

学 位 論 文

人工光栽培システムによるスイートバジルの香り制御

～植物工場および店頭生育維持システム～

Flavor control of sweet basil with artificial light
cultivation system

～Cases of plant factory and in-store cultivation system～

2024 年 1 月

博士（工学）

坂口 直己

豊橋技術科学大学

2024年 1月 4日

建築・都市システム学 専攻	学籍番号	第 219501 号	指導教員	井上 隆信 高山 弘太郎
氏名	坂口 直己			

論文内容の要旨 (博士)

博士学位論文名	人工光栽培システムによるスイートバジルの香り制御 ～植物工場および店頭生育維持システム～
---------	---

(要旨 1,200字程度)

近年、市場に流通している農産物の多様化が進み、薬用としてだけではなく香辛料や料理用として、様々な香草類の使用が一般家庭で定着している。こうした香草類を含む農産物の多様化に伴い、作物の生育状態に合わせて環境制御が可能な人工光型植物工場による高付加価値作物の生産に注目が集まっている。環境を適切に制御することで消費者ニーズに合った香りを有する香草類を生産することが可能になれば、高付加価値化が期待される。これまで、香草類の香りの質的評価に関する研究は数多く行われているが、植物葉内部の精油成分で評価しており、実際の喫食時の状況と異なる状態で評価している。また、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)などの高精度な質量分析機器で評価されており、簡易なセンサを用いた香りの評価の例は少ない。そこで本研究では、栽培期間における①光強度、②養液濃度(EC: Electrical Conductivity)および③貯蔵期間における光照射がスイートバジルの放出する揮発性有機化合物(VOC)の量や比率(≒成分比)に与える影響を調査した。さらに、水晶振動子(QCM)センサを用いた計測システムを開発し、異なる光強度で栽培されたスイートバジルの香りの違いを検知可能か検討した。本研究では、スイートバジル(*Ocimum basilicum*.L)を用いた。光合成光量子束密度(PPFD) $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で明期16時間、暗期8時間で23日間栽培したスイートバジル(PPFD300区)とPPFD $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で23日間栽培したスイートバジル(PPFD200区)、およびPPFD $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で27日間栽培したスイートバジル(PPFD100区)を対象に携帯型ガス分析装置(GC-SAW)を用いてVOC計測を行った。スイートバジルは、小葉(Whole leaf)の状態とハンドシュレッダを用いて細断した(Shredded leaf)状態で計測を行った。また、スイートバジル葉の着生位置によってVOCの放出量が異なる可能性があるため、Lower leafとUpper leafで分けて計測を行った。その結果、Upper leafのShredded leafでは、スイートバジルの代表的なVOCであるLinalool, Cineole, (Z)-3-hexenalにおいて、PPFD300区の方がPPFD100区よりも、放出量が有意に多いことを確認した。次に、栽培期間における養液中のECを制御し、スイートバジルのVOCが変化するか検討した。ECは、1~1.2(T1), 2.1~2.3(T2), 4.3~4.5(T3) mS cm^{-1} の3処理区を用意した。なお、全ての区において光強度はPPFD300で栽培した。本実験では、VOC捕集剤であるTenaxTAが充填されたガラス管を用いて、スイートバジルのVOCを濃縮捕集し、GC-MSで解析を行った。その結果、Upper leafのShredded leafにおけるCineoleおよび、微量に含まれているモノテルペン類である α -pinene, β -pinene, myrceneにおいて、T1区の方が、T3区よりも有意に放出量が多いことを確認した。次に、店頭生育維持システムであるfarmbox®を用いた新しい貯蔵方法と冷蔵貯蔵をしたスイートバジルを対象にGC-SAWを用いて匂い成分計測を行った。その結果、Linalool, Cineole, Eugenolにおいて、冷蔵貯蔵よりも放出量が有意に多いことが確認され、farmbox®を用いることで、スイートバジルの香りを高く保つことが可能であることが確認された。次に、QCMセンサを用いた匂い計測システムでPPFD300とPPFD100で栽培されたスイートバジルを対象に匂い成分計測を行った。その結果、Upper leafのShredded leafにおいてPPFD300の方がPPFD100に比べてVOCの放出量が有意に高いことを確認した。以上のことから、適切に環境制御をすることで、スイートバジルのVOC放出量を制御可能であり、消費者のニーズに合った多種多様なスイートバジルの生産が可能であることが示唆された。

Date of Submission (month day, year) : January 4, 2024

Department of Architecture and Civil Engineering	Student ID Number D219501	Supervisors Takanobu Inoue Kotaro Takayama
Applicant's name Naoki Sakaguchi		

Abstract (Doctor)

Title of Thesis	Flavor control of sweet basil with artificial light cultivation system ~Cases of plant factory and in-store cultivation system~
-----------------	--

Approx. 800 words

In recent years, the variety of agricultural products on the market has been diversifying, and various herbs and spices have taken root in households not only for medicinal purposes but also for use in spices and cooking. With the diversification of agricultural products, including herbs, there has been a growing interest in the production of high-value-added crops in plant factories with artificial lights, where the environment can be controlled according to the growth conditions of the crops. If it becomes possible to produce aromatic herbs with flavor that meet consumer needs by controlling the environment appropriately, it is expected to add value to the products. Many studies have been conducted on the qualitative evaluation of the aroma of aromatic herbs, but the evaluation has been based on the essential oil components inside the plant leaves, which is different from the actual eating conditions. In addition, evaluations have been conducted using high-precision mass spectrometry equipment such as GC-MS, and there are a few examples of aroma evaluations using simple odor sensors. In this study, I proposed a simple treatment method that mimicked mastication and investigated the effects of light intensity and nutrient concentration (EC: Electrical Conductivity) during the cultivation period and light irradiation during the storage period on the amount and ratio (\rightleftharpoons flavor) of volatile organic compounds (VOC) emitted by sweet basil. Furthermore, we developed a measurement system using a QCM sensor and investigated the possibility of detecting differences in flavor between sweet basil plants grown under different light intensities.

I used sweet basil (*Ocimum basilicum*.L) of three treatment such as grown at PPF300(Light : Dark = 16 h : 8h) for 23 days, PPF200 for 23 days, and PPF100 for 27 days for plant material. Sweet basil was measured as whole leaves and shredded leaves using a hand shredder. Because the emission of VOCs may differ depending on the position of the sweet basil leaf, measurements were made separately for the lower leaf and the upper leaf. As a result, it was confirmed that the emission of VOCs emitted from the shredded leaves of the upper leaf was significantly higher in the PPF300 treatment than in the PPF100 treatment for Linalool, Cineole, and (Z)-3-hexenal.

Next, I investigated whether the VOCs of sweet basil were changed by controlling the EC in the nutrient solution during the growing period. Three treatments were prepared with EC ranging from 1 to 1.2 (T1), 2.1 to 2.3 (T2), and 4.3 to 4.5 (T3) mS cm⁻¹. All treatments were grown at PPF300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. In this experiment, sweet basil VOCs were concentrated and collected using glass tubes filled with TenaxTA and analyzed by GC-MS. As a result, it was confirmed that the emission of Cineole in the shredded upper leaf and the monoterpenes α -pinene, β -pinene, and myrcene were significantly higher in the T1 treatment than in the T3 treatment.

Next, I measured VOCs using GC-SAW on sweet basil preserved in farmbox® and in cold storage. The results showed that the emission of Linalool, Cineole, and Eugenol was significantly higher than that of cold storage, confirming that the flavor of sweet basil can be kept high by using farmbox®.

Next, I measured VOCs of sweet basil grown at PPF300 and PPF100 using an VOC measurement system with a QCM sensor. As a result, it was confirmed that the emission of VOCs emitted from PPF300 was significantly higher than that PPF100 in the shredded leaf of the upper leaf.

These results suggest that with appropriate environmental controls, it is possible to control VOC emissions from sweet basil and produce a wide variety of sweet basil to meet consumer demands.

目次

第1章 序論

1.1 はじめに

1.1.1 食に対するニーズの多様化	1
1.1.2 味と香り	1
1.1.3 香り と VOC	2
1.1.4 安定的な作物供給システム植物工場	3
1.1.5 植物工場における VOC センシング	3
1.1.6 生鮮野菜における VOC の利用法	4
1.1.7 香草類における香り	5
1.1.8 消費者が農産物を購入するまでのプロセス	5

1.2 本研究の目的

1.2.1 本研究の目的の概要	5
1.2.2 光制御によるスイートバジルの香り制御	7
1.2.3 養液 (EC) 制御によるスイートバジルの香り制御	7
1.2.4 新貯蔵方法によるスイートバジルの香り制御	8
1.2.5 生産現場で利用可能な匂いセンシングシステムの開発	8

1.3 本論文の構成 8 |

引用文献	9
------------	---

第2章 材料および方法

2.1 スイートバジル	15
-------------------	----

2.2 VOC	15
---------------	----

2.3	トライコーム	15
2.4	植物材料	
2.4.1	異なる養液(EC)環境で栽培したスイートバジル	17
2.4.2	異なる光強度で栽培したスイートバジル	17
2.4.3	異なる貯蔵環境で貯蔵したスイートバジル	18
2.4.4	QCM計測に用いたスイートバジル	18
2.5	店頭生育維持システム farmbox®	20
2.6	計測対象葉	20
2.7	葉面積の計測	21
2.8	細断処理	21
2.9	閉鎖型 VOC 計測システムの開発	23
2.10	小型空気攪拌機構の開発	24
2.11	VOC 計測装置の比較	25
2.12	GC-MS	
2.12.1	計測原理	26
2.12.2	イオンクロマトグラム	
2.12.2.1	定性	27
2.12.2.2	定量	27
2.12.2.3	任意単位	27
2.12.3	マススペクトル	28
2.12.4	相対的保持指標を用いた分析	28
2.12.5	解析条件	29
2.13	GC-SAW	30

2.14 対象とする VOC の保持時間 (RT) の決定	
2.14.1 対象とする VOC	32
2.14.2 パーミエーターを用いた標準物質の測定	32
2.15 QCM センサ	34
2.16 官能評価	36
2.17 統計解析	37
引用文献	37

第3章 異なる EC 環境で栽培されたスイートバジルの VOC 解析

3.1 葉面積比較	41
3.2 計測対象 VOC の定性	41
3.3 VOC 放出量の算出	45
3.4 検量線	45
3.5 Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量比較	47
3.6 Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量比較	50
3.7 各処理区の VOC 放出量比較	51
3.8 各処理区の VOC 比率の比較	53
3.9 官能試験の結果	55
3.10 本章のまとめ	57
引用文献	58

第4章 異なる光強度で栽培されたスイートバジルの VOC 解析

4.1 葉面積比較	61
-----------	----

4.2	計測対象 VOC のリテンションタイム	61
4.3	検量線	63
4.4	Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量比較	64
4.5	Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量比較	67
4.6	VOC 放出量比較	68
4.7	VOC 比率の比較	71
4.8	官能試験の結果	72
4.9	本章のまとめ	74
	引用文献	75

第5章 異なる貯蔵方法で貯蔵されたスイートバジルの VOC 解析

5.1	葉面積比較	77
5.2	Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量比較	77
5.3	Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量比較	79
5.4	VOC 放出量比較	81
5.5	VOC 比率の比較	83
5.6	本章のまとめ	84
	引用文献	87

第6章 QCM センサを用いたスイートバジルの品質評価システムの開発

6.1	携帯型 VOC 計測チャンバの開発	89
6.2	標準物質の計測	90
6.3	スイートバジルの VOC 解析	94

6.4 本章のまとめ	97
引用文献	99
第7章 総括	
7.1 本研究の要約	101
7.2 展望	102
7.3 今後の課題	102
謝辞	104
業績リスト	105

第1章 序論

1.1 はじめに

1.1.1 食に対するニーズの多様化

1970年代までは、消費者の食品の購入先は業種別の専門小売店がほとんどであったが、1980年代に食品スーパーや総合スーパーなどのスーパーマーケットが急成長を遂げ、日常利用の中心がスーパーに取って変わった。消費者が購入する商品においては、冷凍食品やレトルト食品、総菜など、簡便化商品の開発が著しく進み、商品業態の多様化が進んでいる(大浦, 2012)。さらに、一つの品目に対する商品数も増加しており、例えば、牛乳においては、産地、脂肪分、機能性成分添加の有無など、商品の多様化が進んでいる。近年では、青果物において、小売店で機能性成分の表示などを行い、農産物の多様化が進んでいる(大浦, 2012; 農林水産省, 2023)。このような食の多様化や高齢化に伴う消費者の健康意識の向上等により、薬用としてだけでなく香辛料や料理用として、様々なハーブ類が一般家庭でも定着してきている(平川, 2002)。こうしたハーブ類を含む農産物の多様化に伴い、人工光型植物工場による高付加価値化植物の生産に注目が集まっている(大橋, 2022)。

1.1.2 味と香り

私たちが食料や飲料を食するとき感じている風味は、味覚と嗅覚が相互作用して得られる感覚であり(Gilbert et al., 2015)、風味は食品評価において最も重要な要素の一つである(Han et al., 2019)。人が感じる香りには、オルソネーザルアロマとレトロネーザルアロマの2種類あり(Fig. 1-1)、同じ香りをオルソネーザル経路で嗅

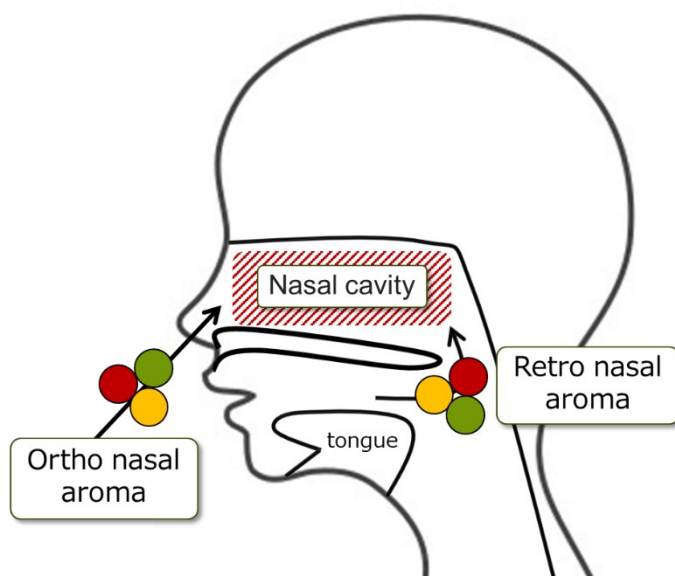


Figure 1-1: Schematic diagram of route of retro nasal aroma and ortho nasal aroma.

がせた場合とレトロネーザル経路で嗅がせた場合において、活性化する脳の部位が異なるという報告がある (Small et al., 2005). チョコレートの香りにおいて、脳が活性化する部位の違いが確認されたが、ラベンダーの香りでは、部位の違いは確認されなかったことから、活性化する部位が異なるのは、レトロネーザル経路で香りを感じたことがあるもの(≒食べたことがあるもの)である可能性が高いと考えられる (Small et al., 2005). また、香りによって人が感じる味覚が増強されたという報告もある (Labbe et al., 2006; Labbe et al., 2007). これらのことから、香りは人が感じる味覚に強く影響を与えるものであり、食品や農産物、特に香りに価値を有する香草類を高付加価値化するためには、多種多様な香りを有する香草類の栽培技術の確立および香りの数値的な評価が重要である.

1.1.3 香りと VOC

私たちが感じている香りは、大気中に存在する単体および複数の揮発性有機化合物 (VOC) が鼻腔内の嗅上皮の嗅繊毛に発現している嗅覚受容体に到達することで得られる感覚である (東原, 2007; 東原, 2015). Fig. 1-2 に、香りがどのように脳に伝達されるかの模式図を示す. 香りの情報は、パターン化され香りの質を決定づける一つの要素である (東原, 2007). また、これらのパターンは VOC の強度や複数の

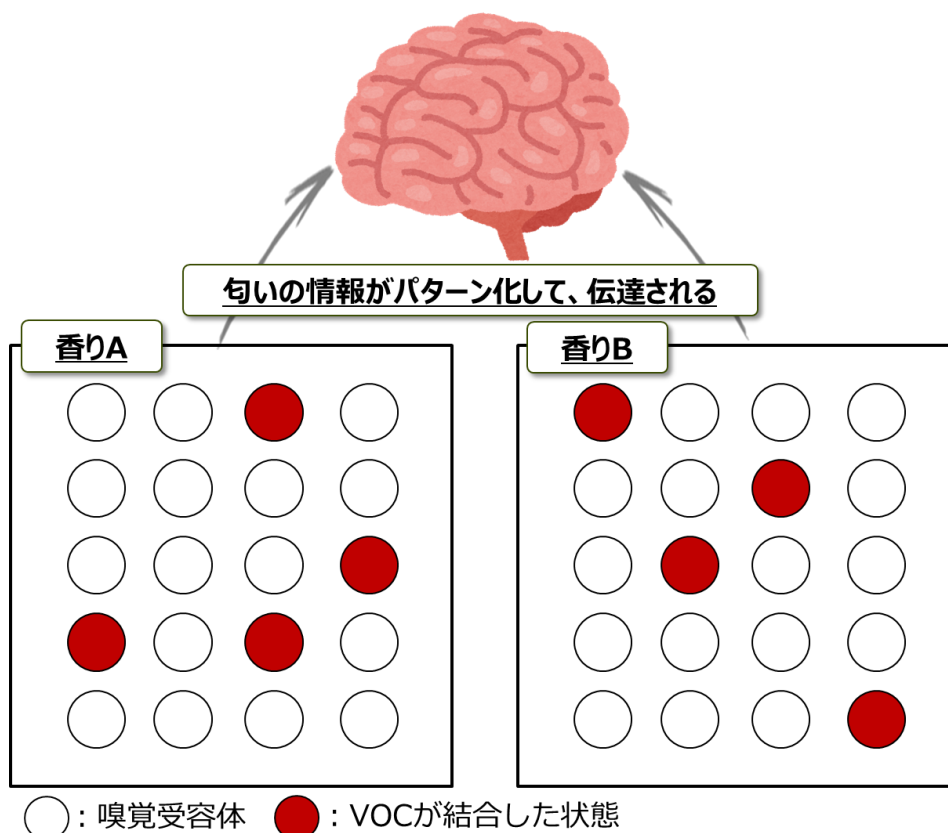


Figure 1-2: Schematic diagram of how flavor to transmitted to the brain.

VOC の比率などによって香りの感じ方が変化する(入江, 2022). そのため本研究では, 香りの質を VOC の強度と複数の VOC 比率で評価することとした.

1.1.4 安定的な作物供給システム植物工場

コロナ禍や消費者の健康志向の向上により, 消費動向は大きく変化している. 2009 年~2021 年の 12 年間で生鮮野菜の購入金額は, 1.83 倍となり(農林水産省, 2023), 今後も増加傾向は続くと考えられる. このような消費動向の変化に伴い, 安定した作物供給システムとして植物工場が期待されている. 植物工場は, 主に太陽光型(Fig. 1-3-A)と人工光型(Fig. 1-3-B)に大別される. 太陽光型は, トマトやキュウリなどの作物の生産が盛んであり, 人工光型は, レタスなどの葉菜類の生産がメインであり, 一部スイートバジルやミントなどの香草類の生産が行われている. 人工光型植物工場は, 太陽光を用いずに LED を用いて作物の生産を行うため, 太陽光型よりも安定した生産量を供給可能な点が強みである. しかし, 太陽光型と違い LED を使用することから, 作物の生産にコストがかかるため, 単位面積当たりの収量を増やす, もしくは作物の高付加価値化が必要である. そのためには, 植物生体情報計測によって植物の生育状態を適切に診断・把握し, 適切な環境制御と栽培管理を行うことが必要である.

1.1.5 植物工場における VOC センシング

様々なセンサを用いて植物の生体情報を計測して生育状態を診断し, その診断結果に基づいて生育環境を適切に制御する **Speaking Plant Approach(SPA)**コンセプト(Udink ten Cate et al., 1978; Hashimoto, 1989)に関する研究開発が行われている. 現在, 光合成・蒸散リアルタイム計測チャンバ(Fig. 1-4-A)や植物のクロロフィル蛍光を計測する吊り下げ型画像計測ロボット(Fig. 1-4-B)などが実際の生産現場に導入



Figure 1-3: Photographs of Green house(A) and plant factory with artificial light(B).

されており、農業生産における環境制御や植物の生長量の把握などに役立っている。SPA に利用可能な植物診断技術は、非破壊かつ非接触で生体情報を計測できることが望ましい。この点において、植物が発する VOC のモニタリングによる植物診断技術は有望である(Jansen et al., 2010; Takayama et al., 2012)。また、植物が放出する VOC の強度や構成は、生物的または非生物的なストレスによって変化することが知られており(Niinemets, 2010; Loreto and Schnitzler, 2010)、テルペン類や GLVs(Green Leaf Volatiles)と呼ばれる C6 化合物などの放出が特徴的である。

1.1.6 生鮮野菜における VOC の利用法

生産野菜における匂いの利用法として、主に二つ考えられる。一つは食害や病害などの検知である。植物は、食植性昆虫による食害や病害などによるストレスを受けたときに、病害応答物質としてサリチル酸メチルを放出することが知られており、サリチル酸メチルを検知することで、食害や病害の早期検知などに有効であると考えられる。二つ目として、生鮮野菜の品質評価などに利用可能である。キャベツやブロッコリーなどは、劣化に伴い典型的な悪臭物質を放出することが知られており、



Figure 1-4: Photographs of open chamber for real-time monitoring photosynthesis(A) and hanging-type imaging robot(B).

これらの物質を検知することで、劣化検知が可能である。また、香りに価値を有する香草類などは、匂いを計測することで、品質評価が可能である。これらのことから、匂い成分計測は、生鮮野菜の品質評価技術として期待される。

1.1.7 香草類における香り

スイートバジルは、香草類の中で代表的な品種であり、料理に用いられる重要なハーブの一つであり(Katarzyna et al., 2019)、新鮮な香草類は、乾燥した製品よりも多くの香りを保持しており、明らかな利点である(Curutchet et al., 2014)。また、人工光型植物工場などで栽培されているものが多く、ニーズも非常に高い植物である。既往の研究でバジルは、塩ストレス(Tarchoune., 2013)や光(Pennisi et al., 2019; Minna et al., 2022)、気温(Walters and Lopez., 2022)、養液(Ciriello et al., 2020)などの環境要因および遺伝(Skrypnik et al., 2019)によって、放出される匂い成分が変化することが知られている。一方で、消費者の好みは様々であり、消費者の好みに適した香りを有するスイートバジルが生産・提供できれば、スイートバジルの高付加価値化が可能となる。したがって、栽培者が適切に環境制御することで、スイートバジルが放出する匂い成分を制御可能であると考えられ、消費者の好みに合ったバジルを生産・提供が可能であると考えられる。

1.1.8 消費者が農産物を購入するまでのプロセス

消費者がスイートバジルを購入するまでに、生産、流通、小売店での貯蔵のプロセスがある。つまり、消費者に多種多様な香りを有するスイートバジルを提供するために、①生産現場で栽培期間における環境(光・養液)制御によって、多種多様な香りを有するスイートバジルを生産、②小売店で貯蔵されている期間における環境制御によって多種多様な香りを有するスイートバジルを提供の二つの方法が挙げられる(Fig. 1-5)。

そこで本研究では、スイートバジルの香りの制御を目的として、栽培期間における光・養液制御による香りの制御、新貯蔵方法による香りの制御を行った。

1.2 本研究の目的

1.2.1 本研究の目的の概要

人工光型植物工場による高付加価値化植物の生産に注目が集まっている(大橋, 2022)。人工光型植物工場は、露地栽培と異なり、作物の生育状態に合わせて光環境や養液環境を制御可能であることが強みである。人工光型植物工場で生産されてい



Figure 1-5: Schematic diagram of process of purchase sweet basil by consumer.

るスイートバジルは、レタス等の葉菜類と異なり重量ではなく香りが重要な品質指標である。そこで、栽培環境を意図的に制御することで消費者のニーズに合った香りを有するスイートバジルが生産可能になれば、高付加価値化に繋がることが考えられる。

これまで、スイートバジルの香りの質的評価に関する研究は数多く行われており、貯蔵環境(野口, 2018), 光(Hammock et al., 2021)や生育ステージによる違い(市村, 2008a)などについても行われている。しかし、スイートバジル葉に含まれる精油成分の量や構成比率の結果を用いて、香りの質的評価を行っている研究が多い(Walters et al., 2021; Walters and Lopez, 2022)。さらに、高温で抽出した精油成分の結果を用いて評価している例もあり、実際の喫食時とはかけ離れた状況下で香りの評価をしていることが課題である(野口ら, 2004)。また精油成分は、栽培期間中にスイートバジル葉に蓄積されたものであり、スイートバジル葉の VOC の放出量や構成比率とは異なることが指摘されている(市村ら, 2008b)。これらのことから、香りの評価において、スイートバジル葉が放出した VOC の量や比率で評価することが望ましい。また、ガスクロマトグラフ質量分析計(Gas Chromatograph Mass Spectrometry: GC-MS)などの高精度な分析機器ではなく、水晶振動子(Quartz crystal microbalance: QCM)センサのような簡易な匂いセンサでスイートバジルの香りの違いが検出可能か確認することとした。

そこで本研究は、栽培期間における光強度、養液(EC)濃度および貯蔵期間における局所的な光照射と給液がスイートバジルの VOC 放出量や構成比率に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。さらに、QCM センサを用いた簡易な匂い計測診断システムを開発し、栽培期間の光強度の違いによるスイートバジルの VOC の変化を検出可能か検討した。

1.2.2 光制御によるスイートバジルの香り制御

人工光型の植物工場では，レタスなどの葉菜類の栽培が盛んであるが，その次に香りに価値を有する香草類の栽培が多い(日本施設園芸協会，2021)．栽培している香草類の香りを制御することが可能になれば，消費者の好みに合わせたスイートバジルの生産が可能になり，スイートバジルの高付加価値化が期待される．既往の研究で，VOCの合成は光や気温，養液などの環境要因や遺伝によって影響されると考えられている(Curutchet et al., 2014)．気温は，VOC合成にポジティブにもネガティブにも影響すると考えられており(Peñuelas and Llusia, 2001)，生産者が気温を制御して香りを制御するには，対象植物のVOC合成がポジティブに作用する気温の閾値の決定および栽培時における気温の偏りが無い環境を構築しなければいけないため，気温を制御してVOCの量を制御することは困難である．一方で，光は基本的にはポジティブな方向に影響すると考えられているため，光強度を制御することで，VOCの量を制御することが可能である．また，人工光型植物工場では外部環境による工場内の光環境の偏りが生じにくいいため，制御が容易である．そこで，光強度の違いによるスイートバジルのVOC放出量および構成比率の違いを明らかにすることを目的とした．

1.2.3 養液(EC)制御によるスイートバジルの香り制御

Fig. 1-6に，人工光型植物工場に用いられる養液制御システムの概略図を示す．養液制御システムは，養液タンク内の電気伝導度(Electrical Conductivity: EC)を計測し，養液タンク内のECが任意の設定値になるように自動で肥料となる原液と原水がタンク内に供給され調整される．その後，給液ポンプを用いて，栽培ベッドに給液される仕組みとなっている．そのため，生産者にとっては，光環境の次に制御

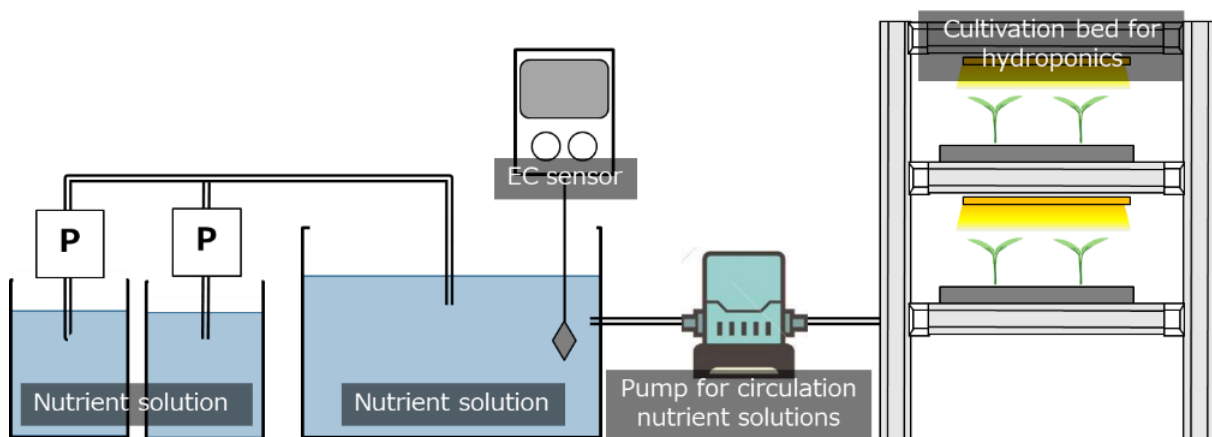


Figure 1-6: Schematic diagram of nutrient circulation system for hydroponics in plant factory with artificial lights.

しやすい環境要因である。そこで、養液(EC)環境の違いがスイートバジルの VOC 放出量および構成比率の違いに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

1.2.4 新貯蔵方法によるスイートバジルの香り制御

一般的にスイートバジルなどの香草類は、収穫の際に根などの地下部を除去し、茎や葉などの地上部のみを袋に包装した状態で小売店に陳列されている。さらに、消費者が購入するまで、小売店で冷蔵された状態で貯蔵される。株式会社ファームシップは、小売店などの店頭で利用可能な生育維持システムである farmbox®を開発した(詳しくは 2.5 で後述する)。しかし、farmbox®を用いた貯蔵方法が、香草類の重要な品質指標である香りに及ぼす影響については検討されていない。そこで、farmbox®を用いた貯蔵方法が、スイートバジルの VOC 放出量に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

1.2.5 生産現場で利用可能な匂いセンシングシステムの開発

植物が放出する VOC に関する研究は数多く行われている。しかし、GC-MS や PTR-MS などの高精度な計測機器を用いた基礎的な研究が多い(Tani et al., 1999; Tani et al., 2007)。一方で、水晶振動子(Quartz crystal microbalance : QCM)センサを用いて、空気中の VOC を測定する研究が進められており(Bearzotti et al., 2017; Burda, 2022)、QCM センサは市販されるレベルにまで技術開発が進んでいる。さらに、QCM などの簡易なセンサを用いて植物が放出する VOC を計測した例などが報告されている(Lieberzeit et al., 2009; Debabhuti et al., 2021; Debabhuti et al., 2022)、センサの評価にとどまっており、農業生産現場で利用可能な匂いセンシングシステムとして報告されている事例は少ない。そこで、株式会社アロマビットが販売している QCM センサ(STD-03)を用いて匂いセンシングシステムを開発し、開発したセンシングデバイスを用いて、栽培期間における光強度の違いに起因したスイートバジルの VOC 放出量の違いを検出可能か確認した。

1.3 本論文の構成

本章(第 1 章)では、消費者の食に対するニーズの変化や味と香りの関係について述べた。また、消費者ニーズに応えることが可能な安定的な作物供給システムである植物工場の特徴や植物の生体情報に基づいて適切に環境制御を行う Speaking Plant Approach(SPA)コンセプトに基づいたリアルタイム光合成・蒸散速度計測チャンバやクロロフィル画像計測装置の植物の生体情報を計測する植物診断計測技術について紹介した。中でも、植物が放出する VOC の計測が、香草類の品質を把握

し、多様な消費者ニーズに応えることに有効であることを述べた。また、本研究の目的について述べた。

第2章では、スイートバジルの香りを制御するために、栽培期間における環境制御方法や小売店で利用可能な新しい貯蔵方法について述べる。さらに、スイートバジルが放出する VOC の分析に使用するガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)や携帯型ガスクロマトグラフ(GC-SAW)の計測原理等について述べる。また、スイートバジルが放出する VOC を捕集するための閉鎖型 VOC 計測システムの概要やスイートバジルが放出する代表的な VOC について述べる。

第3章では、異なる養液(EC)環境で栽培したスイートバジル、第4章では、異なる光強度で栽培したスイートバジルを対象に VOC 解析を行った結果を示す。第5章では、株式会社ファームシップが開発した farmbox®で貯蔵したスイートバジルと既存の貯蔵方法で貯蔵したスイートバジルを対象に VOC 解析を行い、farmbox®が既存の貯蔵方法よりも香りを高く保持することが可能なシステムであることを示す。第6章では、安価な匂いセンサである QCM センサを用いて、携帯型の匂い計測診断システムを開発し、異なる光強度で栽培したスイートバジルを対象に VOC 計測および解析結果について述べる。

第7章では、本研究で得られて結果の総括を述べ、栽培期間における環境制御と farmbox®による新しい貯蔵が、スイートバジルの VOC 放出量および構成比率を制御可能であることを述べ、消費者の多様なニーズに応えることに有効であるということを示す。

引用文献

Bearzotti, A., Macagnano, A., Papa, P., Venditti, I., Zampetti, E., 2017. A study of a QCM sensor based on pentacene for the detection of BTX vapors in air. *Sensors and Actuators B*, 240: pp. 1160-1164.

Burda I. 2022. A Study on Regenerative Quartz Crystal Microbalance. *Chemosensors*, 10(7): 262.

Ciriello, M., Pannico, A., El-Nakhel, C., Formisano, L., Cristofano, F., Duri, L.G., Pizzolongo, F., Romano, R., De Pascale, S., Colla, G., Cardarelli, M., Roupheal, Y. 2020. Sweet Basil Functional Quality as Shaped by Genotype and Macronutrient Concentration Reciprocal Action. *Plants*, 9: 1786.

Curutchet, A., Dellacassa, E., Ringuélet, J.A., Chaves, A.R., Viña. S.Z., 2014. Nutritional and sensory quality during refrigerated storage of fresh-cut mints (*Mentha piperita* and *M. spicata*). *Food Chemistry*, 143: pp. 231-238.

Debabhuti, N., Mukherjee, S., Neogi, S., Sharma, P., Ugir Hossain Sk, Maiti, S., Poddar Sarkar, M., Tudu, B., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., 2022. A study of vegetable oil modified QCM sensor to detect β -pinene in Indian cardamom. *Talanta*, 236: 122837.

Debabhuti, N., Neogi, S., Mukherjee, S., Dhar, A., Sharma, P., Rohit L. Vekariya, Poddar Sarkar, M., Tudu, B., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., Muddassir, M., 2021. Development of QCM sensor to detect α -terpinyl acetate in cardamom. *Sensors and Actuators A*, 319: 112521.

Gilbert, J.L., Guthart, M.J., Gezan, S.A., Pisaroglo de Carvalho, M., Schwieterman, M.L, Colquhoun, TA., Bartoshuk, L.M., Sims, C.A., Clark, D.G., Olmstead, J.W. 2015. Identifying Breeding Priorities for Blueberry Flavor Using Biochemical, Sensory, and Genotype by Environment Analyses. *PLoS ONE*, 10(9): e0138494.

Hammock, H.A., Kopsell, D.A., Saams, C.E. 2021. Narrowband Blue and Red LED Supplements Impact Key Flavor Volatiles in Hydroponically Grown Basil Across Growing Seasons. *Frontiers in Plant Science*, 12: 623314.

Han, P., Farka, T., de Wijk, R.A., Roudnitzky, N., Iannilli, E., Seo, H.S., Hummel., T., 2019. Modulation of sensory perception of cheese attributes intensity and texture liking via ortho- and retro-nasal odors. *Food Quality and Preference*, 73: pp. 1-7.

Hashimoto, Y., 1989. Recent strategies of optimal growth regulation by the speaking plant concept. *Acta Horticulturae*, 260: pp. 115-121.

Jansen, R. M. C., Hofstee, J. W., Wildt, J., Vanthoor, B. H. E., Verstappen, F. W. A., Takayama, K., Bouwmeester, H.J. and van Henten, E. J., 2010. Health monitoring of plants by their emitted volatiles: A model to predict the effect of *Botrytis cinerea* on the concentration of volatiles in a large-scale greenhouse. *Biosystems Engineering*, 106: pp. 37-47.

Katarzyna Bączek, Olga Kosakowska, Małgorzata Gniewosz, Iwona Gientka and Zenon Węglarz., 2019. Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Productivity and Raw Material Quality from Organic Cultivation. *Agronomy*, 9(6): 279

- Labbe, D., Damevin, L., Vaccher, C., Morgenegg, C., Martin, N., 2006. Modulation of perceived taste by olfaction in familiar and unfamiliar beverages. *Food Quality and Preference*, 17: pp. 582-589
- Labbe, D., Rytz, A., Morgenegg, C., Ali, S., and Martin, N., 2007. Subthreshold Olfactory Stimulation Can Enhance Sweetness. *Chemical Senses*, 32: pp. 205-214.
- Lieberzeit, P.A., Rehman, A., Iqbal, N., Najafi, B., Dickert, F.L., 2009. QCM sensor array for monitoring terpene emissions from odoriferous plants. *Monatsh Chem*, 140: pp. 947-952.
- Loreto, F. and Schnitzler, J., 2010. Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3): pp. 154-166.
- Minna Kivimäenpä, Adedayo Mofikoya, Ahmed M. AbdEl-Raheem, Johanna Riikonen, Riitta Julkunen-Tiitto, and Jarmo K. Holopainen., 2022. Alteration in Light Spectra Causes Opposite Responses in Volatile Phenylpropanoids and Terpenoids Compared with Phenolic Acids in Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) Leaves. *J. Agric. Food Chem*, 70: pp. 12287-12296.
- Niinemets, U., 2010. Mild versus severe stress and BVOCs: thresholds, priming and consequences. *Trends in Plant Science*, 15(3): pp. 145-153.
- Peñuelas, J. and Llusià, J., 2001. The complexity of factors driving volatile organic compounds emissions by plants. *Biologia plantarum*, 44(4): pp. 481-487.
- Pennisi, G., S. Blasioli, A. Cellini, L. Maia, A. Crepaldi, I. Braschi, F. Spinelli, S. Nicola, J. A. Fernandez, C. Stanghellini, L. F. M. Marcelis, F. Orsini, G. Gianquinto., 2019. Unraveling the role of red:blue LED lights on resource use efficiency and nutritional properties of indoor-grown sweet basil. *Front. Plant Sci.* 10: 305.
- Skrypnik, L., Novikova, A., and Tokupova, E., 2019. Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. *Plants* 8:458.
- Small, D.M., Gerber, J.C., Mak, Y.E., and Hummel, T., 2005. Differential Neural Responses Evoked by Orthonasal versus Retronasal Odorant Perception in Humans. *Neuron*, 47: pp. 593-605.

Takayama, K., Jansen, R. M. C., van Henten, E.J., Verstappen, F. W. A., Bouwmeester, H.J. and Nishina, H., 2012. Emission index for evaluation of volatile organic compounds emitted from tomato plants in greenhouses. *Biosystems Engineering*, 97: pp. 219-228.

Tani, A., Kato, S., Kajii, Y., Wilkinson, M., Owen, S., Hewit, N., 2007. A proton transfer reaction mass spectrometry based system for determining plant uptake of volatile organic compounds. *Atmospheric Environment*, 41: pp. 1736-1746.

Tani, A., Saito, T., Hayashi, K., Arai, R., Tako, Y., Kiyota, M., 1999. Identification of volatile organic compounds emitted from and measurement of the rates of ethylene emission, photosynthesis and transpiration of dwarf rice species. *CELSS JOURNAL*, 12(1): pp. 15-20.

Tarchoune, I., Baâtour, O., Harrathi, J., Cioni, P.L., Lachaâl, M., Flamini, G. and Ouerghi, Z. 2013. Essential oil and volatile emissions of basil (*Ocimum basilicum*) leaves exposed to NaCl or Na₂SO₄ salinity. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176: pp. 748-755.

Udink ten Cate, A.J., Bot, G. P. A. and Dixhoorn, J.J., 1978. Computer control of greenhouse climates. *Acta Horticulturae*, 87: pp. 265-272.

Walters, K.J.; Lopez, R.G., Behe, B.K., 2021. Leveraging Controlled-Environment Agriculture to Increase Key Basil Terpenoid and Phenylpropanoid Concentrations: The Effects of Radiation Intensity and CO₂ Concentration on Consumer Preference. *Frontiers in Plant Science*, 11: 598519

Walters, K.J.; Lopez, R.G., 2022. Hydroponic Basil Production: Temperature Influences Volatile Organic Compound Profile, but Not Overall Consumer Preference. *Horticulturae*, 8: 76.

市村匡史. 2008a. スイートバジルの生育ステージならびに器官別の精油含量と精油成分. *東京農業大学農学集報*, 52(4): pp. 167-172.

市村匡史, 野口有里紗, 木村正典. 2008b. スイートバジルの葉の着生位置によるVOCおよび精油成分の変化. *東京農業大学農学集報*, 53(2): pp. 91-95.

入江正和．2022．和牛肉における脂肪質と食味性の関係その 2．*畜産技術*，2022(803-Apr.): pp. 2-8.

大浦裕二．2012．食に関する多様な消費者行動の解明に向けた視点と方法．*フードシステム研究*，19(2): 46-49.

大橋(兼子)敬子，2022．光環境制御による高付加価値化植物の生産．*植物環境工学*，34(3): pp.122-124.

東原和成，2007．香りとおいしさ：食品科学のなかの嗅覚研究．*化学と生物*，45(8): pp.564-569.

東原和成，2015．嗅覚の匂い受容メカニズム．*日本耳鼻咽喉頭科学会会報*，115(8): pp.1072-1075.

日本施設園芸協会，大規模施設園芸・植物工場 実態調査・事例調査，At <https://jgha.com/wp-content/uploads/2021/03/TM06-02-bessatsu1.pdf>. Accessed 28 September 2022.

農林水産省，野菜をめぐる情勢．At <https://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/yasai/attach/pdf/index-15.pdf>. Accessed 22 September 2023.

野口有里紗，市村匡史，池田富喜夫．2004．ガラスビーズの振動処理で生じるスイートバジル葉の VOC．*日本食品保蔵科学会誌*，30(2): pp. 65-68.

野口有里紗．2018．香気および機能性成分に着目したスイートバジルの収穫後の品質に関する研究．*日本食品保蔵科学会誌*，44(2): pp. 93-97.

平川良子，水谷政美，2022．ハーブ類の加工利用適正に関する研究．*宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告*，46: pp.119-122.

第2章 材料および方法

2.1 スイートバジル

Ocimum 属は熱帯を中心に約 150 種類あり，その中でも分布が広く生産されているものはスイートバジル(*Ocimum basilicum* L.)である(Kimura et al., 1994; Pandey et al., 2014; Tangpao et al., 2022). スイートバジルは，高温性の一年生草本であり，茎葉と穂に芳香を有しているため，料理などに用いられることが多い(Kimura et al., 1994; Simon et al., 1999; Lewinsohn et al., 2000; Ordookhani et al., 2011). 特に，スイートバジルが有する芳香の元である精油は，スイートバジル葉表面に存在する袋状組織である腺毛(トライコーム)に蓄えられている(Tirillini and Maggi, 2021). また，バジルに含まれている精油の組成は，種類によって組成が顕著に異なり，異なる地理的起源に由来するケモタイプが報告されている(Simon et al., 1999).

2.2 VOC

VOC は，揮発性を有し，大気中で気体状となる有機化合物の総称であり，私たちの身の回りに存在する物質である．私たちの健康を害する物質から香水や柔軟剤などに香料として含まれている物質もある．香料や柔軟剤などに利用される VOC は，植物から蒸留(Yildirim et al., 2004; Babu and Kaul, 2005)，低温圧搾(Gök and Kirbaşlar, 2015)，溶媒抽出(Durling et al., 2007; Sarikurkcu et al., 2010)，超臨界流体抽出(Pereira and Meireles, 2007; Donelian et al., 2009)などの方法で抽出された精油(エッセンシャルオイル)を元に作られており(Schwab et al., 2008)，一般的にフレグランスという呼び方である．食品や飲料水に使用される香料は，フレーバーと呼ばれ，特に味と匂いの組み合わせとして定義されている(Schwab et al., 2008).

