

羅漢果配糖体の甘味特性およびその改善

村田雄司^{*,**§}, 吉川慎一^{*}, 鈴木靖志^{*},
杉浦正毅^{*}, 乾 博^{**}, 中野長久^{**}^{*} サラヤ株式会社バイオケミカル研究所^{**} 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻Sweetness Characteristics of the Triterpene Glycosides in *Siraitia grosvenori*Yuji Murata^{*,**§}, Shinichi Yoshikawa^{*}, Yasushi A. Suzuki^{*},
Masaki Sugiura^{*}, Hiroshi Inui^{**} and Yoshihisa Nakano^{**}^{*} Biochemical Laboratory, Saraya Co. Ltd., 24-12 Tamate-cho, Kashiwara, Osaka 582-0028^{**} Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Life and Environment Sciences,
Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Nakaku, Sakai, Osaka 599-8531

The aim of this study was to evaluate the sweetness characteristics of a plant-derived sweetener from *Siraitia grosvenori* that contains triterpene glycosides. Sweetness qualities of four triterpene glycosides were found to be superior to rebaudioside A in stevia, dipotassium glycyrrhizinate in licorice, and saccharin sodium.

Using ripe *S. grosvenori* fruits as starting materials, a single-step chromatographic procedure at an industrial level yielded a concentrated extract in which four triterpene glycosides accounted for 35%. The obtained extract showed excellent sweetness-quality. When the young fruits were utilized instead, the sweetness-quality of the obtained extract was inferior to the one obtained from the ripe fruits.

Mogroside V, one of the main sweetness components of *S. grosvenori*, was trans-glycosylated by cyclodextrin glucanotransferase, before being partially hydrolyzed by glucoamylase to produce mogroside V derivatives to which 1 to 3 glucose residues were conjugated. The sweetness intensity of the derivatives was found to decrease as the number of additional glucoses increased. The sweetness-quality, however, was improved in the tri glucose-conjugated derivative compared with mogroside V.

In conclusion, the *S. grosvenori* extract is a potential source of sweeteners for various foods. In addition, when approved as a food additive, mogroside V derivatives are expected to expand the market for sweeteners.

(Received Apr. 4, 2006 ; Accepted Jun. 22, 2006)

近年では、消費者の低甘味嗜好の高まりや健康に対する認識向上などの要因により「砂糖無添加」や「低カロリー」などを標榜した食品が数多く上市されている。特に、糖尿病や肥満症をはじめとする生活習慣病の予防の観点から、砂糖に替わる高甘味度甘味料の研究開発が活発化している。しかし、合成甘味料のなかには、人体への安全性評価に対して議論がつきまとうものがある。

これに対して、植物性の高甘味度甘味料としては、甘草抽出物やステビア抽出物が良く知られており、長年の使用経験もあることから、人体に対する安全性は比較的高く評価されている。しかし、その甘味質については、ショ糖を代表とする糖類の甘味質とは異なり、甘味がいつまでも残留し、多量に使用すると苦みや収斂味を感じるなどの問題

点をもっていた。

ところが、植物性の甘味料のなかでも、中国広西壮族自治区の桂林周辺の特産品の一つである羅漢果は、甘味質が大変に良いことで注目されている。羅漢果は、古くから「神果」として珍重されてきたウリ科の多年生薬用植物であり、強い甘味を呈し、古代中国においては、咳止めや喉荒れ緩和などに対する民間薬として広く供されてきた。また、近年の研究で、羅漢果に様々な生理活性が見いだされており、機能性植物系甘味料として脚光を浴びている^{1)~6)}。

羅漢果に含まれる主たる甘味成分は、mogrolをアグリコンとしグルコースを5残基結合したトリテルペン配糖体であるmogroside Vであり、その甘味強度は砂糖の300倍以上とされている(化学構造は図1に示す)^{7)~9)}。また、これ以外に、副甘味成分として、類似した化学構造を有する3種のトリテルペン配糖体(11-oxo-mogroside V, mogroside IV, siamenside I)が甘味成分として見いだされている。

^{*} 〒582-0028 大阪府柏原市玉手町 24-12^{**} 〒599-8531 大阪府堺市中央区学園町 1-1[§] 連絡先 (Corresponding author), murata@saraya.com

しかし、羅漢果の甘味質の詳細に関する報告例はない。

本報では、羅漢果抽出物からトリテルペン配糖体をそれぞれ分取し、高純度に精製して、甘味質の基本性能である「苦み、後引き、しつこさ、くせ、渋味、刺激、すっきり感、まるやかさ」について数量的な解析を行い、ショ糖や他の高甘味度甘味料と比較試験を行った。また、実用化を前提として、これらトリテルペン配糖体を高濃度で含む濃縮物（羅漢果甘味配糖体濃縮物）を工場レベルで調製し、その甘味質について検討を加えた。

