

総説特集：うま味とおいしさを生み出す科学の世界－伝統から先端技術へ－ 3

メイラード反応とおいしさ ～伝統食品の解析から見えてきた“おいしさ”の一側面～

勝又 忠与次*

(キリン協和フーズ株式会社・開発本部・食品開発研究所)

熟成を特徴とした伝統食品の成分解析から、メイラード反応したペプチド (MRPs) が、その特徴的な風味に関与していることが分かった。MRPs の特徴は、単独では明確な呈味作用は持たないが、食品に添加することで様々な味覚修飾効果を発現する事である。最近の筆者らの研究では、食品全体の風味変化ばかりでなく、基本味に対しても、明確な味覚修飾効果を有することが明らかになった。本稿では、その一例として、特定の MRPs の塩味修飾効果について、電気生理学的な手法と、ヒトの官能検査による手法で、検討を行った結果について紹介する。

キーワード：こく味、熟成、メイラードペプチド、塩味、味覚修飾効果

はじめに

わが国をはじめ、世界中には様々な伝統食品が存在する。これらの伝統食品と呼ばれる食物は、その土地の産物や、気候風土を巧みに生かして、長年の試行錯誤の上で作り出されてきた食物であり、そこには様々な技術が折り込まれている。例えば、くさや汁では有用菌種の増殖を待って、魚の漬け込みが行われる。清酒などでは低温を利用した雑菌抑制である“寒作り”などがある。このような製法は、今日の知識に照らしてみても非常に巧みな微生物管理技術であると考えられ¹⁾、このような技術の上で磨かれてきた伝統食品の風味は、実に多様で特徴的なものが多く、そしておいしさに繋がるものであると考えられる。

図1は河村洋二郎氏が報告したおいしさの構成要素に関する図である²⁾。この図で示されるように、おいしさには、味覚、嗅覚はもちろんのこと、外部要因 (雰囲気、温度、湿度) や、生体内部の環境までもが関与する。地域に根付いた古くからの食文化や環境の中で、様々な取捨選択の上で完成された伝

統食品などは、まさにおいしさを表現している食品の一つであり、その特徴的な風味は、おいしさを表す風味の一つであると考えられる。

このおいしさをあらわす風味の一つとして、“こく”という風味がある^{3,5)}。我々は、以前より、この“こく”に着目し、様々なこくの中から、熟成工程や、煮込むといった加熱調理工程をとることで感じられる“こく”を“こく味”と捉え、世界中の様々な“こく味”のある食品の解析を行ってきた^{3,5)}。その結果、一部の食品のこく味に、メイラード反応したペプチド (Maillard Reacted Peptides 以下 MRPs と略) が関与している事が明らかになった^{5,6)}。

この MRPs は、オランダの伝統的な長期熟成製法によって作られるゴーダチーズや、信州の伝統的な長期熟成味噌、韓国の伝統的な熟成醤油の解析から見出され、それら食品の熟成の進行における特徴的な“こく味”の発現に伴って、MRPs も生成されていることが見出された^{4,7)}。また、この MRPs は“こく味”の付与効果以外に、基本味レベルでの味質修飾効果を有する事が示唆された^{7,8)}。

Received June 13, 2011; Accepted July 16, 2011

Maillard reaction and “palatability”.

*Tadayoshi Katsumata: Food Research & Development Laboratory, Kirin Kyowa Foods Co., Ltd., 4041, Ami, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki 300-0398, Japan; Tadayoshi_Katsumata@kirin.co.jp, Fax +81-29-888-9024

筆者らは、MRPsの基本味への影響について調べる目的で、ある特定の条件で調製したMRPsの塩味への修飾効果を、動物を用いた電気生理学的手法と、ヒトでの官能評価により検討した。本稿では、その結果を紹介すると同時に、今後の調味料への応用について述べたい。

