調査・資料

市販既存添加物カンゾウ抽出物の品質上の特性

(平成 18 年 12 月 13 日受理)

飯田 憲司* 植松 洋子 鈴木 公美
安野 哲子 平田 恵子 伊藤 弘一

Properties of Commercial Licorice Extracts Used as a Food Additive

Kenji IIDA*, Yoko UEMATSU, Kumi SUZUKI, Tetsuko YASUNO,
Keiko HIRATA and Kouichi ITOTokyo Metropolitan Institute of Public Health: 3-24-1 Hyakunin-cho,
Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan; *Corresponding author

Properties of eight commercial licorice extracts used as a food additive (sweetener, listed in the List of Existing Food Additives in the Japanese Food Sanitation Law) were surveyed. Residue on ignition ranged from 0.3 to 12.4%, and pH ranged from 4.1 to 6.8, amount of glycyrrhizin, which is the major component in licorice extract, ranged from 10.9 to 77.4%, sodium ranged from 0.1 to 1.2%, potassium ranged from 0.3 to 5.0%, and ammonium nitrogen ranged from 0.03 to 2.5%. These results indicated that various products were distributed on the market. Differences in the manufacturing process may contribute to the variations of product properties.

(Received December 13, 2006)

Key words: カンゾウ抽出物 licorice extract; グリチルリチン酸 glycyrrhizic acid; ナトリウム sodium; カリウム potassium; アンモニア性窒素 ammonium-nitrogen; 品質 quality; 食品添加物 food additive; 甘味料 sweetener; 特性 property; 規格 specification

緒 言

カンゾウ抽出物は、マメ科カンゾウ類の茎または根茎より、抽出・精製して得られたもの^{*1}で、主成分はグリチルリチン酸である。甘味度は砂糖の約 200 倍で、持続性のある甘みを有する¹⁾。醤油の塩かどを和らげ、うま味を付与する目的で使用され始めた¹⁾経緯があり、既存添加物名簿^{*2}に記載された天然甘味料として食品に使用される。またカンゾウ抽出物（カンゾウエキス）は、生薬²⁾、たばこ香料、化粧品および医薬品に用いられている¹⁾。

これまで、食品中のグリチルリチン酸の分析³⁾、^{*3}や、カンゾウエキス試作品中の各成分の分析⁴⁾、⁵⁾は報告されているが、市販カンゾウ抽出物を対象とした調査結果は見当たらない。そこで、市販カンゾウ抽出物を対象とし、日本食品添加物協会策定の第三版既存添加物自主規格（自主規

格）⁶⁾ および第 8 版食品添加物公定書（案）（8 版案）^{*4} を参考に、品質上の特性を調査したので報告する。

実験方法

1. 試 料

平成 12 年度に日本食品添加物協会を通じて入手した、カンゾウ抽出物（8 製品、すべて粉末）およびカンゾウ末（1 製品、粉末、参考品）を用いた。

2. 試 薬

標準品：グリチルリチン酸（99.0% 以上）は和光純薬工業(株)製、ナトリウム (Na) 標準液 (1,000 mg/L) およびカリウム (K) 標準液 (1,000 mg/L) は関東化学(株)製、原子吸光分析用を用いた。

3. 装 置

HPLC 装置：日本分光工業(株)製、ポンプ PU-1580, UV 検出器 UV-1570, カラムオープン CO-1560, オートサンプラー AS-1555-10

pH 計：(株)堀場製作所製 pH METER F-32

* 連絡先

東京都健康安全研究センター：〒169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^{*1} 厚生省生活衛生局長通知，“既存添加物名簿収載品目リスト”，平成 8 年 5 月 23 日，衛化第 56 号 (1996)。^{*2} 厚生省告示第 120 号，平成 8 年 4 月 16 日。^{*3} マーケットバスケット方式によるグリチルリチン酸の摂取量調査 www.kenko-okinawa.jp/eikanken/syoho/shoho37/11glycyrrhizic.pdf^{*4} 第 8 版食品添加物公定書作成検討会報告書 <http://www.wam.go.jp/wamappl/bb11GS20.nsf/vAdmPBigCategory10/B384196D2ECCD1B2492570EE001D78BB?OpenDocument>

