

総説特集 食べ物のおいしさと熟成を科学する - 3

食品の呈味形成における熟成の役割

—ペプチドの生成と呈味形成への寄与—*

西村 敏英**

(広島大学大学院生物圏科学研究科)

食品の呈味は、生物資源に含まれる遊離アミノ酸、糖、核酸関連物質、有機酸、ペプチドによって形成される。ペプチドは、食品の複雑で微妙な味の発現に寄与することがわかってきた。特に、食肉やチーズといった熟成食品、味噌、醤油、納豆などの発酵食品では、それぞれの熟成あるいは発酵工程において、ペプチドが増加し、おいしさの発現に貢献している。そこで、本稿では、ペプチドの呈味性を解説した後、食品の熟成あるいは発酵過程におけるペプチドの生成並びに生成機構を説明することにより、食品の呈味形成におけるペプチドの寄与並びに熟成の役割を考えたい。

キーワード：呈味性ペプチド、味覚調節作用、酸味抑制ペプチド、トロポニンT

はじめに

食品のおいしさを決める要因には、味、香り、食感、色等の食品自身の特性を反映する要因と、食習慣、健康状態等の素材以外に由来するものがある。その中でも、味はとりわけ重要な要因の1つである(図1)。

食品の味は、その素材となる動物や植物等の生物資源に含まれる生体成分によって大きく変動する。呈味形成に関わる生体成分として、グルタミン酸やグリシン等の遊離アミノ酸、糖、核酸関連物質、乳酸やクエン酸といった有機酸、ミネラルなどがある。これらは、それ自身が味を有し、食品の呈味形成に重要な役割を果たしている。しかし、近年、アミノ酸が結合したペプチドが、食品の呈味形成に重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。特に、食肉やチーズといった熟成食品、味噌、醤油、納豆などの発酵食品では、それぞれの熟成あるいは発酵工程において、ペプチドが増加し、それが食品の味の複雑さ並びに美味を形成することがわかってきた。

そこで、本稿では、まず味を受容機構並びに食品の主な呈味成分を概説する。次に、呈味性ペプチドとペプチドの味覚調節作用を解説する。さらに、食品の熟成あるいは発酵過程におけるペプチドの生成並びに生成機構を説明することにより、食品の呈味形成におけるペプチドの寄与並びに熟成の役割を考えたい。

1. 味を受容機構

食品を口に入れたとき、味と香りを同時に感じるが、これらは別の感覚である。

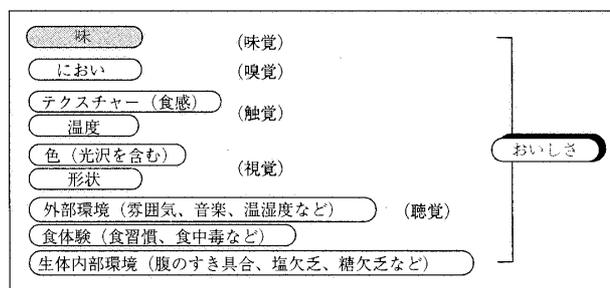


図1 食品のおいしさを決める要因。

* Recieved June 25, 2004; Accepted July 13, 2004.

Role of conditioning in the improvement of food taste :Contribution of peptides to taste of conditioned foods

**Toshihide Nishimura: Grad. Sch. Biosphere Sci., Hiroshima Univ., Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan; toshixy@hiroshima-u.ac.jp; Fax +81-824-24-7984

味は、舌や口蓋表面で感じる味覚によるものであり、甘味、塩味、酸味、苦味、うま味の5基本味に大きく分類される。これらの基本味をベースにして、こくやまろやかさ等が加わって、食品の味が決定される。これらの味が、我々に食品のおいしさを提供している。

味は、舌表面の有郭乳頭、茸状乳頭、葉状乳頭や軟口蓋、咽頭部に存在する味蕾において味物質の刺激によって生ずる¹⁾。各味蕾には、多数の味細胞が存在している。これらの先端には、呈味物質と結合する味受容体タンパク質や呈味物質を通過させるイオンチャンネルタンパク質が存在し、味物質の刺激を受容している。最近、苦味受容体タンパク質ファミリー T2R、甘味やアミノ酸受容体タンパク質 T1Rファミリーが発見され、呈味物質との相互作用が明らかとなってきた²⁾。これらの相互作用により発生した刺激が、神経を介して脳に伝達され、食品の味が知覚される。

