

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05938

研究課題名(和文) 味制御を志向した食品中の超分子現象の探索とその作用機作の解明

研究課題名(英文) Exploration of supramolecular phenomena in foods for taste control and elucidation of their mechanisms

研究代表者

氏原 ともみ (Ujihara, Tomomi)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・上級研究員

研究者番号：60355609

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、食品成分の味を調節する味調節物質候補の探索を行い、見出した候補について、構造の異なる成分を含有する2種類の食品への添加での味の変化を確認した。この候補は食品添加物として市販され、十分な食経験があることから、特段の注意なく安全に使用が可能であると考えられた。また、苦味あるいは渋味を有する食品成分の水溶液中での相互作用について計算化学を用いた解析を行い、複合体の構造を明らかにした他、異性体の関係にあり呈味の有無が異なる2つの食品成分について、受容体タンパク質との結合シミュレーションを行った。これらの異性体は、受容体のリガンド認識部位との相互作用の強さが異なることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題において、味をマスクングする食品成分を見出したが、この物質は既に食品添加物として市販されており、安全性に対する懸念なく使用が可能であると考えられる。また、この物質は従来マスクング効果を示すことは知られておらず、現行のマスクング物質とは構造が全く異なることから、既知の作用機作とは異なる方法でマスクング効果を与えている可能性があると考えられる。今後この作用機作について解明することで、新たな味制御法の開発につながる事が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we searched for a candidate taste modifier that modulates the taste of food components, and confirmed the taste change of the candidate we found by adding it to two types of food containing components with different structures. Since these candidates are commercially available as food additives and have sufficient food experience, it was thought that they could be used safely without any special precautions. In addition, the interaction of bitter or astringent food components in aqueous solution was analyzed using computational chemistry to clarify the structure of the complex, and binding simulations with receptor proteins were conducted for two food components that are isomers of each other and have different tastes. We found that these isomers differ in the strength of their interaction with the ligand recognition site of the receptor.

研究分野：食品化学、有機化学

キーワード：味 味制御 マスクング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食品の苦味・渋味は有害物質のシグナルであることから、本来はヒトが忌避する味であるが、食経験によりある程度の受容が可能となる。しかし、食品の嗜好性に深く関わる要素であるため、食品産業においては品質管理の点からその強度の制御が必要とされている。また、これらの化合物は生理活性を有することが多く、機能性を訴求した食品では有効成分として用いられることがあるため、高濃度でそれらが含有される状態では味の強さの調節が重要である。シクロデキストリン (CD) は他の物質を包接する作用があり、マスキング剤として広く使用されるが、万能ではなく、十分な抑制効果を発揮できない対象苦味・渋味物質も存在するため、新規マスキング技術が期待されている。

2. 研究の目的

本研究では、食品中に存在する化合物を用いて、安全性に対する懸念無く、苦味または渋味を抑制する新たな方法を開発することを目的とする。さらに、計算化学手法を用いてその作用機作を解明することにより、食品の味を制御する理論体系の端緒を拓く。

3. 研究の方法

本研究では、苦味あるいは渋味を有する物質について、その味をマスキング可能な食品成分をスクリーニングして明らかにし、それらのマスキングの作用機作を解明する。マスキング物質のスクリーニングは、食品そのものではなく、味物質とマスキング剤候補物質の水溶液を用いて行う。苦味・渋味を有する物質としては、アルカロイド、アミノ酸、ポリフェノールを対象とする。マスキング効果の確認には、主に味覚センサ装置を用いる。これは、試験研究用試薬を用いる場合、ヒトの官能による評価は安全性の面から倫理委員会によって許可を受けることが困難なためである。都甲らによって開発された当該装置は、センサプローブの脂質膜と味物質との相互作用による膜電位変化を味の強度として検出する機器で、ヒトの味覚が識別する基本味 5 種 (酸味、塩味、甘味、苦味、うま味) に加え渋味に特化したプローブにより、各味を個別に評価可能な機器である。特に、渋味に関する評価は十分な信頼性を持つ結果が得られることが申請者らの長年にわたる研究によって証明されている^{1,2,3}。また、予備試験によって検討予定の苦味物質に対しても応答を示すことが確認されている。本研究では、対象となる苦味・渋味物質に候補物質を添加し、センサ応答値を低下させるか否かをマスキング効果の有無として判定する。

