

**発酵王国大分が育む地域農水産物を活用した新規加工・発酵
醸造食品の高次開発・分析技術基盤の構築**

(S1513008L)

平成 27 年度～平成 29 年度

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

研究成果報告書

平成 30 年 4 月

学校法人名	別府大学
大学名	別府大学
研究組織名	別府大学食物栄養科学部
研究代表者	米元俊一 (別府大学食物栄養科学部)

はしがき

私ども、別府大学食物栄養科学部の研究グループは、文部科学省からの支援を受け、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「発酵王国大分が育む地域農水産物を活用した新規加工・発酵醸造食品の高次開発・分析技術基盤の構築」というプロジェクトを、平成 27 年度から平成 29 年度の 3 年間にわたって進めてまいりました。これは大分県の農水産物や香粧原料について、科学的視点からそれら生物資源の有効利用方法を検討し、素材特性を最大限に生かしながら加工・製品化まで食品や香粧品の幅広い新規開発に取り組み、さらには他の研究機関との各種共同研究を通じて、地域や産業の活性化に寄与する研究をめざそうというものです。大分県では、長年にわたり中枢となる生物系の大学研究機関が無かったため、発酵・醸造・加工食品業界での科学的分析情報が少ないのが現状でありました。この現状を打破するためにも、別府大学はリーダーシップを発揮できる環境を整備・充実させ、これらを基盤に県下の食品業界を科学的観点に基づく研究・開発に取り組めるよう導くことを任と考え本研究プロジェクトを組織いたしました。

これまで、このプロジェクトにおいて研究を進めていただいた皆さん、また計画調書の作成から予算執行に関わる事務手続き等において懇切丁寧に教えていただき、ご協力いただきました大勢の皆さん方にも心から感謝申し上げます。この 3 年間のすべての研究成果をこの冊子にまとめてみましたが、論文（原著論文と総説あわせて）50 件、図書 11 件、学会発表は招待講演なども含めると 52 件に及んでおり、それらすべてをこの冊子に網羅できたかどうか少し不安ではあります。しかし、このような多くの研究成果を挙げられたのは、なによりも個々のプロジェクトメンバーの研究に対する意識の高さゆえであり、研究代表者にとっては嬉しい悲鳴ともいえるべきものでございます。このような学術的な活動のみならず、一般社会に対するアピールも 1 件の特許および 21 件のプレスリリースを通して行われました。特に、酒造・醸造業界への貢献、大分県ハーフ六次産業化プロジェクトへの貢献、地元別府市への温泉への貢献等特筆すべきものがありました。このことは、このプロジェクトの研究成果が社会に対して大きく発信されたことを裏付けるものです。このようなプロジェクトの研究成果が、さらに次のステップの、より大きな別府大学のプロジェクトにつながることを心から祈念する次第です。

最後に、先生方、若手研究者、院生諸君、そしてこれらの研究に関わったすべての皆さん、今後のご活躍を心からお祈りいたします。御協力、どうもありがとうございました。

研究代表者

米元俊一

目 次

はしがき	-----	2
目 次	-----	3
【香り関係】		
【米元】	-----	5
① 麦焼酎の香り成分と光トポグラフィー装置 (NIRS)による脳血流量への影響		
② ガスクロマトグラフィー質量分析匂いかぎ法 (GC-MS-O)によるカボスの熟成における香り成分の変化と光トポグラフィー装置 (NIRS)による脳血流量への影響		
③ ガスクロマトグラフィー質量分析匂いかぎ法 (GC-MS-O)による別府鉄輪温泉蒸し湯の石菖の香り成分分析と光トポグラフィー装置 (NIRS)による脳血流量への影響		
④ 大分竹田の <i>Crocus sativus</i> (saffron)の GC-MS-O と官能評価による香り成分に関する研究		
【吉井】	-----	29
① シチトウの香り成分の分析とその活用方法の検討		
② ヒジキの香り成分の分析		
【発酵関係】		
【岡本】	-----	41
① 「大分酵母」等、最適の新規微生物の開発:大分県にはまだない「大分酵母」等有用微生物の分離		
② 棚田の特産物として香り米を栽培し、その焼酎としての商品化の開発を開始		
③ 本学科卒業生等をリサーチアシスタントへの採用と技術者及びシステム構築技師としての指導		
【藤原】	-----	69
① 発酵・醸造食品の製造に最適の酵母等微生物の分離		
② 高次発酵・醸造技術の確立(微生物汚染の研究も含む)		
【林】	-----	81
① <i>Zymomonas mobilis</i> アルコール高生産株が産生するタンパク質の解析		
【林・陶山】	-----	85
① 麹作成時において <i>Aspergillus kawachii</i> が産生するタンパク質の解析		
【陶山】	-----	91
① 吟醸香の高い大分酵母の育種		

【機能性関係】

【大坪】-----101

- ① ヒトの培養細胞でのアンチエイジング効果の評価法
- ② アンチエイジング効果を定量的に評価する系の確立
- ③ DNA 障害予防効果に関する研究

【木村】-----114

- ① マウス炎症性大腸炎における発酵大麦エキス投与の効果
- ② マウス炎症性大腸炎における甘酒投与の効果

【高松】-----127

- ① 柑橘類のアレルゲンに関する研究
- ② 食物アレルギーの自然歴に関する研究
- ③ ビールアレルゲンに関する検討

【仙波】-----140

- ① 発酵大麦エキスの新規機能性の探索
- ② 別府市特有の「湯の花」の機能解析と商品開発

私立大学戦略的研究形成支援事業

「発酵王国大分が育む地域農水産物を活用した新規加工・発酵醸造食品の高次開発・分析技術基盤の構築」

(平成 27 年度～平成 29 年度)

研究成果最終報告書

プロジェクトでの研究課題：新規農産物・発酵食品・香粧品の分析・開発

プロジェクトでの役割：新規農産物・発酵食品・香粧品の評価と提案

研究タイトル：①麦焼酎の香気成分と光トポグラフィー装置（NIRS）による脳血流量への影響

研究機関：食物栄養科学部 発酵食品学科 醸造香料学研究室

担当者職名：教授 米元俊一

研究協力者：梶原康博¹⁾ 高下秀春¹⁾ 小田誠²⁾ 布施泰史³⁾

¹⁾三和酒類 ²⁾宮崎県総合政策部情報政策課 ³⁾宮崎県工業技術センター

1. 研究の目的

本格焼酎の香りに対する研究は、より多く販売することや、より美味しく飲むといったことに繋がる期待感がある。本格焼酎、ウイスキーなどの蒸留酒は、その評価の大部分が香りと言われ、その良否は酒質評価とともに売れ行きに大きな影響を与えている。本格焼酎の何の香りがヒトに好まれているか、またその香気成分を特定することができれば、本格焼酎に対する消費の拡大に繋がる。香りの嗜好のメカニズムの一端を知ることにより商品開発が容易になり精度を増すこと事ができる。

そこで、筆者は本格焼酎の香りについての嗜好性、さらには本格焼酎を摂取した際の満足度や癒し感などを客観的に判断しうる新しい酒類評価法の開発を目指して、NIRS (Near Infra-Red Spectroscopy) に着目し検討した。NIRS は神経活動にもとづく脳血流変化を反映する脳内ヘモグロビン (酸素化ヘモグロビン: oxy-Hb, 脱酸素化ヘモグロビン: deoxy-Hb) の変化量をリアルタイムに記録できることが特徴である。測定は、完全に非侵襲であるばかりでなくパネルの身体的な自由度が高く、座位でも可能である。

本研究では、麦焼酎を中心に様々な本格焼酎を嗅覚刺激として与え、その時の前頭前野における局所脳血流量変化量からパネルの嗜好や感性表現を潜在的にあるいは非明示的に読み取れないか NIRS を用いて検討した。また嗅覚による酒質の評価をとることによって、より多角的にヒトの焼酎評価における嗜好性について検討した。

2. 研究内容

食品の風味評価には、ヒトの感覚を用いた官能評価が主に用いられている。官能評価はヒ

トの嗜好を加味して食品を丸ごと評価できる優れた方法であるが、人材の確保と育成に課題がある。また、被験者の意図的な判断が含まれる可能性や、感情や体調に左右される可能性があり、これらが客観性に影響を及ぼすため、官能評価法を補完する方法が求められている。最近の近赤外光による脳機能イメージング法では、大脳皮質の活性部位を直接測定することはできないが、その神経活動によって間接的に変化する比較的頭皮に近い前頭葉や側頭葉の活性を調べることができる。食品の風味評価においては、脳科学は未知の分野であり、測定方法や解析手法が手探りの状態であること、上述の前頭前野腹側部は顎や目等の動きに関連する大きな筋肉が存在することから、得られた値に対する評価には十分な注意が必要となる。これまでの研究において、風味に関連する脳賦活部位が明らかになってきているが嗜好の判別や味の違いによる賦活変化の程度については未開拓の分野である。

1) 実験試料

A: 甲類焼酎、B: 麦焼酎減圧、C: 麦焼酎常圧、D: 麦焼酎・市販酒、対照として E: 芋焼酎・市販酒で、どの試料もアルコール度数 25%のものを使用した。B: 麦焼酎減圧、C: 麦焼酎常圧、D: 麦焼酎・市販酒「麦焼酎減圧」は三和酒類(株)提供のものを、A: 甲類焼酎は市販酒：宝酒造製、E: 芋焼酎は市販酒：薩摩酒造製のものを使用した。

2) NIRS による実験

パネルは別府大学 3 人 (パネル a: 男性 22 才、パネル b: 女性 22 才、パネル c: 男性 64 才) で実験を行った。宮崎県工業技術センターにて同センターの光トポグラフィー ETG-4000 (日立メディコ) を使用し、NIRS にもとづく脳血流量変化をみた。また同センターの研究員の指導を受けた。

まず、パネルの頭部に図 1-A のような 3×5 モードの光ファイバプローブ (全 22 チャンネル) を配置した。チャンネルの位置は図 1-B に示



図 1-A

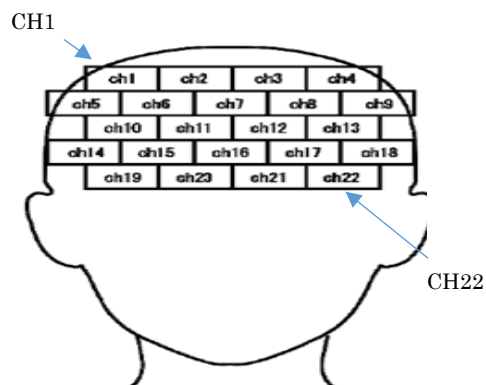


図 1-B

すとおりである。実験試料を 10 秒間嗅

いで脳血流量変化を測定し、**図 1 NIRS による実験状況と頭部の NIRS チャンネル部位** 10 秒間待機して次の試料を

測定し、チャンネルごとの反応の差を得た。計測では、数センチ離れた頭の表面の 2 点に、発光プローブ、受光プローブをセットする。発光プローブから発せられた近赤外光は、脳組織内を散乱しながら進んでいく。大半の光は生体内に吸収されるか頭皮に戻って外部に逃げてしまうが、ごくわずかな光量が受光プローブに到達する。この光は微量であるが、脳の

活動状態を伝える重要な情報を担っている。もし、光の進む光路の途中で脳の活動が盛んであれば脳組織の血流量が増加し、ヘモグロビン分子による光の吸収量が増加する。この結果、受光プローブで検出された光量変化を連続的に計測すれば、脳活動の変化がモニタリングできる。

3) NIRS の解析

ETG-7100 (Ver3.05) /ETG-4000 (Ver1.63) の Utility 機能に搭載した①②で処理した。

①Multiple Data Analysis (複数データ解析機能) 複数データの群平均波形を表示しデータ間の差分波形・差分 t 値波形を算出した。

②Wave Analysis (波形解析機能) 波形特徴量 (最大値、最小値、平均値等) を算出 ROI 波形解析 (部位単位での解析) した。宮崎県工業技術センターの研究員の指導にしたがった。NIRS の測定結果の解析方法を以下の図 2 (実験試料 A, B, C, D, E) を用いて説明する。折れ線グラフは寄与率を表し、1.0 に近い数値であるほど正確なデータが取れたことを示す。

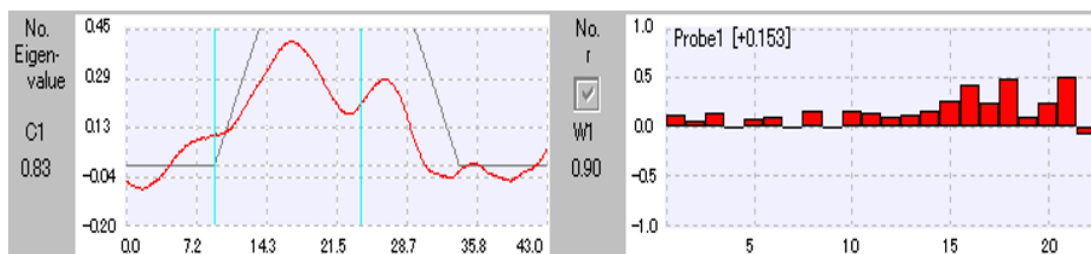


図 2. NIRS の解析パターン(パネル b、サンプル A)