著者らは、以前に甘味成分の物理化学的特性を改変する目的で、羅漢果配糖体の主たる甘味成分である mogroside V に糖転移酵素を作用させ、 α 結合でグルコース残基をさらに付加させ、次いでこれを糖化型アミラーゼで部分分解した部分分解グリコシル化 mogroside V の調製方法およびその甘味強度について報告した¹⁰⁾。本報では、mogroside V にグルコースを1~3残基付加させたグリコシル化 mogroside V の詳細な甘味質について、数量的な解析を行い、ショ糖が有する甘味質と比較した結果についても合わせて報告する。

実験方法

1. 羅漢果トリテルペン配糖体の標準物質の調製

羅漢果熱水抽出物を Guilin S & T New Tech. Company (中国広西壮族自治区) より入手し、カラムクロマトグラフィーを数回繰り返すことにより mogroside V, 11-oxo-mogroside V, mogroside IV および siamenoside I を精製した。

すなわち、10% (w/w) 羅漢果抽出物 50 mL を、濾過して不溶物を除去した後、蒸留水で平衡化させた分取用中圧 ODS カラム (LiChroprep RP-18, Merck, ϕ 36 mm \times 330 mm) に吸着させた。蒸留水 500 mL および 20% (v/v) エタノール溶液 500 mL で洗浄した後、各トリテルペン配糖体はエタノール/水系グラジエント (20%~80% (v/v) エタノール, 2000 mL, 流速 1.5 mL/min) で溶出した。なお、トリテルペン配糖体の溶出は、紫外吸収 (波長 203 nm) を測定することによりモニターした。同様の ODS カラムクロマトグラフィーを繰り返し行い、mogroside V, 11-oxo-mogroside V, mogroside IV および siamenoside I の精製標品 (純度 96% 以上) を得た。

一方、アグリコン (mogrol) に 1~3 残基のグルコースが残ったトリグルコース体、ジグルコース体およびモノグルコース体は、mogroside V をセルラーゼで部分分解することにより調製した。5 g の mogroside V (純度 60% 品) を酢酸緩衝溶液 (100 mmol/L, pH 4) 50 mL に溶解し、分解酵素としてセルロシン AC100 (エイチビィアイ株式会社) 1 g を添加し、40°C で 24 時間反応させた。10 分間の煮沸により酵素反応を停止させ、遠心分離後、上清液を回収した。回収した液は、上記の分取用中圧 ODS カラムを用

いて精製した。さらに、40% (v/v) アセトニトリル水溶液に溶解後、分取用高速液体カラムクロマトグラフィー (HPLC) (分離カラム: Nucleosil 100-5C18, ϕ 20 mm \times 250 mm, 移動相: アセトニトリル 40% (v/v), 流量: 6.0 mL/分) を行った。分取 HPLC による精製を繰り返し行い、純度 80% 以上のトリグルコース体 (以下 mogroside III とする)、純度 85% 以上のジグルコース体 (以下 mogroside II とする)、および純度 95% 以上のモノグルコース体 (以下 mogroside I とする) をそれぞれ調製した。なお、mogroside I, mogroside II, mogroside III のグルコース結合位置に関しては未同定である。

レバウディオサイドは、守田化学工業社のレバウディオサイド A9-90 (レバウディオサイド A: 48% 以上, ステビオサイド: 8% 以下) を、グリチルリチン酸ジカリウムは丸善製薬製の市販品 (純度 95% 以上) を、サッカリンナトリウムは片山化学工業の試薬 (純度 99%) を用いた。

2. 各種羅漢果甘味配糖体濃縮物の調製

成熟度 (収穫時期は 10 月上旬~11 月下旬) の異なる羅漢果果実から得られた 3 種の熱水抽出物を Guilin S & T New Tech. Company より入手し、工場レベルでのカラムクロマトグラフィーにより羅漢果トリテルペン配糖体を部分精製し、羅漢果甘味配糖体濃縮物を調製した (なお、成熟度の低い未熟な果実から得られたものから順に A, B, C と名付けた)。すなわち、羅漢果熱水抽出物は固形分として約 10% になるように水で希釈した後、カラム (カラムの体積 0.4 立方メートル, 吸着樹脂 (YMC 社製: ODS-A120S-150) の体積 0.3 m³) に導入し、トリテルペン配糖体類を樹脂に吸着させた。カラムを水洗した後、75% (v/v) エタノールを用いて配糖体画分を溶出させた後、エタノールを減圧留去し、スプレードライヤーを用いて粉体の羅漢果甘味配糖体濃縮物を調製した。さらに、羅漢果甘味配糖体濃縮物 C については、上記カラムクロマト操作を再度繰り返すことで配糖体純度を高めたもの (羅漢果甘味配糖体濃縮物 D) も調製した。

