

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 17～19 年度 総合研究報告書

主任研究者	山崎 壮	国立医薬品食品衛生研究所
分担研究者	多田 敦子	国立医薬品食品衛生研究所
	黒柳 正典	県立広島大学
	大塚 英昭	広島大学大学院
	服部 征雄	富山大学
	杉本 直樹	国立医薬品食品衛生研究所
	受田 浩之	高知大学
	松本 清	九州大学大学院
	永津 明人	金城学院大学
	尹 永淑	東京薬科大学
	天倉 吉章	松山大学
	李 貞範	富山大学
	秋山 卓美	国立医薬品食品衛生研究所

平成 20 年（2008 年）4 月

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  
平成 17～19 年度 総合研究報告書  
既存添加物の成分と品質評価に関する研究

正誤表

p.2 右段 研究協力者 全文差し替え

[正]

協力研究者

松藤 寛	日本大学生物資源学部 講師
島村 智子	高知大学農学部 准教授
大槻 崇	千葉大学大学院薬学研究院 助手
合田 幸広	国立医薬品食品衛生研究所 生薬部 部長
川原 信夫	国立医薬品食品衛生研究所 生薬部 室長
丸山 卓郎	国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
鄒 大鵬	国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
吉田 隆志	松山大学薬学部 教授
好村 守生	松山大学薬学部 助教
小林 義和	(株) インテリジェントセ ンサーテクノロジー
濱田 ひかり	(株) インテリジェントセ ンサーテクノロジー
石附 京子	国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部
渕野 裕之	(独) 医薬基盤研究所
松波 勝義	広島大学大学院医歯薬学総 合研究科 講師
末吉 恵津子	広島大学大学院医歯薬学総 合研究科 助教

日本食品添加物協会

## 目次

I.	総合研究報告書	
1.	既存添加物の成分と品質評価に関する研究（総括）	1
	主任研究者：山崎 壮	
2.	天然物酸化防止剤の抗酸化活性評価法に関する研究（分担研究）	15
	分担研究者：松本 清	
	分担研究者：受田 浩之	
	協力研究者：島村 智子	
	協力研究者：松藤 寛	
3.	天然由来苦味料の評価法に関する研究 一味認識装置の利用に関する基礎的検討— （分担研究）	19
	分担研究者：多田 敦子	
	協力研究者 杉本 直樹	
	協力研究者 小林 義和	
	協力研究者 濱田 ひかり	
	協力研究者 服部 征雄	
	協力研究者 大塚 英昭	
4.	増粘多糖類の成分と品質に関する研究（分担研究）	21
	分担研究者：李 貞範	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	23
III.	研究成果の刊行物・別刷	25

既存添加物の成分と品質評価に関する研究

主任研究者 山崎 壮 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部第二室長

**研究要旨**

既存添加物の成分規格の整備が遅れている。本研究では、特に成分研究が遅れている酸化防止剤、苦味料、増粘多糖類、ガムベースに重点を置き、添加物の有効性（活性）を測定する手法を積極的に利用することによって含有成分を解析して、品質評価の指標となる成分を明らかにし、既存添加物製品の品質や機能特性を評価する方法を開発することをめざした。

平成 17～19 年度の 3 年計画で以下の研究を実施し、含有成分の解明が遅れている既存添加物品目の成分情報を得た。また、品質評価のための新たな分析手法の原型を作成できた。

**酸化防止剤**

1) 抗酸化力価測定法の開発：

3 種類の抗酸化力価測定法（DPPH ラジカル消去活性測定法、ABTS ラジカル消去活性測定法、スーパーオキシドアニオン消去活性測定法）に基づく食品添加物の抗酸化力価測定法の標準試験操作法の原型を作ることができた。また、2 種類の抗酸化剤を混合したときの併用効果は、一部の化合物間で微弱な相乗作用、相殺作用が認められたものの、全体としては相加的であると考えられた。

2) 複数成分からなる天然酸化防止剤の成分解析と成分分析法の開発：

ソバ抽出物、カンゾウ油性抽出物、ユーカリ葉抽出物、ブドウ種子抽出物、 $\gamma$ -オリザノール、チャ抽出物、ローズマリー抽出物に含まれる抗酸化活性成分の同定、HPLC 分析法の開発、成分ごとの抗酸化活性測定を行った。また、 $\gamma$ -オリザノールの定量法として定量 NMR 法の有用性を示した。

**苦味料**

1) 味覚センサーの利用に関する基礎的検討：

味覚センサーの応答パターンから、含有される苦味成分の基本化学構造がある程度推測できた。また、味覚センサーの応答が低い苦味化合物は、一部の化合物を除いてはヒトの舌での感度も低いことが分かった。また、味覚センサーの苦味項目値の算出式を再検討し、従来は味覚センサーで測定されなかった物質も、新たな苦味強度予測式を設定することで苦味強度を示せる可能性が得られた。レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物を用い、レーダーグラフを用いた味パターンの測定により、抽出物（混合物）中で味覚センサーの応答に寄与する成分を判別できることが分かった。

2) 苦味料の成分研究：

ヒキオコシ抽出物、ニガヨモギ抽出物、ジャマイカカシア抽出物、レイシ抽出物、ヒメマツタケ（アガリクス）抽出物の成分を解析した。

**増粘多糖類**

硫酸化多糖類を含む増粘多糖類としてフクロノリ抽出物、精製カラギナン、ファーセラレンを対象とし、また、ガラクトースを含む増粘多糖類としてグアーガム、カロブビーンガム、カシアガムを対象とし、それらの分子量分布と糖鎖化学構造を解析した。

ウロン酸と中性糖を含む増粘多糖類の構成糖組成分析法を検討した。ジエチルジチオアセタール誘導体化して GC 分析することで、糖組成の違いにより品目間の区別を行うことがで

きた。

#### ガムベース

テルペノイドを主体とする品目とワックスを主体とする品目に分けて、それらの成分解析と分析法の開発を行った。簡便な確認試験として利用できる TLC 分析法、および含有成分確認のための GC/MS 分析法と LC/MS 分析法を開発した。