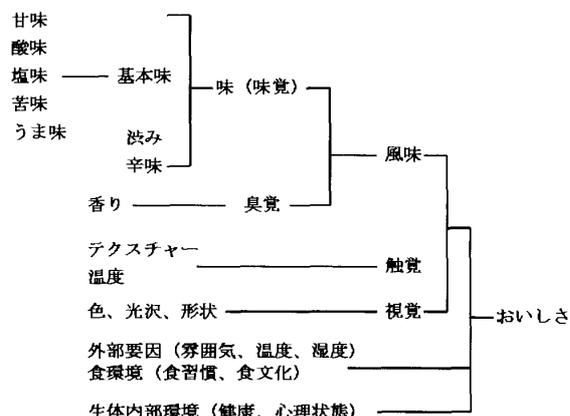


図1 おいしさに関する因子 (概念図)²⁾

1. 基本味に対するMRPsの影響について

熟成食品から分画されたMRPsや、モデルMRPsの検討に関する過去の報告から、MRPsは、食品への“こく味”付与効果だけでなく、うま味や甘味、塩味などの基本味に対する修飾効果も確認されている^{7,8)}。そこで、これらの基本味に対するMRPsの呈味修飾効果を評価した。

基本味に関しては、近年の分子生物学の進展とともに、様々なレセプターやイオンチャネルの存在が明らかとなっている。その中で、まず伝統食品由来のMRPsで可能性が示されている塩味修飾効果を検

討した^{7,8)}。

2. MRPによる塩味修飾効果の評価⁷⁻¹⁰⁾

(動物試験およびヒト官能評価)

1) 方法

食塩の呈味に対するMRPsの効果を評価する目的で、動物での神経応答試験と、ヒトでの官能評価を実施した。MRPsは文献8記載の方法に準じて、分離大豆蛋白質と、各種糖(キシロース: Xyl、グルコース: Glc、フルクトース: Fru、グルコサミン: GlcNH₂、ガラクトツロン酸: GalA)を用いて、酵素分解、限外濾過、メイラード反応によって調整した(調整したMRPsは、それぞれXyl-MRPs、Glc-MRPs、Fru-MRPs、GlcNH₂-MRPs、GalA-MRPsと記載)。官能評価及び、神経応答での試験区を表1に示した。官能評価は、文献7および8に記載の方法に準じて、7点尺度法ならびに、等価濃度試験(恒常刺激法)により評価を行った^{7,8)}。神経応答試験は、文献7、9及び11記載の方法に準じて、雌のSprague-Dawleyラット(150-200gm)を用い、常法通り麻酔下に鼓索神経を露出させ、味神経の一つである鼓索神経応答の測定により評価を行った^{7,9,11,13,14)}。神経応答測定法の模式図を図2に示した。即ち、麻酔下のラット鼓索神経に電極をつなげ、味刺激によって生じたインパルス応答を増幅し、応答の時間変化の測定を行った^{7,9-11,13,14)}。評価溶液は、0.3 M NH₄Cl溶液を標準溶液、0.01 M KCl溶液を洗浄溶液(R)、0.1 M NaCl溶液をコントロール刺激溶液(N)として用いた。各試験区に応じて、上記に調整したMRPsを使用し、またNa⁺イオンの味細胞への流入

表1 官能評価ならびに、鼓索神経応答試験区一覧

官能評価試験区	コントロール	評価サンプル
等価濃度試験(図4)	0.07M-0.09M NaCl溶液	0.08M NaCl + 0.0005-0.1% Xyl-MRP
等価濃度試験(図6)	0.07M-0.09M NaCl溶液	0.08M NaCl + 0.0025-0.1% (GalA, Xyl, Fru)-MRP
7点尺度法(図7)	0.3%野菜スープ+0.1M NaCl	0.3%野菜スープ+0.1M NaCl+0.00001-0.002% (GalA, Xyl, Fru)-MRP

