

9258 甘味タンパク質の甘味発現における塩の影響

助成研究者:北畠 直文(京都大学 食糧科学研究所)

1. 研究目的 タンパク質は食品中であって、味物質や匂い物質との相互作用を通して、食品の味や匂いに関わっているが、タンパク質それ自体はほとんどの場合無味無臭である。しかしアフリカ産の植物の実から精製されたソーマチンは強い甘味活性を有するタンパク質であることが知られている。その甘味は砂糖の100,000倍(モル比)にも達する。このタンパク質についてはすでに三次元構造も明らかにされているが、甘味活性発現機構についていまだ不明の点が多い。一方、応用面ではすでに現在食品添加物として利用されている。砂糖に代表される少糖、単糖系の甘味料は、甘味域値が高く、かつ塩の影響を受けることが知られている。すなわち砂糖の甘味は食塩の添加によって増大する。本研究においてはソーマチンの甘味特性に対する塩の影響を検討し、ソーマチンの甘味受容の機構について考察した。

2. 研究方法 食品添加物用の粗製ソーマチンをSPセファデックスクロマトグラフィに供して、ソーマチンIを調製した。以下このソーマチンIを用いて実験を行なった。

甘味の測定は三点識別法の官能テストを用いて行なった。

3. 研究結果 ソーマチンを水に溶解した場合、その甘味閾値は20から50nMであった。50nM、および500nMのソーマチンに対してNaClを添加した場合、NaCl濃度の上昇に伴って甘味は低下し、NaCl 50mM, 100mMの濃度で消失した。この現象は、砂糖やアミノ酸の甘味に対する塩の効果とは異なるものであった。さらにNaCl 10mM, 100mMの存在下においてソーマチンの甘味閾値を調べたところ、それぞれ100から200nM, 500から1000nMへと上昇した。したがってNaClはソーマチンの舌表面に存在すると思われる受容部位への結合を抑制するものと考えられる。またリン酸ナトリウムについても同様の実験を行なったところ、NaClより強い抑制効果が認められた。



## 9258 甘味タンパク質の甘味発現における塩の影響

助成研究者:北島 直文(京都大学 食糧科学研究所)

## 【研究目的】

タンパク質は、必須栄養素であるばかりでなく、食品が好ましい食べ物として受け入れられるための物性発現においても重要な機能を有している。このいわゆる食品タンパク質の機能特性は塩の影響を強く受けることがよく知られている。例えばタンパク質濃度など他の条件が同じであっても、わずかな塩濃度の違いによって物性が大きく変化する場合は多々見られる。

食品タンパク質は食品の物性を支配する因子の一つであるが、食品の味にも影響を与えている場合が少なくない。例えば、味物質との相互作用を介して、その味を弱めたり、逆に保持したりすることが知られている。タンパク質による味のマスキングはその例である。しかしタンパク質そのものは大多数が無味である。したがって、通常、味は食品タンパク質の特性に入っていない。それゆえ、タンパク質の味に関する研究は、これまで活発であったとは言い難い。

タンパク質は大部分が無味であるが、中には、特有の味、味覚活性を有するタンパク質がいくつか知られている。アフリカ産の植物の実から精製されたソーマチンは強い甘味活性を有するタンパク質である。このタンパク質はすでに市販され、食品添加物として利用されている。ソーマチンは分子量22,000のタンパク質であり、甘味の強度は砂糖の100,000倍(モル比)である。その三次元構造についても報告があるが、甘味の活性中心や甘味発現機構、その他諸性質について依然不明な点が多い。本研究は、甘味発現における塩の影響を明らかにすることを目的としている。

タンパク質に対する塩の一般的な影響を考えると、甘味タンパク質の甘味活性も塩によって変化することが考えられる。特に、この甘味タンパク質は、舌の表面に存在するタンパク性の甘味受容体と相互作用をして甘味が発現されているものと考えられている。したがって、塩は、1)甘味タンパク質の状態に影響を与え、甘味活性を変化させ、2)タンパク性の甘味受容体そのものについても影響を与え、そして3)両タンパク質の相互作用にも影響を

