

博士学位論文

群馬県産キャベツおよびウメの付加価値向上を
目指すための総合的な取組に関する研究

前橋工科大学大学院 工学研究科
環境・生命工学専攻 生命工学分野

2 1 5 6 5 0 1

石原 智

目次

第1章 序論.....	4
第1節 背景.....	4
第2節 本論文の目的.....	6
第3節 本論文の構成.....	7
第2章 県産農産物を利用した加工品開発.....	8
第1節 キャベツ酢の開発.....	8
第1項 緒言.....	8
第2項 実験方法.....	8
2-1 供試試料およびキャベツ搾汁の調製.....	8
2-2 キャベツ酢の製造.....	9
2-3 成分分析.....	9
2-4 官能検査.....	10
2-5 統計解析.....	10
第3項 結果および考察.....	12
3-1 キャベツ酢の製造.....	12
3-2 キャベツ酢の成分的特徴.....	14
第4項 要約.....	26
第2節 網羅的解析によるキャベツ酢の成分的特徴の解明.....	28
第1項 緒言.....	28
第2項 実験方法.....	28
2-1 供試試料および試料調製.....	28
2-2 Nuclear magnetic resonance (NMR) 分析.....	29
2-3 Gas chromatography mass spectrometry (GC / MS) 分析.....	29
2-4 統計解析.....	30
第3項 結果および考察.....	32
3-1 NMR.....	32
3-2 GC / MS.....	38
第4項 要約.....	46

第3節 ウメ抽出液の美白剤への応用	47
第1項 緒言.....	47
第2項 実験方法	47
2-1 供試試料および試料調製.....	47
2-2 チロシナーゼ活性阻害の測定.....	48
2-3 熱安定性試験.....	48
2-4 統計解析.....	48
第3項 結果および考察.....	51
第4項 要約.....	54
第3章 機能性評価などによる高付加価値化.....	56
第1節 キャベツ酢がマウス腸管機能に及ぼす影響.....	56
第1項 緒言.....	56
第2項 実験方法	57
2-1 実験動物および腸管摘出.....	57
2-2 試料調製.....	57
2-3 糖質分解および糖吸収の測定.....	57
2-4 腸管運動の観察	58
2-5 統計解析.....	58
第3項 結果および考察.....	61
3-1 糖質分解に及ぼす影響	61
3-2 糖吸収に及ぼす影響.....	65
3-3 腸管運動に及ぼす影響	70
第4項 要約.....	73
第2節 ウメ種子抽出液のチロシナーゼ活性阻害成分の特定および糖吸収に及ぼす影響	74
第1項 緒言.....	74
第2項 実験方法	74
2-1 チロシナーゼ活性阻害成分の特定.....	74
2-2 糖吸収に及ぼす影響.....	75
第3項 結果および考察.....	76

3－1	チロシナーゼ活性阻害成分の特定.....	76
3－2	糖吸収に及ぼす影響.....	83
第4項	要約.....	85
第4章	商品製造で生じた廃棄物利用	86
第1節	キャベツ酢残渣液処理によるキャベツセル成型苗への耐乾性付与.....	86
第1項	緒言.....	86
第2項	実験方法	86
2－1	供試試料および試料調整.....	86
2－2	試料水溶液による苗の処理	87
2－3	乾燥処理および耐乾性評価.....	87
2－4	根の呼吸活性評価.....	87
2－5	統計解析.....	88
第3項	結果および考察.....	88
3－1	キャベツ酢残渣液処理が耐乾性に及ぼす影響.....	88
3－2	キャベツ酢残渣液処理が根の呼吸活性に及ぼす影響.....	93
第4項	要約.....	95
第2節	ウメ種子のスクラブ剤としての活用	96
第1項	緒言.....	96
第2項	実験方法	96
2－1	供試試料および試料調製.....	96
2－2	種子の粉碎および篩操作.....	96
第3項	結果および考察.....	97
第4項	要約.....	100
第5章	結論.....	101
第1節	まとめ.....	101
第2節	今後の課題.....	107
参考文献	108
研究業績	117
謝辞	119

第1章 序論

第1節 背景

日本の農林水産業は、総人口の減少や農業従事者の高齢化などにより、産業としての危機が叫ばれており、取り組むべき課題は多い。特に農業従事者の高齢化や跡継ぎ問題を考えた際には、農家所得の向上や地域の活性化が重要と考えられる。群馬県の農林水産業においても同様であり、農業従事者の高齢化や減少、農地面積の減少、野生鳥獣による農産物被害の増加等の課題が存在しており、農業生産基盤の脆弱化が危惧されている。また、過疎化が進行することで、農業生産のみならず、集落機能の低下も懸念されている。そのため、群馬県では生産基盤の整備や担い手への農地集積・集約化による生産性の向上、収益性の高い品目の導入や高付加価値化等の取り組みを着実に推進しているが、農業を稼げる産業とし、農村地域を活性化させていくには更なる取り組みが必要である。こうした課題を解決する一つの手法として、地域の農産物を中心とした6次産業化が有効な手法と言われている。6次産業化とは、1次産業としての農林漁業、2次産業としての製造業、3次産業としての小売業等の事業との総合的かつ一体的な推進を図り、農山漁村の豊かな地域資源を活用した新たな付加価値を生み出す取り組みである。実際、6次産業化に取り組む事業者の売上高の平均額は増加傾向にあり〔1〕、農家所得を向上させることができる。近年ではこの6次産業化を発展させて、地域の文化・歴史や森林、景観など農林水産物以外の多様な地域資源も活用し、農林漁業者はもちろん、地元の企業なども含めた多様な主体の参画によって新事業や付加価値を創出していく農山漁村発イノベーションとしての取り組みが進められている〔1〕。群馬県においても、消費者の求める農畜産物の生産やその生産物を価値があるものと認めてもらうことにより競争力を高め、国内外における需要拡大を図る施策の一環として6次産業化活動の支援を積極的に行っており、地域特産物を活用した商品開発等に力を入れている。群馬県農業技術センターでは、今までに県産小麦を活用した味噌〔2〕や県育成イチゴ「やよいひめ」を活用した乾燥加工品〔3〕を開発してきた。しかし、これらの加工品を作る際には、出荷規格に適合した品質の原料を使用する必要があるため、農家所得の向上にはあまり貢献できなかった。6次産業化に取り組むことで農家所得の向上に結び付けるためには、サイズや傷などの外観上の理由により廃棄されているような未利用の出荷規格外農産物を利用できるような加工品開発が必要である。

農林漁業者が消費者に直接接続する6次産業化では、顧客ニーズに対応したプロモーション

ョンが必要となる。近年、生活習慣病の増加、高齢化社会の進行、医療費の増大等の背景から食品による健康維持、疾病予防ニーズが高まっており、健康食品の市場は年々拡大している。このようなニーズに対応するため、厚生労働省によって保健機能食品制度が創設され、1991 年の特定保健用食品、2001 年の栄養機能食品に続き、2015 年には新たに機能性表示食品が創設された。機能性表示食品とは、科学的根拠に基づいた機能性を表示した食品であり、機能性表示食品の市場規模は毎年増加傾向にある [4]。地域の農産物を活かした商品という特性に加えて、機能性という効用を付加することができれば、多くの消費者の健康維持・増強、生活習慣病の予防など快適な生活に貢献できる食品や素材を提供でき顧客ニーズに対応できるようになるとともに、消費者への訴迫性が高まり、商品の差別化に大きく貢献できる。このように、6 次産業化では、地域食品の機能性を科学的に明らかにすることにより、農業の高付加価値化、食品の高付加価値化を通して社会的ニーズとともに、地域のブランド化に大きく貢献できる。今までは、このような流れを受けて高付加価値な農林水産物や加工品を消費者に提供する取り組みが全国で行われてきた。山形県では食用ギク、オウトウについて健康機能性を評価するとともに、その特徴を活かした加工技術を開発し、企業の商品開発に寄与するなど [5]、一定の成果をあげてきた。しかし、現在では加工品を製造する際に生じる廃棄物の削減なども同時に検討すべきであり、加工品開発や機能性評価の取り組みだけでは不十分だと考える。

現在、世界的に Sustainable development goals (SDGs) が広く浸透し、以前に比べて人々は環境配慮に対する関心が高まってきている。全世界で地球温暖化の傾向は確実に表れてきており、有効な温暖化対策をとらなかった場合、世界の平均気温は、2.6~4.8℃上昇する可能性が発表されている [6]。農林水産業にとっては、その影響で農産物の減収、品質低下が考えられる。このような中、継続的に農業の発展を図るためには持続可能な食料システムを構築する必要がある。その食料システムの構築に関連する重要な項目として、上記で述べた食品廃棄物の削減があげられる。食品廃棄物の削減には発生抑制と再生利用があるが、特に不可食部の再生利用は難しい。再生利用の代表的な手法としては、飼料化・肥料化・メタン化がある。しかし、飼料化には安定した品質管理が必要であること、肥料化には最終製品価格が安く需要も必ずしも多くないこと、メタン化には設備導入が高コストというデメリットがそれぞれある。そのため、社会に製品を送り込む場合、同時に加工品製造に伴い発生する不可食部の食品廃棄物に適した有効な再生利用も含めた削減案を示す必要があると考える。食料の安定供給を担う農業・農村においては、生産性を高めて農業

者の所得を確保したうえで、豊かな地域資源を有効活用し、環境と調和した持続可能な農業を推進していくことが必要である。これからの農林水産業や地域の活性化を考える際には、この食品廃棄物の削減は取り組まなければいけないことである。

以上のような状況から、農林水産業・食品産業の競争力強化と持続可能な環境づくりの両立を目指す以下の三つの研究が必要であると考えた。

- (1) 地域の安全安心な農林水産物を利用した、高品質な加工品開発
- (2) 高付加価値な商品とするための、科学的根拠に基づいた機能性評価
- (3) 自然共生社会の構築に貢献するための、未利用物・廃棄物利用

第2節 本論文の目的

本研究では、群馬県産農産物の中でもその生産量が国内上位であり、また群馬県の代表的なものと認識されているキャベツおよびウメを対象とした。

群馬県の夏秋キャベツ収穫量は全国1位であり [7]、その大部分は生食用として出荷されている。近年は加工食品用としての出荷も増加傾向にあるが、主な用途としてはカップ麺用の乾燥品、カット野菜や漬物が一般的であり、非常に利用場面が限られている。そのため、生産現場からは新たなキャベツ加工品の開発が強く望まれている。しかしキャベツの加工品開発を考えた際には、キャベツ特有の香りが問題となる。野菜特有の青臭さが好まれないだけでなく [8]、搾汁や加熱した際には含硫アミノ酸や含硫化合物が分解し、スルフィド類が増加し、腐敗臭などと表現される特有の香りが発生するため [9]、良い評価が得られない。外来野菜としてキャベツが日本で普及する際にも、同様な原因から消費の拡大が阻まれたとの指摘もある [10]。キャベツの高付加価値化を考える際には、この香りの問題を解決する加工品開発に取り組む必要がある。

群馬県のウメ収穫量も全国2位である [11]。しかし、ウメの主要な生産県である和歌山県や海外からの輸入原料におされ、県産ウメはその価格競争に巻き込まれており、新たなウメの活用が求められている。ウメ果実は生食できないため、その大部分が梅酒または梅干しに加工され消費されている。しかし、それらの加工品はアルコールや食塩の摂取が問題となることがある。それに加え、ウメを食すと必ず種子が残る、その多くが廃棄処分されていることから、その有効利用を目指した研究が必要であるが、種子の生理作用についての知見は少ない。ウメの高付加価値化を考える際には、種子のような未利用部位の有効活用も含めて、化粧品原料といった食品以外の新たな付加価値の高い加工品開発に取り組

む必要がある。

そこで、サイズや傷などの外見上の理由により廃棄されているような未利用の出荷規格外品を利用して、加工品開発・機能性評価・廃棄物利用を総合的に実施することで、上記の問題点を解決する方策を示すとともに、群馬県産農産物の付加価値向上を達成させることを目的とした。

第3節 本論文の構成

本論文は、第1章から第5章からなる。第1章では、上記のような本研究の背景や目的を述べた。

第2章では、第1章で述べた一つ目の研究である県産農産物を利用した加工品開発について述べた。すなわちキャベツの新たな加工品としてキャベツ酢を開発し、かつその品質特性に関して網羅的解析を行った。また、ウメの新たな活用方法を広げるためにウメ種子抽出液のチロシナーゼ活性阻害効果を確認し、化粧品として利用できる可能性について明らかにした。

第3章では、二つ目の研究である機能性評価などによる高付加価値化について述べた。第2章で開発したキャベツ酢がマウスの摘出腸管機能に及ぼす影響を明らかにした。また、ウメを化粧品として合理的に利用する場合には品種間・栽培条件の違いによる有効成分量を把握することで、化粧品としての利用が容易になると考えられる。そこで、チロシナーゼ活性阻害効果に関与する成分の検討を行うとともに、食品への利用も視野に入れ、糖吸収抑制の評価を行った。

第4章では、三つ目の研究である開発した加工品を製造する際に生じる廃棄物利用について述べた。キャベツ酢製造で出る残渣液については、キャベツ苗耐乾性を付与する可能性を見出した。また、ウメから化粧品として活用可能な成分を抽出した後に残る種子については、粉末化してスクラブ剤として利用することを試みた。

最後に第5章では、第2章、第3章および第4章の結果を総括し、様々な農産物の付加価値向上を達成させるための対策として、一部の取り組みだけでなく、総合的に取り組むことにより農林水産業を取り巻く様々な問題を解決できることを提示した。

第2章 県産農産物を利用した加工品開発

第1節 キャベツ酢の開発

第1項 緒言

キャベツの消費拡大の進展に伴い、様々な活用検討が進められた結果、現在の日本ではキャベツを利用した料理は数多く挙げられるようになった。特に、食酢と組み合わせて利用した酢キャベツといった料理が多く見受けられる。またヨーロッパでは、キャベツの代表的な漬物としてザワークラウトが挙げられる。ザワークラウトはキャベツを食塩で漬け込み、嫌気条件で乳酸発酵させ、1.0～1.5%の乳酸を生成させたもので、ソーセージの添え物としてよく使われる。アカキャベツを利用する際には、乳酸発酵させずに酸味のある調味液に刻んだものを浸してつくることもある [12]。このようにキャベツと有機酸類との相性は良い。

有機酸類を主成分とする食品の代表として食酢がある。食酢の原料には、米などの穀物が主に活用されてきた。最近では様々な果実を原料としたものも多く出回っているが、野菜を原料にしたものはほとんど見当たらない。また近年、地域特産の農産物を利用した特徴的な食酢が全国各地で開発、生産され [13]、徐々に消費が拡大している。

そこで本節では、群馬県の特産農産物であるキャベツに注目し、キャベツ活用の新たな可能性を目的として、キャベツ酢の製造と特性評価を試みた。

第2項 実験方法

2-1 供試試料およびキャベツ搾汁の調製

群馬県嬭恋村産キャベツ（初恋、青春、涼音）を用いた。キャベツを水洗、切断後、ジューサーにかけ、その残渣を油圧プレスで圧搾した。得られた搾汁を 85℃、30 分で加熱処理し、ろ布でろ過したものをキャベツ搾汁として使用した (Fig.2-1)。収率は 43.8%であった。

比較のために市販の食酢（穀物酢、純米酢、米黒酢、リンゴ酢、ブルーベリー酢およびタマネギ酢）を選び、賞味期限の異なる 3 検体をそれぞれ収集した。

2-2 キャベツ酢の製造

酢酸菌は、独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター（NBRC）から購入した *Acetobacter pasteurianus* NBRC3284 を用い、前培養培地（ポリペプトン 0.5%、酵母エキス 0.5%、グルコース 0.5%、硫酸マグネシウム 7 水和物 0.1%）で、30℃にて 3 日間振とう培養した。本培養は、前培養液 10 mL を本培養培地 100 mL（ポリペプトン 0.2%、酵母エキス 0.2%、グルコース 0.2%、グリセロール 0.2%、エタノール 2.0%、酢酸 1.0%）に接種し、30℃にて 3 日間振とう培養したものを使用した。

搾汁 423 mL、エタノール（醸造用アルコール）27 mL を三角フラスコに入れ、酢酸菌 50 mL を添加し、30℃で静置発酵させた（Fig. 2-1）。

2-3 成分分析

2-3-1 エタノール

国税庁所定分析法に準じ、酸化法により行った。すなわち、試料をフラスコに採取し、冷却管に連結し蒸留し、エタノールが 2%以下になるように留液を調製した。調製した留液 5 mL に重クロム酸カリウム溶液 10 mL、濃硫酸 5 mL を加え、静かに混合密栓して 15 分間放置した。次に蒸留水 165 mL、リン酸 18 mL、指示薬として 0.5%ジフェニルアミンスルホン酸バリウム水溶液 0.5 mL を加え、硫酸第 1 鉄アンモニウム溶液で青紫色が緑色になるまで滴定し、その滴定数を n とした。蒸留水 5 mL を同様に処理して得た滴定数を N として、エタノールを下式により求めた。

$$\text{エタノール (\%)} = 2 \times (1 - n / N) \times \text{調製後の留液 (mL)} / \text{蒸留に供した検体 (mL)}$$

2-3-2 酸度

試料にフェノールフタレイン指示薬を添加し、0.1 N 水酸化ナトリウム溶液にて微赤色まで滴定し、得られた滴定量から酢酸量を求め酸度とした。

2-3-3 香気成分

試料 20 mL を 40 mL 容のバイアルに入れ、Mono-Trap RCC18 × 2 個をヘッドスペース中に固定し、その状態を室温で 12 時間保持し、ヘッドスペース中の香気成分を捕集した。

次に、Mono Trap を分析用バイアルに入れ、ジクロロメタン 200 μ L を入れ密封し、5 分間超音波処理後、ガスクロマトグラフィー (GC-2010、島津製作所) に注入し、測定した。測定条件は、カラム InertCap Pure WAX 内径 0.25 mm \times 60 m、0.25 μ m (ジーエルサイエンス) を活用し、温度 40°C で 5 分間保持し、その後、250°C までを 6°C / 分で昇温、250°C で 5 分間保持の条件で行った。検出器は水素炎イオン化型検出器 (FID) を用い、FID 温度 280°C、キャリアガスは He で流量 1.82 mL / 分、スプリットレスとした。

2-3-4 糖類

試料を 0.45 μ m メンブレンフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフィー (2695、WATERS) で測定した。測定条件は、カラム Asahipak NH2P-50 4E 内径 4.6 mm \times 250 mm (昭和電工)、カラム温度 30°C、検出器は Refractive index detector (RID) (2414、WATERS) を用い、RID 温度 30°C、溶出溶媒 75%アセトニトリル水溶液で流速 1.0 mL / 分、注入量 20 μ L とした。

2-3-5 遊離アミノ酸類およびメチルメチオニンスルホニウムクロライド (Methylmethionine sulfonium chloride : MMSC)

試料を 0.45 μ m メンブレンフィルターでろ過し、高速アミノ酸分析計 L-8500 (日立ハイテクサイエンス) で測定した。カラムには日立 Ion-Exchange Column #2622SC を、移動相には L-8500 緩衝液を、反応液にはニンヒドリン試薬を用い生体液分析法で行った。

2-4 官能検査

キャベツ酢の官能検査は、群馬県農業技術センター職員 13 名をパネルとして実施した。腐敗臭、青臭さについて、「0 : 感じない、1 : かすかに感じる、2 : わずかに感じる、3 : 少し感じる、4 : 感じる、5 : かなり感じる、6 : 非常に感じる」、香りについて、「0 : 非常に悪い、1 : かなり悪い、2 : やや悪い、3 : 普通、4 : やや良い、5 : かなり良い、6 : 非常に良い」の 7 段階で評価した。

2-5 統計解析

統計解析には、統計解析ソフト R を用いて主成分分析 (Principal component analysis : PCA) を行った。

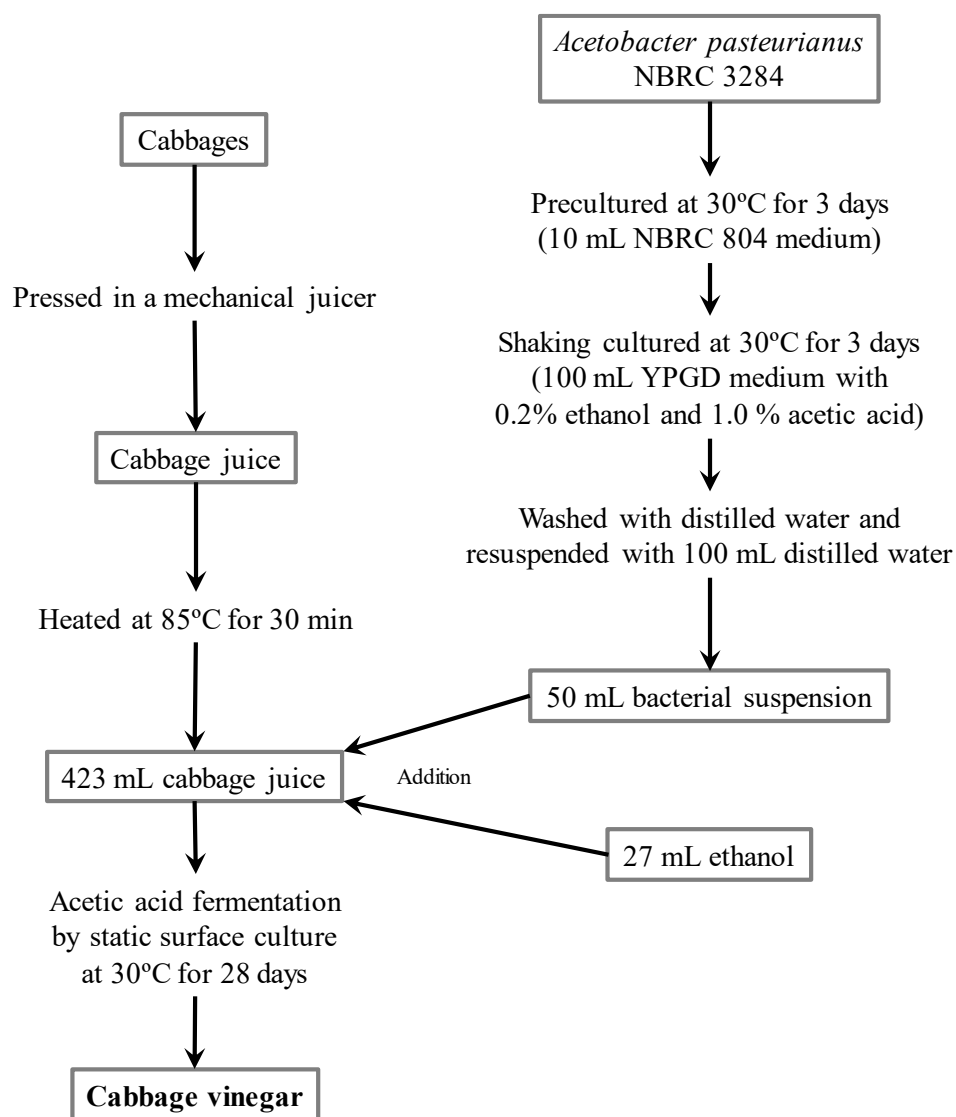


Fig. 2-1. The manufacturing flow of cabbage vinegar.

第3項 結果および考察

3-1 キャベツ酢の製造

本研究を行う前、群馬県内には食酢を製造する企業はなかったが、県内の農家からは県産農産物を利用した食酢の製造が強く求められていた。そのため、群馬県農業技術センターでは製造に特別な装置が必要なく、少量多品目の安定製造が可能な食酢製造技術を開発し、県内企業に技術普及を行った。キャベツ酢の製造は、その製造条件を参考にして、キャベツ搾汁にエタノールを添加し、酢酸発酵を行った。酢酸発酵は穏やかに推移し、酸度の上昇はエタノールの減少と対応して認められた (Fig. 2-2)。発酵 21 日目で、醸造酢の日本農林規格で定める酸度 4.0% を上回った。その時の酸度は 4.21% であった。以降、発酵 28 日目まで発酵を継続したが、残留エタノールが 0.11% となり、ほとんど消費されたことから、発酵 28 日で発酵を終了した。本試験における消費エタノールからの酢酸の収率は 74.2% と算出された。なお品種を変えて 3 反復行ったが、品種の違いは見られず、ばらつきも少なかった。

中村は、アセロラ果汁を用いた酢酸発酵における酢酸の収率は、静置発酵で 90.4% であり、エタノールの揮発による損失が大きいとされる深部発酵においても 81.3% であったと報告している [14]。それと比較すると、本試験のキャベツ酢製造における酢酸の収率は低い値であった。ホワイトアスパラガスの搾汁液を原料とした場合には、エタノールの他に酵母エキスを添加したときのみ酸度上昇が認められ、栄養源不足が指摘されている [15]。同じ野菜であるキャベツでも栄養源不足のため、酢酸発酵が緩慢になり、アセロラ果汁の発酵期間 12 日間と比較すると、発酵期間が延び、エタノールの揮発損失が生じ、酢酸の収率の低下につながったものと考えられる。実生産においては、酢酸の収率がコストに直結することから酢酸の収率を高める必要があり、そのためには発酵促進効果が期待できる酵母エキスの添加とともに [16]、エタノール揮発損失を防ぐため、初発酸度を上げることやエタノール揮発損失を防ぐ発酵容器の検討も必要と考えられる。

なお、本方法で製造したキャベツ酢は発酵終了後に品温を下げ、有害微生物による汚染を防ぐため、毎日 1~2 回攪拌して 2~3 か月熟成・貯蔵したのち、おり引きを行って、ろ過、殺菌して製品とすることができる。また、使用した酢酸菌は NBRC から購入しており、製品開発や産業利用を行うことが可能である。

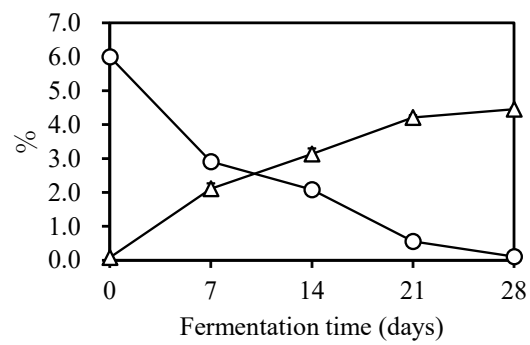


Fig. 2-2. Changes during acetic acid fermentation.
○, Ethanol ; △, Acidity. Data are shown as means
 \pm *SD* (n = 3).

3-2 キャベツ酢の成分的特徴

3-2-1 香気成分

キャベツの香気成分として主要な 7 種類の香気成分を同定した (Fig. 2-3)。加熱前のキャベツ搾汁 (試料 No. 1) からは、腐敗臭と表現されるジメチルジスルフィド (Dimethyl disulfide : DMDS)、ジメチルトリスルフィド (Dimethyl trisulfide : DMTS)、青臭いと表現されるトランス-2-ヘキセナール、1-ヘキサノール、シス-3-ヘキセノール、刺激臭と表現されるメチルチオシアネート、アリルイソチオシアネートが認められた。加熱後のキャベツ搾汁 (試料 No. 2) からも、同様の成分が認められた。加熱後を加熱前と比較するとアルデヒド類のピーク面積は約 0.7 倍、アルコール類およびチオシアネート類のピーク面積は約 0.5 倍と減少したが、スルフィド類のピーク面積は 1.5 倍と増加が認められた (Table 2-1)。しかし、酢酸発酵を行ったキャベツ酢 (試料 No. 3) から認められた DMDS、DMTS およびシス-3-ヘキセノールはごく僅かであり、その他の成分は認められなかった。今回、僅かに認められた DMDS、DMTS およびシス-3-ヘキセノールは、腐敗臭や青臭さなど不快臭に関与する成分である。そこで、これらが官能に及ぼす影響について官能検査による確認を行った (Table 2-2)。その結果では、腐敗臭を感じるパネル (評価 4 以上) は認められなかった。青臭さでは臭いを感じる (評価 4 以上) と回答した割合は 8%であった。香りの全体としての評価では、普通とやや良い (評価 3 および 4) が 77%であった。これらのことから、キャベツ酢には、DMDS、DMTS、シス-3-ヘキセノールなど不快臭に関わる成分が僅かに存在するものの、官能的には問題のないレベルであった。

DMTS は、キャベツ中の S-メチル-L-システインスルフォキシドが、システインスルフォキシドリアーゼの作用もしくは加熱処理により分解されると生じる [17]。さらに、スルフォラファンの酵素または熱による分解によっても、DMDS および DMTS を含む様々な含硫化合物を生じる [18]。加熱後のキャベツ搾汁において認められたスルフィド類の増加は、加熱に伴ってこれらの反応が引き起こされた結果と考えられる。キャベツ酢には DMDS や DMTS などの香気成分がごく僅かしか含まれてなかったが、その理由として、酢酸発酵中の揮発による香気成分の減少、酢酸菌による香気成分の変化等が考えられる。そこで、その検証のため以下の試験を行った。すなわち加熱後のキャベツ搾汁に酢酸菌を添加せずに、酢酸発酵と同様の条件下 (28 日間、30℃) で静置した。また、加熱により殺菌がされているとはいえ静置中に腐敗する可能性があるので、キャベツ酢と同様の条件とするため、酢

酸を 4.5%になるように添加したものも同時に行った。その結果、酢酸菌無添加のキャベツ搾汁（試料 No. 4）および 4.5%酢酸添加キャベツ搾汁（試料 No. 5）ともに、28 日後にはキャベツ搾汁に含まれていた香気成分が大幅に減少していた（Table 2-1）。このことから、キャベツ酢にキャベツ搾汁で検出された香気成分がほとんど認められなかった理由としては、酢酸発酵中に大部分が揮発してしまったためと考えられる。揮発性硫黄化合物は、品質低下要因としてしばしば問題になることがある。塩漬けダイコンでは揮発性硫黄化合物を原因とする沢庵臭が問題になることがあり、その低減対策として酵母発酵を利用する方法が考案されている[19]。しかし、キャベツ搾汁を用いたキャベツ加工品開発においては、加熱後のキャベツ搾汁を静置することにより、そういった対策は必要ないと考えられる。

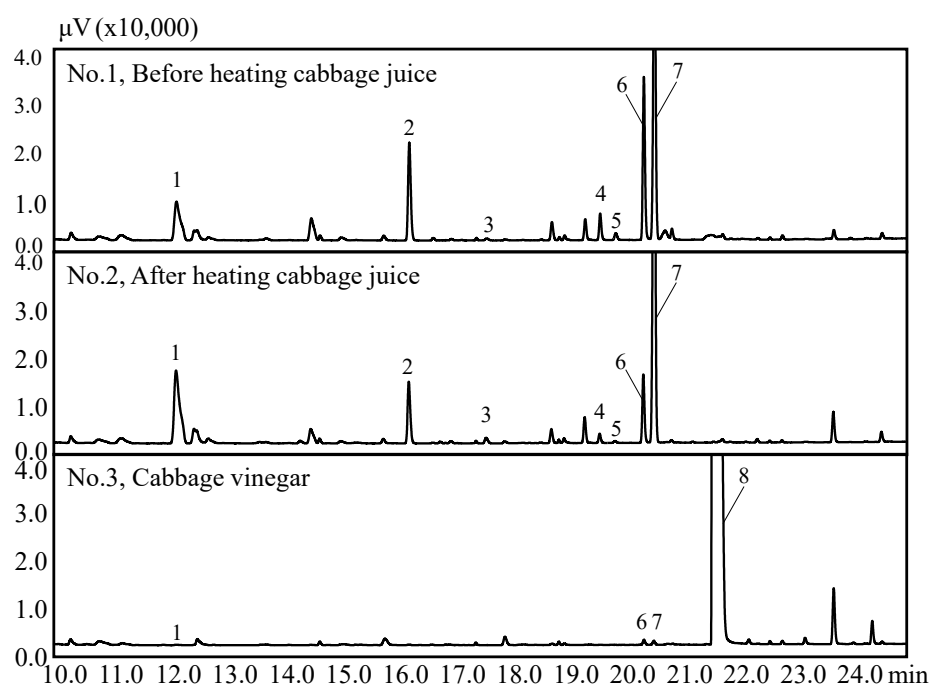


Fig. 2-3. GC-FID chromatogram of cabbage juice and cabbage vinegar. 1, Dimethyl disulfide ; 2, *trans*-2-Hexenal ; 3, Methyl thiocyanate; 4, 1-Hexanol ; 5, Allyl isothiocyanate ; 6, *cis*-3-Hexen-1-ol ; 7, Dimethyl trisulfide ; 8, Acetic acid.