鼓索神経応答試験区	ベース	食塩溶液	評価溶液
0.1M NaCl水溶液への影響(図3)	0.01M KCl水溶液	0.1M NaCl+0.01m KCl+5X10 ⁻⁶ M Bz (N)	0.1M NaCl+0.01m KCl+5X10 ⁻⁶ M Bz+0-1% Xyl-MRPs
0.1M NaCl水溶液への影響(図5)	0.01M KCl水溶液	0.1M NaCl+0.01m KCl+5X10 ⁻⁶ M Bz (N)	0.1M NaCl+0.01m KCl+5X10 ⁻⁶ M Bz+0-1% 各種-MRPs
0.1M NaCl水溶液への影響(図8)	0.01M KCl水溶液	0.1M NaCl+0.01m KCl(N)+5X10 ⁻⁶ M Bz 0.1M NaCl+0.01M KCl(N)+1X10 ⁻⁶ M SB	0.1M NaCl+0.01m KCl(N)+5X10 ⁻⁶ M Bz+0-1% GalA-MRPs 0.1M NaCl+0.01M KCl(N)+1X10 ⁻⁶ M SB+0-1% GalA-MRPs
0.1M NaCl水溶液への影響(図9)	0.01M KCl水溶液	0.1M NaCl+0.01m KCl+5X10 ⁻⁶ M Bz (N)	0.1M NaCl+0.01m KCl+5X10 ⁻⁶ M Bz+0-1% GalA-MRPs
0.1M MSG水溶液への影響(図9)	0.01M KCl水溶液	0.1M MSG+5X10 ⁻⁶ M Bz+1X10 ⁻⁶ M SB(N)+ 1X10 ⁻⁶ M IMP	0.1M MSG+5X10 ⁻⁶ M Bz+1X10 ⁻⁶ M SB+1X10 ⁻⁶ M IMP+1-2.5 +各種MRPs

メイラード反応とおいしさ

経路をコントロールする目的で、ベンザミル (Bz;ENaC 阻害剤) と SB-366791 (SB; TRPV1t 阻害剤) を使用した。神経積分応答値の解析に関しても、文献 7、9 および 11 記載の方法に準じ、各刺激溶液の安定応答期の 30 秒間の応答値を用いて、標準溶液との相対応答値として比較を行った。

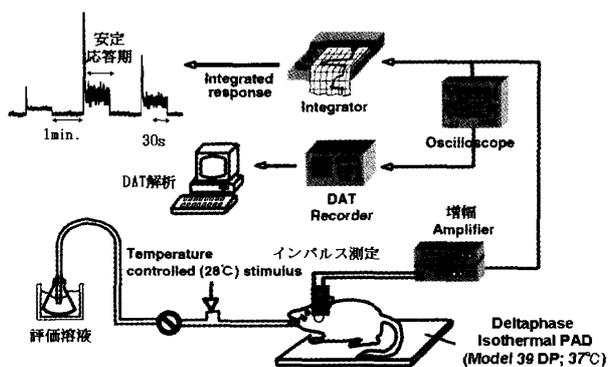


図 2 鼓索神経応答の模式図 (参考文献10を改変)

2) 結果

食塩溶液に 0.1~1% のキシロース (Xyl) とペプチドをメイラード反応させ、調整した MRP (Xyl-MRP) を添加した時の鼓索神経応答の変化を図 3 に示した。食塩に対するラット鼓索神経応答は、Xyl-MRP の添加によって、その応答強度が変化し、0.5% 添加までは神経応答が増大し、それ以上の高濃度添加では、逆に神経応答の抑制が観察された。同様の試験をヒトの官能検査で実施したところ、80 mM の食塩に対して、MRPs を 0.01% まで添加すると塩味が増強され、それ以上では抑制された。このように、ヒトでの塩味の等価濃度試験結果において

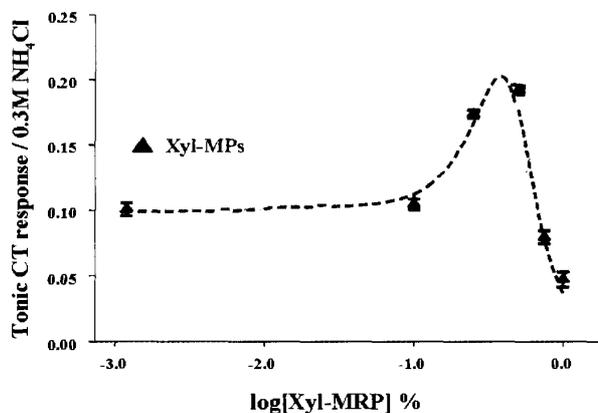


図 3 Xyl-MRP 添加によるラット鼓索神経 NaCl 応答変化 (mean ± SE, n = 3)

