

# 冷凍カタクチイワシの加工条件の検討（第1報）

田村 章, 松岡 博美

冷凍カタクチイワシの加工条件を検討するため、今年度は、サイズ・漁獲時期の異なる冷凍イワシの EPA（エイコサペンタエン酸）・DHA（ドコサヘキサエン酸）含有量を測定し、さらに、冷凍での保存試験を実施した。その結果、同一時期でのカタクチイワシは、サイズが大きい程 EPA・DHA の含有量は多かったが、収穫時期により、EPA・DHA の含有量に差異があった。また、冷凍での保存試験では、保存中に EPA・DHA とともに減少していた。

## 1 緒言

本県は、全国有数の「伊吹いりこ」の産地であるが、近年乾燥に不向きな脂肪分が過剰なカタクチイワシが多く漁獲され問題となっている。これらは、生食には適しているが、鮮度低下が速く鮮魚としての流通が困難なため冷凍による販売が期待されている。

そこで本研究では、カタクチイワシを使った冷凍品の品質、特に EPA・DHA について評価し、その結果を踏まえた適切な冷凍・解凍・その他の加工条件を確立して提案することを目的とした。今年度は、サイズ・漁獲時期の異なる冷凍カタクチイワシの EPA・DHA 含有量を測定し、さらに、冷凍保存中にカタクチイワシの EPA・DHA 含有量減少したとの報告<sup>1)</sup>があることから、冷凍での保存試験を実施し確認することとした。

## 2 実験方法

### 2.1 供試試料

水産試験場で飼育しているカタクチイワシを用いた。

### 2.2 サイズ・漁獲時期

令和2年6月、8月に試料採取した10尾のカタクチイワシのサイズを計測し、大（5尾）と小（5尾）の2つのグループに分けた。なお、試料採取していた水槽は、10月に全滅してしまい試料採取不可となったため、別の水槽から5尾を試料採取した。

### 2.3 EPA・DHA の測定用試料の調製

- 水産試験場にて試料採取したカタクチイワシのサイズ大と小をフリーズバックに入れ、 $-40^{\circ}\text{C}$ で2時間以上冷凍した。
- 冷凍したカタクチイワシの大と小をフードプロセッサーで粉碎し、大小一部をそれぞれシャーレに入れ、重量を測定し、 $-20^{\circ}\text{C}$ で一昼夜保存した。
- シャーレを凍結乾燥機に一昼夜入れ、凍結乾燥した後、大小の重量を測定した。
- 大小の凍結乾燥物を乳鉢で粉碎し、約200mgを小試験管に2本ずつ入れた。
- 大小の凍結乾燥物の入った1本それぞれに、EPA・DHA の標準物質  $1000\mu\text{g}/\text{ml}$  を0.5ml入れ、さらに、脂肪酸メチル化キット（ナカライ

テスク(株)製の抽出液を1.5ml入れた。

- 残りの大小の凍結乾燥物の入った1本ずつに、脂肪酸メチル化キットの抽出液を2ml入れた。
- 上記の抽出液の入った小試験管をボルテックスミキサーで攪拌し、脂肪酸を抽出した。
- それぞれの小試験管の上澄み液0.5mlを別の小試験管に入れた。
- また、別の小試験管に EPA・DHA の標準物質  $1000\mu\text{g}/\text{ml}$  を0.5ml入れた。
- 上記の抽出液および標準液0.5ml入った小試験管を真空乾固した。
- 真空乾固した小試験管に脂肪酸メチル化キットを用いて、メチル化した。
- 脂肪酸メチル化精製キット（ナカライテスク(株)製）を用いて、精製した。
- FID 付ガスクロマトグラフ（島津製作所製 GC-2010Plus）を用いて下記の条件にて分析した。

### 2.4 分析条件

分析条件

カラム：BPX90 長さ 100m × 0.25mm, 0.25 $\mu\text{m}$   
(SGE Analytical Science 社)  
注入温度： $250^{\circ}\text{C}$   
カラム温度： $120^{\circ}\text{C}$  (2min) - ( $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) -  
 $250^{\circ}\text{C}$  (10min)  
注入モード：スプリット 15 : 1  
キャリアガス：He  
流量：線速度 20cm/s  
注入量：1 $\mu\text{l}$

