりと科学的エビデンスのある現象として捉えることは、長年出来ていなかった。Uedaら³⁾、味の素(株)のグループは、ニンニク熱水抽出物の中に、それ自身は

呈味性をもたないものの、うま味・塩味溶液やスープに対して「厚み(英語ではthickness)」「持続性(continuity)」「広がり(mouthfulness)」を付与する成分があることを見出し、このような特性を有する物質を「コク味」物質(kokumi substance)と呼ぶことを提案した。この報告をもって系統的なコク味研究の嚆矢とするといっても過言ではなく、以降のコク味物質の研究は、このようなコク味に関する共通認識のもとに進められた。なお、同グループがニンニク抽出物に見出したコク味物質はアリイン、グルタチオンなどの含硫化合物であったが、同グループはその後の研究で、グルタチオンがカルシウム感知受容体(Calcium-Sensing Receptor; CaSR)に結合し活性化することを発見した⁴⁾。また、同グループでは、様々な物質に関して、CaSR活性と官能評価によるコク味の力価に有意な相関があることを示した。CaSRは、舌・味蕾にも存在すること、またCaSR阻害剤存在下では、コク味の感じ方が弱くなることから、コク味発現は、この受容体を介して行われている可能性が高い。

その後の研究で、コク味を付与する能力をもつ物質が様々な食品、食材、たとえばタマネギ⁵⁾、ゴーダチーズ⁶⁾、パルメザンチーズ⁷⁾、アボカド⁸⁾中に存在することが報告されている。コク味に関する知識全般については、優れた総説があるので、そちらを参照されたい⁹⁾。今回、私達は、大豆中にコク味を付与する成分が存在することを見出した。その研究の背景、得られた結果、今後の活用の可能性等について以下の節で述べることにする。

2. コク味付与成分の同定

近年、大豆製品のうち、豆腐の消費量は伸び悩んでいるのに対し、豆乳は順調に消費量が伸びている。これは、健康を気遣い豆乳を常飲する人が増えた結果ともいえるが、一方で、家庭、外食ともに料理の材料として使われる機会が多くなっていることが原因としてあげられる。すなわち、2016年の統計によれば、料理に使われるであろう無調整豆乳は、前年比で19%も生産量が増加してい

Yasuki MATSUMURA

京都大学大学院農学研究科農学専攻品質評価学分野

教授 博士(農学)

〔著者紹介〕(略歴) 1984年京都大学大学院農学研究科博士課程修了。1985年京都大学食糧科学研究所助手。1989年11月英国リーズ大学食品科学部客員研究員。1990年京都大学食糧科学研究所 助教授。2004年京都大学大学院農学研究科農学 教授 現在に至る。

〔専門分野〕食品コロイド学、食品化学

るのである¹⁰⁾。料理の種類については、しゃぶしゃぶなどの鍋料理等、和食のほか、洋食、中華料理と、様々な料理に全般的に使われている。料理人の談話によると、豆乳は料理にコク味を与えとの印象があるらしい。一方、大豆の中に呈味性を改善するような成分があることを示唆する文献がないか探索してみたところ、文政5年刊行の「料理早指南」という本に、精進だしとして大豆の水抽出物を使用するとの記述があった。これによれば、大豆を炒った後、水に漬けて長時間置いて抽出されてきたものを、料理のだしとして利用したということである。この記載より、現在の豆乳の使用例から考えて、大豆抽出物には、何らかの呈味作用、それもコク味を付与、増強するような成分が存在するのではないかと考えられた。そこで、以下のような手法で大豆中に含まれるコク味付与物質の探索・同定を試みた¹¹⁾。

鍵となるのは、コク味付与効果を検証する方法である。前節で述べたように、コク味概念とは、「そのもの自体は無味であるが、食品などへの添加で基本味の持続性・広がり・厚みなどを増強する効果をもつ物質」を指す。その概念を図式化したものが図1である。ヒトにサンプル溶液を口に含んでもらう。左図には口に含んだ直後からの味の強さの時間的変化を示す。下の曲線が基準の味溶液、上の曲線がコク味成分を含んだ溶液である。強度が上昇した場合（味をより強く感じた場合）は「厚み」が増したと評価する。また、どれだけ強度が長く続いたかで「持続性」を評価する。さらに右図のように、口腔

内において、味をより全体で感じるようになったかで「広がり」を評価する。今回の実験で用いた基準液は、グルタミン酸（0.02 w/v%）、イノシン酸（0.01 w/v%）、塩化ナトリウム（0.5 w/v%）を含む、うま味・塩味混合溶液（コントロール溶液）である。被験者には、サンプルを口に含んでもらい、その直後から5秒おきに20秒まで10 cm スケールのバーに自分が感じた強度をマークしてもらい（図2）。このパターンより厚みと持続性の評価

