

口腔内における酸性化大豆たん白質の沈澱形成と渋味発生機構の解析

駒井三千夫^{*1}・町田 翔¹・齋藤 努²・後藤知子¹・白川 仁¹

¹東北大学大学院農学研究科 ²不二製油(株)研究開発本部

Neurophysiological Clarification of the Mechanism Involved in the Astringent Taste Formation by Acidified Soy Protein

Michio KOMAI¹, Sho MACHIDA¹, Tsutomu SAITO², Tomoko GOTO¹
and Hitoshi SHIRAKAWA¹

¹Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai 981-8555

²Fuji Oil Co., Ltd, Izumi-Sano 598-8540

ABSTRACT

It has been reported that perceptual assessments of astringency may be closely linked to bitterness in human tasting study, however, human evaluation study suggested that astringency may be categorized as somatic sensation. On the other hand, most of the electrophysiological studies by experimental animals have shown that the chorda tympani and glossopharyngeal taste nerves transmit the astringency signal. Actually, we observed the chorda tympani nerve responses to acidified glycinin (isolated soy protein) in the rat, and the fiber analyses of this response showed the similarity to astringent sensation as tannic acid, and gallic acid, rather than acid taste sensation. Therefore, we attempted to show the role of salivary component participation in the occurrence of the astringency of acidified glycinin solution by recording from the rat taste nerve response. Adult female SD rats were used for the chorda tympani nerve responses to various stimuli. We found out that especially the NaHCO₃ had most effective component in increasing the taste nerve activity derived from acidified glycinin solution instead of the precipitation formation itself, and that the acidic preparation under pH 3.5 was another key condition to cause the taste nerve sensation. Further detailed clarification of the mechanism involved in the stimulant structure-activity relationship from the viewpoint of molecular level must be required. *Soy Protein Research, Japan* **11**, 71-74, 2008.

Key words : astringency, acidified soy protein, rats, taste nerve, NaHCO₃

*〒981-8555 仙台市青葉区堤通雨宮町1-1

渋味は、唾液たん白質が渋味成分と結合することによって引きつった感覚をひき起こす物理的感覚(触覚)とも、基本味同様の化学感覚とも考えられているが、その詳細は明らかではない。当研究室における電気生理学的検討において、渋味物質は基本味同様に鼓索神経(味神経)により脳に伝達されていることが確認され、化学刺激として受容されていることが示唆されている。また、唾液の添加により、タンニン酸および酸性化グリシニン溶液で鼓索神経応答の有意な上昇が確認されている。さらに、酸性化グリシニンでは、唾液中のイオン成分である NaHCO_3 添加で鼓索神経応答の上昇が認められた。これらのことから、酸性化グリシニンでは唾液中の NaHCO_3 が受容に関与していることが推測された。現在、渋味は口腔内での唾液との反応によって不溶性物質の沈殿が生じて、これが味受容サイトのレセプターを介して受容されるという考え方が主流であるが、なお不明な点が多い。このため、今回、電気生理学的手法によるラットの鼓索神経(味神経)応答を記録することによって、渋味発生機構と沈殿形成との関係について解析を行った。

方 法

実験動物として成熟Wistar系雌ラットを用いた。定法通り麻酔下に各神経を露出させ、神経束全体を白金電極に接触させてWhole nerve記録を取った。次に舌に味溶液を流すことにより生じた微小電位変化(インパルス放電)を増幅させ、その積分値を測定した。味覚刺激応答の強さは、積分値のピークの高さにより評価した。具体的には以下の刺激による応答を調べた。

pH変化および沈殿物が酸性化大豆たん白質の感受性に及ぼす影響の検討

重炭酸イオン添加による酸性化グリシニン応答の上昇が、重炭酸イオン添加によるpH上昇によるものなのか否かを検討するために、あらかじめ塩酸によってpHを調整し、加熱調製したグリシニン溶液をpH対照群とし鼓索神経応答を記録した。また、各溶液を遠心分離(10,000 rpm, 5℃, 30 min)することで沈殿物を除去し、波長280 nmで吸光度を測定することにより、溶解度の相対値を求めた。さらに、沈殿物を除去した各溶液の鼓索神経応答測定も行った。

イオン成分がグリシニン応答に与える影響

各種ナトリウム、カリウムイオン溶液を調製し、酸性化グリシニン溶液に添加することで検討を行った。具体的には、 NaHCO_3 、 KHCO_3 、 NaOH 、 KOH 、 NaCl 、 KCl を酸性化グリシニン溶液(pH 3.5)にそれぞれ添

加して味刺激用試料とした。

加熱・変性が鼓索神経応答に与える影響

グリシニン溶液を様々なpH(3.5, 5.0, 7.0)で加熱し、pHを再調整することで、加熱時のpHが味応答に及ぼす影響について検討した。また、加熱変性の有無によりグリシニン応答が変化するか否かについても検討を行った。

