

味覚センサと近赤外分光分析法を用いたトレハロースの計測

都甲, 潔

九州大学大学院システム情報科学研究科電子デバイス工学専攻

チボンゴゼ, ハドウェル

九州大学大学院システム情報科学研究科電子デバイス工学専攻 : 博士後期課程

永守, 知見

有明工業高等専門学校

松野, 哲也

有明工業高等専門学校

他

<https://doi.org/10.15017/1515759>

出版情報 : 九州大学大学院システム情報科学紀要. 4 (2), pp.179-184, 1999-09-24. Faculty of Information Science and Electrical Engineering, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :

味覚センサと近赤外分光分析法を用いたトレハロースの計測

都甲 潔*・Hardwell CHIBVONGODZE**・永守 知見***・
松野 哲也***・安田 幸正†・浜田 正一††・三橋 正和††

Measurement of Trehalose with a Taste Sensor and NIR Spectroscopy

Kiyoshi TOKO, Hardwell CHIBVONGODZE, Tomomi NAGAMORI, Tetsuya MATSUNO,
Yukimasa YASUDA, Syoichi HAMADA and Masakazu MITSUHASHI

(Received June 14, 1999)

Abstract: Trehalose is a sweet disaccharide composed of two glucose molecules, and is drawn attention to from the viewpoint of the physiological function. In this paper, we studied the suppression of bitterness by trehalose using a multichannel taste sensor, and the intermolecular interaction between sugar and water with a near infrared radiation (NIR) apparatus. A multichannel taste sensor whose transducer is composed of several kinds of lipid/polymer membranes with different characteristics can detect taste in a manner similar to human gustatory sensation. The NIR spectroscopy is a suitable method for the food analysis of the need for detailed quality specifications in food and beverage industries. The suppression of bitterness by trehalose was quantified by applying a principal component analysis to data on response electric potential. Moreover we found an intimate relationship between NIR spectra and the number of OH radical of sugars.

Keywords: Trehalose, Taste sensor, NIR, Interaction, Quantification

1. はじめに

生体系における様々な種類の糖類について広く興味を持たれている。特に、細胞内の水分調整に関係していると考えられるトレハロースは、食物の乾燥や凍結時のダメージをカバーすると言われ、最近注目されている。キノコをはじめ菌類、藻類、昆虫などに含まれ、自然界に広く存在している糖質である。甘味は砂糖の4.5%で、漬物・缶コーヒーなどにも使用されている。このトレハロースはグルコースが結合した二糖類であり、生理機能的観点から興味を持たれ、研究が進められている¹⁾。

本研究においては、トレハロースについて幾つかの知見を得られたので、その結果を報告する。まず、味覚センサを用いて味覚効果の観点から、苦味を呈する味物質に対するトレハロースによる苦味抑制効果を調べた。次に、ここで得られた苦味抑制効果のメカニズムを探るために、使用した味覚センサのトランスデューサに用いられている脂質分子(または脂質膜)と糖分子との相互作用、あるいは水分子を含めた3種類の分子間の相互作用を調べることが重要であると考え、水分子と糖分子との相互作用

を近赤外分光法を用いて捉えることを試みた。そこで、トレハロース及び幾つかの種類²⁾の二糖類と単糖類の水溶液を、近赤外分光光度計(NIR: near infrared radiation spectroscopy)を用いて計測を行い、水分子-糖分子相互作用との関係について考察した。近赤外分光光度計は食品の非破壊検査に用いられ、前処理を必要とせず迅速に、多成分を同時に定量できる特徴を持っている。

2. 味覚センサによる苦味抑制効果の定量化

2.1 原理

筆者らによって開発された味覚センサ²⁾は、複数種類の脂質高分子膜をマルチチャンネルのトランスデューサとして持つ。脂質高分子膜は、脂質分子がポリ塩化ビニルと可塑剤から成る網目構造に含浸した構造を有する。用いる脂質の種類を変えることにより、様々な電気化学的特性を膜に持たせることが可能である。その特性を決める主要な要因は、用いる脂質分子の荷電(プラスかマイナスか中性か)と親水性(及び疎水性)の程度である。

この測定システムは被測定水溶液中の味物質による膜電位変化を検出する。通常は、基準溶液(ここでは3mM KCl溶液)の(絶対)膜電位に対する被測定味溶液の(絶対)膜電位を(相対)応答電位とする。この測定では7種類(チャンネル)の膜が用いられた。すなわち、被測定溶液の味は7次元の応答電位ベクトル(パターン)として捉えられる。

平成11年6月14日受付

* 電子デバイス工学専攻

** 電子デバイス工学専攻博士後期課程

*** 有明工業高等専門学校

† 電子工学科(現在、アンリツ株式会社)

†† (株)林原生物化学研究所

Table-1 Lipids used for the membranes.