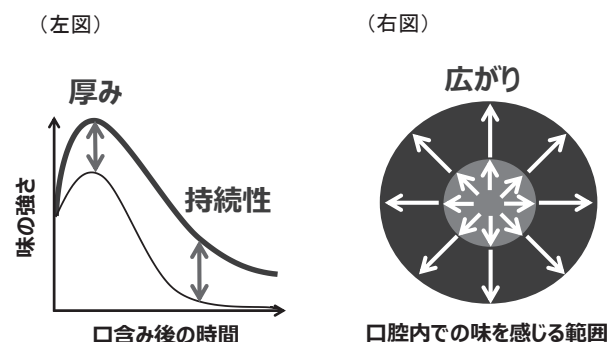
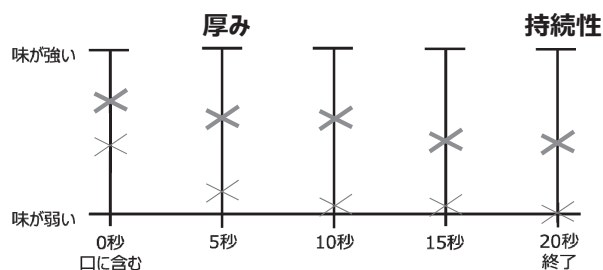


図1 コク味概念

コク味概念とは、「そのもの自体は無味であるが、食品などへの添加で基本味の持続性・広がり・厚みなどを増強する効果をもつ物質」と定義される。（左図）：サンプル溶液を口に含んだ直後からの味の強さの時間的変化。下の曲線が基準溶液、上の曲線がコク味成分を含んだ溶液。味の強さの上昇を「厚み」、味の強さがどれだけ長く続いたかで「持続性」を評価する。（右図）：口腔内で味を感じる範囲。より全体で味を感じるようになれば、「広がり」があると評価する。

●厚み、持続性



●広がり

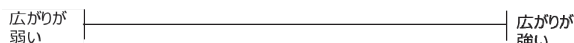


図2 大豆中のコク味付与成分の同定に用いた官能評価手法

グルタミン酸ナトリウム、イノシン5'-リン酸および塩化ナトリウムを含む、うま味・塩味混合的（コントロール溶液）に、大豆抽出物や分画物を添加し、コク味の3要素を評価した。

（上図）：厚みと持続性の評価。被験者にサンプルを口に含んでもらい、その直後から5秒おきに20秒まで感じた強度を10 cmのスケールバーにマークしてもらい。（下図）：「広がり」の評価。口腔内全体で感じる味の強度を10 cmスケール上にマークしてもらい。

を行う。一方、口腔内全体で感じる味の強度を、やはり10 cm スケール上にマークしてもらい、広がり进行评估した。このような官能評価手法を用いて、まず、大豆抽出物そのものにココ味付与効果があるのか検討した。オートクレーブにより加熱処理した大豆から水抽出した大豆水抽出物をサンプルとして、官能評価によりココ味付与効果を調べた。その結果、大豆水抽出物の添加区では、コントロール区（無添加の基準液）に比べて、厚み、持続性、広がりとも有意に増加していた（図3）。このことから、大豆水抽出物には、ココ味を付与する物質が含まれていることが示された。

そこで、その成分が何であるのか、以下の分離操作によって分離を試みた（図4）。それぞれのステップ毎に、分離操作後、得られた画分全てに対して、上記の官能評価を行うことにより、どの画分にココ味付与成分が含まれているのか検証した。まず、大豆抽出液をUF膜で分離したところ、濾液画分にココ味付与効果が見られた。用いた膜は分子量10,000以上のものをカットするので、ココ味付与成分は高分子ではなく、分子量10,000以下の低分子のものであることが示唆された。これをゲル濾過クロマトグラフィーに供し、溶出液を220 nmの吸収で

モニターしたところ、いくつかのピークが認められたが、ピーク3の画分にはココ味付与効果が認められた（ゲル濾過分離の図）。この画分をさらに、親水性相互作用カ

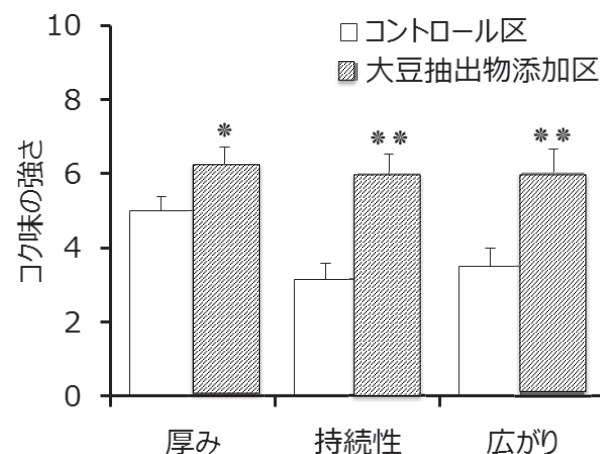


図3 大豆抽出物の添加がココ味3要素に与える影響
コントロール溶液（図2説明参照）に大豆抽出液を添加し、無添加の場合と比べて、ココ味3要素の強さがどのように変化するかを図2の方法で評価した。（□），無添加；（▨），添加。（N=17，*； $p<0.05$ ，**； $p<0.01$ ）。引用文献11中の図を改変して使用。

