

褐色色素メラノイジンの基本味に及ぼす呈味特性と食塩の影響

助成研究者：早瀬 文孝（明治大学農学部農芸化学科）

アミノ酸、ペプチドやタンパク質と還元糖が非酵素的に反応してメラノイジンとよばれる褐色の物質が生成する。この反応は、メイラード反応とよばれ、食品のみならず生体・環境中にも起こる普遍的な反応である。本研究ではメラノイジンの呈味特性を明らかにする目的でメラノイジンの呈味性を官能評価するとともに基本味、時に苦味、うま味を有する化合物との相互作用について、さらに、塩類の影響について官能試験、統計解析を行った。また、相互作用が認められた呈味物質が有する官能基に関して、ピアコア（生体分子間相互作用分析装置）により、メラノイジンによる影響を解析した。

メラノイジンは2MのD-Glucose、2MのGlycine、0.2Mの炭酸水素ナトリウムを蒸留水に溶解し、95°Cの油浴中で7時間環流した。得られた反応生成物を2週間透析し、非透析性画分を凍結乾燥し、メラノイジン(Mel)を得た。

苦味物質であるcaffeineおよびうま味物質であるmonosodium glutamate(MSG)の水溶液にメラノイジンを添加し、苦味、うま味の強さを7段階評価で官能評価した。官能検査の手法としてシェッフエの一対比較の浦変法を用いた。Caffeine濃度は0.075%に、MSG濃度は0.072%に調製し、メラノイジン濃度は検知閾値以下の濃度に調製した。

パネラーは当研究室に所属している20代の男女12名で行い、アイマスク、ノーズクリップを着用させた。統計処理は分散分析によるF検定と有意差検定で行った。

メラノイジンと呈味物質の相互作用はBiacoreを用いて解析した。メラノイジンをリガンド、呈味物質をアナライトとして相互作用を解析した。

苦味に対するメラノイジンの影響について、カフェインの苦味をメラノイジンが抑制するという結果が得られた。また、MSGのうま味をメラノイジンが抑制するという結果が得られた。MSGに食塩を添加するとうま味が増強することが知られている。そこで、MSGにNaClを添加した溶液に対し、メラノイジンの影響について、うま味の強さを官能評価した。しかし、メラノイジンはMSGのうま味の強さには影響を与えなかった。

メラノイジンをリガンドとして、カフェインとグルタミン酸ナトリウム(MSG)をアナライトとしてBiacoreで分析した結果、カフェイン、MSGはメラノイジンとは相互作用を示さなかったと結論できた。以上の結果より、メラノイジンの苦味やうま味抑制作用は、これら呈味物質とメラノイジンの相互作用によるのではなく、うま味レセプター、苦味レセプターにメラノイジン自身が結合して抑制作用が発現していると考えられた。

20

助成番号 0251

褐色色素メラノイジンの基本味に及ぼす呈味特性と食塩の影響

助成研究者：早瀬 文孝（明治大学農学部農芸化学科）

1. 研究目的

アミノ酸、ペプチドやタンパク質と還元糖が非酵素的に反応してメラノイジンとよばれる褐色の物質が生成する。この反応は、1912年 Maillard が発見したことからメイラード反応（マイヤー反応、マヤール反応）とよばれている。この反応は味噌、しょう油の褐変の主要な反応の一つである。また乳製品の褐変（乳糖とタンパク質の反応が主体）、パン、焼き肉、コーヒー、ビスケット、果汁、乾燥果実などの褐変もメイラード反応によるところが大きい。また、メイラード反応は食品のみならず生体・環境中にも起こる普遍的な反応である。とくに生体内メイラード反応は糖尿病などの生活習慣病の一因と考えられている[1-4]。この反応の最終生成物である褐色色素・メラノイジンは色の発現という面から食品の2次機能を有しており、脱変異原性、活性酸素消去作用などの3次機能も有することを筆者らは報告した[5-7]。経験的に褐色色素が呈味の面においても食品の2次機能に寄与していると考えられるが、学術的研究は全く行われていない。本研究ではメラノイジンの呈味特性を明らかにする目的でメラノイジンの呈味性を官能評価するとともに基本味、時に苦味、うま味を有する化合物との相互作用について、さらに、塩類の影響について官能試験、統計解析を行った。また、相互作用が認められた呈味物質が有する官能基に関して、ピアコア（生体分子間相互作用分析装置）により、メラノイジンによる影響を解析した。