水分測定装置: (株)京都電子 MKS-210

原子吸光光度計: (株)日立製作所製 Z-5300

ケルダール滴定装置: フォス・ジャパン(株)製 KJE-LTEC AUTO 1030 Analyzer

マイクロ波式分解装置: CEM 社製 MDS-2000 型

4. HPLC 条件

自主規格⁶⁾に準じた。カラム: Mightysil Rp-18GP (3.0 mm i.d.×150 mm, 粒径 5 μ m), 移動相: 2% 酢酸-アセトニトリル (20:11) 混液, 流速: 0.5 mL/min, カラムオープン温度: 40°C, 注入量: 10 μ L, 検出波長: 254 nm

5. 試験溶液の調製および測定方法

5.1 グリチルリチン酸 試料約 500 mg を精密に量り, アセトニトリル-水 (50:50) 混液に溶解し, 100 mL とした。これを移動相を用いてグリチルリチン酸の濃度が検量線の範囲内となるように希釈したものをフィルター (孔径 0.45 μ m) でろ過し HPLC 用試験溶液とした。標準溶液は, グリチルリチン酸標準品 20 mg をアセトニトリル/水 (50:50) 混液に溶解し, 20 mL とし, 移動相を用いて 10~100 μ g/mL の濃度に希釈したものをを用いた。試験溶液および標準溶液を HPLC に注入し, 絶対検量線法により定量した。

5.2 Na および K 安野らの方法⁷⁾に従った。すなわち, 試料 200 mg に硝酸 (1→2) 10 mL を加えてマイクロ波式分解装置で 30 分間加熱して分解したのち, 水を加えて 200 mL とした。この液 1.0 mL を量り, 硝酸 (1→10) 5 mL および水を加えて 50 mL としたものを原子吸光光度計で測定した。定量は絶対検量線法により行った。

5.3 アンモニア性窒素 (N) 試料約 100 mg を直接蒸留用チューブ (容量 800 mL) に精密に量り採り, 水を加えて約 100 mL とし, ケルダール滴定装置を用いて, 硫酸による分解工程を行わない直接蒸留法により測定した。

5.4 強熱残分 第 7 版食品添加物公定書⁸⁾に従った。

5.5 pH 第 7 版食品添加物公定書⁸⁾に従い, pH 計を用いて測定した。

5.6 水分 第 7 版食品添加物公定書⁸⁾のカルフィッシャー法により測定した。

5.7 溶解性 第 7 版食品添加物公定書⁸⁾に準じ, 以下のように判定した。溶けやすい: 溶質 1 g を溶かすに要する溶媒量 10 mL 未満, やや溶けやすい: 同 10 mL 以上 30 mL 未満, やや溶けにくい: 同 30 mL 以上 100 mL 未満, 溶けにくい: 同 100 mL 以上。

結果および考察

1. 強熱残分, pH, グリチルリチン酸含有量および溶解性

分析結果を Table 1 および Fig. 1 に示した。Fig. 1 の中央のグラフの横軸は強熱残分, 縦軸は pH, グラフ中の円の大きさはグリチルリチン酸含有量, また淡色の円は水に溶けやすい製品, 濃色の円は溶けにくい製品, 黒丸は参考として分析したカンゾウ末である。また強熱残分は, 試

料中の Na, K などが, 硫酸を入れて灰化した場合にそれぞれの硫酸塩として残留したものであり, Na, K 塩などが含まれていると高い値を示す⁸⁾。また, Fig. 1 中央のグラフの左側に, 自主規格⁶⁾および 8 版案⁴⁾の規格値範囲 (粗製物 crude, pH 2.5~7.0, および精製物 purified, pH 2.5~5.0) を示した。

グリチルリチン酸含有量は 10.9~77.4%, 強熱残分は 0.3~12.4%, pH は 4.1~6.8 と広範な分布を示し, いずれも自主規格値および 8 版案の範囲内であるが, カンゾウ抽出物としてさまざまな製品が流通していることが判明した。

