

化合物 4 を得た。

## 2. glabridin の定量

精製したグラブリジンから 2, 1, 0.5, 0.25 mg/mL の濃度の溶液を調整して、各 20 mL を下記の条件の HPLC に付し、絶対検量線を作成した。またカンゾウ油性抽出液製品 1 mL を 3 mL MeOH に懸濁した液 5 mL を HPLC に付し、グラブリジン含有量を定量した。

### HPLC の条件

分析および定量：カラム：RP-18 (関東化学株式会社、4.6 × 250 mm)、移動相 (45% CH<sub>3</sub>CN/min)、検出器：紫外可視検出器 (島津、UV 254 nm)

単離：カラム：RP-18 Mightysil column (関東化学株式会社、25 × 250 mm)、検出器：紫外可視検出器 (日本分光、254 nm)

### NMR 測定

<sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR スペクトルは Bruker DPX-400 spectrometers を用い、Standard plus sequences and parameters は標準のものを使用した。

## C. 研究結果

### 1. 化合物 1-4 の構造決定

化合物1は黄色粉末として得られ、高分解能エレクトロスプレーイオン化質量分析 (HR-ESI-MS)により、 $m/z$  391.1909 [M+H]<sup>+</sup> の分子量関連イオンを与え、分子式を C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub> と決定した。また、<sup>1</sup>H-NMR を測定した結果、5.5-7 ppm 付近にオレフィン由来のシグナルが、2.0-4.5 ppm においては、5本のメチンもしくはメチレン由来のシグナルが、さらに1.5 ppm 付近に4本のメチル基由来のシグナルが観測された。一方、<sup>13</sup>C-NMR スペクトルにおいても、オレフィ

ン由来のシグナル(108.5-153.3 ppm)が、酸素原子が結合した2個の4級炭素のシグナル(76.8, 76.5 ppm)とメチレンのシグナル(71.4 ppm)が観測された。さらにH-6' (6.80 ppm)からC-1'' (33.2 ppm)に、H-3''' (6.66 ppm)からC-2' (153.3 ppm)に、H-5 (6.79 ppm)からC-9 (30.71 ppm)にHMBC 相関が観測されたため、化合物 1 の化学構造を hispaglabridin B と決定した (図 1)<sup>1)</sup>。化合物2は黄色粉末として得られ、HR-ESI-MSにより、 $m/z$  393.2066 [M+H]<sup>+</sup> の分子量関連イオンを与え、分子式を C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> と決定した。また、化合物2の<sup>1</sup>H-NMR と <sup>13</sup>C-NMR スペクトルは化合物1と類似したことから化合物2が化合物1に類似したイソフラボノイドであると推定した。さらにHMBC 相関が、H-2からC-1''に、H-1''' から C-4' とC-6'に、H-4'' から C-9 に観測されたため、化合物 2 を hispaglabridin A と決定した。<sup>1)</sup> 化合物3は、黄色粉末として得られ、HR-ESI-MSにより  $m/z$  325.1440 [M+H]<sup>+</sup> の分子量関連イオンを与え、分子式を C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub> と決定した。化合物3の 1D NMR スペクトルデータは、化合物 1 および 2 と類似しており、化合物3もイソフラボノイドであることが示唆された。HMBCスペクトルの確認および文献とのNMRスペクトルの比較の結果、化合物3のをglabridinと決定した。<sup>1)</sup> 化合物4は黄色粉末として得られ、HR-ESI-MSにより、 $m/z$  309.1127 [M+H]<sup>+</sup>の分子量関連イオンを与え、分子式を C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub> と決定した。化合物4の1D-NMRのスペクトルは、化合物1-3のシグナルパターンと類似しているが、2つのメチル由来シグナルを除き、オレフィン由来のシグナルしか観測されなかった。H-4 (6.87

ppm) から C-3 (104.2 ppm)、H-6 (7.59 ppm) から C-2 (152.8 ppm)、H-7 (7.32 ppm) から C-8 (156.1 ppm) と C-9 (123.8 ppm) にそれぞれ HMBC 相関が見られたことや文献との比較から化合物 4 を pyrano-2-arylbenzofurans の Kanzonol U と同定した。<sup>2)</sup>

## 2. glabridin の定量

主成分である glabridin の検量線を (40, 20, 10, 5, 2.5 mg) を作製し (図 2)、定量を行った結果、今回入手したカンゾウ油性抽出物製品には glabridin が 16.98 mg/mL (1.7%w/v) 含有されていることが明らかになった。

## D. 考察

カンゾウ油性抽出物製品の HPLC 分析の結果、glabridin が最も大きなピークとして検出された。したがって、今回、カンゾウ油性抽出物から単離された化合物の中で glabridin が主成分であることがわかった。また、今回同定した hispaglabridin A と kanzonol U は、単離報告としてはヨウカンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* L.) からの報告しか見出せなかったことから、今回の入手したカンゾウ油性抽出物製品がヨウカンゾウの油性抽出物であると推定した。カンゾウ油性抽出物の定義には、基原植物としてヨウカカンゾウの他にチョウカカンゾウおよびウラルカンゾウが記載されており、基原種が異なれば成分組成も異なると考えられることから、他種のカンゾウ、また他の製品についても、さらに成分組成を検討する必要があると考えられた。

## E. 結論

今回、カンゾウ油性抽出物製品の主成分として glabridin を同定した。Glabridin の抗酸化作用は報告されており<sup>3)</sup>、よって、カンゾウ油性抽出物が、酸化防止剤として用いることは妥当であると考えられる。しかし、基原植物によって主成分が異なり生物活性も異なると考えられることから、カンゾウ油性抽出物については、基原植物として当てられているチョウカカンゾウおよびウラルカンゾウの成分組成についても検討する必要があると考えられた。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

## H. 参考文献

1. T. Kinoshita, K. Kajiyama, Y. Hiraga, K. Takahashi, Y. Tamura, and K. Mizutani, Isoflavan derivatives from *Glycyrrhiza glabra* (LICORICE), *Heterocycles*, (1996), 43(3), 581-588.
2. F. Toshio, S. Cai-Bao, H. Tukasa, N. Taro. Isoprenylated flavonoids from underground parts of *Glycyrrhiza glabra*. *Phytochemistry*, (1996), 43(5), 1119-1124.
3. Aviram, Michael. Macrophage enrichment with the licorice root isoflavan glabridin inhibits NADPH-oxidase activation of cell signaling and attenuates cell-mediated oxidation of LDL and atherosclerosis. *Free Radical Research* (2002), 36(Suppl. 1), 49-51.

