

片面シソ飲料に含まれるロズマリン酸の定量*

及川 和志**、藤田 清***

川井村では片面シソを活用した特産品の開発に取り組んでいる。シソの機能性成分であるロズマリン酸の含有量を明らかにするため、市販されているシソ飲料や開発中のシソ酢を対象に定量分析を行った。その結果、川井村産シソ飲料（ペリーラ）にはロズマリン酸が400mg/L程度含まれていた。また、シソ酢の製造中にロズマリン酸が減少する原因についても検討した。

キーワード：シソ、エゴマ、ロズマリン酸

Analysis of the Rosmarinic Acid in Perilla Drinks

OIKAWA Kazushi*, FUZITA Kiyoshi**

Kawai-Village is developing of original foods from perilla leaf named “Katamen”.

To investigate of the rosmarinic acid, perilla drinks were analysed by HPLC.

Key words: Perilla, Egoma, Rosmarinic acid

1 緒 言

岩手県沿岸北部から県央部にかけての中山間地帯は、春から初夏にかけて吹き降ろす「やませ」の影響を強く受けるため水稲栽培には困難が伴う。その一方で、冷湿な環境でも育つレタスや大根、シソなどの栽培においては病害虫の発生が少ないなどの利点が見出せるため、減農薬に対応した安全・安心な露地農産物の生産地として見直されている。

本研究のフィールドである下閉伊郡川井村は盛岡市と宮古市のほぼ中間に位置し、林業と畜産を主産業とする自然豊かな山村であるが、早くから中山間地の特色を生かした農業や特産品の開発に力を入れてきた。

中でも、特産の“片面シソ”は“葉表が青く裏が赤い”という特徴に加えて肉厚かつ香味にも優れることから、飲料等への加工利用のほか、梅干製造の原料となる塩蔵シソを年間150t規模で紀州地方に供給するなど、本県を代表する農産物の一つに成長してきた。

しかしながら、更なる産地・ブランドの形成に当たっては、栽培から販売までの体制強化とノウハウの蓄積はもとより、産地や素材の優位性を明らかにするなど、素材自体の差別化を念頭に於いた独自の取り組みが重要となる。

近年、健康志向を背景に、農産物や食品に含まれている栄養成分や機能性成分についての関心が高いが、シソ科植物に含まれるロズマリン酸には抗アレルギー（抗炎症）などの機能性が示唆されている¹⁾ため、身近な健康食材としてのシソの可能性が注目されている。

機能性に関する表記は、特定保健用食品など、安全

性と効果効能を科学的に証明した一部の食品においてのみ許されるものであるが、製品に含まれる有用成分を把握することは、地場の特産品など一般の食品においても“信頼の食”としての認知に少なからず寄与するものである。また、新たな商品開発に取り組む際の成分設計や技術開発の指標としても活用が見込まれる。

そこで、本研究では、川井村が製造販売しているシソエキス製品についてロズマリン酸の含有量を調査すると共に、開発中のシソ酢にロズマリン酸を安定的に保持させるための基礎知見とすべく、加熱処理などの製造条件によって成分が減衰する可能性について詳細な検討を行った。



写真1 川井村区界高原の片面シソ圃場
清らかな環境が良質の片面シソを育てている

* H19年度 技術者受入型研究開発事業「紫蘇エキス製品の機能性成分の定量」

** 食品醸造技術部 専門研究員

*** (社)川井村産業開発公社 事務局長

2 方法

2-1 試料 (シソエキス製品)

(社)川井村産業開発公社 (以下、産業開発公社と略称) で製造、販売しているシソエキス製品 (商品名: ペリーラ、しそっふる、紫蘇原液、塩蔵赤しそ液) は、製造直後の製品および一定期間が経過した保存品を研究試料としてご提供頂いた。また、開発中のシソ酢についても参考試料としてご提供頂いた。

この他、比較試料とするため、岩手県および青森県の産地直売所などで販売されていたシソ飲料およびシソ酢の計12製品を購入した。

2-2 試料 (シソ葉)

