

クワイの呈味成分について

(その2) 苦味成分の検索

山 沢 和 子

(家政学科 食物栄養)

諸 言

クワイ (*Sagittaria trifolia*) は中国から渡来した史前帰化植物の一種とも言われ、わが国では食用植物として現在でも広く親しまれ、正月料理などの日本料理に芽をつけた形、花・亀などの形に整えてうす味に煮含め食膳に供されている。クワイを煮物にするとき、“ゆで”てから味つけをするのが一般的であり、ゆで汁はうすく白濁し苦味がある。もちろん、クワイ自体は生のままでも“ゆで”たものでも苦味がある。このクワイをうす味に煮含めると持味の甘味と苦味がほどよく調和し、独特の呈味をかもしだす。

一般に苦味を有する食品は苦味自体が甘味とは対象的に生理的に受け入れがたい味であるため、食品としての価値が低い場合が多い。しかし、一方では苦味が食品にしまりと均衡を与える積極的な意義をもつ場合もまたある。そして、最近では食生活の多様化に伴い、ほどよい苦味が好ましい味として評価され⁴⁾てきている。たとえば、緑茶、コーヒー、ビールなどの食品では、苦味をとりさったり、または別のもので代用させたりすると、その食品本来の価値を全く失ってしまうくらい苦味が不可欠な味の要素となっている。クワイも、この緑茶やコーヒーなどと同様に苦味が味の重要な要素となっている。

食品の苦味物質としては、多様な構造を有したものが同定されており、大別すると有機化合物と無機化合物に分類できる。有機化合物の苦味物質は植物成分として発見されたものが多く、化学構造上から分類すると、テルペン、アルカロイド、配糖体、アミノ酸およびペプチドなどが知られている。たとえば、テルペンに属する

苦味物質には、柑橘類のジュースに生ずるニモノイド⁵⁾、きゅうりに生ずるククルピタシン類⁶⁾、ビールのフムロン類⁷⁾などがある。アルカロイドに属する苦味物質には、緑茶やコーヒーに含まれているカフェインがある。また、配糖体に属するものには、グレープフルーツや夏みかんなどの柑橘類に生ずるナリンギン^{8~9)}、アスパラガスに生ずるサルササポゲニン¹⁰⁾などがある。さらに、アミノ酸系の苦味物質には、日本酒から発見されたキヌレニン酸¹¹⁾やチーズ製造時の酵素反応過程で生成される苦味ペプチド¹²⁾などがある。なお、無機化合物の苦味物質では、豆腐製造時に凝固剤として使用されている苦汁の主成分の硫酸マグネシウムが代表的である。

ところで、わが国で古くから親しまれている食品で、その苦味が調理化学的に重要なポイントになっているものの一つにクワイがある。しかし、このクワイの苦味の原因物質に関しては、現在までほとんど研究されていない。

そこで本報では、この苦味成分解明のための第一段階として、若干の検索を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 実験材料 愛知県産の白クワイを使用した。
2. 呈味試験 本学職員六名をパネルとし、各実験試料について苦味を中心とした呈味試験を行った。
3. 検液の調製 クワイに等量の冷蒸留水を加えミキサーで細砕した後、3,000 rpmで5分間遠心分離し上澄と沈殿に分離した。さ

らに、沈殿に対してクワイ重量の半量の冷蒸留水を加え十分に攪拌し、再び遠心分離した。この操作を3回くりかえし、上澄区分と沈殿区分に分けた。

この結果、沈殿区分には苦味が全く認められなかったため、上澄区分を検液とした。

4. 植物成分定性試験¹³⁾

⑦塩化鉄試薬反応……検液を酢酸で酸性とし、塩化鉄(Ⅱ)試薬を加えたときの色調の変化からフェノール類、タンニン類の存在を推定した。これらの物質が存在すると溶液が青～緑色又は紫色を呈する。

⑧酢酸鉛試薬および塩基性酢酸鉛試薬反応(以後、鉛塩試薬反応と略す)……検液に酢酸鉛試薬を加え沈殿の生成の有無を調べた。タンニン類、たんぱく質、有機酸が存在すると沈殿が生成される。つぎに、沈殿が生成した場合は濾過し、その濾液に塩基性酢酸鉛試薬を加え沈殿の生成を調べた。ゴム質又は配糖体が存在すると沈殿が生成される。