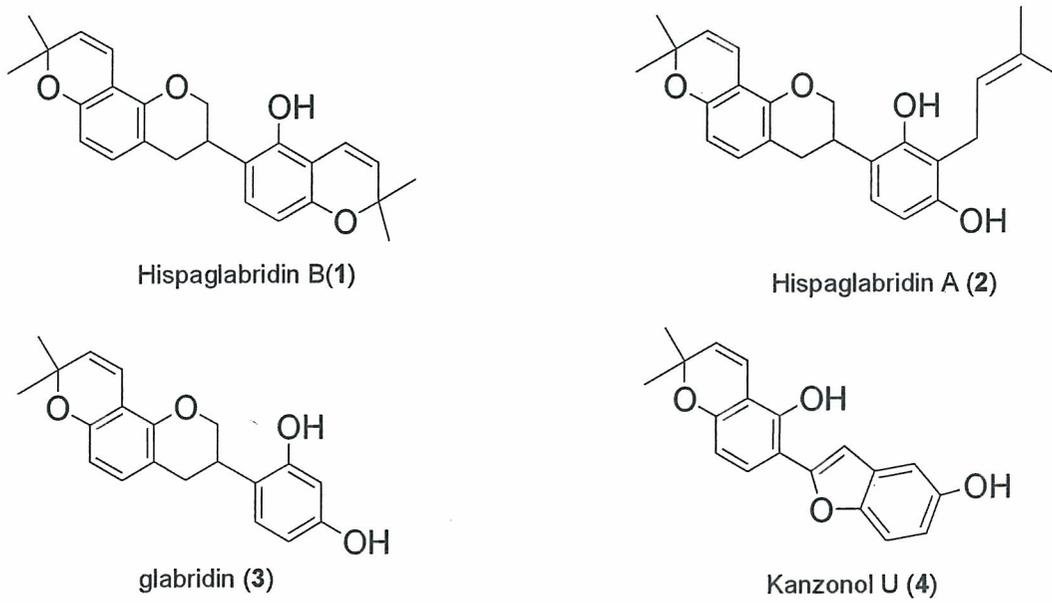


図 1. カンゾウ油性抽出物から単離された化合物

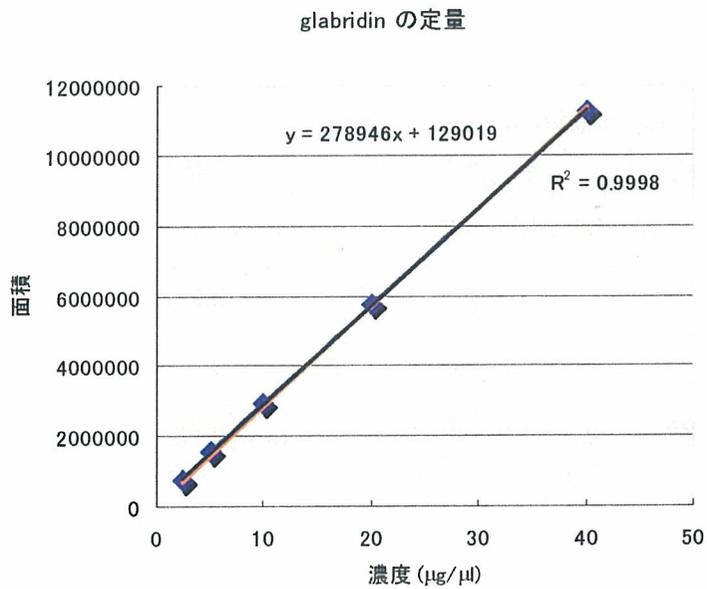


図 2. Glabridin の検量線

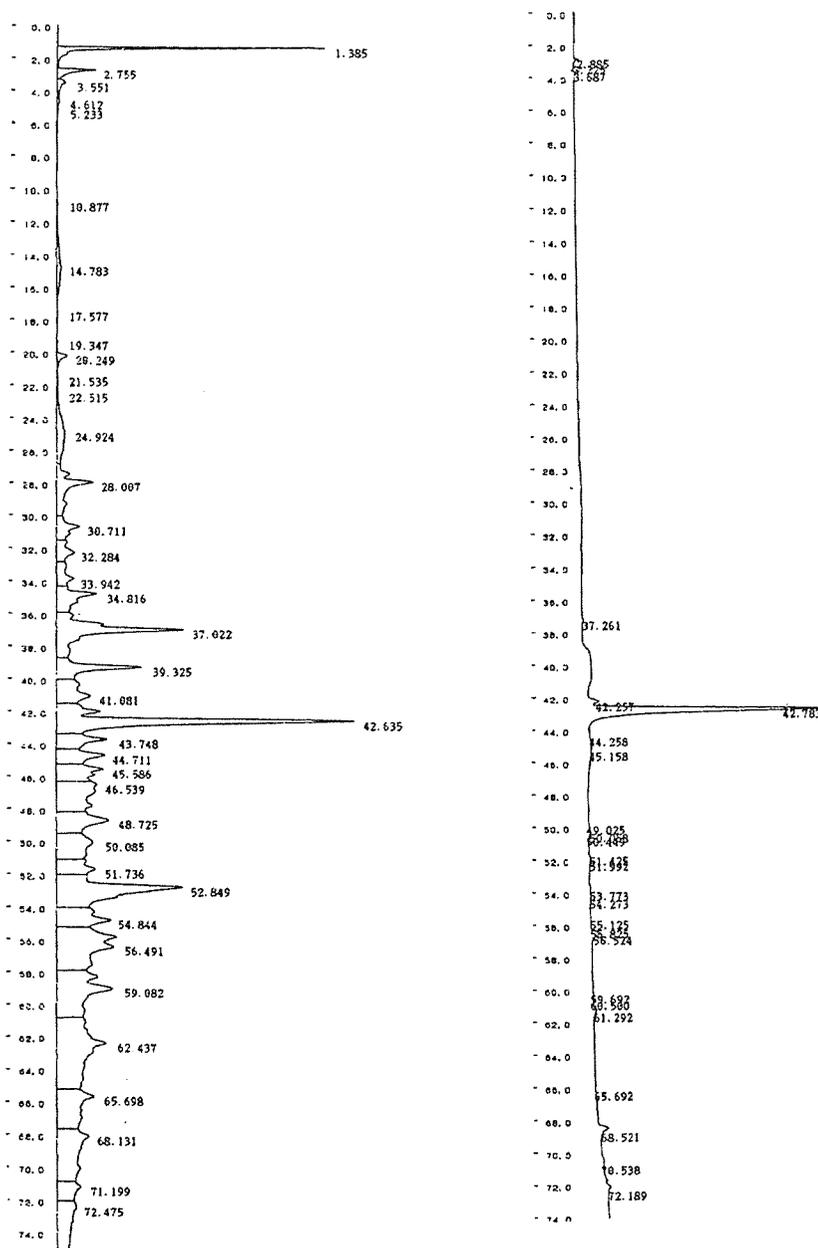


図3. カンゾウ油性抽出物の HPLC クロマトグラム.

(左) : カンゾウ油性抽出物、 (右) glabridin

カラム : RP-18 (関東化学株式会社、4.6 × 250 mm)、移動相 (20-90 % CH<sub>3</sub>CN/70 min.)、

検出器 : 紫外可視検出器 (島津、254 nm)

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

分担研究課題: 既存添加物「ユーカリ葉抽出物」の成分に関する研究

協力研究者: 大槻 崇 千葉大学大学院薬学研究院

#### 研究要旨

「ユーカリ葉抽出物」規格作成に関する基礎的研究を行い、同製品より作製した MeOH 抽出物の HPLC 分析より Gallic acid, Quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucuronide, Kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucuronide が主成分であり、有効成分とされる $\beta$ -ジクェトン類の存在量は小さいことが判明した。