Channel	Lipid (abbreviation)
1	Decyl alcohol (DA)
2	Oleic acid (OA)
3	Diocetyl phosphate (DOP)
4	DOP:TOMA=5:5
5	DOP:TOMA=3:7
6	Triocetyl methyl ammonium chloride (TOMA)
7	Oleyl amine (OAm)

2.2 材料および方法

ここでは、トレハロースの苦味に対する抑制効果が調べられた。トランスデューサとしての膜に用いられた脂質をTable 1に示す。

デシルアルコール(DA), オレイン酸(OA), ジオクチルフォスフェート(DOP), トリオクチルメチルアンモニウムクロライド(TOMA), オレイルアミン(OAm)である。DOP と TOMA に関しては異なった比率で混合した膜も用意され、全部で7種類の電気化学的特性を有する脂質高分子膜が使用された。測定システムはFig.1に示す味認識装置 SA401 (アンリツ(株))が用いられた。用い

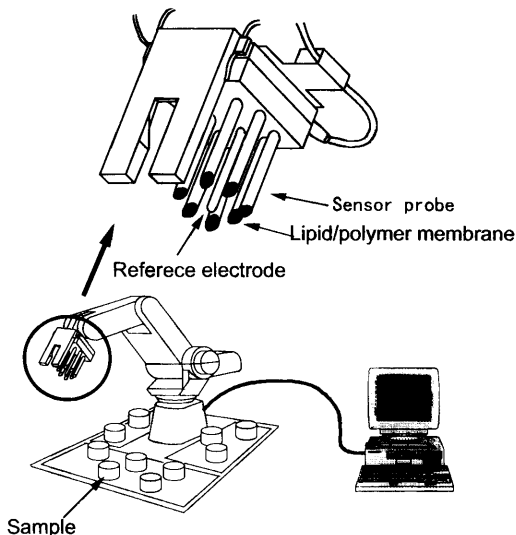


Fig.1 Taste recognition system(SA401, Anritsu Corp.).

た苦味物質は生理学的研究でよく用いられるキニーネ塩酸塩(以下キニーネ)である。サンプルは、様々な濃度のキニーネ水溶液、及び、様々な濃度の組合せのキニーネ・トレハロース混合水溶液である。また、他の種類の糖類の応答特性と比較するために、スクロースやフラクトースの水溶液の測定も行った。

2.3 結果

上記のキニーネ水溶液を測定した結果、濃度に対して系統的に変化する、苦味を特徴づける応答電位パターン(味覚パターン)が得られた。Fig.2に結果を示す。また、この図においては、0.3mM キニーネとトレハロースの混合溶液の測定結果も示されている。Fig.3にはキニーネとトレハロースの混合溶液の結果のみが示されている。キニーネ・トレハロース混合溶液の応答パターンを純キニーネ水溶液のそれと比較すれば、トレハロースが苦味を抑制する様子が応答パターンに反映されていることがわかる。すなわち、純粋なキニーネ水溶液の測定結果に

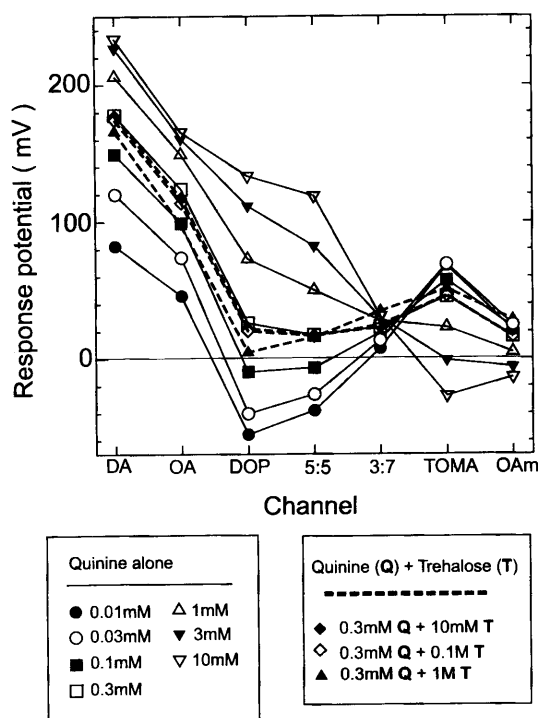


Fig.2 Response patterns for quinine (solid line) and quinine-trehalose mixture (dashed line).