マスキング効果が確認された物質については、その作用機作を解明する。滴定実験を行い吸光度スペクトルまたは蛍光発光スペクトルの変化から対象物質とマスキング物質分子間の結合力および化学量論比を明らかにする。さらに、各種の NMR 実験および化学計算によって、複合体構造と其中で作用する分子間力を解析し、ターゲットである味物質の構造とそれに有効なマスキング物質を整理する。

4. 研究成果

(1) 呈味物質への添加により味の変化を引き起こす味調節物質候補のスクリーニングでは、呈味物質としてアミノ酸、アルカロイド、ポリフェノールを対象とした。味調節物質候補としてはアミノ酸、核酸、ポルフィリンを用いた。アルカロイドは多くの生物が生合成し、一般的に苦味を持つ。食品に含まれる代表的なアルカロイドとしてはカフェインやテオブロミンといったメチルキサンチン類がある。ポリフェノールは多くの農産物に含まれ、苦味あるいは渋味を有する。これらの化合物は食品の嗜好性に関与する一方で生理活性を有しており、機能性を訴求した食品では有効成分として用いられることがあるため、高濃度でそれらが含有される状態では味の強さの調節が食品産業において重要である。アミノ酸は普遍的に食品に含まれ、その中のいくつかは苦味を有する。したがって、それらの味を調節することもまた食品産業において重要であるが、よく用いられる制御剤であるシクロデキストリンは、アミノ酸のような低疎水性の物質に対しては十分な効果を示さないため、シクロデキストリンとは作用機作の異なる新たな制御技術の開発が求められている。味の変化の測定には味覚センサ装置を使用し、呈味物質の示すセンサ応答の変化を指標として効果の有無を判断することとしたが、センサ応答値が変化し組み合わせのうちいくつかにおいて、それが調節物質候補の添加による物理化学的性質の変化に起因するものである可能性が否定できなかったため、味の変化については官能審査により評価することに変更した。呈味物質水溶液に調節物質候補を添加し、2点識別法により味の変化の有無を評価した。その結果 5 組の呈味物質 / 調節物質候補の組み合わせで味強度の変化を見出した。続いて、調節物質候補の 1 つについて、味強度の変化した呈味物質を含有する市販の食品に添加したところ、呈味物質単独での実験と同様に味の変化が見られた。また、この呈味物質とは全く異なる構造を持つ物質を呈味物質とする別の市販食品でも味の変化を確認した。この成果については特許出願を行った。

(2) 渋味を有する食品成分であるエピガロカテキン 3-*O*-ガレート (EGCg) と苦味を有する食品成分であるカフェインは、水中において複合体を形成することが古くから知られている。EGCg/

カフェイン複合体の結晶を作成しての構造解析では、結晶中では 2:2 複合体が形成していることが報告されているが⁴、水中での複合体構造については詳細に解析した例がない。そこでこの複合体について、実験化学的手法に加え計算化学を用いた解析を行い、複合体の構造を明らかにした。¹H NMR 滴定データを非線形のカーブフィッティング法により詳細に解析したところ、EGCg とカフェインは水中では 1:1 の複合体を形成することが明らかになった。分子動力学および量子化学計算により、溶媒の水分子を実体として取り扱い、溶質に水素結合した水分子も含め構造最適化を行い、図 1 に示す 9 個の複合体構造を得た。いずれも、溶媒の水分子が溶質とともに水素結合のクラスターを形成して複合体の安定化に寄与していると考えられた。図中に示した複合体構造の安定化エネルギーを比較すると、最も安定なのは 7 で、6, 5, 9 の順に続いた。一方 EGCg とカフェインを混合した水溶液の NOESY スペクトル測定では 4 つの分子間クロスピークが観測された。安定な複合体構造 7, 6, 5, 9 のうち、クロスピークを単独で説明可能であるのは 5 のみであった。6 はどのクロスピークも説明できなかった。7 および 9 は、単独では全てのクロスピークを説明できなかったが、5 と共存して存在する可能性がある。また、5 は、既に報告されている EGCg/カフェイン複合体結晶⁴の部分構造に非常に似ていた。