Table 2-1. GC-FID peak areas of the aromatic compounds for each sample.

Compounds	Sample				
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
Sulfides					
Dimethyl disulfide	54.0	92.8	1.5	-	-
Dimethyl trisulfide	155.4	225.0	4.0	1.8	4.0
Aldehydes					
<i>trans</i> -2-Hexenal	46.7	31.5	-	-	-
Alcohols					
1-Hexanol	7.9	6.4	-	-	-
<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	49.0	19.6	2.4	1.6	1.2
Thiocyanates					
Methyl thiocyanate	4.2	2.8	-	-	-
Allyl isothiocyanate	8.2	3.1	-	-	-

(×10³)

No.1, Before heating cabbage juice ; No.2, After heating cabbage juice ; No.3, Cabbage vinegar ; No.4, After heating cabbage juice (28days) ; No.5, After heating cabbage juice containing 4.5 % acetic acid (28days). -, not detected.

Table 2-2. Sensory evaluation of cabbage vinegar.

Evaluation item	Scale0		Scale1		Scale2		Scale3		Scale4		Scale5		Scale6	
	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)
Putrid odor	10	(77)	1	(8)	1	(8)	1	(8)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Green odor	6	(46)	4	(31)	1	(8)	1	(8)	1	(8)	0	(0)	0	(0)
Flavor	0	(0)	0	(0)	3	(23)	4	(31)	6	(46)	0	(0)	0	(0)

(n = 13)

Quantitative descriptive analysis scale : Putrid odor and Green odor, 0-No sense ; 1-Negligible sense ; 2-Slight sense ; 3-Moderate sense ; 4-Sense ; 5-Considerable sense ; 6-Extreme sense. Flavor, 0-Extremely bad ; 1-Moderately bad ; 2-Slightly bad ; 3-Neutral ; 4-Slightly good ; 5-Moderately good ; 6-Extremely good.

3-2-2 キャベツ酢の品質特性

キャベツ酢の酸度は4.45%であり、リンゴ酢(5.04%)、ブルーベリー酢(4.97%)と比較するとやや低い値であった(Table 2-3)。醸造酢の酸度は、果実を原料としたリンゴ酢やブルーベリー酢では高い値を示す傾向にある[20]。これは、醸造酢の日本農林規格において果実酢の酸度が、他の醸造酢に比べて高く規格されていることが一要因であり、原料との関係は希薄と考えられる。

キャベツ酢の糖組成はフルクトースとグルコースであり、穀物酢、タマネギ酢と同様であったが、比較するとフルクトースが高い値であった。酢酸発酵前後の糖組成や糖含有量は、ほとんど変化が認められなかった(Table 2-3)。穀物酢の糖組成はグルコースを主たる糖類とし、リンゴを原料とした果実酢においてのみ、フルクトースが主たる糖類という特徴があった。キャベツ酢とタマネギ酢においては、グルコースとフルクトースがともに多く含まれていたことが特徴的であり、野菜を原料とした醸造酢の特徴を示唆するものかもしれない。ソルビトールはリンゴ酢のみに認められた。これは、リンゴを含むバラ科果実の糖の蓄積はソルビトールの形で運ばれ、それがグルコース、フルクトースに変換されるためと考えられる[21]。また、原料にアルコールを使用していない醸造酢は、糖類がほとんど含まれていない傾向があるが、今回供試した検体でアルコールを使用していないもののうち、ブルーベリー酢のみがほとんど糖類を含まなかった。これは原料に含まれる約10%の糖類[22]が、アルコール発酵でほとんど消費されてしまったためと考えられる。検体として選んだブルーベリー酢では、果実酢の規格を満たすため、糖類を全て消費するような発酵条件が採用されているものと推察される。

遊離アミノ酸類は、18種類のアミノ酸およびMMSCが含まれ、他の醸造酢と比較するとGlnが多かった(Table 2-4)。総アミノ酸量は194.6 mg / 100 mLで、米黒酢(371.5 mg / 100 mL)に次いで高い値であった(Table 2-4)。キャベツ酢の総アミノ酸量は、米黒酢に次いで多かった。アミノ酸は酸味を緩和することから、キャベツ酢では酸味が緩和されていると推察された。また、リンゴ酢、ブルーベリー酢には、遊離アミノ酸類がほとんど含まれていないことが特徴であった。

Table 2-3. Raw materials and quality characteristics of various vinegar samples.

Sample	Raw materials	Acidity (%)	Sugar content (%)		
			Glucose	Fructose	Sorbitol
Cabbage vinegar	Cabbage, Alcohol	4.45	1.72	1.35	-
Grain vinegar	Grain, Alcohol, Sake cake	4.19	2.23	0.07	-
Rice vinegar	Rice	4.44	6.12	-	-
Rice black vinegar	Brown rice	4.45	6.24	-	-
Apple vinegar	Apple	5.04	0.35	0.97	0.81
Blueberry vinegar	Blueberry	4.97	0.03	0.02	0.01
Onion vinegar	Onion	4.26	1.04	1.01	-

-, not detected.

Table 2-4. Free amino acid compositions of various vinegar samples.

	Cabbage vinegar (mg / 100 mL)	Grain vinegar (mg / 100 mL)	Rice vinegar (mg / 100 mL)	Rice black vinegar (mg / 100 mL)	Apple vinegar (mg / 100 mL)	Blueberry vinegar (mg / 100 mL)	Onion vinegar (mg / 100 mL)
Asp	0.4	3.6	4.4	25.4	0.7	0.4	8.4
Thr	10.2	2.4	3.6	15.8	0.0	0.1	5.5
Ser	12.9	2.8	5.6	19.1	0.0	0.0	5.9
Asn	0.5	1.2	5.3	18.0	0.5	0.5	0.3
Glu	11.6	2.9	5.9	24.0	0.1	0.2	14.2
Gln	27.3	-	-	3.1	-	-	5.5
Gly	3.6	1.5	4.1	18.5	0.1	0.2	6.5
Ala	46.3	3.4	8.7	35.1	0.0	0.1	18.9
Val	11.8	4.6	6.6	30.7	-	0.8	8.5
Cys	-	-	-	-	-	-	-
Met	2.0	2.9	2.0	10.3	-	0.3	2.4
Ile	6.9	3.6	3.6	20.2	0.1	0.0	5.6
Leu	6.2	8.5	10.6	37.4	-	0.1	8.1
Tyr	3.2	3.8	5.5	22.9	0.1	-	4.7
Phe	5.1	5.1	7.4	25.8	0.1	0.2	4.2
Trp	-	-	-	-	-	-	1.7
Lys	9.1	3.4	6.2	16.2	0.2	0.2	4.9
His	9.9	1.9	1.6	8.1	0.1	0.1	3.7
Arg	26.4	7.6	17.1	39.5	0.1	0.3	1.7
Pro	1.3	5.6	3.6	2.4	-	1.1	3.3
Total	194.6	64.8	101.8	371.5	2.1	3.8	110.4
MMSC	1.2	-	-	-	-	-	-

MMSC, Methylmethionine Sulfonium Chloride. -, not detected.

3-2-3 主成分分析

PCA は、醸造酢の呈味と関連の深い酸味、糖類、遊離アミノ酸類などの7形質を説明変数に用い21検体で行った。すなわち、酸味として酸度、糖類としてグルコース、フルクトース、ソルビトール、遊離アミノ酸類として旨味系アミノ酸、甘味系アミノ酸、苦味系アミノ酸を用いて行った。なお、本研究における旨味系アミノ酸は Asp、Asn、Glu の合計値、甘味系アミノ酸は Thr、Ser、Gln、Gly、Ala の合計値、苦味系アミノ酸は Val、Met、Ile、Leu、Tyr、Phe、Trp、Lys、His、Arg、Pro の合計値とした。PCA における因子負荷量と累積寄与率を Table 2-5 に示した。それによると、第一主成分 (PC1) の寄与率 54.4%、PC1 と第二主成分 (PC2) の累積寄与率は 74.5%であった。主成分に対する因子負荷量をみると、PC1 はグルコース、旨味系アミノ酸、苦味系アミノ酸と高い負の相関が、PC2 はフルクトースと高い正の相関が認められた。PC1 と PC2 のスコアに基づいて作成した散布図を見ると、キャベツ酢は PC1 が中庸で、PC2 が高いスコアとして検出された (Fig. 2-4)。これは、穀物酢、純米酢、米黒酢、リンゴ酢、ブルーベリー酢、タマネギ酢とは異なる配置であった。

PCA における因子負荷量は主成分と形質の相関の程度を示す値であり、寄与率は形質の変動のうち、その主成分で説明できる全変動中の割合を示している。これにより、PC1 と PC2 の合計で 74.5%を説明できることが明らかとなった。主成分に対する因子負荷量と形質の関係から、PC1 は遊離アミノ酸類が多く、グルコースを多く含む醸造酢ほどスコアが小さくなる。このことから、PC1 は醸造酢のコクや味の濃淡に関係する主成分であると考えられる。PC2 の示す特徴はフルクトース含量の多少であった。フルクトースは、スクロースより強い蜜のような甘味がある [23]。醸造酢は、甘味が強いほどまろやかになる傾向があるため、PC2 はフルクトースに由来する甘さやまろやかさに関係する主成分と考えられる。PC1 と PC2 による散布図では、PC1 スコアの小さい醸造酢として米黒酢が、それとは対照的にスコアの大きい醸造酢としてリンゴ酢が示された。米黒酢とリンゴ酢の PC2 スコアは中庸で、ほぼ同等であった。一般的に米黒酢はクセが強くコクのある酸味が特徴と評され、リンゴ酢はフルーティーな酸味が特徴と評されている。この結果は、PC1 がコクや味の濃淡に関係する主成分であることを支持するものである。散布図において、PC2 の小さな醸造酢として純米酢や穀物酢が、スコアの大きい醸造酢としてはキャベツ酢が示された。純米酢、穀物酢、キャベツ酢の PC1 スコアは中庸で、ほぼ同等であった。穀物酢は最も一般的な醸造酢で、スッキリとした酸味が特徴である。それに対し、キャベツ酢の官

能評価では、穀物酢に比べてまろやかな酸味であるとの評価が多かった。今回の解析により、キャベツ酢のまろやかさがフルクトースに由来する可能性が示唆されるとともに、既に商品化されているレタスを原料とした醸造酢のみならず、従来は醸造酢原料としてほとんど利用されてこなかったキャベツなどの葉物野菜類を原料に用いることで、穀物酢や果実酢とは味の異なる新しい醸造酢を製造できる可能性が示された。

Table 2-5. Contribution and factor loading of PC1, PC2.

Characteristics		PC1	PC2
Acid	Acidity	0.64	-0.06
Sugar	Glucose	-0.82	-0.30
	Fructose	0.32	0.92
	Sorbitol	0.64	0.20
Free amino acid compositions	Umami-tasting amino acid	-0.89	0.08
	Sweet-tasting amino acid	-0.73	0.63
	Bitter-tasting amino acid	-0.94	0.12
Contribution (%)		54.4	20.1
Cumulative contribution (%)		54.4	74.5

Umami-tasting amino acid was the total of Asp, Asn and Glu; Sweet-tasting amino acid was the total of Thr, Ser, Gln, Gly and Ala; Bitter-tasting amino acid was the total of Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, Trp, Lys, His, Arg and Pro.

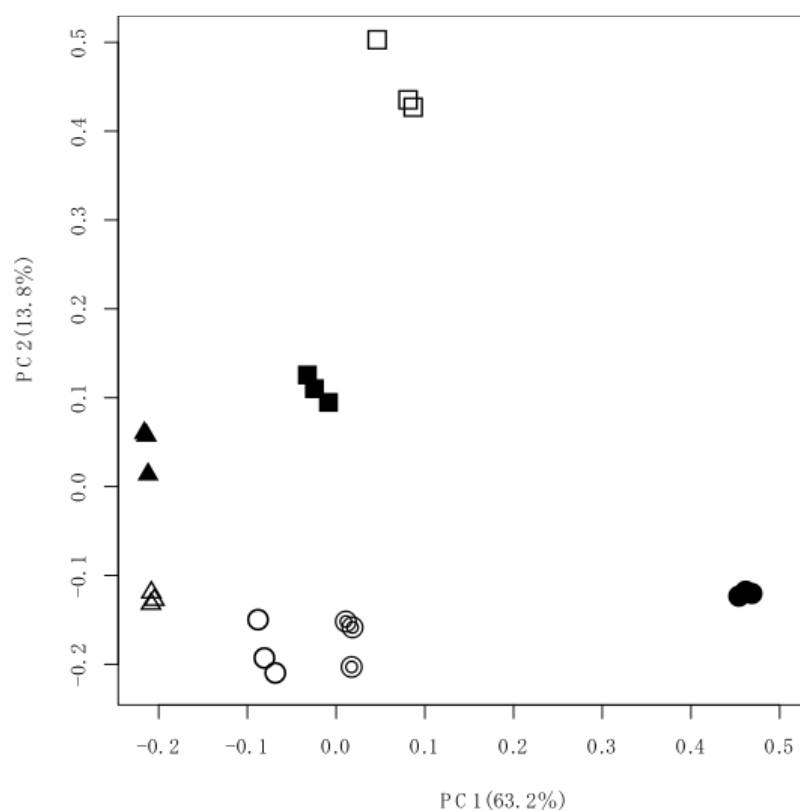


Fig. 2-4. The score for the principal component analysis of various vinegar samples. ○, Grain vinegar ; ⊙, Rice vinegar ; ●, Rice black vinegar ; △, Apple vinegar ; ▲, Blueberry vinegar ; □, Cabbage vinegar ; ■, Onion vinegar.

第4項 要約

キャベツ活用の新たな可能性を目的として、キャベツ酢の製造と特性評価を試みた。キャベツ酢の製造は、キャベツ搾汁にエタノールを添加し、静置発酵により行った。酢酸発酵は順調に推移し、発酵 28 日で終了とした。酢酸の収率は 74.2%であった。キャベツ搾汁からは、香気成分として DMDS、DMTS、トランス-2-ヘキセナール、1-ヘキサノール、シス-3-ヘキセノール、メチルチオシアネート、アリルイソチオシアネートが認められたが、酢酸発酵を行ったキャベツ酢から検出された DMDS、DMTS、シス-3-ヘキセノールはごく僅かであり、酢酸発酵中に大部分が揮発してしまったためと考えられる。キャベツ酢の酸度は 4.45%、糖組成はフルクトースとグルコース、遊離アミノ酸類は 18 種類のアミノ酸、MMSC が含まれており、総アミノ酸量は、米黒酢に次いで高い値であった。市販の食酢についても同様の項目について分析し、PCA を行った結果、PC1 と PC2 の累積寄与率は 74.5 %であった。主成分に対する因子負荷量をみると、PC1 はグルコース、旨味系アミノ酸、苦味系アミノ酸と高い負の相関が、PC2 はフルクトースと高い正の相関が認められ、キャベツ酢は、他の食酢とは異なり、今までにない新たな食酢であった。

なお、本節により開発したキャベツ酢は川場村農産加工株式会社 (<http://www.yorassai.net/ks/>) で製造され、「孀恋キャベツ酢」という商品名で、妻の手しごと (<https://tsumanotesigoto.com/about/>) から上市された (Appendix 1)。また、当該商品は 2017 年度優良ふるさと食品中央コンクール (一般財団法人食品産業センター主催) の新技術開発部門で農林水産省食料産業局長賞を受賞した。



Appendix 1. Cabbage vinegars.

第2節 網羅的解析によるキャベツ酢の成分的特徴の解明

第1項 緒言

前節において、群馬県の特産農産物であるキャベツを原料とした食酢を開発した。また、開発したキャベツ酢の成分的特徴を解明するため、各種食酢の特性（酸度、糖類、アミノ酸類）を分析し、PCAにより品質特性を評価した結果、キャベツ酢が穀物や果実を原料とした他の食酢とは異なること、その差別化にはフルクトースが関与していることなどを示した。しかしながら、上記のターゲット分析で得られた情報はキャベツ酢の成分組成の一部に限定されている。キャベツ酢の特徴を反映する原料由来の固有成分の多くは不明なままとなっている。とりわけ、キャベツ酢の独特な香気特性の重要なファクターである揮発性成分については未検討である。開発したキャベツ酢の特徴を明らかにするためには、成分組成のより詳細な情報を獲得する必要がある。

近年、急速な分析装置の性能向上に伴い、ノンターゲット分析により得られた膨大な定量分析データを統計解析するメタボローム解析の研究手法の確立が急速に進んでおり、食品科学の分野にも広く適用されている [24, 25]。例えば、発酵食品・飲料の研究にも活用されており、チーズの香りの特性に関する研究 [26, 27] や醤油のうま味に関する研究 [28, 29, 30]、日本酒の品質予測に関する研究 [31] などの報告がある。食酢のメタボロミクス研究においても、地理的表示保護の有無 [32] や伝統的手法で製造された食酢の識別 [33] を可能とするバイオマーカーの発見がなされている。

そこで本節では、キャベツ酢の構成成分の特徴を詳細に明らかにするため、網羅的解析を様々な原料の食酢に適用した。

第2項 実験方法

2-1 供試試料および試料調製

供試試料として前節で開発したキャベツ酢、比較食酢として市販の穀物酢、純米酢、米黒酢およびリンゴ酢を用いた (Table 2-6)。なお、市販の食酢は異なる3製造業者のものをそれぞれ収集した。また、キャベツ酢の酢酸発酵中の成分変化を把握するため、改めて前節で報告したように6回製造した (Fig. 2-1)。

2-2 Nuclear magnetic resonance (NMR) 分析

試料に含まれる水溶性成分を分析の対象とするが、食酢は酢酸の濃度が高いために NMR 測定用の標準緩衝液の緩衝能力を超えており、高濃度の酢酸による化学シフト変動を引き起こす。そこで NMR 分析に先立ち、各試料 325 μL を採取して凍結乾燥を 3 回行った [34]。乾燥後、1.0 mM の Sodium 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate-d₆ (DSS-d₆) を含んだ重水で作成した 100 mM KPi Buffer 650 μL を加え、21,500 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を ϕ 5.0 mm NMR チューブに入れ、Avance-500 spectrometer (Bruker) を用いて、以下の条件で測定を行った。

測定温度 : 298 K、¹H 周波数 : 500.23 MHz、¹³C 周波数 : 125.80 MHz

スペクトル幅 : 20 ppm、プロトン 90 パルス : 13.5 μs

繰り返しパルス待ち時間 : 4.0 s、積算回数 : 256 回

なお多変量解析において、¹H NMR スペクトルは残留酢酸と水のシグナルを減らすために、Bruker パルスプログラム lc1prf2 を使用して収集した。

代謝物のアノテーションは、既報に基づき Double quantum filtered correlated spectroscopy (DQF-COSY)、Total correlation spectroscopy (TOCSY)、Heteronuclear single quantum coherence (HSQC)、Heteronuclear multipledond connectivity (HMBC) を含む 2D NMR スペクトルを使用し、SpinAssign program [35, 36]、NMR Ripe や NMR Draw [37] で行った [38]。なお、信頼性を高めるために公共の NMR スペクトルデータベースである HMDB [39] や BMRB [40] も使用した。

2-3 Gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) 分析

試料に含まれる揮発性成分は、既報に基づき Headspace solid phase micro-extraction (HS-SPME) により抽出した [41]。すなわち、各試料 2 mL を採取し、20 mL バイアルに入れ、SPME ファイバー (DVB/CAR/PDMS) を刺し、揮発性成分捕集を行った (20 分、50°C)。SPME ファイバーに吸着した揮発性成分を 250°C、3 分間の熱脱着により GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所) に注入し、以下の条件で測定を行った。

スプリットレスモード

カラム : Rtx-WAX (60 m \times 0.25 mm、膜厚 0.25 μm)

キャリアガス : He (2.0 mL/min)

温度プログラム : 40°C (5 分-5°C / 分-180°C-10°C / 分-230°C (5 分)

MS の条件は、イオン化法 : Electron impact (EI)、イオン化電圧 : 70 eV、イオン源温度 : 230°C、四重極温度 : 150°C、スキャン範囲 : m/z 33-350、検出器電圧 : 1.0 kV、スキャン速度 : 3.15 scan/s。なお、フィラメントは、酢酸由来の過剰イオンをカットするため 90 秒間オフとした。

代謝物の同定は NIST で行った。また、NIST chemistry webbook の Retention index (RI) も参照した。

2-4 統計解析

得られた ^1H NMR スペクトルは、Amix により 10 ppm から 0.5 ppm までの範囲を 0.04 ppm ごとのバケットに分割、積分化した。得られた GC/MS データは、AIA フォーマットに変換後、MetAlign [42] および Aloutput [43] を用いて、ピークアライメントおよびデコンボリューションした。統計解析には、統計解析ソフト SIMCA を用いて PCA、判別分析 (Orthogonal partial least square-discriminant analysis : OPLS-DA) を行った。

Table 2-6. Vinegar samples used in this study.

Sample	ID	Food labeling		Acidity (%)
		Product	Ingredients	
Cabbage vinegar	C1	Brewed vinegar	Cabbage, alcohol	4.49
	C2		Cabbage, alcohol	4.47
	C3		Cabbage, alcohol	4.49
	C4		Cabbage, alcohol	4.20
	C5		Cabbage, alcohol	4.52
	C6		Cabbage, alcohol	4.64
Grain vinegar	G1	Grain vinegar	Grains (wheat, rice, corn), alcohol, <i>sake</i> cake	4.22
	G2		Grains (rice, corn), alcohol, <i>sake</i> cake	4.32
	G3		Rice, alcohol, <i>sake</i> cake	4.16
Rice vinegar	R1	Rice vinegar	Rice	4.44
	R2		Rice	4.52
	R3		Rice	4.19
Black vinegar*	B1	Rice black vinegar	Brown rice	4.43
	B2		Brown rice	4.44
	B3		Brown rice	4.26
Apple vinegar	A1	Apple vinegar	Apple juice	5.00
	A2		Apple juice	4.44
	A3		Apple	4.28

*Japanese traditional vinegar, *kurozu* (*kurosu*)

第3項 結果および考察

3-1 NMR

キャベツ酢中にどのような特徴的な水溶性成分が含まれているか分からず、ターゲットとなる成分が定まらないことから、水溶性代謝物プロファイルに基づく18検体のPCAを行い、キャベツ酢の特徴的な成分の抽出を試みた。最初のPCAはNMRスペクトルから生成された全ての変数を使用して実施した (Fig. 2-5A)。PC1の寄与率が60.9%、PC2の寄与率が21.6%だった。PCAの結果、各試料は4つのクラスに分類された (Fig. 2-5A)。PC1軸に沿って純米酢1・米黒酢1・米黒酢2のクラス1、穀物酢1-3のクラス2、純米酢2・純米酢3・米黒酢3・リンゴ酢2・リンゴ酢3のクラス3に分類され、PC2でキャベツ酢1-6・リンゴ酢1のクラス4が分類された (Fig. 2-5A)。ローディングプロットは、PC1がグルコース、2,3-ブタンジオールおよび乳酸に由来するシグナルを含むバケットにより主に説明されることを示した (Fig. 2-5A, Table 2-7)。一方、PC2はフルクトースに由来するシグナルを含むバケットにより主に説明されることを示した (Fig. 2-5A, Table 2-7)。このことから、最初のPCAデータはキャベツ酢がクラス4に属し、フルクトースが多く、グルコースが少ないという特徴であることを示した。しかしこの解析ではほとんど主要成分による寄与のみが強調され、含有量のより小さい代謝物の影響が不明なままとなった。

そこで、含有量の小さい代謝物のキャベツ酢への寄与について検討するため、主要な成分であるグルコース、フルクトース、2,3-ブタンジオール、乳酸のシグナルの含まれる該当バケットを除去し、multistep PCA [44]を行った。生成されたPC1とPC2の寄与率は、それぞれ31.6%と25.1%であった。最初のPCAの結果とは異なり、スコアプロットは原料に応じた試料間の明確なクラス分離を示した (Fig. 2-5B)。主に、PC1が黒酢を、PC2がキャベツ酢の特徴を明確にした (Fig. 2-5B)。ローディングプロットは、黒酢がBlanché chain amino acids (BCAAs)、グリセロール、Alaを高含有すること、キャベツ酢がピログルタミン酸、コリン、メチンを高含有することを示した (Fig. 2-5B, Table 2-7)。PC1が強調したリンゴ酸については、リンゴ酢において高い濃度が示された。穀物酢と純米酢には特徴的に多く含まれる成分はこのPCAでは示されなかった。

これらのPCAの結果から、キャベツ酢の特徴的な成分は、フルクトース、ピログルタミン酸、コリン、メチンであることが示された。さらに、キャベツ酢の特徴的な成分として抽出されたピログルタミン酸、コリン、メチンについて、酢酸発酵過程での推移を把

握するため各成分の量を発酵経過で比較し、Fig. 2-6 に示した。ピログルタミン酸は発酵が進むにつれ増加し、グルタミンは反比例して減少した。フルクトースとコリンは発酵による変化はなかったが、メチインは最初の 7 日間で僅かに減少し、その後 28 日目まで変化はなかった。

NMR を用いて食酢をメタボローム解析した先行研究では、ワイン酢の特徴成分として酢酸エチル・グリセロール・メタノール・酒石酸が、リンゴ酢の特徴成分としてアラニンが見出された [45]。またバルサミコ酢の熟成の指標として、エタノール・酢酸・糖類・Hydroxyl methyl furfural (HMF)・3-hydroxy-2-butanone が見出されている [46]。本研究では、キャベツ酢の特徴成分として、フルクトース・ピログルタミン酸・コリン・メチインが見出された。そのうち、フルクトースは前節と一致した特徴成分であったが、ピログルタミン酸・コリン・メチインは今回新たに見出された特徴成分であった。ピログルタミン酸は、醤油製造中にグルタミンから酸性条件下で非酵素的反応により生成されることが知られている [47]。キャベツ酢においても、酢酸発酵が進むにつれキャベツ由来のグルタミンが減少し、ピログルタミン酸が増加していることから、キャベツに含まれるグルタミンがピログルタミン酸に変換された可能性が高い。コリンは、牛や鶏のレバーに多く含まれ、野菜類ではカリフラワーなどのアブラナ科で多く含まれる傾向にあり [48]、酢酸発酵初期から含有量に変化がないことから、キャベツ由来の成分であると考えられる。メチインは、アブラナ科野菜に典型的に見られる含硫化合物として知られている [49, 50]。メチインは分解されることにより、Dimethyl sulfide (DMS)、DMDS、DMTS を含むスルフィド類に変換される [51]。キャベツ酢以外の食酢からは検出されなかったことから、特に特徴的な成分であると考えられる (Fig. 2-7)。また、酢酸発酵が進むにつれメチインは若干減少したことから、上記の分解過程によるものと考えられる。

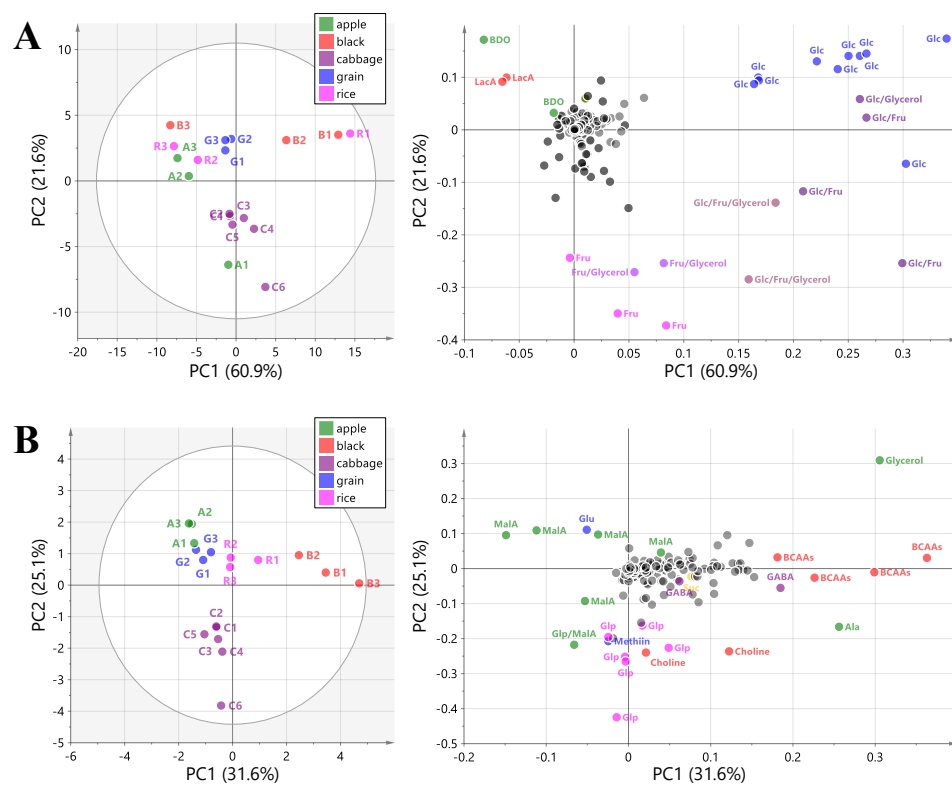


Fig. 2-5. PCA results based on water-soluble compound profiles. Score plot (left) and loading plot (right) of PCA data with (A) full dataset, and (B) data obtained by multistep PCA with selected variables excluding Glc, Fru, BDO, and LacA signals. The variable labelled with multiple metabolites represents the bucket containing overlapped signals of the shown metabolites.

