

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24656211

研究課題名(和文) アミノ酸の味の定量化を実現する苦味センサの開発

研究課題名(英文) Development of bitterness sensor realizing quantification of taste for amino acids

研究代表者

都甲 潔 (TOKO, Kiyoshi)

九州大学・システム情報科学研究科(研究院・教授)

研究者番号：50136529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、医薬品やサプリメントの主成分として用いられる分岐鎖アミノ酸(BCAA)及びそのジペプチドを対象とし、その苦味及び苦味抑制効果の客観評価を可能とする脂質高分子膜を用いた苦味センサの開発を実施した。その結果、苦味センサを用いて、アミノ酸及びジペプチドの苦味を定量できた。苦味抑制剤であるL-Lys添加時において、BCAA及びジペプチドIle-Pheの苦味の抑制傾向が示唆され、苦味センサがpH変化の影響を検出している可能性が示唆された。L-LysのBCAAに対する苦味抑制効果が官能検査によって示された。従って、試作した苦味センサが、苦味及び苦味抑制効果を客観評価できることが示された。

研究成果の概要(英文)：The project aims of this study are to demonstrate detection of bitterness intensity and suppression of bitterness for branched-chain amino acids (BCAA) and BCAA-dipeptide using a bitterness sensor with a lipid/polymer membrane. The results indicated that i) the sensor could detect bitterness intensity of BCAA and BCAA-dipeptide, ii) suppression of bitterness of BCAA or Ile-Phe by mixing L-Lys (bitterness inhibitor) was suggested using the sensor, and was considered to be attributed to the pH change, i ii) the suppression effect of L-Lys on BCAA was confirmed by sensory tests. Thus, these results indicated that the bitterness sensor can be useful for objective evaluation of bitterness intensity and suppression effect of bitterness.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電子・電気材料工学

キーワード：計測工学 分子認識

### 1. 研究開始当初の背景

生命維持に必須な物質であるアミノ酸の内、特に分岐鎖アミノ酸 (BCAA) であるロイシン、イソロイシン、バリンは体内で合成できない必須アミノ酸であり、ヒトは外部から摂取しなければならない。BCAA は、筋肉を構成するタンパク質の約 35 - 40% を占めており、ヒトにとって極めて重要な物質である。BCAA は、医薬品やスポーツ分野で用いられており、その用法として例えば、タンパク質及びアミノ酸代謝異常を有する肝硬変患者への経口投与剤や、筋肉疲労を防ぐためのスポーツ用サプリメント飲料等が挙げられる。BCAA であるロイシン、イソロイシン、バリンは苦味を呈する物質であるが、ヒトは苦味を毒物のシグナルであり、不快な味として認識する。苦味をマスキング (抑制) する事は、医薬品、食品業界にとって極めて重要な課題である。

申請者が開発を進めてきた脂質高分子膜を用いた苦味センサの開発において、抗ヒスタミン薬である塩酸セチリジンの苦味についてヒトの官能値と良く一致したセンサ出力を得る事に成功した。さらに、シクロデキストリンによる苦味マスキング効果や甘味剤による抑制効果について、評価可能であることも明らかにしている。脂質高分子膜は、電荷を有する脂質、可塑剤及び膜構造を形成するための高分子から成り、医薬品の苦味物質を受容し、生じる膜電位変化から苦味を検出する。苦味抑制効果は、甘味物質が有する親水性、シクロデキストリンによる複合体の形成、苦味マスキング剤との相互作用による中性化により、脂質高分子膜との相互作用を阻害する事で実現されている。本技術を応用する事で、アミノ酸の苦味の定量化に留まらず、苦味抑制効果の実現が十分に期待出来る。

### 2. 研究の目的

本研究は、医薬品やサプリメントの主成分として用いられる分岐鎖アミノ酸 (BCAA) を対象とし、その苦味の客観評価を可能とする苦味センサの開発を目的としている。ヒトの苦味受容体は、遺伝子・分子レベルにおいて、十分な解明が進んでいない。申請者は、脂質高分子膜に味応答性の物理・化学的な性質を付与し、膜電位の変化を計測する事で、