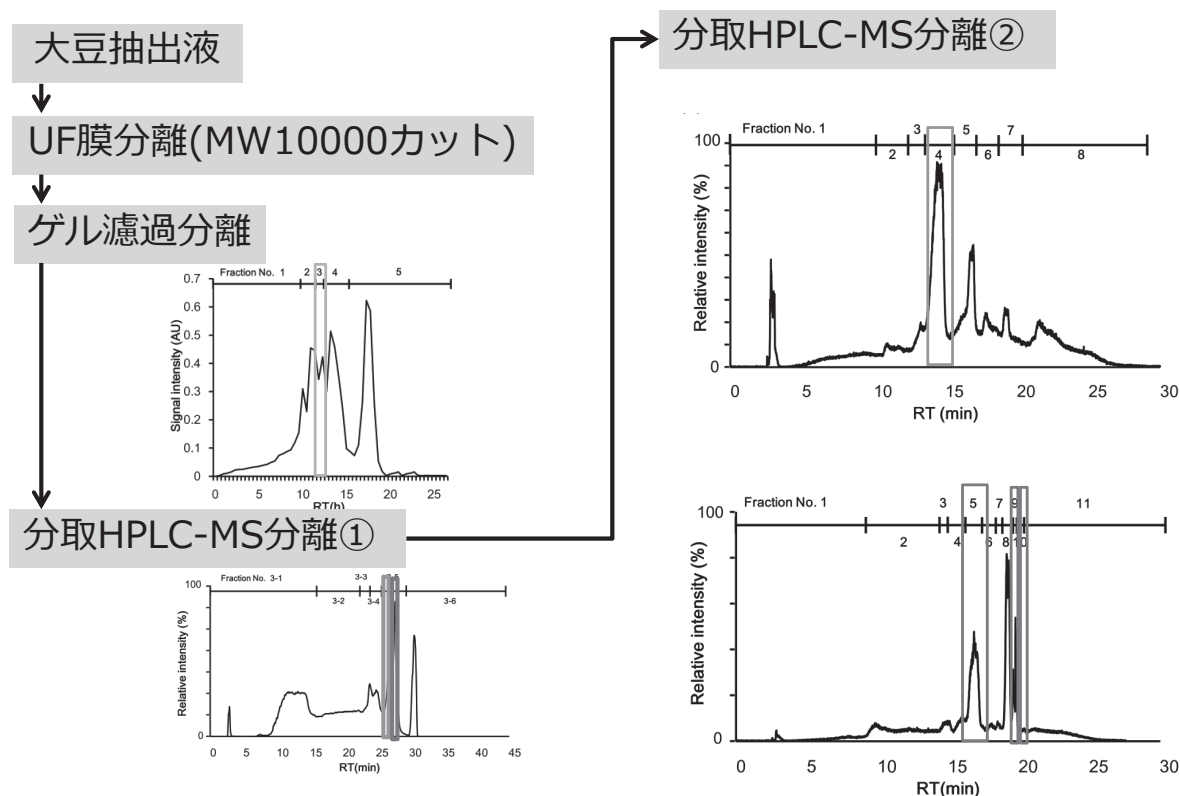


図4 官能評価法と各分画手段を組み合わせたココ味付与成分の探索

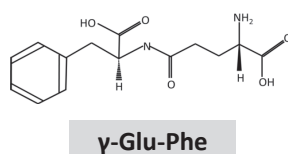
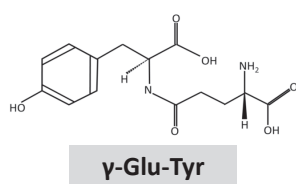
大豆抽出液をUF膜分離（分子量10,000以上をカット）、ゲル濾過分離、親水性相互作用カラムを用いたHPLCによって分画した。HPLC①でココ味付与効果をもつ2つのピークが分離された。これら2つのピークを、さらに同じ溶出条件で、それぞれ再クロマトグラフィーを行い（②）、最終的に得られた画分について、UPLC-Q-TOF-MS分析を行うことによって成分の同定を試みた。引用文献11中の図を改変して使用。

ラムをもちいた HPLC によって分離を試みた。いくつかピークが観察されたが、コク味付与効果を示したのは、二つのピークの画分のみであった（分取 HPLC-MS 分離①）。この2つの画分を同じカラム、同じ溶離条件で再クロマトグラフィーしたものが右図である（分取 HPLC-MS 分離②）。①の左側のピークを再クロマトグラフィーした結果が②の上図、右側のピークを再クロマトグラフィーした結果が②の下図である。最終的に得られた画分について、