与えるものと思われる。2)の、塩がタンパク性の甘味受容体そのものに影響を与えていることは、砂糖やその他甘味物質の甘味が、塩の添加により、変化することからも予測される。また、3)に挙げた甘味タンパク質と甘味受容体の相互作用は、砂糖やブドウ糖などの通常の甘味剤と甘味受容体の結合とは極めて異なる。砂糖など通常の甘味剤と甘味受容体の親和性は弱い。これは多量の糖分を摂取するためには必要であり、合目的なことである。それに対して甘味タンパク質のソーマチンは親和性が著しく大きいことが知られている。

本研究では、上記の甘味タンパク質の作用を、塩の影響という観点から系統的に研究し、甘味タンパク質の作用、甘味受容機構を検討しようとするものである。

#### 【研究方法】

甘味タンパク質ソーマチンは食品添加物として利用されているものを出発物質として、イオン交換クロマトグラフィを用いて精製し、ソーマチンIを調製して、これを用いた。ちなみにこの標品は電気永動的に単一である。卵白アルブミンは結晶法により新鮮卵白から調製した。甘味タンパク質ソーマチンの甘味活性は、官能テストを用いて調べた。三点識別法を使い、甘味度を評点した。塩の添加効果、濃度を変えた時の甘味の質の変化を調べた。

#### 【研究結果】

1 mMから100 mMのNaCl溶液にソーマチンIを溶解して、甘味の違いを調べた。ソーマチンIの濃度は50 nM、および500 nMである。NaCl無添加の条件下において、50 nMのソーマチンI溶液の甘味を評点2、500 nMのソーマチンI溶液の甘味を評点5として、各NaCl濃度におけるソーマチンI溶液の甘味を測定した。Fig. 1に示すように、1 mMのNaCl濃度ではソーマチンの甘味は全く影響を受けないが、NaCl濃度が上昇するに連れ、その甘味は低下した。NaCl濃度が上昇すると、当然塩味も上昇するが、塩味によって甘味がマスクされたのではなく、甘味自体が抑制されたものと判断された。ソーマチンの甘味は口腔内に長く持続し、水ですすいだ後もあと味として甘味が残る。このあと味が塩の存在によって著しく弱まる結果が得られた。Fig. 1からわかるように、100 mMのNaClでは塩味のみを感知し、ソーマチン固有の甘味は感知できなかった。上記の塩の効果はソーマチンの甘味の強度を下げているだけであるか、それともソーマチンの甘味の閾値にも影響を与えているのか否かを次に検討した。

