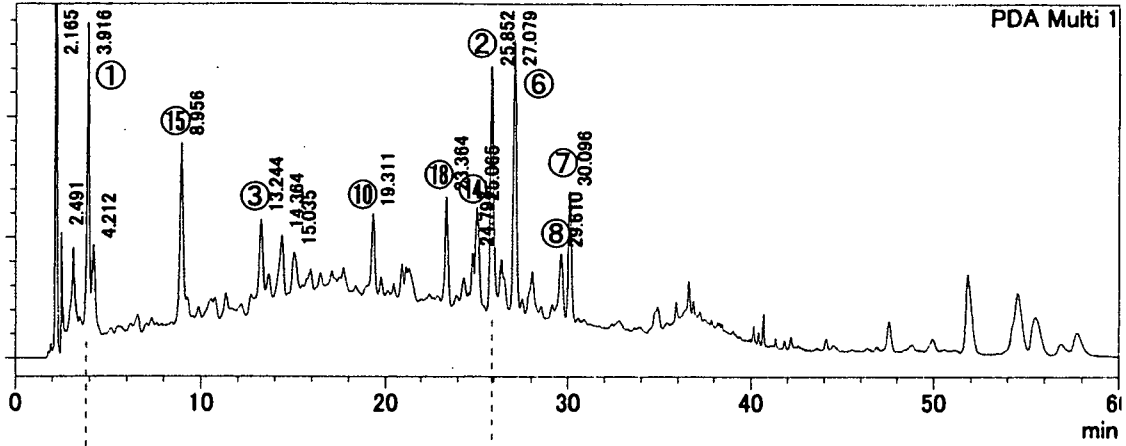
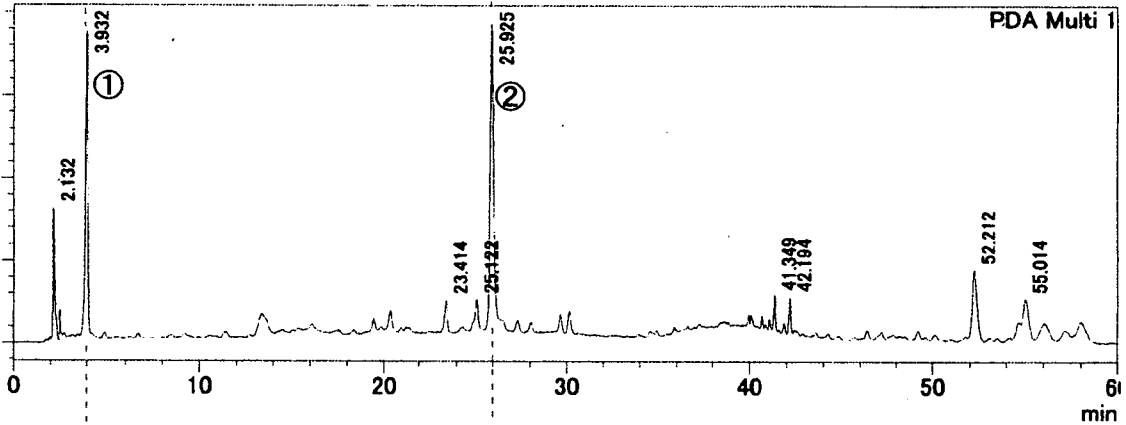


(a) 添加物 A



(b) 添加物 B



(c) 70%MeOH 抽出物

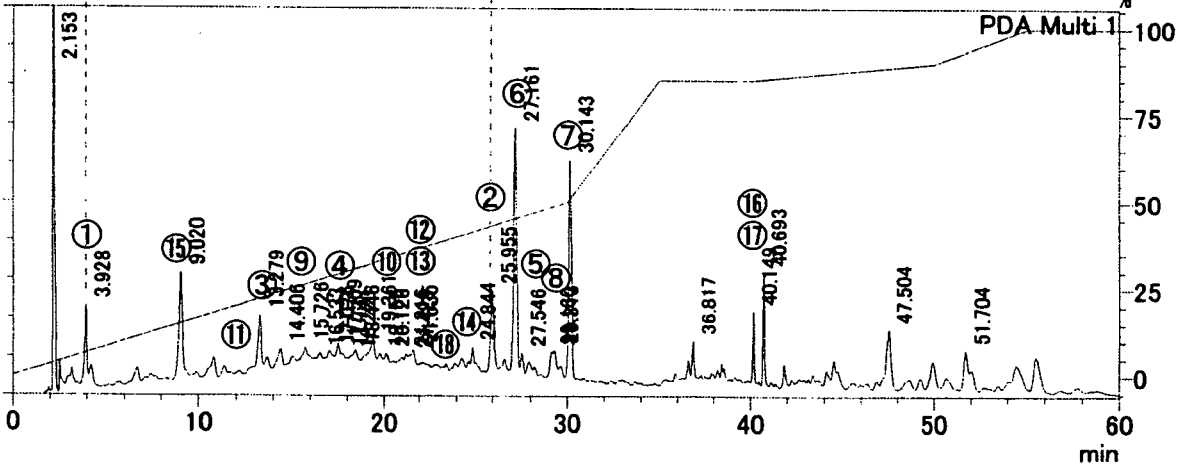


図 1. ユーカリ葉抽出物の逆相 HPLC クロマトグラム (検出波長: 270 nm)

(a) 添加物 製品 A, (b) 添加物 製品 B, (c) 70%MeOH 抽出物

[クロマト中のⓈは化合物番号を示す]