スイートバジルは，Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal, α -pinene, β -pinene, Myrcene などの VOC が含まれており，Linalool はフローラルな香り，Cineole はミントのような爽やかな香り，Eugenol はクローブのような香りと言われており(Montalván et al., 2019; Du et al., 2023)，刺激的(スパイシー)な香りが特徴的である．(Z)-3-hexenol や(Z)-3-hexenal は，緑葉香と言われている(Chen et al., 2022)． α -pinene や β -pinene は，ウッディノートと言われており，木の香りが特徴的である(Montalván et al., 2019)．Myrcene は，スパイシーな香りと言われている(Rottiers et al., 2019).

2.3 トライコーム

Fig. 2-1 にトマトのトライコームの写真を示す．植物が放出する VOC の中で，モノテルペン類(α -pinene, Cineole, Linalool)やフェノール系 VOC(Eugenol)などの二次

代謝産物は、glandular trichome と呼ばれる分泌トライコーム(袋状の組織)の中に蓄積される(飯島, 2014). Fig. 2-2 にトライコーム周辺の構造の模式図を示す. モノテルペン類やフェノール系 VOC の生合成は、分泌トライコームの付け根の分泌細胞 (Secretory cells)で行われている (Turner et al., 2000).

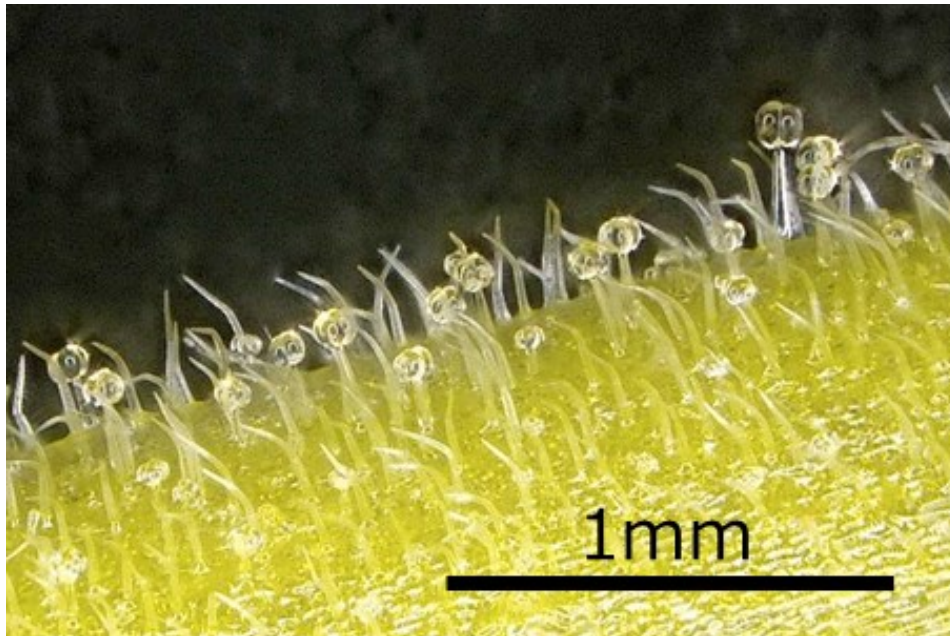


Figure 2-1: A photograph of trichome of tomato.

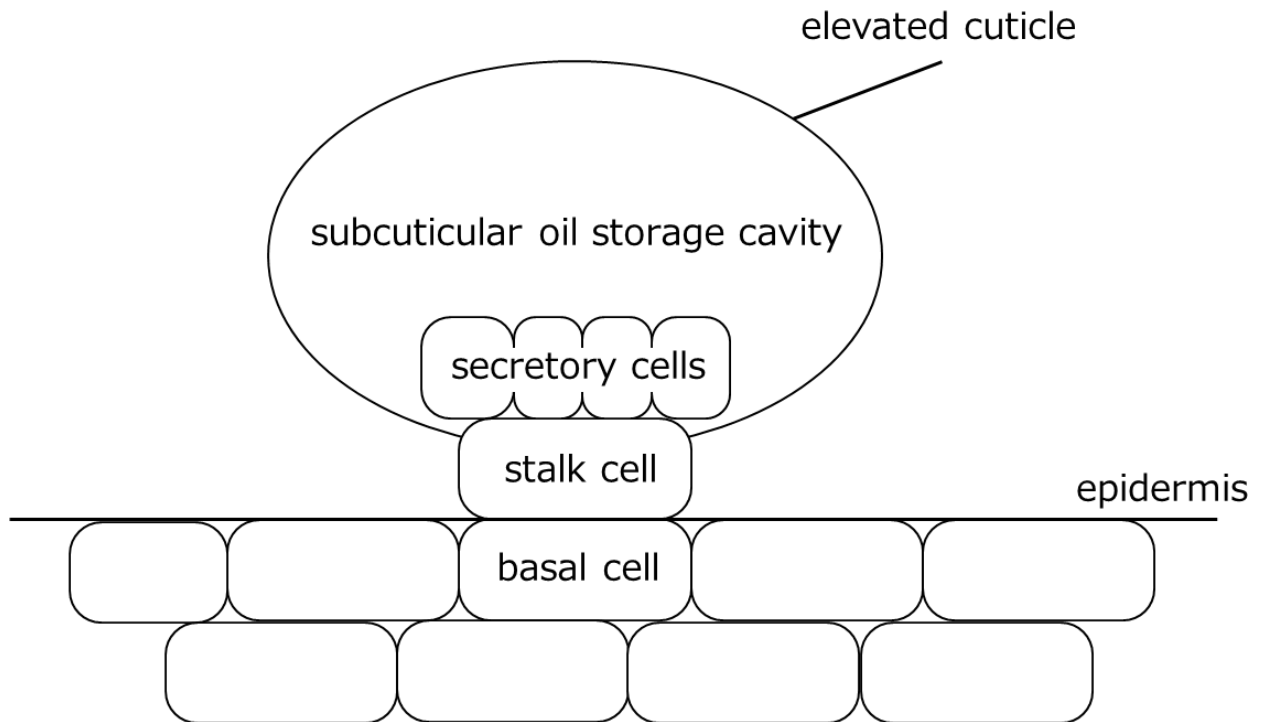


Figure 2-2: Schematic diagram of glandular trichome of Lamiaceae.

一方で、(Z)-3-hexenal,(Z)-3-hexenolなどの Green Leaf Volatiles(GLVs)と呼ばれる緑の香りは、植物内の不飽和脂肪酸である α -リノレン酸が酸化分解によって生成される物質であり(Fall et al., 1999), モノテルペン類やフェノール系 VOC と生成経路が異なる。

2.4 植物材料

2.4.1 異なる養液(EC)環境で栽培したスイートバジル

実験 1 として、異なる養液(EC)濃度で栽培されたスイートバジルを対象に VOC 計測を行い、養液(EC)濃度の違いがスイートバジルの VOC 放出量や比率に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

植物材料は、商業的施設生産である人工光型植物工場を運営している株式会社ファームシップからご提供いただいたスイートバジルを用いた。本研究では、EC: 1~1.2 mS cm⁻¹ (T1 区), EC: 2.1~2.3 mS cm⁻¹ (T2 区), EC: 4.3~4.5 mS cm⁻¹(T3 区)で 23 日間栽培したスイートバジルの 3 つの処理区を用いた。養液は、OAT ハウス 1 号(アンモニア性窒素(NH₃)1.5 %, 硝酸性窒素(NO₃)8.2 %水溶性リン酸(P₂O₅)8 %, 水溶性加里(K₂O)8 %, 水溶性苦土(MgO)4 %, 水溶性マンガン(MnO)0.1 %, 水溶性ホウ素(B₂O₃)0.1 %, 鉄(Fe)0.18 %, 銅(Cu)0.002 %, 亜鉛(Zn)0.006 %, モリブデン(Mo)0.002 %)1500 g と OAT ハウス 5 号(アンモニア性窒素(NH₃)6 %, 水溶性加里(K₂O)9 %, 水溶性マンガン(MnO)2 %, 水溶性ホウ素(B₂O₃)2 %, 鉄(Fe)5.7 %, 銅(Cu)0.04 %, 亜鉛(Zn)0.08 %, モリブデン(Mo)0.043 %)25 g を 10 L の水に溶かした養液 A と、OAT ハウス 2 号(窒素(N₂)11 %, カルシウム(Ca)16.4 %)1000 g を 10 L の水に溶かした養液 B を等量ずつ供給した。株式会社ファームシップでは、通常 EC 2.1~2.3 mS cm⁻¹ でスイートバジルの栽培が行われている。また、全ての処理区において PPF_D 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で栽培した。一般的に、EC を上げすぎると植物体の生育不良などが起こるが、本研究では外観で確認できるような生育不良は確認されなかった。

2.4.2 異なる光強度で栽培したスイートバジル

実験 2 として、異なる光強度で栽培されたスイートバジルを対象に VOC 計測を行い、光強度の違いがスイートバジルの VOC 放出量や比率に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

植物材料は、株式会社ファームシップからご提供いただいたスイートバジルを用いた。本研究では、人工光型植物工場での商業的生産における標準的な光強度である光合成光量子束密度(Photosynthetic Photon Flux Density: PPF_D) 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で明期 16 時間と暗期 8 時間を一周期として 23 日間栽培したスイートバジル

(PPFD300 区)と PPFD 200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で 23 日間栽培したスイートバジル(PPFD200 区)ならびに PPFD 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で 27 日間栽培したスイートバジル(PPFD100 区)の 3 処理区を用いた. なお, PPFD 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で栽培したスイートバジルは, 商業的に出荷可能なサイズの大きさになるまで時間を要したため, 栽培日数が他の処理区よりも長くなっている. また, 全ての処理区において EC は, 2.1~2.3 mS cm^{-2} , pH は 5.5~6.5 で栽培した.

2.4.3 異なる貯蔵環境で貯蔵したスイートバジル

実験 3 として, 植物材料として株式会社ファームシップが開発した farmbox®(2.5 で詳細を後述する)で貯蔵したスイートバジルと既存の貯蔵方法である冷蔵庫で貯蔵したスイートバジルを用いた. スイートバジルは, PPFD 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で 23 日間栽培した後に, 1 週間 farmbox®および冷蔵庫でそれぞれ貯蔵した. farmbox®で貯蔵したスイートバジルは, 根が付いている状態であり, 冷蔵貯蔵したスイートバジルは, 根を切り落とした状態で袋詰めされ冷蔵庫で貯蔵された. なお, 貯蔵期間における気温は, farmbox®が 23 $^{\circ}\text{C} \pm 1.1$ (S.D.), 冷蔵庫が 10 $^{\circ}\text{C} \pm 0.8$ (S.D.)であった.

2.4.4. QCM 計測に用いたスイートバジル

実験 4 として, QCM センサを用いた匂い計測システムを開発し, PPFD100 で 23 日間栽培したスイートバジルと PPFD300 で 23 日間栽培したスイートバジルを対象に VOC 計測を行った. PPFD100 における栽培時の気温は, 26.0 $^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ (S.D.),



Figure 2-3: Photographs of how to measure light spectra(A) and spectrometer .

PPFD300 における栽培時の気温は、 $25.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ (S.D.)の環境で栽培した。光源は同一のものを用いて栽培し、PPFD100 と PPFD300 になるように調節した。また、PPFD100 と PPFD300 におけるスペクトルに変化がないか、スペクトロメーター(MS-730, 英弘精機(株))で計測した(Fig. 2-3)。PPFD100 および PPFD300 の状態で、光のスペクトルに大きな変化はないことを確認した(Fig. 2-4)。養液は協和(株)のハイポニカ液体肥料を用いた(Fig. 2-5)。水 1 L に対し、A 液と B 液を 2 mL の比率で混ぜ、合計で 20 L の養液を作成した。

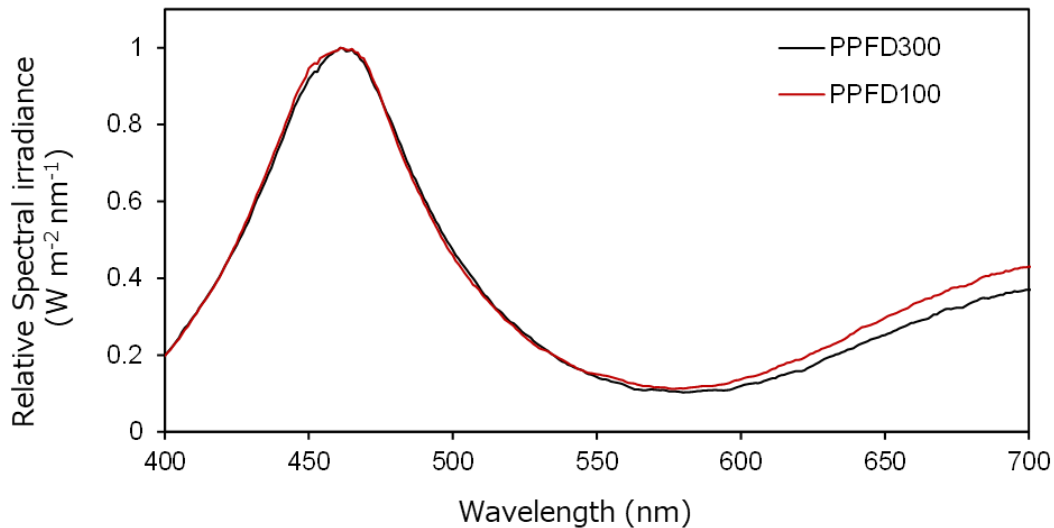


Figure 2-4: Relative spectral irradiance of PPFD100 and PPFD300 .



Figure 2-5: Photograph of Liquid fertilizer for hydroponics.

2.5 店頭生育維持システム farmbox®

Fig. 2-6 に株式会社ファームシップが開発した farmbox®の模式図と写真を示す。本体の大きさは、1.5 m [W] × 0.9 m [D] × 2.0 m [H]となっており、スーパーマーケットなどの小売店で利用可能である。本体下部に、養液タンクが内蔵されており、香草類に給液される仕組みとなっている。さらに、香草類の上部には、LEDが設置されており、局所的に照射を行っている。farmbox®は、香草類の生育を維持することを目的としたシステムである。消費者は、farmbox®の香草類を自ら収穫して購入することで、収穫後の店頭における貯蔵期間が0日であるという意味での高鮮度の香草類を入手できる。

2.6 計測対象葉

Fig. 2-7 にスイートバジルの模式図および計測に使用したスイートバジル葉の写真を示す。スイートバジルは、古い葉の上に新しい葉が展開する植物である。そのため、古い葉は、新しい葉によって遮光されている状況となり、光強度の違いから、生成される VOC の量や比率が古い葉と新しい葉で異なる可能性が高い。そこで本研究では、下位葉(Lower leaf)と上位葉(Upper leaf)を分けて計測を行った。Lower leaf および Upper leaf は、5枚を1セットとして計測を行った。なお、本研究で使用したスイートバジル葉には、外観上の違いは確認されなかった。

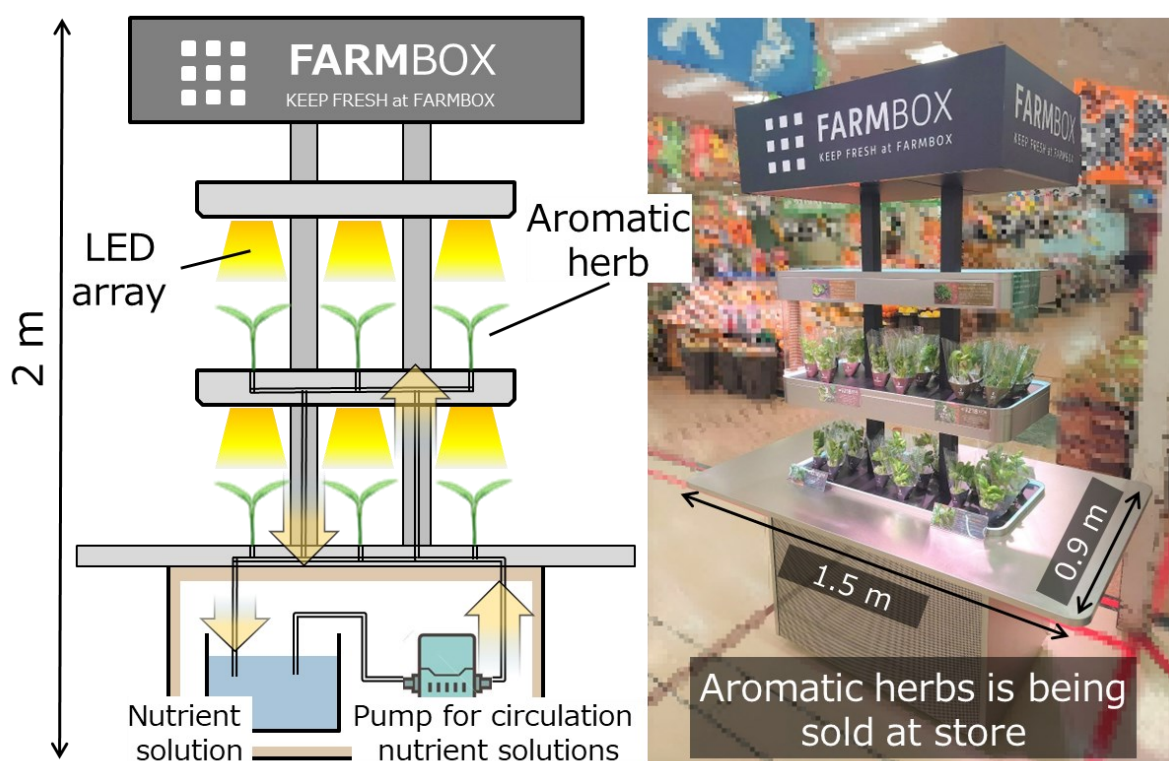


Figure 2-6: Schematic diagram and photograph of farmbox®.

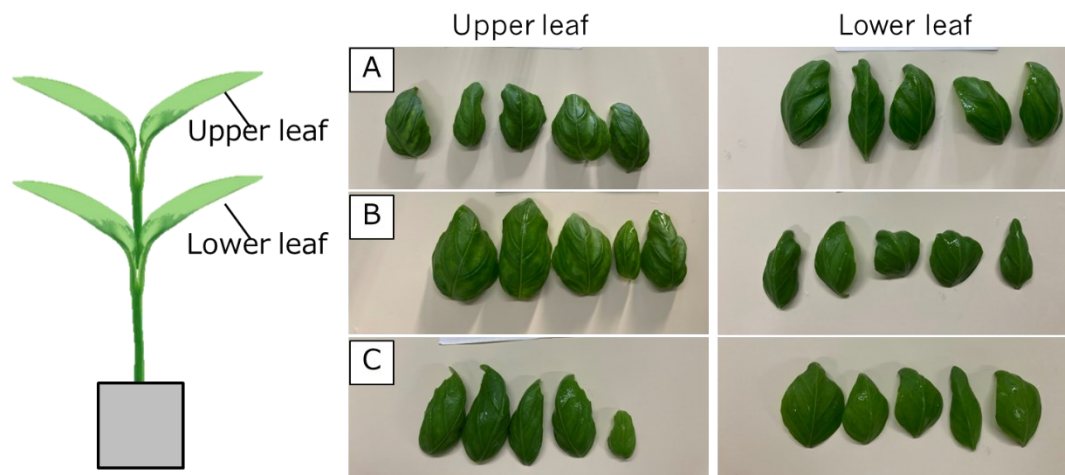


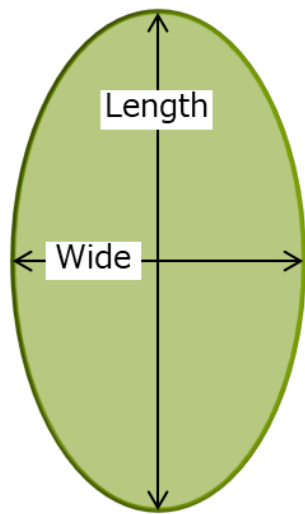
Figure 2-7: Schematic diagram and photograph of sweet basil.

2.7 葉面積の計測

スイートバジル葉は、個体差が大きく、葉の大きさによって、放出する VOC の量が異なる可能性がある。そのため、葉面積で VOC 放出量を標準化して、VOC 放出量を比較する必要がある。葉面積の計測として、画像解析による面積の算出などの方法もあるが、スイートバジル葉は、湾曲しているため、画像解析では面積を小さく算出してしまう可能性が高い。そこで本研究では、計測前にテープメジャーを用いて葉長と葉幅を計測し、楕円形の面積として算出した (Fig. 2-8)。

2.8 細断処理

スイートバジルは、葉を食材として料理に用いることが多いため (Kimura et al., 1994), 葉柄で切断した個葉を計測対象とした。また、調理方法としては、個葉をそのまま用いる場合と、ちぎる・切るといった切断面を生じさせて用いる場合があり、それぞれの場合で葉が放出する香りが異なると考えられる (Fall et al., 1999)。そこで本研究では、そのままの香りを想定した小葉 (Whole leaf) と調理を想定した細断葉 (Shredded leaf) の状態で計測を行った (Fig. 2-9)。細断処理の模式図を示す (Fig. 2-10)。細断処理は、匂いの吸着が生じにくい PTFE (poly tetra fluoro ethylene) フィルム (3-5595-01, アズワン (株)) にスイートバジル葉を挟み、主葉脈に対し垂直方向にハンドシュレッダ (NSH-S01, ナカバヤシ (株), 細断形状: 3.5 mm) で細断を行った。PTFE フィルムでスイートバジル葉を挟むときは、四角形の PTFE フィルムの対角同士を重ねるように挟んだ。これによって、最初の細断箇所が三角形の頂点付近の 2 か所となる。さらに、 θ_1 , θ_2 の角度が等しくなるため、次に細断される 2 箇所とハンドシュレッダの刃までの距離 (d_1 , d_2) が等しくなり、同じタイミングで細断される。この裁断処理方法によって、安定的にスイートバジル葉を細断することが可能となった。



$$L_A = \pi \times \text{Length}/2 \times \text{Wide}/2$$

L_A : Leaf area (cm²)

Figure 2-8: Schematic diagram of how to measure and calculate leaf area .



Figure 2-9: Photograph of sweet basil leaf(Whole leaf(A) and Shredded leaf(B)).

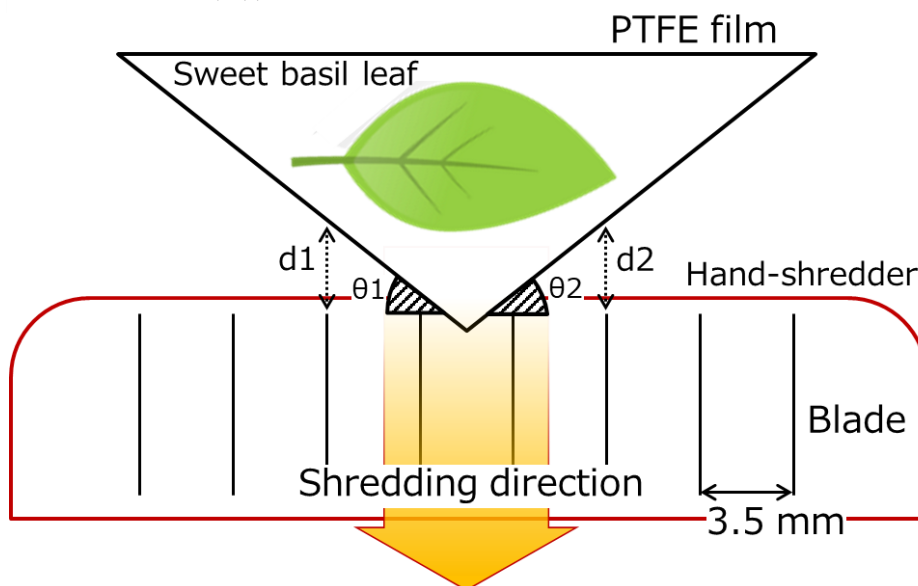


Figure 2-10: Schematic diagram of how to shred sweet basil leaf.

2.9 閉鎖型 VOC 計測システムの開発

植物が放出する VOC を計測する方法として開放型チャンバを用いた方法(Tani et al., 2007; Takayama et al., 2012)と閉鎖型チャンバを用いた方法(Tholl et al., 2006)がある。開放型チャンバの場合、チャンバ内に VOC が流入するため、植物が放出している VOC を評価するためには、チャンバ流入する VOC を計測する必要がある。そこで本研究では、閉鎖型チャンバを用いた方法でスイートバジルが放出する VOC を捕集し解析を行った。

本研究で開発した閉鎖型 VOC 計測システムの模式図と外観写真を Fig.2-11, 2-12 に示す。本研究では、携帯型ガス分析装置(Gas Chromatograph Surface Acoustic Wave: GC-SAW)を用いた閉鎖型 VOC 計測システム(Fig. 2-11)と VOC 捕集剤である TenaxTA(mesh 20/35, Grace-Alltech, Breda, The Netherlands)を用いた閉鎖型 VOC 計測システムを開発した(Fig. 2-12)。容量 2000mL の筒型セパラブルフラスコ(160 mm[W]×130 mm[D]×230±3 mm[H]) に PTFE(Poly Tetra Fluoro Ethylene)チューブ(TUF-100, 内径 5mm, 外径 6mm, 中興化成工業(株))とエアポンプ(MP-Z30N, 柴田科学(株)), さらに後述する小型攪拌機構で構成されている。GC-SAW を用いた閉鎖型 VOC 計測システムは、PTFE チューブの一部にサンプリング針を刺し、エアポンプで循環している空気の一部をサンプリングする仕組みとなっている。TenaxTA を用いた閉鎖型 VOC 計測システムは、エアチューブの途中に TenaxTA が充填されたガラス管(Fig. 2-13)を 2 本直列に設置し、エアポンプ(MP-Z30N, 柴田科学(株))を用いて、TenaxTA に匂い成分を吸着させる仕組みとなっており、その後 GC-MS で解析する。

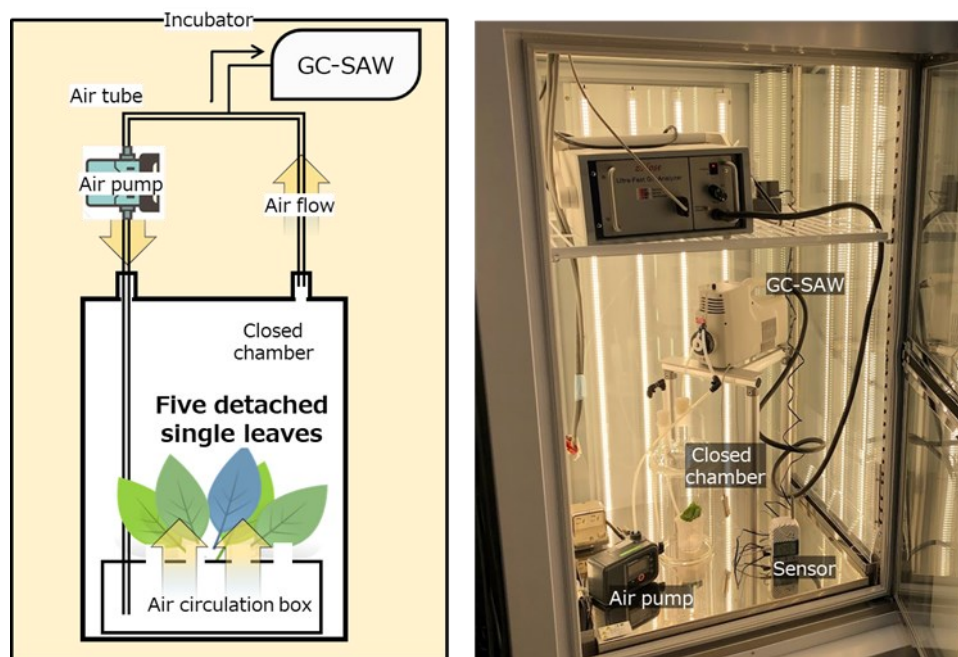


Figure 2-11: Schematic diagram and photograph of the closed chamber using GC-SAW for sampling VOC emitted from sweet basil.

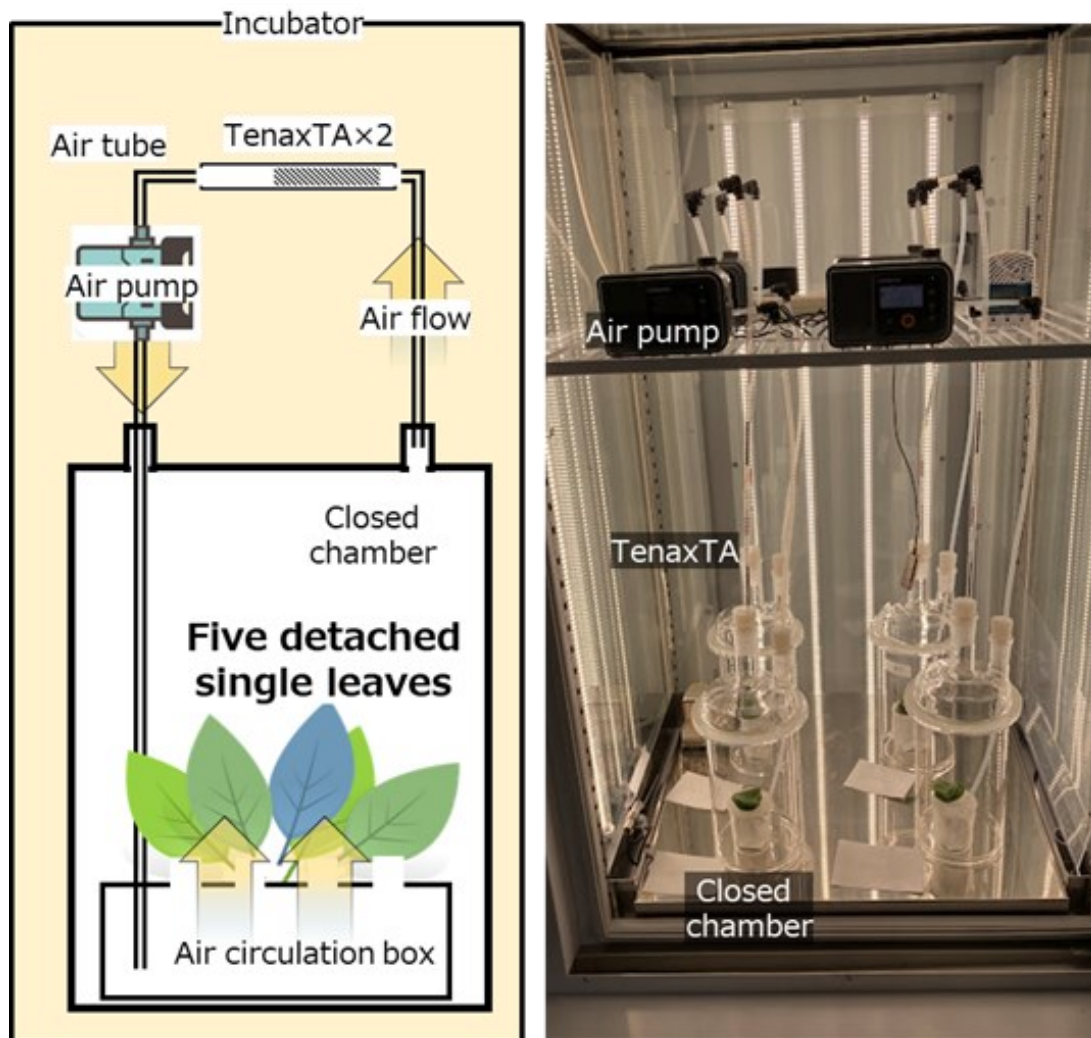


Figure 2-12: Schematic diagram and photograph of the closed chamber using TenaxTA for sampling VOC emitted from sweet basil.



Figure 2-13: A photograph of TenaxTA.

2.10 小型空気攪拌機構の開発

開発した小型空気攪拌機構の写真と模式図を示す(Fig. 2-14). セパラブルフラスコの中に、小型空気攪拌機構を設置した. 小型のビーカー(B-100SCI, HARIO SCIENCE CO.,LTD. ϕ 55 mm [胴外径] \times 73 mm [高さ], 100 mL [容量])に PTFE フィルムを貼り, ϕ 3 mm の穴を複数開けた. 空気をセパラブルフラスコ内に戻す際に,

ビーカーの底にエアチューブの先端を配置することによって、小さい穴から空気が漏れ出すようにし、セパラブルフラスコ内の空気の滞留を防ぐ仕組みとなっている。この機構によって、安定的に匂い成分を捕集することが可能となった。



Figure 2-14: Photographs and schematic diagram of circulation system.

2.11 VOC 計測装置の比較

本研究で使用した VOC 計測装置を示す(Fig. 2-15)。本研究では、QCM センサ、GC-SAW、GC-MS を用いた。

QCM センサは、超小型のセンサであり、1 秒から計測が可能な VOC センサである。さらに、約 20 万円程度であり、非常に安価である。しかし、全ての VOC に対して反応するため、VOC の選択性が弱いことが特徴的である。

GC-SAW は、携帯可能な VOC 分析装置であり、ppb 程度の低濃度でも評価可能である。さらに、計測から解析まで 1 分未満で完了することが特徴的であり、強み



Figure 2-15: Characteristics of each VOC measurement system.

である。しかし、検出器に MS が使用されていないため、GC-SAW だけで定性することは不可能である。そのため、事前に計測対象のサンプルを GC-MS で解析し、どのような物質が得られるか解析する必要がある。

GC-MS は、定性・定量が可能な大型の VOC 分析装置であり、詳細な分析が可能な分析装置である。事前にサンプルが放出する VOC を濃縮捕集するか、抽出する必要がある。さらに、一つのサンプルを解析する時間が長く、25 分以上要する。また、非常に高価な分析装置である。

2.12 GC-MS

2.12.1 計測原理

GC-MS は成分の同定、定量のための装置である。GC-MS(7890B-5977B, アジレント・テクノロジー(株))の全体の写真を Fig. 2-16 に示す。GC 部分で成分の分離(ガスクロマトグラフィー)を行い、MS 部分で成分の同定を行う。GC と MS を組み合わせることにより、様々な匂い成分の同定と定量を行うことができる。

ガスクロマトグラフィーとは、固定相(カラム)で混合した匂い成分を移動相(キャリアーガス)で移動させ、各成分の吸着性や親和性の違いから生じる「移動速度の差」を利用して成分ごとに分離を行う原理である。ガスクロマトグラフィーを行う装置のことをガスクロマトグラフと呼ぶ。ガスクロマトグラフで分離し、成分ごとに検出器に到達したときの時間(リテンションタイム, 保持時間)と検出量をグラフ化したものをクロマトグラムと呼ぶ。

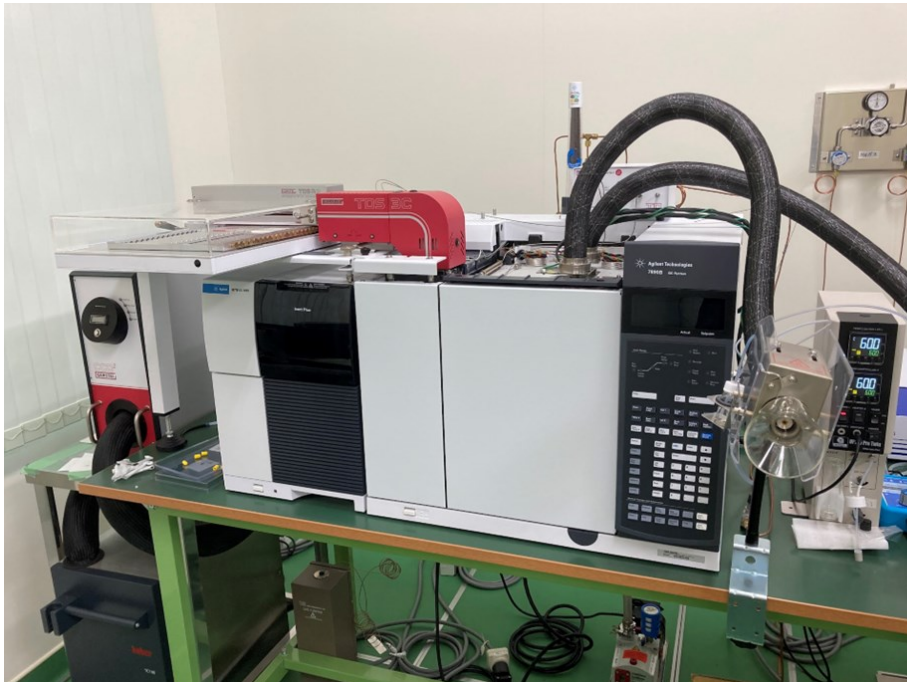


Figure 2-16: A photograph of Gas Chromatography-Mass Spectrometer

MSは主にイオン源、マスフィルター、検出器の3つの部分で構成されている。GCにより分離された匂い成分は、イオン源でEI法(Electron Ionization, 電子衝撃法)を用いて、熱電子と匂い成分を衝突させ、イオン化反応を行う。イオン化反応により生成したイオンはフラグメンテーション(開裂)を起こす。マスフィルターでイオンの質量/電荷(m/z)によってイオンを分別する。イオンの分別方法は、発生させる電場によって通過できるイオンの質量数(m)が特定されることを利用する。直流電圧(U)と高周波交流電圧($V\cos\omega t$, $\omega t = \theta$ [角度])を組み合わせることにより、電場を変化させ、イオンを質量ごとに分別する。分別されたイオンは、検出器に到達し、質量/電荷ごとの検出器の電気信号強度を記録される。横軸に質量/電荷、縦軸に検出強度を表したグラフをマススペクトルと呼ぶ。 ω は、角速度[rad t⁻¹]であり、時間[t]をかけることで、角度を示す。

2.12.2 イオンクロマトグラム

2.12.2.1 定性

GC-MSの基本的なデータは、トータルイオンクロマトグラム(TIC)である。横軸に検出器に到達するまでの保持時間(Retention time:以下 RT)と縦軸に信号強度(Signal intensity)をとるグラフである。解析する際には、対象としているVOCの特徴的な m/z を選んで描画するイオンクロマトグラムを使用する。TICでは、RTが近い物質があると分離できずに一つのピークとして描かれる場合があるため、より正確に物質を同定するにはイオンクロマトグラムを使用するのが有効である。計測対象VOCの標準物質とサンプルから得られたデータを基に、そのピークの物質を決定する解析方法が定性であり、その際にイオンクロマトグラムを使用する。

2.12.2.2 定量

GC-MSの解析方法は、定性だけでなく定量も可能である。イオンクロマトグラムのピークを積分して得られた面積は、ある物質の量である(Fig. 2-17)。標準物質を用いて、既知濃度のサンプルを用意し、検量線を引くことによって、得られたピーク面積がどの程度の濃度なのかを算出することが可能になる。

2.12.2.3 任意単位

GC-MSで得られたクロマトグラムやマススペクトルの縦軸は、検出器である二次電子増倍管の応答値であり、電気信号強度で表される。そのため、単位がなく任意単位を用いるか、単位なしで表記するかのどちらかである。任意単位では、arbitrary unitを用いる。略号としては、a.u.やarb.unitsなどがあるが、a.u.は、天文

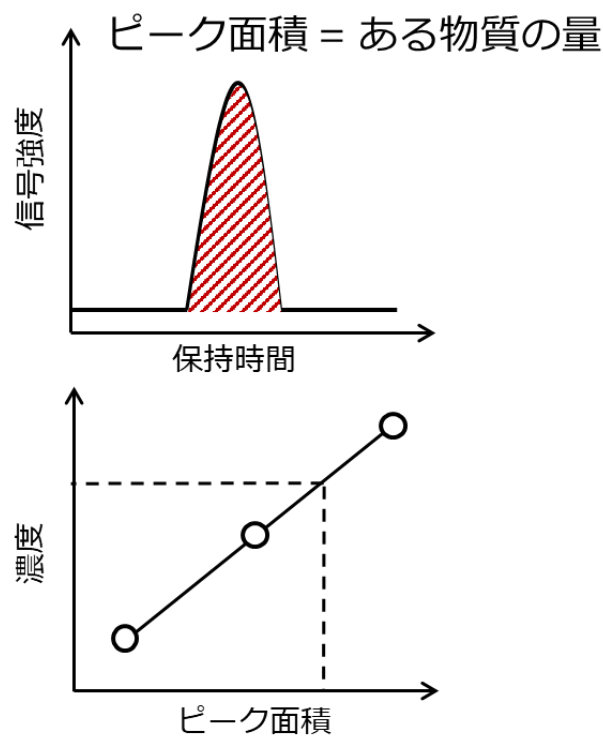


Figure 2-17: Schematic diagram of how to calculate VOC concentration.

単位(astronomical unit)や原子単位(atomic unit)の一般的な省略形でもあるため、本研究では、arb.unitsを使用する。クロマトグラムを示すときやピークを積分して物質量を算出するときには、研究者が独自に決めた各物質の特徴的な m/z を用いて行うため、 m/z の条件が異なっている状態で、先行研究で示されている信号強度を比較することはできない。

2.12.3 マススペクトル

GC-MSでのデータ解析においてマススペクトルがある。横軸は、 m/z (質量電荷比)で、縦軸は、信号強度(Signal intensity)をとる。本研究では、得られたマススペクトルで最大強度を示した m/z の信号強度を1として相対強度にしているため、Relative intensity(%)を用いた。物質がキャピラリーカラムを通りMSに入る際に電氣的な刺激を与えて物質をイオン化する。その際に、物質は様々な分子量に割れる。物質の割れ方は、固有なものであり、定性する際に物質のマススペクトルを調べることで、物質の同定を行う。

2.12.4 相対的保持指標を用いた分析

GC-MSで植物材料が放出したVOCを解析するには、対象としているVOCのRTとマススペクトル、および標準物質の測定結果から該当しているピークの定性を行う。炭素数 $n = 6 \sim 20$ の混合標準アルカン($n = 15$ のみ濃度2倍)を計測することで、

ある程度 VOC の種類を絞ることが可能となる。GC-MS には、Retention Index(RI)とよばれる相対的保持指標という概念がある。アルカンは、RI が決まっており、炭素数に 100 を乗じたものである。全ての VOC は、混合標準アルカンと VOC の標準物質の保持時間から RI が決定される。VOC の RI や質量数、マススペクトルなどの情報は、アメリカ国立標準技術研究所(National Institute of Standard and Technology: NIST)が公開している NIST Chemistry WebBook で参照することが可能である。解析時の温度条件、キャリアガス、使用しているカラムの種類などの条件が同じであれば、RI の値は同じ値を示すことになる。スイートバジルのクロマトグラムと混合標準アルカンのクロマトグラムを Fig. 2-18 に示す。NIST Chemistry WebBook によると α -pinene の RI は、1043 であることから、炭素数 10(RI = 1000)と 11(RI = 1100)の間にピークが現れる。このことから、C10 と C11 の間にあるピークは、 α -pinene の可能性が高いと考えられる。

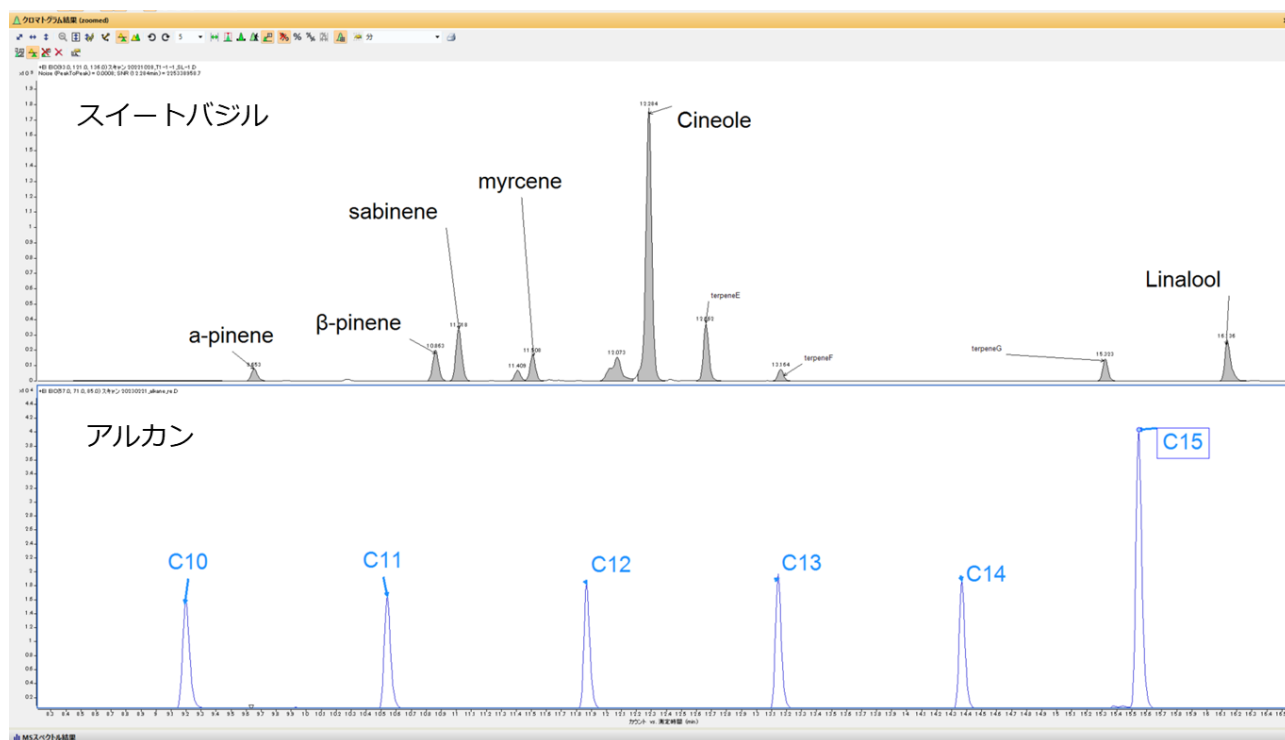


Figure 2-18: Chromatograms of Sweet basil leaf(upper) and standard of alkane(lower).