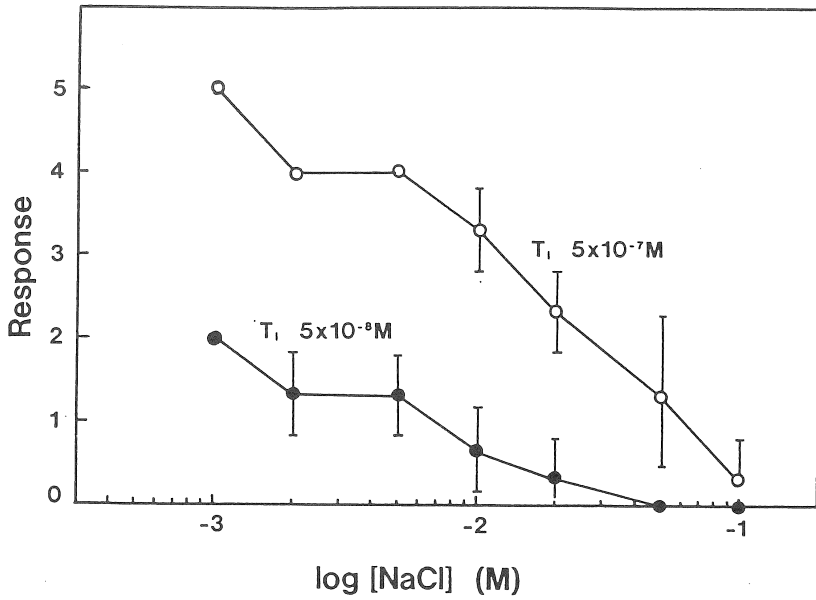


Fig. 1 - Effects of NaCl on sweetness response of thaumatin I

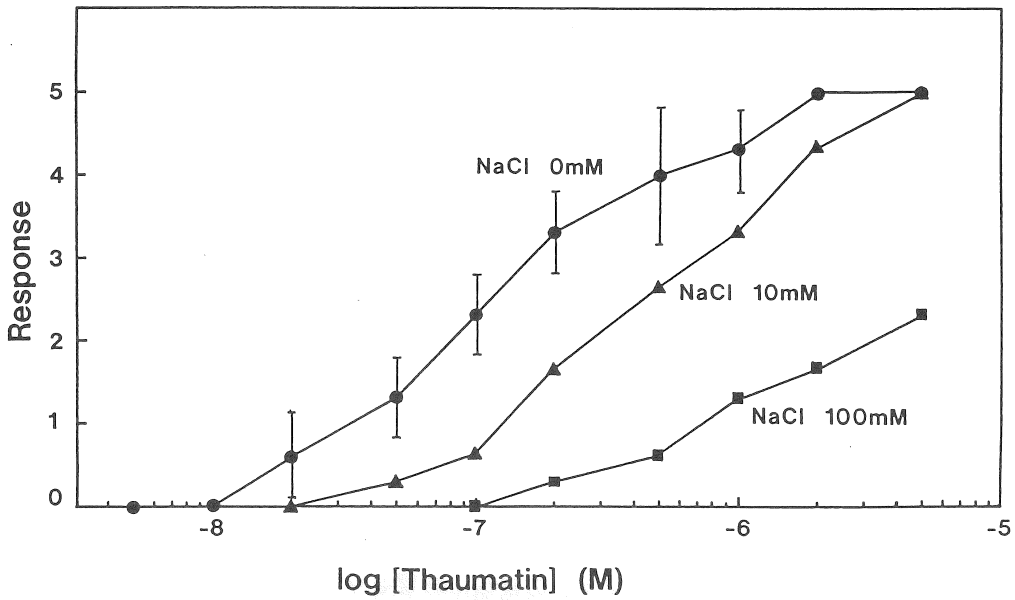


Fig. 2 - Effects of NaCl on sweetness response and sweetness threshold of thaumatin I.

NaCl 10mM、100mMの存在下で、ソーマチンIの濃度を10nMから10 $\mu$ Mまで変えて甘味を測定した。Fig. 2から明らかなようにNaClの存在によってソーマチンIの閾値が上昇し、100mM NaClでは閾値が10倍近く上昇した。このことはソーマチンと舌上の受容部位との親和性が塩の影響を強く受けることを意味し、静電的相互作用がソーマチンと舌上の受容部位との結合に重要な役割を果たしているものと考えられる。

上記で得られた結果が、NaClに固有のものであるか、それとも塩一般に認められる現象であるのか、それを調べるため、リン酸ナトリウムを用いて同様の実験を行なった。

(Fig. 3) 蒸留水に溶かしたソーマチンのpHが約6前後であったため、リン酸ナトリウムのpHは6になるように調整した後、実験に供した。1mMのリン酸ナトリウムでも、ソーマチン濃度が低い場合は甘味の抑制が認められ、リン酸ナトリウム濃度が上昇するに連れ、甘味が低下した。リン酸ナトリウム濃度が上昇すると、当然酸味も上昇するが、酸味によって甘味がマスクされたというより、この場合も甘味自体が抑制されたものと判断された。Fig. 3からわかるように、50mMのリン酸ナトリウムでは酸味のみを感知し、ソーマチン固有の甘味は感知できなかった。このリン酸ナトリウムの効果はソーマチンの甘味の強度を下げていただけなのか、それともソーマチンの甘味の閾値にも影響を与えているのか検討した。Fig. 4が示すように、NaClの場合と同様に、リン酸ナトリウムもソーマチンの閾値を上昇させた。したがって、この現象は塩一般に見られるものであろうと推察した。