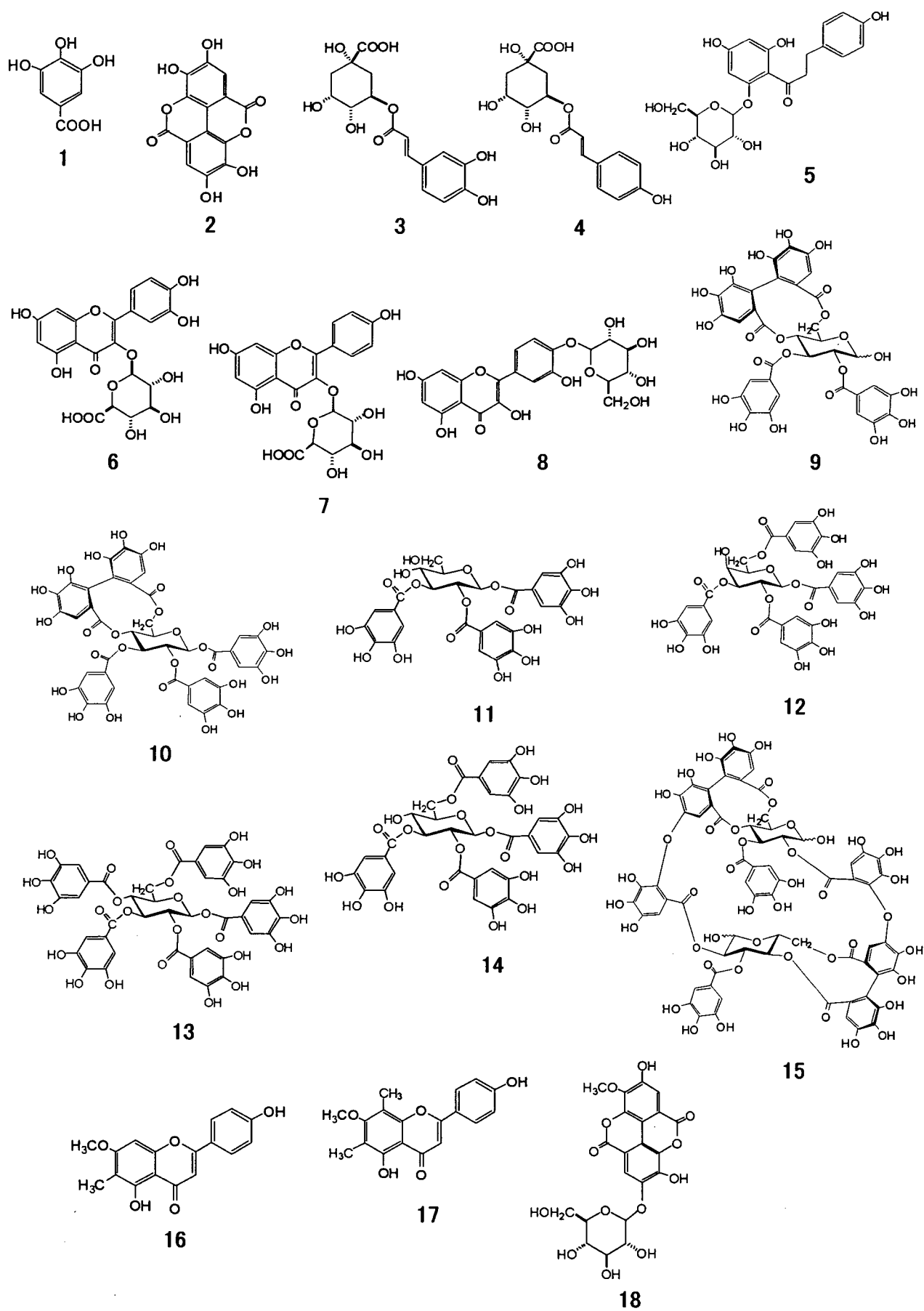


図2. 化合物1~18の化学構造

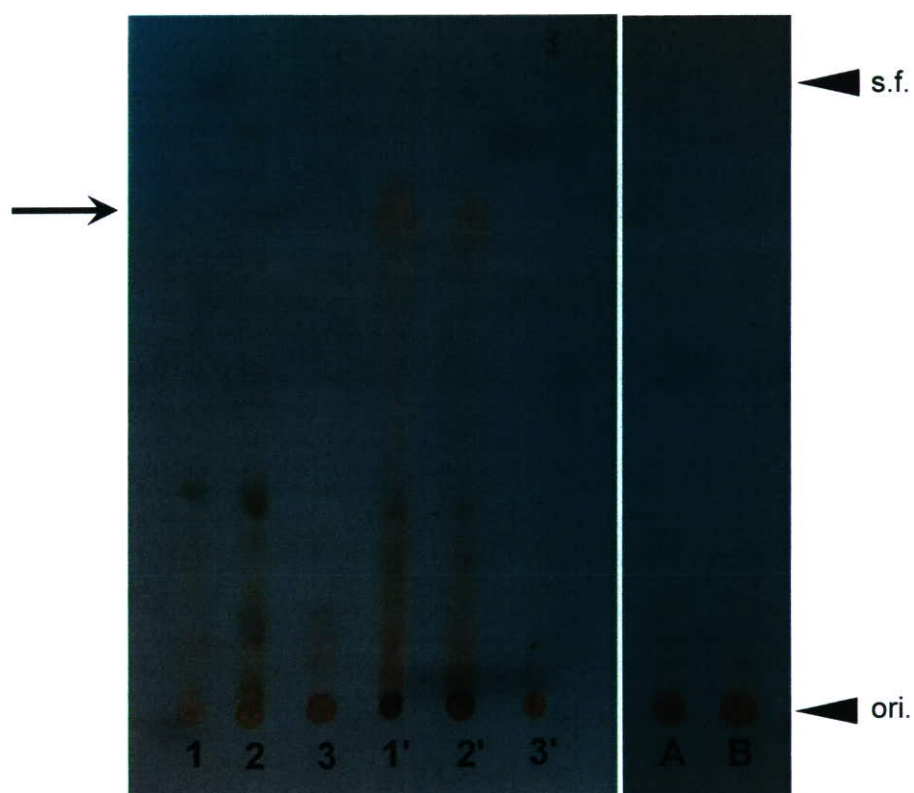


図 3-1. ユーカリ葉抽出物の TLC クロマトグラム検出〔UV 照射 (254 nm)〕

- 1: 新鮮葉クロロホルム抽出物, 2: 新鮮葉エタノール抽出物,
- 3: 新鮮葉 50%含水エタノール抽出物
- 1': 乾燥葉クロロホルム抽出物, 2': 乾燥葉エタノール抽出物,
- 3': 乾燥葉 50%含水エタノール抽出物
- A: 添加物 製品 A, B: 添加物 製品 B
- s.f. : solvent front, ori.: origin

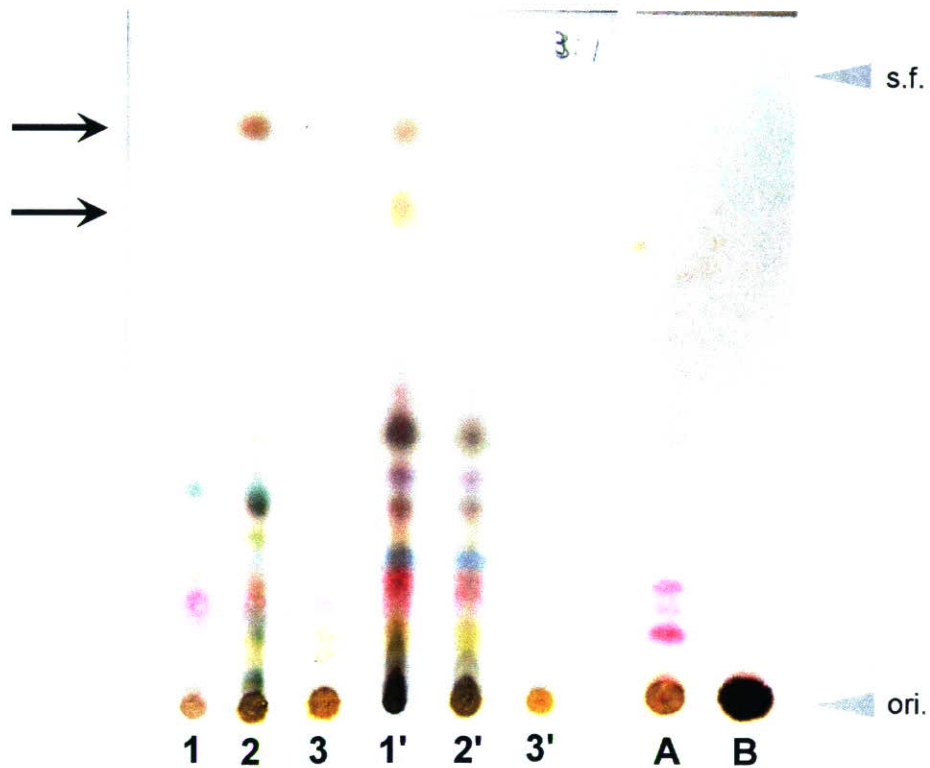


図 3-2. ユーカリ葉抽出物の TLC クロマトグラム検出〔希硫酸試液 噴霧後加熱〕

- 1: 新鮮葉クロロホルム抽出物, 2: 新鮮葉エタノール抽出物,
- 3: 新鮮葉 50%含水エタノール抽出物
- 1': 乾燥葉クロロホルム抽出物, 2': 乾燥葉エタノール抽出物,
- 3': 乾燥葉 50%含水エタノール抽出物

