

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	谷 口 慈 将
論文題目	Chemical studies on bitter acid oxides derived from hops ( <i>Humulus lupulus</i> L.) in beer brewing and storage (ビール醸造および保存時のホップ ( <i>Humulus lupulus</i> L.) 由来苦味酸酸化物の化学的研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>ホップ (<i>Humulus lupulus</i> L.) はビール醸造に必須の原料であり、ホップ由来の <math>\alpha</math> 酸、<math>\beta</math> 酸、イソ <math>\alpha</math> 酸等の苦味酸はビールの品質全般に大きく影響する。また、ホップは伝統薬としても用いられており、苦味酸には様々な生理活性が報告されていることから、健康機能性素材としても注目されている。一方、苦味酸は不安定で容易に酸化されるが、苦味酸の酸化物に関する知見は極めて少なく、苦味酸酸化物がビール品質に及ぼす影響、さらにはその生理活性は未解明である。苦味酸酸化物に関する知見を集積し、その生成を制御する技術の確立は、苦味酸酸化物を活用した新しい香味のビールや新規健康機能性素材の開発に繋がり、ホップの新たな利用価値を創出できる可能性がある。そこで本論文では、ホップ保存時に生成する主要な苦味酸酸化物の構造を明らかにするとともに、それらのビール醸造および保存時における構造変化ならびにその機構解明を目指した。さらに、ホップから苦味酸酸化物で構成される画分を特異的に調製および分析する手法の確立を目指した。本論文の成果は以下の 3 項目に要約される。</p>			
1) <u>ホップ保存時に生成する主要苦味酸酸化物の同定</u>			
<p>ホップ由来の苦味酸酸化物は酸化により親水性が増していると予想された。そこで苦味酸酸化物の検出に適した逆相 HPLC 分析条件を設定し、酸化させたホップの抽出物を分析したところ、イソ <math>\alpha</math> 酸よりも高親水性領域に新鮮ホップでは見られない多数の酸化物ピークを検出した。<math>\alpha</math> 酸および <math>\beta</math> 酸から合成した標品との比較および単離精製後の各種機器分析結果より主要酸化成分として hulupone 類、humulinone 類、4'-hydroxyallohumulinone 類を同定した。また、<math>\alpha</math> 酸の主同族体化合物である humulone を <i>n</i>-ヘキサン中で自然酸化し、逆相 HPLC で単離した生成物の各種機器分析結果より tricyclooxyisohumulone A および B、tricycloperoxyisohumulone A、deisopropyltricycloisohumulone、および tricycloperoxyhumulone A ヘミアセタール体を同定し、その酸化生成経路を推定した。これら化合物は、tricycloperoxyhumulone A ヘミアセタール体を除きホップ中にも存在することを LC/MS/MS 分析により明らかにした。さらに上記酸化物について、<math>\alpha</math> 酸、<math>\beta</math> 酸とともにホップ保存中の濃度変化を測定し、ホップの酸化に伴う経時変化を明らかにした。</p>			
2) <u>ビール醸造工程およびビール保存時の苦味酸酸化物の変化</u>			
<p>ホップ保存時に生成した苦味酸酸化物が麦汁煮沸時およびビール保存時にどのように変化するかをそれぞれのモデル試験系で調べた。その結果、tricyclooxyisohumulone A および B はいずれの条件においても安定であったが、4'-hydroxyallohumulinone 類は麦汁煮沸時に 4'-hydroxyallo-cis-humulinone 類に異性化し、その後 cis-oxyhumulinic acid 類へ分解すること、ビール保存時に酸触媒環状化反応により scorpiohumulol A および B なら</p>			

びに dicyclohumulinol A および B に異性化することを明らかにした。なお、麦汁煮沸時に生成した 4'-hydroxyallo-cis-humulinone 類および cis-oxyhumulinic acid 類はビール保存時には安定であった。

### 3) 苦味酸酸化物画分の調製および分析方法の確立

苦味酸酸化物の醸造特性や生理活性などの性質を理解するには、その主要成分のみならず苦味酸酸化物全体を評価することも重要である。そのためには苦味酸酸化物画分の特異的な調製法ならびに分析法の確立が必要である。ホップには苦味酸以外に様々な極性の化合物が存在するが、抽出条件を工夫することにより苦味酸酸化物のみで構成される画分を調製することに成功した。まずホップを酸化し苦味酸を酸化物に変換した後、水抽出により苦味酸酸化物を含む極性の高い成分を抽出した。続いて水抽出液を加熱し不安定な 4'-hydroxyallohumulinone 類を安定な変化物へと変化させた後、酸性条件下でジクロロメタン抽出することで高極性成分を除去し、苦味酸酸化物で構成される画分を得た。精密 MS 分析による分子式解析およびプリカーサーイオンスキャンによるフラグメントイオン解析から、同画分は苦味酸由来の共通の部分構造 ( $\beta$ -トリカルボニル構造) を有する酸化成分の集合体であることを示した。また、同画分中の苦味酸酸化物総量を HPLC を用いて定量する分析方法を確立し、酸化ホップ抽出物を配合したモデル飲料を用いて本分析法の妥当性を検証した結果、精度と再現性いずれについても優れた分析法であることを示した。

注)論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

ホップ由来苦味酸はビール品質に大きく影響するだけでなく、生理活性化化合物としても注目されるが、苦味酸の酸化物についての知見は極めて乏しい。ビールの品質向上や新しい香味のビール開発などの応用研究を進めるには苦味酸酸化物に関する基礎的知見の蓄積が必須である。本論文は、ホップ保存時、ビール醸造時およびビール保存時の苦味酸酸化物の生成とその変化を有機化学的に明らかにし、各種評価に必要な苦味酸酸化物の調製法および分析法の確立を目指したものである。評価すべき点は以下の通りである。

- 1) 酸化ホップおよびモデル酸化試験溶液中から主要な苦味酸酸化物として、hulupone 類、humulinone 類、4'-hydroxyallohumulinone 類、および tricycloxyisohumulone 類を同定し、その生成経路に関する知見を得るとともに、ホップの酸化に伴う経時変化を明らかにした。
- 2) 酸化ホップに含まれる 4'-hydroxyallohumulinone 類はビール醸造工程の麦汁煮沸時および出来上がったビールの保存時にそれぞれ特異的に変化することを明らかにした。すなわち麦汁煮沸時には 5 員環部のエピマー化とそれに続く側鎖の分解反応が進行するのに対して、ビール保存時には酸触媒環状化による異性化反応が進行することを示した。
- 3) 酸化ホップから苦味酸酸化物で構成される画分を調製する方法を確立するとともに、苦味酸酸化物総量を定量する分析法を確立した。これらは苦味酸酸化物の醸造特性理解や健康機能性素材としての活用に向けた研究開発を推進する上で非常に有意義な技術である。

以上のように本論文は、ホップに含まれる苦味酸酸化物を網羅的に同定し、その生成経路およびビール醸造時や保存時の経時変化を初めて明らかにするとともに、苦味酸酸化物の特異的調製法ならびに分析法を確立した。一連の研究成果は、醸造化学、食品化学および天然物有機化学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成29年2月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨および学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）