Table 2-7. Water-soluble compounds of vinegars annotated by NMR analysis.

Annotation	Chemical shift (ppm)
Isoleucine	0.90 / 0.98 / 1.90
Leucine	0.94
Valine	0.98
2,3-Butanediol	1.10 / 1.14
Lactic acid	1.30 / 1.34
Alanine	1.46
Gamma amino butyric acid	2.30 / 3.02
Glutamine	2.34
Pyroglutamic acid	2.38 / 2.42 / 2.46 / 2.50 / 2.54 / 2.58
Malic acid	2.38 / 2.62 / 2.66 / 2.70 / 4.26 / 4.30
Methiin	2.82
Choline	3.18 / 4.16
Glucose	3.22 / 3.26 / 3.38 / 3.42 / 3.46 / 3.50 / 3.54 / 3.70 / 3.74 / 3.78 / 3.82 / 3.86 / 3.90 / 4.62 / 4.66 / 5.22
Glycerol	3.54 / 3.58 / 3.62 / 3.66 / 3.74 / 3.78
Fructose	3.54 / 3.66 / 3.70 / 3.78 / 3.86 / 3.90 / 3.98 / 4.02 / 4.10
Sucrose	5.42

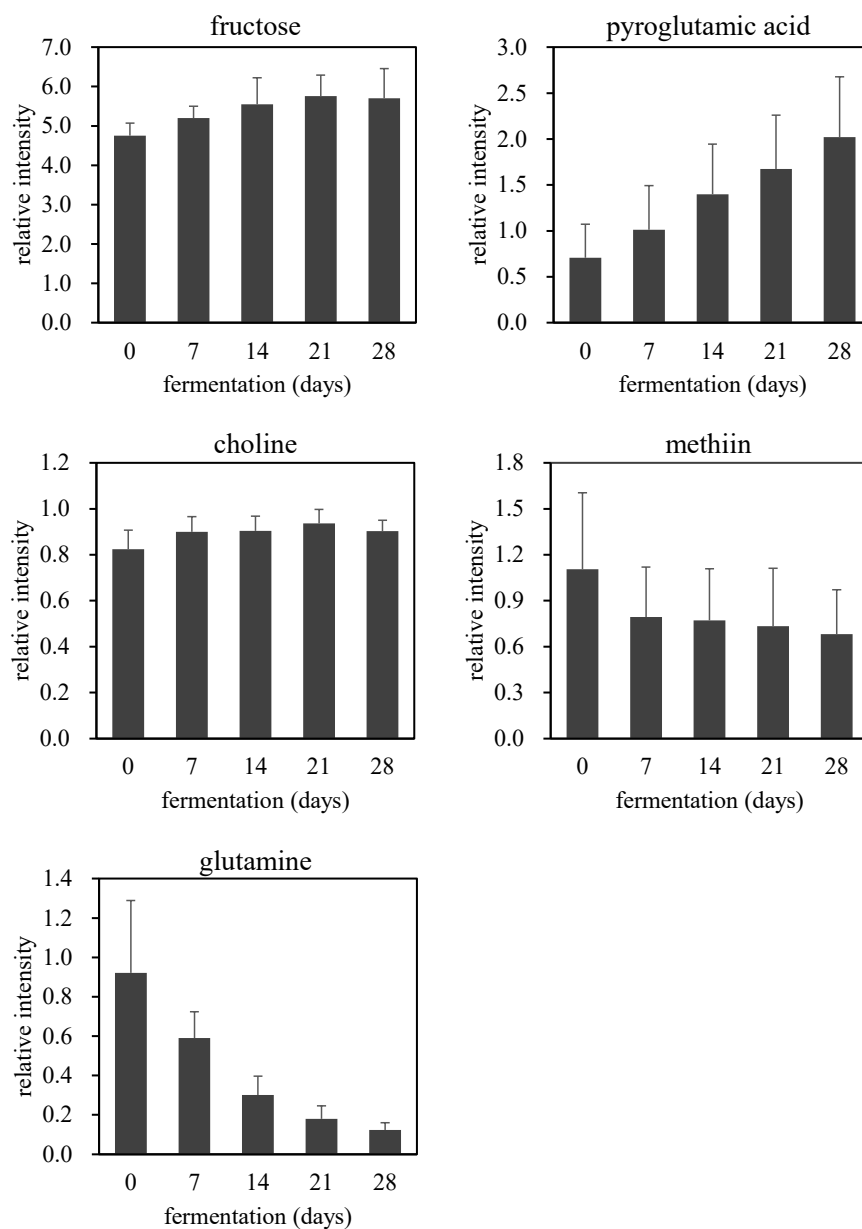


Fig. 2-6. Changes in the levels of representative water-soluble metabolites in cabbage vinegar during acetic acid fermentation. Data are expressed as relative intensity to DSS-d₆ (0.00 ppm) and shown as means \pm SD (n = 3).

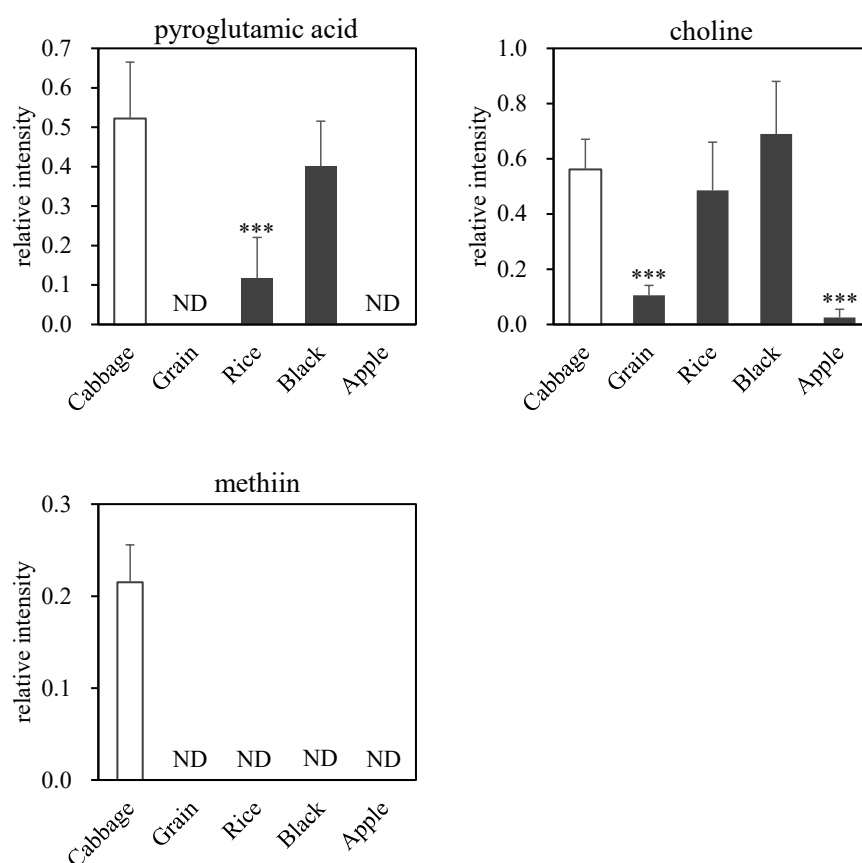


Fig. 2-7. Relative signal intensity of representative metabolites in cabbage vinegar. Data are shown as means \pm *SD* (cabbage vinegar, $n = 6$; other vinegar, $n = 3$). Asterisks denotes statistical significance against cabbage vinegar (Dunnett's test; *** $p < 0.001$). ND = not detected.

3-2 GC/MS

揮発性成分でも水溶性成分と同様の手法で、GC/MS で検出された 18 検体のピークリストを用いて PCA を行った (Fig. 2-8A)。PC1 の寄与率が 47.6 %、PC2 の寄与率が 15.6 % であった。スコアプロットは PC1 でキャベツ酢・穀物酢のクラスと純米酢・リンゴ酢・米黒酢のクラスに分類されることを示した (Fig. 2-7A)。ローディングプロットはデータセットの大部分のピークが後者のクラス分離に寄与していることを示し (Fig. 2-8A, Table 2-8)、特に酢酸エステル類、アルコール類、ケトン類、酸類およびフルフラールを高含有することがこのクラスの特徴であった。このことは、キャベツ酢と穀物酢は他の食酢と比較して揮発性成分のピークが総合的に少なかったことを意味した。GC/MS のクロマトグラムを比較すると、キャベツ酢と穀物酢に特徴的な成分は酢酸エチルとエタノールのみであった (Table 2-8, Fig. 2-9)。この PCA データではキャベツ酢と穀物酢は同じクラスに属したが、これらは原料が大きく異なるとともに官能においても印象は全く異なっており、揮発性成分に明確な差があると予想された。そこで両者の特徴差を明らかにするため、OPLS-DA をキャベツ酢と穀物酢において行ったところ、cumulative regression coefficient (R^2) が 0.951、cumulative cross-validation coefficient (Q^2) が 0.852 であった。キャベツ酢に特徴的な揮発性成分を明らかにするため、S-plot を調べた (Fig. 2-8B)。その結果、キャベツ酢に特徴的な成分があることを示したことから、それらの成分を他の食酢と比較したところ、DMS、allyl cyanide、DMTS、クロトン酸、4-methylthiobutanenitrile、unknown peak (Retention time : t_R 34.158 min) が有意に高かった (Fig. 2-10, Table 2-8)。DMDS、3-hexen-1-ol は統計的に有意差が見られなかったが、キャベツ酢の試料間で濃度にばらつきがあったためと考えられ、試料によっては高濃度で含まれていたことから、これらもキャベツ酢の特徴的な揮発性成分である可能性を示唆している (Fig. 2-10)。次に、キャベツ酢の特徴的な揮発性成分として抽出された 8 つの揮発性成分について、酢酸発酵過程での推移を把握するため各成分の量を発酵経過で比較した (Fig. 2-11)。スルフィド類 (DMS, DMDS, DMTS) は 7 日間で大幅に減少したが、クロトン酸および unknown peak (t_R 34.158 min) は増加した。Allyl cyanide、4-methylthiobutanenitrile、3-hexen-1-ol は大きな変化は示さなかった。

GC/MS で検出されたピークリストを用いた PCA は、キャベツ酢に寄与するピークが穀物酢と共通して少ないことを示した。これはキャベツ酢の揮発性成分が全体的に少ないことを示唆した。この結果は、キャベツ酢が酵母によるアルコール発酵工程を経ずに、酢酸発酵の基質としてアルコールを添加することでアルコール発酵を省いていることを反映し

ているものと考えられる。同様に、キャベツ酢と同じクラスに分けられた穀物酢もアルコールを添加して製造されている (Table 2-6)。伝統的な製法では、食酢はアルコール発酵と酢酸発酵の連続した行程を経て製造される。アルコール発酵では、酵母によりエタノール以外にも様々なアルコール類やエステル類が生成される [52]。本研究でアルコール発酵を経て製造されたと思われる食酢にはこれらの化合物が確認された。したがって、キャベツ酢の揮発性成分が少なかったのは、アルコール発酵工程がないことが原因である可能性がある。

このような比較的シンプルな揮発性成分をベースとして、キャベツ酢はいくつかの独特な成分 (DMS、DMDS、DMTS、allyl cyanide、3-hexen-1-ol、クロトン酸、4-methylthio-butanenitrile) によって特徴づけられた。そのうち、スルフィド類と allyl cyanide は、発酵中に減少したが、3-hexen-1-ol と 4-methylthio-butanenitrile は発酵中に大きな変化は示さなかった。これらの結果から、これらの成分はキャベツ由来の揮発性成分であると考えられる。特にスルフィド類は重要な香気成分と考えられる。スルフィド類は、メチンがシステインスルフォキシドリアーゼや熱によって生成される [51]。メチンはキャベツに含まれる主要な含硫化合物の一つであり、本研究においても NMR 分析により検出された。同様に、allyl cyanide と 4-methylthio-butanenitrile はキャベツに含まれるグルコシノレート類であるシニグリンとグルコエルシンが分解されることにより生成される [53,54]。グルコシノレート類はミロシナーゼによりニトリル類やイソチオシアネート類などの様々な香気成分に分解され、アブラナ科の独特な風味を生み出している [55]。3-hexen-1-ol もまたキャベツの草や若葉のさわやかな感じの香りとして知られており [56]、キャベツ酢の特徴付けに貢献していると考えられる。

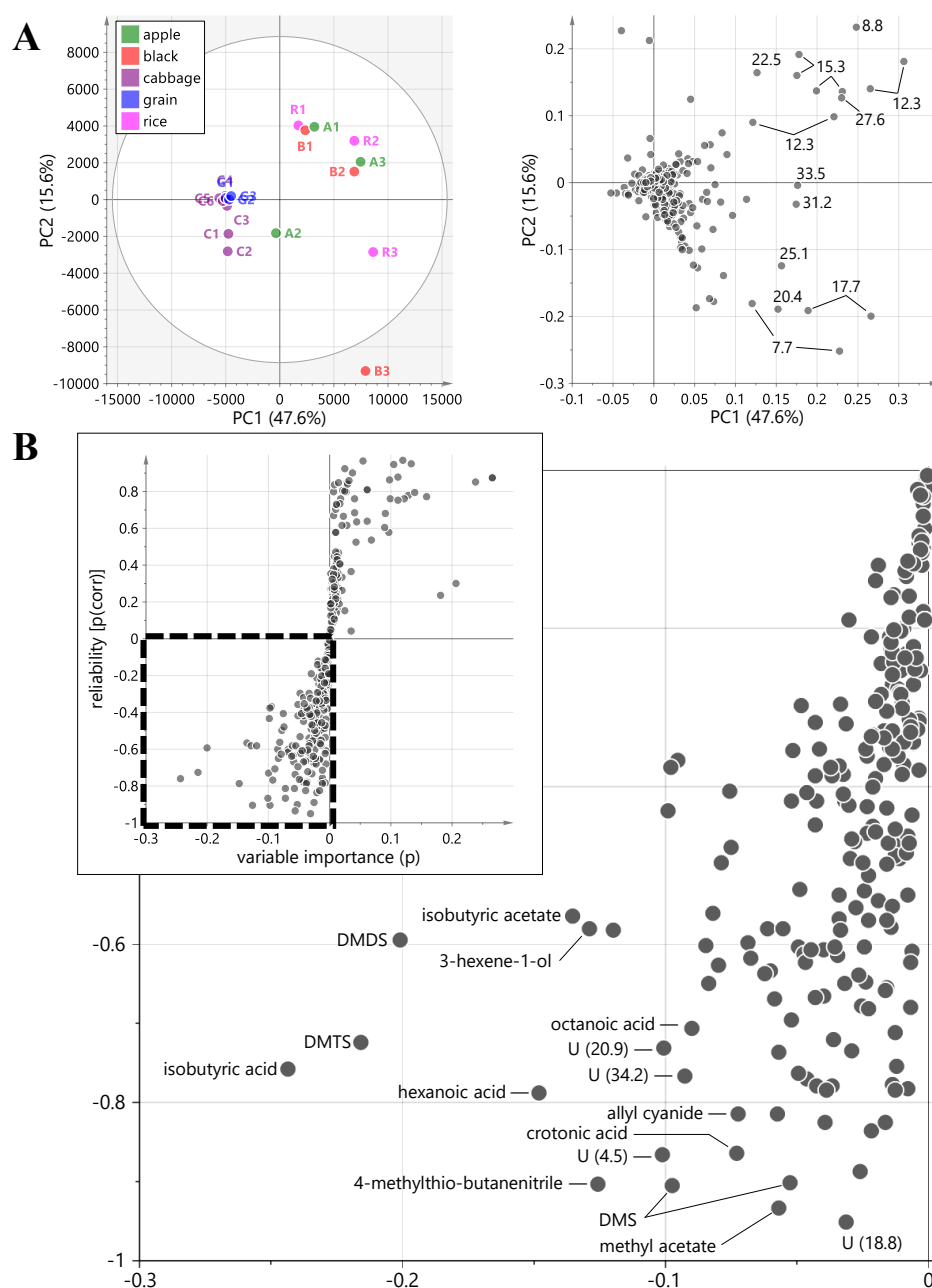


Fig. 2-8. Data of GC/MS-based metabolomic analyses based on volatile compound profiles. (A) Score (left) and loading (right) plots of PCA employing all vinegar samples. Labels represent retention time (min) of the originating peaks for indicated variables. (B) S-plot calculated by OPLS-DA (cabbage vs grain vinegar). An overall view of the plot is shown over the enlarged view, and the box with broken line represents the part magnified for the contributors to cabbage vinegar. The labels indicate annotations of representative metabolites, and unannotated compounds are shown as U with retention time (min).

Table 2-8. Peaks of volatile compounds of vinegars annotated by SPME-GC / MS analysis.

t_R (min)	SI*	Annotation
3.7	97	DMS
5.5	97	Ethyl acetate
6.6	97	Ethanol
7.7	96	Diacetyl
8.8	95	Isobutyl acetate
10.6	95	DMDS
12.3	94	Isoamyl acetate
14.1	94	Allyl cyanide
15.3	96	Isoamyl alcohol
17.7	98	Acetoin
20.3	96	DMTS
20.4	97	Acetoin acetate
20.6	95	3-Hexen-1-ol
22.5	95	Furfural
25.1	96	Isobutyric acid
27.6	95	Isovaleric acid
30.0	94	Crotonic acid
30.6	96	4-Methylthiobutanenitrile
31.2	95	2-Phenethyl acetate
33.5	98	2-Phenethyl alcohol

*Similarity index calculated by the Shimadzu GCMS solution software.

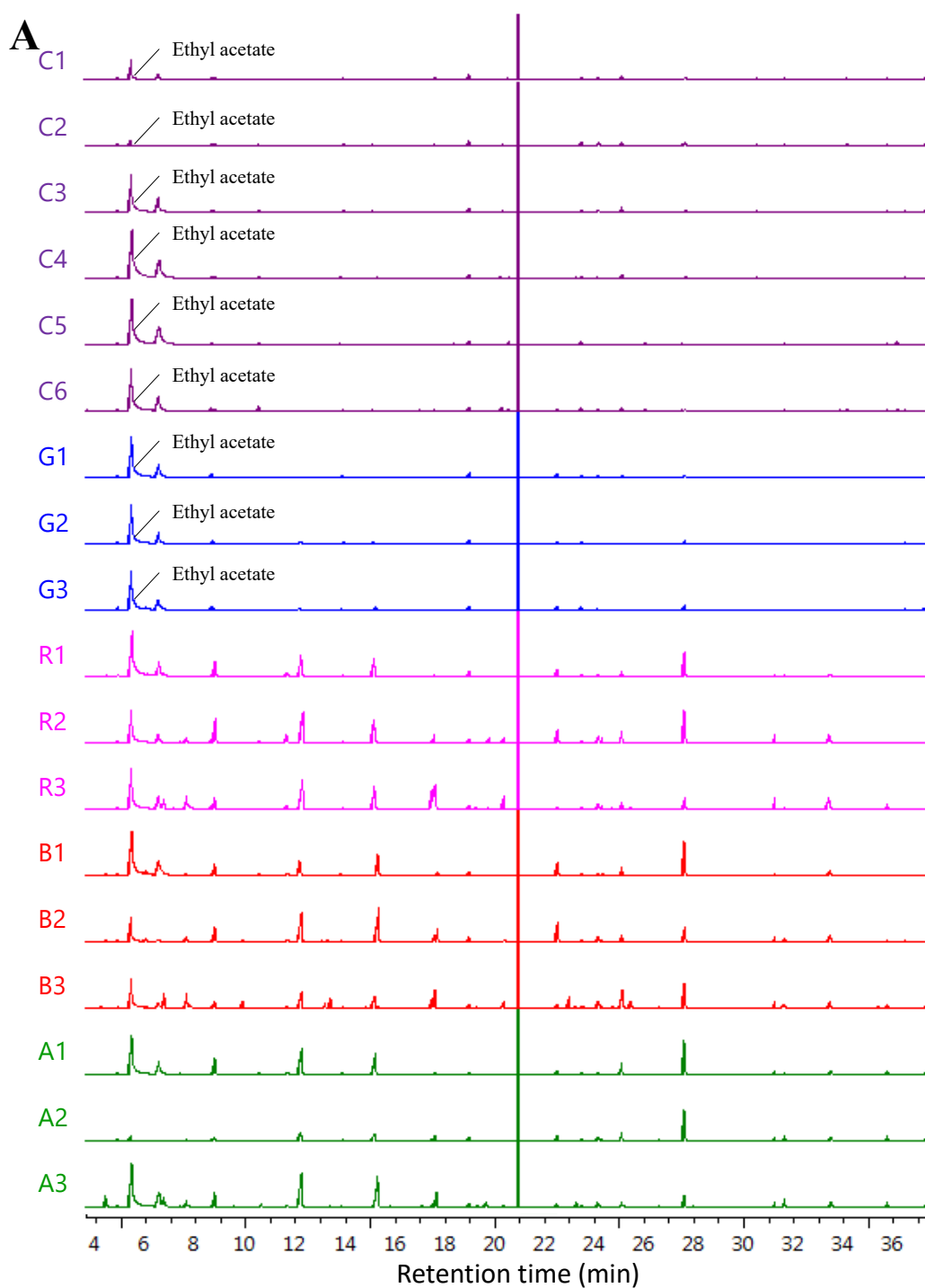


Fig. 2-9. Chromatograms of SPME-GC/MS analysis of vinegar samples. (A) Stacked raw chromatograms and (B) its magnified view of the same time range. The peak at 21.0 min is an artifact in data drawing due to the range of filament-off (21.0–22.5 min).

B

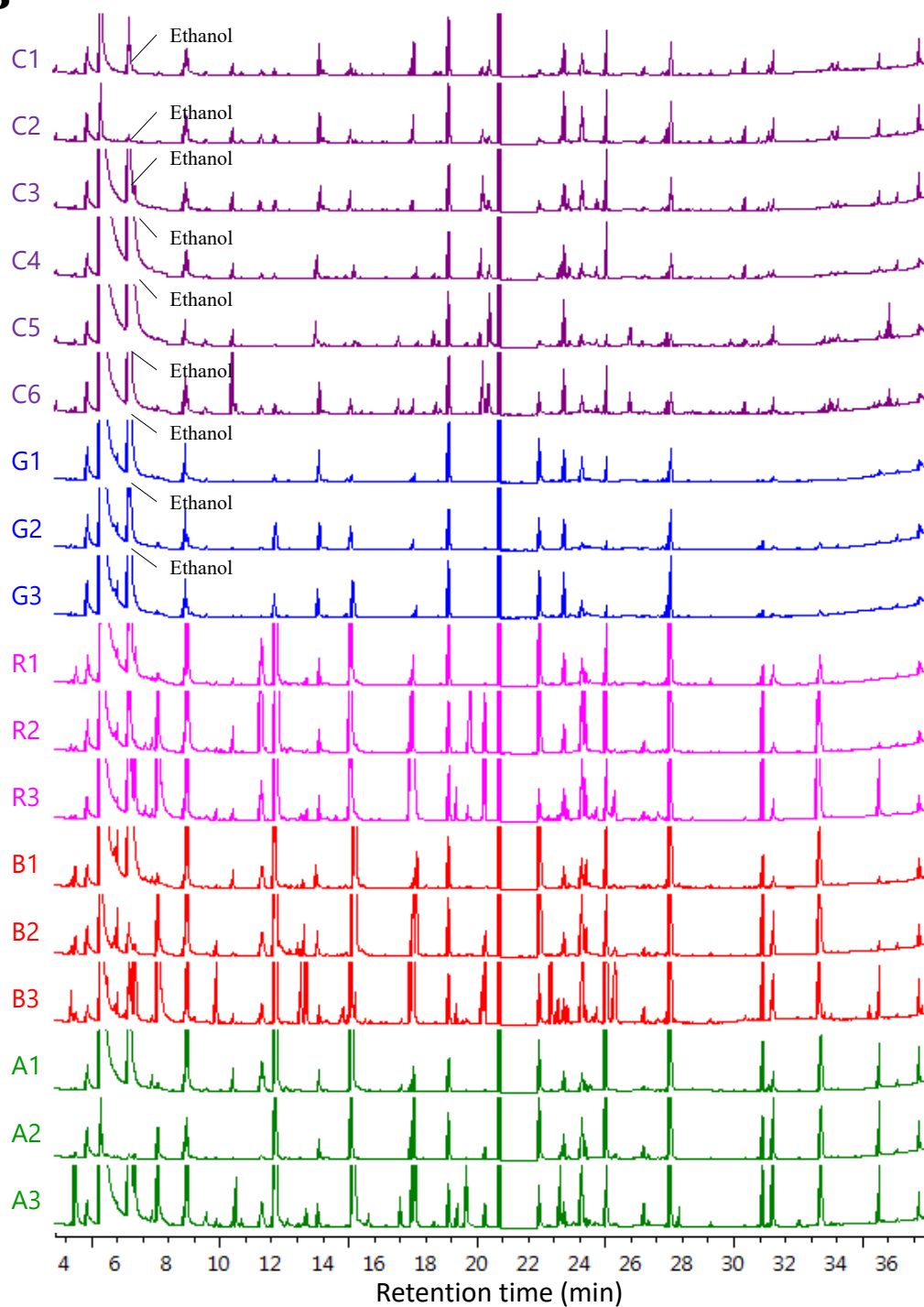


Fig. 2-9. (continued)

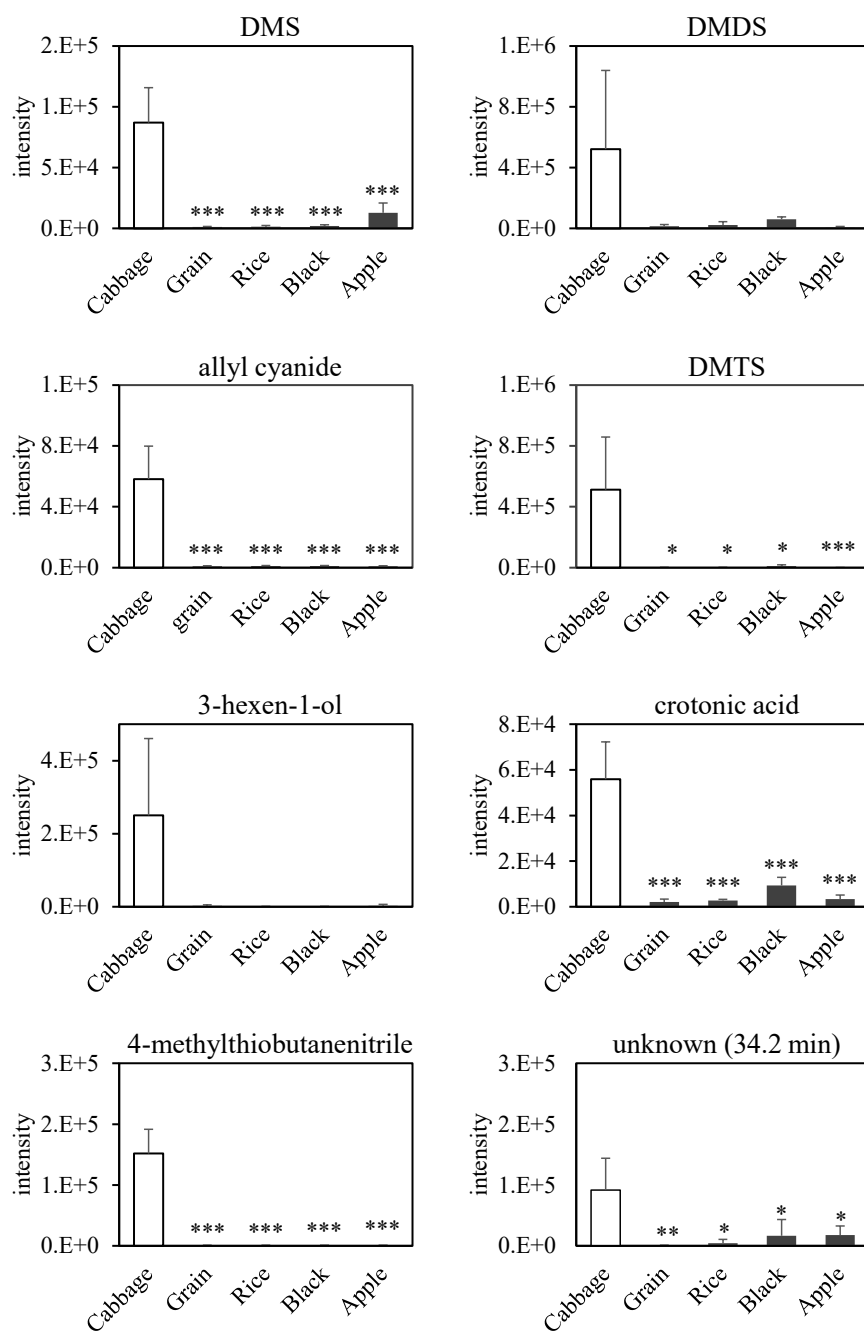


Fig. 2-10. Peak intensity of representative volatile metabolites characterizing cabbage vinegar samples. Data are shown as means \pm SD (cabbage vinegar, $n = 6$; other vinegars, $n = 3$). Asterisks denote statistical significance against cabbage vinegar (Dunnett's test; *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

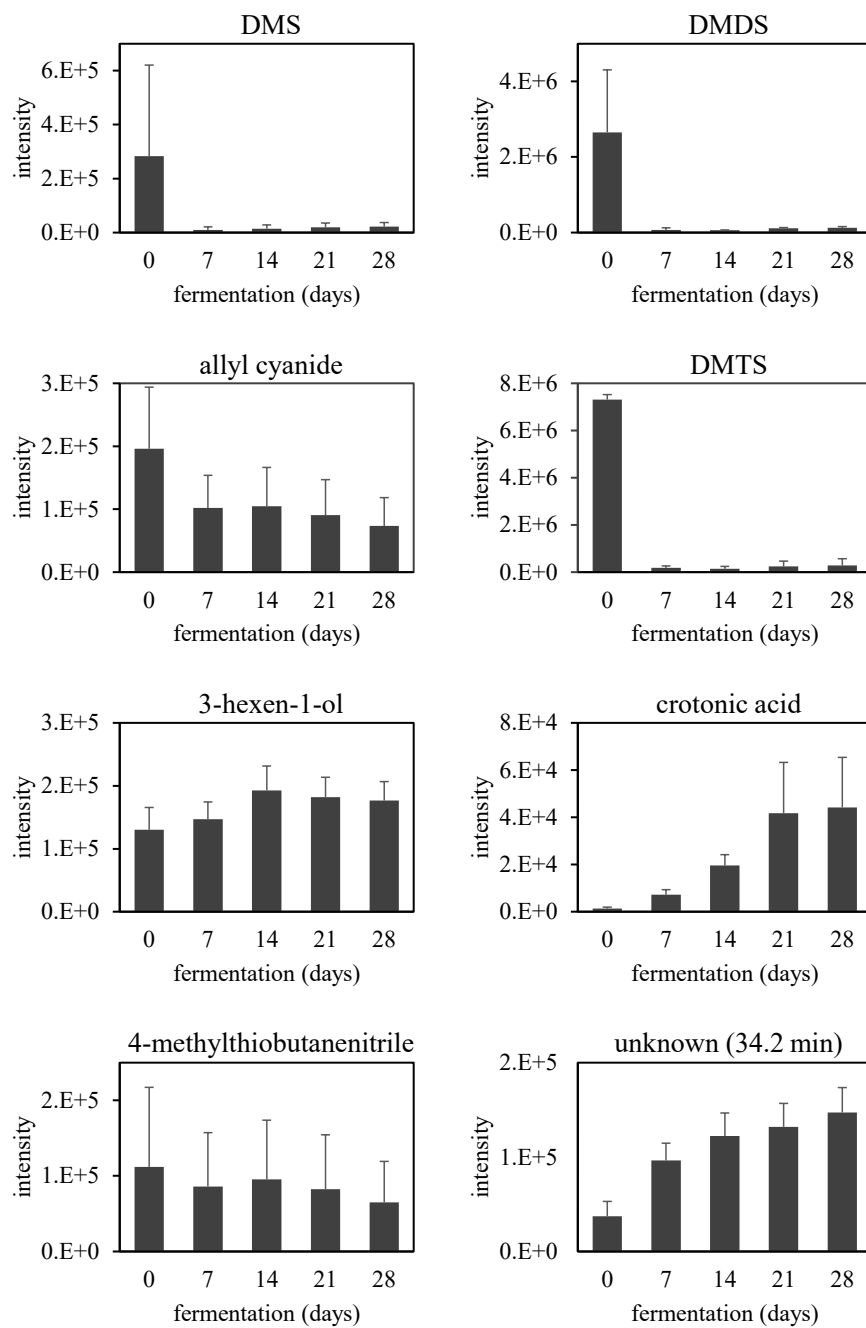


Fig. 2-11. Changes in the levels of representative volatile metabolites in cabbage vinegar during acetic acid fermentation. Data are shown as means \pm *SD* ($n = 3$).