製品は, グリチルリチン酸含有量から, 自主規格および 8 版案の分類に基づく粗製物 (規格値範囲: 5~50% 未満, 10.9~34.4%, A~C, Fig. 1 で小さな円) と精製物 (規格値範囲: 50~80%, 56.2~77.4%, D~H, Fig. 1 で大きな円) に大別された。粗製物はいずれも pH が高く (5.3~6.8), 精製物は低かった (4.1~4.8)。一方, 強熱残分は, 粗製物では 0 に近い C と 10% を超える A, B に分かれたが, 精製物では 2.9~4.7% とほぼ一定の値を示した。また, 粗製物 3 製品は水に溶けやすく (Fig. 1 で淡色の円), 精製物 5 製品は水に溶けにくかった (Fig. 1 で濃色の円)。粗製物のうち, A, B は強熱残分 (12.4% および 12.3%), pH (6.4 および 5.3) 共に高く, 参考のために分析したカンゾウ末 (1 製品, I) の pH (6.2), 強熱残分 (9.9%) と近い値を示した。一方, C は, pH は 6.8 と高かったものの強熱残分は 0.3% と極めて低く, 粗製物ではあるが Na や K などの塩類がかなりの程度除去された製品と考えられた。精製物の強熱残分はいずれもカンゾウ末より少なく, 塩類がある程度除去されたものと考えられた。また, pH もカンゾウ末より低かった。

Fig. 1 に示した規格値範囲のさらに左側に, グリチルリチン酸やその塩の pH, 水に対する溶解性^{2), 4), 8)~11)} (粗製物 crude, pH 2.5~7.0, および精製物 purified, pH 2.5~5.0) を示した。3Na 塩^{4), 9)}, 2Na 塩^{4), 8)}, 2K 塩^{4), 10), 11)}, 2NH₄ 塩^{4), 10)}は水に溶けやすい。一方, 1NH₄ 塩は, やや溶けにくく, 遊離酸は水に溶けにくかった (それぞれ, 東京化成工業(株)製品についての実験結果)。pH は, 3Na 塩で最も高く (7.0~8.0)^{4), 9)}, 2Na 塩 (5.5~6.5)^{4), 8)}, 2K 塩 (5.0~6.0)^{4), 10), 11)}, 1NH₄ 塩 (4.0~5.0)^{4), 11)} がそれに続き, 遊離酸 (2.5~3.5)¹³⁾ では最も低くなる。2NH₄ 塩 (4.0~6.0) については, 製品についての情報しか得られていない^{5), 6)}。

すなわち, 製品中のグリチルリチン酸が Na や K などの塩として存在していれば, pH や強熱残分の値は高く, 水に溶けやすい。一方, 遊離酸であれば, pH, 強熱残分共に低く, 水に溶けにくい。また, NH₄ 塩であれば, 強熱残分は低いが, pH は遊離酸よりは高く, さらに 1NH₄ 塩

*5 <http://www.tcmcn.com/2a.htm>

*6 <http://www.netsun.com/chinasuppliers/cn/c/109/1092/product-en/8323.html>

Table 1. Properties of commercial licorice extracts

Sample/compounds	Residue on ignition (%)	pH	Glycyrrhizinic acid (G, %)	Na (%)	K (%)	Ammonium nitrogen (N, %)	Predicted residue on ignition (%)*	Molar-ratio			Solubility in water**	
								Na/G	K/G	N/G		(Na+K+N)/G
A	12.4	6.4	10.9	1.1	2.0	0.31	7.86	3.62	3.85	1.70	9.17	++ +
B	12.3	5.3	33.3	0.8	5.0	0.33	13.64	0.87	3.16	0.59	4.62	++ +
C	0.3	6.8	34.4	0.2	0.3	2.48	1.29	0.22	0.19	4.23	4.64	++ +***
D	4.7	4.6	56.2	0.3	1.9	0.60	5.17	0.19	0.72	0.63	1.54	—
E	3.4	4.8	61.3	0.6	2.0	1.28	6.32	0.35	0.68	1.23	2.26	—
F	4.3	4.1	62.5	1.2	0.5	0.03	4.82	0.68	0.17	0.03	0.88	—
G	2.9	4.8	67.5	0.1	1.3	1.37	3.21	0.05	0.40	1.20	1.65	—
H	3.1	4.7	77.4	0.2	1.6	1.10	4.19	0.10	0.44	0.84	1.38	—
I (Licorice powder)	9.9	6.2	5.6	0.1	1.0	0.12	2.54	0.59	3.82	1.28	5.69	
Crude product ^{(6), *4}	<15	2.5-7.0	5.0-50									
Purified product ^{(6), *4}	<15	2.5-5.0	50-80									
Glycyrrhizinic acid		2.5-3.5 ¹¹⁾										—
Disodium glycyrrhizinate		5.5-6.5 ^(4), 8)										++ + (4), 8)
Trisodium glycyrrhizinate		7.0-8.0 ^(4), 9)										++ + (4), 9)
Dipotassium glycyrrhizinate		5.0-6.0 ^(4), 10), 11)										++ + (4), 10), 11)
Monoammonium glycyrrhizinate		4.0-5.0 ^(4), 11)										+
Diammonium glycyrrhizinate		4.0-6.0 ^{*5, *6}										++ + *** (4), 10)