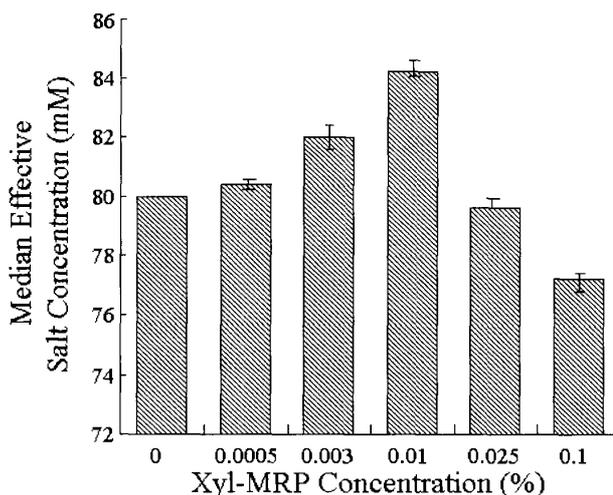


図 4 MRP 添加によるヒト NaCl 感受強度の濃度依存的な変化 (n = 14)

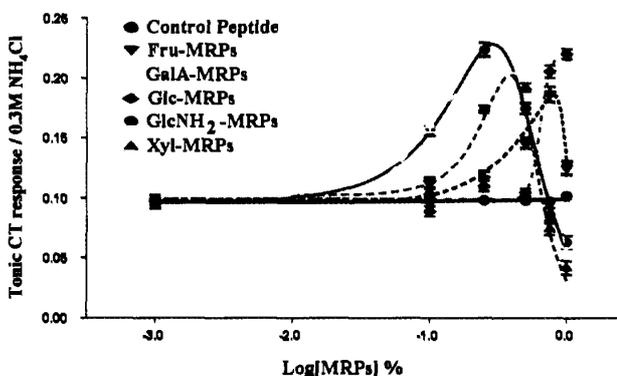


図 5 各種 MRP による鼓索神経応答強度の変化 (mean ± SE, n = 3) (表 1 参照)

も MRP の添加により食塩味強度を変化させることが判った (図 4)。

塩味感受性に対する MRP の作用が確認されたので、次に、修飾構造の違いによる効果の差異を確認する目的で、ペプチドと反応させる糖の種類を変えた各種 MRP を調整し、それぞれの食塩溶液に対する神経応答の測定および、ヒトにおける官能評価を行った (図 5, 6)。その結果、図 5 に示したように、反応させる糖の種類によって、その応答曲線は変化し、MRP の添加濃度依存的に応答が増減し、TRPV1t に対するアゴニスト (作動薬) とアンタゴニスト (拮抗薬) の特性と類似した性質を持っていることが示唆された。また、未反応のペプチドでは、添加しても神経応答に変化を与えることは無く、効果発現のためには、糖とのメイラード反応が必要である事が明らかになった。

勝又 忠与次

また、ヒト官能評価の結果からも、反応させた糖の種類によって食塩感受性が異なる結果が得られ(図6)、その増強効果を示す曲線は、ラットの鼓索神経応答曲線(図5)と類似していた。さらに、モデル食品系として、野菜スープを用いたヒト官能評価の結果からも(図7)、野菜スープ中で感じられる塩味が、MRPsの添加により強くなったり弱くなったりしている事が確認され、ヒトの官能評価においてもペプチドと反応させる糖の種類によって、効果が異なることが判った。