ここまでではカチオンとしてナトリウムを用いて来たが、このカチオンの影響を調べるため、CaCl<sub>2</sub>を用いて同様の実験を試みた。Fig. 5にあるように先の例と比べるとはるかに低い濃度で甘味抑制効果を示している。カチオンが強い影響力を示すと考えられる。ところで、CaCl<sub>2</sub>は唾液に含まれ、唾液は味覚受容においても大きな意味を持っているものと思われる。そこでEDTAのソーマチンの甘味に対する効果を調べてみた。Fig. 6に示すように、EDTAの効果は複雑であり、甘味は1mMまで上昇し、それ以上のEDTA濃度の上昇によって甘味は低下する結果となった。これは低濃度のEDTAの場合、唾液に含まれるカルシウムを主体とする二価カチオンをトラップするために、見かけの塩濃度が下がり、ソーマチンと受容部位との結合抑制が解除され、甘味が上昇したと考えられる。一方、EDTA濃度がさらに上昇すると、EDTA自体によるイオン強度上昇による効果が生じたために、甘味は低下したのと考えている。

ソーマチンは極めて等電点の高いタンパク質である。したがって、酸性物質との結合に伴う甘味の変化が考えられる。そこで酸性の等電点を有する卵白アルブミンの添加効果を調べた。しかし卵白アルブミンはソーマチンの甘味に影響を与えなかった。(Fig. 7) ソーマチンは強い塩基性タンパク質であるとは言え、非特異的な酸性タンパク質との相互作用で、舌上の受容部位との結合が妨げられることは少ないものと、推察された。

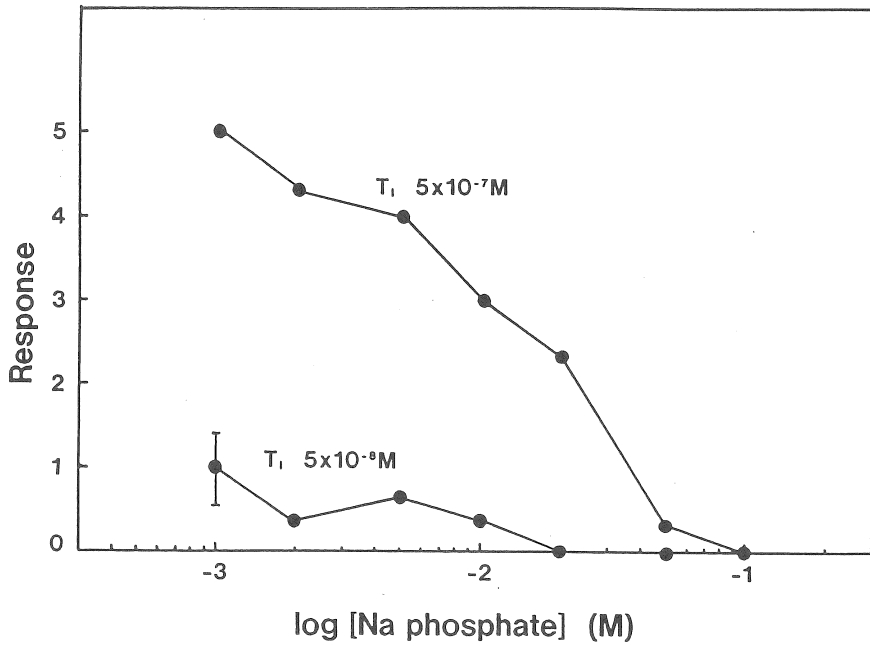


Fig. 3 - Effects of Na phosphate on sweetness response of Thaumatin I.