2. 研究方法

2-1. メラノイジンの調製

2M の D-Glucose、2M の Glycine、0.2M の炭酸水素ナトリウムを蒸留水に溶解し、95°C の油浴中で7時間環流した。得られた反応生成物を2週間透析し、非透析性画分を凍結乾燥し、メラノイジン (Mel) を得た。

2-2. メラノイジンの検知閾値

メラノイジンの検知閾値を求めるため、0.015%、0.030%、0.045%のメラノイジン水溶液について3点識別法を用いた。実際にはメラノイジン溶液1種類、無味水2種類、計3種類を官能評価し、濃度の低いメラノイジンから順に行った。さらに、順序の効果を消去するために官能評価する3種類の試料の順番を (Mel→無味水→無味水) (無味水→Mel→無味水) (無味水→無味水→Mel) の3つに振り分けて行った。パネラー

は当研究室に所属している20代の男女9名で行い、色調による識別を防ぐため、アイマスクを、嗅覚の影響を防ぐためにノーズクリップをパネラーに着用させた。検定方法は3点識別法の検定表[8]により、繰り返し数（パネル数）と正解数より有意差検定を行った。

2-3. 苦味及びうま味に対するメラノイジンの呈味特性

苦味物質である caffeine およびうまみ物質である monosodium glutamate (MSG) の水溶液にメラノイジンを添加し、苦味、うま味の強さを官能評価した。官能検査の手法としてシェッフエの一対比較の浦変法[9]を用いた。Caffeine 濃度は 0.075% に MSG 濃度は 0.072% に調製し、メラノイジン濃度は検知閾値の濃度以下に調製した。

官能評価には3種類の試料(A: caffeine あるいは MSG のみ; B: Mel 添加試料 1; C: Mel 添加試料 2) について (A→B) (B→A) (B→C) (C→B) (C→A) (A→C) をランダムな順に1回ずつ評価した。そのときに先の試料の呈味が非常に強いと感じた場合を+3、強いと感じた場合+2、わずかに強いと感じた場合+1、差がないと感じた場合0、わずかに弱いと感じた場合-1、弱いと感じた場合-2、非常に弱いと感じた場合を-3というように7段階評価を行った。パネラーは当研究室に所属している20代の男女12名で行い、アイマスク、ノーズクリップを着用させた。統計処理は分散分析によるF検定と有意差検定で行った。

2-4. メラノイジンとカフェイン、グルタミン酸ナトリウムの相互作用解析

メラノイジンと呈味物質の相互作用は Biacore 2000 (Biacore) を用いて解析した。メラノイジンをリガンド、呈味物質をアナライトとして相互作用を解析した。ランニングバッファーは HBS バッファー、pH 7.4 を用いた。メラノイジンのセンサーチップへの固定は N-ε-アミノカプロン酸-グルコース系から調製したメラノイジン（調製法は 2-1 と同様）を CM5 のセンサーチップにチオールカップリング法で固定化した。また、メラノイジンの代わりに ethanolamine を固定化したものをリガンドとアナライトの結合シグナルのブランクとした。アナライトは HBS バッファーの溶解し、500 μg/ml に調製した。

3. 研究結果および考察

3-1. メラノイジンの検知閾値

メラノイジン溶液は 0.015% では水と識別できなかった。0.03% で 0.1% 有意、0.045% で 1% 有意となった。したがって、メラノイジンの検知閾値は 0.015% から 0.03% の間にあると考えられた。

3-2. メラノイジンの苦味に対する影響

官能評価には A: Caffeine 0.075%; B: メラノイジン 0.0075% 添加した Caffeine 0.075%; C: メラノイジン 0.015% 添加した Caffeine 0.075% の 3 種類の溶液を調製した。