#### 業界自主規格作成

既存添加物の自主規格作成を業界に依頼した。

#### 分担研究者

受田 浩之 高知大学農学部 教授  
松本 清 九州大学大学院農学研究院  
教授  
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  
永津 明人 金城学院大学薬学部 教授  
尹 永淑 東京薬科大学生命科学部  
助教  
天倉 吉章 松山大学薬学部 准教授  
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  
黒柳 正典 県立広島大学生命環境学部  
教授  
服部 征雄 富山大学和漢医薬学総合研  
究所 教授  
大塚 英昭 広島大学大学院医歯薬学総  
合研究科 教授  
李 貞範 富山大学薬学部 助教  
秋山 卓美 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

松藤 寛 日本大学生物資源学部  
講師  
島村 智子 高知大学農学部 准教授  
大槻 崇 千葉大学大学院薬学研究院  
助手  
合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所  
生薬部 部長  
吉田 隆志 松山大学薬学部 教授  
好村 守生 松山大学薬学部 助教  
小林 義和 (株) インテリジェントセ  
ンサーテクノロジー  
濱田 ひかり (株) インテリジェントセ  
ンサーテクノロジー  
石附 京子 国立医薬品食品衛生研究所  
食品添加物部  
瀧野 裕之 (独) 医薬基盤研究所  
松波 勝義 広島大学大学院医歯薬学総  
合研究科 講師  
末吉 恵津子 広島大学大学院医歯薬学総  
合研究科 助教  
日本食品添加物協会

## A. 研究目的

既存添加物は、平成7年5月の食品衛生法の改正に伴い、従来から使用されていた天然添加物に対する経過措置として使用を認めている天然添加物である。これまでに厚生労働省は既存添加物の安全性と品質を確保するために成分規格設定に向けて積極的に取り組んできたが、既存添加物の多くで成分規格が依然として未整備なままであるのが現状である。天然物からの抽出物であり多成分からなる品目の多くは、規格の対象とする有効成分や不純物等が未解明なまま残されており、規格整備を困難にしている。これまでに成分研究が進んだ品目は、成分組成が比較的単純であり、主な有効成分が既知であるものが多く、含有成分の網羅的単離・構造決定による研究手法によって多くの成果を挙げてきた。しかし、残された品目、特に、酸化防止剤、苦味料、増粘安定剤、ガムベースの中には、有効成分が多く類似化合物の混合物であると考えられている品目が少なくない。また、有効成分自体が明確でない品目もある。こうした品目については、個々の化合物の化学構造を同定、定量することは膨大な時間と労力を必要とする。これまでのような含有成分の網羅的構造決定は現実的には困難である。

そこで、本研究では平成17～19年度の3年間で、既存添加物のうち、含有成分に関する基礎情報が不足している酸化防止剤、苦味料、増粘安定剤、ガムベースに重点を置き、添加物の効果の特徴付ける成分を添加物の有効性（活性）を測定する手法（活性測定法）を組み合わせながら解析し、品質評価の指標となる成分を明らかにすることをめざした。また、既存添加物製品の品質や機能特性を簡便に評価する方法の開発をめざした。複数成分の混合物である添加物のプロファイル解析と品目確認に有用な

GC/MSやLC/MSによる成分分析法の開発も行った。さらに、既存添加物の規格設定に向けての検討を行った。

品目群ごとに以下の研究目標を立てた。

### 1) 酸化防止剤

有効成分と考えられる成分が類似化合物の混合物と思われる品目（例：ポリフェノール類混合物、カテキン混合物などを主成分とすると思われる品目）について、複数の抗酸化活性測定系を利用して含有成分を解析し、有効成分の同定と活性の評価を行う。各含有成分の添加物の機能発現への寄与率を評価し、品質評価の指標となる成分を明らかにする。また、各種抗酸化活性測定法を比較して、対象品目に適した活性測定法を選択し、既存添加物の規格試験法への応用を検討する。

### 2) 苦味料

個々の含有成分の正確な構造決定が困難と思われる品目（例：タンニンやテルペノイドを主成分とすると思われる品目）や、苦味成分が解明されていない品目、主成分とされる化合物以外の含有成分が不明確な品目など、含有成分が未解明な品目が少なくない。そこで、味覚センサーを使って、苦味に関与する成分の解析や各含有成分の苦味への寄与率の評価などを行う。それを基に、品質評価の指標となる成分を明らかにする。

### 3) 増粘多糖類（増粘安定剤）

構成糖の組成比や糖の結合様式などが必ずしも明確でない品目が少なくない。そこで、増粘多糖類の構成糖の組成比や糖の結合様式などを解析して化学構造情報を増やすとともに、増粘多糖類をその構造的特徴から類別するための分画法や品質評価試験法を開発する。

### 4) ガムベース

ガムベースは、主成分によって、テルペノイド系、エステル系、炭化水素系に

大別できるが、そのうち前2つは、製品中の含有成分が十分に解明されていないうえ、確認試験法の検討が不十分であるなどの問題点がある。そこで、それらの含有成分の解析と確認試験法の開発を行う。

- 5) 既存添加物の規格策定に向けての検討  
今後の既存添加物の国による成分規格設定に向けて規格試験法を整備することをめざし、既存添加物の自主規格作成を食品添加物業界に依頼する。

本研究により、天然添加物の特性を考慮した品質評価が可能となり、含有成分の解明が遅れている既存添加物品目の成分研究が進む。さらには、研究班の下で既存添加物の自主規格作成を業界に依頼することで、これらの研究成果を反映させることができる。それらを通して、既存添加物の安全性確保の進展が期待できる。

## B. 研究方法

### 1. 試料

既存添加物製品は、日本食品添加物協会から提供を受けた。既存添加物と類似の品目名をもつ（本質成分が同一であると推測される）市販研究用試薬も試料とした。

### 2. 酸化防止剤に関する研究

#### 2.1. 食品添加物の抗酸化力価測定法の開発

3種類の抗酸化力価測定法（DPPH ラジカル消去活性測定法、ABTS ラジカル消去活性測定法、スーパーオキシドアニオン消去活性測定法）に基づく抗酸化力価測定法の標準試験操作法を作成し、複数機関で適用性を評価・検証した。また、DPPH ラジカル消去活性測定法を用いて、2種類の抗酸化剤を混合したときの抗酸化性の効果（相乗効果、相加効果、相殺効果）を調べた。

#### 2.2. 複数成分からなる天然酸化防止剤の成分解析と成分分析法の開発

各種天然抗酸化剤に含まれる抗酸化活性成分の同定と成分ごとの活性測定を行った。主要成分の分析法を開発し、品質評価の指標となる抗酸化作用を担う主要成分を解析した。必要に応じて原料植物の含有成分も解析し、市場流通製品と成分を比較した。

