

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 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：2013～2015

課題番号：25350119

研究課題名(和文) 塩味付加による甘味増強メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of a mechanism of sweet enhancement by salty addition.

研究代表者

河合 崇行 (Kawai, Takayuki)

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 食品健康機能研究領域・上級研究員

研究者番号：50425550

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：認知時間に差がある2種の味を混和した際の味変化について調べた。ヒト用の実験装置は精度が維持できなかつたので、マウス行動学を利用して解析することにした。甘味と甘味を混合した場合は、認知時間差の大きい組み合わせほど大きな甘味増強が起きる現象が見られた。塩味と甘味を混合した場合は、甘味増強が見られたものの、認知時間の早いイオン性の甘味との組み合わせで大きな増強が見られた。

研究成果の概要(英文)：Taste modification by mixing two tastes that indicate perceptive time variance was investigated. The experimental equipment for offering taste solutions to human have been manufactured but not enough validated, so animal behavioral analysis have been performed. In the case of combination among sweeteners, the greater effects of sweet enhancement were observed in the larger differences of perceptive time. However, in the case of combination sweet and salty, the greater effects of sweet enhancement were observed in the mixture with ionized sweeteners, that were perceived faster.

研究分野：味覚生理学

キーワード：甘味 塩味 相互作用

1. 研究開始当初の背景

甘・苦・塩・酸・うま味の基本五味は、それぞれ異なる受容体異なる味受容細胞で認識されていると考えられている。最新の電気生理学的実験では、一つの味受容細胞が複数の味に反応する現象が捉えられてきているが、味と味の相互作用を説明するには至っていない。甘味を検知する味受容細胞は直接味覚神経にはつながっていないため、塩味や酸味を検知する味受容体を介して情報を伝えているという説もある。しかし、これも適度な塩味付加が甘味を強めている現象の説明には不十分である。現在のところ、味と味の相互作用を研究するにはヒトでの官能試験しか方法がない。本研究は「塩味、甘味の先味認知時間の測定」の部分と「塩味・甘味混合溶液の甘味増強効果の数値化」の2構成となっており、工学的な味提示手法を用いて、今まで評価されてこなかった先味 (= 認知時間) にスポットを当てた研究を行う。

2. 研究の目的

「スイカに塩」「あんこに塩」「チョコレートに塩」・・・和洋問わず、甘味を強く感じさせたり際立たせたりするための隠し味として塩を利用してきた。経験的によく知られているこの現象は塩味と甘味の対比効果に因る錯覚の一種と考える研究者もいるが、塩味に砂糖を加えて塩味を強めるといった例を聞くことはない。色覚の分野では、白-黒、赤-緑間に対称的な対比効果が見られるのに対し、味の場合は一方向のみの効果になっている。本研究は甘味物質、塩味物質の認知に要する時間差(認知順序)に着目し、認知時間と甘味増強感の関係を明らかにすることを目的とする。食品における塩味の重要性を明らかにし、減塩食の抱える全体味の物足りなさを解決する手法開発につながる可能性を示したい。

3. 研究の方法

(1)高速味覚提示装置の改良

塩味溶液、甘味溶液を任意の時間、任意の時間差で提示するための装置を作成した。メインチューブの途中にT字コネクタを配置し、各溶液からのチューブとつないだ。溶液からのチューブの2次側には電磁弁を設置し、コントローラーによって開閉を制御した。味溶液には食用色素を用いて色をつけておき、メインチューブの先にあるカラーセンサーを介して、味溶液の有無を確認した。メインチューブおよび味溶液の1

次側に圧力ポンプをつなぎ、圧力によって流速をコントロールした。水-空気-塩味溶液 1-空気-甘味溶液 2 となるように送液し、舌表面を刺激できるようにした。

(2)リック試験

20時間以上絶食させたc57BL6マウスを小さな小窓(自動シャッター付き)のあるケージに移し替え、小窓から様々な濃度の甘味溶液を提示した。マウスが溶液を舐めるときの舌の動きを光センサーでとらえ、リック回数を測定した。1サンプル10秒間みの提示とし、次々と溶液を換えて、それぞれの溶液に対するリック数データを取得した。甘味物質が濃い、あるいは甘味感が強い溶液では、リック数は多くなる。甘味料として、スクロース、スクラロース、サッカリンナトリウム、アセスルファムカリウムを用いた。まず、甘味料を単独で用い、濃い濃度の試験溶液から順番にマウス提示した。10秒間のリック数を測定した。得られたリック数値を試料濃度に対してプロットし、統計ソフトGraFit(ver 7)を用いてS字曲線「 $\text{リック数} = \frac{\text{上限値}}{1 + (\text{r試料濃度} / \text{EC50値})^{\text{傾き}}} + \text{下限値}$ 」の式に近似した。上限値は、マウスにとっての物理的限界最大値である70~80とした。濃度に対してリック回数をプロットすることで、S字カーブが得られる。4パラメータ式に近似してED50の値を求めた。