図1 味認識装置 TS-5000Z (株インテリジェントセンサーテクノロジー製)

食品や飲料の味についてヒトの官能値に良く一致した味覚センサの開発に成功している (図1)。本研究は、申請者がこれまでに蓄積してきた脂質高分子膜の知見を応用する事で、未だ解明されていない生体の苦味受容を工学的に実現し、BCAA の苦味に選択的に応答し、客観的に評価可能な苦味センサを開発する事を目的とし、極めて独創的且つ挑戦的な研究内容となっている。

### 3. 研究の方法

本研究では、2年間で下記の3項目を実施した。

(1) BCAA を選択的に認識する脂質高分子膜組成の決定: ターゲット物質を高感度で特異的に認識する脂質高分子膜の化学組成、および作製方法の確立を実施した。脂質高分子膜は、有機溶剤を用い、脂質、可塑剤、支持材 (樹脂) を溶解し、乾燥させてシート状に成型した。シート状に成型した脂質膜を作用電極に接着した。電極には非分極性の銀/塩化銀電極を用い、孔を設けたプラスチック製のハウジング内に塩化カリウム飽和溶液に浸した系で封入する。孔部分 (溶液接触面) に脂質膜を接着し、これを作用電極として用いる。参照電極には、一般的な銀/塩化銀電極を用い、味覚センサに接続して膜電位を測定し、BCAA に対する脂質高分子膜性能を評価した。同様に、BCAA のジペプチドを対象に、苦味抑制効果の評価について検討した。

(2) BCAA の官能検査: 上記1で決定した脂質高分子膜とセンサ出力値との関係性を明らかにし、センサ出力からヒトの苦味強度への変換を試みた。官能検査は、評価対象サンプルの苦味強度を、塩酸キニーネを標準物質とした等価濃度として表すよう、以下のような簡便法で測定した (外部機関に委託)。まずパネリストに、苦味標準溶液である 0.02, 0.036, 0.063, 0.112, 0.2 mM 塩酸キニーネ水溶液を味わわせ、苦味強度をそれぞれ 1, 2, 3, 4, 5 点とするよう覚えさせた。次いで、評価対象のサンプルを味わわせ、その苦味強度に近い点数を回答させた。その際、苦味強度が 3 と 4 の間であれば 3.5 とし、パネリストは 8 名とした。

(3) 苦味抑制効果の検出: BCAA は、L-アルギニン、L-オルニチン、L-リシンを混合する事でその苦味が抑制されることが既に官能検査から明らかとなっている。この苦味抑制効果を客観的に評価可能とするセンサを開発した。

### 4. 研究成果

(1) BCAA を選択的に認識する脂質高分子膜組成の決定: BCAA であるバリン、ロイシン、イソロイシンを対象として、苦味センサの受容部である脂質高分子膜の組成の検討を行