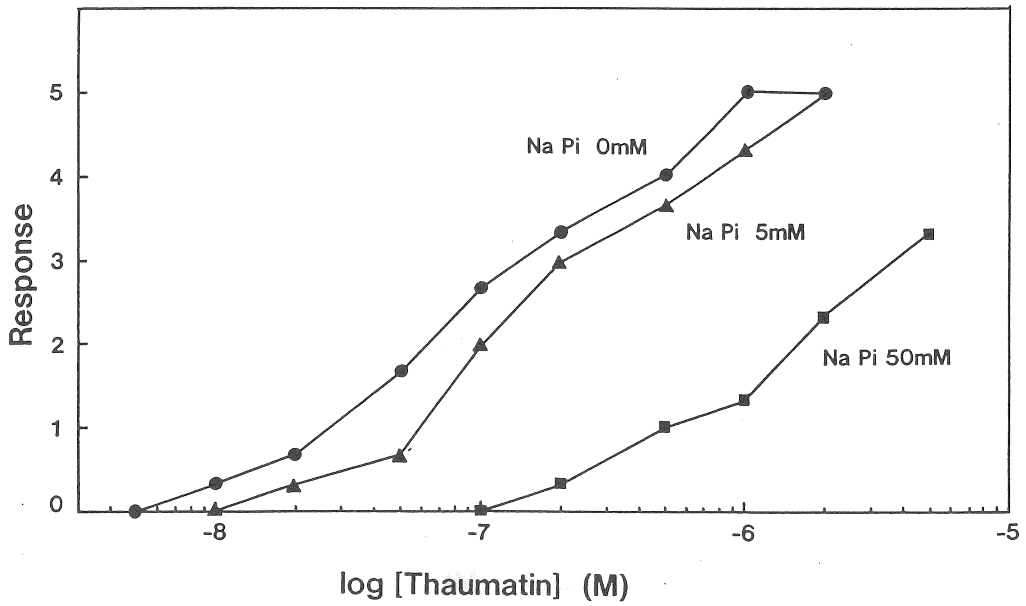


Fig. 4 - Effects of Na phosphate on sweetness response and sweetness threshold of Thaumatin I.

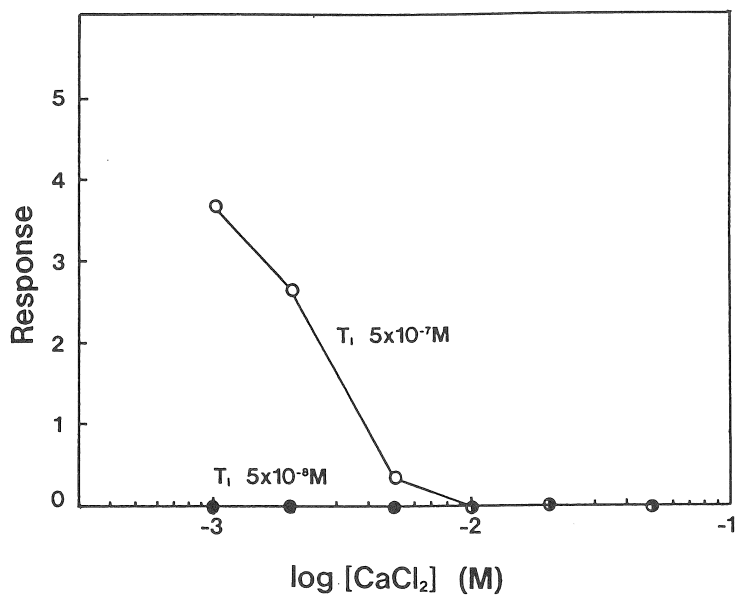


Fig. 5 - Effects of CaCl<sub>2</sub> on sweetness response of thaumatin I.

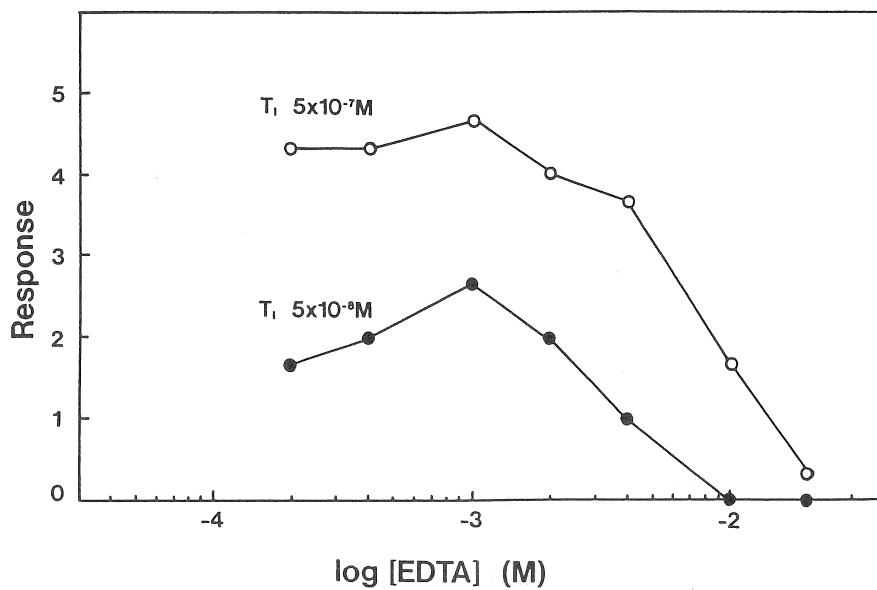


Fig. 6 - Effects of EDTA on sweetness response of thaumatin I.