(3)認知時間差のある甘味料のブレンド効果

EC50値は、甘味料による甘味強度の係数を示すものと考えられるため、得られたEC50濃度を基準にし、約0.25~約2倍の甘味強度の異なる5溶液を作り、異種同甘味強度の甘味料溶液を等量混和することによって混和溶液を作成した。リック試験では、単独溶液を濃い濃度の順にマウスに提示した後に、それらの混和溶液を濃い濃度の順に提示した。比較する試験液の提示順番による影響を小さくするため、1日目は単独溶液A(3濃度)-単独溶液B(3濃度)-混和溶液(5濃度)の順に提示し、2日目は単独溶液B(3濃度)-単独溶液A(3濃度)-混和溶液(5濃度)の順に提示して得られた測定結果を合わせて解析した。嗜好の大きさ評価には、10秒間にリックした回数をそのまま用いた。溶液Aの近似曲線、溶液Bの近似曲線、混和溶液の近似曲線を重ね合わせて、AとBのブレンド

効果を解析した。

4. 研究成果

(1) 高速味覚提示装置

図1のような高速味覚提示装置を基に改良を加えた。甘味溶液や塩味溶液が舌に接してから認知するまでの時差を計測するために、溶液の提示方法（ポンプ、電磁弁、流路の最適化と制御プログラムの開発を行った。本装置で試運転を行ったところ、液体の層と空気層の境界を維持しながら、0.1秒未満の切り替えを行うことが厳しかった。甘味と塩味の認知時間差は0.1秒程度であることから、2チャンネル間での制御分解能が0.01秒程度となるように調整する必要がある。そこで、装置の改良と平行して、マウスでの甘味料、塩味の組み合わせ実験からのアプローチを試みた。



図1. ヒト用味覚提示装置

(2) リック試験

20時間絶食させたマウスに29~232 mM (1~8%) スクロース溶液、0.25~4 mM (0.01~0.16%) スクラロース溶液、1.25~20 mM サッカリンナトリウム溶液、および1.25~20 mM アセスルファムカリウム溶液を提示してリック測定した結果を図2に示す。本研究に用いたマウスが甘味濃度依存的にリック数の増加（嗜好性）を示すことが確認できた。また、濃度軸を対数表記することで、S字曲線に近似できることが示された。近似式より求められる、本実験条件における各甘味料の嗜好EC50値は、137 mM スクロース、1.7 mM スクラロース、9.8 mM サッカリンナトリウム、8.8 mM アセスルファムカリウムであった。

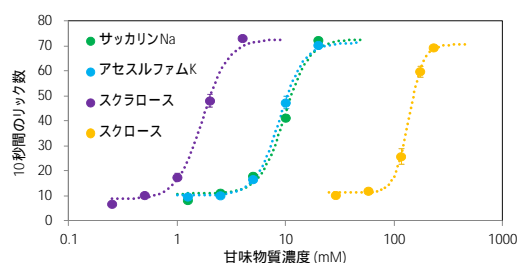


図2. 甘味料の嗜好曲線

(3) 認知時間差のある甘味料のブレンド効果

2.5~20 mM サッカリンナトリウム溶液、2.5~20 mM アセスルファムカリウム溶液を提示してリック測定した結果を図3aに示す。それぞれに対してS字曲線に近似した結果、サッカリンナトリウム、アセスルファムカリウム、混和溶液すべての曲線が重なった。このことは、サッカリンナトリウムとアセスルファムカリウムの混和では相加効果はあるものの相乗効果がないことを示唆している。