3. グリコシル化 mogroside V の調製

Mogroside V のグリコシル化については、既報¹⁰⁾に従って調製した。すなわち、受容体基質である mogroside V に、糖供与体基質として α 化タピオカ澱粉を添加し、*Bacillus macerans* 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ (CGTase) を用いて糖転移反応を行った。さらに、グリコシル化 mogroside V の α グリコシル基を部分的に加水分解するために、糖化型 α アミラーゼを作用させ、3 種の部分分解グリコシル化 mogroside V (グルコースが 1~3 分子余分に結合したもの: 以下 mogroside V + 1 glc, mogroside V + 2 glc, mogroside V + 3 glc とする: いずれも純度 95% 以上) を調製した。

4. 甘味強度の測定

甘味強度の測定は、熟練健常被験者 15 名 (男性 6 名, 女

性9名、平均年齢31.1歳)に、10% (w/v) ショ糖水溶液を対照として相対評価を行なった。ショ糖の甘味強度を1としたときの各試料の甘味強度をPauliの全系列法を用いて算出した。

すなわち、全被験者が標準溶液(N%)よりも甘味が「大」と感じる検体溶液の濃度と「小」と感じる濃度間を、i%刻みで4~6等分にした検体溶液を調製した。標準溶液を対照にして、被験者に低濃度の検体溶液から順に甘味を「大」「等」「小」の3件法で判別させ、次の同じ溶液を高濃度から順に判別させた(被験者総数n=被験者数×2)。全被験者が標準溶液よりも「大」と判別した検体溶液濃度をDo%、「小」と判別した濃度をDu%、全被験区で得られた「大」「等」「小」それぞれの判別総和を Σgr 、 Σgl および Σkl とすると、「大」「等」「小」それぞれの判別閾値Eo、Em、Eu、および甘味度Sは次式で求められる。

$$Eo = (Do + i/2) - \Sigma gr \times i/n$$

$$Eu = (Du - i/2) + \Sigma kl \times i/n$$

$$Em = (Eo + Eu) / 2$$

$$S = (N \times 100) / Em$$

5. 甘味質評価

甘味質評価は、佐川らの方法に準拠した試験評価法を用いた¹¹⁾。すなわち、各試料の水溶液を、甘味強度がショ糖10% (w/v) 水溶液(対照液)と同等になるように調製し、試験に供した。熟練健常被験者15名にそれぞれ試飲させ、対照液を基準(0)とし、8要素(苦み、後引き、しつこさ、くせ、渋味、刺激、すっきり感、まるやかさ)に分類して7段階(0~6ポイント)で評価させた。評価ポイントは、「ショ糖溶液よりもきわめて優れている」を0ポイント、「ショ糖溶液よりもかなり優れている」を1ポイント、「ショ糖溶液よりもやや優れている」を2ポイント、「ショ糖溶液と同等である」を3ポイント、「ショ糖溶液よりもやや劣っている」を4ポイント、「ショ糖溶液よりもかなり劣っている」を5ポイント、「ショ糖溶液よりもきわめて劣っている」を6ポイントとした。データ解析においては、各評価項目について平均値をもとめ、8本の軸上にプロットしてレーダーチャートを作成した。対照液であるショ糖の甘味質の評価ポイントは全ての要素において3ポイントであり、ポイント数が低値である程、良質な甘味特性であることを意味する。

実験結果および考察

1. 各種羅漢果トリテルペン配糖体の甘味質評価

羅漢果の甘味成分である4種のトリテルペン配糖体の甘味強度をPauliの全系列法を用いて算出し、図1に結果を示した。なお、甘味強度は、ショ糖を1とした倍率で示されている。その結果、主甘味成分であるmogroside Vはショ糖の378倍の甘味強度を示した。副甘味成分の甘味強度は、強い順に、siamenoside I (465倍)、mogroside IV

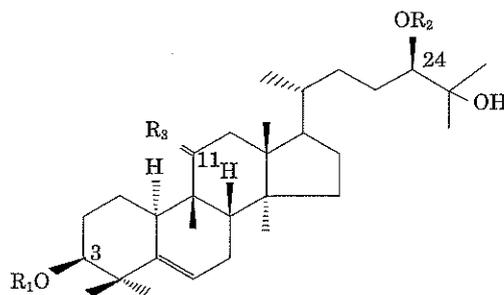
(300倍)、11-oxo-mogroside V (68倍)であった。これらの結果は、これまでの報告例¹²⁾とほぼ類似したものであった。

mogroside Vをセルラーゼで処理することにより得られた部分加水分解物についても調べたところ、トリグルコース体であるmogroside IIIは強い甘み(195倍)を示したが、ジグルコース体(mogroside II)とモノグルコース体(mogroside I)はほとんど甘味を示さなかった。なお、mogroside Iは無味であったが、mogroside IIは苦みを呈した。