統計処理の結果、各溶液の平均嗜好度（苦味の強さ）は A が 0.278、B が 0.093、C が

-0.370 となり、メラノイジンを添加することにより苦味が弱くなる傾向を示した。分散分析による F 検定（検定 1）および有意差検定（検定 2）の結果を表 1 に示した。

検定 1 の結果、主効果のみが危険率 1% で有意となった。また、検定 2 により、B と C 間で平均嗜好度の差の絶対値が $Y0.05$ よりも大きくなり、C と A 間で平均嗜好度の差の絶対値が $Y0.01$ よりも大きくなったため、B-C 間が棄権率 5% で、C-A 間が危険率 1% で有意差が認められた。この結果を図 1 に示した。以上の結果より、カフェインの苦味をメラノイジンが抑制するという結果が得られた。5 回同様な実験を繰り返したが、メラノイジンの苦味抑制結果が再現性をもって得られた。

3-3. メラノイジンのうま味に対する影響と食塩の影響

官能評価には A: MSG 0.072%; B: メラノイジン 0.0075% 添加した MSG 0.072%; C: メラノイジン 0.015% 添加した MSG 0.072% の 3 種類の溶液を調製した。統計処理の結果、各溶液の平均嗜好度（うま味の強さ）は A が 0.847、B が -0.333、C が -0.514 となり、メラノイジンを添加することによりうま味が弱くなる傾向を示した。分散分析による F 検定（検定 1）および有意差検定（検定 2）の結果を表 2 に示した。

検定 1 の結果、主効果のみが危険率 0.1% で有意となった。また、検定 2 により、A と B 間で平均嗜好度の差の絶対値と C と A 間で平均嗜好度の差の絶対値が $Y0.01$ よりも大きくなったため、A-B 間、C-A 間が危険率 1% で有意差が認められた。この結果を図 2 に示した。以上の結果より、MSG のうま味をメラノイジンが抑制するという結果が得られた。3 回同様な実験を繰り返したが、メラノイジンのうま味の強さを抑制する結果が再現性をもって得られた。

MSG に食塩を添加するとうま味が増強することが知られている。そこで、MSG に NaCl を添加した溶液に対し、メラノイジンの影響について、うま味の強さを上記と同様に官能評価した。すなわち、A: MSG 0.072% + NaCl 0.03%; B: メラノイジン 0.010% 添加した MSG 0.072% + NaCl 0.03%; C: メラノイジン 0.015% 添加した MSG 0.072% + NaCl 0.03% の 3 種類の溶液を調製した。統計処理の結果、各溶液の平均嗜好度（うま味の強さ）は A が 0.042、B が -0.097、C が 0.056 となり、メラノイジンの影響は認められなかった。分散分析による F 検定（検定 1）の結果、主効果が有意とならなかったため、各溶液のうま味の強さには有意差が認められなかった。また、MSG 濃度を 0.05% に低下させても食塩を添加することによってメラノイジンは MSG のうま味の強さには影響を与えなかった。

3-4. メラノイジンとカフェイン、グルタミン酸ナトリウムの相互作用解析

メラノイジンをリガンドとして、カフェインとグルタミン酸ナトリウム (MSG) をアナライトとして Biacore で分析したセンサグラムの結果を図 3 に示した。カフェイン、MSG はインジェクトと同時にシグナルの増加が認められるが、メラノイジンを固定化したフローセルとブランクのシグナルの増加量がほとんど同じであるため、カフェイン、MSG はメラノイジンとは相互作用を示さなかったと結論できる。以上の結果より、メラノイジンの苦味やうま味抑制作用は、これら呈味物質とメラノイジンの相互作用によるのではなく、うまレセプター、苦味レセプターにメラノイジン自身が結合して抑制作用が発現していると考えられた。

4. 今後の課題

本研究によりメラノイジンの苦味およびうま味抑制作用が明らかになったが、食品のその他の呈味物質に対してどのような影響を有するかについても興味深い。また、メラノイジンの構造および生成機構についても現在研究進行中である。メラノイジンの中間体である青色色素は同定できた[10]ため、今後、青色色素の生成機構、およびメラノイジンへの重合機構を明らかにする必要がある。