A: 添加物 製品 A, B: 添加物 製品 B

s.f. : solvent front, ori.: origin

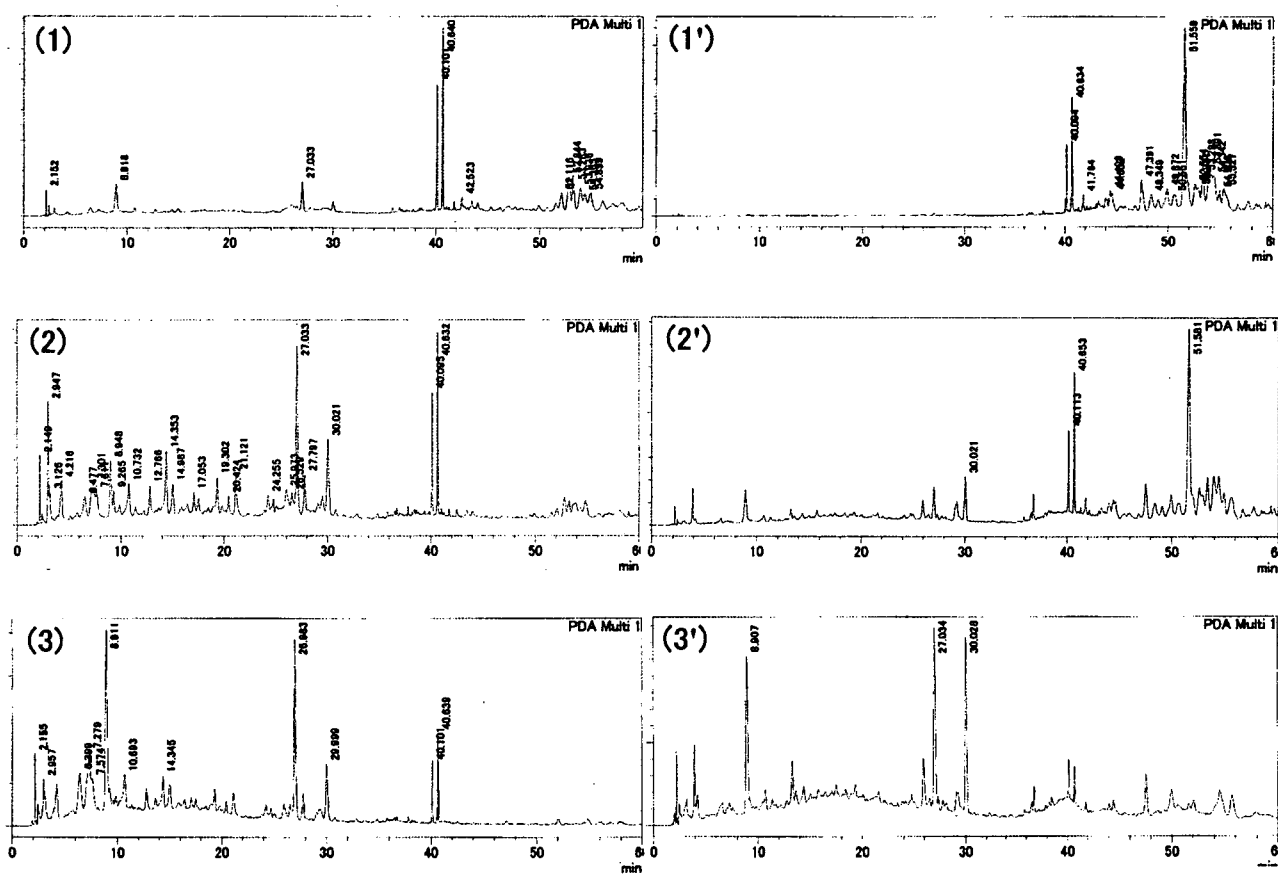


図 4. 各溶媒によるユーカリ葉抽出物の逆相 HPLC クロマトグラム(検出波長:270 nm)

- 1: 新鮮葉クロロホルム抽出物, 2: 新鮮葉エタノール抽出物,
- 3: 新鮮葉 50%含水エタノール抽出物
- 1': 乾燥葉クロロホルム抽出物, 2': 乾燥葉エタノール抽出物,
- 3': 乾燥葉 50%含水エタノール抽出物

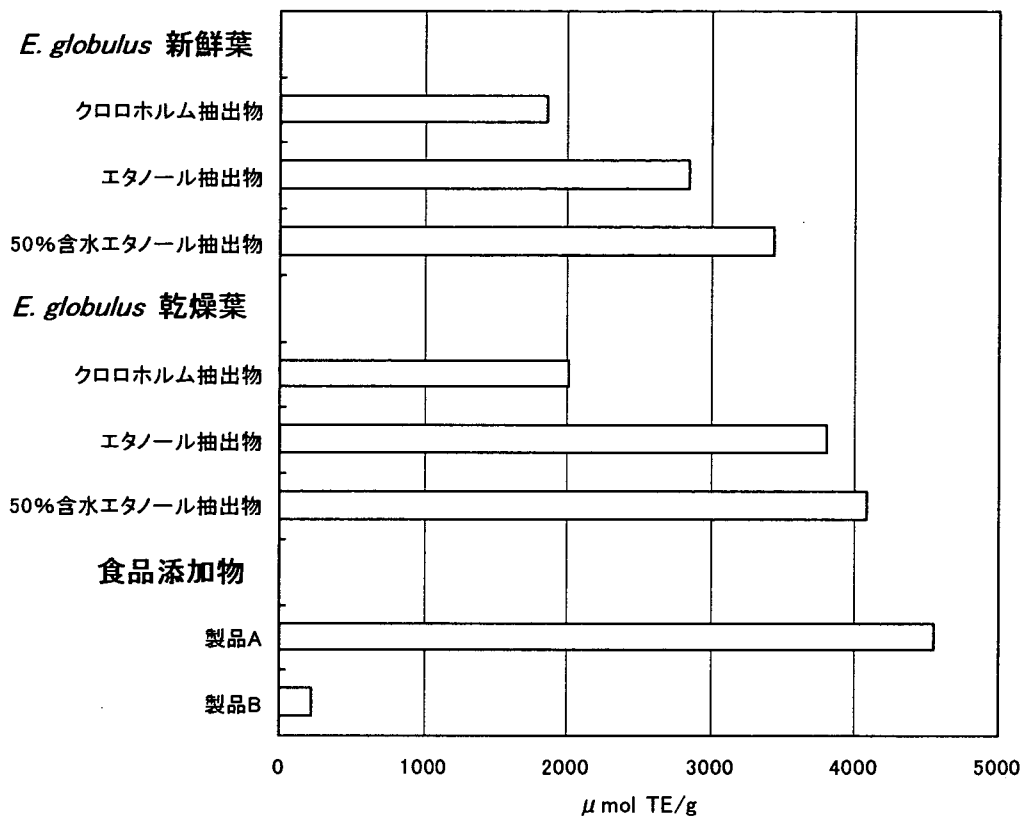


図 5. 各試料の抗酸化活性 (ORAC 値)

