

メイラード反応によってアミノ酸やペプチド
から生成する香気成分の生理作用

周 蘭 西

平成 2 8 年 度

**Physiological Activities of Odors Generated from
Amino Acids or Peptides by the Maillard Reaction**

Zhou Lanxi

2 0 1 6

目次

第一章	緒論	1
第一節	香気成分の生理作用	1
第二節	食品メイラード反応と香り	3
第三節	メイラード反応によって生成する香気成分の生理作用	6
第四節	本研究の目的と意義、構成	8
第二章	食肉タンパク質分解物のメイラード反応によって生成する香気成分の生理作用	11
第一節	食肉タンパク質分解物のメイラード反応によって生成する香気成分の血圧への影響	11
2.1.1.	実験方法	12
2.1.1.1.	試料の調製	12
2.1.1.2.	供試動物	12
2.1.1.3.	試料の準備	13
2.1.1.4.	香気曝露方法	13
2.1.1.5.	ラットの血圧測定	13
2.1.2.	結果および考察	13

第二節	ラットの血圧降下に関与するメイラード反応生成香気成分の検索	15
2.2.1	実験方法	15
2.2.1.1.	香気寄与成分検出に用いた試料	15
2.2.1.2.	試料の香気寄与成分の検出	15
(1)	香気成分の抽出	15
(2)	AEDA 法による pH10 試料の香気寄与成分の解明	16
2.2.1.3.	検量線の作成および香気寄与成分の定量 ...	17
2.2.1.4.	香気寄与成分の曝露による血圧への影響 ...	17
(1)	供試動物	17
(2)	曝露する試料の準備	18
(3)	ラットの香気曝露および血圧測定	18
2.2.2.	結果および考察	18
2.2.2.1.	AEDA 法による pH10 試料の香気寄与成分の解明	18
2.2.2.2.	香気寄与成分曝露による血圧への影響	19
第三節	DMHF の血圧降下メカニズムの解明	21
2.3.1.	実験方法	21
2.3.1.1.	DMHF が嗅覚麻痺ラットに及ぼす血圧変動 .	21

(1) 供試動物	21
(2) DMHF 試料の調製およびラットへの曝露	22
(3) 嗅覚麻痺ラットの作製	22
(4) 嗅覚麻痺ラットを用いた血圧測定	22
2.3.1.2. DMHF 香気刺激が自律神経系に与える影響 .	22
(1) 供試動物	22
(2) 曝露試料	23
(3) 香気曝露方法	23
(4) 自律神経系活動の測定方法	23
2.3.2. 結果および考察	23
2.3.2.1. DMHF が嗅覚麻痺ラットに及ぼす血圧変動 .	23
2.3.2.2. DMHF 香気刺激が自律神経系に与える影響 .	25
第三章 グリシン - グルコース系モデルメイラード反応によっ て生成する香気成分の生理作用	27
第一節 グリシン-グルコース系モデルメイラード反応によっ て生成する香気成分のヒトの気分および脳波への影響	27
3.1.1. 実験方法	28
3.1.1.1. メイラード反応試料およびモデルメイラード 反応試料の調製	28

3.1.1.2. パネリストの選出	28
3.1.1.3. 定量的記述分析法 (Quantitative Descriptive Analysis, QDA)を用いた官能評価	29
(1) QDA 用試料の調製	29
(2) 官能評価	29
3.1.1.4. 気分評価および脳波測定	30
(1) 試料の呈示	30
(2) 気分評価	30
(3) 脳波測定	31
(4) 統計処理	31
3.1.1.5. メイラード反応試料の香気寄与成分の検出	31
(1) 香気成分の抽出	31
(2) AEDA 法による香気寄与成分の解明	32
(3) 検量線の作成および香気寄与成分の定量	32
3.1.2. 結果および考察	33
3.1.2.1. グリシン - グルコース系モデルメイラード反応によって生成する香気成分の気分および脳波への影響	33
3.1.2.2. メイラード反応試料の香気寄与成分の検出	35

3.1.2.3. モデルメイラード反応試料の香気が気分および脳波への影響	36
--	----

3.1.2.4. 2,3-ジメチルピラジンと DMHF の脳波への影響	37
---	----

第二節 グリシン - グルコース系モデルメイラード反応によって生成する香気成分がヒトの自律神経系および中枢神経系へ及ぼす影響	38
--	----

3.2.1. 実験方法	39
-------------------	----

3.2.1.1. パネリスト	39
----------------------	----

3.2.1.2. 試料の調製	39
----------------------	----

3.2.1.3. 試料の呈示と吸入	40
-------------------------	----

3.2.1.4. Profile of Mood State を用いた主観的気分評価	40
--	----

3.2.1.5. メイラード反応生成香気のヒト自律神経系活動への作用解析	40
--	----

(1) 縮瞳率測定	40
-----------------	----

(2) 指先温度測定	41
------------------	----

3.2.1.6. メイラード反応生成香気のヒト中枢神経系活動への作用解析	41
--	----

(1) フリッカー試験	41
-------------------	----

(2) 脳血流解析	42
3.2.1.7. 統計処理	42
3.2.2. 結果および考察	42
3.2.2.1. POMS による主観的気分評価	42
3.2.2.2. メイラード反応試料がヒトの自律神経系活動 に及ぼす影響	43
(1) メイラード反応試料が縮瞳率へ及ぼす影 響	43
(2) メイラード反応試料が末梢皮膚温へ及ぼ す影響	44
3.2.2.3. メイラード反応試料がヒトの中枢神経系活動 に及ぼす影響	44
(1) フリッカー値計測による脳活動度の評価	45
(2) NIRS を用いた脳血流解析	45
第三節 大脳機能の鎮静化に関与する香気成分の検索	45
3.3.1. 実験方法	46
3.3.1.1. パネリスト	46
3.3.1.2. 試料の調製とパネリストへの呈示	46

3.3.1.3. POMS による主観的気分評価、縮瞳率測定、 指先温度測定、フリッカー試験および脳血流解析	46
3.3.2. 結果および考察	47
3.3.2.1. POMS による主観的気分評価	47
3.3.2.2. 2,3-ジメチルピラジンと DMHF がヒトの自律 神経系活動に及ぼす影響	47
3.3.2.3. 2,3-ジメチルピラジンと DMHF がヒトの中枢 神経系活動に及ぼす影響	48
第四章 総括	51
謝辞	56
引用文献	58
図・表	

第一章 緒論

第一節 香気成分の生理作用

古来人類は、植物の葉、実、根、樹皮、花などから抽出した香気成分を含む精油を利用してきた。その利用目的は主に、防腐・防虫や宗教的なものが多く、例えばエジプト王朝では、乳香や没薬などをミイラの保存に多用し、六朝時代の中国では、じゃ香や沈香などの香料を線香や薫香として使用していた。日本では、仏教の伝播により 8 世紀ごろから、乳香、沈香、白檀などを寺院の供香に使用し始めた⁽¹⁾。香気成分を含む精油成分を心身の治療に利用され始めたのは近代になってからであり、1928 年にフランス人化学者 Gattefossé が芳香療法、いわゆるアロマセラピーの研究を始めた。Gattefossé のアロマセラピーの研究により、精油は処方薬として病気の予防や治療に広く活用されるようになったとされている⁽²⁾。その後、精油成分の心理的・生理的機能が科学的に検証され、アロマコロジー⁽³⁾という言葉の出現とともに 1982 年頃から、香気成分によるストレス低減、睡眠改善、作業率向上などの様々な効果が明らかとなった。さらに Alex と Buck が嗅覚受容メカニズムの基本原則を解明したことで、2004 年にノーベル生理学・医学賞を受賞したことも背景となり⁽⁴⁾、香気成分の効用に関する生理学的・生化学的研究手法による研究は飛躍的に進歩した。

香気成分が生体に影響を及ぼすメカニズムは二つあると考えられている⁽⁵⁾。一つは心理的効果でもう一つは薬理的効果であ

る。心理的効果とは、香り体験、香りの効果に対する期待、宗教や信仰などがヒトの気分や感情、行動に影響することを意味する。香気成分の嗅覚神経系からの情報は、大脳辺縁系と直接的かつ密接に連携することが明らかとなっている⁽⁶⁾。大脳辺縁系には、短期や長期記憶に重要な海馬、快・不快や嗜好に関与する扁桃体などの器官があり、感情と深く関与していることから、心理的効果をもたらされやすいとされている。しかし、記憶や嗜好は個人の生育・生活環境や感情体験によって異なるため、香気成分による心理的効果は個人差が非常に大きい。一方薬理的効果とは、香気成分が固有の自律神経や中枢神経、内分泌神経に影響する能力を示すことで、香気成分が薬理的作用を誘発するにはさらに二つの経路が考えられている⁽⁷⁾。一つは香気成分が体内（血中）に取り込まれる経路であり、もう一つは嗅覚神経系を介した経路である。前者は、精油を用いたマッサージ等によって精油成分に含まれる香気成分が皮膚から吸収されたり、呼吸と共に肺胞に吸収されて肺粘膜から血中に取り込まれたり、あるいは食品を摂取することで自然に香気成分が消化吸収され血中に取り込まれる経路である。この経路は、動物あるいはヒトを対象にした実験で明らかにされており、井上ら⁽⁸⁾は、精油を含む湯にマウスを一定時間浸漬したところ、ラベンダーおよびグレープフルーツの精油成分がマウスの血中および脳組織に移行したことを明らかにした。Filipsson⁽⁹⁾は、健康成人にテルペン類香気成分を2時間呈示したところ、 α -ピネン、 β -ピネン、3-カレンが血中から検出したことを報告した。香気成分の多くは脂溶性であり、血液脳関門を容易に通過し血中から脳内に取り込まれる。脳に取り込まれた香気成

分は、脳内神経細胞受容体に対する神経伝達物質の放出に影響し、精神の興奮や鎮静を引き起こす。香気成分が血中から脳に取り込まれて生理作用が出現するまで、少なくとも 20 分間程度要すると考えられている⁽⁵⁵⁾。一方で嗅覚神経系を介した経路は、血中から脳に取り込まれる経路と比較して非常に短時間で生理作用が現れる⁽⁵⁾。この経路を詳しく述べると、次の通りである。香気成分が呼吸と共に鼻腔に流入し、嗅細胞の表面に存在する受容体と結合する。その結合情報が電気パルスに変換されて軸索から嗅球へ投射され、さらに大脳辺縁系などの脳の深部領域に到達する。大脳辺縁系にある視床下部は自律神経系や内分泌系、免疫系を統合的に制御しているため、自律神経系などの活動に影響し、最終的に鎮静や興奮などの生理作用を誘発する。このような経路による生理作用はいくつか報告されており、例えば、ユズ精油の香気は自律神経系を介し、ラットの肩甲間褐色細胞組織交感神経活動および副睾丸白色脂肪組織交感神経活動を鎮静化させ、体温を低下させる⁽¹⁰⁾。また、グレープフルーツ精油の香気も自律神経系を介してラットの肩甲間褐色細胞組織交感神経系および副睾丸白色脂肪組織交感神経系に影響し、それらを活性化させることで、脂肪分解を促し、食餌摂取量が減少すると報告されている⁽¹¹⁾。このように、香気成分は体内に取り込まれる、あるいは嗅覚系を刺激し脳や神経系に影響することで様々な生理作用を引き起こす。

第二節 食品メイラード反応と香り

食品の調理・加工過程において見られる褐変反応は、酵素的

褐変反応と非酵素的褐変反応に大別される。非酵素的褐変反応の主要なものにメイラード反応があり、食品中に含まれるアミノ酸やペプチド、タンパク質などのアミノ化合物と還元糖などのカルボニル化合物が反応する。この反応により、褐色色素成分と共に様々な香気成分が生成し、食品の品質に影響を及ぼす。メイラード反応は高温加熱条件において起こりやすいが、低温であっても長期間の保存や熟成において反応は穏やかに進行し、いずれの場合も生成した香気成分はその食品の嗜好性に深く寄与する。

メイラード反応における香気成分の生成は極めて複雑である。Jousse ら⁽¹²⁾はメイラード反応における香気の生成機構を次のように提唱している（図 1）。メイラード反応の初期段階で、還元糖（1）とアミノ化合物（2）が縮合反応し、アマドリ化合物（3）が生成する。高 pH 条件下では 1,2-エナミノール型、低 pH 条件下では 2,3-エンジオール型になる⁽⁶⁵⁾。中期段階において、アマドリ化合物が分子内閉環するとピロール（4）やピリジン（5）が生成され、一方でアマドリ化合物が開裂した後に閉環すると、フラン（6）、フルフラール（7）などの含酸素ヘテロ化合物が生成される。また、アマドリ化合物が脱水、加水分解、脱アミノ反応により、ジカルボニル化合物などの多種類のカルボニル化合物（8）が生成され、終期段階において生成される香気の前駆体となる。終期段階では、カルボニル化合物が脱水、閉環または逆アルドール反応などの様々な反応を経て、褐色色素や低分子香気成分が生成される。また、終期段階でストレッカー分解反応が同時に起こり、 α -ジカルボニル化合物とアミノ化合物が反応し、脱炭酸してアルデヒド類（9）やピラジン類（10）などの香気成分が生成される。生

成された香気成分は、焦げた匂い、アーモンドやナッツの様な匂い、甘い匂いなどの特徴を有しており、結果的に、メイラード反応が生じた食品の香気は総じて香ばしい特徴を有する。

以上のような香気成分の生成機構には、アミノ化合物やカルボニル化合物の種類^(13, 14)、反応温度や反応時間⁽¹⁵⁾、食品の pH、水分含量⁽¹⁶⁻²¹⁾など様々な条件が関与する^(22, 23, 64)。生成されるフラン類やフラノン類、ピラン類などの含酸素ヘテロ化合物は、基本的にカルボニル化合物の化学構造に由来することが多いが、生成量に差があるものの生成化合物の種類は類似している。一般的に、アミノ化合物、特にアミノ酸の種類に依存し、生成される香気成分の種類や量は大きく異なるとされている。例えば、フェニルアラニンなどの芳香族アミノ酸がメイラード反応に関与した場合、フェニルエタノールやフェニルアセトアルデヒド（いずれも花のような匂い）などが生成されるのに対し、システインなどの含硫アミノ酸によりミート様な香気が生じ、ピロリンは典型的なパン様、炊いた米飯様、ポップコーン様の香気を生成する⁽¹³⁾。一方で、メイラード反応における香気生成において、ペプチドやタンパク質が果たす役割に関しては研究が少ない。その理由の一つに、メイラード反応ではアミノ基とカルボニル基が反応するため、ペプチドやタンパク質の場合メイラード反応に直接関与するアミノ基が少ないことから、香気の生成がある程度制限されることが考えられる。通常、タンパク質やペプチドにおいては α -アミノ基はペプチド結合しており、したがってメイラード反応に関与するのは ϵ -アミノ残基を持つリジンあるいはアミノ側鎖を持つアルギニンやトリプトファンのみとなる⁽²³⁾。しかし実際は、

食品中のペプチドやタンパク質組成は非常に複雑であり、食品の調理や加工工程で遊離するアミノ酸組成は多岐にわたることから、それらがメイラード反応に関与して生成する香気成分も多種類となり、食品の全体的な香りの質に大きく影響すると考えられる。例えばペプチド特異的なトースト様の香気を呈する成分2(1*H*)-ピラジノンが、グリシンおよびロイシンから構成するジペプチドとグルコースのメイラード反応によって生成される⁽²⁴⁾など、ペプチドおよびタンパク質も加熱・加工食品の特有の香気特徴に不可欠である。さらに、ペプチドやタンパク質由来メイラード反応によって生成する香気成分の中には、第一節で述べたような吸入による生理作用を引き起こすものが含まれている可能性も大きい。

第三節 メイラード反応によって生成する香気成分の生理作用

食品中のメイラード反応では、メラノイジンと呼ばれる含窒素高分子褐色物質が生成され、食品に好ましい色調を付与する。コーヒーの褐色、醤油やみその茶色、ビールの金色などは、メイラード反応により生じる色調である。前述したように、メイラード反応に関するアミノ化合物およびカルボニル化合物は、多くの食品に含まれている成分であり、また、加熱や貯蔵などの調理加工は非常に頻繁に行われていることから、我々は食品からメイラード反応生成物を日常的に摂取していることになる。Fogliano ら⁽²⁵⁾によると、一般的な西洋人は一日当たりおよそ 10g のメイラード反応生成物を摂取している。食品メイラード反応生成物のメラノ

イジンには抗酸化作用や血圧降下作用、食物繊維様作用など様々な保健的機能性を有することが報告されている⁽²⁶⁻²⁸⁾。メラノイジンは共通構造を持たない巨大分子のため具体的な分子量を推定するのは難しいとされているが、大まかに分子量 10kDa 以下の低分子メラノイジン (LMW) および 10kDa 以上の高分子メラノイジン (HMW) に分類できる。そのうち、LMW は腸において 30% ほど吸収され、レダクトン構造を持つために吸収された後抗酸化性を示す。HMW はほとんど体内に取り込まれず、腸管内において難消化性多糖類と類似した食物繊維様作用がある。またその一部が、腸内細菌により分解され、低分子化したメラノイジンの中には、その後吸収されるものも存在する。

一方、メイラード反応によって生成される様々な低分子揮発性香気成分は、食品の嗜好性に貢献する他、嗅覚器から脳に伝達され、自律神経系などを介し鎮静や覚醒作用を誘発することもある。小長井^(29, 30)が未加熱および加熱大豆の香りが脳機能に与える影響を検討したところ、中煎り大豆の香りは未加熱大豆と比較して有意な α 波の増加を誘発した。また、メイラード反応を進行させるために糖とアミノ酸を添加して加熱大豆を調製した結果、糖およびアミノ酸未添加の対照大豆と比較して添加大豆は有意に α 波が高かったことから、メイラード反応により生成した香気成分が α 波の増加に寄与したと報告している。しかし、詳細な生理作用の作用機序や、影響を及ぼした香気成分については明らかになっていない。菅沼ら^(31, 82)は、市販麦茶を飲んだ際に血液流動性が向上したことを報告しており、これに関与する成分としてアルキルピラジンを同定している。麦茶は大麦を焙煎する過程で麦

芽中に含まれるアミノ酸やマルトースなどがメイラード反応に関与し、香ばしい香気成分アルキルピラジンが生成され、この成分が血液流動性向上作用を示した。しかしこれは、摂取後消化吸収された場合の生理作用であり、嗅覚器を介した生理作用とは作用機構が異なると考えられる。増尾⁽³²⁾は焙煎コーヒーの香りをラットに曝露し、ラットの脳内タンパク質発現に及ぼす影響を解析したところ、コーヒー豆の香りは抗酸化やストレス緩和機能に関与するタンパク質の発現に影響することが判明した。これにより、メイラード反応によって生成する香気成分は、吸入により確実に生体に何らかの生理作用を誘発する可能性があること示された。しかし、メイラード反応生成香気の生体に及ぼす作用についての研究はまだ少なく、基礎的知見の蓄積が重要である。

第四節 本研究の目的と意義、構成

本研究では、食品中で起こるメイラード反応によって生成した香気成分が及ぼす生理作用を明らかにし、その作用メカニズムを解明することを目的とした。

本論文は、四章で構成されている。緒論に続き、第二章では、食肉タンパク質をプロテアーゼで分解した分解物とキシロースとのメイラード反応により生成した香気をラットに曝露し、収縮期血圧に対する影響を検討した。また、Aroma Extract Dilution Analysis 法を用いた Gas Chromatography-Olfactometry 分析によって、食肉タンパク質分解物とキシロースのメイラード反応生成香気を分析し、香気寄与成分を検索した。香気成分による生理作

用誘発経路を明らかにするため、ラットの鼻腔を硫酸亜鉛溶液で処理し嗅覚麻痺ラットを作出し、香気寄与成分による血圧への影響を検討した。さらに、ラットの腎臓交感神経および胃迷走神経活動を測定し、血圧に影響するメカニズムを明らかにした。

第三章では、メイラード反応の基質をグリシンとグルコースとし、モデル系メイラード反応生成物を調製して、この香気がヒトの気分や脳波へ及ぼす影響を明らかにした。さらに、メイラード反応生成香気がヒトの自律神経系、中枢神経系への影響を明らかにした。これまで、自律神経系活動の評価の大部分は心拍数や心電図によるが、これらの測定には様々な機器類を装着した状態で長時間の安静が不可欠でありパネリストの負担が大きかった。本研究では、パネリストの意識や周囲の環境に影響せず、短時間での測定が可能な瞳孔縮瞳率および末梢皮膚温の測定を実施することで、自律神経活動を評価することとした。また、近赤外線分光法（Near-infrared spectroscopy, NIRS）およびフリッカー試験によってメイラード反応生成香気の脳血流や視覚野活動などの脳の中枢神経系機能への影響を検討した。さらに、これらの生理作用に関与する香気成分も機器分析により特定した。

最後に第四章では、メイラード反応により生成される香気成分の生理作用についての本研究で得られた知見を総括し、さらに今後の展望についてまとめた。

以上より、これまでに明らかとなっているメイラード反応生成物の経口摂取後の保健的機能性に加え、嗅ぐことで引き起こされる生理作用を解明することにより、食品メイラード反応に対する新たな概念が生まれ、その利用もさらに高まると考えられる。

また、生理作用を有する香気成分を積極的に利用した高付加価値食品や香粧品、医薬品開発も期待され、人々の豊かな生活に大きく貢献できる。

第二章 食肉タンパク質分解物のメイラード反応によって生成する香気成分の生理作用

第一節 食肉タンパク質分解物のメイラード反応によって生成する香気成分の血圧への影響

食品のメイラード反応により生成されるメラノイジンは、様々な保健的機能を有することが示されている。植物性や動物性タンパク質の豊富な食品はメイラード反応を起こしやすく、近年では、コラーゲンなどの畜産副産物のメイラード反応生成物の保健的機能についても研究されている。有原⁽³³⁾は、畜産副産物であるコラーゲンを用いて、そのメイラード反応生成物には抗酸化活性や抗 DNA 損傷の効果があることを報告している。また、西村⁽³⁴⁾は、*in vivo* において、食肉タンパク質分解物由来のメイラード反応生成物には、抗酸化活性および血圧降下作用があることを報告している。これらは、摂取して消化吸収された後の機能性であるが、このようなペプチド由来のメイラード反応によって生成する香気は嗅覚器を介して生理作用を有することが明らかとなれば、ペプチドのメイラード反応生成物の食品素材としての価値がさらに高くなる。