片面シソの生葉は産業開発公社よりご提供頂いた。青シソ (イオン盛岡南店にて販売)、赤シソ (遠野市産地直売所「風の丘」にて販売) の生葉は購入した。

また、シソの近縁であるエゴマの生葉についても比較するため、北上市の栽培農家よりご提供頂いた。

何れも、生葉の重量 (g/100枚) と水分 (%) を測定の後、成分抽出などの検討に用いた。

2-3 シソ葉およびエゴマ葉からのアルコール抽出

シソ葉に含まれるロズマリン酸 (およびカフェ酸などのフェノール化合物) を定量するため、シソ葉を凍結乾燥した後、粗粉碎し、70%メタノール (0.1% TFA 含有) にて一昼夜の浸漬抽出を行った。抽出後、No. 2 濾紙を用いて吸引濾過し、濾過液を一定量に希釈してアルコール抽出液とした。

2-4 食酢および蒸留酒への成分溶出

産業開発公社では片面シソを利用したシソ酢の開発を進めていることから、シソ葉の浸漬期間と抽出液中のロズマリン酸の推移について検討を行った。

片面シソ葉は、その生葉 300g を幅 1cm 程度に裁断の上、1200ml の米酢 (酸度 4.5%、ミツカン酢) もしくは蒸留酒 (アルコール度数 10°, 20°, 30°) を抽出液として漬け込み、浸漬後 1日、5日、30日、120日の間隔で上清の一部を採取し、ロズマリン酸の定量に供した。

2-5 シソ酢の加熱処理とロズマリン酸の減衰率

シソ酢の加熱殺菌処理によるロズマリン酸の減衰率を把握するため、公社が開発中のシソ酢を用いて加熱試験を実施した。

シソ酢は、その 100ml を試験区ごとに 100ml 容の広口メジューム瓶に分注の上、シリコンパッキンおよび蓋 (穴あき型) により密封し、温度センサーをパッキン部より内部に刺し入れた後、試験温度に温調した恒温水槽にメジューム瓶を浸漬して加熱処理した。

加熱温度は、40、60、75、90℃の4試験区とし、達温か

らの経過時間を計測し、40℃の試験区のみ 0、90、180分の時間間隔、他の 60℃、75℃、90℃の試験区では 0、60、120 分の時間間隔でメジューム瓶内のシソ酢を採取し、ロズマリン酸の分析に供した。

2-6 ロズマリン酸の定量

シソ飲料やシソ酢に含まれるロズマリン酸は、製品を均一に攪拌後、終濃度 70% のメタノール溶液になるように希釈し、0.45 μm のシリンジフィルターにて夾雑物を除去の上、その一定量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による定量分析に供した。

シソ葉およびエゴマ葉からの抽出液についても、0.45 μm のシリンジフィルターにて夾雑物を除去の上、シソエキス製品と同様に定量分析に供した。

HPLC による定量分析は、標準品としてロズマリン酸およびカフェ酸 (純度 98% 以上、何れもフナコシ) を用い、ODS カラムおよび水-アセトニトリル系溶離液 (0.1% TFA 含有) を用いた逆相・グラジエント条件により行った。成分の同定は、溶出成分のリテンションタイムおよび PDA (フォトダイオードアレイ) 検出器による波長スペクトルの一致により確認した。