UPLC-Q-TOF-MS 分析を行い、これら画分に含まれる成分の同定を試みた。その結果、2種類の γ -グルタミルペプチド、すなわち γ -Glu-Tyrと γ -Glu-Phe（左図）と、2種類のオリゴ糖、ラフィノースとスタキオース（右図）が含まれていることが明らかとなった（図5）。これらの成分が本当にコク味付与効果をもつのか検証するために、それぞれの純粋品を入手し、再度官能評価を試みた。その結果を図6に示す。 γ -グルタミルペプチド2種類の混

（左図）

γ -グルタミルペプチド



（右図）

オリゴ糖

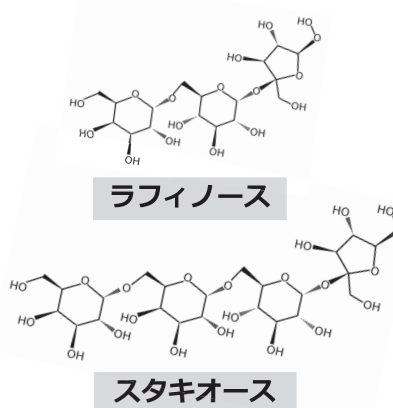


図5 LC-MS/MS 分析により同定された成分

図4の分離操作によってコク味付与効果をもつ成分の候補が絞り込まれたので、最終的に標準品の LC-MS/MS 分析結果と比較することにより成分を同定した。（左図）に2種類の γ -グルタミルペプチド、（右図）に2種類のオリゴ糖の構造を示す。

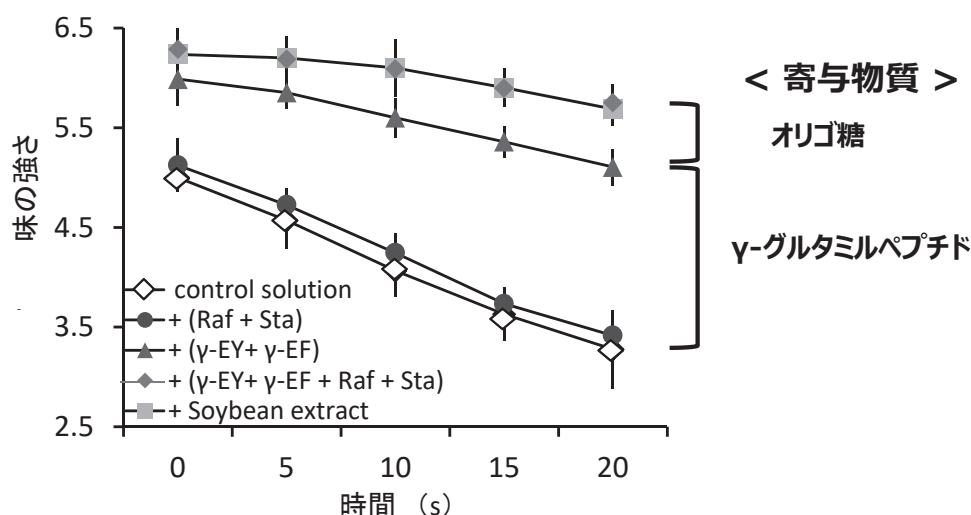


図6 同定された成分の官能評価によるコク味付与効果の検証

同定された成分の標準品をもちいて、これら成分にコク味付与効果があるのか検証した。方法は図2および図3で説明した通りである。（◇），コントロール溶液。以下コントロール溶液に各成分を添加。（●），ラフィノース+スタキオース；（▲）， γ -グルタミルチロシン+ γ -グルタミルフェニルアラニン；（◆）， γ -グルタミルチロシン+ γ -グルタミルフェニルアラニン+ラフィノース+スタキオース；（■），大豆抽出液。引用文献11中の図を改変して使用。

合物を基準液に加えた場合には、基準液に比べ、口に含んだ直後から強度が高く、長い時間持続していたことから、厚み、持続性が增強していることが示された。結果には示さないが広がりも增強している結果が得られた。しかし、その強度を大豆抽出液の場合と比べると効果は低かった。一方、2種類のオリゴ糖の混合物を基準液に加えた場合には、ほとんど変化が生じなかった。このことはオリゴ糖だけでは、コク味を付与する効果はないことを示している。しかし、 γ -グルタミルペプチドにオリゴ糖を加えると、ペプチド単独の場合よりも強い効果が認められ、大豆抽出液と同等の結果を示した。以上の結果から、大豆中に含まれるコク味付与成分は、 γ -グルタミルペプチドであり、オリゴ糖は、その効果をさらに増強させるエンハンサーとしての働きを示すものであることが判明した。なお、他のオリゴ糖、たとえばシュクロースには、 γ -グルタミルペプチドの効果をより強くさせる機能は認められなかった。