*: Na₂SO₄ + K₂SO₄

**: volume of solvent required to dissolve 1 g of solute

- ++ +: freely soluble: <10 mL
- ++: soluble: 10-30 mL
- +: sparingly soluble: 30-100 mL
- : insoluble: >100 mL

***: slightly heated

Fig. 1. Properties of commercial licorice extracts

The central graph shows the relationship between residue on ignition and pH, together with glycyrrhizin content (circle size) and solubility (darkness of the filled color).

Left side bars show pH and solubility of standard glycyrrhizin compounds and pH ranges in the specifications of licorice extract^{6), *5)}, corresponding specifications for the compounds^{4), 8)-11)}, or obtained data (1NH₄ and acid).

*: slightly heated

Solubility was expressed according to the criteria in the 7th Edition of the specification of food additives (minor change included)⁸⁾.

Volume of solvent required to dissolve 1 g of solute;

freely soluble: < 10 mL

sparingly soluble: 30–100 mL

insoluble: > 100 mL

Surrounding graphs show Na/G, K/G and N/G (ratio of sodium [Na] to glycyrrhizin [G], potassium [K] to glycyrrhizin and ammonium-nitrogen [N] to glycyrrhizin, respectively, as molar concentrations) in commercial licorice extract products.

Arrows show correspondences among the graphs.

ではやや水に溶けにくく、2NH₄ 塩では水に溶けやすい。そこで、さらに Na, K および N を測定することによりグリチルリチン酸の存在形態を推測し、pH, 強熱残分および溶解性との関係を明らかにすることを試みた。

2. Na, K, N のグリチルリチン酸に対する比率および溶解性との関係

Table 1 に Na, K, N の分析値、また Table 1, および Fig. 1, 中央のグラフの外周に Na, K, N のグリチルリチン酸 (G) に対する比率 (モル比, Na/G, K/G および N/G) を示した。粗製物のうち A および B は Na/G, K/G が高く、このうち B は、カンゾウ末 (I) と類似した塩組成を示した。A は、Na/G が I より高かった。一方、K/G は I とほぼ同程度であった。カンゾウ根は、産地により Na と K がほぼ等しいものと K が Na の数倍のものがある⁵⁾。水やアルコール抽出によっては、Na/K はほとんど変化しない⁵⁾。また、後述のアンモニア水抽出では、酸性の G のほ

うが Na より抽出されやすいと考えられる。したがって Na/G が I より高いのは、原材料のカンゾウが異なるためではないかと推測された。また A, B は水に溶けやすかったことから、遊離酸はほとんど含まれておらず、水に溶けやすい 2 あるいは 3Na, K 塩の存在比が高いと考えられた。一方、C は、N/G が 4.23 と極めて高かったのに対し、Na/G, K/G はそれぞれ 0.22, 0.19 と低く、主として NH₄ 塩として存在していると考えられた。A, B よりは水に溶けにくかったが、加温することにより溶解したことから水に溶けにくい遊離酸はほとんど含まれず、主として水に溶けやすい 2 あるいは 3NH₄ 塩として存在しているのではないかと推測された。また、粗製物では、(Na+K+N)/G が、4.6~9.2 と高かった。グリチルリチン酸はカルボキシル基を 3 個有し、最高 3 モルまで陽イオンと結合できることから、Na, K, NH₄ の一部はグリチルリチン酸以外の化合物として存在していると考えられる。