ロズマリン酸の化学構造を図 1 に、HPLC 分析で得られた標準品および試料に由来するロズマリン酸の UV-VIS 波長スペクトルを図 2 に示す。

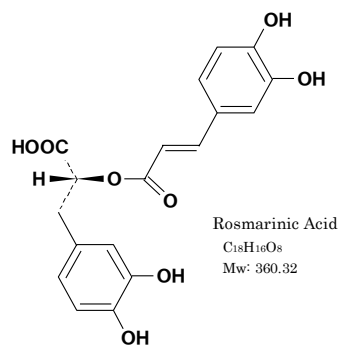


図 1 ロズマリン酸

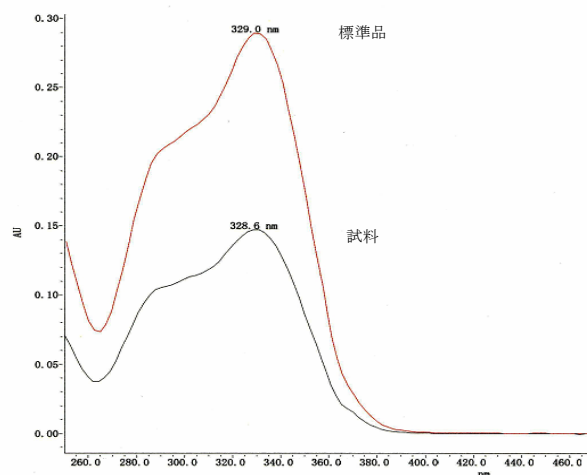


図 2 ロズマリン酸の波長スペクトル

3 結果 および 考察

3-1 川井村製品に含まれるロズマリン酸

川井村の片面シソエキス製品を写真2に、製品についての分析結果を表1に、開発中の片面シソ酢についての分析結果を表2に示す。



写真2 川井村のシソエキス製品

表1 川井村製品に含まれるロズマリン酸

商品名	規格	製造からの経過期間	ロズマリン酸 (mg/L)
紫蘇原液	720ml	直後	761.1
〃	〃	4ヶ月	723.7
ペリーラ	720ml	直後	403.1
〃	〃	8ヶ月	400.2
〃	〃	1年	397.9
〃	500ml	直後	387.2
しそっふる	500ml	直後	46.1
〃	〃	7ヶ月	89.5
塩蔵赤しそ液	500ml	直後	148.6

注) 製品毎の製造年月日は異なる

シソ飲料であるペリーラは、片面シソ葉を熱水抽出して得られたシソエキス（紫蘇原液）を原料に用い、飲用に適するよう希釈と調合の上で製品化されている。

紫蘇原液のロズマリン酸含有量は、製造直後で761.1 mg/L、製造から4ヶ月経過したもので723.7 mg/Lと何れも高濃度であった。一方、ペリーラのロズマリン酸含有量は、387.2 ~ 403.1 mg/Lであり、シソエキスの配合率から考えると分析値は妥当である。

それぞれ、製造日や経過日数が異なる製品での比較ではあったが、紫蘇原液やペリーラのロズマリン酸含有量は製造からの時間を経ても大差ないことから、製品中ではロズマリン酸が安定に保持されていると考えられる。一方、シソエキスとりんご果汁をブレンドした飲料である“しそっふる”では、分析値が2倍程度異なっており、ロット間の変動および原因については更に検討が必要である。

表2 開発中のシソ酢に含まれるロズマリン酸

試料	搾汁からの経過期間	加熱殺菌	ロズマリン酸 (mg/L)
シソ酢	直後	なし	226.9
〃	2ヶ月	85°C10分	75.9

シソ葉は裁断せずに食酢に約3ヶ月間浸漬した後に压榨

次に、産業開発公社ではシソ製品のバリエーション強化の一環として新たにシソ酢の開発を進めており、片面シソを原料に試作されたシソ酢についてもロズマリン酸の定量を行った。

飲用を目的とした果実酢やシソ酢を製造しようとする場合、原料を食酢に漬け込むことで色素などのエキスを十分に抽出できるとされるため、製品化は比較的容易であると思われるが、ロズマリン酸の溶出に着目してシソ酢の製造条件を検討した事例は見当たらない。

分析の結果、シソ葉を食酢に一定期間漬け込んだ後に搾汁して得たシソ酢（非加熱）に含まれるロズマリン酸は226.9 mg/Lであった。一方、搾汁したシソ酢を冷暗所で約3ヶ月間保存した後、ジャケット式タンクで達温85°C、10分間の加熱処理を施したシソ酢ではロズマリン酸の含有量が75.9 mg/Lに減少していた。

この原因としては、シソ葉から溶出した酵素による分解、食酢中でも生育できる耐酸性微生物による分解、あるいは、加熱殺菌工程での劣化などが考えられる。

一般に、食酢（酸度4.5%）には有害微生物に対する殺菌作用がある²⁾と考えられるため、製品化前のシソ酢を非加熱のまま保存するケースが考えられるが、ロズマリン酸の保持には適さない可能性がある。

これらの点については以降の項目で検討した。

3-2 他社製品に含まれるロズマリン酸

岩手県および青森県の産地直売所等で販売されているシソエキス製品についての分析結果を表3に示す。

表3 他社製品に含まれるロズマリン酸

商品名	地域	タイプ	ロズマリン酸 (mg/L)
赤しそドリンク	岩手	赤シソ飲料	291.3
おいしそう	〃	〃	239.7
赤しそ	青森	〃	192.6
しその精	〃	〃	78.7
しそじゅうす	〃	〃	343.4
青シソドリンク	岩手	青シソ飲料	517.3
青しそ	青森	〃	475.4
赤しそ酢	岩手	赤シソ酢	84.9
赤しそ液酢	〃	〃	158.8
赤しそ酢	青森	〃	91.3
湯あがり	〃	梅/シソ飲料	205.2
飲む梅干	〃	梅干飲料	17.6