⑨Fehling 試薬反応……検液を希塩酸で酸性とした後煮沸し、冷後希水酸化ナトリウム液でアルカリ性とした。ここに Fehling 試薬を加えて加温した時の赤色の沈殿の生成を調べた。単糖類、少糖類又は配糖体が存在すると、酸化銅(Ⅰ)の赤色沈殿が生成される。

⑩Mayer 試薬反応……検液を希塩酸で酸性とした後温浸し(沈殿が生じた場合は濾過した後)、Mayer 試薬を2滴滴下した時の白～黄色の沈殿の生成を調べた。この沈殿が生成されればアルカロイドが存在する。

⑪加熱反応……希炭酸ナトリウム液でアルカリ性とした検液を加熱した時の凝固物の有無を確かめた。たんぱく質が存在すると、炭酸ナトリウムでアルカリ性にした検液をふりまぜた時発泡し、かつ加熱で凝固物を生ずる。

⑫石油エーテル反応……検液と検液の約10倍量の低沸点石油エーテルとを分液ロート中で十分に振とうした後、石油エーテル層

を分取し、時計皿上で蒸発させ残留物の有無を確かめた。残留物があれば脂質が存在する。さらに、残留物が液体の場合は濾紙上に滴下し、油斑の揮発性について観察した。油斑が消失すれば、揮発性油が存在する。

⑬Lieberman-Burchard 反応……検液の石油エーテル可溶性 0.3 mg に無水酢酸 0.5 ml、濃硫酸1滴を加えたときの色調の変化を調べた。ステロイド又はトリテルペノイドが存在すると色調が赤→紫→青→暗緑色と変化する。

5. 透析試験 透析膜(VISKING チューブ)に検液を入れ冷蔵庫中で蒸留水に対し一夜透析後、透析膜内および外液について呈味試験を行った。

6. 遠心分離試験 冷却式高速遠心分離機(クボタ、KR180A型)をもちい、検液の透析膜内液を0℃において5,000 rpm (3,000×g)、10,000 rpm (13,000×g)、12,000 rpm (15,000×g)、15,000 rpm (24,000×g)の各回転数で30分間遠心分離し、上澄および沈殿について呈味試験を行った。

7. 溶解性試験 検液の透析膜内液を15,000 rpmで30分間遠心分離した沈殿物を凍結乾燥し、溶解性試験の試料とした。この試料に極性の異なる五種類の溶媒(水、エテルアルコール、アセトン、エチルエーテル、クロロホルム)を加え十分振とうした後、溶液と不溶物に分けた。この溶液の蒸発残留物(以後、可溶物と記す)および不溶物について呈味試験を行った。

結果および考察

I. 検液に含まれる成分の推定

各種の定性試験の結果から、次の各成分の存否を推定した。

・タンニン類

塩化鉄試薬反応で検液が黄緑色に着色したので、フェノール類もしくはタンニン類の存在が推定されるが、検液に二クロム酸カリウムを加えてもタンニンのクロム化合物の沈殿

¹⁴⁾が生成しなかったので、タンニン類は含まれていないと推定した。

井上¹⁵⁾はクワイの苦味を“タンニン様の苦味”と記しているが、この実験結果からは検液にタンニン類を検出することはできなかった。

• フェノール類

塩化鉄試薬反応で検液が黄緑色に着色したがタンニン類は存在しなかったので、この着色はフェノール類によるものと推定した。

なお、フェノール類のこの反応は、フェノール又はエノール性 OH 基の存在を示すものであり、これらの官能基を有する物質は多岐に渡り分布しているため、特定の成分として分類することはできない。

• 有機酸類

鉛塩試薬反応で検液に酢酸鉛試薬を滴下すると沈殿が生成したので、有機酸類が含まれている可能性が考えられた。

• 糖 類

Fehling 試薬反応で赤色の酸化銅 (I) の沈殿の生成が認められたので、単糖類、少糖類および配糖体の存在が考えられた。

なお、前報¹⁶⁾の結果から単糖類および少糖類の存在は確認されている。しかし、配糖体については、鉛塩試薬反応で検液に塩基性酢酸鉛試薬を滴下しても配糖体による鉛塩の沈殿が生成しなかったので、検液には存在しないと推定した。

