

明 細 書

発明の名称：香料組成物および飲食品

技術分野

[0001] 本発明は、柑橘系果実または生姜の香味を有する飲食品に関する。詳細には、柑橘系果実または生姜の香気成分が劣化して生じる劣化臭（オフフレーバー）がマスキングされた飲食品に関する。

背景技術

[0002] 柑橘系果実の香味を有する飲食品は、適度な甘酸味と柑橘系果実特有のさわやかな香気とがあいまって、特有の爽快感を奏するため、多くの人に好まれている。また、生姜は甘く清々しい芳香と爽やかな辛味を持つことから、肉や魚の臭み消しや飲食品への特有の香味付与に古来より広く用いられている。しかし、柑橘系果実または生姜に特有の爽やかな香気は、経時的に失われ、代わりに劣化臭（オフフレーバー）が生じ、飲食品の品質を低下させることが知られている。

シトラールは柑橘系果実または生姜に広く含まれる香気成分で、レモン様の特徴的な香気を有する重要な香気成分である。しかしながら、シトラールは加熱もしくは経時的に減少し劣化臭を生成することが知られている。劣化臭原因物質の一つとしてはp-クレゾールが知られている。

劣化臭をマスキングする方法として、特許文献1にはシネオールまたはシス-3-ヘキセノールを特定量含有させる方法が、特許文献2にはエチルピルベート、メチルジャスモネート、メチルジヒドロジャスモネート、ジエチルマロネート、メチルベータナフチルケトン、マルトールイソブチレート、メントール、ラウリン酸、アセトイン、シンナミルアセテート、ベンジルアセテート、及び α -ターピネオールからなる群から選択される1種以上を添加する方法が記載されている。

アンブレットリド、イソアンブレットリド、シクロペンタデカノリド、シベトン、ムスコン、 δ -2-デセノラクトン、エチルマルトール、シンナミ

ックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイドなどは、基材臭、アミン臭、アンモニア臭、硫黄臭、酸臭、錆臭、煙草臭、動物臭、ハロゲン臭などの不快臭をマスキングする頭髮化粧料用マスキング組成物に使用されることが知られている（特許文献3）。スクラレオリドは、口腔用香料組成物において香気・香味付与乃至変調剤と使用されることが知られている（特許文献4）。 β -カリオフィレンオキサイドは、シトラス様香料組成物において香気・香味付与乃至変調剤として使用されることが知られている（特許文献5）。エチルマルトールなどは、果実フレーバーを含有する透明飲料において果実フレーバー由来の劣化臭を感じにくくすることが知られている（特許文献6）

一方、香粧品分野において、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の活性を特異的に阻害することによって、尿臭を抑制する方法が提供されている（特許文献7）。

先行技術文献

特許文献

- [0003] 特許文献1：特開2016-36319号公報
特許文献2：特開2015-180715号公報
特許文献3：特開2003-137758号公報
特許文献4：特開2004-18431号公報
特許文献5：特開2004-168936号公報
特許文献6：特開2016-127818号公報
特許文献7：特開2017-101224号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0004] 本発明は、柑橘風味飲食品または生姜風味飲食品の香味に影響を与えることなくp-クレゾール臭を感じにくくする（マスキングする）方法を提供することに関する。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明者らは、嗅覚受容体アンタゴニズムを利用し、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2のアンタゴニスト物質のうち、アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペンタライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールは柑橘風味飲料中において特定の濃度で商品の香味を損なうことなくp-クレゾール臭を抑制することを見出した。

本発明は以下の[1]～[11]の内容を含むものである。

[1] シトラール含有製品に、アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペンタライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上を添加することを特徴とする、シトラール又はシトラール含有製品の劣化臭マスキング方法。

[2] 劣化臭がp-クレゾールである、前記[1]に記載のマスキング方法。

[3] シトラール含有製品が、柑橘風味飲食品又は生姜風味飲食品である、前記[1]又は[2]のいずれかに記載のマスキング方法。

[4] アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペンタライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上を含有することを特徴とする、シトラール含有製品の劣化臭マスキング用香料組成物。

[5] 柑橘様または生姜様である前記[4]に記載の香料組成物。

[6] 劣化臭がp-クレゾールである、前記[4]又は[5]のいずれかに記載の香料組成物。

[7] シトラール含有製品が、柑橘風味飲食品又は生姜風味飲食品である、前記[4]～[6]のいずれかに記載の香料組成物。

〔８〕 アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される１種以上を、 $0.01\text{ ppt} \sim 10\text{ ppm}$ 含有するシトラール含有製品。