おいて濃度の増加とともにDA, OA, DOP膜の応答膜電位が増加したものが、トレハロースの添加によって減少している。TOMA と OAm 膜では逆の現象が起こっている。これは、あたかも、純粋なキニーネ水溶液においてキニーネの濃度が減少しているかのようにみえることを意味する。あるいは、キニーネ・トレハロース水溶液においては、「実効的」キニーネ濃度は実際のそれよりも小さいとみなせるということである。他の2種類の糖(スクロース, フラクトース)を用いた測定においても、傾向として同様な結果が得られた。

甘味物質による苦味の抑制の効果を定量的に捉えるために、まず、得られた味覚(多次元)パターンに対して主成分分析を行った。ここで、変換行列を求めるための分析に用いるデータは、種々の濃度のキニーネ水溶液のデー

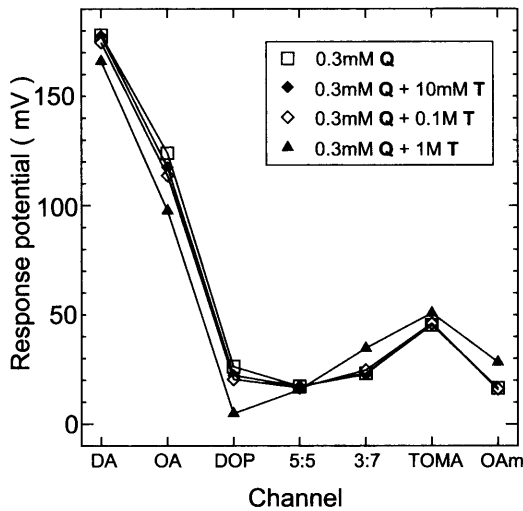


Fig.3 Response patterns for quinine-trehalose mixture.

タのみを用いた。主成分分析とは高い次元のデータが持つ情報をできるだけ失うことなく、低い次元のデータに変換するもので、変換されたデータのうちの情報を多く含むものから順に第1主成分(PC1)、第2主成分(PC2)と呼ばれる。キニーネ測定の結果(Fig.2)を主成分分析した結果をTable 2に示す。ここで、 a_1, a_2, \dots, a_7 は主成分に対する各チャンネルの重みを表している。Table 2を見

Table-2 Result of principal component analysis.

	PC1	PC2	PC3
a_1	0.448	-0.539	0.287
a_2	0.361	-0.488	-0.029
a_3	0.595	0.127	-0.666
a_4	0.463	0.404	0.562
a_5	0.069	-0.107	0.048
a_6	-0.287	-0.469	-0.188
a_7	-0.115	-0.245	0.346
Eigenvalue	15458	359.98	18.764
Proportion(%)	97.6	2.3	0.1
Cum. Prop(%)	97.6	99.9	100.0

ると、7次元あった元のデータは第1主成分(PC1)から第3主成分(PC3)の3次元のデータに変換されたことが分かる。しかも、第1主成分だけで元のデータの97.6%もの情報量を表すことができるのである。これは7次元のデータがほぼ1次元のデータに変換できたことを意味する。

第1主成分(PC1)は次式で表される。

$$PC1 = a_1(v_1 - v'_1) + \dots + a_7(v_7 - v'_7) \quad (1)$$

ここで a_i はPC1に対するチャンネル i の重み、 v_i はチャンネル i の応答電位、 v'_i はチャンネル i の応答電位の平均をそれぞれ表している。この式を用いて求めた第1主成分を縦軸、キニーネ濃度の対数を横軸にとったものがFig.4のグラフである。グラフがほぼ直線を描いていることから、第1主成

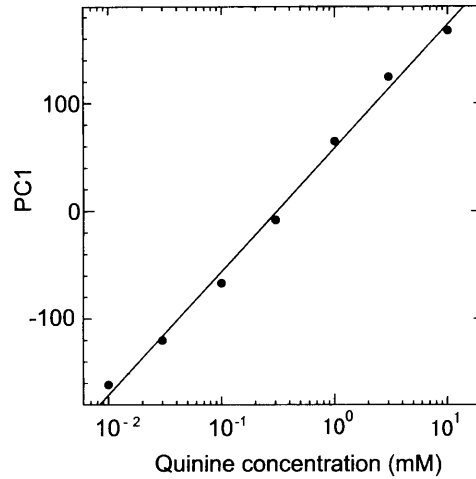


Fig.4 Relationship between PC1 data and the quinine concentration. The straight line was obtained by the method of least squares.