### 2.5 保存試験

6月に試料採取したカタクチイワシを凍結乾燥して $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した試料を、2週間後、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヶ月後まで EPA・DHA を測定した。また、生カタクチイワシのまま $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した試料を同時期から9月まで1ヶ月毎に EPA・DHA を測定した。

## 3 結果および考察

### 3.1 サイズと収穫時期の違いによる EPA・DHA 含有量の変動

水産試験場で飼育した収穫対象のカタクチイワシは、10月に全滅したため、6月と8月にサンプリングした試料と10月にサンプリングした稚魚で EPA・

DHA 含有量を比較した。サイズは、5 ひきの平均で、6月の大きい方は126.2mm、小さい方は110.6mm、8月の大きい方は131.6mm、小さい方は116.4mm、10月の稚魚は63.9mmであった。サイズと収穫時期のEPA含有量の変動を図1に、DHA含有量の変動を図2に示した。

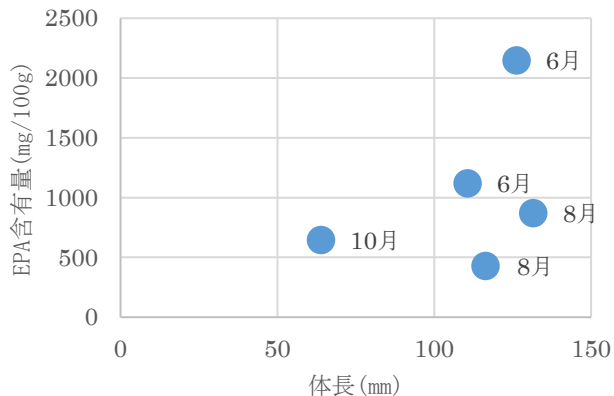


図1 サイズと収穫時期のEPA含有量の変動  
\* グラフ内の月：試料採取時期

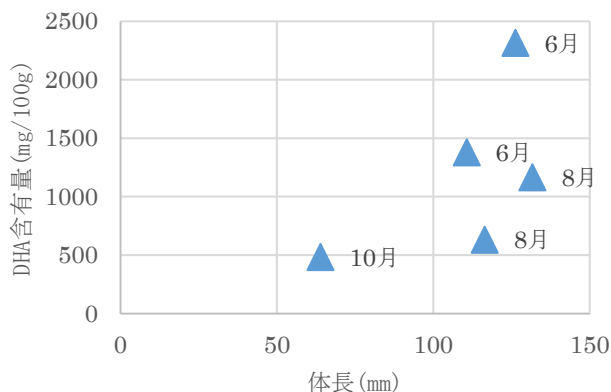


図2 サイズと収穫時期のDHA含有量の変動  
\* グラフ内の月：試料採取時期

同一時期でのカタクチイワシでは、サイズが大きい程EPA・DHA含有量は多くなっていったが、収穫時期により、EPA・DHA含有量に差異があった。10月に収穫した稚魚は、サイズが8月収穫の小さい方の1/2程度であったが、EPA・DHA含有量は、同程度であった。なお、8月から10月にかけて、収穫対象のカタクチイワシが全滅した原因は、不明である。

### 3. 2 凍結乾燥後-20℃で保存したEPA・DHA含有量の変動

EPA・DHA分析には、カタクチイワシを凍結乾燥する必要があり、6月の凍結乾燥した粉末の試料を-20℃で保存し、EPA・DHAの含有量を求めた。図3に経月変動を示した。

EPA・DHAの含有量は、開始から1ヶ月の間で急激に減少しており、1ヶ月後では、EPA含有量は、サイズ126.2mmで38%、サイズ110.6mmで63%、DHA