2.12.5 解析条件

TenaxTA に濃縮捕集した VOC は、加熱脱着装置 (TDS3C/TDSA2, ゲステル(株)) 付き GC-MS(7890B-5977B, アジレント・テクノロジー(株))を用いて分析した。加熱脱着は、20 °Cを 1 分間維持した後、100 °C s⁻¹で 250 °Cまで昇温し、1 分間維持し、加熱脱着を行った。VOC は、280 °Cに維持されているトランスファーラインを

通過し、TenaxTA が充填されたガラスライナー(013543-004-00, ゲステル(株))にトラップされる。ガラスライナーは-40 °Cで 0.5 分間維持した後、12 °C s⁻¹で 250 °Cまで昇温し、10 分間維持し、カラム内にサンプルを導入した。キャリアガスにはヘリウムガス、キャピラリーカラムには DB-WAX ウルトライナート(30 m[長さ]×0.25 mm[内径]×0.25 μm[膜厚], 122-7032UI, アジレント・テクノロジー(株))を用いた。カラムの昇温条件は、初期温度 40 °Cを 3.5 分間維持した後、10 °C min⁻¹で 250 °Cまで昇温し、その後 2.5 分間維持する条件となっており、1 サンプルの分析に要する時間は 27 分であった。カラム内のキャリアガスの流量は約 1 mL min⁻¹であり、SPLIT 比(排気する流量とカラム内に導入する流量の比率)は 100 : 1 とした。

2.13 GC-SAW

Fig. 2-19 に携帯型ガス分析装置 GC-SAW の外観写真を示す。GC-SAW(Model14300, Electronic Sensor Technology, Inc.)は、大気中の成分を分離する GC と成分を検出する SAW センサの二つで構成されている。GC-SAW は、VOC をサンプリングするフェーズ(Fig. 2-20-A)とサンプリングされた VOC を解析するフェーズで装置内の流路が切り替わる(Fig. 2-20-B)。VOC をサンプリングするフェーズでは、本体に内蔵されたエアポンプで空気をサンプリングし、内蔵されているトラップ(TenaxTA)に濃縮捕集される。その後、流路が切り替わり VOC を解析するフェーズで、トラップが急速に加熱され、捕集されていた VOC が脱着された後、キャリアガスであるヘリウムと一緒にカラム(DB-5, PNA002541, Electronic Sensor Technology, Inc.)を通り、検出器である SAW センサに到達する(Fig. 2-21)。SAW センサは、一定の周波

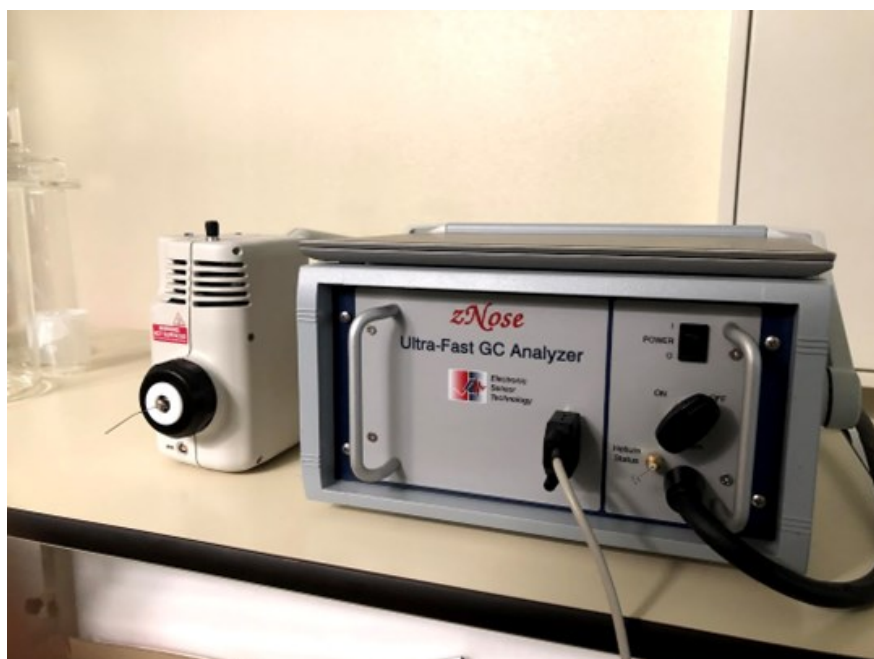


Figure 2-19: A photograph of Gas Chromatography-Surface Acoustic Wave(GC-SAW).

数で振動しており，VOC が吸着することで振動数が低下し，低下した振動数を微分することで，クロマトグラムとして表示される．表示されたクロマトグラムのピークの面積を積分することで，VOC の量を算出することが可能になる．

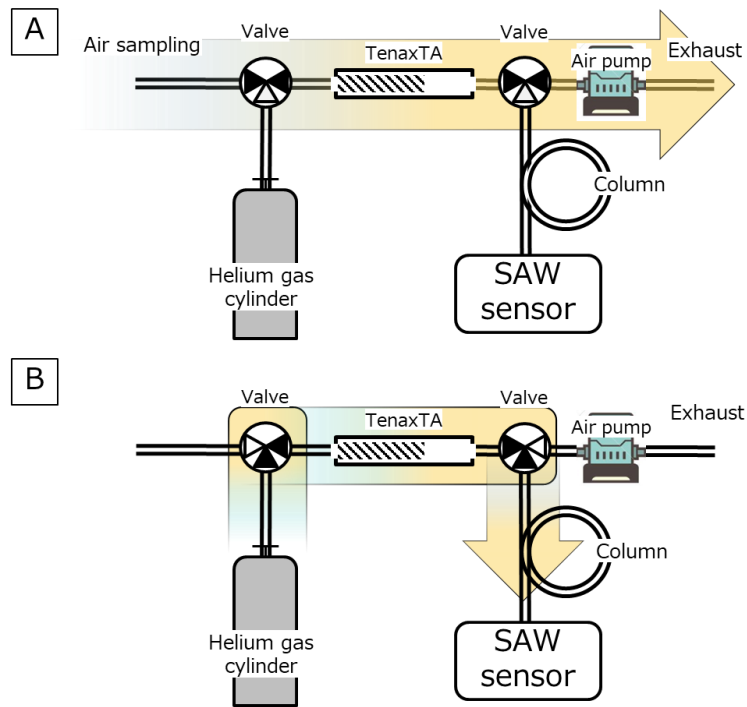


Figure 2-20: Schematic diagram of air flow of sampling phase(A) and analyzing phase(B) with GC-SAW.

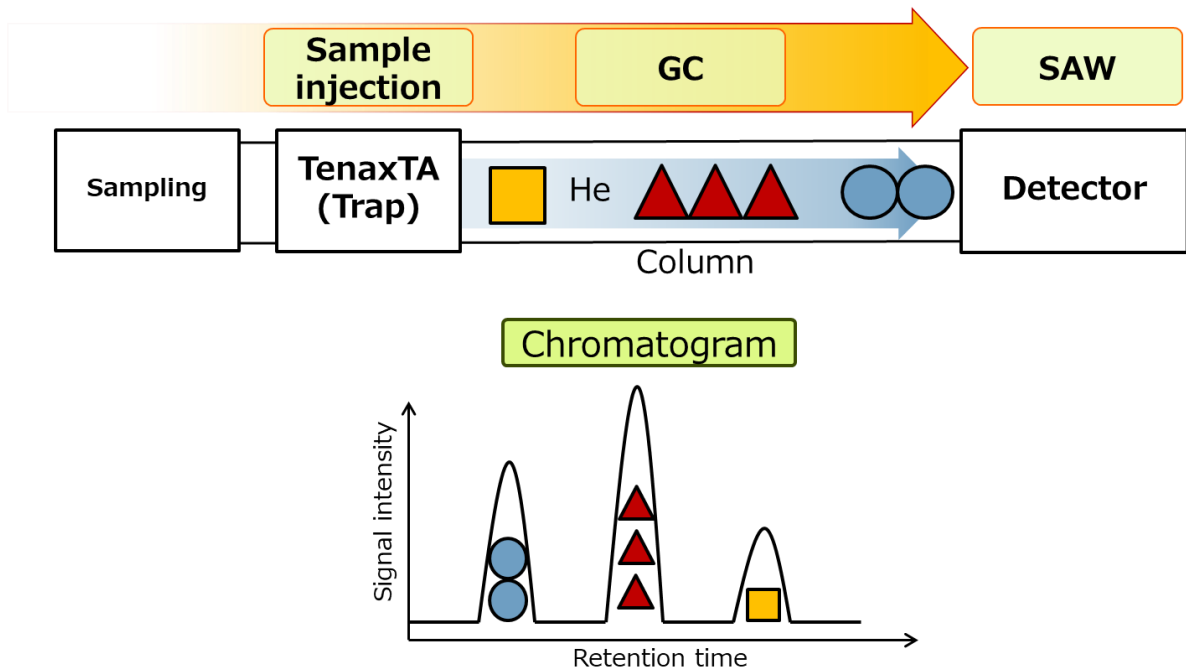


Figure 2-21: Schematic diagram of the measurement principle of GC-SAW.

2.14 対象とする VOC の保持時間(RT)の決定

2.14.1 対象とする VOC

計測対象 VOC として, Cineole, Eugenol, Linalool, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal, α -pinene, β -pinene, Myrcene を対象とした(Fig. 2-22). Cineole, Eugenol, Linalool は, スイートバジルが放出する代表的な匂い成分であり, 既往の研究で放出していることが報告されている(Liber et al., 2011). Fall ら(1999)の研究によると(Z)-3-hexenol や(Z)-3-hexenal は, 細胞膜を破壊されたときに細胞内の α -リノレン酸が酸化分解することで生成され, 放出が促されることが知られている.

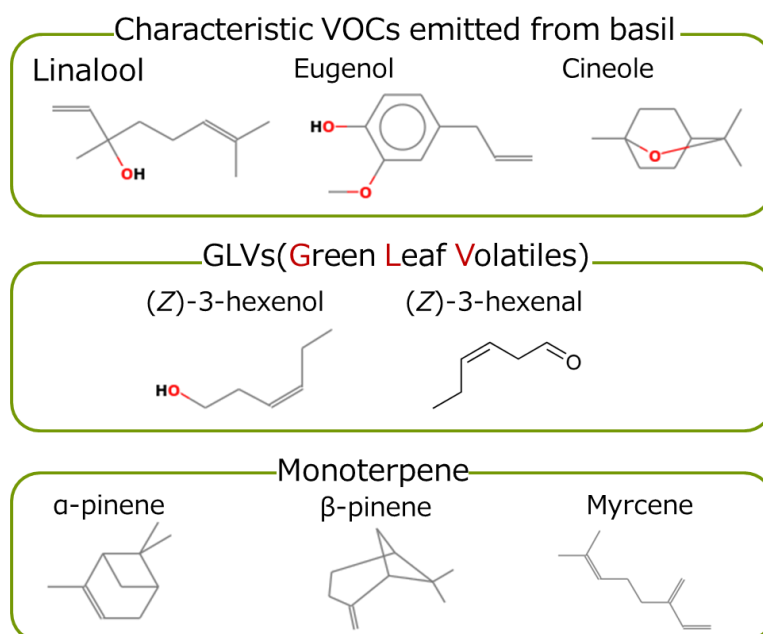


Figure 2-22: Structural formula of Linalool, Eugenol, Cineole, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal, α -pinene, β -pinene, and Myrcene.

2.14.2 パーミエーターを用いた標準物質の測定

計測対象 VOC の保持時間(RT)を決定するために標準物質を用いて GC-MS で計測した. 計測方法としては, パーミエーター(PD-1B-2, (株)ガステック)に窒素ガスを 1L min^{-1} 流し標準物質を一定濃度で蒸発させ, TenaxTA に捕集し, GC-MS で解析した. Fig. 2-23, 2-24 にディフージョンチューブ(3100, (株)ガステック)とパーミエーターの外観写真と計測方法の模式図を示す. Table 2-1 に GC-SAW で解析したときの計測対象 VOC の RT と Molecular weight を示す. Table 2-2 に, GC-MS で解析したときの計測対象 VOC の RT, Selected ion, Molecular weight を示す.

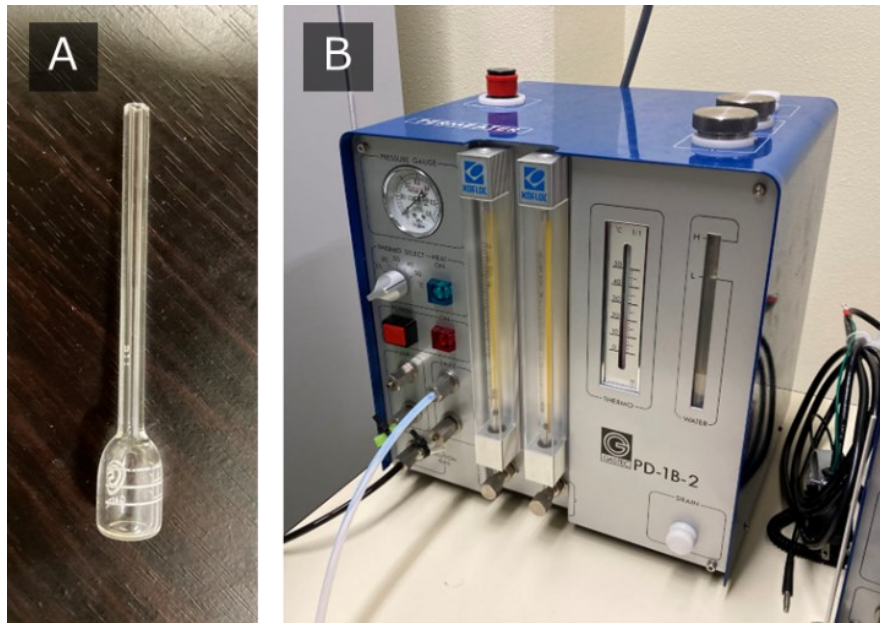


Figure 2-23: Photographs of diffusion tube(A) and permeator(B).

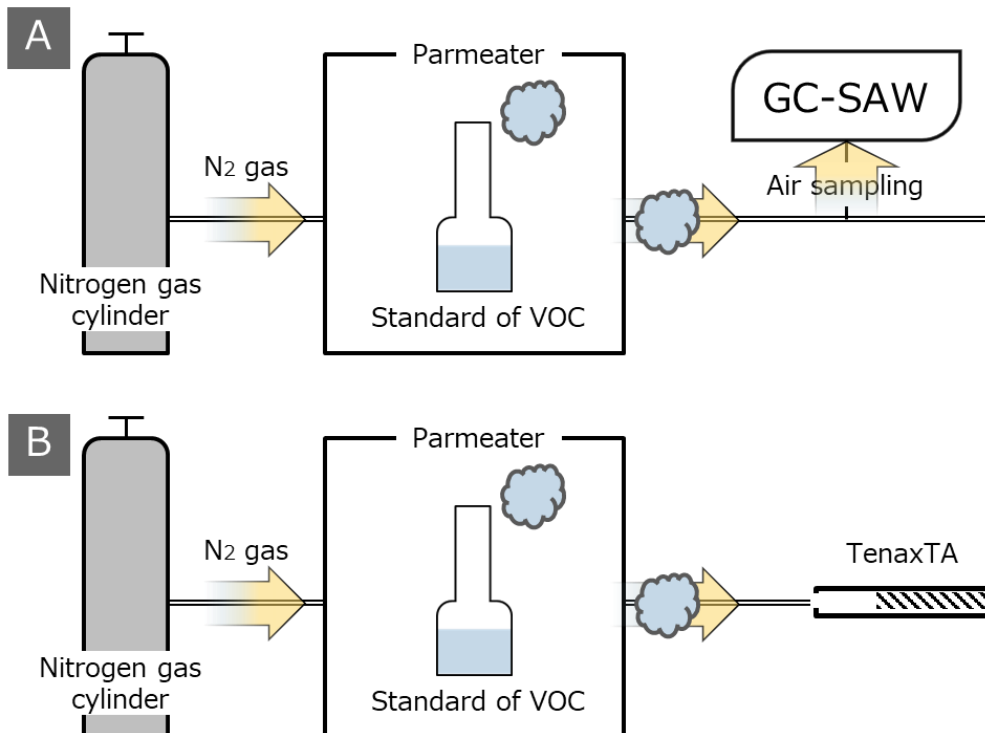


Figure 2-24: Schematic diagram of how to sample standard of VOCs emitted from sweet basil with GC-SAW(A) and TenaxTA for analyzing GC-MS(B).

Table 2-1: Retention time and molecular weight of representative VOC of sweet basil in GC-SAW.

Compounds	Retention time (sec)	Molecular Weight (g/mol)
(Z)-3-hexenal	1.7~1.9	98.14
(Z)-3-hexenol	2.0~2.2	100.16
Cineole	3.0~3.3	154.24
Linalool	3.5~3.8	154.25
Eugenol	6.0~6.2	164.2

Table 2-2: Retention time, selected ion, and molecular weight of representative VOC of sweet basil in GC-MS.

Compounds	Retention time (min)	Selected Ion (m/z)	Molecular Weight (g/mol)
(Z)-3-hexenal	11.2	83, 98	98.14
(Z)-3-hexenol	14.2	67, 82	100.16
Cineole	12.3	111, 139, 154	154.24
Linalool	16.3	93, 121, 136	154.25
Eugenol	22.6	131, 149, 164	164.2
α -pinene	9.5	93, 121, 136	136.12
β -pinene	10.8	93, 121, 136	136.12
Myrcene	11.5	93, 121, 136	136.12

2.15 QCM センサ

植物が放出する VOC を計測する方法として、GC-MS や PTR-MS(Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry: 陽子移動反応飛行時間型質量分析計)などの高精度な質量分析機器を用いた分析が挙げられ、GC-MS や PTR-MS を用いた研究は数多く行われてきた(Tani et al., 1999; Tani et al., 2007). 一方で、QCM センサを用いて、

空気中の VOC を測定する研究が進められており (Bearzotti et al., 2017; Burda, 2022), QCM センサは市販されるレベルにまで技術開発が進んでいる. さらに, 植物が放出する VOC を対象に QCM センサで計測する例も報告されている (Lieberzeit et al., 2009; Debabhuti et al., 2021; Debabhuti et al., 2022). Fig. 2-25 に, QCM センサの外観写真を示す. QCM は, 水晶の結晶を薄い板状に切り出した切片の両側に金属薄膜を成膜した構造となっており, それぞれの金属薄膜に交流電場を印加すると, 一定の振動数で振動する. その水晶振動子に, 匂い成分が吸着することで, 質量に応じて振動数が変化する (Fig. 2-26). この方法を, 水晶振動子マイクロバランス法と呼ぶ. 本研究で使用した QCM センサは, 一つの基盤に 5 つのセンサが搭載されており, リアルタイムに 5 つの QCM センサの振動数の変化を計測することが可能である.



Figure 2-25: A photograph of QCM sensor.

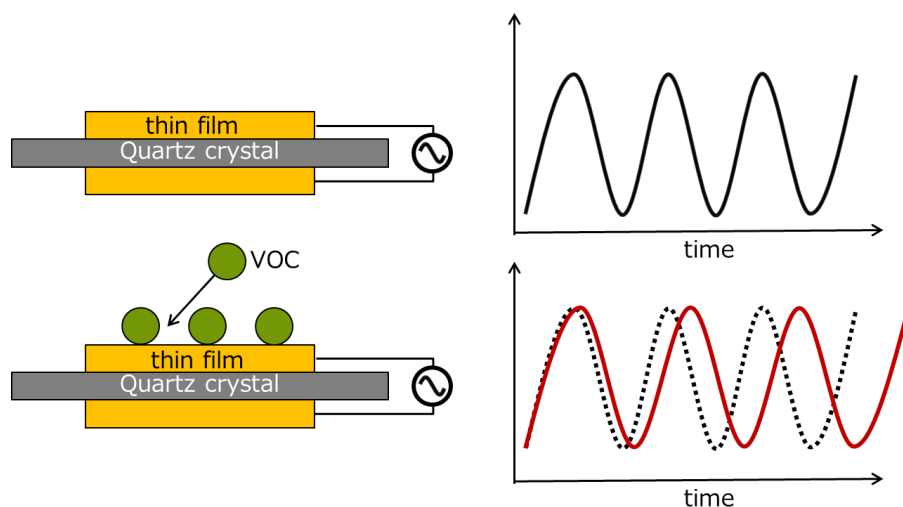


Figure 2-26: Schematic diagram of QCM sensor and changes in frequency when VOCs will be attached to thin film.

2.16 官能評価

Fig. 2-27 に、官能評価シートを示す。本研究では、豊橋技術科学大学の学生(光強度の実験は 6 名、養液濃度の実験は 14 名)にスイートバジルの官能評価を行った。評価方法としては、Semantic Differential(SD)法を用いた。対となる形容詞を記載し、食したスイートバジルがどちらの形容詞に近いかに記載する手法である。形容詞は、共同研究者を含めた複数人で決定した。評価手順は、各処理区のサンプルを一枚食した後に評価シートに記載してもらった。その後、食したスイートバジルが他サンプルの評価に影響を及ぼさないために、水を飲むことで口腔内の味覚を平常時に戻した。

官能試験評価シート

日時 年 月 日
 性別 男性(Male)・女性(Female)
 名前：
 鼻栓：あり・なし（どちらかに○）
 植物材料(食べたほうに○)：100(Low・Up) 200 (Low・Up) 300 (Low・Up)

	1	2	3	4	5	
	非常に そう 思う	やや そう 思う	どちら でも ない	やや そう 思う	非常に そう 思う	
マイルド	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					スパイシー
華やか	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					素朴
爽快	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					芳醇
淡泊	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					味わい深い
食べ応えがある	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					やわらかい
美味しい	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					まずい
好き	<div style="position: absolute; left: 0; top: -10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div> <div style="position: absolute; left: 0; top: 10px; border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; width: 100%; height: 10px;"></div>					嫌い

Figure 2-27: Sensory evaluation sheet that we used in this study.

2.17 統計解析

解析対象 VOC の区間比較は、3 群の区間比較では、一元配置分散分析を行い、多重比較(Post hoc test)を Tukey HSD の有意水準 5 %で行った。2 群の区間比較では、有意水準 5%で t 検定を行った。また統計検定には、カレイダグラフ (Synergy Software Co,Ltd.) を用いた。

引用文献

Babu, K.G.D., Kaul, V.K., 2005. Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) distilled by different distillation techniques. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: pp. 222-231.

Bearzotti, A., Macagnano, A., Papa, P., Venditti, I., Zampetti, E., 2017. A study of a QCM sensor based on pentacene for the detection of BTX vapors in air. *Sensors and Actuators B*, 240: pp. 1160-1164.

Burda, I., 2022. A Study on Regenerative Quartz Crystal Microbalance. *Chemosensors*, 10(7): 262.

Chen, C., Yu, F., Wen, X., Chen, S., Wang, K., Wang, F., Zhang, J., Wu, Y., He, P., Tu, Y., Li, B., 2022. Characterization of a new (Z)-3:(E)-2-hexenal isomerase from tea (*Camellia sinensis*) involved in the conversion of (Z)-3-hexenal to (E)-2-hexenal. *Food Chemistry*, 383: 132463.

Debabhuti, N., Mukherjee, S., Neogi, S., Sharma, P., Ugir Hossain Sk, Maiti, S., Poddar Sarkar, M., Tudu, B., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., 2022. A study of vegetable oil modified QCM sensor to detect β -pinene in Indian cardamom. *Talanta*, 236: 122837.

Debabhuti, N., Neogi, S., Mukherjee, S., Dhar, A., Sharma, P., Rohit L. Vekariya, Poddar Sarkar, M., Tudu, B., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., Muddassir, M., 2021. Development of QCM sensor to detect α -terpinyl acetate in cardamom. *Sensors and Actuators A*, 319: 112521.

Donelian, A., Carlson, LHC., Lopes, TJ., Machado, RAF., 2009. Comparison of extraction of patchouli (*Pogostemoncablin*) essential oil with supercritical CO₂ and by steam distillation. *The Journal of Supercritical Fluids*, 48: pp. 15-20.

Durling, NE., Catchpole, OJ., Grey, JB., Webby, RF., Mitchell, KA., Foo, LY., Perry, NB., 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101: pp. 1417-1424.

Du, P., Yuan, H., Chen, Y., Zhou, H., Zhang, Y., Huang, M., Jiangfang, Y., Su, R., Chen, Q., Lai, J., et al., 2023. Identification of Key Aromatic Compounds in Basil (*Ocimum L.*) Using Sensory Evaluation, Metabolomics and Volatilomics Analysis. *Metabolites*, 13(1): 85.

Fall, R., Karl, T., Hansel, A., Jordan, A. and Lindinger, W., 1999. Volatile organic compounds emitted after leaf wounding: On-line analysis by proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Journal of Geophysical Research*, 140: pp. 15963-15974.

Gök, A., Kirbaşlar, FG., 2015. Comparison of lemon oil composition after using different extraction methods. *Journal of essential Oil Research*, 27(1): pp. 17-22.

Kimura, M., Ichimura, M. and Tmoitaka, Y., 1994. Effects of Watering on growth, yield, essential oil concentration and evapotranspiration of sweet basil. *Japanese journal of tropical agriculture.*, 38(1): pp. 65-72.

Lewinsohn, E., Ziv-Raz, I., Dudai, N., Tadmor, Y., Lastochkin, E., Larkov, O., Chaimovitsh, D., Ravid, U., Putievsky, E., Pichersky, E., Shoham, Y., 2000. Biosynthesis of estragole and methyl-eugenol in sweet basil (*Ocimum basilicum L.*). Developmental and chemotypic association of allylphenol O-methyltransferase activities. *Plant science*, 160: pp. 27-35.

Liber, Z., Carović-Stanko, K., Politeoc, O, Strikić, F., Kolak, I., Milos, M, Satovic, Z. 2011. Chemical Characterization and Genetic Relationships among *Ocimum basilicum L.* Cultivars. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*. 8: pp. 1978-1989.

Lieberzeit, P.A., Rehman, A., Iqbal, N., Najafi, B., Dickert, F.L., 2009. QCM sensor array for monitoring terpene emissions from odoriferous plants. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 140: pp. 947-952.

Montalván, M., Peñafiel, M.A., Ramírez, J., Cumbicus, N., Bec, N., Larroque, C., Bicchi, C., Gilardoni, G., 2019. Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, and Sensory Evaluation of the Essential Oils Distilled from the Ecuadorian Species *Myrcianthes*

myrsinoides (Kunth) Grifo and *Myrcia mollis* (Kunth) DC. (Myrtaceae). *Plants*, 8(11): 511.

Ordookhani, K., Sharafzadeh, S., Zare, M., 2011. Influence of PGPR on Growth, Essential Oil and Nutrients Uptake of Sweet Basil. *Advances in Environmental Biology*, 5(4): pp. 672-677.

Pandey, A.K., Singh, P., Tripathi, N.N., 2014. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: An overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(9): pp. 682–694.

Pereira CG, Meireles MAA., 2007. Economic analysis of rosemary, fennel and anise essential oils obtained by supercritical fluid extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: pp. 407-413.

Rottiers, H., Tzompa Sosa, D.A., De Winne, A., Ruales, J., De Clippeleer, J., De Leersnyder, I., De Wever, J., Everaert, H., Messens, K., Dewettinck, K., 2019. Dynamics of volatile compounds and favor precursors during spontaneous fermentation of fine favor Trinitario cocoa beans. *European Food Research and Technology*, 245: pp. 1917-1937.

Sarikurkcü, C., SabihOzer, M., Eskici, M., Tepe, B., Can, Ş., Mete, E., 2010. Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis*. *Food and Chemical Toxicology*, 48: pp. 1801-1805.

Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., Lewinsohn, E., 2008. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal*, 54: pp. 712-732.

Simon, J.E., Morales, M.R., Phippen, W.B., Vieira, R.F., Hao, Z., 1999. Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb. In *Perspectives on New Crops and New Uses*; Janick, J., Ed.; ASHS Press: Alexandria, VA, USA, pp. 499–505.

Takayama, K., Jansen, R. M. C., van Henten, E.J., Verstappen, F. W. A., Bouwmeester, H.J., Nishina, H., 2012. Emission index for evaluation of volatile organic compounds emitted from tomato plants in greenhouses. *Biosystems Engineering*, 97: pp. 219-228.

Tangpao, T., Charoimek, N., Teerakitchotikan, P., Leksawasdi, N., Jantanasakulwong, K., Rachtanapun, P., Seesuriyachan, P., Phimolsiripol, Y., Chaiyaso, T., Ruksiriwanich, W.,

Jantrawut, P., Doan, H.V., Cheewangkoon, R., Sommano, S.R. 2022. Volatile Organic Compounds from Basil Essential Oils: Plant Taxonomy, Biological Activities, and Their Applications in Tropical Fruit Productions. *Horticulturae*, 8(2): 144.

Tani, A., Kato, S., Kajii, Y., Wilkinson, M., Owen, S., Hewit, N., 2007. A proton transfer reaction mass spectrometry based system for determining plant uptake of volatile organic compounds. *Atmospheric Environment*, 41: pp. 1736-1746.

Tani, A., Saito, T., Hayashi, K., Arai, R., Tako, Y., Kiyota, M., 1999. Identification of volatile organic compounds emitted from and measurement of the rates of ethylene emission, photosynthesis and transpiration of dwarf rice species. *CELSS JOURNAL*, 12(1): pp. 15-20.

Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Röse, U. S. R., Schnitzler, J. P., 2006. Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal*, 45: pp. 540-560.

Tirillini, B., Maggi, F., 2021 Volatile Organic Compounds of the Glandular Trichomes of *Ocimum basilicum* and Artifacts during the Distillation of the Leaves. *Applied Sciences*, 11(16): 7312.

Turner, G.W., Gershenzon, J., and Croteau, R.B., 2000. Distribution of Peltate Glandular Trichomes on Developing Leaves of Peppermint. *Plant Physiol*, 124(2): pp. 655-664.

Yildirim, A., Cakir, A., Mavi, A., Yalcin, M., Fauler, G., Taskesenligil, Y., 2004. The variation of antioxidant activities and chemical composition of essential oils of *Teucrium orientale* L. var. *orientale* during harvesting stages. *Flavour and Fragrance Journal*, 19: pp. 367-372.

飯島陽子, 2014. 香辛料・ハーブとその香り～香気生成メカニズムとその蓄積, におい・かおり環境学会誌, 45(2): pp. 132-142.

第 3 章 異なる EC 環境で栽培されたスイートバジルの VOC 解析

3.1 葉面積比較

T1, T2, T3 のスイートバジルの葉面積を Fig. 3-1 に示す。各処理区で、Lower leaf と Upper leaf に大きな違いは確認されなかった。養液中の EC の違いによって葉面積の大きさに差はなく、各処理区でスイートバジルの成長量は、同等である。

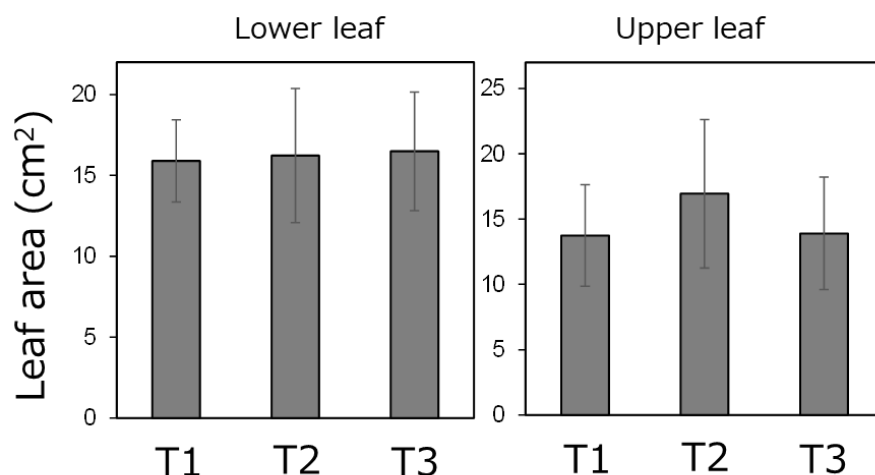


Figure 3-1: Leaf area of sweet basil leaf in T1, T2, and T3 treatment in Lower leaf and Upper leaf.

3.2 計測対象 VOC の定性

スイートバジルから得られたイオンクロマトグラム(67, 82, 83, 93, 98, 111, 121, 136, 139, 149, 154, 164 の質量数で抽出)と計測対象 VOC の標準物質から得られたクロマトグラムを Fig. 3-2 に示す。その結果、スイートバジルから得られた各ピーク 1~8 は、1: α -pinene, 2: β -pinene, 3:(Z)-3-hexenal, 4:Myrcene, 5:Cineole, 6:(Z)-3-hexenol, 7: Linalool, 8: Eugenol の標準物質のリテンションタイムと一致した。

標準物質から得られたマススペクトルとスイートバジルから得られた各ピーク 1~8 のマススペクトルを正規化し比較したグラフを Fig. 3-3, Fig. 3-4 に示す。各 VOC のマススペクトルを比較すると標準物質から得られた m/z とスイートバジルから得られた各ピークの m/z が一致した。さらに、 m/z の最大強度に対する各 m/z の比率が、一致していることが確認された。

このことから、Fig. 3-3 で示した各ピークは、1: α -pinene, 2: β -pinene, 3:(Z)-3-hexenal, 4:Myrcene, 5:Cineole, 6:(Z)-3-hexenol, 7: Linalool, 8: Eugenol であることが確認された。

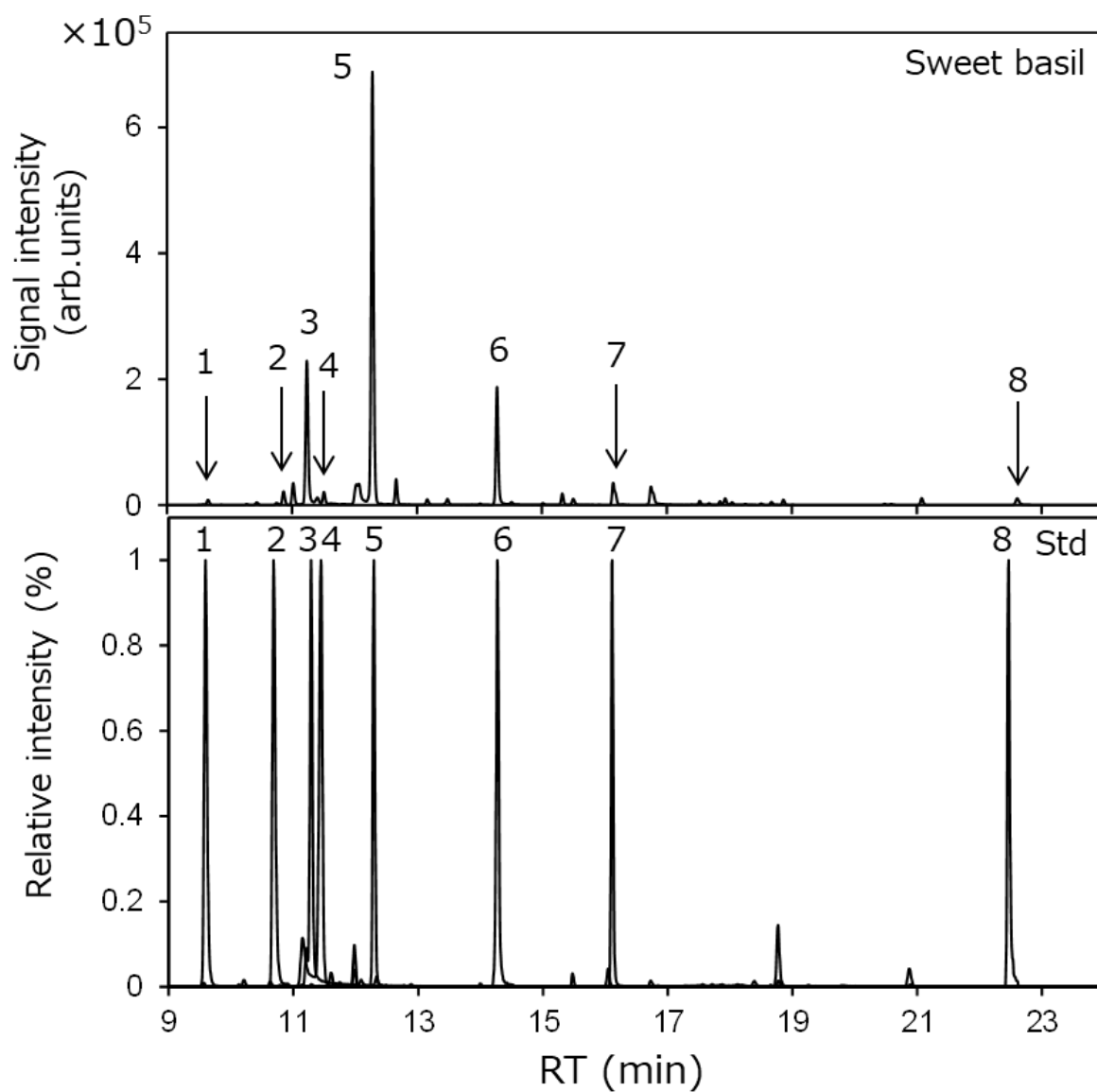


Figure 3-2: Chromatogram of VOCs emitted from sweet basil. We detected 1: α -pinene, 2: β -pinene, 3:(*Z*)-3-hexenal, 4:Myrcene, 5:Cineole, 6:(*Z*)-3-hexenol, 7: Linalool, 8: Eugenol.

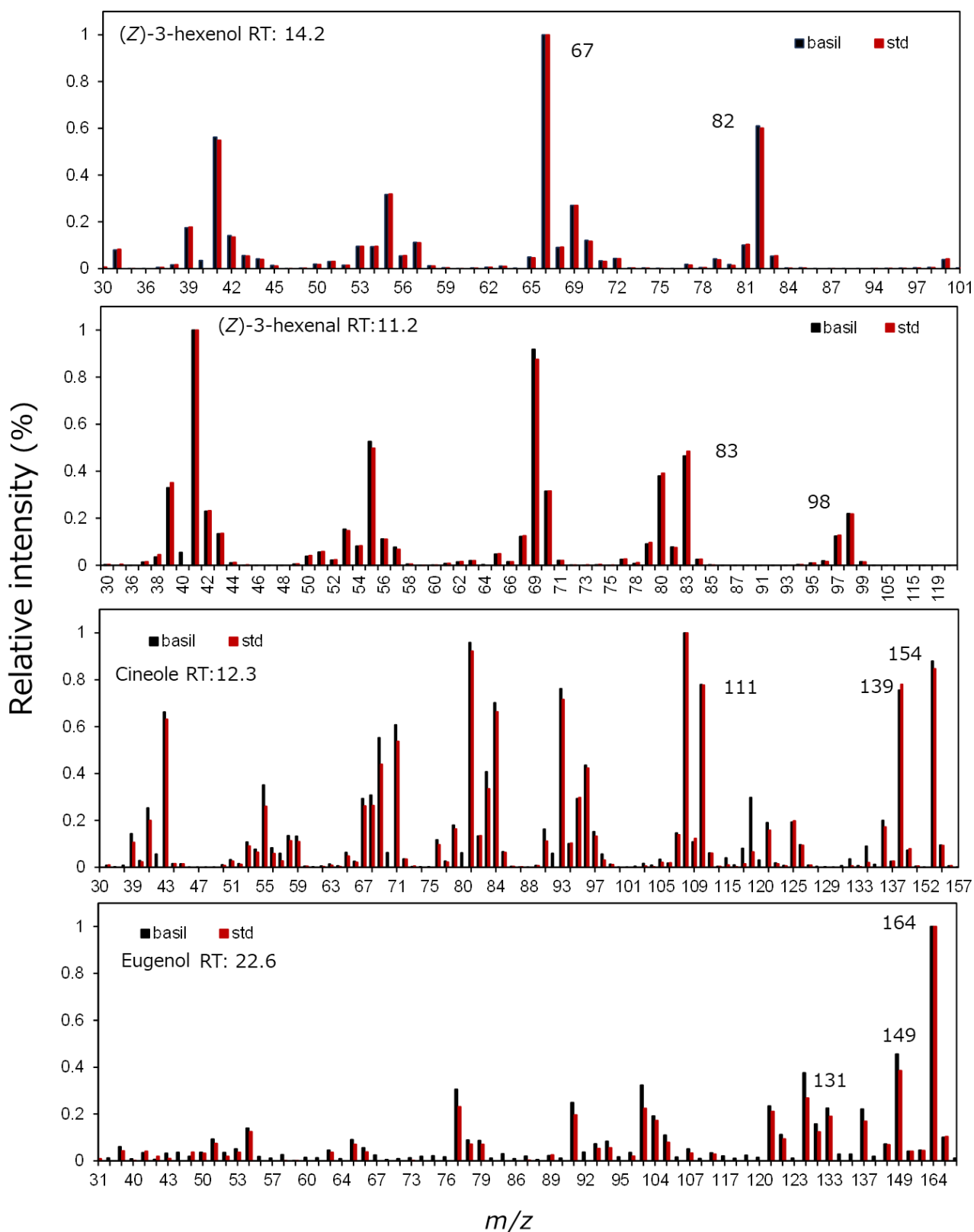


Figure 3-3: Comparison of the mass spectrum obtained from each peak of sweet basil with that of the standard.