右の棒グラフは、各チャンネルの脳血流変化量を示す。同様にパネル b の例で示すとサンプル A では寄与率は 0.95 であるため、ほぼ正確なデータといえる。特に 21 番を先頭に 18 番、16 番の血流量が増加したことを表す。血流量の減少したものはなかったということがわかる。(図 2 参照) 同様に B では寄与率が 0.90 で、ほぼ正確なデータだといえる。血流量変化では、21, 18, 15 の順に増加していることがわかる。C では寄与率 0.83 で、ほぼ正確なデータといえる。血流量変化としては、21, 18, 16 の順に増加していて、22 だけは減少していることがわかる。D では、21, 16, 20 の順に血流量の増加がみられる。寄与率 0.96 で、ほぼ正確なデータといえる。E では、21, 16, 17 の順に血流量の増加していることがわかる。寄与率 0.90 で、このデータもほぼ正確である。これにより+になったものを表に示し、どの部位が増減したか判定した。ある香りをかいだ時にどの部位が反応したか、もし共通性があれば嗜好性あるいは好き嫌いの判定になる可能性がある。

4) 嗅覚による酒質の評価のグラフ化

年齢や飲酒経験の多さの違いで、本格焼酎に対する香りの感じ方に差が生じるかを検討した。パネルは 29 人で (大学 3 年生 11 人、大学 4 年生 10 人、教員 8 人) で香りのみで評価した。試料をワイングラスに注ぎ、それぞれを順に嗅いでどんな印象を受けたかを評価した。印象評価は敢えて酒質評価用語は使用せず、香水等で使用される立川氏の 5 項目の対語で表現した。評価は、涼しい(1)～暖かい(9)、辛口(1)～甘口(9)、淡白(1)～濃厚(9)、単純

(1)～複雑(9)、女性的(1)～男性的(9)の5項目を9段階評価とした。次に、香りの好き嫌いで脳血流量の増減にどう影響が現れるかを見るために各試料を5段階評価した。評価は、好き(1)～嫌い(5)とした。これらの結果を平均化したもので示した。

5) NIRS の測定結果

NIRS での脳血流量の増減測定結果をパネルごとにまとめたものを表1に記載した。他のチャンネルよりも脳血流量の上昇幅が明らかに大きいものを上段に表記、脳血流量の減少幅が明らかに大きいもの下段に表記した。この表から、各個人の脳のどの場所が大きく反応を示しているのかを読み取ることができる。加えて、各試料の香りに対する各パネルの嗜好性を評価した。香りの好き嫌いで脳血流量の増減にどう影響が現れるかを見るために各試料を5段階評価した。評価は、好き(1)～嫌い(5)としたがパネル a は A:甲類焼酎が嫌い、パネル b は C:麦常圧、D:麦焼酎市販酒、E:芋焼酎市販酒が嫌いと答えた。パネル c は A:甲類焼酎、C:麦常圧が嫌いと答えた (表省略)。

パネル a の嗜好評価では、A：甲類焼酎～E：芋焼酎市販酒の順に好き嫌いが5段階評価(表省略)で4, 3, 2, 2, 2となっていて、評価が2の試料には反応部位の11,12番が反応していることが明らかになった。22は左脳の方に、19は右脳の方に位置していることから、パネル a は右脳で判断している可能性がみられた。視覚、聴覚、触覚の記憶に関する脳機能研究では、文字や音読された言葉などの言語情報の意図的記憶には、左側の前頭前野が関与することが知られている。一方、顔や幾何学模様、抽象音などの言語化しにくい情報の意図的記憶には、左右両側の前頭前野が関与することが知られている。このことから、パネル a は A：甲類焼酎、B：麦焼酎減圧、C：麦焼酎常圧、D：麦市販酒、E：芋焼酎市販酒の香りに対して言語化しにくい情報として捉えている傾向がみられた。パネル b は比較的左脳

表 1. 脳血流量の増減

	パネルa	パネルb	パネルc
A: 甲類焼酎	増 19,5,20,15 減 17,13,18,21,22	増 21,18,16 減	増 22,21,14 減 2,11
B: 麦焼酎減圧	増 19,14,22,15,10 減	増 21,18,15 減	増 22,21,14 減 11
C: 麦焼酎常圧	増 16,12,11,19 減 14,18,15,21	増 21,18,16,15,17 減 22	増 22,14,19 減 11
D: 麦市販酒	増 19,11,20,10 減	増 21,16,20,18 減	増 22,14,5,10,9 減
E: 芋市販酒	増 19,15,10,11,13,12 減 18,17	増 21,16,17,18 減	増 22,14,18 減 11,12,7

で判断し、試料に対して言語情報として捉えている傾向がみられた。パネル c は左脳で判断し、また右脳でもやや判断する傾向が見られた。いずれにしても、ヒトは香りを嗅いだとき脳の前頭前野が反応することが明らかになった。また、香りを嗅ぐパネル、匂いサンプルにより、血流量が上昇する又は減少する場所が異なるが、共通して増加する部位も明らかになった。パネル a は 19、パネル b は 21、16、パネル c は 22,14 が増加している。減少を見る

と、パネル a は 18、パネル b は 22、パネル c は 11 が反応していた。よって、19～22 の部分で強い反応がみられた場合、パネルは「飲みたい」と考えている可能性がみられた。しかしながら、パネル a は評価が 2 の試料に対して 11,12 が反応しており、19～22 以外の部分も嗜好に対して反応している可能性も考えられた (表 1)。

6) 嗅覚による酒質の評価

A: 甲類焼酎はすべての年代で評価が一致し、涼しい、辛口、淡白、単純、女性的という評価になった。B: 麦焼酎減圧は涼しい、淡白、単純という評価が多数を占めた。C: 麦焼酎常圧は濃厚、複雑、男性的という評価は、全ての年代で一致した。D: 麦焼酎市販酒は、全体的に見ても評価が別れており、パネルによって評価が異なっていた。E: 芋焼酎市販酒は、甘口、濃厚、男性的という評価が多く見られた。以上の結果から年代別で見ても香りに対する評価は概ね一致するということが明らかになった。

香りの強い常圧製品 (麦焼酎常圧および芋市販酒) は、濃厚、男性的と評価の共通点が見られた。香りの弱い A: 甲類焼酎に対する評価が一致したことについては、香りが弱く個性がないため、むしろ評価をしやすかったのではないかと推測された。A: 甲類焼酎と C: 麦焼酎常圧、E: 芋焼酎市販酒の結果を比較して、香りの強い焼酎は濃厚、男性的、香りの弱い焼酎は淡白、女性的と全く反対になったことから、香りの弱い焼酎は淡白、女性的で、香りの強い焼酎は濃厚、男性的と評価される傾向にあるということが考えられた。9 段階での酒質評価の結果は、全ての年代を通して概ね評価が一致しており、年齢が違っていても感じとられる香りに大きな差はないことが明らかになった。嗅覚による酒質の嗜好評価では、全ての年代を通して共通点が多いことが明らかになった。

匂いによる好き嫌いの評価は A: 甲類焼酎は、すべての年代において嫌いという評価された数が少ない結果となった。その反面、最も好きと評価された数も少なかった。若い大学 3～4 年生だけに注目すると好きという評価が多く見られた。B: 麦焼酎減圧は、最も好きと評価された数が多く、ほとんどの年代において嫌いという評価が少なかった。しかし、若い大学 3～4 年生だけに注目すると嫌いという評価が一定数あった。C: 麦焼酎常圧は、70 代を除いて全体的に嫌いという評価が多かった。D: 麦焼酎市販酒はすべての年代において好き、嫌いが一定数あり評価が分かれた。E: 芋焼酎市販酒は 70 代を除いた殆どの年代で嫌いという評価があった。中でも若い大学 3～4 年生からの嫌いという評価が多かった。その反面、好きと評価された数も一定数あった。C: 麦焼酎常圧、E: 芋焼酎市販酒は嫌いという評価された数が多く、香りの強い常圧蒸留焼酎は一般的に好かれない傾向にあることが明らかになった。中でも若年層は C: 麦焼酎常圧、E: 芋焼酎市販酒のような香りの強い焼酎を嫌う評価が多いことと、香りの薄い A: 甲類焼酎を好む評価が集まっていたことから、その傾向が強いことが明らかになった。

嗜好調査では香りの薄い焼酎に対する評価は、特に悪くもなく好きでもないという評価が多くみられた。逆に、香りの強い焼酎に対して嫌いという評価された数が多い反面、特に好きという評価も一定数得られた。結果として、香りが強すぎず、薄すぎない焼酎が好まれる傾

向があることが明らかになった。年齢の若い学生だけの結果を見た場合は、香りの強い焼酎を好きと評価された数が極端に少なくなり、香りの薄い焼酎を好む傾向があることがわかった。これは、他の年代に比べて飲酒経験が少ないことと、全体的に香りのするものを嫌う傾向があることが原因ではないかと推測された。

NIRSによる香りの嗜好性は、個人ごとに脳血流量変化の大小、部位は異なるが匂いにより前頭前野の血流量の変化することが確認できた。また、香りを嗅ぐパネル、匂いサンプルにより、血流量が上昇する場所、減少する場所が異なるが、共通して増加する部位が明らかになった。

これは、前頭葉前野の中でも眼窩前頭皮質の部分が反応しているものと考えられる。この領域は情動、報酬価値、食べ物等に対する主観的な喜びの経験を仲介する役割を持っており、焼酎の香りがここに作用したのではないかと考えられる。ただ、嗜好性選択の違いが前頭前野の脳血流量に何らかの影響を及ぼしていることが示唆されたが、それは異なる被験者間で普遍的な応答とはいえなかった。香りの好き嫌いで脳血流量の増減にどう影響するかについて統一した見解は見いだせなかったが、各パネルでの脳血流量の増加部位、減少部位で特徴があることは観察できた。今後その特徴が嗜好性とどのように関係するか検討したい。また、焼酎の香りの好き嫌いの評価については、香りの薄い焼酎を好む傾向が影響しているのではないかと考えられた。

3. 研究成果の副次的効果、今後の計画

本研究は、個人の感性・嗜好に関わる脳内情報を脳血流変化量にもとづく NIRS 信号で検出できないか検討したものである。パネルが本格焼酎の香りを嗅いだ時の脳血流変化と、官能評価及び好き嫌いの関係について調べた。NIRSによる香りの嗜好度は、個人ごとに脳血流変化の大小、部位は異なるものの、匂いにより前頭葉前野の血流量の変化することが確認できた。パネルによる嗜好の違いが NIRS 信号として反映され、パネルの嗜好の傾向を検出できる可能性が示された。

今後の商品開発をしていく上で、涼しい ⇔ 暖かい、辛口 ⇔ 甘口、淡泊 ⇔ 濃厚、単純 ⇔ 複雑、男性的 ⇔ 女性的などを商品のイメージに合わせて香りの質や強弱を変えていくことにより商品を理想の香りに近づけていける可能性がみられた。この研究は端緒を開いたばかりで、更なる精度向上、実験方法の改善、データ解析の方法の改善が求められる。今後、パネルの増員や別の試料も試していくことと、さらに嗜好評価のデータと脳血流変化のパターンを見つけることで焼酎の嗜好性の傾向を明らかにしていきたい。

研究タイトル：②ガスクロマトグラフィー質量分析匂いかぎ法 (GC-MS-0) によるカボスの熟成における香気成分の変化と光トポグラフィー装置 (NIRS) による脳血流への影響

研究機関：食物栄養科学部 発酵食品学科 醸造香料学研究室

担当者職名：教授 米元俊一

1. 研究の目的

カボスの香気成分の収穫時期(9~11月)による差と、比較対象であるユズとの香気成分の違いを匂い嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計(以後GC-MS-0と略記)を用いて行った。分析に使用した試料は、果皮と水蒸気蒸留法で抽出した精油を用いた。また、実際どのような匂いの感じ方をしたかを調べるため官能評価と同時に11月に収穫したカボスとユズの香りでNIRSを使用して嗅覚刺激として与え、脳血流量の変化から脳への影響を検討した。

2. 研究内容

カボスは大分県の特産物で、ユズの近縁種である。そのカボスの生産量は、2013年でおよそ全国の96%を占める。カボスの旬の時期は8~10月末であり、カボスは緑色(青カボス)から熟成してくると黄色(黄カボス)になり、香味も変化するとと言われる。主に料理の薬味に使われ、お菓子や清涼飲料水、お酒等に利用され、さらにカボスを飼料に混ぜて養殖させたカボスブリなどが売り出されている。カボスの匂いは柑橘系をメインに独特の青臭さなどが感じられる(写真1参照)。



写真1. カボス(9月)とカボス・ユズ(11月)

1) 実験試料

カボスは9、10、11月採取したもの、比較対照のユズは11月採取したものにした。試料の提供は大分県農林水産研究指導センター農業研究部・果樹グループ(国東)より同じ木から提供して頂いた。本研究で使用したカボスは通常品種の大分1号であり果実品質や栽培面で優れており、現在、県下のカボスの85%が本品種である。

2) 水蒸気蒸留による精油の抽出

カボス、ユズの果皮を包丁でそぎ落として、約340~350gの果皮を用意した。蒸留器の底部に水を注ぎ、水が沸騰し始めたらそぎ落としたカボスの果皮を入れた。その後、1時間蒸留を行い、留出した精油をビーカーに移し、冷蔵庫に保存した。

3) GC-MS-0による分析

実験方法として、各精油を1 μ l、みじん切りにした果皮を1gを分析した。どちらも20mlバイアル瓶に入れてセプタムで密封して行った。これは圧搾法では精油サンプルが採取できなかったため、直接果皮をみじん切りにして香気成分分析を行った。分析に使用した匂いかぎGC-MS-0は7890B GC-5977AMSD(Agilent Technologies社製)である。装置の上部には試料から香気成分をサンプリングするMultiPurpose Sampler(Grestel社製)を付属している。匂いかぎ装置はOlfactory Detector Port ODP 3を用いた。固相マイクロ抽出