#### A. 研究目的

「ユーカリ葉抽出物」は、既存添加物名簿収載品目リスト<sup>1)</sup>に、「フトモモ科ユーカリ (*Eucalyptus globulus* LABILL)の葉より、水蒸気蒸留して得られたもの、又はエタノールで抽出して得られたものである。有効成分は $\beta$ -ジクェトン類である。」と記載されている(既存添加物名簿番号、456)。基原植物であるユーカリノキ (*Eucalyptus globulus* Labill., 英名: Tasmanian Blue Gum)はオーストラリア原産で、世界各地の温暖な地域で栽培される常緑高木である。薬効としては、葉の成分が抗菌作用、駆虫作用、去痰作用が示される他に、関節痛、陽炎、火傷、湿疹などに対する抗炎症作用も認められている<sup>2)</sup>。食品添加物としての用途は、油脂系食品への酸化防止剤と考えられる。主成分と考えられるエラグ酸は、「ユーカリ葉抽出物」と別途に食品添加物として登録され(既存添加物名簿番号、56)、果実などの天然食品中に常在成分として含有されている。本研究では、公的な成分規格のない既存添加物「ユーカリ葉抽出物」の規格作成に関する基礎的検討を行うため、市販「ユーカリ葉抽出物」製品を入手し、こ

れまでの検討<sup>3, 4, 5)</sup>に引き続き、主成分に関する研究を行ったので報告する。

#### B. 研究方法

試料及び試薬 市販「ユーカリ葉抽出物」1製品は日本食品添加物協会より入手した。メタノールは、和光純薬製の HPLC 用を使用した。その他の試薬は、全て試薬特級品を用いた。また、分析試料の内、ヘキサン可溶部は、昨年度成分研究を行ったものと同等の試料すなわち「ユーカリ葉抽出物」粉末 100 g のヘキサン、酢酸エチル、ブタノールによる溶媒分画、濃縮乾固により得られたヘキサン可溶部 (0.57 g) を用いた。また、Gallic acid, Quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucuronide, Kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucuronide, Globuloside は、一昨年度本抽出物酢酸エチル可溶部並びにブタノール可溶部より単離されたものを標準品として用いた。<sup>3,4)</sup> なお、本研究において、動物由来試料を用いた実験は行わず、倫理面で大きな支障となる問題は無いと考えられる。

装置及び測定条件 HPLC は Waters 社製 HPLC システム (Delta600 システム, フォトダイ

オードアレイ検出器:2996 検出器) を用いた。カラムは SHISEIDO 社製 CAPCELL PAK C18 ACR (4.6 x 250 mm)を用い, カラム温度 30°C, 検出波長 275 nm, 流速 1.0 mL/min, 溶離液 A (5%酢酸) 溶離液 B (メタノール)の混合溶媒を用い, グラジエント条件は 0-30 min, 5-50%溶離液 B (95-50%溶離液 A ) 直線グラジエント; 30-35 min, 50-85%溶離液 B (50-15%溶離液 A ) 直線グラジエント; 35-40 min, 85-90%溶離液 B (15-10%溶離液 A ) 直線グラジエント; 40-50 min, 90-100%溶離液 B (10-0%溶離液 A ) 直線グラジエント; 50-70 min, 100%溶離液 B で分析を行った。<sup>4)</sup>

### C. 研究結果

「ユーカリ葉抽出物」MeOH 抽出物を HPLC に供したところ, 図 1 に示すクロマトグラムが得られ 3 本(1-3)が主ピークであることが確認された(図 1)。これらの成分を明らかにするため, これまでに本抽出物への含有が報告されている Gallic acid, Quercetin 3-O-β-D-glucuronide, Kaempferol 3-O-β-D-glucuronide, Globuluside を用いて同条件で HPLC 分析を行った。その結果, 各ピークの保持時間及び UV スペクトルとの比較より1をGallic acid ( $t_R$  7.3 min), 2 を Quercetin 3-O-β-D-glucuronide ( $t_R$  35.4 min), 3 を Kaempferol 3-O-β-D-glucuronide ( $t_R$  39.1 min)とそれぞれ同定した。なお, 4 は標品との比較より Globuluside ( $t_R$  45.3 min)と同定した。また, 「ユーカリ葉抽出物」中のβ-ジケトン類と金属イオンとのキレート形成による影響を検討するため, 本抽出物を室温下で20分間TFA処理をしたものを同 HPLC 条件にて分析を行った。その結果, 処理前と比較しクロマトグラムに大きな違いは認められず, キレート形成の影響はな

いことが判明した(図 1)。

### D. 考察

「ユーカリ葉抽出物」は, 既存添加物収載品目リストに酸化防止剤として, 「フトモモ科ユーカリ(*Eucalyptus globulus* LABILL)の葉より, 水蒸気蒸留して得られたもの, 又はエタノールで抽出して得られたものである。有効成分はβ-ジケトン類である。」と記載されている。また, これまでの同植物中の二次代謝物の研究においては, 没食子酸, エラグ酸, macrocarpal 類の存在が報告されている<sup>6-10)</sup>。また, 一昨年度及び昨年度の報告<sup>3, 4, 5)</sup>では「ユーカリ葉抽出物」の成分研究より, ヘキサン可溶部よりテルペン類 4 種を, ブタノール可溶部及び含水メタノール可溶部よりフラボノイド配糖体など5種の化合物が単離されている。本研究では, 本抽出物の主成分を明らかにするとともに, 有効成分とされているβ-ジケトン類の含有の有無について明らかにするため HPLC による検討を行った。なお, 有効成分は抗酸化剤として共役二重結合を有する可能性が高いことから検出波長を 275 nm に設定した。設定した検出波長における分析の結果, 本抽出物の主成分は Gallic acid, Quercetin 3-O-β-D-glucuronide, Kaempferol 3-O-β-D-glucuronide であることが判明した。これは既報<sup>4)</sup>と同様の結果であった。

また, 本抽出物中のβ-ジケトン類の有無及びその含有量については, 昨年度の検討においてβ-ジケトン類の含有が示唆されたヘキサン可溶部の主成分が, RI 検出による HPLC 分析及び単離した化合物の収量より Cryptmeridiol であることを明らかにした。また, β-ジケトン類を特異的に発色する Fast Blue B 試薬を用いた TLC 分析において, ヘキサン可溶部へのβ-ジケトン

類の存在は示唆されたものの、その含有量は低いことを明らかにした。今回の検討において、Fig.1 に示す MeOH 抽出物の HPLC 分析より、 $\beta$ -ジケトン類が溶出すると考えられる Globulaside 以降の成分は少量であることが確認された。以上の結果を考え合わせると、本抽出物中に $\beta$ -ジケトン類が少量存在することは否定できないものの、その含有量は極めて低いことが示唆された。なお、昨年度ヘキサソル可溶部より単離した Cryptmeridiol を含む 4 種のテルペン類はその UV 吸収が弱いことから、今回の検討で用いた HPLC 条件では本製品中の含有量についての分析は困難である。これらの正確な定性、定量には、LC/MS または蒸発光散乱検出器等を用いることで解決可能と考えられる。

平成 15 年度より開始した「ユーカリ葉抽出物」に含まれる成分研究より、Gallic acid, Quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucuronide, Kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucuronide が本製品の主成分であること、macrocarpal 類、セスキテルペン類等が含有されることが明らかとなった。また、これまで本製品の有効成分とされている $\beta$ -ジケトン類の含有量は極めて小さいこと、同植物の二次代謝産物研究において単離報告例のあるエラグ酸が主化合物に含まれないことなど、本製品中の含有成分の詳細を明らかにすることができた。

以上の検討結果を考慮すると、既存添加物収載品目リストの記載事項をより正確にするため、一部改訂する必要があると考えられた。酸化防止剤としての食品添加物の用途を踏まえると、これまでの研究で同定された化合物群特に主化合物のフラボノール配糖体を中心にその抗酸化能を明らかにし、同食品添加物中の活性