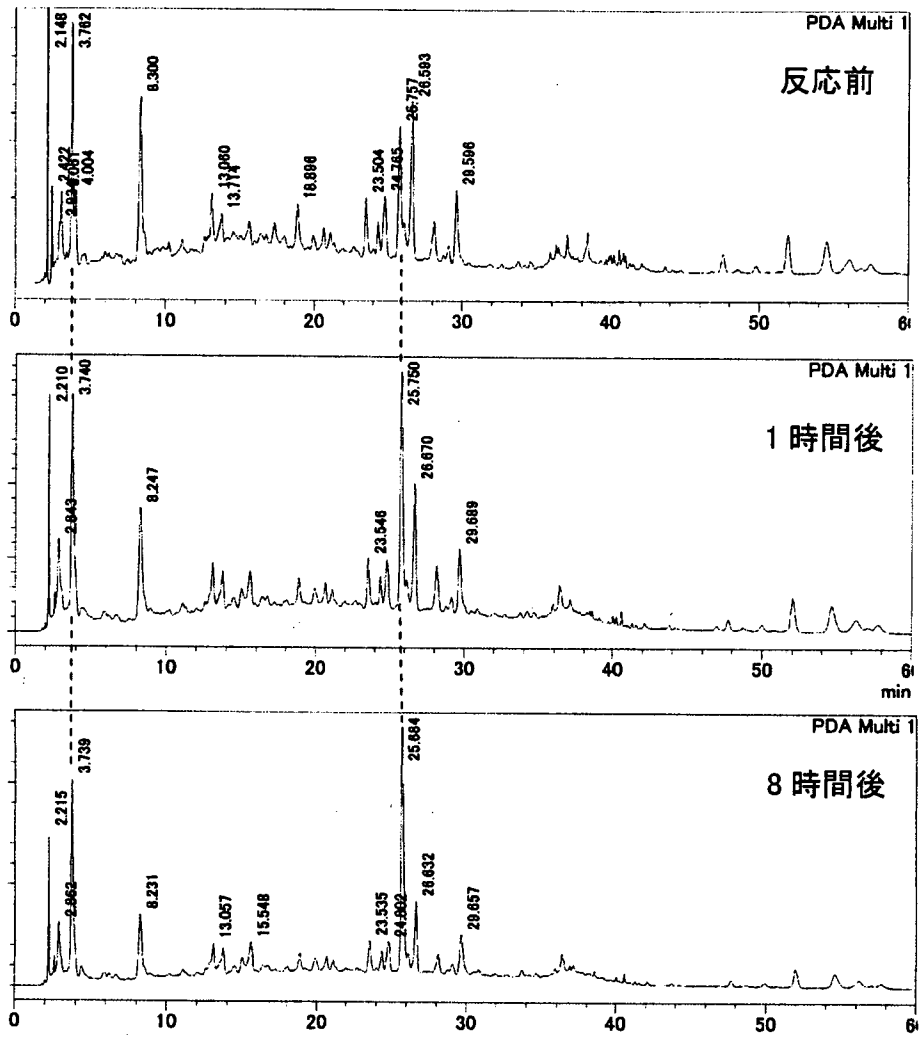


図6. 製品Aの熱湯分解による経時成分変化の逆相 HPLC クロマトグラム (検出波長:270 nm)

表 1. 各試料の抗酸化活性 (DPPH ラジカル消去能) と総ポリフェノール量

試料	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	総ポリフェノール量 ( $\text{mg/g}$ )
ユーカリ葉抽出物 製品 A	19.0	360
ユーカリ葉抽出物 製品 B	390.0	29
<i>E. globulus</i> 新鮮葉		
クロロホルム抽出物	162.7	34
エタノール抽出物	23.5	237
50%含水エタノール抽出物	19.1	548
<i>E. globulus</i> 乾燥葉		
クロロホルム抽出物	477.0	30
エタノール抽出物	44.1	357
50%含水エタノール抽出物	24.7	408
ユーカリオイル A	>100 $\text{mg/ml}$	29
ユーカリオイル B	>100 $\text{mg/ml}$	-
ユーカリオイル C	>100 $\text{mg/ml}$	-

EC<sub>50</sub>: 50%有効濃度

総ポリフェノール量は gallic acid 換算で、試料 (g) 当りの量 (mg) を算出  
ユーカリオイルの総ポリフェノール量は A のみ測定



### 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 19 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	
協力研究者	服部征雄	富山大学 和漢医薬学総合研究所	教授
協力研究者	大塚英昭	広島大学大学院 医歯薬学総合研究科	教授

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。昨年度までの研究で、味認識装置により、濃度依存性の検出、味の数値化が可能であることを示した。また、苦味化合物の化学構造により、味認識装置の応答パターンが異なることを明らかにした。一方で、苦味物質によっては味認識装置による応答が小さいものがあり、実際のヒトの舌による苦味強度との相関性を確認する必要があった。そこで今年度は、各種苦味化合物および既存添加物苦味料の小規模官能試験を行い、味認識装置による苦味強度との比較・検討を行った。その結果、味認識装置の応答が低い化合物の内、一部を除いては実際のヒトの舌での感度も低いことが分かった。また、既存の味覚項目値では苦味強度が検出されにくい物質も、新たな苦味強度予測式を設定することで、苦味強度を推測できる可能性が示唆された。既存の味覚項目に加え、新たな味覚項目を設定することで、種々のタイプの苦味化合物の相対的な苦味強度の比較にも応用できるものと示唆された。また、既存添加物苦味料レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物を用い、含有成分と抽出物全体とで味認識装置の結果を比較し、個別品目の評価に関する味認識装置応用の可能性についても検討したところ、レーダーグラフを用いた味パターンの検出により、味認識装置の応答に寄与する成分がよく分かった。

- 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の内、第8版
- 食品添加物公定書<sup>2)</sup>に記載されているのはナリンジンのみであり、それ以外の苦味料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。

今後、国の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。ヒトの舌による苦味の確認は、客観性が課題である上、評価者の安全性等の問題もある。そこで本研究では、味認識装置による既存添加物苦味料および各種苦味化合物の味の数値化・質の解析の可能性について検討を行ってきた。

昨年度までの研究で、苦味物質 23 種、渋味物質 3 種、甘味物質 6 種、既存添加物苦味料 9 種の測定を行い、味認識装置により、濃度依存性の検出、味の数値化が可能であることを示した。また、各種苦味化合物の味の質を調べるため、味認識装置での測定値から算出される 10 種の味覚項目の強度をレーダーグラフに示し、相互に味のパターンを比較した。その結果、苦味化合物の化学構造により、味認識装置の応答パターンが異なることを明らかにした。一方、カフェインやテルペノイド系苦味化合物の一部では応答が低かった。これは、これらの物質に対する味認識装置の感度が低いという可能性の他に、実際のヒトの舌での感度が低く、味認識装置の結果はそれを反映しているに過ぎないという可能性も考えられた。

そこで今年度は、各種苦味化合物および既存添加物苦味料の小規模官能試験を行い、味認識装置による苦味強度との比較・検討を行った。また、既存添加物苦味料レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物を用い、含有成分と抽出物全体とで味認識装置の結果を比較し、個別品目の評価に関する味認識装置応用の可能性についても検討した。

## B. 研究方法

### (1) 試料

表 1 に、官能試験および味認識装置での測定に用いた呈味物質を示した。また、これまでに厚生労働科学研究費補助金研究の試料として日本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。イソアルファー苦味酸、ジャマイカカシヤ抽出物、レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物。

### (2) 官能試験および味認識装置での測定用試料液の調製

官能試験用の各試料は、1%EtOH 水溶液を用い、公比 3.16 で 3 点の濃度で調製し、試験に用いた。苦味強度レベル 1.0~5.0 の基準液として、キニーネ塩酸塩 0.00316, 0.01, 0.0316, 0.1, 0.316mM の 5 濃度の 1%EtOH 水溶液を用いた。

測定用の各試料は 30%EtOH を含有する 10 mM 塩化カリウムを用い、2 点~3 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、30%EtOH を含有する 10 mM 塩化カリウムを用いた。