これら大豆中のコク味付与に関わる成分について、これまでどのような報告が存在するのか調査した。その結果、二つのオリゴ糖については、大豆に含まれていることが、以前より確認されていた¹²⁾。今回実際に定量したところ、大豆種子中にラフィノース： 9.91 ± 0.87 g/kg、スタキロース： 39.1 ± 1.5 g/kg と比較的高含量含まれていた。一方、2種類の γ -グルタミルペプチドについても大豆中に含まれていることが1962年の論文で発表されていた¹³⁾。今回、改めて定量したところ、大豆種子中で、 γ -Glu-Tyr： 0.46 ± 0.10 g/kg、 γ -Glu-Phe： 0.66 ± 0.11 g/kg 含まれていることが分かった。以上の結果から、2種類の γ -グルタミルペプチド、2種類のオリゴ糖とも、大豆中に含まれている成分であることが過去に知られており、新規な成分ではなかったが、呈味性を含めて、これまで、その機能に関する報告はなかった。次に、2種類の γ -グルタミルペプチドについてさらに調査を進めたところ、 γ -Glu-Tyrはフランス産のComtéチーズ¹⁴⁾、 γ -Glu-Pheはパルマハムに含まれており¹⁵⁾、いずれも熟成中に含量が高まりコク味の付与に関係していることが示唆されていた。これらの食品中で、それぞれの γ -グルタミル

ペプチドがどのように生成しているのかは不明であるが、材料や製法の全く異なる食品中に、共通のコク味付与成分が発見されたことは、非常に興味深い。

3. コク味付与成分の大豆品種間差異

大豆の育種の長い歴史において、高油分、高タンパク質含量、豆腐加工適性、納豆加工適性等がターゲットとなり、品種の選抜、改良が進められてきたと考えられる。一方、前節で見出された大豆中のコク味付与成分、すなわち2種類の γ -グルタミルペプチドおよび、その作用を増強する2種類のオリゴ糖は、これまでほとんど注目されることがなかった。したがって、現在の栽培品種に、これらの成分が多いとは限らず、一方で栽培されていない品種中に多く含まれる可能性がある。コク味付与成分を多く含む品種を見つければ、様々な料理にコク味を与える素材として使用することができるかもしれない。

そこで、農研機構のジーンバンクに保存されている日本の大豆および世界の大豆のミニコアコレクションの提供を受け、その中から合計170品種・系統について前節で明らかにしたコク味付与成分の定量を行った¹⁶⁾。希少なコレクションのためサンプル量が限られていることから、本節では、種子を粉末として、水とアセトニトリル等量溶液で抽出を繰り返し、得られた抽出液を分子量限界10,000のフィルターで分離し、得られたサンプル液をLC-MS分析することによりコク味付与成分を定量した。

表1に各コレクションにおける γ -グルタミルペプチド、オリゴ糖含量の平均値を示す。これらの成分については、Morris & Thompson¹³⁾が1品種だけ、その含量を測定しているもので、その値も比較のために掲載している。また、図7（左図）は γ -グルタミルペプチド、図7（右図）はオリゴ糖の含量の頻度分布を示す。まず、 γ -グルタミルペプチドの含量について述べると、表1より、今回分析した系統における平均値は、Morris & Thompson¹³⁾によって報告された値よりずっと高かった。また、彼らの分析結果では、2種類の γ -グルタミルペプチドは、ほぼ同量含まれていたものの、今回の分析結果では、 γ -Glu-

表1 各ミニコレクションにおける γ -グルタミルペプチドとオリゴ糖含量の平均値

系統番号	γ -グルタミルペプチド (mg/100 g 大豆)		オリゴ糖 (g/100 g 大豆)	
	γ -Glu-Tyr	γ -Glu-Phe	ラフィノース	スタキオース
JMC	123.8	133.6	0.95	3.54
WMC	128.8	138.9	0.87	3.73
文献値	74.8*	89.1*	0.79**	3.11**