2. 食品の呈味成分

食品の味は、主に素材に含まれる成分によって決まる。主な呈味成分として、遊離アミノ酸、糖、核酸関連物質、有機酸、ミネラル、ペプチド等がある。これらの呈味成分の含量やバランスによって、食品に特有の呈味が形成される。食品の中で、食肉やチーズといった熟成食品、味噌、醤油、納豆などの発酵食品では、それぞれの熟成あるいは発酵工程において、呈味成分が変化し、固有の呈味が形成される。

食肉は、一般的にうま味が強く、こくやまろやかさがあるとおいしいと感じる。うま味は、グルタミン酸を含む遊離アミノ酸、イノシン酸、ペプチドによってもたらされる。特に、グルタミン酸ナトリウム (MSG) とイノシン酸 (IMP) は相乗効果により強いうま味を発現する。こくは、主にペプチドやある種の低分子物質によって付与される³⁾。さらに、まろやかさは、ペプチドによって付与されることが明らかにされている。うま味の発現に貢献しているイノシン酸は、死後の筋肉においてアデノシン三リン酸から生成される。また、遊離アミノ酸とペプチドも、食肉の熟成に伴い増加し、食肉のおいしい呈味の形成に重要な役割を果たしている。

チーズの味の特徴は、苦味である。この苦味は、チーズを熟成したときに増加するペプチドによって

もたらされる。

発酵食品である味噌、醤油は、そのものが複雑な味を呈するが、種々の食品の調味において重要な役割を果たしている。これらの食品の呈味形成には、発酵工程に増加する遊離アミノ酸やペプチドが重要である。遊離アミノ酸は、うま味の発現に寄与している。また、ペプチドは、これらの食品の美味で複雑な呈味の形成に重要な役割を果たしている。

3. 呈味性ペプチド

3.1. 苦味ペプチド

大豆タンパク質やカゼインをペプシン、トリプシン等の蛋白質分解酵素 (プロテイナーゼ) で処理すると、苦味を有するペプチドが生成される。これらのペプチドは、C末端に疎水性アミノ酸を有することが特徴である。

チーズの苦味は、トリペプチドより長いオリゴペプチドによりもたらされるとされている。種々のチーズから PFPGPIP, PFPGPPIPN, QDKIHPPAQTSLSVYPPFGIPSLVYPPFGPIPNS の構造を有する苦味ペプチドが単離されている。これらの配列は、カゼインのものとは一致することから、チーズの熟成中に、カゼインが分解されて生じたと考えられる。また、チェダーチーズの製造では、熟成に伴う苦味ペプチド YQQPVLGVPVRGPFPIIV (β -カゼインの断片、 β -CN f193-209) の濃度変化は、180-270 日目の熟成期間において、チーズの苦味強度と高い相関関係のあることが判明した。このペプチドは、チーズの熟成に伴う苦味発現に寄与していると推察された⁴⁾。

納豆の苦味発現にも、苦味ペプチドが関与している。大豆に納豆菌を作用させた時に生ずる苦味ペプチドが、C末端に-AVIL という疎水性アミノ酸からなる配列を有することが明らかにされている⁵⁾。

3.2. 甘味ペプチド⁶⁾

甘味物質は、その構造の中で、プロトン供与体 (AH)、プロトン受容体 (B) 並びに疎水性官能基からなる "dispersion" site (X) に相当する官能基が、一定の距離に存在している。このような構造を有するペプチドは、舌上にある甘味受容体タンパク質と結合し、甘味が知覚される。

α -L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエ

ステルの構造を有するアスパルテームは、現在食品素材として使用されている甘味ペプチドである。アスパルテームは生理活性ペプチド、ガストリンの合成中に偶然発見されたジペプチドの誘導体である。アスパラギン酸の α -アミノ基はAHに、 β -カルボキシル基はBに、フェニルアラニンメチルエステルがXに相当する。アスパルテームは、砂糖の約200倍の強さを持っており、コーヒーや飲料の甘味料として使用されている。しかし、高温での長時間加熱や中性からアルカリ性のpHで不安定であること、またコストが高いことから用途が限られている。