(SPME)はファイバー:Carboxen/PDMS(中極性)を使用した。試料加温 (Incubation)条件温度:40°C,5分、GCカラム:Agilent 1909IJ-433 HP-5,30m×250 μ m、カラム流量:1.9mL/min、キャリアガス:He、カラム昇温設定:40°C→100°C (10°C/min),100°C→2 (8°C/min)、イオン源温度:230°C、EI法、GC:O流量比1対1、Olfactometry Temp.:Transfer Temp:250°C、Exit Temp:150°C、メイクアップガス:N₂

匂い嗅ぎは、測定者がカラムの出口に鼻を近づけ、香りを感じたらボタンを押しつつ、感じた香りを記述した。また、測定者は成人女性2名である。香り分析ソフトのアロマオフィスにより定性を行った香気成分は、一致率が80%以上のデータ以外はUn knownと記し、GC-MS-Oで測定した際、匂った香りについては全部を表に記した。また、2名分のリテンションタイム(Rt)と香気成分が一致しているものは1つにまとめた。におい嗅ぎを行う評価者はパネル選定試験に合格する程度の嗅覚を有する者にした。分析後のデータのピーク面積を表示させ、カボスの成分に含まれている成分の割合をRtから照らし合わせ、その成分量を%で表し収穫時期による成分量の変化をまとめた。

4) 官能評価によるカボスの評価

カボスの採取時期によって感じる香りの印象がどれだけ異なるか検討した。試料は9、10、11月のみじん切り果皮と水蒸気蒸留法で採取した精油を利用して採取した。カボスとユズとの比較では11月のカボスとユズの果皮と精油を使用した。パネルは、22歳の女子大学生2名で行った。評価方法は、各試料に対して嗅いでどんな印象を受けたか1~9段階の評価で行った。評価は、涼しい(1)~暖かい(9)、辛口(1)~甘口(9)、淡白(1)~濃厚(9)、単純(1)~複雑(9)、女性的(1)~男性的(9)の5項目を9段階評価を全員の月ごとの平均で割り出した。官能評価開始前には室内の十分な換気を行い騒音のない適度な照明の下で行った。試料は9月カボス、10月カボス、11月カボス、11月ユズの順にパネルに試料を提示した。

5) NIRS 実験方法

本研究はヘルシンキ宣言の精神に則り、別府大学倫理委員会の承認を得て実施した。実験機器:NIRSは今回の事業で購入した株式会社日立国際八木ソリューションズのWOT-100、16チャンネルプローブモード(c)2×6を使用した。計測チャンネル数は16CHであった。

実験の流れは30秒間は安静にしたのち、30秒間被験者に試料の香り提示を行い、30秒間休憩を取り、再び同じ試料を30秒間提示して、最後に30秒間安静にして実験は終了した。NIRSの解析方法については計測された2名のパネルで行った。16カ所のチャンネルにおいてoxy-Hb濃度とdeoxy-Hb濃度の変化量のトポグラフィーのパターンの検討を行い、全体のタイムコースポトグラフィーより匂いによる脳内血流量の変化を観察した。その変化よりoxy-Hb、deoxy-Hbの優位さについてパターンにより判断した。タイムコースでは匂いを嗅いでから15秒後の反応パターンを見た。また、NIRSの各チャンネルのoxy-Hb血流量のグラフからoxy-Hb血流量の最も増加した場所3か所を選択しその上昇した長さをメジャーで計測しcmで表わした。その平均の結果を1回目は30-60秒、2回目は90-120秒の結果ごとに出した。oxy-Hb増加は血流量の増加と比例すると考えた。またoxy-Hb減少はすべて

0とした。また同時にチャンネルの位置により脳内の部位による oxy-Hb、deoxy-Hb 変化の位置を推定した。実験結果と考察は以下の通りである。

①カボスの収穫時期による果皮と精油の香気成分の違い

表 1. 収穫時期による果皮の香気成分の違い

カボス 果皮	Rt	カボスの採取時期			匂い嗅ぎ官能評価 (強さ)
		9月(%)	10月(%)	11月(%)	
果皮の成分	(min)				
β -pinene	6.9	0.23	0.29	0.34	青臭い 中
β -myrcene	7.2	5.27	10.41	10.50	柑橘 大
α -limonene	8.6	34.43	27.96	22.53	柑橘 大
cyclohexene.1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	9.7	2.69	1.36	1.19	フルーティ 中
nonanal	11.1	0.33	0.30	0.18	洗剤の泡 小
decanal	12.8	1.89	1.81	1.08	洗剤の泡 中
linalool	13.4	1.24	0.50	0.45	フルーティ 中

表 1 に示すように、カボス果皮の香気成分結果を見ると、主要成分である α -limonene が 9 月 34.4%、10 月 28.0%、11 月 22.5% と 9 月から 11 月にかけて成分が減少していた。他の成分の結果を見ても β -pinene、 β -myrcene を除きすべての成分が 11 月にかけて減少していた。その他の香気成分も、カボスは 9 月から 10 月の旬を過ぎた 11 月にかけて成分が減少していく傾向にあった。そして鎮静効果のある linalool も同様であった。匂い嗅ぎの強度から匂いの主成分は α -limonene と γ -terpinene、 β -myrcene であった。それに続く成分が linalool、 β -pinene、decanal、cyclohexene.1-methyl-4-(1-methylethylidene)- であった。実際に GC-MS-0 で匂い嗅ぎを行った結果、嫌な匂いはあまりなくカボス特有の柑橘系の匂いや、青臭い、フルーティな良い匂いばかりであった。

表 2 に示すように、カボスの精油のデータでは、主要成分である α -limonene がどの月も 60% 以上を占めていた。しかしカボス果皮の α -limonene の成分に比べ 9 月から 11 月にかけてあまり分量が変化していなかった。その他の成分はカボス果皮同様に 9 月から 11 月にかけて減少傾向であった。 β -myrcene に関しては、カボス果皮、精油同様に 9 月から 11 月にかけて増加傾向にあった。官能評価を行った際も 9 月から 11 月にかけて他の成分が減少している分、 β -myrcene の香りである青臭さが目立っていたのでこのような結果になったのではないかと考えられる。各月ごとの果皮、または精油の GC-MS-0 のパターンの香気成分変化をみると、9 月から 11 月になると香り成分の量や種類が減少してくることが分かった。

② 11 月カボスとユズの果皮と精油の香気成分の違い

表 3 に示すように、果皮みじん切りの香りは匂い嗅ぎ成分で 11 月のカボスとユズを比較

した結果、カボスは特に β -myrcene が多く、 β -pinene、nonanal、decanal が多かった。ユズは α -limonene、linalool が多く、cyclohexene.1-methyl-4-(1methylethylidene)-、3-hexene-1-ol, arodenderen がカボスに比べて明らかに成分が多かった。カボスは蜜柑系の香りに松系の香、刺激香がメインで、ユズは蜜柑系の香がやや弱く linalool の芳香が強いことが分かった。また沢村の報告ではユズの香りはテルペン系炭化水素 2 個、アルコール 9 個、アルデヒドが 3 個、エステルが 1 個、硫黄化合物が 1 個、未同定物質 1 個となっている。この中で 6-メチル-5-ヘプテン-2-オールとメチルトリスルフィドが鍵となる成分と報告している。

表 2. 収穫時期による水蒸気蒸留の香気成分の違い

カボス水蒸気蒸留 精油成分	Rt. (min)	カボスの採取時期			匂い嗅ぎ官能評価 (強さ)
		9月(%)	10月(%)	11月(%)	
β -myrcene	7.3	4.84	4.66	5.12	柑橘 大
α -limonene	8.2	61.60	62.95	64.15	柑橘 大
cyclohexene.1-methyl-4- (1methylethylidene)-	9.4	8.00	7.26	6.32	フルーティ 中
nonanal	11.2	1.63	1.16	0.64	洗剤の泡 小
decanal	12.5	0.46	0.26	0.07	洗剤の泡 中
linalool	13.5	2.49	2.33	0.96	フルーティ 中
dodecanal	16.7	1.60	1.50	0.67	洗剤の泡 中

表 3. カボス 11 月と 11 月ユズの果皮 香気成分比較

果皮 精油成分	RT (min)	香気成分		匂い嗅ぎ官能評価 (強さ)
		カボス(%)	ユズ(%)	
β -pinene	6.9	0.29	-	青臭い 中
β -myrcene	7.2	10.41	-	石油、柑橘 大
β -phellandren	7.6	-	0.80	青臭い 小
α -limonene	8.6	22.53	48.05	柑橘、フルーティ 大
cyclohexene.1-methyl-4- (1methylethylidene)-	9.7	1.19	2.35	フルーティ 中
nonanal	11.1	0.30	-	洗剤の泡 小
3-hexen-1-ol	11.0	-	0.19	青臭い 小
decanal	12.6	1.81	-	洗剤の泡 中
linalool	13.5	0.45	4.21	フルーティ 中
aromandendren	14.7	-	0.25	みかん 小

表4に示すように水蒸気蒸留精油の結果では逆に、カボスは *d*-limonene、 γ -terpinene、 β -myrcene、nonanal、decanal、dodecanal が多く、ユズは linalool、1-methyl-4-(1methylethylidene)-、cyclohexene がカボスに比べて成分が多く、さ

表4. カボス 11月と 11月ユズの精油成分比較結果 水蒸気蒸留

水蒸気蒸留 精油成分	Rt. (min)	香気成分		匂い嗅ぎ官能評価 (強さ)
		カボス(%)	ユズ(%)	
β -pinene	6.4	-	0.29	青臭い 小
β -myrcene	7.3	5.12	1.07	柑橘 大
Bicyclo[3.1.0] hex-2-ene.4-methyl-1-(1-methylethyl)-	7.5	-	3.80	青臭い 中
<i>d</i> -limonene	8.2	64.2	46.1	石油、柑橘 大
γ -terpinene	8.9	5.88		柑橘 中
cyclohexene.1-methyl-4-(1methylethylidene)-	9.4	1.01	2.63	フルーティ 中
nonanal	11.2	0.64	-	洗剤の泡 小
decanal	12.5	0.07	-	洗剤の泡 中
linalool	13.5	0.96	6.54	フルーティ 中
caryophyllene	14.7	-	0.90	?
dodecanal	16.7	0.67	-	洗剤の泡 中

らに aromadenderene、3-hexen-1-ol、 β -phellandrene が特徴である。また果皮に aromadendrene、3-hexen-1-ol、 β -phellandrene、精油に β -pinene 等がみられた。反対にユズになくてカボスにある成分については、フルーティな香りや洗剤の泡みたいな匂いを感じるものが多かった。特に果皮に β -pinene、 β -myrcene、nonanal、decanal、精油に γ -terpinene、 β -myrcene、decanal、nonanal、dodecanal が見られた。

③ 官能評価

カボス、ユズの果皮の官能評価結果及びカボス、ユズの精油の官能評価結果では、9月、10月、11月のカボスの果皮と精油と 11月ユズの果皮と精油を使用した。特にカボス皮の匂いの感じ方がパネルによってばらつきがあった。平均したグラフを見てみるとそれほどの変化はないが、9月から11月にかけて女性的で甘口な印象になっていくことがわかった。特にカボスでは女性的な印象が強かったのに対し、ユズでは男性的と2名とも感じていた。カボス、ユズ共に、どの収穫月を見ても涼しいという印象を得ていた。これは、カボス、ユズ特有の柑橘の香りがそのような印象を与えているのではないかと考えられる。一方で水蒸気蒸留で採取した精油ではユズの印象の差は果皮の時とほとんど差はなかったが、カボスは果皮と精油では印象が少し変わっていることがわかった。精油のほうが全体的に5

項目とも強い印象を与えていた。実際に官能評価をした際にも果皮と精油とでは匂いが少し異なっていた。

④ NIRS 測定結果

oxy-Hb 血流量の最も増加した場所 3 か所を選択しその上昇した長さをメジャーで計測した結果が表 5 である。1 回目は 30-60 秒、2 回目は 90-120 秒の結果である。

匂いを嗅がせて 15 秒後のパターンから判断すると、カボス果皮は血流量が増えて活性化しているのがわかる。1 回目では 4、7、13、16 番の場所周辺が活性化し、2 回目も同様であった。ただし 10 番あたりに鎮静化がみられた。カボス精油では果皮に比べ血流量が減少し、鎮静化がみられた。また精油のほうは 2 回目に嗅いだときのほうが血流量が減少していた。ただし 7 番、16 番は活性化がみられた。

表 5. カボス・ユズ（11 月）の脳血流量への効果

回	果皮/精油	カボス		ユズ	
		果皮	精油	果皮	精油
1回目	Oxy-Hb 増加	0	1.73	0	0.54
	増加場所	-	4,7,13,16	-	4,7,13,16
2回目	Oxy-Hb 増加	1.5	1.58	0.52	0.54
	増加場所	5,7,10,12,13,16,19	6,13,19,12	19	6,13,12,18

※Oxy-Hb増加の単位はcm でパネルの平均値
増加場所は写真2参照

一方、ユズに関しては果皮、精油ともに左の 19 番周辺の血流量が増えたが全体的に見ると、血流量が増えず匂いを嗅いでいる間は落ち着いているという結果であった。特に果皮で 7 番、精油で 10 番の鎮静化がみられた（表 5 参照）。

果皮と精油では血流量の増加場所が明らかに異なっていたが、カボスとユズでは似ていた。カボスとユズの脳血流への増加傾向の差が認められた。GC-MS-0 の結果で、ユズの香気成分において鎮静効果の高い linalool がカボスより多量に検出されたので NIRS でもその効果が出たのではないかと考えられた。すなわち全体として比較するとカボスの香気成分は、脳の血流量を増加させる効果があり、ユズの香り増加させない効果すなわち、鎮静効果があると考えられた。

