

機関番号：12611

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22300257

研究課題名(和文) 新たな低分子メイラード反応色素を手がかりに食品褐変反応の功罪を問い直す

研究課題名(英文) Characterization of browning reaction of foods by using novel yellow pigments

研究代表者

村田 容常 (MURATA, Masatsune)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授

研究者番号：60210051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円、(間接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：褐変は食品の品質に重要な影響を及ぼす。ここでは、申請者らにより見いだされた新規メイラード反応色素を食品学的に特徴づけるとともに、新たな色素を探索し見出す。まず、furfural類やdipyrrolone類の性状を食品学的に解析した。呈味性や抗菌活性は認められなかった。dipyrrolone類は比較的強い抗酸化活性を示した。また、新たなdipyrrolone類を同定した。醤油中よりメイラード黄色物質として2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone (DHDMT) を同定した。その醤油での形成過程、生成条件、食品での分布、を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The browning reaction makes a great influence on food quality. Here novel Maillard pigments which were isolated and identified by the group of the author were characterized. These pigments did not show taste and antimicrobial activities, while dipyrrolones showed strong antioxidative activities. Several novel derivatives of dipyrrolones were identified. 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone (DHDMT) were isolated from soy sauce. The formation of DHDMT during soy sauce production were investigated. Its formation conditions and concentrations of various heated foods or beverages were also determined.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：食生活学

キーワード：メイラード反応 黄色色素 醤油 食品

1. 研究開始当初の背景

褐変反応は、食品の加工調理貯蔵中に普遍的に起こる反応で、食品の品質、嗜好性に大きく影響する。しかし、褐変色素は高分子不均一高分子であると考えられているため、原理的に化学的な構造が決定できず、そのため多くの研究者が研究を避け、研究が進んでいない。しかし、申請者は、メイラード反応の条件をコントロールすることで、主要色素が低分子化合物(フルピペート類やジピロロン類)になることを見いだした(図1)。

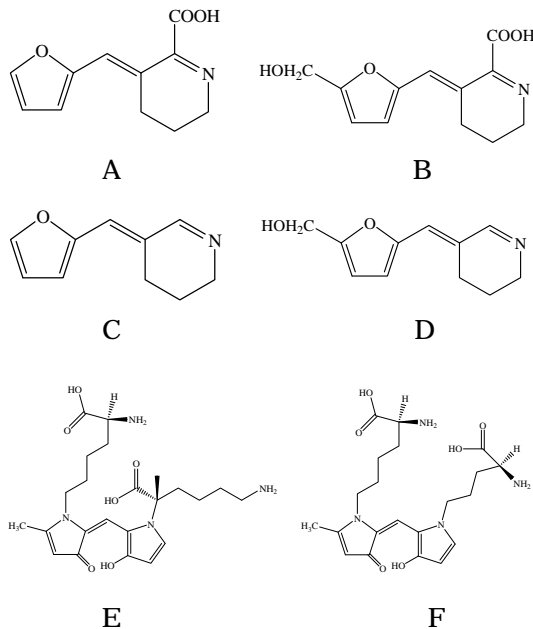


図1 フルピペート (A)、ヒドロキシメチルフルピペート (B)、デカルボキシフルピペート (C)、デカルボキシヒドロキシメチルフルピペート (D)、ジリジルジピロロン A (E)、ジリジルジピロロン B (F)

ここでは、まずこれら新規メイラード反応生成物について、その意義づけをはっきりさせることとした。メイラード褐変反応は、色、香り、味という嗜好性の観点、並びに酸化、抗酸化、変異原、抗変異原、グリコトキシン、カルボニルストレスといった生理的意義の両面から重要である。また、その両者に対して、望ましい面と望ましくない面の両者を併せ持っている。ここでは、新規低分子メイラード色素と関連化合物について功罪両面から評価する必要がある。ここで用いる反応系は、キシロース・リジン系を主体とするものであるが、さらに他のアミノ酸、グアニル酸やイノシン酸などの核酸を添加し、新たなメイラード反応生成物についても検討する。

2. 研究の目的

(1) フルピペート類やジピロロン類は、反応溶液の色の20~30%程度を説明できる主要色素であった。しかし、新規化合物で

あるため、食品学的にも生理学的にも評価されていない。ここでは、それら化合物群及びさらに関連化合物について、食品学的に特徴付ける。具体的には色素強度、呈味性、抗酸化活性、抗菌化活性を調べた。