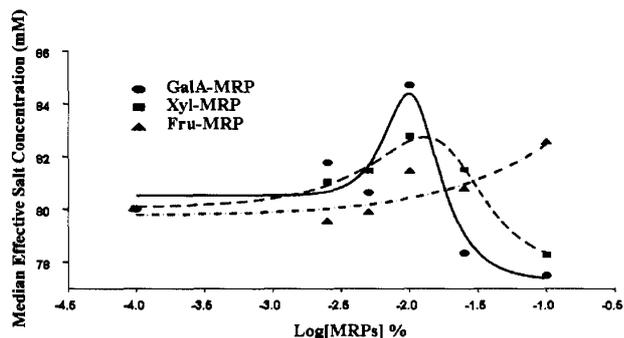


図6 MRP (GalA, Xyl, Fru 由来) による NaCl 感受性の変化 (等価濃度試験によるヒト官能評価) (表1 参照)

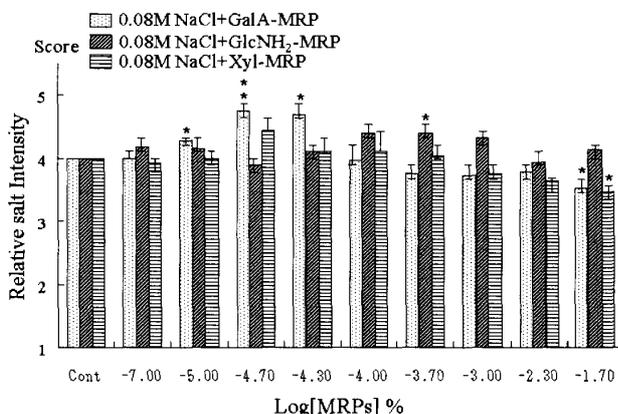


図7 野菜スープの塩味に対する各種 MRP 添加の効果 (mean \pm SE, n=5-17, t-test: * p <0.05, ** p <0.001)

以上のように、塩味感受性変化には、メイラード反応によるペプチドの修飾が必要であり、さらには、その構造の違いによって呈味修飾活性が変化することが確認された。

3. MRP の作用する塩味レセプターについて
食塩の感受性に関与する代表的なイオンチャネルやレセプターとして、上皮性 Na チャネル (ENaC) や¹²⁾、パニロイド受容体 (TRPV1) の変異体である TRPV1t などが知られている⁹⁾。

本検討においては、これまで ENaC の阻害剤であるベンザミル (Bz) を用いることによって、ENaC が阻害された条件下での MRP の鼓索神経応答を確認してきた。そこで ENaC に対する MRP の効果を確認する目的で、TRPV1t に対する阻害剤 SB-366791 (SB)、ならびに TRPV1 ノックアウトマウスを用いた神経応答の測定を行った。

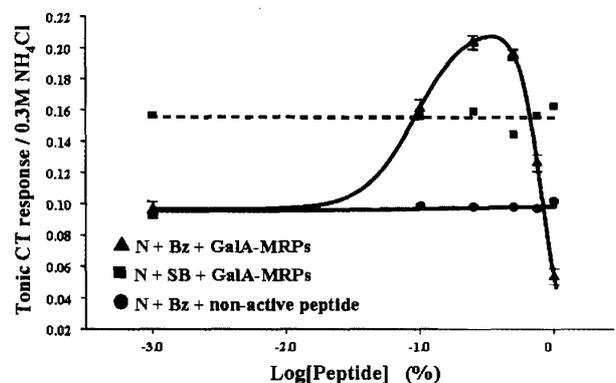


図8 未反応ペプチド、ENaC、TRPV1t 阻害剤を用いた神経応答曲線 (M \pm SEM, n=3にて解析)

図8に、Bz、SBの存在下での食塩応答に対するMRPsの鼓索神経応答曲線を示した。MRPsは、これまでBz存在下で最も応答増強効果のあったGalA-MRPsを使用した。

図8に示すように、ENaC阻害下(Bz存在下)では、これまでと同様に、MRPsの添加濃度依存的に、応答曲線が変化することが確認された。一方で、TRPV1t阻害下(SB存在下)では、MRPsを添加しても、その応答の変化は観察されなかった。