3.3. 塩味ペプチド

オルニチルタウリン、オルニチル β -アラニン、リジルトウリンは、それ自身は、塩味を示さないが、塩酸塩になると塩味として最良の味質が得られることが示されている⁷⁾。これらの塩味発現機構は明らかにされていない。

3.4. 酸味およびうま味ペプチド

グルタミン酸やアスパラギン酸といった酸性アミノ酸からなるジあるいはトリペプチドは水溶液中で酸味を呈するが、これを中和するとうま味を呈する。

魚肉タンパク質を蛋白質分解酵素プロナーゼで消化した分解物から、うま味を呈するEE、EDE、DES、EGS、SEE、EQEが単離されている⁸⁾。これらのうま味の閾値は0.3%で、それほど強いうま味を有していない。しかし、後に記述するように、イノシン酸のうま味を増強させたり、苦味を抑制する作用がある。

3.5. その他の呈味性ペプチド

牛肉を蛋白質分解酵素パパインで処理すると、デリシャスな味を有するペプチドが生成される。このペプチドは、KGDEESLAという構造のオクタペプチドである。このペプチドは、水溶液にすると酸味と渋味を呈するが、pH 6.5の水溶液では、食塩との共存下でうま味が強くなることが示されている⁹⁾。この呈味発現には、N末端の塩基性アミノ酸と中央部の酸性アミノ酸が重要であると推定されている。

牛肉エキスは、こくを有しており、既知の呈味成分では再現できない複雑な味を呈する。こくの形成に重要な成分は、筋肉タンパク質であるトロポミオ

シンとゼラチンの加熱による生ずると報告されている¹⁰⁾。

4. ペプチドの味覚調節作用

ペプチドには、それ自身味を有しないが、苦味、酸味あるいはうま味の基本味溶液に添加すると、その味の強さを変化させる作用がある。このような作用を「味覚調節作用」と呼ぶことにする。この作用には、苦味抑制作用、うま味増強作用および酸味抑制作用がある。これらの作用は、食品の微妙な味の違いをもたらしたり、より複雑な味を形成する上で重要であると考えられている。

4.1. 苦味抑制作用

酸性アミノ酸から構成されるうま味ペプチドが、苦味抑制作用を有することが明らかにされている¹¹⁾。小麦グルテンタンパク質のアクチナーゼ水解物の脱アミド処理した酸性ペプチドの画分も、苦味抑制作用を有することが見出されている(図2)。このペプチド画分は、苦味溶液の閾値を大きく上昇させることが示された。しかし、ペプチドによる苦味抑制作用の機構は、まだ明らかにされていない。苦味抑制作用を有するリポタンパク質は、苦味受容体に結合し、苦味物質の結合部位をマスクすることによりその作用を発現すると推察されている¹²⁾。酸性ペプチドは、親水性化合物で苦味物質と直接に相互作用しないことが明らかにされているので、苦味受容体タンパク質の苦味物質結合部位の近傍に結合し、苦味を抑制しているものと考えられる。