市販されている全てのシソエキス製品を対象とした検討は困難であるため、川井村製品と商圏がほぼ一致する岩手県および青森県内の他社製品について、一般に販売されていた製品を購入して調査した。

その結果、赤シソを原料とする飲料のロズマリン酸の含有量は、78.7 ~ 343.4 mg/L (5 製品の平均値 229.1mg/L) と様々であるが、川井村のペリーラが含有する約390mg/L に対して6割程度のロズマリン酸を含有するものが多かった。一方、青シソを原料とする飲料ではロズマリン酸の含有量が 475.4 ~ 517.3 mg/L とペリーラよりも2割ほど高濃度であった。

この結果について考察を加えるためには、ロズマリン酸含有量が用いる原料によって大きく異なる可能性についても把握する必要があるため、次項で品種の異なるシソ葉のロズマリン酸含有量についても検討した。

なお、シソ飲料と同時に分析を行った他社製赤シソ酢や梅シソ飲料等の分析結果は、今後、新製品の開発などの際に参考的な情報として活用されるものと期待する。

3-3 シソ・エゴマ葉に含まれるロズマリン酸

川井村の片面シソのほか、赤シソ (ちりめん)、青シソ (大葉)、エゴマ葉について分析した結果を 表4 に、片面シソの生葉を写真3 に示す。

表4 シソ・エゴマの生葉に含まれるロズマリン酸

品種	生葉 100 枚 あたり重量 (g)	水分 (%)	生葉の ロズマリン酸 (mg/g)
青シソ (大葉)	61.1	87.4	1.9
片面シソ	195.5	85.1	1.8
赤シソ (ちりめん)	111.7	84.2	3.3
エゴマ	169.4	78.8	9.4



写真3 川井村産の片面シソ (生葉)

シソ葉の分析から、生葉 100 枚あたりの重量は片面シソが最も重く、肉厚とされる川井村産片面シソの特徴が現れている。一方、生葉 1g あたりに含まれているロズマリン酸は、シソの起源種とされるエゴマの葉が 9.4 mg/g と最も多く、次いで赤シソの 3.3 mg/g、片面シソは青シソの 1.9 mg/g とほぼ同等の 1.8mg/g であるとの結果が得られた。

この結果を基に、前項で示したシソ飲料の分析結果とを考え合わせると、ロズマリン酸が豊富な赤シソを原料としたシソ飲料はロズマリン酸濃度が低く、対して、ロズマリン酸が比較的少ない片面シソや青シソを原料としたシソ飲料はロズマリン酸が高濃度であるという逆相関的な関係が見出され、興味深い。

これは、赤シソ葉の特徴と言えるアントシアニン系色素の多少が、シソ飲料へのロズマリン酸の配合に影響しているためであると考えられる。

すなわち、シソ飲料の製造に於いては、シソ葉の特徴を製品に反映させることが重要となるため、赤シソ系の飲料ではアントシアニンに由来する鮮やかな赤色を付与したい。この際、チリメンなどの赤シソに対し、片面シソはアントシアニンが少ないため、製品に十分な赤色を付与するためには原料の使用量を多く設定することとなり、結果としてロズマリン酸も高濃度に配合される。

他方、青シソを用いた飲料では、青シソ葉にアントシアニンがほとんど含まれないため、清涼な青シソの香気を製品の特徴として設計する必要があり、必然的に赤シソ系飲料よりもさらに原料の使用量が多くなる。その結果として、青シソ飲料ではロズマリン酸が高濃度に配合される。

このような考察はあくまでも推測の域を出ないが、原料の異なるシソ飲料の製造条件とロズマリン酸含有量との関連について検討を行った事例は見当たらないため、この点については更なる検証の余地がある。

なお、ロズマリン酸のみに着目した場合、片面シソ葉の優位性は特に見出せないとの結果であったが、HPLC 分析で検出されるロズマリン酸以外の機能性成分に着目すると、赤シソと青シソに特徴的な成分をそれぞれ含有することが判っている。

片面シソは、“赤シソの色素”と“青シソの香り”といった特徴を程よく併せ持つと考えられるため、今後は、片面シソの持つ中庸的な成分特性に焦点を当て、その優位性を引き出したいと考える。

3-4 食酢・蒸留酒によるロズマリン酸の抽出

3-1 で示したように、試作段階にあった片面シソのシソ酢について分析したところ、非加熱での貯蔵、もしくは、加熱殺菌処理による影響のどちらかにより、食酢中に抽出されたロズマリン酸が分解・減少するとの予備的な知見が得られた。