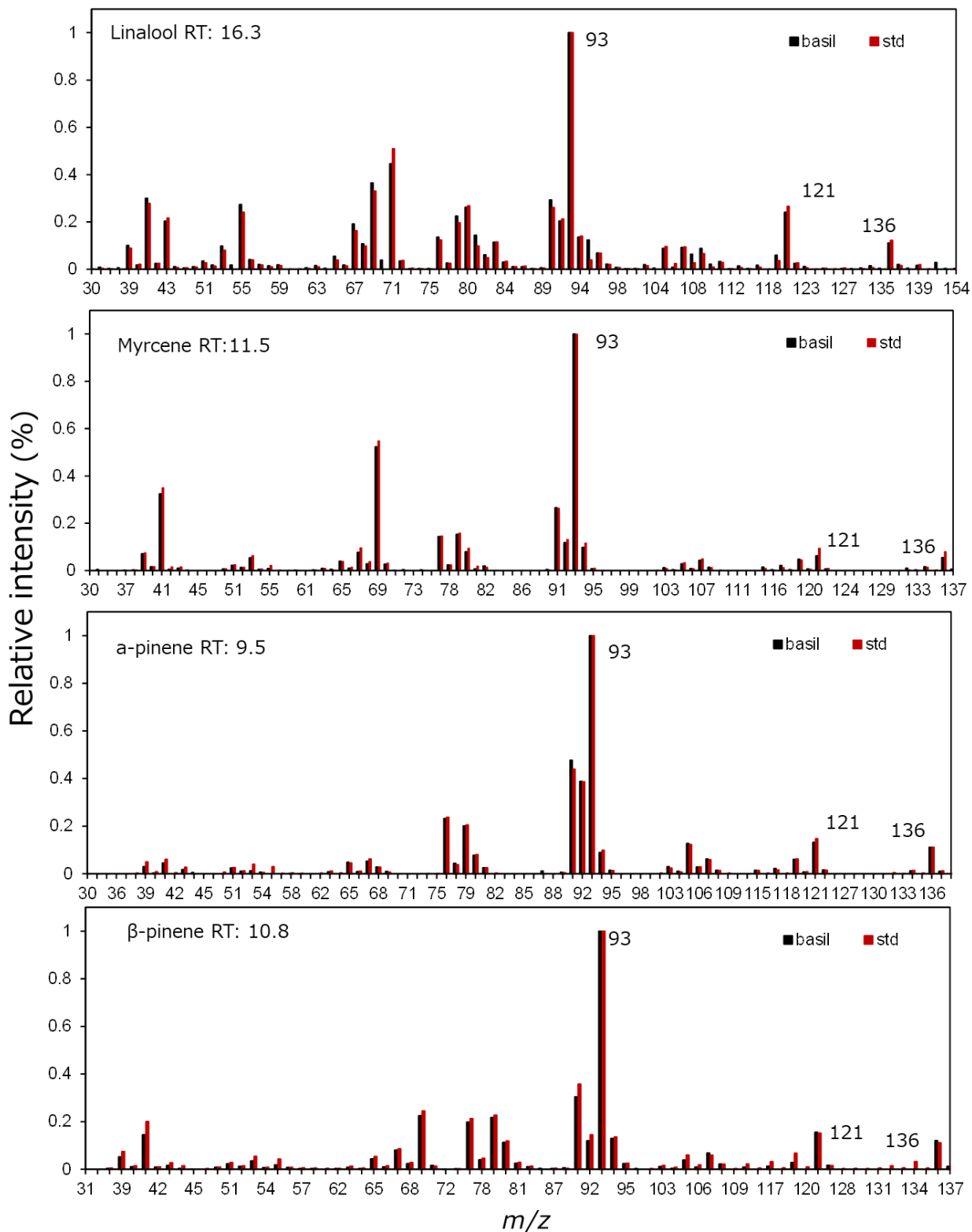


Figure 3-4: Comparison of the mass spectrum obtained from each peak of sweet basil with that of the standard.

3.3 VOC 放出量の算出

Fig. 3-5 に、93, 121, 136 のマスで描画したイオンクロマトグラムの解析画面を示す。計測データは、専用の解析ソフト(MassHunter Qualitative Analysis, アジレント・テクノロジー(株))を用いて解析を行った。Table 2-2 で示した Selected ion で各計測対象 VOC のイオンクロマトグラムを描画し、ピーク面積を積分して放出量を算出した。なお、面積値は解析ソフトで自動的に計算された値を用いた。他の計測対象 VOC(β -pinene, (Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexenol, Myrcene, Cineole, Linalool, Eugenol)についても、それぞれの特徴的なマスでイオンクロマトグラムを描画し、各ピーク面積を算出した。

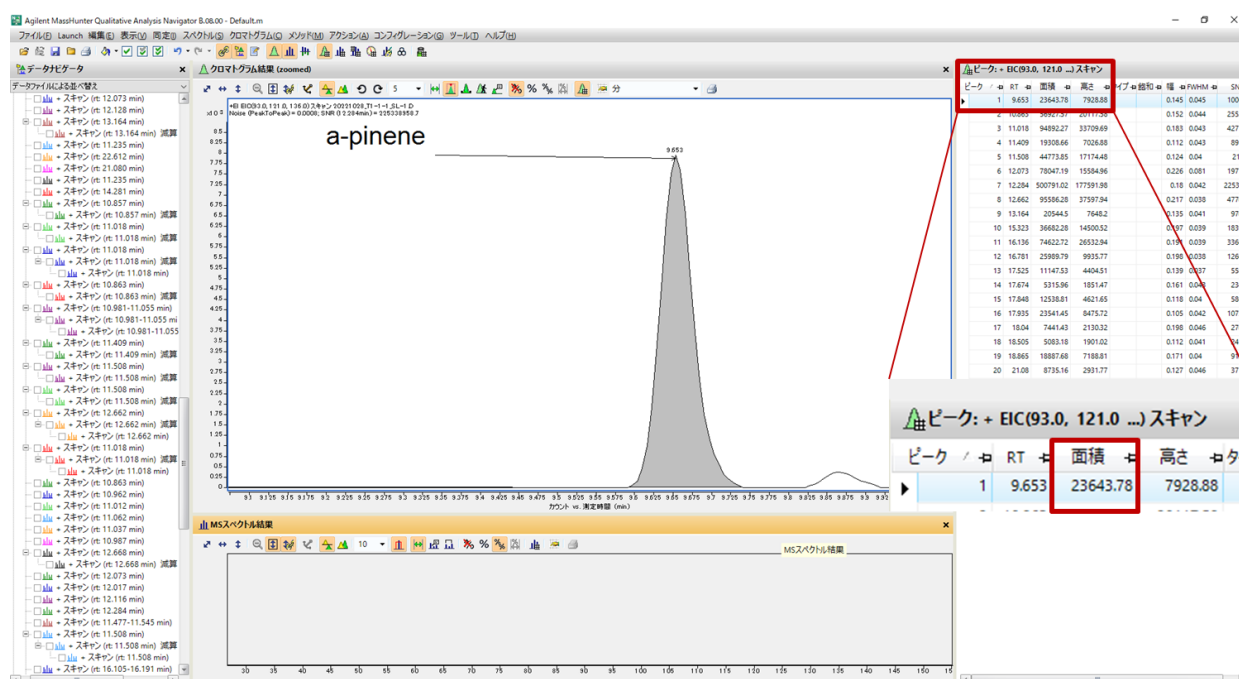


Figure 3-5: The example of how to calculate the peak area of α -pinene using MassHunter Qualitative Analysis.

3.4 検量線

今回計測対象とした各 VOC の標準物質を用いて、検量線を作成した。高精度電子天秤(ALE323R, 新光電子(株), Fig. 3-6)で、エタノール(99.5%)の質量を測り、エタノールに各 VOC の標準物質を添加した。その後、マグネチックスターラー(HS-30DN, アズワン(株), Fig. 3-7)で 576 rpm の回転速度で 30 秒間攪拌し、標準試料を作成した。ガスタイトシリンジ(002000, Trajan Scientific Japan Inc., (旧 S.G.E))で標準試料を 2 μ L 採取し、TenaxTA が充填されたガラス管に注入し、GC-MS で解析した。各 VOC の検量線の結果を、Fig. 3-8 に示す。計測対象とした全ての VOC にお

いて，決定係数が 0.99 を超えており，濃度に対して直線的に比例していることを確認した．得られた近似直線を用いて，濃度換算した．

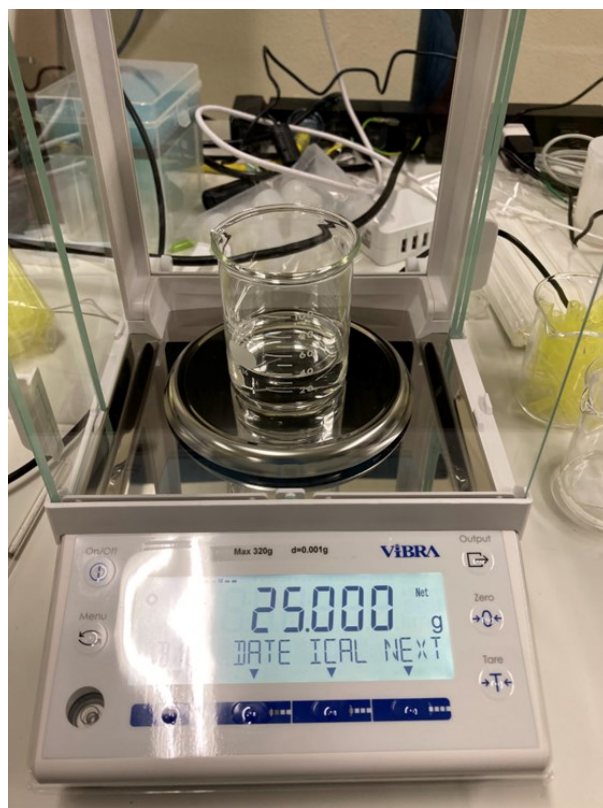


Figure 3-6: A photograph of electronic balance.



Figure 3-7: A photograph of magnetic stirrer.

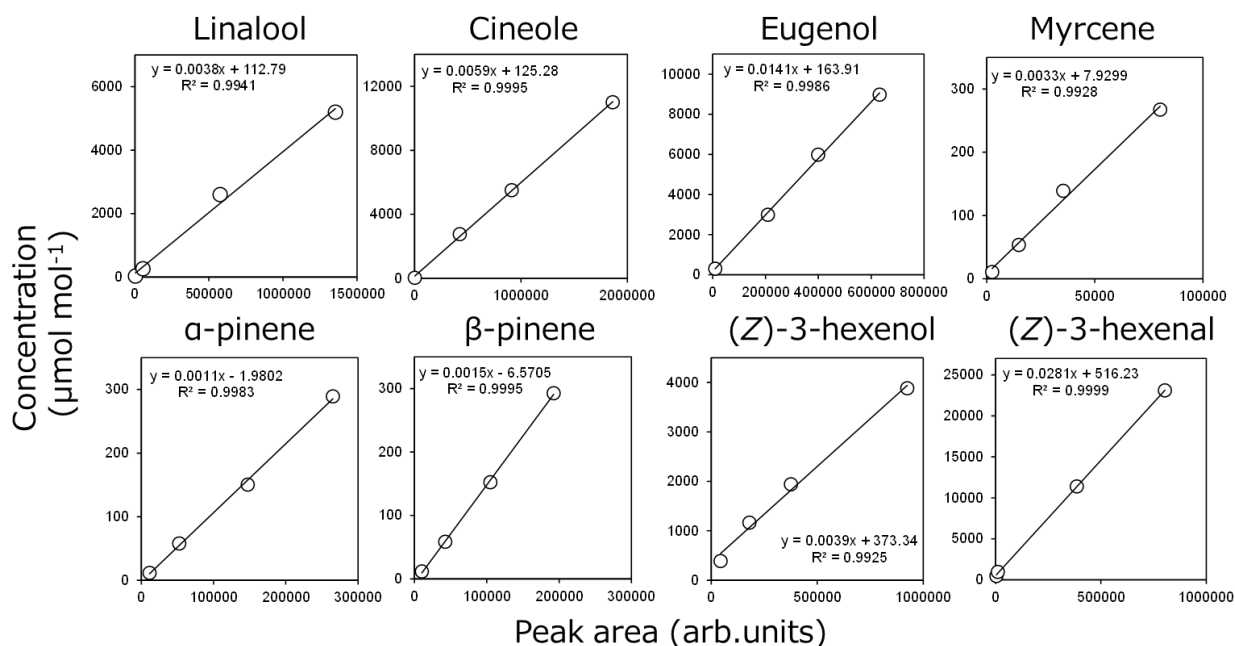


Figure 3-8: Calibration curve of each VOCs with GC-MS.

3.5 Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量比較

Fig. 3-9 に、Lower leaf における Whole leaf と Shredded leaf の各 VOC の相関関係を示す。横軸が Whole leaf の VOC 放出量、縦軸が Shredded leaf の VOC 放出量である。グラフ内の直線は、Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量が等しいことを示しており、グラフ内の直線より下であれば、Whole leaf の方が放出量が多く、グラフ内の直線より上であれば、Shredded leaf の方が放出量が多い。計測対象 VOC である Cineole, Linalool, Eugenol, Myrcene, α-pinene, β-pinene, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal の全てにおいて、グラフ内の直線よりも上にプロットされており、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が多いことを示している。(Z)-3-hexenal に関しては、Whole leaf の状態では、植物細胞が破壊されていないため、生成量が極端に少ない。そのため、0 付近にプロットされている。Myrcene は、微量に含まれている成分であり、Whole leaf の状態では放出量が少ないが、Shredded leaf の状態では、全ての処理区で放出量が増大している。

Fig. 3-10 に、Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の各 VOC の相関関係を示す。Upper leaf では、計測対象 VOC である Cineole, Linalool, Eugenol, Myrcene, α-pinene, β-pinene, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal において、グラフ内の直線よりも上にプロットされており、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が多いことを示している。(Z)-3-hexenal は、Lower leaf 同様、Whole leaf の状態では、植物細胞

が破壊されていないため、生成量が極端に少ない。そのため、0付近にプロットされている。

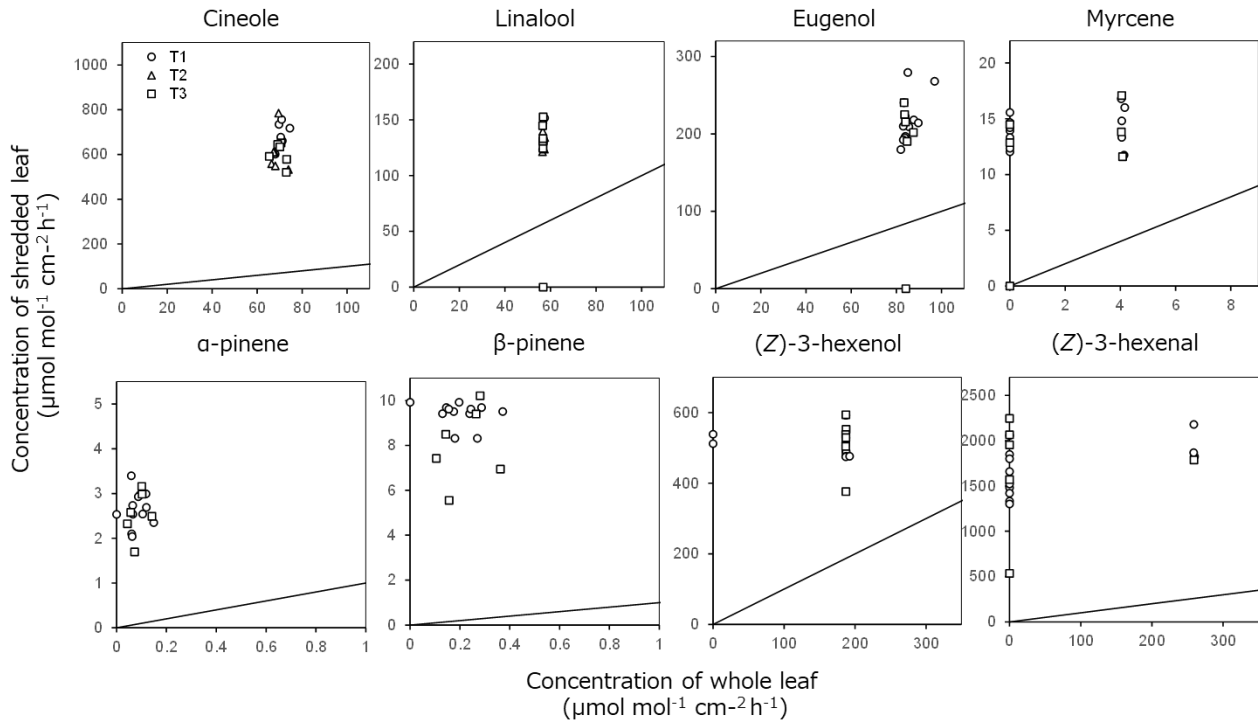


Figure 3-9: The relationship of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf.

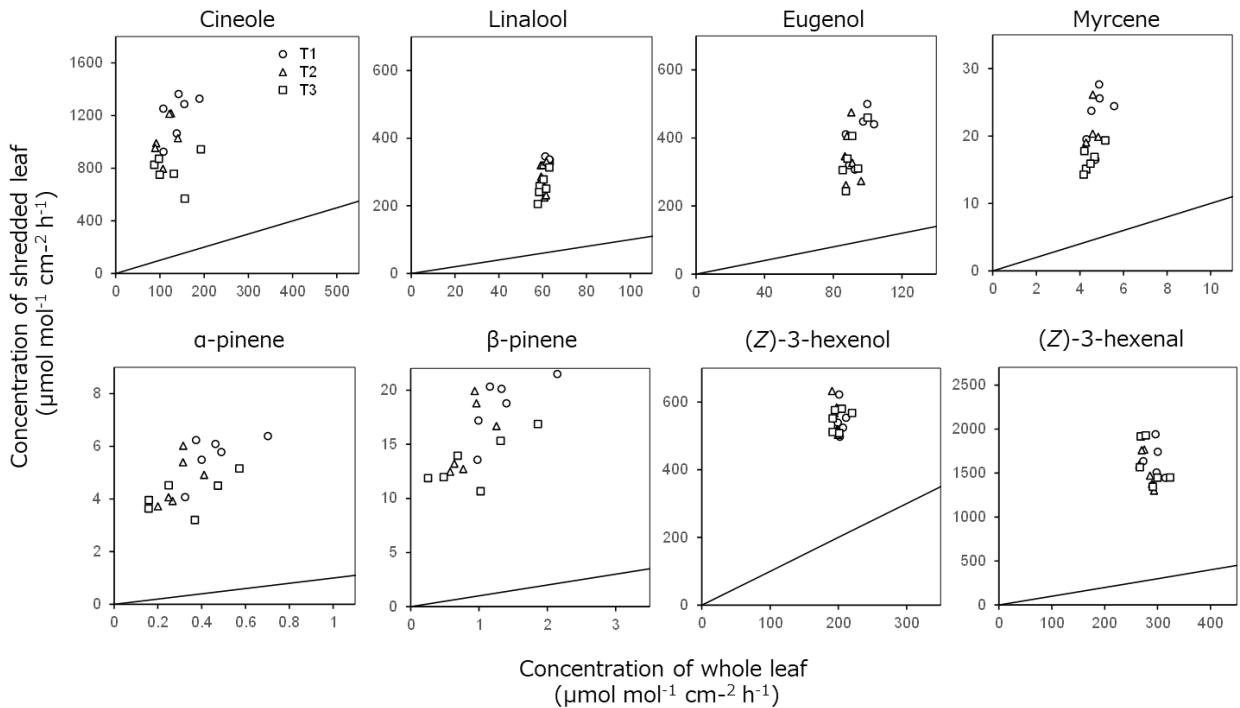


Figure 3-10: The relationship of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Upper leaf.

Fig. 3-11 に、Lower leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量の結果を示す。計測対象 VOC である Cineole, Linalool, Eugenol, Myrcene, α -pinene, β -pinene, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal において、Shredded leaf の方が Whole leaf よりも、有意に放出量が多い結果であった ($p < 0.05$, t -test)。Cineole, Linalool, Eugenol, Myrcene, α -pinene, β -pinene に関しては、細断処理によってトライコーム内に蓄積されていた VOC が一気に放出されたためと考えられる。(Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal

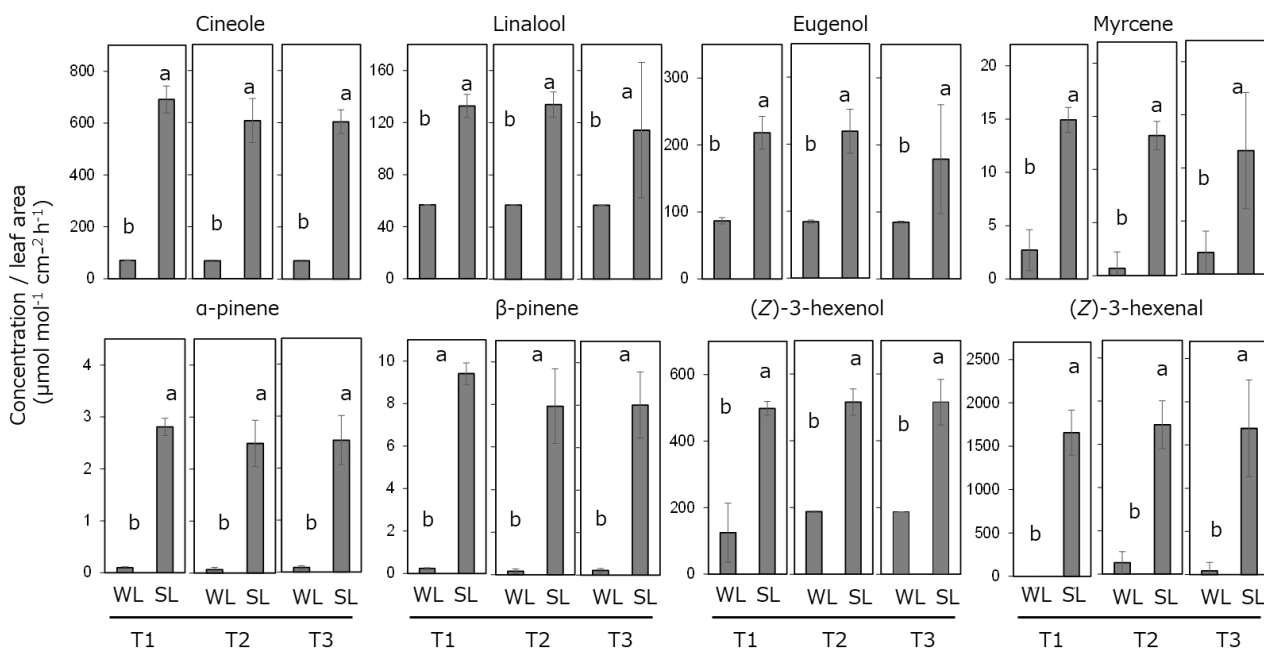


Figure 3-11: The emission of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf.

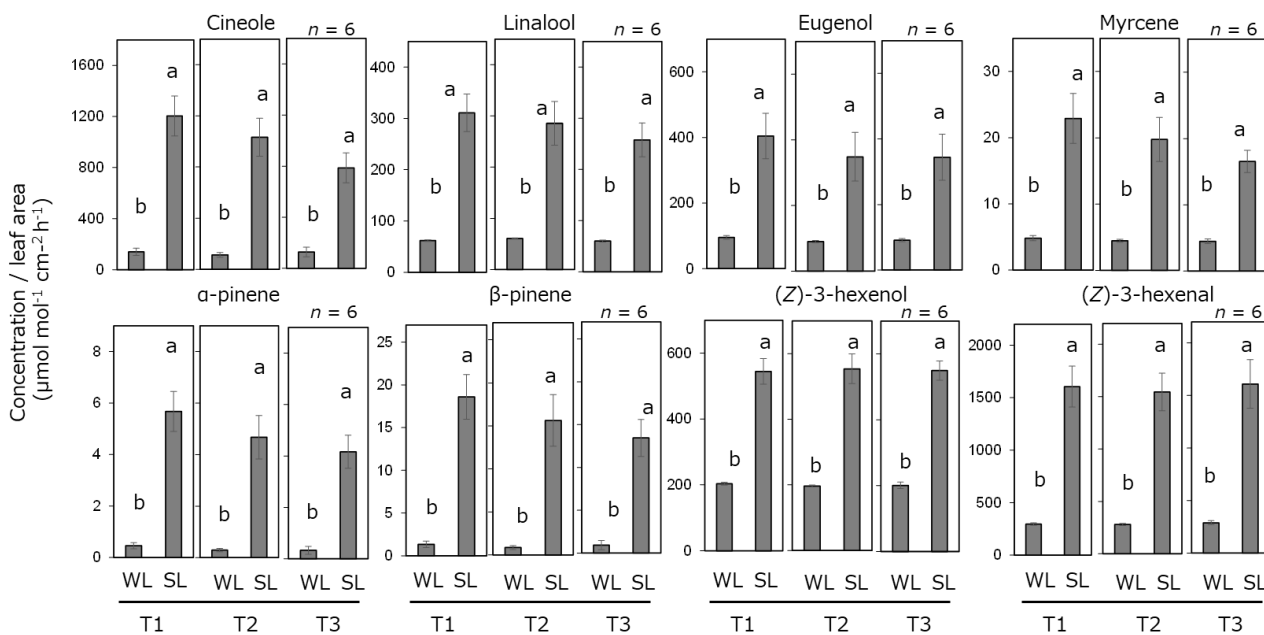


Figure 3-12: The emission of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Upper leaf.

に関しては、細断処理によって、破壊された植物細胞の表面積が増大したことで、細胞内の α -リノレン酸が大気中の酸素によって大量に分解されたためである。

Fig. 3-12 に、Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量の結果を示す。計測対象 VOC である Cineole, Linalool, Eugenol, Myrcene, α -pinene, β -pinene, (Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal において、Shredded leaf の方が Whole leaf よりも、有意に放出量が多い結果であった ($p < 0.05$, t -test)。Lower leaf での解析結果と同様に Cineole, Linalool, Eugenol, Myrcene, α -pinene, β -pinene に関しては、細断処理によってトライコーム内に蓄積されていた VOC が一気に放出されたためと考えられる。(Z)-3-hexenol, (Z)-3-hexenal に関しては、細断処理によって、破壊された植物細胞の表面積が増大したことで、細胞内の α -リノレン酸が大気中の酸素によって大量に分解されたためである。

3.6 Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量比較

閉鎖型 VOC 計測システムを用いてスイートバジル葉が放出する VOC を計測・解析を行った。スイートバジル葉を Whole leaf および Shredded leaf の状態でそれぞれ小型攪拌機構の上に静置し、Whole leaf においては、流量 200 mL min^{-1} で 1 時間、Shredded leaf においては、流量 100 mL min^{-1} で 1 時間 TenaxTA に濃縮捕集した。濃縮捕集した後は、2.6.4 で前述した解析条件で GC-MS で解析した。

Fig. 3-13, 3-14 に、Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量の結果を示す。Whole leaf における全ての VOC において、Upper leaf の方が Lower leaf に比べて、有意に放出量が多いことが確認された ($p < 0.05$, t -test)。また、Shredded leaf の Linalool,

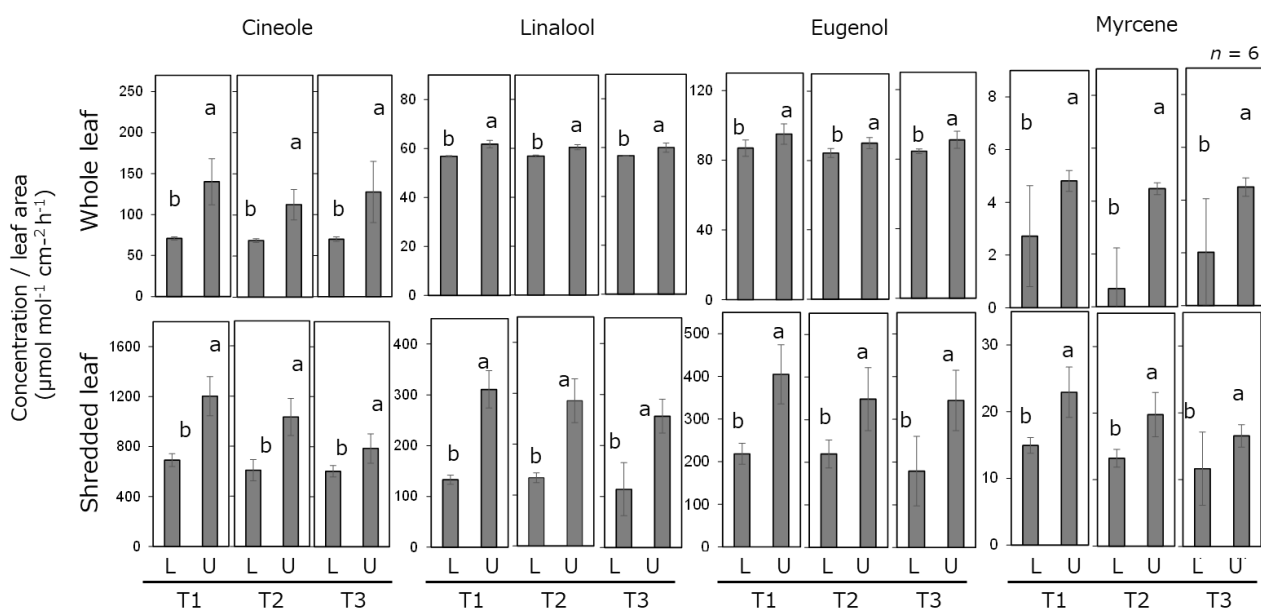


Figure 3-13: The emission of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf(L) and Upper leaf(U). a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, t -test).

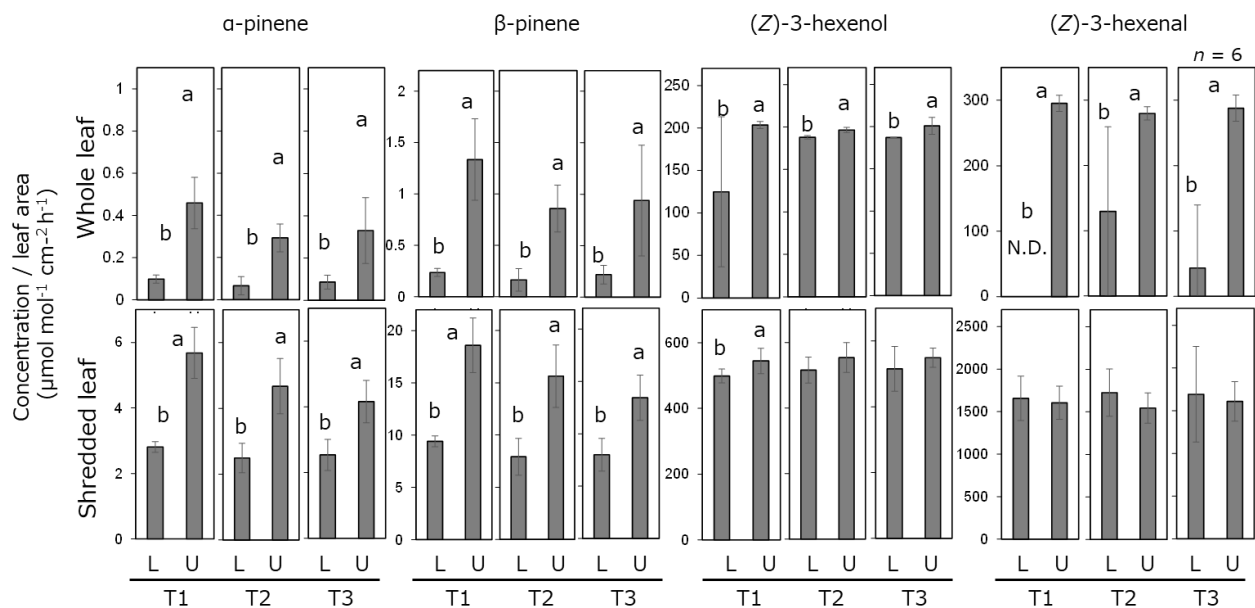


Figure 3-14: The emission of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf(L) and Upper leaf(U). a and b indicate significant difference between each treatment($p < 0.05$, t -test).

Cineole, Eugenol, Myrcene, α -pinene, β -pinene においては, Upper leafの方が Lower leafと比較して有意に放出量が多いということが確認された($p < 0.05$, t -test). しかし, Shredded leafの T1区における(Z)-3-hexenolを除いて, (Z)-3-hexenolと(Z)-3-hexenalでは, Upper leafと Lower leafで放出量に違いが確認されなかった. (Z)-3-hexenolや(Z)-3-hexenalは, 植物細胞内の不飽和脂肪酸である α -リノレン酸が酸化分解して生成されるVOC(Fall et al., 1999)であり, 養液中のEC制御が, 植物細胞内の α -リノレン酸の含量に影響がなかったためと考えられる.

3.7 各処理区の VOC 放出量比較

Fig. 3-15に, Lower leafにおける各VOC放出量の結果を示す. Lower leafにおいては, Whole leaf, Shredded leaf共に, 各処理区間で放出量に有意差は確認されなかった. この結果は, Lower leafにおいては, 栽培期間における養液中のEC制御は, VOCの放出量に影響を与えず, 各処理区間における香りの品質は同等のものであることを示唆している.

Fig. 3-16に, Upper leafにおける各VOC放出量の結果を示す. Whole leafにおいては, 各処理区でVOCの放出量に有意差は確認されなかった. しかし, Shredded leafでは, Cineole, α -pinene, β -pinene, Myrceneにおいて, T1区の方がT3区よりも有意に放出量が多いことが確認された. 既往の研究で, 香草類の一つであるレモンバーベナ(*Lipia citriodora* var. *Verbena*)は, 養液中のECが高い条件で栽培したレモンバーベナと比較して, ECが低い条件で栽培したレモンバーベナの方がCineoleの

含量が多くなることが報告されている (Tabatabaie and Nazari, 2007). また, 養液の濃度を半分にしてジェノベーゼバジル (Eleonora) を栽培したところ, モノテルペンである β -cis-Ocimene やセスキテルペンである α -Bergamotene, フェニルプロパノイドである Eugenol などの含量が有意に増加したとの報告がある (Ciriello et al., 2022). 先行研究と本研究の結果から, スイートバジルを含むいくつかの香草類において, 養液中の EC を低くすることで Cineole やモノテルペン類などの特定の成分の放出量を制御することが可能であると考えられる. また, 養液中の EC が高い状態で栽培すると浸透圧が高くなるため根からの給水量が減少する (北野ら, 2008). したがって, T3 区は T1 区と比較して, 軽微な水欠乏状態になり光合成が抑制され, トライコーム内の VOC の蓄積量が減少したために, 放出量が少ないと考えられる. 以

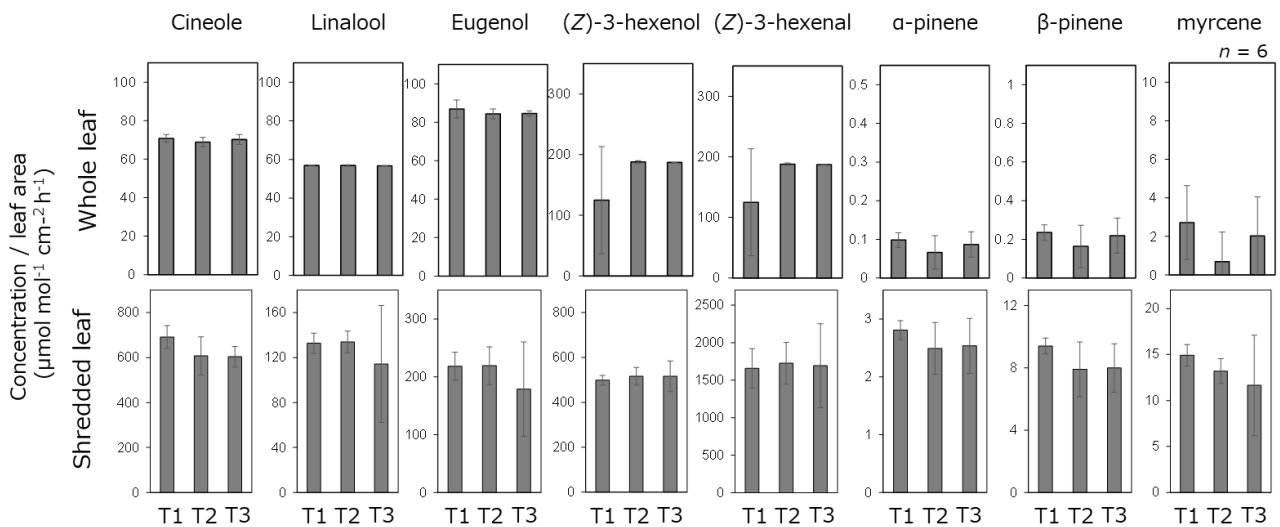


Figure 3-15: The emission of VOCs emitted from sweet basil in Lower leaf of each treatment.

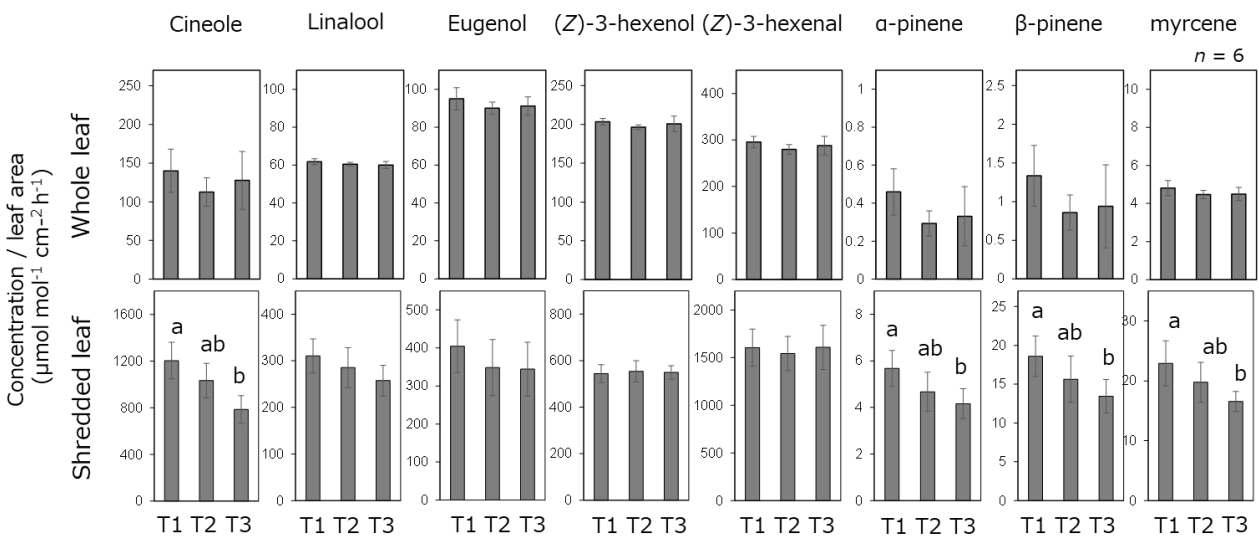


Figure 3-16: The emission of VOCs emitted from sweet basil in Upper leaf of each treatment. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, Tukey HSD).

上のことから、養液中の EC を制御することで、Cineole やモノテルペン類の放出量を制御し、多種多様な香りを有するスイートバジルを生産することが可能であると考えられる。また、養液中の EC を制御する期間を限定することで(栽培期間の最後の一週間のみ EC 制御を行うなど)、本研究とは異なる香りを有するスイートバジルの生産も可能である。

3.8 各処理区の VOC 比率の比較

Table 3-1 に、Lower leaf における各 VOC 放出量の比率を示す。Whole leaf においては、各処理区で有意差は確認されなかった。一方で、Shredded leaf においては、Cineole/Linalool の組み合わせにおいて、T1 区が T2, T3 区と比較して、有意傾向を

Table 3-1: The ratio of each VOCs emitted from sweet basil in Whole leaf and Shredded leaf of Lower leaf. a' and b' indicate marginally significant between each treatment ($p < 0.1$, Tukey HSD). a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, Tukey HSD).

Compounds	Whole leaf (Avg \pm S.D.)			Shredded leaf (Avg \pm S.D.)		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Cineole/Linalool	1.2 \pm 0.02	1.2 \pm 0.03	1.2 \pm 0.04	5.2 \pm 0.4 a'	4.5 \pm 0.5 a' b'	3.7 \pm 1.6 b'
Cineole/Eugenol	0.8 \pm 0.03	0.8 \pm 0.01	0.8 \pm 0.02	3.2 \pm 0.4	2.8 \pm 0.3	2.3 \pm 1.1
Cineole/(Z)-3-hexenol	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	1.3 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1
Cineole/(Z)-3-hexenal	NA	0.1 \pm 0.1	0.04 \pm 0.1	0.4 \pm 0.07	0.3 \pm 0.08	0.4 \pm 0.2
Cineole/ α -pinene	752.1 \pm 164.4	812.4 \pm 426.3	934.0 \pm 338.4	246.9 \pm 21.0	246.7 \pm 26.6	248.4 \pm 61.3
Cineole/ β -pinene	310.9 \pm 62.4	332.8 \pm 179.1	379.5 \pm 148.0	73.6 \pm 5.6	78.2 \pm 9.1	78.4 \pm 17.6
Cineole/myrcene	11.5 \pm 8.1	2.9 \pm 6.6	8.7 \pm 8.7	46.3 \pm 1.6	45.9 \pm 2.2	36.6 \pm 16.6
Linalool/Eugenol	0.6 \pm 0.03	0.6 \pm 0.01	0.6 \pm 0.01	0.6 \pm 0.04	0.6 \pm 0.05	0.5 \pm 0.2
Linalool/(Z)-3-hexenol	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.0	0.2 \pm 0.01	0.2 \pm 0.02	0.2 \pm 0.09
Linalool/(Z)-3-hexenal	NA	0.1 \pm 0.1	0.03 \pm 0.08	0.08 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.05 \pm 0.02
Linalool/ α -pinene	605.1 \pm 135.6	673.9 \pm 358.8	764.9 \pm 306.1	47.5 \pm 5.2	55.2 \pm 9.4	49.6 \pm 26.7
Linalool/ β -pinene	249.0 \pm 45.6	276.5 \pm 151.9	311.0 \pm 132.6	14.1 \pm 1.3	17.6 \pm 3.4	15.7 \pm 8.2
Linalool/myrcene	9.3 \pm 6.5	2.3 \pm 5.1	6.9 \pm 6.9	8.9 \pm 0.6	10.2 \pm 0.8	8.2 \pm 3.7
Eugenol/(Z)-3-hexenol	0.2 \pm 0.2	0.4 \pm 0.01	0.4 \pm 0.01	0.4 \pm 0.03	0.4 \pm 0.05	0.3 \pm 0.1
Eugenol/(Z)-3-hexenal	NA	0.1 \pm 0.1	0.05 \pm 0.1	0.1 \pm 0.01	0.1 \pm 0.01	0.09 \pm 0.04
Eugenol/ α -pinene	920.1 \pm 184.5	1000.8 \pm 526.4	1136.4 \pm 446.8	78.1 \pm 10.6	90.8 \pm 22.2	77.8 \pm 42.3
Eugenol/ β -pinene	383.2 \pm 87.0	410.8 \pm 223.8	462.0 \pm 193.6	23.2 \pm 2.4	28.9 \pm 7.6	24.7 \pm 13.0
Eugenol/myrcene	14.4 \pm 10.2	3.6 \pm 8.0	10.5 \pm 10.5	14.6 \pm 1.6	16.7 \pm 2.4	12.9 \pm 5.9
(Z)-3-hexenol/(Z)-3-hexenal	NA	0.3 \pm 0.3	0.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.04	0.3 \pm 0.1
(Z)-3-hexenol/ α -pinene	1401.7 \pm 1069.5	2223.1 \pm 1187.9	2523.8 \pm 1011.5	178.2 \pm 14.0	213.0 \pm 37.5	216.4 \pm 70.9
(Z)-3-hexenol/ β -pinene	511.1 \pm 373.2	912.2 \pm 502.9	1026.4 \pm 438.2	53.1 \pm 3.9	68.2 \pm 15.3	68.6 \pm 21.9
(Z)-3-hexenol/myrcene	15.4 \pm 21.8	7.5 \pm 16.8	23.0 \pm 23.0	33.6 \pm 2.8	39.5 \pm 5.7	32.8 \pm 15.3
(Z)-3-hexenal/ α -pinene	NA	1690.9 \pm 1878.7	303.2 \pm 678.0	590.5 \pm 91.4	723.0 \pm 205.7	726.4 \pm 341.4
(Z)-3-hexenal/ β -pinene	NA	744.8 \pm 845.4	119.0 \pm 266.1	176.3 \pm 27.0	231.4 \pm 71.6	230.4 \pm 105.0
(Z)-3-hexenal/myrcene	NA	10.4 \pm 23.4	10.5 \pm 23.6	111.6 \pm 19.0	132.7 \pm 27.1	115.9 \pm 54.1
α -pinene/ β -pinene	0.4 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.4 \pm 0.03	0.2 \pm 0.01	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.01
α -pinene/myrcene	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.1 \pm 0.01	0.1 \pm 0.02	0.01 \pm 0.07
β -pinene/myrcene	0.03 \pm 0.02	0.01 \pm 0.03	0.03 \pm 0.03	0.6 \pm 0.04	0.5 \pm 0.07	0.4 \pm 0.2

確認した。この結果は、栽培期間における養液中の EC 制御によって、スイートバジルの Lower leaf における Shredded leaf の香りの質(VOC の比率)を制御することが可能であることを示唆している。なお、数値的な違いは確認されなかったが、各処理区のスイートバジルにおいて、人が知覚する香りは異なっている可能性はある。

Table 3-2 に、Upper leaf における各 VOC 放出量の比率を示す。Whole leaf における Cineole/ α -pinene の組み合わせにおいて、T1 区と T3 区で有意差を確認した。Shredded leaf においては、Cineole/Linalool, Cineole/Eugenol, Cineole/(Z)-3-hexenol, Cineole/(Z)-3-hexenal の組み合わせにおいて、T1 区と T3 区の間で有意差が確認された。さらに、(Z)-3-hexenol/ β -pinene, (Z)-3-hexenol/Myrcene の組み合わせでは、T1 区と T3 区の間で有意傾向が確認された。これらのことから、栽培期間における養

Table 3-2: The ratio of each VOCs emitted from sweet basil in Whole leaf and Shredded leaf of Upper leaf. a' and b' indicate marginally significant between each treatment($p < 0.1$, Tukey HSD). a and b indicate significant difference between each treatment($p < 0.05$, Tukey HSD).