〔９〕 シトラール含有製品が、柑橘風味飲食品又は生姜風味飲食品である、前記〔８〕に記載の製品。

〔１０〕 $10\text{ ppb} \sim 1\text{ ppm}$ の

-クレゾールを含む、前記〔８〕又は〔９〕のいずれかに記載の製品。

〔１１〕 シトラール含有製品に、アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される１種以上を、 $0.01\text{ ppt} \sim 10\text{ ppm}$ 配合することを特徴とするシトラール含有製品の製造方法。

発明の効果

〔０００６〕 本発明によれば、特定量のアンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される１種以上を柑橘風味飲食品または生姜風味飲食品に付与することにより、柑橘系果実または生姜の香気成分が劣化して生じる劣化臭をマスキングすることができる。これにより、劣化しやすい柑橘系果実または生姜の香気成分を有する飲食品において、長期保管などにより劣化成分が発生するような場合であっても、より製造直後の設計に近い柑橘系果実または生姜の香味が感じられる飲食品を提供することができる。

図面の簡単な説明

〔０００７〕 〔図１〕 １-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンの添加による、

-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した

図である。

[図2] 1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図3] イソアンブレットリドの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図4] ムスコンの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図5] シベトンの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図6] ペンタライドの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図7] δ -2-デセノラクトンの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図8] シンナミックアルデヒドの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図9] β -カリオフィレンオキサイドの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図10] スクラレオリドの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

[図11] エチルマルトールの添加による、p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2の応答抑制効果の結果を示した図である。

発明を実施するための形態

[0008] p-クレゾールに対する嗅覚受容体OR9Q2のアンタゴニスト物質の探索方法は、p-クレゾールに対して応答性を示す嗅覚受容体ポリペプチドを用いて、試験物質の中からp-クレゾール臭抑制素材の候補物質を以下の工程で探索する方法である。

(i) OR9Q2、及びOR9Q2のポリペプチドのアミノ酸配列と80%

以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ p-クレゾールに対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される嗅覚受容体ポリペプチドと p-クレゾールを接触させ、p-クレゾールに対する嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する工程

(ii) p-クレゾールに試験物質を混合して、工程(i)で用いた嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する工程

(iii) 工程(i)および(ii)における測定結果を比較して、応答を低減させた試験物質を、p-クレゾール臭抑制素材の候補物質として選択する工程

以下、各工程について説明する。

[0009] <工程(i)>

嗅覚受容体ポリペプチドとしては、OR9Q2、及びそのいずれかのポリペプチドのアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつp-クレゾールに対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される嗅覚受容体ポリペプチドが用いられる。

OR9Q2はGenBankにNM_001005283として登録されており、配列番号1で示される塩基配列のDNAによってコードされるアミノ酸配列(配列番号2)からなるポリペプチドである。

嗅覚受容体としてこのポリペプチドが有するアミノ酸配列(すなわち、配列番号2)と80%以上、好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは98%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつp-クレゾールに対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される嗅覚受容体ポリペプチドを用いてもよい。

嗅覚受容体ポリペプチドは、一種で用いても、二種以上を組み合わせ用いてもよい。

嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する方法は特に制限されないが、例えば、嗅覚受容体ポリペプチドを発現している生体から単離された細胞上でp-クレゾールと接触させ、嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定してもよ

く、嗅覚受容体ポリペプチドを遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上でp-クレゾールと接触させ、嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定してもよい。嗅覚受容体ポリペプチドとp-クレゾールを接触させる時間は、p-クレゾールの濃度にも依存するため一概には言えないが、通常、2～4時間である。p-クレゾールに試験物質を混合して嗅覚受容体ポリペプチドと接触させる場合も同様である。

[0010] また、嗅覚受容体ポリペプチドと共に、ウシロドプシンのN末端20アミノ酸残基を組み込んでもよい。ウシロドプシンのN末端20アミノ酸残基を組み込むことにより、嗅覚受容体ポリペプチドの細胞膜発現を促進することができる。

ウシロドプシンは、GenBankにNM_001014890として登録されている。ウシロドプシンは、配列番号3で示される塩基配列の第1番目から第1047番目のDNAによってコードされるアミノ酸配列（配列番号4）からなるポリペプチドである。

また、ウシロドプシンに代えて、配列番号3で示されるアミノ酸配列と80%以上、好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは98%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ嗅覚受容体ポリペプチドの細胞膜発現を促進することができるポリペプチドを用いてもよい。