### 3. 苦味料に関する研究

#### 3.1. 味覚センサーの利用に関する基礎的検討

各種モデル化合物（市販の研究用試薬）および苦味料添加物を用いて、味覚センサー（インテリジェントセンサーテクノロジー社 SA402B）による苦味の質の解析、定量性などの基礎的分析方法を検討した。また、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、味覚センサーによる苦味強度との比較を行った。さらに、既存添加物苦味料レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物、レイシおよびヒメマツタケから単離した主要含有成分と抽出物全体を味覚センサーで解析した。

#### 3.2. 苦味料の成分研究

各種苦味料およびその原料植物の成分解析を行った。一部の原料植物および類縁植物については、含有成分解析とDNA分析を連携して行った。

### 4. 増粘多糖類に関する研究

硫酸化多糖類を含む増粘多糖類とガラクトースを含む増粘多糖類を対象にして、その糖鎖化学構造を解析した。また、ウロン酸と中性糖を含む増粘多糖類の構成糖組成分析法を検討した。

### 5. ガムベースに関する研究

テルペノイドを主体とする品目とワックスを主体とする品目に分けて、簡便な確認

試験として利用できる TLC 分析法、および含有成分確認のための GC/MS 分析法と LC/MS 分析法による成分解析と分析法の開発を行った。

#### 6. その他の添加物の成分・品質に関する研究

既存添加物ハウセンカ抽出物の成分研究を行った。

#### 7. 業界自主規格の作成

既存添加物の自主規格作成を食品添加物業界に依頼した。

#### 8. 倫理面への配慮

本研究では、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(ヒト試験)を行ったが、厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に従って実施した。それ以外では、実験動物およびヒトの試料を用いる研究はなかったため、実験動物およびヒトの倫理面で問題となることはない。

### C. 研究結果および考察

#### 1. 酸化防止剤に関する研究

##### 1.1. 食品添加物の抗酸化力価測定法の開発

各種食品添加物 22 品目の抗酸化活性を、 $\beta$ -カロテン退色法(リノール酸酸化阻害活性)、DPPH ラジカル消去活性測定法(DPPH 法)、スーパーオキシドアニオン消去活性測定法(WST-1 法)、ESR 法の 4 つの方法で測定し、活性強度を比較すると、細かく見ると測定方法によって活性強度の傾向が異なる品目が一部あることがわかった。また、WST-1 法と ESR 法の測定値間には比較的高い一致が見られた。なお、同一品目でも製品間で活性値にばらつきが見られたことから、成分組成や有効成分含量が異なることが示唆された。(平 17)

そこで、天然酸化防止剤の中で主要含有成分として明らかになっている単一化合物(カテキン、ケルセチン、セサモール、フェルラ酸、ヘスペレチン、没食子酸、モリン、 $d\cdot\alpha$ -トコフェロール、 $d\cdot\delta$ -トコフェロール、エラグ酸)を市販研究用試薬から購入し、DPPH 法、ABTS ラジカル消去活性測定法(ABTS 法)、WST-1 法の 3 つの測定法を 2 機関共同で抗酸化能の評価を行った。各測定法において試料濃度と抗酸化活性の関係を調べた結果、測定系間で活性の高低の傾向は概して一致していたので、酸化防止剤評価方法として適していると考えられた。これらの測定法はいずれも酸化防止剤評価方法として適しているものと考えた。(平 17)

そこで、DPPH 法、ABTS 法、WST-1 法について抗酸化力価測定法の標準試験操作法を作成し、単一成分からなる酸化防止剤 9 製品に適用して、3 機関で適用性を評価・検証した。その結果、ほぼ妥当な結果が得られた。(平 18)

一方、天然酸化防止剤 26 種類の抗酸化能を 2 機関共同で評価したところ、3 つの測定法で得られた抗酸化活性の高低の傾向は、研究室間で概して一致したものの、室間再現性がまだ不十分であり、今後の課題として残った。(平 18)そこで、DPPH 法、ABTS 法、WST-1 法に基づく抗酸化力価測定法の標準試験操作法を再度見直し、複数成分からなる天然酸化防止剤 26 製品に適用して、再度 2 機関で適用性を評価・検証した。その結果、ほぼ妥当な結果が得られた。(平 19)

DPPH ラジカル消去活性法を用いて、複数の抗酸化剤を混合したときの抗酸化性の効果(相乗効果、相加効果、相殺効果)を調べた。その結果、一部の化合物間では微弱な相乗効果、相殺効果が認められたものの、全体として、抗酸化剤の併用効果は相

加的であると考えられた。(平 19)

◎3年間の成果として、DPPH ラジカル消去活性測定法、ABTS ラジカル消去活性測定法、スーパーオキシドアニオン消去活性測定法に基づく食品添加物の抗酸化力価測定法の原型を作ることができた。抗酸化活性標準操作法の室間再現性を向上させることが今後の課題である。また、今回検討対象とした天然抗酸化剤間の併用効果は、DPPH 法で測定した結果では全体としては相加的であると考えられた。

## 1.2. 複数成分からなる天然酸化防止剤の成分解析と成分分析法の開発

既存添加物ルチンの基原のひとつとして既存添加物名簿にソバ全草が収載されているので、ソバ葉の成分研究を行い、主成分ルチン (quercetin 3-rutinoside) とクエルシトリン (quercetin 3-L-rhamnoside) を同定した。(平 17)

カンゾウ油性抽出物市場流通製品の含有成分と原料植物種との関連を調べた。*Glycyrrhiza glabra* を原料とした製品と *Glycyrrhiza inflata* を原料とした製品は主成分が異なり、前者は主成分が glabridin であり、後者は主成分が Licochalcone A であった。TLC 及び HPLC で両者を容易に区別できることを確認した。(平 18~19)

ユーカリ葉抽出物の市場流通製品と原料植物の含有成分を解析した。市場流通品では、主成分がフラボノール配糖体であること、低極性化合物群の中にセスキテルペン類とトリテルペン類が含まれていること、メタノール抽出画分には Gallic acid、Quercetin 3-O-β-D-glucuronide、Kaempferol 3-O-β-D-glucuronide が主成分として含まれていることを明らかにした。一方、既存添加物名簿ではユーカリ葉抽出物の主成分はβ-ジケトンであると記載されているが、ユーカリ (*Eucalyptus globulus*) の葉にはβ-ジケトン類が含まれていたものの、分析対象とした市場流通製品からは検出されなかった。ユーカリ葉からの抽出法により、抽出物中の含有成分も抗酸化活性

