

機能的近赤外分光法を用いた風味評価法に関する研究

大塚 貴子, 隅谷 栄伸, 井上 正雄*, 山口 由衣*

Study on Flavor Evaluation Using Functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS)

Takako Ootsuka, Hidenobu Sumitani, Masao Inoue* and Yui Yamaguchi*

The feasibility of flavor evaluation using functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) was tested for a potential application to organoleptic test. The fNIRS system was used to measure hemodynamics (Hb-signals) on the surface of temporal. The Hb-signals were analyzed around the temple areas. 4 High-sensitive participants and 5 low-sensitive participants of sweet taste were selected from 24 healthy staff of our laboratory by using some sensory tests. The Hb-signals of high sensitive group tended to increase with increasing sugar amount in the case of tasting the black tea with sugar (sugar concentration; 0%, 1%, 3% and 6%). The response values of high sensitive group were larger than those of low sensitive group. The amount of expelled saliva was investigated during tasting water or 6% sugar aqueous solution. The amount of expelled saliva of high sensitive group was larger than that of low sensitive group. It suggested that the amount of expelled saliva related to the human taste sensitivity. Although it was difficult to quantify the taste stimuli by fNIRS, these results showed that fNIRS could be used as a judgment of the taste sensitivity.

Key words: functional near-infrared spectroscopy (fNIRS), saliva, sweet taste, organoleptic test

食品の風味評価には、ヒトの感覚を用いた官能評価が主に用いられている。官能評価はヒトの嗜好を加味して食品を丸ごと評価できる優れた方法であるが、人材の確保と育成に課題がある。また、被験者の意図的な判断が含まれる可能性や、感情や体調に左右される可能性があり、これらが客観性に影響を及ぼすため、官能評価法を補完する方法が求められている。本研究では風味の定量化を目的として、生体計測技術の利用可能性を検討している。生体計測の方法として、近年、脳神経・精神医学、スポーツ医学、神経リハビリテーション、生理心理学、情報処理学などの様々な分野で使用されている、機能的近赤外光脳機能分光法 (fNIRS)¹⁾ を検討した。本方法は、脳血流中のヘモグロビンの酸素化状態により、波長と吸光係数が異なることを利用し、脳活動状態を調べるものである。波長 700-900nm の近赤外光を組織に照射することにより、透過光、散乱光から酸素化ヘモグロビン (oxyHb) および脱酸素化ヘモグロビン (deoxyHb) の濃度変化を計測できる。ここでいう濃度とは光路における見かけ上の濃度のことを指す。利点として、頭にプローブを装着しながら測定ができることから、他の脳機能測定装置 (MRI など) に比べて測定時の身体的な束縛が少ないことが挙げられる。脳活動の働きを明らかにしようという試みは摂食行動や風味に関しても行われつつあり、味の意図的記録に関する脳活動の研究において、右前頭前野腹側部、左前頭前野腹側部にて賦活が見られたとの報告がある^{2) 3)}。また、大脳前頭外側部において、香料の添加により味の増強効果が報告されてい

る⁴⁾。近赤外光による脳機能イメージング法では、大脳皮質の味覚野を直接測定することはできない。その神経活動によって間接的に変化する比較的頭皮に近い前頭葉や側頭葉の活性を調べることになる⁵⁾。食品の風味評価においては、脳科学は未知の分野であり、測定方法や解析手法が手探りの状態であること、上述の前頭前野腹側部は顎や目等の動きに関連する大きな筋肉が存在することから、得られた値に対する評価には十分な注意が必要となる。これまでの研究において、風味に関連する脳賦活部位が明らかになってきている。しかし、嗜好の判別や味の違いによる賦活変化の程度については未開拓の分野である。

イタリアのグループが fMRI を用いて、ソムリエと一般人がワインを味わっているときの脳の活動を比べた。両者とも一次、二次味覚野の活動が高まっていたが、これに加えてソムリエでは、左右の前頭前野の活動が、一般人では扁桃体などの情動系の活動が高まっていた。これによって、ソムリエの特殊なワイン判別能力が、高度な認知処理に基づくことが示唆されている⁶⁾。本研究では、風味評価における自然な姿勢での測定が可能な fNIRS を利用することにより、被験者の味識別能力の違いが脳活動に及ぼす影響を fMRI より簡易的に捉えられるのではないかと考え、甘味刺激が脳に及ぼす影響を検討した。

また、前頭葉腹側部の fNIRS 計測は、唾液の分泌量の影響を受ける可能性が示唆され⁷⁾、ヒトは、味の有無や種類の違いなどの刺激により唾液分泌が促進されるという報告⁸⁾ もあることから、本試験の被験者においても甘味刺激

* 株式会社島津製作所

が唾液の分泌に影響を与えたか検討した。

実験方法

1. 甘味感度による被験者の選抜

実験前に実験目的、実験内容、測定機器などについて詳しく説明し、同意を得た26～60歳までの健常成人男女24名(当所員:男性16名,女性8名)を対象に官能評価試験を行い、甘味感度が高い被験者と、低い被験者を選抜した。官能評価パネルの選定は、古川の5味識別テスト及び濃度差識別テスト⁹⁾にて行った。実験30分前から、水以外の飲食・喫煙を禁止した。