一方、精製物では Na/G, K/G はいずれの製品も 1 以下で、原材料由来の Na や K はある程度除去されていると考えられた。また $(Na+K+N)/G$ の値は 0.88~2.3 といずれも 3 未満であり、塩でないカルボキシル基が存在していることをうかがわせた。いずれの製品も水に溶けにくかったことから、グリチルリチン酸の一部は水に溶けにくい遊離酸として存在していると考えられた。F は、N/G が 0.03 と極めて低かったことから NH_4 塩は少ないと考えられるが、E, G は N/G が 1 以上で、一部は NH_4 塩としても存在していると推定された。

粗製物がいずれも水に溶けやすかったことから、グリチルリチン酸化合物以外のカンゾウ由来成分は、おおむね水に溶けやすく、溶解性の違いは、主としてグリチルリチン酸が水に溶けにくい酸として存在しているか、溶けやすい塩として存在しているかによると考えられた。精製物の 5 製品はいずれも水に溶けにくいことから、「酸型」¹⁾に分類されると考えられるが、Na, K, N の含有量から考えて、一部は Na 塩、K 塩および NH_4 塩として存在していると考えられる。

3. Na, K 含量とグリチルリチン酸含量

Na+K 含量とグリチルリチン酸含量の間には C を除いて負の相関が見られた (モル濃度, $r = -0.6994$)。グリチルリチン酸濃度が精製により高くなっていることを考えると、精製により Na 塩や K 塩が除去されていると考えられた。

4. Na, K 含量と強熱残分

強熱残分は、試料中の Na および K が硫酸を入れて灰化することによりすべて Na_2SO_4 および K_2SO_4 として存在し、他の塩類は存在しない場合、Na および K の測定値から算出した $Na_2SO_4+K_2SO_4$ の値と等しくなる。これを予測強熱残分として Table 1 に示した。測定された強熱残分は、予測強熱残分より若干低いもののおおむね近い値を示し、含有される塩は主として Na, K 塩であると考えられた。しかし、A では強熱残分は、予測強熱残分より高く、カンゾウ末と同様の傾向を示し、Ca や Mg 塩⁵⁾も存在していると考えられた。なお、強熱残分が予測値より若干低かったのは、一部が揮散などにより消失したため¹²⁾ではないかと考えられた。

5. Na, K, N のグリチルリチン酸に対する比率と pH

$(Na+K+N)/G$ の値と pH は C を除いて良い相関 ($r = 0.9731$) を示し、グリチルリチン酸と結合している陽イオンが主として pH を規定していると考えられた。C は、 $(Na+K+N)/G$ から予測される値より高い pH を示した。N の値が高かったことから、pH に影響を与える低分子の NH_4 塩が存在しているのではないかと推測された。

6. 市販カンゾウ抽出物の製造法と品質規格

カンゾウ抽出物として、主成分含有量、pH、塩組成など、品質上の特性の異なる製品が流通していることが判明した。既存添加物は、化学的合成品と異なり、原材料が天然物であることから、含有成分量などが一定でないことは

避けられない。しかし、今回調査したカンゾウ抽出物各製品の品質上の特性の違いには、製造法が大きく影響しているのではないかと考えられる。すなわち、カンゾウ根中の各イオンの存在比は産地により異なるが、いずれも $K > N$ (モル含量)であり、水やアルコールによる抽出や再結晶ではこの順序は変化しない⁵⁾ことから、C, E, G, H のように $N > K$ となるのは、抽出その他製造時にアンモニア水を使用している^{1), 4)}ためと推定される。アンモニア水の使用は、塩組成に変化を与えることが予測される。また、再結晶によっても塩組成が変化することが考えられる。製造工程で塩組成が変化すれば、pH、強熱残分、溶解性などの特性も変化すると考えられる。

自主規格値は精製を除き、製造法の異なる製品をすべて包含できる幅の広いものとなっており、8 版案⁴⁾に示された規格値も自主規格と基本的に同じである。しかし、粗製物、精製物の分類の中でも塩組成がかなり異なるものがあった。今回調査した製品個々の製造法は不明である。製造法が異なれば含有成分、したがって品質上の特性が異なることは避けられず、規格値は可能な限り、製造法とセットで設定することが望ましいと考える。