各種羅漢果トリテルペン配糖体の甘味質について数量的な解析を行った結果を図2に示した。図2は、甘味質を構成する8要素(①苦み ②後引き ③しつこさ ④くせ ⑤渋味 ⑥刺激 ⑦すっきり感 ⑧まるやかさ)を被験者に評価させ、平均ポイントをこの軸上にプロットし、このプロットを互いに結んで八角形を画いてレーダーチャートに表したものである。また、レーダーチャートから算出した面積値についても記載した。8要素のプロットは、いずれも外側に位置するほど(ポイント数が高い)甘味質が劣り、内側に位置するほど(ポイント数が低い)甘味質が良好であることを意味する。また、これらのプロットで囲まれる面積値については、甘味質が総合的に良好であるほど低値を示すことになる。図2から明らかなように、羅漢果果実に含まれる4種のトリテルペン配糖体(mogroside V、11-oxo-mogroside V、mogroside IV、siamenoside I)は、味覚の8要素、すなわち、「①苦み ②後引き ③しつこさ ④くせ ⑤渋味 ⑥刺激 ⑦すっきり感 ⑧まるやかさ」に対して評価ポイント数が3.00~3.94ポイントの範囲内であり、対照であるショ糖の評価点数(3.00ポイント)に近く、良質な甘味特性を示した。さらに、羅漢果トリテルペン配糖体のレーダーチャートによる面積値については34~38の範囲であり、他の植物由来の甘味料(40以上;後述)と比較して、よりショ糖(理論値25.5)に近い値を示した。したがって、羅漢果に含まれる甘味成分(トリテルペン配糖体)は、主成分であるmogroside Vだけでなく、3種の副甘味成分(11-oxo-mogroside V、mogroside IV、siamenoside I)も含めて、全ての成分がショ糖に近い良質な甘味特性を有することが明らかになった。

羅漢果果実中にはほとんど見いだされないが甘味を呈したので、mogroside IIIについても甘味質を検討した。その結果、苦味の評価ポイント数が4.20とやや高値を示したが、それ以外の評価項目については、3.08~3.67ポイントの範囲であり、またレーダーチャートによる面積値も34.4と低値を示し、良好な甘味特性を有することがわかった。

これに対して、代表的な合成甘味料であるサッカリンナトリウムおよび植物由来の高甘味度甘味料で知られるグリチルリチン酸ジカリウムやレバウディオサイドAの甘味質は、いずれも高純度品にも関わらず、味覚の8要素に対



	R ₁	R ₂	R ₃	甘味強度 (ショ糖=1)
mogroside V	—Glc $\frac{6}{6}$ Glc	—Glc $\frac{2}{6}$ Glc	$\begin{cases} \text{OH} \\ \text{H} \end{cases}$	378倍
11-oxo-mogroside V	—Glc $\frac{6}{6}$ Glc	—Glc $\frac{2}{6}$ Glc	= O	68倍
mogroside IV	—Glc $\frac{6}{6}$ Glc	—Glc $\frac{2}{6}$ Glc	$\begin{cases} \text{OH} \\ \text{H} \end{cases}$	300倍
siamenoside I	—Glc	—Glc $\frac{2}{6}$ Glc	$\begin{cases} \text{OH} \\ \text{H} \end{cases}$	465倍
mogroside III	(トリグルコース体)			195倍
mogroside II	(ジグルコース体)			<1倍
mogroside I	(モノグルコース体)			<1倍

Glc; β -D-glucopyranosyl

図1 羅漢果配糖体の化学構造および甘味強度

する評価に対して高いポイント数を示す項目が多く確認された。

サッカリンナトリウムは、特に苦みに対するポイント数が高く(5.20ポイント)、後引き(4.27ポイント)、くせ(4.27ポイント)、渋味(4.20ポイント)に対しても高いポイント数を示した。グリチルリチン酸ジカリウムでは、後引き(4.87ポイント)、しつこさ(4.33ポイント)、くせ(4.73ポイント)、すっきり感(4.47ポイント)に対してポイント数が高値を示した。さらにレバウディオサイドAでは、後引き(4.73ポイント)、くせ(4.73ポイント)においてポイント数が高かった。また、これらの高甘味度甘味料のレーダーチャートによる面積値は、順に47.2、49.2、40.5であった。

以上のように、サッカリンナトリウムは苦味が顕著であり、グリチルリチン酸ジカリウムやレバウディオサイドAは、「後引き」や「くせ」に対する評価が顕著に劣ることがわかった。しかし、植物由来の甘味料でも、羅漢果果実に含まれる甘味成分であるトリテルペン配糖体類は、いずれも総合的にマイルドな甘味質を示し、これまで人類が長年において慣れ親しんできたショ糖に近い甘味特性を有することから、食品利用の市場性はきわめて高いものと判断さ