そこで本章では、摂取することにより血圧降下作用を示すと報告されている食肉タンパク質分解物（主にアミノ酸とペプチド）のメイラード反応により生成する香気成分が血圧に及ぼす影響を検討すると共に、そのメカニズムを解明することを目的とした。食肉タンパク質分解物と還元糖の一種であるキシロースを用い、

加熱することによって生成した香気の血圧への影響を検討した。

2.1.1 実験方法

2.1.1.1 試料の調製

食肉タンパク質分解物は池田糖化株式会社に依頼し、以下の方法で調製された。ブロイラー系鶏ササミ肉から脂肪や結合組織を除去し、細切した。そこに、2% (w/w) に相当する精製パパイイン FL-3 (アサヒフードアンドヘルスケア株式会社) 水溶液を添加して攪拌し、50℃で1時間穏やかに酵素反応させた。その後、85℃で1時間加熱し、パパイインを失活させた。ろ紙および 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過し、ろ液を凍結乾燥して得られた粉末を食肉タンパク質分解物とした。この食肉タンパク質分解物 (最終濃度 0.046g/mL) とキシロース (最終濃度 0.037g/mL) を 0.5% 炭酸ナトリウム水溶液 140mL で溶解し、塩酸あるいは水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH5 と pH10 に調整した。90℃で240分間加熱し、メイラード反応させた。反応後の溶液を凍結乾燥し、乾燥粉末は使用時まで 4℃で保存した。メイラード反応生成物試料はそれぞれ、「pH5 試料」、「pH10 試料」とし、未加熱試料は「未反応物試料」とした。

2.1.1.2 供試動物

4週齢の Wistar 系 (日本クレア株式会社) の雄 7 匹を、明期 12 時間、暗期 12 時間の条件で 1 週間予備飼育した。市販の固形試料 (CE-2, 日本クレア株式会社) と水道水を自由摂取させた。

2.1.1.3 試料の準備

各試料を蒸留水で 1 % に希釈し、50mL 容量の二口フラスコに 5mL 入れ、30 分間平衡して二口フラスコ内のヘッドスペースに香気を充満させた。また、コントロールとして蒸留水を用意した。

2.1.1.4 香気の曝露方法

香気の曝露方法を図 2 に示した。測定するサンプルを入れた二口フラスコの片方の口にエアポンプ、もう片方の口に香気を曝露するためにチューブを取り付け、先端にろうとを取り付けた。ポンプから空気を送り出し、一定の流量で二口フラスコ内の香気をラットの鼻先に曝露するようにした。

2.1.1.5 ラットの血圧測定

ラットをラットポケットに保定した後、血圧が確実に安定するまで静置した。その後、非観血式血圧測定装置 (BP-98A, Softron) を用いて、ラットの尾静脈の収縮期血圧を測定した。血圧と心拍を香気曝露前にあらかじめ測定し、値が安定したのを確認してから香気を曝露した。このとき香気曝露は 5 分間行った。曝露終了後の経過として 10 分間血圧変動を観察した。対応のある Student's paired *t*-test でコントロール群と香気曝露群の血圧を比較した^(35, 36)。

2.1.2 結果および考察

未反応物試料、pH5 試料、pH10 試料の香気をラットに曝露し、香気曝露開始前の血圧の値を基準とした、血圧の経時的变化を図 3 に示した⁽⁵³⁾。コントロールとして蒸留水を用いた。曝露直後に各試料で血圧の降下が見られ、5 分後には未反応物試料、pH5 試料、pH10 試料の全ての試料において、コントロールよりも血圧が降下した。特に pH10 試料で、曝露開始から 10 分および 15 分後に蒸留水の曝露と比較して有意な血圧の降下が認められ ($p<0.05$)、pH10 試料の香気には、血圧降下に関与する成分が含まれていることが示唆された。

香気成分の吸入刺激による交感神経活動および副交感神経活動の促進は、香気刺激終了後も継続していることが特徴である^(11, 37-39, 62)。本研究における pH10 試料の香気曝露後、継続した血圧降下が観察されたことから、自律神経系への影響により血圧が降下したと考えられた。そこで 30 秒ごとの詳細な血圧変動を、曝露開始前の血圧と比較した。その結果、図 4 に示すように、曝露開始から緩やかに血圧は降下していき、180 秒後以降から有意な血圧の降下が認められた ($p<0.05$)。香気曝露終了後 (300 秒) も血圧の降下は継続し、570、630、780、870、930 秒後で有意な血圧の降下が認められた ($p<0.01$)。香気刺激後の血圧に対する反応が非常に早い段階で見られることから、自律神経の関与が考えられた。血圧や心拍の変動には自律神経系が深く関与しており、一般的に交感神経系が抑制され副交感神経系が優位になることで、心拍や血圧の降下や血糖の低下などが引き起こされる⁽⁴⁰⁾。pH10 試料の香気刺激は、おそらく交感神経系の活動が抑制され、拮抗的に副交感神経系活動が優位になったことで、香気刺激後早い段階でか

つ継続的に血圧が低下したと推測された。また、この血圧の降下により鎮静状態が引き起こされたことも考えられる。次に pH10 試料の香気寄与成分を探索し、血圧降下に関与する香気成分を明らかにすることとした。

第二節 ラットの血圧降下に関与するメイラード反応生成香気成分の検索

本章第一節の結果から、pH10 試料には、自律神経系に作用して血圧を低下させる香気成分が含まれていることが示唆された。そこで、血圧に関与する香気成分を検索するために、AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) 法⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾を用いた GC-O (Gas Chromatography-Olfactometry) 分析により、pH10 試料の香気に高く寄与する香気成分を検索した。また、香気寄与成分の試料中濃度をそれぞれ算出し、それぞれの濃度における単一香気成分をラットに曝露した際の収縮期血圧への影響を検討した。

2.2.1 実験方法

2.2.1.1 香気寄与成分検出に用いた試料

2.1.1.1 で調製した pH10 試料を用いた。

2.2.1.2 試料の香気寄与成分の検出

(1) 香気成分の抽出

pH10 試料 1g と 15% エタノール 99mL をよく混合してろ過した。

TenaxTA 樹脂を充填したガラスカラムに得られたる液を通過し、香気成分を樹脂に吸着させた。その後、ジエチルエーテルで溶出した。溶出液を SAFE (Solvent Assisted Flavor Evaporation, 高真空蒸留) 装置⁽⁶⁶⁾に供し、得られた揮発性成分画分から常圧蒸留 (40°C, 1atm) および窒素ガスにより溶媒を留去し濃縮して香気濃縮物とした。

(2) AEDA 法による pH10 試料の香気寄与成分の解明

GC-O 分析は、GC で分離された香気成分が GC の検出器で検出されると同時に「匂い嗅ぎポート」で香気を検知し、その特徴を明らかにする分析方法である。本研究では、GC (Shimadzu GC2010Plus) に sniffer 9000 (BRECHBÜHLER) を取り付け、GC-O 分析を行った。GC-O 分析に使用したキャピラリーカラムは、DB-Wax (60m×0.25mm i.d., J&W, Agilent Technologies, Wilmington, USA) である。注入口温度は 210°C、検出器温度は 210°C、オープン温度は 40°C とし、カラムの昇温は、40°C で 10 分保持した後、3°C/min で昇温し、210°C で 30 分間保持するように設定した。

香気の寄与度を数値化できる AEDA 法を用い、2.2.1.2 (1) と同様の操作を 5 回繰り返し、得られた香気濃縮物を 100 倍、1000 倍、5000 倍、10000 倍に希釈して、希釈倍率の低い方から順次 GC-O 分析を行った。最終的に感知できた希釈倍率を Flavor Dilution Factor (FD 値) として、pH10 試料香気への寄与度を評価した。

GC-MS 分析には QP2010 Gas Chromatograph Mass Spectrometer (Shimadzu GCMS-QP2010) を用いた。用いたキャピラリーカラム、注入口温度、オープンの昇温条件は GC-O 分析と同様である。フラグメントイオンは EI (Electron Ionization) により

70eV で発生させた。インターフェース温度は 210℃、イオン源温度は 200℃とした。各香気成分の同定は、標準化合物の保持時間およびマススペクトルの一致により行った。

2.2.1.3 検量線の作成および香気寄与成分の定量

5, 50, 500mg/L の 2,5-ジメチル-4-ヒドロキシ-3(2*H*)-フラノン (DMHF, 東京化成工業株式会社, 純度>98%)、10, 50, 100, 500mg/L のシクロテン (東京化成工業株式会社, 純度>98%)、10, 50, 100, 500mg/L の 5-メチル-2-ピラジンメタノール (MPM, Shanghai pengteng Fine Chemical Co., Ltd., 純度>97.3%)、5, 10, 20mg/L の酢酸 (関東化学株式会社, 純度>99.5%) および IS (Internal Standard, メチルデカノエイト, 東京化成工業株式会社, 純度>98%, 最終濃度 0.5mg/L) を 100mL となるように蒸留水を添加し、2.2.1.2(1)と同様に香気濃縮物を調製し、GC-O 分析に供した。分析条件は 2.2.1.2(2)と同様である。各香気成分のピーク面積を、IS のピーク面積で除した値、すなわち IS 比を算出した。各香気成分の添加濃度と各 IS 比から検量線を作成した。作成した検量線を用いて pH10 試料中に存在する各香気寄与成分の濃度 (mg/L) を算出した。

2.2.1.4 香気寄与成分の曝露による血圧への影響

(1) 供試動物

4 週齢の Wistar 系雄ラット (日本クレア株式会社) の雄 9 匹を明期 12 時間、暗期 12 時間の条件下で 4 週間予備飼育した。市販の固形試料 (CE-2, 日本クレア株式会社) と水道水を自由摂取さ

せた。

(2) 曝露する試料の準備

DMHF、シクロテン、MPM、酢酸を表 1 に示した濃度にそれぞれ蒸留水で希釈し、50mL 容量の二口フラスコに 5mL 入れ、30 分間平衡して二口フラスコ内のヘッドスペースに香気を充満させた。

(3) ラットの香気曝露および血圧測定

ラットの香気曝露は、2.1.1.4 と同様に行った。血圧測定は、2.1.1.5 に示した方法で行った。コントロール群と香気曝露群の検定は Dunnett's test により行った。

2.2.2 結果および考察

2.2.2.1 AEDA 法による pH10 試料の香気寄与成分の解明

pH10 試料の香気濃縮物を GC-O 分析に供し、AEDA 法を用いて香気寄与成分を検索した。

AEDA 法によって検出した pH10 試料の香気寄与成分とその香調を表 2 に示した。高 FD 値 (≥ 100) を示した 8 つピークのうち、GC-MS にて 6 種の香気成分を同定することができた。最も高い FD 値を示したのは、酢酸と、カラメル様の甘い香気を呈する DMHF であり、FD 値は 10^4 だった。次に高い FD 値を示したのは、醤油様の焦げた香気を呈するフルフラールと、バター醤油様の焦げた香気を呈する MPM であり、これらの FD 値はともに 5.0×10^3 だった。ナッツ様香気を呈する 2,3-ジメチルピラジンおよび甘い醤油様香気を呈するシクロテンの FD 値は 10^2 であった。酢酸、

DMHF、フルフラール、MPM、2,3-ジメチルピラジンおよびシクロテンは pH10 試料の香気に極めて高く寄与することから、ラットの血圧に何らかの影響を及ぼしたことが考えられたため、濃度を定量した。

酢酸、DMHF、MPM およびシクロテンの回帰式から検量線を求めた。すなわち、酢酸 (mg/L)=[(酢酸のピーク面積/IS のピーク面積)+0.0643]/0.1227, $r^2=0.99$; シクロテン (mg/L)=(シクロテンのピーク面積/IS のピーク面積)/760.06, $r^2=1.00$; DMHF (mg/L)=[(DMHF のピーク面積/IS のピーク面積)-0.0558]/23.497, $r^2=1.00$; MPM (mg/L)=(MPM のピーク面積/IS のピーク面積)/281.42, $r^2=0.98$ である。回帰式を用いて、pH10 試料中の酢酸、DMHF、MPM、シクロテンの濃度を算出し、結果を表 1 に示した。最も高い FD 値を示した酢酸と DMHF の濃度はそれぞれ 3.33 mg/L および 5.7 mg/L であった。MPM とシクロテンの濃度は、それぞれ 0.54 mg/L、0.59 mg/L であった。フルフラールおよび 2,3-ジメチルピラジンについては、ピーク面積が非常に小さく、定量することはできなかった。定量した 4 種類の香気成分を用いて、単位成分でラットに曝露した際の血圧への影響を検討した。

2.2.2.2 香気寄与成分曝露による血圧への影響

pH10 試料の香気寄与成分である酢酸、DMHF、シクロテン、MPM を定量値で Wistar 系ラットに曝露し、収縮期血圧を測定した。結果を図 5 に示した。酢酸とシクロテンの曝露において、血圧への影響は見られなかった。一方 DMHF の曝露では、曝露開始直後から血圧が低下し、曝露開始 5 分後および曝露終了 10 分後におい

てコントロール（蒸留水）と比較して有意な血圧の降下が示された（ $p<0.05$ ）。また MPM の曝露では、徐々に血圧が降下し、曝露終了 10 分後において有意な血圧の低下が示された（ $p<0.05$ ）。このことから、メイラード反応試料中の香気寄与成分のうち、DMHF と MPM が血圧降下に関与することが示された。特に DMHF は血圧に対する作用が短時間で観察されたことから、pH10 試料の血圧降下が素早くみられたことと深く関係していると考えられた。

DMHF は甘いカラメル様の香気を呈し、いちごやパイナップルなどの果物から検出されているほか⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾、メイラード反応により生成される代表的な香気成分でもある⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾。水溶液中の閾値は 60 $\mu\text{l/L}$ と低く、さらに無有害作用量は一日に 200 mg DMHF/kg BW であり、発がん性がないため⁽⁵¹⁾食品香料および香粧品香料として多くの国で認可され、広く使用されている。抗酸化活性や抗菌作用などの機能性がすでに報告されているが^(48, 52)、その香気を嗅ぐことによる生体への効果については研究されていない。DMHF の香気吸入による血圧降下は、本研究によって初めて示された作用である。

第一章第一節で述べたように、香気成分が生理作用を誘発する二つの経路のうち、息を吸うことによって香気成分が肺胞で吸収され体内に取り込まれる経路は、作用が見られるまで時間を要する。例えば、肺から取り込まれたリモネンは血中からおおよそ 30 分で検出され、その血中濃度が高くなるには 2 時間ほどかかり、嗅覚器から血中への移行は極めて遅い⁽⁵⁴⁾。また、精油成分は親油性のため皮質を通して表皮、真皮に浸透し、血液に取り込まれることもあるが、角質層の存在下で実際に完全に浸透するには 20-60

分間程度を要する⁽⁵⁵⁾。しかし、本研究で示した DMHF による血圧降下は、香気曝露開始からわずか 5 分で有意に認められたことから、血中に取り込まれて血圧降下を引き起こしたとは考えにくい。香気成分が生理作用を誘発する他方の経路、すなわち鼻腔に流入し嗅覚受容体と結合して生じた電気信号が脳辺縁系に伝達され、視床下部に作用し自律神経系などを介す経路においては、嗅神経から脳辺縁系への投射は直接で瞬時的であるため⁽⁵⁾、気分や生理、行動への影響はかなり迅速に表れる。したがって、DMHF は嗅覚系を介し脳に到達し、自律神経系に影響して血圧降下を引き起こしたと推測した。

第三節 DMHF の血圧降下メカニズムの解明

2.2.2.2 により、DMHF の香気を曝露することでラットの血圧が有意に低下し、この反応は嗅覚器を介したものであることが推測された。そこで、ラットの鼻腔を硫酸亜鉛溶液によって処理し、嗅覚麻痺ラットを作製して、DMHF 香気刺激による血圧への影響を検討することとした。また、ラットの腎臓交感神経活動と迷走神経の遠心枝の活動に与える影響を検討することで、DMHF の自律神経系に対する影響を明らかにした。

2.3.1 実験方法

2.3.1.1 DMHF が嗅覚麻痺ラットに及ぼす血圧変動

(1) 供試動物

2.2.1.4 (1)と同様である。

(2) DMHF 試料の調製およびラットへの曝露

DMHF を 5.7mg/L となるように蒸留水で希釈し、50mL 容量の二口フラスコに 5mL 入れ密閉し、30 分間平衡して二口フラスコ内のヘッドスペースに香気を充満させた。香気は、2.1.1.4 と同様にラットに曝露した。

(3) 嗅覚麻痺ラットの作製

ジエチルエーテル（関東化学株式会社，純度>99%）を充満させたデシケーターに入れてラットを麻酔した後に、5% 硫酸亜鉛溶液（和光純薬工業株式会社，純度>95%）を点鼻した。点鼻は、ラットを仰臥位にして頭部を固定し、マイクロピペットを用いて両側鼻腔に 300 μ L ずつ滴下することで行った。滴下した際に、鼻腔から溢れた溶液が体表の皮膚などに触れることによる炎症を防ぐために、溢れた溶液を直ちにキムワイプで拭き取った。硫酸亜鉛溶液が十分に嗅上皮に作用するため、点鼻後に 10 分間仰臥位のままにした^(56, 57)。

(4) 嗅覚麻痺ラットを用いた血圧測定

硫酸亜鉛溶液を点鼻したラットは、点鼻 2 日後から血圧測定に用いた。血圧測定方法は 2.1.1.5 と同様に操作した。コントロール群と香気曝露群の検定は Dunnett's test により行った。

2.3.1.2 DMHF 香気刺激が自律神経系に与える影響

(1) 供試動物

Wistar 系雄ラット 6 匹を明期 12 時間、暗期 12 時間の条件下で 1 週間予備飼育した。摂食と飲水は自由に行われた。実験には 9

週齢のラットを使用した。

(2) 曝露試料

2.3.1.1 (2)と同様に試料調製を行った。

(3) 香気曝露方法

円筒形のビーカー様のプラスチック容器に、DMHF 溶液 10mL を染み込ませた脱脂綿 (4×4 cm, 1 cm) を入れ、その容器の口をラットの鼻孔に当てて 10 分間曝露した。

(4) 自律神経系活動の測定方法

ラットを 3 時間絶食させた後、ウレタン水溶液 (1g/kg BW) を用いてウレタン麻酔し、開腹した。腎臓交感神経遠心枝もしくは胃迷走神経遠心枝を分離し、露出した後に、遠心枝を切断し、中枢側から神経フィラメントを分離し銀製記録電極で吊り上げて、その神経の電気活動を測定した。DMHF 曝露前の 5 分間、曝露中 10 分間曝露後の 50 分間の、計 65 分間の自律神経活動変化を電気生理学的に測定した。自律神経の活動のデータは 5 分間毎の 5 秒間あたりの発火頻度 (pulse/5s) の平均値にて解析し、匂い曝露開始前 5 分間の値 (0 分値) を 100% とした百分率で表した。群としての検定は ANOVA により行い、DMHF による香気刺激前の自律神経活動の絶対値間の統計処理は Mann-Whitney U-test により行った⁽³⁷⁻³⁹⁾。

2.3.2 結果および考察

2.3.2.1 DMHF が嗅覚麻痺ラットに及ぼす血圧変動

嗅覚麻痺ラットに DMHF を曝露した際の血圧変動を図 6 に示し

た。嗅覚麻痺したラットは、DMHF 曝露中の 5 分間および曝露終了後 10 分間においてコントロールと比較して血圧に有意な差はなく、血圧降下は見られなかった。嗅覚正常時では DMHF の曝露により血圧は有意に降下したが、嗅覚を麻痺すると正常時と同様の血圧降下を引き起こさなかったことから、嗅覚系を介した反応であることが明らかとなった。

硫酸亜鉛処置することによって鼻腔粘膜の粘膜固有層が剥離され、嗅上皮が損傷し嗅覚器の形態的障害が引き起こされる^(56, 57)。これは一種の嗅覚麻痺状態を作製しており、このようなラットを用いた嗅覚経路に関わる研究がいくつかある。例えば、Shen ら⁽¹¹⁾は、グレープフルーツの香気は血中グリセロール濃度を上昇させる効果があるが、その効果が鼻粘膜硫酸亜鉛溶液処置により消失したことを報告している。また、Winans ら⁽⁵⁶⁾は雄ハムスターの交尾行動は鼻粘膜の硫酸亜鉛処置により減少し、交尾行動に関わる物質が鼻粘膜すなわち嗅覚器を介して作用する可能性を報告している。通常香気成分は吸う息と共に鼻腔内に入り、嗅上皮に到達し受容され、嗅上皮から嗅球、さらに脳の中枢に嗅覚情報を伝達する。硫酸亜鉛処理による嗅覚麻痺の場合、香気成分が鼻腔内に流入しても嗅上皮においては受容されない。大脳辺縁系には扁桃体、海馬、自律神経系、内分泌系、免疫系機能を総合的に調節する視床下部が存在し、仮に香気成分による嗅覚刺激が視床下部に伝達された場合、ここから自律神経系あるいは内分泌系を介して血圧、心拍、ホルモン分泌などに影響が及ぼされる。本研究において、嗅覚が遮断され、血圧が降下しなかったことから、DMHF は嗅覚器から視床下部を介し、おそらく自律神経系に影響して血

圧が降下したと仮説した。

2.3.2.2 DMHF 香気刺激が自律神経系に与える影響

DMHF を曝露した際のラットの交感神経および副交感神経活動を測定し結果を図 7 に示した。

腎臓交感神経活動は、曝露開始 5 分後から曝露終了 15 分後にかけて徐々に抑制され、その後測定終了まで抑制された状態が持続した。蒸留水を曝露したコントロール群との間には有意差が認められた ($p<0.0005$)。一方、胃副交感神経活動は、曝露開始 5 分後から曝露終了 35 分後にかけて徐々に促進され、その後測定終了まで促進された状態が継続した。コントロール群との間には有意差が認められた ($p<0.0005$)。したがって、DMHF の香気刺激はラットの腎臓交感神経活動を抑制し、胃副交感神経活動を促進することが明らかとなった。