考察するとカボスの精油の香気成分ではっきりと収穫時期の成分の移り変わりがわかったのが *d*-limonene、 β -myrcene である。*d*-limonene と β -myrcene は 9、10、11 月カボス精油の 50%以上を占めており、11 月に至ってはこの二つの成分で 70%以上を占める結果となりこの二つが主要な香気成分であった。カボス香気成分は 11 月では成分量、種類とも

少なくなった。ユズとの比較でカボス及びユズの特徴香分があった。カボスは γ -terpinene、 β -myrcene、ユズは linalool、 β -pinene が特徴的であった。水蒸気蒸留精油では、カボスは *d*-limonene、 γ -terpinene、 β -myrcene 等が多く、ユズは linalool、1-methyl-4-(1-methylethylidene)-、cyclohexene 等がカボスに比べて多かった。

また、官能評価を行った際にも、カボスよりもユズの香りのほうがやや柔らかく感じたのはこのためと考えられた。また果皮に aromadendrene、3-hexen-1-ol、 β -phellandrene、精油に β -pinene 等がみられた。通常の果皮を絞るという状態では、カボスの香り成分がやや弱いと感じられるのは *d*-limonene がやや弱く、 β -myrcene、 β -pinene の香が強い為で、反対にユズは *d*-limonene、linalool が多く、特に香りの強い linalool はユズの方が 6.5% (カボスは 1.0%) と多いためであると推測できた。

最終的に纏めると大分県の特産物であるカボスの香気成分について、カボスの採取時期による成分とその量の変化、カボスまたはユズの特有のあるいは共通する成分などが判明した。また、官能評価ではカボスの香りは熟成により女性的から男性的、複雑から単純に変化した。ユズは男性的という評価であった。NIRS 結果で 11 月のカボスとユズとで比較しカボスは脳血流量を上昇させる効果が高いことが分かった。

3. 研究成果の副次的効果、今後の計画

カボスとユズの香気成分を比較すると、共通の成分や独自の成分がみられたが果皮と精油でも組成が非常に異なっていた。これより考えられることは、カボスは単に傷つけたぐらいでは香りが出にくいことを表している。品種改良等で果皮を柔らかくし、絞った時の果皮からの香りを立ちやすくする等の可能性が示された。

総じてカボスには蜜柑系の香り成分が多く、ユズは、linalool 系の香が特徴的であると考えられた。カボスの香りは女性的で複雑、甘口と評価された。ユズの香りは男性的で単純、辛口と評価された。今回は女性 2 名の評価であるので、男性や更にパネルを多くする必要がある。

NIRS 結果ではカボスの果皮及び精油の香気成分は、oxy-Hb 濃度すなわち、脳の血流量を増加させる効果があり、ユズの香りは血流量を増加させない効果すなわち、鎮静効果があると考えられた。これは沢村の報告でユズの香りは交感神経の活動を抑制しているとの報告があり今回も確認された。ユズと反対にカボス香気成分の脳活性化を利用した商品化の可能性はある。今回は掲載しなかったが、カボスブリの香気成分の研究でもカボスの香りが検出され、またそのブリ自体の香気へ影響を与えていた。

研究タイトル：③ガスクロマトグラフィー質量分析匂いかぎ法 (GC-MS-0) による別府鉄輪温泉蒸し湯の石菖の香気成分分析と光トポグラフィー装置 (NIRS) による脳血流への影響

研究機関：食物栄養科学部 発酵食品学科 醸造香料学研究室

担当者職名：教授 米元俊一

1. 研究の目的

本研究ではセキショウの香気成分を季節ごとの変化を比較・定性することによって、セキショウの持つ香気成分特性を知ることができれば、蒸し湯以外へのセキショウの利用方法や蒸し湯文化の活性化への期待感が持てる。本実験ではGC-MS-0、官能評価、NIRSを使用しセキショウの新たな可能性を検討した。



写真1 セキショウ

2. 研究内容

石菖 (*Acorus gramineus* 以後セキショウと略する)は写真1の様にショウブ科の植物で根、茎は横にはって枝分かれして伸びる。生育場所は、溪流、湿地に群生している。石菖は精油の主成分として、アザロン (asarone) を含んでいる。漢方では石菖根として鎮痛、鎮静、健胃薬などに用いられている。日本では、セキショウは石菖、ショウブ (*Acorus calamus*) は菖蒲として流通しているが、中国の生薬では、菖蒲はセキショウのことなので混乱を生じやすい。一説によると、五月の菖蒲湯は、元々石菖を用いていたという説がある。写真2の鉄輪温泉の蒸し湯は、4人が入れるほどの狭い石室で、床には石菖 (乾燥したセキショウ) が厚く敷いてあり、室中の香りは、麦茶と菖蒲の香りを足したような、芳ばしい香りである。



写真2 別府鉄輪温泉 蒸し湯 風景

1) 実験試料

実験試料は、5月生セキショウ、5月乾燥セキショウ、10月生セキショウ、10月乾燥セキショウを使用した。全て、別府市役所から提供された物を使用した。

2) 水蒸気蒸留法 (steam distillation)

本研究では(株)黄河製のアロマ蒸留器を使用した。生セキショウ 130g、乾燥セキショウ 300g 使用し精油を採取した。蒸留時間は留出はじめから1時間にした。留出成分を遠心分離分離したのち精油をピペッターで取り出しサンプルとした。

3) 匂いかぎガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS-0)

実験試料は、5月生セキショウ、5月乾燥セキショウ、10月生セキショウ、10月乾燥セキショウを使用した。セキショウについて香気成分の定性および匂いかぎ法による香りの評価を別府大学学生 3 人で行った。Agilent Technologies 7890B GC System に、Agilent

Technologies 5977A MSD, GERSTEL MPS2-xt Multi Purpose Sampler を使用した。匂い嗅ぎ装置は Olfactory Detector Port ODP 3 を用いた。SPME は MSU 071-00A Fiber 10mm Scale 36mm ID24 を使用した。カラムは Agilent Technologies DB-1 0.250 mm×30 m, 0.25 μm、カラム温度は 40℃、注入口温度を 250℃、キャリアガスは He で流速は 1.9 ml/分にした。

生セキショウ、乾燥セキショウは 5 g、精油は 2 μl をメスピペット及びピペットマンでガラスバイアルに入れて密栓し、40℃のアルミブロックバス内で 10 分間加熱保持した後、自動的に GC に注入した。10℃/分で 200℃まで加熱し、3℃/分で 250℃まで温度を上げて 2 分間加熱保持して 10℃/分で 320℃まで温度変化させて、成分分析と匂い嗅ぎを行った。匂い嗅ぎは、測定者が ODP の出口に鼻を近づけ、香りを感じたらボタンを押しつつ、その香りの質を記述した。定性を行った成分は、一致率が 90%以上のデータのみを記述した。RT は測定を開始してからの経過時間で、RT0.01 につき 0.6 秒である。

4) NIRS による測定方法と解析方法については前報告と同様である。

5) 嗅覚による匂いの評価

セキショウの状態や採取時期によって感じる香りの印象がどれだけ異なるか検討した。試料は水蒸気蒸留法を利用して採取した精油を保存してある褐色瓶から直接、順番に嗅いでどんな印象を受けたかを 1~9 段階で評価をした。評価方法は研究タイトル②と同様である。嗅覚による匂いの評価は 4 年男子 3 人、4 年女子 1 人、男性教員 1 人の計 5 人で行った。

結果は以下のようになった。

① GC-MS-O の測定結果

表 1 に示すようにまた匂い嗅ぎ成分組成は大きく変化していた。全体の生セキショウの匂い嗅ぎの結果では 5 月の生セキショウが 10 月より香気成分数、量とも多かった。生セキショウの匂い嗅ぎの結果では、5 月の生セキショウは匂い嗅ぎ成分が 21 個、10 月では 16 個であった。生セキショウ精油の匂い嗅ぎの結果では、5 月の生セキショウ精油は匂い嗅ぎ成分が 38 個と大きく増加したが 10 月の精油では匂い嗅ぎ成分は 32 個とやや少ないもののそれほどは減少していなかった。乾燥セキショウの匂い嗅ぎの結果では生セキショウと比較し成分数は大きく減少した。乾燥セキショウでは 5 月は 18 個、10 月セキショウは 12 個であった。5 月乾燥セキショウ精油の匂い嗅ぎの結果では匂い嗅ぎ成分は 39 個と大きく増加したが 10 月精油では 17 個と少なくなった。また、結果には示さなかったが、精油抽出でヘキサンによって抽出されたものは、香気成分が殆ど検出されておらず、匂い嗅ぎ法でもあまり香

表 1 GC-MS-O による匂い嗅ぎの香気成分数

	5月セキショウ	10月セキショウ
生セキショウ	21	16
生セキショウ精油	38	32
乾燥セキショウ	18	12
乾燥セキショウ精油	39	17

りを感じることができなかつた。しかし、水蒸気蒸留での精油抽出では十分に精油が採取できたため、水蒸気蒸留法で行った。

鉄輪温泉の蒸し湯では乾燥セキショウが使用されているので図1に5月乾燥セキショウ、図2に10月乾燥セキショウのGC-MS-Oパターンを比較すると明らかに5月の乾燥セキショウが10月より香気成分数、量とも多かつた。官能評価では生セキショウは青っぽい香り、乾燥セキショウは干し草の香りがし、5月の方が10月より香りが強かつた。

これから言えることは、生セキショウ、乾燥セキショウとも5月は若い葉で香気成分の量、数とも多いが10月セキショウでは十分に香り成分が出にくいことが考えられた。5月の水蒸気抽出精油の香り成分の匂い嗅ぎでの検出された香気成分数は同様なので、葉の構造が固くなり香気成分が出にくいことを示唆した。総じて乾燥セキショウと生セキショウの分析結果では、RT16.369~20.247 までの間にセキショウの特徴香である、caryophyllene、humulene、isoeugenol、

asarone が確認され、香辛料のような香りや甘い香りが確認された。また、乾燥させることにより、これらの香気成分が揮散するかあるいは新たな香りが生成し、全体的な香りを変化していた。乾燥セキショウでは、caryophyllene、humulene、asarone が検出されているが、セキショウの緑の香りから乾燥することにより枯草のような、あるいはハーブ様の

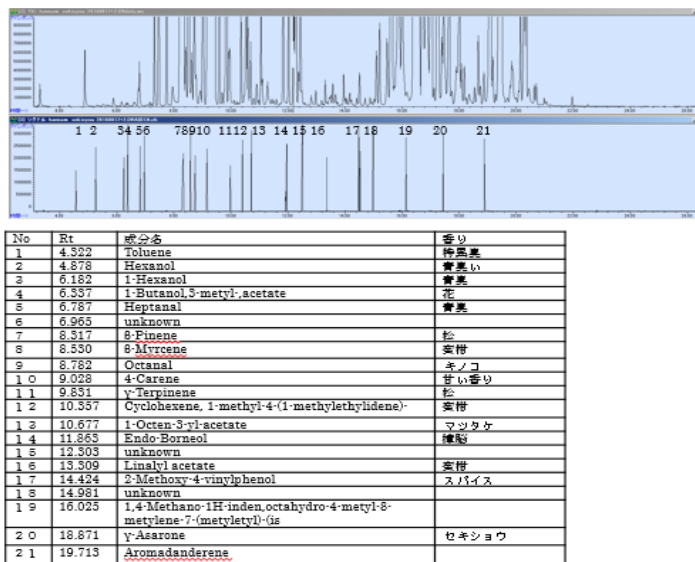


図1 5月乾燥セキショウの GC-MS-O クロマトグラムと匂い嗅ぎ成分 (21個)

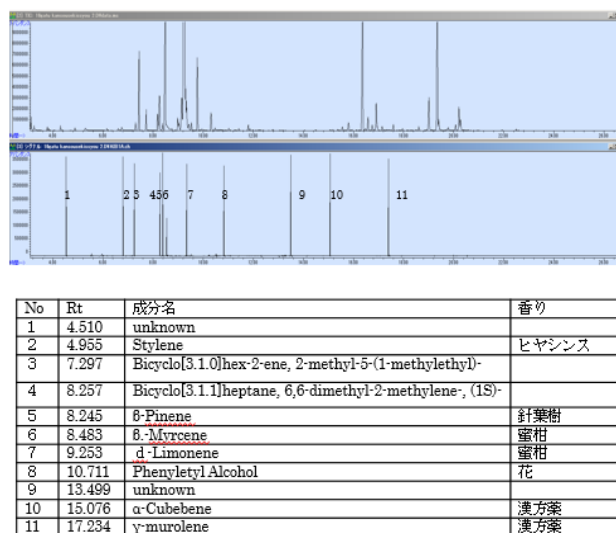


図2 10月乾燥セキショウの GC-MS-O クロマトグラムと匂い嗅ぎ成分 (11個)

の香りに変化していることが分かった。蒸し湯で使用される時の乾燥セキショウの5月、10月で共通して残留する香気成分は pinene、eucalyptol、ocimene などの針葉樹系、ハーブ系の香り成分が共通していた。またセキショウでは asarone が有名であるが5月の生とその精油ではみられたが、乾燥とその精油では見られなかった。10月の生、乾燥、精油においても見られなかった。匂い嗅ぎの結果より Asarone の香りでの貢献度は弱いとみられた。

② NIRS の測定結果

NIRS による測定では5月乾燥セキショウ精油において脳血流量の減少がみられ、特に強い鎮静効果があることが確認された。試料を嗅いだ後は、急激に脳血流量が低下し、脳が鎮静化していることが分かった。また前頭葉中心部の7、13、16の部位で、特に前頭葉左部16の部位に強力に反応することが分かった。た