また、化学的合成品である食品添加物については、製造に使用された化学物質について、塩化物や硫酸塩など食品衛生上や品質面でほとんど問題がないものであっても精製の度合いを知る指標として残留限度値が設定されている⁸⁾。今回、C で、N/G が 4 を超え、抽出に使用されたアンモニア水に起因するグリチルリチン酸以外の NH_4 塩の存在が推測された。カンゾウ抽出物中のグリチルリチン酸以外の成分と結合している可能性もある。天然添加物についても、化学的合成品と同様、製造に使用された化学物質の残留は技術的に可能な限り低減することが望ましく、一定の残留限度を設ける必要があると考える。

結 論

カンゾウ抽出物として、さまざまな品質上の特性を有する製品が流通していた。品質上の特性には、製造法が影響していることが推測され、製造法を考慮して品質規格を設定することが望ましいと考えられた。また、化学的合成品と同様、製造に使用された化学物質について一定の残留限度を設ける必要があると考えられた。

文 献

- 1) Nihon Shokuhin Tenkabutsu Kyokai, Gijutsu Iinkai eds., Kison Tenkabutsu Meibo Shusai Hinmoku Risuto Chukaisho. Tokyo, Nihon Shokuhin Tenkabutsu Kyokai, 1999, p. 163.
- 2) Nihon Yakkyokuhou Kaisetsusho Henshu Iinkai ed., Nihon Yakkyokuhou Kaisetsusho, 14th Ed. Tokyo, Hirokawa Shoten, 2001, p. D242-D257. (ISBN 4-567-01411-1)
- 3) Ogiya, Y., Aizawa, H., Otani T., Fujita, K., Glycyrrhizic acid contents in processed foods. Sapporo-shi Eiken

- Nenpou, **28**, 58–63 (2001).
- 4) Yoshihira, K., Kamikura, M., Yamada, T., Ishiwata, H., Takeda, Y., Kawasaki, Y., Yamamoto, M., Goda, Y., Sato, K., Detection and determination of sodium glycyrrhizinate, ammonium glycyrrhizinate, and Licuorice extract. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **39** (3), 7–21 (1989).
 - 5) Yokota T., Otsubo T., Hinode Y., Nakamura H., Ogura T., Okada K., Analysis of cations in licorice roots. *Natural Medicines*, **49**, 208–210 (1995).
 - 6) Nihon Shokuhin Tenkabutsu Kyokai, Jishukikaku Senmon Linkai eds. *Kison Tenkabutsu Jishukikaku*, 3th Ed. Tokyo, Nihon Shokuhin Tenkabutsu Kyokai, 2002, p. 126–127.
 - 7) Yasuno, T., Hagiwara, T., Haneishi, N., Saito, K., Determination of inorganic salts in food additive preparations by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Ann. Rep. Tokyo. Metr. Res. Lab. P. H.*, **50**, 198–201 (1999).
 - 8) Suzuki, I. *et al.* eds., *Shokuhin Tenkabutsu Kouteisho Kaisetsusho*, 7th Ed. Tokyo, Hirokawa Shoten, 1999. (ISBN 4-567-01852-4)
 - 9) Ishidate, M. *et al.* eds. *Shokuhin Tenkabutsu Kouteisho Kaisetsusho*, 5th Ed. Tokyo, Hirokawa Shoten, 1999, p. D274–D275.
 - 10) Nihon Yakkyokuhou-gai Iyakuin Seibun Kikaku, Tokyo, Yakuji Nippousha, 2002. (ISBN 4-8407-3054-7)
 - 11) Keshohin Genryo Kijun Shinteiban, Tokyo, Yakuji Nippousha, 2000. (ISBN 4-8404-0541-5)
 - 12) Nihon Yakkyokuhou Kaisetsusho Henshu Linkai eds., *Nihon Yakkyokuhou Kaisetsusho*, 14th Ed. Tokyo, Hirokawa Shoten, 2001, p. B-143. (ISBN 4-567-01411-1)