分の値からキニーネの濃度を逆算することが出来る。すなわち第1主成分の値によって、キニーネ濃度から算出される苦味強度を定量化するのは妥当であると考えられる(濃度推定)。

さらに進んで、第1主成分とキニーネ濃度が1対1で対応するならば、第1主成分を τ (タウ)尺度に変換することが可能である。 τ 尺度とは、官能検査による苦味の定量的表示法であり、そこでは苦味物質(キニーネ)の濃度の関数として苦味尺度 τ が定義されている。具体的には、濃度の対数の1次関数として苦味が表現される。キニーネ濃度と τ 尺度の間に次式が成り立つことが知られている³⁾。

$$\tau = 2.35 \log(\phi/0.00011)$$

この式を、書き直すと次式のようになる。

$$\tau = a + b \log \phi \quad (2)$$

ここで ϕ は100ccの溶液中に溶けているキニーネの質量(g)で表される。またFig.4から最小二乗直線として次式が求められる。

$$PC1 = c + d \log \phi \quad (3)$$

式(2)および式(3)より ϕ を消去すると、以下の τ とPC1の

関係式を得る。

$$\tau = \alpha PC1 + \beta \quad (4)$$

ここで $\alpha = b/d$, $\beta = a - bc/d$ であり, 今回の場合は具体的に $\alpha = 0.0205$, $\beta = 4.81$ となる. この式は味覚センサ出力と人の官能検査値(苦味強度)を関係づける式である.

キニーネ溶液が呈する味の主要項(第1主成分)をパターン各成分(チャンネル)の値の線形結合で表現することができた.

味覚センサによって得られる味覚パターンを苦味尺度に変換する方法が確立したところで, トレハロースを含む3種類の糖類の苦味への効果を数値的に表現することができ, Fig.5 にその結果を示す.

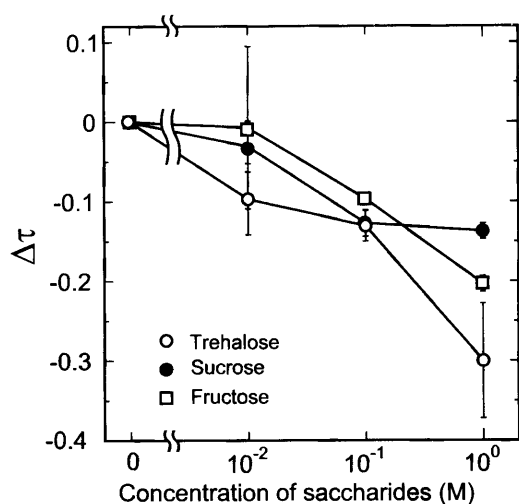


Fig.5 The change of bitter strength expressed by the τ scale, when sweet substance (trehalose, sucrose, and fructose) is added.

この図からわかるように, 苦味度を表す τ 値が糖類の濃度の増加にともなって単調に減少している. ここで示されている濃度依存性は甘味物質の苦味に対する抑制効果を定量的に記述するものである. また, 今回測定した3種類の糖の中では, トレハロースが最も苦味抑制効果が大きいことがわかる.

3. 近赤外分光法による糖水溶液の測定

3.1 原理

赤外測定及び近赤外分光測定は, 被測定物を構成する分子の振動エネルギーに関する情報を拾うことが知られている. 振動エネルギー単位の幅は分子内結合の種類に依るので, 赤外・近赤外分光法によって, 測定対象としているサンプルにおける, ある特定の化学結合の存在量を知ることができる.

ここでは, 糖の水溶液の研究のために近赤外分光法を用いた. 近赤外領域では水による吸収量が赤外領域におけるそれよりも3ケタほど小さい. よって, 近赤外分光法は水溶液系あるいは水を多く含む物質の研究に適している. 反面, 多数の倍音や結合音による吸収バンドが重なるので解析が容易ではないという欠点を有する. しかしながら, 水素結合などの分子間相互作用によって生じる吸収バンドのシフトの大きさは, 近赤外領域の方が赤外領域のものよりも大きいので, 分子間相互作用の研究には近赤外分光法の方が適していると考えられる.