第4項 要約

キャベツ酢の新たな特徴的な成分を見いだすために、様々な食酢の親水性低分子化合物を NMR で、揮発性成分を GC/MS でノンターゲット分析し、分析データを解析した。親水性低分子化合物の PCA の結果、キャベツ酢の特徴的な成分としてフルクトース、ピログルタミン酸、コリン、メチインを抽出することができた。揮発性成分の PCA の結果、キャベツ酢と穀物酢は同じクラスとなったが、OPLS-DA の結果、揮発性成分の違いが明らかとなり、その成分として、スルフィド類、ニトリル類、3-ヘキセノール、クロトン酸が抽出された。これらの成分の酢酸発酵過程での変化を確認したところ、ピログルタミン酸とクロトン酸は発酵により生成され、コリン、メチイン、スルフィド類、ニトリル類、3-ヘキセノールはキャベツ由来であることが分かり、これらの成分がキャベツ酢の独特な味と香りに寄与していることが示唆された。

第3節 ウメ抽出液の美白剤への応用

第1項 緒言

ウメには、血圧低下作用 [57, 58, 59]、ラジカル捕捉作用 [60]、抗酸化作用 [61]、抗骨粗鬆症活性 [62]、ピロリ菌生育阻害 [63]、血液凝固阻害 [64]、 α -グルコシダーゼ阻害および食後血糖上昇抑制作用 [65] などの様々な機能性が認められている。そのため、健康への寄与を期待して摂取される食品素材の一つとして古くから利用されてきた。しかし、ウメの更なる利活用拡大のためには、新たな分野への活用が望まれている。

しみやそばかすは、チロシンやドーパを基質としてチロシナーゼによりメラニン色素が生成・蓄積されることで起こる。このチロシナーゼ活性を阻害することでメラニン生成を抑制し、しみ・そばかすを予防し、美白の維持が期待でき、これを美白活性と言っている。その他にも美白に関係するものとして、抗酸化作用により紫外線によるダメージを抑制するもの、メラニン色素の排出を促すものなどがあるが、化粧品素材のスクリーニングでは、まずチロシナーゼ阻害活性を調べるが行われている。

前橋工科大学・食品機能開発工学研究室では、ウメ果実をホワイトリカーに浸漬して得られる抽出液に高い美白活性があることから、ウメを化粧品材料として利用するための研究を進めてきた [66]。これまでの研究で、この抽出液の美白活性は品種（白加賀、南高、紅の舞）に関わらず高く、美白活性成分はウメ種子に多く含まれるが、熟度が進むと種子から減少することが明らかになった [67]。しかし、この抽出液の美白活性にはホワイトリカーに含まれるアルコールの影響があること、化粧品としての利用を考えた場合にアルコールにアレルギーがある人もいることから、アルコールフリーの素材についての検討が必要であると考えた。

そこで本節では、ウメ種子から得られる水溶液の美白活性(チロシナーゼ活性阻害効果)を検証し、美白剤の原料としての利用について検討した。

第2項 実験方法

2-1 供試試料および試料調製

AdaBio 株式会社（群馬県高崎市）より供試された冷凍ウメ種子（群馬県高崎市産の青ウメ期の白加賀より得られたもの）を用いた。解凍したウメ種子をイオン交換水、あるいは

化粧品基材として一般的に使用されている 50% 1,3-ブチレングリコール水溶液 (1,3-Butylene glycol : BG) に重量比で 1 : 1.2 の割合で漬け、4 日後に種子を取り出し、ろ過してウメ種子抽出液を得た。なお、植物形態学的には種子と呼ばれる部分は外側の硬い内果皮と内果皮の中にある種子に分けられるが、本研究では分かりやすく内果皮と種子を合わせたものを種子とした。

2-2 チロシナーゼ活性阻害の測定

得られたウメ種子抽出液を試料とするとともに、代表的なチロシナーゼ阻害物であるコウジ酸 (1 mM) をポジティブコントロールとした。Table 2-9 に従って 4 種類の溶液 (A~D) を調製した。すなわち、0.1M リン酸緩衝液 (pH6.5) 2.5 mL、L-3,4-Dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 水溶液 1.0 mL、Dimethylsulfoxide (DMSO) 0.125 mL、試料 0.5 mL を加えてよく攪拌して 25°C で 15 分間保温後、チロシナーゼ酵素溶液 (500 unit/mL) 0.0625 mL を加えて混合した。25°C でチロシナーゼ酵素溶液を加えてから 5 分後、分光光度計 (島津、BioSpec-mini) を用いて A~D の各溶液の吸光度 (測定波長 475 nm) を測定し、下式を用いてチロシナーゼ阻害率を求めた。

$$\text{阻害率 (\%)} = 100 - \{ (C \text{ 吸光度} - D \text{ 吸光度}) / (A \text{ 吸光度} - B \text{ 吸光度}) \times 100 \}$$

チロシナーゼ活性測定 (A) : リン酸緩衝液 + L-DOPA 水溶液 + チロシナーゼ酵素溶液

ブランク測定 (B) : リン酸緩衝液 + L-DOPA 水溶液 + DMSO

チロシナーゼ活性阻害測定 (C) : リン酸緩衝液 + L-DOPA 水溶液 + DMSO * 試料液 +
チロシナーゼ酵素溶液

試料液測定 (D) : リン酸緩衝液 + L-DOPA 水溶液 + DMSO + 試料液

2-3 熱安定性試験

得られた水抽出液を 100°C で 3 分間加熱保持した。加熱前後の試料溶液のチロシナーゼ活性阻害を測定し、熱安定性を調べた。

2-4 統計解析

各実験で得られた値は、平均値 ± 標準偏差で示した。統計解析には EZR を使用した。

2 群間の比較は student の t 検定を用い、有意差検定を行った。有意水準は危険率 5%未満を有意な差と判定した。

Table 2-9. Measurement of whitening effects of Ume seeds extracts.

Solutin	mL	A	B	C	D
0.1M phosphate buffer (pH6.5)	2.5000	○	○	○	○
L-DOPA	1.0000	○	○	○	○
DMSO	0.1250	○	○	○	○
Ume seeds extracts (A, B:phosphate buffer)	0.5000	×	×	○	○
25°C, 15min incubation					
Tyrosinase	0.0625	○	×	○	×
Total	4.1875				

第3項 結果および考察

化粧品への応用における原材料としての安定性の確保を想定して、ウメ種子からイオン交換水やBG水溶液で得られた抽出液についてチロシナーゼ活性を調べたところ、いずれも高いチロシナーゼ活性阻害が見られた (Fig. 2-12)。また、試料液を100℃で3分間加熱処理しても阻害率に顕著な変化は認められず (Fig. 2-13)、活性成分が熱に安定であることが示唆された。

化粧品は多くの構成成分からなっている。そのため、植物エキスの抽出等では、水およびエタノールに任意の割合で混合でき、抗菌性を有するBGがよく使用される [68]。そのBGを用いて得た抽出液でも高い活性阻害を示したことから、化粧品として利用できることが明らかとなった。ウメと同じバラ科のアンズ種子エキスにおいても、高いチロシナーゼ活性阻害効果が認められていることから [69]、バラ科の果実種子には新しい美白化粧品としての可能性があると思われる。加えてアンズ種子エキスでは、フィラグリン産生促進による保湿作用 [70]、セラミド合成促進によるバリア改善作用 [71]、デンドライト伸長抑制による色素沈着抑制作用 [72] やアンドロステノン生成抑制による男性体臭抑制作用 [73] が認められていることから、ウメ種子においても同様にチロシナーゼ活性阻害による美白効果以外にも様々な効能効果が期待される。

イオン交換水で得た抽出液も高いチロシナーゼ活性阻害を示したことから、使用目的に応じて溶媒を使い分けることができる。すなわち、化粧品だけに留まらず食品への応用も可能である。チロシナーゼは食品の褐変にも関与することが知られている [74]。すなわち、ウメ抽出液による食品の褐変抑制が期待でき、食品への活用など様々な場面に応用可能な素材であることが考えられる。

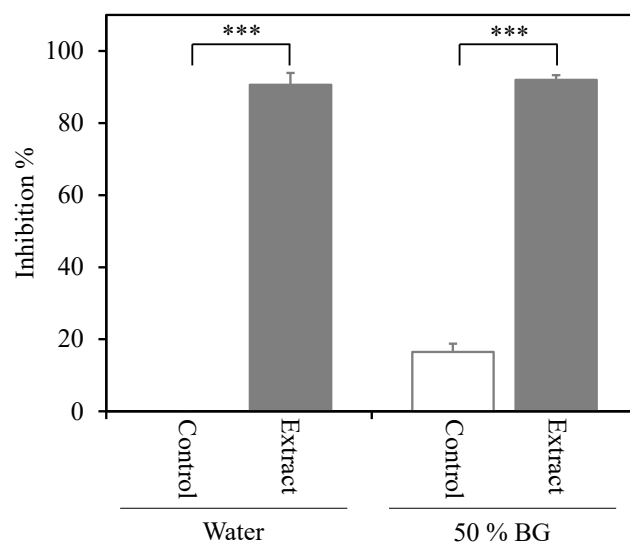


Fig. 2-12. Inhibitory effect of each extract. Data are shown as means \pm SD (n = 5). Asterisks denote statistical significance against Controls for each extract (Student's *t*-test; ****p* < 0.001, ***p* < 0.01, **p* < 0.05).

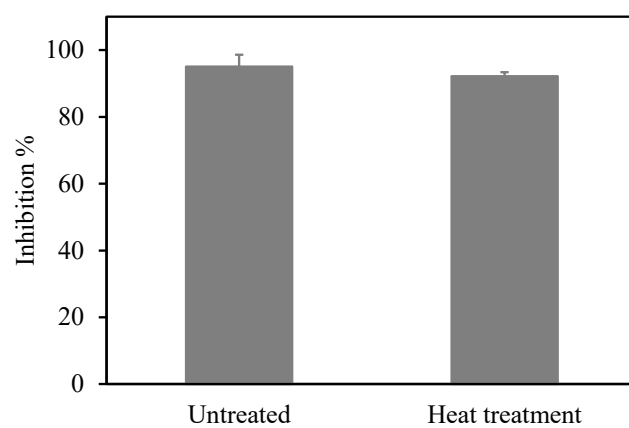


Fig. 2-13. Inhibitory effect of Ume extracts on tyrosinase activity after heat treatment. Data are shown as means \pm SD (n = 3).

第4項 要約

ウメの新たな活用方法として、化粧品素材への応用を目的としてウメ種子から得られる水溶液の美白効果を調べ、美白材素材としての利用を検討した。ウメ種子からイオン交換水、あるいはBG水溶液を用いて得た抽出液でも高いチロシナーゼ活性阻害が見られた。また、ウメ種子抽出液の加熱処理を行っても、チロシナーゼ阻害活性は高いままで安定であった。このことから、ウメ種子抽出液の新たな活用方法として、美白化粧品への応用が可能であることが示唆された。

なお、本節により開発したウメ種子抽出液を配合した美容液および洗顔料は株式会社コスモビューティー（<https://www.cosmobeauty.co.jp/>）で製造され、ROLL SARA（<http://rollsara.com/>）から上市された（Appendix 2）。



Appendix 2. Serum and facial cleansers containing Ume extracts.

第3章 機能性評価などによる高付加価値化

第1節 キャベツ酢がマウス摘出腸管機能に及ぼす影響

第1項 緒言

市販されている食酢のなかには、山ブドウ、ハスカップ、ザクロ、ブルーベリー等の様々な原料を用いて酢酸発酵を行ったものがあり、原料に由来する多様な物質により酢酸の機能を強化し、付加価値の高い食酢が開発されている [75]。そんな中、前章において、群馬県の特産農産物であるキャベツを原料とした新たなキャベツ加工品としてキャベツ酢を開発し、その成分的特徴を解明した。キャベツは一般食材として広く利用されるだけでなく、胃腸薬配合成分である MMSC を比較的多く含むことから、健康効果も注目されており、糖尿病、便秘、止血、虚弱体質、老化防止、発がん抑制作用などの機能性についても数多く報告されている [76]。しかし、キャベツ酢の機能性については未検討であり、他の食酢との差別化を図るためには機能性の評価が必要である。

食酢は、種々の穀類や果汁等からアルコール発酵を行うことにより酒を造り、さらに酢酸発酵を行ってアルコールから酢酸を造る。そのため、食酢の主成分は酢酸となる。この酢酸は、エネルギーとなるだけでなく、一部はアセチル CoA から脂肪酸、ステロイドなどを含む多くの生体構成成分の材料となる。このように酢酸は脂質、糖質代謝の重要な中間代謝産物を経ることから、様々な生体調節機能を発現する [77]。そのため、食酢は調味料として利用されるだけでなく、健康効果を期待した機能性飲料としても注目されている。食酢の代表的な機能性としては、糖尿病、高血圧、高脂血症、骨粗しょう症などの生活習慣病予防効果が挙げられる [78]。それら機能性の評価は、実験動物やヒトにおいて、細胞、組織、個体と様々なレベルで検討が行われている。摂取された食品成分の多くは腸管で消化、吸収されて体内に取り込まれるが、摂取した食酢が消化・吸収・運動といった腸管機能に対してどのような影響を与えるか、その詳細はよく分かっていない。

そこで本節では、キャベツ酢の機能性を評価するため、マウスの摘出腸管を用いて、腸管機能に及ぼす影響を検討した。

第2項 実験方法

2-1 実験動物および腸管の摘出

5週齢以降の雄性 ddY マウス（日本 SLC(株)）から摘出した小腸を実験材料として用いた。マウスをイソフルラン麻酔下で開腹し、横隔膜穿孔により安楽死させた後に小腸を摘出した。消化・吸収の実験を行う場合にはグルコースを含まない Ringer 緩衝液（NaCl:140 mM、KCl:5 mM、CaCl₂:2 mM、MgCl₂:1 mM、HEPES-Tris:10 mM、pH7.4）を、運動の実験を行う場合には Krebs 緩衝液（NaCl:117 mM、KCl:4.7 mM、CaCl₂:2.5 mM、MgCl₂:2.5 mM、NaH₂PO₄:1.2 mM、NaHCO₃:2.5 mM、グルコース:11.5 mM、pH7.4）を満たしたホールピペットの先端を空腸の口腔端に挿入し、腸内に各緩衝液を自然落下にて流し込むことで腸管内部を洗浄した後に実験に供した。なお本研究は、前橋工科大学動物実験取扱規定の下、動物実験計画書承認番号 AN15-007 において実施した。

2-2 試料調製

キャベツ酢（酸度 4.5%）の pH は 3 程度であるが、小腸には中和されて届く。そこでキャベツ酢を蒸留水で 2 倍希釈して NaOH 水溶液で pH7.4 に調整したものをキャベツ酢サンプルとした。実際に食酢を飲む時の酸度は高くても 1.0%程度のため、腸管標本に作用させるサンプルの酸度は 0.0225～1.0%とした。比較として穀物酢（酸度 4.3%）および酢酸水溶液（酸度 4.5%）についても同様に調製して使用した。

2-3 糖質分解および糖吸収の測定

摘出した小腸は、上部・中部・下部に分け、各部をさらに 3 等分した。切り分けたそれぞれの小腸の粘膜側と漿膜側を反転させた反転腸管標本を作製し（Fig. 3-1）[79]、各種濃度のサンプルと 0.5%デンプンあるいは 10 mM グルコースを含む Ringer 緩衝液に浸漬した。95%O₂+5%CO₂ 通気下、37℃でインキュベートし、20・40・60 分後の粘膜側および漿膜側の各液中のグルコース濃度をグルコース CII-テストワコー（和光純薬工業(株)）を用いて測定した。なお、糖質分解によって生成されるグルコース量、腸管にて吸収されるグルコース量は腸管標本の長さにより異なるため、粘膜側および漿膜側の液量から各標本におけるグルコースの生成量（mg）あるいは吸収量（mg）を算出し、腸管 1 g 当たりの量（mg / g-intestine）に換算・比較した。

2-4 腸管運動の測定

腸管運動の測定は、マグヌス法 [80] にて行った。すなわち、摘出した小腸を 2~3 cm に切り出し、95%O₂+5%CO₂ 通気下、37°C に保温した Krebs 緩衝液を入れたマグヌス管にセットした。セットした小腸標本の一端をトランスデューサーに接続し、小腸の収縮・弛緩による変化をレコーダーに記録した (Fig. 3-2)。なお、マグヌス管にセットした小腸標本は自律的に運動 (収縮・弛緩) を起こすが [81]、その頻度や大きさは標本により異なる。そこで本実験では、小腸標本をマグヌス管にセット後、自律的な運動が安定したところで、小腸に存在する平滑筋の収縮を誘導する伝達物質であるアセチルコリン (Acetylcholine : ACh) を添加 (作用濃度 0.1 mM) することで小腸の運動 (収縮) を誘導した。そして、その運動に対する各種サンプル添加の影響を、以下の手順で評価した。

- ① 小腸標本をセットしたマグヌス管内に ACh を投与して小腸の収縮を確認した後、Krebs 緩衝液で小腸標本を洗浄して残存する ACh を除去する。
- ② 腸管洗浄後に各種サンプルを各作用濃度となるよう含んだ Krebs 緩衝液に置き換え、その環境で ACh を投与して小腸の運動に対する影響を調べる。
- ③ 小腸標本を Krebs 緩衝液で洗浄後、再び ACh を投与して小腸の収縮を調べる。なお、ACh 投与による小腸の収縮の大きさは、小腸標本の長さによって異なる。そこでサンプル投与前に観察された ACh による収縮 (①) の大きさを 100% とし、サンプル存在下 (②) あるいはサンプル除去後 (③) に得られた ACh による収縮の大きさを相対的に表して比較することで、各種サンプルの影響を評価した。

2-5 統計解析

各実験で得られた値は、平均値 ± 標準偏差で示した。統計解析には、EZR を使用した。Dunnett の多重比較検定を用い、有意差検定を行った。有意水準は危険率 5% 未満を有意な差と判定した。

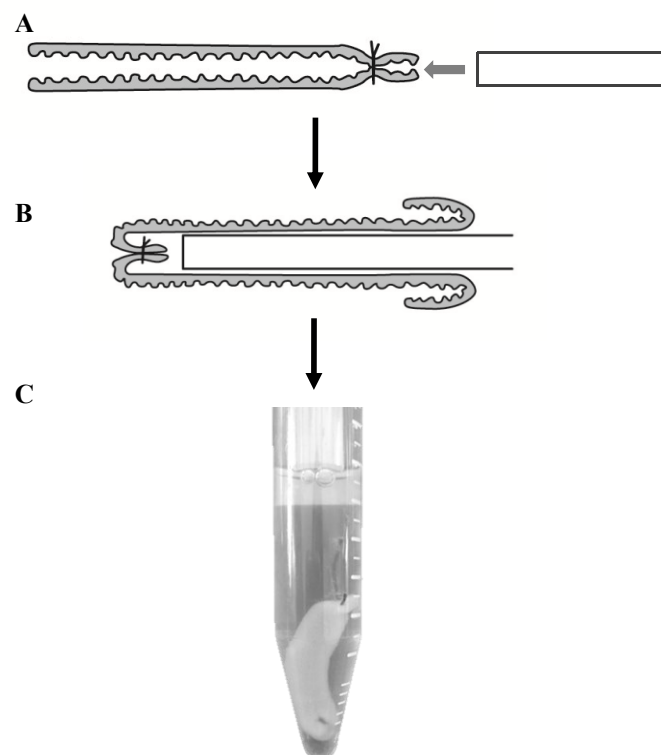


Fig. 3-1. Preparation of everted sac. A, Isolated small intestine; B, Eversion; C, Everted sac.

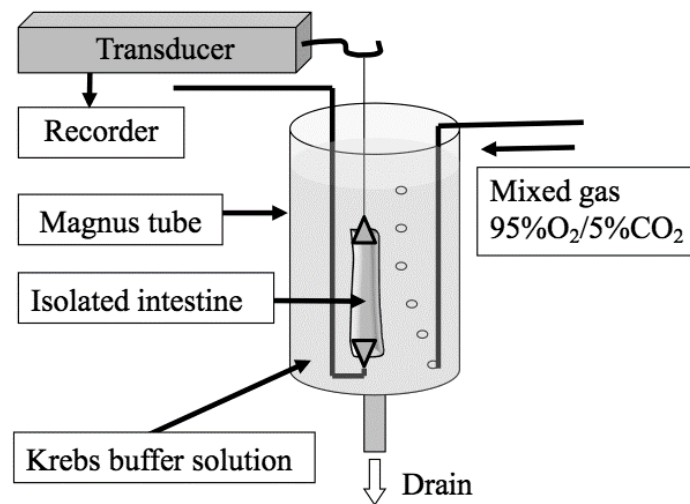


Fig. 3-2. Schematic illustration of the Magnus method.

第3項 結果および考察

3-1 糖質分解に及ぼす影響

グルコースは含まずデンプンを含んだ Ringer 緩衝液に、摘出した小腸から作製した反転腸管標本を浸漬させるとグルコースが検出されたことから、小腸でもデンプンを分解する糖質分解活性を有していることが示された。腸管 1 g あたりで生成されたグルコース量が大きい方が糖質分解活性は高いと評価できるので、この糖質分解活性を腸管部位別に比較したところ、小腸の上部の方が中部・下部に比べ高かった (Fig. 3-3,4,5)。食酢の機能性の一つとして、食後の血糖値上昇抑制が挙げられるが [82]、そのメカニズムとして食酢成分による糖質分解抑制が考えられた。本実験にて各種酸度の各種サンプルを含む状態で、組織レベルで糖質分解活性に及ぼす影響を調べたところ、小腸上部において穀物酢の酸度 0.5%、中部においてキャベツ酢の酸度 0.09%、0.18%および穀物酢の 0.25%、0.5%でデンプンから生成されたグルコース量に有意な差が見られ、キャベツ酢により糖質分解が抑制される可能性が示唆されたが、それ以外の部位や酸度、サンプルの違いによる有意な差は見られず、糖質分解に及ぼす影響は判然としなかった (Fig. 3-3,4,5)。

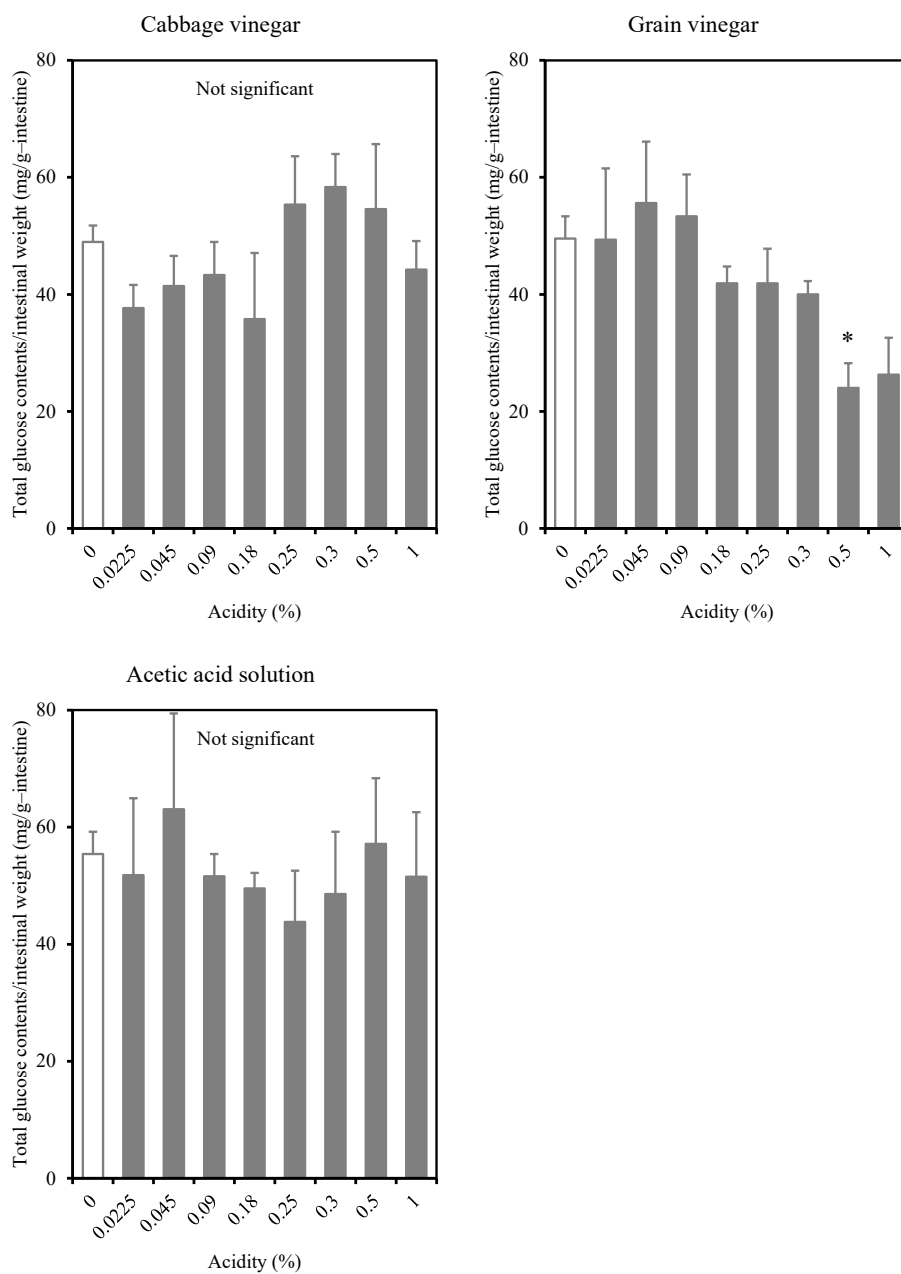


Fig. 3-3. Effects of vinegar application on starch digestion (Upper part). Data are shown as means \pm SD (n = 3). There was no significant difference against acidity 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

