

植物種子および葉由来成分を含む
消臭剤開発に関する研究

令和6（2024）年3月
邊見 篤史

内容

緒 言	1
第 1 章 アリルメチルスルフィドに対する消臭活性をもつ植物成分の探索	3
1. 実験方法	3
1.1. 使用試薬	3
1.2. 植物素材からのスクリーニング用試料の調製法	3
1.3. スクリーニング用試料の調製と消臭スクリーニング方法	4
1.4. ガスクロマトグラフィーとガス検知管による消臭活性の分析	4
1.5. 植物抽出物中の固相マイクロ抽出-ガスクロマトグラム/質量分析計(SPME 法・GC-MS)による成分分析	5
1.6. シリカゲルクロマトグラフィーによるフュアオイ抽出物の分画	5
1.7. 1,8-シネオールから悪臭物質ガスの加熱脱離試験	6
1.8. 嗅覚による消臭活性の測定	6
2. 結果および考察	6
2.1. アリルメチルスルフィドに対する消臭活性を有する物質の探索	6
2.2. フュアオイの葉抽出物に含まれる消臭活性成分の同定	7
2.3. さまざまな悪臭物質ガスに対する 1,8-シネオールの官能評価	9
2.4. シネオールの消臭機構	10
第 2 章 ビワ(<i>Rhaphiolepis bibas</i> (Lour.) Galasso & Banfi)種子からの消臭活性物質の探索	30
1. 試験方法	30
1.1. ビワ種子油の調製方法	30
1.2. ビワ種子の揮発性成分の分析	30
1.3. ビワ種子油の化学的性状の測定	31
1.4. ビワ種子油中の脂肪酸組成分析	32
1.5. ビワ種子油の組成分析	32
1.6. 消臭試験方法	33
2. 結果および考察	34
2.1. ビワ種子のヘッドスペース中の揮発性化合物の分析	34
2.2. ビワ種子油の化学的性状	34
2.3. ビワ種子油の脂肪酸組成	35
2.4. GPC (Gel Permeation Chromatography)分析	35
2.5. ビワ種子油およびベンズアルデヒドの消臭効果	35
2.6. ビワ種子油の脂肪酸組成モデルの消臭活性	36
2.7. ビワ種子油のアリルメチルスルフィドに対する消臭剤としての評価	36
第 3 章 ヤマモモ(<i>Myrica rubra</i> SIEB. et ZUCC. vc)種子からの消臭活性物質の探索	48
1. 試験方法	48
1.1. ヤマモモ種子油の調製	48

1.2.	ヤマモモ種子油中の脂肪酸分析.....	49
1.3.	ヤマモモ種子油の組成分析.....	49
1.4.	ヤマモモ種子油の香気成分の分析.....	49
1.5.	ヤマモモ種子油の化学的性状の測定.....	49
1.6.	タンパク質の定量方法.....	49
1.7.	消臭試験方法.....	49
2.	結果および考察.....	50
2.1.	ヤマモモ種子油の香気成分の分析.....	50
2.2.	ヤマモモ種子油の化学的性状.....	50
2.3.	ヤマモモ種子油中の脂質分析と脂肪酸組成.....	50
2.4.	ヤマモモ種子油中のタンパク質量の定量.....	51
2.5.	ヤマモモ種子油の消臭効果.....	51
2.6.	ヤマモモ種子油成分の消臭効果.....	51
2.7.	ヤマモモ種子油の評価結果.....	52
第4章	ビワおよびヤマモモ種子油の混合油に対する消臭効果の改善.....	60
1.	実験方法.....	61
1.1.	試料の調製.....	61
1.2.	消臭試験方法.....	61
2.	結果および考察.....	61
第5章	ブラジルナッツ (<i>Bertholletia excelsa</i> Humb. & Bonpl.) 種子油の化学成分と有効 利用.....	64
1.	試験方法.....	64
1.1.	ブラジルナッツ種子油の調製.....	64
1.2.	ブラジルナッツ種子油中の香気成分の分析.....	64
1.3.	ブラジルナッツ種子油中の脂肪酸組成分析.....	64
1.4.	ブラジルナッツ種子油の化学的性状の測定.....	65
1.5.	消臭試験方法.....	65
1.6.	DPPH ラジカル消去効果の測定.....	65
2.	結果および考察.....	66
2.1.	ブラジルナッツの果肉と殻の香気成分の分析.....	66
2.2.	ブラジルナッツ種子油の化学的性状.....	66
2.3.	ブラジルナッツ種子油の組成分析.....	66
2.4.	ブラジルナッツ種子油の消臭効果.....	67
2.5.	ブラジルナッツ種子油の抗酸化能の確認.....	67
研究の成果	77
謝辞	78
参考文献	79

緒 言

近年、畜産業、食品加工業、および廃水処理業などでは事業規模の拡大に伴って不快臭が発生することも多く、地域住民等から苦情が寄せられるも少なくない。また、野外焼却や焼肉店などのレストランが悪臭の原因となるケースもある。家庭に目を向けると、日常生活の中で不快臭を感じる場合がある。ペットの排泄物、腐ったタマネギや魚などが腐敗した腐敗臭および生ゴミなどから発生する不快臭である。さらに人体から発生する口臭や体臭もまた私たちの生活の中で経験する不快臭である。

人はニオイに対する感性が明確で、好ましいニオイと不快なニオイを瞬時に判断する。これは、過去の経験の記憶がニオイと強く関連しているためであると言われている。動物の嗅覚は、鼻腔内にある嗅上皮の嗅粘膜上の嗅粘液中に溶解込み、嗅細胞から突出している嗅毛にある受容体と接合することで活動電位（インパルス）が嗅細胞から発生し、神経細胞の軸索を通り嗅球を経由して脳に伝達されることで、ニオイを認識している¹⁾。一方、ニオイの原因となる化学物質は 40 万種類以上あると言われ、その中でも不快臭の原因となるいわゆる悪臭物質は、これまでに多くの研究機関や企業で研究され報告されている。Persson らおよび Yoshimura らは口腔内の微生物によって食物残渣が分解されて、不快臭の原因となる硫化水素、メチルメルカプタンが発生することを報告している^{2,3)}。2001 年には、Haze らが、加齢に伴い強く感じられる体臭成分が 2-ノネナールであることを報告し、それを加齢臭と名付けた⁴⁾。また、Shirasu らは、皮膚に浸潤した癌患部からジメチルトリスルフィドが発生していることを報告している⁵⁾。その他にも、短鎖脂肪酸類である酢酸、イソ吉草酸は汗臭や足臭などのいわゆる体臭成分に含まれ、窒素化合物であるアンモニアやトリメチルアミンは食品の腐敗臭であり生ゴミ臭にも含まれている。主要な悪臭物質には窒素化合物、硫黄化合物、脂肪酸、およびアルデヒド類等が挙げられるが、さらにケトン類、アルコール類、および炭化水素など不快なニオイの原因として知られている。最近では、不快なニオイで周囲の人を不快にさせることを『スメルハラスメント』と呼び、さらに、口臭や体臭などのニオイを消臭することは、社会生活上の重要な身だしなみの一つになっている。2019 年には Hirasawa らは不快なニオイを嗅ぐと交感神経系のストレス応答を生じさせることを報告しており⁶⁾、悪臭公害とは異なる新しいタイプの悪臭トラブルの原因となっている。消臭剤はこれらの身近な悪臭問題を解決するとともに、生活の質(QOL ; Quality of life)を向上させるために重要な役割を担っている。

著者が所属するリリース科学工業(株)では 1984 年の創業以来、カキ (*Diospyros kaki thunb*) の果実部に含まれるカキタンニンの消臭効果に着目し、消臭剤原料としてカキタンニンの製剤化に取り組み、今日では日用品、化粧品および食品分野において消臭を目的とする製品に利用されている。カキの果実を粉碎圧搾して発酵させて得られた柿渋は、古来より防腐、防虫および防水作用などを付与する目的で団扇や傘の染料として、また漁網や釣り針の防腐剤、清酒造りで清澄剤として利用されてきた。カキタンニンは、4 種類の

カテキン分子(エピカテキン、エピカテキンガレート、エピガロカテキンおよび、エピガロカテキンガレート)が重合してできた複雑な構造であることが報告されている⁷⁾。また、消臭剤として用いられているカテキン類は B 環上のフェノール性-OH 基とアンモニアとの置換反応によってアンモニア臭が消臭されると報告されており⁸⁾、カキタンニンもおそらくカテキン類と同様の機序で悪臭物質を消臭(化学的消臭)していると推定される。化学的消臭は、悪臭に対する選択的利用が可能であることが利点であるが、悪臭物質を吸着し物理的に消臭する活性炭のように、多くの種類の悪臭物質を一度に消臭できないことが欠点でもある。カテキン類と同様に、カキタンニンでは十分に消臭できない悪臭物質もあり、消臭の目的を果たせられない場合がある。

本研究では、カキタンニンでは消臭が難しい悪臭物質に対して消臭効果を有する天然素材を探索し、その消臭成分を明らかにするとともに、その利用方法を検討した。その結果、フユアオイ、ビワ、ヤマモモおよびブラジルナッツに消臭効果を示す物質を見出したので報告する。

第1章 アリルメチルスルフィドに対する消臭活性をもつ植物成分の探索

緑茶に含まれるカテキンは、ニンニク摂取後に放出される不快臭のうち、硫化水素、およびメチルメルカプタンを *in vitro* でほぼ完全に消臭し、*in vivo* でもこれらの臭気レベルが有意に低下することが報告されている⁹⁾。一方、ニンニク摂取後に放出されるアリルメチルスルフィドは不快臭を呈するが、カテキンの消臭作用は *in vitro* および *in vivo* ともに消臭効果が低い¹⁰⁾。そのため、アリルメチルスルフィドに対して強力な消臭活性を有する化合物の探索が期待されている。ニンニクに含まれるアリインは無臭であるが、ニンニクの組織が傷つけられると維管束中のアリナーゼによって有臭のアリシンに変化する。不安定なアリシンは、直ちにアリルスルフィド類、ビニルジチン類およびアホエンなどに変化する。ニンニク臭はこのアリルスルフィド類に起因するニオイであり、その中でもアリルメチルスルフィドはニンニク摂取後、約6時間後から検出され、その後長時間に渡って、呼気や体臭成分中に検出されることが報告されており、いわゆる「ニンニク料理を食べた翌日の気になるニオイ」の原因となる化合物である¹¹⁾。

本章では、アリルメチルスルフィドに対する消臭効果を示す物質の探索を目的として、109種類の植物からスクリーニングを行い、フユアオイ (*Malva verticillata* L.) の葉からの抽出物にアリルメチルスルフィドに対する消臭効果を見い出した。消臭効果を示す成分の一つとして、1,8-シネオールを同定した。そして、1,8-シネオールとその異性体である 1,4-シネオールに着目し、合計16種類の臭気成分に対する消臭効果を検討した (Fig. 1-1)。

1. 実験方法

1.1. 使用試薬

1,8-シネオール、2-ノネナール、およびアリルメチルスルフィドは Alfa Aesar 社製を、スカトール、アリルメルカプタン、およびジメチルスルフィドは Acros Organics 社製を、1,4-シネオールは Sigma-Aldrich 社製を使用した。インドール、および *n*-酪酸はキシダ化学 (株)、ジメチルジスルフィド、イソ吉草酸、およびジアセチルは東京化成工業 (株) より入手した。

1.2. 植物素材からのスクリーニング用試料の調製法

果実 (23 種類)、野菜 (18 種類)、種子 (12 種類)、茶またはハーブ (33 種類)、海草 (13 種類)、キノコ (10 種類) など、種々の植物素材は、それぞれの産地の市場で直接購入した。入手した植物素材は最初に凍結乾燥処理し、乳鉢で粉碎した。茶またはハーブは市販の乾燥・粉碎された材料を入手し、合計109種類の試料をスクリーニング材料として準備した。

スクリーニング試料を調製するために、植物素材の乾燥粉碎物 10 g を 300 ml 容コニカルプラスチックに入れ、そこに 50% 含水エタノール 100 ml を加え、室温で 30 分間攪拌した。その後、遠心分離 (1,500 g / 10 分間) し上清を回収した。抽出残渣にさらに新しい 50% 含

水エタノール 100 ml を加え再抽出した。これを合わせてロータリーエバポレーターでエタノールを留去した後、凍結乾燥し粉末化試料とした。

1.3. スクリーニング用試料の調製と消臭スクリーニング方法

300 ml コニカルフラスコに粉末化した試料約 100 mg を秤り取り、脱イオン水 1 ml を添加し懸濁後 Parafilm®で密封した。マイクロシリンジを用いて、フラスコの口を覆う Parafilm®を通して、アリルメチルスルフィド溶液 (20 ng/μl) を 10 μl (1 ppm ガス発生量) を注入した。フラスコの口は、悪臭物質溶液の注入直後に再び Parafilm®でしっかりと密閉した (二重密閉)。コニカルフラスコを 25°C で 60 分間静置した後、ヘッドスペースガス 2 ml を採取し、ガスクロマトグラフィー (GC-2014AF ; (株)島津製作所) で分析した。なお、植物抽出中にはカテキン等の消臭活性を持つさまざまなフェノール性化合物の存在が認められている。既知のフェノール性化合物が単離される可能性を最小限にするため、塩化第二鉄試験 (フェノール性化合物は塩化第二鉄と反応して青黒い呈色化合物を形成する) で陰性となる試料を選択した。

1.4. ガスクロマトグラフィーとガス検知管による消臭活性の分析

各悪臭物質に対する消臭活性を測定するために、本研究にて試料調製した 1,8-シネオール (シネオール量 ; 100 mg、200 mg、および 300 mg) を 300 ml コニカルフラスコにマイクロピペットで投入し Parafilm®で密封した。マイクロシリンジを用いて、フラスコの口を覆う Parafilm®を通してアリルメチルスルフィド溶液 (20 ng/μl) を 10 μl (または他の悪臭物質) 溶液を注入した。フラスコの口は、悪臭物質溶液の注入直後に再び Parafilm®でしっかりと密閉した (二重密閉)。フラスコを 25°C で 1 時間静置した後、ヘッドスペースガス 2 ml を採取し、ガスクロマトグラフィーで分析した。また、アリルメチルスルフィドおよびその他の悪臭物質について、25°C で 60 分間静置中の Parafilm®の透過およびガラスへの吸着による臭気ガスの損失は、試料フラスコと対照フラスコ (シネオール未投入) で有意差がないものと仮定した。例えば、ジメチルトリスルフィドの場合、損失は 2.4 % (3 回測定の平均値) であった。

ガスクロマトグラフ (GC) による各悪臭物質の分析条件は次の通りである。ジメチルスルフィド、ジメチルトリスルフィド、メチルメルカプタン、アリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、およびジメチルスルフィドはカラムにパックドカラム (Unisole F-200 30/60, φ 3.2 mm×2.1 m ; ジーエルサイエンス(株)) を用い、検出は炎光光度検出器 (FPD) を使用した。イソ吉草酸、n-酪酸、および 2-ノネナールは、カラムにパックドカラム (Unisole F-200 30/60, φ 3.2 mm×2.1m ; ジーエルサイエンス(株)) を用い、検出は水素炎イオン化検出器 (FID) を使用した。インドール、およびスカトールは、カラムにパックドカラム (OV-17 60/80, φ 3.2 mm×2.1 m ; ジーエルサイエンス(株)) を用い、検出は水素炎イオン化検出器 (FID) を使用した。ジアセチルは、カラムにパックドカラム (Sunpak-A 50/80, φ 3.2 mm×2.1 m ; ジーエルサイエンス (株)) を用い、検出は水素炎

イオン化検出器 (FID) を使用した。カラム温度は各悪臭物質の分析に最適な条件を用いた (Table 1-1)。キャピラリーガスは N₂ を使用した。ただし、スカトール、インドール、イソ吉草酸、およびジアセチルについては、濃度 1 ppm でのピークが十分に検出できなかったが、1,8-シネオールの消臭活性は試験した臭気ガスの初期濃度に影響されないことが確認されたため、初期濃度を 10 ppm とした (Table 1-2)。消臭効果については、次式では消臭活性と表現し、ヘッドスペース中の臭気ガス濃度の減少率で示し、以下の式で計算した。

$$\text{消臭活性 (\%)} = (C - S) / C \times 100$$

S : 試験試料を含む試料フラスコのヘッドスペースガスのピーク面積

C : 対照フラスコのヘッドスペースガス (コントロール) のピーク面積

酢酸、トリメチルアミン、アセトアルデヒド、およびアンモニアの検出には北川式ガス検知管 (光明理化学工業(株)) を使用した。試料フラスコを覆う Parafilm® にナイフでスリットを入れ、北川式ガス採取器 (AP-20 ; 光明理化学工業(株)) に接続したガス検知管を挿入し、ヘッドスペースガス 100 ml をガス検知管に通気した。検出濃度 (ppm) は、管の側面の目盛りを読み取った。消臭活性 (%) は GC 分析について上述した式を用いて算出した。ガス検知器分析では悪臭物質の初期濃度を 10 ppm とした。

1.5. 植物抽出物中の固相マイクロ抽出-ガスクロマトグラム/質量分析計 (SPME 法・GC-MS) による成分分析

植物抽出物 2 mg を 2 ml のスクリーバイアルに入れた。固相マイクロ抽出法 (SPME 法) による揮発性化合物の捕集は、試料を振とうしながら 60°C で 15 分間吸着させる操作により行った。試料バイアルのヘッドスペースに導入した SPME ファイバーは Carboxen/PDMS Stable Flex (Sigma-Aldrich 社) の 85 μm のものを使用した。吸着後の揮発性化合物は GC/MS で分析した。GC/MS は Hewlett Packard HP5890 series II Gas chromatograph に Hewlett Packard HP5872 series Mass spectrometer を結合して行った。カラムは DB-WAX Capillary column (φ 0.25 mm×60 m, 膜厚 0.25 μm) を用いた。キャリアガスには高純度ヘリウムを用い、流速は 1.2 ml/min とした。カラム温度は 40°C で 4 分間保持した後、200°C まで 4°C/分 で昇温するようなプログラムで行った。試料注入温度は 260°C、検出温度は 220°C で、イオン化電圧は 70 eV とした。各ピークの化合物の同定は、得られた各ピークのマススペクトル情報を NIST データベースでライブラリ検索を行うことと標準物質と各ピークの保持時間 (min) の比較により行った。

1.6. シリカゲルクロマトグラフィーによるフュアオイ抽出物の分画

細かく粉砕したフュアオイ乾燥葉にその重量の 10 倍量の 50% 含水エタノールに加え、2 時間混合後、固液分離して得られた抽出液を凍結乾燥して抽出物を得た。ついで抽出物 (200 g) に水 (3.5 l) を加えて混合して 30 分間攪拌した後、遠心分離 (3,000 rpm, 10 分間) した。この抽出操作を 2 回繰り返した後、得られた上清部 (水溶性画分)、および沈

殿部（水不溶性画分）を凍結乾燥した。ついで、水不溶性画分 8.9 g をクロロホルムに 10 ml に溶解後、シリカゲル（ワコーシル C-300）170 ml を充填したオープンカラム（φ 4 cm x 20 cm）に全量をかけ、クロロホルム 3.8 l で溶出し、200 ml 毎に分画し、19 フラクシオンに分画した。各フラクションの消臭活性は、100 μl を 300 ml コニカルフラスコに取り、室温でインキュベートしてクロロホルムを蒸発させた後、アリルメチルスルフィドに対する消臭活性を測定した。

1.7. 1,8-シネオールから悪臭物質ガスの加熱脱離試験

1,8-シネオールに吸着した悪臭物質ガス成分の加熱脱離試験には、ヘッドスペースサンブラ（Head space sampler HS-20 ; (株)島津製作所）と GC/MS（GCMS-TQ8040 System : (株)島津製作所）を用いた。まず、1,8-シネオール 50 mg に臭気ガス 2-ノネナール 100 ppm を投入し、1 時間室温で放置後、その 20ml をヘッドスペースバイアルに直接入れ、37°C で 1 時間インキュベートした。その後、50°C、75°C、100°C、および 150°C で 1 時間加温した。37°C でインキュベートした試験体と加温後のヘッドスペースガス 1 ml あたりの悪臭物質量を GC/MS で測定することで、加温による 1,8-シネオールから脱離した悪臭物質を測定した。その他のジメチルトリスルフィド、イソ吉草酸、およびスカトールについても同様の操作を行い、悪臭物質の量を測定した。

1.8. 嗅覚による消臭活性の測定.

人の嗅覚による消臭活性の官能試験は以下のように行った。1,8-シネオール 50 mg を入れた 300 ml コニカルフラスコにさまざまな悪臭物質ガスを加え、25°C で 60 分間静置した。300 ml 容コニカルフラスコに注入する悪臭物質ガス溶液の量は、悪臭物質溶液が 2~10 μl の時に臭気強度が 3~4 なるように $10^4 \sim 10^6$ 倍に希釈して調節(臭気判定士による評価)した。被験者は環境省の「嗅覚測定法安全管理マニュアル」を参考に口頭で同意した後、直接臭気フラスコ内の臭気成分を含む空気を嗅ぐ操作を行った。

2. 結果および考察

2.1. アリルメチルスルフィドに対する消臭活性を有する物質の探索

本論ではカキタンニンにおいて消臭が難しいアリルメチルスルフィド等の悪臭物質に対する消臭効果を有する消臭剤の開発を目指した。Table1-3 に 109 種類の植物素材由来抽出物のスクリーニング結果を示した。その結果、ナス (No. 10)、フユアオイ (No. 57)、エンメイソウ (No. 66)、クワ (No. 77)、テンチャ (No. 84)、アラメ (No. 89)、およびヒラタケ (No. 104) は 50%以上の消臭効果を示した。No. 54 から No.86 の茶/生薬植物カテゴリーの試料の消臭活性が相対的に高い傾向が認められ、その中でもフユアオイの葉から抽出した抽出物に最も高い消臭活性 (71.9%) が認められた。また、アリルメチルスルフィドに対して 2 番目に高い活性を示したのは、甜茶抽出物 (61.7%) であったが、すでに Shimizu らによって甜茶抽出物がアリルメチルスルフィドに対して消臭効果を有すること、

さらに消臭成分が甜茶ポリフェノールであることが報告されている¹²⁾。一方、フユアオイ(葉)抽出物のアリルメチルスルフィドに対する消臭効果に関する先行研究はなく、さらに塩化第二鉄試験の結果は陰性を示したことから、フユアオイ抽出物にはフェノール性化合物の含有量が少ないことが見込まれ、パンシルの有効成分であるカキタンニンや甜茶ポリフェノールのようなポリフェノール以外の新しい消臭活性成分が含まれていることが示唆された。フユアオイ抽出物は、本研究の目的である新しい消臭素材となる植物であると判断し、その成分の特定を行った。

2.2. フユアオイの葉抽出物に含まれる消臭活性成分の同定

フユアオイ抽出物に含まれる種々の成分の中から、アリルメチルスルフィドに対して消臭活性を有する成分を特定するために部分精製を試みた。まず、フユアオイ抽出物に水を加え混合し、水不溶性(クロロホルム可溶性)画分と水溶性画分に分け、それぞれを凍結乾燥した結果、水溶性画分では181.4 g、水不溶性画分では11.4 gの固形分を得た。これらの固形分10 mgあたりのアリルメチルスルフィドに対する消臭効果を比較したところ、水溶性画分では38.8%、水不溶性画分では96.5%の消臭活性を示した。そこで、消臭活性の高い水不溶性画分をシリカゲルカラムでNo. 1からNo. 19までの19画分に分画した。得られた19画分についてアリルメチルスルフィドに対する消臭活性を測定した結果、No. 6~No. 9の画分とNo. 11~No. 13の画分、およびNo. 17の画分に消臭活性が存在することを確認した(Fig. 1-2)。No. 6~No. 9、No. 11~No. 13、およびNo. 17をそれぞれ同じ条件のカラムクロマトグラフィーを繰り返し行い、同時に消臭活性を見ながら精製を繰り返した。特にNo. 6~No. 9画分に強い活性が認められたことから、LC/MS、およびUV-Vis分光分析で分析した結果、フェオホルバイドaが高含量で含まれていることが分かった。そこで、フェオホルバイドaの標準品を用いてアリルメチルスルフィドに対する消臭効果を確認すると、フェオホルバイドa(標準品)1 mgで99%と高い消臭活性を示したため、消臭活性の主成分であると判断した。また、No. 11~No. 13、およびNo. 17からはフェオホルバイドaとは異なるクロロフィル誘導体が複数含まれていることを確認(データは示さず)した。また、フェオホルバイドa以外のクロロフィル誘導体の標準品は入手困難であることから消臭活性を確認することはできなかった。フェオホルバイドaの強い消臭活性はこれまで報告されていないが、ラットに対する毒性があるとの報告¹³⁾から、本研究の目的に則していないものとして判断し、以後、この化合物に関する検索は行わなかった。