そこで、試験室規模で片面シソを食酢に浸漬し、経時的なロズマリン酸の濃度について検討を行った。この際、アルコールからの食酢製造工程にシソエキス成分の抽出工程を組み込むことを視野に入れ、蒸留酒(焼酎)を用いた試験区を設けて同時に検討した。

片面シソ葉の浸漬抽出期間と抽出液中のロズマリン酸濃度の関係について図3に示す。また、浸漬1日目の抽出液を写真4に示す。

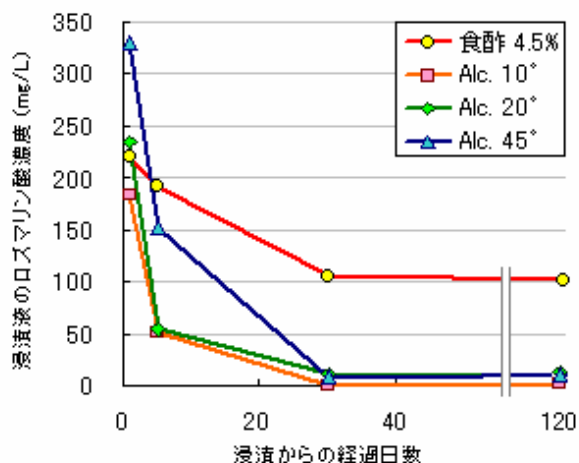


図3 片面シソ葉の食酢・蒸留酒への浸漬期間と浸漬液中のロズマリン酸濃度

その結果、細断した片面シソを各浸漬液に浸漬してから1日経過後の抽出液に含まれるロズマリン酸は、アルコール 40° > アルコール 20° ≒ 食酢 > アルコール 10° の順に多く、含水アルコールに溶けやすいロズマリン酸の性質が反映されていた。

しかしながら、アルコール系抽出液では5日から30日の浸漬期間中にロズマリン酸が大幅に減少しており、30日以上浸漬ではほとんど残っていない。

対して、食酢への浸漬では期間と共にロズマリン酸の減少が認められるものの、減少速度はアルコール系抽出液よりも穏やかであり、浸漬120日目でも浸漬1日目の最大濃度に対してほぼ50%のロズマリン酸が残留している。

このことから、シソ葉の細断や浸漬量などの条件を考慮する必要はあるが、ロズマリン酸に着目したシソ酢の製造ではシソ葉を食酢に数日間浸漬することで十分に目的を達成できるとの知見が得られた。

また、写真4に示すように、5日程度の短期間であっても、食酢への浸漬はシソ葉から溶出したアントシアニン色素を鮮やかな赤色に発色させており、片面シソを原料とするシソ酢の特徴は既に得られている。

したがって、浸漬期間の延長と共に進むロズマリン酸の分解についても考慮すると、食酢を用いたシソ酢の製造ではシソ葉の浸漬工程は数日から1週間程度が望ましいと考えられる。

なお、低濃度のアルコールを抽出液としてシソ葉の成分を抽出した場合は、いずれのアルコール抽出液においてもpHを酸性とすることでアントシアニンの赤い発色が認められるため、さらに酢酸菌を接種することで赤シソ酢を製造できる可能性がある。

しかしながら、ロズマリン酸がアルコールからの酢酸醗酵中に分解・消失する可能性が高く、また、シソエキスを含むアルコールに酢酸菌を接種しても醗酵が充分に進まないとの指摘もあることから、ロズマリン酸に着目したシソ酢の製造には適さないと思われる。

この点については、詳細な醗酵試験を実施していないため、今後、必要に応じて検討を加えたい。

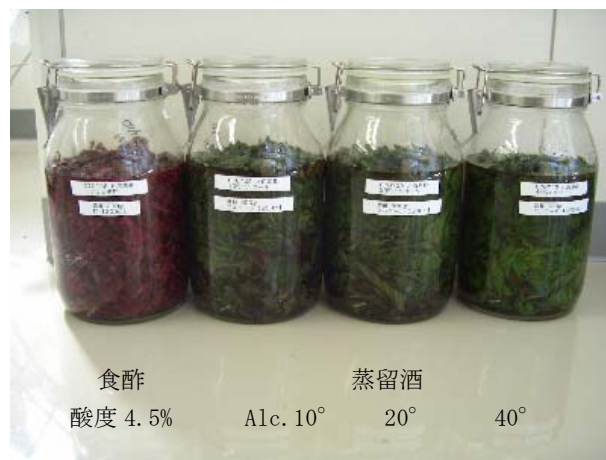


写真4 片面シソ葉の浸漬試験(浸漬5日目)