も著しく異なることが確認された。ユーカリ葉中のβ-ジケトン類は比較的低極性化合物であると考えられるのに対して、ユーカリ葉抽出物の抗酸化能を担う主要成分であるポリフェノール類は極性化合物である。抗酸化活性成分を効率的に抽出する条件ではβ-ジケトン類は抽出されにくいと推測される。したがって、製法(抽出法)によっては製品中にβ-ジケトン類を含む可能性はあると考察されるが、β-ジケトン類はユーカリ葉抽出物の抗酸化能を担う指標成分にはなり得ないと考えられる。(平 17~19)

γ-オリザノール(平 18)、チャ抽出物(平 19) およびローズマリー抽出物(平 19) に含まれる抗酸化活性成分の同定と成分ごとの活性測定を行い、製品の抗酸化活性を主に担っている成分を明らかにした。

ブドウ種子抽出物(主成分:プロアントシアニジン)(平 17~19) およびγ-オリザノール(主成分:フェルラ酸エステル)(平 18~19) に含まれる成分の分析法(HPLC 分析法、抗酸化活性測定法)を開発した。また、γ-オリザノールの定量法として定量 NMR 法の有用性を示した。

チャ抽出物、ローズマリー抽出物、ブドウ種子抽出物、γ-オリザノールの4品目については、主要成分の分析法を開発し、品質評価の指標となる抗酸化作用を担う主要成分を明らかにできた。

◎3年間の成果として、未解明であった含有成分の解析、添加物製品の抗酸化活性を担っている主要成分の同定と抗酸化活性測定法、および抗酸化活性成分の HPLC 分析法の開発ができた。今後、研究成果を成分規格試験法に応用することが期待できる。また、既存添加物の成分規格項目である「定義」を検討するのに重要な情報を得ることができた。

## 2. 苦味料に関する研究

### 2.1. 味覚センサーの利用に関する基礎的検討

化合物純品を試料として味覚センサーによる苦味の質の解析を行い、味覚センサー

の応答パターンが化合物の化学構造により特徴的であることが分かった。味覚センサーの応答パターンから含有される苦味成分の基本化学構造がある程度推測できることが示唆された。(平 17~18)

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、味覚センサーによる苦味強度との比較を行った。その結果、味覚センサーの応答が低い化合物のうち、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、味覚センサーの応答値から算出する既存の味覚項目値ではヒトが感じる苦味の強さが検出されにくく、従来は味覚センサーで測定されてこなかった物質も、新たな苦味強度予測式を設定することで苦味強度を示せる可能性が示唆された。(平 19)

個別品目の評価に関する味覚センサー応用の可能性についても検討するために、既存添加物苦味料レイシ抽出物、ヒメマツタケ抽出物を対象とした検討を行った。レイシおよびヒメマツタケから抽出した主要含有成分と抽出物全体とを味覚センサーで解析し、既存添加物苦味料レイシ抽出物のヒメマツタケ抽出物の各製品の味パターンと比較したところ、レーダーグラフを用いた味パターンを比較するにより、味覚センサーの応答に寄与する成分を判別できることが明らかになった。(平 19)

◎3 年間の成果として、味覚センサーの応答パターンから含有される苦味成分の基本化学構造をある程度推測できることが示唆された。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含めて、味覚センサーの応答値から算出する新たな苦味強度予測式を設定することでヒトが感じる苦みの強さを示せる可能性が得られた。

## 2.2. 苦味料の成分研究

ヒキオコシ抽出物 (平 17~18)、ニガヨモギ抽出物 (平 19)、ジャマイカカシア

抽出物 (平 19)、レイシ抽出物 (平 17~19)、ヒメマツタケ (アガリクス) 抽出物 (平 19) の成分解析を行った。

ヒキオコシ抽出物の品質評価を目的として、ヒキオコシおよび類縁植物の成分解析と DNA 分析を行った。その結果、日本の生薬市場の中では、ヒキオコシ (エンメイソウ) (*Isodon japonicus*) またはクロバナヒキオコシ (*Isodon trrichocarpa*) に代わって、中国産のヒキオコシ同属植物がヒキオコシの名称で広く流通していることが示唆された。市販のヒキオコシ抽出物製品は、定義に記載されているヒキオコシ (*I. japonicus*) 以外の中国産の *Isodon* 属植物を原料に製造されたと推定された。日本産ヒキオコシと中国産の同属植物とは、主成分としてウルソール酸を共通成分とするが、ヒキオコシに特徴的な主要成分であるジテルペン誘導体に関して両者に共通成分は認められなかった。したがって、ヒキオコシ抽出物の原料として多種多様の *Isodon* 属植物が用いられる可能性が考えられ、その品質に充分注意する必要があると考えられた。(平 17~18)

ニガヨモギからは、ニガヨモギに特徴的な成分である数種のセスキテルペン 2 量体を分離すると共に、新規のセコ型セスキテルペン及びトリテルペンを分離した。(平 19)

レイシ抽出物中の苦味成分を味覚センサーで解析することを目的に、レイシ (霊芝) に含まれる苦味トリテルペン類の単離と構造決定を行った。紫芝に含まれる苦味成分の探索を行い、炭素数 27 の lucidenic acid 型の新化合物 4 種の単離・構造決定を行なった。紫芝と赤芝の HPLC による成分分析を行い、紫芝に含まれるトリテルペンは赤芝のものとは比べ、著しい差異が認められた。さらに、黄芝から 4 種の新規ラノスタン型トリテルペンを含む複数の化合物を単離した。(平 17~19)

ヒメマツタケからは、6 種類の新規化合物を含む 10 数種類の化合物を単離した。(平 19)

レイシとヒメマツタケから抽出単離した主要成分は味覚センサーの解析に用いた。

ジャマイカカシア抽出物の国内流通製品について、主成分のクアシンおよびネオクアシンに加え、他の副成分を解析した。

製品の基原を考察するため、本品目の基原として既存添加物名簿に記載されているジャマイカカシヤ (*Picrasma excelsa*) と同科の植物であるアメリカニガキ (*Quassia amara*) およびニガキ (*Picrasma quassioides*) から抽出物を調製し、添加物製品で同定した副成分の含量を比較した。その結果、既存添加物ジャマイカカシヤ抽出物の国内流通製品は、アメリカニガキから調製した抽出物と成分が類似していた。関連情報も考慮すると、国内流通製品の基原植物は、アメリカニガキである可能性が考えられた。(平 19)