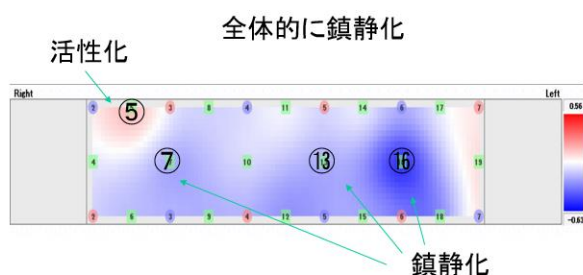


図3 5月乾燥セキショウ精油
NIRS 匂い15秒後とその部位

だし一部、前頭葉右5番の部位も活性化していた。全体的に鎮静化しているが、これはセキショウの香気成分に鎮静効果を持つものが多く含まれているためだと推測した(図3)。

③ 香りの評価

5月生セキショウは、暖かく、濃厚複雑で若干、甘い香りで男性的、5月乾燥セキショウは暖かく、濃厚、複雑で男性的という評価になった。また5月生セキショウが10月のものと比較し、濃厚という評価であった。しかし、乾燥セキショウ精油では10月の方が逆に濃厚という評価となった。この理由については不明である。また、5月に収穫されたセキショウは全ての試料に暖かいと言う評価がなされているが、10月セキショウは比較的、涼しいと評価している人が多かった。これは、セキショウに含まれている香気成分の種類が5月セキショウと比較すると減少しているためだと推測された。すなわち乾燥過程と水蒸気蒸留精油抽出の過程で香気成分が大きく変化するものと考えられるので注意する必要がある。

収穫時期の差では明らかに5月の乾燥セキショウが10月より香気成分数、量とも多く、匂い嗅ぎ成分も同様の傾向であった。5月は若い葉で香気成分の量質とも多いが10月では乾燥セキショウでは十分に香り成分が出にくいことが考えられた。5月生セキショウ精油での香り成分数や量は変わっていないので、存在はしているが、葉の構造が固くなり出にくいことを表していた。この結果より、できるなら5月の春物のセキショウを用いると香りがより楽しめると考えられた。

④ まとめ

別府鉄輪温泉の蒸し湯で使用されているセキショウの時期、乾燥、精油による香気成分の変化についてGC-MS-O、NIRSによる脳内情報、官能評価を使用して香りの可能性を探った。

セキショウの特徴成分では、香気成分は5月セキショウが香り成分、量とも多いが、乾燥すると成分数が少なくなり、結果的に、生、乾燥物、精油の香気成分が非常に異なっていた。

乾燥工程の差では、乾燥セキショウは生セキショウと比較し香気成分数は大きく減少していたが、5月より10月乾燥セキショウの香気成分の減少量が大きかった。さらに精油でも同様な結果であった。生を乾燥させることにより、セキショウの共通の香りは、香気成分が揮発し、あるいは新たな香りが生成し、総じて香りが弱まっていると考えられた。乾燥セキショウでは、caryophyllene、humulene、asaroneが検出されているが、緑の香りとハーブの香りから乾燥により枯草のような甘い香りに変化していることが分かった。すなわち、蒸し湯で使用されるとき乾燥セキショウで共通する香気成分は β -pinene、eucalyptol、ocimeneなどの針葉樹系、ハーブ系の香り成分が共通していた。Asaronは5月の生、精油ではみられたが、乾燥とその精油では見られなかった。脳血流量への影響はNIRSによる結果(5月乾燥セキショウ精油)からセキショウの香りを嗅いだ後、脳血流量を低下させ、沈静効果を持っていることが推測できた。

香りには強い鎮静効果があり、それを利用したアロマ商品開発が考えられた。また実験におけるパネルの増員と更なる生理的なセキショウの香り効果を検討していきたい。

3. 研究成果の副次的効果、今後の計画など

セキショウ生と乾燥、精油では香気成分が大きく異なっていることが分かった。現在、蒸し湯で乾燥セキショウだけを使用しているが、生のセキショウの香り(青臭い、濃厚なグリーンな香り)の一部併用も検討に値すると考えられた。鉄輪温泉の蒸し湯でも鎮静効果が期待できると考えられる。以上のことによりセキショウの香りを就寝前に使用するアロマオイルやアロマキャンドル、入浴剤として利用できると考えられた。またセキショウ精油も大分・別府のアロマ香りの素材として十分可能性がある。今後は、この結果を発展させ様々な有効利用の可能性を探っていきたい。

研究タイトル：④大分竹田の *Crocus sativus* (saffron) の GC-MS-O と官能評価による香気成分に関する研究

研究機関：食物栄養科学部 発酵食品学科 醸造香料学研究室

担当者職名：教授 米元俊一

研究協力者：渡邊淳二(大分農業文化公園)、吉田千秋(大分香りの博物館)

1. 研究の目的

サフラン(saffron)の学名は *Crocus sativus* で、秋咲きの球根植物で淡い紫色の6弁の花を咲かせる。花びらを中心に黄色い雄しべと強い芳香を放つ細長い赤い雌しべを1本ずつ持ち、さらに雌しべと雄しべの先は3本に分かれている。雌しべの柱頭の赤色の部分だけを集めて乾燥させたものが一般に「サフラン」と呼ばれ、香辛料や薬、染料として使用

されている。生理機能性は記憶の改善、抗皮膚がん作用などが報告されている。

原産地は南ヨーロッパ・西アジア一帯である。雌しべの部分は 300g からわずか 1g ほどしか収穫できないため世界一高価なスパイスとして知られているが、出荷には大量の花を必要とする。しかしながら、花や雄しべの部分は活用する手段がなく、大量に廃棄されているという現状がある。花本来が持つ香りをなにか活かすことが出来れば産業的、経済的に活性化できる。本研究ではサフランの各部位における香気成分を GC-MS-0 による分析及び香りによる官能評価を比較検討した。

2. 研究内容

サフランの栽培は古く紀元前 2 千年頃のクレタ文明で既に栽培が盛んであった。ヨーロッパへはアラビア人により伝えられ、日本へは江戸時代の天保年間に渡来したとされる。明治後期から全国に広まり大きな産地も形成されたが、現在では大きな産地と呼ばれる地域は竹田市のみとなっている。サフランの開花方法はヨーロッパでは畑に球根を植えて開花させるが、大分県竹田市では室内で球根を置いて花を咲かせる世界的に珍しい方法となっている（写真 1 参照）。



写真 1 竹田市でのサフラン屋内栽培

1) 試料

試料は大分農業文化公園から提供されたサフラン約 1kg を用いた。また、香気成分を溶剤抽出にはエタノール（99%特級エタノール、和光純薬製）、ヘキサン（特級、和光純薬製）を使用した。乾燥花卉と雄しべは竹田市の大塚氏より提供して頂いた。

2) 抽出方法

採取したサフランを花卉、雌しべ、雄しべの 3 つにピンセットなどで丁寧に分け、それぞれビーカーに移してアルコール、ヘキサンを各 200ml ずつ加えて浸した。ビーカーは完全に密閉した状態にして約 3 日間冷蔵庫内で保存し、ある程度香気成分がアルコール、ヘキサンの溶解しているのを確認した後ドラフト内でろ紙を用いてろ過を行った。そしてろ液を移したビーカーを 70~80℃前後のお湯に浸し、アルコール、ヘキサンを蒸発させて、ビーカー内に残った内容物に 99%エタノールを加えてもう一度溶かし冷蔵庫内で保存した。

3) GC-MS-0 による定性条件は研究タイトル②と同様である。

4) 官能評価は醸造・香料研究室の学生 4 名と教員 1 名で行った。方法は研究タイトル②と同様である。

5) NIRSによる脳血流量への効果の分析及び解析方法は研究タイトル②と同様である。

6) 商品開発

乾燥物を使用して教員と学生で話し合いインセンス(線香)、バスボム、飲物、酒、食品について商品開発を提案し試作を行った。

結果及び考察は以下の通りである。

①生サフランを写真2に示した。左写真に全体花卉、花卉、雄しべ、雌しべ)、右写真にGC-花卉、雄しべの乾燥物を示した。



写真2 サフラン(生)の各部分と花卉・雄しべ(乾燥)

② GC-MS-0 結果及び考察

GC-MS-0による定性結果から物質同定を行い、アロマオフィスで一致率90%以上のものを記載した。表1にGC-MS-0による香気成分の定性分析を纏めて示した。各部位と抽出法それぞれに対して定性出来た香気成分には○をつけた。その結果、主な香気成分はリナロール、酢酸エチル、1-ブタノール、3-メチル-アセテートは雄しべ、雌しべ共に検出されたが生花卉ではあまり検出されずフェネチルアルコール

(バラの香り)が主成分であった。ツヨン(メントール様)はアルコール抽出で3つとも検出された。フムレンはホップに見られる成分であるが、花卉のヘキササン抽出のみで検出された。これらの香りは香料植物に見られる代表的な香気成分であり、その他、微量の香気成分が数多く見られた。花卉と雄しべにアルコール抽出法でのみ2,6,6-トリメチル-1,3-シクロヘキサジエン-1-カルボキシアルデヒド(サフラナール)が見られた。サフラナールはサフランの独特な香りの主成分として知られている香気成分であるが、今回はサフラナールの香気匂い嗅ぎで指摘した人は少

表1 サフランの各部位及び抽出物の香気成分(GC-MS-0)のまとめ

香気成分	花卉		雄しべ		雌しべ		香り
	生	アルコール抽出	生	アルコール抽出	生	アルコール抽出	
1 芳白系	○	○	○	○	○	○	バラの香り
2 フゾル、2-オキネ					○		
3 フェニルアルコール	○	○	○		○	○	バラの香り
4 2,5,4-フラン		○			○		
5 オキム、外シニル						○	
6 1-ブタノール、3-ブタノール		○		○			
7 フラン		○		○		○	メントール種
8 ベンゼンアセアルデヒド		○		○		○	香の香り
9 酢酸エチル		○		○		○	セメダイン
10 1-ブタノール、3-ブタノール、アセテート		○		○		○	不快
12 Dカネン		○				○	?
13 シクロヘキサジエン、ヘキサノール		○		○		○	
14 5-フェルキチサリ						○	○
15 β-ジネ							
16 シクロヘキサ、1-メチル-4-(1-メチルエチル)シ						○	
17 ユカトール					○	○	○
18 ベンゼン、1-ブタノール-4-(1-ブタノール)					○	○	
19 1,4-シクロヘキサジエン、2,2,6-トリブタノール					○		
20 テルピネン-4-オール		○		○			
21 トランス-β-イカリ		○			○		スミレ
22 ヘキサノール						○	
23 ビンカロ(310)ヘキス-2-エン、4-ブタノール-1-(1-ブタノール)						○	
24 (1S)-2,6,6-トリブタノール(3,1)プロト-2-エン						○	
25 2,6,6-トリブタノール-1,3-シクロヘキサジエン-1-カルボキシル		○				○	
26 エトサン						○	
27 シクロヘキサノール、5-メチル-2-(1-メチルエチル)シ					○		
28 3-ブタノール-2-オン、4-(2,6,6-トリブタノール-1-シクロヘキサジエン-1-イル)						○	
29 フルクトン、2-ブタノール、エチルエチル		○					
30 2-ブタノール(4-(2,6,6-トリブタノール-1-シクロヘキサジエン-1-イル))				○			
31 D-ピネン				○			柑橘
32 フナール				○			不快
33 4-セトロキシン-3,5,5-トリブタノールシクロヘキサ-2-エン				○			
34 ジブタノール			○				
35 β-ミルセ					○		柑橘
36 2,4-シクロヘキサジエン-1,3-ジカルボキシル							
37 ベンゼン、1,3-シクロ		○					
38 アニソール		○	○				森林
39 4-セトロキシン-3,5,5-トリブタノールシクロヘキサ-2-エン		○					
40 ベンジルアルコール			○				弱い芳香
41 シクロヘキサ、2-ブタノール-5-(1-メチルエチル)トランス				○			
42 フルクトン			○				ホップ

なかった。

面積比で計算すると、花卉を1とすると、雌しべは54倍、雄しべは71倍と圧倒的に雌しべと雄しべに多かった。

またヘキサン抽出法で行った場合雌しべ、雄しべで全てユーカリプトール等が確認出来た。これらは香料などに用いられている香気成分である。結果的から抽出を変えると違いは出たが、部位

ごとでは共通の成分、独自の成分があった。香気成分のGC-MS-0パターンを見ると雌しべは全範囲にわたっているが雄しべは前半の偏っており、花卉は全体的に少ない。しかし花卉は溶剤抽出では全体的に香気成分が抽出されていた。このように雄しべ、

表2 乾燥サフランの部位の香気成分まとめ

香気成分	サフランの状態	乾燥サフラン	
		花卉 + 雄しべ	雌しべ
4-Octenoic acid			
Ethyl ether			
Benzene acetaldehyde			
Phenyl ethyl alcohol			
Cyclotetrasiloxane octamethyl-			
Butyl acetone			
2-Hydroxy-3.5.5-trimethyl-cyclohex-2-enone			○
2-Hydroxy-3.5.5-trimethylcyclohex			
1-cyclohexene-1-propanol			
Ethanol,2-phenoxy			
4-Hydroxy-2.6.6-trimethylcyclohex-1-enecarbal			
Butanoic acid			
1.4.7.10.13.16-Hexaoxacyclooctadecane			
Prenol			
Linalool			
5-Hydroxy-4.6.6-trimethyl-7-oxabicyclo heptan			
1.3-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde2.6.6.-trimethyl			⊙
2.6.6-Trimethyl-2-cyclohexene-1.4-dione (サフランール)			
2-Hydroxy-4.6.6-trimethyl-cyclohexa-2.5-dienone			
Furfural		○	
2(5)-Furanone		○	
Acetic acid			○
2-Propanol.1.1'-oxybis-			○
4-Hydroxy-2.6.6-trimethyl-3-oxocyclohex-1.4-dienecarbaldehyde			△
2-Hydroxy-3.5.5-trimethylcyclohex-2-ene-1.4-dione			○
Hexanal			△
Mesitylene			○