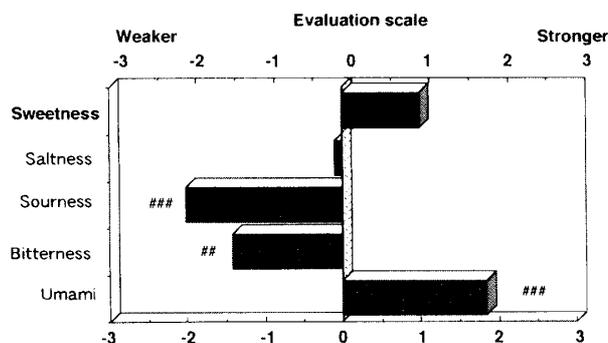


図2 小麦グルテン由来ペプチドの味覚調節作用。基本味溶液にペプチド画分を添加して、味の変化を官能検査により評価した¹⁴⁾。

4.2. うま味増強作用

うま味ペプチドの中で、EEは、イノシン酸と共存するとうま味の相乗効果を示すことが知られている。さらに、最近、鶏肉タンパク質をプロテアーゼ、ブロメラインで処理した水解物からもうま味増強作用を有するペプチドが単離されている¹³⁾。いずれも酸性ペプチドで、EE, EV, ADE, AED, DEE, SPEが0.02%イノシン酸溶液のうま味を増強すると報告されている。これらのペプチドは、グルタミン酸ナトリウムと同じような機構でうま味の相乗作用を示すと考えられる。

小麦グルテンをプロテアーゼ処理および脱アミド処理して得られたグルタミン酸含量の高いペプチドも、イノシン酸溶液のうま味を増強させることが明らかとなった(図2)¹⁴⁾。このペプチド画分は、イノシン酸溶液のうま味の閾値を低下させることも判明した。最近、スイスのグループも脱アミド処理した小麦グルテンをプロテアーゼ(FlavozymeTM)処理した水解物は、若干の苦味と強いうま味を呈すると報告している¹⁵⁾。

4.3. 酸味抑制作用

牛肉や豚肉タンパク質由来のペプチドが酸味抑制作用を有することが明らかにされた。牛肉を真空包装して、60℃で加熱するとペプチドが大量に増加する。この加熱牛肉から抽出したペプチド画分を、熟成していない牛肉の加熱スープに添加した結果、酸味を抑制することが明らかとなった¹⁶⁾。真空調理した熟成豚肉にも、酸味抑制作用を有するペプチドが存在している。この作用を有するペプチドは、

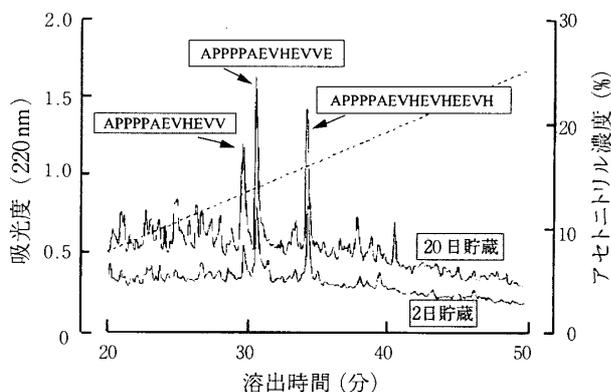


図3 真空調理した豚肉中の酸味抑制ペプチドの単離。

APPPAEVHEVHEEVH、APPPAEVHEVVE、およびAPPPAEVHEVVである(図3, 4)。これらのペプチドの共通配列APPPAEVHEVを合成し、基本味溶液への影響を調べた。それ自身は無味であったが、APPPAEVHEVは酸味抑制作用を有した¹⁷⁾。

小麦グルテンのプロテアーゼ水解物を脱アミド処理して得られた分子量500-1000のペプチド画分にも酸味を抑制する効果があることが見出されている(図2)。このペプチド画分は、酸味溶液の閾値を大幅に上昇させることが明らかとなっている。

ペプチドの酸味抑制効果のメカニズムを解明するため、豚舌の膜画分を用いて、乳酸の膜画分への結合に及ぼすペプチド画分の影響を調べた。ペプチド画分は、乳酸の舌膜画分への結合を抑制することが判明した。また、味覚センサーを用いてペプチドの酸味抑制効果を調べた結果、ペプチド画分は酸味物質のセンサーへの結合を抑制していることも明らかとなった(図5)。さらに、ヒト1a型酸味感受性イオンチャネル(human acid-sensing ion-channel 1a, hASIC1a)のcRNAをアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、2極ボルテージクランプ法によって、酸味抑制ペプチドを評価した。クエン酸溶液に、酸味抑制ペプチドを50 μ M共存させておくと、酸刺激により生じる電流が54%減少した(図6)。本結果より、官能評価および味覚センサーによって観察された両ペプチドによる酸味抑制現象が、イオンチャネルレベルでも確認された。これらの結果からは、未だペプチドの酸味抑制機構は明確ではないが、ペプチドが酸味物質に結合して酸味受容体への作用を抑制するあるいは、ペプチドが酸味受容体を覆い