Compounds	Whole leaf (Avg \pm S.D.)			Shredded leaf (Avg \pm S.D.)		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Cineole/Linalool	2.2 \pm 0.4	1.8 \pm 0.2	2.1 \pm 0.5	3.8 \pm 0.2 a	3.6 \pm 0.4 ab	3.1 \pm 0.4 b
Cineole/Eugenol	1.4 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.3	3.0 \pm 0.2 a	3.0 \pm 0.3 a	2.3 \pm 0.4 b
Cineole/(Z)-3-hexenol	0.6 \pm 0.1	0.5 \pm 0.08	0.6 \pm 0.1	2.2 \pm 0.3 a	1.8 \pm 0.3 ab	1.4 \pm 0.2 b
Cineole/(Z)-3-hexenal	NA	0.1 \pm 0.1	0.05 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1 a	0.6 \pm 0.1 ab	0.4 \pm 0.08 b
Cineole/ α -pinene	311.2 \pm 38.3 b	389.5 \pm 31.6 ab	432.6 \pm 115.4 a	213.2 \pm 18.4	223.0 \pm 20.7	192.6 \pm 35.7
Cineole/ β -pinene	107.4 \pm 10.2	134.7 \pm 13.4	173.4 \pm 82.2	65.2 \pm 6.3	66.8 \pm 6.3	59.7 \pm 11.2
Cineole/myrcene	18.7 \pm 13.6	4.13 \pm 9.2	13.0 \pm 13.5	53.1 \pm 5.8	52.5 \pm 3.8	47.7 \pm 7.3
Linalool/Eugenol	0.6 \pm 0.02	0.6 \pm 0.02	0.6 \pm 0.01	0.7 \pm 0.06	0.8 \pm 0.1	0.7 \pm 0.07
Linalool/(Z)-3-hexenol	0.3 \pm 0.01	0.3 \pm 0.003	0.2 \pm 0.006	0.5 \pm 0.07	0.5 \pm 0.09	0.4 \pm 0.05
Linalool/(Z)-3-hexenal	NA	0.1 \pm 0.1	0.03 \pm 0.08	0.1 \pm 0.03	0.1 \pm 0.03	0.1 \pm 0.03
Linalool/ α -pinene	142.4 \pm 30.2	216.0 \pm 45.5	228.8 \pm 105.4	55.4 \pm 7.9	62.3 \pm 11.7	63.2 \pm 12.3
Linalool/ β -pinene	49.5 \pm 11.0	75.2 \pm 18.2	95.5 \pm 66.0	16.9 \pm 2.5	18.7 \pm 3.6	19.5 \pm 3.4
Linalool/myrcene	12.9 \pm 0.7	13.5 \pm 0.5	13.3 \pm 0.5	13.6 \pm 1.0	14.6 \pm 1.9	15.5 \pm 1.0
Eugenol/(Z)-3-hexenol	0.4 \pm 0.02	0.4 \pm 0.01	0.4 \pm 0.004	0.7 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1
Eugenol/(Z)-3-hexenal	0.3 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	0.3 \pm 0.005	0.2 \pm 0.06	0.2 \pm 0.06	0.2 \pm 0.06
Eugenol/ α -pinene	217.7 \pm 43.3	321.7 \pm 68.5	344.1 \pm 152.9	71.7 \pm 10.1	74.3 \pm 6.2	84.3 \pm 21.0
Eugenol/ β -pinene	75.4 \pm 14.8	112.0 \pm 27.2	142.8 \pm 95.0	21.9 \pm 3.2	22.2 \pm 2.1	26.0 \pm 5.9
Eugenol/myrcene	19.7 \pm 0.6	20.1 \pm 1.1	20.2 \pm 0.4	17.6 \pm 1.1	17.5 \pm 1.7	20.7 \pm 3.3
(Z)-3-hexenol/(Z)-3-hexenal	NA	0.3 \pm 0.3	0.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.04
(Z)-3-hexenol/ α -pinene	469.1 \pm 100.1	702.1 \pm 145.8	760.6 \pm 341.4	98.1 \pm 17.4	123.8 \pm 30.7	134.4 \pm 16.2
(Z)-3-hexenol/ β -pinene	163.1 \pm 36.9	244.4 \pm 59.0	316.5 \pm 213.9	29.9 \pm 5.4 b	37.2 \pm 9.6 ab	41.6 \pm 4.8 a
(Z)-3-hexenol/myrcene	42.5 \pm 3.1	44.0 \pm 1.6	44.7 \pm 1.1	24.5 \pm 5.0 b	29.0 \pm 6.3 ab	33.4 \pm 2.9 a
(Z)-3-hexenal/ α -pinene	677.1 \pm 128.3	995.4 \pm 189.0	1079.0 \pm 463.7	290.9 \pm 66.7	346.0 \pm 92.1	395.4 \pm 79.0
(Z)-3-hexenal/ β -pinene	235.6 \pm 49.4	346.2 \pm 76.9	447.9 \pm 295.5	89.0 \pm 20.8	104.2 \pm 29.5	122.7 \pm 25.6
(Z)-3-hexenal/myrcene	61.6 \pm 3.0	62.6 \pm 1.4	64.0 \pm 0.7	72.9 \pm 19.1	81.2 \pm 20.5	98.3 \pm 18.1
α -pinene/ β -pinene	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.007	0.2 \pm 0.007	0.3 \pm 0.01
α -pinene/myrcene	0.09 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.07 \pm 0.02	0.2 \pm 0.05	0.2 \pm 0.02	0.2 \pm 0.03
β -pinene/myrcene	0.2 \pm 0.05	0.1 \pm 0.04	0.2 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.7 \pm 0.08	0.8 \pm 0.1

液中の EC 制御は，スイートバジルの Upper leaf の香りの質を制御することが可能であることを示唆している．

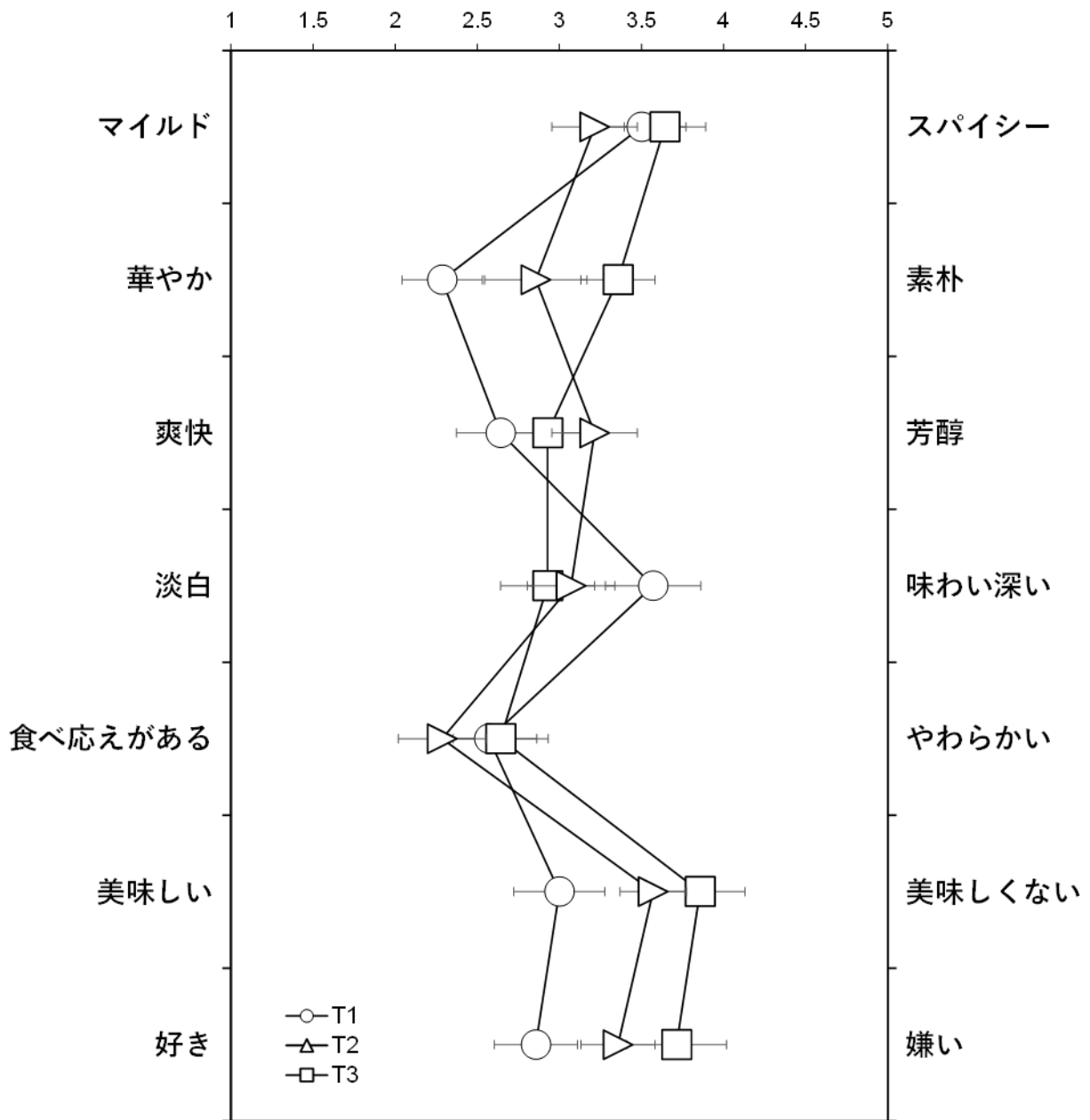


Figure 3-17: The result of sensory evaluation of sweet basil in Lower leaf.

3.9 官能試験の結果

Fig. 3-17 に，Lower leaf の官能試験の結果を示す．Lower leaf では，T1 区のスイートバジルが T2 や T3 区と比較して，華やかである，爽快である回答とした人の割合が多いことを確認した．Lower leaf では，各処理区で VOC 放出量に有意差は確認されなかった．しかし，Cineole やテルペン類である α -pinene, β -pinene, Myrcene

などは、他の処理区と比較して放出量が高い傾向にある。この微量な放出量の違いが、人の知覚している爽やかさや華やかさに影響したと考えられる。また、T1区の方がT2区、T3区と比較して、美味しい、好きという回答をした人の割合が多いことを確認した。

Fig. 3-18に、Upper leafの官能試験の結果を示す。Upper leafでは、T1区のスイートバジルがT2区やT3区のスイートバジルと比較して、スパイシー、爽快であると回答した人の割合が多いことを確認した。Upper leafでは、Cineoleやテルペン類である α -pinene、 β -pinene、Myrceneの放出量が高くなり、これらの物質が影響したと考えられる。また、Lower leafと同様にT1区のスイー

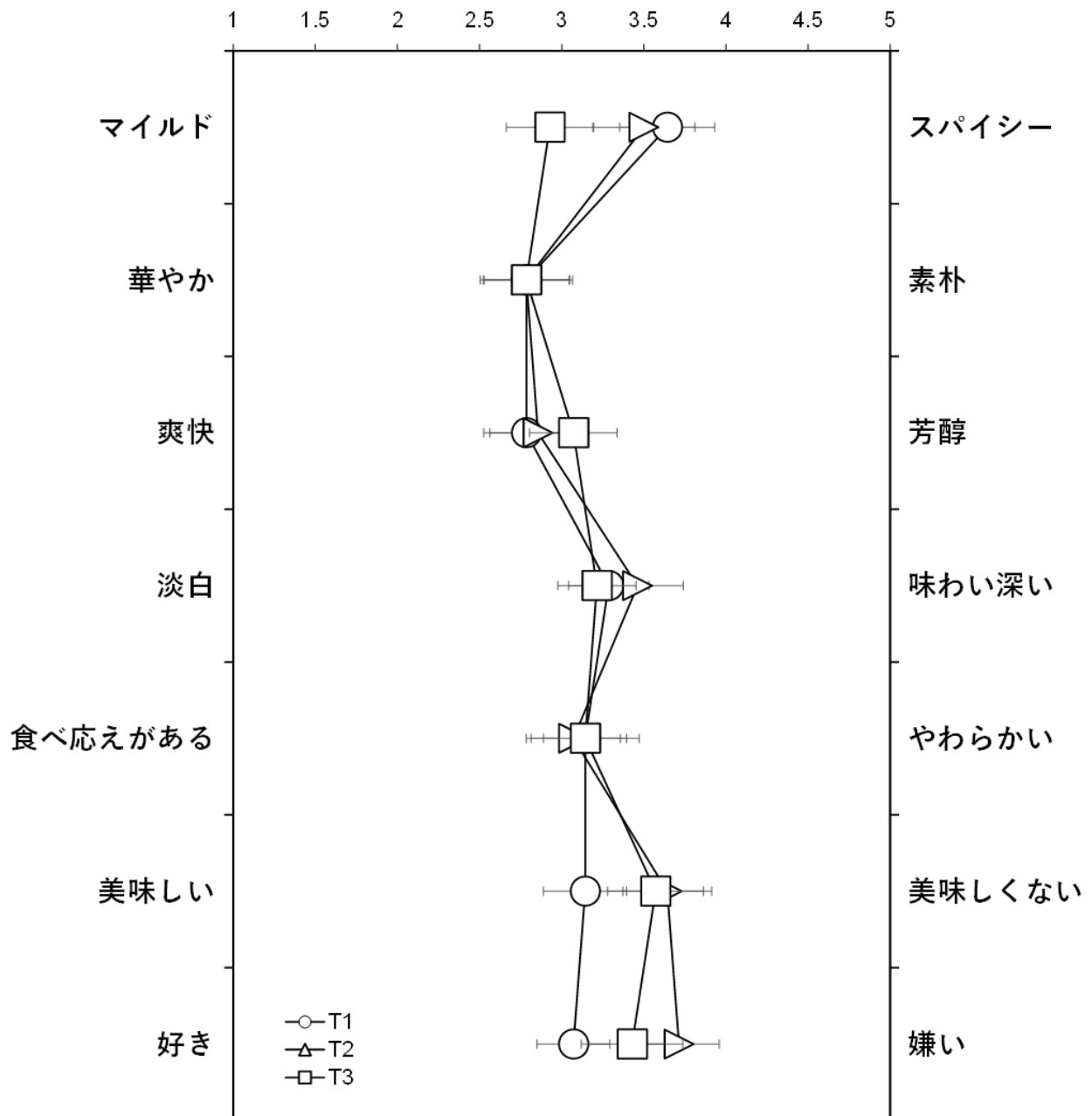


Figure 3-18: The result of sensory evaluation of sweet basil in Upper leaf.

トバジルが、T2区とT3区のスイートバジルと比較して、美味しい、好きであると評価した人の割合が多く、Cineoleやテルペン類である α -pinene, β -pinene, Myrceneの放出量の多さが、スイートバジルの全体の評価を高めたということが示唆された。

3.10 本章のまとめ

本章では、ECが $1\sim 1.2\text{ mS cm}^{-1}$ (T1), $2.1\sim 2.3\text{ mS cm}^{-1}$ (T2), $4.3\sim 4.5\text{ mS cm}^{-1}$ (T3)の3つの処理区で栽培したスイートバジルを対象にGC-MSでVOC計測を行い、VOC放出量とVOC比率を比較した。なお、全ての処理区においてPPFD300の光強度で栽培した。各処理区のスイートバジルにおいて、葉面積に違いは見られず、異なるEC環境がスイートバジル葉の成長量に影響していないことが確認された。また、ECを高くしすぎた状態で栽培すると生理障害などが生じるが、スイートバジル葉の外観に障害は確認されなかった。

本実験では、スイートバジルの代表的なVOCであるLinalool, Cineole, EugenolやGLVsである(Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexenol, モノテルペンである α -pinene, β -pinene, Myrceneを計測対象VOCとした。スイートバジルは、Lower leafとUpper leafを対象にVOC計測を行った。

Lower leafとUpper leafにおけるWhole leafとShredded leafのVOC放出量を比較した。その結果、全てのVOCにおいてWhole leafよりもShredded leafの方が、有意に放出量が多い結果となった。これは、スイートバジル葉表面に存在するトライコームが細断処理によって破壊され、トライコーム内に蓄積されていたVOCが急激に放出されたためである。次に、Whole leafとShredded leafにおけるLower leafとUpper leafのVOC放出量を比較した。その結果、Shredded leafにおけるT2, T3区の(Z)-3-hexenol, T1, T2, T3区における(Z)-3-hexenal以外の全てのVOCにおいて、Lower leafよりもUpper leafの方が、有意にVOC放出量が多い結果となった。これは、Upper leafがLower leafよりも、光強度が強い状態で栽培されているためである。GLVsである(Z)-3-hexenolや(Z)-3-hexenalは、植物細胞内の不飽和脂肪酸である α -リノレン酸が大気中の酸素によって分解されて生成される物質である。したがって、養液中のEC環境が、植物細胞内の α -リノレン酸に影響を及ぼさなかったためであると考えられる。

次に、Lower leafとUpper leafにおける各処理区のVOC放出量の比較を行った。Lower leafでは、Whole leaf, Shredded leafの状態各VOCの放出量に差は確認されなかった。Upper leafでは、Whole leafの状態各VOCの放出量に差は確認されなかったが、Shredded leafの状態では、Cineoleやモノテルペンである α -pinene, β -pinene, Myrceneにおいて、T1区の方がT3区よりも有意に放出量が多いことを確認した。これは、ECが高いために浸透圧が高くなり、栽培期間における給水量がT1区よりも微量に少なくなったと考えられる。結果として、軽微な水欠乏状態になり光合成が抑制され、VOCの蓄積量が減少したと推察される。

次に、Lower leaf と Upper leaf における各処理区の VOC 比率の比較を行った。Lower leaf の Whole leaf では、各組み合わせにおいて、有意差は確認されなかった。一方で、Shredded leaf においては、Cineole/Linalool において、有意傾向を確認した。本研究では、数値的な差は確認されなかったが、各処理区のスイートバジルにおいて、人が知覚する香りは異なる可能性がある。今後は、オーダー・ユニット(=食品に含まれる特定の VOC 含有量(ppm)/人が知覚できる VOC 濃度(閾値), 高島, 1997)を求めて、各 VOC がスイートバジルの香りに対する寄与度を算出し、どの成分が重要であるかを求める必要がある。Upper leaf の Shredded leaf においては、Cineole/Linalool, Cineole/Eugenol, Cineole/(Z)-3-hexenol, Cineole/(Z)-3-hexenal の組み合わせにおいて、T1 区と T3 区で有意差を確認し、T1 区の方が T3 区よりも Cineole の割合が高いことを確認した。Cineole は爽やかな香りが特徴的であり、T1 区のスイートバジルは、T3 区と比較して爽やかさが強いスイートバジルであると考えられる。

官能試験の結果では、Lower leaf, Upper leaf ともに T1 区のスイートバジルが T2 区と T3 区のスイートバジルと比較して、華やかである、爽やかであるの評価が高い傾向にあることを確認した。さらに、美味しい、好きという評価も T1 区が最も高いことを確認した。

本研究では、栽培期間における養液中の EC を制御することで Cineole やモノテルペンである α -pinene, β -pinene, Myrcene の VOC 放出量や Cineole を含む VOC 比率を制御することが可能であることが示唆された。生産者が適切に栽培期間における養液(EC)環境を制御することで、多種多様な香りを有するスイートバジルを生産することが可能であり、消費者のニーズに応えることが可能となる。

引用文献

Ciriello, M., Formisano, L., Kyriacou, M.C., Colla, G., Graziani, G., Ritieni, A., De Pascale, S., Roupheal, Y., 2022. Biostimulatory Action of Vegetal Protein Hydrolysate Compensates for Reduced Strength Nutrient Supply in a Floating Raft System by Enhancing Performance and Qualitative Features of “Genovese” Basil. *Frontiers in Plant Science*, 13: 906686.

Fall, R., Karl, T., Hansel, A., Jordan, A. and Lindinger, W., 1999. Volatile organic compounds emitted after leaf wounding: On-line analysis by proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Journal of Geophysical Research*, 140: pp. 15963-15974.

Tabatabaie, S.J., Nazari, J., 2007. Influence of Nutrient Concentrations and NaCl Salinity on the Growth, Photosynthesis, and Essential Oil Content of Peppermint and Lemon Verbena. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31(4): pp. 245-253.

北野雅治，日高功太，圖師一文，荒木卓哉． 2008． 養液栽培における根への環境ストレスの応用による野菜の高付加価値化． *植物環境工学*， 20(4): pp. 210-218.

高島靖弘． 1997． 香りと官能評価． *日本官能評価学会誌*， 1(1): pp. 10-17.

第 4 章 異なる光強度で栽培されたスイートバジルの VOC 解析

4.1 葉面積比較

PPFD100, PPFD200, PPFD300 のスイートバジルの葉面積を Fig. 4-1 に示す. 各処理区で, Lower leaf と Upper leaf 共に大きな違いは確認されなかった. 光強度の違いによって葉面積の大きさに差はなく, 各処理区でスイートバジルの成長量は, 同等である.

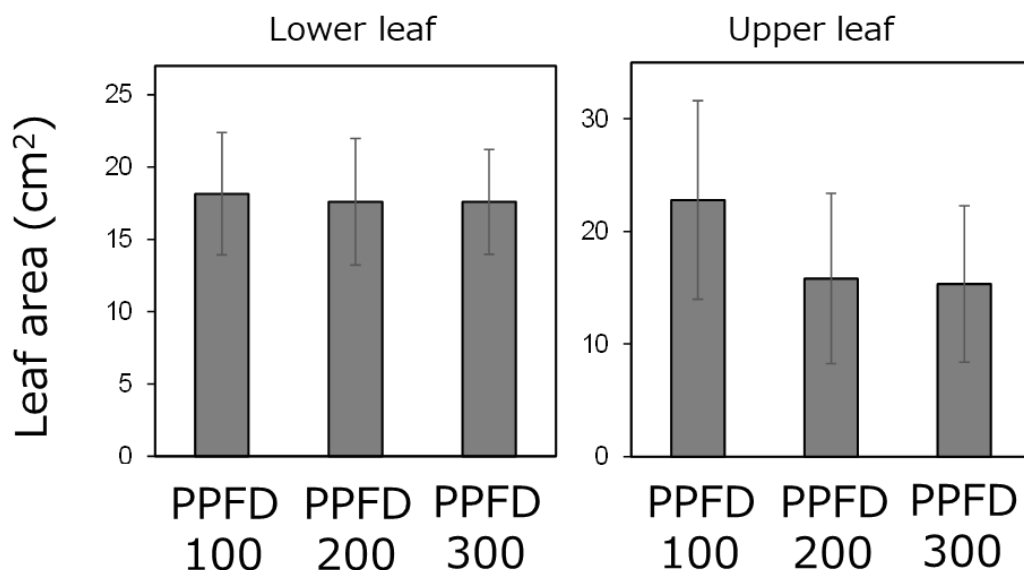


Figure 4-1: Leaf area of sweet basil leaf in PPFD100, PPFD200, and PPFD300.

4.2 計測対象 VOC のリテンションタイム

閉鎖型 VOC 計測システム(Fig. 2-11)を用いてスイートバジル葉が放出する VOC の計測・解析を行った. スイートバジル葉を Whole leaf および Shredded leaf の状態でそれぞれ小型攪拌機構の上に静置し, 10 分後に GC-SAW のサンプリングを行った. キャリアガスにはヘリウムガス, キャピラリーカラムには DB-5(PNA002541, Electronic Sensor Technology, Inc.)を用いた. 20~40 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$ (ccm)の流量で 5 秒間 VOC をサンプリングし, 装置内の TenaxTA を用いた二次トラップに吸着する. カラムの昇温条件は, 初期温度 40 $^{\circ}\text{C}$ を 9 秒間保持した後, 10 $^{\circ}\text{C s}^{-1}$ で 200 $^{\circ}\text{C}$ まで昇温し, その後 4 秒間保持する条件となっている. その後, SAW センサ表面に付着した高沸点物質の除去のため 15 秒間 SAW センサの焼きだしを行う. したがって, 1 サンプルの分析に要する時間は 44 秒であった. カラム内のキャリアガスの流量は約 3 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$ (ccm)であった. 計測対象 VOC の標準物質のクロマトグラムとスイートバジル(Whole leaf, Shredded leaf)のクロマトグラムを Fig. 4-2 に示す. その結果, Whole leaf, Shredded leaf 共に, (Z)-3-hexenal, Cineole, Linalool, Eugenol の放

出を確認した。

スイートバジルから得られたクロマトグラムを Fig. 4-3 に示す。Whole leaf, Shredded leafともに、代表的な VOC である Eugenol, Cineole, Linalool の放出を確認した。この VOC は、既往の研究で報告された VOC と同等のものであることが確認された(Liber et al., 2011)。さらに、植物細胞内に含まれる α -リノレン酸が酸化分解されて生成される (Z)-3-hexenal の放出も確認した(Fall et al., 1999)。また、細断処理によって各 VOC のピークが高くなっていることが確認された。放出量に関しては、詳しく後述する。

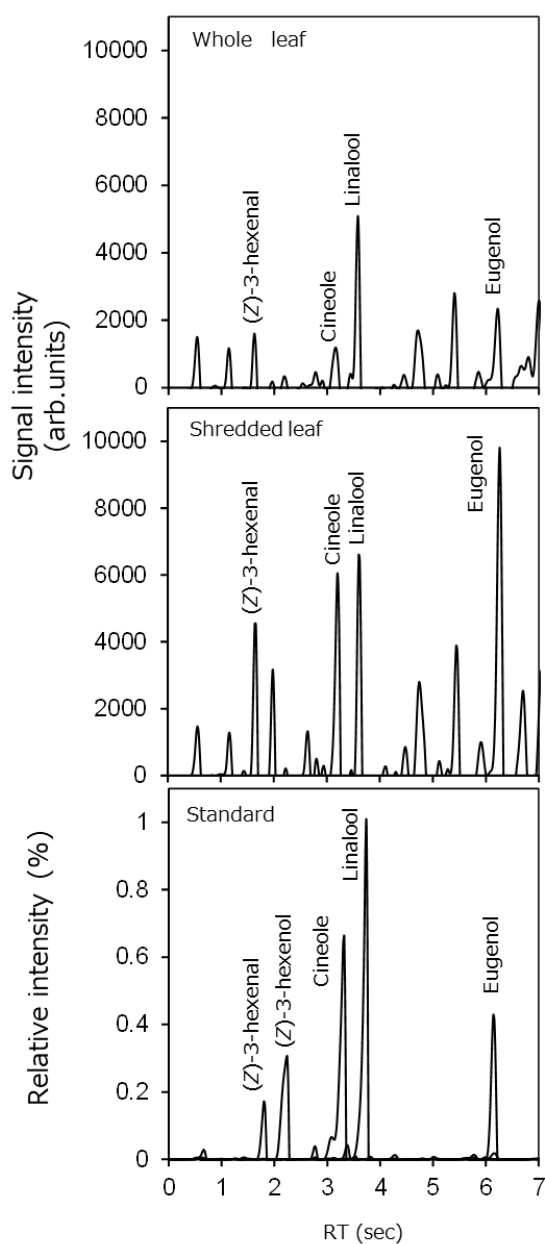


Figure 4-2: Chromatograms of sweet basil leaf in Whole leaf and Shredded leaf and the standard of (Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexenol, Cineole, Linalool, and Eugenol with GC-SAW.

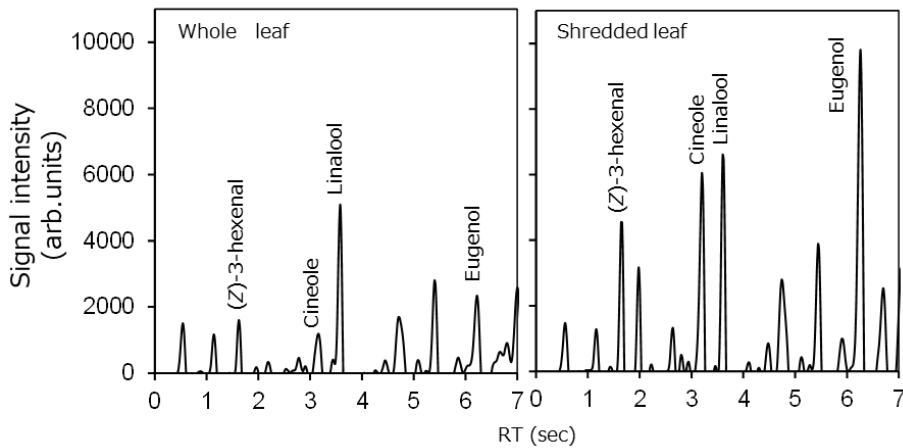


Figure 4-3: Chromatograms of VOC emitted from sweet basil leaf(Whole leaf and Shredded leaf). We detected (Z)-3-hexenal, Cineole, Linalool, and Eugenol with GC-SAW.

4.3 検量線

検量線の測定方法の模式図を Fig. 4-4 に示す. 計測対象 VOC の標準物質をディフュージョンチューブに入れ, パーミエーターの Line1 で揮発させた. 温度 50°C, 窒素ガスの流量 1 L min^{-1} で標準物質を一定量揮発させ, GC-SAW で計測した. 何も入っていない状態の Line2 に, 窒素ガスを追加し, Line1 に合流させることで流路に流れる濃度を段階的に下げた. Line2 に流す窒素ガスの流量を段階的に変化させて計測を行い, 検量線を作成した. 一定時間揮発させ, 揮発前と揮発後で重さを測り, 単位時間当たりの揮発量を算出し, 濃度を求めた. Fig. 4-5 に, Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal の検量線の結果を示す. Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal 全てにおいて, 直線で近似していることを確認した. 算出した検量線を用いて, 濃度に変換し, VOC 放出量や比率を比較することとした.

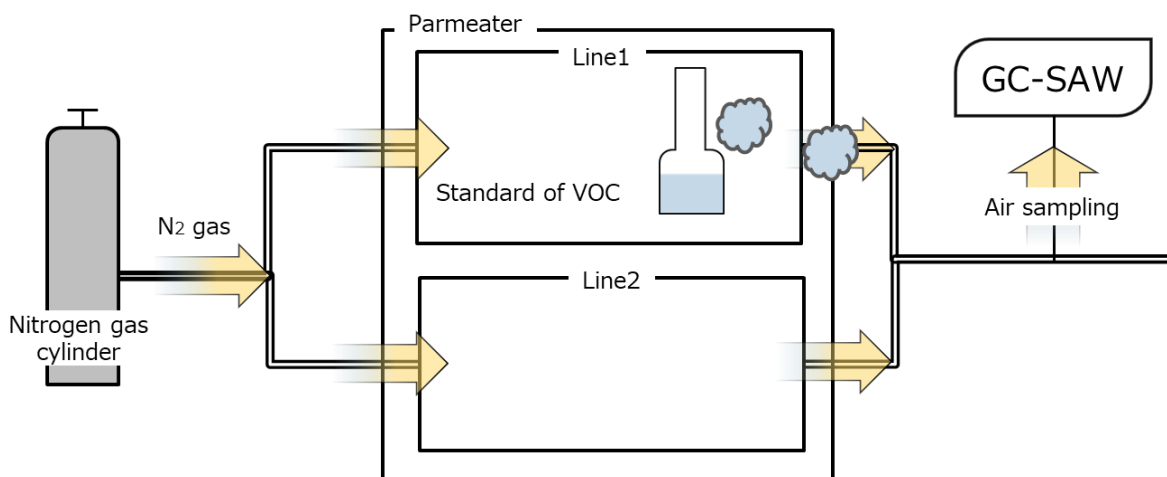


Figure 4-4: Schematic diagram of how to measure standard of VOC to calculate concentration of VOC.

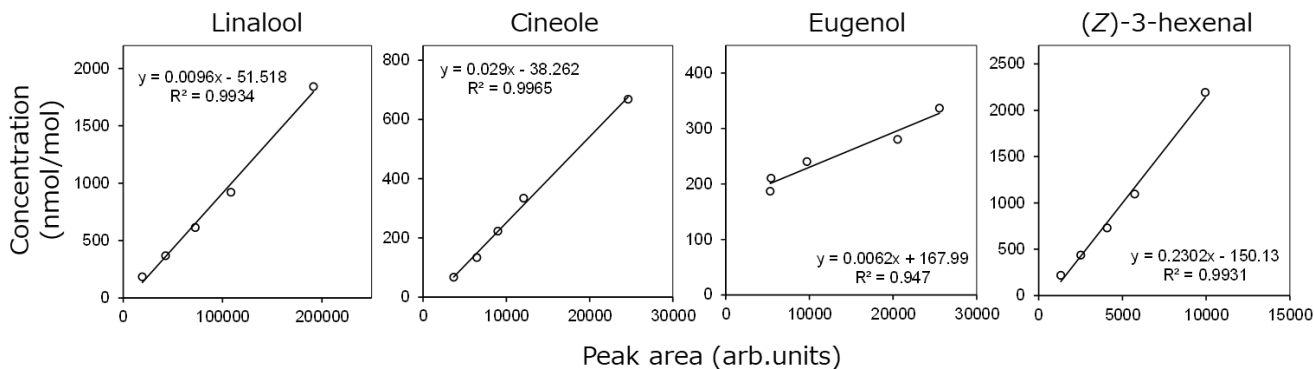


Figure 4-5: Calibration curve of Linalool, Cineole, Eugenol, and (Z)-3-hexenal.

4.4 Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量比較

Fig. 4-6 に、Lower leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC の相関関係を示す。横軸が Whole leaf の VOC 放出量，縦軸が Shredded leaf の VOC 放出量である。グラフ内の直線は、Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量が等しいことを示しており、グラフ内の直線より下であれば、Whole leaf の方が放出量が多く、グラフ内の直線より上であれば、Shredded leaf の方が放出量が多い。Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal に関しては、グラフの直線よりも上に描画されており、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が多いことが確認された。これは、細断処理によって、トライコームが破壊され、トライコーム内に蓄積されていた Cineole, Eugenol が一気に大気中に放出されたためと考えられる。また、(Z)-3-hexenal は、細断処理によって、壊れた植物細胞の表面積が増大し、植物細胞内に含まれる α -リノレン酸が大気中の酸素によって分解されたため、Shredded leaf の方が放出量が増大している (Fall et al., 1999)。一方で、Linalool においては、グラフの直線よりも下に描画されており、Shredded leaf よりも Whole leaf の方が放出量が多い。これは、他の VOC より、トライコーム内に蓄積されていた量が少ないことを示している。

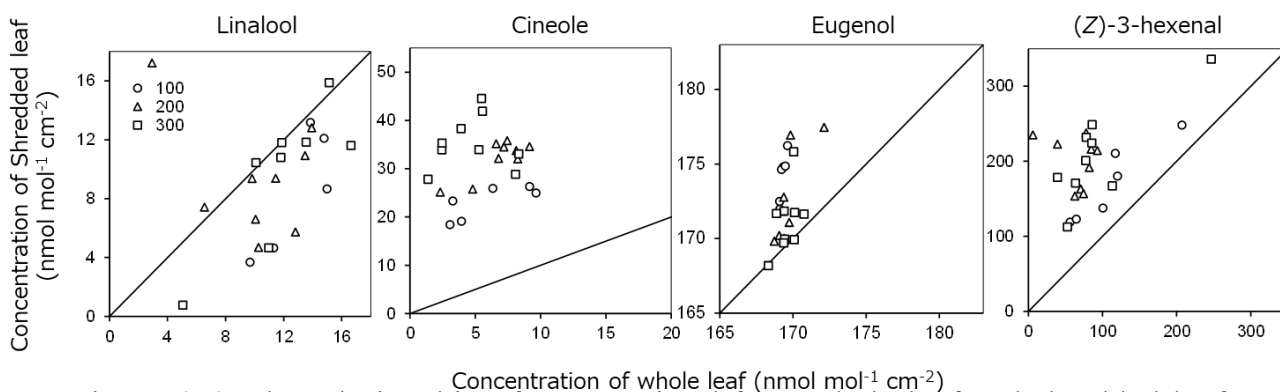


Figure 4-6: The relationship of VOC emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf at PPFD100(○), PPFD200(△), and PPFD300(□).

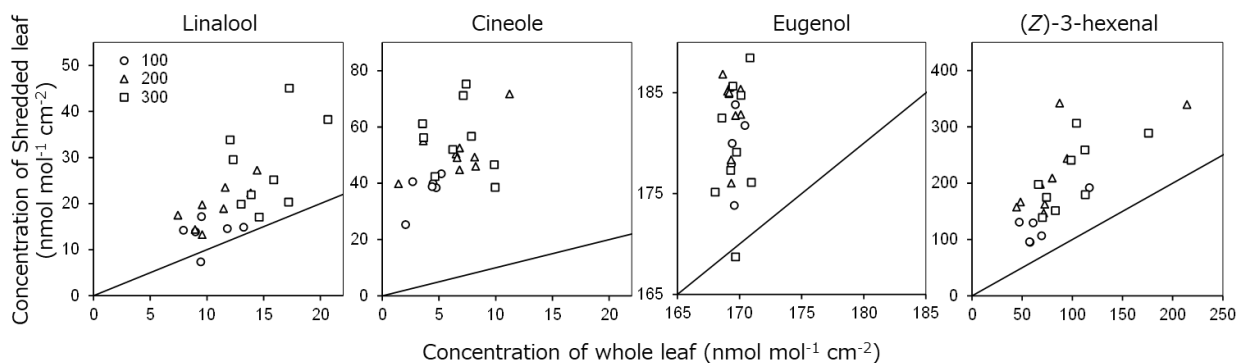


Figure 4-7: The relationship of VOC emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Upper leaf at PPFD100(○), PPFD200(△), and PPFD300(□)

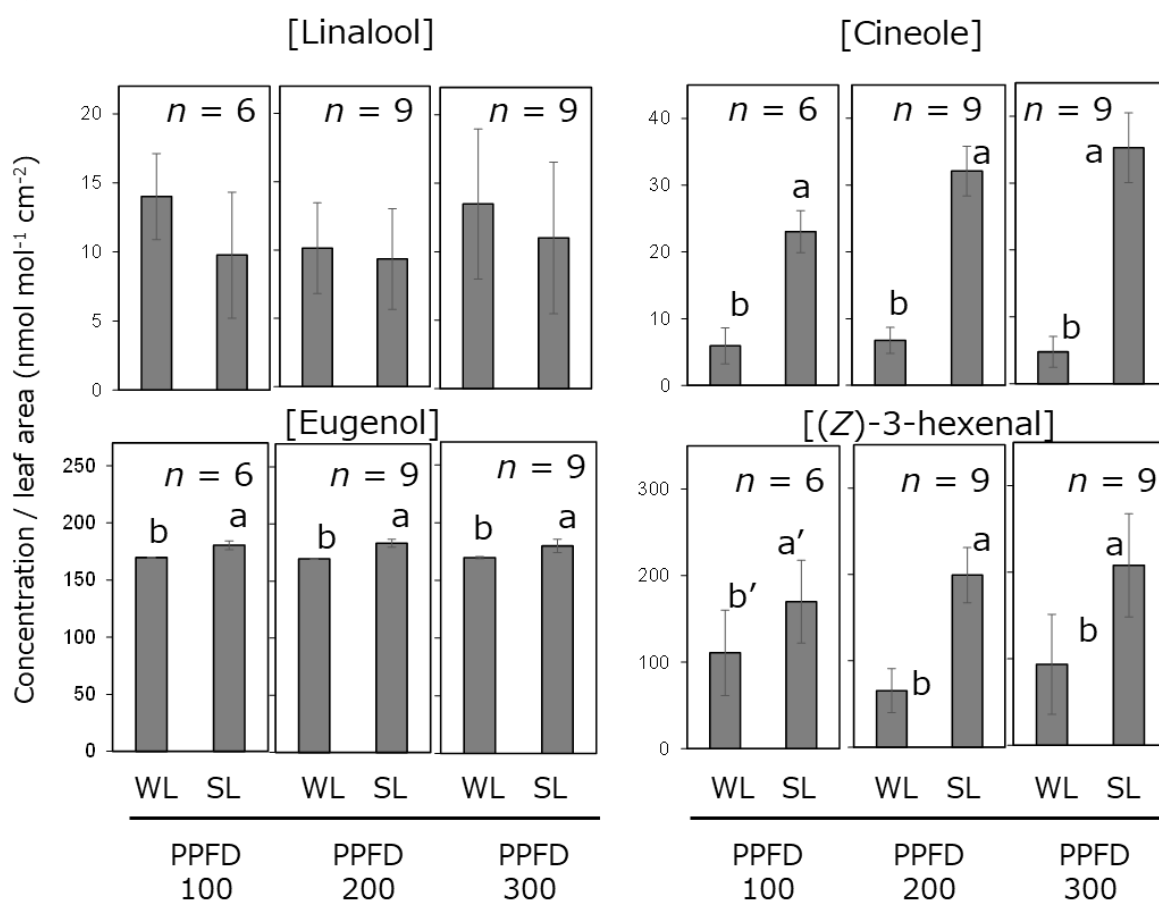


Figure 4-8: VOC emission of whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf at PPFD100, PPFD200, and PPFD300. Bar indicates S.D. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, t -test). a' and b' indicate marginally significant differences between the treatments ($p < 0.1$, t -test).