雌しべ、花卉の生の香りには差があるが。溶剤の種類によっても異なっていた。

また表2に示すように乾燥した花卉+雄しべではフルフラールとフランオン、雌しべの結果では多くの香気成分が見られたがサフランールは検出されなかった。香りの面で乾燥花卉と雄しべは使用が難しいことが分かった。

このことから雄しべや花卉部分にも廃棄するのではなく香料として用いる事が出来る可能性が十分考えられた。

②香りによる官能評価

香りによる官能評価は、醸造・香料研究室の学生4名と教員1名で行ったところ、個人による差は多少見られたがほとんどが平均的に中間に集まる結果となった(表省略)。官能評価の結果をまとめると各部位や抽出法ごとに僅かながらの差は感じられた。生の花卉はエステル香り、雌しべは酸臭の独特の香り、雄しべは重いかおりであった。

乾燥雌しべは生の状態に比べると香りが強くなり、女性的、暖かいという評価であった。

乾燥雄しべ+乾燥花卉は匂いが少なくなっていた(表3)。また、抽出の差では、アルコール抽出したものはヘキサン抽出したものと比べると暖かい印象が強く、香りを複雑だと感じる人が多く見られたのに対して、ヘキサン抽出したものは女性的でかなり単純な香りであると感じるという結果が見られた。部位ごとでも甘口で女性的な印象が強いのが花卉で、暖かい単純な香りの印象が強いのは意外にも雄しべであった。抽出溶剤の差では、アルコール抽出したものに比べてヘキサン抽出したもののほうが香りに女性的な印象を持つパネルが多かった(表省略)。総合的に見るとバランスの良い印象である雌しべが一番良い評価であった。

表3 サフランの各部位の生、乾燥の官能評価

サフランの状態	生				乾燥	
	全体	花卉	めしべ	おしべ	めしべ	花卉+おしべ
官能評価	甘ったるい(1) エステル系(1) やや冷たい(1)	フローラル(1) やや単純(1) 香水の香り(1) 香りが小さい(2)	酸っぱい(3) 独特(1) フローラルではない(1)	男性的(1) 複雑(1) 重い(1) フローラルではない(1)	酸っぱい(3) 独特(1) 漢方薬みだ(2) 酸の臭い(2) 古い(1)	酸っぱい(3) 男性的(1) 重い(1) やや不潔(1) 香りが強い(1)

表4 サフランの各部位の香り NIRS 匂い15秒後

状態	生				乾燥	
	全体	花卉	めしべ	おしべ	めしべ	おしべ+花卉
1回目	2.05	1.50	1.9	1.15	2.20	1.56
2回目	0.99	1.53	1.7	1.28	1.93	2.10
1回目と2回目の平均	1.52	1.52	1.8	1.22	2.07	1.83

脳血流量の増加

③ NIRSによる脳血流量への効果

サフランの雌しべに脳血流の増加をもたらす香りがあることが示唆された(表4)。生では雌しべが最も高く、花卉、雄しべの順になった。乾燥物でも雌しべが最も高かった。乾燥花卉と雄しべはも雌しべより弱いが血流量増加の高い値を示した。

④ サフラン香りを利用した商品開発

雌しべまたは花卉+雄しべの乾燥物を使用して商品開発を行った。飲物(酒、サイダー)では雌しべの黄金色が着色し、いろいろな使用が可能と考えられた。また乾燥物の雄しべ+花卉は水に戻し使用すると、サフランの花が咲いたようになり見た目は綺麗であった。またこの時の色はやや青みがかかった色になった。麦焼酎でも同様に雌しべの黄金色は使用できると考えられた。食品ではアイスクリームに混ぜて使用したが、雌しべの黄金色の色が付き、食べると口の中でサフランの香りが広がり、とても印象的で美味しく使用可能と考えられた。インセンス(線香)は雌しべの線香でサフランらしい香りが認められたが、花卉+雄しべではコゲ臭が主であった。

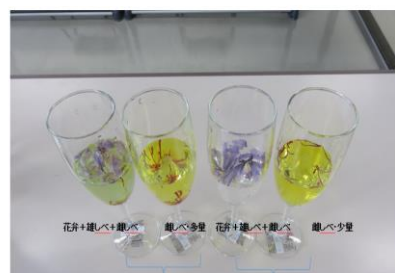
バスボムでは花卉+雄しべ乾燥物で試作したがサフランらしさはなかった。今後ともアイデアを出せば様々な用途が考えられた。

(写真3)

3. 研究成果の副次的効果、今後の計画

サフランを花卉、雌しべ、雄しべに分け、直接あるいは複数の抽出法を用いた濃縮物を GC-MS-0 及び香りの官能評価を行い比較検討した。その結果、生では、部位における共通の香気成分はリナロールと酪酸エチルであり、さらに独特の香気成分があった。廃棄処分されている雄しべや花卉を香気成分的に、あるいは官能評価により独特の香り成分から香料や香水などへの可能性を示した。サフランの部位ごとでは共通の成分、独自の成分があり、雄しべや花卉部分も香料として用いる事が出来る可能性が十分考えられた。

ただ乾燥物になると花卉+雄しべは匂い成分が少なくなり匂い原料としては不適であった。香気成分の GC-MS-0 パターンで見ると生において雌しべは全範囲にわたっているが雄しべは前半に偏っており、花卉は全体的に少ない。雄しべ、雌しべ、花卉の生の香りには差があるが、溶剤の種類によっても香りは異なった。脳血流量増加への効果では乾燥物の雌しべが高かったが、乾燥物の花卉と雄しべの混合物も高い効果を示した。今後もサフランの重要な生理機能性として考えられる。食品に使用する場合は安全性を考えて、ヘキサソ抽出よりアルコール抽出が良いと考えられるが、今後も食品香料や香粧原料等や生理機能性、安全性についても考慮に入れて研究したい。今回、大分県ハーブ六次産業化プロジェクトの一環として行い商品化も提案の研究も行ったが、乾燥物を利用して、線香、酒、飲料、食品で行い特に、酒と飲料、食品で商品化に値する評価が得られた。



麦焼酎とサイダー



アイスクリーム



バスボム



線香

写真3 サフランを利用した商品開発

4. 研究成果

a) 原著論文

1. *仙波和代、米元俊一、発酵大麦エキスの新規機能性探索，別府大学大学院紀要，18，89-93，2016
2. *藤原秀彦、米元俊一、発芽玄米浸漬水中から分離された乳酸菌を用いた豆乳ヨーグルトの作成，別府大学紀要，58，159-162，2017.
3. 米元俊一、世界の蒸留器と本格焼酎蒸留器の伝播について，別府大学紀要，58，119-135，2017.
4. 米元俊一、本格焼酎の酒質に及ぼす紙容器内面材の収着の影響について，別府大学大学

院紀要, 19, 93-106, 2017.

5. *米元俊一、小屋徳次郎、小田原綾子、梶原康博、高下秀春、小田誠、布施泰史：麦焼酎の香気成分とNIRSによる脳血流量への影響、別府大学大学院紀要, 20, 2018. 印刷中

6. *米元俊一、永松未有、河野尚子、佐藤豪昭、乾雄大：ガスクロマトグラフィー質量分析計匂いかぎ法によるカボスの熟成における香気成分の変化と光トポグラフィー装置(NIRS)による脳血流への影響 別府大学紀要, 59, 2018. 印刷中

7. *米元俊一、倉橋和也：ガスクロマトグラフィー質量分析計匂いかぎ法による別府鉄輪温泉蒸し湯の石菖の香気成分分析と光トポグラフィー装置(NIRS)による脳血流への影響 別府大学紀要, 59, 2018. 印刷中

8. *米元俊一、渡辺元樹、木元沙耶加、大野優美香：大分竹田の *Crocus sativus* (saffron) のGC-MS 匂い嗅ぎ法と官能評価による香気成分に関する研究、別府大学大学院紀要, 20, 2018. 印刷中

b) 総説

1. *米元俊一：大分県ハーブ六次産業化プロジェクトについて、aromatopia, 2016, 139, 22-24.

2. 米元俊一：本格焼酎の香味成分と美味しさ、日本醸造協会誌、2017, 112(2)96-107.

3. *米元俊一：別府大、醸造香料研究室、におい・かおり環境学会誌、2017、48(4)、335.

4. 米元俊一：焼酎講義、高峯和則編. 分筆、(株)ディーエスネット、2017, 58-66.

c) 招待講演、シンポジウム

1. *米元俊一：「焼酎の香りについて」、第7回九州学生本格焼酎プログラム
平成27年7月(別府大学) 別府市

2. *米元俊一：大分県農林水産研究指導センターと「におい」に関する研修会、「」におい“研究の今とこれから”平成28年3月(別府大学) 別府市

3. 米元俊一：別府大学・食品香料コースの取り組み、JCC/佐賀県 第14回セッションと大学先端技術交流会、平成28年3月 唐津市

4. 米元俊一：『本格焼酎』、日本酒造組合中央会、単式蒸留焼酎業伝統技術継承発展勉強会、平成28年9月 那覇市

5. 米元俊一：大航海時代と焼酎の伝来、別府大学鹿児島後援会、平成28年10月 鹿児島市

6. 米元俊一：沖縄県泡盛講習会、平成29年2月 うるま市

7. *米元俊一：鉄輪温泉の蒸し湯と石菖の香り、別府大学温泉学講座、平成29年11月 別府市

g) その他(学会賞、報道など)

1. *大分アロマ六次産業化プロジェクト 大分県農業振興公社、別府大学協定締結式
平成28年7月8日 大分県庁にて

2. *大分合同新聞：2017年7月28日「竹田サフラン抽出商品開発」

私立大学戦略的研究形成支援事業

「発酵王国大分が育む地域農水産物を活用した新規加工・発酵醸造食品の高次開発・分析技術基盤の構築」

(平成 27 年度～平成 29 年度)

研究成果最終報告書

プロジェクトでの研究課題：新規農産物・発酵食品・香粧品の分析・開発
プロジェクトでの役割：フレーバー成分の解析による新たな利用法の確立

研究タイトル：①シチトウの香り成分の分析とその活用方法の検討

研究機関：食物栄養科学部 発酵食品学科 匂いの化学研究室

担当者職名：教授 吉井文子

1. 研究の目的

シチトウ（シチトウイ、七島藷、リュウキュウイ、*Cyperus malaccensis* Lam.）は、多年草、単子葉類、カヤツリグサ科（カヤツリ草科は日本では 26 属 500 種が認められている）の植物である。約 330 年前に九州南西諸島から畳表の原料として豊後（大分県）に持ち込まれ栽培が広まったとされており、青畳等とも呼ばれその光沢・強靭さ・火に強い等の特性のため活用されてきたが、現在では大分県が全国唯一の生産地帯となっている。また、『シチトウイ』として、世界農業遺産「クヌギ林とため池がつなぐ国東半島・宇佐の農林水産循環」での重要特用作物として位置づけられており、大分の特産品として、新規用途や新規商品の開発が望まれている作物である。

本研究の目的は、シチトウの香りがどのような化学的成分から成り立っているのか、香りに寄与する成分を分析し、その香りの特徴を調べることで、そして、香氣成分を利用して香粧品等、畳表以外の製品の開発に繋げることである。

助成により導入することができた機器、匂い嗅ぎ付きガスクロマトグラフィー質量分析計（以下、GC-MS-0 と示す）を利用することにより、試料香氣の加熱による変化を抑えること、植物に含有される成分の量ではなくヒトが特徴的であると感ずる香氣成分に着目した分析を行うことが可能となった。今後のシチトウの新規利用法や開発について役立つ基礎的データが得られ、新たな活用方法についても検討したので、その概要を示す。

2. 研究内容

1) 乾燥シチトウの香り成分の分析とその特徴解析

シチトウは茎部、花部、根部の 3 部位から構成されており、地上部位は 1.5m 程度に達する。収穫後に天日乾燥を経て、茎部が畳表や工芸品の材料として利用される。乾燥シチトウ茎部（**図 1**）をそのまま用いて、GC-5977A MSD 本体（Agilent Technologies 社製）、サンプル

ラーMultiPurpose Sampler (Gerstel 社製) で構成される GC-MS-0 で香気成分をした。お
 の質と強度の評価は、嗅覚パネル選定試験 (第一薬品産業社製基準臭使用) に合格した被
 験者 3 名で行った。



図 1 乾燥シチトウ茎部および根部

実験条件を下記に示す。

試料：シチトウ茎部 1.8g (ガラスバイアルに入れ分析)

固相マイクロ抽出 (SPME) ファイバー：Carboxen/PDMS

試料加温 (Incubation) 条件温度：40℃、5分

GC カラム：Agilent 19091J-433 HP-5, 30m×250 μm×0.25 μm

カラム昇温設定：40℃→100℃ (10℃/min)、100℃→250℃ (8℃/min)