結果と考察

pH変化および沈殿物が酸性化大豆たん白質の感受性に及ぼす影響の検討

現在、渋味物質は唾液成分と沈殿を形成することにより渋味を発現するという仮説が有力視されている。グリシニンは等電点(pI) 6.3のたん白質であり、酸性化グリシニン溶液(pH 3.5)に NaHCO_3 を加えることによりpHが上昇することで沈殿を形成し、渋味を発現している可能性が考えられる。そこで、 NaHCO_3 添加によるグリシニンの応答上昇が、pH上昇によるものなのか、あるいは炭酸水素ナトリウムのイオンによるものなのか検討を行った。その結果、pH対照群ではpH上昇に伴って応答が上昇せず、むしろ低下の傾向にあった(Fig. 1)。また、これらの溶液を遠心分離することで沈殿物を除去し、溶解度の変化を測定した(Fig. 2)。その結果、溶解度が下がり沈殿物の形成が最大となるpH 5.0~5.5においても沈殿形成の量はむしろpH対照群のほうで多い結果となり、沈殿物の量と応答の上昇は異なる挙動を示した。さらに、沈殿物が存在する場合と取り除いてからの両方の条件で鼓索神経応答も測定した結果、沈殿物の除去によって、応答の変化は確認できなかった(Fig. 3)。これらのこと

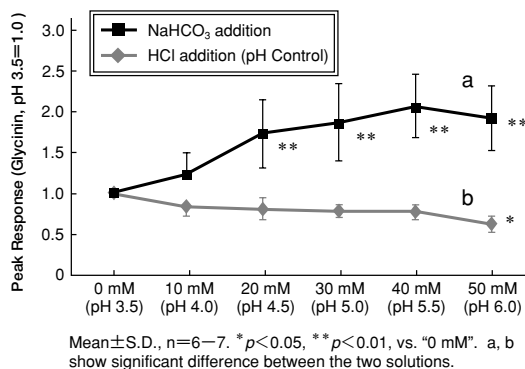


Fig. 1. Effect of pH on the taste nerve response to the glycinin solution.

から、酸性化グリシニンの渋味発現には、沈殿形成ではなく唾液中 NaHCO_3 成分が大きく寄与していることが示唆された。

イオン成分がグリシニン応答に及ぼす影響

酸性化グリシニンの応答の上昇が NaHCO_3 に特異的なものであるか否かを検討するために、様々なイオン溶液を調製し、酸性化グリシニンに添加することで検討を行った (Fig. 4)。その結果、修飾作用は NaHCO_3 溶液を添加した時が最大であることが分かり、この時にのみ鼓索神経応答の有意な増加が確認された。このことから、グリシニン応答の増強作用は NaHCO_3 特異的なものであることが推察された。

加熱・変性が鼓索神経応答に与える影響

大豆たん白質は酸性状態で飲料として使用する際に

渋味を呈する。大豆たん白質は高温で加熱することにより変性し、立体構造や疎水性などが変化する。また、加熱するpHによっても構造が変化すると報告もある。本実験で使用しているグリシニン溶液は湯浴で加熱して調製している。この際の加熱による変性がグリシニン溶液の渋味発現に関与している可能性が考えられた。そこで、グリシニン溶液の加熱時のpHを変化させて検討を行った (Fig. 5)。その結果、酸性条件 (pH 3.5) で加熱すると、味刺激溶液の最終pH (図の横軸に記載) に関わらずpH 3.5加熱調製物では応答が一般に大きいこと、また最終の刺激溶液のpHが5.0や7.0では有意に小さくなることが分かった。すなわち、pH 3.5の酸性条件下で調製することと、刺激時のpHも酸性であることが渋味の発現に重要であることが分かった。

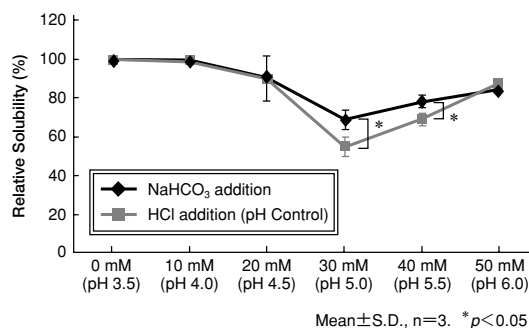


Fig. 2. Effect of NaHCO_3 concentration on the solubility of acidified glycine solution (OD_{280} of pH 3.5=100%).

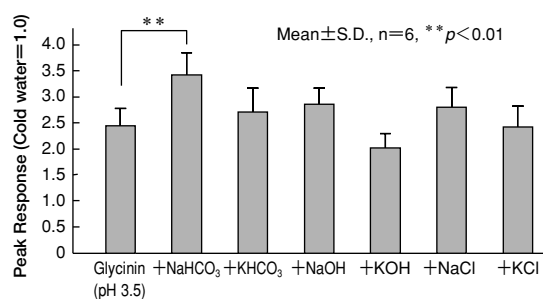


Fig. 4. Effect of coexistence of various electrolytes solution (30 mM) on the chorda tympani nerve response to glycine.