• たんぱく質

鉛塩試薬反応で検液に酢酸鉛試薬を滴下すると沈殿を生じ、さらに加熱反応でも凝固物を生じた。また、たんぱく質の一般的な呈色反応¹⁷⁾であるニンヒドリン反応、ビュレット反応およびキサントプロテイン反応を行った結果、三反応とも陽性を示した。これらの結果から、たんぱく質が存在すると推定した。

なお、ニンヒドリン反応およびビュレット反応が陽性を示した結果からアミノ酸およびペプチドの存在も考えられた。

• アルカロイド

Mayer 試薬反応で沈殿の生成は認められなかった。また、アルカロイド沈殿試薬の一種である 5%ニクロム酸カリウム液¹⁸⁾を滴下してもアルカロイドによる黄色の沈殿の生成は認められなかった。これら二種類の反応結果によりアルカロイドは存在しないと推定した。

• 脂 質

石油エーテル反応で石油エーテル溶出物は液体であった。また、濾紙上に滴下して油斑が残った。さらに、Lieberman-Burchard 反応の呈色は茶色であった。これらの結果から、脂質のうちのステロイドおよびトリテルペノイドをのぞく物質が存在すると推定した。

以上の定性反応の結果から、検液は、単糖類および少糖類、有機酸類、アミノ酸・ペプチドおよびたんぱく質、ステロイドとトリテルペノイドをのぞく脂質の各成分を含んでいると推定した。

II. 苦味成分の物理化学的性状

• 透析膜透過性

一般に、透析法では低分子のアミノ酸やペプチドなどが透過¹⁹⁾し、たんぱく質や脂溶性成分は透過しないことが知られている。そこで、前記定性試験で検液に含まれていると推定した各成分を透析により分別し、呈味試験を行った。

その結果、透析膜外液は甘味を、内液は苦味、渋味を呈した。

したがって、クワイの苦味成分は、たんぱく質あるいはステロイドとトリテルペノイドをのぞく脂質のいずれかの成分であると推定した。

なお、定性試験を行わなかった無機成分は検液に存在していても透析試験で透過されて外液に移行するので、クワイの苦味には関与していないと推定した。

• 遠心分離による沈降性

一般に、植物中の主要な脂質はスフェロゾーム、オイルボディーと、また主要なたんぱく質はプロテインボディーと呼ばれる細胞

内の顆粒中に存在していることが知られている²⁰⁻²¹⁾。一方、遊離の状態が存在する脂質およびたんぱく質は、細胞内外に浮遊、溶解していると考えられる。

このような細胞成分の分画は遠心分離法²²⁾によるのが一般的である。そこで、苦味を呈した透析膜内液を遠心分離により分画し、それぞれの画分について呈味試験を行った。

表1 遠心分離による上澄および沈殿の性状

rpm (×g)	上 澄	沈 殿
5000(3000)	分 離 不 可 能	
10000(13000)	混濁(+), 苦味(+)	苦味(+)
12000(15000)	混濁(+), 苦味(+)	苦味(+)
15000(24000)	透 明, 苦味なし	苦味(+)

+および#は強さを表わす(+<#)

表1に示すように、透析膜内液は5,000 rpmでは分画されず、10,000から12,000 rpmと回転数が増すに従い分離状態が良くなり、15,000 rpmで完全に上澄と沈殿に分画された。

また、上澄液が混濁している10,000および12,000 rpmの試料では上澄および沈殿の両方で苦味を呈したが、上澄液が透明となった15,000 rpmの試料では上澄液には苦味はなく沈殿でのみ苦味を呈した。

なお、前実験で推定した苦味成分のうち、たんぱく質については、水に不溶性のものは検液の調製時に沈殿区分に移行し、検液中には含まれていない。したがって、クワイの苦味成分は、遊離の状態で存在するのではなく細胞内の顆粒中に存在するたんぱく質もしくは脂質であると推察した。