Fig. 4-7 に、Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC の相関関係を示す。Upper leaf では、今回計測対象とした Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal において、グラフの直線よりも上であり、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が多いことを示している。

Fig. 4-8 に、Lower leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量の結果を示す。Linalool は、PPFD100, PPFD200, PPFD300 の処理区で Whole leaf と Shredded leaf の放出量に違いは確認されなかった。一方で、Cineole, Eugenol に関しては、PPFD100, PPFD200, PPFD300 の全ての処理区において、Shredded leaf の方が Whole leaf よりも有意に放出量が多い結果であった ($p < 0.05$, t -test)。さらに、(Z)-3-hexenal に関しては、PPFD200, PPFD300 において、Shredded leaf の方が Whole leaf よりも有意に放出量が多い結果であった ($p < 0.05$, t -test)。PPFD100 区では、Whole leaf と Shredded leaf の間で有意差は確認できなかった。これは、PPFD100 という弱光条件で栽培されているため、植物細胞内の α -リノレン酸の量が少なかったと推察される。

Fig. 4-9 に、Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量の結果を示す。PPFD100, PPFD200, PPFD300 の Linalool, Cineole, (Z)-3-hexenal において、Shredded leaf の方が Whole leaf よりも有意に放出量が多い結果であった ($p < 0.05$, t -test)。Eugenol に関しては、PPFD100, PPFD200 で、Shredded leaf の方が Whole leaf

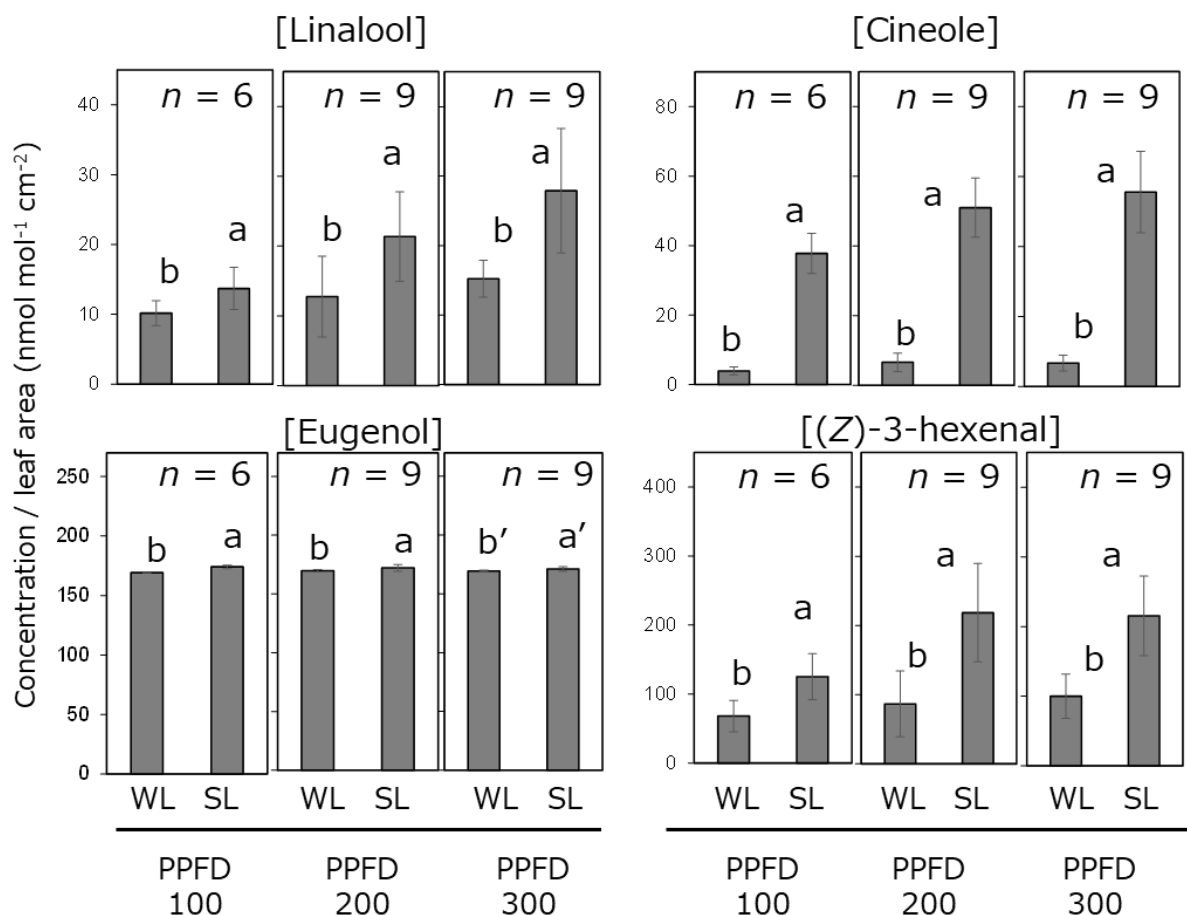


Figure 4-9: VOC emission of whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf at PPFD100, PPFD200, and PPFD300. Bar indicates S.D. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, t -test). a' and b' indicate marginally significant differences between the treatments ($p < 0.1$, t -test).

よりも有意に放出量が多い結果であった ($p < 0.05$, t -test)が, PPF300 区においては, Whole leaf と Shredded leaf で有意差は確認されず, 有意傾向であった ($p < 0.1$, t -test). 各 VOC において, Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が多いのは, 細断処理によって, スイートバジル表面に存在するトライコームが破壊され, トライコーム内に蓄積されていた VOC が急激に放出されたためである.

4.5 Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量比較

Fig. 4-10, Fig. 4-11 に各処理区のスイートバジルにおける Lower leaf (L) と Upper leaf (U) の VOC の単位葉面積当たりの放出量のグラフを示す. Whole leaf においては, 各処理区で Lower leaf と Upper leaf の間に VOC の放出量に違いは確認されなかった. 一方, Shredded leaf の Linalool, Cineole においては, Lower leaf よりも Upper leaf の方が, 有意に放出量が多いという結果になった ($p < 0.05$, t -test). しかし, Eugenol においては, Upper leaf よりも Lower leaf の方が, 有意に放出量が多いという結果になった ($p < 0.05$, t -test). 既往の研究において, スイートバジル葉に含まれている Eugenol は, 葉の着生位置によって変化することが知られており, 上位節

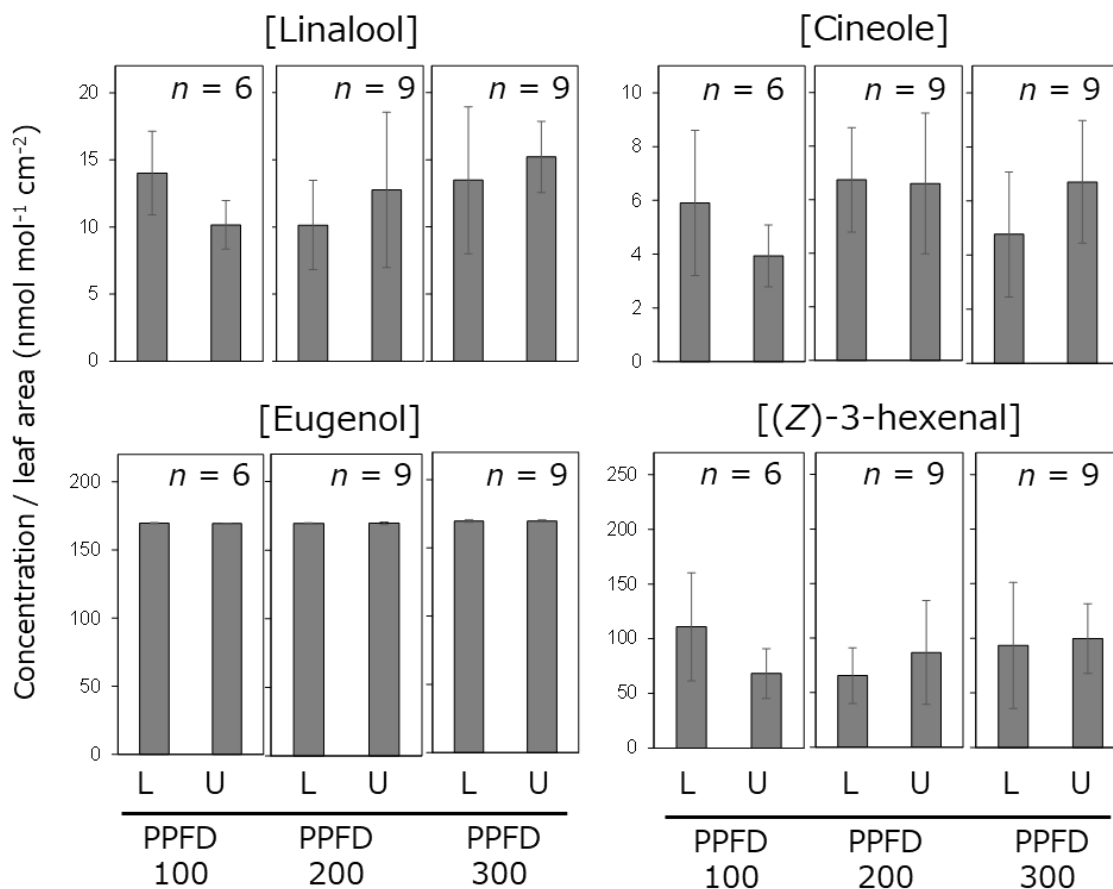


Figure 4-10: Difference in the emission of Linalool, Cineole, Eugenol, and (Z)-3-hexenal in Lower leaf(L) and Upper leaf(U). Bar indicates S.D.

葉よりも下位節葉の方が Eugenol の割合が多いことが報告されている(市村ら, 2008).

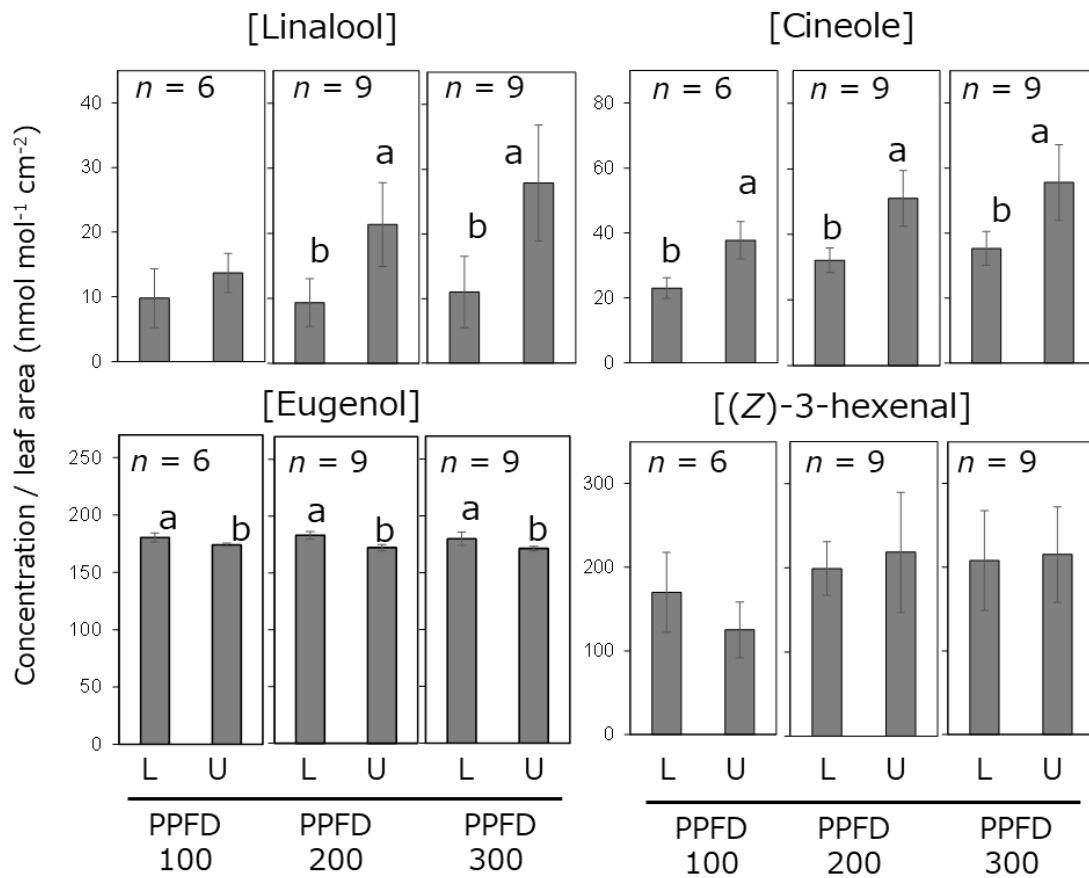


Figure 4-11: Difference in the emission of Linalool, Cineole, Eugenol, and (Z)-3-hexenal in Lower leaf(L) and Upper leaf(U). Bar indicates S.D. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, t -test).

4.6 VOC 放出量比較

Fig. 4-12 にスイートバジル(Lower leaf)から放出された VOC の単位葉面積当たりの放出量を示す. Whole leaf では, 3つの処理区で放出量に違いは確認されなかった. 一方で, Shredded leaf では, Cineole において PPFD100 の方が PPFD300 と比べて有意に放出量が小さいことが確認された($p < 0.05$, Tukey HSD).

Fig. 4-13 に, スイートバジル(Upper leaf)から放出された VOC の単位葉面積当たりの放出量を示す. Whole leaf の Linalool と Cineole において, PPFD100 の方が PPFD300 と比べて放出量が小さいことが確認された($p < 0.1$, Tukey HSD). 一方, Shredded leaf の Linalool と Cineole, (Z)-3-hexenal において, PPFD100 の方が PPFD300 と比べて有意に放出量が小さいことが確認された($p < 0.05$, Tukey HSD). また, Shredded leaf の Eugenol において PPFD100 と PPFD300 の間で有意傾向が確認され

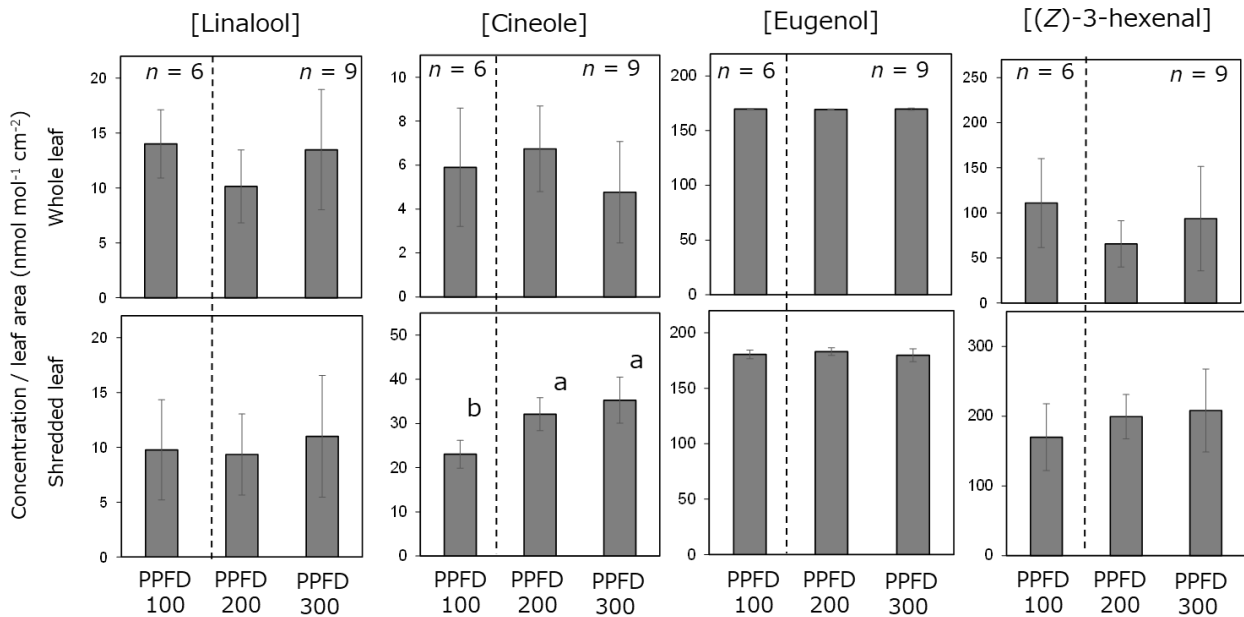


Figure 4-12: Difference in the emission of Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal among PPFD 300, 200, and 100(Whole leaf and shredded leaf) in lower leaf. Bar indicates S.D. Different letters indicate significant differences between the treatments ($p < 0.05$, Tukey HSD).

($p < 0.1$, Tukey HSD), PPFD100の方が放出量が多い傾向にあることが確認された。既往の研究から、光強度が強いほうが Linalool, Cineole の含量が多くなるということが報告されており (Chang et al., 2008), 本研究も同様の結果を示した。また、既往の研究で PPFD 100, 200, 400, 600 で栽培したスイートバジルを対象に VOC 解析を行った結果, Linalool, Cineole などは, 光強度の強さに比例して含量が増大しているが, 一方で, Eugenol に関しては, PPFD100の方が PPFD200や PPFD300よりも含量が多く, PPFD400以上で急激に含量が増大している (Walters et al., 2020)。本研究の結果も同様の結果を示しており, 弱光条件にすることで, Eugenol の放出量を増大させることが可能であると考えられる。Eugenol は, Coniferyl acetate が前駆体であり, Coniferyl acetate と Eugenol 合成酵素 (EGS) が反応することで生成される (Fig. 4-14, 飯島, 2014)。前駆体である Coniferyl acetate は, Isoeugenol の前駆体でもあり, Isoeugenol 合成酵素によって生成される。Eugenol が, Linalool や Cineole とは異なり, 弱光条件で放出量が増大したかを明らかにするためには, PPFD100, PPFD200, PPFD300 の光強度で栽培し, スイートバジル内の Eugenol, Isoeugenol の量と Eugenol 合成酵素, Isoeugenol 合成酵素の活性度を定量的に評価する必要があると考えられる。

これらの結果から, スイートバジルの代表的な匂い成分である Linalool, Cineole においては, 栽培期間における光強度を強くすることで放出量を増大させることが可能であり, Eugenol においては, 栽培期間における光強度を弱くすることで放出量を増大させることが可能であることが示唆された。したがって, 生産者が栽培期間中の光強度を適切に制御することで, スイートバジルの香りの品質 (= VOC の強度や比率) を制御可能であることを示唆していた。

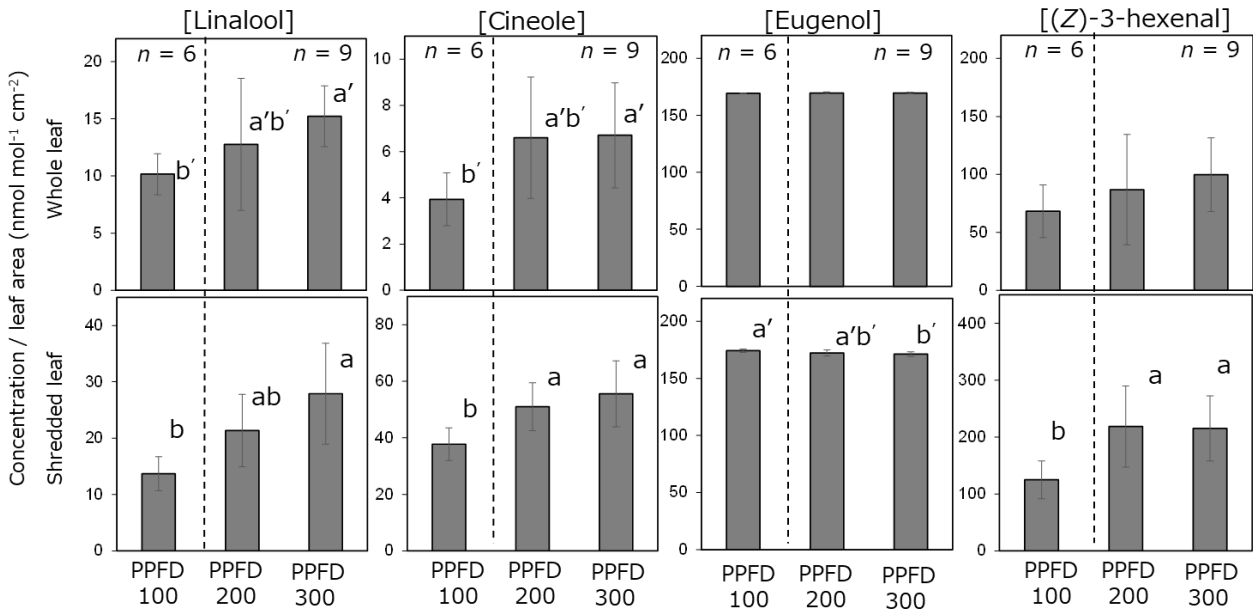


Figure 4-13: Difference in the emission of Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal among PPFD 300, 200, and 100(Whole leaf and shredded leaf) in upper leaf. Bar indicates S.D. Different letters indicate significant differences between the treatments ($p < 0.05$, Tukey HSD). a' and b' indicate marginally significant differences between the treatments($p < 0.1$, Tukey HSD).

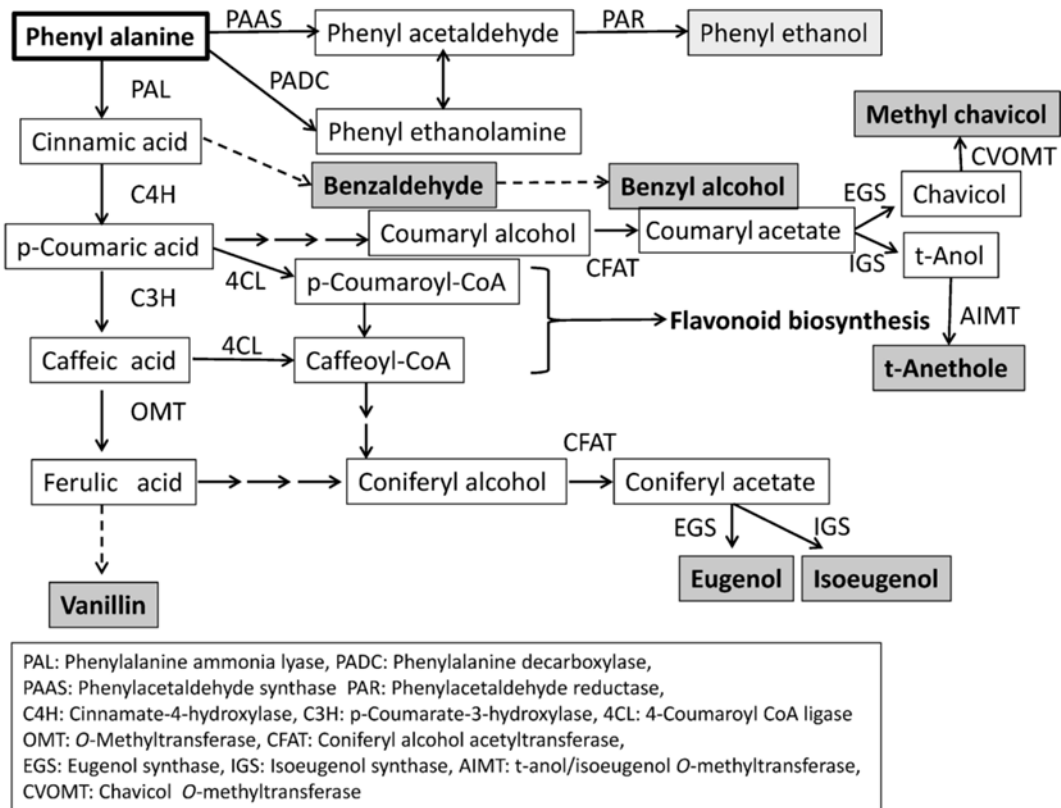


図-4 植物におけるフェノール系香気成分の生合成 (グレー色が香気成分)

Figure 4-14: Generation pathway of phenolic VOCs (飯島, 2014)

4.7 VOC 比率の比較

Table 4-1 に、Lower leaf の解析対象 VOC の比率を示す。Shredded leaf の Eugenol/Cineole の組み合わせにおいて、PPFD100 区と PPFD200,300 区の間で有意差が確認された ($p < 0.05$, Tukey HSD)。その他の組み合わせにおいては Whole leaf, Shredded leaf とともに、各処理区で有意差が確認されなかった。Lower leaf は、Upper leaf によって被陰されているため、Upper leaf に比べて光強度が弱い環境にある。そのため、各処理区で VOC の比率に違いがみられなかったと考えられる。

Table 4-2 に、Upper leaf の解析対象 VOC の比率を示す。Whole leaf の Eugenol/Linalool の組み合わせで、PPFD100 区と PPFD300 区の間で有意差が確認された。一方で、Shredded leaf においては、Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole, Eugenol/(Z)-3-hexenal, Cineole/Linalool の組み合わせにおいて、PPFD300 区と PPFD100 区の間で有意差を確認した ($p < 0.05$, Tukey HSD)。Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole, Eugenol/(Z)-3-hexenal の組み合わせにおいて、PPFD100 の方が PPFD300 よりも値が高い。つまり、Eugenol の割合が高いため、PPFD100 で栽培したスイートバジルは、Eugenol 特有のスパイシーな香りが強いスイートバジルであると考えられる。一方で、PPFD300 で栽培されたスイートバジルは、Eugenol の割

Table 4-1: The ratio of VOC emitted from sweet basil leaf (Whole leaf and Shredded leaf) in Lower leaf.

Compounds	Whole leaf (Avg ± S.D.)			Shredded leaf (Avg ± S.D.)		
	PPFD100	PPFD200	PPFD300	PPFD100	PPFD200	PPFD300
Eugenol/Linalool	12.7 ± 2.8	20.7 ± 13.6	14.9 ± 7.1	24.7 ± 14.1	22.6 ± 8.6	40.28 ± 65.1
Eugenol/Cineole	35.5 ± 15.2	29.4 ± 16.0	48.8 ± 31.3	7.9 ± 1.1 a	5.7 ± 0.8 b	5.2 ± 0.8 b
Eugenol/(Z)-3-hexenal	1.8 ± 0.7	5.2 ± 8.0	2.3 ± 0.9	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.2
Cineole/Linalool	0.05 ± 0.01	0.2 ± 0.06	0.06 ± 0.04	0.14 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.04
Cineole/(Z)-3-hexenal	0.41 ± 0.13	0.78 ± 0.53	0.39 ± 0.23	3.0 ± 1.5	3.89 ± 1.38	7.84 ± 13.1
Linalool/(Z)-3-hexenal	0.13 ± 0.02	0.18 ± 0.1	0.15 ± 0.03	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.02

Table 4-2: The ratio of VOC emitted from sweet basil leaf (Whole leaf and Shredded leaf) in Upper leaf. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, Tukey HSD).

Compounds	Whole leaf (Avg ± S.D.)			Shredded leaf (Avg ± S.D.)		
	PPFD100	PPFD200	PPFD300	PPFD100	PPFD200	PPFD300
Eugenol/Linalool	17.1 ± 2.8 a	15.1 ± 4.5 ab	11.1 ± 1.8 b	13.6 ± 4.4 a	8.7 ± 2.3 b	6.7 ± 2.0 b
Eugenol/Cineole	48.1 ± 18.0	35.8 ± 30.2	28.8 ± 11.1	4.7 ± 0.9 a	3.4 ± 0.4 b	3.2 ± 0.7 b
Eugenol/(Z)-3-hexenal	2.6 ± 0.6	2.3 ± 0.8	1.8 ± 0.4	1.4 ± 0.3 a	0.8 ± 0.2 b	0.8 ± 0.2 b
Cineole/Linalool	0.39 ± 0.13	0.54 ± 0.2	0.45 ± 0.17	2.82 ± 0.3 a	2.51 ± 0.56 ab	2.08 ± 0.37 b
Cineole/(Z)-3-hexenal	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.31 ± 0.07	0.24 ± 0.05	0.26 ± 0.03
Linalool/(Z)-3-hexenal	0.15 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.1 ± 0.02	0.13 ± 0.03

合が低いことから、Linalool や Cineole 特有の華やかな香りや爽やかな香りが特徴的であり、PPFD100 のスイートバジルと比較してマイルドなスイートバジルであると考えられる。Cineole/Linalool に着目すると、PPFD300 よりも PPFD100 の方が、値が高いことから、Cineole の割合が多いことがわかる。つまり、PPFD100 のスイートバジルは、PPFD300 と比較して、爽やかさが強いスイートバジルであると考えられる。

この結果から、Upper leaf において光強度を制御することで、VOC の比率を制御させることが可能であり、特に PPFD100 のスイートバジルは、スパイシーかつ爽やかな香りを有するスイートバジルであり、PPFD300 のスイートバジルは、マイルドな香りを有するスイートバジルであることが示唆された。香りの品質(≒VOC の強度や比率)を制御可能であることを示唆していた。

4.8 官能試験の結果

Fig. 4-15 に Lower leaf における官能試験の結果を示す。Lower leaf は、Shredded leaf の Cineole において、PPFD100 と PPFD300 の間で有意差があり、PPFD300 区の方が PPFD100 と比較して爽やかさが強いスイートバジルである。官能試験の結果では、PPFD300 の方が PPFD100 と比較して、爽快であると回答した人の割合が多い。これは、Cineole の含有量の違いによるものであると考えられる。また、今回の被験者においては、爽やかさが強いスイートバジルの方が美味しいと回答した人の割合が多いことを確認した。一方で、Cineole の量が少ない PPFD100 は、PPFD300 と比較して芳醇と感じており、美味しくないと感じた人の割合が多いことを確認した。

Fig. 4-16 に、Upper leaf における官能試験の結果を示す。Upper leaf は、Shredded leaf の Linalool, Cineole において、PPFD100 よりも PPFD300 の方が、有意に放出量が多いことを確認した。Linalool はフローラルな香り、Cineole は爽やかな香りが特徴的であり、「華やか」、「爽快」という項目において、PPFD100 よりも PPFD300 のスイートバジルの方が華やかである、爽快であると回答した人の割合が多いことを確認した。これは、Linalool, Cineole の含有量の違いによって、人が知覚している香りの違いを示すものである。一方で、Eugenol は、PPFD100 の方が PPFD300 よりも放出量が多かったにも関わらず、官能試験では、PPFD100 よりも PPFD300 の方がスパイシーと感じている人が多い結果となった。また、PPFD100 のスイートバジルの方が、PPFD300 のスイートバジルと比較して好きと回答した人の割合が多い。このことから、必ずしも VOC の放出量が多ければ多いほど、消費者の好みに合っているものではないということが示唆された。

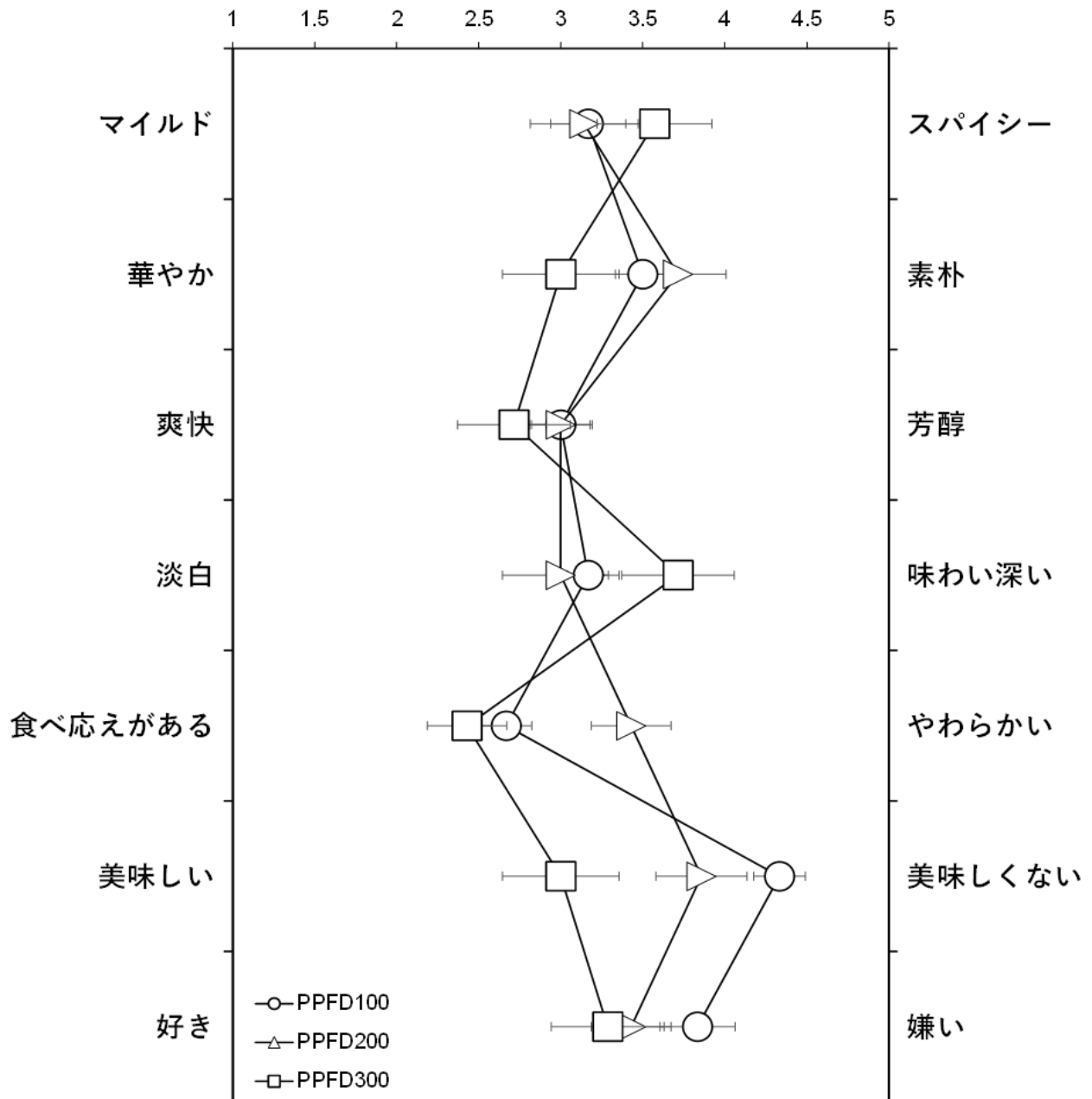


Figure 4-15: The result of sensory evaluation of sweet basil in Lower leaf.

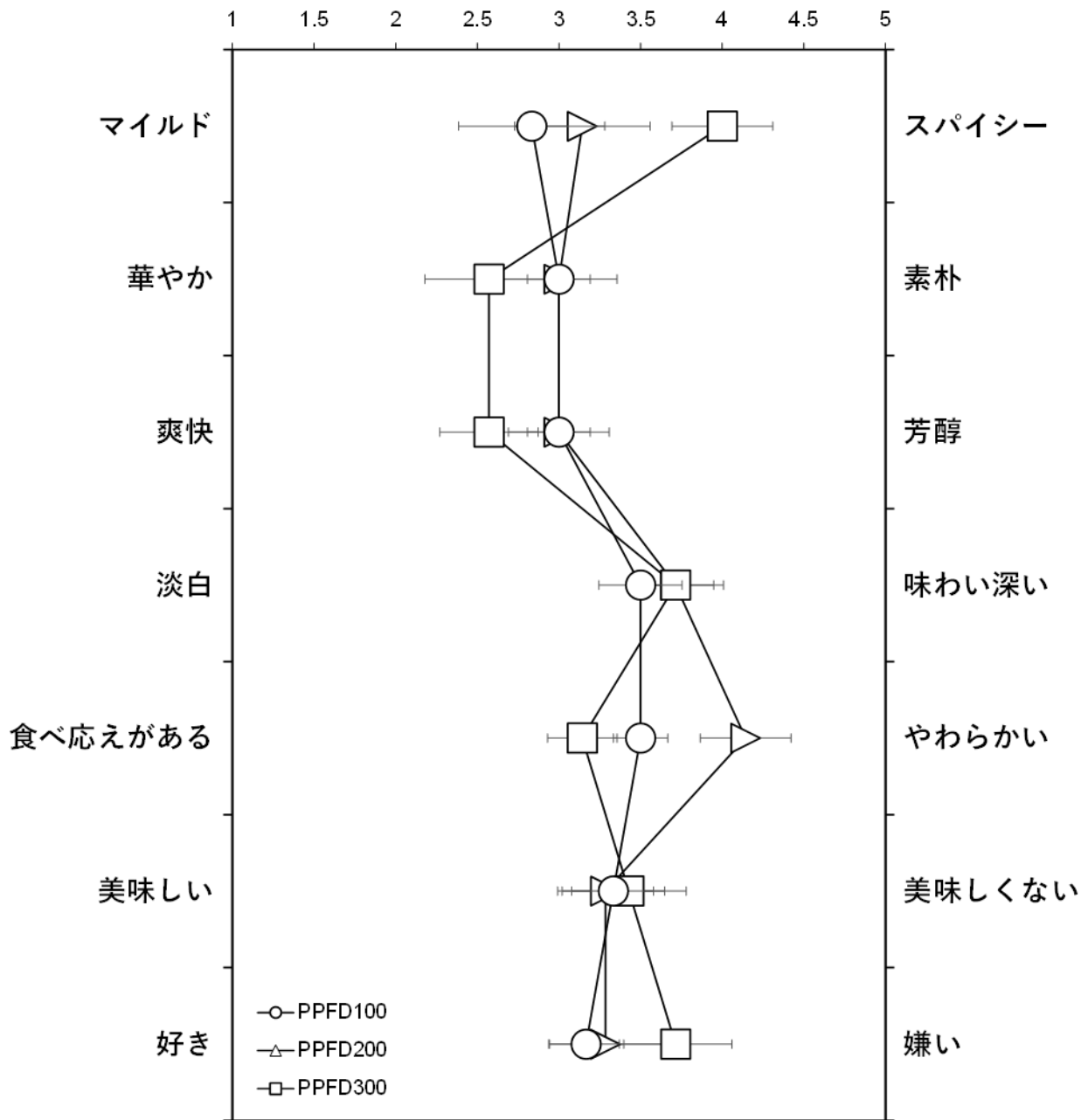


Figure 4-16: The result of sensory evaluation of sweet basil in Upper leaf.

4.9 本章のまとめ

本章では、PPFD100, PPFD200, PPFD300 の光強度で栽培されたスイートバジルを対象に、GC-SAW を用いて VOC 計測を行い、スイートバジルが放出する VOC 放出量と VOC 比率を比較した。

本実験では、スイートバジルの代表的な VOC である Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal を計測対象とした。パーミエーターを用いて、計測対象 VOC の標準

物質を気化させ、GC-SAW で計測し、検量線を作成した。揮発前の標準物質の質量と揮発後の質量を計測することで、濃度を算出した。各計測対象 VOC のピーク面積が、濃度に対して線形で比例していることを確認した。スイートバジルの計測は、Whole leaf と Shredded leaf の状態で計測を行った。その結果、細断処理によって、計測対象 VOC の放出量が増大していることを確認した。これは、細断処理によってスイートバジルのトライコーム内に蓄積されていた Linalool, Cineole, Eugenol が、急激に放出されたためである。

Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量の比較を行った。Whole leaf の状態では、各処理区の Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal で放出量に違いは確認されなかった。一方で、Shredded leaf においては、PPFD200, PPFD300 区の Linalool, PPFD100, PPFD200, PPFD300 区の Cineole において、Lower leaf よりも Upper leaf の方が、有意に放出量が多いことを確認した。これは、Upper leaf の方が Lower leaf よりも光強度が強い環境下で栽培されているため、トライコーム内に蓄積された VOC 量が多くなった結果である。しかし、Eugenol に関しては、Upper leaf よりも Lower leaf の方が、有意に放出量が多く、Linalool や Cineole とは反対の傾向を示した。先行研究において、上位節葉よりも下位節葉の方が、Eugenol の割合が高いことが報告されており(市村ら, 2008), 本研究の結果と一致する。また、PPFD100, PPFD200, PPFD400 で栽培したスイートバジルを対象に行った結果では、PPFD100 の方が、PPFD200 や PPFD300 よりも Eugenol の含量が多く、PPFD400 以上で急激に含量が増大することが報告されている(Walters et al., 2020)。先行研究と本研究の結果を踏まえると、Eugenol は、光強度に比例して放出量が増減する物質ではないということが示唆された。

次に、PPFD100, PPFD200, PPFD300 区の各 VOC 比率を算出し、比較した。Lower leaf の Shredded leaf では、Eugenol/Cineole の組み合わせにおいて、PPFD100 区と PPFD200,300 区の間で有意差を確認した。その他の組み合わせにおいては、各処理区で有意差はなく、数値的な違いは見られなかった。Upper leaf の Whole leaf では、Eugenol/Linalool の組み合わせだけ PPFD100 区と PPFD300 区の間で有意差が確認されたが、Shredded leaf では、Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole, Eugenol/(Z)-3-hexenal, Cineole/Linalool の組み合わせにおいて、PPFD100 区と PPFD300 区の間で有意差を確認した。PPFD100 の方が Eugenol の割合が高く、刺激的な香りが強いスイートバジルであると考えられる。また、Cineole/Linalool では、PPFD100 区の方が PPFD300 区よりも値が高いことから、Cineole の割合が高く、爽やかさが強いスイートバジルである。一方で、PPFD300 区のスイートバジルは、刺激的な香りや爽やかさが控えめであることから、マイルドなスイートバジルであると考えられる。

PPFD100, PPFD200, PPFD300 のスイートバジルを対象に官能試験を行った結果、Lower leaf では、Cineole の放出量が多い PPFD300 区のスイートバジルの方が PPFD100 のスイートバジルよりも爽快であると回答した人の割合が多く、Cineole の放出量の違いが、人が知覚している爽やかさに影響していることを示した。Upper

leaf では、Linalool や Cineole の放出量が多い PPF300 区のスイートバジルの方が PPF100 のスイートバジルよりも「華やか」、「爽快」であると回答した人の割合が多く、Lower leaf の結果と同様に放出量の違いが、人の知覚している華やかさや爽やかさに影響しているものであると考えられる。一方で、Eugenol に関しては、PPF100 の方が PPF300 よりも放出量が多かったにもかかわらず、PPF300 の方がスパイシーであるという結果であった。

以上の結果より、栽培期間における光強度を制御することで、スイートバジルの VOC 放出量と VOC 比率を制御することが可能であることが示唆された。生産者が適切に栽培期間における光強度を制御することで、多種多様な香りを有するスイートバジルを生産することが可能であり、消費者のニーズに応えることが可能となる。

引用文献

Chang, X., Alderson, P.G., Wright, C.J., 2008. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. *Environmental and Experimental Botany*. 63 (1-3): pp. 216-223

Fall, R., Karl, T., Hansel, A., Jordan, A. and Lindinger, W., 1999. Volatile organic compounds emitted after leaf wounding: On-line analysis by proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Journal of Geophysical Research*, 140: pp. 15963-15974.

Liber, Z., Carović-Stanko, K., Politeoc, O, Strikić, F., Kolak, I., Milos, M, Satovic, Z. 2011. Chemical Characterization and Genetic Relationships among *Ocimum basilicum* L. Cultivars. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*. 8: pp. 1978-1989.

Walters, K.J.; Lopez, R.G., Behe, B.K., 2021. Leveraging Controlled-Environment Agriculture to Increase Key Basil Terpenoid and Phenylpropanoid Concentrations: The Effects of Radiation Intensity and CO2 Concentration on Consumer Preference. *Frontiers in Plant Science*, 11: 598519

市村匡史, 野口有里紗, 木村正典. 2008. スイートバジルの葉の着生位置による VOC および精油成分の変化. *東京農業大学農学集報*, 53(2): pp. 91-95.

飯島陽子. 2014. 香辛料・ハーブとその香り～香気生成メカニズムとその蓄積. *におい・かおり環境学会誌*, 45(2): pp. 132-142.

第 5 章 異なる貯蔵方法で貯蔵されたスイートバジルの VOC 解析

5.1 葉面積比較

Fig. 5-1 に、Control 区と farmbox®区のスィートバジルの葉面積を示す。各処理区で、Lower leaf と Upper leaf に大きな違いは確認されなかった。farmbox®で一週間貯蔵しても、葉の大きさは、既存の冷蔵貯蔵(Refrigerator)と同等の大きさであった。

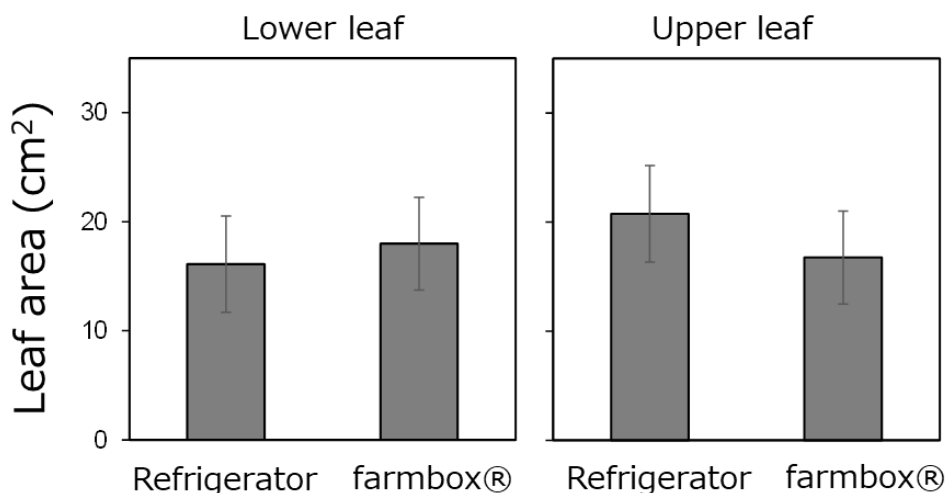


Figure 5-1: Leaf area of sweet basil leaf in Control and farmbox® treatment.