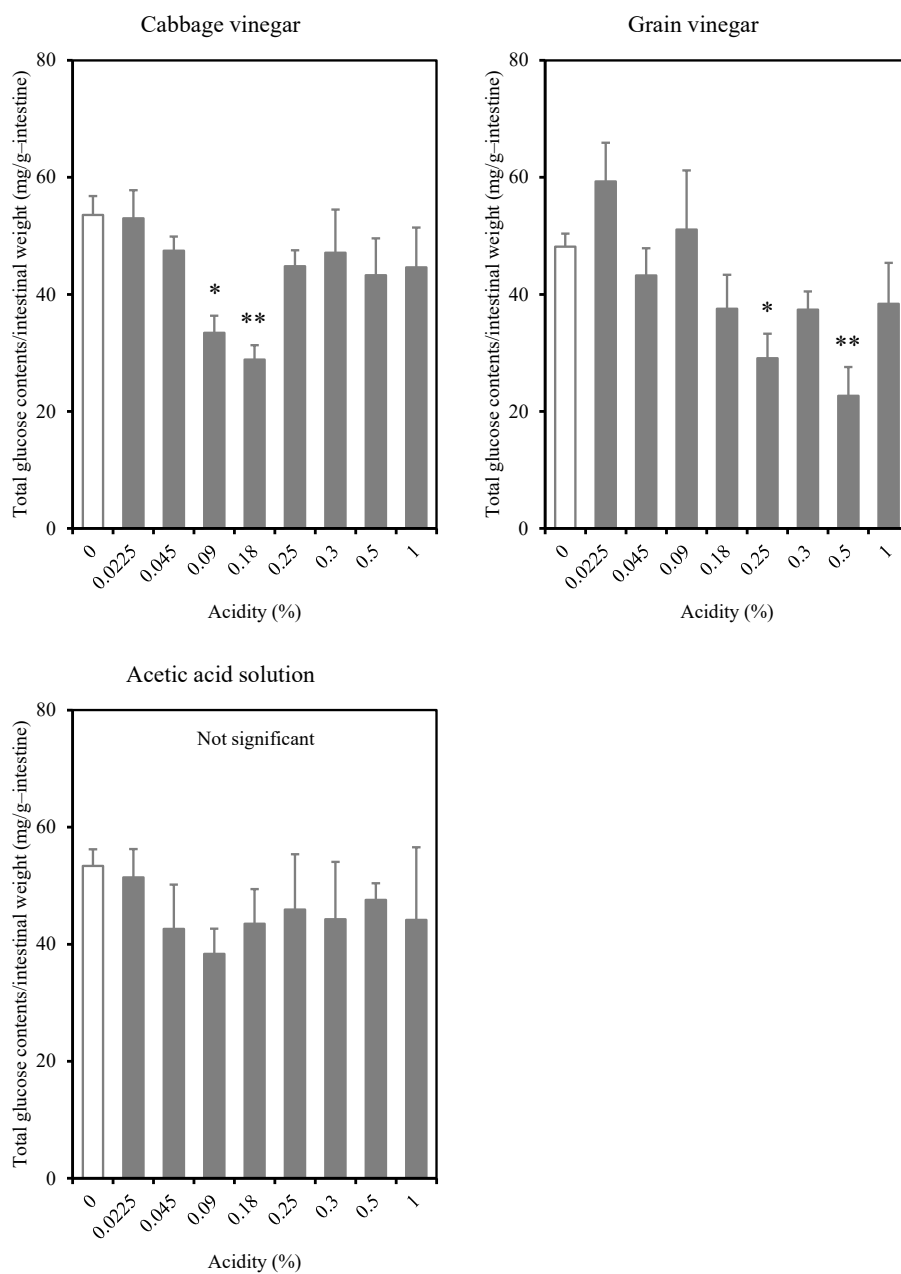


Fig. 3-4. Effects of vinegar application on starch digestion (Middle part). Data are shown as means \pm SD (n = 3). There was no significant difference against acidity 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

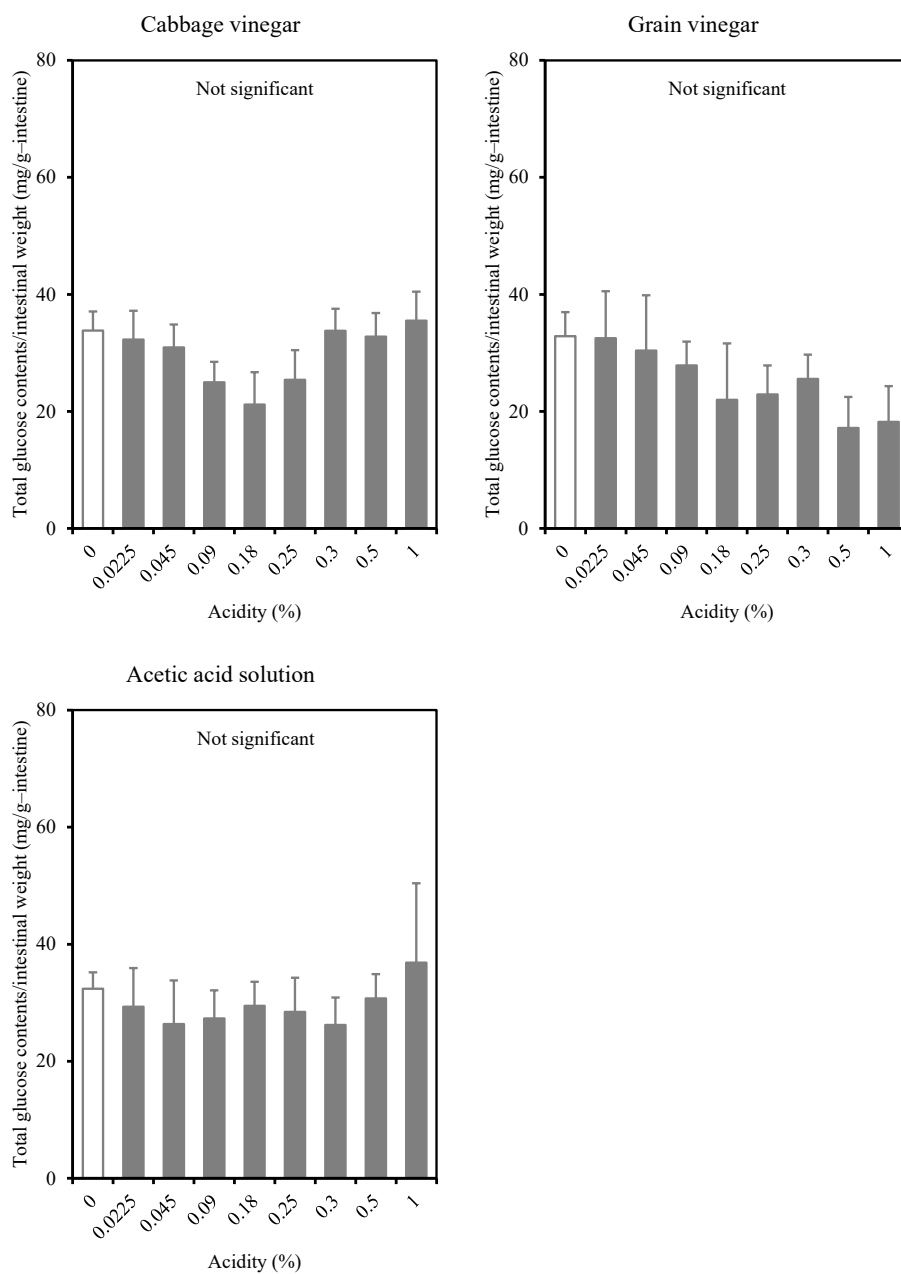


Fig. 3-5. Effects of vinegar application on starch digestion (Lower part). Data are shown as means \pm SD (n = 3). There was no significant difference against acidity 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

3-2 糖吸収に及ぼす影響

糖の吸収も腸管部位により異なり、小腸の上部の方が他の部位に比べて吸収量が多いことが一般的に知られているが、摘出した小腸から作製した反転腸管標本においてもグルコースの吸収量は小腸上部で多かった (Fig. 3-6,7,8)。粘膜側から漿膜側へのグルコースの吸収量は、グルコースを含むリンガー液に反転腸管標本を浸漬させる時間が長くなると増加した。しかし各サンプルが存在する状態では、いずれにおいても反応時間およびサンプルの濃度依存的にグルコースの吸収量は減少する傾向が見られた。すなわち、食酢の主成分である酢酸が小腸における糖吸収を直接的に抑制する主要因であることが示された。Yusoff らもニッパヤシ酢の水抽出物が反転腸管標本において糖吸収を抑制し、その水抽出物には酢酸が含まれていたことを報告している [83]。そして、この酢酸による小腸における糖吸収抑制が、血糖値上昇抑制の一因になっていることが本実験により示唆された。各サンプルのグルコース吸収に及ぼす影響を比較すると、小腸上部ではキャベツ酢の酸度 0.3%および 0.7%の反応 60 分後において、中部では酸度 0.3%の反応 40 分後並びに 60 分後および 0.7%の反応 20 分後、40 分後並びに 60 分後で顕著なグルコース吸収抑制が見られた (Fig. 3-6,7,8)。キャベツ酢による糖吸収抑制効果がより長い時間経過で現れることについて、その原因については現時点では不明であるが、糖吸収抑制の観点から考えると、消化に時間が掛かる食物を摂取する際にはキャベツ酢摂取が有用であると思われた。キャベツ酢が穀物酢や酢酸水溶液と異なる効果を示したことから、キャベツ酢中には酢酸以外にも糖吸収抑制に関わる成分が含まれていると考えられた。そこで、その検証のため以下の試験を行った。すなわちキャベツ酢の酸度 0.3%および 0.7%に相当する量のキャベツ搾汁を粘膜側の Ringer 緩衝液に含有させ、60 分後の漿膜側に吸収されたグルコースの量を測定した。その結果、小腸部位やキャベツ搾汁量による差は見られず (Fig. 3-9)、キャベツ搾汁には糖吸収抑制に関与する成分はなく、酢酸発酵過程で生成された成分が関与している可能性が示唆された。酢酸以外の成分の特定は今後の課題である。なお、本実験のグルコース濃度 (10 mM) は糖吸収の実験ではよく使われる濃度であるが、日常の食事を考えると、より高い濃度についても検討は必要と思われた。また、酢酸が小腸において糖吸収を抑制するメカニズムについても不明であるが、グルコースはナトリウム依存性グルコーストランスポーターにより [84]、酢酸はナトリウム依存性モノカルボン酸トランスポーターにより [85]、それぞれ吸収されることが知られており、それらが関与している可能性が考えられる。

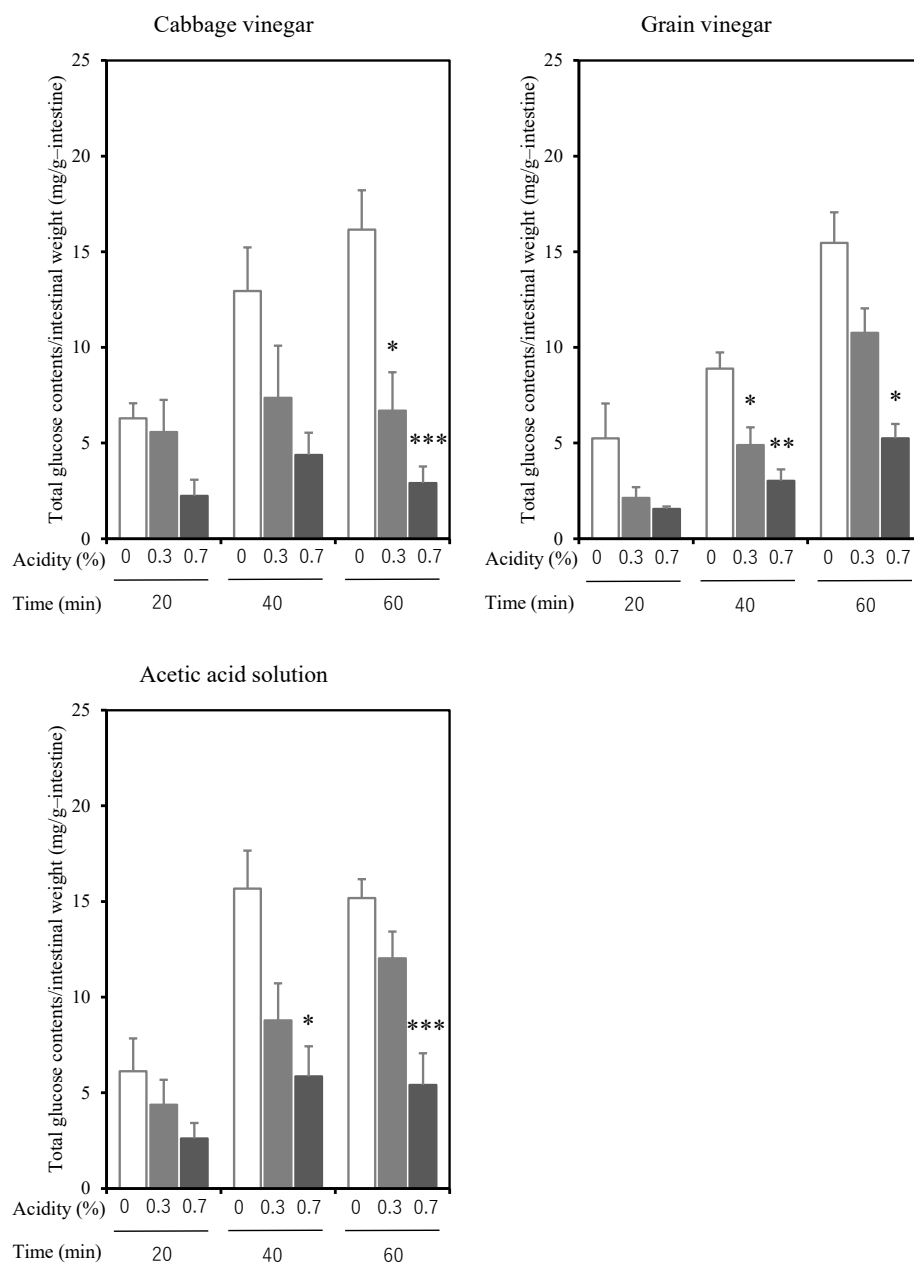


Fig. 3-6. Effects of vinegar application on glucose absorption (Upper part). Data are shown as means \pm SD (n = 3). Asterisks denote statistical significance against acidity 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

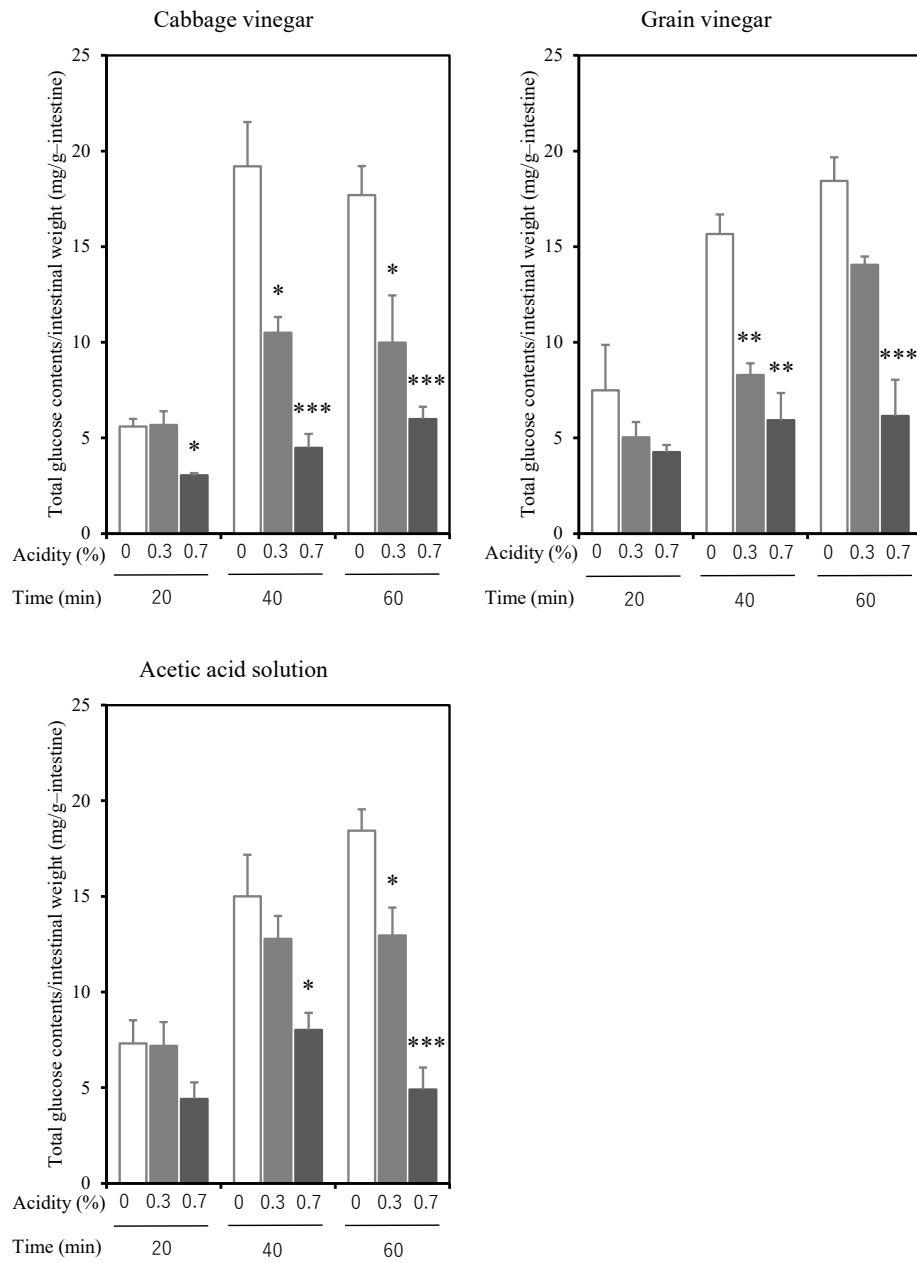


Fig. 3-7. Effects of vinegar application on glucose absorption (Middle part). Data are shown as means \pm SD (n = 3). Asterisks denote statistical significance against acidity 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

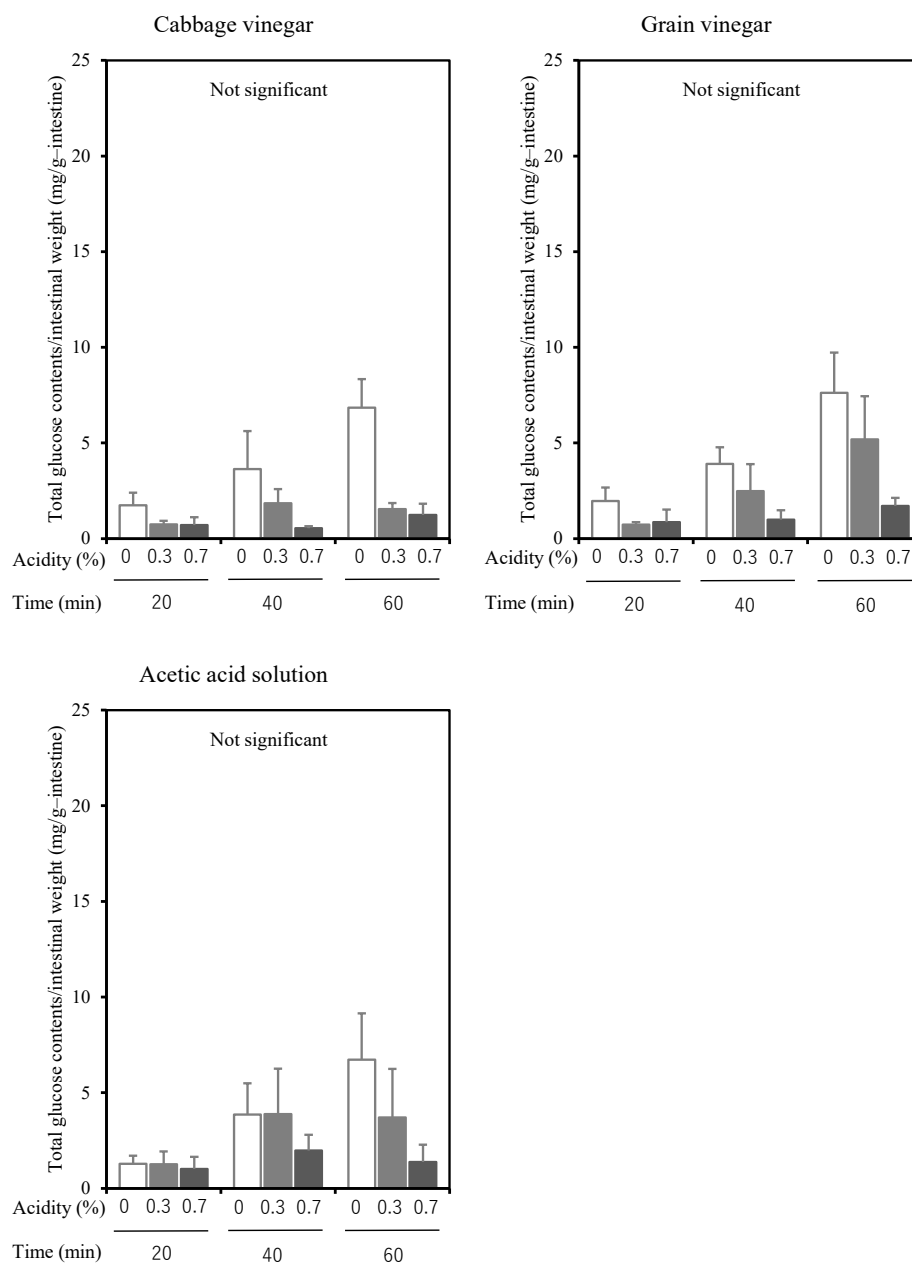


Fig. 3-8. Effects of vinegar application on glucose absorption (Lower part). Data are shown as means \pm SD (n = 3). Asterisks denote statistical significance against acidity 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

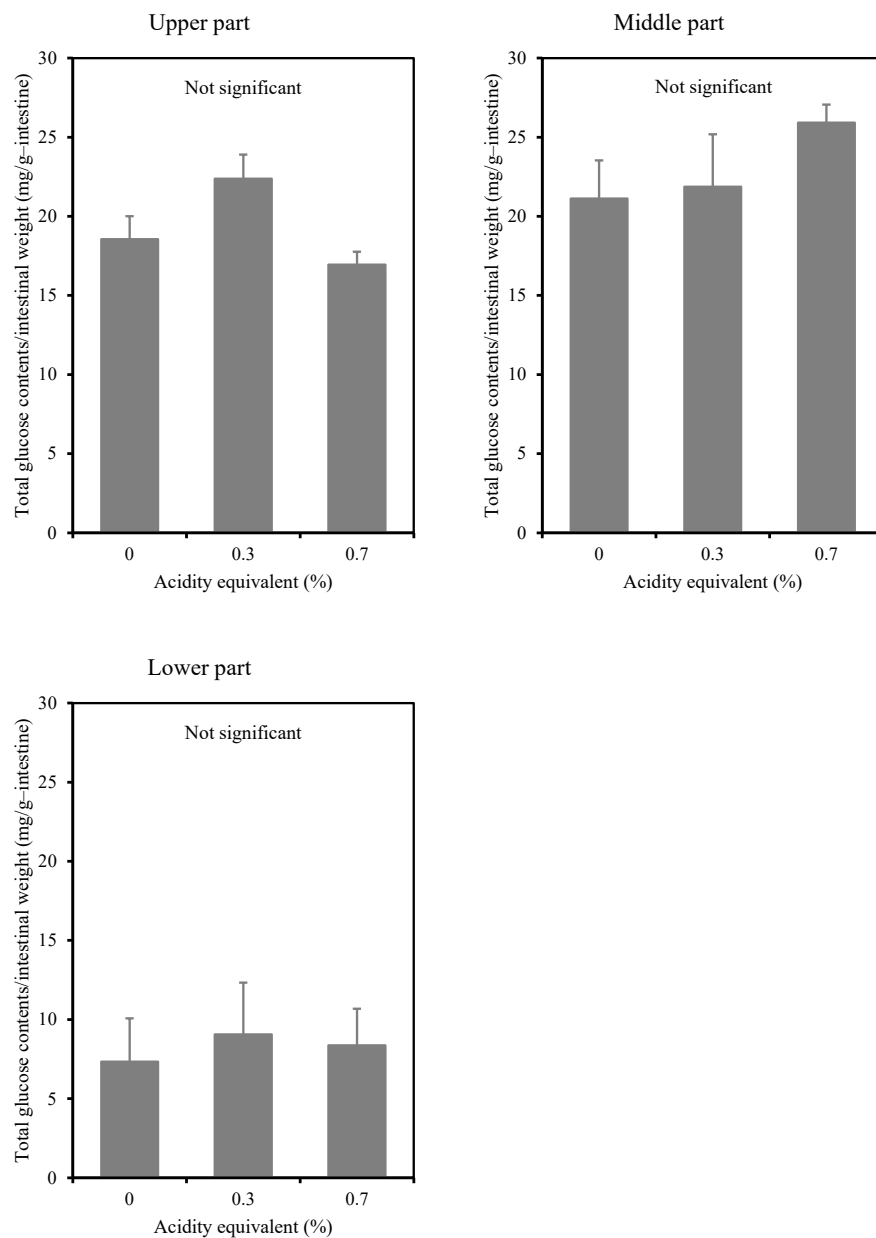


Fig. 3-9. Effects of cabbage juice application on glucose absorption. Data are shown as means \pm SD ($n = 3$). Asterisks denote statistical significance against acidity equivalent 0% (Dunnett's test; *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

3-3 腸管運動に及ぼす影響

腸管には管に沿って走る縦走筋と管を取り巻くように走る輪走筋があり、その両者の動き（収縮・弛緩）によって摂取した内容物を混和して消化を助けると共に、内容物を先に送るように働く。そこで本研究では、腸管運動に各種サンプルが及ぼす影響について調べた。結果の一例として、キャベツ酢存在下の影響を調べた結果を Fig. 3-10 に示した。ACh により誘導された小腸の収縮 (Fig. 3-10 ①) は、キャベツ酢を作用濃度として 1% となるよう含んだ Krebs 緩衝液環境下でも起こったが、収縮の大きさは小さくなった (Fig. 3-10 ②)。すなわち、キャベツ酢存在下で ACh による小腸の収縮は抑制された。しかし Krebs 緩衝液で腸管を洗浄後に再び ACh を投与すると小腸は直ちに収縮し、収縮の大きさはキャベツ酢存在前と同程度であった (Fig. 3-10 ③)。このことから、キャベツ酢存在下での ACh による小腸の収縮抑制は一時的なものであることが示された。キャベツ酢以外の穀物酢、酢酸水溶液の場合も、そして小腸の他の部位においても、キャベツ酢と同じような一時的な小腸の収縮抑制が観察された。そこでサンプル存在下における ACh による小腸の収縮抑制の程度について、サンプル濃度を変えたときの結果をまとめ、得られた結果を Fig. 3-11 に示した。各サンプルの酸度 0.25% の収縮抑制が同じ程度だったため、それを対照に各酸度の値を比較したところ、キャベツ酢では 0.5%、0.7%、1%、穀物酢および酢酸水溶液では 0.7%、1% で有意に低かった。キャベツ酢は他のサンプルに比べ低酸度で収縮抑制が示された。食酢の違いにより作用酸度の違いがあったものの、いずれにおいても酸度依存的に小腸の収縮は抑制され、収縮抑制の主要因はやはり酢酸であると思われた。なお、今回の腸管運動に及ぼす影響を調べる実験は、摘出した小腸標本全体を酢酸環境下に置いており、小腸の粘膜側だけに酢酸を含む各サンプルを作用させている訳ではないので、酢酸が小腸平滑筋全体に何らかの影響を与えて収縮が阻害された可能性があると思われた。

ラットにおいて酢酸を含むグルコース溶液あるいは酢酸を含まないグルコース溶液を投与したところ、酢酸を含む溶液の場合には胃内のグルコース残留量が多かったこと [86]、またヒトを対象とした実験においても酢酸により胃内滞留時間の延長が認められている [87]。これら結果の原因として、酢酸により胃の運動が抑制されたことが考えられた。酢酸存在下で小腸の収縮が抑制されたという結果は、この胃における運動抑制と同じようなことが小腸でも起こることで内容物の消化や輸送の遅延となり、結果的に食後の血糖値上昇抑制にも関係していると考えられた。

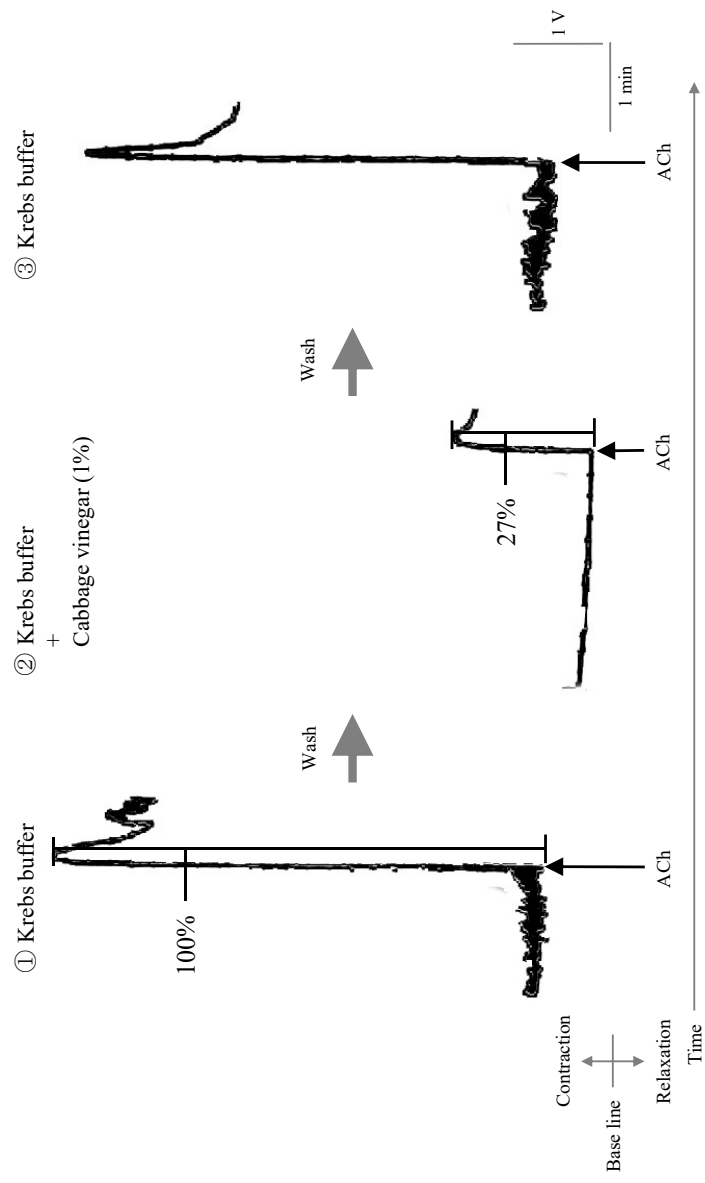


Fig. 3-10. Effects of vinegar application on contractions of the small intestine (Upper part). ACh, Acetylcholine (0.1 mM).