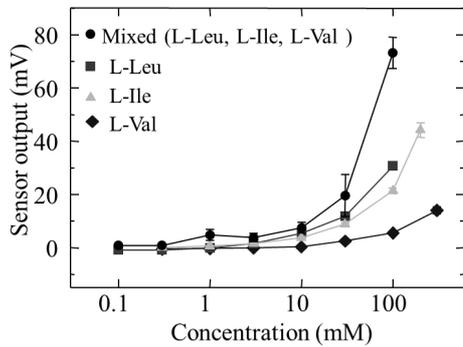


図2 BCAA に対する苦味センサの応答

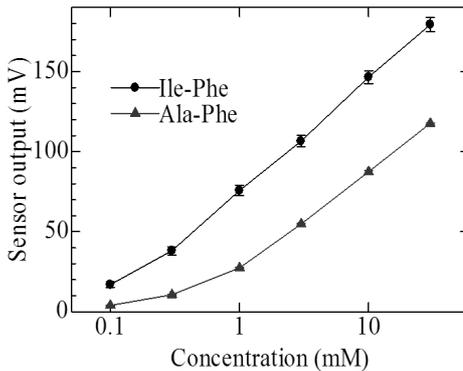


図3 ジペプチドに対する苦味センサの応答

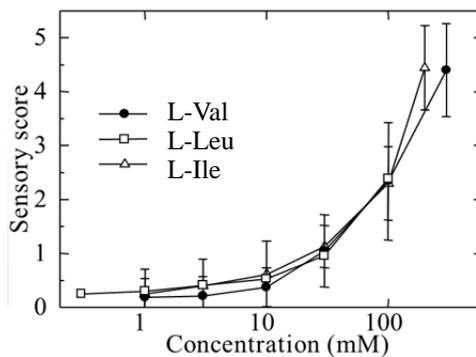


図4 BCAA に対する官能値

った。これらの BCAA が疎水性アミノ酸である事に着目し、脂質として、phosphoric acid di-n-decyl ester、可塑剤として、bis(1-butylpentyl) adipate と tributyl o-acetylcitrate を含有したポリ塩化ビニル膜を用いる事で BCAA の検出が可能であることが明らかとなった(図2)。L-Val は、L-Leu や L-Ile に比較して、センサ出力が低いため、今後、センサの改善を実施する必要があると考えられる。なお、図中の Mixed は、横軸に、それぞれの BCAA 濃度を取っており、例えば、100 mM のサンプルは、L-Leu、L-Ile、L-Val をそれぞれ 100 mM 含んでいる。

また、ジペプチドであるイソロイシルフェニルアラニン (Ile-Phe)、アラニルフェ

ニルアラニン (Ala-Phe) においても、この苦味センサは応答することが分かった(図3)。

(2) BCAA の官能検査：官能検査は、外部機関に委託し、等価濃度試験法に準じて行った結果を図4に示す。濃度の増加と共に苦味強度が増している。図5は、L-Leu と L-Ile のセンサ出力と官能試験の近似直線を示しており、高い相関を有していることが明らかとなった。

(3) 苦味抑制効果の検出：BCAA 混合溶液 (100 mM L-Val + 100 mM L-Leu + 100 mM L-Ile) に対し、苦味抑制剤である L-アミノ酸のリシン (L-Lys) とアルギニン (L-Arg) をそれぞれ加え、苦味センサで測定した結果を図6に示す。L-Arg、L-Lys のいずれにおいても、0.1 mM 以上添加した時、センサ出力は有意に減少した。従って、苦味センサが苦味抑制効果を検出できる可能性が示された。同様に、ジペプチドである Ile-Phe においても、L-Lys の添加によって、センサ出力は有意に減少した。センサ出力の減少は、抑制剤を加えると pH がアルカリ側に移動するため、BCAA の荷電状態が変化 (正電荷の減少) することで、マイナスに荷電を有する脂質高分子膜 (苦味センサ) との静電相互作用が減少するためであると考えられた。

一方、BCAA 混合溶液 (60.7 mM Val + 12.1 mM Leu + 28.1 mM Ile) を用い官能検査を実施した。BCAA の濃度を上記実験より低くした