なお、嗅覚受容体ポリペプチドの細胞膜発現を促進できるものであれば、ウシロドプシンに限らず、他のポリペプチドのアミノ酸残基を用いてもよい。

[0011] 嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する方法は特に制限されず、当分野で用いられている任意の方法を用いることができる。例えば、香気化合物が嗅覚受容体ポリペプチドへ結合すると、細胞内のGタンパク質を活性化し、Gタンパク質がアデニル酸シクラーゼを活性化して、ATPを環状AMP（cAMP）へと変換し、細胞内のcAMP量を増加させることが知られている。したがって、cAMP量を測定することで嗅覚受容体ポリペプチドの応

答を測定することができる。cAMP量を測定する方法としては、ELISA法やレポータージーンアッセイ法等が用いられる。中でも、ルシフェラーゼなどの発光物質を用いたレポータージーンアッセイ法により嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定することが好ましい。

嗅覚受容体ポリペプチドの応答は、p-クレゾール存在下における測定結果を、p-クレゾールの非存在下における測定結果で割ることで求められるFold Increase値を指標として評価してもよい。例えば、ルシフェラーゼなどの発光物質を用いたレポータージーンアッセイ法により嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する場合、Fold Increase値が好ましくは2以上、より好ましくは4以上、さらに好ましくは10以上となる濃度のp-クレゾールを使用して評価することができる。

[0012] <工程 (ii)>

嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する方法は、p-クレゾールと試験物質を混合して嗅覚受容体ポリペプチドに接触させることを除いて、工程 (i) で示した方法と同様の方法を用いることができる。例えば、嗅覚受容体ポリペプチドを発現している生体から単離された細胞上で嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定してもよいし、嗅覚受容体ポリペプチドを遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上で嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定してもよい。工程 (i) と (ii) における測定結果を適切に比較するために、工程 (i) と (ii) における測定条件は、試験物質の有無を除いて、同じであることが好ましい。

[0013] <工程 (iii)>

工程 (iii) では、工程 (i) および (ii) における測定結果を比較して、応答が低減した試験物質を、p-クレゾール臭抑制素材の候補物質として選択する。

測定結果の比較により応答の低減が見られた場合、工程 (ii) で用いた試験物質を、p-クレゾール臭抑制素材の候補物質として評価することができる。

上記の方法により探索された、本発明に使用されるアンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールはいずれも既知の香気成分であって、市販品を用いることができる。

- [0014] アンブレットリドという名称で流通する香気成分には、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オン及び1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンの2種が存在するが、どちらか一方を単独で、あるいは、これらを任意の割合で混合したものを用いることができる。

アンブレットリド、イソアンブレットリド、シベトン、およびシンナミックアルデヒドにはシス体、トランス体の構造異性体が存在するが、どちらか一方を単独で、あるいは、これらを任意の割合で混合したものを用いることができる。

ムスコン、 δ -2-デセノラクトン、およびスクラレオリドには光学異性体が存在するが、ラセミ体でも特定の光学異性体でもよい。

- [0015] シトラール含有製品に、アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上を添加することにより、シトラール又はシトラール含有製品の劣化臭をマスキングすることができる。また、アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上を含有する香料組成物は、シトラール含有製品の劣化臭マスキング用として使用することができる。

ここで、シトラール含有製品とは、シトラールを含む製品であれば特に限定されない。シトラール含有製品としては、柑橘系飲料、柑橘系菓子類、柑橘系調味料、生姜含有食品、おろし生姜などが挙げられる。

また、シトラール含有製品中のp-クレゾールの含有量は、柑橘系飲料では好ましくは100ppb～500ppbであり、より好ましくは1ppb～50ppbである。柑橘系菓子類、柑橘系調味料では好ましくは1ppb～10ppmであり、より好ましくは50ppb～500ppbである。生姜含有食品、おろし生姜では好ましくは10ppb～10ppmであり、より好ましくは100ppb～1ppmである。

[0016] 本発明の香料組成物において、「柑橘様香料組成物」とは、飲食品に柑橘系果実を想起させる風味を付与乃至増強する目的で使用される組成物である。柑橘系果実としては、例えば、バレンシアオレンジ、ネーブルオレンジ、ブラッドオレンジなどのオレンジ類、グレープフルーツ類、レモン、ライム、シークワサー、ダイダイ、ユズ、カボス、スダチ、シトロネ、ブッシュカンなどの香酸柑橘類、ナツミカン、ハッサク、ヒュウガナツ、スウィーティ、シラヌヒなどの雑柑類、イヨカン、タンカンなどのタンゴール類、セミノールなどのタンゼロ類、ブンタンなどのブンタン類、マンダリンオレンジ、ウンシュウミカン、ポンカン、キシウミカンなどのミカン類、及びキンカンなどのキンカン類が挙げられるが、ここに挙げた柑橘系果実に限定されるものではない。本発明の香料組成物において、「生姜様香料組成物」とは、飲食品に生姜を想起させる風味を付与乃至増強する目的で使用される組成物である。