(2) ジピロロン類の分析の課程で、DAD-HPLC上に新たなピークを認めている。この化合物について単離、同定する。また、リジン-キシロース系に更にもう一つアミノ酸を加えるとジピロロン類と類似のスペクトルを示すピークがDAD-HPLC上に新たに現れた。これらの化合物を単離、同定する。さらにリジンを含むジペプチドを加え、ジピロロン類が形成されるかも調べる。また、リジン-キシロース系などにグアニル酸やイノシン酸などの核酸を添加し、新たなメイラード反応色素が形成されないかを調べる。

(3) 醤油などの食品中のメイラード色素を明らかにする。また、その生成経路、濃度、生成条件等検討する。

3. 研究の方法

(1) 各種クロマトグラフィーを用いてメイラード色素(フルピペート類やジピロロン類)を調製後、色の評価、呈味性、抗菌活性、抗酸化性などを調べた。色の評価は官能検査による閾値を求めた。また濃度を求めることで、色素寄与率を求めた。呈味性については、水溶液の味を調べると同時に、5原味溶液に加えて味の増強効果があるかも調べた。抗菌活性は、グラム陽性菌(*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*)、陰性菌(*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*)、酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、糸状菌(*Aspergillus niger*)を用い、ペーパードISK法で調べた。抗酸化活性については、DPPHラジカル捕捉活性、ORAC法、リノール酸酸化の抑制について調べた。

(2) キシロース-リジン系メイラード反応において、ジリジルジピロロンA及びB以外のピークを各種クロマトグラフィーで単離し、各種機器分析で同定した。キシロース-リジン系メイラード反応液にさらにもう一つアミノ酸を加えて加熱した褐変溶液より、ジリジルジピロロンA及びB以外のピークを見出した。それらを各種クロマトグラフィーで単離し、機器分析により同定した。また、キシロース溶液やキシロース-リジン溶液にグアニル酸やイノシン酸などの核酸を添加した後加熱し、褐変した溶液をDAD-HPLCで分析し、色素を検索した。

(3) 醤油中の低分子色素をDAD-HPLCを用いて探索した。醤油の酢酸エチル抽出物をDAD-HPLCで分析した結果、黄色色素と思われるピークが一つ検出されたので、そのピークを各種クロマトグラフィーを用い単離し、機

器分析により同定した。同化合物の生成条件や各種食品における存在や濃度を調べた。

4. 研究成果

(1)ジピロロン類(ジリジルジピロロン A 及び B)は色が強く、次いでフルピペート、5-ヒドロキシメチルフルピペートが続き、デカルボキシフルピペートやデカルボキシヒドロキシメチルフルピペートの色度が一番弱かった。ジピロロン類は呈味性を示さなかった。また、5 原味味に対する味増強効果も示さなかった。1mg/mL で抗菌活性も示さなかった。

DPPH ラジカル消去活性(表 1)では、ジリジルジピロロン A (DPL A)とジリジルジピロロン B (DPL B)が強い抗酸化性を示し、Trolox 及びアスコルビン酸と同等またはそれ以上の活性を示した。この抗酸化活性はピロロン骨格に由来すると考えられた。ORAC 活性(表 1)では Trolox の半量程度の活性を示した。ORAC 活性では、フルピペートも強い活性を示した。デカルボキシ体は強い活性を示さず、フルピペートの ORAC 活性にはカルボキシル基が重要であった。ジリジルジピロロン A、ジリジルジピロロン B、フルピペート、デカルボキシフルピペートいずれもリノール酸の酸化を抑制した(図 2)。

表 1 ジリジルジピロロン A (DPL A), ジリジルジピロロン B (DPL B), フルピペート (FP)、デカルボキシフルピペート (DFP)

	Radical scavenging activity		ORAC activity
	(mmol Trolox eq. /mol)	(mmol ascorbic acid eq. /mol)	(mmol Trolox eq. /mol)
DPL A	1100 ± 128	1290 ± 114	603 ± 48.1
DPL B	1210 ± 306	1440 ± 290	372 ± 29.6
FP	16.2 ± 0.942	26.2 ± 0.989	552 ± 41.8
DFP	29.7 ± 14.4	38.1 ± 14.1	78.3 ± 6.63

