

外96-16

早稲田大学大学院理工学研究科

# 博 士 論 文 概 要

## 論 文 題 目

天然消臭素材の探索とその  
応用に関する研究

申 請 者

安 田 英 之

HIDEYUKI YASUDA

1996年 7月

生活環境の中での様々な悪臭、とくにヒトにおいては複雑な人間社会の中で、食生活の多様化、ストレスの増大等による口臭や体臭は大きな関心をもって捉えられ、その有効的な対処方法が求められている。代表的な口臭物質としては、硫化水素、メタンチオール等の硫黄系揮発性化合物、アンモニア、アミン等の窒素系揮発性化合物ほか数多くの物質が知られている。これら悪臭に対する改善方法のひとつとして消臭素材の活用があげられるが、その多くがマスキング剤や活性炭のような吸着剤であり、また口臭除去等の目的でヒトへの適用を考えた場合、クロロフィル等が知られているが、その効果は充分でなく、食品へ添加可能で消臭効果が優れたものは少なかった。一方、植物成分のもつ多様な機能の中で、消臭作用は古くから経験的に知られており、とくに緑茶は様々な形で利用されてきた。しかしながら緑茶の消臭活性成分や消臭メカニズム等の科学的な解明の報告はなく、産業面での利用が先行した形となっていた。著者は、まず口臭等の悪臭を除去する優れた天然素材を開発するという観点から、古来から消臭に利用されてきた緑茶について化学的に解明することを試み、さらに食品分野への適用の観点からこの緑茶のチューインガムへの応用について検討を行った。また数種の植物抽出物から天然消臭素材を探索し、緑茶以上の消臭活性物質の発見を行った。本論文は緑茶の広範囲な消臭研究と、新規天然消臭素材の探索についてまとめたものである。

本論文は全9章より構成されている。

第1章では、口臭及び消臭に関して今までの研究と最近の研究動向について概説し、本研究の意義と背景を明らかにした。

第2章では、本研究を進めるにあたって基本となる実験方法すなわちin vitroでの消臭活性評価方法、唾液培養による口臭抑制試験、天然素材からの抽出分画方法及び機器分析法についてまとめた。

第3章では、緑茶中の消臭活性成分である各カテキン類のメタンチオールおよびトリメチルアミンに対する消臭活性についてin vitro試験で調べ、その優れた効果を明らかとした。さらにより口臭を念頭においた試験として唾液培養試験法によりその茶カテキンのメタンチオール産生抑制効果を測定した。本法はあらかじめ試験系にL-メチオニンを添加し培養することで、唾液中に存在する菌の作用により生成したメタンチオールをガスクロマトグラフィー分析により評価するものである。実験の結果、茶カテキン0.01mg添加で抑制率56%、銅クロロフィリンナトリウムでは12%と、茶カテキンは優れたメタンチオール産生抑制効果を示した。この両者の結果より茶カテキンは口臭に対して、直接的、即効的な消臭作用と間接的、予防的な産生抑制作用の二面的な効果を明らかにすることができた。

第4章では、口臭原因物質であるメタンチオール、硫化メチル、トリメチルアミンに対して2つの消臭剤、茶カテキンと銅クロロフィリンナトリウム各単独使用での除去能力を定量的に評価した。その結果、みかけの飽和吸着量は茶カテキンでメ

タンチオールに対して650mg/g、トリメチルアミンに対して818mg/g、銅クロロフィリンナトリウムではそれぞれ31mg/g、9mg/gであった。茶カテキンは銅クロロフィリンナトリウムに比べ、メタンチオールで約20倍、トリメチルアミンで約90倍の除去効果を示した。また2つの消臭剤の併用についての効果を検討した結果、硫化メチルに対しては相乗効果の可能性が示唆された。

第5章では、緑茶抽出物や茶カテキン類の中で代表物質であるエピガロカテキンガレート(EGCg)のメタンチオールに対する消臭効果に影響する添加物について調べた。酸化酵素ポリフェノールオキシダーゼの添加により、消臭活性は向上し、また通常の条件では効果が発揮しにくいpH5においてもポリフェノールオキシダーゼの添加により消臭活性発現が認められた。還元剤であるアスコルビン酸の添加により、EGCgのメタンチオールに対する消臭効果は激減した。アスコルビン酸はpHの酸性化の作用はほとんどなく、それによる消臭作用の低下ではないことが判明した。ヒドロサルファイト等の他の還元剤を用いて同様の試験を行ったところ、消臭効果が抑えられたことからアスコルビン酸の還元作用によりメタンチオールに対する消臭効果の発現を抑えることが推測された。これはアスコルビン酸添加でEGCgの量が経時的に変わらないことから、アスコルビン酸がo-diphenolからo-quinoneへの酸化を抑えることにより、メタンチオールとの反応が妨げられ、消臭作用が進行しないものと推測した。