本発明の香料組成物に配合できる他の成分としては、各種の合成香料、天然香料、天然精油、植物エキスなどを挙げることができ、例えば、「特許庁公報、周知・慣用技術集（香料）第II部食品香料、P88-131、平成12年1月14日発行」に記載されている天然精油、天然香料、合成香料などを挙げることが出来る。

本発明の香料組成物には、必要に応じて通常使用されている、例えば、水、エタノール等の溶剤；エチレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、ヘキシレングリコール、グリセリン、クエン酸トリエチル、中鎖脂肪酸トリグリセライド、中鎖脂肪酸ジグリセライド、動植物油

脂等の保留剤などを含有することが出来る。

[0017] 本発明のシトラール含有製品において、「柑橘風味飲食品」とは、柑橘系果実を連想させるような香気と味とを有する飲食品をいう。

柑橘風味飲食品としては、例えば、

菓子、スナック菓子、菓子パン、クッキー、生菓子、洋生菓子、チョコレート、チョコレート菓子、乳等を主要原料とする食品、フィリングクリーム、フラワーペースト、ホイップクリーム、キャンデー、グミキャンデー、ゼリーのような柑橘原料を一部使用した食品（本明細書において、「柑橘系菓子類」と言うことがある）；

動・植物性油脂：農産食品・農産加工食品：畜肉・畜肉加工食品：魚肉・水産加工食品：乳油製品：レトルト米飯・発芽玄米等米飯類：即席めん・乾麺・チルド麺等麺類：肉まん・惣菜パン等パン類：スープ食品：レトルト食品、パスタソース、缶詰、冷凍・チルド食品等調理加工食品：植物性代替食品；

ソース、醤油、たれ、つゆ、マヨネーズ、ケチャップ、ドレッシング、チューブ製品、だしの素、中華調味料、洋風調味料、各種ルー等調味料、スパイス類（本明細書において、「柑橘系調味料」と言うことがある）；並びに柑橘系果実の果汁を含有する飲料、及び酒類、柑橘系カクテル、柑橘系RTD（レディー・トゥ・ドリンク）、柑橘系RTS（レディー・トゥ・サーブ）のような柑橘原料を一部使用した飲料（本明細書において、「柑橘系飲料」と言うことがある）、たとえばサングリア等が挙げられる。なお、柑橘風味が感じられるものであれば、無果汁であってもよく、例えば、柑橘系果実から抽出した香気成分を含有するエキスを含む飲食品や、柑橘系果実に特徴的な香気成分を人工的に再現した香料を含有する飲食品などでもよい。例えば、柑橘系果実ジュース、柑橘系果実風味の清涼飲料、清涼菓子、チューインガム、柑橘系果実をアルコールに浸漬して得た浸漬酒なども含まれる。飲料は、炭酸を含有していてもよいし、含有していなくてもよい。また、アルコール（エタノール）を含有していてもよいし、含有していなくてもよい。

[0018] 本発明のシトラール含有製品において、「生姜風味飲食品」とは、生姜を連想させるような香気と味とを有する食品をいう。

生姜風味飲食品としては、例えば、

生姜を含有する飲料、動・植物性油脂：農産食品・農産加工食品：畜肉・畜肉加工食品：魚肉・水産加工食品：乳油製品：レトルト米飯・発芽玄米等米飯類：即席めん・乾麺・チルド麺等麺類：肉まん・惣菜パン等パン類：スープ食品：レトルト食品、パスタソース、缶詰、冷凍・チルド食品等調理加工食品：植物性代替食品：ソース、醤油、たれ、つゆ、マヨネーズ、ケチャップ、ドレッシング、チューブ製品、だしの素、中華調味料、洋風調味料、各種ルー等調味料、スパイス類：スナック菓子（本明細書において、「生姜含有食品」と言うことがある）が挙げられる。また、生姜風味が感じられるものであれば、生姜不使用でもよく、例えば、生姜から抽出した香気成分を含有するエキスを含む飲食品や、生姜に特徴的な香気成分を人工的に再現した香料を含有する飲食品などでもよい。

[0019] 本発明の柑橘様香料組成物または生姜様香料組成物におけるアンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上の含有量は、配合される他の成分により異なり一概には言えないが、通常、香料組成物の重量を基準として合計で0.01ppm以上、10000ppm以下、好ましくは0.1ppm以上、1000ppm以下の濃度範囲とすることが出来る。アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上の含有量が0.01ppm未満だと柑橘風味飲食品または生姜風味飲食品の劣化臭のマスクング効果が得られず、10000ppmを超える含有量だと柑橘風味または生姜風味が損なわれ好ましくない。