の抗酸化活性

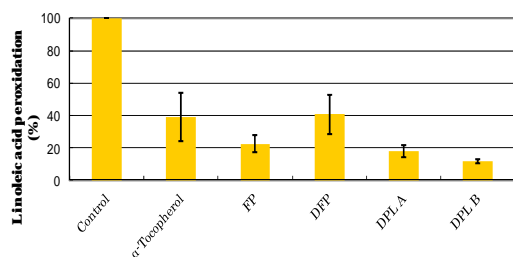


図 2 ジリジルジピロロン A (DPL A), ジリジルジピロロン B (DPL B), フルピペート (FP)、デカルボキシフルピペート (DFP) のリノール酸酸化に対する抑制作用

(2) リジンとキシロースの加熱反応溶液からジリジルジピロロン C (図 3) を単離、同定した。本化合物はジリジルジピロロン B のヒドロキシメチル体であった。キシロース・リジン系に更にもう一つアミノ酸を添加し、

メイラード反応を起こさせた。その褐変溶液を DAD-HPLC で分析したところ、ジピロロン類と思われるピークを見出した。これらを単離、構造決定した。その結果、Ala, Arg, Asp, Glu, Ile, Phe, Ser, Val が取り込まれた新たなジピロロン類を同定した(図 4)。

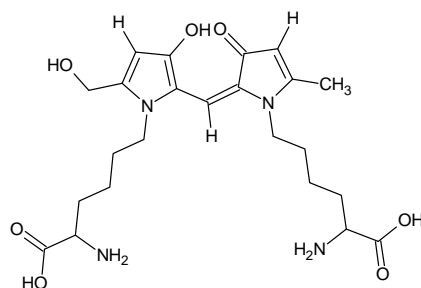


図 3 ジリジルジピロロン C の構造

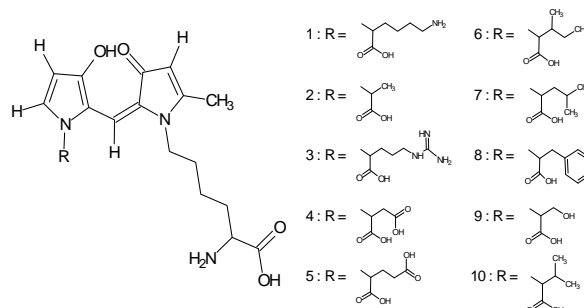


図 4 リジンと一分子の別のアミノ酸が取り込まれたジピロロン類

さらにジペプチドであるグリシルリジン、アラニルリジン、グルタミルリジンを添加した反応溶液からジペプチドが取り込まれたジピロロン類(図 5)を同定した。

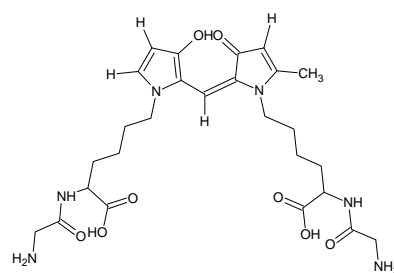


図 5 アラニルリジンを添加したときに生成したジピロロン

ヌクレオチドを添加した反応溶液からは新たな色素成分は検出できなかった。

(3) 醤油中から醤油中よりメイラード黄色物質として 2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone (DHDMT) を同定した(図 6)。本物質は醤油の香気成分として知られて

いる化合物であったが、色素としての意義づけは初めてのものであった。図7にしめすような経路でメイラード反応により形成されると推定された醤油を試醸し、形成過程を調べた。モデル系での生成条件、食品での分布などを明らかにした。

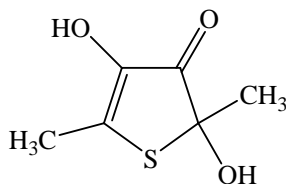


図6 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone (DHDMT)