(1) 5味識別テスト

5種類の基本味(甘味, 塩味, 酸味, 苦味, うま味)を代表する呈味物質として砂糖(グラニュー糖, 日新製糖製), 食塩(財団法人塩事業センター製), 酒石酸(和光純薬製), カフェイン(和光純薬製), 旨味調味料(成分:L-グルタミン酸ナトリウム97.5%(w/v), 5'-リボヌクレオチドナトリウム2.5%(w/v), AJINOMOTO製)を用いて感度テストを行った。表1に示した5種類の希薄溶液各1個及び水(市販ミネラルウォーター:サントリー「天然水」)の入ったコップ3個の合計8個のコップの中から5味を選択し、用紙に回答させた。

表1 5味識別テスト用の試料濃度⁹⁾

味の種類	溶質	% (w/v)
甘味	ショ糖	0.40
塩味	食塩	0.13
酸味	酒石酸	0.005
苦味	カフェイン	0.030
うま味	市販旨味調味料*	0.050

*市販旨味調味料(成分:L-グルタミン酸ナトリウム97.5%, 5'-リボヌクレオチドナトリウム2.5%)

(2) 濃度差識別テスト

甘味濃度の異なる2種類の溶液を比較し、味の強い方を選択することで濃度差識別能力を判定した。甘味について、濃度差が僅少のショ糖液を3種類調製し、被験者が2点を比較して味の強い方を選択する2点識別法を行った。1回目に濃度差が大きい試料, 2回目に差が小さい試料を用いて試験を行った。甘味(ショ糖)の試料濃度を表2に示す。

表2 甘味(ショ糖)の濃度差識別テスト試料濃度⁹⁾

	A	C	濃度比 C/A
	% (w/v)	% (w/v)	
1回目	5.0	5.5	1.1
2回目	5.0	5.25	1.05

(3) 被験者の選抜基準

甘味感度の選抜基準を表3に示す。5味識別テストと濃

度差識別テストで、共に甘味を識別出来た甘味感度の高い被験者5名(男性2名,女性3名)と、5味識別テストと濃度差識別テストの濃度差が小さい2回目の試料で識別が出来なかった甘味感度の低い被験者6名(男性6名)を、それぞれ選抜した。ただし、fNIRS試験の課題実施中において、口の閉開や頭部の傾きなどの体動が強く見られた2名(甘味感度の高い被験者1名,甘味感度の低い被験者1名)の測定データを除外した。

表3 甘味感度による被験者の選抜基準

甘味感度		高	低
(1) 5味識別テスト		○(正)	×(誤)
(2) 濃度差識別テスト	1回目(濃度差:大)	○(正)	○(正)
	2回目(濃度差:小)	○(正)	×(誤)

2. 近赤外分光法による脳機能計測

(1) 計測方法

fNIRSの計測には、fNIRS計測装置FOIRE-3000(島津製作所製)を用いた。測定部位は、岡本らが味覚の記録において左右前頭前野腹側部に活性がみられたと報告²⁾³⁾していることから、前頭葉及び左右側頭葉とした。片側に付き、照射プローブ8本と検出プローブ7本を3×5の格子状に配置し、22ch(両側44ch)を同時計測した。国際式10-20法に準拠し、検出プローブR3をT4, R14をT3に対応させて装着した(図1)。試験は室温を25℃に設定した官能評価室で行い、外音が入らない様注意した。〈安静①30秒間〉-〈課題15秒間〉-〈安静②30秒間〉の1サイクル75秒間を8回繰り返し、1試験とした。試料温度は常温で、ストローを付けたシリンジにて試料8mLを与えた。安静①の直前にストローを口に含ませ、課題開始時に試料が口内に入るように注入した。試料は飲み込まずに口内に留め、味わうこととした。課題終了後吐出し、再びストロー付きシリンジで口内に水8mLを注ぎ、口内をすすいだ。課題中は閉眼し、試料中の甘味について強度と嗜好を思考した。また、顔表撮影用のビデオカメラを配置しPCにて記録し、課題中に体動などが見られた被験者の測定データを除外した。

(2) 試料の調製

i) 砂糖を添加した紅茶

甘味料を調製して飲用する試料として、紅茶を選んだ。紅茶は、市販ティーバッグ紅茶を使用し、1袋(4g)/100mLの割合で紅茶を100℃の熱湯で1分間抽出した。紅茶が温かい内に砂糖を添加し、0, 1, 3, 6%(w/v)の甘味濃度の異なる試料を4種類調製した。その後、10分間水冷し、25℃の恒温槽にて一定に保った。なお、試料の糖度は、屈折率糖度計(ATAGO製, PR-1)にて計測し、確認した。

ii) 砂糖水

水と砂糖水を試料として試験を行った。水は市販のペットボトル詰飲料水(サントリー「天然水」)を用いた。砂

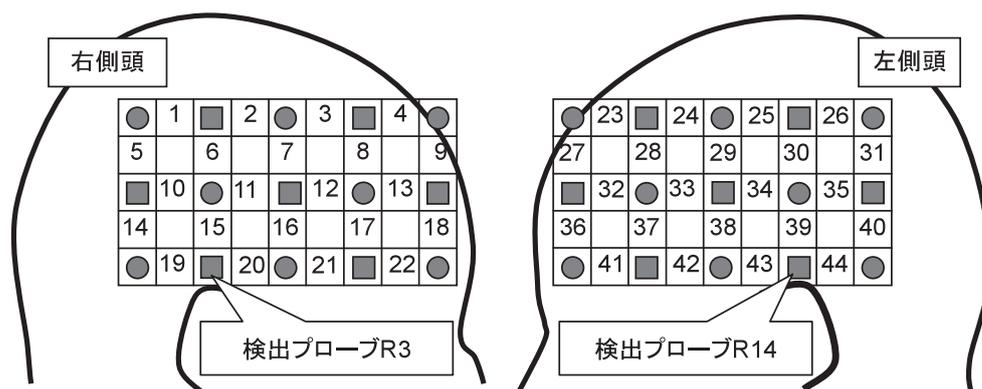


図1 fNIRS チャンネル配置図

近赤外光の照射プローブを丸●, 検出プローブを■, 測定チャンネルを数字で表記。
国際式 10-20 法に準拠し, T3 を検出プローブ R14, T4 を検出プローブ R3 に合わせた。