[0020] また、柑橘風味飲食品または生姜風味飲食品などのシトラール含有製品に含有させるアンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上の含有量は、シトラール含有製品の重量を基準として合計で0.01ppm以上、10ppm以下、好ましくは1ppm以上、100ppm以下の濃度範囲とすることが出来る。アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペントライド、ムスコン、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、及びエチルマルトールからなる群から選択される1種以上の含有量が0.01ppm未満だと柑橘風味飲食品または生姜風味飲食品の劣化臭のマスクング効果が得られず、10ppmを超える含有量だと柑橘風味または生姜風味が損なわれ好ましくない。

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

実施例

[0021] (p-クレゾールに対する嗅覚受容体応答の測定)

(1) 嗅覚受容体遺伝子クローニング

ヒト嗅覚受容体遺伝子はGenBankに登録されている配列情報を基に、Human Genomic DNA: Female (Promega社)よりPCR法にてクローニングすることで得た。pME18SベクターにウシロドプシンのN末端20アミノ酸残基を組み込み、さらにその下流に、得られたヒト嗅覚受容体遺伝子を組み込むことで、ヒト嗅覚受容体遺伝子発現ベクターを得た。

[0022] (2) HEK293T細胞での嗅覚受容体遺伝子の発現

ヒト嗅覚受容体遺伝子発現ベクター0.05 μ g、RTP1Sベクター0.01 μ g、cAMP応答配列プロモーターを含むホタルルシフェラーゼベクターpGL4.29 (Promega社) 0.01 μ g、およびチミジン

キナーゼプロモーターを含むウミシイタケルシフェラーゼベクター pGL4.74 (Promega 社) 0.005 μ g を Opti-MEM1 (Gibco 社) 10 μ L に溶解して遺伝子溶液 (1 穴分) とした。HEK293T 細胞を、24 時間後にコンフルエントに達する細胞数で 96 穴プレート (Biocoat, Corning 社) に 100 μ L ずつ播種し、Lipofectamine 3000 の使用方法に従ってリポフェクション法によって遺伝子溶液を各穴に添加して、細胞に遺伝子導入を行い、37°C、5%二酸化炭素雰囲気下で 24 時間培養した。

[0023] (3) ルシフェラーゼレポータージーンアッセイ

培養液を除去した後に、検体となる香気物質を測定する濃度になる様に CD293 (Gibco 社) 培地 (20 μ ML-グルタミン添加) で調製したものを 50 μ L ずつ添加し、3 時間の刺激を行った後に、Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega 社) の使用方法に従ってルシフェラーゼ活性を測定した。嗅覚受容体ポリペプチドの応答強度は、香気物質の刺激によって生じたルシフェラーゼ活性を、香気物質を含まない試験系で生じたルシフェラーゼ活性で割ることで求められる Fold Increase 値で表現した。

[0024] (p-クレゾールに対する OR9Q2 応答抑制効果の評価)

100 μ M の p-クレゾールに、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オン、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オン、イソアンブレットリド、ペンタライド、ムスコ、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カリオフィレンオキサイド、スクラレオリド、エチルマルトールを様々な濃度で混合し、OR9Q2 を発現させた細胞で受容体応答を測定した。各化合物を混合しなかった試験での Fold Increase 値を 100 とした際の、各化合物を混合した試験での Fold Increase 値の割合を求めた。結果を図 1 から図 11 にそれぞれ示す。アンブレットリド、イソアンブレットリド、ペンタライド、ムスコ、シベトン、 δ -2-デセノラクトン、シンナミックアルデヒド、 β -カ

リオフィレンオキサイド、スクラレオリド、エチルマルトールは、OR9Q2のp-クレゾールに対する応答を、濃度依存的に低減させる効果を示した。

実施例1（1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンのp-クレゾール臭マスキング効果）

レモンオイルをエッセンス化したレモンフレーバー2gに、精製水を添加し全量を1000mlに調整した。この柑橘風味飲料に対し、95%エタノールで1質量%濃度に調整したp-クレゾールを、柑橘風味飲料中で50ppbとなるよう添加した。このp-クレゾール含有柑橘風味飲料に対し、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンを表1に記載の濃度にて添加し、各サンプルのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。