No. 6、No. 12、およびNo. 17画分の揮発性化合物の分析については固相マイクロ抽出法によるGC/MS分析を行い、多くの成分を確認した(Fig. 1-3)。その中でもNo. 17の画分には主な成分として1,8-シネオール(MS (m/z) ;36, 41, 43, 69, 81, 84, 108, 125, 139, 140, および154)、2-ノネナール、酢酸、2-エチル-1-ヘキサノール、ヘキサノ酸、および2-アミノ-4-メトキシフェノールであることをそれぞれの保持時間(min)とライブラ

リー (NIST、および Cas No.) を利用して確認した (Table 1-4)。なお別途、類縁化合物である 1,4-シネオールについて既知試料を用いての、その GC 保持時間を検討したところ、1,8-シネオールよりも約 1.5 分前に出現し、MS (m/z) 測定では主に 27、39、41、43、55、69、71、81、111、121、125、139、および 154 にフラグメントイオンが確認され、1,8-シネオールとは大きく異なる知見を得ることができた。つぎに、これら 6 種類の化合物のうち、2-ノネナールと酢酸は日常生活で経験する典型的な悪臭物質である一方、2-エチル-1-ヘキサノール、ヘキサン酸、および 2-アミノ-4-メトキシフェノールは微量成分として草木類にも含まれており、個々には強い刺激性がある化合物である。さらに、悪臭物質である 2-ノネナール、および酢酸を除く、4 種類の化合物を個々に 300 mg を 300 ml コニカルプラスチックに投入し、アリルメチルスルフィドに対する消臭効果を確認したところ、その消臭効果は 2-エチル-1-ヘキサノールは 18.3%、ヘキサン酸は 0.7%、2-アミノ-4-メトキシフェノールは 7.7% の値を示し弱い効果を示した。一方、既知の 1,8-シネオールを用いてアリルメチルスルフィドに対して消臭効果を検討したところ、強力な消臭活性 (88%) を示した (Table 1-4)。この結果から、フラクション No. 17 に主成分として含まれている 1,8-シネオールが強い消臭活性に関与している成分であることが示された。1,8-シネオールは別名ユーカリプトールと呼ばれ、多くの植物、特にユーカリ属に存在する C₁₀ のモノテルペノイド化合物である¹⁴⁾。また、1,8-シネオールは樟脳のようなニオイを示し、その芳香によって不快臭をマスキングすることが知られている。本研究では、ガスクロマトグラフを用いてアリルメチルスルフィド量の減少を定量的に評価した結果、1,8-シネオールの持つ芳香によって生じるマスキング作用による既知の消臭作用ではなく、1,8-シネオールがニオイ成分そのものの濃度を低下させることを初めて明らかにし、特許 (日本特許 6342382)¹⁵⁾ を取得している。1,8-シネオールはユーカリの葉から水蒸気蒸留装置を用いて、商業規模で容易に抽出することが可能であり、汎用性が高い。また、1,8-シネオールの異性体である 1,4-シネオールは赤ワインや植物精油に含まれていることが報告^{16),17)}されており、香料化合物としても既に使用されていることから両者の消臭活性の相違についても検討した。

Iwasaki の報告によると、ヒトの嗅覚においては、ある 2 つの悪臭物質について、それらの間に最低 3~10 倍の濃度差がある場合、臭気強度の違いを明確に識別することができると考察している¹⁸⁾。新しく開発する消臭剤は悪臭物質に対して 90% 程度の消臭活性を示すことが望ましい。そこで、1,8-シネオール、および 1,4-シネオールがさまざまな悪臭ガスを 80% 以上捕捉するのに必要な容量を求めることにした。1,8-シネオール、および 1,4-シネオールをそれぞれ 100 mg、200 mg、および 300 mg を 300 ml コニカルプラスチックに秤り取り、動物の排泄物、タバコの煙および腐った肉などの 12 種類の悪臭物質のガスに対する 1,8-シネオール、および 1,4-シネオールの消臭効果を測定した。その結果、Fig. 1-4 に示すように、1,8-シネオールと 1,4-シネオールは共に、悪臭物質ガスに対して容量依存

的な消臭活性を示し、1,8-シネオールは 2-ノネナール、スカトール、ジメチルトリスルフィド、インドール、イソ吉草酸、およびジメチルジスルフィドに対して 94~97%と強い消臭活性を示し、アリルメチルスルフィド、n-酪酸、アリルメルカプタン、ジメチルスルフィド、およびメチルメルカプタンに対しては 69~88 %と中程度の消臭活性を示した。一方、ジアセチルに対する消臭活性は低いことが示された (Fig 1-4、Table 1-5)。1,8-シネオールに比べ、1,4-シネオールは消臭活性がやや弱く、特にメチルメルカプタンとジメチルスルフィドに対しては消臭活性が低下することが示された (Fig 1-4)。

さらに、1,8-シネオールの消臭効果の容量依存性を詳しく調べるために、300 mL コニカルフラスコに 1,8-シネオールを 100、50、25、12.5、6.3、3.1、および 1.6 mg を秤り取り、2-ノネナール、およびジメチルトリスルフィドに対する消臭効果を確認した。その結果、1,8-シネオールと消臭効果の量的関係には直線性はなくシグモイド状であることが観察された (Fig. 1-5)。また、Table 1-2 から、1,8-シネオールは 1~100 ppm の広い濃度範囲で、さまざまな悪臭物質ガスに対して一定の消臭効果を示すことが分かった。

2.3. さまざまな悪臭物質ガスに対する 1,8-シネオールの官能評価

1,8-シネオールが悪臭物質各種の物質量を低減することによって消臭効果を示すことを明らかにしたが、人の嗅覚による官能評価で消臭効果を検証した。1,8-シネオール 50 mg を投入したフラスコ容器に臭気強度のスコアが 3~4 になるように 10^4 ~ 10^6 倍に希釈し調製した各種悪臭物質溶液を混合し、25°C で 1 時間反応させたときの容器内のヘッドスペースガスの臭気強度の平均スコアの変化を Table 1-6 に示した。訓練された臭気判定士 (国家資格) の資格をもつ 2 人のパネリストにより、各悪臭物質ガスの特徴的な臭気 (例えば、2-ノネナールは油臭や草臭) を 0~5 点で評価した。この評価法では、0 は無臭、1 は特徴的な臭気がほとんど感じられない (検知閾値; においを検知できる (それが何か分からない) 最小濃度)、2 はわずかに特徴的な臭気があること (認知閾値; どんなにおいかを表現できる最小濃度)、3 は特徴的な臭気を楽に感じられること、4 は特徴的な臭気が強いこと、5 は厳しい悪臭がすることを表示することとし、スコアの平均値を代表スコアとした。その結果、1,8-シネオールは 2-ノネナール、スカトール、ジメチルジスルフィドの嗅覚スコアを 2 段階以上低下させることが示された (Table 1-6)。また、Greenman らはヒトの口臭の原因と考えられる悪臭物質ガス濃度と嗅覚スコアの関係进行调查している¹⁹⁾。口臭の構成成分であるさまざまな悪臭物質ガス濃度について、嗅覚スコアを 1 段階増加させるのに必要なガス濃度の増加レベルを示す値を算出しており、その数値を用いて嗅覚スコアを 1 段階減少させるために必要消臭率を算出した。例えば、n-酪酸とジメチルジスルフィドで 10 倍 (この場合、10 分の 1 に減少させるとし、消臭活性 90% に相当)、イソ吉草酸で 42 倍 (消臭活性 97% に相当)、スカトールで 8 倍 (消臭活性 87% に相当) であることを Table 1-6 に示した。また、各悪臭物質の 1,8-シネオールを添加した場合の嗅覚スコアの変化は、2-ノネナール、ジメチルトリスルフィド、およびジメチルジスルフィドで 3 から 0 に 3 段

階減少、スカトールは 3.5 から 0.5 に 3 段階減少、アリルメチルスルフィドは 3 から 1.5 に 1.5 段階減少、n-酪酸、およびイソ吉草酸は 3 から 1 に 2 段階減少した結果となり、この減少スコアと消臭率の関係は、Greenman らの関係とは異なっている (Table 1-6)。例えば、n-酪酸は Greenman らの嗅覚スコアと悪臭濃度の減少量の関係では嗅覚スコアを 1 段階下げるのに必要な n-酪酸濃度の減少率は 90% であり、一方 1,8-シネオール 50 mg の酪酸濃度の減少率は 75% であるが、嗅覚スコアは 2 段階の減少を認めた。その他、スカトール、イソ吉草酸、およびジメチルジスルフィドに対しての嗅覚スコアの減少量は Greenman らの値よりも 1 段階以上大きいことがわかった。このことは、1,8-シネオールは従来知られているマスキング効果に加え、悪臭ガス濃度自体を減少させるもう一つの作用を有していることを示しており、Osada らの「シトロネラルのような柑橘系の香料は強い香りで悪臭を感じさせなくさせるような従来のマスキングのメカニズム以外の方法でも特に悪臭のジメチルジスルフィドをマスキングできる」という報告内容と一致している²⁰⁾。

進行がん患者には、時に菌が繁殖したような傷ができる。真菌化した創傷の身体症状の一つに細菌による悪臭がある。この悪臭は、進行がん患者の真菌症創傷から発散される不快臭に寄与しているジメチルトリスルフィドであることが明らかにされている⁵⁾。また、一般的に中高年には「加齢臭」と呼ばれる特徴的な体臭があるとされ、40 歳以上の一部の人から不快な脂臭や草臭がすると言われているが、2-ノネナールがその臭気に寄与していることが明らかにされている⁴⁾。加齢臭と同様に足の臭いを含む人間の体臭の形成には皮膚に存在する微生物が重要な役割を果たしている。イソ吉草酸や n-酪酸などの短鎖脂肪酸は、足の臭いの主な原因物質と考えられている²¹⁾。2-ノネナールおよびイソ吉草酸に対する 1,8-シネオールの強力な消臭活性はこれらの微生物が関連する体臭を消臭または緩和する消臭剤開発への応用が期待される。

2.4. シネオールの消臭機構

1,8-シネオールによって消臭される悪臭物質の構造はかなり異なっている。例えば、ジメチルトリスルフィド、ジメチルジスルフィド、ジメチルスルフィド、アリルメチルスルフィド、アリルメルカプタン、およびメチルメルカプタンは含硫黄化合物であるが、2-ノネナールは不飽和アルデヒドである。イソ吉草酸と n-酪酸は脂肪酸であり、スカトールとインドールは芳香族複素環化合物である。1,8-シネオールは環状エーテル構造をもつモノテルペノイドであり疎水性（水への溶解度：0.022 g/l）の構造を有する。Table 1-5 では、1,8-シネオール 300 mg の各悪臭物質に対する消臭活性（%）と悪臭物質ガスの試験濃度（ppm）、分子量、沸点（℃）、水への溶解性、およびニオイの発生場所を記載した。Table 1-5 に示すように、2-ノネナール、スカトール、およびアリルメルカプタンは水に不溶であるが、ジメチルトリスルフィド、ジメチルジスルフィド、アリルメチルスルフィド、ジメチルスルフィド、メチルメルカプタン、インドール、イソ吉草酸、および n-酪酸は水にわずかに溶ける（溶解度：0.19～6 g/100 ml）性質があり、これらの疎水性の悪臭物質ガス

対しての消臭活性は 69.1~97.3%と高い数値を示し、一方、水に溶ける(溶解度:20 g/100 ml) 性質のジアセチルに対する消臭率は 40%と低かった。著者が消臭作用をもつ化合物をスクリーニングした別の研究では、植物から 2 種類の疎水性化合物を同定している。その一つは非極性脂質のトリオレイン (MW : 885.4) であり、もう一つはオレイン酸 (MW : 282.5) であった。どちらも疎水性の悪臭物質ガスに対して強力な消臭活性を発現する効果を示している(データは示さず)。このことから、疎水性化合物はその分子量に関わらず、いずれの疎水性ガスに対しても消臭活性を示すことが示唆される。以上のことから、1,8-シネオールは、構造的に安定なイス型をしており、ガス化した疎水性臭気成分を相互作用によって引き寄せ、包接したようなメカニズムにより臭気強度を低下させることが示唆されたものと考えられる。この仮説をさらに検証するため、酢酸、アセトアルデヒド、トリメチルアミン、およびアンモニアの親水性物質に対する 1,8-シネオールの消臭活性を測定した。本実験では、これらの悪臭物質はガスクロマトグラフで定量できなかったためガス検知管を用いた。その結果、Table 1-5 に示すように 1,8-シネオールは、酢酸、アセトアルデヒド、トリメチルアミン、およびアンモニアなどの親水性悪臭物質に対する消臭活性は 0~17.0 を示し、ジアセチルよりさらに消臭効果が低いことが示された。また、ジアセチルの水への溶解度は 20 g/100 ml であるのに対し、微溶性化合物の溶解度 (0.19~6 g/100 ml) よりもはるかに高い溶解度があり、高水溶性化合物 (40.9~100 g/100 ml) よりも極めて低い傾向にある。ジアセチルに対する消臭活性は他の難水溶性化合物や微水溶性化合物と比べると、消臭活性が非常に低いことも明らかになった。この結果から、1,8-シネオールは親水性臭気物質とは物理的な相互作用が起きないと結論した。以上のことから、1,8-シネオールの消臭メカニズムを考察すると、悪臭物質との分子間の疎水性相互作用が関与しているという仮説が裏付けられた。一方、Negishi らは、アリウム属の野菜から発生するのジアリルジスルフィドやジアリルスルフィドの臭気が、キウイフルーツ、ホウレンソウ、カトトレタス、パセリ、バジル、キノコ類、そして特に牛乳、生卵、ゆで米、牛血清アルブミン (BSA) によって著しく減少することを報告しており、それは、特定の食品成分との間の親和性に基づく物理的・化学的相互作用が関与していると報告している²²⁾。これらの各含硫黄化合物はいずれも疎水性の性質を有していることから、1,8-シネオールの消臭活性のメカニズムは、この Negishi らの提唱している親和性に基づく物理的・化学的相互作用であるものと考えた。

また、活性炭のような吸着剤への疎水性化合物に対する吸着は、主に化合物と吸着剤である活性炭の間に存在するファンデルワールス力に基づく疎水性相互作用が介して起こることが知られている^{23,24)}。ファンデルワールス力を介した吸着は疎水性などの分子特性だけではなく、分子量や沸点などのさまざまな物理的・化学的要因に影響されることが報告されている。一般に分子量が大きくなるほど、吸着物と吸着剤の間のファンデルワールス力は強くなり、その結果、吸着の程度も大きくなり、吸着力が向上する傾向があるものと

考えられている^{24,25)}。このことから、イス型の構造を有する1,8-シネオールもシクロヘキササン環とC1,8位に架橋している酸素との結合によりファンデルワールス力が働き、その消臭活性化に寄与しているものと考えた。

著者は、1,8-シネオールの種々の悪臭物質ガスに対する消臭活性と悪臭物質の分子量の関係をFig. 1-6に示した。一般的に相関関係²⁶⁾を、 $R=0\sim 0.5$ は相関なし、 $R=0.5\sim 0.7$ は正（または負）の相関、 $R=0.7\sim 1.0$ は強い正（または負）であると定義されているが、低分子ガス（分子量： < 90 ）よりも高分子ガス（分子量： > 90 ）がより効果的に消臭される傾向があり、臭気ガスに対する1,8-シネオールの消臭活性と分子量との相関係数（ R ）は0.620で両者の間には高い相関がみられ、1,8-シネオールの消臭活性と悪臭物質ガスの分子量との間に相関関係があることを明らかにした。ついで、疎水性ガスについて1,8-シネオールの消臭活性と分子量の相関係数を求めると、相関係数は0.703となり、さらに高い相関係数がみられた。これらの結果より、1,8-シネオールの消臭メカニズムは少なくとも部分的にはファンデルワールス力が存在し関与して吸着効果が生起するものであることが示唆された。また、ファンデルワールス力は吸着物の沸点に影響され^{25~28)}、物質の沸点が高いほどファンデルワールス力は強くなる傾向がある。しかし、著者の研究において、1,8-シネオールの消臭活性と悪臭物質ガスの沸点との相関性を調べると、相関係数（ R ）は0.329の値を示し、その相関関係は認められなかった（Fig. 1-7）。このことから、分子量だけで消臭活性効果を考察するのではなく、1,8-シネオールのイス型である化学構造が重要であることが示唆された。

疎水性分子は炭素数が多いほど疎水性相互作用が強くなるため重要な要素の一つとなっている。一方、炭素の分岐が立体障害を引き起こすため、炭素鎖が直鎖の分子は分岐した分子よりも強い疎水性相互作用を生み出すことが期待できる。つまり、2-ノネナールの沸点は他の高分子化合物の沸点（Table 1-5）より高くないが、2-ノネナールが長鎖状の構造を有していることが、1,8-シネオールの構造に取り込まれ、より強い消臭活性が発現したものと推察した。そこで、1,8-シネオールの試験量を35 mlのバイアル瓶に50 mgを取り、ジメチルトリスルフィド、2-ノネナール、イソ吉草酸、およびスカトール（各100 ppm）と反応（1時間静置）後、50℃、75℃、100℃、および150℃で加熱し、悪臭物質ガスの脱離を確認した。ファンデルワールス力による物理的吸着力は比較的弱く可逆的であり疎水性であるため温度を上げると吸着していた疎水性分子が温度上昇に比例し脱離することから、1,8-シネオールからも容易に脱離する傾向が認められた（Fig. 1-8）。これは活性炭表面から吸着物が熱脱離する場合と同様^{27, 29)}であり、吸着物の脱着には温度依存性が認められ、吸着プロセスにはファンデルワールス力が関与した物理的なメカニズムによるものと推定される。また、ジメチルトリスルフィドと2-ノネナールは150℃でそれぞれの脱離ガス濃度が53.3 ppmと38.6 ppmを示し、イソ吉草酸、およびスカトールの脱離ガス濃度（それぞれ21.8 ppmおよび4.1 ppm）は2-ノネナール、およびジメチルトリスル

イドの脱離濃度よりも低い傾向を示した。すなわち、1,8-シネオールのイソ吉草酸、およびスカトールに対する消臭効果には、さらなるメカニズムが関与している可能性があると考えた。ファンデルワールス力に加えて、水素結合の存在も物理的吸着における要素^{23,24)}になっているものと推定した。つまり、イソ吉草酸およびスカトールは1,8-シネオールの酸素原子と水素結合を形成する可能性があり、Fig. 1-9に示したようなモデルにより悪臭成分が取り込まれて消臭効果が発現すると考察した。以上のことから、熱脱離の強弱は温度差により影響を受けることが要因となり、時には温度が1,8-シネオールとの間に水素結合が形成され易い条件となることを明らかにした。

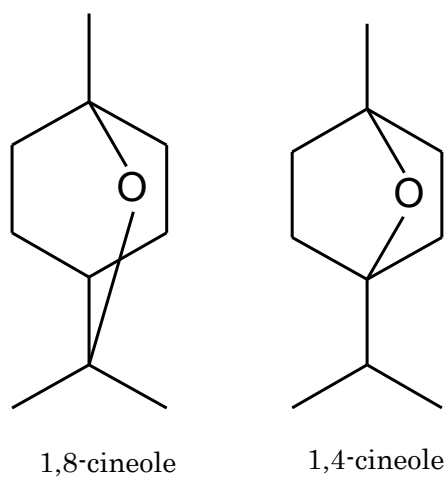


Fig. 1-1 Structures of 1,8-cineole and 1,4-cineole

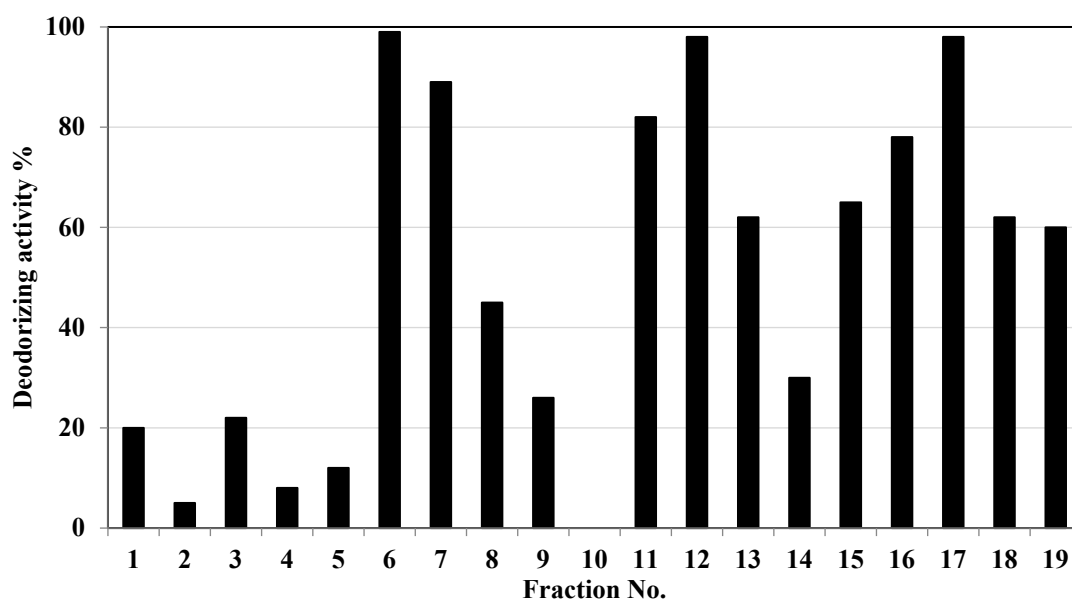


Fig. 1-2 Deodorizing activity toward allyl methyl sulfide of each fractions fractionated by silicagel column chromatography of Cluster mallow extract.

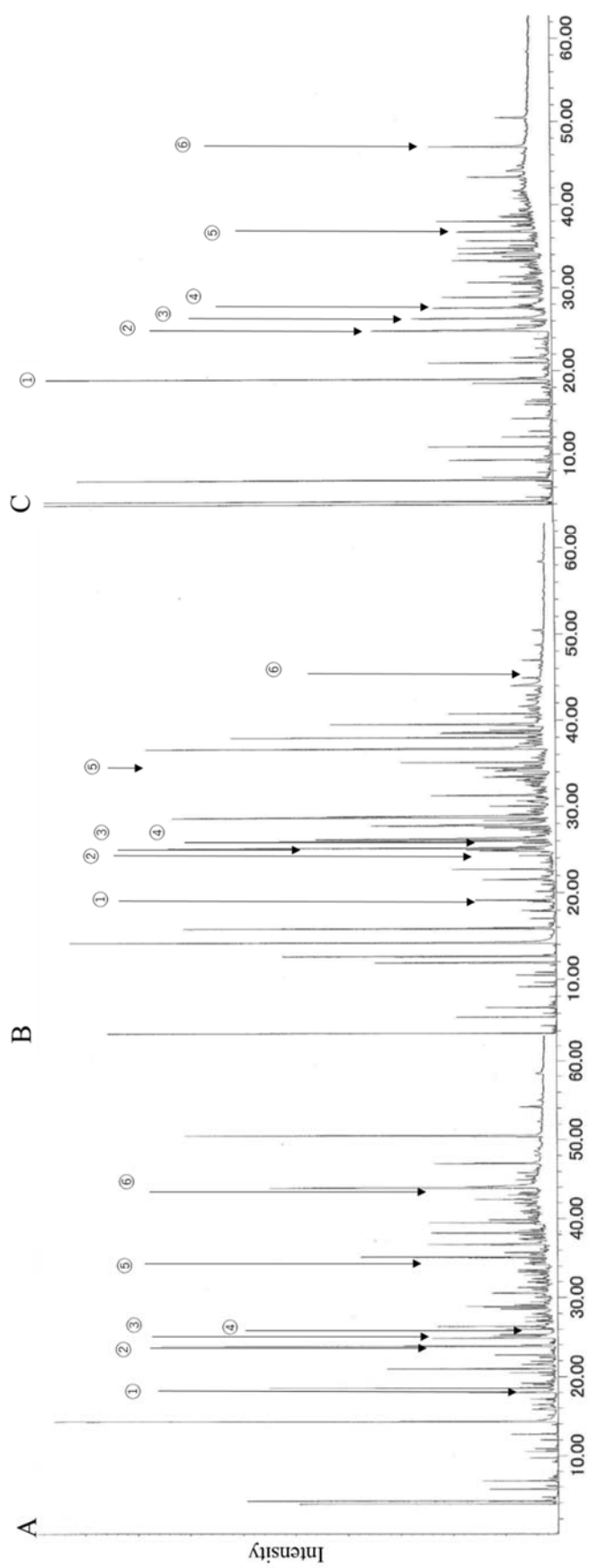


Fig.1-3 GC-MS chromatogram of fraction No. 6, 12 and 17 (fractionated by silicagel column chromatography).