5. 文献

- [1] F. Hayase, *Food Sci. Technol. Res.*, **6**, 79-86 (2000).
- [2] 早瀬文孝、化学と生物、**31**, 592-601 (1993).
- [3] 早瀬文孝、最新医学、**49**, 1385-1391 (1994).
- [4] 早瀬文孝、栄養と健康のライフサイエンス、**3**, 789-795 (1998).
- [5] Hayase, F. and Kato, H., *Comm. Agric. Food Chem.***3**, 111-128 (1994).
- [6] 早瀬文孝、食品工業、**35**, 18-25 (1992).
- [7] 早瀬文孝、醸協誌、**88**, 421 - 425 (1993).
- [8] 古川秀子、おいしさを測る—食品官能検査の実際、幸書房 (1994).
- [9] 佐藤信、統計的官能検査法、日科技連 (1985).
- [10] F. Hayase et al., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **63**, 1512-1514 (1999).

表1. カフェインの苦味に対するメラノイジンの影響についての
統計解析による検定

〔検定1〕 分散分析によるF検定

要因	平方和	自由度	不偏分散	F ₀
主効果 S _α	24.0741	2	12.0370	7.0156 *
主効果×個人 S _{α(B)}	51.2593	34	1.5076	0.8787
組み合わせ効果 S _γ	0.2315	1	0.2315	0.1349
順序効果 S _δ	6.7500	1	6.7500	3.9341
順序効果×個人 S _{δ(B)}	31.7500	17	1.8676	1.0885
誤差 S _e	90.9352	53	1.7158	
全体 S _t	205.0000	108		
F(2, 53; 0.01) = 5.0295		F(34, 53; 0.05) = 1.6494		
F(1, 53; 0.05) = 4.0230		F(17, 53; 0.05) = 1.8193		