試験は、習熟したパネル7名を選んで官能評価を行い、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンを添加していないp-クレゾール含有柑橘風味飲料のp-クレゾール臭の強さを「評価：4」とし、p-クレゾールを含有していない柑橘風味飲料のp-クレゾール臭の強さを「評価：0」として、各サンプルのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）を以下の評価基準にしたがって、相対評価した。

[0025]（評価基準）

- p-クレゾール臭を強く感じる : 4点
- p-クレゾール臭を感じる : 3点
- p-クレゾール臭を少し感じる : 2点
- p-クレゾール臭を殆ど感じない : 1点
- p-クレゾール臭を全く感じない : 0点

また、柑橘風味飲料の柑橘風味への影響を、p-クレゾール臭および柑橘風味以外の異風味の有無について以下の評価基準にしたがって、絶対評価した。

[0026]（評価基準）

異風味を強く感じる : 4 点

異風味を感じる : 3 点

異風味を少し感じる : 2 点

異風味を殆ど感じない : 1 点

異風味を全く感じない : 0 点

結果は表 1 のとおりであり、各パネルの評価結果の平均点を示した。

[0027] [表1]

1-オキサシクロヘプタ デカン-7-エン-2- オン添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 0 p p b	0. 7	3. 9
1 0 p p b	0. 9	3. 6
1 p p b	1. 3	2. 9
1 0 0 p p t	1. 7	2. 0
1 0 p p t	2. 0	1. 4
1 p p t	2. 4	1. 0
0. 1 p p t	2. 7	0. 7
0. 0 1 p p t	3. 7	0. 4

表 1 の結果から、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンは 0. 1 p p t 以上、1 p p b 以下の濃度で p-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例 2 (1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンの p-クレゾール臭マスキング効果)

実施例 1 と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンの p-クレゾール臭の強さ (マスキング効果) および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例 1 と同様の方法で行った。結果は表 2 のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0028]

[表2]

1-オキサシクロヘプタ デカン-8-エン-2-オン 添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 0 p p b	0. 4	3. 7
1 0 p p b	0. 7	3. 4
1 p p b	1. 1	2. 9
1 0 0 p p t	1. 4	2. 3
1 0 p p t	1. 9	1. 6
1 p p t	2. 6	0. 9
0. 1 p p t	2. 9	0. 7
0. 0 1 p p t	3. 6	0. 3

表2の結果から、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンは0. 1 p p t 以上、1 p p b 以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例3（イソアンブレットリドのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例1と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、イソアンブレットリドのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例1と同様の方法で行った。結果は表3のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0029] [表3]

イソアンブレットリド 添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 0 p p b	0. 9	3. 6
1 0 p p b	1. 3	3. 3
1 p p b	1. 3	2. 9
1 0 0 p p t	1. 6	2. 6
1 0 p p t	2. 1	2. 0
1 p p t	2. 4	1. 6
0. 1 p p t	2. 7	1. 3
0. 0 1 p p t	3. 7	0. 6

表3の結果から、イソアンブレットリドは0. 1 p p t 以上、1 p p b 以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例4（ペンタライドのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例1と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、ペンタライドのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例1と同様の方法で行った。結果は表4のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0030] [表4]

ペンタライド添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 0 p p b	0. 6	3. 7
1 0 p p b	1. 0	3. 3
1 p p b	1. 4	2. 7
1 0 0 p p t	1. 9	2. 3
1 0 p p t	2. 0	1. 7
1 p p t	2. 6	1. 4
0. 1 p p t	2. 9	0. 9
0. 0 1 p p t	3. 6	0. 4

表4の結果から、ペンタライドは0. 1 p p t以上、1 p p b以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例5（ムスコンのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例1と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、ムスコンのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例1と同様の方法で行った。結果は表5のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0031] [表5]

ムスコン添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 0 p p b	0. 3	3. 9
1 0 p p b	0. 4	3. 6
1 p p b	0. 9	2. 7
1 0 0 p p t	1. 7	2. 6
1 0 p p t	1. 9	2. 0
1 p p t	2. 1	1. 7
0. 1 p p t	2. 4	1. 1
0. 0 1 p p t	2. 7	0. 9
0. 0 0 1 p p t	3. 7	0. 4

表5の結果から、ムスコンは0.01ppm以上、1ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例6（シベトンのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例1と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、シベトンのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例1と同様の方法で行った。結果は表6のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0032] [表6]

シベトン添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
100ppb	0.4	3.9
10ppb	0.9	3.7
1ppb	1.0	2.9
100ppm	1.1	2.7
10ppm	1.6	2.1
1ppm	1.9	2.0
0.1ppm	2.3	1.6
0.01ppm	2.7	0.9
0.001ppm	3.7	0.7