糖水は水にグラニュー糖を添加し, 0, 1, 3, 6% (w/v) の 4 種類の砂糖水を調製した。なお, 試料の糖度は, 屈折率糖度計 (ATAGO 製, PR-1) にて確認した。

(3) 提示方法

被験者に紅茶と砂糖水の 2 種類の呈示試験を行った。紅茶を用いた試験では, 砂糖添加量を段階的に増加させる試験 (以下 Tea 1) と, 甘味を段階的に減少させる試験 (以下 Tea 2) を行った。砂糖水を用いた試験では, 甘味を段階的に増加させた試験 (以下 Sugar A) と, 甘味濃度が一定の試料を繰り返し提示した試験 (以下 Sugar B), 甘味を段階的に減少させた試験 (以下 Sugar C) の 3 種類の試験を行った。Tea 1 と Tea 2 は同日に連続して行い, Sugar A, B, C は別の日に連続して行った。

(4) 計算方法

岡本ら²⁾³⁾は, 茶の味を意図的に記録するとき前頭前野が働いていることを明らかにしていることから, 前頭前野の各 ch の oxyHb 濃度長変化を観察した。測定部位は図 1 に示す。代表して, 20, 43 ch (左右側頭) の結果を示す。oxyHb 濃度長変化は, 課題 15 秒間の平均値とした。1 試験につき 4 回計測した水試飲時の測定値をコントロールとし, その平均値を砂糖水試飲時の測定値から減算した。

3. 唾液分泌量の計測

水および 6% 砂糖水を比較試料として, 唾液分泌量を調べた。試飲カップに入った試料 10 g を 15 秒間口に含み, 飲み込まずに味わった後, 元の容器に吐出し, 口に含む前後の重量変化を味刺激における唾液分泌量とした。水 5 回, 6% 砂糖水 5 回をランダムに提示し, 唾液分泌量の平均を算出した。

結果および考察

1. 砂糖添加量の違いが oxyHb 濃度長変化に及ぼす影響

(1) 砂糖を添加した紅茶と oxyHb 濃度長変化

甘味を段階的に増加させた試験 Tea 1 の結果を図 2 に示す。20 ch, 43 ch で共通して, 砂糖を添加した紅茶の方が砂糖 0% 紅茶より, oxyHb 濃度長変化が大きかった。甘味感度の高い被験者では, 砂糖 0% 紅茶より, 砂糖 1% 紅茶の方が oxyHb 濃度長変化が大きく, 他の試料でも, 砂糖 1% 紅茶より砂糖 3% 紅茶, 砂糖 3% 紅茶より砂糖 6% 紅茶の方が oxyHb 濃度長変化が大きいの傾向がみられた。甘味感度の低い被験者では, 砂糖 1% 紅茶で砂糖 0% 紅茶より oxyHb 濃度長変化が大きくなる傾向が見られたが, 砂糖 3% 紅茶や砂糖 6% 紅茶では oxyHb 濃度長変化が大きくなる傾向は見られなかった。甘味感度の高い被験者で, 紅茶に対する砂糖の添加量と oxyHb 濃度長変化の間に相関関係が見られることから, oxyHb 濃度長変化は, 被験者の甘味に対する感度の影響を受けるのではないかと考えた。

続いて, 甘味を段階的に減少させた試験 Tea 2 を行った結果を図 3 に示す。甘味感度の高い被験者の oxyHb 濃度長変化は, 砂糖 6% 紅茶で大きくなり, 砂糖 3% 紅茶あるいは砂糖 1% 紅茶で小さくなった後, 砂糖 0% 紅茶で再び大きくなる傾向が見られた。甘味感度の低い被験者の oxyHb 濃度長変化は, 砂糖の添加量に関わらず, 増減を繰り返した。甘味感度の高い被験者で, 試験 Tea1 で砂糖添加量と oxyHb 濃度長変化の間に相関がみられたのに対し, 試験 Tea2 では, 相関がみられなかった。その理由として, 渋味による甘味のマスク効果が考えられる。試験 Tea2 は, 試験 Tea1 の後に行った。2 分程の休憩を挟み, 口を水ですすいたが, 渋味が舌に残った状態で Tea2 を行った可能性も考えられた。また, 試験 Tea2 では, 最初に砂糖 6% 紅茶を口に含んだことにより, 口内が高濃度の甘味にさらされ麻痺した可能性もある。