れる。

2. 羅漢果甘味配糖体濃縮物の甘味質評価

甘味料としての実用化を前提として、ODS系樹脂を用いた簡単な1段階のカラムクロマトグラフィーによる工場レベルでの精製操作を行い、羅漢果配糖体濃縮物を作製した。成熟度の異なる果実を原料として作製した3種類の羅漢果甘味配糖体濃縮物(A, B, C)について、まず主甘味成分であるmogroside Vの含有率を比較すると、同一製法であるにもかかわらず、成熟度の高い果実から得られた濃縮物Cでは19.4%であったのに対し、若い果実から得られた濃縮物Aでは10.8%と明らかに低値を示した(表1)。また、4種の甘味配糖体合計の含有率も濃縮物Cでは35.1%であったのに対し、濃縮物Aでは16.0%と低かった。一方、甘味配糖体合計に占めるmogroside Vの割合をもとめると、濃縮物Aでは67.5%となり、濃縮物C(55.3%)に比べて高値を示した。

次に、羅漢果甘味配糖体濃縮物の甘味質について調べたところ、甘味成分(配糖体)含有率と同様に、果実の成熟度によって大きな影響を受けることがわかった(図3)。すなわち、完熟果実から調製した羅漢果甘味配糖体濃縮物Cでは、「①苦み ②後引き ③しつこさ ④くせ ⑤渋味 ⑥

刺激 ⑦ すっきり感 ⑧ まろやかさ」のいずれの要素に対しても評価ポイント数 3.20~4.00 の範囲で良質な甘味特性を示した。また、レーダーチャートからの面積値も 35 以下の低値を示した。このように、濃縮物 C の甘味質は、主甘味成分である mogroside V の含有率が 19.4% であり、また甘味成分合計含有率でも 35.1% と低いにもかかわらず、

単離された個々の甘味成分が示す甘味質 (図 2 参照) とほぼ同等で良質な甘味質であった。

次に濃縮物 C をさらにカラムクロマト操作を繰り返して精製純度を高めた (濃縮物 D)。その結果、mogroside V の含有率が 19.4% から 41.9% に上昇した (表 1)。一方、mogroside IV や siamenside I はカラムクロマト操作で除