### (3) 官能試験

倫理面への配慮のため、厚生労働省“疫学研究に関する倫理指針”に従って行った。試験者(5名)は、予め試験方法について説明を受けた後、同意書に自署した。さらに、希望者は試験途中でも中止可能とした。

既存添加物名簿収載品目リスト注解書<sup>4)</sup>、生薬学(初版<sup>5)</sup>および改訂第6版<sup>6)</sup>、苦味健生薬を含有する各種市販医薬品の添付文書を元に、医薬品や飲食物における苦味物質含有量および使用量を算出し、官能試験の上限を設定した。スウェルチアマリン(センブリの苦味成分)以外はさらに 20 分の 1 以下に設定した。また、飲み込まずに、

口に含んだ後吐き出すこととした。

試験方法の詳細は Fig. 1 に示す通りである。概要は次の通りである。試験者 5 名は、まずキニーネ塩酸塩 5 濃度の基準液を苦味レベル 1.0~5.0 の基準とし、苦味強度を記憶した (n = 2)。その後、15 分ずつ間隔を空けて各試料液を低濃度から順に評価した (n = 2)。最高濃度または明らかな苦味を感じた時点で止め、味の質、苦味強度について記入し、さらにレベル評価値確認のため、苦味強度の近いと思われる濃度のキニーネ塩酸塩基準液を含み、レベル値の補正をした。

#### (4) 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))

#### (5) レーダーグラフによる味パターンの評価

測定値の算出は、昨年度の報告書に記載した方法と同様に行った。

各試料につき、「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。

Fig. 2 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。味覚センサー測定値から味覚項目強度を求める計算式は、(株) インテリジェントセンサーテクノロジーにおいて、6 種の味基準物質において味覚項目 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に最適化されたものである。

#### (6) 既存添加物個別品目への味認識装置の応用

##### I) レイシ抽出物

既存添加物製品に加え、市販のレイシ (*Ganoderma ludicum* KARST.) 乾燥品を用い水および EtOH 抽出物を作製し、測定に用いた。また、レイシ乾燥品の抽出物より単離した各種成分を測定した。

##### II) ヒメマツタケ抽出物 (アガリクス)

既存添加物製品に加え、ヒメマツタケ (*Agaricus blazei* MURR.) (乾燥重量 11.0kg) を用い MeOH 抽出物 (室温で浸漬) を作製した後、減圧濃縮した (MeOH 抽出物は 1747.4g)。さらに、MeOH 抽出物を 3L の水に懸濁後、等量の hexane, 酢酸エチル, ブタノールで順次分配抽出した (ヘキサン画分: 177.3g, 酢酸エチル画分: 70.9g, ブタノール画分: 190.2g, 残った水画分: 1309g)。この内、酢酸エチル可溶画分の全量をカラムクロマトグラフィーに供し、各種成分を単離・構造決定した。この内、4-hydroxybenzoic acid, benzoic acid, nicotinamide, thymidine を味認識装置で測定した。ただし、benzoic acid, nicotinamide, thymidine は単離量が少なかったため、市販試薬を用いた。

#### C. 結果及び考察

##### (1) 官能試験結果

今回、味認識装置の結果を解釈するための情報を得るため、試験者 5 人と小規模ではあるが官能試験を行った。官能試験の結果を、横軸を濃度 (mM, 対数), 縦軸を苦味強度として Fig. 3-a) に示す。横軸を濃度 (mM) に統一するため、既存添加物イソアルファー苦味酸 (イソ  $\alpha$  酸含有量 28.9%) は、試験試料中に含有するとされるイソ  $\alpha$  酸の重量からイソフムロン (MW=362) 濃度に換算してグラフを作成した。既存添加物ジャ

マイカカシヤ抽出物(クアシン 21% + ネオクアシン 56% = 77%<sup>7)</sup>)は、クアシン類含有量からクアシン(MW=388)濃度に換算してグラフを作成した。試薬クアシン(クアシン 51% + ネオクアシン 44% = 95%)は、クアシン類含有量からクアシン(MW=388)濃度に換算してグラフを作成した。解析の結果、いずれの試料も、苦味強度と試料濃度とは明確な片対数関係を示した。今回の官能試験における苦味強度判定スコアの CV(%)値は、2.1~29.9%(平均 14.7%)であった。同一濃度(mM)で比較したときの苦味強度は、値の高い方から順に、食添ジャマイカカシヤ抽出物、クアシン、キニーネ塩酸塩二水和物、食添イソアルファー苦味酸、スウェルチアマリン、ナリンジン一水和物、カフェインの順であった。クアシンは例外だが、味認識装置による応答が低かったスウェルチアマリンやナリンジン等のテルペノイド系苦味物質とカフェインは、官能試験結果でも苦味が弱かった。両者の応答がおよそ対応していると言える。

味認識装置の測定結果から味の質と強度を表す方法として、Fig. 2 に示すように、既に 10 種の味覚項目が定義されている。その内、味覚項目 4 (塩基性苦味 1) および味覚項目 6 (酸性苦味) についての今回の各種試料の測定結果を、Fig. 3-b) に示す。味覚項目 4 ではキニーネ塩酸塩二水和物の、味覚項目 6 では既存添加物イソアルファー苦味酸の呈するそれぞれの苦味が、よく検出できている。Fig. 3-a) の官能試験結果において、両化合物の同一濃度(mM)当たりの苦味強度はほぼ同じレベルであったが、味覚項目 4 および 6 における各化合物の同一濃度(mM)当たりの味覚項目値もほぼ同じレベルであり、これらの化合物の相対的な苦味強度を味認識装置でよく捉えられて

いることが確認できた。しかし、官能試験を行った他の化合物については、既に定義されている 10 種の味覚項目計算式では、官能試験から得られた苦味強度値を十分に検出できなかった。

そこで、苦味強度が検出されにくかった、キニーネ塩酸塩二水和物および既存添加物イソアルファー苦味酸以外の 5 種の試料について、官能試験での苦味強度がおよそ 2~4 の範囲の濃度 2 点の測定値を用い、新たな苦味強度予測式(官能試験で得られた苦味強度に最も近くなるような関係式)の検討を行った。説明変数  $X$  として各試料の味認識装置での測定値、すなわち 6 種のセンサーから得られる「相対値」( $X_1 \sim X_6$  とする。) および「CPA 値」( $X_7 \sim X_{12}$  とする。) の計 12 変数を用い、目的変数  $Y$  として官能試験での苦味強度を用い、統計解析ソフト JMP を使用して、PLS (Partial Least Squares) 回帰分析を行った。実際には、苦味強度  $Y = \sum (a_i X_i) + e$  ( $i = 1 \sim 12$ ) の係数  $a_i$  および定数項  $e$  を導いた。Fig. 4 には、各試料の 3 回の測定の平均値を変数に用いて導いた予測式 ( $y = 1.12X_1 + 7.30X_2 + 1.69X_3 + 0.514X_4 - 2.72X_5 - 14.4X_6 - 1.56X_7 + 10.9X_8 - 0.439X_9 - 1.55X_{10} - 12.1X_{11} - 35.3X_{12} + 0.0032$ ) に測定値を代入して計算された苦味強度(横軸)と官能試験での苦味強度(縦軸)の関係を示した。相関係数は、 $R^2=0.999$  と、良好な値を示し、テルペノイド系苦味物質とカフェインの苦味を検出する新たな味覚項目を設定できる可能性が示唆された。

今回検討した予測式を既に定義されている味覚項目 4 および 6 と併用することで、既存添加物苦味料および関連苦味化合物の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、将来的には混合物