引用文献16中の表を改変して使用。

* 文献13から引用 ** 文献12から引用

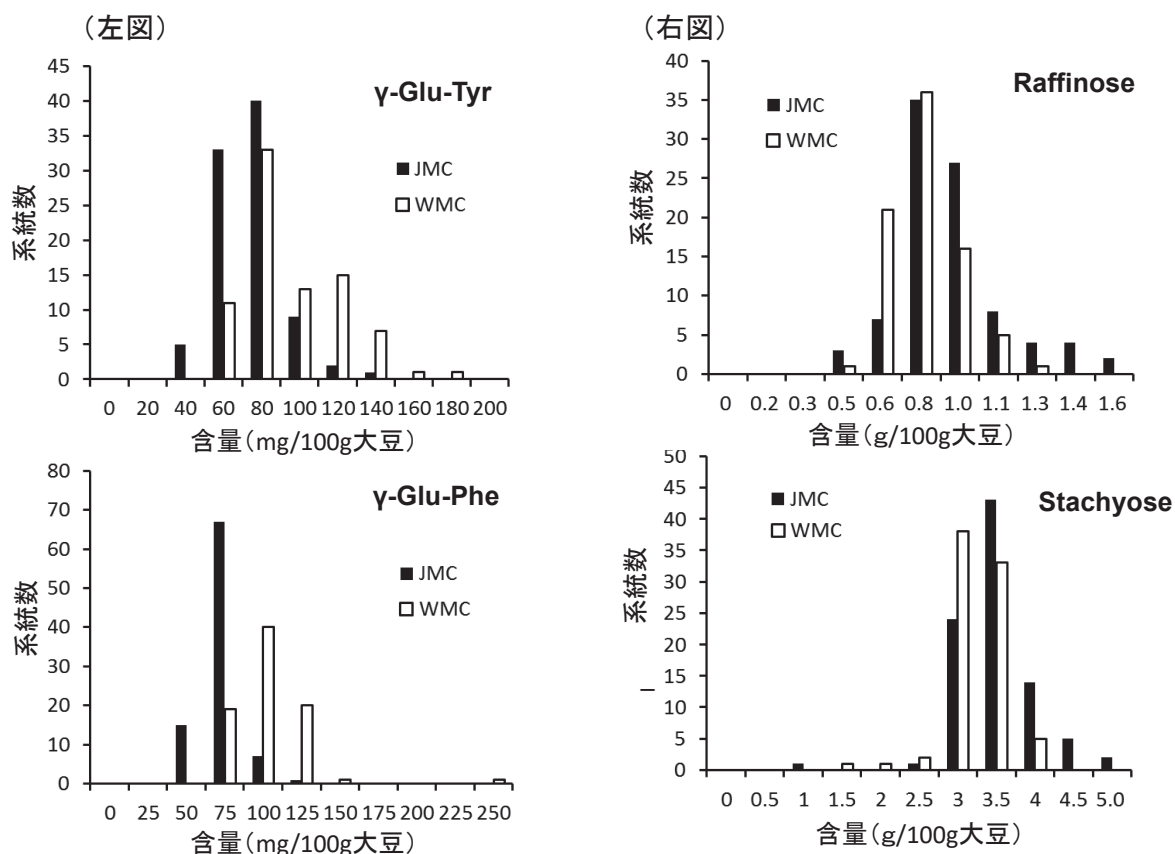


図7 ジーンバンク・ミニコアコレクションに含まれる大豆の γ -グルタミルペプチドおよびオリゴ糖含量、それぞれの大豆系統の成分含量別頻度分布。

日本の大豆ミニコアコレクション (JMC) と世界の大豆ミニコアコレクション (WMC) に含まれる大豆の系統について γ -グルタミルペプチド (左図) とオリゴ糖 (右図) の含量を測定した。単位は元の大豆100 グラム中のミリグラム (γ -グルタミルペプチド) あるいはグラム (オリゴ糖) で表した。それぞれの成分について、含量別の頻度分布を示した。(■), JMC; (□), WMC。引用文献16中の図を改変して使用。

Pheの方が、 γ -Glu-Tyrに比べて多く含まれていた。日本と世界のコレクションを比較した場合、海外のコレクションの方が、 γ -グルタミルペプチドの含量が高い傾向が認められた (図7, 左図)。特に、これらのペプチド含量の高い系統は、その起源を調べてみると、インド、インドネシア、パキスタン、ネパールなどから得られたもので、野生種に近い種類のものであった。それに対し、日本、中国、韓国などで栽培化され、食品への利用が図られている品種・系統については、含量が低いことが明らかとなった。以上の結果は、大豆が栽培化されて行く過程で、 γ -グルタミルペプチド含量は低くなる方向に品種改良、あるいはセレクションが進んで行ったと言える。それに対し、オリゴ糖の場合を検討してみると、その含量は、報告された値¹²⁾と今回分析された値で大きな違いはなかった (表1)。ラフィノースとスタキオース含量の比率も、両コレクションは文献値とほぼ同じであった。日本と世界のコレクションについて含量の頻度分布を比較すると、世界コレクションにおいて、低い含量の系統

が多い傾向はあるものの、 γ -グルタミルペプチドの場合のような大きな違いはなかった (図7, 右図)。なお、日本や中国などで食品として利用されている栽培品種については、これらの分布の中央に位置していた。このことより、栽培化の過程で、これらのオリゴ糖の含量は平均的な値になるように収束してきたことがわかる。

次にこれらコク味付与成分の含量について、それぞれ相関があるのか検討した。日本および世界のコレクションの系統全てをひっくりめた形で検討したところ、 γ -Glu-Tyrと γ -Glu-Pheの間には相関が認められた ($r=0.59$)。世界のコレクションの中には、異常に両ペプチドの比率が異なるものが1系統含まれていて、それが相関係数を下げているため、実際にはかなり高い相関が認められたといえる。ラフィノールとスタキオースの間にも比較的高い相関が認められた ($r=0.58$)。この場合もいくつかの系統で両者の比率が大きく異なるものがあった。以上の結果より、 γ -グルタミルペプチド同士、オリゴ糖同士では、含量に相関が認められたことから、代謝系、合成