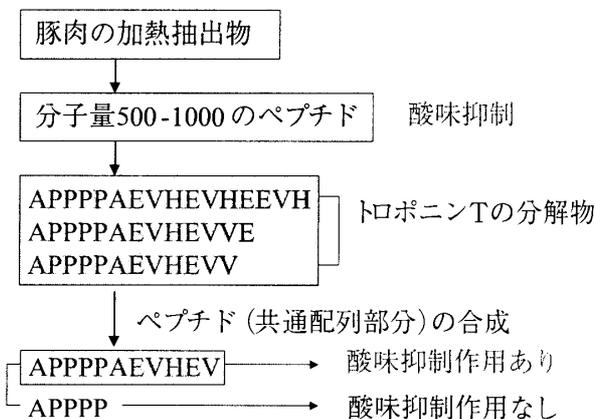


図4 酸味抑制ペプチドの構造。

酸味物質の結合を抑制する可能性が推定された (図7)¹⁸⁾。

5. 食品におけるペプチドの生成機構

新鮮な食品の中には、ペプチドはほとんど存在しないが、味噌、醤油、納豆等の発酵食品では、製造工程における蛋白質分解により、また食肉やチーズといった熟成食品では、熟成中の蛋白質分解によりペプチドが生成される。生成されたペプチドは、これらの食品の美味で複雑な味の形成に寄与している。