含有量は、サイズ126.2mmで31%、サイズ110.6mmで65%減少していた。以降は、横ばいかやや減少していた。

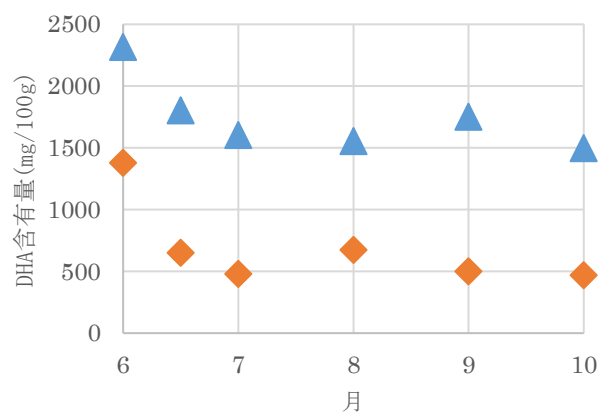
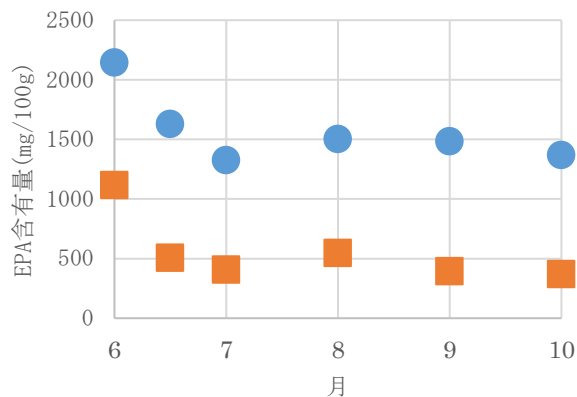


図3 凍結乾燥後-20℃で保存したEPA・DHA含有量の経月変動

●・▲：サイズ126.2mm ■・◆：サイズ110.6mm

試料は凍結乾燥していることから、水分がEPA・DHA含有量の減少に関与することは考えにくく、減少する要因の一つとして、酸化が考えられた。対策として、真空保存、脱酸素剤の利用、ガス置換包装等があるが、次年度以降に検討することとしたい。

### 3-3 生カタクチイワシのまま-20℃で保存したEPA・DHA含有量の変動

6月に試料収穫したカタクチイワシを、生のまま-20℃で保存し、1ヶ月毎に9月まで、EPA・DHA含有量を求めた。図4に、6月～9月までのEPA・DHA含有量を示した。

7月～9月の測定した試料について、6月での含有量は不明であるが、6月のサイズの小さい試料よりも大きいことから、6月のEPA・DHA含有量は、EPA1117mg/100g、DHA1379mg/100gより多いことが推察される。このことから、生での-20℃保存は、保存期間が延びる程減少し、3ヶ月後には、EPA含有量の45%、DHA含有量の41%以上が減少したと考えられた。

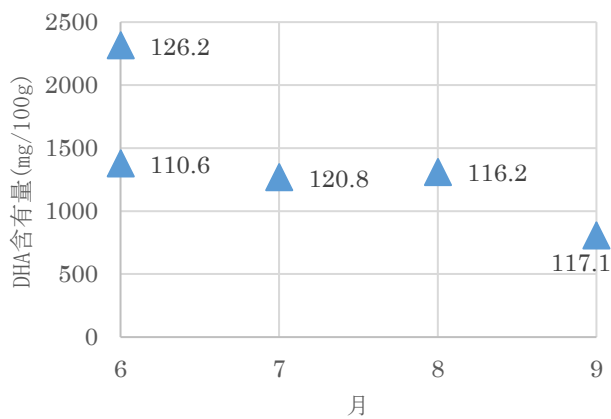
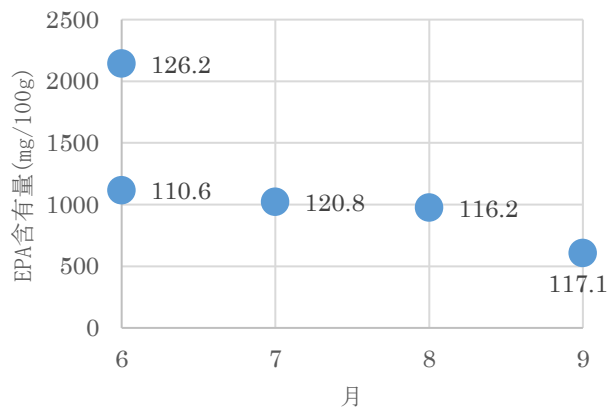


図4 生イワシをそのまま冷凍した時の EPA・DHA 含有量の経月変動

\* グラフ内の数値：カタクチイワシのサイズ (mm)