本体を解明することが今後の検討課題であると考える。

#### E. 結論

「ユーカリ葉抽出物」規格作成に関する基礎的研究を行い、同製品の主成分は Gallic acid, Quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucuronide, Kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucuronide であることを明らかにした。また、本抽出物中の $\beta$ -ジケトン類の含有量は極めて低いことが示唆された。

#### F. 健康危機情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

#### 参考文献

- 1) 厚生省生活衛生局長通知書“別添 1 既存添加物名簿収載品目リスト”(平成 8 年 5 月 23 日)。衛化第 56 号(1996)
- 2) 和田浩志編集, “原色 牧野和漢薬草大図鑑”, 北陸館, 2002, p329

- 3) 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全性高度化推進事業 既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究 平成 16 年度総括・分担研究報告書, p104-112
- 4) 酒井信夫, 戸井田敏彦, 川原信夫, 合田幸広, 日本食品化学学会誌 **2005**, *12*, 135-139
- 5) 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進事業 既存添加物の成分と品質評価に関する研究 平成 17 年度総括・分担研究報告書, p59-69
- 6) Ando M.; Arai K.; Kikuchi K.; Isogai K. *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 1189-1199
- 7) Hao H.; Han-Dong S.; Shou-Xun Z. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1665-1666
- 8) Dieter R.K.; Kinnel R.; Meinwald J.; Eisner T. *Tetrahedron lett.* **1979**, *19*, 1645-1648
- 9) Adinarayana D.; Syamasundar K.V. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1083-1085
- 10) Amakura Y.; Umino, Y.; Tsuji S.; Ito H.; Hatano T.; Yoshida T.; Tonogai Y. *Food Chemistry* **2002**, *77*, 47-56

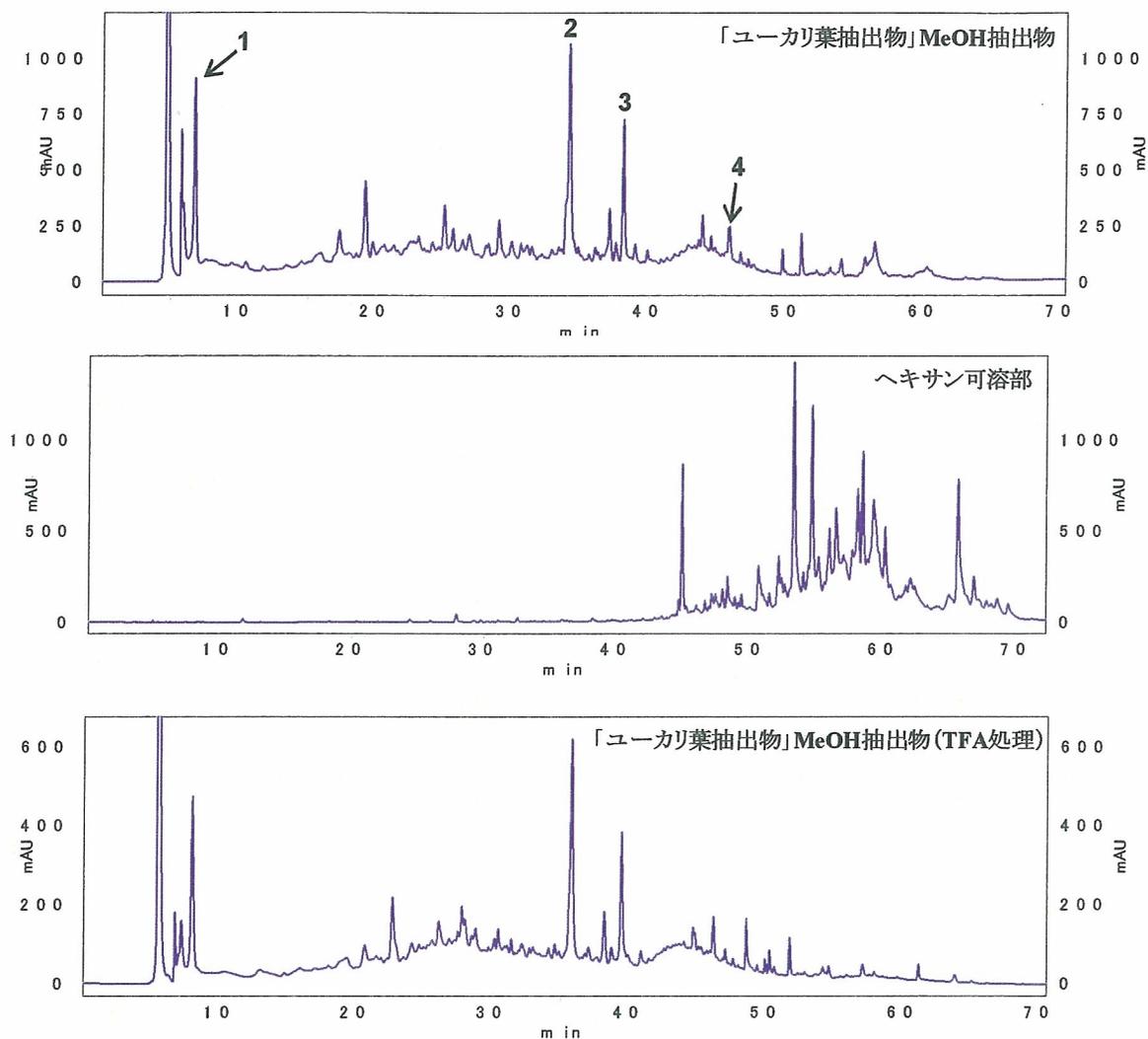


図1 「ユーカリ葉抽出物」 MeOH抽出物，ヘキサン可溶部，並びに「ユーカリ葉抽出物」 MeOH抽出物 (TFA処理) の HPLC分析

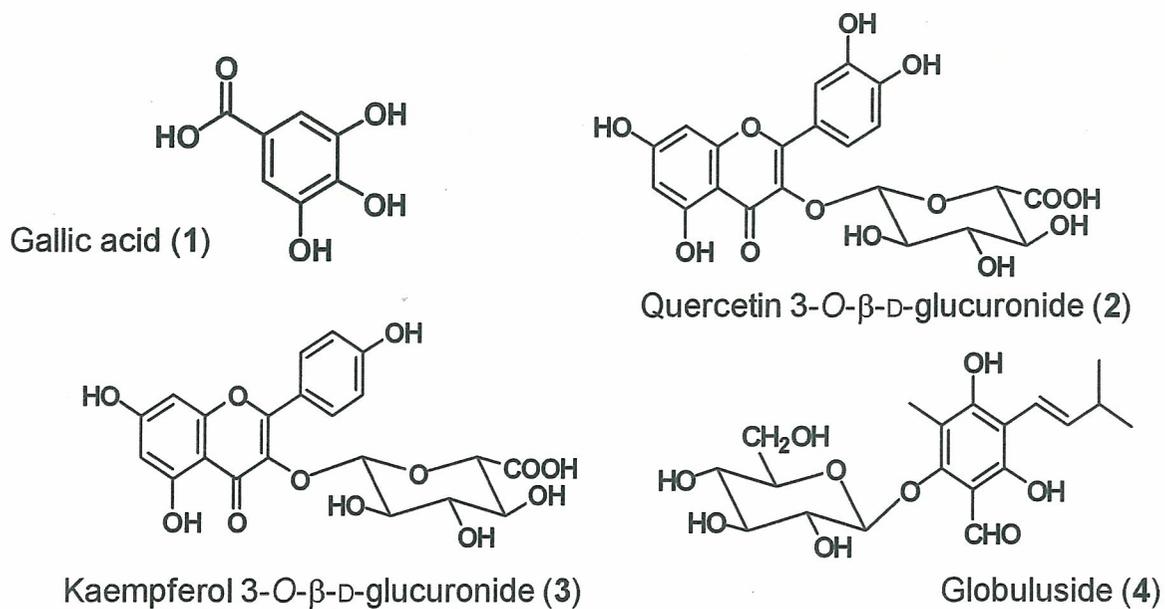


図2 「ユーカリ葉抽出物」の主成分

### 3. 苦味料の品質評価法に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

平成 18 年度分担研究報告書

天然由来苦味料の評価法に関する研究

分担研究者 多田敦子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 主任研究官  
協力研究者 杉本直樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 主任研究官  
協力研究者 小林義和 株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー  
協力研究者 濱田ひかり 株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー

研究要旨 天然由来の苦味料中の苦味関与成分の検索に有効な評価法を見出すため、種々の苦味モデル化合物及び既存添加物苦味料を用い、味認識装置（味覚センサー）による味の数値化・質の解析の可能性について検討した。昨年度は、味認識装置による各種苦味化合物の検知の可能性について主に検討した。今年度は、味の質の解析の可能性について検討した。その結果、苦味化合物の化学構造により、味センサーの応答パターンが異なることが分かった。従って、成分が未解明な苦味料の味パターンを調べることで、含有される苦味成分の化学構造をある程度推測できるものと考えられた。食品添加物苦味料ナリンジン、イソアルファー苦味酸は、特徴的な味パターンを示した。カフェインは応答強度が低かったものの、市販試薬と既存添加物製品とで同一の味パターンを示した。食品添加物ジャマイカカシヤ抽出物の味パターンはキノリンアルカロイド系苦味化合物のパターンに類似しており、主成分であるクアシン（トリテルペン）以外にもキノリンアルカロイド系苦味物質を含有することが示唆された。

A. 研究目的

既存添加物名簿収載品目リスト<sup>1)</sup>に記載されている天然由来の苦味料は、殆どが植物の水またはアルコールによる抽出物であり、多種化合物の複雑な混合物である場合が多く、成分組成および主要な苦味成分が明らかでないものも多い。そのため、現時点で食品添加物公定書<sup>2)</sup>に記載されている苦味料は無く、第八版食品添加物公定書への記載が予定されているナリンジンを除いては、いずれも国の成分規格が未設定であり、一部の品目が日本食品添加物協会の第三版自主規格<sup>3)</sup>に記載されているに過ぎない。

い。今後、公的な成分規格を作成するには、添加物としての有効成分を把握しておく必要があるが、苦味成分の解明には、苦味の質や強度を客観的に評価することが課題となる。そこで本研究では、近年様々な分野で利用されている味認識装置（味覚センサー）による味の数値化・質の解析の可能性について検討することを目的として行った。

昨年度は、種々の苦味モデル化合物及び既存添加物苦味料を用い、味覚センサーによる苦味の数値化の可能性、濃度依存性などの基礎的分析方法の検討を行った。その結果、カフェインやテルペノイド系苦味化

化合物の一部では応答が低いものの、他の多くの苦味化合物や既存添加物試料では、味認識装置に明瞭な応答を示し、味の数値化が可能であることを示した。

今年度は、各種苦味化合物および既存添加物苦味料の測定値を基に、味覚センサーによる味の質の解析の可能性について検討し、評価方法を模索した。

## B. 研究方法

### 1. 試料

表 1 に、測定に用いた呈味物質を示した。昨年度用いた試料（苦味、甘味、渋味の各種市販特級品）に加え、ナリンジンの比較としてアグリコンであるナリンゲニンを追加した。また、日本食品添加物協会を通じて入手した以下の各種既存添加物苦味料を測定に用いた。イソ $\alpha$ 苦味酸、カフェイン、ジャマイカカシヤ抽出物、ナリンジン(A)、ナリンジン(B)、レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物、ニガヨモギ抽出物、ヒキオコシ抽出物。

### 2. 装置

味覚センサー：味認識装置 SA402B（株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー(Insent)）

この装置は、マルチチャネル型脂質膜センサーにより、味を認識する。各センサーの応答特性を表 2 に示した。

### 3. 測定用試料液の調製

各試料は 10 mM 塩化カリウムを用い、4 点～7 点の濃度で調製し、測定に用いた。また、コントロール用標準液として、10 mM 塩化カリウムを用いた。4. 測定値の算出方法

試料を測定する前に標準液について測定し、その測定値を  $V_r$  (mV) で表す。次に、

試料溶液に脂質膜センサープローブを浸した時の測定値を  $V_s$ 、試料測定後、再び測定した標準液の測定値を  $V_r'$  とする。結果として、標準液と試料溶液の測定値の差 ( $V_s - V_r$ ) が脂質膜センサーの出力となり、これを「相対値」として算出した。また、試料測定の前と後での標準液の測定値の変化 ( $V_r' - V_r$ ) は脂質膜に呈味物質が吸着したことに由来するいわゆる「後味」と考えられ、この値は「CPA (Change of membrane Potential caused by Adsorption) 値」と定義されており、この値も評価に用いた<sup>4,5)</sup>。

### 5. レーダーグラフによる味パターンの評価

各試料につき、味認識装置の応答が十分に得られた濃度の「相対値」および「CPA 値」を用いて、10 種の「味覚項目」につき各味の強度値を算出した。ただし、カフェインとアンドログラフォリドは味認識装置の応答が極めて低かったため、試験した最高濃度の値を用いた。ウェーバーの法則<sup>4,5)</sup>によれば、人間は濃度差約 20% で味の識別が可能と言われている。各味覚項目の値は、濃度差 20% で生じるセンサー出力値の変化を 1 目盛として示した味強度を示す値である。

Fig. 1 は、味の基準となる呈味物質 6 種を味認識装置で測定し、各物質ごとに、味の特徴的な方向性を示す味覚項目 10 項目（1～10 は、それぞれおよそ酸味、苦味雑味、渋味刺激、塩基性苦味 1、塩基性苦味 2、酸性苦味、渋味、旨味、塩味、旨味コクを示す）についての各強度値を算出し、レーダーグラフに示した図である。実際には、(株)インテリジェントセンサーテクノロジーにおいて、味覚項目 10 項目それぞれに対し、官能検査結果と対応した味強度の値が算出できるよう、6 種の味基準物質

の「相対値」および「CPA 値」を用いた計算式を定義づけしている。尚、マイナスの値は、センサーの閾値が低いために得られる値であり、ヒトでは無感覚であると考えられる領域である<sup>6,7)</sup>。

本研究で測定した各試料の推定値は、基準味物質の値から定義された計算式により算出した。計算に用いた各試料の測定濃度を表3に記載した。

今回は、各試料相互の味パターンの比較を容易にするため、さらに味覚項目10項目の内最も高かった値を100%とし、他の指標項目の値を%換算してレーダーグラフに示した。

## 5. 主成分分析

主成分分析は、多次元のデータを、情報の損失をできるだけ少なくして数次元のデータに圧縮する多変量解析の一種である。今回の分析では、あくまで各試料の味パターンを比較したかったため、先の項で説明した各味覚項目の%換算値、計10種類の情報、即ち10変数を説明変数として、主成分分析を行った。元の情報を最も多く有している合成変数が「第1主成分PC1」であり、1つの主成分が元の全変数の情報の何割を説明できるかということを表す指標が「寄与率」である。また、第1主成分から第m主成分までの寄与率の合計を「累積寄与率」と言い、100%から累積寄与率を引くことで、情報の損失の程度を知ることが出来る。