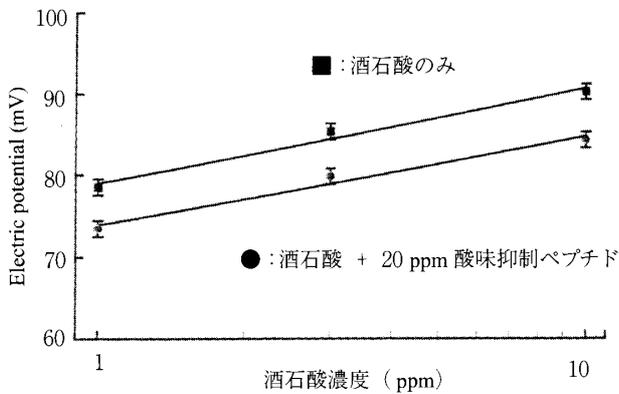


図5 酸味物質と味覚センサーとの相互作用に及ぼすペプチド添加の影響。

味覚センサーにより、酸味抑制ペプチドの酸味応答への影響を測定した。

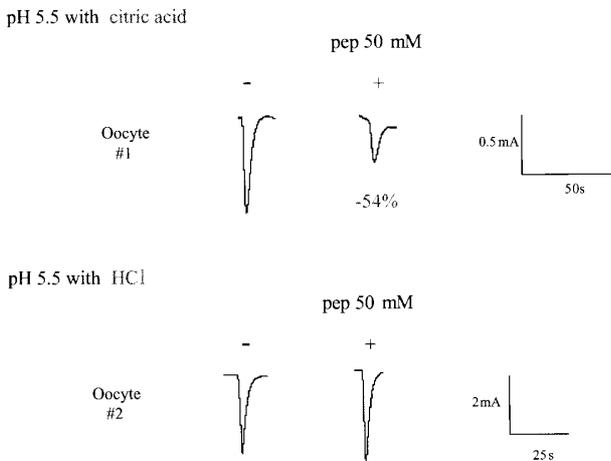


図6 クエン酸および塩酸による刺激応答パターンとペプチド添加の影響。

酸味受容チャネルを発現した卵母細胞をクエン酸、塩酸、及びそれらに酸味抑制ペプチド(pep)を添加した溶液 (pH 5.5)で刺激した。

5.1. 発酵食品

代表的な醗酵食品には、味噌、醤油および納豆がある。味噌の製造には、まず原料である大豆あるいは米麦成分が、添加した麹菌の加水分解酵素で低分子化される分解過程と、その低分子成分を基質として酵母や乳酸菌が醗酵生産物を生成する過程がある。前者の過程で、高分子成分であるタンパク質が低分子化し、うま味やこくが発現に寄与するペプチドや遊離アミノ酸が生成される。味噌を製造する場合には、この過程での最適なタンパク質分解率は25%と言われている。分解率が高くなりすぎると味噌としての品質が低下することがわかっている¹⁹⁾。生成する遊離アミノ酸の中で、重要な呈味成分であるグルタミン酸の遊離割合は、原料中の全グルタミン酸量 (グルタミン量も含む) の約20%程度であるのに対して、結合したグルタミン酸の割合は約45%である。また、構成アミノ酸が3-20残基のペプチドが生成されており、これらのペプチドの主要な構成アミノ酸はグルタミン酸、アスパラギン酸およびプロリンであると報告されている。

醤油は、大豆や小麦を原料として味噌の場合と同様に、麹菌酵素による分解過程とそれを基質として

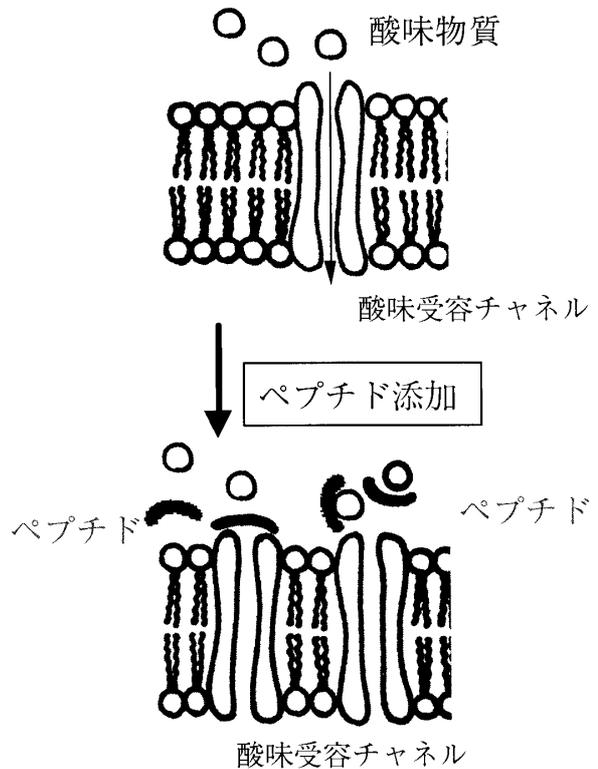


図7 ペプチドの酸味抑制作用の機構 (模式図)。

起こる発酵過程を通して製造される。高タンパク質原料を使用して製造すると、ペプチドや遊離アミノ酸含量がさらに多くなり、より複雑な味を有する醸造型うま味調味料が出来上がる。味噌や醤油等のうま味調味液の呈味形成におけるペプチドの役割は十分に解明されていない。

5.2. 熟成食品

ナチュラルチーズの製造には、熟成過程がある。この過程で乳酸菌やかびのプロテアーゼ等によりカゼインが分解され、低分子の呈味成分が形成される。エメンタルチーズからは、数個～20個のアミノ酸から構成される91個のペプチドが見出されている。これらは、チーズ製造時の熟成中に α S1-、 α S2-、 β -、 κ -カゼインがかび由来のプラスミン、ミルク由来のカテプシンD、あるいは乳酸菌由来のプロテアーゼ等の作用で分解されて生ずると推定されている²⁰⁾。熟成中に生成される低分子成分の内、遊離アミノ酸とペプチドがチーズの重要な呈味成分である。遊離アミノ酸とジペプチドは甘味やうま味に寄与し、トリペプチドより大きなペプチドがチーズの苦味形成に関わっている。

食肉は、通常、と殺直後には食用に供されず、一定期間熟成してから食べる。これは、死後硬直により硬くなった肉を軟らかくすると同時に、と殺直後に感じる肉の酸味を抑制し、うま味を増強させることにより、おいしくなるからである²¹⁾。既述した酸味抑制ペプチドは、熟成中に生成され、食肉にまろやかさの付与等をもたらす、熟成による呈味改善に

