報 文

外国産チューインガム中のテルペン樹脂の分析

(平成 15 年 8 月 26 日受理)

鵜澤昌好^{*1,†} 桜井孝治^{*1} 奥山知子^{*1} 朝田慎也^{*1}
坂ノ下典正^{*1} 塚田陽康^{*1} 河原成元^{*2}

Studies on Analysis of Terpene Resin in Imported Chewing Gums

Masayoshi UZAWA^{*1,†}, Koji SAKURAI^{*1}, Satoko OKUYAMA^{*1}, Shinya ASADA^{*1},
Masanori SAKANOSHITA^{*1}, Kiyoyasu TSUKADA^{*1} and Seiichi KAWAHARA^{*2}(^{*1}LOTTE Co., Ltd., Central Laboratory: 3-1-1, Numakage, Minami-ku, Saitama-shi, 336-8601,
Japan; ^{*2}Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Nagaoka University of
Technology: 1603-1, Kamitomioka-machi, Nagaoka, Niigata 940-2188, Japan;[†]Corresponding author)

We have developed an analytical method for terpene resins in chewing gum. The fraction including terpene resins was prepared by means of hexane extraction and two silica gel column chromatography treatments (hexane and ethyl acetate) from chewing gum. The terpene resin fraction was analyzed with LC/MS and IR. The terpene resins are mixtures of polymeric pinene and/or limonene, which have a monomer molecular weight of 136. The MS spectrum of the terpene resin peak on the LC/MS total ion chromatogram showed protonated molecular ion ($M+H$)⁺ peaks at intervals of m/z 136, characteristic of a complex mixture of polyterpenes. IR spectroscopy is a suitable technique to identify the terpene resin type, *i.e.*, pinene or limonene. When the method was applied to imported chewing gum sold in Japan, terpene resins were clearly detected.

(Received August 26, 2003)

Key words: チューインガム chewing gum; テルペン樹脂 terpene resin; リモネン limonene; ピネン pinene; 高速液体クロマトグラフィー/質量分析法 LC/MS; 赤外分光光度計 IR

緒 言

チューインガムは、味とかみ心地を楽しむ菓子で、ほかの菓子と異なり長い間口中でそしゃくすることができるチューインガム基礎剤と呼ばれる水不溶性の高分子物質のガムベースが製品の 15 から 30% を占めている^{1),2)}。チューインガム基礎剤は天然高分子物質と食品添加物として許可されている合成高分子物質の 2 つに大きく分類することができる。天然高分子物質である天然樹脂は、そしゃくに適した調和のとれた弾力性をもつとともにミントなどの香料との親和性をもっているため高品質のチューインガムを製造するための重要な素材である。1990 年代に入って天然樹脂が枯渇し、入手しにくくなる中で、欧米では天然樹脂と同じテルペン系物質より調製される合成高分子物質であるテルペン樹脂が、品質を落とさずにチューイ

ンガムを製造する基礎剤として使用されてきた^{3),4)}。テルペン樹脂は、欧米では 1984 年に食品添加物として認可されているが⁵⁾、わが国では認可されていない。

近年、国内で販売されているチューインガムの一部には外国産の輸入製品や海外委託製造の製品なども見られるようになり、それらのチューインガムではわが国で認可されていないテルペン樹脂が使用されている可能性がある。しかし、チューインガム中のテルペン樹脂の分析法については現在まで実施された報告もなく、チェックの手段も存在しない。

今後チューインガムの製造および流通における国際化がますます増大することが予想されており、チューインガム市場の健全化のためにテルペン樹脂の分析法を確立する必要があると考え、分析方法の検討を行ったので報告する。また、本分析法を用い、国内で販売されている原産国が外国のチューインガムについてテルペン樹脂の使用を調査した。

[†] 連絡先^{*1} (株)ロッテ中央研究所基礎研究部: 〒336-8601 さいたま市南区沼影 3-1-1^{*2} 長岡技術科学大学工学部化学系: 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1

実験方法

1. 試料

外国市販チューインガム：ドイツ国内で購入したドイツ製ペパーミントガム（原材料表示にテルペン樹脂が記載されているもの）

国内市販輸入チューインガム：日本国内で購入したイタリア製ライムミントガム（原産国として外国名の記載のあるもの）

市販テルペン樹脂：Arizona Chemical 社製 SYLVA-GUM TR90 Resin（チューインガム用テルペン樹脂：ピネンタイプ）；Arizona Chemical 社製 SYLVAGUM TR 7115C（チューインガム用テルペン樹脂：リモネンタイプ）