◎3年間の成果として、ヒキオコシ抽出物、ニガヨモギ抽出物、ジャマイカカシヤ抽出物、レイシ抽出物、ヒメマツタケ(アガリクス)抽出物の成分解析と基原の考察を行った。苦味料の品質評価の指標成分となり得る化合物候補を見出すことができた。また、ヒキオコシ抽出物とジャマイカカシヤ抽出物においては、市場流通品の抽出原料が本品目の基原と記載されている植物種とは異なる種であることが示唆された。

### 3. 増粘多糖類に関する研究

硫酸化多糖類を含む増粘多糖類としてカラギーナン、ファーセララン、フクロノリ抽出物(平 17~18)、ガラクトースを含む増粘多糖類としてグアーガム、カロブビーンガム、カシアガム(平 19)を対象とし、その糖鎖化学構造を解析した。増粘多糖類の分子量、構成糖組成比、糖の結合様式など、基本的化学構造情報が得られた。

ウロン酸と中性糖を含む増粘多糖類の構成糖組成分析法を検討し、ジエチルジチオアセタール誘導体化してGC分析することで、糖組成の違いにより品目間の区別を行うことができた。この方法が構成糖の組成分析試験法に利用できることを示した。(平 18)

◎3年間の成果として、硫酸化多糖類を含む増粘多糖類であるカラギーナン、ファーセララン、フクロノリ抽出物を、ガラクト

ースを含む増粘多糖類であるグアーガム、カロブビーンガム、カシアガムについて、分子量、構成糖組成比、糖の結合様式など、基本的化学構造情報が得られた。また、ウロン酸と中性糖を含む増粘多糖類の構成糖組成分析法を検討し、糖組成の違いにより品目間の区別を行うことができた。この方法が構成糖の組成分析試験法に利用できることを示した。

### 4. ガムベースに関する研究

テルペノイドを主体とする品目(平 17~19)とワックスを主体とする品目(平 17)に分けて、その成分解析と分析法の開発を行った。

テルペノイド系ガムベース製品については、トリテルペノイドが主成分とされているマスチック、ダンマル樹脂、ニューコウ、ベンゾインガム、エレミ樹脂の5品目とジテルペノイドが主成分とされているロシン、コーパル樹脂の2品目について、メタノール抽出物を調製し、成分分析を行った。製品をTLCにより分析した結果、異なる品目は互いに異なるパターンを示し、同一品目はほぼ同じパターンを示した。LC/MSによる分析では、いずれの品目についても主要構成成分を検出することができ、品目に特異的で指標成分になり得る化合物が検出された。誘導体化した試料のGC/MSによる分析では、いずれの品目においても主要構成成分を検出でき、特異的で指標成分になり得る化合物が検出された。以上のように、簡便な確認試験として利用できるTLC分析法、および含有成分確認のためのGC/MS分析法とLC/MS分析法を開発した。(平 17~18) さらに、UPLC/MS分析法を検討した。従来のLC/MSと比較してシャープなクロマトグラムピークが得られ、品目間で明らかな違いが認められた。確認試験における指標成分となり得るテルペノイ

ド系化合物を特定できたことで、UPLC/MS が確認試験法として有用であることが示された。(平 19)

エステル系ガムベース製品については、TLC により分析の結果、各品目間で含有脂質成分組成に違いが見られ、TLC は確認試験法の一つとして有用であると考えられた。また、GC/MS により構成脂肪酸・アルコールを分析した結果、種類や相対比率が各品目ごとに特徴的であり、また、IR スペクトルが似ている品目同士も、脂肪酸組成分析とアルコール組成分析を組み合わせることで、品目同士を区別できることが分かった。以上のように、TLC、GC/MS 分析が各品目の確認方法として利用できることが示された。

◎3 年間の成果として、テルペノイドを主体とする品目とワックスを主体とする品目に分けて、その成分解析と分析法の開発を行った。簡便な確認試験として利用できる TLC 分析法、および含有成分確認のための GC/MS 分析法と LC/MS 分析法を開発した。

#### 5. その他の添加物の成分・品質に関する研究

ハウセンカ抽出物の品質規格作成のための基礎情報を得ることを目的に、ハウセンカ抽出物製品の含有成分を解析した。その結果、新規ナフトキノン誘導体を含む 19 種の化合物単離し、それらの構造を明らかにした。(平 17)

#### 6. 業界自主規格の作成

今後の既存添加物の国による成分規格設定に向けて、既存添加物の自主規格作成を食品添加物業界に依頼した。

平成 17 年度は、酵素 8 品目と製造用剤 1 品目の業界自主規格を新規作成し、着色料 1 品目の業界自主規格を見直し・改訂した。

平成 18 年度は、着色料・製造用剤 1 品目、酵素 3 品目の計 4 品目の成分規格を新

規に作成した。30 品目の既設定規格（甘味料 1 品目、着色料 9 品目、増粘安定剤 2 品目、酵素 18 品目）を見直した。また、食品用酵素の流通実態調査を行った。調査項目は、(1) 既存添加物酵素の名称、基原に関する調査、(2) 酵素活性規格の設定及び酵素活性測定法の統一に関する調査、(3) 微生物由来酵素を食品添加物公定書に記載するに当たっての提案の検討、である。

平成 19 年度は、着色料 2 品目、増粘安定剤 1 品目、酵素 1 品目、調味料 1 品目、製造用剤・ミネラル 17 品目、計 22 品目の既存添加物について成分規格を新規に作成した。また、26 品目の既設定規格について見直し改定を行った。なお、流通実態は確認できるものの、製造業者の特定が困難である場合や、当該製造業者の協力が得られない場合が多いことから、「参考規格」の概念を導入した。参考規格は、関連する公定規格等を基に作成した規格であり、今後製造会社等が自社規格を設定して品質管理を行う際の参考に資するための規格と位置づけた。

◎3 年間の成果として、35 品目の既存添加物の自主規格を新規に策定し、のべ 57 品目の自主規格見直しを行った。また、食品用酵素の流通実態調査を行い、既存添加物酵素の名称と基原に関する調査、酵素活性規格の設定及び酵素活性測定法の統一に関する調査、微生物由来酵素を食品添加物公定書に記載するに当たっての提案をまとめた。