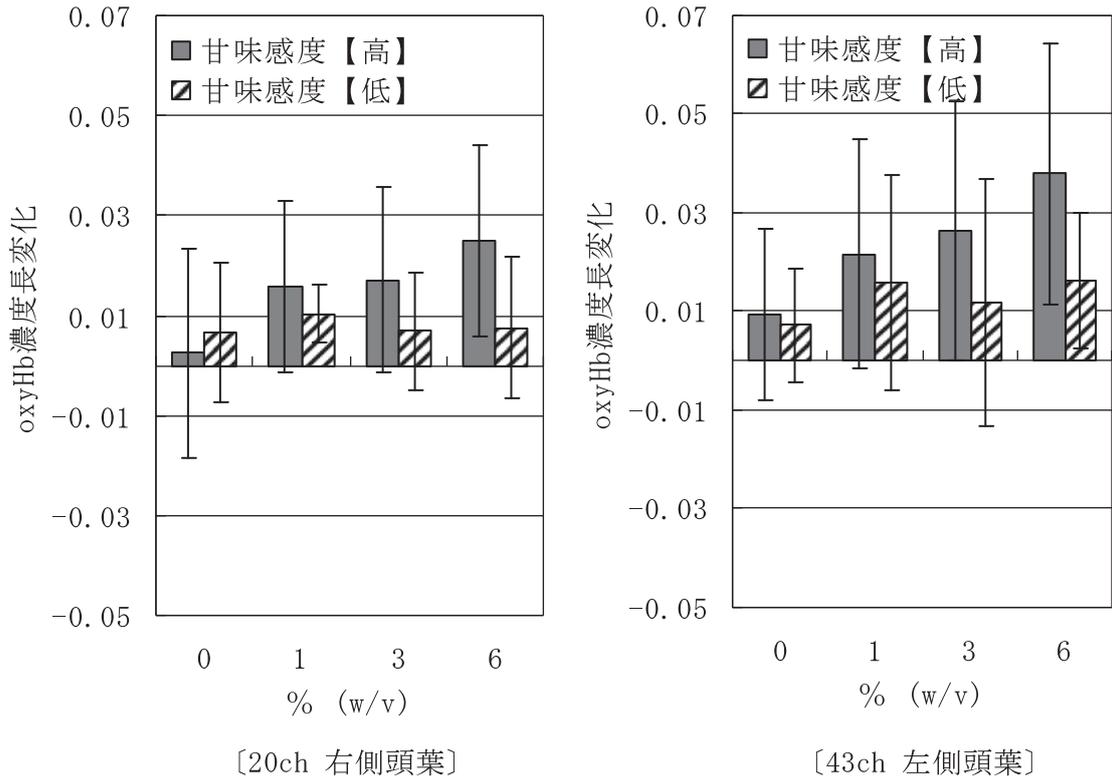


図2 試験 Tea 1; 砂糖添加量増加試験 (試料呈示順: 0% → 1% → 3% → 6%) の oxyHb 濃度長変化

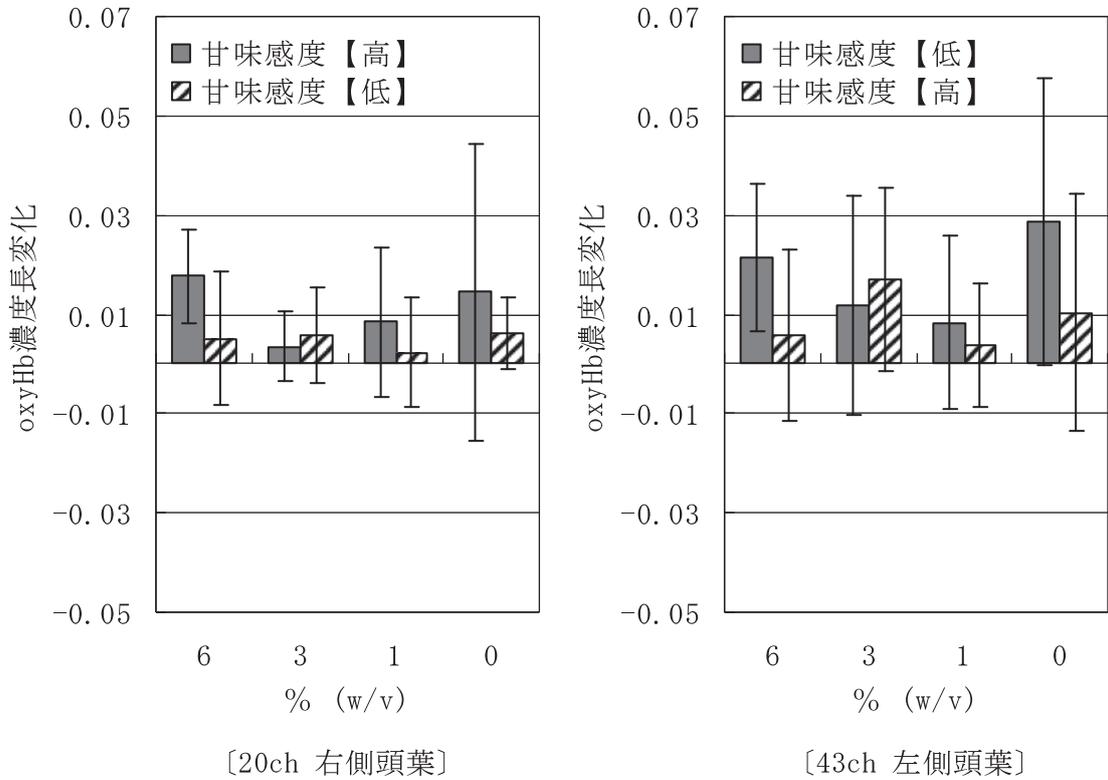


図3 Tea 2; 砂糖添加量増加試験 (試料呈示順: 6% → 3% → 1% → 0%) の oxyHb 濃度長変化

(2) 砂糖水と oxyHb 濃度長変化

甘味を段階的に増加させた試験 Sugar A の結果を図 4 に示す。甘味感度の高い被験者で、20ch は砂糖添加量が 0% と 1% で oxyHb 濃度長変化が大きく、3% で極端に下がるという結果で、もう一方の 43 ch ではその傾向が無かった。両 ch において砂糖添加量が 0% から 1% に増加した時と 3% から 6% に増加した時に僅かながらに oxyHb 濃度長変化が大きくなっており、左右で同様の変化が認められたが、ばらつきが大きく、Teal と同様の oxyHb 濃度長変化と砂糖添加量との相関を得ることは出来なかった。一方、甘味感度の低い被験者では、砂糖添加量と oxyHb 濃度長変化の間に相関関係はみられず、変化幅自体が甘味感度の高い被験者より小さい傾向がみられた。