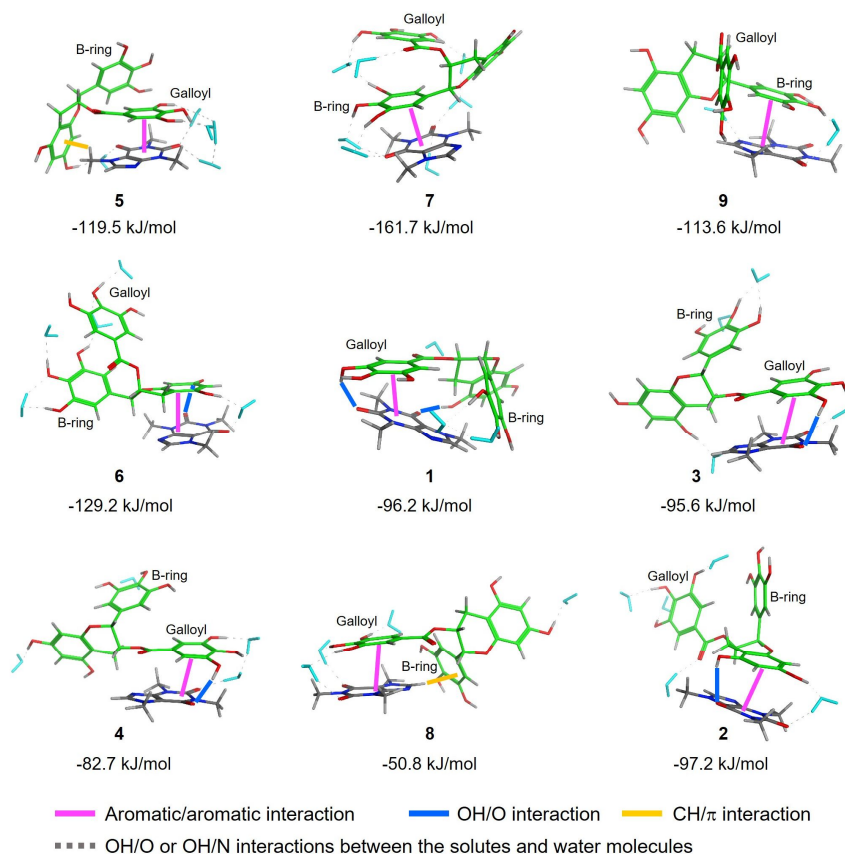


図 1 算出された EGCg/カフェイン複合体の安定構造と安定化エネルギー

緑色は EGCg、灰色はカフェイン、水色は水
 構造最適化は MO6-2X/6-311G(d,p)レベル、エネルギー一点
 計算は MO6-2X/6-311++G(2df,2p)レベルで実施した

Reused from Ujihara and Hayashi, *J. Mol. Struct.* **2021**, 1238, 130434.

(3) 異性体の関係にある食品成分で、片方は味を有し他方は無味の物質が存在する。これらについて、受容体タンパク質との結合シミュレーションを行った。これらの異性体は、受容体のリガンド認識部位との相互作用の強さが異なることを見出した。これは、呈味物質の分子内に自身の味の有無を調節しうる構造を有することを意味する。この知見は、新たな味マスキング法の開発に資するものである。

< 引用文献 >

- (1) Hayashi, Ujihara *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2006**, 70, 626-631. (2) Hayashi, Ujihara *et al. Food Res. Int.* **2013**, 53, 816-821. (3) Ujihara *et al. Food Sci. Technol. Res.* **2013**, 19, 1099-1105. (4) Ishizu *et al. Chem. Pharm. Bull.* **2016**, 64, 676-686.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ujihara Tomomi, Hayashi Nobuyuki	4. 巻 1238
2. 論文標題 A theoretical study on structures of an epigallocatechin-3-O-gallate/caffeine complex in aqueous solution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Structure	6. 最初と最後の頁 130434 ~ 130434
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.molstruc.2021.130434	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 苦味抑制剤	発明者 氏原ともみ、林 宣之	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-019378	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------