A : Fraction No. 6. B : Fraction No. 12. C : Fraction No. 17.

Allows ① : 1,8-Cineole ② : 2-Nonenal ③ : Acetic acid ④ : 2-Ethyl-1-hexanol

⑤ : Hexanoic acid ⑥ : 2-Amino-4-methoxyphenol

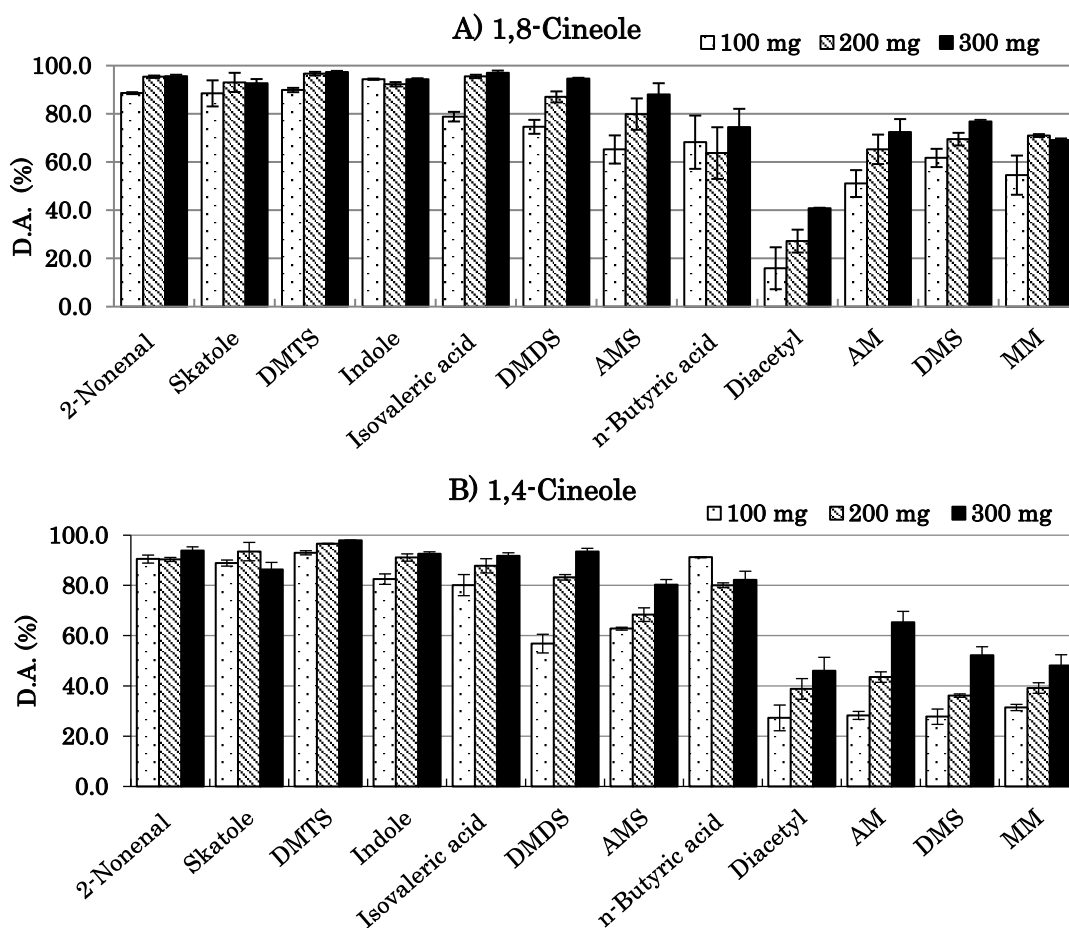


Fig. 1-4 Deodorizing activity of 1,8-cineole(A) and 1,4-cineole(B) against a variety of odorous gases.

Notes: Deodorizing activity was measured at three different concentrations, as described in "Materials and Methods." Data represent the mean \pm standard deviation of three independent experiments.

DMTS;dimethyl trisulfide, DMDS;dimethyl disulfide, AMS;allyl methyl sulfide, AM;allyl mercaptan, DMS;dimethyl sulfide, MM;methyl mercaptan, D.A.;Deodorizing activity.

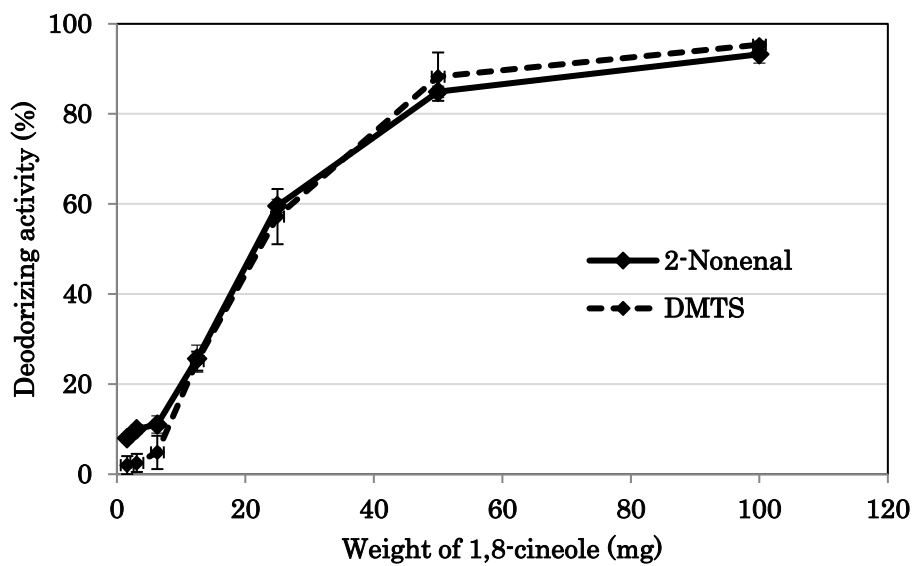


Fig. 1-5 Deodorizing activity of 1,8-cineole by weight against two types of odorous gases.

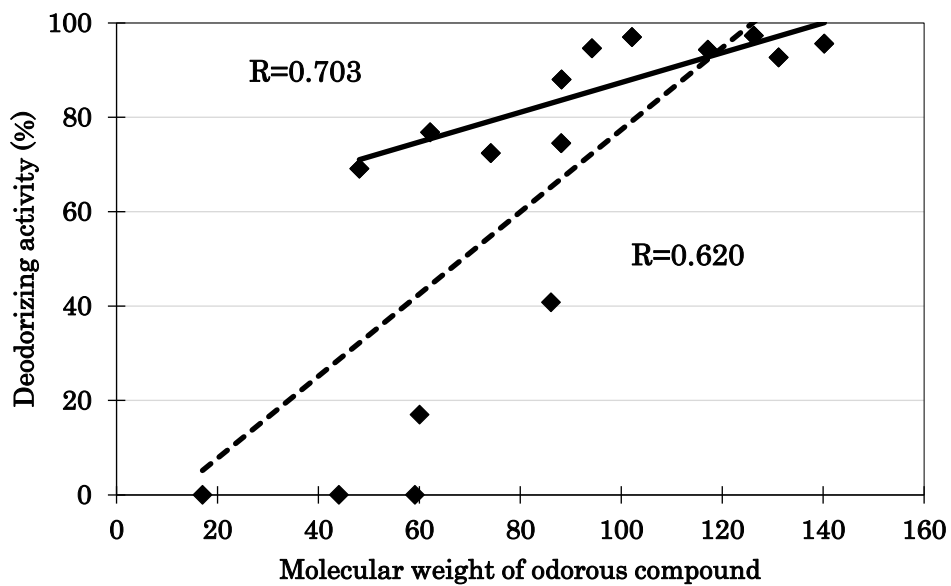


Fig. 1-6 Relationship between the deodorizing activity of 1,8-cineole and the molecular weight of various malodorous compounds.

— Hydrophobic odorous gases shown in Table 1-5
 - - - All odorous gases shown in Table 1-5

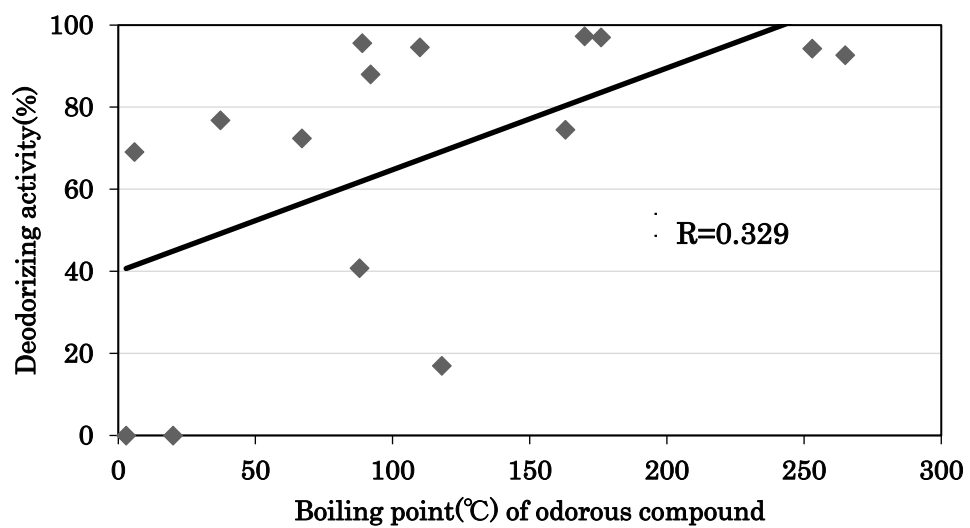


Fig. 1-7 Relationship between the deodorizing activity of 1,8-cineole and the boiling point of the odorous gases shown in Table 1-5.

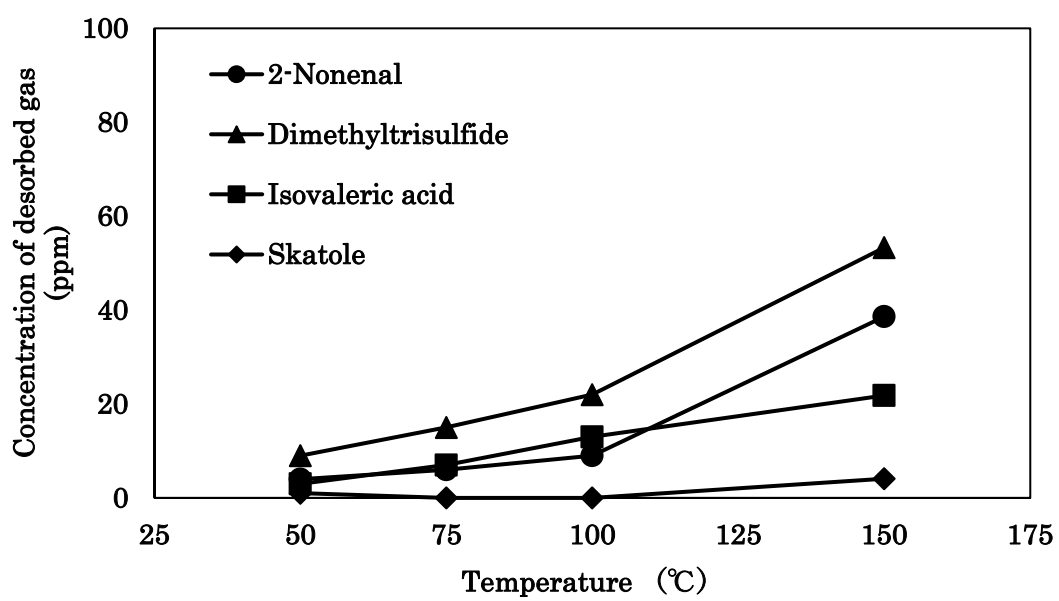


Fig. 1-8 Effect of temperature on desorption of various odorous gases from 1,8-cineole.

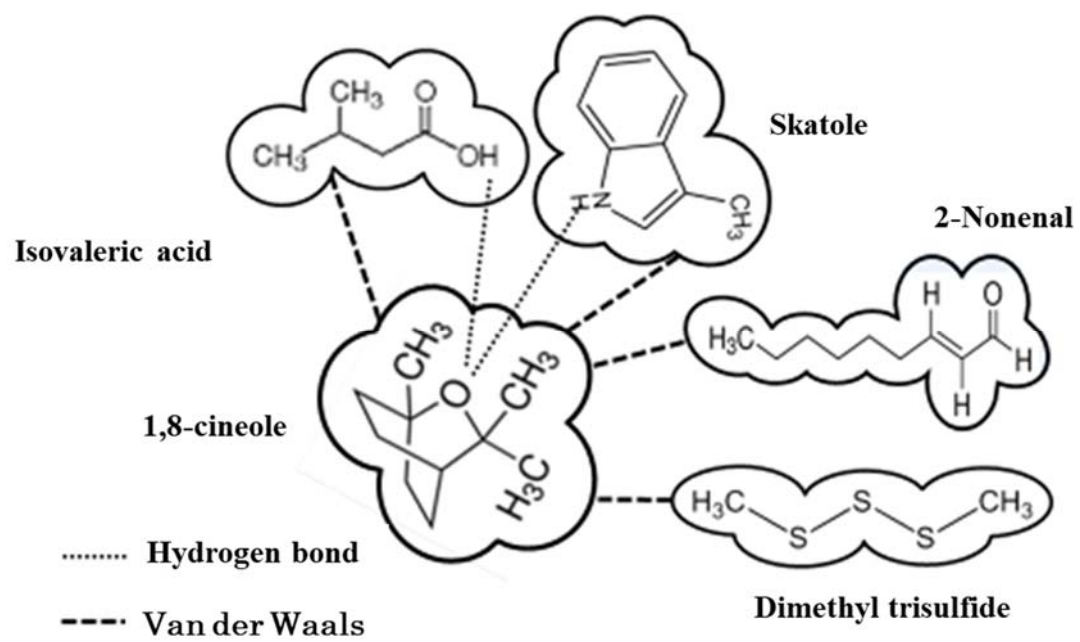


Fig. 1-9 Physical interaction between 1,8-cineole and various odorous gases.

Table 1-1 Analysis conditions of various malodorous gases by gas chromatography

Malodorous gas	Column	Detector ^a	Temperature(°C)		Carrier gas flow rate (ml/min)
			injector	oven	
Dimethyl disulfide	Unisole F-200 30/60	FPD	120	80	20
Dimethyl trisulfide					
Methyl mercaptan	Unisole F-200 30/60	FPD	120	50	20
Allyl mercaptan					
Allyl methyl sulfide					
Dimethyl sulfide					
Isovaleric acid	Unisole F-200 30/60	FID	200	120	50
n-Butyric acid					
2-Nonenal					
Indole, Skatole	OV-17 60/80	FID	200	120	50
Diacetyl	Sunpak-A 50/80	FID	230	180	50

a;Temperature of detection port. ; 200°C

Table 1-2 Deodorizing activity (%) of 1,8-cineole against different concentrations of gases.

Malodorous compound	Initial concentration of malodorous gas (ppm)			
	1	10	50	100
Dimethyl trisulfide	91 ± 0.5	96 ± 0.4	ND	95 ± 0.7
Isovaleric acid	ND.	91 ± 1.9	82 ± 1.2	86 ± 2.6
Indole	ND.	91 ± 0.7	89 ± 2.1	94 ± 1.3
Skatole	ND.	85 ± 2.2	94 ± 0.5	94 ± 3.1
Dimethyl disulfide	ND.	91 ± 1.9	81 ± 1.2	86 ± 2.6

ND; not determined

Table 1-3 Odor eliminating effect of substances extracted from various plants with 50 % ethanol aqueous solution.

No.	English / Japanese name	Scientific name ^{a)}	D.A. ^{b)}	No.	English / Japanese name	Scientific name ^{a)}	D.A. ^{b)}
1	Asparagus/アスパラガス	Genus <i>Asparagus</i>	6	33	Papaya/パパイヤ	<i>Carica papaya</i>	8
2	Bell pepper/ピーマン	<i>Capsicum annuum</i>	0	34	Passion fruit/パッションフルーツ	<i>Passiflora edulis</i>	1.9
3	Bitter melon/ゴーヤ	<i>Momordica charantia</i>	15.5	35	Peach/モモ	<i>Amygdalus persica</i>	7.8
4	Cabbage/キャベツ	<i>Brassica oleracea</i>	0	36	Pineapple/パイナップル	<i>Ananas comosus</i>	1.9
5	Carrot/ニンジン	<i>Daucus carota</i>	14.5	37	Plum/スモモ	Genus <i>Prunus</i>	7
6	Cauliflower/カリフラワー	<i>Brassica oleracea</i>	28.5	38	Prune/プルーン	<i>Prunus domestica</i>	7
7	Cucumber/キュウリ	<i>Cucumis sativus</i>	0	39	Raspberry/ラズベリー	Genus <i>Rubus</i>	9.4
8	Crown daisy/シユンギク	<i>Glebionis coronaria</i>	26.3	40	Watermelon/スイカ	<i>Citrullus lanatus</i>	0
9	Edible burdock/ゴボウ	<i>Arcium lappa</i>	5.3	41	Garden strawberry/イチゴ	<i>Fragaria</i>	9.2
10	Eggplant/ナス	<i>Solanum melongena koutsi</i>	52.2	42	Almond/アーモンド	<i>Amygdalus dulcis</i>	13
11	Indian spinach/ツルムラムサキ	<i>Basella alba</i>	0	43	Common gardenia/クチナシ	<i>Gardenia jasminoides</i>	12.1
12	Japanese radish/ダイコン	<i>Raphanus sativus</i>	0	44	Common Hazel/ヘーゼルナッツ	<i>Corylus avellana</i>	20.4
13	Kabocha squash/カボチャ	<i>Cucurbita maxima</i>	18.4	45	Japanese Chestnut/クリ	<i>Castanea crenata</i>	7.8
14	Komatsuna/コマツナ	<i>Brassica rapa</i>	15.8	46	Kabocha squash seed/カボチャ	Genus <i>Cucurbita</i>	40.7
15	Okra/オクラ	<i>Abelmoschus esculentus</i>	0	47	Macadamia nut/マカダミアナッツ	<i>Macadamia integrifolia</i>	11.4
16	Shallot/エシヤロット	<i>Allium cepa</i>	0	48	Pecan/ピーカンナッツ	<i>Carya illinoensis</i>	29.9
17	Tomato/トマト	<i>Solanum lycopersicum</i>	0	49	Pine nut/マツ	Genus <i>Pinus</i>	36.4
18	Zucchini/ズッキーニ	<i>Cucurbita pepo</i>	0	50	Pistachio/ピスタチオ	<i>Pistacia vera</i>	21.6
19	Apricot/アンズ	<i>Prunus armeniaca</i>	5.2	51	Pistachio (hull)/ピスタチオ	<i>Pistacia vera</i>	25.7
20	Apple/リンゴ	<i>Malus pumila</i>	0	52	Sunflower/ヒマワリ	<i>Helianthus annuus</i>	17.3
21	Banana/バナナ	Genus <i>Musa</i>	7.7	53	Walnut/クルミ	Genus <i>Juglans</i>	22.2
22	Blueberry/ブルーベリー	Genus <i>Vaccinium</i>	11.1	54	Adlay/ハトムギ	<i>Coix lacryma-jobi</i>	12.6
23	Cherry/チェリー	Genus <i>Prunus</i>	6.3	55	Bitter melon (fruit)/ゴーヤ	<i>Momordica charantia</i>	33.7
24	Dragon fruit/ドラゴフルーツ	<i>Hylocereus undatus</i>	10.3	56	Cat's Claw/キヤッツクロー	<i>Uncaria tomentosa</i>	0
25	Fig tree/イチジク	<i>Ficus carica</i>	6.5	57	Cluster mallow/フユアオイ	<i>Mabva verticillata</i>	71.9
26	Grape (Delaware)/ブドウ	Genus <i>Vitis</i>	10	58	Dandelion (leaf)/タンポポ	<i>Taraxacum officinale</i>	39.3
27	Grapefruit/グレープフルーツ	<i>Citrus × paradisi</i>	11.9	59	Echinacea/エキナセア	<i>Echinacea purpurea</i>	13.9
28	Kiwifruit/キウイ	<i>Actinidia deliciosa</i>	0	60	Field Horsetail/スギナ	<i>Equisetum arvense</i>	14.1
29	Lemon/レモン	<i>Citrus limon</i>	5	61	Fishwort/ドクダミ	<i>Houttuynia cordata</i>	46.8
30	Lime/ライム	<i>Citrus aurantifolia</i>	23.7	62	Garcinia /ガルシニア	<i>Garcinia gummi-gutta</i>	18.6
31	Lychee/ライチ	<i>Litchi chinensis</i>	6.7	63	Guava/グアバ	<i>Psidium guajava</i>	42.2
32	Nashi Pear/ナシ	<i>Pyrus pyrifolia</i>	9.6	64	Gymnema (leaf)/ギムネマ	<i>Gymnema sylvestris</i>	35.5

Table 1-3 (Continued)

No.	English / Japanese name	Scientific name ^{a)}	D.A. ^{b)}	No.	English / Japanese name	Scientific name ^{a)}	D.A. ^{b)}
65	Hibiscus (flower)/ハイビスカス	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	4	87	Wakame/ワカメ	<i>Undaria pinnatifida</i>	29.2
66	Isodon Herb /エンメイソウ	<i>Rabdosia japonica</i>	57.3	88	Kombu/コンブ	<i>Saccharina japonica</i>	6.2
67	Japanese Honeysuckle/スイカズラ	<i>Lonicera japonica</i>	12.8	89	Arame/アラメ	<i>Eisenia bicyclis</i>	56.3
68	Khat/カート	<i>Catha edulis</i>	0	90	Hijiki (stalk)/ヒジキ	<i>Sargassum fusiforme</i>	15.5
69	Kothalahimbutu/コタラヒムブツ	<i>Salacia reticulata</i>	0	91	Hijiki (bud)/ヒジキ	<i>Sargassum fusiforme</i>	16.6
70	Ku Ding tea (leaf)/クテイチャ	<i>Ilex kudingcha</i>	29.1	92	Mozuku/モズク	<i>Nemacystus decipiens</i>	9.7
71	Kumazasa (leaf)/クマザサ	<i>Sasa veitchii</i>	12.6	93	Tosakanori/トサカナリ	<i>Meristotheca papulosa</i>	11.8
72	Loquat (leaf)/ビワ	<i>Eriobotrya japonica</i>	14.6	94	Tsunomata /ツノマタ	<i>Chondrus ocellatus</i>	38.0
73	Lotus (flower)/ハス	<i>Nelumbo nucifera</i>	19.7	95	Akamoku/アカモク	<i>Sargassum horneri</i>	12.5
74	Mate (leaf, twig)/マテ	<i>Ilex paraguariensis</i>	26.7	96	Kubiretsuta/クビレツタ	<i>Caulerpa lentillifera</i>	8.6
75	Melilot (Sweet clover)/ハギ	<i>Medicago officinalis</i>	13.5	97	Matsumo/マツモ	<i>Anatipus japonicus</i>	8.6
76	Morning-glory/アサガオ	<i>Ipomoea nil</i>	20.3	98	Funori/フノリ	Genus <i>Gloiopeltis</i>	7.3
77	Mulberry (leaf)/クワ	Genus <i>Morus</i>	53.2	99	Tengusa (agar)/テンゴサ	<i>Gelidium elegans</i>	10.3
78	Olive (leaf)/オリーブ	<i>Olea europaea</i>	25.6	100	Shiitake mushroom/シイタケ	<i>Lentinula edodes</i>	11.8
79	Persimmon (leaf)/カキ	<i>Diospyros kaki</i>	3.4	101	Enokitake /エノキタケ	<i>Flammulina velutipes</i>	0
80	Cat whiskers, java tea/ジャワテイ	<i>Orthosiphon stamineus</i>	19.8	102	King trumpet mushroom/エリンギ	<i>Pleurotus eryngii</i>	0
81	Snow tea/セツチャ	<i>Thamnomia vermicularis</i>	3.2	103	Butterscotch mushroom/ナメタケ	<i>Pholiota microspora</i>	17.7
82	Taheebo (inner bark)/ダヒボ	<i>Tabebuia avellanae</i>	10.7	104	Golden oyster mushroom/ヒラタケ	<i>Pleurotus cornucopiae</i>	52.5
83	Green tea /リョクチャ	<i>Camellia sinensis</i>	20.0	105	White mushroom/マッシュルーム	<i>Agaricus bisporus</i>	11.8
84	Sweet tea /テンチャ	<i>Rubus suavissimus</i>	61.7	106	Buna shimeji/ブナシメジ	<i>Hypsizygus marmoreus</i>	10.9
85	Tochu (leaf)/トチュウ	<i>Eucommia ulmoides</i>	32.7	107	Maitake/マイタケ	<i>Grifola frondosa</i>	0
86	Rafuma (leaf)/ラフマ	<i>Apocynum venetum</i>	0	108	Jew's Ear Fungus/キクラゲ	<i>Auricularia auricula-judae</i>	6.6
				109	Snow fungus/シロキクラゲ	<i>Tremella fuciformis</i>	6.1
Teas/ Herbal plants				Marine algae			
				Fung.			

a) Genus and species or genus alone are cited from Wikipedia.

b) D.A.: deodorizing activity

Table 1-4 Deodorizing activity of the compound from fraction 6, 12 and 17, and the retention time.