表6の結果から、シベトンは0.01ppm以上、1ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例7（ δ -2-デセノラクトンのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例1と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、 δ -2-デセノラクトンのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例1と同様の方法で行った。結果は表7のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0033]

[表7]

δ -2-デセノラクトン 添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
10 ppm	0.7	3.6
1 ppm	1.3	3.4
100 ppb	1.6	2.7
10 ppb	2.0	2.0
1 ppb	2.3	1.4
100 ppt	2.4	1.1
10 ppt	2.7	0.6
1 ppt	3.9	0.1

表7の結果から、 δ -2-デセノラクトンは10 ppt 以上、100 ppb 以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例8（シンナミックアルデヒドのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例1と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、シンナミックアルデヒドのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例1と同様の方法で行った。結果は表8のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0034] [表8]

シンナミックアルデヒド 添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
100 ppm	0.6	3.7
10 ppm	0.9	2.6
1 ppm	1.7	2.1
100 ppb	2.0	1.9
10 ppb	2.0	1.1
1 ppb	2.3	0.9
100 ppt	2.7	0.4
10 ppt	3.9	0.3

表8の結果から、シンナミックアルデヒドは100 ppt 以上、10 ppm 以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例9（ β -カリオフィレンオキサイドのp-クレゾール臭マスキング効

果)

実施例 1 と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、 β -カリオフィレンオキシサイドの p-クレゾール臭の強さ（マス킹効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例 1 と同様の方法で行った。結果は表 9 のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0035] [表9]

β -カリオフィレンオキシサイド添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 0 p p m	0. 4	3. 7
1 0 p p m	1. 0	3. 4
1 p p m	1. 0	2. 6
1 0 0 p p b	1. 6	2. 0
1 0 p p b	1. 7	1. 6
1 p p b	2. 1	1. 3
1 0 0 p p t	2. 6	1. 0
1 0 p p t	3. 9	0. 6

表 9 の結果から、 β -カリオフィレンオキシサイドは 1 0 0 p p t 以上、1 p p m 以下の濃度で p-クレゾール臭をマス킹し、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例 1 0（スクラレオリドの p-クレゾール臭マス킹効果）

実施例 1 と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、スクラレオリドの p-クレゾール臭の強さ（マス킹効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例 1 と同様の方法で行った。結果は表 1 0 のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0036] [表10]

スクラレオリド添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
1 0 p p m	0. 4	3. 4
1 p p m	1. 0	2. 6
1 0 0 p p b	1. 1	2. 0
1 0 p p b	1. 9	1. 3
1 p p b	2. 1	0. 9
1 0 0 p p t	2. 6	0. 3
1 0 p p t	3. 6	0. 1

表 10 の結果から、スクラレオリドは 100 p p t 以上、1 p p m 以下の濃度で p-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例 11（エチルマルトールの p-クレゾール臭マスキング効果）

実施例 1 と同様の方法にて調整したサンプルを用いて、エチルマルトールの p-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。評価方法は実施例 1 と同様の方法で行った。結果は表 11 のとおりであり、各パネルの平均点を示した。

[0037] [表11]

エチルマルトール添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
100 p p m	0.4	3.9
10 p p m	1.3	2.4
1 p p m	1.4	2.1
100 p p b	1.6	1.9
10 p p b	2.0	1.3
1 p p b	2.3	0.6
100 p p t	2.7	0.6
10 p p t	3.7	0.3

表 11 の結果から、エチルマルトールは 100 p p t 以上、10 p p m 以下の濃度で p-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例 12（1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンの p-クレゾール臭マスキング効果）

表 A の組成の錠菓生地にレモンコールドプレスオイルを 1 質量%濃度添加し、中鎖脂肪酸トリグリセリド（MCT）で 0.1%濃度に調整した p-クレゾールを、柑橘風味菓子中で 200 p p b となるよう、さらに添加した。この p-クレゾール含有柑橘風味菓子に対し、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンを表 12 に記載の濃度にて添加後、打錠成型し、各サンプルの p-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。

[0038]（錠菓の原材料）

原材料	配合割合（質量部）
ソルビトール	96.5%
シュガーエステル	2.0%
アスパルテーム	1.0%
微粒二酸化ケイ素	0.5%

臼杵直径：7 mm

習熟したパネル6名を選んで実施例1と同様な官能評価を行った。結果は表12のとおりであり、各パネルの評価結果の平均点を示した。

[0039] [表12]

1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オン添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
400 ppb	1.3	2.5
40 ppb	2.0	1.7
4 ppb	2.5	1.5
400 ppt	2.7	1.3
40 ppt	3.2	1.0