#### 4 結言

サイズ・漁獲時期の異なる冷凍カタクチイワシの EPA・DHA 含有量を測定し、さらに、冷凍での保存試験を実施した。同一時期でのカタクチイワシでは、サイズが大きい程 EPA・DHA 含有量は多くなっていたが、収穫時期により、EPA・DHA 含有量に差異があった。保存試験では、凍結乾燥後の冷凍保存(−20℃)は、開始から1ヶ月の間で、EPA・DHA 含有量が急激に減少しており、以降は、横ばいかやや減少していた。生カタクチイワシのままでの冷凍保存(−20℃)も、EPA・DHA 含有量が減少したと考えられた。

#### 参考文献

- 1) 長田博光, 松元麻有: 魚介類のエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸含有量について, 東洋食品工業短大・東洋食品研究所, **22**, 57-63(1998)

# オリーブイリコ出汁の香りの心理・生理的効果について

松原 保仁, 大西 茂彦, 鬼頭 量平<sup>1</sup>, 小野寺 麻友<sup>1</sup>, 井上 賢治<sup>1</sup>, 矢田 幸博<sup>2</sup>

オリーブイリコ出汁の香りを嗅いだ時の生理的反応について、3つの統合生理学的測定法を用いて解析し、さらに心理的な気分変化を調査した。その結果、オリーブイリコ出汁の香りによる心身両面への鎮静効果が強く示唆された。

## 1 緒言

我々は、塩水に低温乾燥オリーブ葉を添加し煮熟処理後、乾燥する新たな煮干魚の製造方法（特許第6439116号）を開発した<sup>1)</sup>。この特許により製造した煮干（商品名：オリーブイリコ）は、従来製法のイリコに比べて原料であるカタクチイワシ特有の魚臭と苦味が少ない特徴を有している<sup>2-7)</sup>。更にオリーブイリコ出汁は、従来製法のイリコ出汁の魚臭が苦手な人にも好まれる嗜好性を有していた。これまで出汁の香り、摂取による心理的、生理的な効果の検証は、鰹出汁や鰹と昆布の合わせ出汁に関して詳細な報告がされているが<sup>8-9)</sup>、煮干出汁に関しては、ほとんど行われていない。

香りの有効性には、使用する人の香りの感受性や嗜好性により効果発現が大きく異なるため、その香りの提示濃度、生理測定手法および嗜好性について検討する必要がある。これまで自律神経活動の測定法については心電図測定や血圧測定、中枢活動の測定として脳波計測が利用されてきた。しかし香りの生理評価における呼吸統制の必要性、被験者選定の難しさ、香りで見られる鎮静効果の検証にこれら測定法は必ずしも適していないとの指摘もある。また近年、より簡便で高精度な自律神経活動評価法として瞳孔対光測定、末梢循環機能の評価法として皮膚温計測および中枢神経活動評価法として近赤外分光法による測定がそれぞれの試験内では提唱されている<sup>10-11)</sup>。

そこで本研究では、この統合生理学的な3つの測定法を用いて、オリーブイリコ出汁の香りを嗅いだ時の生理的反応を解析するとともに、心理的感情の変化を調査することで、オリーブイリコ出汁の香りによる心身両面の作用を明らかにすることを目的とした。

## 2 実験方法

### 2.1 被験者

被験者は、香川県内に在住する20~50歳の健康女性17名を対象とした。イリコ出汁が苦手でない、喫煙しない、冷え性でないことを選定基準とした。被験者には試験の内容と施行法を説明し、書面にて同意を得た後、試験を遂行した。試験はヘルシンキ宣言に示された倫理規定に沿ったものである。なお、本試験は、臨床試験機関C P C C（株）の倫理委員会の審査および承認を得て実施した（UMIN登録：UMIN000031517）。

### 2.2 試験概要

被験者は、室温25℃湿度50%に設定した試験室にて着席し、測定前は30分間安静にし、実験環境に順化させた。測定では、空気、白湯及び標品の香りを自然呼吸下で順に嗅ぐこととした。即ち、ブランク測定として通常呼吸による吸吐動作、コントロール測定として白湯の吸吐動作、標品測定はオリーブイリコ出汁の吸吐動作とした。測定の流れは、まず、空気（ブランク）を2分間提示し、その後2分間待機、次に白湯（コントロール）を2分間提示、さらに2分間待機、最後にオリーブイリコ出汁の香りを2分間提示した（図1）。被験者に提示した標品と白湯の温度はいずれも75℃とし、真空断熱タンブラー容器（サーモス社製）に200 mL注いで提供した。各測定項目のデータはt検定により比較し、有意水準は5%未満とした。