No.	Identified compound	Retention time (min)	GC/MS peak area(%)			D.A. *
			Fraction 6	Fraction 12	Fraction 17	
①	1,8-Cineole	19.0	0.3	0.2	13.2	88.0
②	2-Nonenal	24.9	4.1	1.3	6.6	—
③	Acetic acid	26.3	1.6	6.6	3.8	—
④	2-Ethyl-1-hexanol	27.6	0.4	0.8	2.7	18.3
⑤	Hexanoic acid	36.7	3.5	6.6	2.3	0.7
⑥	2-Amino-4-methoxyphenol	47.0	2.1	0.3	2.3	7.7

D. A.; Deodorizing activity on allyl methyl sulfide

Table 1-5 Deodorizing activity of 1,8-cineole against malodorous volatile gases, initial concentration, molecular weight, boiling point, solubility and generation sources of various odorous gases.

Malodorous gas	Deodorizing activity (%) ^{a)}	Initial conc. (ppm)	Molecular weight	Boiling point(°C)	Solubility in water	Generation sources (example)
2-Nonenal	95.6 ± 0.6	1	140.22	88-90	Insoluble	Body (over middle aged)
Skatole	92.7 ± 1.7	10	131.17	265	Insoluble	Feces
Dimethyl trisulfide	97.3 ± 0.5	1	126.27	170	Slightly soluble	Cancer wound
Indole	94.3 ± 0.5	10	117.15	253	Slightly soluble	Feces
Isovaleric acid	97.0 ± 1.0	10	102.13	176	Slightly soluble	Sole of foot
Dimethyl disulfide	94.6 ± 0.4	1	94.19	110	Slightly soluble	Garlic breath
Allyl methyl sulfide	88.0 ± 4.7	1	88.17	92	Slightly soluble	Garlic breath
n-Butyric acid	74.5 ± 7.6	1	88.11	163	Slightly soluble	Sole of foot
Diacetyl	40.8 ± 0.2	10	86.09	88	Soluble	Axillae, foot, head
Allyl mercaptan	72.4 ± 5.4	1	74.14	67-68	Insoluble	Garlic breath
Dimethyl sulfide	76.8 ± 0.7	1	62.13	37.3	Slightly soluble	Rotten meat
Methyl mercaptan	69.1 ± 0.7	1	48.11	5.95	Slightly soluble	Garlic breath
Acetic acid ^{b)}	17.0 ^{c)}	10	60.05	110	Very soluble	Kitchen garbage
Trimethylamine ^{b)}	0 ^{c)}	10	59.11	2.9	Very soluble	Rotten fish
Acetaldehyde ^{b)}	0 ^{c)}	10	44.05	20	Very soluble	Cigarette smoke
Ammonia ^{b)}	0 ^{c)}	10	17.03	-33.3	Very soluble	Livestock waste

Notes: a) Concentration of cineole, 300 mg/300-ml flask

b) Deodorizing activity was measured using a gas detector tube system,

c) Values are expressed as the mean of two independent assays.

Table 1-6 Changes in organoleptic measurement (OM) score^a.

Odorous gas	Incubation ^b		Reduction of OM score	Deodorizing activity(%) ^c	Deodorizing activity(%) ^d (Greenman <i>et al.</i>)
	Without 1,8-cineole	With 1,8-cineole			
2-Nonenal	3	0	3	96	—
Skatole	3.5	0.5	3	93	87
Dimethyl trisulfide	3	0	3	97	—
Allyl methyl sulfide	3	1.5	1.5	88	—
n-Butyric acid	3	1	2	75	90
Isovaleric acid	3	1	2	97	97
Dimethyl disulfide	3	0	3	95	90

Notes: a) Scores are expressed as the mean of two independent assays conducted by two trained judges.

b) Odorant was incubated at 25°C for 60 min

c) Excerpted from Table 1-5

d) Deodorizing activity required to decrease OM score by 1 unit. Adapted from Greenman et al. data (reference ¹⁹).

第2章 ビワ(*Rhaphiolepis bibas* (Lour.) Galasso & Banfi)種子からの消臭活性物質の探索

ビワ (*Rhaphiolepis bibas* (Lour.) Galasso & Banfi) は中国南西部湖北省を原産とするバラ科の常緑果実で、日本には江戸時代 (1603~1868 年) に渡来し³⁰⁾、房総半島から九州南部にかけての温帯の石灰岩地帯で栽培されるようになった。晩秋から初冬にかけて、甘い芳香を放つ白い花を咲かせる。花は初夏に1個から数個の大きな種子を含む小さな球形または洋ナシ形の果実で成長する。果実は生食のほか、ジャムやゼリーなどの加工食品にも広く利用されている。ビワの葉を乾燥させたものは、咳止めや消化不良の治療薬として伝統療法に用いられている^{30)・31)}。日本では、江戸時代から慢性鼻炎や嗅覚障害などの症状を持つ患者に処方される「消炎剤 (辛夷清肺湯; しんいせいはいとう)」として広く利用されてきた^{31)・32)}。また、ビワの葉には抗炎症作用や抗アレルギー作用があることから、化粧品にも利用されている³¹⁾。さらに、ビワの種子は、咳や消化不良を治療する伝統的な薬として使用されている³¹⁾。アミグダリンは、ビワのこのような薬理効果をもたらす主要な有効成分の一つとして、広く研究されている³³⁾。アミグダリン以外にも、ビワの種子から得られる成分について多くの研究が行われ、その生理作用が解明されている^{34)・37)}。一方、ビワの種子に含まれるアミグダリンは、青酸化合物であるため大量に摂取すると青酸中毒を起こす可能性がある。

近年、我々は様々な果実の種子に着目し、マンゴー (*Mangifera indica* L) などの種子から抽出した種子油を消臭剤として利用する可能性を検討してきた³⁸⁾。本研究では、入手が容易なビワの品種である「田中びわ」の種子に着目し、含まれる油脂を分析、化学的性質、一般的に不快なおいを有するとされる12種類の悪臭物質に対する消臭効果を検討した。

1. 試験方法

1.1. ビワ種子油の調製方法

ビワの種子は広島県安芸津町で収穫された『田中びわ』の果実を入手し、果肉を除去して種子を回収した。種子を水洗した後、陰干しして乾燥させた (Fig. 2-1)。乾燥種子を粉碎して調製したビワ種子粉末 15.1 kg を n-ヘキサン 15.5 l に2週間浸漬し、脂溶性成分を抽出した。その後、固液分離して取り出した抽出液から n-ヘキサンを減圧下で留去し、濃縮乾固して淡黄色の固形油脂 35.3 g を得た。

1.2. ビワ種子の揮発性成分の分析

ビワ種子中の揮発性成分の捕集は固相マイクロ抽出法 (SPME) により行った。粉碎したビワ種子 0.5 g を 10 ml バイアルに秤量し、40℃に設定したアルミブロック恒温槽で5分間加温し平衡化した後、40℃で30分間揮発成分を PDMS ファイバーに捕集した。PDMS ファイバーは Carboxen/PDMS Stable Flex (Sigma aldrich 社) の 85 μm ものを使用し

た。吸着後の揮発性化合物は GC/MS で分析した。GC-MS は、GC (7890A ; Agilent technology 社) に MS (5975C ; Agilent technology 社) を結合して行った。カラムは、DB-WAX Capillary column (0.25mm I.D. ×60 ml, 膜厚 0.25 μl) を用いた。Column temperature ; 40°C (5 min hold) ~5°C/min ~ 220°C (39 min hold), Injection temperature ; 250°C, Carrier gas : He, 流速は 2.0 ml/min とした。質量分析計は 70 eV の電子イオン化 (EI) モードで作動させ、イオン原温度は 200°C、インターフェース温度は 200°C、界面温度 200°C であった。分析はフルスキャンモード (mass range ; 50 – 300 m/z) とし、成分の構造は保持時間と GC/MS データを NIST ライブラリーのデータと照合して構造を同定した。

1.3. ビワ種子油の化学的性状の測定

ビワ種子油の酸価、けん化価、ヨウ素価、水酸基価およびエステル価の測定は日本油化学会制定の油脂分析標準法³⁹⁾に従い、以下のように測定した。

1.3.1.酸価

酸価は油脂 1 g に含有される遊離脂肪酸を中和するために用いる水酸化カリウムの必要量 (mg) と定義されている。ビワ種子油 2.0 g を秤量し、ジエチルエーテル : エタノール = 2 : 1 の混合液 20 ml を加えて溶解した溶解液に 1% フェノールフタレイン指示薬を加え、0.1 M 水酸化カリウム-エタノール混合溶液で滴定した。

1.3.2.けん化価

けん化価は油脂 1.0 g を完全にケン化するのに要する水酸化カリウムの必要量 (mg) と定義されている。ビワ種子油 2.0 g を秤量し、0.5 M 水酸化カリウム : エタノール = 2 : 1 の混合液 25 ml を加え、80±5 °C で 1 時間穏やかに加熱還流した。反応後冷却し、フェノールフタレイン指示薬を加えて、0.5 M 塩酸水溶液で滴定して残存する水酸化カリウム濃度を求めた。けん化価は、初期濃度から滴定して求めた残存アルカリ濃度を引いた値から求めた⁴⁰⁾。

1.3.3.よう素価

よう素価は油脂 100 g に付加できるよう素の重量 (g) と定義されている。ビワ種子油に対するヨウ素価の測定は Wijs 法を用いて行った。種子油 0.08 g を秤量し四塩化炭素溶液 2 ml に溶解し、Wijs 溶液 (ヨウ素 8.7 g と三塩化ヨウ素 7.9 g を酢酸に溶解後、混合させ酢酸で 1 l に調製) 5 ml を加えた。ついで、10 % ヨウ化カリウム溶液 4 ml と水 20 ml を加え、0.1 M チオ硫酸ナトリウム水溶液で滴定した。

1.3.4.エステル価

エステル価は油脂 1.0 g に含まれるエステル結合を完全に加水分解するのに要する水酸化カリウムの必要量 (mg) と定義されている。ビワ種子油に対するエステル価はケン化価と酸価の差として算出し、遊離脂肪酸を含まない油脂量を求めた。

1.3.5.水酸基価

試料中の水酸基の含有量を示す指標である。ビワ種子油 2.0 g を秤量し、アセチル試薬（無水酢酸 25 g にピリジンを加え混合後、100 ml に調製）を 5 ml 加え、グリセリン浴（95 – 100℃）中で加熱し、放冷後、フェノールフタレイン試薬を加え、0.5 M 水酸化カリウムエタノール液で滴定した⁴⁰⁾。

1.4. ビワ種子油中の脂肪酸組成分析

ビワ種子油中に含まれる脂肪酸組成の分析は、油脂成分の揮発性を上昇させるために、メチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー（GC）により分析した。また、グリセリドのようなグリセリンに結合した脂肪酸の分析については、ナトリウムメトキシド法で分解してから同様にメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー（GC）で分析した。

1.4.1 脂肪酸のメチルエステル化(その 1)

ビワ種子油 0.5 g に三フッ化ホウ素/メタノール 20 ml を加えた後、水浴上で 2 分間還流した。その後、100 ml の石油エーテルを加え抽出し、ついで、溶媒を留去し粗油分（0.35 g）を得た。

1.4.2.脂肪酸のメチルエステル化(その 2)

ビワ種子油 0.5 g に 28 %ナトリウムメトキシド-メタノール溶液 0.5 g を加えた後、テトラヒドロフラン（THF）10 g を加え溶解した。室温で 1 時間攪後、酢酸 0.1 ml を加えて、さらに 3 分間攪拌しメチルエステル化を行った。反応終了後、ジエチルエーテルで反応物を抽出し、溶媒を留去し粗油分（0.37 g）を得た。

1.4.3. 脂肪酸メチルエステル類の GC 分析

調製した油脂の脂肪酸類をメチルエステル化し GC 分析した。得られたクロマトグラム各ピークの保持時間と脂肪酸メチルエステル標準品の保持時間を比較することによって同定した。ガスクロマトグラフは、GC-17A（株）島津製作所）を使用し、カラムはキャピラリーカラム（DB-1, φ0.32 mm×30 m, 0.25 μm ;アジレント テクノロジー）を用いて、検出器は水素炎イオン化検出器（FID）を使用した。注入後 3 分間はカラム温度 60℃に保持し、その後毎分 10℃ずつ昇温して 300℃で 13 分間保持した。注入口温度は 250℃、検出器温度は 300℃とし、キャリアガスには He（3.3 ml/min）を使用した。

1.5. ビワ種子油の組成分析

ビワ種子油（50 mg）を THF（5 ml）に溶解し、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）システムで分析した。分析には、高速液体クロマトグラフ（HPLC, (株)島津製作所）を使用し、検出器は、示唆屈折計（RI）（Shodex RI-201 ; Shodex 社）を使用した。排除分子量の異なる 3 種類のカラム（Shodex GPC KF-802（排除限界分子量 5,000）, 8.0 mm I.D. × 30 mm, Shodex GPC KF-802.5（排除限界分子量 20,000）, 8.0 mm I.D.×300 mm : Shodex, TSK gel G1000HXL（排除限界分子量 1,000）, 7.8 mm I. D.x300 mm : 東ソー）を使用した。移動相には THF（0.7 ml/min）を使用し、注入サンプル量は 20 μl とした。

1.6. 消臭試験方法

ビワ種子油の悪臭に対する消臭評価は、悪臭物質によってガス検知管、または、ガスクロマトグラフィーを用いて測定した。

1.6.1. ガス検知管を用いた消臭効果の測定

アンモニア、トリメチルアミン、酢酸、イソ吉草酸、アセトアルデヒド、硫化水素、およびメチルメルカプタンはガス検知管を用いてビワ種子油の消臭効果を測定した。300 ml の三角フラスコ容器に調製した種子油 50 mg を秤量し、それぞれのガス濃度がアンモニアでは 150 ppm、トリメチルアミンでは 20 ppm、酢酸では 50 ppm、イソ吉草酸では 50 ppm、アセトアルデヒドでは 100 ppm、硫化水素では 20 ppm、およびメチルメルカプタンでは 5 ppm になるように悪臭溶液を所定量加え、パラフィルムで封をして 1 時間静置した。その後、ヘッドスペースガス中の悪臭濃度 (A) をガス検知管 (北川式ガス検知管; 光明理化学工業(株)) で測定した。また、ブランク試験として種子油を入れずに 1 時間静置後、同様にヘッドスペースガス中の悪臭濃度 (B) をガス検知管で測定した。アンモニアの測定にはアンモニア 105SC、トリメチルアミンの測定にはジエチルアミン 222S、酢酸とイソ吉草酸の測定には酢酸 216S、アセトアルデヒドの測定にはアセトアルデヒド 133SB、硫化水素の測定には硫化水素 120SE、メチルメルカプタンの測定にはメルカプタン類 130U のガス検知管を使用した。

1.6.2. GC-FID を使用した消臭効果の測定

悪臭物質として 2-ノネナール (30 ppm) を用いて、消臭効果を測定した。300 ml の三角フラスコ容器に種子油 50 mg を秤量し、悪臭溶液を所定量加えパラフィルムで封をして 1 時間静置した。その後、ガスタイトシリンジで 2 ml のヘッドスペースガス中の悪臭ガスのピーク面積値 (A) を GC (GC-2014AF; (株)島津製作所, column; Unisole F-200 30/60 (3.2 mm I.D.×2.1 m), Column temperature : 120 °C, Carrier Gas : N₂ (50 mL/min)) で測定した。また、ブランク試験として種子油を入れずに 1 時間静置後、同様にヘッドスペースガス 2 ml 中の 2-ノネナールのピーク面積 (B) を測定した。

1.6.3. GC-FPD による消臭効果の測定

悪臭物質として、アリルメルカプタンを 0.12 ppm、アリルメチルスルフィドを 29 ppm、ジメチルジスルフィドを 4 ppm、およびジメチルトリスルフィドを 1 ppm の濃度になるように調製した後、消臭効果を測定した。300 ml の三角フラスコ容器に調製した油脂 50 mg を秤量し、悪臭溶液を所定量加え、パラフィルムで封をして約 1 時間静置した。その後、ガスタイトシリンジで 2 ml のヘッドスペースガス中の各悪臭物質のピーク面積値 (A) をガスクロマトグラフ (GC-2014AF ; (株)島津製作所, カラム ; Unisole F-200 30/60 (φ 3.2 mm×2.1 m : ジーエルサイエンス(株))、カラム温度 : 120 °C、キャリアガス : N₂ (40 ml/min)) を用いて測定した。また、ブランク試験として種子油を入れずに 1 時間静置後、同様にヘッドスペースガス 2 ml 中の各悪臭物質のピーク面積値 (B) を測定した。

1.6.4. 消臭効果の算出方法

得られた数値 (A, B) から次式を用いて消臭効果率を算出した。

$$\text{消臭活性 (\%)} = (B - A) / B \times 100 (\%)$$

A : テスト試料のピーク面積値

B : 対照試料のピーク面積値 (ブランク)

2. 結果および考察

2.1. ビワ種子のヘッドスペース中の揮発性化合物の分析

ビワ種子から発生する揮発成分を SPME 法で捕集した後、GC-MS で分析した。揮発性成分としてはベンズアルデヒドが 95.78% と最も多く、つぎにベンジルアルコール (0.44%)、酢酸ヘキシル (0.31%)、酢酸 (Z) -3-ヘキセニル (0.21%) であった (Fig. 2-2、および Table 2-1)。Lee ら⁴¹⁾は、アンズ (*Prunus armeniaca*) 種子油の主な揮発成分はベンズアルデヒド (90.6%) であると報告し、プラムの種子やアンズの種子の精油^{40, 42)}についても、ベンズアルデヒドが主要な揮発性成分であるという結果が報告されている。ビワ種子中の高いベンズアルデヒド含量は試料を粉碎した後に種子の細胞壁が破壊され、アミグダリン (青酸配糖体) が植物種子に含まれる酵素 (エムルシン) により加水分解され、ベンズアルデヒド、シアン化水素、およびグルコースを生成するものであるという報告⁴³⁾があり、また、Lee ら⁴¹⁾の研究では、ベンズアルデヒドが酸化された安息香酸が微量成分として同定されているが、著者の油分には存在していないことから、酸化が進んでいないものと考えた。

2.2. ビワ種子油の化学的性状

ビワ種子油の性状を調べるため、酸価、けん化価、ヨウ素価、水酸基価、およびエステル価を測定した。得られた値を Table 2-2 に示した。ビワ種子油の性状は、けん化価が 277.2 と大きいことから、けん化に必要な水酸化カリウム量が多く、油脂中に含まれるグリセリドの結合型脂肪酸および遊離脂肪酸の平均分子量が低いと考えられる。また、ヨウ素価は 42.0 と低く不飽和脂肪酸量が少ないと考えられ、酸化されにくい不乾性油である。カカオバターや牛脂もビワ種子と同様に固形油であり、高いけん化価と低いヨウ素価類似しており、同じような化学的性状をもつ油脂であることが明らかになった。また、ビワ種子油の酸価は 50.6 KOH mg/g で酸化されにくい油脂であり、二重結合を含む不飽和脂肪酸量が少ないことが示唆された。なお、食用植物油の日本農林規格 (農林水産省) による各食用油の酸価の基準値は 5.0 以下であり、食用への用途には適さないと判断した⁴⁴⁾。また、ビワの種子にはアミグダリン³³⁾が含まれており、大量摂取すると青酸中毒を引き起こす場合があることから、食用に適さないことが知られている。アミグダリンは配糖体であるため、一般的にはメタノールや水とメタノールの混合溶媒などの極性有機溶媒で抽出される。本研究で使用したヘキサンのような非極性溶媒では抽出されない。このため、抽出油から青酸が生成される可能性は低いと考えられる。しかし、アミグダリンの分解生成物で

あるマンデロニトリルがビワ種子油中に存在し、さらに分解して青酸を生成する可能性はあるため、ガス検知管を用いてビワ種子油を投入したフラスコ中のヘッドスペースに存在するシアン化水素ガスの検出を試みたところ、検出限界以下であったため、マンデロニトリルのビワ種子油中への混入はないものと考えた。

2.3. ビワ種子油の脂肪酸組成

ビワ種子油を三フッ化ホウ素とメタノールの溶液でメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィーで分析した結果、ベンズアルデヒド (70.3%) と安息香酸 (0.4%) と脂肪酸メチルエステル (12.9%) が検出された (Table 2-3)。メチル化前の遊離脂肪酸としてはパルミチン酸 (C16:0)、リノール酸 (C18:2)、ベヘン酸 (C22:0)、およびリグノセリン酸 (C24:0) であることを確認した。つぎに、メタノールに 28% のナトリウムメトキシドを溶かした溶液を用いてメタノール分解し、ガスクロマトグラフィーで分析した。この方法により、上記の GC 分析で確認された脂肪酸メチルエステル以外にも、ステアリン酸 (C18:0) のメチルエステルが同定された。また、アラキジン酸 (C20:0)、エルカ酸 (C22:1)、およびトリコサン酸 (C23:0) など炭素数 20 以上の脂肪酸も含まれていることを確認した。これらの結果は、ビワ種子油には遊離脂肪酸として、さまざまな生理活性を持っている飽和脂肪酸⁴⁵⁻⁴⁷⁾ であるパルミチン酸、ベヘン酸⁴⁶⁾、リグノセリン酸⁴⁵⁾ とリノール酸のような不飽和脂肪酸が含まれており、その他にアラキジン酸 (C20:0)、エルカ酸 (C22:1)、およびトリコサン酸 (C23:0) などの炭素数 20 以上の脂肪酸モノ、ジ、および、トリグリセリドが含まれる結合型の脂肪酸の存在を確認した。このように飽和脂肪酸を含む種子油であるビワ種子の酸価、およびヨウ素価の値から酸化されにくい油脂であることが示唆された。

2.4. GPC (Gel Permeation Chromatography) 分析

Fig. 2-3 および Table 2-4 に示すように、ビワ種子油の成分の約 7 割がベンズアルデヒドと揮発性化合物であり、その他にトリアシルグリセリド、ジアシルグリセリド、および脂肪酸類も検出された。ビワ種子もパーム油と米油と同様に脂肪酸が含まれていることから、種子中のリパーゼ活性⁴⁸⁾ により生成されることが考えられ、一部、種子収穫時後の保管と抽出工程などの加熱による影響により脂肪酸が生成した可能性も考えられる。

2.5. ビワ種子油およびベンズアルデヒドの消臭効果

これまでの研究で果実種子油に強い消臭効果が見い出されている^{38, 49)}。本研究では 12 種類の臭気化合物に対するビワ種子油、およびベンズアルデヒドの消臭効果を測定したところ、いずれもアンモニア、トリメチルアミン、イソ吉草酸、2-ノネナール、および硫化水素に対しては 90% 以上の消臭効果の値が得られた (Fig. 2-4)。このことから、ビワ種子油中の主成分がベンズアルデヒドであり、アルデヒド基の活性が消臭効果に大きく起因しているものとする。一方、Wu ら³⁸⁾ の報告⁴⁾ ではベンズアルデヒドを含まないマンゴー種子油には脂肪酸や安息香酸などのカルボン酸を含んでおり、加齢臭の原因物質である 2-