哺乳動物の血圧の恒常性は、内分泌系の昇圧機構であるレニン-アンジオテンシン系と、降圧機構であるキニン-カリクレイン系のバランスの上に成り立っている。腎臓交感神経は血圧調節と深く関わっており、腎臓交感神経が興奮すると、腎臓の傍糸球体装置からレニンが血中に放出され、アンジオテンシノーゲンがアンジオテンシン I に変換される量が増加する。生じたアンジオテンシン I はアンジオテンシン変換酵素により、アンジオテンシン II に変換され、このアンジオテンシン II により血管が収縮し血圧が上昇する⁽⁵⁹⁾。DMHF の香気刺激は、腎臓交感神経活動を抑制してレニン-アンジオテンシン系を抑制することで、結果的にキニン-カリクレイン系が優位となり、血圧が降下したと考えられた。さ

らに、DMHFは胃副交感神経活動を促進したことから、胃の蠕動運動や消化・吸収能を増加させ、食欲を亢進させる作用を有することも示唆された⁽⁶⁰⁾。メイラード反応の匂いは一般的に「甘く香ばしい」特徴を有することから嗜好性が高く、食欲を増進させることが経験的に知られているが、本研究でDMHFの胃副交感神経活動促進が明らかになったことから、DMHFは食欲の増進にも関与している可能性が示された。

一般的に交感神経活動を抑制し副交感神経活動を促進する香気成分は、鎮静作用を有するとされている。この重要な機構のひとつに、GABA_A受容体の応答があり、ある種の香気成分がGABA_A受容体に結合すると、受容体応答が亢進され、鎮静作用が誘発されることが報告されている^(61, 63)。GABA_A受容体は脳内にのみ存在することから⁽⁷⁾、香気成分がGABA_A受容体を介して鎮静作用を示すためには、体内に取り込まれて脳に到達しなければならない。本研究ではDMHFが嗅覚系を介して血圧降下を引き起こすことから、GABA_A受容体を介した経路ではないと考えられた。

以上より、DMHFの香気刺激は嗅覚系を介して自律神経系に影響することで、血圧降下作用を誘発することが示された。

第三章 グリシン - グルコース系モデルメイラード反応に よって生成する香気成分の生理作用

第一節 グリシン - グルコース系モデルメイラード反応に よって生成する香気成分のヒトの気分および脳波への影響

第二章で、食肉タンパク質分解物とキシロースの複雑系メイラード反応で生成した香気成分が、ラットの嗅覚系を介して自律神経に作用することで血圧に影響することが判明した。さらに血圧が降下することで鎮静効果が誘発されることが示唆された。メイラード反応で生成した香気成分がヒトに対しても同様の作用をもたらす可能性がある。そこで、第三章では、アミノ酸一種類（グリシン）と還元糖一種類（グルコース）の単純系メイラード反応で生成した香気成分がヒトの気分や大脳活動に及ぼす影響を検討することにした。脳中枢の活動を評価するには、electroencephalogram（EEG）、magnetoencephalogram（MEG）、functional magnetic resonance imaging（fMRI）などの非侵襲的手法が広く用いられているが⁽⁶⁷⁻⁶⁹⁾、本研究では、瞬時の脳神経活動を計測することができ、パネリストに負担の小さい簡易型脳波測定装置を用いて、脳の中樞神経系への影響を調べた。また、香気吸入後のパネリストによる主観評価と総合して解析することで、メイラード反応で生成した香気成分がヒトに及ぼす影響を検討した。さらに、グリシン - グルコースモデル系メイラード反応試料に含まれる香気寄与成分を分析し、脳波へ影響を与える香気成分を特定した。

3.1.1 実験方法

3.1.1.1 メイラード反応試料およびモデルメイラード反応試料の調製

グルコース（関東化学株式会社）1mol/L、グリシン（関東化学株式会社）1mol/L となるように 0.25% 炭酸ナトリウム（関東化学株式会社）水溶液で溶解し、6N 塩酸あるいは 10N 水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH7 と pH9 に調整した。90℃で 30 分間加熱してメイラード反応させ、反応終了後、氷で冷却し反応を停止させた。メイラード反応生成物試料をそれぞれ、「pH7 試料」、「pH9 試料」とした。

pH7 のモデル系メイラード反応試料（pH7 モデル試料）は、2,3-ジメチルピラジン（純度>95%）、2,3,5-トリメチルピラジン（純度>98%）、DMHF（純度>98%）およびオクタン酸（純度>98%）（すべて東京化成工業株式会社）を用いて作製した。pH9 のモデル系メイラード反応試料（pH9 モデル試料）は、2,3-ジメチルピラジン、2,3,5-トリメチルピラジン、酢酸（純度>99.5%）、2-エチルヘキサノール（純度>99.5%）、2-アセチルピリジン（純度>99%）および DMHF（すべて東京化成工業株式会社）を用いて作製した。pH7 および pH9 モデル試料の組成を表 3 に示した。それぞれの香気成分は蒸留水を用いて希釈した。

3.1.1.2 パネリストの選出

北里大学獣医学部動物資源科学科食品機能安全学研究室に所

属する 21 歳から 24 歳の男女 10 名(男 7 名、女 3 名)を選出した。パネリストの選出には、T&T オルファクトメーター(第一薬品産業株式会社)を用いた。T&T オルファクトメーターは、5 種類のパネル選定用基準臭(β -フェニルエチルアルコール、メチルシクロペンテノロン、イソ吉草酸、 γ -ウンデカラク톤、スカトール)を基準濃度で感知でき、適切な表現でその香気を表現できるかを検査するものである。この T&T オルファクトメーターは日本において、嗅覚診断薬として承認を受けている唯一のものである。

3.1.1.3 定量的記述分析法(Quantitative Descriptive Analysis, QDA) を用いた官能評価

(1) QDA 用試料の調製

50mL 容量の褐色バイアル瓶に、pH7、pH9 メイラード反応試料と pH7、pH9 モデル試料をそれぞれ 10mL ずつ分注した。常温で 30 分間平衡させて、香気をヘッドスペースに充満させたものをパネルに呈示した。このとき、各試料の入ったバイアル瓶のスクリーキャップの上部に 3 桁のランダムコードを付し、順位効果等がないようにした。

(2) 官能評価

官能評価は換気のできる実験室(25°C)で行った。パネリストに pH7 試料および pH9 試料を呈示し、「食品のための匂い評価用語」⁽⁷⁰⁾の中から、各試料香気に相応しい用語を選出させた。その後、パネリスト全員で複数回議論し、選出した用語から共通して認識できる用語を選択し、最終的に「甘い(sweet)」、「湿っぽい(wet)」、「深みのある(complex)」、「焦げた匂い(burnt)」、「アーモン

ド様の(almond)」、「ミルク臭(milk)」、「バニラ様の(vanilla)」、「穏やか(mild)」、「重い(rich)」の計 9 種類の評価用語を決定した(表 4)。パネリストは、官能評価訓練を複数回実施して、各評価用語の香気の特徴およびスケールの一致を行った⁽⁷¹⁾。評価用紙上の各評価用語の横に示された 10cm のラインスケール上に相当する香気の強度が適切に反映される位置にチェックした。10cm のラインスケールは、左端を「弱い」、右端を「強い」とし、左端からチェックまでの長さを測り定量化した。評価は 3 回行い、得られた値の平均値をその用語に対する強度とした。統計処理は対応のある Student's paired *t*-test により行った。

3.1.1.4 気分評価および脳波測定

(1) 試料の呈示

pH7、pH9 メイラード反応試料およびモデル試料を 10mL ずつ褐色バイアル瓶に分注した。DMHF の単一香料試料は 2.5, 8, 20, 40, 58 および 100mg/L の 6 試料を 10mL ずつ調製し、2,3-ジメチルピラジンの単一香料試料は 0.07, 0.9, 5, 10, 15 および 30mg/L の 6 試料を 10mL ずつ調製し、褐色バイアル瓶に分注した。それぞれの試料を常温で 30 分間平衡させて、香気をヘッドスペースに充満させたものをパネリストに呈示した。また、褐色瓶に 10mL の蒸留水を入れたものをコントロールとした。

(2) 気分評価

気分評価には香り気分評価尺度⁽⁷²⁾を用いた。パネリストが pH7、pH9 試料を嗅ぐ前後に「爽快感(refreshed)」、「平穏(calm)」、「感動(moved)」、「活気(vigor)」、「落胆(depressed)」、「緊張感(tense)」、「疲

労感(fatigue)」、「焦燥(restless)」の 8 つの各気分因子につき、具体的な感情表現用語が 3 項目ずつあり、計 24 の評価項目について評価した。評価の際には、パネリストが各項目について感じた気分の強度を 8cm のラインにチェックし、チェックまでの長さを得点とした。なお、0cm が 0 点、2cm が 1 点、4cm が 2 点、6cm が 3 点、8cm が 4 点とし、各項目の得点の平均値を求め、それぞれの気分因子の評価得点とし、各試料を嗅いだ後の得点の変化を比較した。

(3) 脳波測定

簡易型脳波リズム測定装置 (FM828 BrainPro light フューテック エレクトロニクス株式会社)を使用し、パネリストの前頭部に電極を装着した。測定時間は 1 分間とし、閉眼・安静の条件下で測定を行った。脳波の解析には、前頭部より採取された α 波 (8-13 Hz) と β 波 (13-30Hz) の分布率を算出し、各試料の香気を嗅いだ後の変化を検討した。

(4) 統計処理

気分評価および脳波測定は別日に 3 回繰り返し行い、統計処理は対応のある Student's paired *t*-test によって行った。

3.1.1.5 メイラード反応試料の香気寄与成分の検出

(1) 香気成分の抽出

pH7 および pH9 メイラード反応試料 25mL に蒸留水 25mL を加え、IS としてメチルデカノエイトを 1mg 添加(最終濃度は 0.5mg/L)し、混合した。Tenax TA 樹脂 5.0g を充填したガラスカラムに流し、香気成分を吸着させた。吸着させた香気成分を、100mL のペ

ンタン：ジエチルエーテル混合溶媒（1:1）を用いて吸着させた香気成分を溶出し、無水硫酸ナトリウムで十分脱水した。高真空蒸留（SAFE）装置により揮発成分画分を採取し、さらに常圧蒸留および窒素ガスにより溶媒を留去して香気濃縮物を得た。同様の操作を5回繰り返し、得られた香気濃縮物をAEDA法による香気寄与成分分析に供した。

（2）AEDA法による香気寄与成分の解明

GC-O、GC-MS分析は2.2.1.2.（2）と同様に行った。ポーラスポリマー樹脂吸着法により得られた香気濃縮物を4ⁿに希釈し、4⁰倍希釈物（原液）から順次GC-O分析に供した。匂い嗅ぎポートで各香気成分を嗅ぎ、香気の特徴と強度およびその香気あるいはピークの出現時間を記録した。各香気成分のFD値を求め、メイラード反応試料香気への寄与度を評価した。

（3）検量線の作成および香気寄与成分の定量

2,3-ジメチルピラジン（1, 10, 20, 100mg/L）、2,3,5-トリメチルピラジン（1, 10, 100, 200mg/L）、酢酸（5, 10, 20mg/L）、2-エチルヘキサノール（0.5, 5, 10, 100mg/L）、オクタン酸（1, 10, 20mg/L）、DMHF（5, 50, 500g/L）を用いてそれぞれ100mLとなるよう蒸留水を用いて調製した。すべてにIS（0.5mg/L）を添加し、2.2.1.2(1)と同様に香気を抽出し、GC分析に供した。GCの分析条件は2.2.1.2(2)と同様である。ISとそれぞれの香気成分のピーク面積を読み取り、各香気成分の面積をISの面積で除したIS比を算出した。各香気成分の各濃度におけるIS比と試料濃度から検量線を作成し、各メイラード反応試料中に存在する濃度(mg/L)を算出した。

3.1.2 結果および考察

3.1.2.1 グリシン - グルコース系モデルメイラード反応によって生成する香気成分の気分および脳波への影響

pH7 および pH9 条件下でメイラード反応させた試料の香気がヒトの気分へ及ぼす影響を明らかにするため、香り気分評価尺度を用いて気分評価を行った結果を図 8 に示した。pH7 および pH9 メイラード反応試料香気は、快因子「爽快感(refreshed)、平穏(calm)、感動(moved)、活気(vigor)」評価得点の上昇傾向、不快因子「落胆(depressed)、緊張感(tense)、疲労感(fatigue)、焦燥(restless)」評価得点の低下傾向を示した。特に pH9 試料で「緊張感」および「疲労感」の項目における評価得点が有意に低下し、メイラード反応生成香気の吸入によって緊張や疲労が緩和する可能性が示された。

嗅覚系は大腦辺縁系と密接な神経線維連絡があるため、香気成分を嗅ぐことで素早く気分の変化がもたらされる。また、香気成分に対する好き・嫌いといった嗜好が気分に大きく影響する。好き・快と感じられた香気はポジティブな気分をもたらし、不安感を低減させる。一方で、嫌い・不快と感じられた香気は逆効果をもたらしことが報告されている⁽⁷³⁻⁷⁵⁾。ここでは結果を示していないが、気分評価の際、口頭で嗜好性を尋ねたところパネリスト全員がどちらの試料香気に対しても好き・快であると答えたことから、香気を嗅いだ後の気分に対してポジティブな影響をもたらしたと考えられる。

pH7 と pH9 試料の香気吸入による脳波の結果を図 9 に示した。

コントロールと各試料の香気を嗅いだ際の脳波を比較すると、 α 波および β 波の変動に有意な差はみられなかった。しかし、pHの条件によって脳波への影響は異なり、pH7メイラード反応試料の香気を嗅いだ後に α 波の上昇と β 波の低下が確認され、一方pH9メイラード反応試料では α 波の低下と β 波の上昇が見られた。向精神薬のような神経細胞活動に強く作用するのとは異なり、食品メイラード反応によって生成する香気成分は顕著な脳波への影響を示さないと考えられた。

脳波はその周波数の違いによって主に β 波(30-13Hz)、 α 波(13-8Hz)、 θ 波(8-4Hz)に分類することができる。 β 波および α 波は、脳の意識水準の判定指標として広く利用されている。 α 波は安静している時やリラックス状態にみられる脳波である⁽⁷⁶⁻⁷⁸⁾。pH7メイラード反応生成香気によって、 α 波の上昇傾向および β 波の減少傾向が見られたことから、鎮静作用を示す可能性がある。この鎮静作用はpH7メイラード反応香気を嗅いだ後に気分の不快因子評価得点の低下からも見られる。一方、pH9メイラード反応試料の香気を嗅いだ後に β 波の上昇が見られた。 β 波の上昇は、不安や周囲に注意を払っている時、眠気が抑えられた時や積極的な気分になっている時、リフレッシュ状態にある時に見られる^(79, 80)。pH9メイラード反応試料における気分評価では「緊張感」と「疲労感」の得点が有意に低下したことから、 β 波の上昇は不安や緊張ではなく、脳のリフレッシュ状態が反映されたと考えられた。また、 β 波は情報処理や認知に関与することから⁽⁸¹⁾、pH9メイラード反応試料の香気は大腦皮質の活動、さらにヒトの行動に積極的な影響を与える可能性もある。脳波に影響を及ぼす香気成分が

pH7 および pH9 メイラード反応試料に存在することが考えられたため、次にそれぞれの試料香気に高く寄与する成分の探索を行った。

3.1.2.2 メイラード反応試料の香気寄与成分の検出

pH7 および pH9 メイラード反応試料の香気に高く寄与する香気成分について AEDA 法を用いた GC-O 分析によって検索し、その香気特徴、FD 値、濃度を表 5 に示した。

pH7 メイラード反応試料において高い FD 値を示した 6 つの香気成分のうち、2,3-ジメチルピラジン、2,3,5-トリメチルピラジン、DMHF とオクタン酸を同定した。2,3-ジヒドロ-5-ヒドロキシ-6-メチル-4*H*-ピラン-4-オンはマススペクトルにより推定した。最も高い FD 値 (FD 値 = 4⁴) を示したのはポップコーン様あるいは炊いた米飯様の香気を呈する 2,3-ジメチルピラジンと、甘いカラメル様の香気を呈する DMHF であった。一方、10 種の香気寄与成分が pH9 メイラード反応試料から検出され、そのうち、2,3-ジメチルピラジン、2,3,5-トリメチルピラジン、酢酸、2-エチルヘキサノール、2-アセチルピリジンと DMHF が同定された。2,3-ジヒドロ-5-ヒドロキシ-6-メチル-4*H*-ピラン-4-オンと 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンはマススペクトルから推定した。最も高い FD 値 (FD 値 = 4⁶) を示した香気成分は pH7 試料と同様に 2,3-ジメチルピラジンと DMHF であった。

pH7 および pH9 メイラード反応試料の香気寄与成分の組成が異なっており、2-アセチルピリジンや 2-エチルヘキサノールは pH9 メイラード反応試料の香気寄与成分であるが、pH7 メイラード反

応試料からは検出されなかった。また、2,3-ジメチルピラジンや2,3,5-トリメチルピラジンなどの香気成分は両試料中から検出されたが、pH9 メイラード反応試料中の方が高濃度で存在することが示された。香気成分の構造や濃度により異なる生理作用を示すことは明らかになっている^(74, 75, 87)。例えば、(-)-リモネンは気分に影響しないが、その光学異性体である(+)-リモネンは覚醒作用を示す⁽⁷⁵⁾。また、高濃度ジャスミン茶の香気は交感神経系活動を促進するが、低濃度では副交感神経系活動が促進されることが報告されている⁽⁷⁴⁾。よって、pH7 あるいは pH9 メイラード反応試料を嗅いだ際の脳波に違いが生じたのは、このような香気寄与成分組成の違いによるものであると考えられた。

3.1.2.3 モデルメイラード反応試料の香気気分および脳波への影響

各メイラード反応試料の香気寄与成分が脳波に関与するかを解明するために、表 3 に示した濃度で再構築しモデル試料を作製した。まずはじめに、QDA 法を用いてモデル試料の香気メイラード反応試料の香気と類似しているかを評価した。メイラード反応試料およびモデル試料の香気特性をそれぞれ数値化し比較したところ、いずれにおいても有意な差はみられず（表 6）、モデル試料の香気特性はメイラード反応試料の香気を十分再現していることが示された（図 10）。このモデル試料を用いて気分評価および脳波測定を行った。

図 11 に示したように、pH7、pH9 モデル試料の香気を嗅いだ後に「落胆(depressed)」の得点が有意に低下し、pH9 モデル試料を

嗅いだ後に「緊張感(tense)」の得点が有意に低下した。「活気(vigor)」の得点が低下する傾向を示したものの、気分への影響はメイラード反応試料と類似した。また、全体的に快因子の得点が増加し不快因子の得点が低下したことが判明された。

pH7 および pH9 モデル試料の香気が脳波へ与える影響については図 12 に示した。有意な変化は認められなかったものの、コントロールと比較して、pH7 モデル試料を嗅いだ後に α 波の上昇と β 波の低下傾向が確認され、pH9 モデル試料を嗅いだ後に α 波の低下と β 波の上昇傾向が見られた。この傾向はメイラード反応試料と類似しており、メイラード反応試料中の特に香気寄与成分が脳波に関与したと示唆された。

3.1.2.4 2,3-ジメチルピラジンと DMHF の脳波 への 影響

AEDA 法の結果から、pH7 および pH9 メイラード反応試料において共通して最も FD 値が高かった香気成分は 2,3-ジメチルピラジンと DMHF であった。香気寄与成分の中でも、この 2 種が脳波の変化に大きく関与することが考えられた。香気成分によって引き起こされる生理作用は、濃度によって異なる生理作用を引き起こすこともあることから、この 2 種の香気成分を認知閾値付近から忌避濃度付近まで濃度を設定し、DMHF および 2,3-ジメチルピラジンの異なる濃度における脳波への影響を検討した。

図 13 に示すように、2,3-ジメチルピラジンの呈示した濃度すべてにおいて α 波の上昇と β 波の低下が観察され、0.07-30mg/L の濃度範囲においてヒトの脳に鎮静効果をもたらすことが示された。一方、DMHF は、2.5-100mg/L の範囲において濃度によって脳

波への影響が異なることが示された（図 14）。40mg/L 以下の濃度においては、DMHF を嗅いだ後に α 波は上昇し β 波は低下しており、脳の鎮静が認められた。実際にメイラード反応の生じた食品中に含まれる DMHF の濃度は、ワイン、ビール、および醤油中にそれぞれ 1.3, 2.6, および 2.7mg/L である^(82, 83)。これらの食品を摂取する際、香気を嗅ぐことで α 波が上昇し、鎮静効果をもたらすことが期待できる。一方で、40mg/L より高い濃度では α 波は低下し β 波は上昇した。pH9 試料中の DMHF 濃度は 57.72mg/L であり、pH9 メイラード反応香気を嗅いだ後に α 波が低下したことから、DMHF は pH9 メイラード反応試料における α 波の低下と β 波の上昇の原因ではないかと考えられた。以上より、グリシン-グルコース系モデルメイラード反応によって生成する香気成分はヒトの脳の鎮静状態を誘発し、気分においても緊張や疲労を緩和する作用があることが判明した⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾。特に、2,3-ジメチルピラジンと DMHF の関与が大きい、生成される量によっては α 波の低下と β 波の上昇、すなわち集中やリフレッシュ効果を示す可能性も明らかとなった。脳機能の鎮静化には様々なメカニズムが考えられるが、試料香気を嗅いだ後に素早く鎮静化が見られたことから、嗅覚器から直接脳辺縁系に電気信号が伝達され、脳が鎮静したと考えられる。さらに、緊張や疲労の気分も緩和したことから、脳の鎮静化に伴い、自律神経の中樞である視床下部にも影響があったと考える。

第二節 グリシン-グルコース系モデルメイラード反応に

よって生成する香気成分がヒトの自律神経系および中枢神経

系へ及ぼす影響

グリシン - グルコース系モデルメイラード反応によって生成する香気は脳の鎮静化に影響することが判明したが、その鎮静状態を誘発するメカニズムは不明である。本節では、緊張や疲労の気分が緩和された pH9 メイラード反応生成香気が生理機能に与える影響の詳細をさらに精査するため、ヒトにおける自律神経系と中枢神経系活動を評価した。従来、ヒト自律神経系活動の評価の大部分は心拍数や心電図によるものであるが^(68, 84-86)、これらの測定には様々な機器類を装着した状態で長時間の安静が不可欠でありパネリストの負担が大きく再現性の面などで課題が多くあった。本研究では、パネリストの意識や周囲の環境に影響せず、短時間での測定が可能な瞳孔縮瞳率および末梢皮膚温の測定を実施することとした。また、無侵襲で軽負担の NIRS 脳計測およびフリッカー試験をすることによって、中枢神経活動への作用を解析した。