大きく貢献すると推察されている。このペプチドは、熟成に伴う筋原線維タンパク質トロポニンTの分解により生成される。このペプチドの生成機構を解明するために、新鮮な筋肉から調製した筋原線維タンパク質に筋肉内在性プロテナーゼであるカルパインを作用させて、トロポニンTの分解断片を解析した。分解断片のN末端アミノ酸配列から、酸味抑制ペプチドがカルパインの作用により生成されることが判明した(図8,9)²²⁾。

6. まとめ

ペプチドにはそれ自身が味を有し、食品の呈味形成に関与しているものと、それ自身が無味であるにもかかわらず、基本味の強さを変化させるものがある。後者のペプチドには、苦味抑制作用、うま味増強作用、酸味抑制作用を有するものが知られている。食肉の熟成中には、酸味抑制ペプチドが増加し、食肉のおいしさの呈味形成に重要な役割を果たすと推察された。また、食肉以外の熟成並びに発酵食品でも、それぞれの工程においてペプチドの増加が認められている。ペプチドは、これらの食品の美味で複雑な味の形成に寄与している。(図10)。今後、これらの食品からペプチドを単離し、構造や呈味形成における役割を解析することにより、熟成並びに発酵中に生成されるペプチドの呈味形成への寄与がさらに明確になるであろう。

文 献

1) 栗原堅三：味覚のしくみ、季刊化学総説 40, 3-

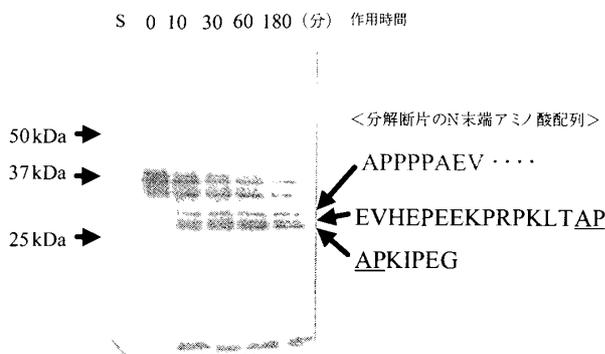


図8 筋原線維中のトロポニンTに対するカルパインの作用。
S:標準タンパク質。

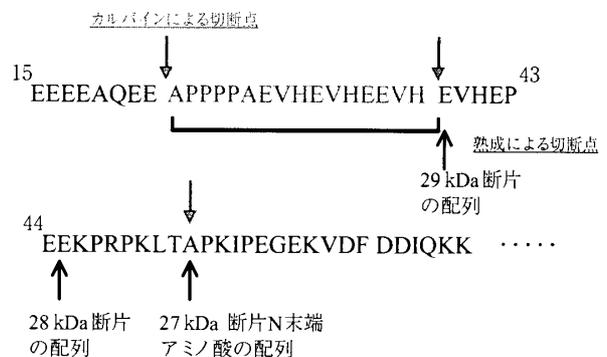
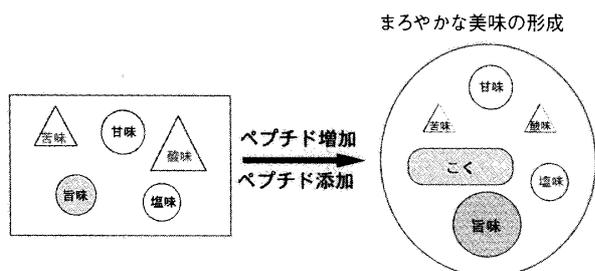