ノネナールに対して、特異的に消臭効果を示すことを明らかにしている。また、アンモニアとトリメチルアミンに対する消臭効果の作用はカルボン酸との中和反応によるものであるとの報告をしており、ビワ種子油中に存在しているカルボン酸も消臭効果に関与しているものと考えた。

2.6. ビワ種子油の脂肪酸組成モデルの消臭活性

ビワ種子に含まれる脂肪酸に消臭効果に関与する成分があるかを確認するため、Table 2-5 に示したようにビワ種子油に含まれる主要な 4 種の脂肪酸とそれぞれの脂肪酸を任意の割合で混合し、ビワ種子油の消臭評価と同様に 50 mg あたりの消臭効果を測定した。その結果、Table 2-6 に示すようにパルミチン酸やリノール酸を含まない試料 (6) ~ (8) は、アンモニアに対する消臭率が相対的に低かった。また、トリメチルアミン、硫化水素、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィドに対する消臭効果は認められなかった。これらの結果から、パルミチン酸、およびリノール酸を含む脂肪酸類は含窒素化合物 (アンモニア、およびトリメチルアミン)、硫化水素、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィドの消臭に対して有効な消臭剤であることが示唆された。また、パルミチン酸、およびリノール酸の存在は、2-ノネナールに対する消臭率を著しく増加させる傾向が認められた。しかし、パルミチン酸とリノール酸の割合を増やして消臭活性の向上を検討したが、期待された消臭効果は認められなかった。その結果、ビワ種子に含まれる脂肪酸は硫黄系化合物 (硫化水素、メチルメルカプタン、アリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィド) に対する消臭効果は低いことが示された。しかし、リノール酸濃度が高い試料 (3)、および (4) では、アリルメチルスルフィドに対する消臭性が全体的に向上する傾向を認めた。特に、リノール酸を高濃度を含む試料 (3) は、アリルメチルスルフィドに対して最も高い脱臭率 (80.2%) を示した。これらの結果から、リノール酸がアリルメチルスルフィドの消臭に関与していると判断した。また、リグノセリン酸の濃度を高めると消臭効果が向上することが示唆され、C24:0 を有する長鎖の飽和脂肪酸であることから、重なる分子間に悪臭成分が取り込まれて、著者が期待した消臭効果が現れたものと考えた。

2.7. ビワ種子油のアリルメチルスルフィドに対する消臭剤としての評価

ビワ種子油の脂肪酸組成は、カカオバターや牛脂と類似していることを明らかにした。また、ビワ種子油の酸価は 50.6 KOHmg/g と高く、食用には適さない油脂であると考えられる。GC 分析によりビワ種子油はピーナツ油に似た性質を持っていることがわかった。また、種子油を直接分析した結果、ベンズアルデヒドが種子油の約 70% (ピーク面積比) を占め脂肪酸の割合は少なかった。油分中の脂肪酸は、パルミチン酸、リノール酸、ベヘン酸、およびリグノセリン酸が主な成分であることを確認した。

これまでの研究でマンゴー (*Mangifera indica* L) 種子油の中には消臭効果を示すものがあることを明らかにしている。そこで、日常生活における不快臭の原因と考えられる悪

臭物質に対するピワ種子油の消臭効果を調べた。その結果、アンモニア、トリメチルアミン、硫化水素、イソ吉草酸、および2-ノネナールに対して強い消臭効果（90%以上）があることを明らかにし、悪臭物質に対する消臭効果の傾向は、ピワ種子油に高含量で含まれるベンズアルデヒドと同様であった。さらに、ベンズアルデヒド以外の脂肪酸類にも着目し、脂肪酸が消臭効果を発揮するのかを明らかにするため、パルミチン酸、リノール酸、ベヘン酸、およびリグノセリン酸の濃度を変えた試料を調製した。その結果、パルミチン酸とリノール酸がアンモニア、トリメチルアミン、硫化水素、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィドの消臭に最も重要な脂肪酸であることが明らかにした。ピワ種子油には消臭剤として用いるのに十分な消臭効果があることを明らかにし、その主成分はベンズアルデヒドと脂肪酸であることを明らかにした。



Fig. 2-1 Loquat seed

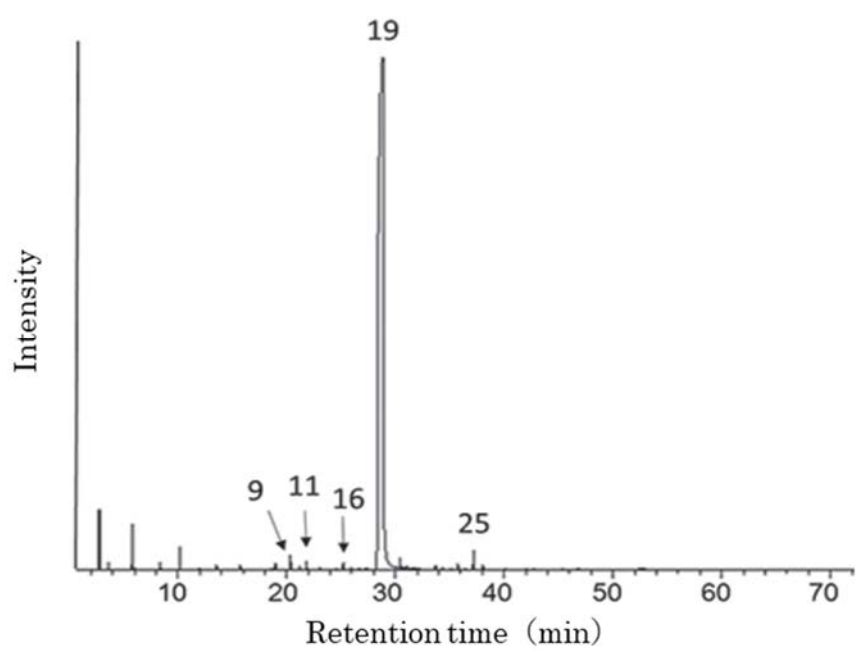


Fig. 2-2 Gas chromatography mass spectroscopy chromatogram of loquat seed oil.

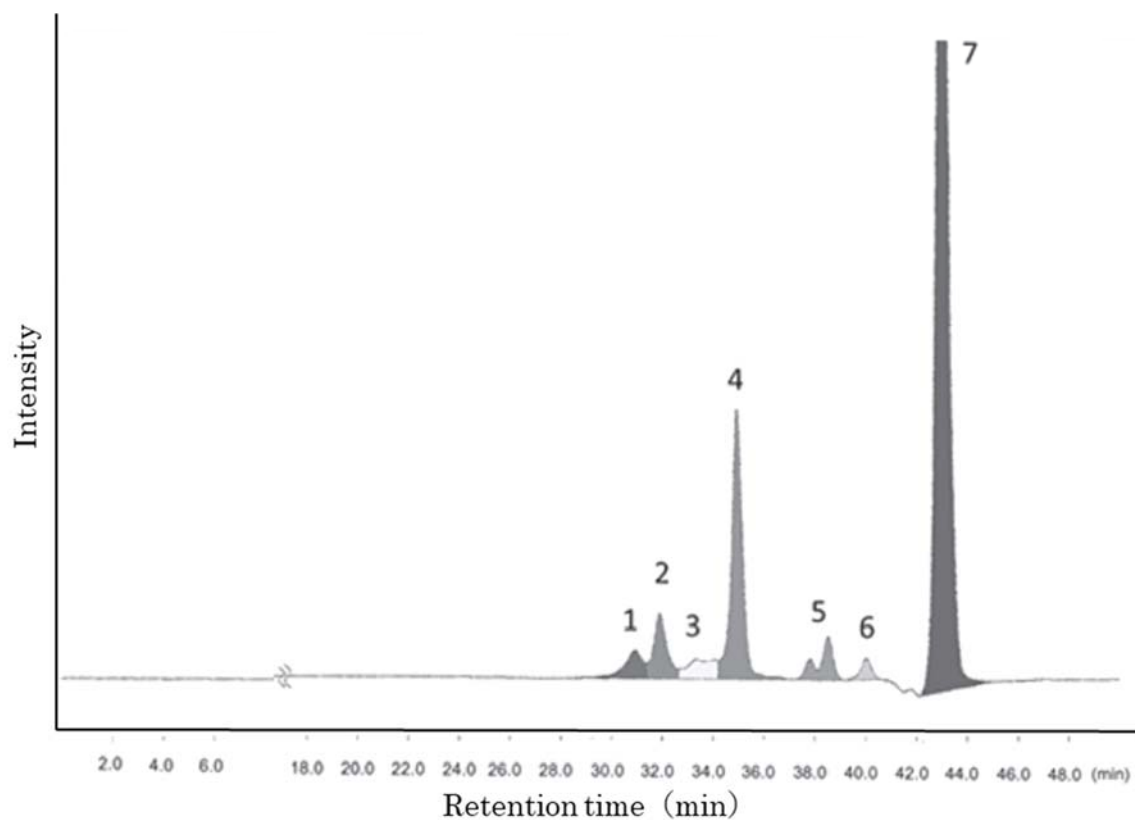


Fig. 2-3 GPC chromatogram of loquat seed oil.

- Peak 1 Triacylglyceride
- Peak 2 Diacylglyceride
- Peak 3 Monoacylglyceride or high molecular weight fatty acid
- Peak 4 C₁₆~C₁₈ Fatty acids
- Peak 5 Low molecular weight compounds
- Peak 6 Benzoic acid
- Peak 7 Benzaldehyde and volatile compounds

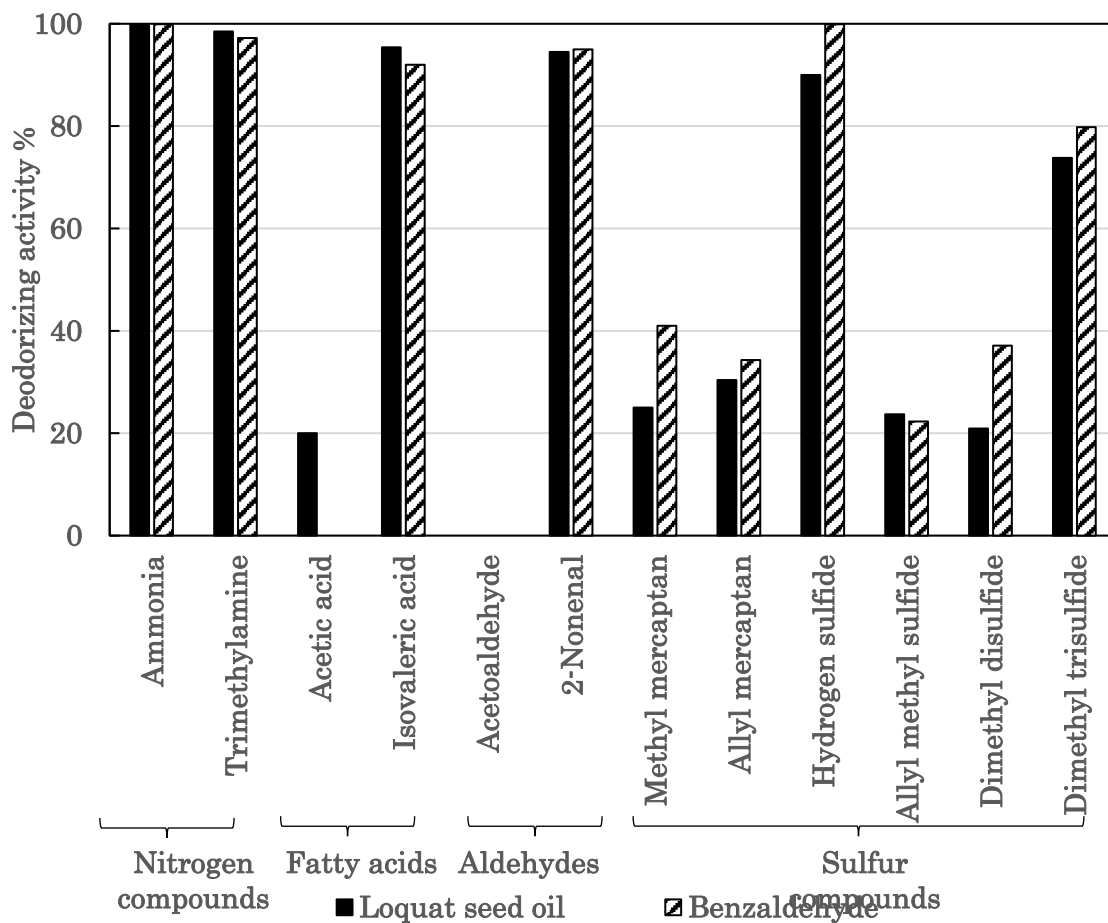


Fig. 2-4 Comparisons of deodorizing activity of loquat seed oil with benzaldehyde.

Table 2-1 Identification of volatile components contained in loquat seed oil and analysis by quantitative GC/MS.

Peak No. ^{a)}	R. T. ^{b)}	Compounds	%Area ^{c)}
1	13.56	Hexanal	0.12
2	13.86	Undecane	0.01
3	17.32	Dodecane	0.03
4	18.44	Butyl butyrate	0.03
5	18.62	(3E)-3-Hexenal	0.04
6	18.81	2-Pentylfuran	0.02
7	18.99	Ethyl caproate	0.15
8	19.88	Styrene	0.02
9	20.34	Hexyl acetate	0.31
10	20.93	Tridecane	0.02
11	21.52	(3Z)-3-Hexen-1-yl acetate	0.21
12	23.04	1-Hexanol	0.06
13	24.06	(3Z)-3-Hexen-1-ol	0.01
14	24.56	Tetradecane	0.05
15	24.69	(2E,4E)-2,4-Hexadienal	0.02
16	25.22	Hexyl butyrate	0.20
17	25.85	Ethyl caprylate	0.02
18	26.69	(3E)-3-Hexen-1-yl butyrate	0.08
19	28.8	Benzaldehyde	95.78
20	31.86	Acetophenone	0.04
21	32.22	Ethyl benzoate	0.03
22	34.33	Naphthalene	0.04
23	35.09	Methyl salicylate	0.02
24	35.75	1-Phenyl-1,2-propanedione	0.13
25	37.18	Benzyl alcohol	0.44
26	38.05	2-Phenylethanol	0.11
27	40.05	Biphenyl	0.02
28	41.07	Cinnamaldehyde	0.01
29	42.72	Mandelic acid	0.05
30	52.35	Benzoic acid	0.01
		Others	1.92
Total			100.00

a) The peak number correspond to numbers in Fig.2-2

b) Retention time (min)

c) Peak area percentage of total ion chromatogram.

Table 2-2 Chemical properties of loquat seed oil and other oils.

Chemical properties	Loquat seed oil	Cacao butter	Beef tallow
Acid value (KOH mg/g)	50.6	—	—
Saponification value	277.2	~199—202	~190—196
Iodine value (I ₂ g/100 g)	42.0	~29—38	~45—53
Hydroxyl value (KOH mg/g)	16.5	—	—
Ester value (KOH mg/g)	226.6	—	—

Table 2-3 Gas chromatography analysis of fatty acid composition contained in loquat seed oil.

Peak No.	Compounds	Peak area (%)
1	Benzaldehyde	70.7
2	Methyl benzoate	1.5
3	Benzoic acid	0.4
4	Methyl palmitate	1.8
5	Stearic acid	0.4
6	Methyl linoleate	4.0
7	Methyl stearate	0.2
8	Methyl arachidate	0.2
9	Methyl erucate	0.5
10	Methyl behenate	2.4
11	Methyl lignocerate	1.9
	Others	16.0
Total		100.0

Table 2-4 Composition of loquat seed oil based on GPC analysis

Peak No. ^{a)}	Composition	Peak area (%)
1	Triacylglycerides	2.90
2	Diacylglycerides	4.63
3	Monoglycerides or high-molecular weight fatty acids	2.84
4	C ₁₆ ~C ₁₈ Fatty acids	15.81
5	Low-molecular weight compounds	3.42
6	Benzoic acid	1.16
7	Benzaldehyde and volatile compounds	69.17
	Others	0.07
Total		100.0

a) The peak number correspond to numbers in Fig. 2-3

Table 2-5 Fatty acid composition and concentration of standard sample used in deodorization activity assay.

Sample No.	Fatty acid (mg)			
	Palmitic acid	Linoleic acid	Behenic acid	Lignoceric acid
(1)	30.0	30.0	150.0	30.0
(2)	30.0	30.0	30.0	150.0
(3)	20.0	100.0	20.0	100.0
(4)	20.0	100.0	100.0	20.0
(5)	20.0	20.0	100.0	100.0
(6)	—	—	120.0	120.0
(7)	—	—	200.0	40.0
(8)	—	—	40.0	200.0

Table 2-6 Comparisons of the deodorizing activity of the fatty acids standard samples shown in table 2-5 on malodorous substances.

Sample No.	Nitrogen-containing compounds		Short-chain fatty acids		Aldehydes	
	Ammonia	TMA ^{a)}	ACOOH ^{b)}	IVA ^{c)}	ACHO ^{d)}	2-Nonenal
(1)	98.7	98.5	0.0	85.0	0.0	64.9
(2)	99.0	98.5	0.0	84.0	0.0	66.3
(3)	99.3	98.5	4.0	88.0	0.0	49.3
(4)	98.7	98.5	2.0	84.0	0.0	40.3
(5)	98.7	98.5	0.0	76.0	0.0	46.8
(6)	80.0	0.0	0.0	44.0	0.0	11.0
(7)	88.0	0.0	40.0	0.0	0.0	18.1
(8)	70.0	0.0	90.0	0.0	0.0	8.8

Sample No.	Sulfur-containing compounds					
	H ₂ S ^{e)}	MM ^{f)}	AM ^{g)}	AMS ^{h)}	DMDS ⁱ⁾	DMTS ^{j)}
(1)	25.0	0.0	0.0	30.4	8.2	14.9
(2)	0.0	0.0	0.3	36.7	6.1	9.8
(3)	0.0	14.0	0.0	80.2	11.5	34.5
(4)	20.0	10.0	0.0	69.2	12.3	29.5
(5)	0.0	10.0	7.1	36.1	1.3	3.6
(6)	0.0	10.0	9.0	9.0	0.0	0.0
(7)	0.0	0.0	10.3	14.6	0.0	0.0
(8)	0.0	0.0	7.1	19.0	0.0	0.0

a) Trimethylamine
b) Acetic acid
c) Isovaleric acid
d) Aceto aldehyde
e) Hydrogen sulfide

f) Methyl mercaptan
g) Allyl mercaptan
h) Allyl methyl sulfide
i) Dimethyl disulfide
j) Dimethyl trisulfide

第3章 ヤマモモ(*Myrica rubra* SIEB. et ZUCC. vc)種子からの消臭活性物質の探索

日本では明治以降の食の洋風化によって食用油の需要が増え、その市場のほとんどを植物油が占めている^{50, 51)}。その中でも種子油の消費量は多く、菜種油(半乾性油)、および大豆油(乾性油)などがよく用いられている。一方、不乾性油であるツバキ油およびヒマシ油などは食用油の他に化粧品、工業製品、あるいは医薬品の原料としても利用されている⁵²⁾。多くの種子は発芽のためのエネルギー源として主に炭水化物、脂質、およびタンパク質を貯蔵しており、エネルギー収率が高い脂質を多く含んでいる^{53, 54)}。本研究で使用するヤマモモ(学名: *Myrica rubra* SIEB. et ZUCC. vc.)はヤマモモ科ヤマモモ属の常緑果樹である。中国や日本を原産地とし、現在は中国の江蘇省、浙江省や日本の関東以南の山地など暖かい土地に自生し、栽培されている。品種は約20種類が知られているが、野生種では果実の色が白い“しらこやまもも(白粉山桃; 学名; *Myrica cerifera* L.)”、栽培品種としては大粒で酸味の強い“瑞光”、酸味の弱い“森口”、および“秀光”などが有名である^{55, 56)}。ヤマモモの根粒は窒素固定を行なう放線菌の一種である *Frankia* sp.を共生させているため、栄養の乏しい土地でも育成できる⁵⁷⁾。そのため、食用としての栽培のほか、緑化のための植樹としても用いられている。成木は20 mほどになる高木で、幹は太くなると灰色の樹皮に覆われる。この樹皮は楊梅皮と呼ばれ、漢方薬として用いられている。果実は直径1.5~2 cmの球形で表面に粒状の突起が密生しており、6月~7月頃に緑色から暗赤色に熟す^{58, 59)}。また、果実、樹皮および葉からはクエン酸、フラボノイドのアントシアニン、およびミリシトリンが多く含まれており、疲労回復効果、抗酸化作用および抗アレルギー作用などが報告されている^{60, 61)}。多汁質で甘味と酸味が強く、生食以外にジャムやゼリー、果実酒などに加工される際に種子は大量に廃棄されているのが現状である。本研究では近畿大学広島キャンパス内に生育(樹齢約30年)しているヤマモモの果実から得られる種子の工業的有効利用を目的とし、種子から油脂を取り出し脂肪酸成分の分析と化学的特性について検討した。また、油脂の消臭効果および抗菌活性試験を行ない、その用途開発を検討した。

1. 試験方法

1.1. ヤマモモ種子油の調製

ヤマモモ種子は近畿大学広島キャンパス(広島県東広島市高屋町)内に生育している樹齢約30年を経過したヤマモモ(高さ約5 m程度、品種; 瑞光)から果実を採取し水洗後、陰干し乾燥させた後、ミルで粉碎した(Fig. 3-1)。粉碎したヤマモモ種子粉末2.7 kgをn-ヘキサン5 lに2週間浸漬した。その後、固形物を分離して取り出した抽出液中のn-ヘキサンを減圧下で留去し、濃縮乾固して淡黄色の油脂274.2 gを得た。

1.2. ヤマモモ種子油中の脂肪酸分析

調製したヤマモモ種子油 0.02 g に 0.5 M 水酸化ナトリウム-メタノール混合溶液 1 ml を加えた。内温 105~115°C で 30 分加熱後、常温下で三フッ化ホウ素-メタノール混合試薬を 0.5 ml 加え、内温 110±5°C で 1 時間加熱した。反応終了後、ジエチルエーテルで反応物を抽出し、水洗後無水硫酸ナトリウムで水分を除去した。その後、溶媒を留去し反応生成物 0.016 g を得た。得られた脂肪酸メチルエステルの分析は GC-MS (GC-17A, QP-5000, (株)島津製作所) を用いた。カラムは DB-1 (φ 0.32 mm×30 m, 0.25 μm ; Agilent Technologies) を使用し、カラム温度は、180°C (3 min) →5 °C/min→300 °C (10 min) に設定し、インジェクション温度：250°C、キャリアガスには He を用いた。

1.3. ヤマモモ種子油の組成分析

2.1.5.) に示したゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いてヤマモモ種子油脂質の組成分析を行った。

1.4. ヤマモモ種子油の香気成分の分析

ヤマモモ種子油 (15 mg) をセプタム付きバイアル瓶に入れ、第 2 章のビワ種子油を分析した操作方法 1.2.) を用いて、SPME 法による GC-MS で分析した。

1.5. ヤマモモ種子油の化学的性状の測定

ヤマモモ種子油の酸価、けん化価、ヨウ素価、エステル化、および水酸基価は、第 2 章のビワ種子の分析で用いた 1.3.1) から 1.3.5) の操作方法で測定した。また、不けん化物量は、油脂をアルカリ分解した際にけん化されず、ジエチルエーテルに溶解した油脂量として求めた。油脂 5.0 g を 1 M 水酸化カリウム-エタノール混合溶液 50 ml に溶解した後、1 時間穏やかに加熱還流した。反応終了後、ジエチルエーテルで抽出した。抽出物を乾固した後、ジエチルエーテル 2 ml とエタノール 10 ml の混合溶液に溶解し、フェノールフタレイン指示薬を加え、0.1 M 水酸化カリウム-エタノール溶液で滴定して不けん化物量を求めた⁶²⁾。