中からの苦味寄与化合物の検索にも応用できるものと推察される。ただし、今回行った官能試験は小規模であり、対象とした試料の数も限られたため、新たな味覚項目の設定には、未だ課題が残されている。今後、より広い範囲の苦味物質につき、より規模の大きい官能試験を行い、また類似構造を有するが苦味は呈さない物質についても官能試験と味認識測定装置での測定を行うことで、使用に耐えうる味覚項目の設定が可能になるものと考えられた。

## (2) 既存添加物個別品目への味認識装置の応用

味覚項目 10 種を用いる現在の解析方法を使用し、既存添加物個別品目への味認識装置の応用の可能性を検討した。

### I) レイシ抽出物

Fig. 5-a) に示すように、既存添加物苦味料レイシ抽出物は味覚項目 1, 4, 5 で高い値を示すパターンである。レイシ抽出物の苦味成分については、未だ未解明の部分が多い。そのため、レイシ抽出物全体の味のパターンに寄与している分離画分や成分について調べた。その結果、Fig. 5-b) に示すように、レイシの熱水抽出物と EtOH 抽出物では異なるパターンを示し、50%EtOH で抽出して得られたという既存添加物レイシ抽出物 (Fig. 5-a)) は、レイシの熱水抽出物と EtOH 抽出物のパターンを足し合わせたようなパターンを示していることが分かった。レイシから単離された成分の内、10 種の味覚項目を測定したところ (Fig. 5-c)), ganoderic acid A および C が、既存添加物レイシ抽出物によく類似したパターンを示した。また、各成分の含有量を考慮してパターンを書かせると (Fig. 5-d)), ganoderic acid A および C の寄与が高かった。しかし、

これら 2 種の化合物のみでは、既存添加物レイシ抽出物の味パターンの全ては説明されなかったことから、ganoderic acid A および C のみでなく、他の種々の化合物が寄与しているものと推察された。

### II) ヒメマツタケ抽出物 (アガリクス)

Fig. 6-a) に示すように、既存添加物苦味料ヒメマツタケ抽出物は味覚項目 1, 4, 5, 8 で高い値を示すパターンである。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。そのため、ヒメマツタケ抽出物全体の味のパターンに寄与している分離画分や成分について調べた。その結果、Fig. 6-b) に示すように、各種溶媒可溶画分では異なるパターンを示し、既存添加物ヒメマツタケ抽出物 (Fig. 6-a)) は、ヒメマツタケの酢酸エチル可溶画分と水溶性画分のパターンを足し合わせたようなパターンを示していることが分かった。ヒメマツタケの酢酸エチル可溶画分から単離された成分の内、4 種を測定したところ (Fig. 6-c)), 4-hydroxybenzoic acid と benzoic acid (共に味覚項目 1, 4, 5 の強度大)、および nicotinamide (味覚項目 8 の強度大) が、既存添加物ヒメマツタケ抽出物のパターンの一部分と合致した。また、各成分の単離量の比を考慮してパターンを書かせると (Fig. 6-d)), 4-hydroxybenzoic acid の寄与が高かった。しかし、試験した 4 種の化合物のみでは、既存添加物ヒメマツタケ抽出物の味パターンの全ては説明されなかったことから、他の種々の化合物が寄与しているものと推察された。

## 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。昨年度までの研究で、味認識装置により、濃度依存性の検出、味の数値化が可能であることを示した。また、苦味化合物の化学構造により、味認識装置の応答パターンが異なることを明らかにした。一方で、苦味物質によっては味認識装置による応答が小さいものがあり、実際のヒトの舌による苦味強度との相関性を確認する必要があった。そこで今年度は、各種苦味化合物および既存添加物苦味料の小規模官能試験を行い、味認識装置による苦味強度との比較・検討を行った。その結果、味認識装置の応答が低い化合物の内、一部を除いては実際のヒトの舌での感度も低いことが分かった。また、既存の味覚項目値では苦味強度が検出されにくい物質も、新たな苦味強度予測式を設定することで、苦味強度を推測できる可能性が示唆された。既存の味覚項目に加え、新たな味覚項目を設定することで、種々のタイプの苦味化合物の相対的な苦味強度の比較にも応用できるものと示唆された。また、既存添加物苦味料レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物を用い、含有成分と抽出物全体とで味認識装置の結果を比較し、個別品目の評価に関する味認識装置応用の可能性についても検討したところ、レーダーグラフを用いた味パターンの検出により、味認識装置の応答に寄与する成分がよく分かった。

#### 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8版食品添加物公定書, 日本食品添加物協会, 2008.

3. 第三版既存添加物自主規格, 日本食品添加物協会, 2002.
4. 既存添加物名簿収載品目リスト注解書, 日本食品添加物協会, 1999.
5. 生薬学 初版, 南江堂, 1983.
6. 生薬学 改訂第6版, 南江堂, 2002.
7. 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シヤ抽出物の成分分析, 食衛誌 (*J. Food Hyg. Soc. Japan*), 44, 328-331, 2003.

#### F. 研究発表

多田敦子, 杉本直樹, 山崎壮, 棚元憲一, 濱田ひかり, 小林義和, 服部征雄, 大塚英昭, 味認識装置による既存添加物苦味料および関連化合物評価法の検討, 日本食品化学学会第14回学術大会, 2008.5 (西宮) 予定

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

**表1 官能試験および味認識装置による測定に用いた各種  
既存添加物苦味料および関連化合物**

試料	官能試験濃度	味認識装置試験濃度
キニーネ塩酸塩二水和物 (一級, 98+%)	0.0032, 0.01, 0.032, 0.1, 0.32 mM	0.032, 0.1, 1 mM
ナリンギン一水和物 (98%以上)	0.1, 0.32, 1 mM	0.32, 1 mM
既添イソアルファー苦味酸 (isohop28.9%/水)	0.055, 0.17, 0.055 mg/mL	0.055, 0.17, 1.4 mg/mL
カフェイン (99.7%)	0.32, 1, 3.2 mM	0.32, 1 mM
既添ジャマイカカシミア抽出物 (クアシン21%+ネオクアシン56%=77% <sup>7)</sup> )	0.00016, 0.0005, 0.0016 mg/mL	0.0005, 0.0016, 0.4 mg/mL
クアシン (クアシン51%+ネオクアシン44%=95%)	0.001, 0.003, 0.01 mM	0.003, 0.01, 1 mM
スウェルチアマリン生薬試験用 (HPLC 98.0%)	0.1, 0.32, 1 mM	0.32, 1 mM
既添レイシ抽出物		0.3 mg/mL
レイシ各種水およびEtOH抽出画分		抽出液 5 mL分/mL
レイシ各種単離成分		各 0.08 mg/mL
既添ヒメマツタケ抽出物		0.3 mg/mL
ヒメマツタケ各種分離画分		各 0.2 mg/mL
ヒメマツタケ各種単離成分		各 0.2 mg/mL
		(4-hydroxybenzoic acid のみ 0.05 mg/mL)

既添: 既存添加物



試験10分以上前に水で口をゆすいでおき、10分前～試験開始までは、飲食をしない。



1. 1%EtOH溶液2mLを口に含み、約3秒後に出す。  
口に含んだ時～出した後の味について記入。  
2本目も同様。



2. 基準液(キニーネ塩酸塩1%EtOH溶液)5段階の最低濃度溶液2mLを口に含み、約3秒後に出す。  
口に含んだ時～出した後の味について記入。(各濃度2本)  
味・苦味の検知の有無、全体の味および苦味の質について記入。  
苦味の強さレベル 1.0 (2～5段階目の液はそれぞれ2.0、3.0、4.0、5.0)を記憶。  
残り4段階の濃度についても同様に試験し、記入。  
5濃度終了後、水で口内を5回以上ゆすぐ。