表2 γ -グルタミルペプチドとオリゴ糖が共に高い大豆系統

系統番号	γ -グルタミルペプチド (mg/100 g 大豆)		オリゴ糖 (g/100 g 大豆)	
	γ -Glu-Tyr	γ -Glu-Phe	ラフィノース	スタキオース
W 39	123.8	133.6	0.95	3.54
W 45	128.8	138.9	0.87	3.73
全系統平均	74.8	89.1	0.79	3.11

引用文献16中の表を改変して使用。

系における関連性が示唆された。なお、 γ -グルタミルペプチドとオリゴ糖の間には、相関はなかった。

コク味付与効果に基づいて、大豆を調理や加工に利用しようとする場合には、 γ -グルタミルペプチドやオリゴ糖の含量が共に高い系統が有望といえる。表2に示すように、世界コレクションの中に、 γ -グルタミルペプチド、オリゴ糖の含量が共に高い系統が存在した。これらW39とW45という系統が、現在、どのように利用されているのか、また食品に利用するのに適した形質（タンパク質や油の含量、豆腐・納豆・味噌への加工適性、呈味性等々）をもっているのか等は不明である。ただ、今後、この γ -グルタミルペプチドやオリゴ糖の含量をターゲットとして、他の形質も勘案しながら育種、選抜を行ってゆけば、コク味付与成分を豊富に含み、調理や加工にも適した性質をもつ大豆系統、品種を作出することが可能になるかもしれない。

4. 効率的なコク味付与成分抽出法の探索

大豆のコク味付与成分を調理や食品加工に利用しようとする場合、品種の選択とならんで、そのコク味付与成分を最大限引き出す処理方法を検討することも重要である。第2節で紹介したように、料理早指南という江戸時代出版された書物に、炒り大豆を原料として大豆だしをとったとの記述がある。一方で、大豆加工において、リポキシゲナーゼの作用などによる不快臭の発生を防止するために加熱処理はしばしば行われる¹⁷⁾。そこで、加熱処理がコク味付与成分の抽出効率に与える影響を調べた¹⁸⁾。ただし、ここでは、より一般的な食品利用を考えて豆乳を調製し、その中に含まれるコク味付与成分が加熱処理によってどのような影響を受けるのか検討した。

原料大豆をオートクレーブ（以下AC、加熱温度：110℃、加熱時間：3～5分）、マイクロウェーブ（MW、500W、10～40秒）、乾熱（DH、110℃、60～180分）処理して、その後、水に浸漬後、摩砕して豆乳を分離した。この場合、摩砕時には加熱をしない。一方、標準的な方法として原料大豆を加熱処理することなく浸漬し、摩砕時に加熱して豆乳を調製する方法（最大90℃）も行って比較した。残念ながら、制限ページ数を越える恐れがあ

るために、詳細な結果については省き、テキスト中で結果について述べるのみに止める。原料大豆に対して、どのような方法で加熱を行った場合でも、通常の摩砕時に加熱する方法と比較して、大幅に γ -グルタミルペプチドとオリゴ糖の抽出量が増加した。どの方法でも、加熱時間を延ばすことにより抽出量が増加したが、ACでは加熱時間5分と7分、DHでは加熱時間150分と180分では、あまり大きな違いは見られなかった。加熱方法の中では、MWがもっとも効率がよく、加熱しない場合に比べて、最終的に2倍以上の抽出量が得られた。次いで、AC、DHの順番で、DHではせいぜい1.4倍程度の上昇に止まった。大豆種子のSEM観察から、AC加熱やMW加熱を行うことにより、DH加熱や未加熱の場合に比べて、大豆種子細胞の変形や破壊が促進される傾向が認められた。以上の結果は、大豆の種子構造が加熱によって、ある程度破壊されることにより、元々存在していた成分が効率よく抽出されるようになったことを示している。

5. 終わりに

以上の結果から、適切な大豆原料（品種や系統）の選択と加熱処理を組み合わせることで、大豆に含まれるコク味付与成分を多く含む食品素材（たとえば豆乳など）を作り出す可能性が示された。このような素材が、植物性呈味素材として、様々な調理加工場面で利用される機会が増えることにより、大豆の食品利用が拡大し、おいしさ向上に貢献できることが期待される。

謝 辞

本研究は、京都大学農学研究科農学専攻に設置された産学共同講座「不二製油大豆ルネサンス講座」と農学専攻品質評価学分野、食品生物科学専攻食品分子機能学分野の共同研究で行われたものである。不二製油大豆ルネサンス講座の元特定教授・廣塚元彦博士、元特定助教・水谷由記子博士、品質評価学分野の林由佳子准教授、松宮健太郎助教、さらには食品分子機能学分野の元教授・河田照雄博士、高橋春弥助教に共同研究を推進していただいたことに対し心からお礼を申し上げます。