1.6. タンパク質の定量方法

タンパク質量の定量はウシ血清アルブミン (BSA) を標準溶液とした 0.0156~2.00 mg/ml の濃度間での Lowry 法により求めた⁶³⁻⁶⁵⁾。検量線用の各濃度溶液と試料 (油脂) 溶液 25 μl を 96 穴マイクロプレートに取り、これにリン酸緩衝液 (PBS) を 25 μl 加えて振とうした後、BCA タンパク質分析キットの試薬 A と試薬 B を 100 : 1 の混合溶液 22.5 μl 加えて攪拌した。37°C で 1 時間反応させた後、マイクロプレートリーダーを用いて各セルの 560 nm の吸光度を測定した。

1.7. 消臭試験方法

ヤマモモ種子油の消臭効果は、第 2 章のビワ種子油を分析した 1.6.) と同様の操作方法で測定した。

2. 結果および考察

2.1. ヤマモモ種子油の香気成分の分析

ヤマモモ（品種；瑞光）から採取した完熟果実の種子からヘキサンで抽出した種子油の揮発性成分を SPME 法で捕集し GC-MS 分析を行った。GC チャートを Fig. 3-2 に、特定した成分とその組成比を Table 3-1 に示した。その結果、種子油中の揮発性成分は安息香酸メチルが主成分として存在していることが確認できた。その他、香気成分である C₁₀ のモノ、および C₁₅ のセスキテルペン炭化水素化合物である (-) - β -ピネン、(+/-) -リモネン、コパエン、およびイソカリオフィレンの合計が 1.24%、ベンズアルデヒドが 1.57% を占めなどが含まれていることが明らかになった。

2.2. ヤマモモ種子油の化学的性状

つぎに、ヘキサンで抽出したヤマモモ種子油の化学的性状を分析し、その結果を Table 3-2 に示した。今回の測定では酸価値が 25.9 と高い数値を示したことから種子から取り出す際の加熱による劣化が懸念された。そのため、約 2 週間（室温遮光下に保管）後に再度測定したところ、酸価の値は 26.4 であったことから、抽出の際の熱による劣化ではなく、油脂そのものの性状であるものと考えた。食用の植物油脂原油の酸価は約 5.0 以下と規定されている⁶⁶⁾ ことから、ヤマモモ種子油は食用以外での利用方法を検討する必要があることが示された。一方、けん化価は一般的に遊離脂肪酸を多く含むほど高くなる傾向があり、比較物質として用いた市販品のパーム油、あるいはツバキ油では 194~210 のけん化価を有しているのに対して、ヤマモモ種子油のけん化価は 189.4 を示した。また、第 2 章で示したビワ種子油のけん化価は 277.2 であることから、ヤマモモ種子油はビワ種子油よりも脂肪酸の平均分子量が大きいことを示唆しているものと考えた。さらに、ヨウ素価は 118.2 を示し半乾性油であることが判明し、ビワ種子油の 42 よりも高く、飽和脂肪酸含有量の多いビワ種子油に比べて、ヤマモモ種子油には不飽和脂肪酸量が多く含まれる種子であることが明らかになった。また、市販のパーム油、あるいはツバキ油などの不けん化物が 0.1~1.0% の範囲であるのに対して、ヤマモモ種子油の不けん化物は 2.0% を示したことから、微量ながらグリセリン、スクワレン、およびビタミン E などが含まれている可能性が示唆された。

2.3. ヤマモモ種子油中の脂質分析と脂肪酸組成

ヤマモモ種子油の GPC 分析の結果、トリアシルグリセリドが 80.5%、ジアシルグリセリドが 5.4%、および脂肪酸類（既知標品との同定により、リノール酸、およびオレイン酸を確認）が 14.0% 含まれていることが示された（データ示さず）。Table 3-2 に示したヤマモモ種子油の水酸基価は 6.9 を示し、トリアシルグリセリドやジアシルグリセリド由来の OH 基による影響で水酸基価を高めているものと思われる。ヤマモモ種子油の脂肪酸組成分析は、0.5 M 水酸化ナトリウム-メタノール混合溶液でメチルエステル化した後、GC/MS 分析により調べた。その GC/MS チャートを Fig. 3-3 に、また、その脂肪酸組成は

メチル化した油分から求めたものを Table 3-3 に示した。ヤマモモ種子油中に含まれている脂肪酸は主にパルミトレイン酸、パルミチン酸、リノール酸、オレイン酸、およびステアリン酸であることが示された。この結果から、ヤマモモ種子油の脂肪酸組成は一般植物油である大豆油、あるいはトウモロコシ油に近い組成を持っていることが示された。リノール酸およびオレイン酸は肌への刺激が少なく、化粧品の乳液やクリームなどによく使用されている脂肪酸であることから、ヤマモモから得られた油脂も化粧品への利用が十分可能であるものと考えられる。

2.4. ヤマモモ種子油中のタンパク質量の定量

つぎに、ヤマモモ種子抽出の油脂中のタンパク質を Lowry らの方法⁶³⁻⁶⁵⁾に従い、油脂中に含まれるタンパク質濃度を定量した。その結果、油脂中のタンパク質濃度は 0.26 mg/ml となり、ヤマモモ種子油に含まれている濃度に換算すると 4.20 mg/ml であった。一般的にタンパク質を多く含むマメ科の種子には 20~40%程度が含まれており、タンパク質と油脂が水存在下で攪拌することにより乳化現象⁶⁷⁾が起こることが知られている。ヤマモモ種子から得られた油脂を乳化した場合、乳化することが観察されたので、乳化剤としての利用も可能であることが示唆された。

2.5. ヤマモモ種子油の消臭効果

近年、不快臭と言われているニオイ（匂い・臭い）が身の回りに存在し、健全な生活環境を維持・継続するためには、天然物由来で安全性が高く、消臭効果をもたらす化学物質に注目が集まっている。そこで、悪臭として不快感を与える 12 種類の化学物質を用いて、ヤマモモ種子油が有する 12 種類の不快臭物質に対するヤマモモ種子油の消臭効果を測定した。その結果、住宅環境の中で苦情が多いし尿臭の原因であるアンモニアに対して 75%、癌臭成分の一つであるジメチルトリスルフィドに対しては 82.8%、加齢臭の原因である 2-ノネナールに対しては 90.8%、また、日常生活の中で人的に関わりの深い足の臭いの原因であるイソ吉草酸に対しては 95.4%の値を示し、消臭効果があることを明らかにした (Fig. 3-4)。

2.6. ヤマモモ種子油成分の消臭効果

本研究において、ヤマモモ種子油の油脂成分の組成は、トリグリセリドが 80.5%、脂肪酸が 14.0%含まれていることを明らかにした。その脂肪酸の組成はパルミチン酸 12.0%、リノール酸 52.7%、オレイン酸 28.7%、およびステアリン酸 5.4%を含む油脂であることを明らかにした。これらのヤマモモ種子油の成分について、それぞれ種子油と同様の方法で消臭効果を測定した。なお、トリアシルグリセリドとしてはトリオレイン (≥99% ; Sigma-Aldrich 社) を使用した。その結果、Fig. 3-4 に示すようにトリオレインは 2-ノネナールに対して 48.2%の値を示し、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィドに対してはそれぞれ 33.3%および 35.4%の値を示した。それ以外の悪臭物質に対してはいずれも 20%以下の値を示す消臭効果でしかなかった。一方、不飽和脂肪酸であるリノー

ル酸、およびオレイン酸についてはアンモニア、トリメチルアミン、およびイソ吉草酸についてはいずれも 90%以上の値を示すなど高い消臭効果を確認した。2-ノネナールに対しては 74.5%、および 84.1%の値を、ジメチルトリスルフィドについては 69.5%、および 72.7%の値の消臭効果を認めた。これに対して、飽和脂肪酸であるパルミチン酸、およびステアリン酸の消臭効果はアンモニアのみに 92.9%の値を示し高い消臭効果を示したが、その他の臭気物質に対しては消臭効果を示さなかった。

これらのことから、ヤマモモ種子油が示したアンモニア、およびイソ吉草酸に対する高い消臭効果は、リノール酸およびオレイン酸が関与しているものであり、2-ノネナール、およびジメチルトリスルフィドに対しての消臭効果はヤマモモ種子油に約 80%含まれているトリアシルグリセリドの存在が消臭効果に関与し、90.8%、および 82.8%の値になったものと推定した。

2.7. ヤマモモ種子油の評価結果

ヤマモモ種子油は、第 2 章で述べたビワ (*Rhaphiolepis bibas* (Lour.) Galasso & Banfi) 種子油と異なり、トリアシルグリセリドを多く含む油脂であり、遊離脂肪酸は 14%含まれ、そのうちリノール酸、およびオレイン酸の不飽和脂肪酸量が多い液状油脂であることが分かった。用途としては、タンパク質を含んでいる種子油であるため乳化剤としての利用が考えられる。また、主な香気成分として安息香酸メチルとその他の成分として植物由来のテルペノイドが含まれていることも確認でき、ハロー法による抗菌活性試験を行った結果、黄色ブドウ球菌や枯草菌に対してハロー（生育阻止円）を形成し、抗菌活性を有することを明らかにした。ヨウ素価の数値より半乾性油であり、不飽和脂肪酸含量が多く、ゴマ油や菜種油などの食用油とよく似た性質を持っているが、食品油としては未精製油で酸価が 0.2~4.0（日本農林規格）である必要があり、ヤマモモ種子油の酸価は規格より高いことから食用としては用いることはできない。一方、消臭効果に関しては体臭として問題となる、2-ノネナールあるいはイソ吉草酸などに対する消臭効果が高いことから、石鹸や乳液などの汎用品の化粧品原料としての利用が期待される。



Fig. 3-1 *Myrica rubra* SIEB. et Zucc.VC.

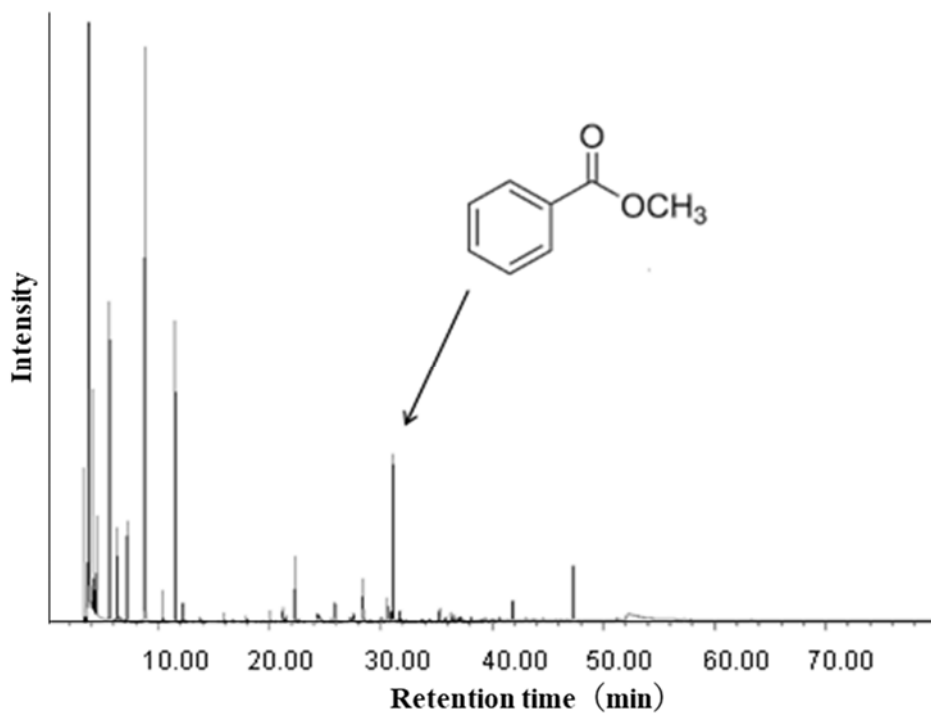


Fig. 3-2 GC-MS analysis of volatile compounds in Bayberry seed oil.

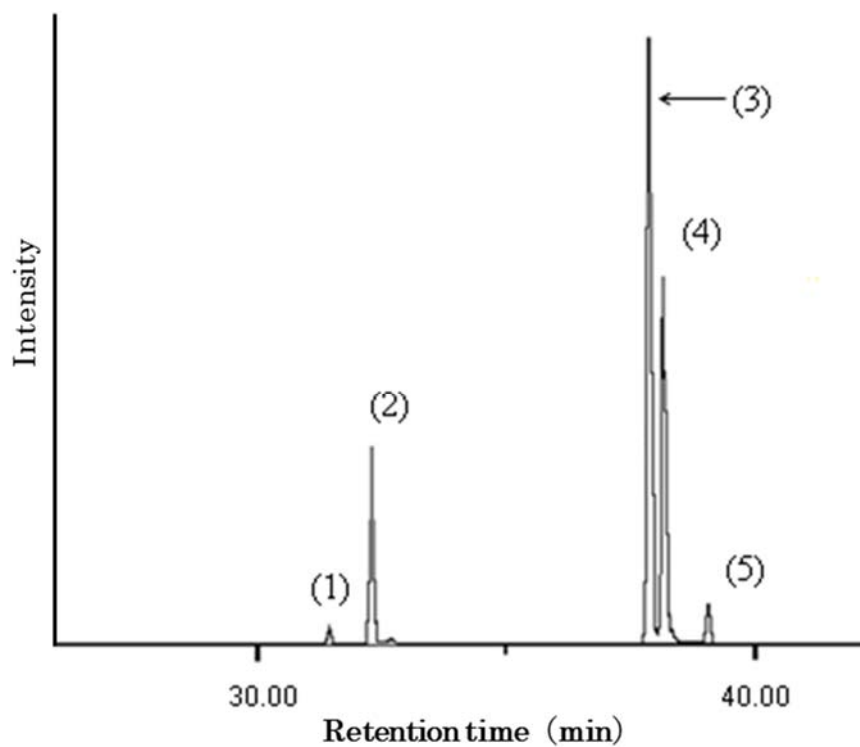


Fig. 3-3 GC-MS chromatogram of Bayberry seed oil.

- (1) Palmitoleic acid
- (2) Palmitic acid
- (3) Linoleic acid
- (4) Oleic acid
- (5) Stearic acid.

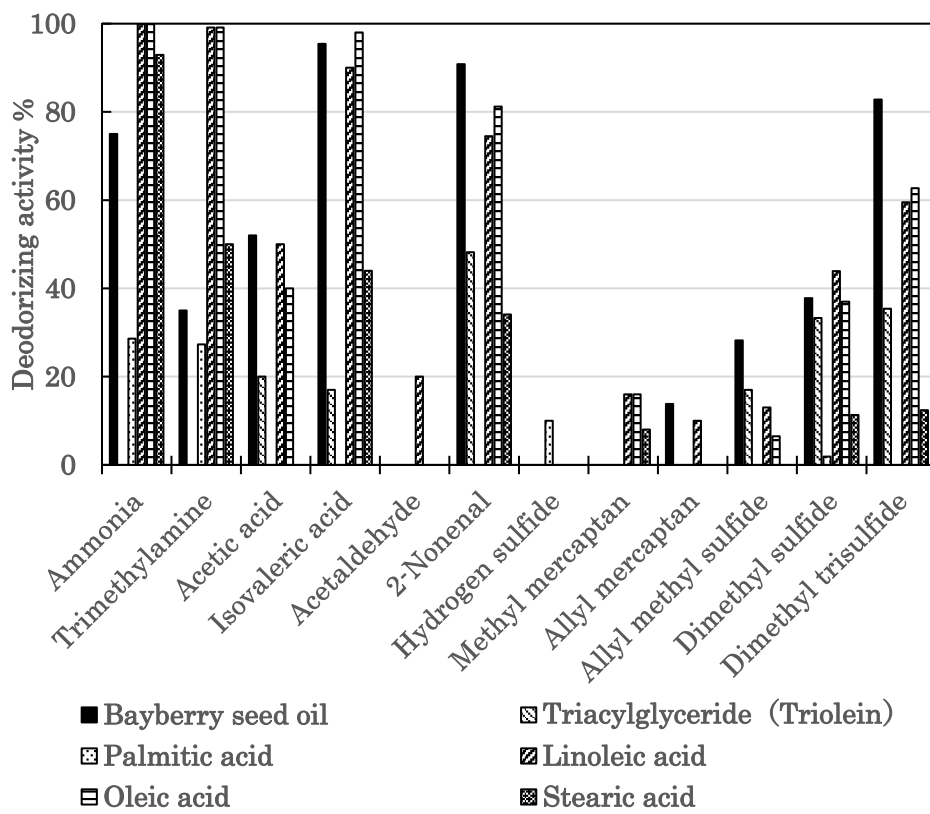


Fig. 3-4 Comparisons of deodorizing activity of Bayberry seed oil with its components.

Table 3-1 Identification of volatile components contained in Bayberry seed oil and analysis by quantitative GC/MS.

Peak No.	Compounds	Peak area (%)
(1)	Heptane	0.97
(2)	Ethyl acetate	1.65
(3)	Toluene	0.38
(4)	Hexanal	0.17
(5)	(-)- β -Pinene	0.07
(6)	(\pm)-Limonene	0.07
(7)	Methylheptenone	0.12
(8)	Acetic acid	0.74
(9)	Copaene	0.40
(10)	Benzaldehyde	1.57
(11)	Isocaryophyllene	0.70
(12)	Methyl benzoate	3.97
(13)	Acetophenone	0.04
(14)	Benzyl alcohol	0.12
(15)	2-Phenethyl alcohol	0.14
(16)	Methyl cinnamate	0.52
(17)	Biphenyl	0.03
(18)	Methyl hexadecanoate	0.06
(19)	Benzoic acid	0.95
–	Others	87.37
	Total	100.00

Table 3-2 Chemical properties of Bayberry seed oil and other oils.

Chemical properties	Bayberry seed oil	Bayberry Jruit oil*	Palm oil*	Camellia oil*
Acid value	25.9	—	—	$\leq 5.0^*$
Saponification value	189.4	206.0~217.0	196.0~210.0	188.0~194.0
Iodine value	118.2	0.6~3.9	43.0~60.0	78.0~83.0
Unsaponifiable matter (%)	2.0	0.1~2.5	0.2~1.0	0.1~0.9
Hydroxyl value (KOH mg/g)	6.9	—	—	—
Ester value (KOH mg/g)	163.5	—	—	—

*油脂化学便覧改訂3版 (丸善出版)

Table 3-3 GC/MS analysis of fatty acid composition contained in Bayberry seed oil and other oils.

Compounds	Content ratio (%)		
	Bayberry seed oil	Soybean oil*	Corn oil*
(1) Palmitoleic acid	1.2	0	0.1
(2) Palmitic acid	12.0	5~12	7~13
(3) Linoleic acid	52.7	50~57	40~60
(4) Oleic acid	28.7	20~36	25~45
(5) Stearic acid	5.4	2~7	2~5

* Date quoted from Kaneda Co., Ltd. Homepage.

第4章 ビワおよびヤマモモ種子油の混合油に対する消臭効果の改善

第2章で、ビワ (*Rhaphiolepis bibas* (Lour.) Galasso & Banfi) の種子からヘキサンで抽出した種子油について、その脂肪酸組成、化学的性状、および日常生活で感じる悪臭物質に対する消臭効果を明らか評にした。ビワ種子油は淡黄色を呈し常温では固体であり、その成分はベンズアルデヒド (52%) が主成分して、その他、安息香酸 (3%) などを含む低分子量成分が全体の約 72%を占めた⁶⁾。また、脂肪酸としてはパルミチン酸 (2.4%)、リノール酸、およびオレイン酸などが 8.8%含まれている他に、トリグリセリドなどの中性脂肪酸が全体の約 10%であることを明らかにした。また、種子油の化学的性状は、酸価 50.6、水酸基価 16.5、ケン化価 277.2、エステル価 226.6、およびヨウ素価 42.0 を有していることから不乾性油に分類された。日常環境の中でしばしば感じられるニオイの原因物質であるアンモニア、トリメチルアミン、酢酸、イソ吉草酸、アセトアルデヒド、2-ノネナール、硫化水素、メチルメルカプタン、アリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィドの 12 悪臭物質のうち、アンモニア、トリメチルアミン、イソ吉草酸、2-ノネナール、硫化水素、およびジメチルトリスルフィドに対して高い消臭効果が認められたことから、その効果は同種子油に含まれるベンズアルデヒド、および脂肪酸類であることを明らかにした。

第3章では、ビワ種子油と同様にヤマモモ (*Myrica rubra* SIEB. et Zucc.vc.) の種子油について、油脂、および脂肪酸の組成や化学的性状および消臭効果を明らかにした。油脂は淡黄色を呈し、常温で液状であり、トリアシルグリセリドなどの中性脂肪酸が 80%を占める他に、脂肪酸類が 14%を占める油脂であることを明らかにした。また、脂肪酸の 7 割がリノール酸とオレイン酸であることを明らかにし、大豆油、あるいはトウモロコシ油の組成に類似した油脂であることも明らかにした。ヤマモモ種子油の化学的性状については、酸価 25.9、ケン化価 189.4、ヨウ素価 118.2、不ケン化物 2.0%、水酸基価 6.9、およびエステル価 163.5 を明らかにした。さらに、ビワ種子油と同様に日常環境中でよく感じられる 12 種類の臭気物質に対するヤマモモ種子油の消臭効果を測定し、アンモニア、イソ吉草酸、2-ノネナール、およびジメチルトリスルフィドに対し高い消臭効果を示すことを明らかにした。さらに、その消臭効果はリノール酸とオレイン酸の不飽和脂肪酸類と中性脂肪酸との付加反応などによるものであることを明らかにした。ビワ種子油、およびヤマモモ種子油の化学的性状や消臭効果は、それぞれ異なる特徴を有しており、その特徴がそれぞれの利点や欠点となっている。例えば、ビワ種子油は常温で固体であることから、加熱により液状化してから使用する必要があるが、ヤマモモ種子油は常温で液状であるため取扱い易いなどの利点を有している。また、低分子化合物を多く含むビワ種子油とは異なり、ヤマモモ種子油は高分子化合物を多く含んでおり、消臭効果についてもヤマモモ種子油は窒素化合物、および体臭成分への消臭効果があるのに対して、ビワ種子油は口臭や糞便臭などに関与する硫化水素に対して高い消臭効果を有する特徴を持つことを明らかにするこ

とができた。

消臭剤原料の開発を目的とする本研究において、これらのピワ種子油、およびヤマモモ種子油の特徴を解明することにより、有効な消臭効果が期待できることを明らかにした。また、それぞれの油脂を混合して、新たな特徴を見出すことにより、多種多様な悪臭成分に対する消臭効果を向上させる可能性を明らかにすることができた。

1. 実験方法

1.1. 試料の調製

第2章のピワ種子油、および第3章のヤマモモ種子油を用いて、1:1、および1:3の重量割合で混合した試料を調製した。

1.2. 消臭試験方法

調製した試料のアンモニア、トリメチルアミン、酢酸、イソ吉草酸、2-ノネナール、硫化水素、メチルメルカプタン、アリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィドに対する消臭効果については、第2章のピワ種子で用いた1.6.)の操作方法に従って測定し評価した。

2. 結果および考察

ピワ種子油、およびヤマモモ種子油を任意の割合で混合した試料に対する11種類の悪臭物質に対する消臭効果を測定した。その結果をTable 4-1に示したように、ピワ種子油はアンモニア(尿臭)、トリメチルアミン(腐敗魚臭)、イソ吉草酸(足臭)、2-ノネナール(加齢臭)、硫化水素(腐卵臭)、およびジメチルトリスルフィド(癌臭)に対して、90%以上の値(90.0~99.9%)の消臭効果が得られたのに対し、酢酸、メチルメルカプタンに対しては30%の値を示した。一方、ヤマモモ種子油はイソ吉草酸、および2-ノネナールに対して、90%以上の値(90~95%)を示した。そこで、今回行ったピワ種子油とヤマモモ種子油の混合割合を検討した。その結果、最適な混合割合としては、1:1、および1:3の割合(重量)で混合した場合において、著者が期待した数値が認められ、その消臭効果が向上することが認められた。すなわち、2種類の種子油を1:1の割合で混合した場合、ヤマモモ種子油のみでは、あまり消臭効果が期待できなかったトリメチルアミン、硫化水素、アリルメルカプタン(ニンニク臭)、アリルメチルスルフィド(ニンニク臭)、およびジメチルジスルフィド(口臭)に対する消臭効果が向上し、使用した臭気物質については50%以上の値を得ることができた。一方、リノール酸、およびオレイン酸など脂肪酸類が消臭効果の主成分となっているヤマモモ種子油の混合割合を増やし、1:3に調製した場合には酢酸(ゴミ臭)、メチルメルカプタン(口臭)、アリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、およびジメチルトリスルフィドの悪臭成分に対して消臭効果の向上が認められ、著者が期待した値(72.0~96.0%)を得ることができた。このように、種子油の消臭効果については脂肪酸類を主成分とするヤマモモ種子油を増加させた混合油を調製することにより、長

鎖脂肪酸の含有割合の増加による影響により、今回使用した悪臭物質に対して高い消臭効果を上げることができ、さらに常温で液状を示すなど取り扱いが容易であることも利点の一つとなった。

本研究の成果は、種子由来の油脂成分の用途開発であり、今回明らかにしたピワ種子油とヤマモモ種子油の個々の消臭効果に加え、これらを混合した油脂の組成からも公知^{A)}の香粧品などの原料としても使用することが十分可能であることを明らかにすることができた。

Table 4-1 Deodorizing activity of Loquat seed oil, Bayberry seed oil, and the mixtures of both on malodorous substances.