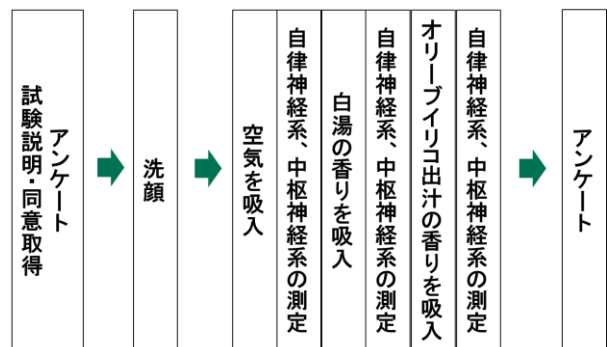


図1 心理および生理的試験の手順

### 2.3 オリーブイリコ出汁の調製

標品の調製は、オリーブイリコ38gを1Lの蒸留水に入れ、40分で100℃に達するまで加温後、固形物をろ過除去し、熱水を加えて総重量1.8kgに調製し、オリーブイリコ出汁とした。なお、同温度の白湯をコントロールとした。

### 2.4 心理的評価

#### 2.4.1 Visual Analogue Scale (VAS)

心理的評価としては、白湯及びオリーブイリコ出汁の香りを提示した前後にVAS質問紙により気分の状態（7項目；全体的な疲労感、自発的ストレス、退屈感、頭のすっきり感、集中力、意欲、爽快感）を回答させた。「まったく感じていない」から「最も強く感じた」の100mm線尺度で主観評価を求め、それぞれの計測値

を各感情指数とした。

## 2. 5 生理的評価

### 2. 5. 1 瞳孔対光反応計測

電子瞳孔計（イリスコダ デュアルC10641、浜松ホトニクス社製）により瞳孔径を計測した。計測方法はゴーグルを装着して、遮光した状態で2分間暗順応させた後、0.1秒の光刺激を実施した。瞳孔径の変化の解析により、縮瞳率（CR）、散瞳速度（vd）を計測し、自律神経活動、特に副交感神経活動への作用を解析した。本測定をブランク、コントロールおよび標品で3回実施した。

### 2. 5. 2 皮膚温計測

温度センサー（LT-8、グラム社）により末梢部位の皮膚温（額中央部と指腹中央部）の変化を計測した。末梢部位の皮膚温の解析により、自律神経活動、特に交感神経活動を解析した。本測定をブランク、コントロールおよび標品で3回実施した。

### 2. 5. 3 近赤外線分光分析（NIRS）

16チャンネルNIRSである光イメージング脳機能測定装置（OEG-16、スペクトラテック社）を被験者の前頭部に装着し、ブランク、コントロール及び標品の香りを嗅いでいる間の前頭前野部の脳血流変化を連続的に計測した。各被験者の計測データを解析したのち加算平均して、ブランク、コントロール及び標品の全16チャンネルの血流変化を統計解析し、検定した。

## 3 結果および考察

### 3. 1 出汁の香りによる気分状態の変化

図2に示すように、オリーブイリコ出汁の香りの吸入前後において、VASによる気分変化の値を比較した結果、全体的な疲労感（ $p < 0.01$ ）、自発的ストレス（ $p < 0.01$ ）、退屈感（ $p < 0.05$ ）が優位に減少し、爽快感（ $p < 0.05$ ）が優位に上昇した。

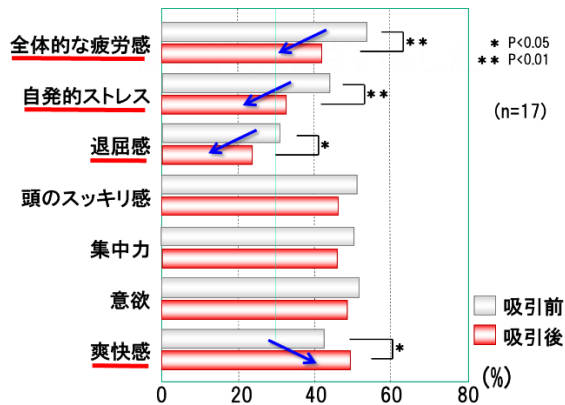


図2 出汁の香りの吸入による気分状態の変化

### 3. 2 出汁の香りによる自律神経系の評価

図3に示すように、オリーブイリコ出汁の香りを2分間吸入することで、縮瞳率（CR）は、空気、白湯に比べて有意に上昇した（ $p < 0.01$ ）。出汁の香りを嗅ぐことで、副交感神経活動が優位になることが示唆された。