この結果からMRPsの塩味修飾効果はTRPV1tを介した効果であることが推測された。そこで、遺伝子的にTRPV1tをノックアウトしたマウスと、野生型のマウスを用いて、MRPsの鼓索神経応答の測定を行った。その結果、図9に示すように、野生型マウスを用いた試験では、これまでの結果と同様に、Bz存在下(ENaC阻害下)において、MRPsの濃度依存的な修飾効果が確認された。さらには、Bz、SBの両方の阻害剤存在下(TRPV1t、ENaCともに

メイラード反応とおいしさ

阻害下)では、その応答がほぼ消失することが観察された。同様に、TRPV1のノックアウトマウスでは、Bzの存在により、MRPsの添加、無添加に関わらず、その応答が消失することが明らかになった。

以上の結果から、このMRPsが示す塩味の修飾効果は、イオンチャネル内蔵型のレセプターであるTRPV1tを介した効果であることが推測され、さらには、MRPsの種類や、量によってTRPV1t由来の塩味感受性を修飾できる可能性が考えられた¹¹⁾。

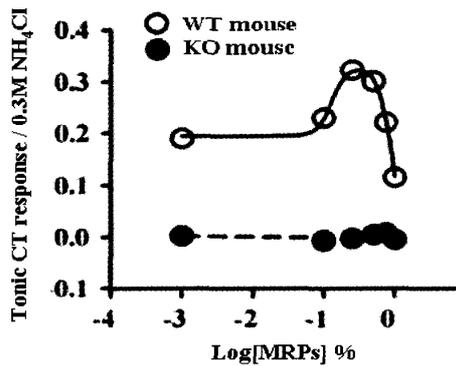


図9 TRPV1 KOマウスを用いたMRPsの鼓索神経応答の変化 (mean ± SE, n=3)

以上の結果と、これまでの他の知見¹³⁻¹⁶⁾をあわせると、このMRPsの味細胞中での塩味修飾は、図10の様に考えられる。

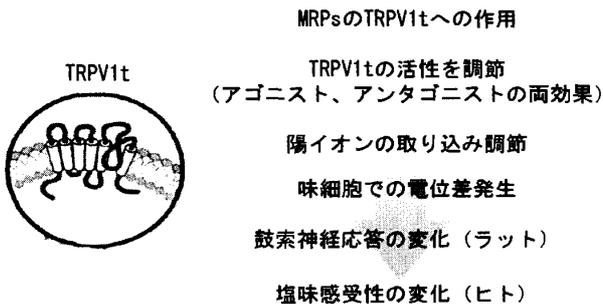


図10 MRPの塩味修飾効果の概略図

4. MRPの塩味以外の基本味への影響

塩味以外の基本味について検討する目的で、グルタミン酸ナトリウム (MSG) 水溶液に対するMRPsの影響を調べた。この試験系においては、Bz、SBの両阻害剤を用いた系で行っているため、遊離状態のNaの影響は受けていない。その結果、図11に示すように、MSG単独での神経応答に対して、MSG

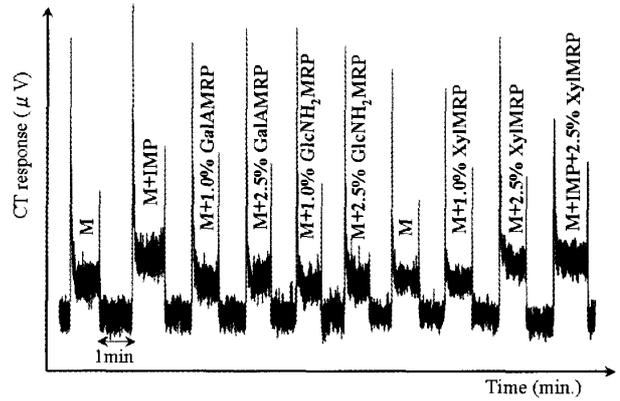


図11 MSG溶液に対する鼓索神経応答に対する各種MRPsの効果

と5'-IMP (IMP)の併用による神経応答の増強が観察された(2例)。さらにMSG存在下で、IMPの代わりに数種のMRPsを各濃度下で添加していくと、Xyl-MRPsがIMP同様の神経応答の増強を示す事が判った。MSGとIMPの共存下でのXyl-MRPsの効果の大きさは、MSGとIMPでの相乗的な効果とあまり変わらなかった。