図9 豚骨格筋トロポニンTの切断部位の同定。
配列中の数字は、トロポニンTのアミノ酸配列番号を示す。

食品の呈味形成における熟成の役割



食品素材中でペプチドが増加したり、食品にペプチドを添加すると、酸味や苦味が抑えられうま味が増強されると同時に、こくが付与されてまろやかな味が形成される。

図 10 食品の呈味形成におけるペプチドの役割。

- 17 (1999)
- 2) Nelson G, Chandrashekar J, Hoon MA, Feng L, Zhao G, Ryba NJP and Zuker CS: An amino-acid taste receptor. *Nature* 416,199-202 (2002)
 - 3) 島 圭吾：食肉エキスのコク味. 食肉の科学 43 (1), 1-7 (2002)
 - 4) Soeryapranata E, Powers JR, Fajarrini F, Weller KM, Hill HH Jr and Siems WF, III: Relationship between MALDI-TOF analysis of b-CN f193-209 concentration and sensory evaluation of bitterness intensity of aged cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4900-4945 (2002)
 - 5) 山崎吉郎：納豆中の苦味ペプチド. 日本家政学会誌 38, 93-97 (1987)
 - 6) 網野裕右：甘味ペプチド. 季刊化学総説 40, 20-26 (1999)
 - 7) Nakamura K, Kuramitsu R, Kataoka S, Segawa D, Tahara K, Tamura M and Okai H: Convenient synthesis of l-Ornithyltaurine · HCl and the effect on saltiness in a food material. *J. Agric. Food Chem.* 44, 2481-2485 (1996)
 - 8) Noguchi M, Arai S, Yamashita M, Kato H and Fujimaki M: Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate. *J. Agric. Food Chem.* 23, 49 (1975)
 - 9) Wang K, Maga JA and Bechtel PJ: Taste properties and synergisms of beefy meaty peptide. *J. Food Sci.* 61, 837-839 (1996)
 - 10) 黒田素央, 島 圭吾, 山田典彦, 原田 努：ビーフエキス中の高分子コク味付与成分に関する研究. 日本農芸化学会 1996 年度大会要旨集, pp.4 (1996)
 - 11) Noguchi M, Yamashita M, Arai S and Fujimaki M: On the bitter-masking activity of a glutamic acid-rich oligopeptide fraction. *J. Food Sci* 40, 367-369 (1975)
 - 12) 桂木能久：苦味マスキング剤. 季刊化学総説 40, 84-89 (1999)
 - 13) Maehashi K, Matsuzaki M, Yamamoto Y and Udaka S: Isolation of peptides from an enzymatic hydrolysate of food proteins and characterization of their taste properties. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63, 555-559 (1999)
 - 14) 石井克枝, 西村敏英, 小野太恵子, 畑江敬子, 島田淳子：小麦グルテン酵素水解物中のペプチドの呈味性. 日本家政学会誌 45, 615-620 (1994)
 - 15) Schlichtherle-Cerny H and Amado R: Analysis of taste-active compounds in an enzymatic hydrolysate of deamidated wheat gluten. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1515-1522 (2001)
 - 16) 石井克枝, 西村敏英, 沖谷明紘, 田村由紀子, 畑江敬子, 島田淳子：加熱牛肉の呈味形成におけるペプチドの役割. 家政誌 46, 307-312 (1995)
 - 17) Okuma T, Yamada R and Nishimura T: Sourness-suppressing peptides in cooked pork loins. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68 (2004) in press.
 - 18) 西村敏英：食品の呈味形成におけるペプチドの役割. 日本調理科学会誌 36, 55-62 (2003)
 - 19) 海老根英雄：みそ. 食品と熟成 (佐藤信監修). 光琳, p.255-275 (1984)
 - 20) Gagnaire V, Molle M, Herrouin M and Leonil J: Peptides identified during emmental cheese ripening: origin and proteolytic systems involved. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4402-4413 (2001)
 - 21) 西村敏英：肉のおいしさ. 日本味と匂学会誌 8, 161-168 (2001)
 - 22) Nishimura T: Mechanism involved in the improvement of meat taste during postmortem aging. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo* 4, 241-249 (1998)

<著者紹介>

西村 敏英（にしむら としひで）氏略歴

1954年 生まれ

1979年 東京大学農学部農芸化学科卒業（農学士）

1984年 東京大学大学院農学系研究科農芸化学専門課程
（博士課程）修了（農学博士）

1984年 日本学術振興会奨励研究員

1985年 東京大学助手農学部（1989年～1990年、米国州立アリゾナ大学へ留学）

1994年 広島大学助教授生物生産学部

2001年 広島大学教授生物生産学部

2002年 広島大学教授大学院生物圏科学研究科（現在に至る）