3.2 材料及び方法

測定サンプルは幾種類かの単糖類(グルコース, マンノース, ガラクトース, フラクトース)及び二糖類(スクロース, マルトース, トレハロース)の水溶液である.

用いた測定システムは, 分光光度計 UV-3100PC (島津(株))である. 透過法を用いて, 近赤外領域(波長が800nm から 2500nm)の吸収スペクトルを測定した. サンプルは光路長 1mm の石英セルに入れられ温度は恒温槽によって25°Cに保たれた.

3.3 結果

本研究においては, まず予備実験として, NaCl や KCl などの単純な電解質の水溶液を測定してみた. その結果, それぞれのサンプルの(純水の近赤外吸収スペクトルを基準とした)差分スペクトルの振幅は, 水との親和性をあらわすホフマイスター系列と相関があることが判明した. つまり, 近赤外測定は(溶質の濃度が十分高ければ)溶質分子と水分子集団との相互作用を定量的に捉えることが確かめられた.

そこで, 糖水溶液の近赤外吸収スペクトルには糖分子と水分子との相互作用に関する情報が多く含まれていることが期待される. Fig.6に得られた近赤外吸収スペクトルを示す. ただし, これらは純水を基準とした差分スペクトルである. 糖分子としての特徴や種類による個性がよく現れていると考えられる領域について図示した.

本研究においては, 糖水溶液の吸収スペクトルの濃度依存性も調べられた. スペクトルの形状はほぼ保たれたまま, 濃度によって吸光度の絶対値が変化した. 得られた結果より, ここで用いた近赤外吸収測定システムを糖センサだとみなせば, 糖の検出閾値は数十mMであることがわかった. この検出閾値濃度は味覚センサ及びヒトの検出閾値と, ほぼ同じオーダーである.

さて, 得られた差分吸収スペクトルを定量的に特徴づけるために, 純水の吸収スペクトルからのはずれ(摂動)の大局的な大きさを見積もった.

一方, 糖分子と水分子集団との相互作用の大きさを表す指標として本研究では, まず糖の分子構造に着目した.

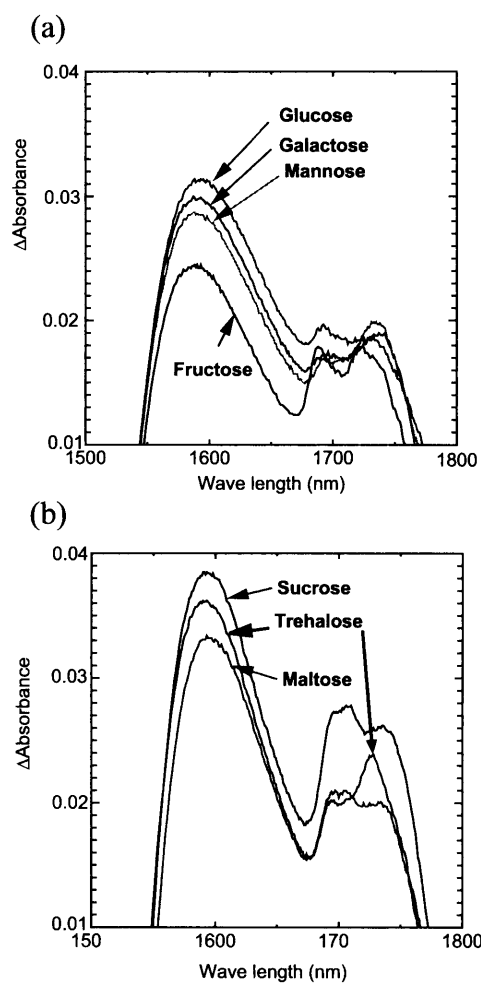


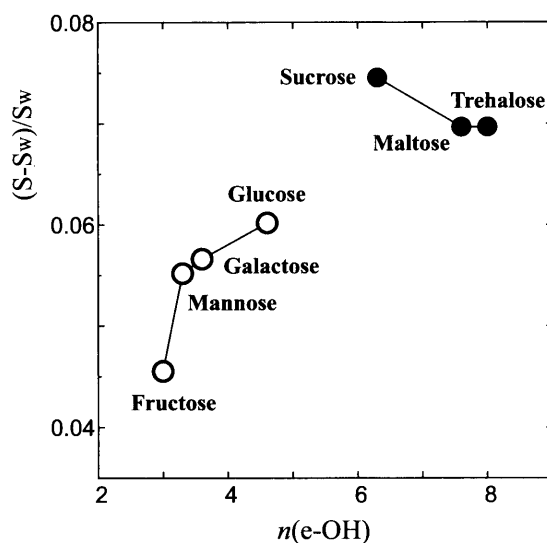
Fig.6 NIR absorbance curves of monosaccharides (a) and disaccharides (b). The concentration of all solutions was 1 M.