Malodors	Loquat ^{a)} seed oil	Bayberry ^{b)} seed oil	Loquat ^{a)} : Bay berry ^{b)} seed oil	
			(1:1)	(1:3)
Ammonia	99.9	75.0	99.9	99.9
Trimethylamine	99.9	35.0	99.9	99.9
Acetic acid	20.0	52.0	55.0	72.0
Isovaleric acid	95.4	95.4	98.4	98.4
2-Nonenal	94.5	90.8	98.0	99.0
Hydrogen sulfide	90.0	0.0	95.0	95.0
Methyl mercaptan	33.0	25.0	50.0	60.0
Allyl mercaptan	61.4	30.4	80.0	85.0
Allyl methyl sulfide	67.3	23.7	76.0	72.0
Dimethyl disulfide	66.0	20.9	67.0	72.0
Dimethyl trisulfide	91.0	73.8	93.0	96.0

a) *Rhaphiolepis bibas* b) *Morella rubra* Lour.

第5章 ブラジルナッツ (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) 種子油の化学成分と有効利用

近年、健康・美容志向の高まりから、栄養価の高い食品としてナッツ類が注目されるようになった。ナッツ類は多脂性食品のため、カロリーが高く、現代人に不足しがちな栄養素を多く含むため、メタボリックシンドロームや高血圧などの予防に効果的であることが報告されている⁶⁸⁾。ナッツ類は食用部位が硬い殻や果実の他の部位に覆われているため、生育時期に散布される農薬の影響を受けにくいとされている。今回、本研究で使用した亜熱帯領域のベネズエラ、およびブラジルのアマゾン川流域に繁殖している常緑の高木でサガリバナ目サガリバナ科ブラジルナッツノキ属のブラジルナッツ (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) に注目し、その種子 (Fig. 5-1) を入手した。この種子は古くから先住民が食糧として利用し、油脂分の含有率が高いため燃料としても利用されるなど、当地の経済面において重要な資源の一つとなっている^{69,70)}。果肉には不飽和脂肪酸、およびタンパク質が多く含まれ、大きなブラジルナッツには卵 1 個分のカロリーが含まれ、現在では健康食品として世界中に輸出されるようになってきている⁷¹⁻⁷⁴⁾。また、多様なポリフェノール、および抗酸化物質が存在することから慢性的な症状の病気などの予防にも効果があることなどが報告されている⁷⁵⁻⁷⁷⁾。さらに、果肉には健康維持に必要な不可欠な微量元素の一つであるセレンが多く含まれているが、過剰に摂取すると胃腸障害や神経障害、下痢、疲労感などの症状が出るため、多量の摂取は危険であることが報告されている⁷⁸⁻⁸⁰⁾。そこで、著者はこれまでに各種の果実種子から調製した油脂に臭気物質に対する消臭効果を見出し、消臭剤としての新たな利用方法を開発してきた^{81,82)}。本研究では、ブラジルナッツ種子から得られた油脂の成分を確認し、最近の天然物志向の高い化粧品への利用、ならびに日常生活の中で大きな問題になっている悪臭に対する消臭効果などの試験を行い、その利用方法について検討した。

1. 試験方法

1.1. ブラジルナッツ種子油の調製

殻から取り出したブラジルナッツ種子 232 g を粉碎し、n-ヘキサン 500 ml に 3 週間浸漬して脂溶性成分を抽出した。濾過後、減圧下で溶媒を留去し粗抽出物 85.2 g を得た。また、ブラジルナッツ殻表皮 99.9 g についても同様な操作により粉碎し、大粒径粉末 (2~5 mm) 64.4 g と小粒径粉末 (0.5~1 mm) 35.5 g を得た。

1.2. ブラジルナッツ種子油中の香気成分の分析

ブラジルナッツから抽出した油脂をセブタム付きバイアル瓶に入れ、第2章のビワ種子を分析した 1.2.) と同様の操作方法で香気成分を捕集し分析した。

1.3. ブラジルナッツ種子油中の脂肪酸組成分析

1.3.1. 脂肪酸のメチルエステル化

ブラジルナッツから抽出して調製した油脂 0.5 g を第 2 章のピワ種子油を 1.2.) に記載した同じ操作方法でメチルエステル化した。

1.3.2.メチルエステル化遊離脂肪酸の GC-MS 分析

メチルエステル化した種子油中の遊離脂肪酸の分析は、GC/MS (QP-5000, Column : TC-1(φ 0.25 mm×30 m ; (株)島津製作所), Column temperature : 150°C (10 min hold)~3°C /min ~ 270°C(45 min hold), Injection temperature : 240°C, Interface temperature : 230°C, Carrier gas (1.3 ml/min) ; He) を用いた。

1.4. ブラジルナッツ種子油の化学的性状の測定

ブラジルナッツから抽出して調製した油脂の化学的性状を明らかにするため酸価、けん化価、よう素価、エステル価、および水酸基価については、第 2 章のピワ種子を分析した 1.3) に記載と同じ操作方法で測定した。なお、中性脂肪の含有率はエステル価をけん化価で除して 100 を乗じて算出した⁶²⁾。

1.5. 消臭試験方法

ブラジルナッツから抽出して調製した油脂 0.1 g の消臭効果は、第 2 章のピワ種子の消臭試験 1.6.) と同じ操作方法で測定した。

1.6. DPPH ラジカル消去効果の測定

1.6.1. 2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル消去活性試験

測定方法は既報に準じて行った⁸³⁾。エタノールに種子油を 10 mg/ml となるように調製し、これを試料溶液とした。指標である α-トコフェロールも同様に 0.04 mg/ml に調製した。また、DPPH も同様に 0.2 mM に調製し、実験に使用するまで暗所に保存した。なお、これらの溶液は実験当日に調製した。本試験は、96 ウェルマイクロプレートに試料溶液およびエタノール性 α-トコフェロール溶液を 2 倍希釈した 8 段階の希釈系列 100 μl を 2 系統作成した。この希釈系列にエタノール 100 μl、0.2 mM エタノール性 DPPH 溶液 50 μl を加え攪拌した。その後、30 分間暗所に静置し、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (517 nm) を測定した (A)。色対照として、0.2 mM エタノール性 DPPH 溶液の代わりにエタノール 50 μl を加え測定した (B)。また、ブランク試験として、試料溶液の代わりにエタノール 100 μl を加え測定した (C)。試料溶液の代わりにエタノール 100 μl を、0.2 mM エタノール性 DPPH 溶液の代わりにエタノール 50 μl を加え測定した (D)。これらの結果をもとに次式を用いて、DPPH ラジカル消去率 (%) を算出した。

$$\text{DPPH ラジカル消去率 (\%)} = ((C - D) \cdot (A - B)) / (C - D) \times 100$$

A : 本試験での吸光度

B : 本試験の色対照の吸光度

C : ブランク試験の吸光度

D : ブランク試験の色対照の吸光度

2. 結果および考察

2.1. ブラジルナッツの果肉と殻の香気成分の分析

入手したブラジルナッツ種子中の油脂を採取する際に分離した果肉と殻中に存在する香気成分については、SPME 法により捕集して GC-MS 分析を行った。GC-MS クロマトグラムを Fig. 5-2 に、検出された化合物を Table 5-1 に示した。果実部分の香気成分としては 39 種類の成分を確認し、また、殻中では 38 種類の成分が存在することを確認した。果肉部分の香気成分の主成分としては、ピーク (47) の 4-メトキシ桂皮酸 2-エチルヘキシルが 13.3% を占め、その他に低沸点部にピーク (13) のノナナールが 6.61% で、ピーク (14) の酢酸が 6.58% で、およびピーク (18) のデカナールが 3.44% を占めた。また、高沸点部においてはピーク (50) のノナン酸が 3.43% で、ピーク (52) の n-デカン酸が 3.42% の割合で含有していることを確認することができた。一方、殻の香気成分についても検索したところ、ピーク (37) のナフタレンが 15.2% を占める他に高沸点部に存在するピーク (39) のオクタデカンが 7.7%、ピーク (38) の 2,6,11-トリメチルドデカンが 5.65%、ピーク (44) は含窒素化合物であり、N-[4-プロム-n-ブチル]-2-ピペリジノン (4.62%) であることを GC-MS データ (NIST ライブラリーの情報を利用) から確認し、ピーク (53) は 5,9,13-トリメチル-4,8,12-テトラデカトリエナール (3.15%) であることを明らかにした。このことからブラジルナッツを長期保管できる要因の一つとして、硬い殻中に含まれるナフタレンの存在が防虫・忌避 (イガ, コガイ, およびカツオブシムシ 類の幼虫忌避) 効果にも関与しているものと考えられる。

2.2. ブラジルナッツ種子油の化学的性状

本章の 1.1.) で述べた操作方法により、粉碎した種子から n-ヘキサンで抽出し、得られた種子油の化学的性状を基準油脂分析試験法に従って分析した結果を Table 5-2 に示す。その結果、ヨウ素価 91.5、けん化価 191.6、酸価 5.5、エステル価 186.1、および水酸基価 5.4 であり、菜種油 (ヨウ素価 94.0~107.0、けん化価 167.0~180.0)、ピーナッツ油 (ヨウ素価 82.0~109.2、けん化価 188.0~197.0)、およびカメリア油 (ヨウ素価 37.0~78.0、けん化価 188.0~197.0) の性状に類似した油脂であることが明らかになった。第 2 章のビワ種子油、およびヤマモモ種子油の化学的性状 (Table 2-2、Table 3-2) と比べると、ヤマモモ種子油に類似している性状を有していることが分かった。ただし、酸価はブラジルナッツ種子油が著しく低く、食用として使用できる基準値の 5.0 以下であった。

2.3. ブラジルナッツ種子油の組成分析

ブラジルナッツ種子油の GPC 分析により、トリアシルグリセリド 96.9% とジアシルグリセリド 2.4% が主に含まれていることを明らかにした。一方、逆相 HPLC 分析を用いたトリグリセリド分析からトリオレインとトリリノレインの存在を確認したところ、トリオレインはほとんど含まれず、トリリノレインが 12.8% の割合で含まれていることを明らかにした。その他の成分としては、アラキドン酸 (C20:4)、Cis-8-エイコセン酸 (C20:1)、

およびヘンエイコセン酸 (C21:0) が微量成分として含まれていることを確認にすることができた。一方、脂肪酸組成分析をメタノール分解する方法を導入し、グリセリドをすべて脂肪酸メチルエステル化し GC-MS 分析を行った結果を Table 5-3 に示し、クロマトグラムを Fig. 5-3 に示した。トリアシルグリセリドを構成する脂肪酸の組成は、リノール酸 (37.8%) とオレイン酸 (35.9%) が主成分とし含有されており、その他の油脂成分としては、パルミチン酸 (14.8%)、およびステアリン酸 (9.5%) が含まれていることを明らかにした。

2.4. ブラジルナッツ種子油の消臭効果

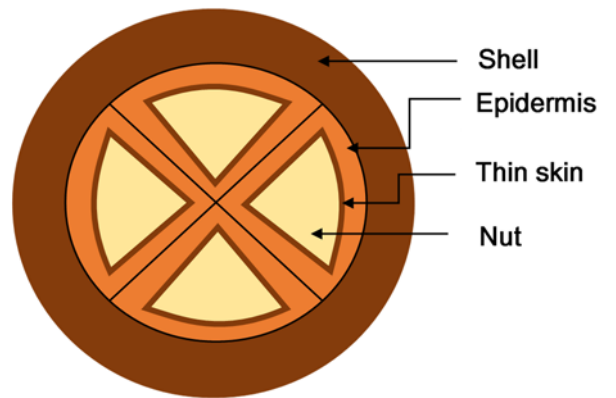
著者はこれまでに多くの果実種子由来の油脂を使った消臭剤の開発^{81, 84)}を試みてきた。その研究の一環として、ブラジルナッツ種子油を用いて身近な臭気成分である 12 種類の悪臭物質 (アンモニア、トリメチルアミン、酢酸、イソ吉草酸、アセトアルデヒド、硫化水素、メチルメルカプタン、2-ノネナール、アリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、ジメチルジスルフィド、およびジメチルトリスルフィド) に対する消臭試験を行った。試験方法としては、第 2 章のピワ種子の消臭実験 1.6.) に記載している操作方法で実施し、その結果を Fig. 5-4 に示した。ブラジルナッツ種子油は窒素化合物であるアンモニア、およびトリメチルアミンに対しては消臭効果が低く、しかも、アセトアルデヒド、硫化水素、およびメチルメルカプタンに対してはほとんど消臭活性を示さなかった。一方、チーズ、もしくは汗、足、加齢による口臭の原因物質で不快感をともなう刺激臭であるイソ吉草酸に対しては 80% 値を示し、消臭効果があることを明らかにした。加齢臭の原因物質で油臭く青臭いニオイであり、品質劣化したビールなどに存在する 2-ノネナールに対しては 86.0% の値を示した。また、硫黄系化合物であるアリルメルカプタン、アリルメチルスルフィド、およびジメチルジスルフィドに対しては、僅かながら消臭効果 (約 21~47%) があり、ホップ、キャベツなどに存在し、新鮮なタマネギ様の臭気を発するジメチルトリスルフィドに対しては 82.3% の値を示し、著者が期待した高い消臭効果を示した。このことから、ブラジルナッツ種子油は特異な悪臭成分に対し、高い消臭効果が働くことを明らかにすることができた。

2.5. ブラジルナッツ種子油の抗酸化能の確認

ブラジルナッツ種子油の工業的利用の可能性として、化粧品基材としての利用が考えられる。一般に高度不飽和脂肪酸を含有する油脂の皮膚への効果として、細胞膜の強化、および組織の再生促進による老化防止機能が挙げられている。また、必須脂肪酸の欠乏は皮膚の疾病の要因となり、リノール酸の補給により回復すると言われ、これらの成分を含む天然由来油脂の活用が期待されている。そこで、化粧品としての機能確認の一つである抗酸化能試験 (DPPH ラジカル消去効果) を行った⁸³⁾。その結果、比較物質として既知の α -トコフェロールを用いた試験の値 (Scavenging rate ; 96.0%) と比較したところ、ブラジルナッツ種子油としては低い値 (14.8% ; 終濃度 ; 4.0 mg/ml) を示した (Table 5-4) を示

し、 α -トコフェロールの約 1/6 程度のラジカル消去能であったが、油脂に含まれるリノール酸、およびオレイン酸をより多く含む油脂に精製することにより、消去能の効果が上がることが期待される。今回、ブラジルナッツ種子油のヨウ素価は化粧品に使用されているツバキオイルのヨウ素価よりも高いことが確認されたことから、酸化が起こりにくい性質である不乾性油に分類される。油脂の成分組成からゴマ油、あるいはコーン油の組成に似ていることから、化粧品素材としての利用可能が示唆された。

本研究では、ブラジルナッツ種子油中の脂肪酸組成を明らかにするとともに、油脂の活用として、特定の悪臭成分に対する高い消臭効果と高付加価値のある化粧品素材として利用できる可能性を示唆することができた。



引用画像

by Quadell

殻を取り除いたブラジルナッツの種子

https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%96%E3%83%A9%E3%82%B8%E3%83%AB%E3%83%8A%E3%83%83%E3%83%84#/media/%E3%83%95%E3%82%A1%E3%82%A4%E3%83%AB:Brazil_nuts.jpg

最終アクセス年月日 ; 2024 年 1 月 16 日

Fig. 5-1 Brazilian nuts and diagrams of Brazilian nuts seed.

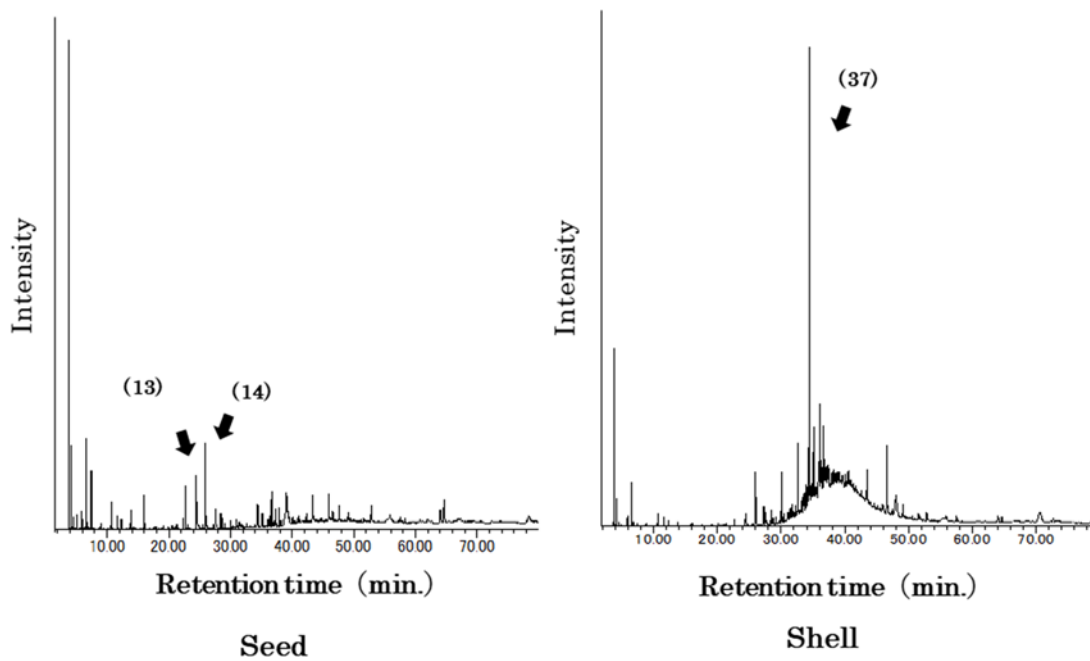


Fig. 5-2 GC-MS chromatogram of volatile compounds in Brazilian nuts (*Bertholletia excelsa*) seed and shell

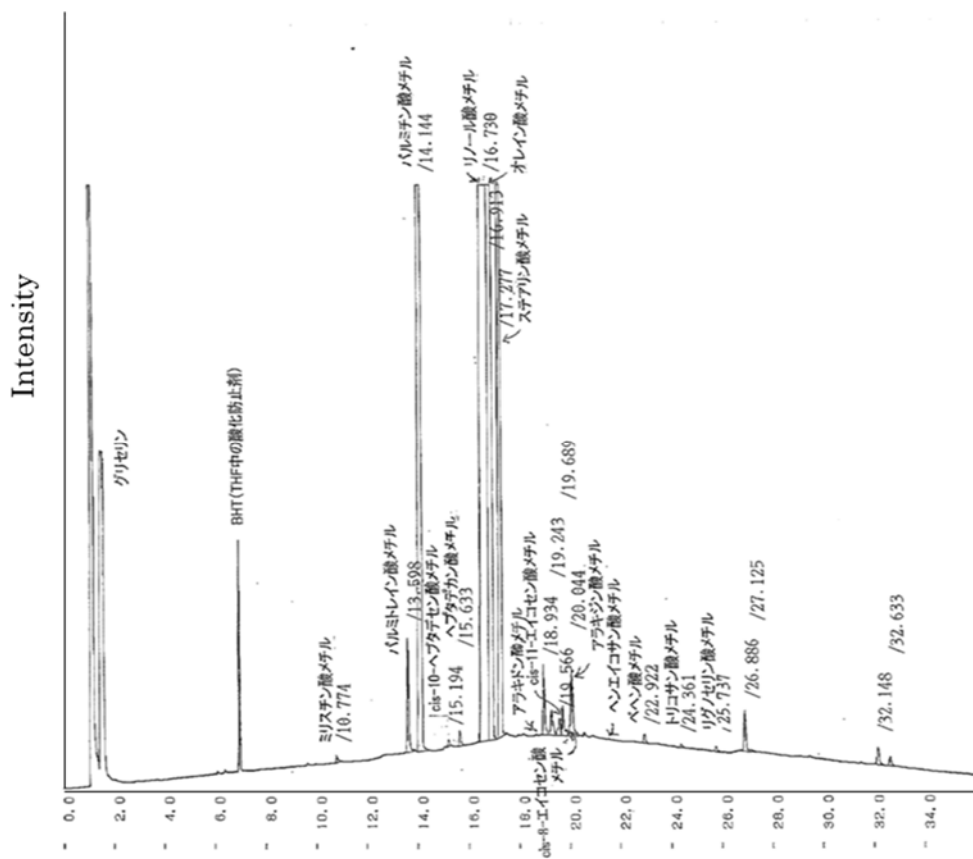


Fig. 5-3 GC-MS analysis of the fatty acid composition of the fat and oil contained in Brazilian nuts.

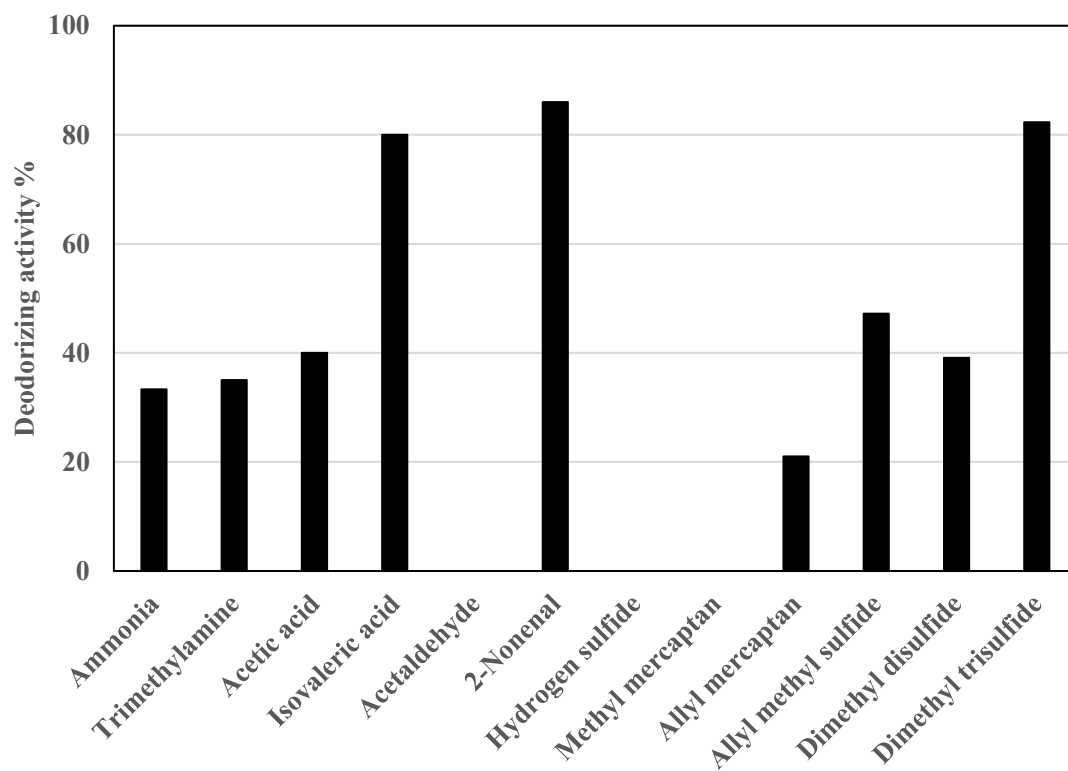


Fig. 5-4 Deodorizing activity of Brazilian nuts seed oil on 12 malodor components.

Table 5-1 Identification of volatile components contained in Brazilian nut seed and shell, and analysis by quantitative GC-MS.