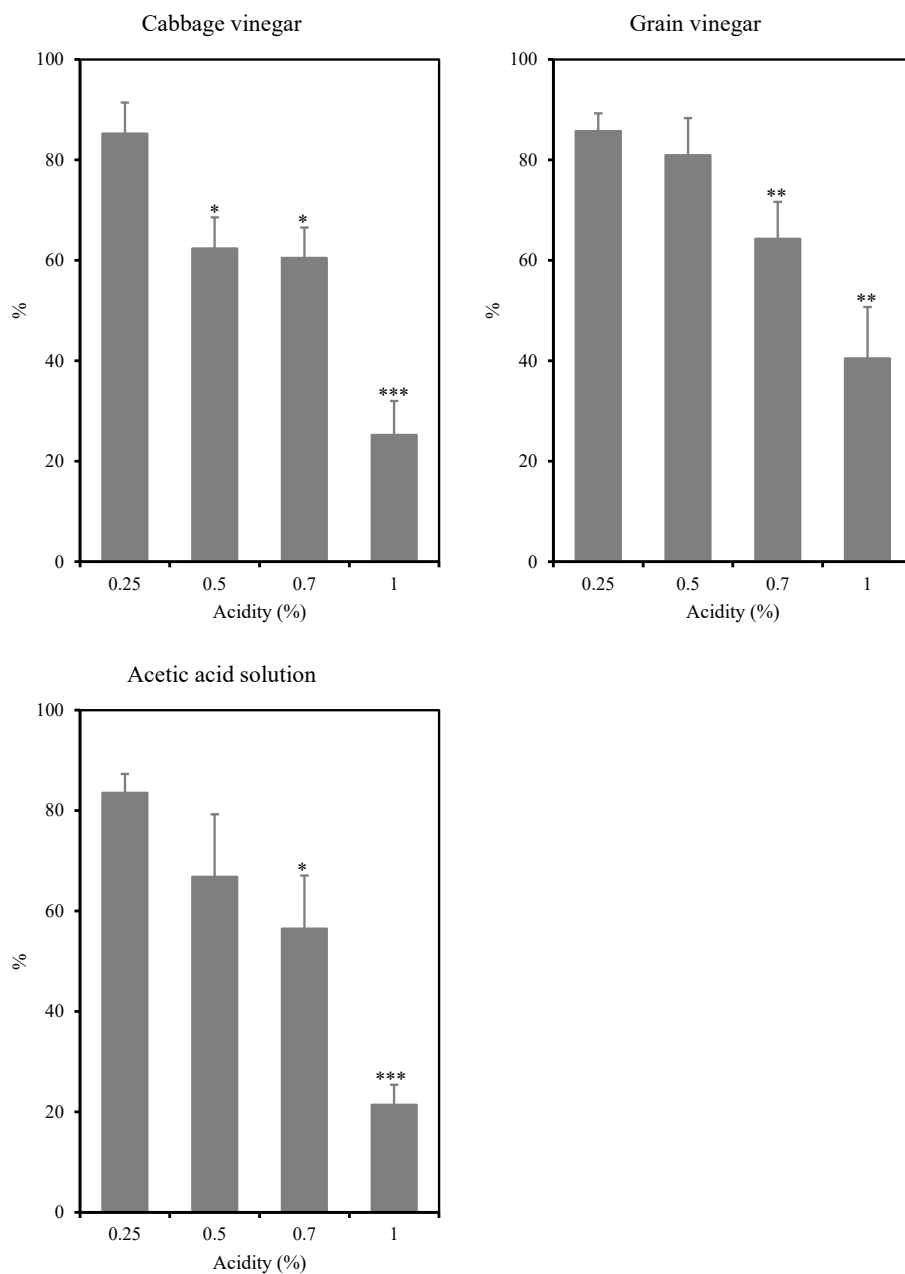


Fig. 3-11. Effects of vinegar application on contractions of the small intestine by ACh. Data are shown as means \pm SD (n = 6). Asterisks denote statistical significance against acidity 0.25% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

第4項 要約

キャベツ酢の機能性を評価するため、マウスの摘出腸管を用いて腸管機能に及ぼす影響を検討した。糖質分解はデンプンから生成されるグルコース量、糖吸収は粘膜側から漿膜側へのグルコース吸収量を指標とした。その結果、小腸中部においてキャベツ酢、また比較として用いた穀物酢の一部の酸度において糖質分解に及ぼす影響は見られたが、判然としなかった。糖吸収はいずれのサンプルでも酸度依存的にグルコース吸収は抑制され、特にキャベツ酢ではより長い時間経過で顕著な効果が見られた。腸管運動に及ぼす影響は各種サンプル存在下では ACh による収縮は酸度依存的に抑制されたが、サンプル除去後の収縮は元に戻り、抑制作用は一時的であることが分かった。これらの結果は、主に酢酸により起こることを示したが、キャベツ酢に含まれる他の成分が腸管機能に影響を及ぼしていることも示唆された。なお、食酢による糖吸収抑制は、小腸の運動抑制による消化の遅延が腸管レベルで起こることが、食酢の機能として知られている血糖値上昇抑制の要因となっていることを示唆するものであった。

第2節 ウメ種子抽出液のチロシナーゼ活性阻害成分の特定および糖吸収に及ぼす影響

第1項 緒言

第2章において、ウメ種子抽出液に高いチロシナーゼ活性阻害があることが示され、(株)コスモビューティーから美白剤素材として発表され、この抽出液を原料の一部として採用した化粧品が商品化された。しかし粗精製物の場合は様々な成分が含まれていることから、まれにアレルギー原因物質以外でも皮膚反応を起こすなど予期せぬことが起こる可能性がある。このような可能性を少しでも低減させるためには、どのような成分がチロシナーゼ活性阻害を有しているのかを明らかにすることにより、化粧品素材としてより高付加価値なものとすることができると考えられる。また、ウメのような農産物は品種や栽培条件によって含有する成分が大幅に変化する上、抽出液の抽出方法によって成分組成に差異が生じる可能性がある。農産物であるウメを化粧品成分の素材として合理的に利用することを考えた場合、有効成分を特定し、効率的な製造方法を構築することによって、化粧品としての利用が容易にもなると考えられる。

そこで本節では、チロシナーゼ活性阻害に関与している有効成分の特定を試みた。それに加え、第2章第3節第1項でも述べたように、ウメには様々な機能性が認められていることから、ウメ種子抽出液のさらなる利用拡大を図るため、マウスの摘出腸管を用いて糖吸収に及ぼす影響を検討した。

第2項 実験方法

2-1 チロシナーゼ活性阻害成分の特定

2-1-1 試料および試料調製

第2章第1節第2項2-1のうち、イオン交換水で得られたウメ種子抽出液を試料とした。

2-1-2 ゲルろ過クロマトグラフィー

試料をゲルろ過クロマトグラフィーに供した。ゲルろ過クロマトグラフィーの担体には、Sephadex LH-20 (GE ヘルスケアライフサイエンス) を用いた。溶離液は 0.1 M リン酸緩衝

液を用い、1.5 mL ずつ分画し、それぞれの画分のチロシナーゼ活性阻害を測定した。また、既知の分子量の物質（グルコース：180、コウジ酸：142）の溶液も同様にカラムに流すことで、活性成分を含む画分の分子量を推定した。

2-1-3 固相抽出

固相抽出には、逆相-陰イオン交換ミックスモード固相の Oasis MAX カートリッジ（30 mg/mL、Waters）と逆相-陽イオン交換ミックスモード固相の Oasis MCX カートリッジ（30 mg/mL、Waters）を使用した。ゲルろ過クロマトグラフィーで分画し、チロシナーゼ活性阻害が認められた画分をフリーズドライで乾固させた。Oasis MAX カートリッジにはあらかじめ 5%濃アンモニア水水溶液で再溶解させた試料を導入した。5%濃アンモニア水水溶液で洗浄した後、100%メタノール、20%ギ酸を含むメタノールの順で溶出させた。同時に、Oasis MCX カートリッジにはあらかじめ 4%リン酸水溶液で再溶解させた試料を導入した。2%ギ酸水溶液で洗浄した後、100%メタノール、5%濃アンモニア水を含むメタノールの順で溶出させた。得られた各溶液をフリーズドライで乾固した後、残渣に 0.1 M リン酸緩衝液を加えて再溶解し、チロシナーゼ活性阻害を調べた。

2-1-4 HPLC 分析

試料を 0.45 μ m メンブレンフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフィ（島津製作所）で測定した。測定条件は、カラム InertSustain AQ-C18 内径 4.6 mm \times 150 mm（GL Sciences）、カラム温度 40°C、検出器は紫外分光光度計（SPD-6A、島津製作所）を用い検出波長 280 nm、溶出溶媒 50 mM リン酸二水素ナトリウム水溶液（pH2.1、リン酸）で流速 1.0 mL/分、注入量 10 μ L とした。

2-1-5 チロシナーゼ活性阻害の測定

第2章第1節第2項2-2に記した方法で、各試料のチロシナーゼ阻害率を求めた。

2-2 糖吸収に及ぼす影響

2-2-1 実験動物および腸管摘出

第3章第1節第2項2-1に記した方法で、マウス小腸を摘出した。

2-2-2 試料調製

ウメ種子抽出液の pH は 3.6 程度であるが、小腸には中和されて届く。そこでウメ種子抽出液を NaOH 水溶液で pH7.4 に調整したものをサンプルとした。腸管標本に作用させるサンプルの濃度は 5%、10%、20%とした。比較としてウメ種子抽出液の有機酸分析を行い、その有機酸濃度（リンゴ酸 0.50%およびクエン酸 0.26%）の水溶液を調製し、同様に pH7.4 に調整して使用した。

2-2-3 糖吸収の測定

摘出した小腸の上部 3 分の 2 を用い、6 等分した。切り分けたそれぞれの小腸の粘膜側と漿膜側を反転させた反転腸管標本を作製し（Fig. 3-1）[79]、各種濃度のサンプルと 10 mM グルコースを含むリンガー緩衝液に浸漬した。95%O₂+5%CO₂ 通気下、37°C でインキュベートし、20 分後の粘膜側および漿膜側の各液中のグルコース濃度をグルコース CII-テストワコー（和光純薬工業(株)）を用いて測定した。なお、腸管にて吸収されるグルコース量は腸管標本の長さにより異なるため、粘膜側および漿膜側の液量から各標本におけるグルコースの生成量（mg）あるいは吸収量（mg）を算出し、腸管 1 g 当たりの量（mg / g-intestine）に換算・比較した。

2-2-4 統計解析

実験で得られた値は、平均値 ± 標準偏差で示した。統計解析には、EZR を使用した。Dunnett の多重比較検定を用い、有意差検定を行った。有意水準は危険率 5%未満を有意な差と判定した。

第3項 結果および考察

3-1 チロシナーゼ活性阻害成分の特定

3-1-1 ゲルろ過クロマトグラフィー

ウメ種子抽出液をゲルろ過クロマトグラフィーによって分画して得られた各液のチロシナーゼ活性阻害を測定した結果、フラクション 9 から 11 に高い活性阻害が確認できた（Fig. 3-12）。そこで、同じカラムを用いて、グルコースおよびコウジ酸の溶液を流し、グルコー

スはグルコーステスト、コウジ酸はチロシナーゼ活性阻害を調べ、活性画分の分子量を推定した。その結果、分子量 180 のグルコースはフラクション 7 および 8 で溶出し、分子量 142 のコウジ酸はフラクション 10 から 12 で溶出されたことから、美白活性成分の分子量を約 140 前後と推察した。ウメ種子抽出液やゲルろ過クロマトグラフィーで分画した活性画分を HPLC 分析した結果、ウメ種子抽出液には特徴的なピークが複数確認された (Fig. 3-13)。また、ゲルろ過クロマトグラフィーによって分画した活性画分には 3 つのピーク (A : t_R 3.9 min、B : t_R 7.0 min、C : t_R 10.0 min) が確認され、美白成分の候補と思われた。ただし、UV に検出されない化合物が美白成分である可能性も考えられる。

現在、医薬部外品への配合が認められている美白有効成分のうち、チロシナーゼ活性を抑制する成分として、ビタミン C 誘導体、アルブチン、コウジ酸、エラグ酸、ルシノールおよびリノール酸等がある [88]。これらの成分はどれも分子量 142 から 302 であるなど、比較的低分子化合物であることから、ウメ種子抽出液中に含まれる美白成分は新規物質ではなく、これら既知の物質が含まれている可能性も考えられる。

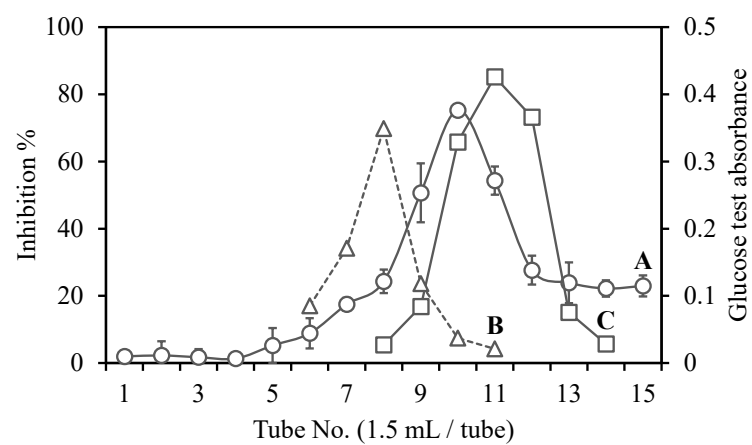


Fig. 3-12. Gel filtration chromatography of (A) Ume seeds extracts, (B) glucose and (C) kojic acid.

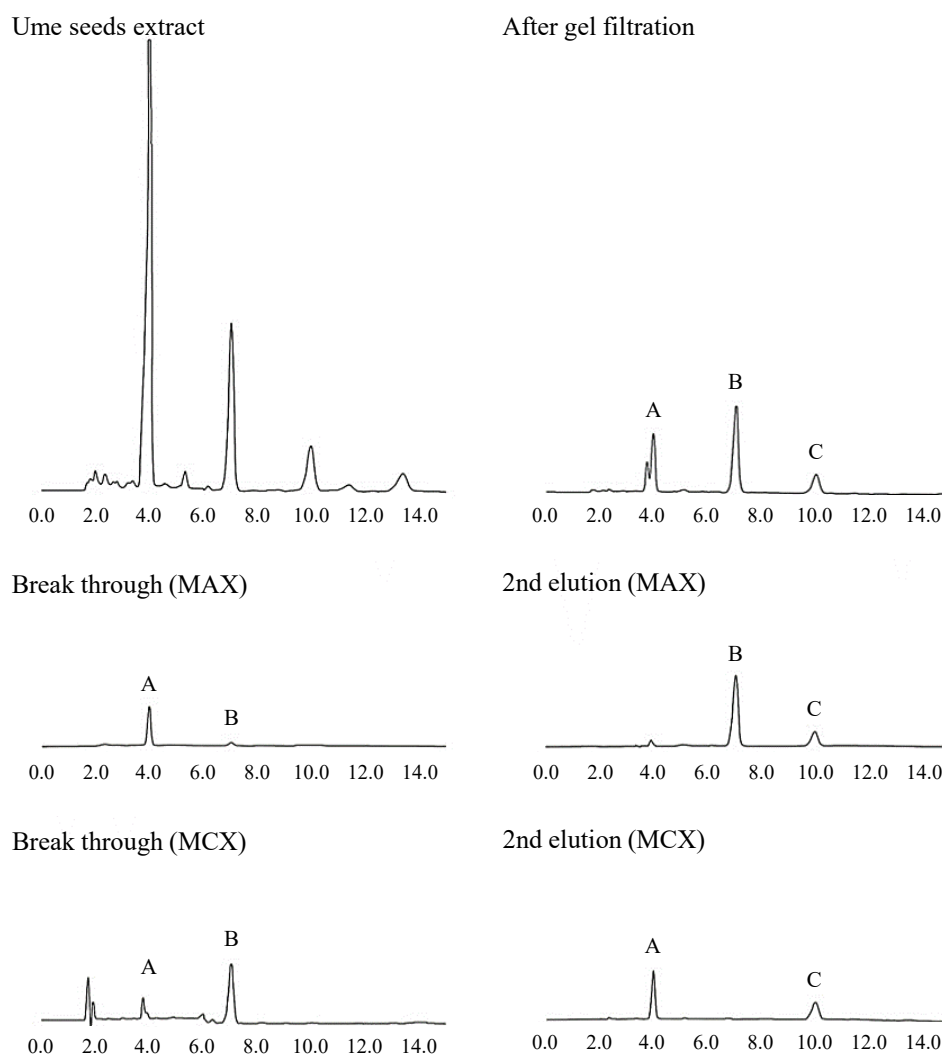


Fig. 3-13. Chromatograms of HPLC analysis of Ume seeds extracts. Break through : Sample loading into SPE cartridge ; 2nd elution : For MAX, 20 % formic acid in MeOH, For MCX, 5 % NH_4OH in MeOH.

3-1-2 固相抽出

ゲルろ過分画を繰り返し、活性画分を回収した。なお、Fig.3-12 ではフラクション 9～11 で高いチロシナーゼ阻害活性が得られたが、使用したカラム（2 本使用）により活性画分のフラクションが若干異なった。1 本ではフラクション 11～13、もう 1 本ではフラクション 13～15 を活性画分として回収した。そして回収した画分を精製するため、固相抽出を行った。固相抽出により得られた各溶液のチロシナーゼ活性阻害を確認したところ、試料を各カートリッジに導入した際に通過した溶液、各固相を洗浄した際に溶出した溶液、および Oasis MAX カートリッジに吸着した後に 5%ギ酸を含むメタノールで溶離された溶液において、チロシナーゼ活性阻害が認められた (Fig. 3-14)。固相抽出により得られた画分を HPLC 分析した結果、試料を Oasis MAX カートリッジに導入した際に通過した溶液にはピーク A および B、5%ギ酸を含むメタノールで溶離された溶液にはピーク B および C が確認された。試料を Oasis MCX カートリッジに導入した際に通過した溶液にはピーク A および B、5%濃アンモニア水を含むメタノールで溶離された溶液にはピーク A および C が確認された (Fig. 3-13)。このことから、活性成分はピーク B であることが示唆された。なお、ピーク C が両サンプルから確認されたが、ピーク C の成分についてはどのような性質のものか判然としなかった。

目的物質の精製では、有機溶媒による液液抽出法が良く採用されるが、本研究では簡便・迅速さを考慮し、固相抽出を用いることとした。また、種類の異なる固相を用いることにより、目的成分の精製だけでなく化学的特性を明らかにすることを試みた。すなわち、陰イオン交換吸着剤を有するため、Oasis MAX カートリッジを通過した溶液は塩基性化合物、5%ギ酸を含むメタノールで溶離された溶液は酸性化合物が含まれる。逆に、陽イオン交換吸着剤を有するため、Oasis MCX カートリッジを通過した溶液は酸性化合物、5%濃アンモニア水を含むメタノールで溶離された溶液は塩基性化合物が含まれる。よって、Oasis MAX カートリッジに吸着した後に 5%ギ酸を含むメタノールで溶離された溶液にチロシナーゼ活性阻害が認められたことから、活性成分は酸性化合物であることが推察される。また、Oasis MCX カートリッジを通過した溶液にもチロシナーゼ活性阻害が認められたことは、活性成分が酸性化合物であることを裏付けることとなった。なお、Oasis MAX カートリッジを通過した溶液や各固相を洗浄した際に溶出された溶液からもチロシナーゼ活性阻害が認められたが、これは活性成分が充填剤のキャパシティ不足のため、完全に保持されず溶出されたものと考えられる。本研究ではチロシナーゼ活性阻害成分の同定までは至らな

ったが、現在検討中である。今後、成分が同定できれば、収率を考慮した効率的な調整方法や簡便な粗精製法を確立することができる可能性が高い。また、成分とチロシナーゼ活性阻害の関係を解明できる可能性も高くなり、化粧品素材として有望な候補になると考えられる。

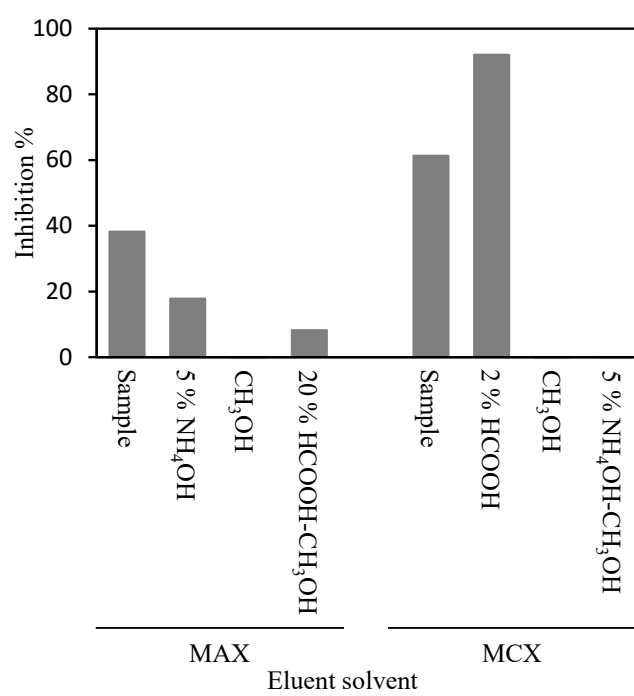


Fig. 3-14. Solid-phase extraction of Ume seeds extracts.

3-2 糖吸収に及ぼす影響

ウメの機能性の一つに α -グルコシダーゼ阻害および食後血糖上昇抑制作用があることから [65]、マウスの摘出腸管を用いて糖吸収抑制に及ぼす影響を検討した。その結果、ウメ種子抽出液を 10%以上含んだ場合、濃度依存的にグルコース吸収抑制が見られた (Fig. 3-15)。ウメに含まれる代表的な成分としてリンゴ酸とクエン酸がある。前節においてリンゴ酸やクエン酸と同じ有機酸である酢酸にグルコース吸収抑制が見られたことから、本研究においてもそれらが関与している可能性が考えられた。そこで、ウメ種子抽出液の有機酸含量を分析し、その濃度に調整した有機酸水溶液を比較として用いた。有機酸水溶液でもグルコース吸収抑制が見られたが、濃度を高くしてもグルコース吸収抑制の大きさは変わらなかった (Fig. 3-15)。本結果は、ウメ種子抽出液に含まれる有機酸はグルコース吸収抑制に関わる成分であること、しかし抽出液中には有機酸以外にもグルコース吸収を抑制する成分が含まれていることが考えられた。

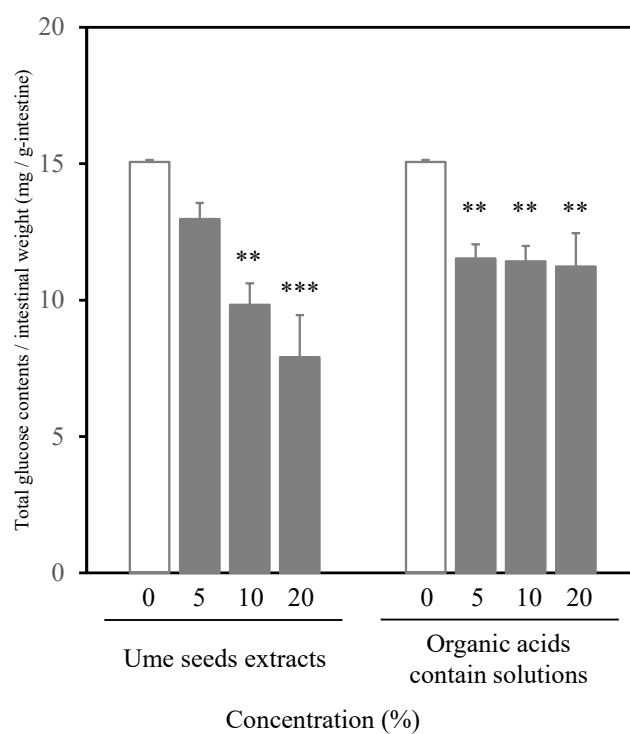


Fig. 3-15. Effects of ume seeds extract and organic acids contain solution application on glucose absorption. Data are shown as means \pm SD (n = 3). Asterisks denote statistical significance against each concentration 0% (Dunnett's test; *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

第4項 要約

チロシナーゼ活性阻害が高いウメ種子抽出液について、チロシナーゼ活性を阻害している有効成分の特定を試みた。初めに有効成分を精製するとともに、概算の分子量を推測するため、ゲルろ過クロマトグラフィーを試みた。その結果、分子量約 140 前後の画分にチロシナーゼ活性阻害が見られた。さらに精製し、成分の化学的特性を明らかにするために、2 種類の固相抽出を行い、酸性化合物と塩基性化合物に分画した。その結果、美白活性成分は酸性化合物であることが示唆された。さらに、ウメ種子抽出液や各精製段階の活性画分を HPLC 分析した結果、ウメ種子抽出液には複数のピークが確認されたが、ゲルろ過クロマトグラフィー後の段階では 3 つのピークに、固相抽出後の段階では 2 つのピークになり、RT7.0 のピークが美白成分の候補と思われた。

ウメ種子抽出液の食品への活用を視野に、マウスの摘出腸管を用いて糖吸収に及ぼす影響を検討した。その結果、ウメ種子抽出液を 10%以上含んだ場合、濃度依存的に小腸におけるグルコース吸収を抑制した。また、抽出液に多く含まれる有機酸によってグルコース吸収は抑制されたが、その効果は限定的であり、抽出液中には未知のグルコース吸収を抑制する成分が存在することが示唆された。

第4章 商品製造で生じた廃棄物利用

第1節 キャベツ酢残渣液処理によるキャベツセル成型苗への耐乾性付与

第1項 緒言

夏秋キャベツの生産量が全国1位である群馬県では、5月から苗の定植最盛期を迎える。しかし、定植後の高温・乾燥による苗の枯死や生育不良が起これと、キャベツの収穫量・時期にも影響が出るなど問題になっている。苗の耐乾性を高める方法として、塩締め馴化法[89, 90]・水切り処理[91]・クエン酸施用[92, 93]などが知られているが、近年イネやトウモロコシなどの苗を酢酸処理することにより乾燥に強くなることが報告された[94]。この方法をキャベツの苗にも適用できるのではないかと考えた。

第2章で述べたキャベツ酢を製造する過程において、発酵が終わってから数か月貯蔵し熟成させているときに、おりが沈殿する。その後、ろ過して容器に詰める際には、そのおりが邪魔となるため、一部のキャベツ酢とともに残渣液として除去され廃棄物となる。2015年に国連サミットで「持続可能な開発のための2030アジェンダ」に掲げられた17の持続可能な開発目標、いわゆるSDGsが発効された。その目標12「つくる責任つかう責任」では、廃棄物の排出量削減といった施策を通じて、持続可能な生産消費サイクルの実現を目指しており、キャベツ酢残渣液についても有効活用が望まれている。このキャベツ酢残渣液にはおりが含まれているものの、キャベツ酢と同等の酢酸が含まれているため、キャベツ酢残渣液を利用したキャベツ苗への耐乾性付与ができれば、産業的価値を見出すことができ、廃棄物削減に繋がる。

そこで本節では、キャベツ酢残渣液処理によるキャベツセル成型苗への耐乾性付与効果について検討した。

第2項 実験方法

2-1 供試試料および試料調整

キャベツ農家により異なるが、キャベツ種子をセルトレイに播いて数週間生育させた苗が畑に定植される。そこで本研究では、128穴セルトレイに播種・育苗されて4週間経過したキャベツセル成型苗(品種:藍天、時期により異なる品種も使用した)を、JA全農ぐんまセル苗センターより購入して使用した。

キャベツ酢残渣液(酸度 4.2%(酢酸濃度 730 mM 相当)、pH3.0 程度)は、酢酸濃度として 10 mM あるいは 20 mM に希釈したものを試料として使用した。比較として酢酸溶液(酸度 4.5%(酢酸 790 mM 相当)、pH3 程度)を同じ酢酸濃度に調整した水溶液、対照として水道水を使用した。なお、予備実験でキャベツ酢残渣液あるいは酢酸水溶液の濃度だけを調整した液でキャベツ苗を処理した場合、葉の変色や萎縮等が数日内に見られ、溶液が酸性であったことが原因と考えられた。そこで水溶液を中和(pH7.0 に調整)して処理したところ、酸性状態のときに起こった変化は見られなくなったことから、以後処理は水溶液を中和してから実施することとした。

2-2 試料水溶液による苗の処理

定植直前のセル成型苗に同時に試料を処理する方法として、本研究では以下の方法を実施した。すなわち、セルトレイが入る容器を準備し、セルトレイの下半分が浸かる程度の量の濃度および pH 調整した試料水溶液を入れ、そこにセルトレイを一定期間(2~7 日間)静置・浸漬して処理を行った。

2-3 乾燥処理および耐乾性評価

処理後のセル成型苗は屋内にそのまま放置して乾燥処理とし、苗が萎れたところで灌水を行い、灌水 5 日後の苗の生存率を調べて耐乾性付与を評価した。また、試料水溶液処理が苗の生育に及ぼす影響を確認するため、処理後のセル成型苗の一部は、培養土を充填したプランターに移植し、3 週間経過観察を行った。

2-4 根の呼吸活性評価

試料水溶液の処理方法として、セル成型苗の根部が試料水溶液に常時浸漬された状態になることから、試料水溶液が根系の生理機能に及ぼす影響を調べるために、根の呼吸活性に及ぼす影響を調べることにした。

根に存在する呼吸関連酵素の活性を水に不溶性の赤色フォルマザン生成量から推察するトリフェニルテトラゾリウムクロライド(Triphenyl tetrazolium chloride: TTC)法を[95]、作物根系全体に適用出来るよう改良した方法によって[96]、根の呼吸活性を測定・評価した。

処理前、処理 3 日後、処理 5 日後、移植 1 週間後および 2 週間後に、根系を傷めないように各苗を抜き取り、水道水に浸けて根部に着いた土壌が軽くほぐれる程度にした後、1%TTC 溶液、0.1 M リン酸緩衝液、イオン交換水を 1:4:5 で混合した液に根部を浸漬し、室温で 6 時間反応さ

せた。反応終了後、根をきれいに洗い出して水分を拭い去って湿重量を測った後、70℃で約 16 時間乾燥させた。乾燥重量を測定した後、湿重量の 5 倍量の酢酸エチルに乾燥させた根を浸してフォルマザンを抽出した。抽出液を 485 nm で比色し、あらかじめ作成しておいたフォルマザン量と吸光度の検量線を使ってフォルマザン量を求めた後、根 1 g(乾燥重量)あたりのフォルマザン生成量(mg)を算出して、根の呼吸活性として評価した。

2-5 統計解析

耐乾性は生存率、根の呼吸活性評価で得られた値は平均値 ± 標準偏差で示した。統計解析には、EZR を使用した。生存率は Fisher の正確確率検定および Bonferroni 補正、根の呼吸活性は Dunnett の多重比較検定を用い、有意差検定を行った。有意水準は危険率 5%未満を有意な差と判定した。

第3項 結果および考察

3-1 キャベツ酢残渣液処理が耐乾性に及ぼす影響

キャベツ酢残渣液あるいは酢酸水溶液処理を行った苗では、乾燥処理により苗が一度萎れても、灌水により再び乾燥処理前のような状態になる苗が見られた (Fig. 4-1)。ただし、灌水するタイミングが遅く、葉が少しでも乾いた状態になった場合にはそのまま枯死した。乾燥処理後の苗の生存率は、キャベツ酢残渣液 20 mM では水道水に比べて全ての区で有意に高かった。特に 4 日間処理した場合、100%の生存率で最も高くなった。同じキャベツ酢残渣液でも 10 mM と濃度を薄くした場合、7 日間処理することで水道水に比べて有意に高くなり、耐乾性を得るまでには時間を要すると思われた。酢酸水溶液においては、10 mM では 2 日間および 3 日間処理で、20 mM では 4 日間および 7 日間で水道水に比べて有意に苗の生存率が高くなった (Fig. 4-2)。

キャベツ酢残渣液あるいは酢酸水溶液で処理した苗は、水道水に比べて処理中およびプランターへの移植後の初期生育に若干の遅れが見られたが、移植 3 週間後では差は見られなくなった (Fig. 4-3)。

キャベツ酢残渣液および酢酸水溶液処理では、いずれにおいても水道水処理と比較して苗の生存率が高かったことから、耐乾性付与の主要因は酢酸であると思われた。また、キャベツ酢残渣液が特に高かったことから、キャベツ酢残渣液中には酢酸以外にも耐乾性付

与に関わる成分が含まれていると考えられる。今後は耐乾性付与の関与成分の特定の検討も必要であるとする。キャベツ酢残渣液 10 mM および酢酸水溶液 20 mM とともに、処理期間が長くなるほど生存率は高くなり、ある一定時間の処理が必要と思われた。しかし、処理期間が長くなると苗は生存率こそ高いが、変色や徒長が見られた。一方、キャベツ酢残渣液 20 mM および酢酸水溶液 10 mM であれば、処理期間が短くとも水道水と比べると生存率は高かったが、処理期間の長い区と比べると生存率が低い傾向にあることからキャベツ酢残渣液 20 mM で 4~5 日間処理が最も適していると思われた。

定植後の高温・乾燥による苗の枯死や生育不良を防ぐために、定植直前の苗にキャベツ酢残渣液を利用して耐乾性を付与すること、手間をできるだけ省き一度に多くの苗に処理を施す方法として、定植前のセル成型苗の根をキャベツ酢残渣液に浸漬して処理を実施することが望ましいと考えて本研究を実施した。しかしセル成型苗を大量に扱う農家からは、浸漬処理するための準備・手間は負担である、苗に対する灌水は常に行うので、キャベツ酢残渣液を灌水することで耐乾性を付与することが出来れば好都合であるとのことであった。

なお、既報からキャベツ酢残渣液処理による耐乾性付与はジャスモン酸の増加によってもたらされたと考えられる[94]。ジャスモン酸は病害、虫害、傷害などのストレス耐性においても重要な役割を担っていることが知られている。キャベツ酢残渣液処理により、耐乾性付与以外のストレス耐性付与効果も期待できると考えられ、今後の検討課題としたいと考えている。



Fig. 4-1. Survival condition of cabbage seedlings. Left : cabbage vinegar residue treatment, right : water treatment.