#### D. 結論

本研究の目的は、特に成分研究が遅れている酸化防止剤、苦味料、増粘多糖類、ガムベースに重点を置き、添加物の有効性(活性)を測定する手法を積極的に利用することによって含有成分を解析し、品質評価の指標となる成分を明らかにすることであっ

た。また、既存添加物製品の品質や機能特性を簡便に評価する方法を開発することもめざした。さらには、研究班の下で既存添加物の自主規格作成を業界に依頼した。

本研究成果として、含有成分の解明が遅れている既存添加物品目の成分情報と品質評価のための新たな分析手法の原型を提供できたと考える。これらの研究成果が既存添加物の業界自主規格作成・改善を誘導し、それらをさらに国の成分規格原案として整備していくことを期待する。

本研究の個別成果の活用としては、

(1) 酸化防止剤に関する研究では、食品添加物の抗酸化力価測定法の原型を作ることができ、成分規格試験法になり得るめどがあった。そこで、我々はさらに研究を進め、今後3年間で天然酸化防止剤の成分規格試験法に利用できる室間再現性のある抗酸化活性標準操作法を確立する予定である。

(2) 苦味料に関する研究では、様々な苦味化合物に苦味センサーが利用可能であることを示す基礎データを集め、抽出物中の含有苦味成分の解析に味覚センサーが利用できることを示すことができた。今後は、味覚センサーとヒトによる官能検査を組み合わせた詳細な解析に基づく、味覚センサーの苦味への応用開発研究が望まれる。これまで共同研究を行ってきた味覚センサー企業を交えて今後の研究展開を検討したい。また、ヒキオコシ抽出物、ニガヨモギ抽出物、ジャマイカカシミア抽出物、レイシ抽出物、ヒメマツタケ（アガリクス）抽出物の成分解析と基原の考察を行ったが、今回の研究成果を苦味料の成分規格を新規作成する際の基礎情報として利用する予定である。

(3) 増粘安定剤に関する研究では、硫酸化多糖類を含む増粘多糖類とガラクトースを含む増粘多糖類に関する基本的化学構造情報が得られた。ウロン酸を含む増粘多糖類の解析が残る課題であるが、別途研究を進めたい。また、ウロン酸と中性糖を含む増粘多糖類の構成糖組成分析法を検討した結果、糖組成の違いにより品目間の区別ができ、この構成糖組成分析法が成分規格試験法に利用できることを確認した。これらの成果を、増粘多糖類の成分規格の確認試験法や本質記載情報の作成・改善に反映させたい。

(4) ガムベースに関する研究では、テルペノイドを主体とする品目とワックスを主体とする品目に分けて成分解析と分析法の開発を行い、簡便な確認試験として利用できるTLC分析法、および含有成分確認のためのGC/MS分析法とLC/MS分析法を開発した。これらは成分規格試験法の原型となり得ると期待される。

## E. 健康危険情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 平成 17 年度

- 1) Tada, A., Jin, Z.L., Sugimoto, N., Sato, K., Yamazaki, T., Tanamoto, K.: Analysis of the constituents in jojoba wax used as a food additive by LC/MS/MS. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 46, 198-204 (2005).

#### 平成 18 年度

- 2) Sugimoto, N., Kuroyanagi, M., Kato, T., Sato, K., Tada, A., Yamazaki, T., Tanamoto, K.: Identification of the main constituents in sandarac resin, a natural gum base. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 47, 76-79 (2006)
- 3) 金 哲龍、多田敦子、杉本直樹、佐藤恭子、増田愛乃、山形一雄、山崎 壮、棚元憲一：既存添加物ウルシロウの成分分析. *食品衛生学雑誌*, 47, 167-172 (2006)

#### 平成 19 年度

- 4) Sugimoto N, Koike R, Furusho N, Tanno M, Yomota C, Sato K, Yamazaki T, Tanamoto K. Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopic determination of the oxyethylene group contents of polysorbates. *Food Additives and Contaminants* 24: 799-806 (2007).
- 5) Maruyama T, Sugimoto N, Kuroyanagi M, Kim IK, Kamakura H, Kawasaki T, Fujita M, Shimada H, Yamamoto Y, Tada A, Goda Y. Authentication and chemical study of *Isodonis Herba* and *Isodonis* extracts. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 55: 1626-1630 (2007).
- 6) Uekusa Y, Sugimoto N, Yun YS, Sato

K, Kunugi A, Yamazaki T, Tanamoto K. Neocrocic acid: a novel crocetin glycoside with a unique system for binding sugars isolated from gardenia yellow. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 55: 1643-1646 (2007).

- 7) 杉本直樹, 多田敦子, 山崎壮, 棚元憲一. 天然保存料カワラヨモギ抽出物の有効成分の確認. *食品衛生学雑誌* 48: 106-111 (2007).
- 8) 杉本直樹, 多田敦子, 黒柳正典, 米田祐子, 尹 永淑, 功刀 彰, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一. グレープフルーツ種子抽出物および配合製品中の合成殺菌剤の調査. *食品衛生学雑誌* 49: 56-62 (2008).
- 9) 多田敦子, 増田愛乃, 杉本直樹, 山形一雄, 山崎壮, 棚元憲一: 既存添加物エステル系ガムベースの成分分析. *食品衛生学雑誌*, 48: 179-185 (2007)
- 10) 島村智子, 松浦理太郎, 徳田貴志, 杉本直樹, 山崎壮, 松藤寛, 松井利郎, 松本清, 受田浩之: 酸化防止剤力価評価のための各種抗酸化活性測定法の共同試験. *日本食品科学工学会誌*, 54 (11): 482-487 (2007)
- 11) El-Dine R. S., El-Halawany A. M., Nakamura N., Ma C., Hattori M.: New lanostane triterpene lactones from the Vietnamese mushroom *Ganoderma colossum* (Fr.) C. F. Baker. *Chem. Pharm. Bull.*, 56: 642-646 (2008).
- 12) El-Dine R. S., El-Halawany A. M., Ma C., Hattori M.: Anti-HIV protease active triterpenes from the Vietnamese mushroom *Ganoderma colossum*. *J. Nat. Prod.*, in press (2008).

