

論文要旨

メイラード反応による着色に関する研究：チーズの貯蔵褐変ならびに
含チアミンモデル系の黄色物質形成

井越 明日香

メイラード反応は着色や香気形成を伴うことで、食品の嗜好性に大きな影響を与える事が知られている。メイラード反応による着色を研究するには使用する材料、基質という視点から二つに大別できる。一つは実際の食品を用いその着色過程を解析するやり方で、もう一つは組成が明らかなモデル反応系を用いて解析するやり方である。ここでは前者としてチーズを、後者としてチアミンを含むモデル反応系を用いた。

チーズは長期貯蔵により褐変する。この褐変はメイラード反応が要因と考えられるが、メイラード反応との関係について詳細な化学的検討はほとんどない。さらに、チーズにより褐変しやすいものとしにくいものがあるが、その違いの理由も解明されていない。そこで本研究の目的の一つを、このチーズの貯蔵褐変を化学的に調べ、メイラード反応との関係を明らかにすることとした。また、メイラード反応は糖、アミノ酸以外の物質が関与することが知られている。その一つに水溶性ビタミンとして知られるチアミンがある。チアミンは食品や生体内においてメイラード反応に関与していることを示す研究は多いが、メイラード反応生成物でチアミン由来の不揮発性、特に色素成分についての研究はほとんどない。そこで、チアミンを含むグルコース-リシン系メイラード反応モデル系において形成される色素を探索・単離・同定し、チアミン関与の着色機構を化学的に解析することにした。

まず、褐変しやすいチェダーチーズ (A) をヘキサン、酢酸エチル、エタノール、メタノールの順で抽出し、抽出液を 70°C で 3 日間貯蔵したところ、メタノール抽出液が最も強く褐変した。このメタノール抽出物から、貯蔵褐変に伴い消失する物質を ODS、陽イオン交換樹脂、シリカゲルクロマトグラフィーを用いて単離し、機器分析によりガラクトースと同定した。異なるブランドのチェダーチーズについて同様に分析をしたところ、チェダーチーズ (A) とは別の褐変しやすいチェダーチーズ (B) においては、ガラクトースではなくラクトースが検出された。あまり褐変しないチェダーチーズ (C) からほどちらの糖も検出されなかった。このことから、ガラクトースとラクトースがチーズ褐変の要因物質であることが示唆されたため、チーズにガラクトース、グルコース、ラクトースをそれぞれチーズに対して 0.1-1% になるように添加し、40°C で 0-10 日間貯蔵する試験を行った。その結果、ガラクトースを添加したチーズが最も褐変しやすく、ガラクトース量がチーズの褐変に大きく関与することが明らかとなった。ガラクトースはグルコースに比べ鎖状構造の存在割合が大きいいためチーズの褐変により寄与すると考えられた。各種市販チーズ (カマンベール 2 種、ゴーダ 2 種、モッツァレラ 2 種、プロセス 3 種) を 70°C で 3 日間貯蔵し、褐変と糖減少量の関係を調べたところ、 ΔL^* -値と糖減少量に相関がみられ ($R=-0.78$)、多くのチーズで糖がチーズの褐変に関与することが示唆された。これらの結果から、糖、特にガラクトースがチーズの褐変の律速要因であることが明らかとなった。

次に、グルコース (30 mM)、リシン塩酸塩 (30 mM)、チアミン塩酸塩 (3 mM) を 0.5 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解し、100°C で 6 h 加熱し、HPLC 分析により色素を探索した。その結果、チアミン、グルコース+チアミン、グルコース+リシン+チアミンの反応液から、390 nm 付近に極大吸収を持つ物質を検出し、標品からチアミン酸化物で黄色物質のチオクロームと同定した。また、グルコース+チアミンならびにグルコース+リシン+チアミンの反応液から、チアミン単体の加熱では形成されない 380 nm 付近に極大吸収を持つ物質 (TGL3) を検出したため、これの単離・同定を試みた。グルコース、リシン塩酸塩、チアミン塩酸塩をそれぞれ 30 mM になるように 0.5 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解し、120°C で 4 h 加熱した。この反応液 5 L を pH 8 に調整後、合成吸着剤 DIAION HP-20 に供し、水洗後、0.1% HCl で TGL3 を溶出させた。TGL3 を含むフラクションを pH 10 に調整後、EtOAc で抽出し、EtOAc 層を減圧濃縮した。得られた黄色のペーストをシリカゲルクロマトグラフィーに供し、EtOAc/MeOH (32:1, v/v) で TGL3 を溶出させた。TGL3 を含むフラクションを回収後、冷暗所で一晚保存し、淡黄色の細かな針状結晶 (ca. 30 mg) を得た。これを TLC, 元素分析、LC-MS, NMR 分析に供した。また、TGL3 を NaBH₄ で還元し、NMR 分析に供した。TLC の結果、ニンヒドリン試薬は陰性、ドラーゲンドルフ試薬は陽性であった。元素分析の結果、S は検出限界値以下であり、C:58.20%、H:6.14%、N:27.05%であった。LC-MS では *m/z* 205.1085 が観測され、分子式は C₁₀H₁₂N₄O (理論値: *m/z* 205.1087) と決定した。これらの結果、ならびに各種 NMR 分析より TGL3 を 1-(2-methyl-6,9-dihydro-5*H*-pyrimido[4,5-*e*][1,4]diazepin-7-yl)ethan-1-one と同定した。本化合物はピリミジン及びジアゼピン骨格を持つ新規黄色色素であった。チアミン分解物とメイラード反応により生成したテトロソン類縁体が縮合したものと考えられる。

本研究では、チーズの貯蔵褐変の律速要因がガラクトースであることを解明した。この結果は、チーズの加工、流通中の褐変の制御を可能にすることにつながると考えられる。また、チアミンを含むグルコース-リシン系メイラード反応モデル系において形成される淡黄色の新規色素化合物を同定した。これは、メイラード反応による色素形成という視点から基礎的知見を与えるものと考えられる。