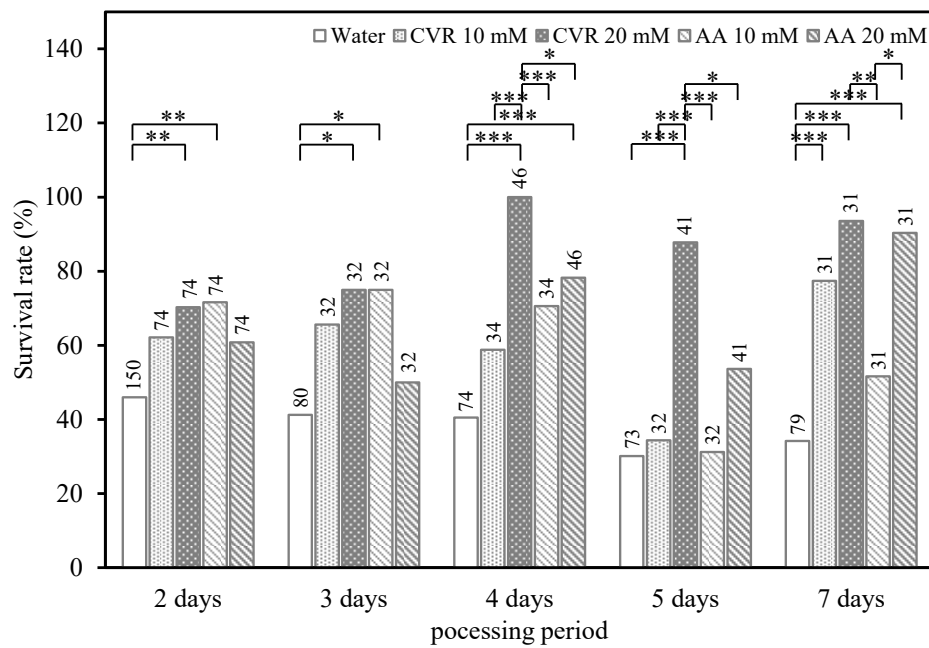


Fig. 4-2. Survival rate of cabbage seedlings treated with each solution. Numbers in indicate sample size. P-values were determined by Fisher's exact test using the Bonferroni method ($***p < 0.001$, $**p < 0.01$, $*p < 0.05$). CVR, cabbage vinegar residue; AA, acetic acid.

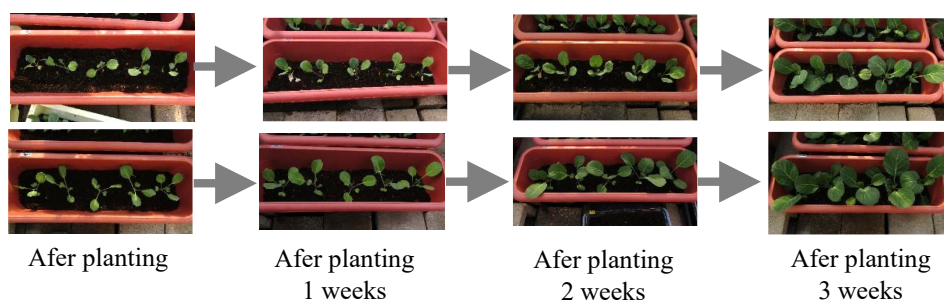


Fig. 4-3. Growth of cabbage seedlings treated with each solution after transplantation.
Upper : cabbage vinegar residue treatment, lower : water treatment.

3-2 キャベツ酢残渣液処理が根の呼吸活性に及ぼす影響

植物の耐乾性は、乾燥回避性と乾燥耐性の2つに大別される [97]。Kim らは酢酸処理によりシロイヌナズナ、イネ、トウモロコシ、コムギ、ナタネなどの耐乾性が向上すること、その際、傷害応答に関わるジャスモン酸合成が起こることを報告しているが [94]、本研究ではキャベツ酢残渣液処理で耐乾性が付与される結果が得られた。一方乾燥回避性は、根における吸水能力の増加や葉からの蒸散の抑制などにより、植物個体内の水分量の減少が抑えられることなどにより得られると考えられる。今回、葉における蒸散能力の測定は行えなかったが、根の機能として呼吸活性を測定し、キャベツ酢残渣液等の処理により呼吸活性が増加することで吸水能力も増加し、結果的に乾燥回避性の付与も起こっているのではないかと考えた。

しかし根の呼吸活性は、処理前に比べると処理期間中に次第に低下し、キャベツ酢残渣液や酢酸水溶液のみならず、水道水に浸した場合でも同様に起こった。しかし処理後に苗をプランターに移植してからは、いずれにおいても根の呼吸活性は増大した (Fig. 4-4)。今回の処理方法ではセル成型苗の根系の下半分が常時水に浸った状態であったため、処理中は酸素不足により呼吸活性の低下が起こっていた可能性が考えられた。さらに、キャベツ酢残渣液および3日間酢酸水溶液に浸した苗の方が、水道水に浸したものよりも有意に呼吸活性が小さかった。また、キャベツ酢残渣液および酢酸水溶液処理を行っていた苗の生育には遅れが見られた。これらの結果は、根の呼吸活性の低下とともに、植物体内においてジャスモン酸合成などの反応にエネルギーが使われたことが原因ではないかと考えられた。

芝草に食酢希釈液を葉面散布することで根長が促進されることから [98]、キャベツ酢残渣液処理についても根に作用させるのではなく、散布することでも耐乾性が付与される可能性もあることから、今後、処理方法についてさらなる検討が必要である。加えて、付与された耐乾性がどの位の期間持続するのか、耐乾性と根の呼吸活性との関係など、検討すべき事項が多数残っている。これら検討事項に取り組み、より簡易な方法で耐乾性を付与させることが実用的利用のためには必要である。

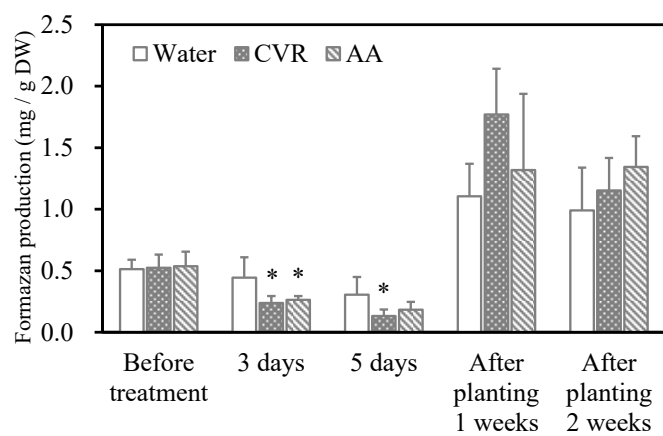


Fig. 4-4. Respiratory activity of roots treated with each solution. Data are shown as means \pm SD ($n = 6$). Asterisks denote statistical significance against Water (Dunnett's test; $*p < 0.05$). CVR, cabbage vinegar residue; AA, acetic acid.

第4項 要約

キャベツ酢製造で発生する廃棄物である残渣液を農業資材として利用できれば、キャベツのリサイクルループを構築することができることから、キャベツ苗への耐乾性付与効果について検討した。その結果、キャベツセル成型苗を中和した 20 mM キャベツ酢残渣液で数日間処理することで、キャベツ苗へ耐乾性を付与することができ、乾燥処理後のキャベツ苗の生存率を高めることができた。なお、キャベツ酢残渣液処理した苗では初期生育に若干の遅れが見られたが、その後は問題なく生育した。また、キャベツ酢残渣液処理中、根の呼吸活性は低下し、生育との関係、耐乾性付与との関係が考えられた。

第2節 ウメ種子のスクラブ剤としての活用

第1項 緒言

前章までで、ウメ種子の抽出液がチロシナーゼ活性阻害を有していることが分かり、ウメの新たな活用方法が見いだされたが、抽出後の種子も依然として廃棄物となってしまう。また、廃棄物のウメ種子は漬物業者等からも多量に発生することから、その活用方法の開発は重要である。これまでもウメ種子の有効利用法として、炭化して水質浄化に用いる方法 [99] やプロイラー敷料として用いる方法 [100] など様々な利用法が模索されているが、有効な利用方法には結びついていないのが現状である。

2014年に国連環境計画より「世界で新たに生じている環境問題」として海洋に流出するマイクロプラスチック問題が報告された。マイクロプラスチックの代表的な発生源としては、化粧品に使用されるスクラブ剤もその1つである。化粧品に含まれるマイクロプラスチックは肌の汚れや古くなった角質を除去するとともに、マッサージ効果を増強する効果があるとされ、多くの化粧品に添加されている [101]。しかしこのマイクロプラスチックによる環境問題を受け、日本化粧品工業連合会は加盟企業に対して、「洗い流しのスクラブ製品におけるマイクロプラスチックビーズの使用中止について（自主基準）」を2019年に通達した。そのためプラスチックに代わる天然物由来の素材が求められている。既にアーモンドの実、クルミの内果皮、スイカの種子等が天然物系のスクラブ剤として用いられている [102]。そこで本節では、ウメ種子の有効利用法の1つとして化粧品に使用されるスクラブ剤への応用を試みた。

第2項 実験方法

2-1 供試試料および試料調製

AdaBio（株）より提供された冷凍種子を解凍後に割り、仁を取り出したものを天日干しで乾燥させた種子（殻）820 gを粉碎原料とした。

2-2 種子の粉碎および篩操作

2-1で準備した粉碎原料をマイクロフーズジャパン（株）に送付し、粉碎機（DM200, 試作機）により種子の粉碎を行った。

粉碎した種子粉末は、300 μm 、180 μm 、90 μm の篩に通した（手篩い、1 pass）が、300 μm の篩いを通過しなかった粒子については、再度粉碎機に掛け、同様の各大きさの篩に通した（手篩い、2 pass）。

第3項 結果および考察

化粧品スクラブ剤として使われる粉末の粒径は、当初は 100～500 μm が中心であったが [102]、洗浄力等に優れているということで 200～350 μm 程度がよく使われるようになっている [103]。これは、粒径が小さすぎたり大きすぎたりすると、洗顔した場合に目に入り角膜を傷付ける、洗浄力が落ちる、皮膚に違和感を生じる、皮膚等を傷付ける心配があるためであり、使用に適した粒径が決められている。乾燥させたウメ種子の殻を粉碎して得られた粉末を（Fig.4-5）、それぞれの大きさの篩いに掛けた結果を Table 4-1 にまとめた。1 回目の粉碎で 300 μm を通過しなかった粉末が 81%あったことから、その粉末を同じ粉碎機で 2 回目の粉碎を行って篩いに掛けたところ、300 μm を通過しなかった粉末はそのうちの 85.1%を占めた。スクラブ剤として利用出来る 90～300 μm の粒径のウメ種子粉末が得られた割合（収率）は、1 回目では 10.5%、2 回目では 6.9%となり、2 回の粉碎を合わせても 17.4%の収率となり、決して高い収率と言えるものではなかった。今回の粉碎は試作機を使用して実施したため、ウメの種子の固い部分（核）が粉碎し難く、低い収率になってしまったと思われ、実際に粉末化する際に使う、より大型の粉碎機を使った場合は得られる粉末の割合は変わる可能性がある。今後、スクラブ剤に適用出来る粒径の粉末を効率良く得る方法、またスクラブ剤としては使用しない他の粒径の粉末の有効利用法を検討する必要がある。

同じ植物由来でスクラブ剤として化粧品に配合されているものとして、アーモンド核仁末がある。しかしアーモンドは日本での生産はほとんどなく、化粧品素材として利用するためには輸入に頼らざるを得ない状況である。しかしウメ種子であれば、前章までに提案した美白成分を抽出した後に廃棄物として発生するうえ、梅干しなどの製造を行っている漬物業者等からも多量に発生することから容易に手に入れることができ、食品廃棄物の削減にも繋がる。またスクラブ剤として種子粉末を使用した場合、洗い流されて環境中に放出されても植物の種子であることから生分解性があるため環境汚染にも繋がらない。ウメ種子もスクラブ剤として非常に有望な素材であると考えられる。



Fig. 4-5. Powdered Ume seeds.

Table 4-1. Particle size distribution after sieving.

	Pulverization		Sieve					
	Before	After	300 on		180-300 on		90-180 on	
	Weight (g)	Weight (g)	Weight (g)	Yield (%)	Weight (g)	Yield (%)	Weight (g)	Yield (%)
1 pass	820	720	584	81.0	42.0	5.8	34.0	4.7
2 pass	584	573	488	85.1	24.8	4.3	15.3	2.6

第4項 要約

廃棄物となっているウメ種子の有効利用を図るため、化粧品に使用されるスクラブ剤への応用を試みた。ウメ種子を乾燥させ、粉末加工することにより、スクラブ剤として利用出来る粒径の粉末を得ることができた。しかしその収率は約 17%と低いものであった。廃棄されるウメ種子をスクラブ剤として利用するためには解決すべき問題があるが、ウメ種子の新たな活用方法として有効な用途が見つけられた。

第5章 結論

第1節 まとめ

序論で述べた通り、群馬県の農林水産業を取り巻く状況は非常に厳しく、農家所得の向上や地域の活性化が重要である。そのためには、サイズや傷などの外観上の理由により廃棄されているような未利用の出荷規格外農産物を加工し、高品質な加工品開発を行うとともに、高付加価値な商品とするために科学的根拠に基づいた機能性評価を行う必要がある。また、環境配慮に対する関心が高まってきていることから、廃棄物の低減も重要である。そこで本研究では、加工品開発、機能性評価、廃棄物利用を総合的に実施することにより、群馬県産農産物の代表的な品目であるキャベツおよびウメの高付加価値化を目指したものである。これまでの多くの研究では、出荷できる品質の農産物を利用した加工品開発を行い、機能性評価を行うことにより高付加価値な農林水産物や加工品を消費者に提供する取り組みが行われてきた。しかし、環境問題を考えた際には、加工品製造に伴い発生する不可食部の食品廃棄物に適した有効な再生利用方法を示す必要があることから、本研究では部分的ではなく広範なアプローチで県産農産物の高付加価値化を心がけた。すなわち、経済性、利便性、環境性の三つを調和させることによる社会実装を試みた。当該博士論文において報告した研究は、すべての問題について解決策を生み出した広範な視点を持った新たなアプローチの研究として位置づけられる。

第2章では、キャベツの新たな加工品としてキャベツ酢の開発を行った。キャベツは搾汁や加熱によって発生する特有の臭いのため加工品の開発が難しかったが、搾汁液を酢酸発酵させることで香りの品質を向上させることに成功した。キャベツ農家からは出荷規格外や過剰生産などの理由で市場に出ないで廃棄されるキャベツが発生するが、キャベツ酢を販売している農家では未利用の出荷規格外キャベツは発生なくなり、所得向上に寄与できた。また、キャベツ搾汁の収率から算出すると、キャベツ酢 1,000 本 / 120 mL で廃棄されるキャベツを約 280 kg 減らすことができることになる。その結果、既報を参考に CO₂ 排出量を算出すると [104]、約 120 kg の CO₂ 排出量を減らすことがわかり、地球温暖化をはじめとする環境問題改善への一助になることも示唆された。それに加え、このキャベツ酢の特徴に寄与している成分を明らかにするため、水溶性および揮発性成分をノンターゲット分析し、分析データを網羅的に解析し、キャベツ酢の特徴的な成分はキャベツ由来であることを見いだすことができた。キャベツ酢はキャベツの風味を活かした

商品であることが明らかとなり、商品を販売する際のアピールポイントとすることができた。本研究では第3章の機能性評価に繋がるような新たな成分を見出すことはできなかったが、網羅的解析により食品の機能性を考察する上で重要な知見が得られる可能性は高いと考える。ウメについては、ウメ種子からイオン交換水および BG 水溶液を用いて得た抽出液でも高いチロシナーゼ活性阻害が見られ、ウメ種子抽出液の美白効果は加熱処理を行っても安定であることから、ウメ抽出液の新たな活用方法として美白化粧品や食品への応用が可能であることを見出すことができた。群馬県では令和4年度に降雹でウメに多大な被害が発生し、その被害金額は3億2,225万円にのぼった（群馬県農政部調べ）。傷の程度によっては加工品に利用されたが、その大部分は不可食であったため廃棄された。しかし、本研究で開発したウメ種子抽出液には不可食なウメでも活用できることから、雹害など気象上の原因による減収があっても、農家の貴重な収入源になる可能性がある。実際、本研究成果から生まれた美容液・洗顔料を製造している（株）コスモビューティーでは、原料となるウメ種子を AdaBio（株）から購入することになったが、AdaBio（株）は群馬県箕郷町の梅農家から出荷できないウメを大量に購入して提供したため、梅農家の収入減を防ぐことに貢献できた事例もある。今後、同様の取り組みが広がることが期待される。

第3章では、第2章で開発したキャベツ酢の機能性評価としてマウスの腸管機能に及ぼす影響を検討し、キャベツ酢により小腸でのグルコース吸収は酸度依存的に抑制されること、腸管運動においてもキャベツ酢存在下では ACh による収縮を酸度依存的に抑制されることを明らかとし、キャベツ酢の機能性を示すことで高付加価値化を果たすことができた。なおこれらの結果から、食酢による小腸における糖吸収抑制および運動抑制による消化の遅延が腸管レベルで起こることが、食酢の機能として知られている血糖値上昇抑制の要因の一つになっていることを示すことができたと考えている。また、チロシナーゼ活性阻害が認められたウメ種子抽出液については、ゲルろ過クロマトグラフィーおよび固相抽出を行うことにより、チロシナーゼ活性阻害に関与する成分は分子量約 140 前後の酸性化合物であることを明らかにした。また、食品への活用拡大を視野にマウスの摘出腸管を用いて糖吸収に及ぼす影響を検討し、ウメ種子抽出液を 10%以上含んだ場合、グルコース吸収は濃度依存的に抑制されることを明らかにした。本成果は、ウメ種子抽出液の化粧品素材としての利用と新たな生理機能に基づく利用の可能性を示唆するものであり、ウメ種子の機能性研究の新たな局面を拓いていくとともに、ウメ種子抽出液の高付加価値化につながることを示すことができた。

第4章では、第2章で開発したキャベツ酢製造で発生する残渣液の活用を検討した。キャベツセル成型苗をキャベツ酢残渣液処理することにより、キャベツ苗への耐乾性を付与することができ、乾燥処理後の生存率を高めることができた。これにより、キャベツからキャベツ酢を製造し、キャベツ酢で発生した残渣液を農業資材として利用することにより、キャベツの安定生産に結び付けるというキャベツのリサイクルループを構築することができた (Fig.5-1)。キャベツ酢を製造している企業に聞き取りを行ったところ、仕込んだキャベツ酢の約5%が残渣液として発生する。仮にキャベツ酢の製造数量が年間1,000本 / 120 mL だとすると、約6Lのキャベツ酢残渣液が発生することになる。食品産業廃棄物の処分費は平均17,000円 / tという報告があることから [105]、これに照らし合わせると年間102円の処分費削減にしかないが、近年では環境問題への関心が世界的に高まっていることから、循環型社会に向けた企業の取り組みは評価に繋がる。現状ではキャベツ酢の年間製造量が少ないため、キャベツ酢残渣液を農業資材として利用するには明らかに発生量が不足する。しかし、キャベツを利用するカット野菜工場や餃子の製造会社からはキャベツの外葉や芯が大量に廃棄されており、その利活用方法が求められている。県内の餃子製造企業からは年間約600tのキャベツの未利用部位が発生しており、処分費は約1,020万円に上ると試算できる。この不可食の食品産業廃棄物を原料として、第2章の成果をもとに農業資材としてキャベツ酢を製造すれば、処分費削減だけにとどまらず、農業資材の販売による利益向上にもつながり、キャベツのリサイクルループの構築がさらに現実味を帯びる。本研究成果の事例が今後の開発の参考として大いに活かせる。また、第3章まででウメ種子が機能性成分を有する素材として利用できる可能性を見出したが、抽出後の種子の活用についても検討した。ウメ種子を乾燥させ、粉末加工することでスクラブ剤として利用できる可能性を見出し、廃棄されるウメ種子を余すことなく、化粧品素材にすることができると示し、ウメの新たな活用方法を構築することができた (Fig.5-2)。令和3年度の群馬県ウメ出荷量は5,290tであり [8]、ウメから果肉を取り除いた種子の割合は約10%であることから [106]、ウメ種子は年間529tが発生していることになる。すべてが食品産業廃棄物として処分されるわけではないが、約900万円の処分費削減に繋がる可能性がある。

以上のように、本研究により開発した県産農産物の持つ特徴を活かした加工品は、規格外や降雹などにより不可食となってしまった農産物の有効利用が可能であり、農家の所得向上につながるだけでなく、食品ロスの削減にも貢献している。また、今までにない新た

な加工品であり、農産物の主要な活用先である食品以外への活用も図られていることから、新たな需要を喚起することができ、農業の活性化にも繋がる。その加工品自体も、様々な機能性評価を行うことで科学的な裏付けに基づいた高付加価値化を実現した。さらに、加工品を製造する際に発生してしまう廃棄物の有効利用法を確立したことにより、SDGs が提起する問題の達成にも寄与できた。なお、本研究成果はいずれも社会的課題の解決に結びつく実用可能なものであることから、キャベツ酢およびウメ種子抽出液を配合した美容液並びに洗顔料は製品化され、社会実装された。

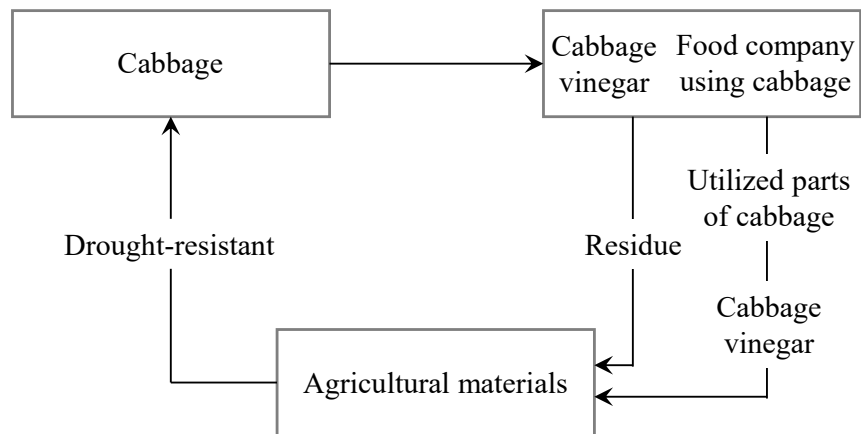


Fig. 5-1. Schematic diagram of cabbage recycle loop.

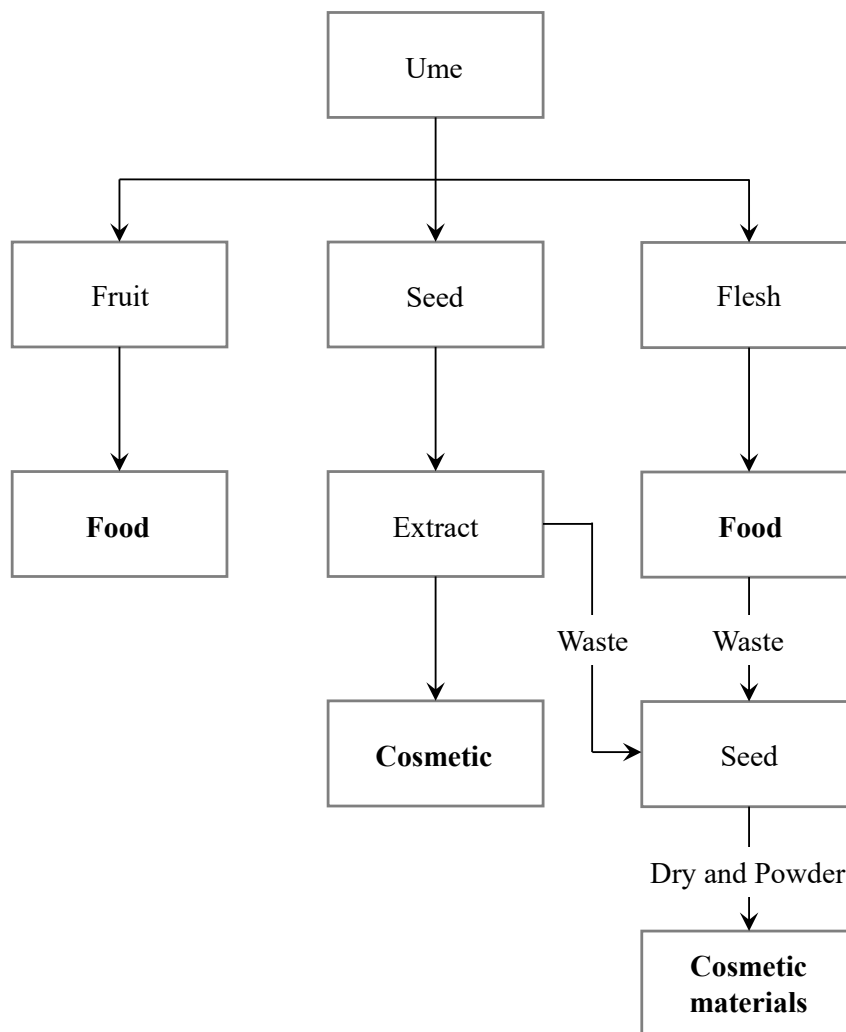


Fig. 5-2. Complete use of Ume.