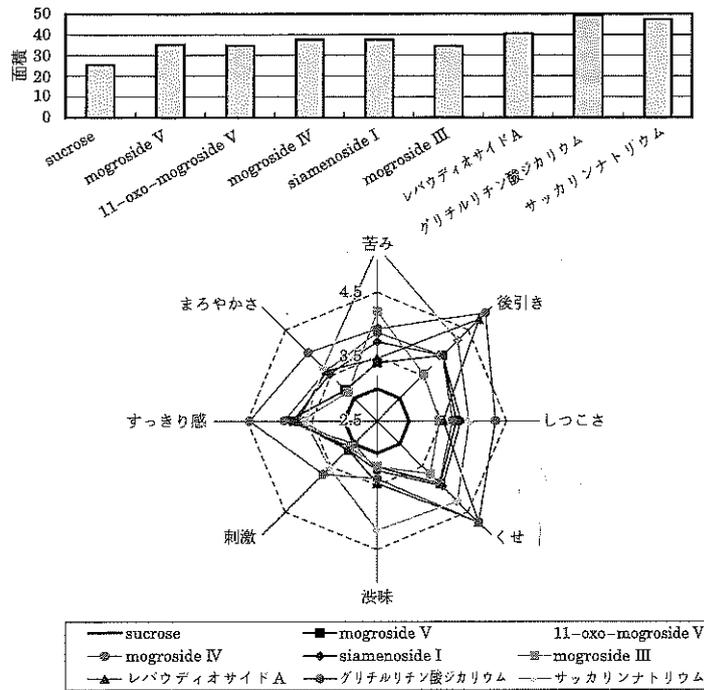


図 2 各種甘味標準物質の甘味質評価に対するレーダーチャートおよびその面積値

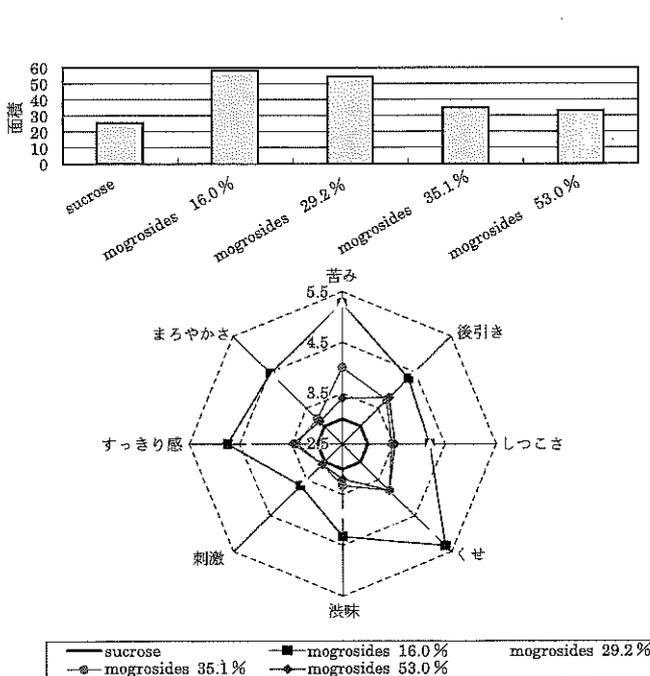


図 3 各種羅漢果甘味配糖体濃縮物の甘味質評価に対するレーダーチャートおよびその面積値

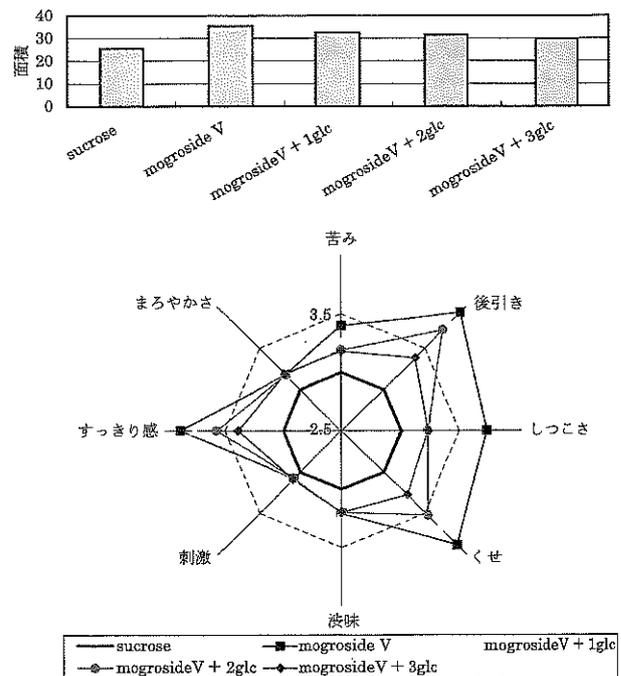


図 4 グリコシル化 mogroside V の甘味質評価に対するレーダーチャートおよびその面積値

表 1 羅漢果甘味配糖体濃縮物の甘味成分組成および甘味強度

	濃縮物 A	濃縮物 B	濃縮物 C	濃縮物 D
mogroside V	10.8%	18.5%	19.4%	41.9%
11-oxo-mogroside V	1.7%	3.7%	3.7%	8.3%
mogroside IV	1.4%	3.0%	6.2%	0.9%
siamenoside I	2.1%	4.0%	5.8%	1.9%
甘味配糖体合計	16.0%	29.2%	35.1%	53.0%
甘味強度	56 倍	101 倍	122 倍	176 倍

かれたため、甘味配糖体合計含有率は 53.0% までしか上昇しなかった。濃縮物 D の甘味質について調べたが、濃縮物 C に比べて大幅な改善は見られなかった。したがって、実用化にあたって、甘味質の観点から、羅漢果甘味成分の精製は、1 段階のカラムクロマト操作で得られる濃縮物 C のレベルで十分である。一般に、ステビア抽出物のような高甘味度甘味料は、その主要甘味成分を限りなく高純度化し、良質な甘味料に調製する必要がある¹³⁾。しかし、羅漢果の場合は主甘味成分である mogroside V だけでなく副甘味成分として果実中に含まれる 11-oxo-mogroside V、mogroside IV、siamenoside I も良好な甘味特性を有することから、mogroside V を選択的に高純度に精製する必要がないと考えられる。

一方、完熟以前の果実から得られた濃縮物 A、B では、8 要素に対して、ポイント数 4.20~5.33 の評価となり、特に「苦み」や「くせ」に対するポイント数が著しく高く、濃縮物 C に比べて甘味質が劣ることがわかった。このことから、羅漢果配糖体の甘味質は、甘味配糖体の含有率よりも、果実の成熟度（収穫時期）がより大きな影響を与えるものと考えられる。

以上のことから、早い段階で収穫された果実中には甘味質に悪影響を与える成分が存在し、工場レベルでの 1 段階のクロマト操作では容易に除去できないものと推察される。一般には、主甘味成分（羅漢果の場合は mogroside V）の分解物などの類縁化合物の混入が甘味質の低下に関係するものと考えられる。そのような観点から mogroside V の酵素分解物で苦みを呈した mogroside II について含有量を調べたところ、濃縮物 A、B、C ともに mogroside II は検出限界以下であった（mogroside I、mogroside III も検出されなかった）。したがって、濃縮物 A、B における甘味質低下の原因が mogroside II ではないと考えられるが、詳細については不明である。

以上の結果をまとめると、羅漢果配糖体濃縮物は、完熟した果実を原料に使用すると、1 段階のカラムクロマト操作で、①苦み②後引き③しつこさ④くせ⑤渋味⑥刺激⑦すっきり感⑧まろやかさのいずれに対する評価もきわめて良好な甘味特性を有する羅漢果甘味配糖体混合物が工場レ