次の試料まで15分以上間をあける。



3. 1%EtOH液2mLを口に含み、約3秒後に出す。(2本)



4. 続いて苦味試料の3段階の内最低濃度溶液2mLを口に含み、約3秒間後に出す。  
口に含んだ時～出した後の味について記入。(各濃度2本)  
味・苦味の検知の有無、全体の味および苦味の質について記入。  
苦味の強さレベルを数字(小数点以下1桁まで)で記入。  
同様に順に濃度の高い液を試験し、記入(同一試料の各濃度間では口をゆすがない。)  
苦味の明らかな濃度または最高濃度まで行う。

直後に、苦味レベル確認のため、最後に含んだ液と苦味レベルが同程度と思われる基準液(キニーネ塩酸塩1%EtOH溶液)を口に含み、苦味試料の苦味レベル値を補正する。  
必要があれば、1段上のレベルの基準液も含み、苦味試料の苦味レベル値を補正する。  
終了後、飲料水で口内全体を5回以上ゆすぐ。

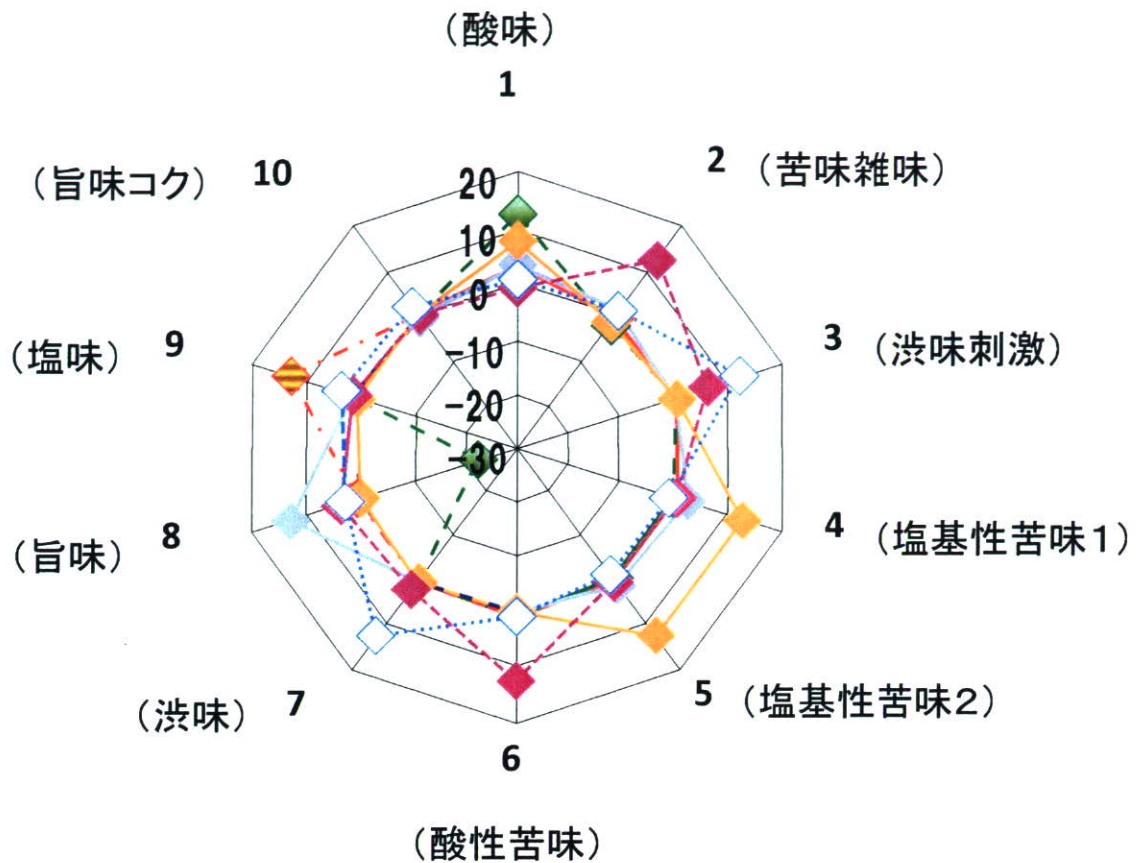


次の試料まで15分以上間をあける。