3% 砂糖水を 4 回提示した試験 Sugar B の結果を図 5 に示す。甘味感度の高い被験者、低い被験者どちらにおいても oxyHb 濃度長変化にばらつきが多いことから、同じ試料を提示しても同じ反応を示すとは限らず、順序効果も確認できなかった。

甘味を段階的に減少させた試験 Sugar C の結果を図 6 に示す。甘味感度の高い被験者で、20 ch では砂糖添加量が減少するのに比例して oxyHb 濃度長変化が小さくなる傾向が見られたが、43 ch では見られなかった。また、甘味感度の低い被験者では、砂糖添加量と oxyHb 濃度長変化の間に相関関係はみられなかった。

Sugar A, B, C 試験で、各試験の oxyHb 濃度長変化の最大値と最小値の差を甘味感度に分類して図 7 に示した。

甘味感度の高い被験者が、甘味感度の低い被験者よりも oxyHb 濃度長変化の変化幅が大きい可能性が示唆された。

本研究では、oxyHb 濃度長変化から「思考により生じる神経活動」の負荷量を相対的に捉えられると仮定している。fNIRS 計測は、思考によってもたらされた負荷を測定する方法で、被験者の思考やストレスの影響を大きく受ける。そのため、砂糖水の様な単純な試料を用いた場合でも、同一試料の提示による安定したデータを得るのは難しい。生体信号は、様々な要因が複雑に絡まり生じることから、砂糖が増えたから反応が大きくなるという単純な応答を示すわけではないことが確認された。

2. 唾液分泌量と甘味感度の関係

本試験の測定部位である前頭葉腹側部の fNIRS 計測では、唾液分泌の影響を受ける可能性を Sato らが報告している⁷⁾。ヒトは味の有無や種類の違いにより唾液の分泌が促進されるという報告⁸⁾もあることから、本試験においても甘味感度の高い被験者 4 名と、低い被験者 5 名の唾液分泌量を比較した。結果を図 8 に示す。甘味感度の高い被験者、低い被験者どちらにおいても、水と 6% 砂糖水の間で有意な差は見られなかった。一方、被験者の甘味感度の高低で比較すると、水と 6% 砂糖水どちらの場合でも、甘味感度の高い被験者の方が、低い被験者より有意に唾液分泌量が多かった。fNIRS 計測では、甘味感度の高い被験者の方が、低い被験者より oxyHb 濃度長変化の変化幅が大きいことから、fNIRS 計測に唾液量が影響している可能