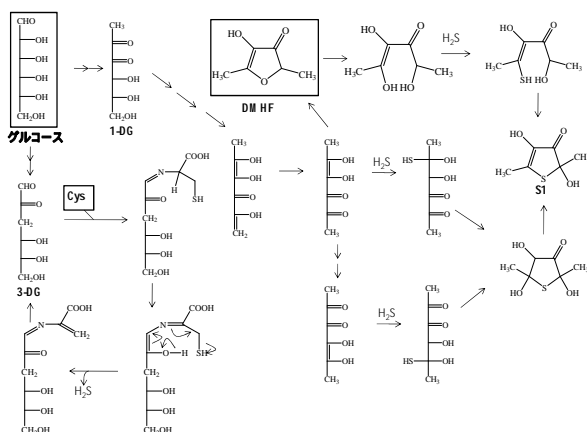


図7 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone (DHDMT) の生成経路

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Rina Furusawa, Chiaki Goto, Miki Satoh, Yuri Nomi, and Masatsune Murata: Formation and distribution of 2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone, a pigment, an aroma, and a biological active compound formed by the Maillard reaction, in foods and beverages. *Food & Function*, 査読有, **4**, 1076-1081 (2013).
Yuri Nomi, Ruriko Masuzaki, Naoko Terasawa, Makiko Takenaka, Hiroshi Ono, Yuzuru Otsuka, and Masatsune Murata: Formation mechanism and characterization of dilysyl-dipyrrolones, the Maillard-type yellow pigments. *Food & Function*, 査読有, **4**, 1067-1075 (2013).

村田容堂: 醤油の低分子黄色色素 2,4-ジヒドロ-2,5-ジメチル-3(2H)-チオフェノンについて、醸造協会誌、査読なし、**107**、733-739、2012

Miki Satoh, Yuri Nomi, Shinji Yamada,

Makiko Takenaka, Hiroshi Ono, and Masatsune Murata: Identification of 2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenone as a low molecular weight yellow pigment in soy sauce. 査読有、*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **75** (7), 1240-1244 (2011).

Yuri Nomi, Junko Sakamoto, Makiko Takenaka, Hiroshi Ono, and Masatsune Murata: Conditions for the formation of dilysyl-dipyrrolones A and B, and novel yellow dipyrrolone derivatives formed from xylose and amino acids in the presence of lysine. 査読有、*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **75** (2), 221-226 (2011).

村田容堂: うま味、おいしさを生み出す科学技術の世界: 味、香り、色、査読なし、日本味と匂学会誌、**18**、75-82 (2011)

[学会発表](計10件)

見上葉子、村田容堂: リジン系メイラード反応の色素形成に及ぼす糖とpHの影響、第23回日本メイラード学会学術集会、2013年11月29日、ナレッジキャピタルコングレコンベンションセンター、大阪
村田容堂: 新たな低分子メイラード黄色色素、日本農芸化学会2013年度大会、2013年3月27日、東北大学、仙台
Murata Masatsune: A flavor compound was identified as a Maillard pigments. 11th International Symposium on the Maillard Reaction, 19th, Sep., 2012, Nancy, France.

古澤梨奈、後藤千明、佐藤美紀、村田容堂、2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-thiophenoneの各種食品における分布と生成条件について、第59回日本食品科学工学会、2012年、8月30日、藤女子大学、札幌

増崎瑠里子、能見祐理、寺沢なお子、村田容堂、メイラード反応で生じるフルビペート類ならびにジピロロン類の特徴づけ、日本農芸化学会2012年度大会、2012年3月24日、京都女子大学、京都
村田容堂、茶色い食品の科学、お茶料理研究会第20回シンポジウム2011年7月9日、大妻女子大学、東京

村田容堂、うま味とおいしさを生み出す科学の世界: 味、香り、色、うま味研究会公開シンポジウム、2011年5月20日、コクヨホール、東京

能見祐里、坂本洵子、村田容堂、Pentose-lysine系メイラード反応由来の黄色色素ピロリルメチリデンピロロン類の生成条件および生成機構の解析、日本農芸化学会2011年度大会、2011年3月26日、京都女子大学、京都

能見祐里、竹中真紀子、村田容堂、Pentose-lysine由来の黄色色素 pyrrolyl-methylidene-pyrrolon 類の生

成機構の解析、第 20 回日本メイラード学会
会学術集会、2010 年 10 月 17 日、お茶の
水女子大学、東京
佐藤美紀、能見祐里、山田眞二、竹中真
紀子、小野裕嗣、村田容常、濃口醤油色
素の特徴付けおよび低分子黄色色素の同
定、第 57 回日本食品科学工学会大会、
2010 年 9 月 2 日、東京農業大学、東京

6 . 研究組織

(1)研究代表者

村田 容常 (MURATA, Masatsune)
お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科
学研究科・教授
研究者番号：62010051

(2)研究分担者

寺沢 なお子 (Terasawa, Naoko)
金沢大学・人間科学系・教授
研究者番号：00227513

(3)連携研究者

なし