* P < 0.01

〔検定2〕 有意差検定

$$|\alpha_A - \alpha_B| = 0.1852 < Y_{0.05} = 0.4336$$

$$|\alpha_B - \alpha_C| = 0.4630 > Y_{0.05} = 0.4336$$

$$|\alpha_C - \alpha_A| = 0.6481 > Y_{0.01} = 0.5508$$

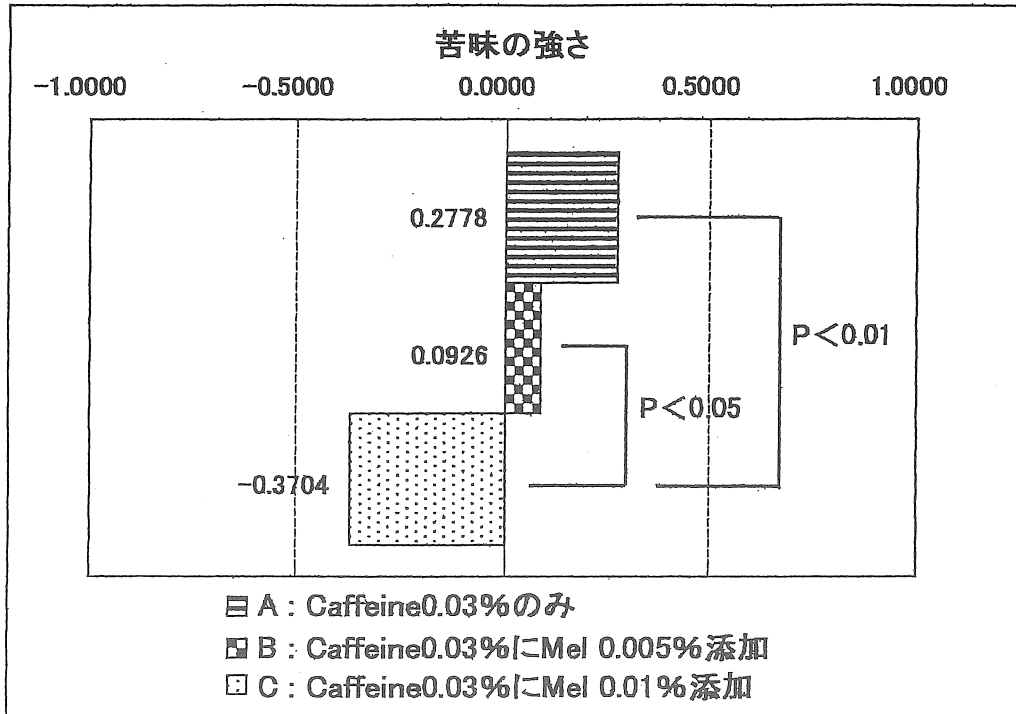


図1. カフェインの苦味の強さに対するメラノイジンの影響

表2. グルタミン酸ナトリウム (MSG) のうま味に対する
メラノイジンの影響についての統計解析による検定

〔検定1〕 分散分析によるF検定

要因	平方和	自由度	不偏分散	F ₀
主効果 S _α	78.6944	2	39.3472	26.0728 *
主効果×個人 S _{α(B)}	26.6389	22	1.2109	0.8024
組み合わせ効果 S _γ	2.3472	1	2.3472	1.5554
順序効果 S _δ	0.0139	1	0.0139	0.0092
順序効果×個人 S _{δ(B)}	12.4861	11	1.1351	0.7522
誤差 S _e	52.8194	35	1.5091	
全体 S _t	173.0000	72		
F(2, 35;0.001)=8.4701		F(22, 35;0.05)=1.8540		
F(1, 35;0.05)=4.1213		F(11, 35;0.05)=2.0750		

* P<0.001

〔検定2〕 有意差検定

$$|\alpha_A - \alpha_B| = 1.1806 > Y_{0.01} = 0.6443$$

$$|\alpha_B - \alpha_C| = 0.1806 < Y_{0.05} = 0.5053$$

$$|\alpha_C - \alpha_A| = 1.3611 > Y_{0.01} = 0.6443$$

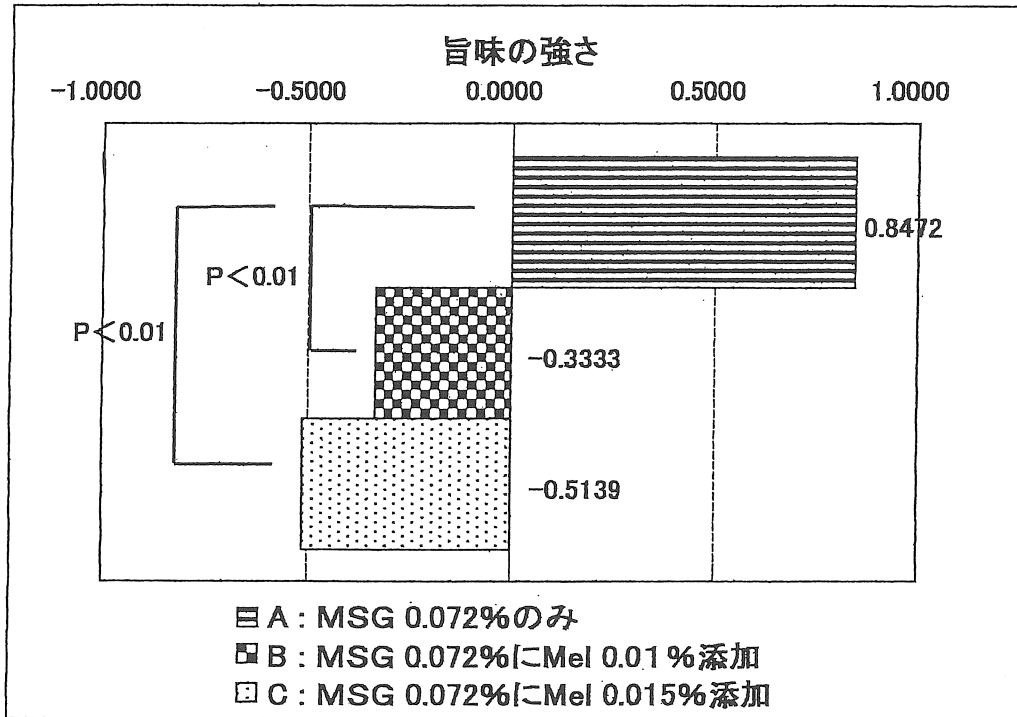


図2. グルタミン酸ナトリウム (MSG) のうま味の強さに対する
メラノイジンの影響

- ↓↑ インジェクト開始・終了
- フローセル1 : Mel 固定化量3488.7RU
 - - - フローセル2 : Mel 固定化量2758.9RU
 - ⋯ フローセル3 : ブランクコントロール