## C. 結果及び考察

### 1. 各種呈味化合物および既存添加物苦味料の味パターンの比較

Fig. 2~4 に、各種呈味化合物および既存添加物苦味料の味覚項目値(%換算値)のレーダーグラフを示した。苦味料として使

用されている添加物には、実際には苦味というより、酸味や渋味を強く感じるものもある。そのため今回の解析では、味覚項目の各味の定義(Fig. 1の括弧内の記載)に捉われず、1~10の味覚項目が、それぞれ味の異なるベクトル(方向性)を示すものと捉え、レーダーで示した際の全体のパターンの違いに重点をおいて解析した。その結果、苦味化合物の化学構造により、味センサーの応答パターンが異なり、大きくI~Vの5種のパターンに分けられることが明らかとなった。

パターンI (Fig. 2-I)は味覚項目1, 4, 5で高い値を示すパターンであり、キノリンアルカロイドの典型的なパターンである。既存添加物苦味料では、ジャマイカカссия抽出物、レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物がこのパターンを示した。レイシ抽出物やヒメマツタケ抽出物の苦味成分については、未だ未解明の部分が多いが、今回の結果から、苦味成分の一つとしてキノリンアルカロイド系苦味物質を含有するものと示唆された。また、ジャマイカカссия抽出物では、主有効成分とされるクアシンとは異なるパターンを示したことから、クアシン(トリテルペン)以外にも、キノリンアルカロイド系苦味物質を含有する可能性が示された。

パターンIIおよびIII (Fig. 2-II, III)は、味覚項目2, 3, 6で高い値を示す点は共通であるが、続いてIIでは8, 9のみで高い値を示したのに対し、IIIでは10でも高い値を示し、化学構造タイプも異なるため、別のパターンに分類した。IIはイソ $\alpha$ 酸のパターンであり、既存添加物イソ $\alpha$ 苦味酸のパターンも試薬のそれと非常によく一致した。味覚項目8, 9で認められた若干の

違いは、イソ $\alpha$ 酸が同種化合物の混合物であり、その詳細な組成が試薬と添加物製品とで異なるためではないかと考えられた。Ⅲ (Fig. 2-Ⅲ) はプリンアルカロイド系苦味物質のカフェインとテオブロミンであり、両者は味覚項目 8 の強度が少し異なっていたが、全体の傾向は類似していた。既存添加物カフェインは試薬のパターンと非常によく一致した。

パターンⅣ (Fig. 3-Ⅳ) は、味覚項目 1, 6 に次いで 3, 4 で値が高く、テルペノイド系苦味物質の特徴的パターンであった。特にリモニンとノミリンのパターンはよく合致した。既存添加物ではヒキオコシ抽出物とニガヨモギ抽出物がこのパターンに類似した。また、テルペノイド系甘味物質もこのパターンに類似していた。これは、甘味物質においても若干の苦味を呈することを反映している可能性や、本研究で用いたセンサーのみではこれらの差異が検出できず、今回は使用しなかった甘味センサー等を用いることで区別できる可能性も考えられた。パターンⅤ (Fig. 3-Ⅴ) は、ナリンジンの特徴的なパターンであり、味覚項目 8 で突出していた。既存添加物ナリンジン 2 製品は、試薬のパターンと非常によく一致した。ナリンジンのアグリコンで苦味のないナリンゲニンも参考のため測定し同じレーダーに示したが、全く異なるパターンであった。また、ナリンジン以外にも味覚項目 8 で突出したパターンを示した苦味化合物がいくつか認められた。また、パターンⅠ～Ⅴのいずれにも当てはまらなかった物質は、Fig. 4 に「その他」として示した。

## 2. 主成分分析の結果

苦味物質、渋味物質および各種既存添加物試料の味覚項目値 (%換算値) を用いて

主成分分析を行い、Fig. 5, 6 に示した。その結果、主成分分析により、結果 1. に記載したような各種物質の味パターン相互の類似傾向を、同一の図の中で捉えられることが示された。

昨年度の研究で、本研究で用いた味認識装置は極性の低い化合物は溶かし難く、検出されにくいことなどが挙げられたが、今回、昨年応答強度が弱かったゲンチオピクロシドおよびクアシンも、測定濃度を高くすることで、検出可能となることを確認した。従って弱いなりにセンサーのレスポンスが得られ、味パターンの識別には有用であった。

味認識装置による測定結果を、官能検査に基づいた計算式により、味の特徴を示す 10 の味覚項目値へと変換することで、味の傾向が分かり易くなり、また試験ごとに標準液や基準味物質の応答強度を考慮して値を算出するため、試験によるバラツキの少ない値が得られた。また、味覚項目 10 項目の値をレーダーに示すことで、各物質の味パターンを再現性よく明確に捉えられ、成分が未解明な苦味料の味パターンを調べることで、含有される苦味成分の化学構造をある程度推測できることが示された。さらに、明確に数値化できるため、同じパターンを示す物質同士での味強度の比較が容易となった。今回、カフェイン、テルペノイド系苦味化合物のセンサー応答が弱かったものの、味のパターンは他の苦味物質とは異なり特徴が見られた。従ってこれら化合物も、センサーによるより強い応答が得られ、これらの特徴をより上手く捉え、かつ官能検査に合致するような味覚項目を新たに設定できれば、異なるタイプの苦味物質間でも相互の味強度比較が可能になり、

種々のタイプの苦味混合物の総合的な味の評価も可能となるものと考えられた。

#### D. 結論

天然由来の苦味料中の苦味関与成分の検索に有効な評価法を見出すため、種々の苦味モデル化合物及び既存添加物苦味料を用い、味認識装置（味覚センサー）による味の数値化・質の解析の可能性について検討した。昨年度は、味認識装置による各種苦味化合物の検知の可能性について主に検討した。今年度は、味の質の解析の可能性について検討した。その結果、苦味化合物の化学構造により、味センサーの応答パターンが異なることが分かった。従って、成分が未解明な苦味料の味パターンを調べることで、含有される苦味成分の化学構造をある程度推測できるものと考えられた。食品添加物苦味料ナリンジン、イソアルファー苦味酸は、特徴的な味パターンを示した。カフェインは応答強度が低かったものの、市販試薬と既存添加物製品とで同一の味パターンを示した。食品添加物ジャマイカカッシア抽出物の味パターンはキノリンアルカロイド系苦味化合物のパターンに類似しており、主成分であるクアシン（トリテルペン）以外にもキノリンアルカロイド系苦味物質を含有することが示唆された。今後更に、既存添加物苦味料の研究における味覚センサーの有用性について検討したいと考えている。

#### E. 参考文献

1. 厚生省生活衛生局長通知“別添1 既存添加物名簿収載品目リスト”(平成8年5月23日). 衛化第56号(1996)
2. 第7版食品添加物公定書, 日本食品添加

物協会, 1999.

3. 第三版既存添加物自主規格, 日本食品添加物協会, 2002.
4. 内田享弘, 第2回医薬品添加剤セミナー, 2003.
5. 新版 官能検査ハンドブック, 日科技連官能検査委員会, 1987.
6. 安食菜穂子, 川原信夫, 合田幸広, 味認識装置による漢方書報の味の評価に関する研究(第1報), *Natural Medicines*, 59, 164-170, 2005.
7. 安食菜穂子, 鈴木あゆみ, 川原信夫, 合田幸広, 味認識装置による漢方書報の味の評価に関する研究(第2報), *Natural Medicines*, 60, 21-27, 2006.
8. 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎壮, 棚元憲一, 天然苦味料ジャマイカカッシア抽出物の成分分析, *食衛誌(J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 44, 328-331, 2003.