これらのことから、MRPsにはその種類や、添加濃度を調整することで、塩味ばかりでなく、MSG由来のうま味に対しても、その修飾効果を発現することが判った。

5. 終わりに～MRPsの持つ多様な可能性

以上のように、MRPsは食品全体で感じられるような風味の変化(こく味)だけでなく、基本味レベルの呈味に対しても、明確な呈味修飾効果を与え、さらには動物実験の系でも、神経応答レベルでの作用が確認された。今回、作用点の一つとして考えられたTRPV1tは、パニロイドレセプターとして知られているように、カプサイシヤ¹⁷⁾、ジゲロール¹⁸⁾、ピペリン¹⁹⁾などの受容体として知られている。支配神経の違い、神経間の相互作用など、不明な部分は多々あるが、食品中のMRPsがTRPV1tを介して、唐辛子や、ショウガ、黒胡椒などを調理に用いた際の、辛味の感じ方にも、何らかの作用を及ぼしている可能性がある。またTRPV1は、人工甘味料の呈味への関与²⁰⁾、温度調節因子としての作用など²¹⁾が知られており、MRPsは、これらの関係する呈味の発現性に対しても、何らかの作用を及ぼしている可能性がある。

勝又 忠与次

MRPsは通常の食品の熟成や加熱で生成することから、近年主流となっている純粋系での呈味成分と受容体との研究を、我々が通常食品を食べることによって得られる感覚と結びつける研究材料としての可能性を秘めている。

以上、本稿では、熟成を特徴とする伝統食品から見出されたMRPsの新たな機能として、塩味を中心とした基本味への修飾効果に関して紹介させていただいた。このMRPsの最大の特徴は、そのもの自身は明確な呈味は持たないが、他の呈味成分と共存することで、その呈味修飾効果を発揮することである。世界中に存在する伝統食品中には、MRPsのように、そのもの自身は目立った味質が無いものの基本味を修飾して、そのおいしさ形成に重要な働きをしている成分が、多数存在している可能性がある。

我々は、今後も伝統食品の解析を通して、食の“おいしさ”の秘密を研究し、さらには、その知見を利用した調味料関連の製品を提供する事により、お客様の豊かな味作りに貢献していきたいと考えている。