第6章では、緑茶の消臭メカニズムの解明のため、茶カテキン類の1つのEGCgについて、口臭の主要成分であるメタンチオールとの相互反応機構を解析した。従来よりカテキン類のメタンチオール消臭作用は水素結合、包接作用、二重結合への付加等によるとの推測がされていたが、明確にそのメカニズムが示されているものはなかった。本研究において、消臭活性測定後の試料の高速液体クロマトグラフィー分析により、消臭物質であるEGCgが減少し、新たに数本のピークの出現が明らかとなり、化学的反応で不揮発性化合物に変換されることにより消臭されていることが示唆された。そこで、新たなピークの構造決定のため、EGCgとメタンチオールのナトリウム塩を反応させ、分取高速液体クロマトグラフィーで3本のピークを単離した。これらの物質の構造は各種スペクトル解析により2'-methylthio-EGCg, 2',6'-dimethylthio-EGCg, 2'-methylsulfinyl-6'-methylthio-EGCgと同定された。これらの化合物の消臭活性は最初の消臭素材であるEGCgを上回ることが判明した。例えば、EGCgのメタンチオール消臭活性28%に対して、反応生成物2'-methylthio-EGCgは56%と、より反応性が向上することが明らかにされた。またこの消臭反応における空気(酸素)の影響について検討したところ、酸素が存在しないと反応が全く進行せず、EGCgはメタンチオール消臭作用は示さなかった。反応生成物の構造と酸素の存在が消臭活性発現に必須という結果から、消臭メカニズムとして空気中の酸素によりB環のo-diphenolからo-quinoneに酸化され、それにメタンチオールが

1,4-付加もしくは1,6-付加し、2'-methylthio-EGCgが生成し、さらにもう1分子のメタンチオールが反応生成物と反応するものと推測された。

第7章では、緑茶抽出物の食品への応用の観点から、茶カテキン類添加チューインガムを調製し、その口臭除去効果について述べた。唾液を用いた培養試験による評価と通常のお臭レベルは極めて低いためヒトでの口臭モデル実験としてニンニクエキスをを用い、その洗口により人為的に口臭状態を作りだし、茶カテキン類の添加レベルの異なるチューインガムを咀嚼前後における呼気中揮発性硫化物の濃度変化をガスクロマトグラフィーにより分析するという2つの方法で、口臭抑制効果を判定した。いずれの方法においても茶カテキン無添加のものに比べて茶カテキン添加ガムは口臭除去効果が増加することがわかり、モデル実験の有用性と茶カテキン類のチューインガムへの応用性を実証した。さらに緑茶抽出物添加チューインガムを病的口臭、生理的口臭に対する抑制効果についても検討し、その効果を実証した。

第8章では、茶抽出物よりも優れたメタンチオール消臭素材を天然植物抽出物から探索し、バラ科植物（キイチゴ属、イチゴ属）であるブラックベリー、ラズベリー、ローズ、ワイルドストロベリーの水または50%エタノール抽出物に既章で述べた茶カテキン類や銅クロロフィリンナトリウムよりもメタンチオールに対して優れた消臭効果を有することを見いだした。これらの消臭効果はpHによる影響が大きく、アルカリ性側ほど高い消臭効果を示し酸性側では効果が低いことが判明した。またこの中で消臭活性の高かったラズベリー葉抽出物の活性成分の検討で、ポリフェノールを吸着するポリクラール処理を行うと活性が消失することや他の定性分析から、その活性成分は加水分解型タンニンであるエラグタンニンであることを明らかにした。さらに優れた消臭素材である延命草抽出物を見だし、その消臭活性成分であるoridoninほか14種のジテルペン成分の消臭活性について述べた。延命草抽出物中のoridoninとメタンチオールとの反応で生じる化合物を単離し、2つの揮発性反応生成物を17- $\alpha$ -CH<sub>3</sub>S-oridoninおよび17- $\beta$ -oridoninと同定した。これは14種のジテルペン化合物に共通する構造としてカルボニル基と共役するエキソメチレン基を有し、これにメタンチオールが1,4-付加することにより消臭されることがわかった。消臭効果発現の速度をoridoninと茶カテキンであるEGCgと比較し、oridoninは極めて即効的にメタンチオールと反応し、消臭活性を発現することが判明した。さらに代表的な $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和二重結合をもつ化合物のメタンチオール消臭効果を調べ、構造的に考察した。その結果、高い消臭活性を有するためにはエキソメチレン基構造をもつこと、電子論的にみて、電子が非局在化する構造を持たないこと等が必要条件であることが明らかとなった。

第9章では、前章までの著者の研究成果を総括した。