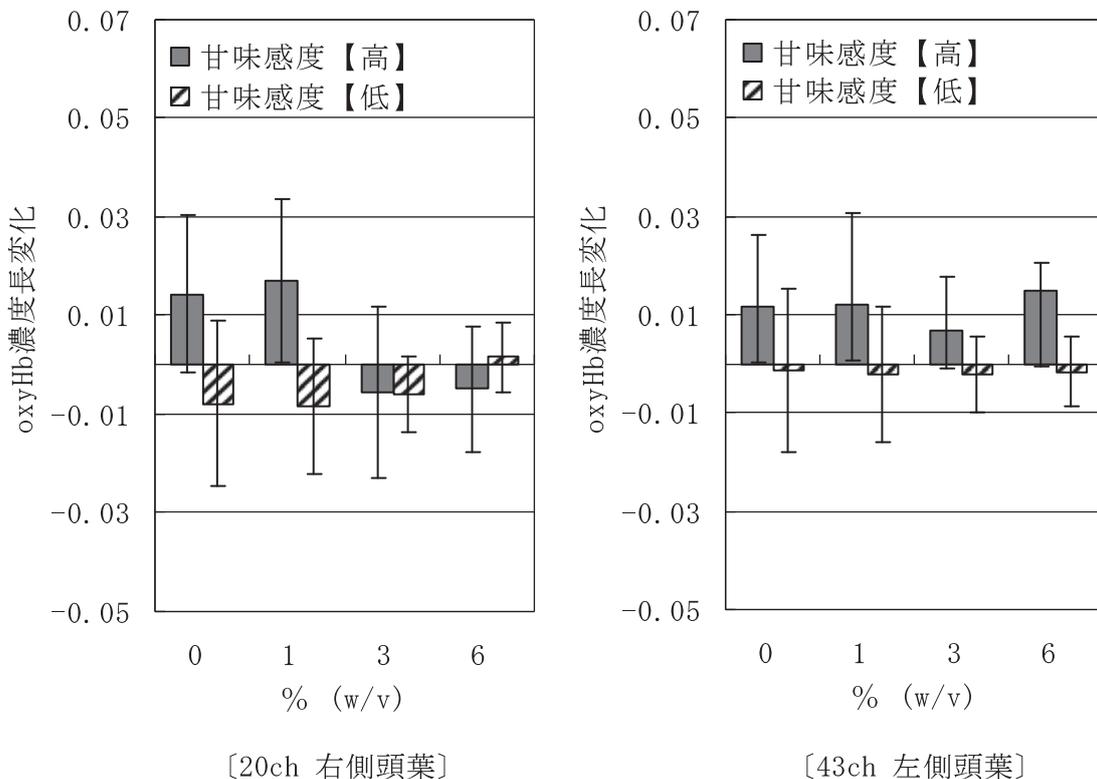


図 4 Sugar A; 砂糖添加量増加試験 (試料呈示順: 0% → 1% → 3% → 6%) の oxyHb 濃度長変化

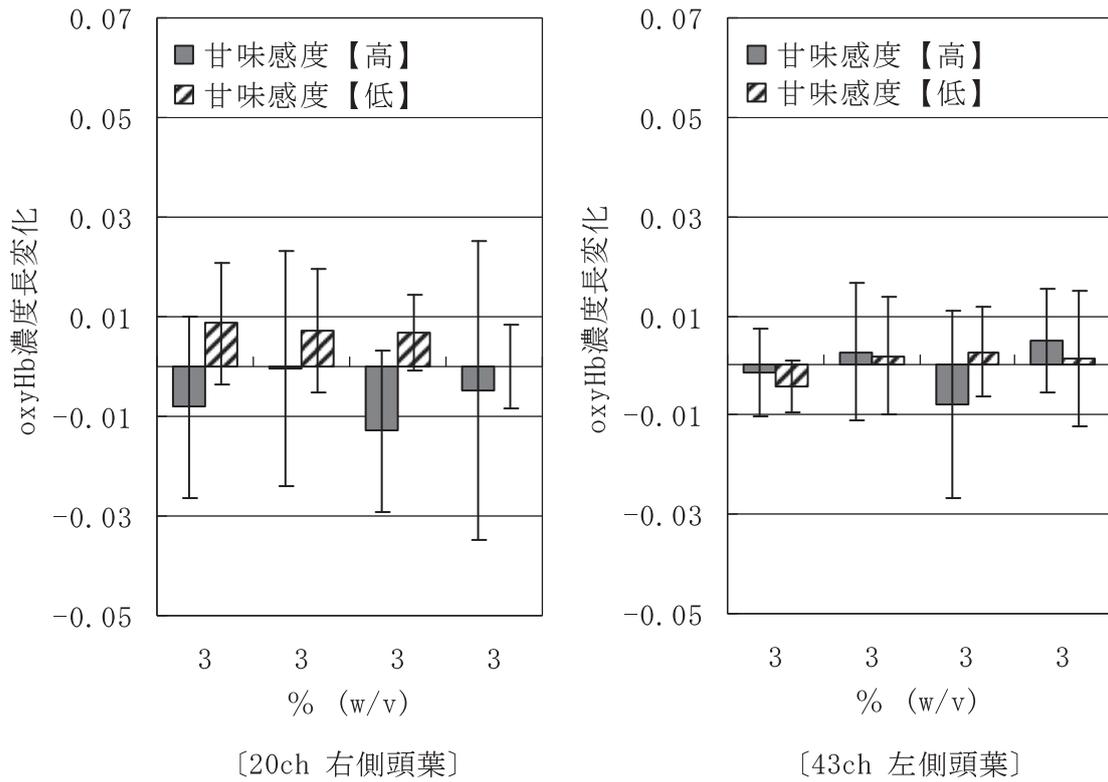


図5 Sugar B; 砂糖添加量一定試験 (試料呈示順: 3% → 3% → 3% → 3%) の oxyHb 濃度長変化

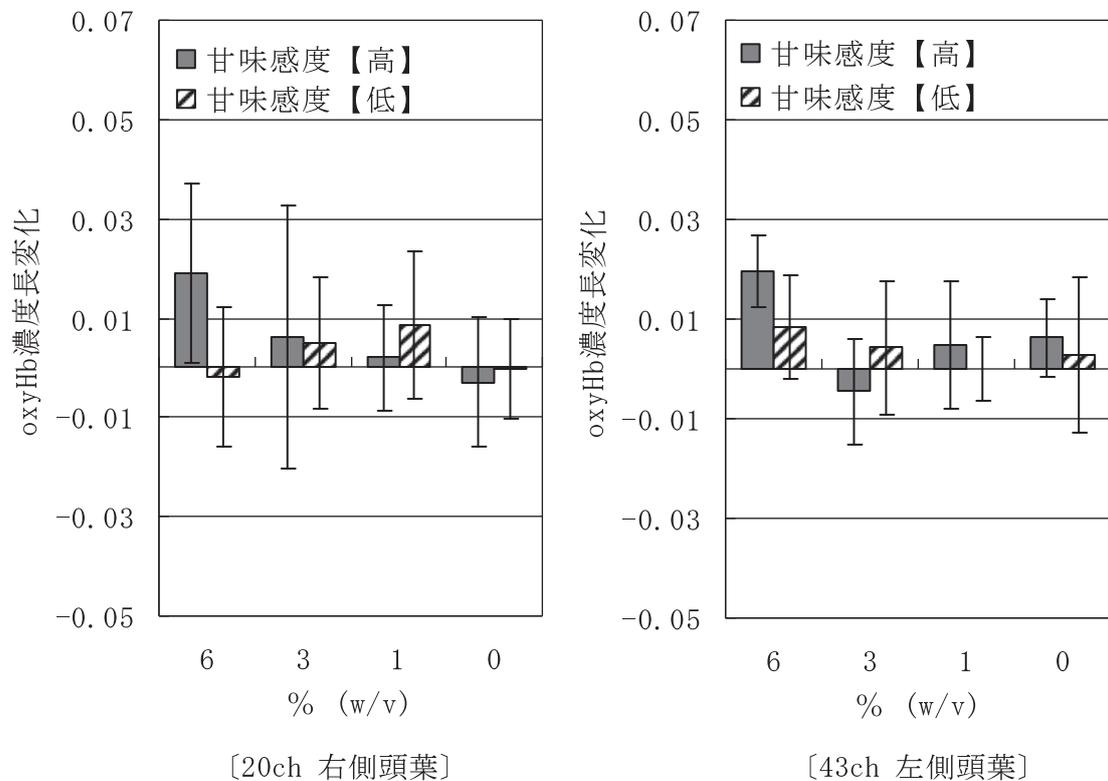


図6 Sugar C; 砂糖添加量減少試験 (試料呈示順: 6% → 3% → 1% → 0%) oxyHb 濃度長変化