更に、図4に示すように、オリーブイリコ出汁の香りを2分間吸入すると、人差指腹側部での皮膚温が空気に比べて平均で1.1℃上昇した（ $p < 0.01$ ）。この結果から、オリーブイリコ出汁の香りにより交感神経活動が抑制され、副交感神経活動が優位となることで末梢血管網の拡張が起これ、最終的に皮膚温の上昇につながったと推察された。

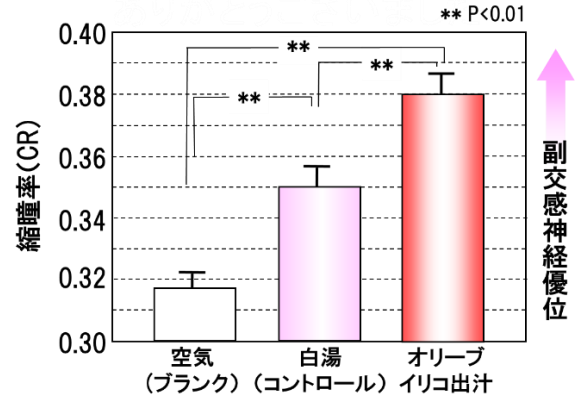


図3 出汁の香りによる瞳孔径縮瞳率への効果

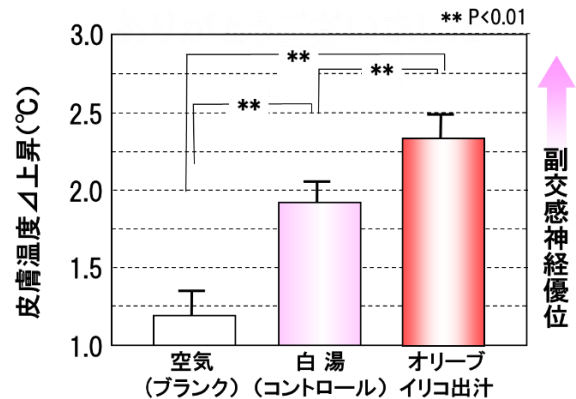


図4 出汁の香りによる抹消皮膚温への効果

### 3. 3 出汁の香りによる中枢神経系の評価

図5に示すように、オリーブイリコ出汁の香りを2分間吸入することにより、空気、白湯に比べて前頭前野部の酸化型ヘモグロビンが有意に減少することが観察された。以上の結果から、オリーブイリコ出汁の香りを嗅ぐことにより、前頭前野部の脳血流が有意に低下することで中枢神経活動の鎮静効果が示唆された。



図5 出汁の香りによる前頭前野部の血流量への効果

しかし、我々は、鎮静効果に関与するオリブイリコ出汁の香気成分の特定には、至っていない。大畑らは、グルコースとグリシンのメイラード反応によって生成した2,3-ジメチルピラジンと2,5-ジメチル-4-ヒドロキシ-3(2H)-フラノンについて、各々単一の香気成分を用い、瞳孔対光反応、末梢血流動態、前頭前野部の脳血流動態を評価した結果、どちらも鎮静効果を有することを明らかにしている<sup>12)</sup>。更に、2,3-ジメチルピラジンは気分変化に影響を与えなかったが、カラメル様の香りを呈する2,5-ジメチル-4-ヒドロキシ-3(2H)-フラノンは、気分変化に影響を与えることを明らかにしている。オリブイリコ出汁の香気成分は、トリメチルピラジン、2,3,5-トリメチル-6-エチルピラジンなどのピラジン類を含んでいたことから<sup>6)</sup>、これらの香気成分が鎮静効果に関与する成分なのかもしれない。今後、香気成分の特定などさらなる分析、評価を進めたい。