3.2.1 実験方法

3.2.1.1 パネリスト

北里大学獣医学部動物資源科学科に所属する 20 歳から 27 歳の男女 26 名（男 13 名、女 13 名）を選出した。

3.2.1.2 試料の調製

3.1.1.1 と同様に pH9 メイラード反応試料を調製した。

3.2.1.3 試料の呈示と吸入

pH9 メイラード反応試料 10mL を褐色バイアル瓶に添加し 30 分間平衡させた。安静座位のパネリストに呈示し、2 分間バイアル瓶のヘッドスペース部分の空気を自然呼吸するよう指示した。

3.2.1.4 Profile of Mood State を用いた主観的気分評価

The Profile of Mood States 2nd edition (POMS)⁽⁹¹⁾を用いて試料香気を嗅ぐ前と嗅いだ後の気分変化を評価した。POMS は、気分・感情を評価するものであり第一節で用いた「気分評価尺度」よりさらに細かく主観的気分評価の変化を捉えることができる。POMS は、「怒り－敵意」(anger-hostility; AH)、「混乱－当惑」(confusion-bewilderment; CB)、「抑うつ－落込み」(depression-dejection; DD)、「疲労－無気力」(fatigue-inertia; FI)、「緊張－不安」(tension-anxiety; TA)、「活気－活力」(vigor-activity; VA)「友好」(friendliness; F)の 7 つの評価項目から構成される。尺度は、「0＝全くなかった, 1＝少しあった, 2＝まあまああった, 3＝かなりあった, 4＝非常に多くなった」と定義し、各評価項目における評価得点をデータとして記録した。

3.2.1.5 メイラード反応生成香気のヒト自律神経系活動への作用解析

(1) 縮瞳率測定

メイラード反応香気を吸入した際の瞳孔の対光反射による縮瞳率を測定することで自律神経系活動を評価した。縮瞳率測定は

瞳孔の光への反応が安定である午前中⁽⁹²⁾に行った。光照射前の瞳孔直径と光照射後の最小瞳孔径から算出する縮瞳率 (constriction rate, CR) を縮瞳計測装置 (浜松ホトニクス イリスコーダデュアル C10641) を用いて測定した。まず、コントロールとして、メイラード反応試料を嗅ぐ前の安静状態の縮瞳率測定を行った後、メイラード反応試料の香気を自然呼吸下 2 分間吸入し、継続して吸入しながら縮瞳率を測定した。香気吸入前後の縮瞳率を比較した。測定は、空調管理下の 25°C に設定された部屋で実施した。

(2) 指先温度測定

サーモセンサー (グラム株式会社 LT8 シリーズ) によってパネリストの利き手の人差し指の皮膚温度を測定した。パネリストは室温 25°C に設定した部屋に入室し、5 分後にコントロールとして指先温度を測定した。その後、自然呼吸下、閉眼・安静下で試料香気を 2 分間吸入し、吸入後の指先温度を測定した。香気吸入前と吸入後の指先温度の差を比較した。

3.2.1.6 メイラード反応生成香気のヒト中枢神経系活動への作用解析

(1) フリッカー試験

パネリストにハンディフリッカー (NEITZ 社製 ハンディフリッカー HF-II) の視標である $70 \pm 2\text{Hz}$ で明滅する緑色発色ダイオードを注視 (視標部とパネリストの目の距離: 約 25cm) させ、ちらつきを感じないことを確認した。次にパネリストの右親指でボタンを押し続け、ちらつきを感じた時にボタンから指を離させた。その時の周波数をフリッカー値とした。連続 5 回行い、最大値と

最小値を除いた 3 回の平均値を用いた。

(2) 脳血流解析

NIRS (スペクトラテック OEG-16) 近赤外線照射プローブと受光プローブを 3cm 間隔で配置したホルダーを 10/20 電極配置法に準じてパネリストの前額部に装着した。近赤外線の波長は 840nm と 770nm の 2 波長で、測定チャンネル数は 16 チャンネルである。プローブを装着した後、2 分間の安静時の前頭葉酸素化ヘモグロビン (HbO_2) 量を測定しコントロールとした。その後試料香気を嗅ぎながらの 2 分間、香気吸入終了後の 2 分間の HbO_2 量の変化を継続して測定した。 HbO_2 濃度の変化は、照射プローブおよび受光プローブから近赤外線吸収の変化を検出し、パソコンにより数値化して評価した。 HbO_2 濃度変化の結果を画像として表示する際、前頭葉において HbO_2 濃度が上昇した部分を赤色、低下した部分を青色で示した。

3.2.1.7 統計処理

すべてのデータを平均値 \pm 標準誤差で表し、対応のある Student's paired *t*-test を用いて行った。有意水準は 5% とした。

3.2.2 結果および考察

3.2.2.1 POMS による主観的気分評価

図 15 に主観的気分評価の結果を示した。その結果、メイラード反応香気の吸入により「怒り－敵意 (AH)」および「緊張－不安 (TA)」の得点が有意に低下し、怒りの感情と他者への反感気分

が弱くなったことが示された。また、TA の得点が低下したことから、不安感が緩和されることが明らかとなった。本章第一節での簡易的な気分評価と POMS による詳細な気分評価を総合して考察すると、メイラード反応生成香気を吸入することによって、ネガティブな気分が緩和する傾向になり、特に緊張や疲労、怒りや不安感が和らぐことが明らかとなった。

3.2.2.2 メイラード反応試料のヒトの自律神経系活動に及ぼす影響

(1) メイラード反応試料が縮瞳率へ及ぼす影響

メイラード反応生成香気はヒトの気分を落ち着かせると同時に、自律神経系活動にも影響し鎮静作用を引き起こすことが考えられた。そこでまず、瞳孔縮瞳率を測定した結果（図 16. A）、メイラード反応香気の吸入前と比較して吸入後では、有意に縮瞳率が上昇した（ $p < 0.00001$ ）。瞳孔反応に関与する瞳孔括約筋、瞳孔拡大筋はそれぞれ副交感、交感神経に支配されている。主に瞳孔括約筋は副交感神経が支配し、瞳孔拡大筋は交感神経が支配している⁽⁹³⁻⁹⁶⁾。鎮静状態では副交感神経系が優位であり、縮瞳率が上昇する。一方、交感神経系が優位であると縮瞳後の散瞳速度が速くなり縮瞳率が低下する⁽⁹⁷⁻¹⁰⁰⁾。縮瞳率が有意に上昇したことから、メイラード反応生成香気により副交感神経系が優位になったと考えられた。副交感神経系の優位な状態は、副交感神経系活動の増加、もしくは交感神経系活動の抑制が考えられたため、次に末梢皮膚温（指先温度）に及ぼす影響を解析することで交感神経系活動を評価した。

(2) メイラード反応試料が末梢皮膚温へ及ぼす影響

指先の皮膚には交感神経の括約筋神経 (adrenergic constrictor nerves) が存在するため、指先の血流状態や皮膚温度は交感神経系活動の指標として広く用いられている⁽¹⁰¹⁾。メイラード反応生成香気による指先温度の変化を図 16. (B)に示した。香気を吸入する前の指先温度は $31.28 \pm 0.27^{\circ}\text{C}$ であった。香気吸入後の指先温度は、 $2.28 \pm 0.24^{\circ}\text{C}$ の上昇が確認され、吸入前と比較して有意に上昇したことが判明した ($p < 0.001$)。このことから、メイラード反応香気は指先動脈交感神経を抑制することで、血管拡張により皮膚温度が上昇したことが明らかとなった。縮瞳率の結果と総合すると、メイラード反応生成香気の吸入は、交感神経系活動を抑制し、副交感神経系が優位になることで、鎮静効果を誘発すると考えられた。

ところで、発酵緑茶の摂取により手足の皮膚温度が $1.74\text{-}2.52^{\circ}\text{C}$ 上昇し冷え症予防効果があること⁽¹⁰²⁾や、ローズ精油を用いてマッサージした後に皮膚温が有意に上昇し心拍数が低下するリラックス効果があること⁽¹⁰³⁾が報告されている。また、寒冷ストレス、疼痛、精神的作業負荷などの交感神経刺激により血管が収縮し皮膚温度が低下することも報告されている⁽¹⁰¹⁾。メイラード反応生成香気の血液流動性への影響については本研究では検討していないが、これらの報告から、メイラード反応生成香気には末梢循環改善効果や血液流動性向上効果も期待できる。

3.2.2.3 メイラード反応試料がヒトの中枢神経系活動に及ぼす影響

(1) フリッカー値計測による脳活動度の評価

メイラード反応生成香気の吸入前および吸入後のフリッカー値を図 16. (C)に示した。香気吸入後においてフリッカー値が低下する傾向が見られたが有意差は認められなかった。フリッカー値は中枢神経、特に視覚中枢の興奮性を表す有用な指標であり、精神的な集中や注意により上昇し、弛緩によって低下する^(104, 105)。本研究において、メイラード反応生成香気の視覚中枢の顕著な興奮や鎮静は確認できなかった。

(2) NIRS を用いた脳血流解析

パネリストの前頭部に NIRS のプローブを装着し、メイラード反応香気吸入による前頭葉の HbO_2 量を測定した。前頭部から照射した近赤外線が前頭葉の HbO_2 に反射し、それをプローブで検出することで HbO_2 の濃度を測定し、脳の活性化状態を評価することができる。具体的には、集中や興奮によって脳が活発化した部分の HbO_2 濃度は増加し、鎮静などによって脳の活動が低下している部分の HbO_2 濃度は低下する⁽¹⁰⁶⁾。図 17 に示したように、メイラード反応生成香気吸入中にパネリストの前頭前野前額中央部で有意な HbO_2 濃度の低下が認められ、前頭前野の脳活動が鎮静化したことが判明した。

以上のことから、メイラード反応生成香気は、ヒトの交感神経活動を抑制するとともに、高次の中枢神経活動にも作用することで鎮静効果を誘発し、気分や感情に影響を与えることが明らかになった。

第三節 大脳機能の鎮静化に關与する香気成分の検索

本節では、グリシン - グルコース系メイラード反応によって生成する香気寄与成分、すなわち、2,3-ジメチルピラジンと DMHF が単独で、ヒトの気分や、自律神経系さらには中枢神経系活動に及ぼす影響を検討した。

3.3.1 実験方法

3.3.1.1 パネリスト

3.2.1 と同様である。

3.3.1.2 試料の調製とパネリストへの呈示

2,3-ジメチルピラジンと DMHF は、pH9 メイラード反応試料中の濃度、すなわち 2,3-ジメチルピラジンは 0.9mg/L、DMHF は 58mg/L となるように調製した。これらはそれぞれ 10mL ずつ褐色バイアル瓶に分注した。常温で 30 分間平衡させて、香気をヘッドスペースに充満させたものをパネルに呈示した。また、褐色バイアル瓶に 10mL の蒸留水を分注したものを入れ、コントロールとした。これらは 3.2.1.3 と同様にパネリストに呈示した。

3.3.1.3 POMS による主観的気分評価、縮瞳率測定、指先温度測定、フリッカー試験および脳血流解析

3.2.1.5 (2)、3.2.1.6 (1)、および 3.2.1.6 (2) と同様に行った。統計処理については、3.2.1.7 と同様にデータ処理した。

3.3.2 結果および考察

3.3.2.1 POMS による主観的気分評価

2,3-ジメチルピラジンおよび DMHF がヒトの気分へ及ぼす影響を図 18 に示した。DMHF の香気を嗅いだ後に AH (怒り－敵意)、FI (疲労－無気力)、TA (緊張－不安) の項目における得点が有意に低下した (いずれも $p<0.05$)。このことから、DMHF の香気は怒りの感情や身体的および心理的疲労を抑え、緊張や不安感を緩和する効果があることが示された。DMHF 単一成分による効果はメイラード反応生成香気のおよび DMHF の香気への影響と類似しており、メイラード反応生成香気のおよび DMHF の香気への影響は主に DMHF に起因していることが示唆された。しかし、2,3-ジメチルピラジンの香気を嗅ぐことによる顕著な変化は見られなかった。

パネリストに呈示した 2,3-ジメチルピラジンの濃度は 0.9mg/L と低く、香気の認知 (その成分がどのような香気の特徴を示すか確実にわかること) がかなり困難な濃度であった。香気の認知がない状況であっても気分に影響することや生理作用を誘発する報告もあるが^(5, 97)、2,3-ジメチルピラジンによる気分への影響は香気の認知が重要であることが示唆された。

3.3.2.2 2,3-ジメチルピラジンと DMHF がヒトの自律神経系活動に及ぼす影響

2,3-ジメチルピラジンと DMHF の吸入による縮瞳率の変化を図 19. (A) に示した。両香気成分とも、香気吸入後に縮瞳率が有意に増加し (DMHF : $p<0.005$ 、2,3-ジメチルピラジン : $p<0.00001$)、

副交感神経系が優位になったことが示された。また、これら 2 種の香気成分の吸入による指先温度の変化を図 19. (B)に示した。2,3-ジメチルピラジンの吸入により指先温度が有意に $2.08 \pm 0.19^{\circ}\text{C}$ ($p < 0.00001$) 上昇し、DMHF 吸入後に指先温度が有意に $2.20 \pm 0.19^{\circ}\text{C}$ ($p < 0.00001$) 上昇した。指先の動脈交感神経活動が有意に抑制されたことで末梢循環が改善し皮膚温が上昇したと考えられる。さらに、縮瞳率の差が大きいグループと差が小さいグループに分け、縮瞳率および指先温度を比較したところ、縮瞳率の差が大きいグループにおいて指先温度の変化も高い傾向であった(表 7)。すなわち、交感神経活動が抑制され、指先温度への影響が大きい人ほど、CR への影響(副交感神経系が優位である鎮静効果)も大きい傾向があることが示唆された。メイラード反応で生成する多種の香気成分のうち少なくともこの 2,3-ジメチルピラジンと DMHF は、交感神経活動を抑制し、副交感神経系を優位にする鎮静効果があることが検証された。

3.3.2.3 2,3-ジメチルピラジンと DMHF がヒトの中枢神経系活動に及ぼす影響

図 19. (C)に香気吸入によるフリッカー値の変化を示した。DMHF 吸入後にフリッカー値の低下傾向が見られたが、有意な差は認められなかった。一方、2,3-ジメチルピラジンの吸入によって、フリッカー値の有意な低下 (-1.04 ± 0.28) が見られことから、2,3-ジメチルピラジンの香気は中枢神経、特に視覚中枢を鎮静化する効果があると考えられた。メイラード反応生成香気では視覚中枢の顕著な鎮静は認められなかったが、2,3-ジメチルピラジン

単一成分では鎮静が示された。本研究では検証しなかったが、仮にストレス負荷状態で 2,3-ジメチルピラジン吸入した場合、鎮静によるストレス軽減効果もあると考えられた。

前頭葉の HbO_2 濃度は、2,3-ジメチルピラジンと DMHF の両香気吸入中に前頭前野前額中央部で有意に減少し（図 20, 21）、2,3-ジメチルピラジンと DMHF の吸入により大脳活動が鎮静化したことが判明した。メイラード反応生成香気吸入により HbO_2 濃度が減少したことから、2,3-ジメチルピラジンと DMHF の単一成分は前頭前野の活動の鎮静化に貢献していることが示された。

DMHF の吸入により、緊張や疲労、不安な気分が緩和され、自律神経系および中枢神経系活動を鎮静化したことが認められた。一方、2,3-ジメチルピラジンは、DMHF と同様に自律神経系、中枢神経系へ鎮静効果が見られたが、気分には影響しなかった。このことから、メイラード反応生成香気が気分には及ぼす影響は DMHF に起因しており、自律神経系・中枢神経系への影響は 2,3-ジメチルピラジンと DMHF の両方が関与していることが考えられた。

香気成分による気分への影響は必ずしも起こることではなく、明らかな生理的変化が現れる場合であっても、主観的な気分にはまったく影響しないこともある。例えば、高濃度のジャスミン茶香気は、副交感神経活動を増加させるが、気分には影響しない⁽⁷⁴⁾。矢田⁽⁹⁷⁾は、セダーウッドの主要香気成分であるセドロールについて、ヒトに対しては閾値以下であっても、副交感神経活動の促進に貢献し、鎮静効果があることを明らかにした。第一章で述べたように、香気成分には主観的な嗜好によって生理作用を誘発する心理的効果もあるが、本研究で検証された 2,3-ジメチルピラジンの中枢

神経系および自律神経系に対する鎮静効果は、薬理的な効果であることが示唆された。2,3-ジメチルピラジンの α 波および β 波への影響からも、濃度の違いによる大きな変化はなく、薬理的な作用を示唆するものであると考えられる。一方で DMHF は主観に影響される可能性が高く、脳波への影響も濃度に依存することから、DMHF の嗜好と生理作用には強い関係性が存在すると考えられる。

第四章 総括

食品の調理・加工過程において見られる化学反応として重要なものに、非酵素的褐変反応がある。非酵素的褐変反応の主要なものにメイラード反応があり、食品中に含まれるアミノ酸やペプチド、タンパク質などのアミノ化合物と還元糖などのカルボニル化合物が反応する。この反応により、褐色色素成分と共に様々な香気成分が生成し、食品の品質に影響を及ぼす。メイラード反応は高温加熱条件において起こりやすいが、低温であっても長期間の保存や熟成において反応は穏やかに進行する。メイラード反応により生成する褐色色素成分であるメラノイジンは、食品に好ましい色調や抗酸化作用などの機能性を付与する。さらに、生成される多種類の加熱香気成分は、食品の嗜好性に深く関与している。このような香気成分は、生理作用を有することも示唆されている。しかし、これまで報告されている生理作用を有する香気成分の多くは香草や果実由来のものであり、メイラード反応によって生成する香気成分についての詳細な研究はほとんど行われていない。

ところで、食品中の香気成分が鼻先あるいは咀嚼中に後鼻孔から鼻腔に流入した後、覚醒や鎮静作用をもたらすことがあり、その作用機序と効果について多くの研究がされてきた。香気成分による生理作用には、心理的あるいは薬理的な作用機序が存在する。このうち薬理的な作用には二つの経路あり、一つは呼吸器系粘膜から血液に取り込まれ、血液脳関門を通過し脳内神経細胞にある受容体に影響する経路である。もう一つは、鼻腔に流入した香気成分が嗅覚受容体と結合し、生じた電気信号が脳に伝達され、大脳

辺縁系の中枢である視床下部を介し自律神経系や内分泌系に影響する経路である。本研究では、食品中で起こるメイラード反応によって生成する香気成分が有する生理作用を明らかにし、その作用機序を解明することを目的とし、以下の結果を得た。

1. 食肉タンパク質分解物のメイラード反応によって生成する香気成分の生理作用

食肉タンパク質をプロテアーゼ処理して得た分解物（主にアミノ酸とペプチド）と還元糖（キシロース）を混合し、90℃で240分間加熱したメイラード反応物の香気を Wistar ラットに曝露して、香気吸入による収縮期血圧への影響を検討した。香気の曝露開始直後から血圧の低下が見られ、曝露開始5分後から継続して血圧が有意に低下した。この血圧の変化は香気曝露開始後数分という早い段階で観察されたことから、嗅覚器を経て脳に電気信号が伝達された後、自律神経系を介したことによって血圧へ影響した可能性が考えられた。

この血圧低下に関与する香気成分を明らかにするため、GC-MSによってメイラード反応香気成分を同定した。さらに、単一香気成分によるラットの収縮期血圧への影響を検討した。その結果 DMHF において、有意な血圧低下が認められた。鼻腔内を硫酸亜鉛で処理した嗅覚麻痺ラットに DMHF を曝露しても血圧低下は認められず、DMHF は嗅覚器を介して血圧に影響したことが確認された。さらに、ラットの腎臓交感神経および胃迷走神経活動を測定した結果、DMHF 曝露によって、腎臓交感神経活動の抑制および胃迷走神経活動の亢進が観察された。以上のことから、食肉タ

ンパク質の分解により生成するペプチドやアミノ酸とキシロースのメイラード反応で生成する香気のうち DMHF は、嗅覚器を介して脳に電気信号が伝達された後自律神経系に作用し、血圧低下が誘発されたことが示された。

2. グリシン - グルコース系モデルメイラード反応によって生成する香気成分の生理作用

第二章の血圧への影響から、メイラード反応生成香気はヒトに対しても自律神経系などに影響し鎮静的効果をもたらすことが推測される。そこで、メイラード反応によって生成した香気は、実際にヒトの生理機能に及ぼす影響とそれによる気分への影響について検討した。等量のグリシンとグルコース溶液を pH9 に調製し、メイラード反応をさせた試料の香気吸入による前頭前野の α 波および β 波の分布率を測定して大脳活動の鎮静化を評価した。その結果、 α 波分布率の低下傾向および β 波分布率の上昇傾向が確認された。 β 波は、脳のリフレッシュ状態から極度の興奮状態に至るまで検出される脳波であるが、本研究で得られた数値から香気吸入によりリフレッシュ状態になるものと評価された。また香気吸入による主観的気分評価から、「緊張感」および「疲労感」における評価得点が有意に低下することが示され、脳のリフレッシュによる緊張や疲労の緩和が示唆された。この脳波と気分への影響をさらに精査するため、香気吸入による瞳孔縮瞳率および皮膚温を測定し、ヒトにおける自律神経活動を評価した。また、NIRS およびフリッカー試験によって、メイラード反応生成香気成分の中樞神経活動への作用を解析した。縮瞳率の上昇は副交感神

経系の指標となり、縮瞳後の散瞳速度の上昇は交感神経系の指標となる。メイラード反応生成香気の吸入によって瞳孔縮瞳率の上昇が確認され、副交感神経活動が上昇したことが示された。これには、副交感神経活動が優位である以外に、交感神経活動の抑制により副交感神経活動が上昇した可能性も考えられた。皮膚温の上昇が認められたことから、末梢血管の拡張に関わる交感神経活動の抑制によって副交感神経活動が上昇したことが明らかとなった。また、フリッカー値は香気吸入後において低下する傾向が見られ、視覚中枢の興奮を抑える作用が示唆された。NIRSによる前頭部の血流動態を解析したところ、香気吸入中に前頭前野前額中央部で有意な HbO_2 の減少が認められ、中枢神経系活動を鎮静化する効果が見られた。この作用を有する香気成分を特定した結果、2,3-ジメチルピラジンおよび DMHF であった。以上より、メイラード反応生成香気成分である 2,3-ジメチルピラジンおよび DMHF は、ヒトの自律神経系活動、特に交感神経活動を抑制するとともに、中枢神経活動にも作用することで鎮静効果を発見し、気分や情動に影響を与えている可能性が示された。

