

論文要旨

メイラード反応により生成する新規色素化合物の化学的解析

野田 響子

メイラード反応は、糖などのカルボニル化合物とアミノ酸やタンパク質などのアミノ化合物の成分間反応である。多くの食品は、糖とアミノ酸の両方を含むため、加熱による着色、香気の生成など、食品の品質や嗜好性に様々な影響を与える。

メイラード反応により生成する色素化合物は、高分子化合物のメラノイジンと、低分子色素化合物に大別できる。メラノイジンは、メイラード反応により生成する主要な色素として従来から知られているが、糖やその分解物とアミノ酸、タンパク質の複雑な重合物であるため、構造の解析には至っていない。一方、数分子の糖とアミノ酸から成る低分子色素化合物については、構造が解析され、報告されているものがいくつかある。低分子色素化合物はメラノイジンに比べ量は少ないが、色は全ての色素の加算として認識され、低分子化合物が架橋もしくは重合してメラノイジンや高分子化合物を生成するとも考えられているため、これらのような低分子色素化合物の構造を解析することは、メイラード反応による着色機構の解明の一助となると言える。本研究では、メイラード反応による着色反応のより詳細な化学的解析を目的とし、糖とアミノ酸のモデルメイラード反応液において生成する未知の色素化合物の探索、構造解析、各種検討を行った。

はじめに、メイラード反応による着色を抑制するため、色素化合物の報告が少ないシステイン由来の色素化合物を探索した。システイン・グルコース系、リシン・グルコース系、システイン・リシン・グルコース系のモデル反応液をフォトダイオードアレイ検出器 (DAD) 付きの HPLC 分析により比較したところ、システイン・グルコース系、システイン・リシン・グルコース系において、300 nm と 360 nm に 2 つの極大吸収を持つ未知のピーク(ピロロチアゾレートと命名)を確認した。ピロロチアゾレートはリシンを添加することでより多く生成したことから、メイラード反応の中間生成物とシステインが反応して生成したと考えられた。システイン・リシン・グルコース系反応液より、溶媒分画法、シリカゲルクロマトグラフィー、分取用 ODS-HPLC を用いてピロロチアゾレートを単離した後、NMR、質量分析、X 線結晶構造解析により構造解析を行った。その結果、絶対立体配置を含め、ピロロチアゾレートを (3*R*,7*aS*)-6-ヒドロキシ-5,7*a*-ジメチル-7-オキソ-2,3-ジヒドロピロロ[2,1-*b*]チアゾール-3-カルボン酸と決定した。この化合物はピロロチアゾール骨格を有する新規カルボン酸誘導体であった。次に、1-¹³C-グルコースを用いてピロロチアゾレートを生成したところ、2 つのメチル基にグルコースの 1 位の炭素が挿入された。このことから、ピロロチアゾレートはメイラード反応の中間生成物でありメチル基を持つ 1-デオキシグルコソン (1-DG) の誘導体から生成することが示唆され、生成経路を推測した。さらに、食品中にピロロチアゾレートを探索した結果、醤油、味噌、ビール中に 2-100 μg/ 100 mL or g 程度認められた。醸造 8 ヶ月後の醤油に生成が認められ、麦芽中には認められず、麦汁中に生成されたことから、ピロロチアゾレートは麴や酵母などの酵素により、タンパク質やデンプンがアミノ酸や糖に分解されてメイラード反応が起こることにより生成することが示された。

ピロロチアゾレートが 1-DG の誘導体とシステインの反応により生成すると考えられたことから、システインと同じく β 位にヘテロ原子を持つスレオニンやセリンを基質とすると、ピロロチアゾレートの硫黄原子が酸素原子に置き換わった化合物である、ピロロオキサゾレート類が生成する可能性が考えられた。そこで、スレオニン・グルコース系、セリン・グルコース系メイラード反応液を DAD-HPLC 分析したところ、それぞれの反応液において、ピロロチアゾレートと同様の UV-Vis 吸収スペクトルを示すピーク(それぞれピロロオキサゾレート A、B と命名)を確認した。それぞれ単離し、構造解析した結果、ピロロオキサゾレート A を、(2*R*,3*S*,7*aS*)-6-ヒドロキシ-2,5,7*a*-トリメチル-7-オキシ-2,3-ジヒドロピロロ[2,1-*b*]オキサゾール-3-カルボン酸、ピロロオキサゾレート B を、(3*S*,7*aS*)-6-ヒドロキシ-5,7*a*-ジメチル-7-オキシ-2,3-ジヒドロピロロ[2,1-*b*]オキサゾール-3-カルボン酸と決定した。これらの化合物はピロロオキサゾールの新規誘導体であった。

最後に、タンパク質と糖のメイラード反応を想定した探索も行った。本研究室において、リシン・キシロース系メイラード反応液より、黄色色素のジリジルジピロロン類を単離、構造決定した。ジリジルジピロロン類が持つ、ピロリルメチリデンピロロン骨格は、2 分子のリシンと、2 分子の糖の分解物により形成されている。ジピロロン類の中でも、ジピロロン B は、リシンの 2 分子とも ϵ -アミノ基が環の形成に寄与していることから、タンパク質のリシン残基と糖のメイラード反応によっても生成する可能性が考えられた。そこで、大豆タンパク質とキシロースのメイラード反応液を酸加水分解し、DAD-HPLC 分析によりジピロロン B の探索を行った。その結果、ジピロロン B は分解し認められなかったが、400 nm に極大吸収を示す未知の色素化合物(フルペンチアジネートと命名)を見出した。フルペンチアジネートは大豆タンパク質のみの酸加水分解液からは認められなかったことから、大豆タンパク質とキシロースのメイラード反応により生成したと考え、単離、構造解析を行った。フルペンチアジネートはシステインとフルフラールの酸性下におけるメイラード反応によっても生成し、システイン由来の部分構造とフラン環、イミンを持つ 2 つの構造式が考えられたが、構造決定には至らなかった。そこで、システイン・フルフラール系反応液より再度単離した後、NaBH₄ を用いて還元し、還元体の構造解析を行った。還元フルペンチアジネートの X 線結晶構造解析の結果、還元フルペンチアジネートの構造式を、7-(2-フラニル)-2,3,4,4*a*,5,6-ヘキサヒドロシクロペンタ[*b*][1,4]チアジン-4-イウム-3-カルボキシレートと決定し、フルペンチアジネートの構造式を 7-(2-フラニル)-2,3,5,6-テトラヒドロシクロペンタ[*b*][1,4]チアジン-3-カルボン酸と決定した。

本研究において、システイン、スレオニン、セリン、タンパク質を用いたモデルメイラード反応液より、新規色素化合物である、ピロロチアゾレート、ピロロオキサゾレート類、フルペンチアジネートを単離、構造決定した。ピロロチアゾレートについては、生成経路を推測し、食品中にも認められたため、モデルメイラード反応液と同様の反応が、食品中でも起こっていることが示された。食品中には様々なアミノ酸やタンパク質があり、様々なメイラード反応生成物が生成する。本研究により構造決定した化合物も、数あるメイラード反応生成物の 1 つであり、それらの加算を実際の色として認識している。本研究は、メイラード反応による着色反応や褐変現象機構の解明の一助となることが期待される。