参考文献

- 1) 藤井建夫：伝統食品の知恵．柴田書店 pp.4-14 (1993)
- 2) 河村洋二郎(編)，栗原堅三，木村修一，大村 裕，福家眞也，山本 隆：うま味 味覚と食行動 共立出版 pp.29 (1993)
- 3) 河田省三，斉藤知明：こく味調味料の特性と利用，食品と科学 40, 1-6 (1998)
- 4) 斉藤知明：食品の「こく」と「こく味調味料」の開発，*New Food Industry* 41, 30-35 (1999)
- 5) 斉藤知明：食品のこくと、こく味，日本味と匂学会誌 11, 165-174 (2004)
- 6) Ogasawara M, Yamada Y and Egi M: Taste enhancer from the long-term ripening of miso (soybean paste). *Food Chem* 99, 736-741 (2006)
- 7) Katsumata T, Nakakuki H, Tokunaga C, Fujii N, Egi M, Phan THT, Mummalaneni S, DeSimone JA and Lyall V: Effect of maillard reacted peptides on human salt taste and the amiloride-insensitive salt taste receptor (TRPV1t), *Chem Senses* 33, 665-680 (2008)
- 8) Ogasawara M, Katsumata T and Egi M: Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1000 to 5000 Da peptides. *Food Chem* 99, 600-604 (2006)
- 9) Lyall V, Heck GL, Phan THT, Mummalaneni S, Malik SA, Vinnikova AK and DeSimone JA: Ethanol modulates the VR-1 variant amiloride-insensitive salt taste receptor. I. Effect on TRC volume and Na⁺ flux. *J Gen Physiol* 125, 569-585 (2005)
- 10) 駒井三千夫，福成真由子，鈴木均，斎藤努：たん白質成分の渋味のマスキングに関する神経生理学的研究，大豆たん白質研究 7, 57-62 (2004)
- 11) Lyall V, Heck GL, Vinnikova AK, Ghosh S, Phan THT, Alam RI, Russell OF, Malik SA, Bigbee JW and DeSimone JA: The mammalian amiloride insensitive non-specific salt taste receptor is a vanilloid receptor-1 variant. *J Physiol* 558, 147-159 (2004)
- 12) Frank ME, Contreras RJ and Hettinger TP: Nerve fibers sensitive to ionic taste stimuli in chorda tympani of the rat. *J Neurophysiol* 50, 941-960 (1983)
- 13) Lyall V, Phan THT, Ren Z, Mummalaneni S, Melone P, Mahavadi S, Murthy KS and DeSimone JA: Regulation of the putative TRPV1t salt taste receptor by phosphatidylinositol 4, 5-Bisphosphate, *J Neurophysiol* 103, 1337-1349 (2010)
- 14) Lyall V, Phan TH, Mummalaneni S, Melone P, Mahavadi S, Murthy KS and DeSimone JA: Regulation of the benzamil-insensitive salt taste receptor by intracellular Ca²⁺, protein kinase C and calcineurin. *J Neurophysiol* 102, 1591-1605 (2009)
- 15) DeSimone JA and Lyall V: Taste receptors in the gastrointestinal tract III. Salty and sour taste: Sensing of sodium and protons by the tongue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291, G1005-G1010 (2006)
- 16) DeSimone JA and Lyall V: Amiloride-sensitive ion channels. In *The Senses: A Comprehensive Reference, Olfaction and Taste* (Basbaum AI, Kaneko A, Shepherd GM, Westheimer G, Firestein S and Beauchamp GK eds, Academic Press, San Diego, vol. 4, pp. 281-288 (2008)
- 17) Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen

メイラード反応とおいしさ

- TA, Levine JD and Julius D: The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816-824 (1997)
- 18) Dedov VN, Tran VH, Duke CC, Connor M, Christie MJ, Mandadi S and Roufogalis BD: Gingerols: a novel class of vanilloid receptor (VR1) agonists. *Br J Pharmacol* 137, 793-798 (2002)
- 19) McNamara FN, Randall A and Gunthorpe MJ: Effects of piperine, the pungent component of black pepper, at the human vanilloid receptor (TRPV1). *Br J Pharmacol* 144, 781-790 (2005)
- 20) Riera CE, Vogel H, Simon SA and Coutre JI: Artificial sweeteners and salts producing a metallic. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293, R626-R634 (2007)
- 21) Gavva NR, Bannon AW, Surapaneni S, Hovland DN Jr, Lehto SG, Gore A, Juan T, Deng H, Han B, Klionsky L, Kuang R, Le A, Tamir R, Wang J, Youngblood B, Zhu D, Norman MH, Magal E, Treanor JJ and Louis JC: The vanilloid receptor TRPV1 is tonically activated in vivo and involved in body temperature regulation. *J Neurosci* 27, 3366-3374 (2007)

<著者紹介>

勝又 忠与次 (かつまた ただよし) 氏略歴

2002年3月 東京工業大学大学院生命理工学研究科分子生命科学専攻 修了

2002年4月 協和発酵株式会社 食品酒類研究所 入社

2006年5月 バージニア州立大学生理学部客員研究員

2008年1月 協和発酵フーズ株式会社 食品開発研究所 (社名変更)

2009年4月 キリン協和フーズ株式会社・開発本部・食品開発研究所リアクショングループリーダー (社名変更)