糖分子の水への親和性, すなわち親水性は, 6員環(あるいは5員環)の分子面方向に出ている OH 基 (e-OH 基)の数によって決まると考えられている^{4),5),6)}. 各糖類における e-OH 基の数^{5),6)}と吸収スペクトルの振幅との関係を図 7 に示す.

この図から, 近赤外吸収スペクトルは e-OH 基の数と強い相関がある情報を含むことがわかる. また, この結果から, 近赤外吸収スペクトルは水分子の分子周辺における滞在時間^{5),6)}とも相関があるといえる.

4. ま と め

味覚センサによって得られる味覚パターンから, 苦味尺度への変換を行ない, トレハロースを含む3種類の糖類の苦味への効果を, 数値的に表現することができた. その結果得られた濃度依存性は, 甘味物質の苦味に対する抑制効果を定量的に表すものである. また, 今回測定した3種類の糖の中では, トレハロースが最も苦味抑制効果が大きいことが確かめられた.



Monosaccharides	$n(e-OH)$	Disaccharides	$n(e-OH)$
Glucose	4.6	Sucrose	6.3
Galactose	3.6	Maltose	7.6
Mannose	3.3	Trehalose	8.0
Fructose	3.0		

Fig.7 Above : Relationship between the e-OH radical number $n(e-OH)$ ^{5),6)} and the change of absorbance for 1 M monosaccharides or disaccharides from pure water. S is the integral of NIR absorbance curve (wavelength : 1550nm ~ 1800nm) for sugar, and S_w is for water. Bottom left : e-OH radical number for monosaccharides. Bottom right : e-OH radical number for disaccharides.

今後の課題としては, 糖類の苦味抑制の微視的機構の解明や, 抑制効果の大きさの違いが何に起因するかを明らかにすることが挙げられる. そのためには, 味覚センサのトランスデューサに用いられている脂質分子(または脂質膜)と糖分子との相互作用, あるいは水分子を含めた3種類の分子間の相互作用を調べていくことが重要であると考えられる.

今回, 苦味抑制機構解明のための第一歩として, 水分子と糖分子との相互作用を近赤外分光法を用いて捉えることを試みた. そこで得られた近赤外吸収スペクトルは e-OH 基の数と強い相関がある情報を含むことが判明し, 水分子の分子周辺における滞在時間とも相関があることが推察された.

得られた差分スペクトルの形状の由来を詳細に明らかにすることも今後の課題である. また, 生体系における化学物質受容においては, 味覚センサの種々の化学物質への適用結果^{7),8)}からもわかるように, 生体膜構造を作っ

ている脂質分子(及び脂質二分子膜構造)が重要な役割を担っていると考えられる。そこで、今後は、脂質分子存在下での近赤外吸収スペクトルを調べていくことも重要であると思われる。加えて、味との関係、そして味覚センサ出力との関係を詳細に探ることも必要であろう。

参 考 文 献

- 1) 櫻井 実, 井上義夫: 糖の水和とトレハロースの生理機能, 生物物理 **37** (1997) 326.
 - 2) 都甲 潔 (編著): 「味覚センサ」, 朝倉書店 1993.
 - 3) T. Indow: "An application of the τ scale of taste: interaction among the four qualities of taste," Perception & Psychophysics **5** (1969) 347.
 - 4) 上平 恒: 「生命からみた水」, 共立出版 1990.
 - 5) Hi. Uedaira, M. Ikura and Ha. Uedaira: "Natural-abundance oxygen-17 magnetic relaxation in aqueous solution of carbohydrates," Bull. Chem. Soc. Jpn. **62** (1989) 1.
 - 6) H. Kawai, M. Sakurai, Y. Inoue, R. Chujo and S. Kobayashi: "Hydration of oligosaccharides: anomalous hydration ability or trehalose," Cryobiology **29** (1992) 599.
 - 7) 都甲 潔: 味覚センサ, 日本味と匂学会誌 **4** (1997) 21.
 - 8) K. Toko: "Electronic sensing of tastes," Sensors Update, Vol. 3, H. Baltes, W. Göpel & J. Hesse, eds., Wiley-VCH (1998) 131.
-