0.375~3 mM スクラロース溶液、2.5~20 mM サッカリンナトリウム溶液、および等量混和溶液を提示してリック測定した結果を図3bに示す。それぞれに対してS字曲線に近似した結果、スクラロース、サッカリンナトリウム単独溶液に比べ、混和溶液の曲線が低濃度側へシフトしていた。このことは、スクラロースとサッカリンナトリウムの混和に相加効果以上の相乗効果があることを示唆している。EC50から算出される相乗効果の大きさは、1.6倍であった。スクロース、スクラロース、サッカリンナトリウム、アセスルファムカリウムを組み合わせた実験結果を図3cに示す。イオン性のサッカリンナトリウム、アセスルファムカリウムは甘味立ち上がりの早い甘味料であると言われている。一方、スクロースはそれらより遅く、スクラロースはさらに遅い。このことから、甘味立ち上がり時間に時間差のある甘味料を混和すると甘味増強が認められ、その差が大きいほど増強の強さが大きくなることが明らかとなった。

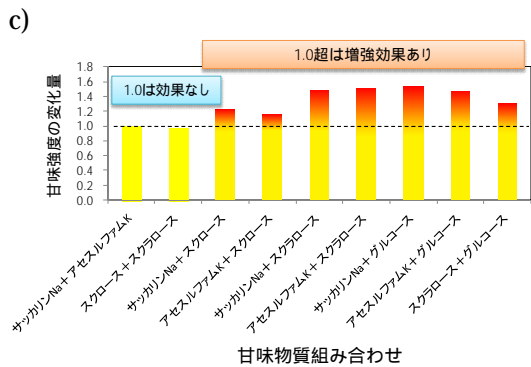
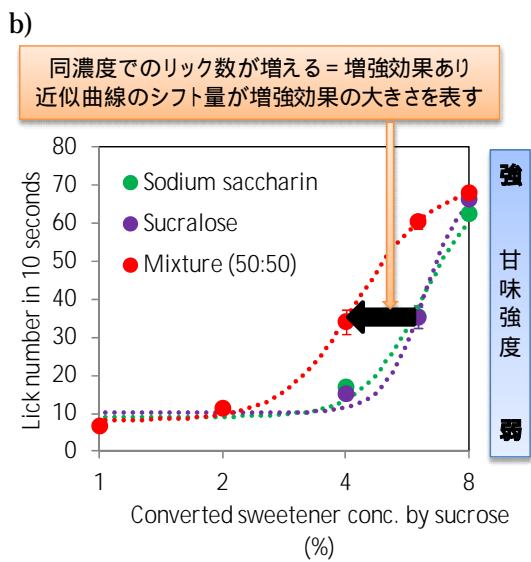
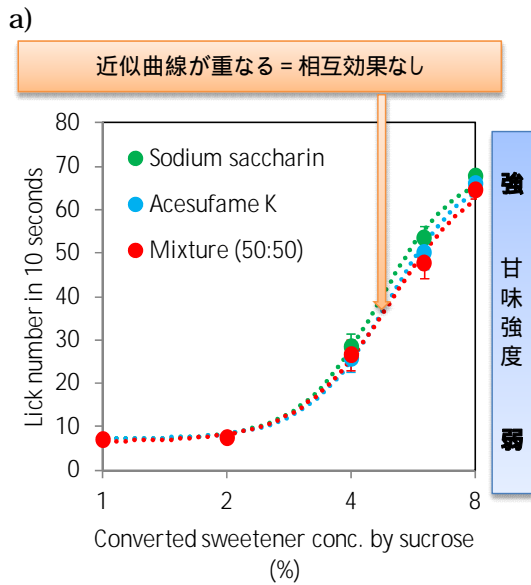


図3．甘味料の組み合わせによる甘味増強効果の比較

(4)塩味と甘味の組み合わせ実験

20 時間絶食させたマウスに 29 ~ 232 mM (1 ~ 8%) スクロース溶液、およびそれらに 50mM 塩化ナトリウムを添加した混合溶液を提示してリック測定した結果を図 4a に示す。それぞれに対して S 字曲線に近似した結果、スクロース単独溶液に比べ、混和溶液の曲線が低濃度側へシフトしていた。