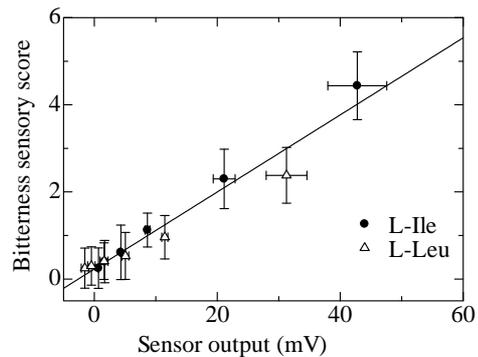


図5 BCAA に対する苦味センサの応答と官能値

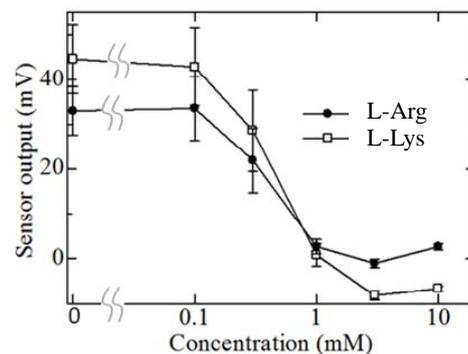


図6 BCAA 混合溶液に対するセンサ応答

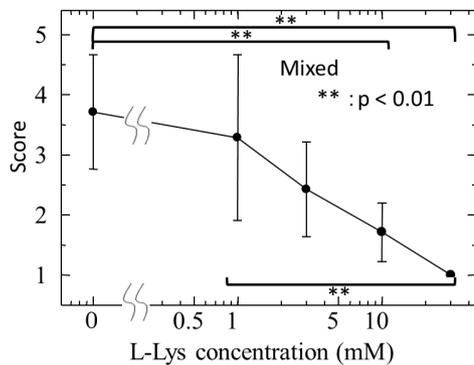


図7 L-Lys のBCAA 混合溶液に対する苦味抑制効果

理由は、一度、同濃度で実験を行ったが、苦味が強く、試飲後もしばらく苦味が続いたため、低濃度に変更したものである。結果を図7に示した。官能検査は順位法を行った(n=7)。苦味センサのセンサ出力と同様に、L-Lys 濃度が1 mM 程度から、官能値の有意な減少を確認できた。また、抑制剤としてL-Arg を用いた官能検査は、統計的な有意差は確認できなかったが、抑制剤の濃度増加に対して、減少する傾向が確認できた。

以上、本研究から下記4点が明らかとなった。

1. 苦味センサを用いて、アミノ酸及びジペプチドの苦味を定量出来ることが示された。
2. 苦味センサ測定によって、L-Lys 添加時においてBCAA 及び Ile-Phe の苦味抑制の傾向が示唆された。
3. 苦味抑制は苦味抑制剤による pH 変化の影響を受けて発現した可能性が示唆された。
4. L-Lys のBCAA に対する苦味抑制効果が官能検査によって示された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

H. Akitomi, Y. Tahara, M. Yasuura, Y. Kobayashi, H. Ikezaki, K. Toko, Quantification of tastes of amino acids using taste sensors, Sensors and Actuators B: Chemical, 査読有, vol. 179, 2013, 276-281,

doi:10.1016/j.snb.2012.09.014

大杉 敬悟, 田原 祐助, 秋富 博紀, 安浦 雅人, 小林 義和, 中野 美智江, 池崎 秀和, 原口 珠実, 内田 享弘, 都甲 潔: 分岐鎖アミノ酸を対象とした苦味及び苦味抑制効果の味覚センサによる評価手法の検討, 日本味と匂学会誌, 査読有, Vol. 19, No. 3, 2012, 421-424

[学会発表](計3件)

大杉 敬悟, 田原 祐助, 安浦 雅人, 都甲 潔, 味覚センサを用いたジペプチドの苦味定量化, 2013年応用物理学会九州支部学術講演会, 2013年11月30日, 長崎大学

大杉 敬悟, 田原 祐助, 秋富 博紀, 安浦 雅人, 小林 義和, 中野 美智江, 池崎 秀和, 原口 珠実, 内田 享弘, 都甲 潔, 苦味センサによる分岐鎖アミノ酸を対象とした苦味抑制効果の評価手法の検討, 平成25年電気学会全国大会, 2013年3月22日, 名古屋大学

大杉 敬悟, 田原 祐助, 秋富 博紀, 安浦 雅人, 小林 義和, 中野 美智江, 池崎 秀和, 原口 珠実, 内田 享弘, 都甲 潔, 分岐鎖アミノ酸を対象とした苦味及び苦味抑制効果の味覚センサによる評価手法の検討, 第46回日本味と匂学会, 2012年10月3, 4日, 大阪大学

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

都甲 潔 (TOKO, Kiyoshi)

九州大学・大学院システム情報科学研究  
院・主幹教授

研究者番号: 50136529

(2)連携研究者

田原 祐助 (TAHARA, Yusuke)

九州大学・大学院システム情報科学研究  
院・助教

研究者番号: 80585927