3-5 シソ酢の加熱処理によるロズマリン酸の減衰

3-4の検討により、片面シソ葉を食酢に浸漬した際のロズマリン酸の溶出と分解に関する知見が得られたが、シソ酢の加熱処理によるロズマリン酸の分解については不明であった。そこで、産業開発公社で試作した片面シソ酢を用いて、加熱処理条件とロズマリン酸の減少について検討を行った。結果を図4に示す。また、開発された片面シソ酢(製品)を写真5に示す。

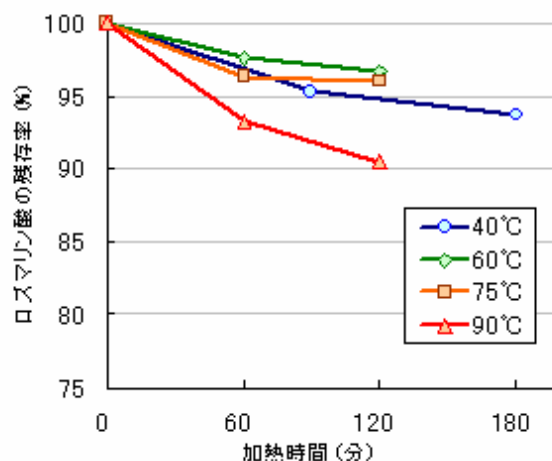


図4 シソ酢の加熱処理によるロズマリン酸の残存率



写真5 市販されている片面シソ酢(産業開発公社)

加熱試験の結果、90℃の加熱処理では達温から60分で93%、120分では91%の残存率と、加熱処理によりロズマリン酸の減少が認められた。一方、60℃および75℃での加熱処理では、120分の処理でも95%以上の残存率であった。なお、40℃での加熱処理（保温に等しい）では、時間経過によるロズマリン酸の残存率が60℃での温度処理よりも低く、興味深い。

今回の研究ではシソ酢に含まれる酵素や微生物についての検討を行ってはいないため機序は不明であるが、分解に関与する酵素等が失活しない温度帯での処理は、むしろロズマリン酸の分解を進める可能性がある。

表2に示したとおり、シソ酢を加熱処理せずに2ヶ月間保存し、なおかつ、85℃10分の加熱処理を行った試作品では含有するロズマリン酸が1/3程度まで減少していたが、本検討の結果より、現実的な加熱処理条件でのロズマリン酸の減少率は、加熱処理の前後で10%を超えない。

したがって、図4に示した結果と同様に、片面シソ酢の試作品に認められたロズマリン酸の減少は、非加熱での保存期間中にロズマリン酸の分解が進んだことで引き起こされたと考えてよい。

ただし、本研究では加熱処理を施されたシソ酢の保存経過については検討していないため、加熱処理によってロズマリン酸の分解が抑制できるかは不明である。市販化あたりは保存・流通段階の成分推移について改めて検証しておく必要があると考える。

なお、シソ酢はpHが3程度と酸性である為、100℃近い高温での処理が必要とは考えにくく、有機酸や有用成分の損失を避けるためにも可能な限り低い温度帯で加熱殺菌を行うのが望ましい。

実製造に際しての殺菌条件の設定は、有害微生物の殺菌と保存性に影響する一般細菌の低減が第一目的であるが、有用成分の保持をバランス良く満たす加熱処理条件については検討の余地がある。

4 結 言

4-1 成果要約

本研究では、川井村で製造されているシソエキス製品に含まれるロズマリン酸の定量を行い、各製品のロズマリン酸含有量を明らかにした。

また、開発中のシソ酢で認められていたロズマリン酸の減少について試験室レベルで検証を行い、非加熱で行ったシソ酢の保存が原因であるとの知見を得た。

4-2 謝 辞

本研究の実施にあたり、川井村および（社）川井村産業開発公社より複数の製品、分析試料をご提供頂きました。感謝申し上げます。

文 献

- 1) 越阪部奈緒美, バイオサイエンスとインダストリー, 62 (11), p743-744 (2004)
- 2) 古茂田恵美子, 綿貫知彦, 東京家政大学研究紀要2 自然科学, 47, p7-12 (2007)