メイラード反応によって生成する香気成分である DMHF および 2,3-ジメチルピラジンは、加熱食品に甘く香ばしい香調を与えることから、嗜好性に強く影響する化合物である。本研究では、これらの香気成分は嗜好性に寄与するだけでなく、嗅覚器を介して交感神経活動の抑制および副交感神経活動の亢進という生理機能を有することを解明した。

3. まとめと展望

以上より、ペプチドやアミノ酸由来のメイラード反応によって生成する香気は、交感神経系活動を抑制し、副交感神経系を優位にすることで生体を鎮静効果があることが明らかとなった。また、中枢神経活動の鎮静化や、緊張や不安などの気分の緩和にも関連することが判明した。特に DMHF や 2,3-ジメチルピラジンがこれらに関与することが判明し、生理作用の誘発メカニズムも明らかとなった。

これまで、香気成分の鎮静作用や集中力向上作用、睡眠増進作用などに関わる香気成分は植物由来のものがほとんどであったが、本研究により、食品の加熱・調理過程で生成された香気成分の生理作用が示され、学術的にも重要な新規的知見が得られた。これらの香気成分には食欲をそそる嗜好性の高いものが多く、かつ食品由来成分であるため、安全性に優れており生体への副作用などの懸念も少ない。本研究で得られたメイラード反応生成香気の生理作用に関する知見を活かし、様々な分野への応用に提案することができると考えられる。例えば、食品添加物として利用する際、嗜好性と機能性を兼ね備えた価値の高い香料として提案できるほか、この香料を利用した食品の開発も大いに期待できる。今後、食品の香気成分の新たな機能性を有効活用することで、人々の生活を豊かにし、生活の質の向上や健康維持に貢献できると考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始丁寧なご指導、ご鞭撻を賜り、暖かく見守って下さいました北里大学教授有原圭三先生に深く感謝を申し上げます。また、常に丁寧なご指導、細部にわたるご助言を賜り、優しい言葉で私を励まして下さいました京都教育大学大畑素子講師に深く感謝を申し上げます。

本研究をまとめるにあたり、多大なるご助言を賜りました北里大学獣医学部教授 黒瀬陽平先生、向井孝夫先生、山脇英之先生、ならびに神奈川工科大学応用バイオ科学部教授 飯島陽子先生に心より感謝を申し上げます。

ヒトを対象とする自律神経系および中枢神経系活動評価に関して、研究設備を提供していただき、また、親切なご指導と貴重なご意見を賜りました筑波大学大学院グローバル教育院教授 矢田幸博先生に深謝申し上げます。

ラットの自律神経系活動評価実験および解析において、多大なるご指導と有益なご助言を下さいました大阪大学名誉教授 永井克也先生に深謝申し上げます。

本研究にあたり、多くのご協力と励ましを下さいました大鷲智慧氏に厚く御礼を申し上げます。

共同で本研究を進め、有意義な議論およびご協力をいただいた食品機能安全学研究室の大辻加奈氏、三由航氏、廣田知佳氏、山際結花氏、小野瀬和也氏、山下駿輝氏、小林真帆美氏に厚く御礼を申し上げます。

度重なる自律・中枢神経系活動評価に快く協力して下さいま

した北里大学獣医学部の卒業生に心から感謝を申し上げます。

そして日々、研究室での学生生活において、暖かくご応援くださり、励ましてくださった北里大学食品機能安全学研究室の皆様
に深く御礼を申し上げます。

最後に、ここに至るまでの学生生活を様々な面から私を見守り、
支え続けてくれた家族に心より感謝します。ありがとうございました。

引用文献

1. 広山均．2013．第三章香料の歴史．pp. 67-73．最新香料の事典（普及版）（荒井綜一，小林彰夫，矢島泉，川崎道昭編集）．朝倉書店，東京．
2. ルネ＝モーリス・ガットフォセ．2006．第五章アロマセラピー．pp. 71．ガットフォセのアロマセラピー（ロバート・テイスランド編集）．フレグランスジャーナル社，東京．
3. 土師信一郎．2010．アロマコロジー，アロマコロジー評価．pp. 78．香りの百科事典（谷田貝光克編集）．丸善株式会社，東京．
4. Buck, L. and Axel, R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* **65**: 175-87.
5. Herz, R.S. 2009. Aromatherapy facts and fictions: a scientific analysis of olfactory effects on mood, physiology and behavior. *Int. J. Neurosci.* **119**: 263-90.
6. 坂井信之．2008．第三章においの生理心理学．pp. 58．においの心理学（綾部早穂，斉藤幸子編集）．フレグランスジャーナル社，東京．
7. 青島均．2007．第一章香りに安らぎ効果はあるのでしょうか．pp. 6-7, 80-1．香りの科学はどこまで解明されたか．フレグランスジャーナル社，東京．
8. 井上重治，石原浩子，内田勝久，山口英世．2000．アロマバス（芳香湯浴）における水難溶性テルペン炭化水素およびエステル成分の優先的マウス皮膚吸収と組成変動について．

Aroma Res. **2**: 75-83.

9. Filipsson, A.F. 1996. Short term inhalation exposure to turpentine: toxicokinetics and acute effects in men. *Occup. Environ. Med.* **53**: 100-5.
10. 熊谷千津, 堀井裕子, 沈嬌, 谷田守, 新島旭, 岡田嘉仁, 奥山徹, 沢村正義, 永井克也. 2009. ユズ (*Citrus junos*) 精油の匂い刺激による自律神経制御を介したエネルギー代謝への影響. *Aroma Res.* **10**: 156-61.
11. Shen, J., Niijima, A., Tanida, M., Horii, Y., Maeda, K. and Nagai, K. 2005. Olfactory stimulation with scent of grapefruit oil affects autonomic nerves, lipolysis and appetite in rat. *Neurosci. Lett.* **380**: 289-94.
12. Jousse, F., Jongen, T., Agterof, W., Russell, S. and Braat, P. 2002. Simplified kinetic scheme of flavor formation by the Maillard reaction. *J. Food Sci.* **67**: 2534-42.
13. 奥村 丞司. 1991. メイラード反応によるフレーバーの生成. 澱粉科学 **38** : 81-92.
14. Oh, Y. C., Shu, C. K. and Ho, C. T. 1991. Some volatile compounds formed from thermal interaction of glucose with glycine, diglycine, triglycine, and tetraglycine. *J. Agric Food Chem.* **39**: 1553-4.
15. Kim, J. S. and Lee, Y. S. 2009. Antioxidant activity of Maillard reaction products derived from aqueous glucose/glycine, diglycine, triglycine model system as a function of heating time. *Food Chem.* **116**: 227-32.

16. Lu, C. Y., Hao, Z., Payne, R. and Ho, C. T. 2005. Effects of water content on volatile generation and peptide degradation in the Maillard reaction of glycine, diglycine, and triglycine. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 6443-7.
17. Ames, J. M., Guy, R. C. and Kipping, G. J. 2001. Effect of pH, temperature, and moisture on the formation of volatile compounds in glycine/glucose model systems. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 4315-23.
18. Martinus, S. I., Martins, A.J.S. and van Boekel, M. A. 2005. Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: influences of pH and reactant initial concentrations. *Food Chem.* **92**: 437-48.
19. Martinus, S. I., Jongen, W. M. and van Boekel, M.A. 2001. Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: influences of pH and reactant initial concentrations. *Trends Food Sci. Technol.* **11**: 364-73.
20. Ajandouz, E. H. and Puigserver, A. 1999. Nonenzymatic browning reaction of essential amino acids: effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 1786-93.
21. Wong, K. H., Aziz, S. A. and Mohamed, S. 2008. Sensory aroma from Maillard reaction of individual and combinations of amino acids with glucose in acidic conditions. *Int. J. Food Sci. Technol.* **43**: 1512-9.
22. Hodge, J. E. 1953. Chemistry of browning reactions in model

- systems. *J. Agric. Food Chem.* **1**: 928-43.
23. van Boekel, M. A., 2006. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnol Adv.* **24**: 230-3.
24. Oh, Y. C., Shu, C. K. and Ho, C. T. 1992. Formation of novel 2(1*H*)-pyraziones as peptide-specific Maillard reaction products. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 118-21.
25. Morales, F. J., Somoza, V. and Fogliano, V. 2012. Physiological relevance of dietary melanoidins. *Amino Acids.* **42**: 1097-109.
26. 木村ふみ子, 宮澤陽夫. 2016. 第 15 章メイラード反応と保健的機能性. pp. 137-42. メイラード反応の機構・制御・利用 (深澤郁恵, 廣澤文編集). 株式会社シーエムシー出版, 東京.
27. 早瀬文孝. 1993. 食品中のメイラード反応生成物と機能性. 日本醸造協会誌 **88**: 421-5.
28. 加藤博道. 1991. メイラード反応生成物の安全性と食品機能. 澱粉科学 **1**: 109-14.
29. Konagai, C. 2006. Physiological evaluation of the effects of food aroma on brain function. *J. Int. Soc. Life Info. Sci.* **24**: 76-8.
30. 小長井ちづる. 2006. 食品の香りが脳機能に与える影響の生理学的検討. *J. Int. Soc. Life Info. Sci.* **24**: 79-81.
31. 菅沼大行, 稻熊隆博. 2002. 麦茶のフレーバー成分であるピラジン類の血液流動性向上作用. *Aroma Res.* **10**: 138-41.
32. 増尾好則. 2008. コーヒー豆の芳香によるストレス抑制効果: 脳内遺伝子および蛋白質発現の変化. *Aroma Res.* **9**: 354-

61.

33. 有原圭三, 新井健夫, 大畑素子, 石川伸一, 伊藤良. 2013. コラーゲンを原料とする保健的機能性と嗜好性向上効果を備えた食品・ペットフード素材. 特許 5326489, 日本国特許庁.
34. 西村仁志, 大鷲智慧, 和知俊, 大畑素子, 有原圭三. 2011. 食肉タンパク分解物から調製したメイラード反応生成物の保健的機能. 日本畜産学会第 114 回大会講演要旨集. pp. 176.
35. Escudero, E., Aristoy, M.C., Nishimura, H., Arihara, K. and Toldrá, F. 2012. Antihypertensive effects and antioxidant activity of peptide fractions extracted from Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.* **91**: 306-11.
36. Nakashima, Y., Arihara, K., Sasaki, A., Mio, H., Ishikawa, S. and Itoh, M. 2002. Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. *J. Food Sci.* **67**:434-37.
37. Horii, Y., Tanida, M., Shen, J., Hirata, T., Kawamura, N., Wada, A. and Nagai, K. 2010. Effects of Eucommia leaf extracts on autonomic nerves, body temperature, lipolysis, food intake, and body weight. *Neurosci. Lett.* **479**: 181-6.
38. Nagai, K., Niijima, A., Horii, Y., Shen, J. and Tanida, M. 2014. Olfactory stimulatory with grapefruit and lavender oils change autonomic nerve activity and physiological function. *Auton. Neurosci.* **185**: 29-35.
39. Tanida, M., Niijima, A., Shen, J., Nakamura, T. and Nagai, K.

2006. Olfactory stimulation with scent of lavender oil affects autonomic neurotransmission and blood pressure in rats. *Neurosci. Lett.* **398**: 155-60.
40. 貴邑富久子, 根来英雄. 2010. 第4章神経系機能. pp. 59-60. シンプル生理学. 株式会社南江堂, 東京.
41. 久保田紀久枝. 1996. 機器分析による香気評価-Aroma Extract Dilution Analysis 法-. 日本味と匂学会誌 **3**: 95-8.
42. Grosch, W. 1993. Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends Food Sci. Technol.* **4**: 68-73.
43. Grosch, W. 1994. Determination of potent odourants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). *Flavour Fragrance J.* **9**: 147-58.
44. Grosch, W. 2001. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chem. Senses* **26**: 533-45.
45. Du, X., Plotto, A., Baldwin, E. and Rouseff, R. 2011. Evaluation of volatiles from two subtropical strawberry cultivars using GC-olfactometry, GC-MS odor activity values, and sensory analysis. *J. Agric. Food Chem.* **59**: 12569-77.
46. Wein, M., Lavid, N., Lunkenbein, S., Lewinsohn, E., Schwab, W. and Kaldenhoff, R. 2002. Isolation, cloning and expression of a multifunctional O-methyltransferase capable of forming 2,5-dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone, one of the key aroma compounds in strawberry fruits. *Plant J.* **31**: 755-65.

47. Wei, C. B., Liu, S. H., Liu, Y. G., Lv, L. L., Yang, W. X. and Sun, G. M. 2011. Characteristic aroma compounds from different pineapple parts. *Molecules* **16**: 5104-12.
48. Colin Slaughter, J. 1999. The naturally occurring furanones: formation and function from pheromone to food. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **74**: 259-76.
49. Wang, Y. and Ho, C. T. 2008. Formation of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone through methylglyoxal: a Maillard reaction intermediate. *J. Agric. Food Chem.* **56**: 7405-9.
50. Hayase, F., Bong Kim, S. and Kato, H. 1985. Maillard reaction products formed from D-glucose and glycine and the formation mechanisms of amides as major components. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 2337-41.
51. 国立医薬品食品衛生研究所. 2011. 食品安全情報(化学物質) <<http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfonews/index.html>> 2011. 10. 05. pp. 6. 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部.
52. Sung, W. S., Jung, H. J., Park, K., Kim, H. S., Lee, I. S. and Lee, D. G. 2007. 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone (DMHF); antimicrobial compound with cell cycle arrest in nosocomial pathogens. *Life Sci.* **80**: 586-91.
53. Ohata, M., Zhou, L., Owashi, C. and Arihara, K. 2014. The effects of odor generated from protein digests and reducing sugar by the Maillard reaction on blood pressure. *IMARS Highlights*. **3**: 21-5.
54. 井上重治, 山口英世. 2000. 芳香浴における精油蒸気のマウ

- ス吸収. *Aroma Res.* **1**: 72-9.
55. E. ジョイ. ボウルズ. 2014. 第五章身体機能とエッセンシャルオイル. pp. 91. アロマセラピーを学ぶためのやさしい精油科学. フレグランスジャーナル社, 東京.
 56. Winans, S. S. and Powers, J. B. 1997. Olfactory and vomeronasal deafferentation of male hamsters: histological and behavioral analyses. *Brain Res.* **126**: 325-44.
 57. Kagawa, D., Jokura, H., Ochiai, R., Tokimitsu, I. and Tsubone, H. 2003. The sedative effects and mechanism of action of cedrol inhalation with behavioral pharmacological evaluation. *Planta Med.* **69**: 632-36.
 58. 伊藤謙. 2014. シソ科植物由来芳香成分の鎮静活性に関する研究. <<http://hdl.handle.net/2433/188735>> Kyoto University research information repository, 002 学位論文.
 59. 尾前照雄. 1998. 1 血圧とは何か. pp. 12-6. 血圧の話. 株式会社岩波書店, 東京.
 60. 本郷道夫. I 自律神経概説. pp. 20-2. 自律神経の基礎と臨床 (後藤由夫, 本郷道夫編集). 株式会社医薬ジャーナル社, 大阪.
 61. 好田裕史. 2015. ウィスキーの香りによるストレス制御. *Aroma Res.* **61**: 14-9.
 62. 川口恭輔, 小谷恵, 永井克也. 2014. 発酵乳の香りが自律神経活動と行動に及ぼす影響. *Aroma Res.* **60**: 44-9.
 63. 永井克也. 2006. 嗅覚刺激の自律神経と生理機能に与える影響. 日本味と匂学会誌 **13**: 157-68.

64. Yamaguchi, K., Noumi, Y., Nakajima, K., Nagatsuka, C., Aizawa, H., Nakawaki, R., Mizude, E., Otsuka, Y., Homma, T. and Chuyen, N. V. 2009. Effects of salt concentration on the reaction rate of Glc with amino acids, peptides, and proteins. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**: 2379-83.
65. Parker, J. K. 2013. The kinetics of thermal generation of flavour. *J. Sci. Food Agric.* **93**, 197-208.
66. Engel, W., Bahr, W. and Schieberle, P. 1999. Solvent assisted flavor evaporation – a new and versatile technique for careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol.* **209**: 237-41.
67. Murao, S. Yoto, A. and Yokogoshi, H. 2013. Effect of smelling green tea on mental status and EEG activity. *Int. J. Affective Eng.* **12**: 37-43.
68. 鳥毛逸平, 外池光雄. 2014. お線香の香りがヒトに及ぼす反応. *Aroma Res.* **59**: 212-9.
69. 岡本雅子, Singh, A. K., 東原和成. 2014. 脳波と fNIRS による香りの計測. *Aroma Res.* **59**: 220-5.
70. 下田満哉, 佐々木仁, 土井由長, 亀田弥, 箴島豊. 1989. 具体的匂い用語のキャラクター化. 日本食品工業学会誌 **36**: 17-25.
71. 飯塚佳子, 森田香絵, 相島鐵郎. 2002. 定量的記述分析法 (QDA 法) の特徴と展望. 日本官能評価学会誌 **6**: 138-45.
72. 鈴木武史, 引地聡, 鈴木直人. 2003. 香りにより喚起される気分の評価尺度. *Aroma Res.* **3**: 233-8.

73. 永井正則. 1999. 香りの嗜好とヒトの生活. 生活工学研究 **1**: 50-5.
74. Inoue, N., Kuroda, K., Sugimoto, A., Kakuda, T. and Fushiki, T. 2003. Autonomic nervous responses according to preference for the odor of jasmine tea. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**: 1206-14.
75. Heuberger, E., Hongratanaworakit, T., Böhm, C., Weber, R. and Buchbauer, G. 2001. Effects of chiral fragrances on human autonomic nervous system parameters and self-evaluation. *Chem. Senses* **26**: 281-92.
76. Juneja, L. R., Chu, C. D., Okubo, T., Nagato, Y. and Yokogoshi, H. 1999. L-theanine-a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans. *Trends Food Sci. Technol.* **10**: 199-204.
77. 小林加奈理, 長戸有希子, 青井暢之, L. R. ジュネジャ, 金武祚, 山本武彦, 杉本助男. 1998. L-テアニンのヒトの脳波に及ぼす影響. 日本農芸化学会誌 **72**: 153-7.
78. Abdou, A. M., Higashiguchi, S., Horie, K., Kim, M., Hatta H. and Yokogoshi, H. 2006. Relaxation and immunity enhancement effects of γ -Aminobutyric acid (GABA) administration in humans. *BioFactors* **26**: 201-8.
79. Sayorwan, W., Ruangrungsi, N., Piriyaipunyporn, T., Hongratanaworakit, T., Kothabhakdi N. and Siripornpanich, V. 2013. Effects of inhaled rosemary oil on subjective feelings and activities of the nervous system. *Sci. Pharm.* **81**: 531-42.

80. Field, T., Miguel, D, Hernandez-Reif, M., Cisneros, W. Vera, Y. and Gil, K. 2005. Lavender fragrance cleansing gel effects on relaxation. *Int. J. Neurosci.* **115**:207-22.
81. Ray, W. J. and Cole, H. W. 1985. EEG alpha activity reflects attentional demands, and beta activity reflects emotional and cognitive processes. *Science* **228**: 750-2.
82. Yuan, J. P. and Chen F. 1998. Separation and identification of furanic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography photodiode array detection. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 1286-91.
83. Hiramoto, K., Kato, T., Takahashi, Y., Yugi, K. and Kikugawa, K. 1998. Absorption and induction of micronucleated peripheral reticulocytes in mice after oral administration of fragrant hydroxyfuranones generated in the Maillard reaction. *Mutat. Res.* **415**: 79-83.
84. 金英寿, 北郡秀晃, 御厨尚子, 藤村勝行. ジュニパー精油の香りによる肥満への影響. *Aroma Res.* **27**: 274-7.
85. 岡孝和. 2008. 緑の香りのヒトにおける心理および生理的効果. *Aroma Res.* **34**: 118-20.
86. 土師信一郎. 2009. 香りの心理・生理効果の評価法. *Aroma Res.* **39**: 202-6.
87. Shepherd, G. M. 2006. Smell images and the flavour system in the human brain. *Nature* **444**: 316-21.
88. 大畑素子, 周蘭西. 2016. 第Ⅱ編第14章メイラード反応と香り. pp. 126-36. メイラード反応の機構・制御・利用 (深

- 澤郁恵，廣澤文編集）株式会社シーエムシー出版，東京．
89. Zhou, L., Ohata, M. and Arihara K. 2016. Effects of odor generated from the glycine/glucose Maillard reaction on human mood and brainwaves. *Food Funct.* **7**: 2574-81.
90. Arihara, K. Zhou, L. and Ohata, M. 2017. Bioactive properties of Maillard reaction products generated from food protein-derived peptides. *Adv. Food Res.* **81** (in press).
91. Heuchert, J. P. and McNair, D. M. 2015. POMS 2® 日本版マニュアル．株式会社金子書房，東京．
92. 大山良樹，佐々木和郎，中村辰三．1995．鍼通電刺激が瞳孔の自律神経機能に及ぼす影響．全日本鍼灸学会雑誌 **45**: 258-62.
93. 史学敏，内山尚志，福本一郎．1998．瞳孔対光反応を用いた痴呆簡易検査法の研究．医用電子と生体工学．**36**: 210-4.
94. 山口智．1995．鍼治療が瞳孔反応に及ぼす影響．日温気物医誌 **58**: 33-9.
95. 白川慎爾，石川哲．1992．瞳孔．日本臨牀 **50**: 708-16.
96. Wilhelm, B., Giedke, H., Lüdtke, H., Bittner, E., Hofmann, A. and Wilhelm, H. 2001. Daytime variations in central nervous system activation measured by a pupillographic sleepiness test. *J. Sleep Res.* **10**: 1-7.
97. 矢田幸博．2003．香気成分セドロールの鎮静効果の解析．*Aroma Res.* **4**: 9-19.
98. Dayawansa, S., Umeno, K., Takakura, H., Hori, E., Tabuchi, E., Nagashima, Y., Oosu, H., Yada, Y., Suzuki, T., Ono, T. and

- Nishijo, H. **2003**. Autonomic responses during inhalation of natural fragrance of Cedrol in humans. *Auton. Neurosci.* **108**: 79-86.
99. Sadachi, H., Nagasima, Y., Toji, S., Ohsu, H., Yada, Y. and Suzuki, T. 2007. Effects of cedrol on the autonomic nervous system and survey of sleep and stress in USA. *Nippon Koshohin Gakkaishi* **31**: 148-52.
100. Yada, Y., Sadachi, H., Nagashima, Y. and Suzuki, T. 2007. Overseas survey of the effect of cedrol on the autonomic nervous system in three countries. *J. Physiol. Anthropol.* **26**: 349-54.
101. Kistler, A., Mariauzouls, C. and von Berlepsch, K. 1998. Fingertip temperature as an indicator for sympathetic responses. *Int. J. Psychophysiol.* **29**: 35-41.
102. Lee, E., Lee, B. J., Ha, J. Shin., H. and Chung, J. O. 2015. Efficacy of fermented green tea on peripheral skin temperature: a randomized and placebo-controlled clinical study. *J. Cosmet. Dermatol.* **15**: 226-30.
103. Hongratanaworakit, T. 2009. Relaxing effect of rose oil on humans. *Nat. Prod. Commun.* **4**: 291-6.
104. 佐達秀敏，村上義徳，細矢学，矢田幸博．2010．香味成分およびカフェインを添加した歯磨剤の神経生理学的効果について．産術誌 **52**: 172-81.
105. 橋本邦衛．1963．Flicker 値の生理学的意味と測定上の諸問題 -Flicker Test の理論と実際-．産業医学 **5**: 563-75.