文 献

- 1) Davidson, J. M.; Linforth, R. S. T.; Holloword, T. A.; Taylor, A. J. Effect of sucrose on the perceived flavor intensity of chewing gum. *J. Agric. Food Chem.* 1999, Vol. 47, 4336-4340.
- 2) Baines, Z. V.; Morris, E. R. "Effects of polysaccharide thickness on organoleptic attributes". *Gums and Stabilizers for Food Industry*, 4. G. O. Phillips, D. J. Wedlock and P. A. Williams. Oxford. IRL Press, 1988, 193-201.
- 3) Ueda, Y.; Sakaguchi, M.; Hirayama, K.; Miyajima, R.; Kimizuka, A. Characteristic flavor constituents in water extract of garlic. *Agric. Food Chem.* 1990, Vol. 54, 163-169.
- 4) Ohsu, T.; Amino, Y.; Nagasaki, H.; Yamanaka, T.; Takeshita, S.; Hatanake, T.; Maruyama, Y.; Miyamura, N.; Eto, Y. Involvement of the calcium-sensing receptor in human taste perception. *J. Biol. Chem.* 2010, Vol. 285, 1016-1022.
- 5) Ueda, Y.; Tsubuku, T.; Miyajima, R. Composition of sulfur-containing components in onion and their flavor characters. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1994, Vol. 58, 108-110.
- 6) Toelstede, S.; Dunkel, A.; Hofmann, T. A series of kokumi peptides impart the long-lasting mouthfulness of matured Gouda cheese. *J. Agric. Food Chem.* 2009, Vol. 57, 1440-1448.
- 7) Hillman, H.; Hofmann, T. Quantitation of key tastants and re-engineering the taste of Parmesan cheese. *J. Agric. Food Chem.* 2016, Vol. 64, 1794-1805.
- 8) Degenhardt, A. G.; Hofmann, T. Bitter-tasting and kokui-enhancing molecules in thermally processed avocado (*Persea americana* Mill.). *J. Agric. Food Chem.* 2010, Vol. 58, 12906-12915.
- 9) 西村敏英, 江草愛. 食べ物の「こく」を科学する. 化学と生物, 2016, Vol. 54, 102-108.
- 10) 日本豆乳協会. 世界の豆乳消費量の比較. 2016, <http://www.tounyu.jp/shared/PDF/database/2016.pdf>
- 11) Shibata, M.; Hirotsuka, M.; Mizutani, Y.; Takahashi, H.; Kawada, T.; Matsumiya, K.; Hayashi, Y.; Matsumura, Y. Isolation and characterization of key contributors to the "kokumi" taste in soybean seeds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2017, Vol. 81, 2168-2177.
- 12) Hou, A.; Chen, P.; Alloatti, J.; Li, D.; Mozzoni, L.; Zhang, B.; Shi, A. Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections. *Crop Sci.* 2009, Vol. 49, 903-912.
- 13) Morris, C.; Thompson, J. F. The isolation and characterization of γ -L-glutamyl-L-tyrosine and γ -L-glutamyl-L-phenylalanine from soybeans. *Biochem.* 1962, Vol. 1, 706-709.
- 14) Roudot-Algaron, F.; Kerhoas, L.; LeBars, D.; Einhorn, J.; Gripon, J. C. Isolation of γ -glutamyl peptides from Comté cheese. *J. Dairy Sci.* 1994, Vol. 77, 1161-1166.
- 15) Sforza, S.; Galaverna, G.; Schivazappa, C.; Marchell, R.; Dossena, A.; Virgili, R. Effect of extended aging of Parma dry-cured ham on the content of oligopeptides and free amino acids. *J. Agric. Food Chem.* 2006, Vol. 54, 9422-9429.
- 16) Shibata, M.; Hirotsuka, M.; Mizutani, Y.; Takahashi, H.; Kawada, T.; Matsumiya, K.; Hayashi, Y.; Matsumura, Y. Diversity of γ -glutamyl peptides and oligosaccharides as "kokumi" taste enhancers in seeds of soybean mini core collection. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2018, Vol. 82, 507-514.
- 17) Mizutani, T.; Hashimoto, H. Effect of grinding temperature on hydroperoxide and off-flavor contents during soymilk manufacturing process. *J. Food Sci.*, 2004, Vol. 69, 112-116.
- 18) Shibata, M.; Hirotsuka, M.; Mizutani, Y.; Takahashi, H.; Kawada, T.; Matsumiya, K.; Hayashi, Y.; Matsumura, Y. Thermal treatment of soybean seeds can improve the quality of soymilk by enhancing the extraction efficiency of "kokumi" taste components. *Food Sci. Technol. Res.* 2018, Vol. 24, 1111-1119.