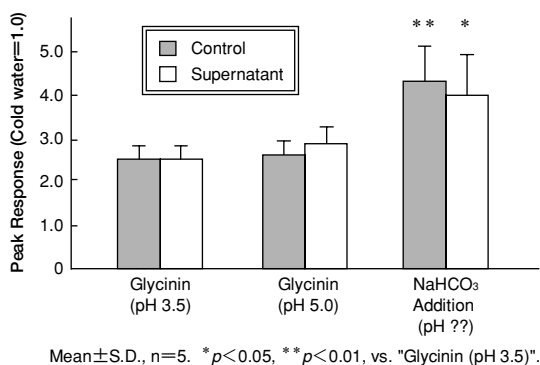


Fig. 3. Effect of the precipitation on the chorda tympani nerve responses to glycine (Control=precipitants).

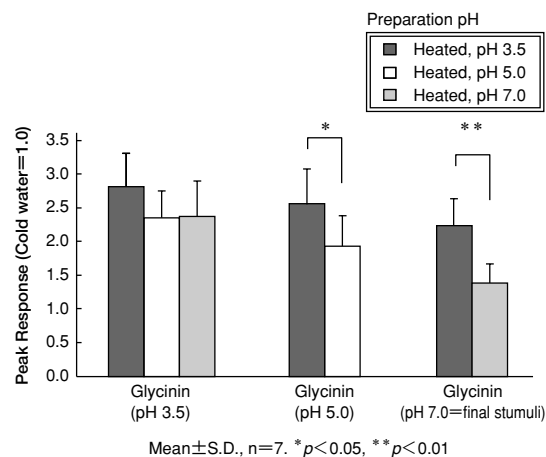


Fig. 5. Effect of preparation pH condition of the solution on the taste nerve response to glycine solution.

また、加熱変性が味応答に与える影響を検討するために、加熱・未加熱群の比較を行った (Fig. 6)。従来指摘した通り、グリシニンの応答は酸性下でより強くなることが確認できたが、加熱の有無による味神経応答の有意な違いは観察されなかった。これらのことから、グリシニンの渋味発現には加熱の有無よりも酸性下での調製による構造変化が大きく関与している可能性が示唆された。

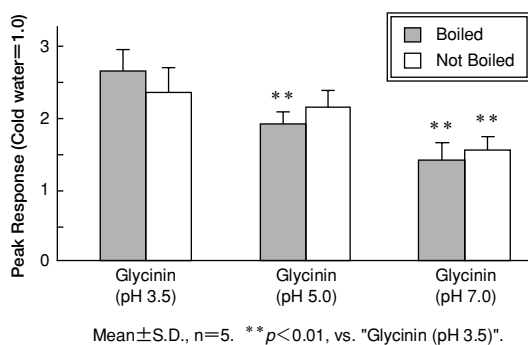


Fig. 6. Effect of boiling on the taste nerve response to glycine solution at various pH.

要 約

酸性化グリシニンの鼓索神経応答 (味応答) は、 NaHCO_3 溶液の添加により有意に上昇することが確認できた。また、 NaHCO_3 添加時と同 pH となるように調整した pH 対照群との比較や沈殿を除去した群との比較を行った結果、酸性化グリシニンの味神経応答の上昇には、沈殿形成よりも NaHCO_3 成分が大きく寄与していることが考えられた。大豆たん白質は酸性状態で飲料として使用する際に渋味を呈することから、渋味発現には加熱や酸による変性が関わっている可能性が考えられた。そこで、グリシニン溶液の加熱の有無や加熱時の pH を変化させて検討を行った。その結果、加熱は大きな渋味増強因子ではないこと、そして酸性下 (pH 3.5) で調製した際に応答が大きくなることが観察された。このことから、グリシニン溶液の渋味発現には酸性条件下での構造変化が大きく関与している可能性が示された。

文 献

- 1) Kawamura Y, Funakoshi M, Kasahara Y and Yamamoto T (1969): A Neurophysiological Study on Astringency Taste. *Jpn J Physiol*, **19**, 851-865.
- 2) 山内文男, 大久保一良 (2003, 第 8 刷): 「大豆の科学」 朝倉書店.
- 3) 山本 隆 (1996): 「脳と味覚—おいしく味わう脳のしくみ—」 共立出版.
- 4) 佐藤昌康 (1991): 「味覚の生理学」 朝倉書店.
- 5) Matsuo R and Yamamoto T (1992): Effects of inorganic constituents of the rat chorda tympani nerve. *Brain Research*, **583**, 71-80.
- 6) Tezuka M, Yagasaki K and Ono T (2004): Changes in Characters of Soybean Glycinin Groups I, IIa, and IIb Caused by Heating. *J Agric Food Chem*, **52**, 1693-1699.
- 7) Lakemond CM, de Jongh HH, Hessing M, Gruppen H and Voragen AG (2000): Heat denaturation of soy glycinin: influence of pH and ionic strength on molecular structure. *J Agric Food Chem*, **48**, 1991-1995.