#### F. 研究発表

学会発表

1. 多田敦子, 杉本直樹, 濱田ひかり, 小林義和, 山崎 壮, 棚元憲一: 味認識装置による食品添加物苦味料および関連苦味化合物の測定. 日本薬学会第127年会(2007.3, 富山)

論文発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 測定に用いた呈味物質 (試薬)

No.	試薬	化合物分類
苦味物質		
B 1	キニジン (Quinine)	キノリンアルカロイド
B 2	キニジン塩酸塩一水和物 (Quinine hydrochloride monohydrate)	キノリンアルカロイド
B 3	キニジン硫酸塩二水和物 (Quininesulfate dihydrate)	キノリンアルカロイド
B 4	キニン (Quinine, anhydrous, 99%)	キノリンアルカロイド
B 5	キニーネ塩酸塩二水和物 (Quinine hydrochloride dihydrate, 一級)	キノリンアルカロイド
B 6	シンコニン (Cinchonine)	キノリンアルカロイド
B 7	シンコニン硫酸塩二水和物 (Cinchonine sulfate dihydrate)	キノリンアルカロイド
B 8	ベルベリン塩酸塩二水和物 (Berberine chloride dihydrate, 99%)	イソキノリンアルカロイド
B 9	カフェイン (Caffeine, 99.7%)	プリンアルカロイド
B10	カフェイン一水和物 (Caffeine monohydrate)	プリンアルカロイド
B11	テオブロミン (Theobromine, 特級)	プリンアルカロイド
B12	5'-デオキシ-5'-メチルチオアデノシン (5'-Deoxy-5'-methylthioadenosine, HPLC100%)	プリン配糖体
B13	ナリンギン水和物 (Naringin hydrate, 98%以上)	フラバノン配糖体
B14	イソ $\alpha$ 苦味酸 (Iso- $\alpha$ -bitter acid)	フロログルシン誘導体
B15	ゲンチオピクロシド標準品 (Gentiopicroside standard, 生薬試験用)	モノテルペン配糖体
B16	スウェルチアマリン標準品 (Swertiamarin standard, HPLC 99.0%以上)	モノテルペン配糖体, センブリ中の苦味成分
B17	アンドログラフォリド (Andrographolide, センシンレン <i>Andrographis paniculata</i> から単離)	ジテルペン
B18	エンメイン (Enmein, 99%以上)	ジテルペン
B19	リモニン (Limonin, グレープフルーツ由来生化学用, HPLC 98.0%以上)	トリテルペン
B20	ノミリン (Nomilin)	トリテルペン
B21	クアシン (Quassin)	トリテルペン
B22	安息香酸ナトリウム (Sodium benzoate, 98.0%以上)	ベンゼン誘導体
B23	N-フェニルチオ尿素 (N-Phenylthiourea, フェニルチオカルバミド)	ベンゼン誘導体
B24	ナリンゲニン (Naringenin)	ナリンギンのアグリコン
渋味物質		
A 1	タンニン	タンニン
A 2	エラグ酸二水和物 (生化学用, 99.0%)	タンニン中成分
A 3	没食子酸 (Gallic acid, 98%)	タンニン中成分
甘味物質		
S 1	グリチルリチン (Glycyrrhizin, 生薬試験用, HPLC 98.0%以上)	トリテルペン配糖体, カンゾウ中の甘味成分
S 2	グリチルリチン酸アンモニウム塩 (Glycyrrhizic acid ammonium salt, HPLC Aprox75%)	トリテルペン
S 3	グリチルリチン酸二カリウム (Glycyrrhizic acid dipotassium salt, 生化学用)	トリテルペン
S 4	ステビオシド標準品 (Stevioside standard)	ジテルペン配糖体, ステビア中の甘味成分, 苦味ももつ
S 5	レバウジオシド A 標準品 (Rebaudioside A Standard, ステビオシド定量用, 乾燥後 99.0%以上)	ジテルペン配糖体, ステビア中の甘味成分, 苦味ももつ
S 6	サッカリン (Saccharin, $\alpha$ -スルホベンズイミド)	ベンズイミド, 人工甘味料, 苦味ももつ

表 2 各センサーの応答特性

センサー	相対値	CPA 値
AC0	酒石酸, クエン酸等の有機酸 その他に苦味物質に応答	Ca, Mg 系の苦味
AN0	酒石酸, クエン酸等の有機酸 その他に苦味物質に応答	塩酸キニーネ等の塩基性苦味 その他に Ca, Mg 等のイオンに 応答
C00	クロロゲン酸, イソ $\alpha$ 酸等の苦味物質 その他に塩味に 応答	イソ $\alpha$ 酸, クロロゲン酸等の苦味物質
AE1	カテキン, タンニン等の渋味物質 その他に塩味に 応答	カテキン, タンニン等の渋味物質
AAE	MSG, IMP 等の旨味物質 その他に酸味に 応答	IMP 等の旨味物質
CT0	塩味に 応答	なし

表 3 各試料の測定濃度

No.	サンプル名	推定値算出に用いた濃度	備考
試 薬			
B 1	キシジン	0.1 mM	
B 2	キシジン塩酸塩一水和物	0.1 mM	
B 3	キシジン硫酸塩二水和物	0.1 mM	
B 4	キノ	0.1 mM	
B 5	キノネ塩酸塩二水和物	0.1 mM	
B 6	シコニン	0.1 mM	
B 7	シコニン硫酸塩二水和物	0.1 mM	
B 8	ヘルペリン塩酸塩二水和物	0.1 mM	
B 9	カフェイン	10 mM	
B11	テオフロシン	3 mM	
B12	5'-テオキシ-5'-メチルチオアデニン	10 mM	
B13	ナリンギン	1 mM	
B14	イ $\alpha$ 酸	0.1 vol%	
B15	ゲンチオビクシド	3 mM	懸濁液の状態での測定
B16	スウェルチアマリン	0.1 mM	
B17	アントロガラフオリド	3 mM	懸濁液の状態での測定
B18	エンメイ	0.1 mM	
B19	リモン	0.1 mM	懸濁液の状態での測定
B20	ノリン	0.1 mM	懸濁液の状態での測定
B21	クアシン	1 mM	懸濁液の状態での測定、
B22	安息香酸ナトリウム	3 mM	
B23	N-フェニルチオ尿素	10 mM	
B24	ナリンゲニン	1 mM	
A 1	タンニン	0.1 %	
A 2	エラグ酸二水和物	0.1 mM	懸濁液の状態での測定
A 3	没食子酸	0.1 mM	
S 1	グリチルチン	0.3 mM	
S 4	ステビオソド	10 mM	
S 5	レハウソソド A	3 mM	
S 6	サッカリン	10 mM	
食 品 添 加 物			
FA1	イソ $\alpha$ 苦味酸	0.03 w/v%	
FA2	カフェイン	0.058 w/v% (約 3 mM)	
FA3	ジャマイカカシミア抽出	0.03 w/v%の 6 点	
FA4	ナリンジン(A)	0.058 w/v% (約 1 mM)	
FA5	ナリンジン(B)	0.058 w/v% (約 1 mM)	懸濁液の状態での測定
FA6	レイシ抽出物	0.03 w/v%	
FA7	ヒメマツタケ抽出物	0.1 w/v%	
FA8	ヒキオコシ抽出物	0.1 w/v%	
FA9	ニガヨモギ抽出物	0.1 w/v%	