2. 試薬

ヘキサン：特級 和光純薬工業(株)

酢酸エチル：特級 和光純薬工業(株)

テトラヒドロフラン (THF): 特級 和光純薬工業(株)

シリカゲル：WAKO gel C-200 和光純薬工業(株)

無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用 和光純薬工業(株)

3. 装置

高速液体クロマトグラフ/質量分析計：HPLC 装置, HP-1100 series（Agilent 社製）；MS 検出器, LCQ^{DECA}（Thermo Quest 社製）

赤外分光計 (IR) 装置：Spectrum One（Perkin-Elmer 社製）

4. LC/MS 測定条件

カラム：KF-806M (8 mm i.d.×300 mm) (昭和電工(株)製) +KF-803 (8 mm i.d. ×300 mm) (昭和電工(株)製)

カラム温度：40℃

移動相：THF

流速：0.5 mL/min

イオン化モード：APCI (+)

加熱キャピラリー温度：200℃

スキャン範囲：100~2,000

5. IR 測定条件

試料調製方法：KBr 錠剤法

6. テルペン樹脂含有画分の調製方法

チューインガム約 14 g を 40℃ の温水でもみ洗いし糖類を除去した。得られた水不溶性ガムベースを減圧乾燥後、ヘキサン 200 mL でソックスレー抽出を約 40 時間行い、ヘキサン抽出物を乾固した。乾固物を約 1% になるようにヘキサンに溶解後、あらかじめヘキサンで湿式充てんした無水硫酸ナトリウム 3 g, シリカゲル 20 g, 無水硫酸ナトリウム 10 g を積層充てんしたガラスカラム (20 mm i.d.×300 mm) に注ぎ、脱水ヘキサン 600 mL で溶出した。溶出液は減圧下で濃縮した後、シリカゲル 10 g を加えてさらに溶媒留去を行い、ヘキサン抽出物をすべてシリカゲルに吸着させ、あらかじめ酢酸エチルで湿式充てん

Fig. 1. Extraction of terpene resin from chewing gum

した無水硫酸ナトリウム 3 g, シリカゲル 20 g のカラム (20 mm i.d.×300 mm) に上積した。その後、酢酸エチル 600 mL で溶出し、溶出液を減圧下で溶媒留去し乾燥後、乾燥物を約 0.5% になるように THF に溶解して試験用溶液とした。

試験方法の手順を Fig. 1 に示した。

結果および考察

1. チューインガムからのテルペン樹脂成分の精製

テルペン樹脂は、松の木から得られる α -ピネン、 β -ピネンを主成分とするテレピン油や、かんきつ類の皮より採れるリモネンを主成分とするオレンジオイルを精製、重合後、減圧蒸留により低分子量物質を除いたもので、チューインガム用のものとしては軟化点 80 から 130℃ 程度のものが用いられる。

市販テルペン樹脂（ピネンタイプ）をチューインガムからのテルペン樹脂含有画分の調製方法と同様の方法で精製した結果、テルペン樹脂 0.505 g からソックスレー抽出で得られた抽出物は 0.504 g であり、全量が抽出された。次に、ソックスレー抽出物 0.50 g をヘキサンによるカラムクロマトグラフ分画したところ、得られた画分は 0.36 g でテルペン樹脂の約 71% であった。さらに、ヘキサンによるカラムクロマトグラフ分画物 0.36 g を酢酸エチルによる分画では 0.35 g となりほぼ全量が回収された。したがって、本実験の全収率は約 70% であった (Table 1)。

ガムベースの分析法^{6,7)}におけるソックスレーヘキサン抽出物にはテルペン樹脂以外に天然樹脂、エステルガム、ワックス、合成ゴムなどが含まれているが、抽出物のヘキサンによるシリカゲルカラムクロマトグラフ分画により、天然樹脂、エステルガムが除かれ、テルペン樹脂以外の溶出物はワックス、合成ゴムであった。ワックス、合成ゴムは酢酸エチルにはほとんど溶解しないため、酢酸エチルを溶出溶媒としたシリカゲルカラムクロマトグラフィー

Table 1. Isolation of Terpene Resin from Chewing Gum

Steps	Peppermint gum		Lime mint gum		Terpene resin	
	Total volume (g)	Yield (%)	Total volume (g)	Yield (%)	Total volume (g)	Yield (%)
Sample volume	13.9284	100	15.1491	100	0.5054	100
Rinsing treatment	3.0782	22.1	4.2329	27.9	—	—
Soxhlet extraction with hexane	1.6930	12.2	2.2646	15.0	0.5043	99.8
Wakogel C-200 ¹	0.7520	5.4	0.5689	3.8	0.3587	71.0
Wakogel C-200 ²	0.4305	3.1	0.1471	1.0	0.3548	70.2

¹ Eluted with hexane. ² Eluted with ethyl acetate.