分析結果を図 2 に示す。上段が MS のクロマトグラムで、下段が被験者による評価である。

推定された香気成分図中の a、b はそれぞれ α-ピネン、リモネンであり、ある程度の含量
 であったが香りへの寄与は少なかった。

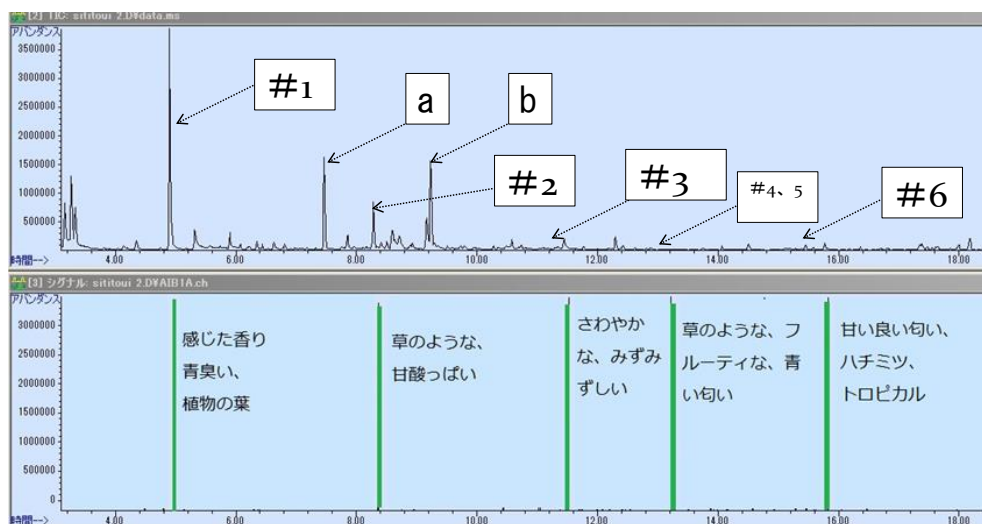
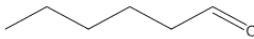
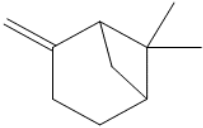
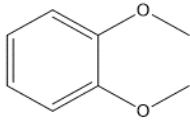
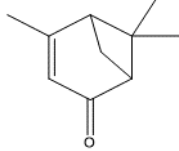
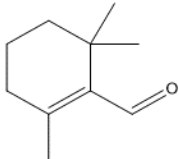
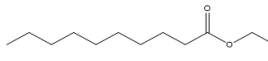


図 2 乾燥シチトウ茎部の GC-MS-0 分析

図 2 中の #1~ #6 の成分については表 1 に示す。表 1 中の芳香成分より、シチトウの
 香りは、#1 のヘキサナールの青臭さに加え、みずみずしさに起因する #3 のベラトール

と甘さを与える#6のデカン酸エチルの存在により、やや穏やかな香りとなっていると考えることができた。既に報告されているシチトウの水蒸気蒸留精油の分析結果と比較すると、今回のGC-MS-0分析では、 α -ピネン、 β -ピネン、リモネン、ベルベノンのみが共通成分であった。

表1 乾燥シチトウの特徴的香気成分

No.	保持時間	成分名	分子式	CAS 登録番号	分子構造
#1	4.95	hexanal	C ₆ H ₁₂ O	66-25-1	
#2	8.30	β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	127-91-3	
#3	11.35	benzene, 1,2-dimethoxy- [別名 veratrole]	C ₈ H ₁₀ O ₂	91-16-7	
#4	12.62	bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)- [別名 verbenone]	C ₁₀ H ₁₄ O	1196-01-6	
#5	12.81	1-cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl- [別名 β -cycrocitral]	C ₁₀ H ₁₆ O	432-25-7	
#6	15.75	decanoic acid, ethyl ester	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	110-38-3	

比較のため、シチトウよりも畳表として広範に利用されているイグサの乾燥品も同様の条件で分析した。イグサについての結果を図3に示す。乾燥イグサのGC-MS-0分析でも、特徴的香気成分として図3、No.1のヘキサナールが検出された。ヘキサナールの青臭さに加えて、さらに、No.5のユーカリプトルとNo.6の α -カンファールのショウノウ様香気その他、含硫化合物の存在も示唆された。

被験者を用いて乾燥シチトウと乾燥イグサの香りの官能評価を行った。ヘルシンキ宣言に準じ、特別の訓練を受けていない学生ボランティアに、試料についての情報を与えずに、

シチトウとイグサの判別試験と快・不快度評価を実施した。その結果、15名中、半数を超える8名がシチトウとイグサの香りの差異を明確には判別できない、ということがわかった。シチトウとイグサの香りの差異を明確に判別できた7名のうち、シチトウの香りをより好む者が3名、イグサの香りをより好む者が2名、シチトウとイグサを同程度に好む（あるいは同程度に嫌いである）者は2名、であった。

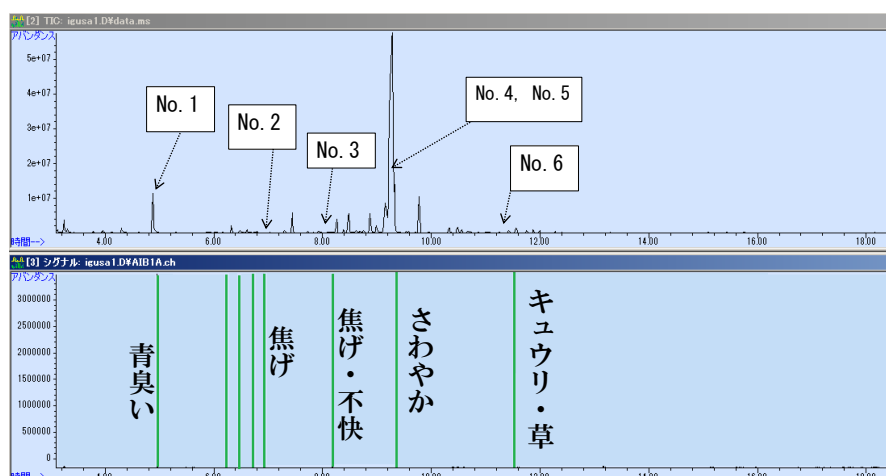


図3 乾燥イグサ茎部のGC-MS-O分析

以上から、乾燥シチトウと乾燥イグサはこれまでの主な利用法は畳表と共通しており、含有される香気成分は、青臭さにはヘキサナールが寄与するという共通点があったが、他の香気成分には違いがあるということが明らかになった。また、被験者による判別試験や嗜好性試験の結果から、シチトウとイグサの間では、ヒトへの香気の影響や機能性に差があることが予想できた。

乾燥シチトウの香気成分の疎水性や電荷分布を解析することにより、その成分特性を今後の開発に利用する基盤をつくることができると考え、パーソナルコンピュータ (OS: Windows 7 および 10) で構築した主要6成分の分子構造について、特性データの検索や電荷等を Chem3D ultra (16.0.0.82)、Conflex (ver. 5.2)、Gaussian 16W による計算と解析を行った。分子の化学的特徴の一部を分子量とともに表2に示した。分子の疎水性の指標である log P 値は 1.3~3.9 の間にあり、溶解度の指標である log S 値は -1.5~-3.6 の間にあり、ヘキサナールとベラトロールが水と親和性が高く、デカン酸エチルが最も水に溶けにくいことがわかった。分子構造の柔軟性の指標と今後の解析のために、分子力学法 (MMFF94s 力場) を利用して水和状態での配座異性体数 (存在確率 1%以上) も求めた。

表2 乾燥シチトウの主要香気成分の化学的特徴

成分分子	分子量	log P	log S	配座異性体数
hexanal	100	1.33	-1.64	5
β -pinene	136	2.95	-2.90	1
veratrole	138	1.78	-1.52	5
verbenone	150	1.71	-1.94	1
cycrocitral	152	2.14	-2.38	4
ethyl decanoate	200	3.87	-3.60	5

2) 乾燥シチトウから香り成分の抽出と抽出物の特性解析

上記1)においては、乾燥後のシチトウから私たちが感じるのに近い香りを分析するために、乾燥したシチトウをそのまま用いて分析した。生のシチトウは保存性が高くないため、ここでは、乾燥後のシチトウから、ハーブオイルメーカー（図4）を利用して植物精油等の抽出に広く用いられている水蒸気蒸留法で抽出を行った。精油と芳香蒸留水（ハーブウォーター）が得られたが、シチトウの精油量は微量であり、少量の精油を含む蒸留物（抽出物の上層部）は焦げた不快臭を示した。一方、水溶性成分が多いと考えられるハーブウォーターにはやや良い香りがあったが、乾燥条件により乾燥シチトウ自体の香りが変動するため、得られるハーブウォーターの香りにも差がでることがわかった。さらに、精油を含むハーブウォーターは6か月程室温保存をすると香質が変化し、不快臭が減少し芳香性が増加することを認め、GC-MS-0を用いて分析した。その結果、精油を含むハーブウォーターの香気には、乾燥状態で特徴的な青臭さの成分であるヘキサナールは認められず、乾燥シチトウでは認められなかった芳香成分が含まれていることがわかり、さらに詳細を検討中である。



図4 ハーブオイルメーカー

水蒸気蒸留の結果から、シチトウの水溶性成分の芳香性の利用が期待できたため、乾燥したシチトウ茎部に熱湯を加えて短時間（15分）抽出を行った。得られた熱水抽出物は美しい黄金色（図5）であった。シチトウの熱水抽出物は、強くはないがマイルドでやや芳香性があり、イグサの熱水抽出物はゆで汁や乾燥イグサを想起させる香りであった。



図5 熱水抽出物

（左：シチトウ、右：イグサ）

シチトウの色素について調べるため、ブレンダーを用いて粉末状にして、疎水性が異なる溶媒（エタノール、アセトン、ジエチルエーテル、ヘキサン）に加えて、シチトウの色素の溶出しやすさを確認した。緑茶の色素と比較すると、シチトウの色素は、親水性が高いエタノールに抽出されやすく、フラボノイド系色素などの親水性の色素、すなわち、ポリフェノール系のものを多く含む可能性が示唆された。粉末状としたシチトウは、粉末状の緑茶や粉末状のイグサと比較すると、保存時の退色速度が最も速く、酸素あるいは光により変化しやすい色素を含むのではないかと考えられた。

上記より、乾燥シチトウの熱水抽出物に抗酸化物質が含まれる可能性が示唆されたため、乾燥シチトウの粉末試料を熱湯で2分間抽出後、2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル（DPPH）ラジカルの消去活性を517nmの吸光度変化により測定した。その結果、シチトウの抽出物は、ビタミンCの200 µg/mL溶液よりもやや高いDPPHラジカル消去活性を示し、シチトウの抽出物を1/10に希釈しても活性の低下は20%以下であった。シチトウ熱水抽出物は、緑茶やイグサと同程度のラジカルの消去活性があることがわかり、シチトウが抗酸化作用を持つ可能性を認めた。（図6）。

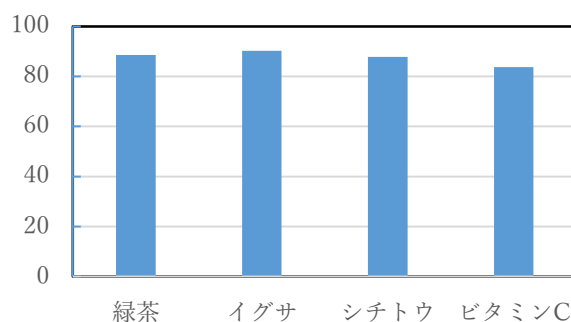


図6 DPPH ラジカル消去活性 (%)
(ビタミンCは 200 µg/mL 水溶液、その他は 10 mg 乾燥物/mL)

ここまでの各種の結果より、乾燥シチトウをハーブティー、その他の食用、あるいは熱水抽出物を化粧品に利用する可能性を考えて、シチトウの熱水抽出物の安全性について検討した。外部委託（日本食品分析センター）によるマウス（4～5週齢のICR系雌（♀）マウスを試験群5匹、対照群5匹使用）を用いた14日間反復投与毒性試験を行った。一般状態観察、体重測定（週1回）を行い、試験期間中に異常および死亡例は認められず、剖検においても抽出物の影響と思われる変化は認められなかった。試験群には抽出液（10g/400mL、熱湯により5分間抽出したもの）、対照群には水道水を給与したところ、マウスの1日摂水量は、1群5匹当たり試験群で44g、対照群で35gであった。マウスの1日摂水量は、通常の実験での飲水量（1匹4.0～7.0mL/日程度）と差は無く、シチトウの熱水抽出物と水道水で大きな差はなかったため、マウスにとってシチトウの熱水抽出物の嗜好性は水と大きな

差はなく、シチトウの熱水抽出物をマウスが飲用として利用できるものであることが確認できた。ただし、各種試験法の検討や依頼をした結果、過去にヒトが飲用・食用・薬用として用いられた歴史が無い植物が食品として認可されるには、試験項目が非常に多く難しいことが明らかになった。

3) シチトウの香気成分の利用法の検討

① シチトウのインセンスへの利用

乾燥シチトウ、線香の原料として広く利用されているタブ粉（タブノキ、*Machilus thunbergii*、クスノキ科、香仙堂より提供）および市販ペパーミント（*Mentha piperita*、株式会社生活の木）を材料とした。シチトウは木部が多く硬い部分があるため、また、ペパーミントは乾燥した葉を利用するため、ブレンダーを使って粉碎し粉状として、混合・加水を行い、コーン型を利用して高さ約2 cmのインセンスを作成した（図7：左、中央）。材料粉体粒子の細かさに依存し、粒子の粗いシチトウのみで作成したものはタブ粉を含むものに比べて、1個当たりのインセンスの質量は小さかった。室温で3日～10日程度放置してから、インセンスの香気評価を茶香炉（図7：右）による加熱法と先端部位に着火する燃焼法で行った。作成したインセンスの色、加熱法と燃焼試験の結果を表3に示す。