5.2 Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量比較

前述した閉鎖型 VOC 計測システムを用いてスィートバジル葉が放出する VOC を計測・解析を行った。スィートバジル葉を Whole leaf および Shredded leaf の状態でそれぞれ小型攪拌機構の上に静置し、10分静置した後、GC-SAW で計測した。

Fig. 5-2 にスィートバジルから得られたクロマトグラムを示す。スィートバジルの代表的な VOC である Linalool, Cineole, Eugenol(Liber et al., 2011)ならびに植物細胞内に含まれる α -リノレン酸の酸化分解によって生成される(Z)-3-hexenal を検出した(Fall et al., 1999)。また、細断処理によって全ての計測対象 VOC 放出量が増大していることを確認した。

Fig. 5-3 に、冷蔵庫で貯蔵したスィートバジルの Lower leaf と Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量の結果を示す。Lower leaf では、Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal において、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が有意に多いことを確認した($p < 0.05$, t -test)。Upper leaf においては、Cineole, (Z)-3-hexenal において、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が有意に多いことを確認した($p < 0.05$, t -test)。この結果は、細断処理によってトライコーム内に蓄積

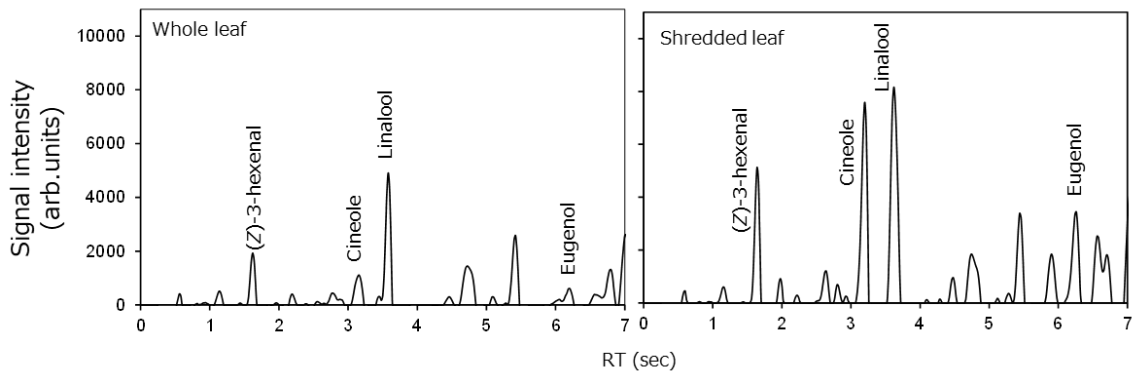


Figure 5-2: Chromatogram of whole leaf and shredded leaf of sweet basil(farmbox® treatment) with GC-SAW.

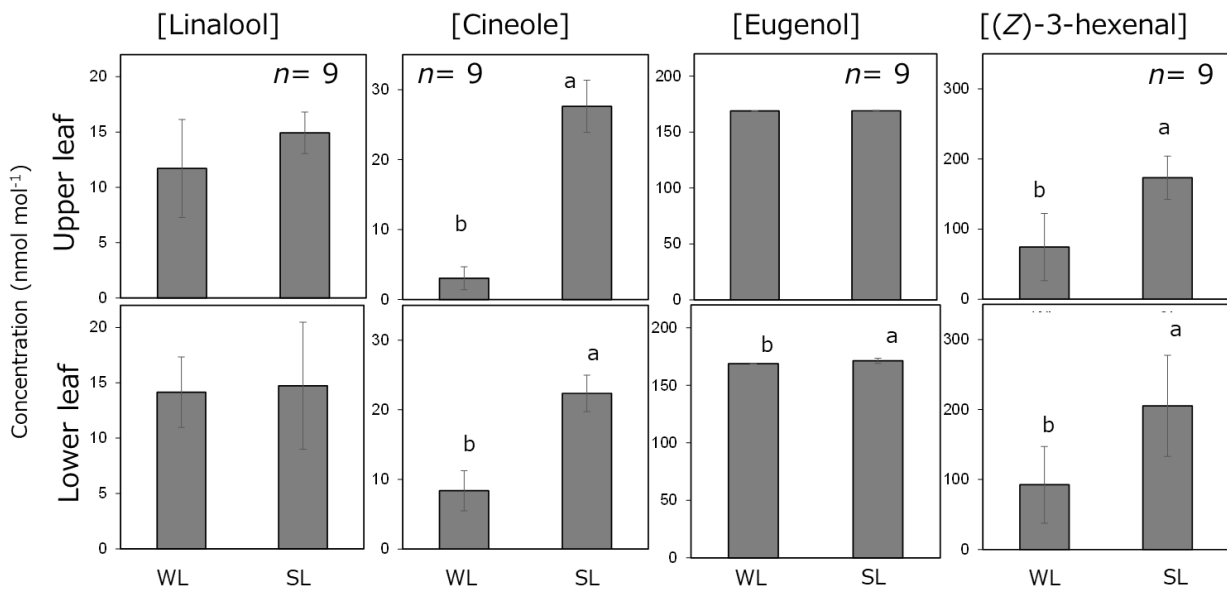


Figure 5-3: The emission of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf and Upper leaf of refrigerator treatment. Bar indicates S.D. Different letters indicate significant differences between the treatments ($p < 0.05$, t -test).

されていた VOC が大量に放出したためである。また、Linalool においては、細断処理を行っても放出量に有意差が確認されなかったことから、トライコーム内の蓄積量が少ない状態であったと考えられる。

Fig. 5-4 に、farmbox®で貯蔵したスイートバジルの Lower leaf と Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量の結果を示す。Lower leaf では、Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal において、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が有意に多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。Upper leaf においては、Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal において、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が放出量が有意に多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。この結果は、冷蔵区の結果と同様に、細断処理によってトライコーム内に蓄積されていた VOC が大量に放出したためである。しかし、Upper leaf において、冷蔵区の Linalool, Eugenol において、

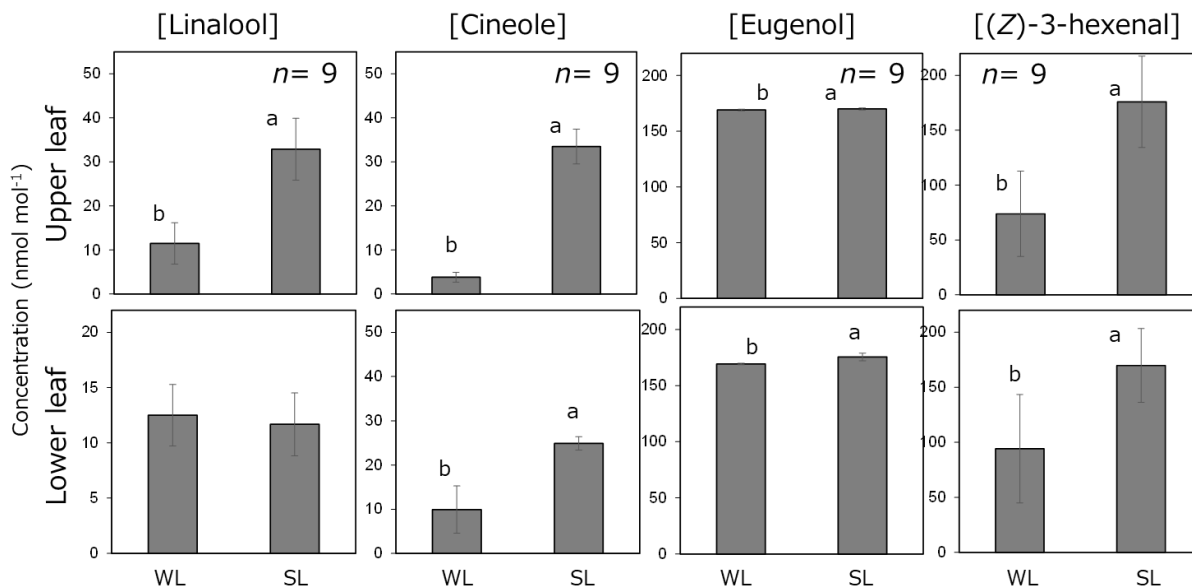


Figure 5-4: The emission of VOCs emitted from whole leaf and shredded leaf of sweet basil in Lower leaf and Upper leaf of farmbox® treatment. Bar indicates S.D. Different letters indicate significant differences between the treatments ($p < 0.05$, t -test).

放出量に有意差が確認されなかったにもかかわらず， farmbox®区では， Linalool, Eugenol で放出量に有意差が生じている．これは， farmbox®の局所的な光照射によって，貯蔵期間中にトライコーム内に， Linalool, Eugenol が蓄積され続けたためであると考えられる．このことから，光の影響を受けやすい Upper leaf において farmbox®は， Linalool, Eugenol の放出量を高く保つことが可能な貯蔵システムであることが示唆された．

5.3 Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量比較

Fig. 5-5 に，冷蔵貯蔵されたスイートバジルの Whole leaf と Shredded leaf における Lower leaf と Upper leaf の放出量の結果を示す．Whole leaf の Cineole において， Lower leaf の方が Upper leaf よりも有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)．一方で， Shredded leaf の Cineole においては， Lower leaf よりも Upper leaf の方が有意に放出量が多く ($p < 0.05$, t -test)， Eugenol においては， Upper leaf よりも Lower leaf の方が有意に放出量が多いことを確認した．まず， Whole leaf の Cineole において， Lower leaf の方が放出量が多いのは， Upper leaf と比較して古いことから，放出する際の抵抗が弱く，放出量が多くなったと考えられる． Whole leaf の状態で放出量が多くなったことから，トライコーム内に蓄積されていた量が少なくなったと考えられるため， Shredded leaf においては， Lower leaf よりも Upper leaf の方が放出量が多くなったと考えられる． Shredded leaf の Eugenol に関しては， Upper leaf よりも Lower leaf の方が栽培期間が長いために，トライコーム内の蓄積量が多いことと， Whole leaf の状態で Lower leaf も Upper leaf も放出量が変わらないこと

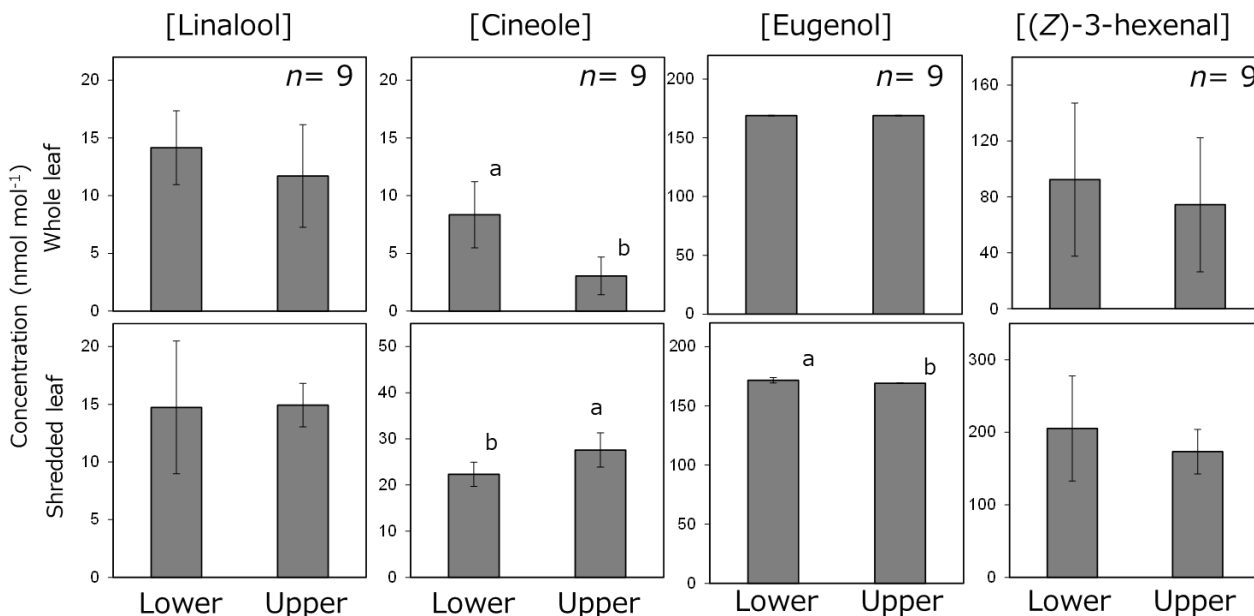


Figure 5-5: The emission of VOCs emitted from sweet basil in Lower leaf and Upper leaf of refrigerator treatment. Bar indicates S.D. Different letters indicate significant differences between the treatments ($p < 0.05$, t -test).

から、トライコーム内に蓄積されている量として、Lower leafの方が多くなったため、細断したときに放出量が多くなったと考えられる。

Fig. 5-6 に、farmbox®で貯蔵されたスイートバジルの Whole leaf と Shredded leaf における Lower leaf と Upper leaf の放出量の結果を示す。Whole leaf の Cineole において、Lower leaf の方が Upper leaf よりも有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。一方で、Shredded leaf の Linalool, Cineole においては、Lower leaf よりも Upper leaf の方が有意に放出量が多く ($p < 0.05$, t -test)、Eugenol においては、冷蔵貯蔵区と同様に Upper leaf よりも Lower leaf の方が有意に放出量が多いことを確認した。Whole leaf の Cineole に関しては、冷蔵貯蔵区と同様に Lower leaf が Upper leaf よりも古いため、抵抗が弱くなった結果放出量が多いと考えられる。しかし、給液や局所的な光照射を行っていることから、生育は維持されていると考えられ、冷蔵貯蔵区と同程度の劣化とは考えにくい。Cineole は、計測対象 VOC の中でも、蒸気圧が高く他の物質に比べて揮発しやすい物質である。そのため、軽微な劣化や損傷によって放出する際の抵抗が小さくなることで、放出量が増大したと考えられる。Shredded leaf の Cineole に関しては、Whole leaf の状態で Lower leaf の方が Upper leaf よりも放出量が多いことから、Lower leaf のトライコーム内に蓄積されている量が減少し、Lower leaf よりも Upper leaf の方が有意に放出量が多くなったと考えられる。Shredded leaf の Eugenol においては、冷蔵貯蔵区と同様に、Upper leaf よりも Lower leaf の方が栽培期間が長いために、トライコーム内の蓄積量が多いことと、Whole leaf の状態で Lower leaf も Upper leaf も放出量が変わらないことから、トライコーム内に蓄積されている量として、Lower leaf の方が多くなったため、細断したときに放出量が多くなったと考えられる。Shredded leaf の

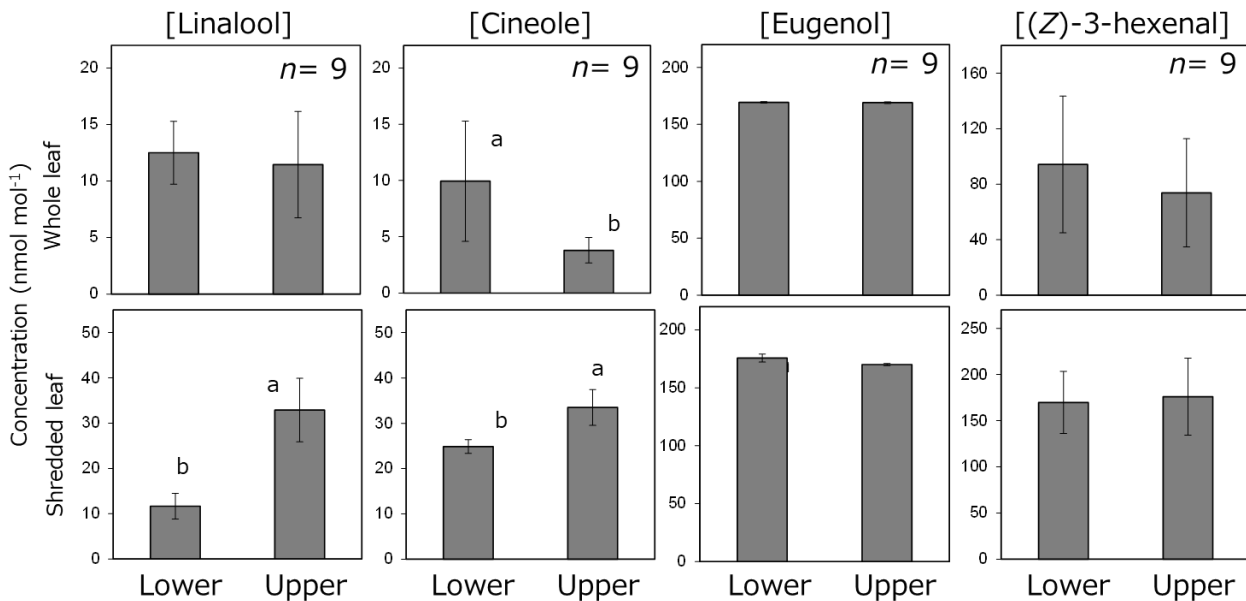


Figure 5-6: The emission of VOCs emitted from sweet basil in Lower leaf and Upper leaf of farmbox® treatment. Bar indicates S.D. Different letters indicate significant differences between the treatments ($p < 0.05$, t -test).

Linalool に関しては、冷蔵貯蔵区とは異なり、Lower leaf よりも Upper leaf の方が放出量が多い。これは、farmbox®の局所的な光照射によって、貯蔵期間中にトライコーム内に蓄積され続けたためと考えられる。

5.4 VOC 放出量比較

Fig. 5-7 に、Lower leaf における farmbox®で貯蔵したスイートバジルと既存の冷蔵庫で貯蔵したスイートバジル VOC 放出量の比較を示す。Whole leaf においては、Control 区と farmbox®区の VOC 放出量の違いは確認されなかった。一方で、Shredded leaf の Cineole, Eugenol において既存の冷蔵貯蔵である Control 区よりも新規の貯蔵方法である farmbox®区の方が有意に放出量が多いという結果になった。これは、farmbox®による局所的な光照射によって、貯蔵期間中も VOC が合成され続けトライコーム内に蓄積していったためと考えられる。一方で、Shredded leaf の Linalool に関しては、放出量に差が確認されなかった。これは、スイートバジルの上部から光照射を行っているために、Lower leaf は Upper leaf よりも光強度が弱い。そのため、貯蔵期間中の Linalool の生成量が少なくなり、トライコーム内の蓄積量に差が生じず、細断処理を行っても、冷蔵貯蔵区と放出量に差が確認されなかったと考えられる。

Fig. 5-8 に、Upper leaf における farmbox®で貯蔵したスイートバジルと既存の冷蔵庫で貯蔵したスイートバジル VOC 放出量の比較を示す。Whole leaf においては、Control 区と farmbox®区の VOC 放出量の違いは確認されなかった。一方で、Shredded leaf の Linalool, Cineole, Eugenol において Control 区よりも farmbox®区の方が有意

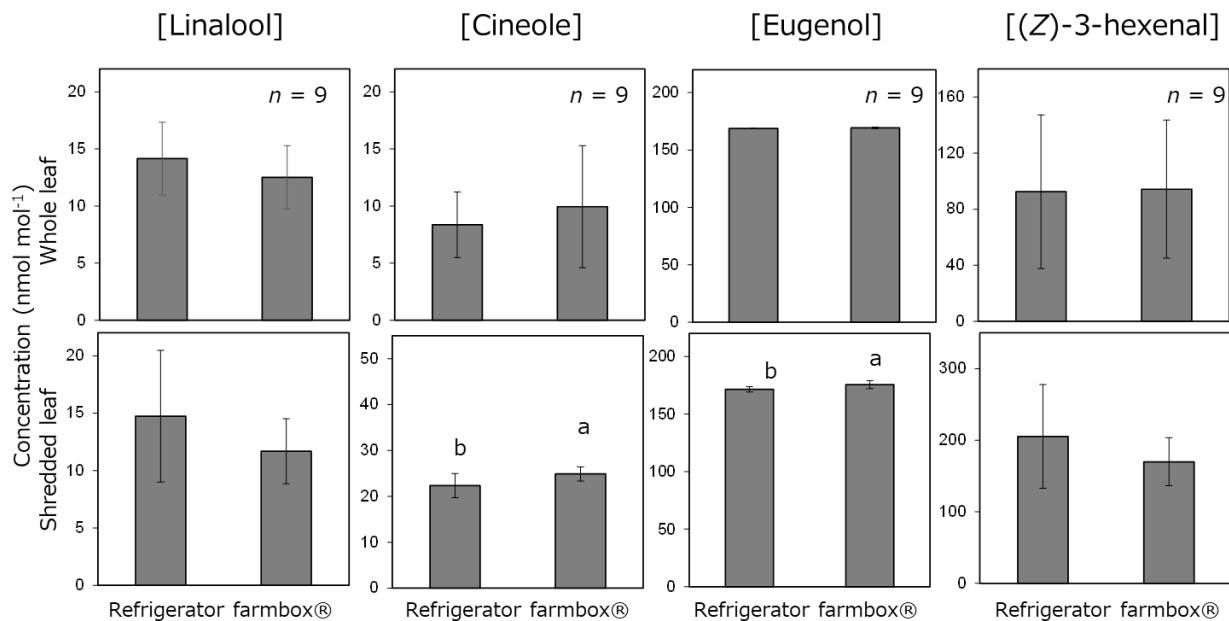


Figure 5-7: The emission of VOCs emitted from sweet basil in Lower leaf of refrigerator and farmbox® treatment. a and b indicate significant difference between refrigerator and farmbox® treatment ($p < 0.05$, t -test)

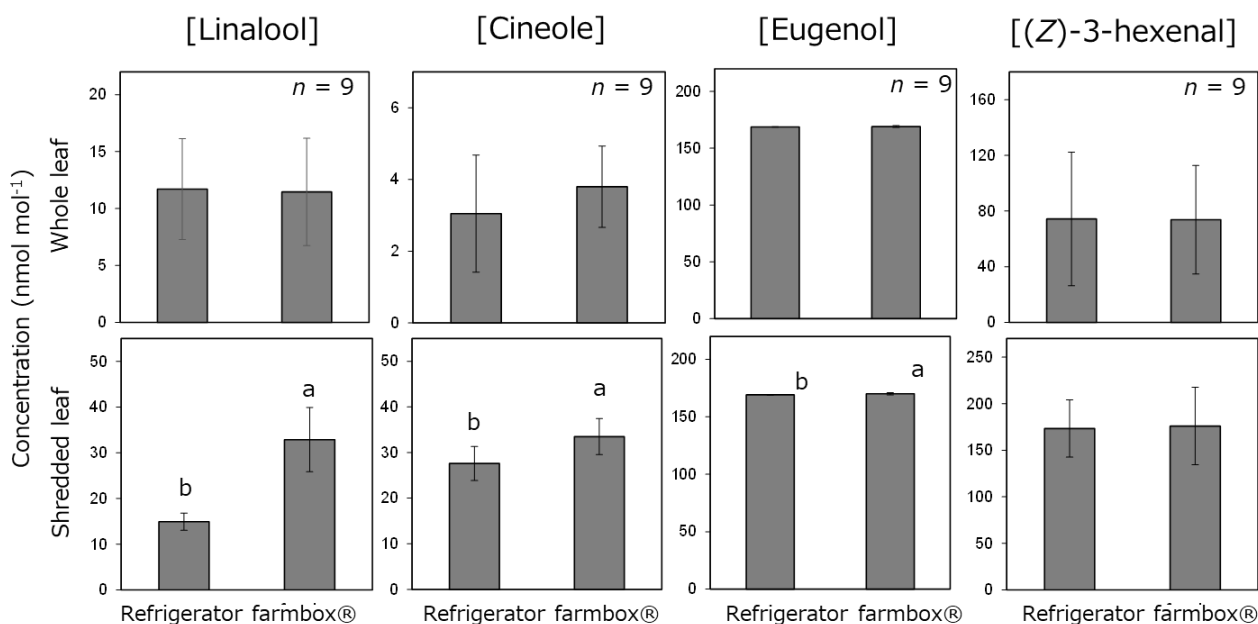


Figure 5-8: The emission of VOCs emitted from sweet basil in Upper leaf of control and farmbox® treatment. a and b indicate significant difference between control and farmbox® treatment ($p < 0.05$, t -test).

に放出量が多いという結果になった。farmbox®は、植物が光合成するために必要な光を植物体上部から照射しており、既存の冷蔵貯蔵されているスイートバジルよりも光強度が高い環境下で貯蔵されていると考えられる。基本的には、光が植物のVOC合成にポジティブに影響するため(Peñuelas and Llusia, 2001), farmbox®の局所的な光照射によって、スイートバジルに含まれているVOCが高く保持されている

と考えられる。このことから、farmbox®は既存の貯蔵方法よりも香りを高く保持することが可能な貯蔵方法であることが示唆された。

5.5 VOC 比率の比較

Table 5-1 に Lower leaf における各 VOC 放出量の比率を示す。Whole leaf では各 VOC の比率に違いは確認されなかったが、Shredded leaf における Eugenol/Cineole の組み合わせにおいて有意傾向を確認し ($p < 0.1$, t -test), Cineole/(Z)-3-hexenal において有意差が確認された ($p < 0.05$, t -test)。Cineole/(Z)-3-hexenal の組み合わせにおいて、farmbox®区の方が冷蔵貯蔵区よりも値が高く、Cineole の割合が多くなっている。Cineole は、爽やかな香りが特徴的であることから、farmbox®区の方が冷蔵貯蔵区よりも爽やかな香りが強いスイートバジルであると考えられる。この結果から、Lower leaf において、farmbox®で貯蔵することで、既存の冷蔵方法よりも爽やかな香りが強いスイートバジルを提供可能であると考えられる。これは、スイートバジルの Lower leaf において、新しい貯蔵システムである farmbox®が、既往の貯蔵方法と比較して異なる香りを有するスイートバジルを消費者に提供可能な貯蔵システムであることを示している。

Table 5-2 に Upper leaf における各 VOC 放出量の比率を示す。Whole leaf では、各 VOC 放出量の比率に違いは確認されなかった。一方で、Shredded leaf においては、Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole, Cineole/Linalool, Linalool/(Z)-3-hexenal の組み合わせにおいて有意差を確認した ($p < 0.05$, t -test)。Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole に関しては、farmbox®区よりも冷蔵区のスイートバジルの方が、値が高いことを確認した。これは、冷蔵区のスイートバジルよりも farmbox®区のスイートバジルの Linalool と Cineole の放出量が多かったためであると推察される。

Table 5-1: The ratio of VOCs emitted from sweet basil in Lower leaf of control and farmbox® treatment. a and b indicate significant difference between control and farmbox® treatment ($p < 0.05$, t -test). a' and b' marginally significant differences between control and farmbox® treatment ($p < 0.1$, t -test).

Compounds	Whole leaf (Avg ± S.D.)		Shredded leaf (Avg ± S.D.)	
	Refrigerator	farmbox®	Refrigerator	farmbox®
Eugenol/Linalool	12.5 ± 2.8	14.1 ± 2.8	13.7 ± 5.6	16.3 ± 5.6
Eugenol/Cineole	23.1 ± 9.0	20.7 ± 8.8	7.7 ± 0.8 a'	7.0 ± 0.4 b'
Eugenol/(Z)-3-hexenal	2.4 ± 1.2	2.2 ± 0.9	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.2
Cineole/Linalool	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.3
Cineole/(Z)-3-hexenal	0.9 ± 0.5	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.2 b	1.1 ± 0.2 a
Linalool/(Z)-3-hexenal	4.2 ± 1.6	3.5 ± 1.3	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.3

Table 5-2: The ratio of VOCs emitted from sweet basil in Upper leaf of control and farmbox® treatment. a and b indicate significant difference between control and farmbox® treatment ($p < 0.05$, t -test).

Compounds	Whole leaf (Avg ± S.D.)		Shredded leaf (Avg ± S.D.)	
	Refrigerator	farmbox®	Refrigerator	farmbox®
Eugenol/Linalool	16.4 ± 5.6	17.4 ± 7.2	11.5 ± 1.5 a	5.4 ± 1.0 b
Eugenol/Cineole	86.6 ± 69.4	48.8 ± 15.1	6.2 ± 0.9 a	5.1 ± 0.6 b
Eugenol/(Z)-3-hexenal	3.1 ± 1.5	3.4 ± 2.6	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.2
Cineole/Linalool	0.09 ± 0.04	0.1 ± 0.03	0.6 ± 0.1 a	0.3 ± 0.07 b
Cineole/(Z)-3-hexenal	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.3	1.2 ± 0.2	1.5 ± 0.5
Linalool/(Z)-3-hexenal	4.1 ± 0.9	4.0 ± 1.7	2.0 ± 0.4 b	4.4 ± 1.5 a

Cineole/Linalool に関しては、farmbox®区よりも冷蔵貯蔵の方が、値が高いことを確認した。これは、冷蔵貯蔵区と farmbox®区の Linalool の放出量の違いによって生じたものであり、冷蔵貯蔵区は、爽やかな香りが強いスイートバジルであるのに対して、farmbox®区は、爽やかさだけでなくフローラルな香りも強いスイートバジルであることが示唆されている。

これは、スイートバジルの Upper leaf において、新しい貯蔵システムである farmbox®が、既往の貯蔵方法と比較して異なる香りを有するスイートバジルを消費者に提供可能な貯蔵システムであることを示している。

本研究の結果から、VOC の放出量という観点において farmbox®は、スイートバジルの Lower leaf, Upper leaf 共に既存の冷蔵貯蔵よりも香りを高く保持することが可能な貯蔵システムであるということが示唆された。さらに、VOC の比率(≒香りの質)という観点において farmbox®は、Lower leaf, Upper leaf 共に既存の貯蔵方法と比較して有意差が確認されたことから、異なる香りを有するスイートバジルを消費者に提供可能な貯蔵システムであるということが示唆された。また、Lower leaf と Upper leaf で、有意差が確認された VOC の組み合わせが異なることから、Lower leaf と Upper leaf の香りが異なることが考えられる。

5.6 本章のまとめ

本章では、スイートバジルを 23 日間栽培したあと、株式会社ファームシップが開発した店頭生育維持システム farmbox®で一週間貯蔵したスイートバジルと既存の冷蔵貯蔵で貯蔵したスイートバジルを対象に GC-SAW を用いた閉鎖型 VOC 計測システムで VOC 計測を行い、VOC 放出量と比率を比較した。

冷蔵貯蔵で貯蔵したスイートバジルと farmbox®で貯蔵したスイートバジルの葉面積に違いはないことから、farmbox®の植物体上部からの局所的な光照射と給液は、スイートバジルを成長させるものではなく、生育状態を維持している程度であるこ

とを確認した。Lower leaf と Upper leaf における Whole leaf と Shredded leaf の VOC 放出量を比較すると、冷蔵貯蔵区では、Lower leaf の Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal, Upper leaf の Cineole, (Z)-3-hexenal において、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が、有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。一方で、farmbox®区では Lower leaf の Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal, Upper leaf の Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal において、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が、有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。Upper leaf では、冷蔵貯蔵区で Linalool, Eugenol に細断処理による放出量の違いは確認されなかったが、farmbox®区では、Linalool, Eugenol に細断処理による放出量の違いを確認した。これは、farmbox®で貯蔵中に局所的な光照射によって、スイートバジルのトライコーム内に Linalool, Eugenol が蓄積され続けたためであると考えられる。

次に、冷蔵貯蔵区の Whole leaf と Shredded leaf における Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量を比較した。Whole leaf の Cineole において、Upper leaf よりも Lower leaf の方が、有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。しかし、Shredded leaf の Cineole では、Lower leaf よりも Upper leaf の方が、有意に放出量が多い ($p < 0.05$, t -test)。Whole leaf では、Lower leaf の方が Upper leaf と比較して、古い葉であるため、VOC を放出する際の抵抗が弱くなっており、放出量が増大したと考えられる。Whole leaf の状態で放出量が増大したために、トライコーム内に蓄積されていた Cineole の量が減少したことによって、Shredded leaf では、Upper leaf の方が Lower leaf よりも Cineole の放出量が増大したと考えられる。一方で、Shredded leaf の Eugenol は、Upper leaf よりも Lower leaf の方が、有意に放出量が多いことを確認した。これは、Lower leaf の方が Upper leaf と比較して栽培期間が長いために、トライコーム内に蓄積された総量が多いことと Eugenol の蒸気圧が低いために Whole leaf の状態で放出されにくいことから、Lower leaf の方が、放出量が多くなったと考えられる。farmbox®区の Whole leaf と Shredded leaf における Lower leaf と Upper leaf の VOC 放出量を比較した結果、Whole leaf の Cineole において、Upper leaf よりも Lower leaf の方が、有意に放出量が多いことを確認した。これは、冷蔵区の結果と同様、Lower leaf の方が、Upper leaf に比べて古い葉であるために放出する際の抵抗が弱くなり、放出量が増大していると考えられる。しかし、farmbox®による局所的な光照射と給液によって生育は維持されているため、冷蔵貯蔵区と同程度の劣化とは考えにくく、軽微な劣化であると考えられる。Cineole は、他の計測対象 VOC と比較して蒸気圧が高いことから、揮発しやすい物質である。したがって、軽微な劣化によって抵抗が弱くなることと Cineole が揮発しやすい物質であったために、Lower leaf の放出量が増大したと考えられる。

次に、Lower leaf と Upper leaf における冷蔵貯蔵区と farmbox®区の VOC 放出量の比較を行った。Lower leaf では、Shredded leaf の Cineole, Eugenol において、冷蔵貯蔵区よりも farmbox®区の方が、有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。これは、farmbox®の特徴である植物体上部からの局所的な光照射と給液に

よって、生育が維持され、貯蔵期間も Cineole や Eugenol がトライコーム内に蓄積され続けたためであると考えられる。Upper leaf では、Shredded leaf の Linalool, Cineole, Eugenol において、冷蔵貯蔵区よりも farmbox®区の方が、有意に放出量が多いことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。これは、Lower leaf の結果と同様に、植物体上部からの局所的な光照射と給液によって、生育が維持され貯蔵期間中に各 VOC がトライコーム内に蓄積され続けたためであると考えられる。しかし、Lower leaf とは異なり、Upper leaf では、Linalool の放出量も増大している。これは、Lower leaf と比較して Upper leaf の方が、光強度が強い環境下で貯蔵されているために、貯蔵期間中の蓄積量に差が生じたと考えられる。

次に、Lower leaf と Upper leaf における冷蔵貯蔵区と farmbox®区のスィートバジルの VOC 比率を比較した。Lower leaf における Whole leaf では、各 VOC 比率に違いは確認されなかった。一方で、Shredded leaf における Eugenol/Cineole で有意傾向が確認され ($p < 0.1$, t -test)、Cineole/(Z)-3-hexenal において有意差が確認された ($p < 0.05$, t -test)。このことから、冷蔵貯蔵区と比較して farmbox®区のスィートバジルの Cineole/(Z)-3-hexenal において、冷蔵貯蔵区よりも farmbox®区の方が、有意に値が高く、Cineole の割合が高くなっている。Cineole は、爽やかな香りが特徴的であることから、farmbox®区の方が冷蔵貯蔵区よりも爽やかな香りが強いスィートバジルであると考えられる。この結果から、Lower leaf において、farmbox®のスィートバジルは、既存の冷蔵貯蔵されたスィートバジルと比較して、爽やかな香りが強いスィートバジルであると推察される。一方で、Upper leaf における Shredded leaf の Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole, Cineole/Linalool, Linalool/(Z)-3-hexenal の組み合わせにおいて有意差を確認した ($p < 0.05$, t -test)。Eugenol/Linalool, Eugenol/Cineole に関しては、farmbox®区よりも冷蔵区のスィートバジルの方が、値が高いことを確認した。これは、冷蔵区のスィートバジルよりも farmbox®区のスィートバジルの Linalool と Cineole の放出量が多かったためであると推察される。Cineole/Linalool に関しては、farmbox®区よりも冷蔵貯蔵の方が、値が高いことを確認した。これは、冷蔵貯蔵区と farmbox®区の Linalool の放出量の違いによって生じたものであり、冷蔵貯蔵区は、爽やかな香りが強いスィートバジルであるのに対して、farmbox®区は、爽やかさだけでなくフローラルな香りも強いスィートバジルであることが示唆されている。

この結果から、farmbox®は、既存の冷蔵貯蔵と比較して、VOC 放出量の観点において、Linalool, Cineole, Eugenol の放出量を高く保つことが可能な貯蔵システムであり、既存の冷蔵貯蔵とは異なる香りを有するスィートバジルを提供可能なシステムである。さらに、VOC 比率の観点においては、Lower leaf では、既存の冷蔵貯蔵のスィートバジルよりも爽やかな香りが強いスィートバジルである。Upper leaf では、冷蔵貯蔵のスィートバジルと比較して、フローラルな香りが特徴的なスィートバジルであると考えられる。この結果から、farmbox®は、既存の冷蔵貯蔵と異な

る香りを有するスイートバジルを提供可能な貯蔵システムであることが示唆された。

引用文献

Fall, R., Karl, T., Hansel, A., Jordan, A. and Lindinger, W., 1999. Volatile organic compounds emitted after leaf wounding: On-line analysis by proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Journal of Geophysical Research*, 140: pp. 15963-15974.

Liber, Z., Carović-Stanko, K., Politeoc, O, Strikić, F., Kolak, I., Milos, M, Satovic, Z. 2011. Chemical Characterization and Genetic Relationships among *Ocimum basilicum* L. Cultivars. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*. 8: pp. 1978-1989.

Peñuelas, J., and Llusà, J., 2001. The complexity of factors driving volatile organic compounds emissions by plants. *Biologia Plantarum*, 44(4): pp. 481-487.

第 6 章 QCM センサを用いたスイートバジルの品質評価システムの開発

6.1 携帯型 VOC 計測チャンバの開発

QCM センサを用いて植物が放出する VOC を計測している研究は、いくつか行われているが(Okur et al., 2021; Lieberzeit et al., 2009; Debabhuti et al., 2021; Debabhuti et al., 2022), QCM センサの評価にとどまっていることが多い. そこで本研究では, QCM センサを用いて生産現場でも利用可能な VOC 計測診断システムを開発した. Fig. 6-1 に開発した携帯型 VOC 計測チャンバの写真と模式図を示す. VOC センサには, 水晶振動子(QCM)センサ(STD-03, (株)アロマビット)を用いており, 一つの基盤の上に 5 つの QCM センサが搭載されている. チャンバは, 3DCAD(Fusion 360)を用いて設計し(Fig. 6-2), 光造形 3D プリンター(Form 3, Formlabs(株))を用いて出力した(Fig. 6-3). なお, レジンは, Rigid4000 を用いた. チャンバ底部にセンサを設置し, センサ表面に植物体が接触することを防ぐために, チャンバ内中空に複数の細孔が開いた PTFE フィルム製の仕切りが設置されている. QCM センサは, 空気

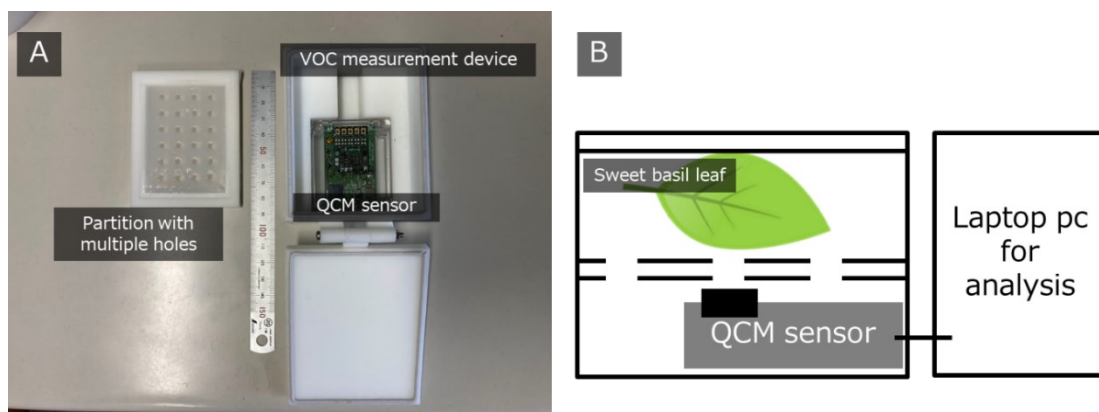


Figure 6-1: Photograph(A) and schematic diagram(B) of VOC measurement device with QCM sensor.

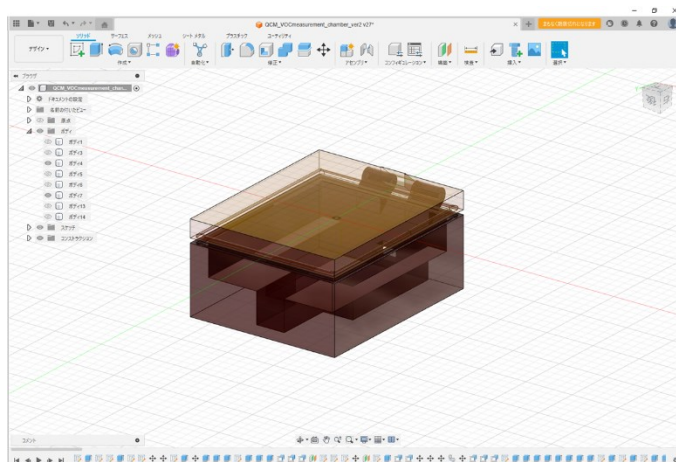


Figure 6-2: Designed VOC measurement device with QCM sensor using Fusion360.

の対流を生じている状態では，安定的に計測を行えないため，閉鎖型の計測チャンバとなっており，植物葉から自然に揮発した成分を計測するシステムに設計した．



Figure 6-3: A Photograph of 3D printer.

6.2 標準物質の計測

Fig. 6-4 に，パーミエータを用いて標準物質を計測している写真と模式図を示す．3DCAD で設計した部品に QCM センサを刺しこみ，パーツ内を流れる VOC を計測する仕組みとした．エアチューブを作成したパーツ横の突起に差し込み，パーミエ

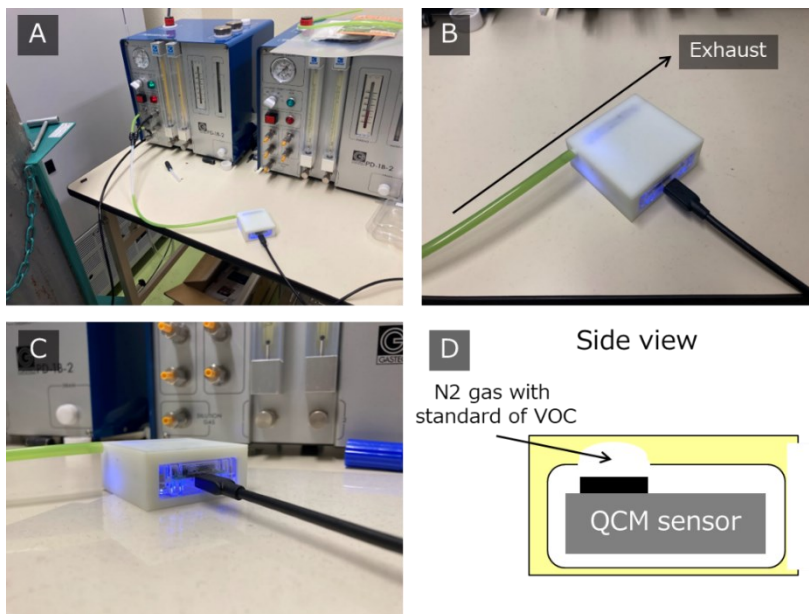


Figure 6-4: Photographs and schematic diagram of how to measure VOC using permeator.

ータから流出する窒素ガスと気化した標準物質を QCM センサに導入した。QCM センサ上部は、半円状に切り取られており、導入されたガスは、切り取られた部分を流れるようになっている。導入した窒素ガスと気化した標準物質は、突起の反対側の穴から排気された。

Fig. 6-5 に、QCM の経時変化の結果を示す。計測開始直後の振動周波数から、計測時における振動周波数の値を差し引いた結果である。計測開始直後の振動周波数の合値が最も大きく、QCM センサ上に VOC が吸着すると振動周波数が低下することから、通常、正の値でなければいけない。しかし、解析した結果、窒素ガスが流入した時間から急激に値がマイナス方向に低下している。これは、計測開始直後よりも振動周波数が大きくなっていることを示しており、空気の流れがあるような動的な環境下において、QCM で計測することは困難であることを示している。

そこで本研究では、静的な環境下で標準物質を計測する手法を開発した。Fig. 6-6 に、標準物質を計測している写真を示す。気温 25 °C のインキュベータに、QCM センサを用いた匂い計測システムを設置し、標準物質を一定量添加した 6 mm × 6 mm のムエット(試香紙, Fig. 6-7)を匂い計測システム内に静置し、計測した。標準

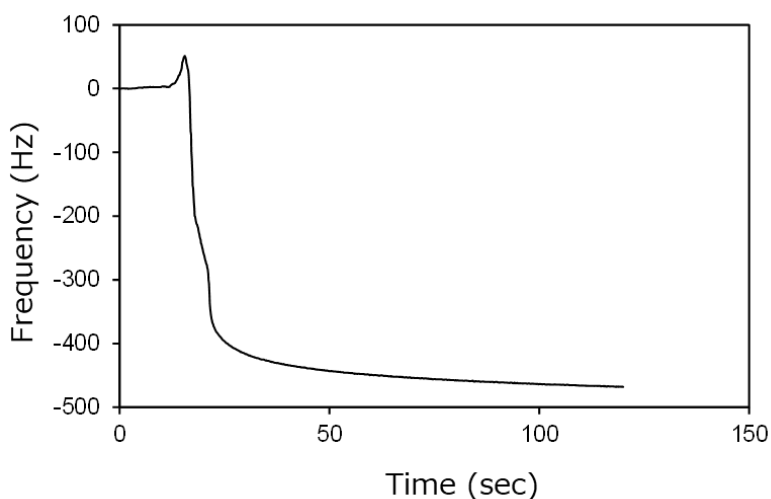


Figure 6-5: Time course of frequency of QCM sensor when measuring standard of VOC using parmeater.