## 2. 学会発表

### 平成 17 年度

- 1) 鄒大鵬、川原信夫、合田幸広：既存添加物「ハウセンカ抽出物」の成分に関する研究. 日本生薬学会第 52 回年会 (2005.9)
- 2) 多田敦子、秋山卓美、杉本直樹、山崎壮、棚元憲一、増田愛乃、山形一雄：エステル系ガムベースの成分と試験法の検討. 日本食品衛生学会第 90 回学術講演会 (2005.10)
- 3) 秋山卓美、多田敦子、杉本直樹、山崎壮、棚元憲一、林歩美、尹永淑、功刀彰：テルペノイド系ガムベースの成分と試験法の検討. 日本食品衛生学会第 90 回学術講演会 (2005.10)
- 4) Atsuko TADA, Naoki SUGIMOTO, Kyoko SATO, Takeshi YAMAZAKI, Ken-ichi TANAMOTO :  
Quantification of Wax Esters in Jojoba Wax Used as a Food Additive in Japan by LC/MS/MS.  
PACIFICHEM 2005 (International Chemical Congress of Pacific Basin Societies), Honolulu, Hawaii (2005.12)

### 平成 18 年度

- 5) 松浦理太郎、徳田貴志、杉本直樹、山崎壮、島村智子、受田浩之：各種抗酸化活性評価法による酸化防止剤の力価評価  
日本農芸化学会 2007 年度大会 (2007.3)
- 6) 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)
- 7) 佐藤直人、高江静、馬 超美、服部征

雄：紫芝 *Ganoderma chinense* の新規トリテルペノイド成分. 日本薬学会第 127 年会 (2007. 3)

### 平成 19 年度

- 8) 多田敦子、杉本直樹、秋山卓美、山崎壮、棚元憲一、尹永淑、麻野間正晴：既存添加物ジャマイカカシヤ抽出物中の副成分の分析. 日本食品衛生学会第 94 回学術講演会、静岡 (2007.10)
- 9) 秋山卓美、山崎壮、棚元憲一、ジェチルジチオアセタール化法による増粘多糖類構成糖の分析. 日本食品衛生学会第 94 回学術講演会、静岡 (2007.10)
- 10) 石附京子、多田敦子、山崎壮、棚元憲一：GC/MS によるエステル系ガムベース確認分析法の検討. 日本食品衛生学会第 94 回学術講演会、静岡 (2007.10)
- 11) 秋山卓美、山崎壮、棚元憲一：既存添加物名簿収載の樹脂由来ガムベースの成分・品質に関する研究. 第 44 回全国衛生化学技術協議会年会、津 (2007.11)
- 12) 多田敦子、古庄紀子、杉本直樹、佐藤恭子、山崎壮、棚元憲一：炭化水素系ワックスの成分比較. 第 44 回全国衛生化学技術協議会年会、津 (2007.11)
- 13) 松浦理太郎、徳田貴志、杉本直樹、山崎壮、松藤寛、松井利郎、松本清、島村智子、受田浩之：酸化防止剤の力価に対する各種抗酸化活性測定法の適用について. 日本食品科学工学会第 54 回大会、福岡 (2007.9)
- 14) 黒柳正典、佐藤さゆり、杉本直樹、佐藤恭子、山崎壮；苦味料ヒキオコシ抽出物および中国産ヒキオコシの成分、第 51 回香料・テルペンおよび精油に関する討論会、長浜、2007 年
- 15) Salah El Dine R., El-Halawany A. M., Ma C. M., and Hattori M.: Anti-HIV lanostane triterpenes from the Vietnamese mushroom *Ganoderma*

- colossum (Fr). C. F. Baker. 日本生薬学会第 54 回年会、名古屋 (2007. 9)
- 16) 上口有美、松浪勝義、大塚英昭：アガリクス (*Agaricus blazei* Murril) の成分研究 (第 2 報) 日本薬学会年会第 128 年会、横浜 (2008.3)
- 17) 好村守生、天倉吉章、徳原美恵、吉田隆志：Eucalyptus globulus のポリフェノール成分。日本薬学会第 128 年会、横浜 (2008.3)
- 18) 杉本直樹、古庄紀子、建部千絵、多田敦子、末松孝子、内海博明、佐藤恭子、山崎 壮、棚元憲一：核磁気共鳴に基づく食品添加物の新規定量法の開発、日本食品化学学会第 14 回学術大会、西宮 (2008.5) [発表予定]
- 19) 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、西宮 (2008.5) [発表予定]
- 20) 松藤 寛、千野 誠、受田浩之、松本清、山形一雄：天然酸化防止剤ローズマリー抽出物中の活性成分について 第 14 回日本食品化学学会学術大会、西宮 (2008.5) [発表予定]
- 21) 島村智子、平山大剛、杉本直樹、山崎壮、松井利郎、松本清、受田浩之：酸化防止剤の力価評価に対する各種抗酸化活性評価法の適用性 -天然物由来酸化防止剤について-、日本食品科学工学会第 55 回大会、京都 (2008.9) [発表予定]

**G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)**

なし

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規格に関する研究

平成 17 年度～平成 19 年度分担総合研究報告書

天然物酸化防止剤の抗酸化活性評価法に関する研究

分担研究者 松本 清 九州大学農学研究院 教授  
分担研究者 受田 浩之 高知大学農学部 教授  
協力研究者 島村 智子 高知大学農学部 准教授  
協力研究者 松藤 寛 日本大学生物資源学部 講師

研究要旨

3 種類の抗酸化力価測定法（DPPH ラジカル消去活性測定法、ABTS ラジカル消去活性測定法、スーパーオキシドアニオン消去活性測定法）に基づく食品添加物の抗酸化力価測定法の標準試験操作法の原型を作ることができた。また、2 種類の抗酸化剤を混合したときの併用効果は相加的であると考えられた。

研究成果の総括

食品添加物である酸化防止剤の品質規格の設定を目的とし、その基礎となる抗酸化活性評価法の検証を行った。

抗酸化活性評価の公定法の候補として (1) 過去の研究において使用されてきた実績がある、(2) 短時間での測定が可能である、(3) 特殊な測定機器を必要としない汎用性の高い分光学的測定法であることを条件とし、ラジカル消去活性測定法の中から DPPH ラジカル消去活性測定法（以下、DPPH 法）、ABTS ラジカル消去活性測定法（以下、ABTS 法）を、活性酸素種消去活性測定法の中からスーパーオキシドアニオン消去活性（SOSA）測定法である WST-1 法（以下、WST-1 法）を選出した。