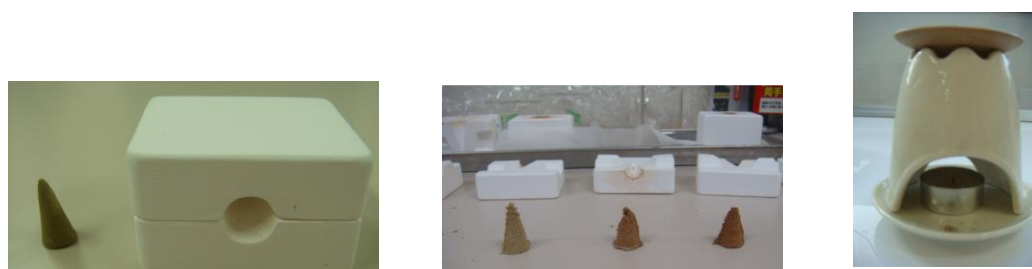


図7 インセンスの作成と評価（左：コーン型、中央：作成したインセンス、右：茶香炉）

表3 シチトウおよびシチトウ含有インセンスの特徴と匂い

配合比率 比較項目	シチトウ 100%	シチトウ 40% タブ粉 60%	シチトウ 20% ペパーミント 20% タブ粉 60%
乾燥後の特徴	やや緑色、もろい、 やや緑の植物の匂い	やや茶色、シチトウ のみよりは硬い、匂 いはほとんどない	濃い茶色、シチトウ のみよりは硬い、匂 いはほとんどない
匂い（加熱法）	笹の葉を蒸したような弱い匂い		
匂い（燃焼法）	一番刺激臭が強い、 ややきつい匂い	タブ粉の燃焼した 匂い	タブ粉の燃焼した 匂い、ミント臭なし

加熱法では、植物の葉を蒸したような弱い香りがしたが、はっきりとした香りは感じられなかった。使用したティーライトキャンドルの炎の大きさも香りの強さに影響すると考えられ、加熱温度を制御できる実験がより有効であると考えられた。燃焼法では、インセンスの燃焼はスムーズに進行したが、タブ粉を混合した場合は燃焼臭と思われるもののみが感じられ煙に芳香性は認められなかった。ペパーミントを加えた場合も同様で、煙に特別な芳香性は認められなかった。一方、シチトウのみを用いた場合は、最も強い刺激臭を示した。害虫忌避への利用や畳表に利用できない端材の利用法として、さらに検討の余地があると考えられた。

②シチトウの香気成分の再構成と香粧品への利用の検討

GC-MS-0 分析の結果から乾燥シチトウの香気成分のうち香りへの寄与が高いと考えられた6成分を利用して、シチトウの香気の再構成、およびオーデコロンなどの香粧品用のブレンドを検討した。再構成での成分比率は、GC-MS-0 で得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC) ピークの高さを参考に、香粧品用のブレンド比率は、文献 (Fenaroli's handbook of flavor ingredients (sixth edition)) からフレーバーとして食品へ添加されている量 (表4) を検索し参考とした。

表4 各香気成分の香りと香料としての実際の使用量

香気成分	香りの特徴	香料としての使用量 [ppm]
ヘキサナール	青臭い	1~2
β -ピネン	樹脂、草	10~20
ベラトロール	さわやか	0.2
ベルベノン	ミント様	1~5
シクロシトラール	樟脳様	0.002~0.01
デカン酸エチル	甘い香り	0.02~10

香りの再構成においては、ヘキサナールの匂いが非常に強く感じられこのまま利用することはできないことがわかった。また、香粧品用のブレンドでは、ヘキサナールをある程度減少させてもその匂いが強く感じられるため、さらにこれを減少させ混合の比率を変化させること、ベースノートとなるような重く持続性のある香りの成分を新たに添加すること、香粧品において安全性の観点からアルデヒド類の代替を行う傾向があることを考慮し別の成分への代替も検討することなど、今後の課題が明らかになった。

3. 研究成果の副次的効果、今後の計画など

途中から参加したこともあり、期限内に終了できない部分が多く残っているが、大分県農水産物であるシチトウの香気成分を明確にするという点にある程度貢献できた。収益の観

点からみて企業などではすぐには実施できない GC-MS-O を用いた特徴香の香りの分析ができた。研究成果を農林水産研究指導センター職員に対して発表を行うことで、職員に香りの分析法についての知見を深めることにも協力できた。大分香りの博物館企画展「国東半島宇佐地域 世界農業遺産と香り」において香りの分析結果を公開することにより、博物館に貢献し来場者に地域農産物を知ってもらう一助となった。

この研究の成果を知った企業からのコンタクトがあり、今後香りを利用した商品開発に協力して取り組む可能性がでてきた。別府大学夢米棚田プロジェクトのリーダー学生が、自分達が栽培に協力しているシチトウについて興味を持ち、教育面にも貢献できたと考える。県内の野草や薬草についての知識や利用法の普及に関わる NPO 法人の方も研究結果に興味を示してくれた。今回の研究を通して、さらなる研究や商品開発に、学生、地域の人材、企業を巻き込んでいけそうな手ごたえが感じられた。

今後、シチトウの研究面では、下記のようなことが考えられる。

- 1) 植物部位・生育時期による香気の差異、生と乾燥品の香気の差異、乾燥条件を制御しての香気の差異、をさらに明らかにする。
- 2) シチトウの水蒸気蒸留物の経時変化を、温度を制御して調べ明らかにする。
- 3) ハーブティーとしての利用は断念したが、シチトウ熱水抽出物の抗酸化性について、物質面からさらに明確にする。
- 4) 近赤外分光法 (NIRS) を利用してシチトウの香りの脳活動の影響、生理的影響、心理的影響を明らかにする。

今後、シチトウの応用面では、下記のようなことが考えられる。

- 1) 本研究で明らかになった乾燥シチトウの香気成分を利用した化粧品開発、乾燥シチトウの水蒸気蒸留物の香気成分に着目した化粧品開発を推進する。特に、調香師と相談し、ベースノートとなるような成分を添加し、オーデコロンなどの開発を検討する。
- 2) シチトウに他の特産品を混合させたインセンスおよび蚊取り線香の試作と評価を継続する。上記のシチトウの応用、商品開発については、地域企業や別府大学学生と一緒にアイデアを出して進めていく方向が考えられる。

研究タイトル：②ヒジキの香り成分の分析

研究機関：食物栄養科学部 発酵食品学科 匂いの化学研究室

担当者職名：教授 吉井文子

1. 研究の目的

ヒジキ (*Sargassum fusiforme*、褐藻類ホンダワラ科) 漁業は大分県内の国東半島周辺、別府湾、豊後水道の各地で行われており、大分県は全国第3位のヒジキの生産県である。県内のヒジキの水揚げ量は、10年前の約3倍程度に達している。しかし、韓国や中国からの輸入ものが多く、日本で流通する国内産ヒジキは、全体の一割程度である。ヒジキについて、

香気成分の解明を行い、今後の大分県産ヒジキの有効利用に貢献することを目的とする。

助成により導入することができた機器、GC-MS-0 を利用することにより、試料香気の加熱による変化を抑えること、含有成分量ではなくヒトが特徴的であると感じる香気成分に着目した分析を行うことが可能となった。解析を開始したばかりであるが、今後のヒジキの新規利用法や開発について役立つ基礎的データが得られたので、その概要を示す。

2. 研究内容 方法と結果を含む

一般的なヒジキ (*Sargassum fusiforme*) は採取したものを鉄鍋で3～4時間ゆでて干したものである。長ひじき(ヒジキの茎の部分)と芽ひじき(ヒジキの茎の部分ではなく枝分かれした芽の部分、米ヒジキと呼ぶこともある)が市販されている。製法については会社により異なる。ここでは、大分県産の製品(株式会社山忠提供、製造法は特許取得のノンドリップ蒸煮法、芽ヒジキ)を用いて(図1)、GC-MS-0分析により特徴香気を明らかにした。乾燥ヒジキそのものの香りは、甘じょっぱく、やや海藻を想起させ食欲をそそる香りである。



GC-MS-0 分析条件

試料：乾燥ヒジキ 1.8 g (ガラスバイアルに入れ分析)

マイクロ抽出 (SPME) ファイバー：Carboxen/PDMS

試料加温 (Incubation) 条件温度：40℃、5分

Agilent DB-WAX、30m×250 μm×0.25 μm、

カラム昇温設定：

40℃ (2 min)→100℃ (10℃/min)、100℃→230℃ (8℃/min)

図1 乾燥ヒジキ

特徴的香気成分をGC-MS-0で分析した結果を図2に示す。その結果、ヘキサナールやヘキセナールの青臭い香りの成分に加え、2,6-ノナジエナールのさわやかな香り、酢酸の酸臭、エステル甘い香りが含まれていることがわかった。特に、ヒジキの乾燥品そのものからは酸っぱい匂いはないのに、酢酸の含量が多いことは特徴的であった。また、フラン環やピロール環を有した焦げ臭を示す成分が生成しており、これらはヒジキの加熱加工により生成したものではないかと推測された。ヒジキのフレーバーによりタバコの香りを改善しようとする試みはあるが、乾燥ヒジキはもちろん生のヒジキの香気成分そのものについては、これまでほとんど調査・報告がされていない。他の生の海藻、ワカメ、アサクサノリ、ヤハズ等の香気成分については分析報告があり、今回の乾燥ヒジキの香気成分と比較すると、全く異なる成分を含んでいることがわかった。

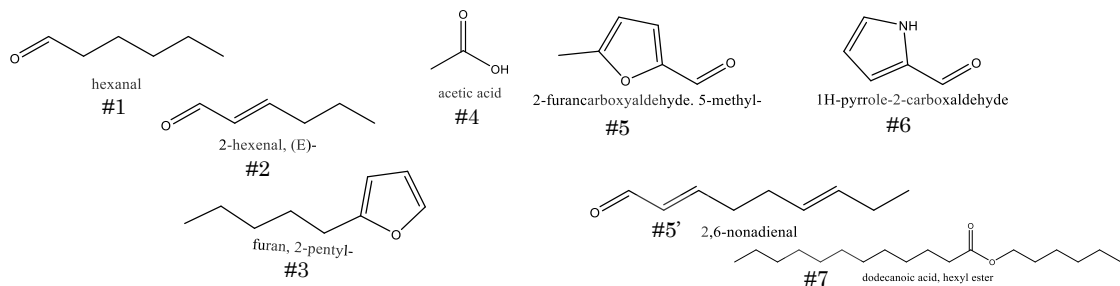
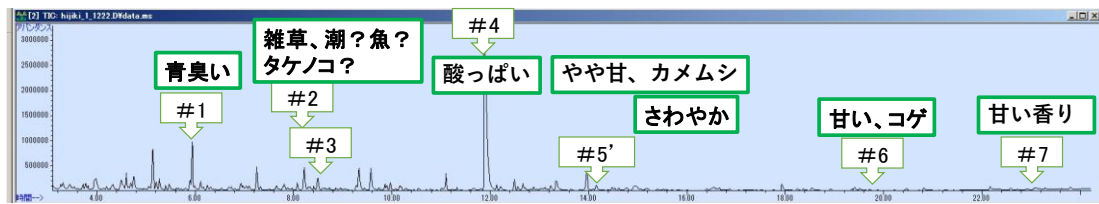


図2 乾燥ヒジキのGC-MS-O分析結果と香気成分

3. 研究成果の副次的効果、今後の計画など

途中から参加したこともあり、期限内に終了できない部分が多く残っているが、大分県産水産物であるヒジキ香気成分についてGC-MS-Oを用いて明確にするという点にある程度貢献できた。

今後、ヒジキの研究面では、下記のようなことが考えられる。

- 1) 大分県産品ヒジキについて香りの分析を行ったので、産地（中国産、韓国産）や製法の異なるヒジキのフレーバー成分を分析して比較する。
- 2) 近赤外分光法（NIRS）を利用してヒジキの香りの脳活動の影響、生理的影響、心理的影響を明らかにする。

今後、ヒジキの応用面では、下記のようなことが考えられる。

- 1) 海外産との香気成分の差異が明確になれば、それに着目した商品開発に繋げる。
- 2) 海藻香気抽出を行いフレーバーとしての利用を検討する。

4. 研究成果

a) 原著論文

1. *吉井文子、におい嗅ぎ GC-MS を用いたシチトウイの香気分析、別府大学紀要、2017、58、137-146.

b) 総説、図書

1. 斉藤幸子、井濃内順、綾部早穂、吉井文子、中野詩織：嗅覚概論（第2版）におい評価の基礎：公益社団法人におい・かおり環境協会、2017：1章におい物質、9章においの計測

c) 招待講演、シンポジウム、他

1. 吉井文子: シチトウイの香りの分析 (展示): 平成 28 年度大分香りの博物館企画展「国東半島宇佐地域 世界農業遺産と香り」 2016 年 10 月 1 日～1 月 31 日 (大分香りの博物館) 別府市
2. 吉井文子: シチトウイ (七島藺) の香りについて におい嗅ぎ GC-MS の利用事例: はやしセミナー 2017 年 3 月 23 日 (別府大学) 別府市
- d) 国際学会 (一般公演のみ)
 1. なし
- e) 国内学会 (一般公演のみ)
 1. 2017 年 日本味と匂学会発表 1 件
- f) 特許
 1. なし
- g) その他 (学会賞、報道など)
 1. なし