106. Aoyama, S., Toshima, T., Saito, Y., Konishi, N., Motoshige, K., Ishikawa, N., Nakamura, K. and Kobayashi, M. 2010. Maternal breast milk odour induces frontal lobe activation in neonates: a NIRS study. *Early Hum. Dev.* **86**: 541-5.

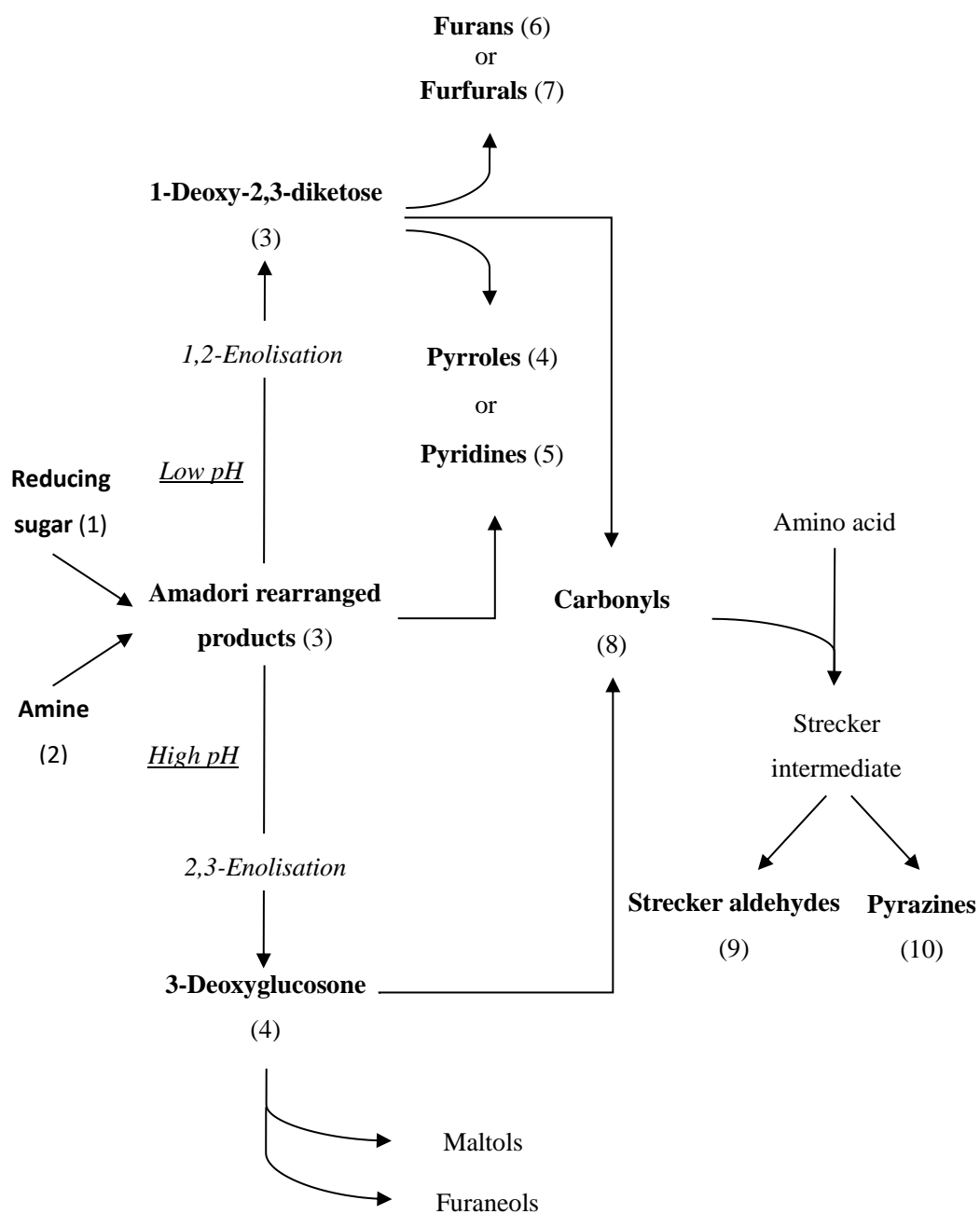


Fig. 1. Kinetic Scheme of odorant generation by the Maillard reaction (based on ref. 23, 65).

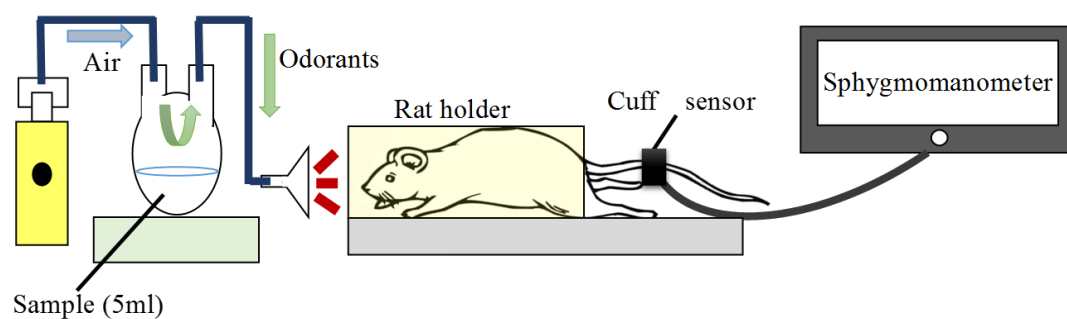


Fig. 2. Exposure of odor samples to rats and blood pressure measurement.

Systolic blood pressure was measured by the tail cuff method with a programmed electro-sphygmomanometer (BP-98; Softron Co., Tokyo, Japan). Five milliliters of each odor sample or control (distilled water) was deposited into a two-neck flask; air was pumped into one neck and the vapor phase from the flask was ejected from the other.

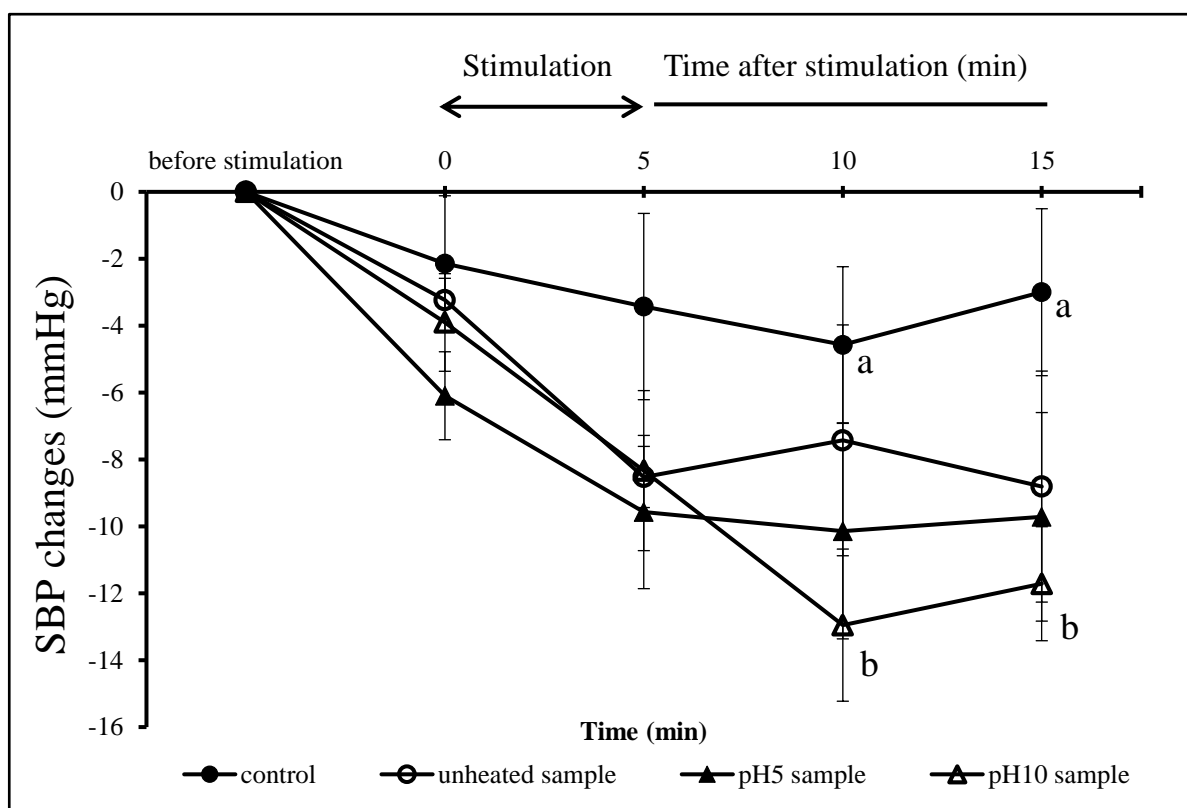


Fig. 3. Mean (\pm S.E.) changes in SBP after exposure to distilled water as a control, and to unheated, pH5, and pH10 Maillard reaction samples. (n=7) (a vs b: $p < 0.05$, by Student's paired *t*-test)
SBP: systolic blood pressure

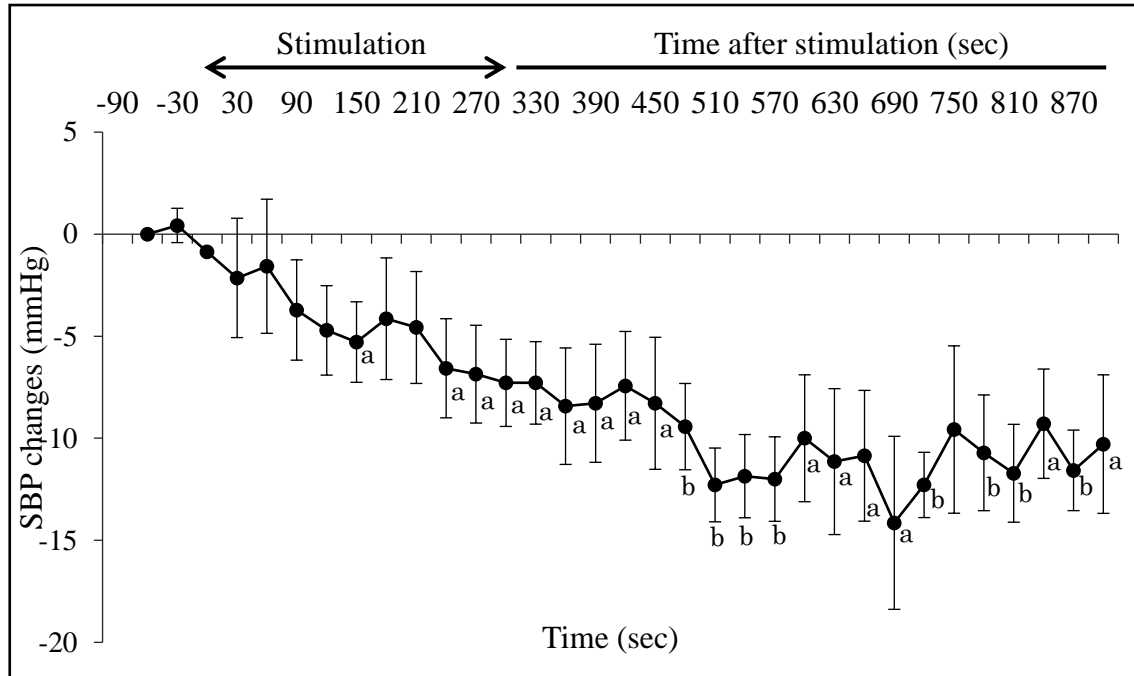


Fig. 4. Mean (\pm S.E.) changes in SBP measured every 30 s after exposure to pH10 Maillard reaction sample. (n=7) (-60 sec vs a: $p<0.05$; -60 sec vs b: $p<0.01$, by Student's paired *t*-test)

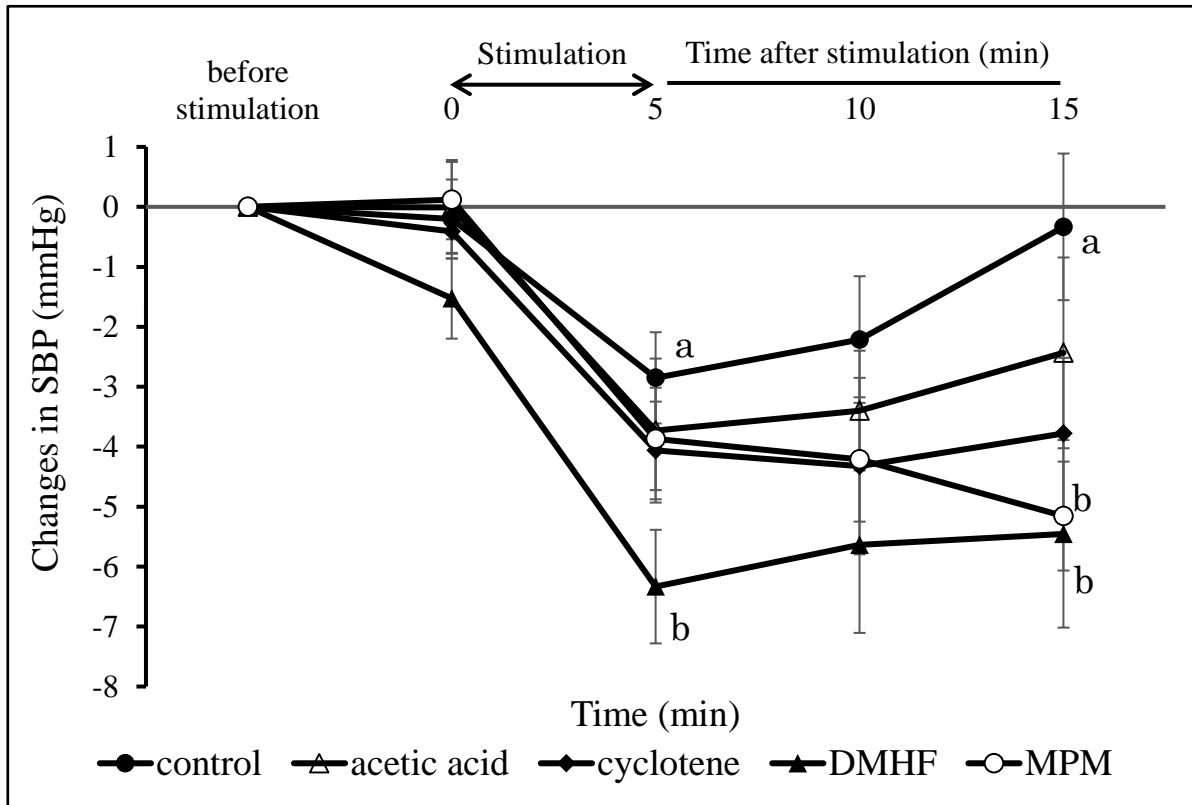


Fig. 5. Mean (\pm S.E.) changes in SBP after exposure to distilled water as a control, and to each potent odorants. (n=9) (a vs b: $p < 0.05$, by Dunnett's test) SBP: systolic blood pressure; DMHF: 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone; MPM: 5-methyl-2-pyrazinemethanol.

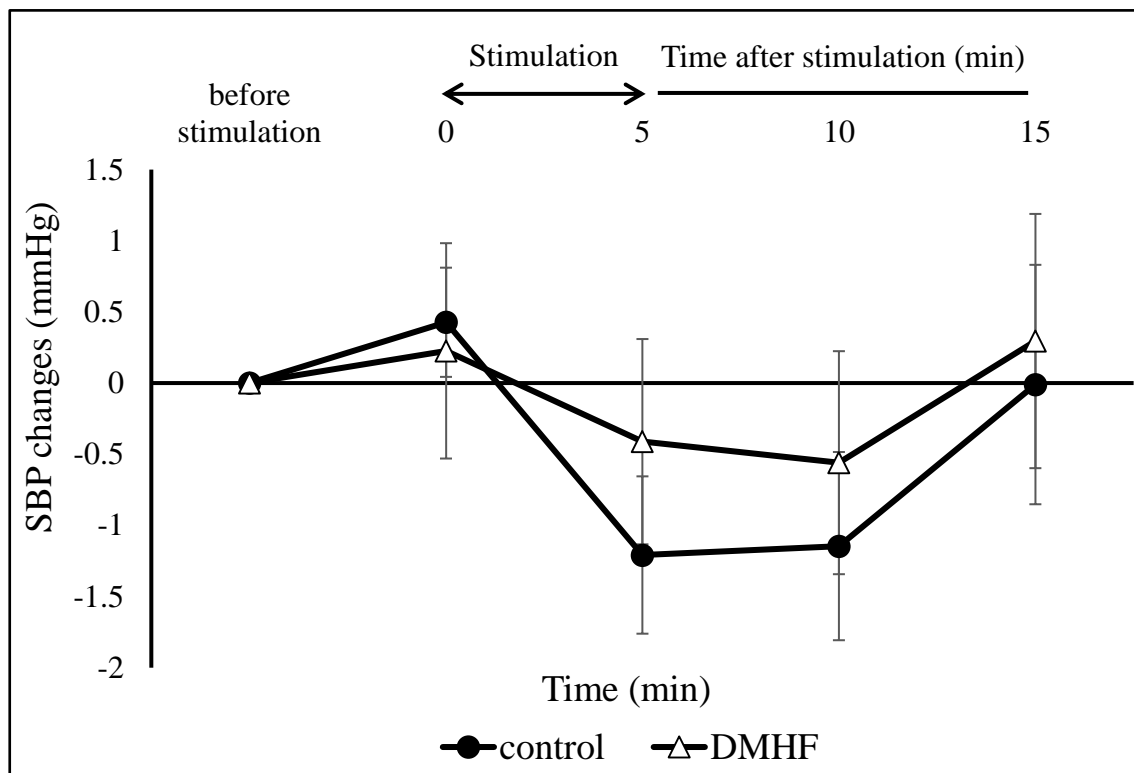
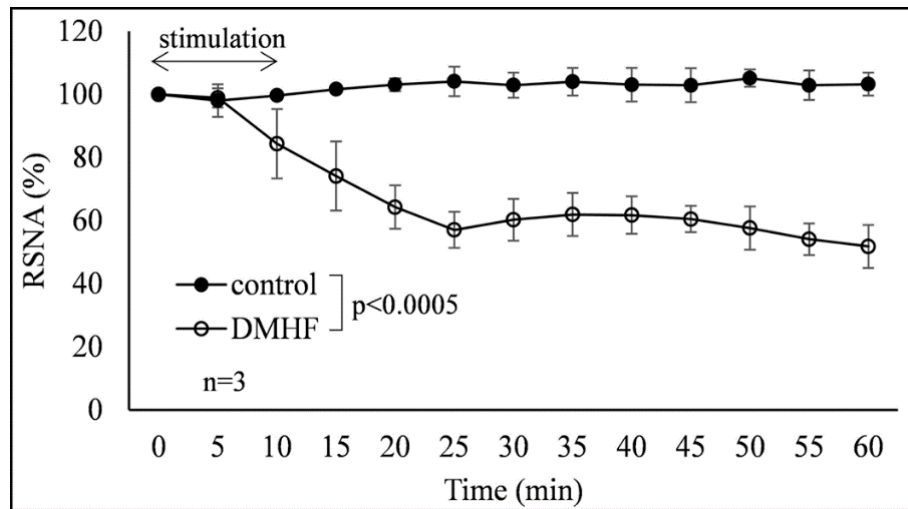


Fig. 6. Mean (\pm S.E.) changes in SBP after exposure to distilled water as a control and to DMHF in olfactory hypofunction Wistar rats.

The differences in SBP changes between control and DMHF were not statistically significant by Dunnett's test. SBP: systolic blood pressure;

(A)



(B)

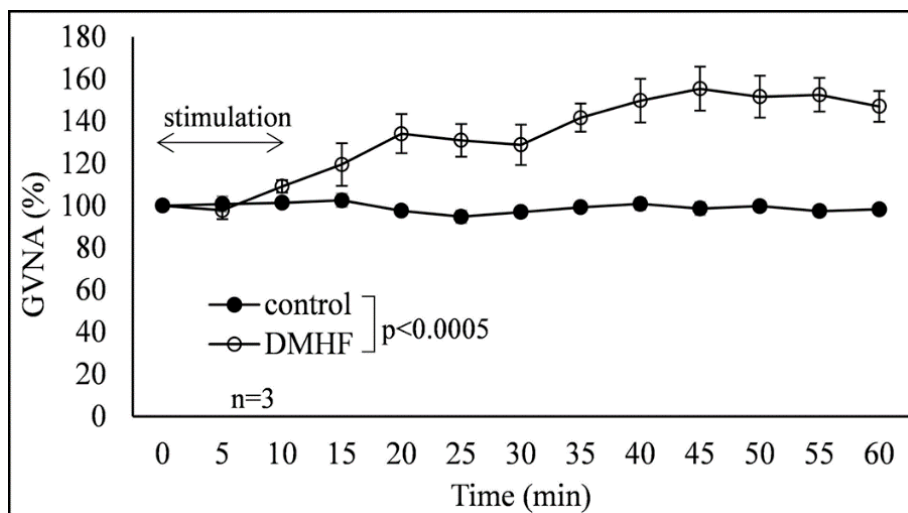


Fig. 7. Effect of DMHF inhalation on RSNA and GVNA in Wistar rats. (A) Changes in RSNA. (B) Changes in GVNA.