Fig. 2. Mass spectra and total ion chromatograms of (A) terpene resin (pinene type), (B) fraction of peppermint gum and (C) fraction of lime mint gum

Fig. 3. IR spectra of (A) terpene resin (pinene type), (B) terpene resin (limonene type), (C) fraction of peppermint gum and (D) fraction of lime mint gum

からは溶出ししない。したがって、2回目の酢酸エチルを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフ分画を行うことで、ガムベースからテルペン樹脂だけを取り出すことが可能となった。

試料チューインガムから分画精製したテルペン樹脂と考えられる抽出物は、ペパーミントガムでは3.1%、ライムミントガムでは1.0%であった。

2. テルペン樹脂成分の確認

一般的な高分子化合物の確認法として ^{13}C -NMR測定法があるが、テルペン樹脂は混合物であり、 ^{13}C -NMRスペクトルも複雑なシグナルパターンを示し帰属・同定することは困難である。さらに、市販テルペン樹脂は、起源の異なる原料より調製された樹脂を数種混合し物性を調節しており、 ^{13}C -NMRスペクトルを用いた確認をより困難にしている。したがって、 ^{13}C -NMRを測定しテルペン樹脂の確認に用いることは正確性に欠けると考えられる。

一方、テルペン樹脂は非常に構造の似通っている種々のテルペン重合物の複雑な混合物であり、GPC分析用カラムを装着したLC/MS分析において、分子量分画されたトータルイオンクロマトグラム上のピークを積算し得られるMSスペクトルは、テルペン樹脂構成化合物のそれぞれの分子量($M+H$)⁺を示しており、テルペン樹脂のような混合物の構成特質を分析する上で有効な手段である。

さらに、IRスペクトルからは混合物であるテルペン樹脂の官能基を帰属することができ、混合物の平均化された特徴を調べることで、そのテルペン樹脂がピネンタイプであるかりモネンタイプであるか推定することも可能である。

そこで、LC/MSおよびIRによってテルペン樹脂成分の確認を行った。

2.1 LC/MSによるテルペン樹脂成分の確認

テルペン樹脂は、 α -ピネン、 β -ピネン、リモネンなどのモノテルペンが複数個重合したもので、構成単位である3種のモノテルペン類は分子量がいずれも136である。標準品のテルペン樹脂の試料溶液をゲルろ過クロマトグラフ(GPC)分析用カラムを装着したLC/MS測定を行った結果、トータルイオンクロマトグラムはカラム保持時間41.9分を中心に前後3分程度の広がりをもったピークとなっており、そのピークを積算したMSスペクトルからは、 m/z 954, 1,090, 1,226, 1,362, 1,498などに強いピークをもつ136おきの櫛状の規則的なパターンが現れた。これはそれぞれテルペン重合物の7, 8, 9, 10, 11量体に対応していると推察される(Fig. 2(A))。

原材料表示にテルペン樹脂が記載されている外国市販ペパーミントガムから抽出したテルペン樹脂画分の試験溶液を同様にLC/MS測定したところ、テルペン樹脂標準品と同様にトータルイオンクロマトグラムのピークはカラム保持時間41.6分を中心としており、そのMSスペクトルも m/z 136おきの等間隔な標準品のテルペン樹脂のスペクトルパターンと類似したスペクトルが得られた(Fig. 2

(B))。

2.2 IRによるテルペン樹脂成分の確認

KBr粉末に試験溶液を添付し、溶剤を揮散させた後、錠剤成型を行いIR測定を行った。標準市販テルペン樹脂は $2,900\text{ cm}^{-1}$ にC-H伸縮吸収、 $1,460\text{ cm}^{-1}$ に CH_3 ならびに CH_2 、 $1,390\sim 1,360\text{ cm}^{-1}$ に CH_3 のそれぞれ吸収が認められた。ここで、 $1,390\sim 1,360\text{ cm}^{-1}$ の吸収は、同一炭素に2つのメチル基が結合した構造(gem-dimethyl group)に特徴的なdoubletパターンを示した。したがって、今回用いている市販テルペン樹脂はピネン由来の構造を有していると考えられた(Fig. 3(A))。一方、リモネン由来のテルペン樹脂はgem-dimethyl group構造をもたないためdoubletパターンを示さない(Fig. 3(B))。