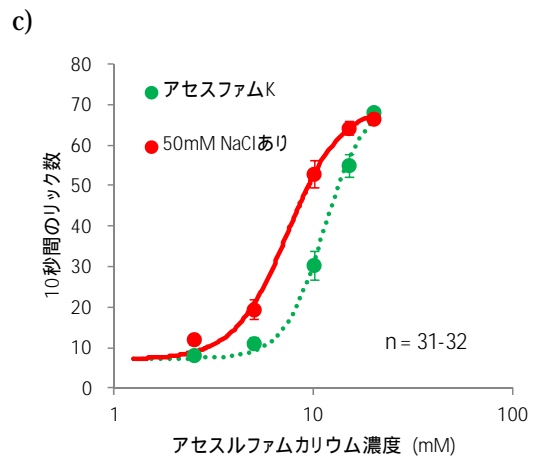
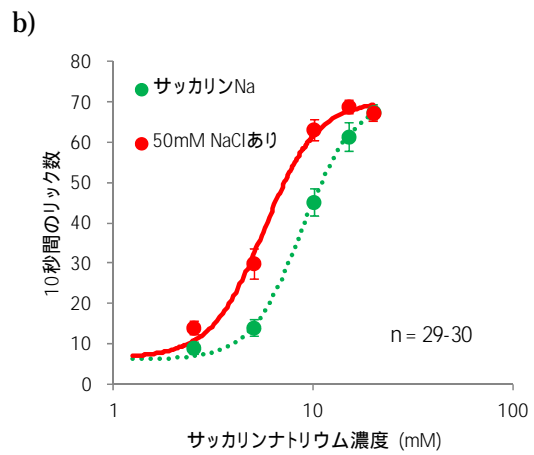
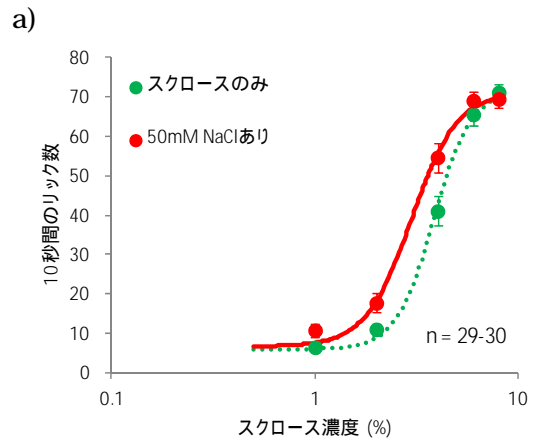


図4．塩化ナトリウム添加による甘味溶液への影響

このことは、塩化ナトリウム添加により好ましさや甘味が向上していることを示唆している。EC50 から算出される相乗効果の大きさは、1.29 倍であった。2.5 ~ 20 mM サッカリンナトリウム溶液、およびそれらに 50mM 塩化ナトリウムを添加した混合溶液を提示してリック測定した結果を図 4b に示す。それぞれに対して S 字曲線に近似した結果、さっぱりんナトリウム単独溶液に比べ、混和溶液の曲線が低濃度側へシフトしていた。このことは、塩化ナトリウ

ム添加により好ましさや甘味が向上していることを示唆している。EC50 から算出される相乗効果の大きさは、1.54 倍であった。2.5 ~ 20 mM アセスルファムカリウム溶液、およびそれらに 50mM 塩化ナトリウムを添加した混合溶液を提示してリック測定した結果を図 4c に示す。それぞれに対して S 字曲線に近似した結果、アセスルファムカリウム単独溶液に比べ、混和溶液の曲線が低濃度側へシフトしていた。このことは、塩化ナトリウム添加により好ましさや甘味が向上していることを示唆している。EC50 から算出される相乗効果の大きさは、1.53 倍であった。塩味は甘味よりも味の立ち上がりが早いと言われている。しかし、甘味の立ち上がる時間の早いイオン性甘味料の方が塩味による効果が大きく表れていた。このことは、塩味による甘味増強は、感じる時間差だけに因るものでない可能性を示している。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

河合崇行、日下部裕子、マウスリック試験を用いた甘味料の相乗効果評価、日本味と匂学会誌、査読有、21 巻、2014、285-288

[学会発表](計 3 件)

河合崇行、日下部裕子、マウスリック試験を用いた甘味錯覚効果の客観的評価、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 28 日、岡山

Takayuki Kawai, Yuko Kusakabe、Ethologically-based evaluation of synergetic effects among artificial sweeteners. The 12th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception、2014 年 11 月 2 日、博多

河合崇行、日下部裕子、マウスリック試験を用いた甘味料の相乗効果評価、第 48 回日本味と匂学会大会、2014 年 10 月 3 日、静岡

6 . 研究組織

(1)研究代表者

河合 崇行 (KAWAI TAKAYUKI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・食品機能研究領域・主任研究員

研究者番号：5 0 4 2 5 5 5 0