第2節 今後の課題

当該博士論文で加工品開発から廃棄物利用まで取り組んだが、農産物生産、サプライチェーンにおける食品廃棄物は様々な段階で生じる。食品廃棄物を減少させるには、より多くの活用方法の開発が必要となる。実際にキャベツ酢製造で発生する残渣液の活用方法は見出せたが、キャベツ酢の原料となるキャベツ搾汁を得る際に発生する搾汁カスの活用方法は未検討である。

ウメ種子抽出液については美白効果を有する成分の特定には至らなかったため、さらなる検討が必要であると考えている。また、ウメ種子から水で抽出したものについては、食品への利用の可能性が見出されたが、具体的な活用方法は未検討である。ウメ種子粉末の一部はスクラブ剤としての活用を見出したが、スクラブ剤としては利用できない大部分の粉末については活用方法を見出しておらず、今後は食品への応用などを検討する必要がある。

最後に、特色ある加工品開発、機能性評価による高付加価値化、廃棄物利用に総合的に取り組むことで、群馬県産キャベツおよびウメの付加価値を向上させることができた。本研究での取り組みのアプローチ方法は、その他の農産物を利用した今後の製品開発に寄与し、今回の事例は開発の参考になるものとする。

参考文献

- [1] 農林水産省：令和3年度食料・農業・農村白書（2022）.
- [2] 高畑浩之：県産小麦の精麦を活用した地域農産加工品の開発，群馬県農業技術センター研究報告，8，1-10（2011）.
- [3] 大海さつき：イチゴ「やよいひめ」の乾燥加工技術の開発と普及の取組，群馬県農業技術センター研究報告，13，37-43（2016）.
- [4] 湯田直樹：届出状況から読み解く機能性表示食品，健康・栄養食品研究，16，1-10（2017）.
- [5] 菅原哲也：地域農産物の生理機能評価と加工利用に関する研究（平成29年度日本食品科学工学会奨励賞），日食科工誌，65，163-169（2018）.
- [6] 環境省：IPCC第5次評価報告書 統合報告書 政策決定者向け要約（2015）.
- [7] 農林水産省：野菜生産出荷統計（2021）.
- [8] 伊藤友美，水野早苗，横山洋子，山田哲也：機能性野菜添加パンの開発-加熱によるパンの嗜好に及ぼす影響-，瀬木学園紀要，1，111-114（2007）.
- [9] 松浦弘明，藤山勝二，池内義弘：熱脱着ガスクロマトグラフィー/質量分析法による食品中のジメチルスルフィド及びジメチルジスルフィドの定量，分析化学，54，1075-1082（2005）.
- [10] 清水克志：日本におけるキャベツ生産地域の設立とその背景としてのキャベツ食習慣の定着—明治後期から昭和戦前期を中心として—，地理学評論，81，1-24（2008）.
- [11] 農林水産省：果樹生産出荷統計（2021）.
- [12] 前田安彦：漬物学-その化学と製造技術（幸書房，東京），312（2002）.
- [13] 勝野那嘉子，藤村誠，石川森夫，貝沼（岡本）章子，福田靖子，小泉幸道：煎りゴマ添加醸造酢の開発とその品質特性，醸協，108，361-367（2013）.
- [14] 中村誠：アセロラ酢醸造におけるビタミンCの消長，日食工誌，38，691-694（1991）.
- [15] 宮崎俊一，大坪雅史，青木央，澤谷拓治：分離酢酸菌株によるマルメロ，アスパラガスを原料とした酢酸発酵，日食科工誌，43，858-865（1996）.
- [16] 南場毅，竹内徳男：酵母エキス中の酢酸発酵促進物質の分画，日食工誌，28，534-541（1981）.
- [17] Chin, H-W., and Lindsay, R. C. : Mechanisms of Formation of Volatile Sulfur Compounds following the Action of Cysteine Sulfoxide Lyases, J. Agric. Food Chem., 42, 1529-1536

- (1994).
- [18] Nakagawa, K. , Umeda, T. , Higuchi, O. , Tsuzuki, T. , Suzuki, T. , and Miyazawa, T. : Evaporative light-scattering analysis of sulforaphane in broccoli sample : quality of broccoli products regarding sulforaphane contents, *J. Agric. Food Chem.* , 54, 2479-2483 (2006).
- [19] 西脇俊和 : 酵母発酵による沢庵臭の低減法, *醸協*, 102, 432-440 (2007).
- [20] 伊藤寛 : 食酢 (1), *醸協*, 73, 200-208 (1978).
- [21] 伊藤三郎 : 果実の科学, 第 8 版, (朝倉書店, 東京), 103-106 (2001).
- [22] 車敬愛, 鈴木栄, 石川駿二, 小池洋男, 荻原勲 : 園学研, 8, 257-265 (2009).
- [23] 並木満夫, 中村良, 川岸舜朗, 渡邊乾二 : 現代の食品科学, 第 2 版, (三共出版, 東京), 61-63 (1996).
- [24] Oms-Oliu, G. , Odriozola-Serrano, I. , and Martín-Belloso, O. : Metabolomics for assessing safety and quality of plant-derived food, *Food Res. Int.* , 54, 1172-1183 (2013).
- [25] Cubero-Leon, E. , Peñalver, R. , and Maquet, A. : Review on metabolomics for food authentication, *Food Res. Int.* , 60, 95-107 (2014).
- [26] Ochi, H. , Naito, H. , Iwatsuki, K. , Bamba, T. , and Fukusaki, E. : Metabolomics-based component profiling of hard and semi-hard natural cheeses with gas chromatography/time-of-flight-mass spectrometry and its application to sensory predictive modeling, *J. Biosci. Bioeng.* , 113, 751-758 (2012).
- [27] Ochi, H. , Sakai, Y. , Koishihara, H. , Abe, F. , Bamba, T. , and Fukusaki, E. : Monitoring the ripening process of Cheddar cheese based on hydrophilic component profiling using gas chromatography-mass spectrometry, *J. Dairy Sci.* , 96, 7427-7441 (2013).
- [28] Shiga, K. , Yamamoto, S. , Nakajima, A. , Kodama, Y. , Imamura, M. , Sato, T. , Uchida, R. , Obata, A. , Bamba, T. , and Fukusaki, E. : Metabolic profiling approach to explore compounds related to the umami intensity of soy sauce, *J. Agric. Food Chem.* , 62, 7317-7322 (2014).
- [29] Yamamoto, S. , Bamba, T. , Sano, A. , Kodama, Y. , Imamura, M. , Obata, A. , and Fukusaki, E. : Metabolite profiling of soy sauce using gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry and analysis of correlation with quantitative descriptive analysis, *J. Biosci. Bioeng.* , 114, 170-175 (2012).
- [30] Yamamoto, S. , Shiga, K. , Kodama, Y. , Imamura, M. , Uchida, R. , Obata, A. ,

- Bamba, T. , and Fukusaki, E. : Analysis of the correlation between dipeptides and taste differences among soy sauces by using metabolomics-based component profiling, *J. Biosci. Bioeng.* , 118, 56-63 (2014).
- [31] Mimura, N. , Isogai, A. , Iwashita, K. , Bamba, T. , and Fukusaki, E. : Gas chromatography/mass spectrometry based component profiling and quality prediction for Japanese sake, *J. Biosci. Bioeng.* , 118, 406-414 (2014).
- [32] Pinu, F. R. , De Carvalho-Silva, S. , Trovatti, U. A. P. , and Villas-Boas, S. G. : Vinegar metabolomics: an explorative study of commercial balsamic vinegars using gas chromatography-mass spectrometry, *Metabolites*, 6, 22 (2016).
- [33] Jang, Y. K. , Lee, M. Y. , Kim, H. Y. , Lee, S. , Yeo, S. H. , Baek, S. Y. , and Lee, C. H. : Comparison of traditional and commercial vinegars based on metabolite profiling and antioxidant activity, *J. Microbiol. Biotechnol.* , 25, 217-226 (2015).
- [34] Kelly, A. E. , Ou, H. D. , Withers, R. , and Dötsch, V. : Low-conductivity buffers for high-sensitivity NMR measurements, *J. Am. Chem. Soc.* , 124, 12013-12019 (2002).
- [35] Akiyama, K. , Chikayama, E. , Yuasa, H. , Shimada, Y. , Tohge, T. , Shinozaki, K. , Hirai, M. Y. , Sakurai, T. , Kikuchi, J. , and Saito, K. : PRIME: a Web site that assembles tools for metabolomics and transcriptomics, *In Silico Biol.* , 8, 339-345 (2008).
- [36] Chikayama, E. , Sekiyama, Y. , Okamoto, M. , Nakanishi, Y. , Tsuboi, Y. , Akiyama, K. , Saito, K. , Shinozaki, K. , and Kikuchi, J. : Statistical indices for simultaneous large-scale metabolite detections for a single NMR spectrum, *Anal. Chem.* , 82, 1653-1658 (2010).
- [37] Delaglio, F. , Grzesiek, S. , Vuister, G. W. , Zhu, G. , Pfeifer, J. , and Bax, A. : NMRPipe: a multidimensional spectral processing system based on UNIX pipes, *J. Biomol. NMR*, 6, 277-293 (1995).
- [38] Sekiyama, Y. , Chikayama, E. , and Kikuchi, J. : Evaluation of a semipolar solvent system as a step toward heteronuclear multidimensional NMR-based metabolomics for ¹³C-labeled bacteria, plants, and animals, *Anal. Chem.* , 83, 719-726 (2011).
- [39] Wishart, D. S. , Jewison, T. , Guo, A. C. , Wilson, M. , Knox, C. , Liu, Y. , Djoumbou, Y. , Mandal, R. , Aziat, F. , Dong, E. , and other 13 authors : HMDB 3.0-the human metabolome database in 2013, *Nucleic Acids Res.* , 41, D801-D807 (2013).
- [40] Ulrich, E. L. , Akutsu, H. , Doreleijers, J. F. , Harano, Y. , Ioannidis, Y. E. ,

- Lin, J., Livny, M., Mading, S., Maziuk, D., Miller, Z., and other 6 authors : Bio-MagResBank, *Nucleic Acids Res.*, 36, D402-D408 (2008).
- [41] Iijima, Y., Iwasaki, Y., Otagiri, Y., Tsugawa, H., Sato, T., Otomo, H., Sekine, Y., and Obata, A. : Flavor characteristics of the juices from fresh market tomatoes differentiated from those from processing tomatoes by combined analysis of volatile profiles with sensory evaluation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 80, 2401-2411 (2016).
- [42] Lommen, A. : MetAlign: interface-driven, versatile metabolomics tool for hy-phenated full-scan mass spectrometry data preprocessing, *Anal. Chem.*, 81, 3079-3086 (2009).
- [43] Tsugawa, H., Tsujimoto, Y., Arita, M., Bamba, T., and Fukusaki, E. : GC/MS based metabolomics: development of a data mining system for metabolite identification by using soft independent modeling of class analogy (SIMCA), *BMC Bioinformatics*, 12, 131 (2011).
- [44] Tomita, S., Nemoto, T., Matsuo, Y., Shoji, T., Tanaka, F., Nakagawa, H., Ono, H., Kikuchi, J., Ohnishi-Kameyama, M., and Sekiyama, Y. : A NMR-based, non-targeted multistep metabolic profiling revealed L-rhamnitol as a metabolite that characterised apples from different geographic origins, *Food Chem.*, 174, 163-172 (2015).
- [45] Boffo, E. F., Tavares, L. A., Ferreira, M. M. C., and Ferreira, A. G. : Classification of Brazilian vinegars according to their ¹H NMR spectra by pattern recognition analysis, *LWT-Food Sci. Technol.*, 42, 1455-1460 (2009).
- [46] Consonni, R., Cagliani, L. R., Benevelli, F., Spraul, M., Humpfer, E., and Stocchero, M. : NMR and chemometric methods: a powerful combination for characterization of Balsamic and Traditional Balsamic Vinegar of Modena, *Anal. Chim. Acta*, 611, 31-40 (2008).
- [47] Tomita, K., Yano, T., Kitagata, T., Ando, N., Kumagai, H., and Tochikura, T. : Action of glutaminase in a model system of a soy sauce fermentation, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 1873-1878 (1989).
- [48] Zeisel, S. H., Mar, M. H., Howe, J. C., and Holden, J. M. : Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods, *J. Nutr.*, 133, 1302-1307 (2003).
- [49] Matheson, N. A., and Moir, A. W. : A simple method for the approximate determination of S-methylcysteine sulfoxide (kale anaemia factor), *J. Sci. Food Agric.*, 27, 959-961 (1976).
- [50] Stoewsand, G. S. : Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetables-a review, *Food Chem. Toxicol.*, 33, 537-543 (1995).

- [51] Chin, H. , and Lindsay, R. C. : Mechanisms of formation of volatile sulfur compounds following the action of cysteine sulfoxide lyases, *J. Agric. Food Chem.* , 42, 1529-1536 (1994).
- [52] Pires, E. J. , Teixeira, J. A. , Branyik, T. , and Vicente, A. A. : Yeast: the soul of beer's aroma-a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 98, 1937-1949 (2014).
- [53] VanEtten, C. H. , Daxenbichler, M. E. , Williams, P. H. , and Kwolek, W. F. : Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables. Analysis of the edible part from twenty-two varieties of cabbage, *J. Agric. Food Chem.* , 24, 452-455 (1976).
- [54] VanEtten, C. H. , Daxenbichler, M. E. , Tookey, H. L. , Kwolek, W. F. , Williams, P. H. , and Yoder, O. C. : Glucosinolates: potential toxicants in cabbage cultivars, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* , 105, 710-714 (1980).
- [55] Bones, A. M. , and Rossiter, J. T. : The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates, *Phytochemistry* , 67, 1053-1067 (2006).
- [56] Ruther, J. : Retention index database for identification of general green leaf volatiles in plants by coupled capillary gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* , 890, 313-319 (2000).
- [57] Ina, H. , Ymada, L. , Matsumonoto, K. , and Miyazaki, T. : Effect of benzyl glucoside and chlorogenic acid from *Prunus mume* on adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and catecholamine levels in plasma of experimental menopausal model rats, *Biol. Pharm Bull* , 27, 136-137 (2004).
- [58] Takemura, S. , Yoshimasu, K. , Fukumoto, J. , Mure, K. , Nishio, N. , Kishida, K. , Yano, F. , Mitani, T. , Takeshita, T. , and Miyashita, K. : Safety and adherence of Umezu polyphenols in the Japanese plum (*Prunus mume*) in a 12-week double-blind randomized placebo-controlled pilot trial to evaluate antihypertensive effects, *Environ Health Prev Med* , 19, 444-451 (2014).
- [59] Takemura, S. , Yoshimasu, K. , Mure, K. , Fukumoto, J. , Nishio, N. , Kitano, N. , Kishida, K. , Yano, F. , Mitani, T. , Takeshita, T. , and Miyashita, K. : Are umezu polyphenols in the Japanese plum (*Prunus mume*) protective against mild hypertension and oxidation? Evidence from a double-blind randomized placebo-controlled trial, *Open J Prev Med* , 3, 561-569 (2013).
- [60] Matsuda, H. , Morikawa, T. , Ishiwada, T. , Managi, H. , Kagawa, M. , Higashi,

- Y. , and Yoshikawa, M. : Medicinal flowers.VIII. Radical scavenging constituents from the flowers of *Prunus mume*: structure of prunose III, *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 51, 440-443 (2003).
- [61] Yan, XT, Lee, SH, Li, W, Sun, YN, Yang, SY, Jang, HD, and Kim, YH. : Evaluation of the antioxidant and anti-osteoporosis activities of chemical constituents of the fruits of *Prunus mume*. *Food. Chem.*, 156, 408-415 (2014).
- [62] Shi, J., Gong, J., Liu, J., Wu, X., and Zhang, Y. : Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components, *LWT-Food Sci Tech*, 42, 477-482 (2009).
- [63] Miyazawa, M., Utsunomiya, H., Inada, K., Yamada, T., Okuno, Y., Tanaka, H., and Tatematsu, M. : Inhibition of *Helicobacter pylori* motility by (+)-Syringaresinol from unripe Japanese apricot, *Bio Pharm Bull*, 29, 172-173 (2006).
- [64] Yoshikawa, M., Murakami, T., Ishiwada, T., Morikawa, T., Kagawa, M., Higashi, Y., and Matsuda, H. : New flavonol oligoglycosides and polyacylated sucroses with inhibitory effects on aldose reductase and platelet aggregation from the flowers of *Prunus mume*, *J. Nat. Prod.*, 65, 1151-1155 (2002).
- [65] Kishida, K., Suzuki, M., Heya, Y., Yamazaki, Y., Horinishi, A., and Ozaki, Y. : Phenolic extract from Japanese apricot fruit (*Prunus mume* Sieb et Zucc.) inhibits disaccharidase activity in the small intestine and suppresses the postprandial elevation of glucose levels in rats, *日本食品保蔵科学会誌*, 40, 119-125 (2014).
- [66] 本間知夫：地方発バイオイノベーションの進展と機能性食素材開発 群馬県発フー
ドイノベーション 県産農産物の新規利用活用 地元の大学での取り組み（解説），
FOOD Style 21, 18, 49-51 (2014).
- [67] 須永奈央：梅抽出液の機能性に関する研究－美白効果・抗酸化活性について，平成
27年度前橋工科大学卒業論文（2016）.
- [68] 大木道則，大沢利昭，田中元治，千原秀昭編：化学辞典（東京化学同人，東京），1219-
1220 (1994).
- [69] 沢辺善之，他：生薬の皮膚関連酵素に対する阻害作用，*YAKUGAKU ZASSHI*, 118,
423-429 (1998).
- [70] 日本メナード化粧品株式会社：NMF 産生促進剤，特開 2006-124350 (2006).
- [71] 日本メナード化粧品株式会社：セラミド合成促進剤，特開 2006-111560 (2006).

- [72] ポーラ化成工業株式会社：メラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤及びそれを含有する化粧品，特開 2002-154920 (2002).
- [73] 奥村隆，御子柴茂朗，竹中玄，染谷慶太，大寺基靖：微生物代謝阻害による体臭抑制ーキョウニンエキスのアンドロステノン発生抑制作用の解析ー，日本化粧品学会誌，30，63-68 (2006).
- [74] 村田容常，本間清一：ポリフェノールオキシダーゼと褐変制御 最新の研究動向，日本食品科学工学会誌，45，177-185 (1998).
- [75] 宮崎義之，倉田有希江，古賀裕章，山口智，立花宏文，山田耕路：ザクロ酢のヒスタミン放出抑制活性におけるポリフェノール化合物の寄与，日本食科工誌，63，63-69 (2016).
- [76] 一般社団法人農山漁村文化協会編：地域食材大百科第2巻，第5版（一般社団法人農山漁村文化協会，東京），69-74 (2014).
- [77] 酢酸菌研究会編：酢の機能と科学（朝倉書店，東京），54 (2012).
- [78] 多山賢二：生活習慣病に及ぼす食酢の効果，醸協，97，693-699 (2002).
- [79] 日本生理学会教育委員会監修：新訂生理学実習書（南江堂，東京），91-95 (2013).
- [80] 田村豊幸，藤井彰：薬理学実験法（協同医書出版社，東京），215-219 (1981).
- [81] 高木都：魅力ある講義と生理学教育（消化器），日生誌，68，253-261 (2006).
- [82] 遠藤美智子，松岡孝：食酢の食後血糖上昇抑制効果，糖尿病，54，192-199 (2011).
- [83] Yusoff, NA., Ahmad, M., Al-Hindi, B., Widyamati, T., Yam, MF., Mahmud, R., Razak, KN., and Asmawi, MZ. : Aqueous Extract of *Nypa fruticans* Wurb. Vinegar Alleviates Postprandial Hyperglycemia in Normoglycemic Rats, *Nutrients*, 7, 7012-7026 (2015).
- [84] Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., and Poutanen, K. : Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism, *Int. J. Mol. Sci.*, 11, 1365-1402 (2010).
- [85] Konishi, Y., Hagiwara, K., and Shimizu, M. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 2449-2457 (2002).
- [86] Ebihara, K., Miyada, T., and Mochizuki, S. : Comparative effects of various organic acids on glucose-flattening activity in rats fed a glucose solution, *Nutr. Rep. Int.*, 40, 1041-1046 (1989).
- [87] Liljeberg, H., and Björck, I. : Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia

- in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 52, 368-371 (1998).
- [88] 田中浩：美白製品とその作用，日本香粧品学会誌，43，39-43（2019）.
- [89] 藤原隆広，吉岡宏，熊倉裕史，佐藤文生，井上昭司：NaCl の施用条件がキャベツセル成型苗の苗質に及ぼす影響，園学研，1，169-173（2002）.
- [90] 藤原隆広，中山真義，菊池直，吉岡宏，佐藤文生：NaCl 施用によるキャベツセル成型苗の徒長抑制・順化効果，園学雑，71，796-804（2002）.
- [91] Frantz, JM., Welbaum, GE., Shen, Z., and Morse, R. : Comparison of cabbage seedling growth in four transplant production systems, *HortScience*, 33, 976-979 (1998).
- [92] 宮沢佳恵：低分子有機態炭素施用によるキャベツ苗の乾燥ストレス耐性向上 I. 糖類およびクエン酸の効果，土肥誌，82，298-301（2011）.
- [93] 宮沢佳恵：低分子有機態炭素施用によるキャベツ苗の乾燥ストレス耐性向上 II. クエン酸施用効果の検証，土肥誌，82，302-304（2011）.
- [94] Kim, JM., To, TK., Tanoi, K., Kobayashi, NI., Matsuda, F., Habu, Y., Ogawa, D., Sakamoto, T., Matsunaga, S., Bashi, K., Rasheed, S., Ando, M., Takeda, H., Kawaura, K., Kusano, M., Fukushima, A., Endo, TA., Kuromori, T., Ishida, J., Morosawa, T., Tanaka, M., Torii, C., Takebayashi, Y., Sakakibara, H., Ogihara, Y., Saito, K., Shinozaki, K., Devoto, A., and Seki, M. : Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants, *Nature Plants*, 3, Article No.17097 (2017).
- [95] 植物栄養実験法編集委員会編：植物栄養実験法（博友社，東京），52-54（1990）.
- [96] 本間知夫，小山田篤史，村田拓郎：作物根系の呼吸活性測定のための TTC 法の適用条件の検討，日本作物学会第 246 回講演会要旨集，130（2018）.
- [97] 松浦朝奈，稲永忍：作物の耐乾性と根系(1)，根の研究，6，62-64（1997）.
- [98] 円谷悦造，伊藤一博，川村吉也，大野正司，吉田重方：食酢による芝草病害の防除，芝草研究，20，45-49（1991）.
- [99] 本間知夫，馬場純子：梅の種の炭化による有効活用法の検討，前橋工科大学研究紀要，17，27-29（2014）.
- [100] 鳩谷珠季，松井望：粉碎ウメ種子混合敷料がブローラーの飼育環境と生産性に及ぼす影響，和歌山県農林水産試験研究機関研究報告，6，87-96（2018）.
- [101] 兼廣春之：マイクロプラスチックによる海洋汚染，*JATAFF journal*, 8, 13-18 (2020).

- [102] 柴谷順一，渡辺博：最近の化粧品用樹脂の動向，色材協会誌，63，217-225（1990）．
- [103] 浜田博一，梶原奏，有沢正俊：皮膚洗浄における物理洗浄粒子の機能と設計，日本化粧品技術者会誌，30，47-54（1996）．
- [104] 長尾慶子，喜多記子，松田麗子，加藤和子，十河桜子，三神彩子：家庭におけるエコ・クッキングの実践がCO₂削減に及ぼす影響，日本家政学会誌，59，903-910（2008）．
- [105] 牛久保明邦：食品産業廃棄物と家庭系食品廃棄物の実態とそのゆくえ，廃棄物学会誌，14，216-227（2003）．
- [106] 岡本安祐美，平井一幸，神谷未樹，渡邊香，柳田悠輔，中野葉子：ウメ新品種「ひなた丸（仮称）」の育成，群馬県農業技術センター研究報告，16，13-18（2019）．

研究業績

原著論文

- 1) 石原智, 大澤実: キャベツ酢の開発とその品質特性, 醸協, 112, 357-364 (2017).
- 2) Ishihara, S., Inaoka, T. , Nakamura, T. , Kimura, K. , Sekiyama, Y. , and Tomita, S. : Nuclear magnetic resonance- and gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomic characterization of water-soluble and volatile compound profiles in cabbage vinegar, J. Biosci. Bioeng., 126, 53-62 (2018).
- 3) 石原智, 寺島和哉, 本間知夫: キャベツ酢がマウス摘出腸管機能に及ぼす影響, 醸協, 116, 713-718 (2021).

学会発表

- 1) 石原智, 大澤実: キャベツ酢の開発とその品質特性, 第 62 回日本食品科学工学会 (2015 年 8 月).
- 2) 石原智: キャベツ酢の開発による産地の活性化, 平成 27 年度全国食品技術研究会 (2015 年 11 月).

平成 27 年度全国食品技術研究会賞 (優秀賞) 受賞

- 3) 寺島和哉, 石原智, 本間知夫: キャベツ酢の健康効果—マウス摘出腸管機能による糖質分解及び糖吸収に及ぼす影響の評価, 日本農芸化学会関東支部 2016 年度大会 (2016 年 10 月).
- 4) 寺島和哉, 石原智, 本間知夫: マウス摘出腸管機能に及ぼすキャベツ酢等の影響, 日本農芸化学会 2017 年度大会 (2017 年 3 月).
- 5) 本間知夫, 寺島和哉, 石原智: キャベツ酢がマウス摘出腸管機能に及ぼす影響, 第 94 回日本生理学会大会 (2017 年 3 月).
- 6) 本間知夫, 寺島和哉, 石原智: キャベツ酢による摘出したマウス腸管機能の抑制効果について, 第 22 回日本フードファクター学会学術集会 (2017 年 12 月).
- 7) 寺島和哉, 石原智, 唐木晋一郎, 本間知夫: マウス摘出腸管におけるキャベツ酢による糖吸収抑制作用について, 日本農芸化学会 2018 年度大会 (2018 年 3 月).
- 8) 本間知夫, 寺島和哉, 石原智, 唐木晋一郎: キャベツ酢によるマウス摘出小腸における糖吸収抑制機構に関する研究, 第 95 回日本生理学会大会 (2018 年 3 月).

- 9) 本間知夫, 寺島和哉, 唐木晋一郎, 石原智: マウス腸管機能に及ぼすキャベツ酢の効果について, 第 72 回日本栄養・食糧学会大会 (2018 年 5 月).
- 10) 杉山沙依美, 寺島和哉, 石原智, 唐木晋一郎, 本間知夫: マウス摘出腸管における糖吸収に及ぼす酢酸投与のタイミングについて, 日本農芸化学会関東支部 2018 年度大会 (2018 年 10 月).
- 11) 石原智: キャベツ酢のメタボローム解析と新製品の開発, 平成 30 年度全国食品技術研究会 (2018 年 11 月).
- 12) 杉山沙依美, 寺島和哉, 石原智, 唐木晋一郎, 本間知夫: マウス摘出腸管における酢酸投与による糖吸収抑制について, 2018 日本化学会関東支部群馬地区研究交流発表会 (2018 年 12 月).
- 13) 本間知夫, 石橋諭, 辻渉, 石原智, 小倉愉利子, 小泉丈晴: キャベツ酢残渣液処理によるキャベツセル苗への耐乾性付与, 第 247 回日本作物学会講演会 (2019 年 3 月).
- 14) 本間知夫, 杉山沙依美, 寺島和哉, 唐木晋一郎, 石原智: キャベツ酢によるマウス摘出腸管における糖吸収抑制機構に関する研究, 第 73 回日本栄養・食糧学会大会 (2019 年 5 月).
- 15) 本間知夫, 石橋諭, 小山田篤史, 辻渉, 石原智, 小倉愉利子, 小泉丈晴: キャベツ酢残渣液処理したキャベツセル成形苗の耐乾性と生理活性との関係について, 第 248 回日本作物学会講演会 (2019 年 9 月).
- 16) 小林竜也, 石橋諭, 小山田篤史, 辻渉, 石原智, 小倉愉利子, 小泉丈晴, 本間知夫: キャベツ酢残渣液によるキャベツセル成形苗に対する耐乾性付与～異なる処理方法の影響, 2019 日本化学会関東支部群馬地区研究交流発表会 (2019 年 12 月).
- 17) 本間知夫, 杉山沙依美, 寺島和哉, 石原智, 唐木晋一郎: 酢酸によるマウス摘出小腸における糖吸収抑制- Na^+ 濃度の影響, 第 97 回日本生理学会大会 (2020 年 3 月) (中止・誌面開催).
- 18) 本間知夫, 廣瀬仁志, 石原智: 梅種子水抽出液によるマウス摘出小腸における糖吸収抑制について, 第 74 回日本栄養・食糧学会大会 (2020 年 5 月) (中止・誌面開催).
- 19) 本間知夫, 廣瀬仁志, 石原智: 梅種子水抽出液がマウス摘出小腸における糖吸収に及ぼす影響, 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第 98 回日本生理学会大会 合同大会 (2021 年 3 月).

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました前橋工科大学大学院工学研究科 本間知夫 教授に謹んで深謝の意を表します。

審査委員をお務めいただきました前橋工科大学大学院工学研究科 門屋利彦 教授、本多一郎 教授、田中恒夫 教授、そして学外委員の東北大学大学院農学研究科 藤井智幸 教授には、本論文作成に当たり有益なご指導、ご助言およびご校閲を賜りまして深謝の意を表します。

キャベツ酢の網羅的解析にあたり、多大なる協力を賜りました国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門 富田理博士、稲岡隆史博士、中村敏英博士、木村啓太郎博士、関山恭代博士に心から感謝の意を表します。

ウメの研究を行うにあたり、ウメ種子を提供して下さりました AdaBio 株式会社 大澤立志氏、ウメ種子粉末を作製して下さりましたマイクロフーズジャパン株式会社 川井一秀氏に感謝申し上げます。

本研究の一部（第2章第3節および第4章第2節）は、前橋工科大学と株式会社コスモビューティーとの共同研究「ウメの種からの化粧品原料開発」（研究期間：令和2年10月1日～令和4年3月31日）として実施され、研究の推進や成果の社会実装でお世話になりました引間俊雄氏、浅見成美氏に感謝申し上げます。

本研究の一部（第4章第1節）は、日本カーリット株式会社から前橋工科大学への奨励寄付金を使用して実施しました。日本カーリット株式会社に感謝申し上げます。

博士課程への入学を志したきっかけを与えてくださった群馬県農業技術センター 大澤実博士に感謝の意を表します。

本研究を共に行っていただいた前橋工科大学食品機能開発工学研究室の学生諸子の方々に謝意を表します。

最後に、大学院への進学を容認し、私生活において常にサポートをしていただいた妻 千春に心から感謝いたします。