ベルで容易に生産可能なことが明らかとなった。

3. グリコシル化 mogroside V の甘味質

近年、バイオテクノロジーの進歩によって糖類の糖鎖に新たな糖を転移付加させ、その物理化学的な性質を改変させる方法が知られてきた^{14)~16)}。羅漢果配糖体についても、mogroside V に糖供与体基質として澱粉を、糖転移酵素として CGTase を用いて、ある特定条件で酵素反応させることにより、高収率でグリコシル化 mogroside V を産生し、続いてアミラーゼを作用させた部分分解グリコシル化 mogroside V の製造方法について報告した¹⁰⁾。ここでは、各種部分分解グリコシル化 mogroside V を分画精製し、甘味質に関する詳細な検討を行った。

グルコースが 1~3 残基付加させた部分分解グリコシル化 mogroside V の甘味強度を、熟練健常被験者 15 名による Pauli の全系列法で算出した。その結果、mogroside V はショ糖の 378 倍の甘味を呈したのに対して、mogroside V + 1 glc、mogroside V + 2 glc および mogroside V + 3 glc では、それぞれ 191 倍、97 倍、53 倍と甘味強度が低下した。

一方、甘味質は、mogroside V に付加したグルコースの残基数が増えるほど良好になることがわかった（図 4）。なかでも、グルコースが 3 分子付加した mogroside V（mogroside V + 3 glc）は、甘味質要素のなかでも、後引き、くせ、すっきり感のいずれの要素に対しても著しい改善効果が得られ、ショ糖の甘味質にきわめて類似することが確認された。レーダーチャートからの面積値で表される総合的な評価をみても、反応前の mogroside V の面積値が 35.3 に対して、1~3 残基糖付加したグリコシル化 mogroside V のそれは、順に 32.6、31.4、29.7 と減少し、mogroside V + 3 glc の甘味質は、ショ糖が示す面積値（25.5）とほぼ同レベルの域まで近づくことが確認された。

糖類の糖鎖に新たな糖を転移付加させ、その物理化学的な性質を改変させる方法として、すでにステビアにおいては、その配糖体（レバウディオサイド）に糖を転移させた酵素処理ステビアが工業的に製造されている。ステビア（レバウディオサイド）の場合も羅漢果（mogroside V）と同様に、グルコースの付加にともなって、苦みや残味が減少し甘味質が向上するが、一方甘味強度は低下すると報告されている¹⁷⁾。しかし、なぜ糖転移によって甘味質が向上するのか、また甘味強度が低下するのかについては、ステビアにおいても明確にはなっていない。

以上のように、mogroside V に適度にグルコースを付加させると、甘味強度は低下するが、甘味質がほぼショ糖と同等の甘味料が得られることが明らかになった。mogroside V + 3 glc であっても、ショ糖の約 50 倍の甘味強度を有すること、および近年のニアウォーター、コーヒー、紅茶などの通年商品である飲料類は、低甘味嗜好商品が多いことから、安全性や製造コストなどの問題を解決したあかつ

きには、その用途ならびに販路拡大が大きく期待できる。

要 約

近年、生活習慣病の予防の面で砂糖以外の甘味料への需要が急増しているが、サッカリンなどの人工甘味料は安全性の観点からその利用が規制される傾向にある。これに対して甘草抽出物やステビア抽出物などの天然の甘味料は安全性も高く砂糖に替わるものとして注目されているが、その甘味質は十分なものではないものが多い。

本研究は最近注目されている植物性の天然甘味料の一つ羅漢果を取り上げ、その甘味成分である4種のトリテルペン配糖体(mogroside V, 11-oxo-mogroside V, mogroside IVおよびsiamenoside I)について甘味質を評価した。その結果、いずれの配糖体もレバウディオサイドA(ステビア抽出物)、グリチルリチン酸ジカリウム(甘草抽出物)、サッカリンナトリウムと比較して、砂糖に近い良質な甘味特性を示すことが明らかとなった。

さらに、完熟果実を用いれば、工場レベルでの比較的簡単なクロマト操作だけで、①苦み ②後引き ③しつこさ ④くせ ⑤渋味 ⑥刺激 ⑦すっきり感 ⑧まろやかさのいずれの要素についても良好な甘味特性を有する羅漢果甘味配糖体濃縮物(甘味配糖体合計含有率:約35%)が得られた。したがって、このような羅漢果甘味配糖体濃縮物は、飲料類、菓子類、調味料、卓上甘味料などの食品用の甘味素材として極めて有用であると考えられる。