「既存添加物名簿収載品目リスト」に記載されている天然物酸化防止剤の中から単一成分からなる添加物（カテキン、ケルセ

チン、セサモール、フェルラ酸、ヘスペレチン、没食子酸、モリン、 $d\alpha$ -トコフェロール、 $d\delta$ -トコフェロール、エラグ酸）を選び出し、3 種類の測定法をこれらの化合物の抗酸化活性評価に適用し、2 ヶ所の研究室で共同試験を行った。各評価系の特徴について調べたところ、3 つの測定法における各化合物の活性の高低の傾向は、概して一致していることが明らかとなった。従って、これらの測定法はいずれも酸化防止剤評価方法として適しているものと考えた。一部に結果の不一致が認められたので、測定実施者から試料調製、測定操作、ならびにデータ解析に関するヒアリングを行い、不一致の認められた点を明らかとした。その後、ヒアリングの結果をもとに、試料採取量、試料調製に用いる器具の種類、測定操作、データの解析方法を指定した共通プロトコルを作成した。

続いて、ヘスペレチンを除く上記の単一

の成分からなる添加物 9 種について、DPPH 法、ABTS 法、WST-1 法の妥当性を評価するため、3 研究室による共同試験を行い、測定値の一致性を評価した。その結果、3 つの測定法における各化合物の活性の高低の傾向は、概して一致しており、3 研究室間でほぼ同じ傾向であることが明らかとなった。3 種類の抗酸化活性測定における室間再現性は良好であることが判明した。その一方、WST-1 法は先の 2 法と比較するとやや室間再現性に劣るという結果が得られた。しかし、DPPH 法、ならびに ABTS 法は、特に植物系試料に多く含まれる SOD やカタラーゼ等の抗酸化酵素の活性測定には適していないことから、引き続き、活性酸素種消去活性測定法である WST-1 法も公定法の候補として扱うこととした。

また、複数成分から成る天然物酸化防止剤を対象とした検討も行った。まず、天然物酸化防止剤 29 種について、上記 3 評価系を適用しその抗酸化性を評価した。その結果、これらの測定法はいずれも酸化防止剤評価方法として適しているものと考えられた。そこで、さらに、単一化合物からなる抗酸化剤を用いて検証した 3 種類の抗酸化活性測定の共通プロトコールを、既存添加物に分類される酸化防止剤のうちで複数成分から成る酸化防止剤 26 種類（チャ抽出物 (4 種類)、緑茶エキス、ミックストコフェロール、d- $\alpha$ -トコフェロール、d- $\gamma$ -トコフェロール、d- $\delta$ -トコフェロール、トコトリエノール、カンゾウ油性抽出物、ブドウ種子抽出物、単糖・アミノ酸複合物、生コーヒー豆抽出物、ローズマリー抽出物 (2 種類)、コメヌカ酵素分解物、コメヌカ油抽出物、 $\gamma$ -オリザノール、フェルラ酸、ヤマモモ抽

出物、エンジュ抽出物、酵素処理イソクエルシトリン、ルチン酵素分解物、ルチン、酵素処理ルチン) に適用して抗酸化活性を測定し、DPPH 法、ABTS 法、WST-1 法を評価した。この場合は、2ヶ所の研究室での共同試験とした。共同試験結果の回帰分析を行ったところ、3 つの測定法すべてにおいて 2 研究室で得られた結果の間に有意な相関が認められた ( $r = 0.990 - 0.992$ )。また、回帰式の傾きは DPPH 法で 1.00、ABTS 法で 1.11 であった。また、WST-1 法では、「WST-1 法において 50% 阻害を与える試料濃度が SOD 1 unit に相当する」との新しい定義を導入することで、共同試験結果の回帰直線の傾きが 1.03 となった。以上の結果より、DPPH 法、ABTS 法、WST-1 法は共同試験においてほぼ同一の結果を与えることが判明した。

本研究の成果は、DPPH 法、ABTS 法、WST-1 法が酸化防止剤の抗酸化活性評価方法として適用可能であることを示唆するものであった。

更に、上記 9 種の単一成分食品添加物と、合成抗酸化剤 BHT 及び BHA を加えた 11 種について、それらの 2 成分混合系における抗酸化剤の効果（相乗効果、相加効果、相殺効果）を 2 つのレベル（IC<sub>50</sub> の濃度、IC<sub>25</sub> の濃度）で検討した。測定法は共同試験の結果、研究室間での測定値が最も安定していた DPPH ラジカル消去活性法を採用した。55 通り×2 レベルの組み合わせ試験の結果、18 種類の組み合わせで相加効果、36 種類の組み合わせで相乗効果が認められた。しかしながら、相乗効果の認められた組み合わせでも、その効果は弱く相加性を僅かに上回る程度であった。相殺効果が

認められた組み合わせは1種類のみであったが、その効果も相加性を僅かに下回る程度であった。全体として、抗酸化剤の併用効果は相加的と考えられた。

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 17～19 年度分担総合研究報告書

天然由来苦味料の評価法に関する研究

—味認識装置の利用に関する基礎的検討—

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

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。このことから、味認識装置の応答パターンから、含有される苦味成分の基本化学構造がある程度推測できることが示された。また、味認識装置の応答が低い苦味化合物は、一部の化合物を除いてはヒトの舌での感度も低いことが分かった。また、味認識装置の苦味項目値の算出式を再検討し、従来は味認識装置で測定されなかった物質も、新たな苦味強度予測式を設定することで苦味強度を示せる可能性が得られた。

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たところ、レーダーグラフを用いた味パターンの測定により、抽出物（混合物）中で味認識装置の応答に寄与する成分を判別できることが分かった。

研究成果の総括

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、味認識装置による各種苦味化合物の検出の可能性、つづいて味の数値化・質の解析の可能性について検討した。

まず、各種試薬を測定した結果、キノリン及びイソキノリンアルカロイドやベンゼン誘導体は濃度相関性をもって明確に苦味物質として検知できた。プリンアルカロイドでは、カフェインは値の検知ができなかったものの、その一水和物、メチル基の取れたテオブロミンでは検知可能であった。テルペン及びその配糖体は、溶解性の限界と感度の低さのためか、検知できないものが多かった。また、トリテルペンであるクアシンは検知できなかったものの、これを主成分の一つとして含有する食品添加物ジャマイカカシアは、

味認識装置により明瞭に検知することができた。

次に、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。これらの結果から、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