次に同様に原材料表示にテルペン樹脂が記載されている外国市販ペパーミントガムから抽出した試験溶液によるIR測定を行ったところ、標準市販テルペン樹脂のスペクトルパターンと酷似したスペクトルが得られ $2,900\text{ cm}^{-1}$ 、 $1,460\text{ cm}^{-1}$ ならびに $1,390\sim 1,360\text{ cm}^{-1}$ にそれぞれ吸収が認められ、ピネンタイプのテルペン樹脂の使用が確認された(Fig. 3(C))。

3. 市販チューインガムへの適用

国内市販の外国産ライムミントガムを分析したところ、テルペン樹脂画分の確認試験で標準品のテルペン樹脂ならびに原材料表示にテルペン樹脂が記載されている外国産ペパーミントガムと同様の結果が得られ、国内市販の外国産ライムミントガムに国内食品添加物不認可のテルペン樹脂が使用されていた(Fig. 2(C), 3(D))。このことは外国で製造されているチューインガムが日本国内向けでも海外で生産されている製品と同様の原料を用いて製造されていることを示しており、日本国内で販売される外国産のチューインガムについてはテルペン樹脂の分析を行う必要があると考えられた。

ま と め

チューインガム中からのテルペン樹脂分析法を検討した結果、ガムベースのソックスレーヘキサン抽出物をヘキサン、酢酸エチルと2種の溶離液によるシリカゲルカラムクロマトグラフによる分画・分離で、テルペン樹脂を他のガムベース原料と分離し、取り出すことができた。

精製した画分がテルペン樹脂であることを確認するため、LC/MS、IR測定を行った。これらの確認法からはテルペン樹脂特有の結果が得られた。特にLC/MS測定におけるMSスペクトルは、 m/z 954, 1,090, 1,226, 1,362, 1,498などと136おきの質量にピークが現れるテルペン樹脂を特徴づけるMSスペクトルパターンを示しており、テルペン樹脂の確認法として最適な方法と考えられた。

本報で確立した分析法で外国産のテルペン樹脂使用が明らかなチューインガムを分析し、テルペン樹脂画分をLC/MS、IRの確認法で測定したところ、すべてで標準物質のテルペン樹脂と同様の結果が得られ、本報の方法によ

りチューインガム中に使用されているテルペン樹脂を確認することができることが示された。また、本分析法を用い国内で販売されている原産国が外国のチューインガムを分析した結果、テルペン樹脂の使用が確認された。

文 献

- 1) Sato, Y., Takiguchi, T., Chuingamu No Kagaku (Science of chewing gum), Shokuhin Kogyo (The Food Industry), **9**, 64-72 (1986).
- 2) Fijimoto, K., Chuingamu No Rekishi (History of chewing gum), Shoku No Kagaku (Food Science Journal), **210**(8), 58-63 (1995).
- 3) Sato, Y., Suzuki, Y., Chuingamu Kisozaï Toshiteno Terupen Jushi No Yuyosei (Utility of terpene resin for chewing gum base), Shoku No Kagaku (Food Science Journal), **93**(11), 1-8 (1985).
- 4) Sato, Y., Suzuki, Y., Shibata, M., Chuingamu Kisozaï Toshiteno Terupen Jushi (Studies on terpene resin for chewing gum base), Shokuhin Kogyo (The Food Industry), **11**, 57-62 (1981).
- 5) Committee on Specifications, Food Chemicals Codex, of the Committee on Food Protection National Research Council ed., "Food Chemicals Codex", 2nd Ed., Washington, D. C., National Academy of Sciences, 1972, p. 811. (ISBN 0-309-01949-4)
- 6) Ministry of Health, Labour and Welfare supervised, "Shokuhin Eiseikensa Shishin, Shokuhintenkabutsuhen", Tokyo, Nihon Shokuhin Eisei Kyokai, 2003, p. 610-619.
- 7) Tanimura, A., Fujii, M., Yoshihira, K., Ito, Y., Shiro, T. ed., "Shokuhinchu No Shokuhintenkabutsu Bunsekiho Kaisetsusho", Tokyo, Kodansha Scientific, 1992, p. 594-606. (ISBN 4-06-153705-9)