ついで、羅漢果の主甘味成分であるmogroside Vに澱粉を糖供与体として酵素転移させ、糖化型アミラーゼで糖鎖調製した部分分解グリコシル化mogroside Vの甘味改善効果について調べた。その結果、mogroside Vに付加したグルコース残基数が1~3分子と増加するにしたがい、甘味強度は低下傾向を示したが、甘味質が一段と改善できることがわかり、なかでもmogroside V+3glcは砂糖が示す甘味特性とほぼ一致する域に達した。したがって、本部分分解グリコシル化mogroside Vは、食品添加物として登録する必要はあるが、新しい甘味素材として大きく期待される。

文 献

- 武生英一郎, 吉田 博, 新宮哲司, 片野高広, 桑島利江子, 豊田康嗣, 勝本征行, 大田和子, 松浦秀夫, 神田博史, 村田雄司, 吉川慎一, 大鈴文孝, 羅漢果抽出エキスをを用いた甘味代替薬の抗酸化作用, *Prog. Med.*, 20, 2253-2257 (2000).
- Takeo, E., Yoshida, H., Tada, N., Shingu, T., Matsuura, H., Murata, Y., Yoshikawa, S., Ishikawa, T., Nakamura, H., Ohsuzu, F. and Kohda, H., Sweet elements of *Siraitia grosvenori* inhibit oxidative modification of low-density lipoprotein. *J. Atheroscler. Thromb.*, 9, 114-120 (2002).
- Takasaki, M., Konoshima, T., Murata, Y., Sugiura, M., Nishino, H., Tokuda, H., Matsumoto, K., Kasai, R. and Yamasaki, K., Anticarcinogenic activity of natural sweeteners, cucurbitane glycosides, from *Momordica grosvenori*. *Cancer Letters*, 198, 37-42 (2003).
- Hossen, M.A., Shinmei, Y., Jiang, S., Takubo, M., Tsumuro, T., Murata, Y., Sugiura, M. and Kamei, C., Effect of lo han kuo (*Siraitia grosvenori* Swingle) on nasal rubbing and scratching behavior in ICR mice. *Biol. Pharm. Bull.*, 28, 238-241 (2005).
- Suzuki, Y., Murata, Y., Inui, H., Sugiura, M. and Nakano, Y., Triterpene glycosides of *Siraitia grosvenori* inhibit rat intestinal maltase and suppress the rise in blood glucose level after single oral administration of maltose in rats. *J. Agric. Food. Chem.*, 53, 2941-2946 (2005).
- Kamei, T. and Sugiura, M., New pharmacological functions of Luo Han Guo. *FFI Journal*, 210, 244-254 (2005).
- 竹本常松, 在原重信, 中島 正, 奥平 恵, 羅漢果の成分研究(第1報)甘味成分の検索, *薬誌*, 103, 1151-1154 (1983).
- 竹本常松, 在原重信, 中島 正, 奥平 恵, 羅漢果の成分研究(第2報) Sapogeninの化学構造, *薬誌*, 103, 1155-1156 (1983).
- 竹本常松, 在原重信, 中島 正, 奥平 恵, 羅漢果の成分研究(第3報) Mogroside類の化学構造, *薬誌*, 103, 1167-1173 (1983).
- Yoshikawa, S., Murata, Y., Sugiura, M., Kiso, T., Shizuma, M., Kitahata, S. and Nakano, H., Transglycosylation of mogroside V, a triterpene glycoside in *Siraitia grosvenori*, by cyclodextrin glucanotransferase and improvement of the qualities of sweetness. *J. Appl. Glycosci.*, 52, 247-252 (2005).
- 佐川良寿, レーダーチャートによるプロファイル評価法の体系化(1), *Pharm. Tech. Japan*, 14, 1519-1527 (1998).
- Matsumoto, K., Kasai, R., Ohtani, K. and Tanaka, O., Minor cucurbitane-glycosides from fruits of *Siraitia grosvenori* (Cucurbitaceae). *Chem. Pharm. Bull.*, 38 (7), 2030-2032 (1990).
- 柴里道男, ステビア甘味料の近況と利用状況, *ジャパンフードサイエンス*, 12, 51-58 (1995).
- Kitahata, S. and Okada, S., Comparison of action of cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus megaterium*, *B. circulans*, *B. stearothermophilus* and *B. macerans*. *J. Jap. Soc. Starch. Sci.*, 29, 13-18 (1982).
- 中野博文, 糖質加水分解酵素の縮合反応による糖質合成, *Foods. Food. Ingredients. J. Jpn.*, 188, 36-48 (2000).
- Darise, M., Mizutani, K., Kasai, R., Tanaka, O., Kitahata, S., Okada, S., Ogawa, S., Murakami, F. and Chen, F.H., Enzymic transglucosylation of rubusoside and the structure-sweetness relationship of steviol-bisglycosides. *Agric. Biol. Chem.* 48, 2483-2488 (1984).
- 小熊 武, 酵素処理ステビア(甘味料)の味質改善技術の進歩, *月刊フードケミカル*, 1, 36-41 (1995).

(平成18年4月4日受付, 平成18年6月22日受理)