## 【考察】

砂糖の甘味は、食塩の添加によって増強されると言われている。ソーマチンの場合には、ここで示したように、塩の添加は甘味を低減する結果となった。特に塩によってソーマチンの甘味閾値が上昇するという事実は、ソーマチンと受容部位との相互作用を考える上で興味深い。またEDTAの効果は、唾液中のカチオンがソーマチンの甘味受容に関わっていることを示唆するデータであり、さらに研究を要する。特に、EDTAがソーマチンの甘味閾値に変化を与えているのか否かについては、現在検討中である。

## 【今後の課題】

味覚は五感のひとつでありながら、今日まで、その機構、実態が明確にされて来なかった。しかし近年の分子生物学的アプローチによって、まさにそれらが開かれようとして来ている。おそらく、この新しい手法による解析は、旧来の方法論やデータを取り入れる形で味覚認識機構を明らかにしていくものと思われる。本研究で用いた研究手法は、分子生物学的アプローチとは最も遠いところに位置するものであるが、最も重要な現象を与えている。今後の課題は、この様なデータを、他の研究手法で得られたデータとどのようにして結び付け、味覚認識の全体像に迫って行くかにあるものと思われる。

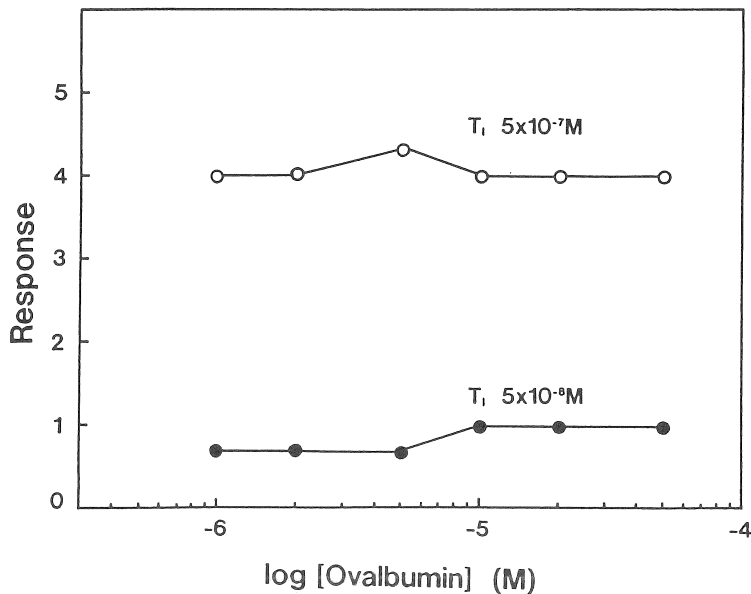


Fig. 7 - Effects of ovalbumin on sweetness response of thaumatin I.

EFFECTS OF SALTS ON THE SWEETNESS OF THAUMATIN

Naofumi KITABATAKE

Research Institute for Food Science, Kyoto University  
Uji, 611 Kyoto, Japan

Summary

The effects of salts on the sweet taste of sweet protein; thaumatin were examined by the psychophysical method. The threshold value of sweetness of thaumatin; 50 nM, increased with an increase of NaCl concentration, meaning the sweetness of thaumatin was depressed by NaCl. Sodium phosphate and calcium chloride were more effective to depress the sweetness of thaumatin than NaCl. The sweetness of thaumatin was not detected up to 500 nM in the presence of 5 mM  $\text{CaCl}_2$ . In the case of ethylenediamine tetraacetate (EDTA) the sweetness of thaumatin was increased at low concentration and at high concentration it decreased with an increase in the concentration of EDTA.