Peak No.	R.T (min.)	Compound	Peak Area(%)		Peak No.	R.T (min.)	Compound	Peak Area(%)	
			seed	shell				seed	shell
1	5.04	Dimethyl sulfide	0.52	-	34	33.49	Tetraatriacontane	-	0.96
2	6.86	Tetrahydro furan	0.27	-	35	33.57	Tritetracontane	-	0.60
3	7.44	Ethyl acetate	2.70	-	36	33.99	2-Methyl-heptadecane	-	1.96
4	8.96	Benzene	0.45	-	37	34.42	Naphthalene	2.31	15.2
5	11.61	Trichloromethane	0.68	0.18	38	34.77	2,6,11-Trimethyl-dodecane	-	5.65
6	12.31	Toluene	0.56	0.14	39	35.06	Octadecane	0.27	7.70
7	13.84	Hexanal	1.32	-	40	35.17	Methyl salicylate	0.93	-
8	15.93	1-Methyl-1H-Pyrrole	2.08	-	41	35.60	3-Methyl-octadecane	-	1.82
9	20.55	1-Methyl-2-(1-methylethyl)-benzene	0.23	-	42	36.38	Diethylene glycol monobutyl ether acetate	0.71	-
10	21.14	Octanal	0.36	-	43	36.68	(E)-6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-one	2.09	-
11	22.33	(E)- 2-Heptenal	0.60	-	44	36.69	N-[4-bromo-n-butyl]-2-piperidinone	-	4.62
12	23.13	1-Hexanol	0.42	-	45	37.29	Benzyl alcohol	1.17	-
13	24.44	Nonanal	6.61	0.6	46	38.09	1-Nonadecene	-	1.60
14	25.93	Acetic acid	6.58	1.69	47	39.07	2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate	13.3	-
15	26.10	1,4-Dichloro-benzene	-	0.75	48	39.1	(E)-3-Eicosene	-	1.25
16	27.17	2-ethyl-1-Hexanol	0.42	-	49	40.89	4-Methoxy-benzaldehyde	0.44	-
17	27.29	Pentadecane	0.41	0.46	50	43.35	Nonanoic acid	3.43	0.21
18	27.54	Decanal	3.44	0.76	51	43.55	1-Pentadecene	-	1.17
19	28.43	Benzaldehyde	1.34	0.66	52	45.95	n-Decanoic acid	3.42	-
20	28.64	(E)-2-Nonenal	0.63	-	53	46.59	5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal,	-	3.15
21	29.07	Cyclooctane	0.43	-	54	47.56	S,S-Dioxide-3-n-hexylthiane	-	0.29
22	30.03	Hexadecane	0.53	1.34	55	47.62	4-Methyl-5-thiazoleethanol,	1.87	-
23	30.30	Eicosane	-	0.16	56	48.02	Methyl dehydroabietate	-	3.51
24	30.51	1-Hexadecene	-	0.36	57	49.09	Methyl 6,8-dodecadienyl ether	1.15	-
25	30.92	2-(2-Ethoxyethoxy)-ethanol	0.69	-	58	49.10	Cyclohexadecane	-	0.69
27	30.98	7-Methyl-hexadecane	-	0.37	59	51.61	Benzenecarboxylic acid	0.92	-
28	31.04	2-(Dodecyloxy)-ethanol,	-	0.23	60	52.84	Dodecanoic acid	1.88	0.48
29	31.46	2-Methyl- hexadecane,	-	0.66	61	57.51	Cyclopentadecane	-	0.36
30	31.79	3-Methyl-hexadecane	-	3.01	62	64.02	Tetradecanoic acid	2.9	0.62
31	32.10	Octacosane	-	0.21	63	64.64	Butyl isobutyl phthalate	4.52	0.42
32	32.33	10-Methylnonadecane	-	0.61	-	-	Unknown	23.25	33.35
33	32.62	Heptadecane	0.44	2.20	-	-	Total	100	100

Table 5-2 Chemical properties of Brazilian nut seed oil and other nut oils.

Chemical properties	Types of seed oils			
	Brazilian nut	Rape	Peanut	Camellia
Iodine value (I ₂ g/100 g)	91.5	94.0~107.0	82.0~109.2	37.0 ~78.0
Saponification value (KOH mg/g)	191.6	167.0~180.0	188.0~197.0	188.0~197.0
Acid value (KOH mg/g)	5.5	—	—	—
Ester value (KOH mg/g)	186.1	—	—	—
Hydroxyl value (KOH mg/g)	5.4	—	—	—

Table 5-3 GC-MS analysis of fatty acid composition contained in Brazilian nut seed oil.

Fatty acid	Carbon number	GC/MS analysis composition rate (%)
Myristic acid	C14 : 0	0.03
Palmitoleic acid	C16 : 1	0.41
Palmitic acid	C16 : 0	14.8
cis-10-heptadecenoic acid	C17 : 1	0.03
Heptadecanoic acid	C17 : 0	0.07
Linoleic acid	C18 : 2	37.8
Oleic acid	C18 : 1	35.9
Stearic acid	C18 : 0	9.45
cis-11-Eicosenoic acid	C20 : 1	0.10
Arachidic acid	C20 : 0	0.38
Behenic acid	C20 : 0	0.04
Tricosanic acid	C23 : 0	0.01
Lignoceric acid	C24 : 0	0.03

Table 5-4 DPPH radical scavenging assay of Brazilian nut seed oil.

Sample	Scavenging Rate(%)
Brazilian nut seed oil ^{a)}	14.8
α -Tocopherol ^{b)}	96.0

a) Concentration : 10 mg/mL

b) Concentration : 0.04 mg/mL.

研究の成果

著者の勤務するリリース科学工業（株）では創業以来、カキタンニンに着目し、消臭剤原料としてカキタンニンの製剤化に取り組み、今日では日用品、化粧品および食品加工分野等で製品に使用されている。カキタンニンの構造には多くのフェノール性水酸基が存在し、緑茶カテキンと同様に悪臭物質との中和反応、水素結合、および付加反応により、悪臭物質をカキタンニン分子内に取り込むことで消臭効果を発揮していると推測している。一方、ニオイ（臭い、匂い）を発生する化学物質は40万種類以上が存在し、カキタンニンによりすべての化学物質のニオイを消臭することは難しい。本研究では消臭効果を有する新しい素材を開発するため、生薬や漢方薬、あるいは廃棄されている植物種子や葉に含まれている成分に着目し探索した。その結果、フユアオイ (*Malva verticillate* L)、ビワ (*Rhaphiolepis bibas* (Lour.) Galasso & Banfi)、ヤマモモ (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc. var.)、およびブラジルナッツ (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) の種子中の油脂成分に特徴ある消臭効果を持つ成分を見いだすことができた。フユアオイに含まれる消臭物質として、1,8-シネオールの存在を確認し、イソ吉草酸、n-酪酸、2-ノネナール、スカトール、およびジメチルトリスルフィドに対する消臭効果では高い値を得ることができた。本件については特許権（特許6342382）を取得した。また、ビワ種子油に含まれる消臭物質として、ベンズアルデヒドであることを確認した。ベンズアルデヒドには、アンモニア、トリメチルアミン、イソ吉草酸、2-ノネナール、硫化水素、ジメチルトリスルフィドとして対し、高い消臭効果を有することが明らかになった。さらに、ヤマモモ種子油については、アンモニア、イソ吉草酸、2-ノネナール、およびジメチルトリスルフィドに対し、高い消臭活性があることを明らかにした。ブラジルナッツには、イソ吉草酸、2-ノネナール、およびジメチルトリスルフィドに対する消臭効果を評価したところ、高い値で消臭効果があることを明らかにし、これらの植物由来の油脂成分はそれぞれの消臭製品に応用することが可能であることを明らかにした。現在、化粧品用の消臭剤原料として、シャンプーやボディソープなどの洗浄剤、および消臭ミストなど、多岐にわたり利用されている。

謝辞

本稿を終えるに臨み、研究全般にわたりご指導を賜りました近畿大学 野村 正人 名誉教授に最大の謝意を表します。論文作成に多大なるご助言を賜りました福山大学 工学研究科 生命工学専攻 山本 覚 教授、太田 雅也 教授、倉掛 昌裕 教授に心より感謝の意を表します。また、論文申請にご助言いただきました福山大学 大学院 工学研究科 生命系 研究科長の井ノ内 直良 教授、またこのような機会を与えていただきました福山大学 大学院 工学研究科の香川 直己 教授、山之上 卓 教授に厚くお礼申し上げます。同時に論文をまとめるにあたり、共同研究者の日本薬科大学 井上 俊夫 教授、近畿大学工学部 岡田 芳治 准教授、近畿大学大学院システム工学研究科修了生 斎藤（旧姓：小路） 美紀氏、横野 一步氏、近畿大学工学部卒業生 沖田 明日香氏、橋添 佑季氏、リリース科学工業(株)の奥原 正國氏、杉野 努氏に感謝の意を表します。

最後に、本研究遂行にあたり、終始ご支援と心温かく励ましていただきましたリリース科学工業(株) 代表取締役 中村 健一氏に心より感謝いたします。

参考文献

1. 東原和成, 嗅覚の匂い受容メカニズム, 日本耳鼻咽喉科学会会報 118 巻 8 pp. 1072-1075, 2015 年.
2. Person S., Edlund M-B. *et al.*, The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbial Immunol*, **5**, pp.195-201, 1990.
3. M. Yoshimura, Y. Nakano *et al.*, The formation of methyl mercaptan from L-methionine by porphyromonas gingivalis. *INFECTIO AND IMMUNITY*, Vol. 68, No. 12, pp. 6912-6916, 2000.
4. S. Haze, Y. Gozu *et al.*, 2-Nonenal Newly Found in Human Body Odor Tends to Increase with Aging. *The Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 116, No. 4, pp. 520-524, 2001.
5. M. Shirasu, S. Nagai *et al.*, Dimethyl Trisulfide as a Characteristic Odor Associated with Fungating Cancer Wounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 73 No. 9, pp. 2117-2120, 2009.
6. Y. Hirasawa, M. Shirasu *et al.*, Subjective unpleasantness of malodors induces a stress response. *Psychoneuroendocrinology*, Vol. 106, pp. 206-215, 2019.
7. 松尾友明, 伊藤三郎, カキタンニンをめぐる. 化学と生物, Vol. 15 巻, No. 11 pp. 732-736, 1977.
8. K. Kida, M. Suzuki *et al.*, Deodorizing effects of tea catechins on amines and ammonia. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 66, pp. 373-377, 2002.
9. P. Lodhia, K. Yaegaki *et al.*, Effect of green tea on volatile sulfur compounds in mouth air. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, Vol. 54, pp. 89-94, 2008.
10. R. Munch and S. A. Barringer, Deodorization of garlic breath volatiles by food and food components. *J. Food Sci.*, Vol. 79, pp. 526-533, 2014.
11. J. Taucher, A. Hansel *et al.*, Analysis of Compounds in Human Breath after Ingestion of Garlic Using Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 44, No. 12, pp. 3778-3782, 1996.
12. K. Shimizu, Y. Maeda *et al.*, Deodorizing effect of Rubus suavissimus extract against allyl methyl sulfide. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, Vol. 51, pp. 205-209, 2004.
13. E. Matsuura, Y. Saito *et al.*, Toxic effects and changes of blood components by photodynamic action induced by pheophorbide-a in rats. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, Vol. 23, pp. 365-372, 1982.
14. T. J. Betts, Solid phase microextraction of volatile constituents from individual fresh Eucalyptus leaves of three species. *Planta Med.*, vol. 66, pp. 193-195, 2000.
15. A. Henmi, T. Sugino *et al.*, 2018, JP6342382 (Patent)
16. G. Antalick, S. Tempère *et al.*, Investigation and sensory characterization of 1,4-cineole: A potential aromatic marker of Australian cabernet sauvignon wine. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 63, pp. 9103-9111, 2015.
17. J. G. Romagni, S. T. Allen *et al.*, Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species. *J. Chem. Ecol.*, Vol. 26, pp. 303-313, 2000.
18. Y. Iwasaki, Background of development of triangle odor bag method, *J. Japan Association on Odor Environment*. Vol. 43, pp. 395-400, 2012.
19. J. Greenman, M. El-Maaytah *et al.*, Study on the organoleptic intensity scale for measuring oral malodor. *J. Am. Dent. Assoc.*, Vol. 136, pp. 749-757, 2005.
20. K. Osada, M. Hanawa *et al.*, Evaluation of the masking of dimethyl sulfide odors by citronellal, limonene and citral through the use of trained odor sensor mice. *Chem. Senses.*, Vol. 38, pp. 57-65, 2013.
21. F. Kanda, E. Yagi *et al.*, Elucidation of chemical compounds responsible for foot malodor. *Br. J. Dermatol.*, Vol. 122, pp. 771-776, 1990.

22. O. Negishi, Y. Negishi *et al.*, Effects of Food Materials on Removal of Allium-Specific Volatile Sulfur Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 50, pp. 3856-3861, 2002.
23. M. Franz, H. A. Arafat *et al.*, Effect of chemical surface heterogeneity on the adsorption mechanism of dissolved aromatics on activated carbon. *Carbon*, Vol. 38, pp. 1807-1819, 2000.
24. B. Pan and B. Xing, Adsorption mechanisms of organic chemicals on carbon nanotube. *Environmental Science & Technology*, Vol. 42, pp. 9005-9013, 2008.
25. L. Li, Z. Sun *et al.*, Effects of activated carbon surface properties on the adsorption of volatile organic compounds. *J. Air Waste Manag. Assoc.*, Vol. 10, pp. 196-202, 2012.
26. R. Taylor, Interpretation of the correlation coefficient: A basic review. *JDMS*, Vol. 6, pp. 35-39, 1990.
27. N. N. Zulkefli1, M. S. Masdar *et al.*, Removal of hydrogen sulfide from a biogas mimic by using impregnated activated carbon adsorbent. *PLoS One*, Vol. 14, pp. 1-25, 2019.
28. H. Wang, M. J. Lashaki *et al.*, Adsorption and desorption of mixtures of organic vapors on beaded activated carbon. *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 46, pp. 8341-8350, 2012.
29. Y. Nishi and M. Inagaki, Gas Adsorption/desorption isotherm for pore structure characterization, in *Materials Science*, 2016.
30. H. Iketani, Native fruit tree genetic resources in Japan. *Breed. Sci.*, Vol. 66, pp. 82-89, 2016.
31. M. Inoue, S. Hayashi *et al.*, Culture, history and applications of medicinal and aromatic plants in Japan. *Aromat. Med. Plants*, pp. 95-110, 2017.
32. Y. Katayama, S. Marumo *et al.*, Effectiveness of Shin'iseihaito in asthmatic patients with upper airway diseases: A retrospective cohort study. *J. Altern. Complement. Med.*, Vol. 23, pp. 121-125, 2017.
33. L. Jianzhen, W. Xiong *et al.*, Amygdalin ameliorates the progression of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Mol. Med. Rep.*, Vol. 16, pp. 8171-8179, 2017.
34. M. Onogawa, G. Sun *et al.*, Animal studies supporting the inhibition of mast cell activation by *Eriobotrya japonica* seed extract. *J. Pharm. Pharmacol.*, Vol. 61, pp. 237-241, 2009.
35. M. S. Kim, M. K. You *et al.*, Loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts suppress the adhesion, migration and invasion of human breast cancer cell line. *Nutr. Res. Pract.*, Vol. 3, pp. 259, 2009.
36. J. Yokota, T. Kitaoka *et al.*, *Eriobotrya japonica* seed extract and deep sea water protect against indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats. *J. Nat. Med.*, Vol. 65, pp. 9-17, 2011.
37. S. Yoshioka, A. Hamada *et al.*, Effects of *Eriobotrya japonica* seed extract on oxidative stress in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *J. Pharm. Pharmacol.*, Vol. 62, pp. 241-246, 2010.
38. S. Wu, M. Tokuda *et al.*, Evaluation of the fatty acid composition of the seeds of *Mangifera indica* L. and their application. *J. Oleo Sci.*, Vol. 64, pp. 479-484, 2015.
39. 油脂化学便覧第3版 (丸善出版), pp. 282-287, 1990.
40. S. Guillot, L. Peytavi *et al.*, Aroma characterization of various apricot varieties using headspace-solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography olfactometry. *Food Chem.*, Vol. 96, pp. 147-155, 2006.

41. H. Lee, J. H. Ahn *et al.*, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of apricot seed. *Phyther. Res.*, Vol. 28, pp. 1867-1872, 2014.
42. K. Pićurić-Jovanović and M. Milovanović, Analysis of volatile compounds in almond and plum kernel oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol. 70, pp. 1101-1104, 1993.
43. G. Tunçel, M.J.R. Nout *et al.*, Degradation of cyanogenic glycosides of bitter apricot seeds (*Prunus armeniaca*) by endogenous and added enzymes as affected by heat treatments and particle size. *Food Chem.*, Vol. 63, pp. 65-69, 1998.
44. S. Matsushita, Interaction between lipids and proteins. *J. Oleo Sci.*, Vol. 20, pp. 195-204, 1971.
45. F. Anwar, and M.I. Bhangar, Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *J. Agric. Food. Chem.*, Vol. 51, pp. 6558-6563, 2003.
46. G. S. Jamieson, W. F. Baughman *et al.*, The chemical composition of peanut oil. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 43, pp. 1372-1381, 1921.
47. J. Orsavova, L. Misurcova *et al.*, Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *J. Mol. Sci.*, Vol. 16, pp. 12871-12890, 2015.
48. D. Cowan, H. C. Holm *et al.*, Reduction in free fatty acids in crude palm oil by enzymatic remediation. *J. Oil Palm Res.*, Vol. 24, pp. 1492-1496, 2012.
49. T. Nakasugi, T. Murakawa *et al.*, Deodorizing substance in black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. *J. Oleo Sci.*, Vol. 66, pp. 877-882, 2017.
50. 日本油化学会協会編, 油脂化学便覧, pp. 579-583, 丸善, 1971.
51. 山田明宏, 吉田雅俊, 油脂産業の「強み」を活かした新事業の創出～バイオプロセスから得られる油脂産業の革新的素材の創製～. pp. 1-30, 油脂産業優秀論文審査委員特別賞, (財)油脂工業会館, 2016.
52. 油脂産業アライアンス研究会編, 油脂産業の未来 ～アライアンスによる油脂産業のイノベーション～, pp. 8-12, (財)油脂工業会館, 2011.
53. Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem *et al.*, 植物の生化学・分子生物学”, pp. 411-413, 学会出版センター, 2005.
54. 油脂産業と健康研究会編, 油脂産業と健康. pp. 29-33, (財)油脂工業会館, 2008.
55. 岡崎誠, 山崎和雄ほか, ヤマモモ (*Myrica rubra* SIEB. et ZUCC. CV.) の接ぎ木繁殖に関する試験. 神奈川県園芸試験場報告, Vol. 29, pp. 91-96, 1982.
56. 真野隆司, 松山稔ほか, 里山林における果樹の栽植. 兵庫県立農林水産技術総合センター研究報告(農業編), Vol.56, pp. 54-59, 2008.
57. 山中高史, 岡部宏秋, ヤマハンノキの根粒から分離されたフランキア菌. 日林誌, Vol.77, No.3, pp. 269-271, 1995.
58. 奥田拓男編, 「資源・応用 薬用植物学」. (株)廣川書店, pp.74, 1991.
59. 野呂征男, 水野瑞夫, 「薬用植物学」. (株)南江堂, pp. 105, 1994.
60. 越島貴司, 嶋林博, ヤマモモ抽出物のご紹介. *FFJ JOURNAL*, Vol. 220, No.3, pp. 284-289, 2015.
61. 屋我嗣良, 内山義範ほか, ヤマモモの染色性について. 琉球大学農学部学術報告, Vol.28, pp. 255-263, 1981.
62. 化学製品の酸価, けん化価, エステル価, よう素価, 水酸基及び不けん化価の試験方法. 日本工業規格, 化学製品一般試験方法専門委員会編, pp. 1-13, JIS0070, 1992.
63. O. H. Lowry, N.J. Rosenbrough *et al.*, Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, Vol.193, pp. 265-275, 1951.
64. K. Wiechelman, R. Braun *et al.*, Investigation of the Bicinchoninic acid protein assay ; identification of the groups responsible for color formation. *Anal. Biochem.*, Vol.175, pp. 231-237, 1988.

65. R. E. Brown, K. L. Jarvis *et al.*, Protein measurement using bicinchoninic acid : elimination of interfering substances. *Anal. Biochem.*, Vol. 180, pp. 136-139, 1989.
66. 松下雪郎, 油脂とタンパク質との相互作用. 日本油化学会, Vol.20, No.4, pp. 195-204, 1971.
67. 佐藤清隆, 脂質の構造と物質 – 食品物理学の立場から. *J. Grad. Biosp. Sci.*, Hiroshima Univ., Vol.48, pp. 77-94, 2009.
68. Carol O'Neil, Debra R. Keast *et al.*, Tree nut consumption improves nutrient intake and diet quality in US adults: an analysis of National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004. *Asia Pacific J. Clinical Nutrition*, Vol. 19, No. 1, pp. 142-150, 2010.
69. O. S. Freitas and A. Venancio, Brazil nuts: benefits and risks associated with contamination by fungi and mycotoxins. *Food research international*, Vol. 44, No. 5, pp. 1434-1440, 2011.
70. E. O. M. Glaucia *et al.*, Characterization of aspergillus species on brazil nut from the brazilian amazonian region and development of a PCR assay for identification at the genus level. *BMC microbiology*, Vol. 14, No. 138, 2014.
71. S. K. Sasi, G. W. Rodolfo *et al.*, Studies of various elements of nutritional and toxicological interest associated with different molecular weight fractions in brazil nuts. *J.Agric. Food Chem.*, Vol. 52, No. 19, pp. 5773-5780, 2004.
72. M. P. Ariane and M. S. Vildes, Selenium and aflatoxin levels in raw brazil nuts from the amazon basin. *J. Agric.Food Chem.*, Vol. 55, No. 26, pp. 11087-11092, 2007.
73. M. S. Girdhari, M. Claudius *et al.*, Purification and biochemical characterization of brazil nut (*Bertholletia excelsa* L.) seed storage proteins. *J. Agric.Food Chem.*, Vol. 58, No. 9, pp. 5714-5723, 2010.
74. 木村修一, 小林修平, “専門領域の最新情報 最新栄養学 第9版”. 建帛社, pp. 478-496, 2002.
75. C. Thavarith, P. Konstantinos *et al.*, Study of selenium distribution in the protein fractions of the brazil nut, *Bertholletia excelsa*. *J. Agri. Food Chem.*, Vol. 52, No. 13, pp. 4318-4322, 2004.
76. C. Thavarith, P. Konstantinos *et al.*, Study of selenium distribution in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. *J. Agri. Food Chem.*, Vol.52, No. 19, pp. 5773-5780, 2004.
77. C. Elisangela *et al.*, A single consumption of high amounts of the brazil nuts improves lipid profile of healthy volunteers. *J. Nutri. Metabo.*, 2013, pp. 1-7, 2013.
78. A. P. Vonderheid, W. Kazimierz *et al.*, Characterization of selenium species in brazil nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 50, No. 20, pp. 5722-5728, 2002.
79. M. Welna, and A. Szymczycha-Madeja, Improvement of a sample preparation procedure for multi-elemental determination in Brazil nuts by ICP-OES. *Food Additives & Contaminants: Part A*, Vol. 31, pp. 658-665, 2014.
80. A. Ca'ndido da Silva, H. J. Sarturi *et al.*, Microwave drying and disinfestation of Brazil nut seeds. *Food Control*, Vol. 70, pp. 119-129, 2016.
81. 邊見篤史, 野村正人, 第12章天然素材による消臭効果と応用展開「臭いの測定法と消臭・脱臭技術事例集」. ㈱技術情報協会, pp. 355-365, 2018.
82. 呉 妹嬭, 邊見篤史ほか, 臭気成分に対するマンゴー種子由来の脂肪酸類の消臭効果. 近畿大学工学部「近畿大学工学部研究報告」, No.49, pp. 1-6, 2015.
83. H. Tominaga, K. Kobayashi, DPPH radical-scavenging effect of several phenylpropanoid compounds and their glycoside derivatives. *YAKUGAKU ZASSHI*,

Vol. 125 No. 4, pp. 371-375, 2005.

84. 邊見篤史, 杉野 努ほか, ビワおよびヤマモモ種子油の消臭効果と抗菌効果. 日本防菌防黴学会誌, Vol.46, No. 8, pp.349-352, 2018.