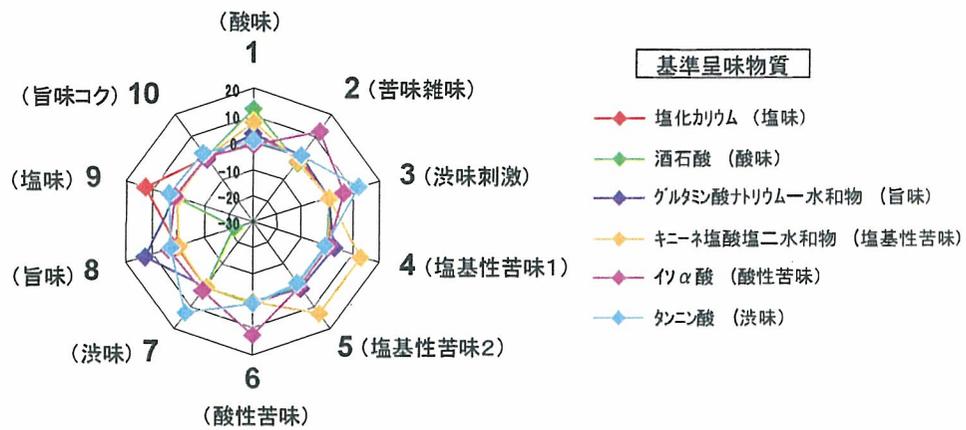


Fig. 1 基準呈味物質の味覚項目値レーダーグラフ

( )内は、味覚項目10種の各味の傾向を示している

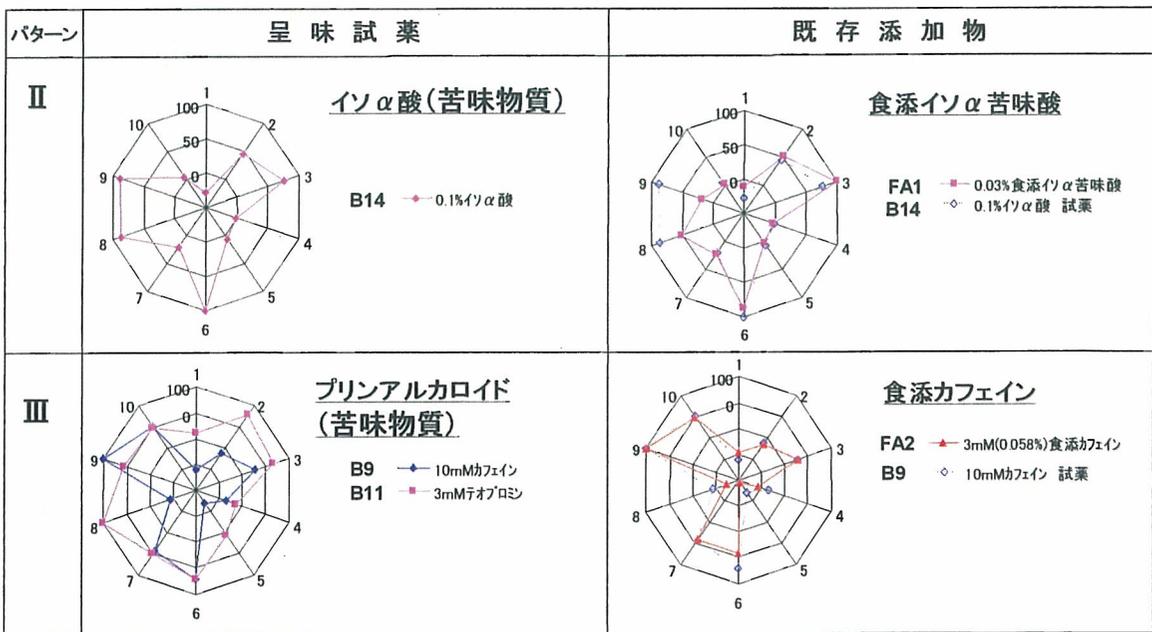
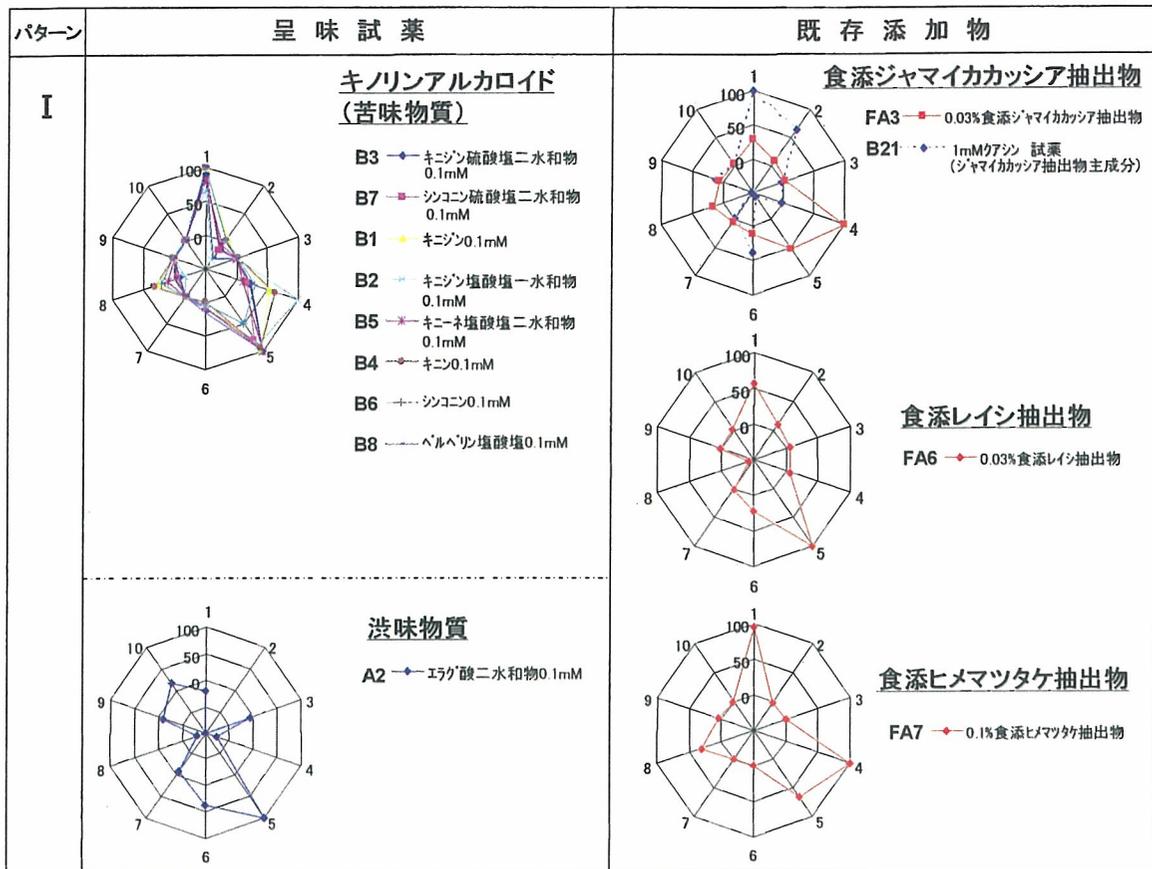


Fig. 2 呈味物質および既存添加物苦味料の味パターンの分類(1)