Data (means \pm S.E.) are expressed as percentages relative to values at 0 min. The differences between distilled water and DMHF at 0 min were not statistically significant by the Mann-Whitney U-test. The significance of differences between values from 5 min to 60 min was determined by ANOVA with repeated measures. RSNA: renal sympathetic nerve activity; GVNA: gastric vagal nerve activity; DMHF: 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone.

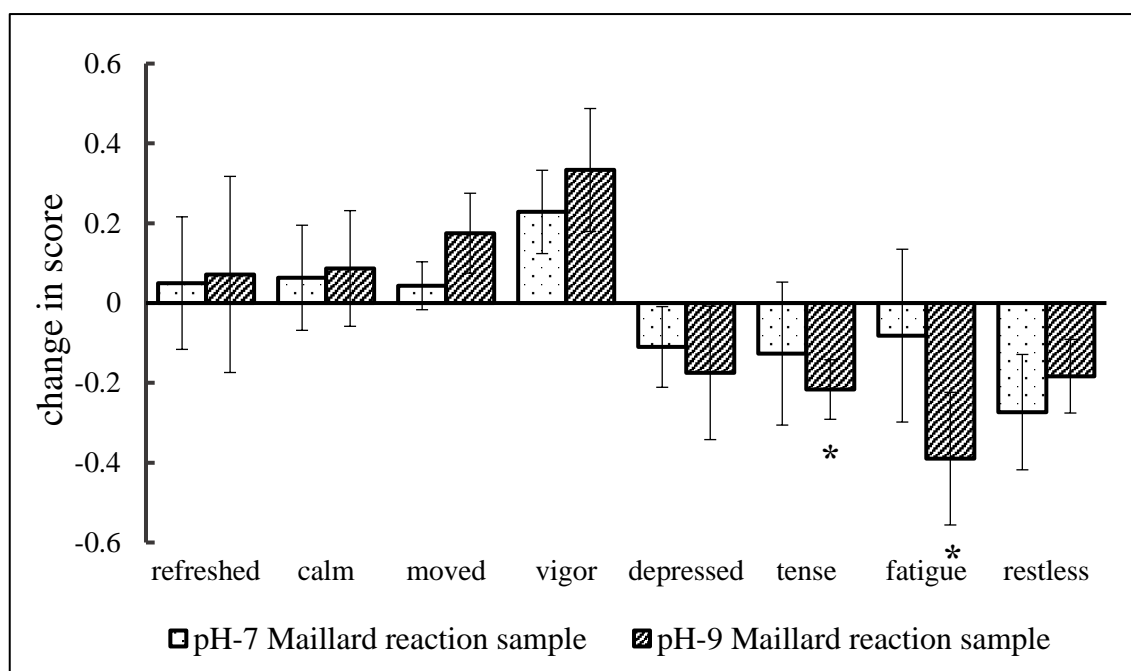


Fig. 8. Effects of the odor generated from the glycine/glucose Maillard reaction at pH 7 and pH 9 on mood (mean values \pm S.E.). Error bars indicate standard error. *, $P < 0.05$ vs. before inhalation, by Student's paired *t*-test.

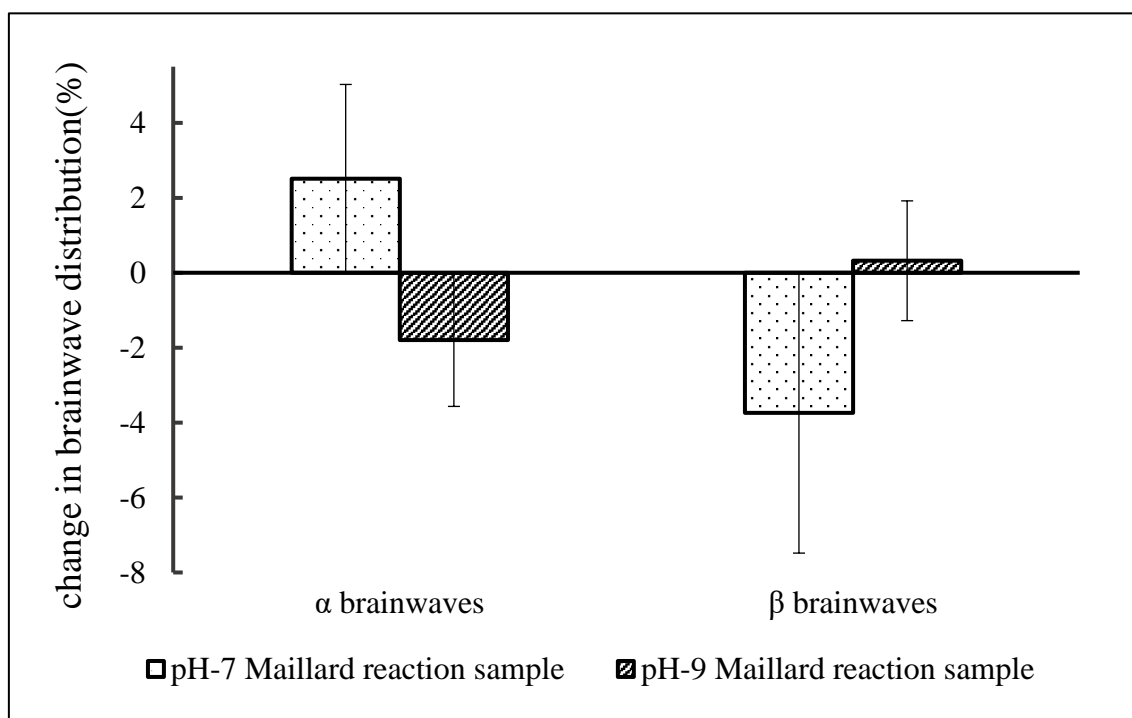


Fig. 9. Effects of the odor generated from the glycine/glucose Maillard reaction at pH 7 and pH 9 on brainwave distributions (mean values \pm S.E.). Error bars indicate standard error.

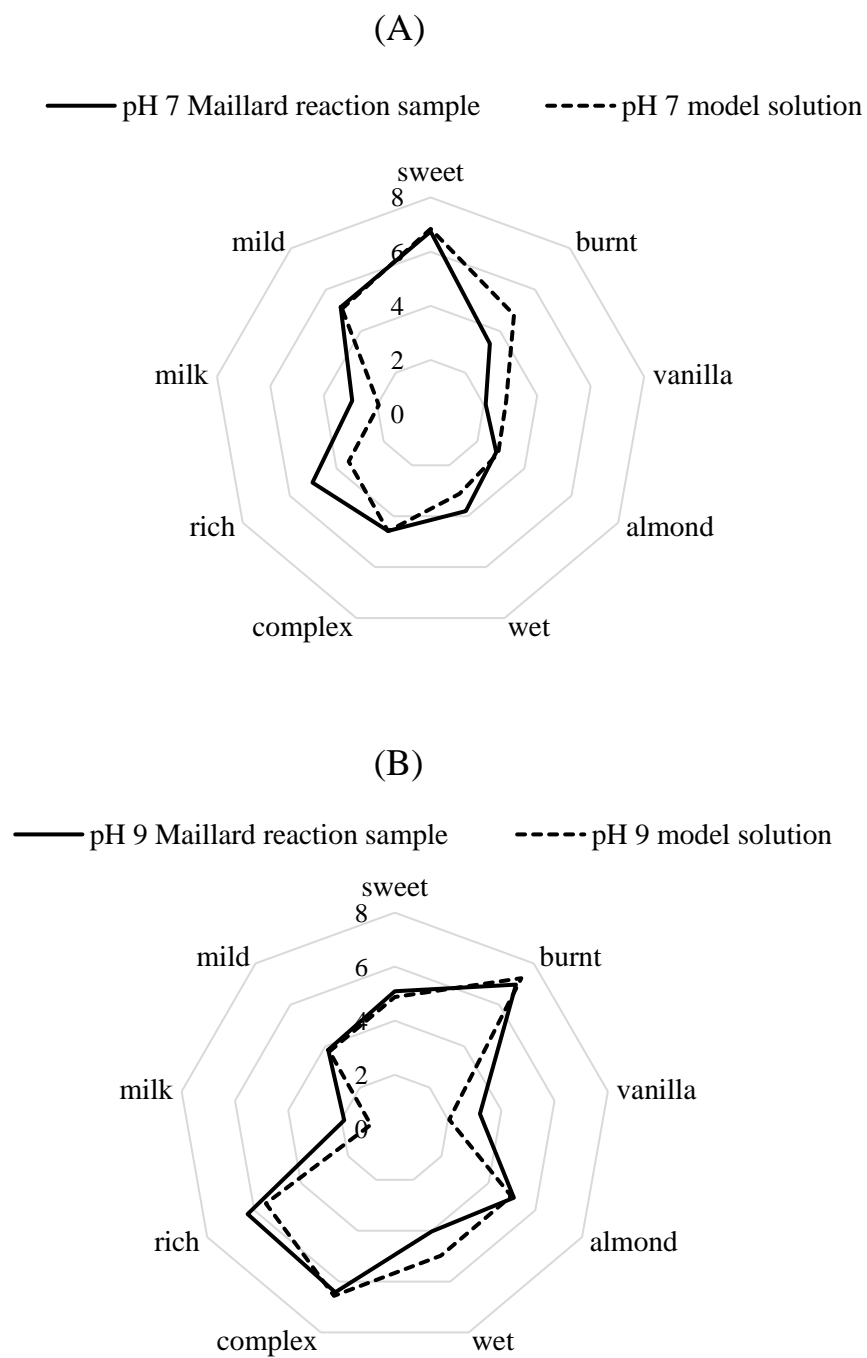


Fig. 10. Odor profiles of (A) pH-7 Maillard reaction sample and its model solution; (B) pH-9 Maillard reaction sample and its model solution.

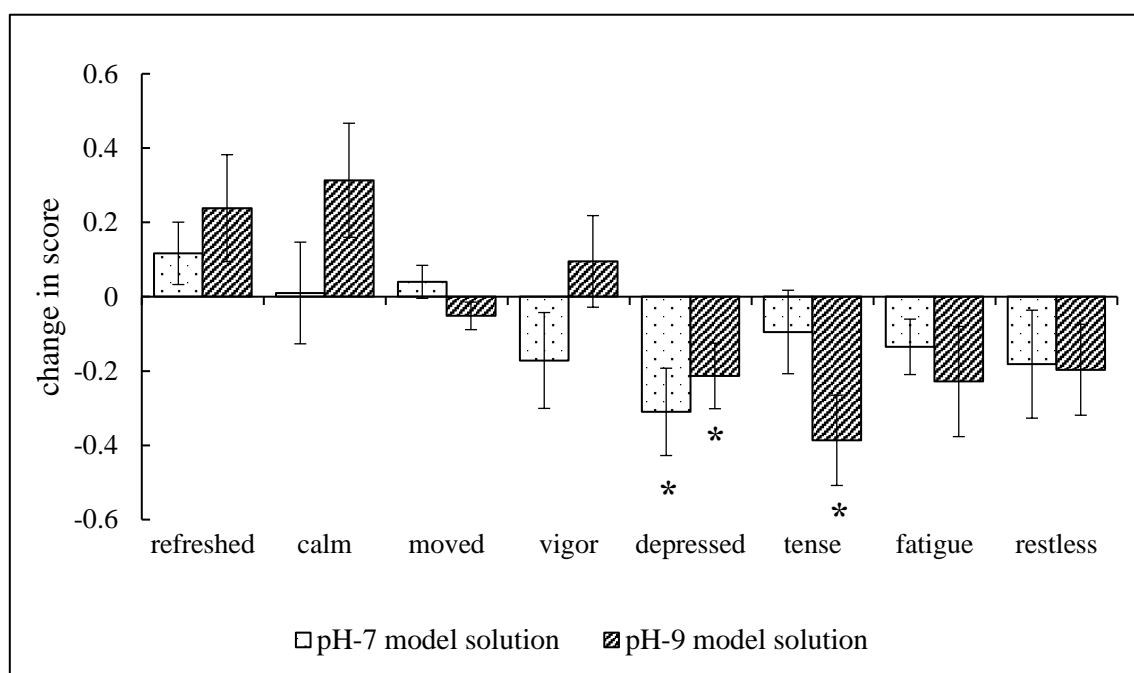


Fig. 11. Effects of the odor generated from the model solutions on mood (mean values \pm S.E.). Error bars indicate standard error. *, $P < 0.05$ vs. before inhalation, by Student's paired *t*-test.

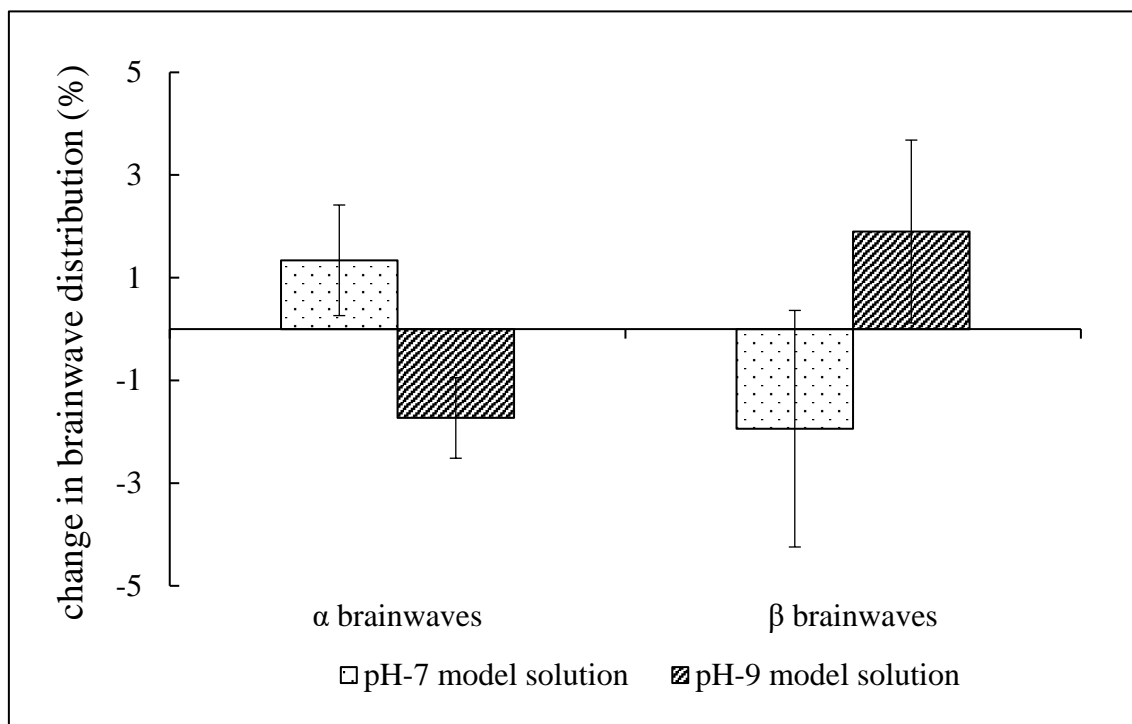


Fig. 12. Effects of the odor generated from the model solutions on brainwave distributions (mean values \pm S.E.).

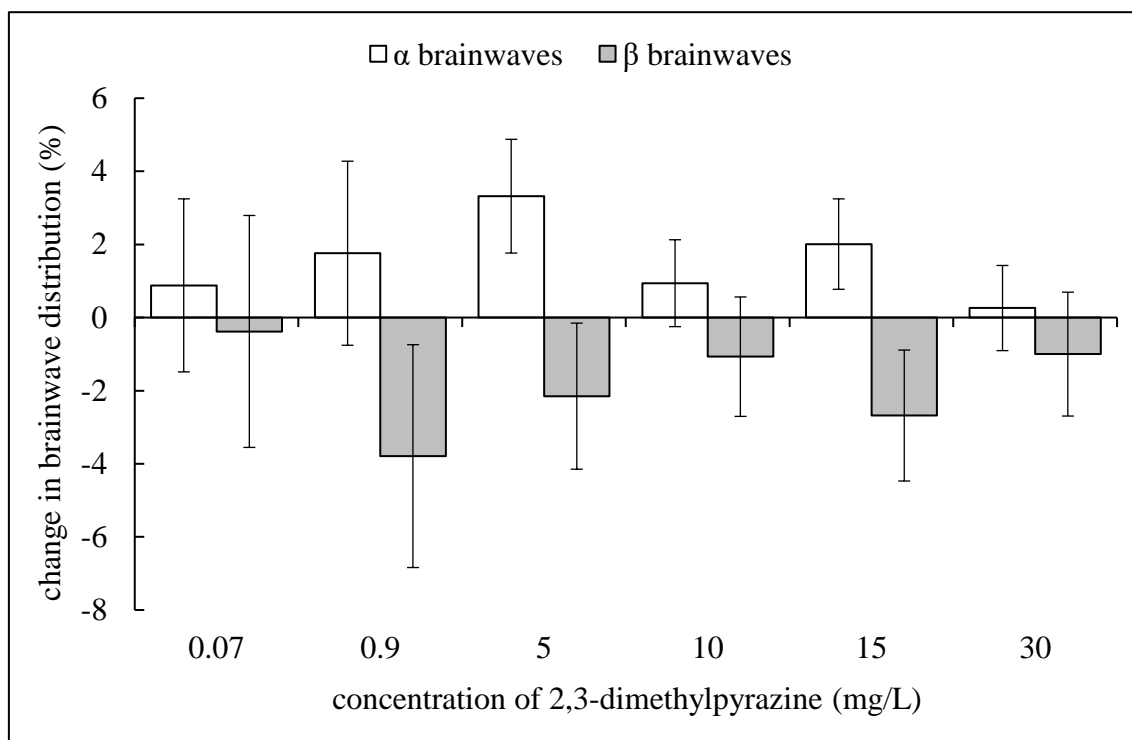


Fig. 13. Changes in brainwave distributions in mean values (\pm S.E.) after inhalations of 2,3-dimethylpyrazine at various concentrations. The concentration of 2,3-dimethylpyrazine was 0.07, 0.9, 5, 10, 15 and 30 mg/L. Error bars indicate standard errors.

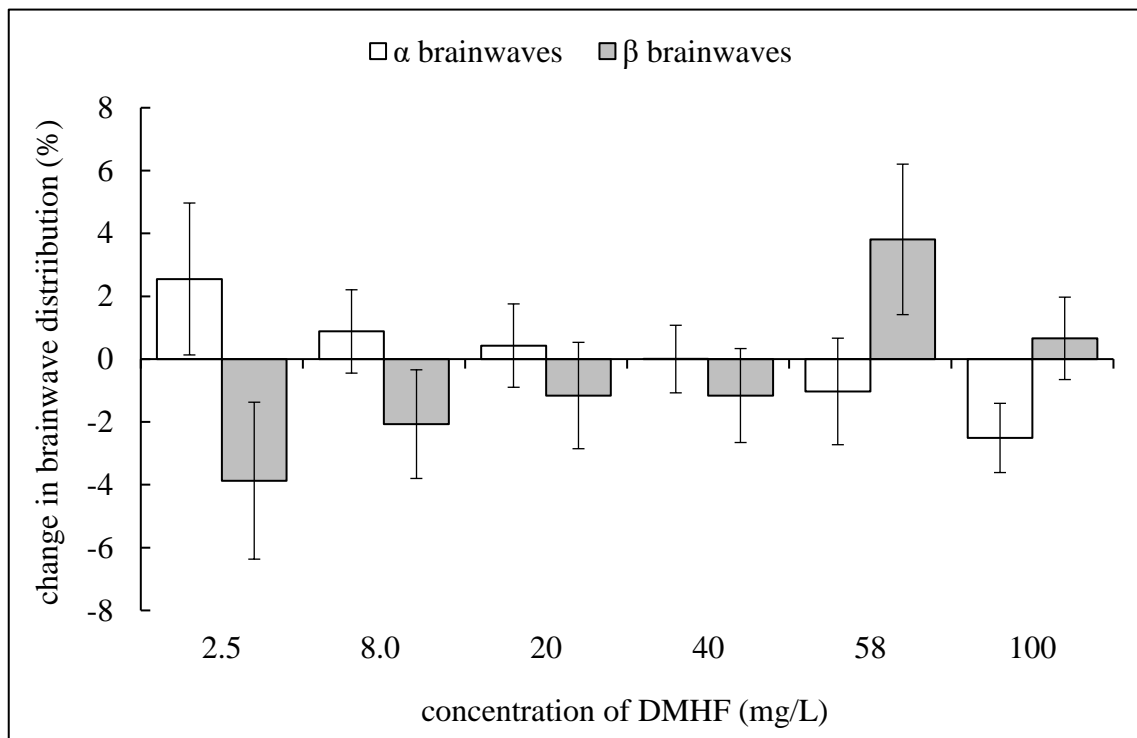


Fig. 14. Changes in brainwave distributions in mean values (\pm S.E.) after inhalations of DMHF at various concentrations. The concentration of DMHF was 2.5, 8, 20, 40, 58 and 100 mg/L. Error bars indicate standard errors.