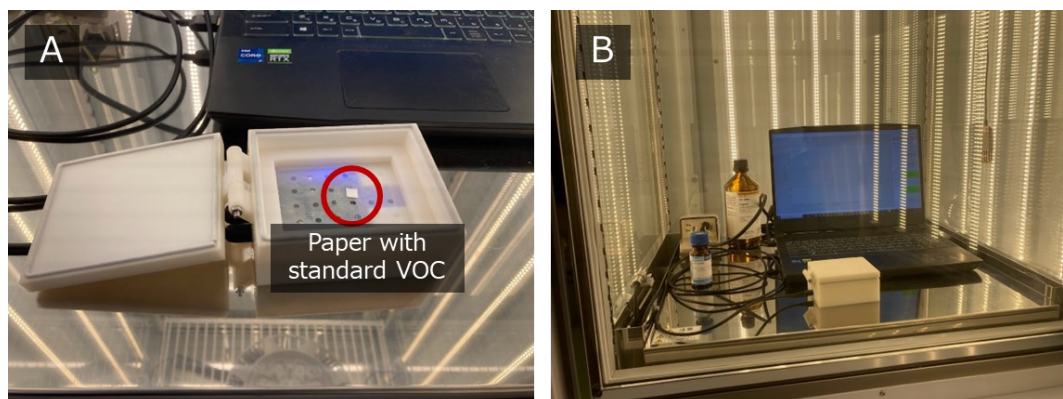


Figure 6-6: Photographs of how to measure standard of VOC using QCM sensor.

物質を添加するときに、ガスタイトシリンジ(Fig. 6-8)を用いて、ムエットに添加した。また、温度によって標準物質の密度が変化し、添加した質量(g)が変化するため、添加前に標準物質を 25 °Cのインキュベーター内で十分放置したのちに、紙に添加して計測を行った。その後、ムエットの重さを計測し、揮発量から濃度を算出した。各標準物質の密度は、データシートの値を参考にした。

Fig. 6-9 に、QCM での標準物質の計測結果を示す。計測対象 VOC である Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal 全てにおいて、反応することを確認した。Linalool(Fig. 6-10), Cineole(Fig. 6-11), Eugenol(Fig. 6-12), (Z)-3-hexenal(Fig. 6-13)の標準物質を 4 分間計測し、最初の振動周波数の値から 4 分後の振動周波数を差し引いた変化量 (Δ Frequency: ΔF)を算出した。その結果、各 VOC において、濃度に比例して、振動周波数が低下していることを確認した。Linalool, Cineole, Eugenol は、CH1 と CH4

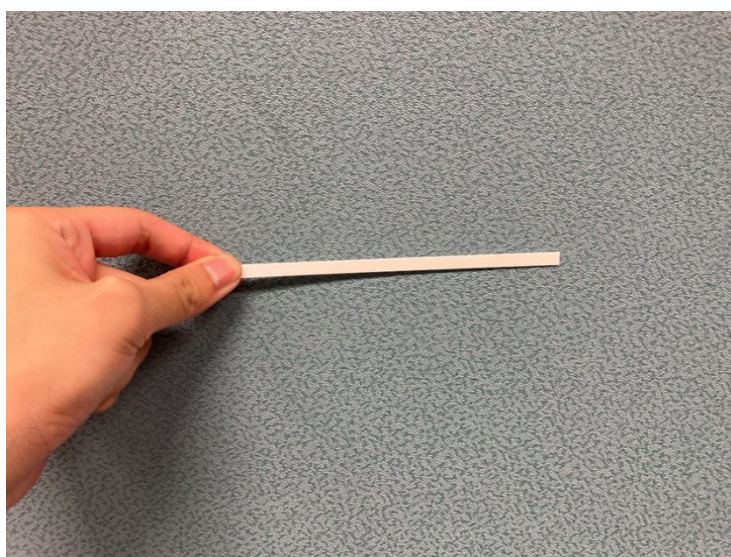


Figure 6-7: Photograph of smelling-strip



Figure 6-8: Photograph of Gas tight syringe.

において近似直線の傾きが高いことから応答性が高いと考えられる。一方で、(Z)-3-hexenal は、CH1, CH2, CH4 で近似直線の傾きが高いことから応答性が高いと考えられる。このことから、本研究で開発した匂い計測システムは、スイートバジルが放出する Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal を計測可能であることが確認された。

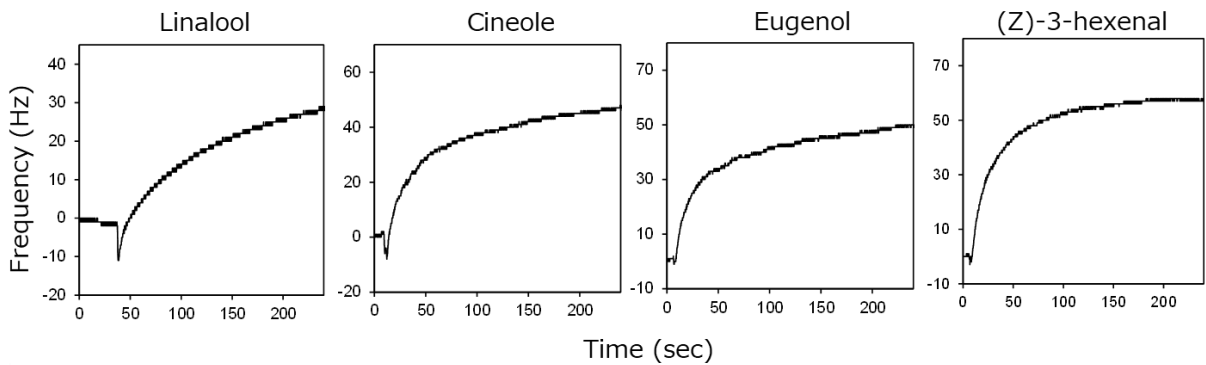


Figure 6-9: Time course of frequency of QCM sensor while measuring standard of VOC.

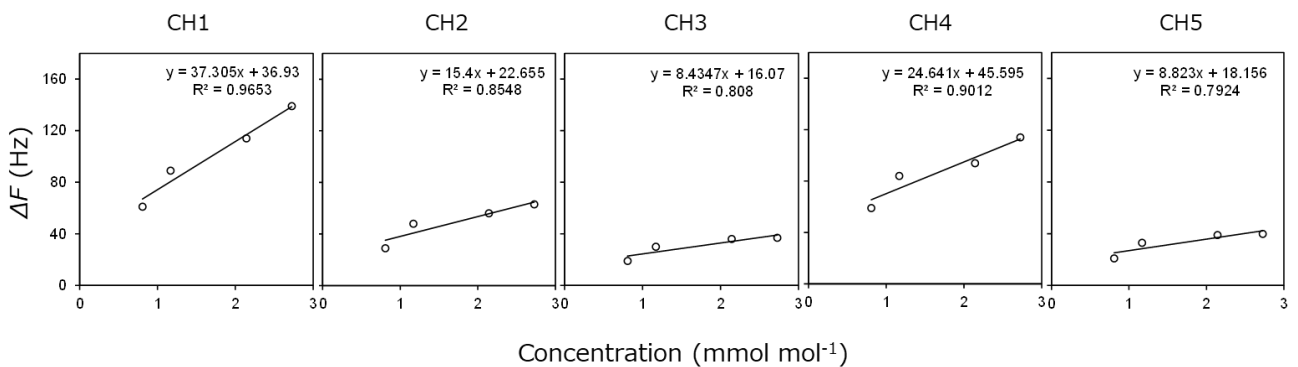


Figure 6-10: Calibration curve of Linalool with QCM sensor.

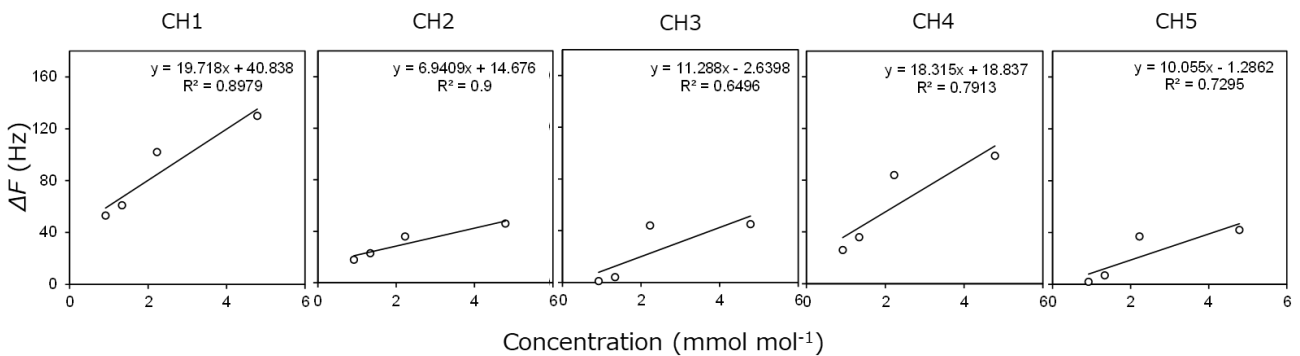


Figure 6-11: Calibration curve of Cineole with QCM sensor.

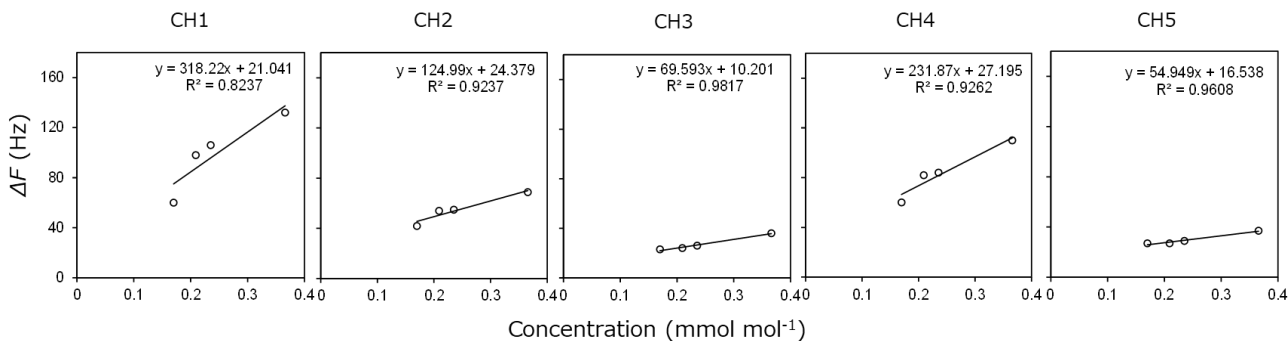


Figure 6-12: Calibration curve of Eugenol with QCM sensor.

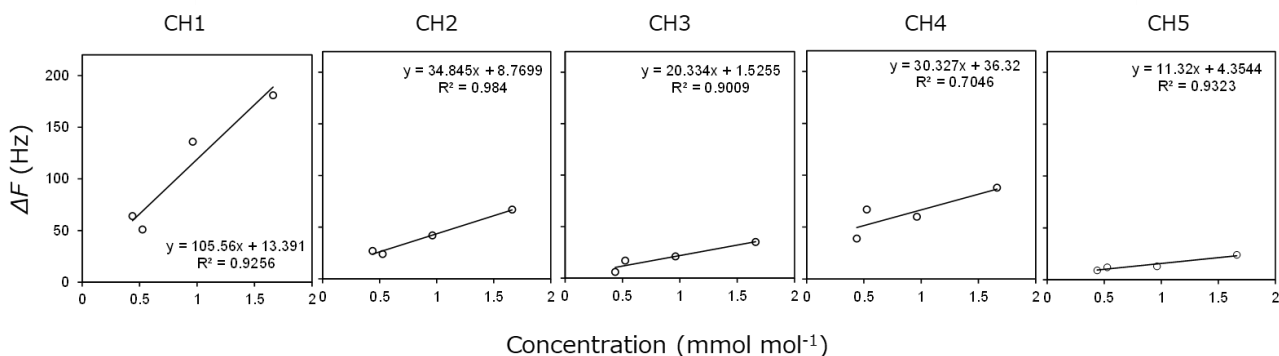


Figure 6-13: Calibration curve of (Z)-3-hexenal with QCM sensor.

6.3 スイートバジル VOC 解析

本研究では、PPFD $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で栽培したスイートバジルと PPFD $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ を対象に匂い成分計測を行った。Lower leaf および Upper leaf を Whole leaf, Shredded leaf の状態でそれぞれ計測した。Fig. 6-14 に、PPFD $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ のスイートバジル(Shredded leaf)の計測した際の振動周波数の変化量の経時変化を示す。CH1~5 のうち、CH2 は、振動周波数が増加していたため、値が負の値になっている。全てのスイートバジル葉の計測において、同様の挙動となっており、CH2 では、評価不能である。そのため、本研究では CH1, CH3, CH4, CH5 の計測値でスイートバジルの VOC 放出量を評価した。

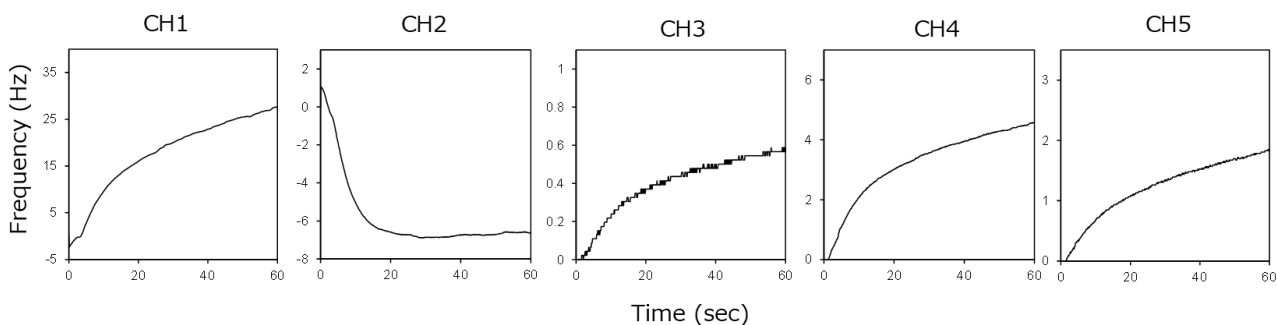


Figure 6-14: Time course of frequency of QCM sensor while measuring sweet basil of shredded leaf.

Fig. 6-15 に、PPFD $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で栽培したスイートバジルにおける Whole leaf と Shredded leaf の放出量の比較を示す。棒グラフは、計測開始直後の値から計測開始 1 分後の値を差し引いた値であり、1 分間の VOC 吸着による振動周波数の変化量 (ΔF) を示している。PPFD $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で栽培したスイートバジルでは、Lower leaf, Shredded leaf 共に、Whole leaf(WL) と Shredded leaf(SL) の間に、有意差は確認されなかった。しかし、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が、1 分間における匂いの変化量が多い傾向にあることを確認した。

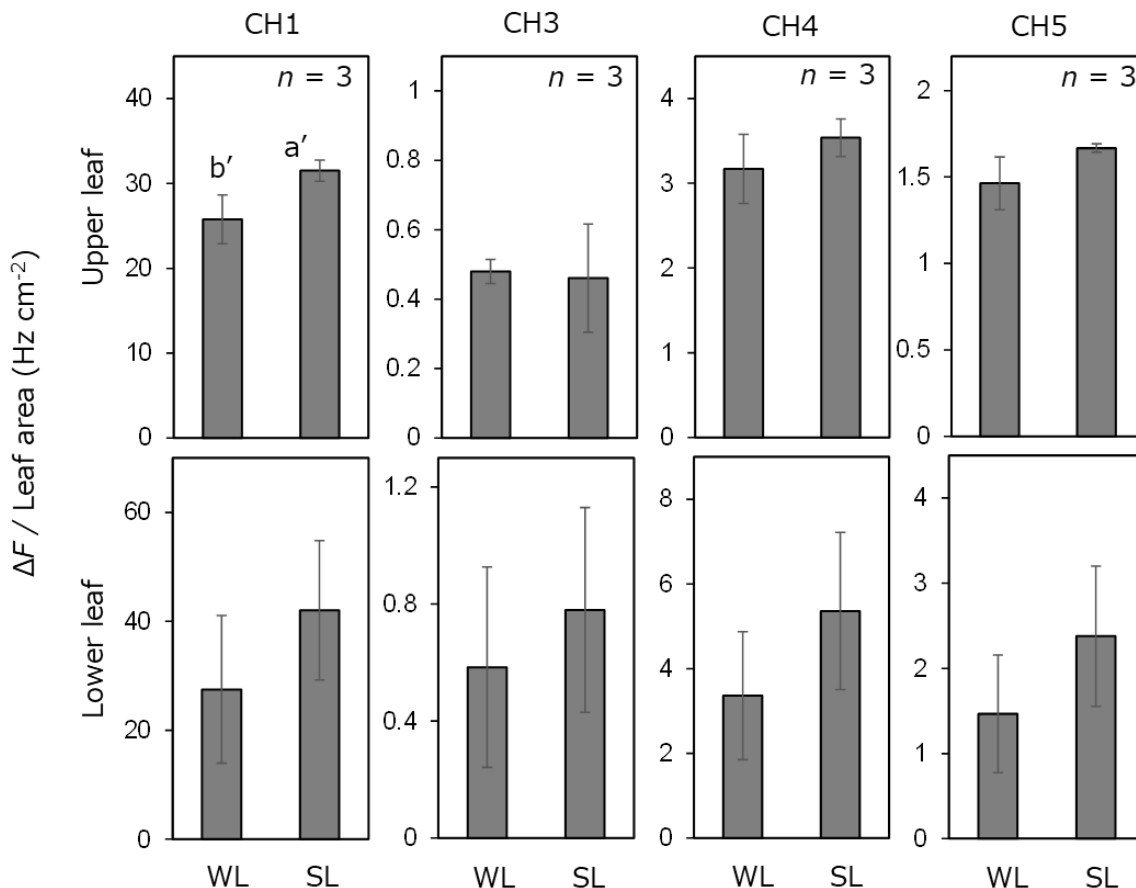


Figure 6-15: The emission of VOCs emitted from sweet basil at PPFD100 in Whole leaf(WL) and Shredded leaf(SL). a' and b' indicate marginally significant differences between the treatments ($p < 0.1$, t -test).

Fig. 6-16 に、PPFD $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で栽培したスイートバジルにおける Whole leaf と Shredded leaf の放出量の比較を示す。Lower leaf においては、Whole leaf よりも Shredded leaf の方が、周波数の変化量が多い傾向であることを確認した。一方で、Shredded leaf においては、Shredded leaf よりも Whole leaf の方が周波数の変化量が多い傾向であることを確認した。

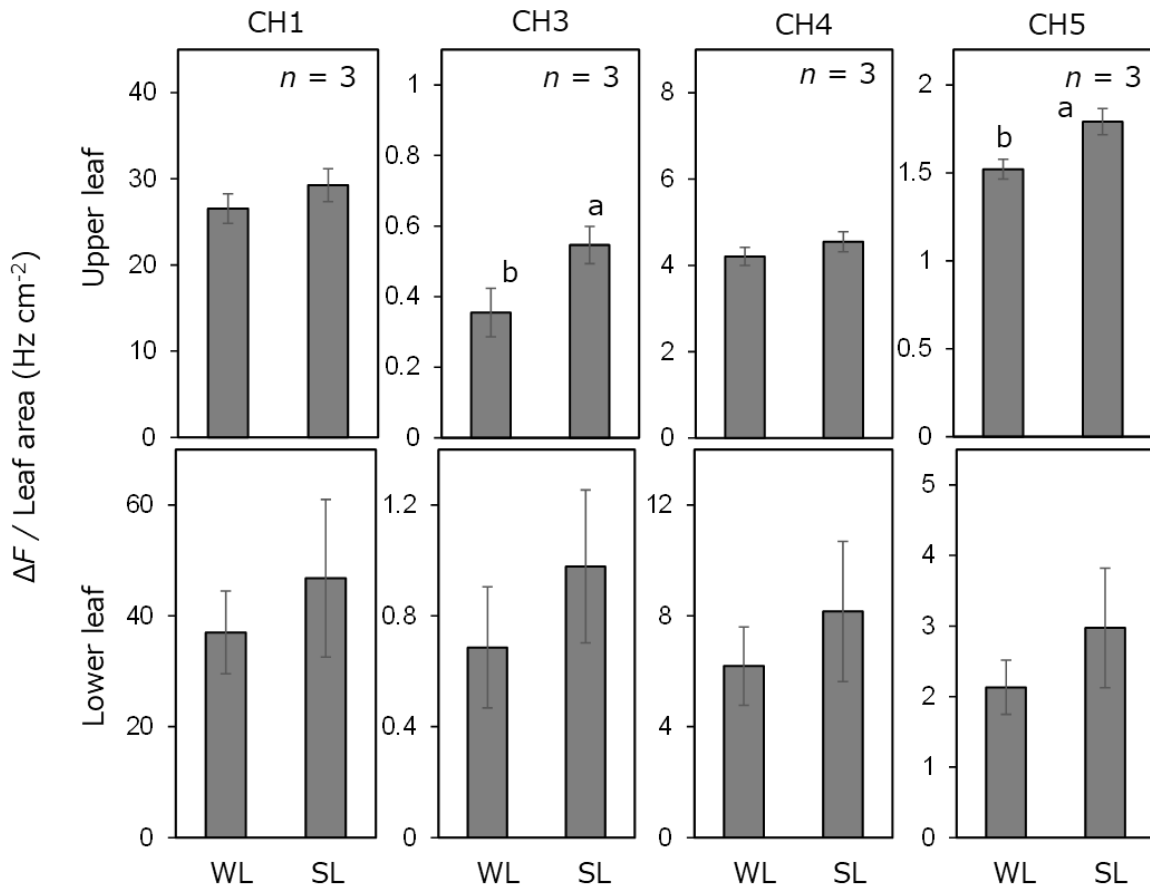


Figure 6-16: The emission of VOCs emitted from sweet basil at PPF300 in Whole leaf(WL) and Shredded leaf(SL). a and b indicate significant difference between each treatment($p < 0.05$, t -test).

Fig. 6-17 に、QCM センサで得られた Lower leaf におけるスイートバジルの VOC 放出量の結果と 4.6 で述べた GC-SAW で得られた Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal の合計値の結果を示す。QCM センサの CH1, CH2, CH3, CH4, CH5 において、Whole leaf と Shredded leaf 共に PPF100 と PPF300 の間で VOC 放出量に有意な違いは確認されなかった。しかし、PPFD300 区の方が PPF100 と比較して平均値が高いことを確認した。

Fig. 6-18 に QCM センサで得られた Upper leaf におけるスイートバジル(Whole leaf, Shredded leaf)の VOC 放出量の結果と 4.6 で述べた GC-SAW で得られた Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal の合計値の結果を示す。GC-SAW の結果から、Whole leaf において、PPFD100 よりも PPF300 の方が有意に VOC 放出量は高いと考えられる。CH4 では、PPFD100 と PPF300 の間で有意傾向が確認され、PPFD300 の方が振動周波数の変化量が大きく、VOC 放出量が高いことを検知しており、GC-SAW と同様の傾向を示していることを確認した。一方で、Shredded leaf の CH4 において、PPFD100 よりも PPF300 の方が有意に値が高いことを確認した($p < 0.05$)。GC-

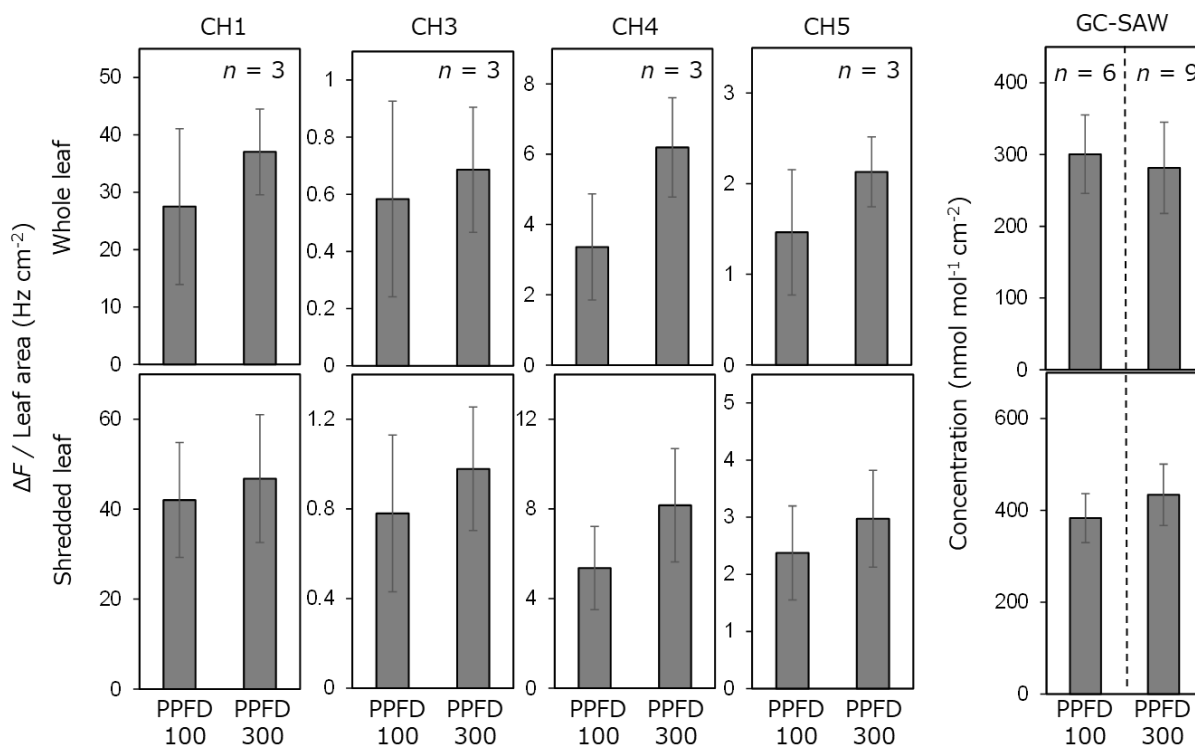


Figure 6-17: The emission of VOCs emitted from sweet basil in PPFD 100 and 300 treatment in Lower leaf using QCM sensor and GC-SAW. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, t -test).

SAWの結果においても、PPFD100よりもPPFD300の方が、VOC放出量が有意に高いことを示している。したがって、今回使用したQCMセンサのCH4においては、匂いセンシングすることでスイートバジルの品質評価が可能であることを示唆している。

これらの結果から、本研究で開発したQCMセンサを用いた匂い計測診断システムは、CH4において、異なる光強度で栽培されたスイートバジルのVOC放出量の違いを検出することが可能であることが示唆された。

6.4 本章のまとめ

本章では、QCMセンサを用いた匂い計測システムを開発し、PPFD100で栽培されたスイートバジルとPPFD300で栽培されたスイートバジルを対象にVOC計測を行い、VOC放出量を比較した。3DCADを用いて、匂い計測チャンバを設計し、光造形3Dプリンターで出力した。チャンバ底部にアロマビット製のQCMセンサを設置し、センサ表面に植物体が接触しないように、チャンバ内中空に複数の穴が開いたPTFEフィルムで仕切りを設置した。

次に、QCMセンサでスイートバジルが放出する代表的なVOCであるLinalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenalの標準物質を計測した。標準物質で検量線を作成する方法として、ディフュージョンチューブに標準物質を入れ、パーミエーターを用

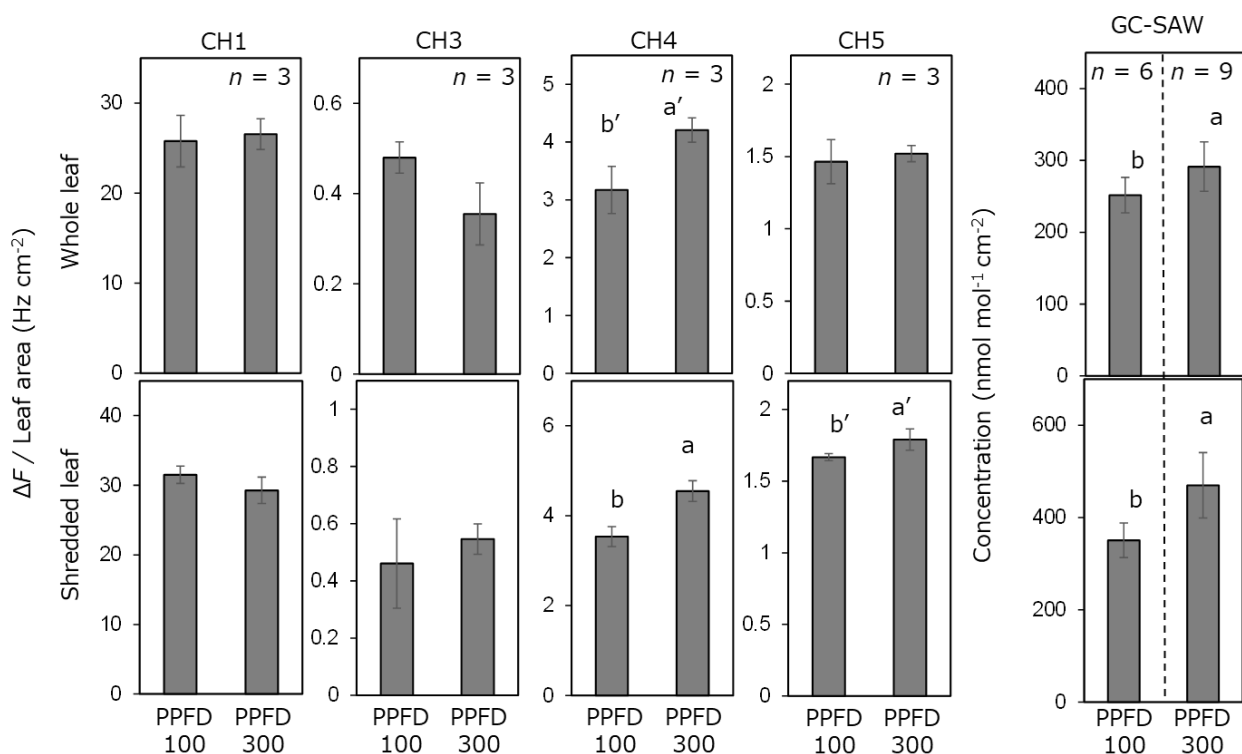


Figure 6-18: The emission of VOCs emitted from sweet basil in PPFD 100 and 300 treatment in Upper leaf using QCM sensor and GC-SAW. a and b indicate significant difference between each treatment ($p < 0.05$, t -test). a' and b' indicate marginally significant differences between the treatments ($p < 0.1$, t -test).

いて一定濃度で気化させ、気化した標準物質を計測する方法がある。しかし、QCM センサでは、気流などの動的な環境下においては、振動周波数が変化するため、安定的な計測が困難である。そこで本研究では、6 mm × 6 mm のムエットにガスタイトシリンジを用いて、標準物質を 0.2 μL ~ 3 μL 添加し、標準物質が添加されたムエットを開発した匂い計測チャンバ内に静置して標準物質を計測する手法にした。揮発した量は、計測前と計測後に電子天秤で重さを計測することで算出した。その結果、計測対象 VOC である Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal 全てにおいて、添加量に比例して、振動周波数が低下していることを確認した。このことから、本研究で開発した匂い計測チャンバは、スイートバジルの香りを計測することが可能な計測システムであることが示唆された。

次に、PPFD100 で栽培されたスイートバジルと PPFD300 で栽培されたスイートバジルを対象に VOC 計測を行い、GC-SAW の結果と比較した。GC-SAW は、Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal の各放出量を合計した値で、QCM の計測結果と比較した。これは、QCM センサが VOC の選択性が弱く、スイートバジルが放出する VOC の総量しか評価できないためである。Lower leaf においては、Whole leaf, Shredded leaf 共に PPFD100 区よりも PPFD300 区の方が、振動周波数の変化量が有意に大きいことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。これは、PPFD300 の方が、VOC 放出量

が多いことを検知している結果である。一方で、GC-SAW では、PPFD100 と PPFD300 で放出量に差が確認されなかった。QCM で振動周波数の変化量に差がみられたのは、Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal 以外の物質が多かったためであると考えられる。Upper leaf においては、Whole leaf, Shredded leaf 共に PPFD100 区よりも PPFD300 区の方が、振動周波数の変化量が有意に大きいことを確認した ($p < 0.05$, t -test)。さらに、GC-SAW においても、PPFD100 よりも PPFD300 の方が、放出量が多いことを確認している。このことから、QCM センサを用いた匂い計測チャンバで検出した振動周波数の変化量の違いは、スイートバジルが放出する Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal の放出量の違いを検知した結果である。

以上のことから、本研究で開発した QCM センサを用いた匂い計測チャンバが、光強度の違いによるスイートバジルの VOC 放出量の違いを検知可能であることを示唆している。

引用文献

Debabhuti, N., Neogi, S., Mukherjee, S., Dhar, A., Sharma, P., Rohit L. Vekariya, Poddar Sarkar, M., Tudu, B., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., Muddassir, M., 2021. Development of QCM sensor to detect α -terpinyl acetate in cardamom. *Sensors and Actuators A*, 319: 112521.

Debabhuti, N., Mukherjee, S., Neogi, S., Sharma, P., Ugir Hossain Sk, Maiti, S., Poddar Sarkar, M., Tudu, B., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., 2022. A study of vegetable oil modified QCM sensor to detect β -pinene in Indian cardamom. *Talanta*, 236: 122837.

Lieberzeit, P.A., Rehman, A., Iqbal, N., Najafi, B., Dickert, F.L., 2009. QCM sensor array for monitoring terpene emissions from odoriferous plants. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 140: pp. 947-952.

Okur S, Li C, Zhang Z, Vaidurya Pratap S, Sarheed M, Kanbar A, Franke L, Geislhöringer F, Heinke L, Lemmer U, Nick, P., Wöll, C. 2021. Sniff Species: SURMOF-Based Sensor Array Discriminates Aromatic Plants beyond the Genus Level. *Chemosensors*. 9(7): 171.

第7章 総括

7.1 本研究の要約

本研究では、環境制御によるスイートバジルの香りの制御を目的として、栽培期間における環境制御と新しい貯蔵方法によるスイートバジルの香り制御を行った。栽培期間における環境制御では、①栽培期間における光強度によるスイートバジルの香りの制御、②栽培期間における養液中の EC 制御によるスイートバジルの香りの制御を行った。新しい貯蔵方法による香り制御では、株式会社ファームシップが開発した店頭生育維持システムを用いた貯蔵によるスイートバジルの香り制御を行った。このような VOC を分析する装置として、GC-MS を用いた分析が一般的である。しかし、高価かつ大型なため、研究環境が整備されている大学や研究機関、一部の民間企業でしか使用できず、農業従事者が GC-MS を用いて、品質を評価することは難しい。そこで、簡易な VOC センサである QCM センサを用いた匂い計測システムを開発し、異なる光強度で栽培されたスイートバジルを対象に VOC 計測を行った。

光強度によるスイートバジルの香り制御では、PPFD100 もしくは PPFD300 で栽培することで、スイートバジルの代表的な VOC である Linalool, Cineole や (Z)-3-hexenal の放出量を制御可能であり、GC-SAW で VOC 放出量の違いを検知可能であることを確認した。また、Lower leaf と Upper leaf で放出される VOC 放出量が異なることを確認した。従来のような GC-MS を用いた解析では光強度による VOC 放出量の違いは確認されていたが、簡易な VOC 分析装置である GC-SAW では確認されておらず、本研究により初めて明らかにされた。

養液(EC)制御によるスイートバジルの香り制御では、養液中の EC を制御して栽培することで、Upper leaf において、モノテルペノイドである Cineole やモノテルペン類である α -pinene, β -pinene, Myrcene の放出量を制御可能であることを確認した。こちらは、光強度の制御とは異なり、スイートバジルに含まれているフェニルプロパノイドである Eugenol などには影響せず、モノテルペン類だけであることから、光強度を制御して栽培したスイートバジルとは、異なる香りを有するスイートバジルを生産することが可能であることを示唆している。また、養液の EC 制御をすることで、モノテルペノイドやモノテルペン類のみの放出量を制御可能であることは、本研究で初めて明らかにされた。

新しい貯蔵方法によるスイートバジルの香り制御では、株式会社ファームシップが開発した店頭生育維持システム farmbox®を用いた貯蔵試験を行い、既存の貯蔵方法と比較して、スイートバジルの代表的な VOC である Cineole, Linalool, Eugenol が高く保たれていることを確認した。これは、生育を維持する程度の局所的な光照射と給液によって、貯蔵期間に光合成が行われ、二次代謝産物である VOC が生成されトライコーム内に蓄積され続けていったためである。開発された

farmbox®によって、実際の小売店に既存のスイートバジルとは異なる香りを有するスイートバジルを提供することが可能になった。スイートバジルは、消費者が収穫して購入するまで生育が維持されているため、貯蔵期間が 0 日であるという意味で、鮮度が高いスイートバジルを購入することが可能となった。これまでの貯蔵試験では、貯蔵期間中の気温に着目した研究であったが、本研究の farmbox®は、貯蔵方法として新しい手法であり、farmbox®の有効性は本研究で初めて明らかになったものである。

また、簡易な匂いセンサである QCM センサを用いた匂い計測診断システムを開発し、CH₄において、光強度が PPF100 と PPF300 で栽培されたスイートバジル (Upper leaf) の VOC 放出量の違いを検知することに成功した。このシステムによって、スイートバジルの VOC の放出量を数値的に評価することが可能であることが示唆された。従来までの GC-MS での解析においては、光強度によるスイートバジルの VOC 放出量の違いは確認されていたが、QCM センサを用いた VOC 計測システムで光強度の違いによるスイートバジルの VOC 放出量の違いは確認されておらず、本研究により初めて明らかにされた。

7.2 展望

本研究では、養液中の EC や光強度、養液環境と光環境の制御が可能な店頭生育維持システムである farmbox®がスイートバジルの VOC 放出量や比率に与える影響について調査した。今後は、光強度と養液(EC)濃度を同時に制御する複合制御がスイートバジルの VOC 放出量に与える影響を調査し、多種多様なスイートバジルの生産が可能か検討する。さらに、本研究で開発した匂い計測システムを用いて、複合制御で栽培されたスイートバジルの VOC 放出量の違いを検出可能であるか確認する。

7.3 今後の課題

本研究では、栽培期間における光強度や養液の EC 制御を行うことで、スイートバジルの VOC 放出量や VOC 比率が制御可能であることを確認した。光制御では、Linalool, Cineole は光強度に比例して放出量が増減したのに対し、Eugenol に関しては、光強度に反比例して増減した。光強度に対して、異なる反応を示しているのは特徴的であり、代謝機構における各 VOC の合成酵素の活性を評価する必要があると考えられ、特に、Eugenol と Isoeugenol の量や Eugenol 合成酵素と Isoeugenol 合成酵素の活性を定量的に評価する必要がある。

また、養液の EC 制御でモノテルペノイドである Cineole やモノテルペン類である α -pinene, β -pinene, Myrcene の放出量を制御可能であることを確認し、養液の EC 制御が特定の成分群のみに作用するという新しい知見を残した。しかし、養液(EC)

制御によるスイートバジルの VOC 制御について議論を深めるためには、養液中のどの成分がスイートバジルのモノテルペン類の生成に作用しているのかを確認する必要があります。養液中の窒素やリン酸、カリウムなどの特定の成分の割合を変更して栽培し、スイートバジルの VOC を解析する必要があります。さらに、養液中の EC が高いことで浸透圧が高くなり、根が水を吸う量が減少し、軽微な光合成阻害が起きている可能性が高い。そのため、栽培期間中の日積算光合成量を計測し、光合成量の違いがないか確認する必要があります。また、本研究では検討していないが、各 VOC には、それぞれ合成酵素が存在し、それぞれの合成酵素の最適温度で栽培することで、特定の VOC の放出量を制御することが可能になると考えられる。本研究で行った光や養液制御よりも、気温を制御することで一種の VOC 放出量を多くすることが可能であれば、多種多様な香りを有するスイートバジルの生産が可能であり、消費者のニーズに合ったスイートバジルの生産に有効である可能性が高い。

farmbox®を用いた貯蔵試験では、既存の貯蔵方法よりもスイートバジルの VOC を高く保つことが可能であることを確認した。しかし、消費者が farmbox®で貯蔵されたスイートバジルを購入後に冷蔵庫で貯蔵した場合に、既存の貯蔵方法で貯蔵したスイートバジルと比較して、VOC がどのくらいの期間保たれるのかについては検証していないため、検証する必要があります。

QCM センサを用いた匂い計測システムの開発では、開発した匂い計測システムを用いて、PPFD100 と PPFD300 で栽培されたスイートバジルの VOC 放出量の違いを検知可能であることを確認した。本研究で使用した QCM センサは、Linalool, Cineole, Eugenol, (Z)-3-hexenal などの物質が、添加量に比例して、振動周波数の変化量が増減していることを確認した。本システムにおいても、スイートバジルの総 VOC 放出量の違いは、検知可能であるが、各 VOC 量がわからないため、スイートバジルが放出する VOC に特化したセンサの開発が必要になると考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたって、多くの方々に大変お世話になりました。豊橋技術科学大学機械工学系の高山弘太郎教授には、実験の際に多くの丁寧なご指導、ご助言を賜りました。また、論文執筆において、構成や考え方など丁寧にご指導いただきました。厚く感謝の意を表します。

豊橋技術科学大学建築・都市システム学系井上隆信教授には、学生生活の中で、研究の進捗など気にかけていただきました。また、論文の添削等を行っていただき、厚く感謝の意を表します。

株式会社ファームシップの北島正裕様、宇佐美由久様、岡理一郎様、Dhanashri Shinde様には、本研究において、長きにわたり供試植物を提供いただき深く感謝申し上げます。

豊橋技術科学大学機械工学系戸田清太郎助教と PLANT DATA 株式会社加納多佳留様には、学部生時代から公私共に大変お世話になりました。厚くお礼申し上げます。

愛媛大学大学院農学研究科の藤内直道助教には本研究に関して御親切なる御助言を頂きました。

さらに、ご多忙の中、審査を引き受けてくださいました豊橋技術科学大学建築・都市システム学系加藤茂教授、東海林孝幸准教授に厚く御礼申し上げます。

業績リスト

査読付学術論文

1. 坂口直己, 岡理一郎, 宇佐美由久, 北島正裕, 藤内直道, 井上隆信, 高山弘太郎, “店頭生育維持システムにおける光環境の違いがスイートバジルの香りに及ぼす影響の評価”, *Eco-Engineering*, Vol. 35, No. 3, pp.59-65, 2023
2. 坂口直己, Dhanashri Shinde, 岡理一郎, 宇佐美由久, 北島正裕, 藤内直道, 井上隆信, 高山弘太郎, “人工光型植物工場において異なる光強度で栽培されたスイートバジルの上位葉と下位葉を対象とした VOC 計測”, *植物環境工学*, (8 ページ) (受理済み, 2024. 2. 2)

査読付国際会議論文

1. N. Sakaguchi, M. Kitajima, Y. Usami, R. Oka, N. Fujiuchi and K. Takayama, “In-store cultivation system preserves higher VOC emission of sweet basil leaves compared with conventional refrigerated storage” *Acta Horticulturae*, XXXI International horticultural congress S23 International symposium on postharvest technologies to reduce food losses, 1364, pp.1-9, April 2023