5. 他の試料も3. 4. と同様に行う。

Fig. 1 既存添加物苦味料および関連化合物の官能試験方法



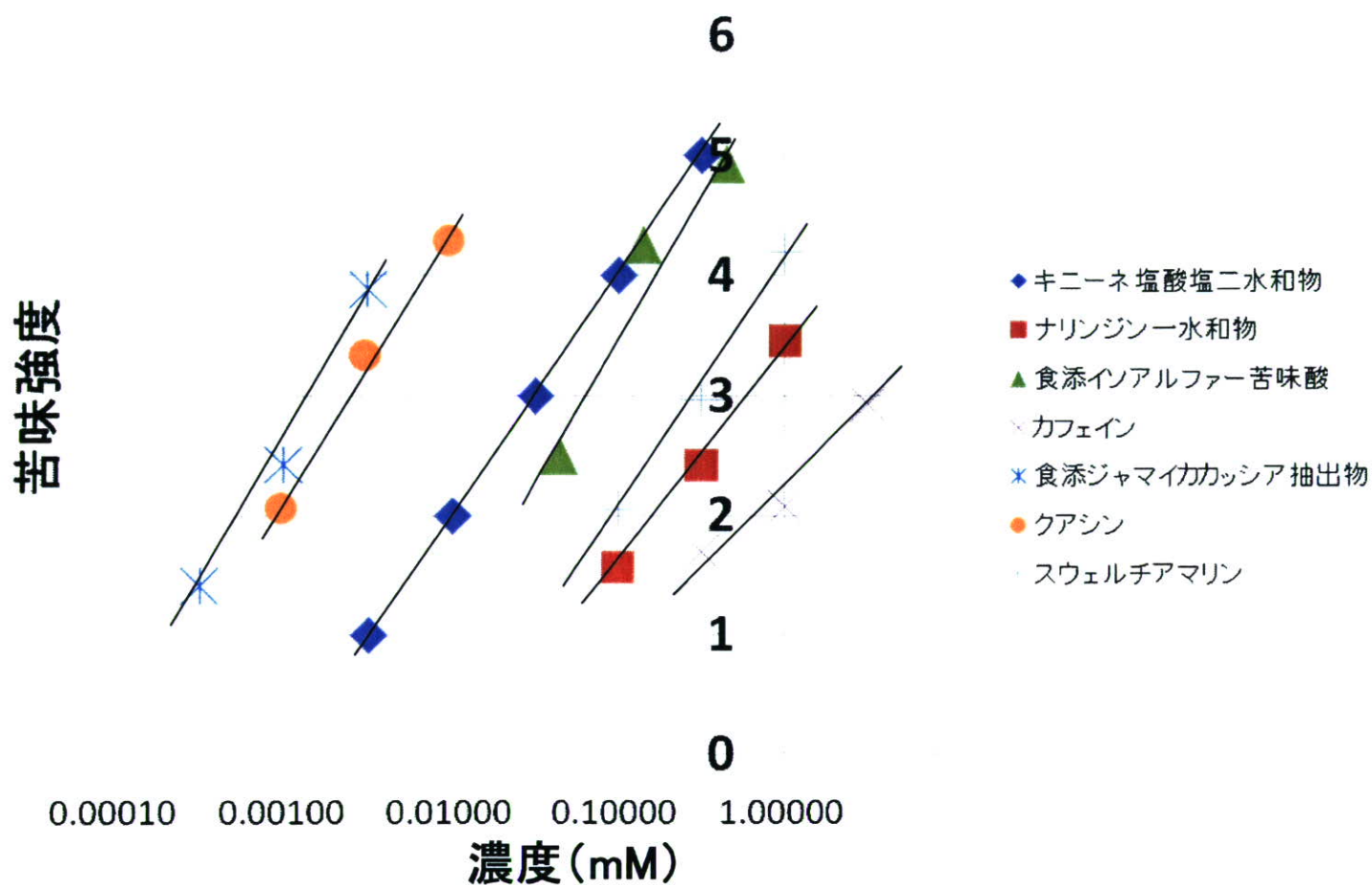
基準呈味物質

- ◇--- 塩化カリウム (塩味)
- ◇--- 酒石酸 (酸味)
- ◇--- グルタミン酸ナトリウム一水和物 (旨味)
- ◇--- キニーネ塩酸塩二水和物 (塩基性苦味)
- ◇--- イソα酸 (酸性苦味)
- ◇--- タンニン酸 (渋味)

Fig. 2 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

### a) 官能試験結果



### b) 味認識装置による測定結果

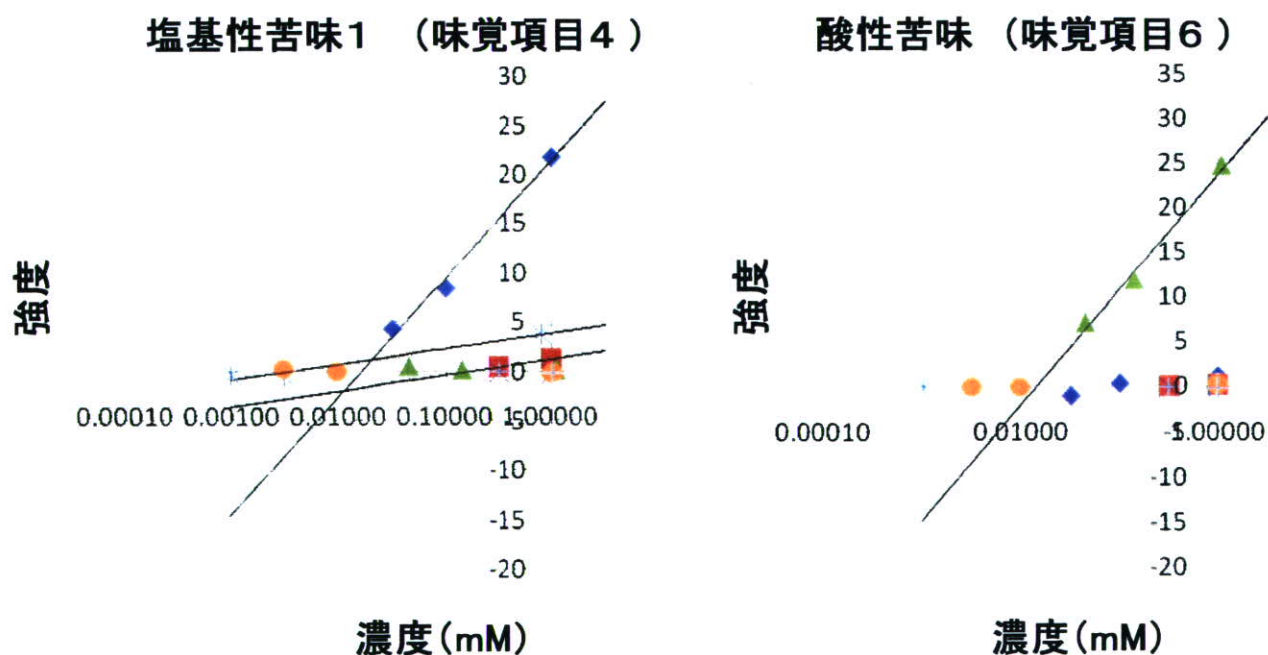


Fig. 3 既存添加物苦味料および関連化合物の官能試験および味認識装置による測定結果の比較

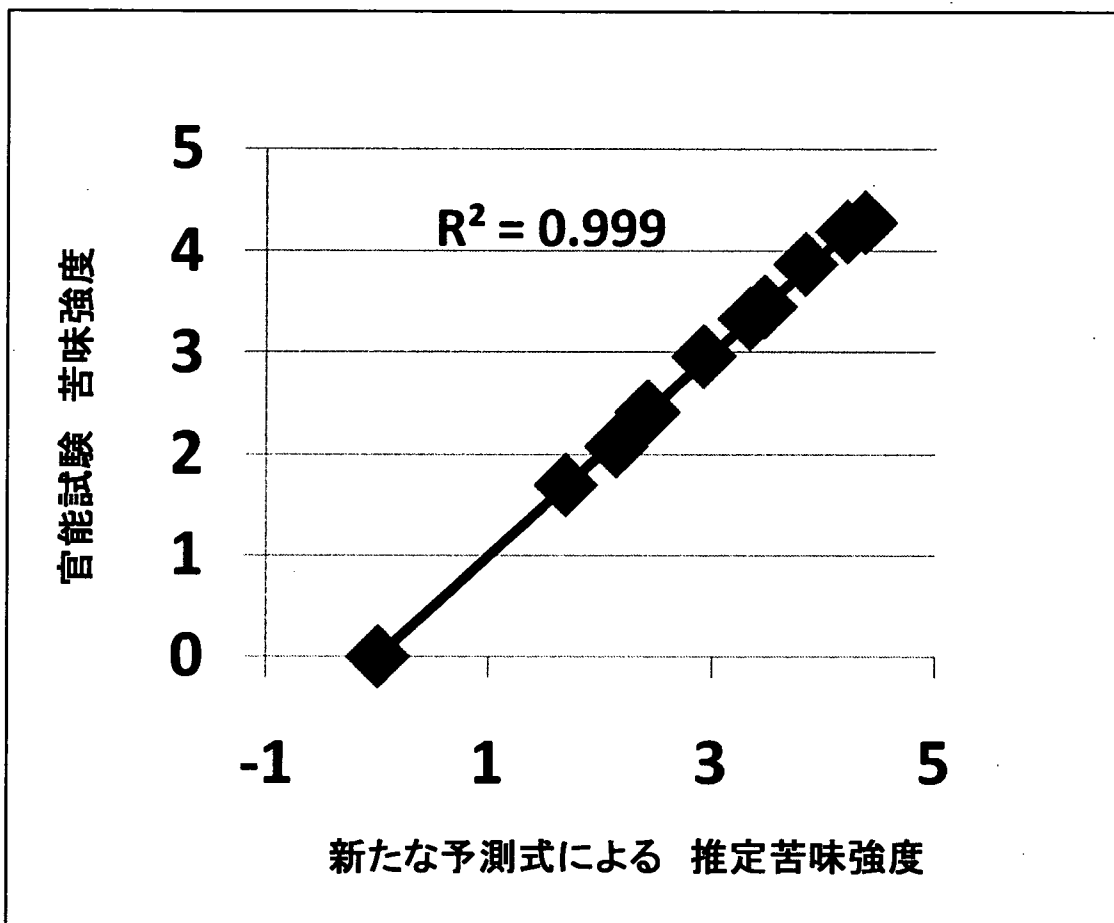


Fig. 4 新たな予測式による予測値の結果