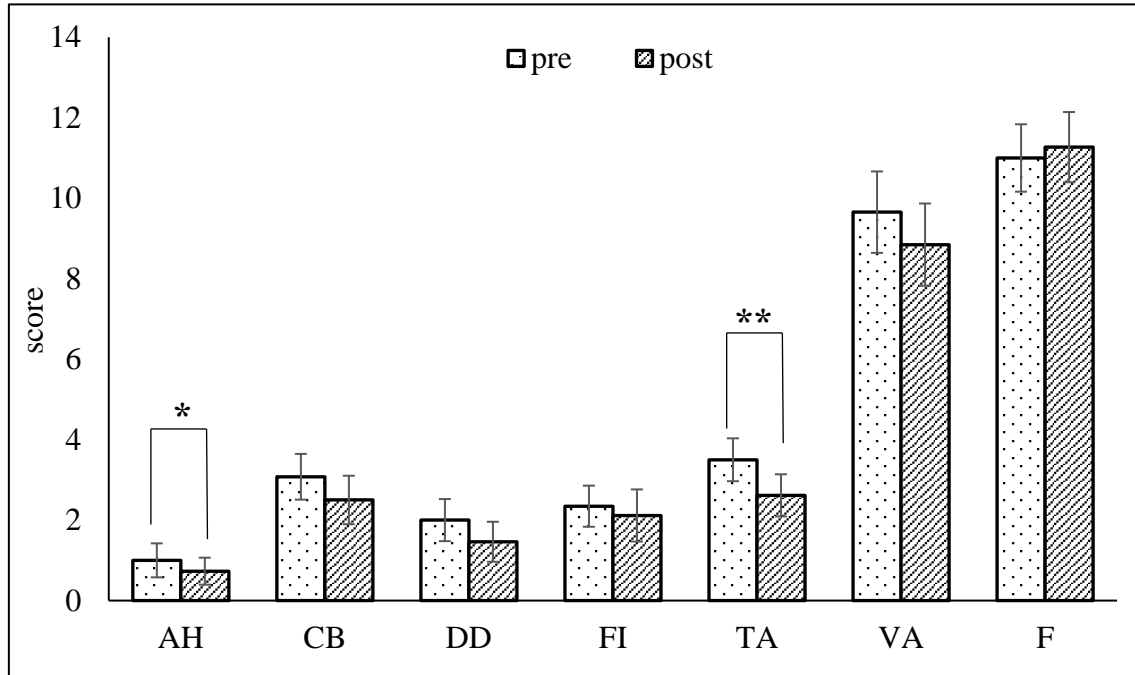


Fig. 15. POMS scores before (pre) and after (post) inhalation of the glycine/glucose Maillard reaction sample (mean values \pm S.E.). Error bars indicate standard error. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, vs. before inhalation, by Student's paired t -test. AH: anger-hostility; CB: confusion-bewilderment; DD: depression-dejection; FI: fatigue-inertia; TA: tension-anxiety; VA: vigor-activity; F: friendliness.

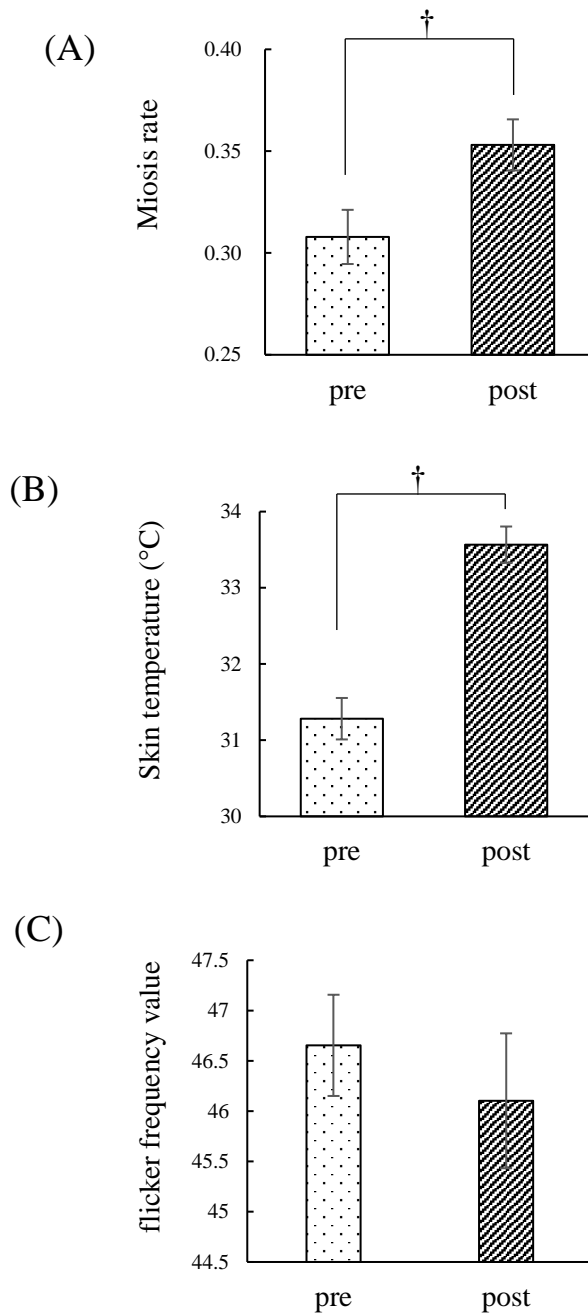


Fig. 16. Effect of the odor generated from the glycine/glucose Maillard reaction on physiology parameters. Mean (\pm S.E.) (n=26) of (A) miosis rate, (B) skin temperature ($^{\circ}$ C), (C) flicker frequency value. (\dagger p<0.00001 by Student's paired *t*-test)

(A)



(B)



(C)

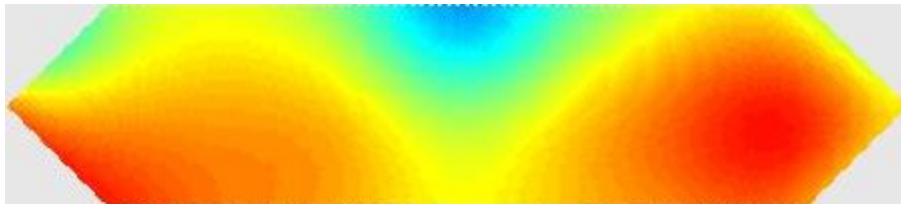


Fig. 17. Changes in oxy-hemoglobin concentration before (A), during (B), and after (C) inhalation of the glycine/glucose Maillard reaction sample. The graphs show the average value of hemodynamic responses at 100s (A), 240s (B), 320s (C). The red color is in proportional to the concentration of oxy-hemoglobin.

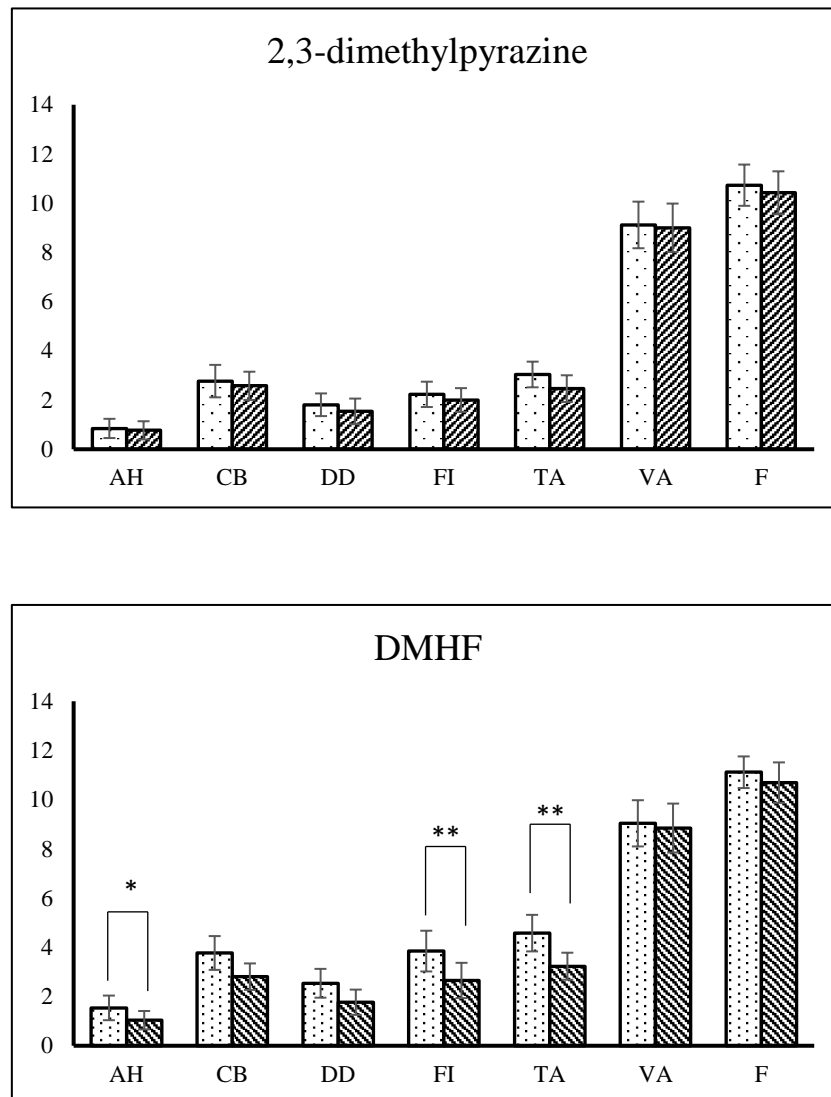


Fig. 18. POMS scores before (pre) and after (post) inhalation of 2,3-dimethylpyrazine (A) and DMHF (B) (mean values \pm S.E.). Error bars indicate standard error. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, vs. before inhalation, by Student's paired *t*-test. AH: anger-hostility; CB: confusion-bewilderment; DD: depression-dejection; FI: fatigue-inertia; TA: tension-anxiety; VA: vigor-activity; F: friendliness.

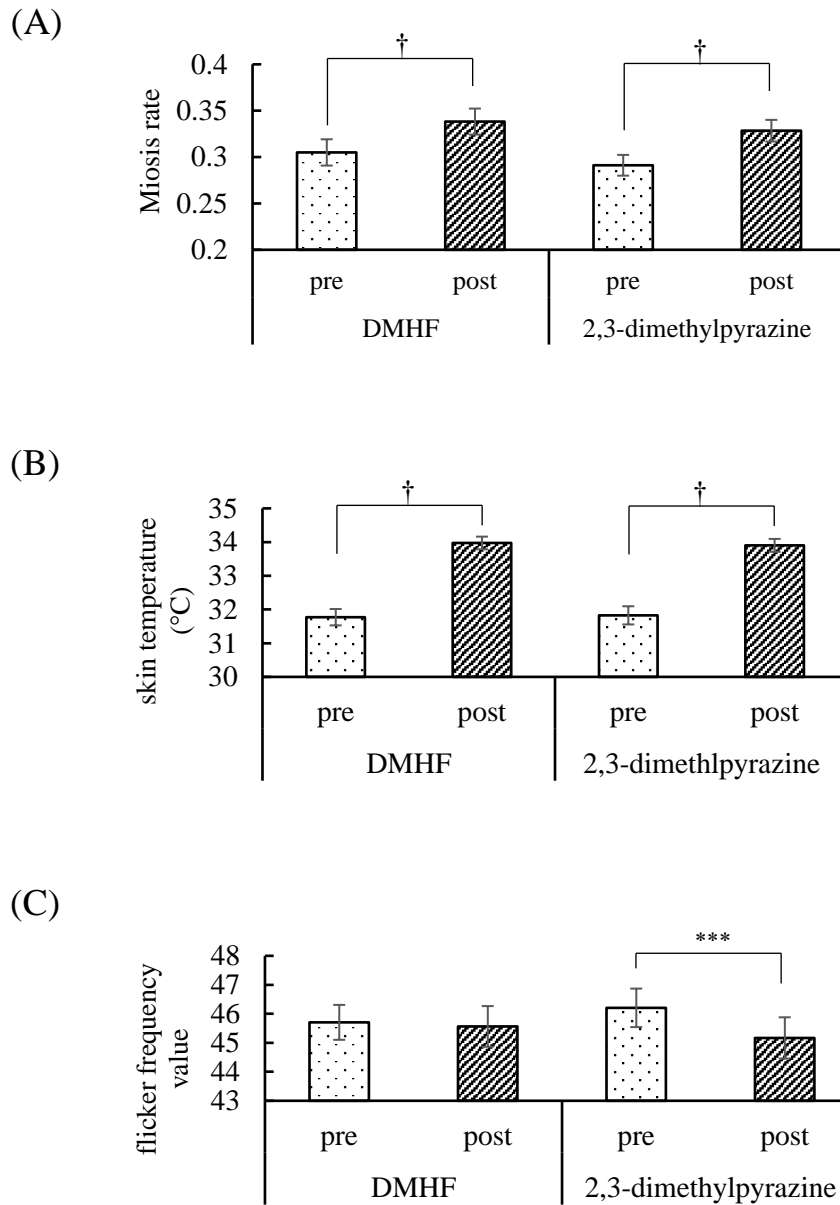
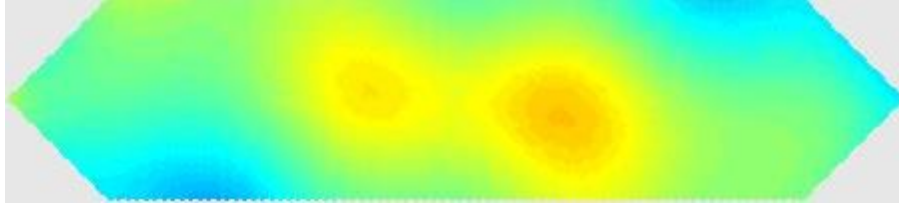
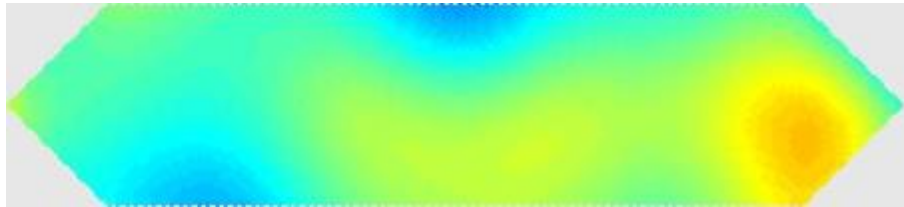


Fig. 19. Effect of 2,3-dimethylpyrazine and DMHF on physiology parameters. Mean (\pm S.E.) (n=26) of (A) miosis rate, (B) skin temperature ($^{\circ}$ C), (C) flicker frequency value. (***) $p < 0.001$, (\dagger) $p < 0.00001$ by Student's paired t -test)

(A)



(B)



(C)

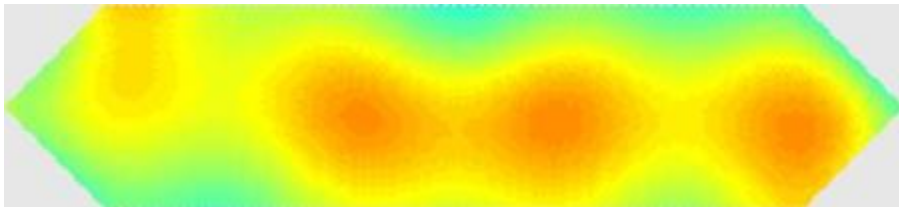
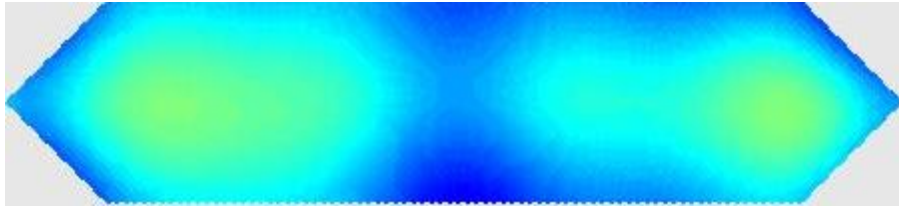


Fig. 20. Changes in oxy-hemoglobin concentration before (A), during (B), and after (C) inhalation of 2,3-dimethylpyrazine. The graphs show the average value of hemodynamic responses at 100s (A), 240s (B), 320s (C). The red color is in proportional to the concentration of oxy-hemoglobin.

(A)



(B)



(C)

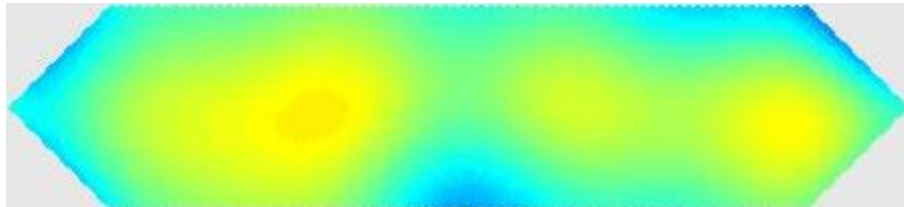


Fig. 21. Changes in oxy-hemoglobin concentration before (A), during (B), and after (C) inhalation of DMHF. The graphs show the average value of hemodynamic responses at 100s (A), 240s (B), 320s (C). The red color is in proportional to the concentration of oxy-hemoglobin.

Table 1. Concentration of potent odorants in pH10 Maillard reaction sample.

Compound	RT ^a	IS ratio ^b	standard curve	r ²	concentration (mg/L)
acetic acid	32.812	0.345	y=0.1227x-0.0643	0.99	3.33
cyclotene	47.898	0.406	y=760.06x	1.00	0.53
DMHF ^c	54.947	0.078	y=23.497x-0.0558	1.00	5.71
MPM ^d	56.209	0.167	y=281.42x	0.98	0.59

^a: retention time

^b: peak area of potent odorant/peak area of IS

^c: 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone.

^d: 5-Methyl-2-pyrazinemethanol

Table 2. Potent odorants in the pH10 Maillard reaction sample, and their descriptions determined by AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis).

No.	Compound	Odor description	FD-factor ^c
1	2,3-dimethylpyrazine	roasted, nutty	10 ²
2	acetic acid	sour	10 ⁴
3	2-furancarboxyaldehyde	soy sauce-like	5×10 ³
4	cyclotene	sweet, roasted	10 ²
5	DMHF ^a	caramel	10 ⁴
6	MPM ^b	butter, soy sauce-like	5×10 ³

^a: 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone.

^b: 5-methylpyrazinemetanol

^c: Flavor dilution factor

Table 3. Odor compounds contained in the pH-7 and pH-9 model solutions and their concentrations.

odor compound	concentration in the model solution ^d (mg/L)	
	pH-7 ^a	pH-9 ^b
2,3-dimethylpyrazine	0.07	0.92
2,3,5-trimethylpyrazine	0.02	8.00
acetic acid	0 ^e	7.42
2-ethylhexanol	0	0.04
2-acetylpyridine	0	0.08
DMHF ^c	8.16	57.72
octanoic acid	0.38	0

^a pH-7 Maillard reaction sample. ^b pH-9 Maillard reaction sample. ^c 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone. ^d The concentration of each odorant in the model solution was determined on the basis of its concentration in the pH-7 and pH-9 Maillard reaction sample. ^e Odorants did not show FD factor.

Table 4. Attributes used in QDA and their descriptions.

attributes	description
sweet	sweet, caramel-like
burnt	burnt, roasted
vanilla	vanilla-like
almond	almond-like
wet	damp air, wet
complex	deep
rich	thick, dense
milk	milk-like
mild	mild, weightless

Table 5. FD factor and concentrations of odor-active compounds in Maillard reaction samples.

KI ^a	RT ^b	Compound	Odor quality ^c	Odor threshold ^d	log ₄ (FD factor)			Concentration ^e	
					pH-7	pH-9	pH-7	pH-9	
1341	28.05	2,3-Dimethylpyrazine	Nutty, cooked rice	0.020	4	6	0.07	0.92	
1400	31.30	2,3,5-Trimethylpyrazine	Peanut, green	0.001	0	4	0.02	8.00	
1443	33.23	Acetic acid	Sour	1.000	— ^f	1	— ^f	7.42	
	33.70	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazine	Nutty, wet	0.001	— ^f	4	— ^g	— ^g	
1487	35.14	2-Ethylhexanol	Peanut, green	— ^h	— ^f	3	— ^f	0.04	
	37.76	Unknown ⁱ	Peanut, green	— ^h	— ^f	4	— ^f	Trace	
1593	39.47	2-Acethylpyridine	Nutty, roasted	0.019	— ^f	0	— ^f	0.08	
	40.44	Unknown	Popcorn, cooked	— ^h	0	0	Trace	Trace	
	49.47	2,3-Dihydro-5-hydroxy-6-methyl-4 <i>H</i> -pyran-4-one	Sweet	— ^h	0	1	— ^g	— ^g	
2028	55.36	DMHF	Caramel, sweet	0.03	4	6	8.16	57.72	
2051	56.39	Octanoic acid	Sour, sweat	4.5-7.1	0	— ^f	0.38	— ^f	

^aKovats' index on DB-Wax capillary column. ^bRetention Time. ^cOdor quality assigned during AEDA. ^dOdor threshold in water (mg/L). Information from the National Institute of Health Science (Japan). ^eConcentration of the odorant in the Maillard reaction sample (mg/L). ^fThe odorant was too weak that could not be detected by GC-O. ^gThe compound that could not be purchased or quantified. ^hData not available. ⁱThe compound that was odor-active but the peak was not detected.

Table 6. Odor intensity of each attribute selected in QDA in mean values (\pm SE).

Attribute										
Sample	Attribute	Sweet	Burnt	Vanilla	Almond	Wet	Comple	Rich	Milk	Mild
pH-7	Maillard reaction sample	6.74±0.47	3.4±0.47	2.07±0.7	2.8±0.57	3.8±0.88	4.58±0.40	5.03±0.52	2.93±0.79	5.16±0.79
	model solution	6.84±0.73	4.79±0.98	2.83±0.94	2.88±0.79	3.12±0.77	4.59±0.80	3.48±0.93	1.94±0.68	5.08±0.70
pH-9	Maillard reaction sample	5.09±0.57	6.97±0.40	3.2±0.7	5.08±1.15	4.02±0.97	6.42±0.39	6.28±0.49	1.9±0.54	3.82±0.78
	model solution	4.88±0.86	7.28±0.36	2.04±0.47	4.97±0.92	4.98±0.78	6.56±0.32	5.5±0.54	0.9±0.35	3.75±0.76

Table 7. Comparison between changes (mean values \pm S.E.) in miosis rate and fingertip temperature before and after inhalation of 2,3-dimethylpyrazine and DMHF.

	DMHF		2,3-dimethylpyrazine	
	\triangle CR ^c	\triangle Temp ^d (°C)	\triangle CR	\triangle Temp(°C)
Group A ^a	-0.007 \pm 0.006	2.114 \pm 0.316	0.014 \pm 0.004	1.910 \pm 0.237
Group B ^b	0.074 \pm 0.013	2.273 \pm 0.201	0.061 \pm 0.007	2.244 \pm 0.341

^aThe group with lower CR changes (n=13).

^bThe group with higher CR changes (n=13).

^cChanges of miosis rate.

^dChanges of fingertip temperature.