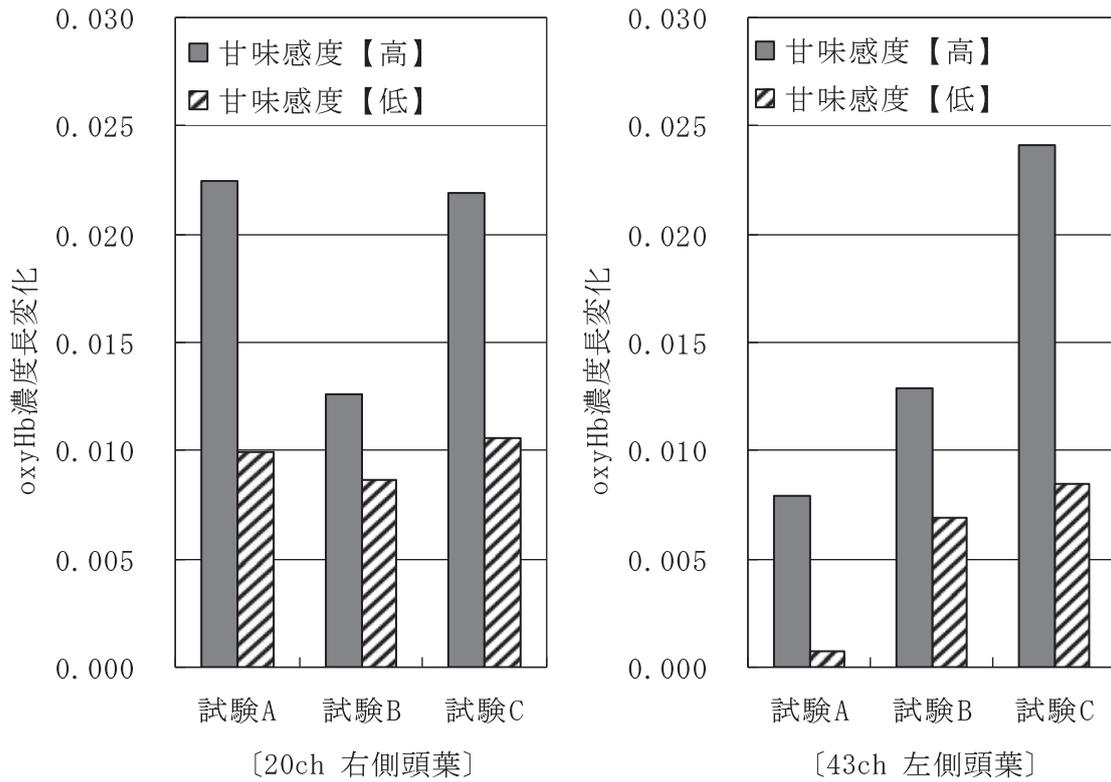


図7 Sugar A, B, C 試験における oxyHb 濃度長変化の変化幅

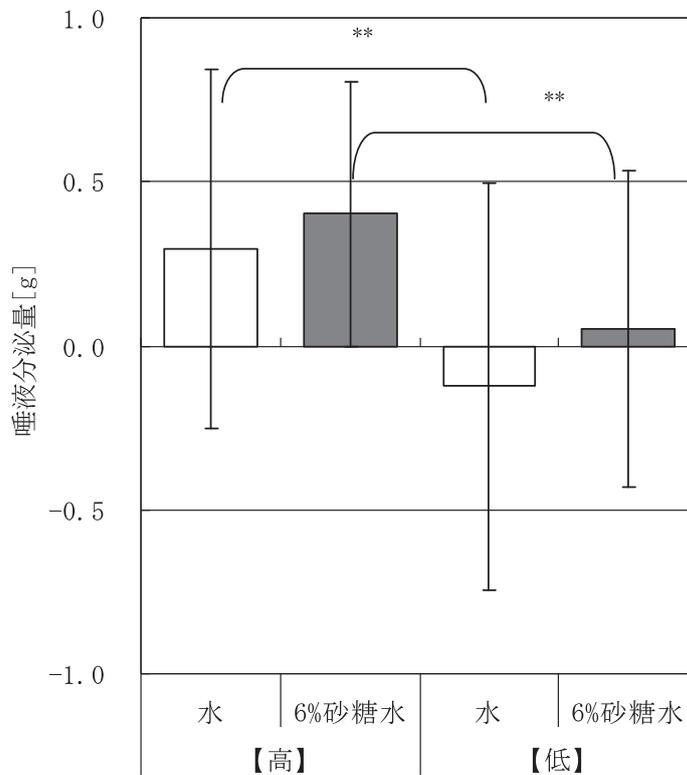


図8 砂糖水が唾液分泌量に及ぼす影響

縦軸に唾液分泌量±標準偏差 (g) を示した。横軸は、【高】：甘味感度の高い被験者 (n=4), 【低】：甘味感度の低い被験者 (n=5)
 ** = 甘味感度の高い被験者と甘味感度の低い被験者の唾液分泌量には、有意差あり (T-test, p<0.01)