表12の結果から、1-オキサシクロヘプタデカン-7-エン-2-オンは400 ppt以上、400 ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例13（1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例12と同様の方法にて、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンのマスキング効果の評価を行った結果を表13に示す。

[0040]

[表13]

1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オン添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
400ppb	1.7	2.0
40ppb	1.8	1.2
4ppb	2.5	1.0
400ppt	3.2	1.0
40ppt	3.3	0.8

表13の結果から、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンは4ppb以上、400ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例14（イソアンブレットリドのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例12と同様の方法にて、イソアンブレットリドのマスキング効果の評価を行った結果を表14に示す。

[0041] [表14]

イソアンブレットリド添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
400ppb	1.5	2.3
40ppb	1.8	1.5
4ppb	2.5	1.3
400ppt	2.7	1.2
40ppt	3.0	1.2

表14の結果から、イソアンブレットリドは400ppt以上、400ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例15（ペンタライドのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例12と同様の方法にて、ペンタライドのマスキング効果の評価を行った結果を表15に示す。

[0042]

[表15]

ペンタライド添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
400ppb	1.5	2.8
40ppb	1.7	1.8
4ppb	2.3	1.5
400ppt	2.7	1.3
40ppt	2.8	1.0

表15の結果から、ペンタライドは400ppt以上、400ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例16（1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンのp-クレゾール臭マスキング効果）

市販のおろししょうがに対し、95%エタノールで0.1%濃度に調整したp-クレゾールを、しょうが中で600ppbとなるよう添加した。このp-クレゾール含有しょうがに対し、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンを表16に記載の濃度にて添加後、各サンプルのp-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）およびしょうが風味への影響を確認した。

習熟したパネル9名を選んで、実施例1と同様な官能評価を行った。結果は表16のとおりであり、各パネルの評価結果の平均点を示した。

[0043] [表16]

1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オン添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
10ppb	1.4	3.0
1ppb	1.7	2.3
100ppt	2.3	1.7
10ppt	2.4	0.9
1ppt	3.2	0.2

表16の結果から、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンは

10 ppb 以上、1 ppb 以下の濃度で p-クレゾール臭をマスキングし、かつしょうが風味へ影響しないことが明らかである。

実施例 17（ペンタライドの p-クレゾール臭マスキング効果）

実施例 16 と同様の方法にて、ペンタライドのマスキング効果の評価を行った結果を表 17 に示す。

[0044] [表17]

ペンタライド添加濃度	p-クレゾール臭の強さ	異風味の強さ
10 ppb	1.1	3.0
1 ppb	1.3	2.3
100 ppb	1.6	1.3
10 ppt	2.7	0.7
1 ppt	3.3	0.2

表 17 の結果から、ペンタライドは 10 ppt 以上、1 ppb 以下の濃度で p-クレゾール臭をマスキングし、かつしょうが風味へ影響しないことが明らかである。

実施例 18（1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンの p-クレゾール臭マスキング効果）

市販のレモンドレッシングに対し、95%エタノールで 0.1%濃度に調整した p-クレゾールを、レモンドレッシング中で 500 ppb となるよう添加した。この p-クレゾール含有レモンドレッシングに対し、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンを表 18 に記載の濃度にて添加後、各サンプルの p-クレゾール臭の強さ（マスキング効果）および柑橘風味への影響を確認した。

[0045] 習熟したパネル 9 名を選んで、実施例 1 と同様な官能評価を行った。結果は表 18 のとおりであり、各パネルの評価結果の平均点を示した。

[0046]

[表18]

1-オキサシクロヘプ タデカン-8-エン- 2-オン添加濃度	p-クレゾール臭 の強さ	異風味の強さ
10ppb	1.0	2.6
1ppb	1.1	2.0
100ppt	1.6	1.2
10ppt	2.2	0.6
1ppt	2.9	0.0

表18の結果から、1-オキサシクロヘプタデカン-8-エン-2-オンは1ppt以上、10ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。

実施例19（ペンタライドのp-クレゾール臭マスキング効果）

実施例18と同様の方法にて、ペンタライドのマスキング効果を行った結果を表19に示す。

[0047] [表19]

ペンタライド 添加濃度	p-クレゾール臭 の強さ	異風味の強さ
10ppb	0.9	2.1
1ppb	1.1	1.3
100ppt	1.9	0.6
10ppt	2.8	0.1
1ppt	3.6	0.1

表19の結果から、ペンタライドは10ppt以上、10ppb以下の濃度でp-クレゾール臭をマスキングし、かつ柑橘風味へ影響しないことが明らかである。