• 溶媒に対する極性

前記透析試験の結果から、苦味成分をたんぱく質もしくはステロイドとトリテルペノイドをのぞく脂質と推定したが、遠心分離試験からもこれら二種の成分のいずれであるかを判定することはできなかった。そこで、苦味を呈した遠心分離15,000 rpm (24,000×g)の沈殿物について各種の溶媒に対する溶解性

表2 遠心分離沈殿物の各種溶媒に対する性状

	可 溶 物		不 溶 物	
	色 調	呈 味	色 調	呈 味
水		(可溶物無し)	暗緑色	渋味、苦味(+)
エチルアルコール	黄 色	渋味、苦味(+)	白 色	(-)
アセトン	黄 色	渋味、苦味(+)	白 色	(-)
エチルエーテル	淡黄色	苦味(+)	白 色	(-)
クロロホルム	淡黄色	苦味(+)	白 色	(-)

○+および#は苦味の強さを表わす(+<#)

○-は、特徴的な呈味を示さなかったことを表わす

試験を行った。

表2に示すように、遠心分離試験での沈殿物は、有機溶媒に溶解される成分を含んでおり、極性の強い水に溶解される成分は含まれていなかった。さらに、水の不溶物およびすべての有機溶媒の可溶物で、苦味を中心とした呈味があった。

また、有機溶媒での可溶物は、エチルアルコールやアセトンでは苦味以外の味も、エチルエーテルおよびクロロホルムでは強い苦味を示した。つまり、溶媒の極性が弱くなるにしたがい、可溶物の苦味は強くなった。

したがって、クワイの苦味成分は、顆粒内に存在するたんぱく質ではなくステロイドとトリテルペノイドをのぞく脂質であること、また極性の弱い溶媒に対する溶解性の大きい物質であることが明らかになった。

以上、IおよびIIの各種実験結果から、クワイの苦味成分は、細胞内顆粒中に存在している脂質で、ステロイドおよびトリテルペノイドをのぞく物質であると推定した。

要 約

植物成分の一般的定性試験および物理化学的性状試験から、クワイの苦味成分は細胞内の顆粒中に存在する脂質でステロイドおよびトリテルペノイドをのぞく物質であると推定した。

本研究を行うにあたり実験設備その他にご援助いただいた本学理事長神谷一三先生ならびに学長神谷みゑ子先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 芝 哲夫：味とにおいの化学（化学総説 No.14），日本化学会，p.129（1976）
- 2) 萩原清和：調理科学，**13**，21（1980）
- 3) 佐藤昌康：化学教育，**25**，380（1977）
- 4) 林 輝明：科学と工業，**57**，81（1983）
- 5) D. L. Dreyer：Fortsch. Chem. Org. Nat., **26**，190（1968）
- 6) D. Lavie, E. Glotter：Fortsch. Chem. Org. Nat., **29**，307（1971）
- 7) 黒岩芳明：化学と生物，**4**，436（1966）
- 8) 松永昌司，田坂利：日食工誌，**9**，318（1962）
- 9) 中林敏郎：日食工誌，**9**，285（1962）
- 10) 坂村貞雄他：日食工誌，**14**，491，（1967）
- 11) T. Shimamoto, J. Sugayama：J. Sci. Res. Inst., **45**，139（1951）
- 12) J. R. Lowrie, R. C. Lawrence：J. Dairy Sci. Technol., **7**，51（1972）
- 13) 宮道悦男：最新植物成分研究法，廣川書店，p.113（S.43）
- 14) 宮道悦男：最新植物成分研究法，廣川書店，p.301（S.43）
- 15) 井上吉之：日本食品事典，医歯薬出版 K.K.，p.276（S.51）
- 16) 山沢和子：東海女子短期大学紀要第 8 号，p.21（S.57）
- 17) 井上尚人他：基礎実験有機化学，丸善 K.K.，p.130（S.44）
- 18) 宮道悦男：最新植物成分研究法，廣川書店，p.408（S.43）
- 19) 市川和宏他：農化，**34**，448（1960）
- 20) D. B. Bechtel, Y. Domeranz：J. Food Sci., **43**，1538（1978）
- 21) C. G. Smith：Food Microscopy, ACADEMIC PRESS, p.35（1979）
- 22) 井沢三生：生物学的技術 I，日本生物物理学会，p.465（1968）