性が示唆された。言い換えると、唾液の分泌量は、味覚感度の影響を受ける可能性を示唆している。甘味感度が高い被験者の試験結果を見ると、紅茶の試験 Tea 1 で徐々に oxyHb 濃度長変化が大きくなっていく現象は、甘味が増し唾液の分泌量が増えた結果と推定する。逆に Tea 2 では、最初の甘味で唾液の分泌量が大きくなりすぎて、その後分泌が減ったと予想する。Sugar A, C 試験においても最初の砂糖水試飲で唾液の分泌が大きくなった可能性が考えられる。ただし、今回解析の対象とした部位 (20 ch と 43 ch) は、唾液を分泌する耳下腺よりも上にあり、fNIRS よりも空間分解能が高い fMRI (機能的磁気共鳴画像法) を用いた研究¹⁰⁾ で報告されている唾液産生を制御する領域とは離れた部位であることから、今回の fNIRS 信号が甘味刺激によるものか、唾液分泌の刺激によるものかを結論付けることは現時点では難しく、今後の課題である。

まとめ

fNIRS を利用した食品の風味評価の可能性を検討するため、人の甘味感度が甘味刺激による fNIRS 応答に与える影響を調べた。24 人の被験者のデータから、甘味感度の高い被験者 4 名と感度が低い被験者 5 名のデータを選んだ。砂糖を添加した紅茶の試験では、甘味感度の高い被験者で、砂糖の添加量が増加するに従い、oxyHb 濃度長変化が大きくなる傾向が見られたが、定量性に乏しかった。砂糖水の試験では、砂糖添加量と oxyHb 濃度長変化に正の相関が認められなかった。しかし、甘味感度の高い被験者の方が、甘味感度の低い被験者より oxyHb 濃度長変化の変化幅が大きい可能性が示唆された。砂糖水を呈示した時の唾液分泌量を計測したところ、甘味感度の高い被験者の方が甘味感度の低い被験者より多かったことから、人の唾液分泌量と甘味感度に相関がある可能性が示唆された。fNIRS 計測で味の刺激量を定量することは難しい。しかし、先行研究にあるように fNIRS 計測値が唾液腺活動の影響を受けていると仮定すると、fNIRS によってヒトの味覚感度を判定できる可能性がある。

参考文献

- 1) 壇一平太, NIRS による味嗅覚研究の現状と可能性, *FFI JOURNAL*, **216**, 129-138 (2011).
- 2) Okamoto, M. and Dan, I., Function near-infrared spectroscopy for human brain mapping of taste-related cognitive functions, *Journal of Bioscience and bioengineering*, **103**, 207-215 (2007).
- 3) Okamoto, M., Dan, H., Clowney, L., Yamaguchi Y. and Dan, I., Activation in ventro-lateral prefrontal cortex during the act of tasting: an fNIRS study, *Neuroscience Letters*, **451**, 129-133 (2009).
- 4) 藤本文乃, 大脳前頭外側部の甘味応答に対するにおける効果 —オプティカルイメージングを用いた香料の

- 開発 (6) 一, 日本味と匂学会誌, **15**, 551-552 (2008).
- 5) 灰田宗孝, 最新脳機能イメージング 近赤外分光法 (NIRS) 信号の意味, 映像情報 *Industrial*, **41**, 63-68 (2009).
- 6) Castriota-Scanderbega, A., Hagberg, G. E., Cerasa, A., Committeri, G., Galati, G., Patria, F., Pitzalis, S., Caltagirone, C. and Frackowiak, R., The appreciation of wine by sommeliers: a functional magnetic resonance study of sensory integration, *NeuroImage*, **25**, 570-578 (2005).
- 7) Sato, H., Obata, A. N., Moda, I., Ozaki, K., Yasuhara, T., Yamamoto, Y., Kiguchi, M., Maki, A., Kubota, K. and Koizumi, H., Application of near-infrared spectroscopy to measurement of hemodynamic signals accompanying stimulated saliva secretion, *Journal of Biomedical Optics*, **16**, 047002 (2011).
- 8) 笠原泰夫, 真貝富夫, 鈴木 隆, 堀内 博, 松尾龍二, 森本俊文, 新歯科衛生士教本生理学, 医歯薬出版株式会社, pp.146-57 (1995).
- 9) 古川秀子, 2章パネルの選定と管理・運営, おいしさを測る—食品官能検査の実際—, 幸書房, pp.5-18 (1994).
- 10) Deng, G., Hou, B. L., Holodny, A. I. and Cassileth, B. R., Functional magnetic resonance imaging (fMRI) changes and saliva production associated with acupuncture at LI-2 acupuncture point: a randomized controlled study, *BMC Complementary and Alternative Medicine* **8:37** (2008), (<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/8/37>).