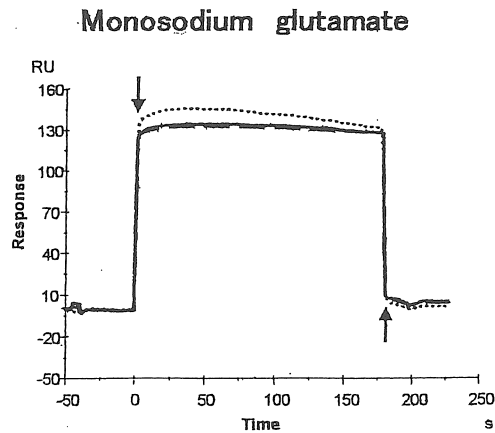
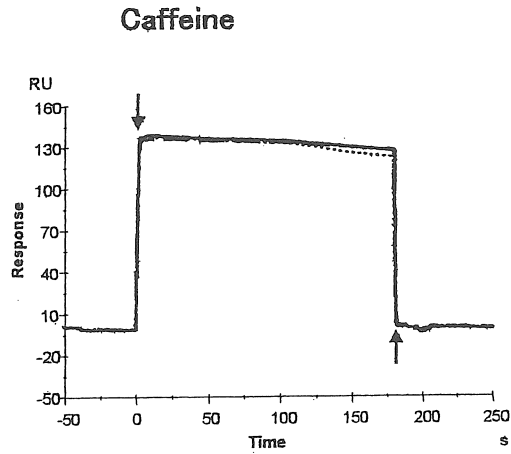


図3. 呈味物質とメラノイジンの相互作用についての Biacore による
センサグラム

リガンド：メラノイジン

アナライト：カフェインおよびグルタミン酸ナトリウム

Sensory Evaluation of Melanoidins on Basic Taste with or without Salt

Fumitaka Hayase

Department of Agricultural Chemistry, Meiji University

Summary

Typical nonenzymatic reaction occurring among food components is caused by amino and carbonyl compounds, called Maillard reaction. Melanoidins, which are final products of the Maillard reaction, are nitrogen-containing polymeric substances that decompose with difficulty. Maillard reaction occurs extensively in food systems and *in vivo*. In order to clarify the participation in taste with melanoidins, taste of melanoidins and the interaction of melanoidins with fundamental taste such as bitterness and umami were investigated by the sensory evaluation, statistical analysis, and intermolecular interaction with Biacore.

A nondialyzable melanoidins were prepared from the reaction mixture of 2M of D-glucose and 2M of glycine with 0.2M of sodium hydrogen carbonate at 95°C for 7 hr. Sensory evaluation of caffeine and monosodium glutamate (MSG) has been carried out at seven levels on the intensity of bitterness and umami with or without melanoidins, respectively. Sensory evaluation was done according to Ura's modified method of paired comparison by Scheffe's test. The concentration of caffeine and monosodium glutamate was prepared at 0.075% and 0.072%, respectively. Then, melanoidins were prepared at the concentration below detective threshold. The number of panel members was 12 and the panel members wore with nose clip and eye mask. Statistical analysis was done with F test and ANOVA.

The present study revealed that melanoidins were suppressed the bitterness of caffeine and also suppressed the intensity of umami of MSG. However, melanoidins did not affected on the intensity of umami of MSG in the presence of NaCl. Interaction between melanoidins and caffeine or MSG was not observed with Biacore by using melanoidins as ligand and caffeine or MSG as analyte. These findings indicate that the suppression effects of melanoidins on bitterness and umami are not due to the interaction between melanoidins and their taste substances but are possibly observed by the binding of melanoidins to bitterness and umami receptors.