#### 4 結言

オリブイリコ出汁の香りを嗅いだことで心理的には、疲労感、ストレス、退屈感（ネガティブ感情）が減少し、爽快感（ポジティブ感情）が優位に上昇した。生理的には、瞳孔の縮瞳率が優位に増加し、末梢皮膚温が約1.1℃上昇した。このことから交感神経活動が抑制された結果、副交感神経活動が高まることで鎮静効果が発現することが示唆された。また、前頭前野部の脳血流が優位に低下することから中枢神経活動の鎮静効果が示唆された。これらの結果より、オリブイリコ出汁の香りは、心理・生理的な鎮静効果を有し、心身両面に影響することが明らかとなった。

#### 参考文献

- 1) 松原保仁, 柴崎博行: 特許第 6439116 号 (煮干魚の製造方法)
- 2) 松原保仁, 柴崎博行: 乾燥オリブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第 2 報), 香川県産業技術セ

- ンター研究報告, **15**, 92-94 (2014).
- 3) 松原保仁, 柴崎博行: 乾燥オリブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第 3 報), 香川県産業技術センター研究報告, **16**, 71-73 (2015).
- 4) 松原保仁, 柴崎博行: 乾燥オリブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第 4 報), 香川県産業技術センター研究報告, **17**, 73-74 (2016).
- 5) 松原保仁, 大西茂彦, 柴崎博行: 乾燥オリブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第 5 報), 香川県産業技術センター研究報告, **18**, 88-90 (2017).
- 6) 松原保仁, 大西茂彦, 樺島文恵: 乾燥オリブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第 6 報), 香川県産業技術センター研究報告, **19**, 76-8 (2018).
- 7) 松原保仁: イリコの魚臭と苦味が低減する新たな煮干魚(オリブイリコ)の開発, ふーま, **35(4)**, 6-29 (2019).
- 8) 森滝望, 井上和夫, 山崎英恵: 出汁がヒトの自律神経活動および精神疲労に及ぼす影響, 日本栄養食糧学会誌, **71(3)**, 133-139 (2018).
- 9) 山崎英恵: 出汁 (だし) の香りと気分状態, 日本香料協会, **287**, 37-47 (2020).
- 10) 矢田幸博: 香りの評価における現状の課題と新心理生理学的評価法, 日本香料協会, **273**, 21-35 (2017).
- 11) 矢田幸博: 統合生理学的評価法による香り成分や機能性表示食品の香りの有効性の検討, *Journal of Health Psychology Research*, **30**, 259-269 (2018).
- 12) Ohhata, M. et al. : 2,3-Dimethylpyrazine (3DP) and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone (DMHF) generated by the Maillard reaction on foods affect autonomic nervous activity and central nervous activity in human, *Biosci. Biotech. Biochem*, **84**, 1894-1902 (2020) .

# 機能性表示食品に対応した製品化支援 -モロヘイヤの機能性成分含量および物性に及ぼす調理の影響-

大島 久華, 西村 冴加, 浅井 貴子, 久保 和子

県産モロヘイヤの機能性素材としての可能性を探ることを目的に、モロヘイヤに基本的な加熱調理（ゆで、レンジ、炒め）を行い、機能性成分であるルテイン含量およびβ-カロテン含量を測定した。その結果、モロヘイヤ新品種、慣行品種ともに調理後においても網膜黄斑部の色素量増加をヘルスクレームとした機能性表示食品となり得るルテイン含量を充足できた。また、物性評価の結果から、新品種の特徴である茎の軟らかさを裏付けることができた。

## 1 緒言

モロヘイヤはエジプトを中心とした東地中海地方の野菜で、日本では1980年代頃から栽培されるようになった。調理時にぬめりを生じることから、独特の食感を持つ食材として注目され、またビタミン類、ミネラルおよび食物繊維を多く含むため、健康に良い野菜として広く認知されている。香川県では、香川県農業試験場において、茎の緑色が鮮やかで、軟らかいことを特徴に持つ新品種「さぬきのヘイヤ」（品種登録出願中）が育成されるとともに省力栽培技術を確立するなど、モロヘイヤを新たな夏場の栽培品目として生産拡大が図られている。

Aizawa ら<sup>1)</sup>はモロヘイヤには機能性成分として注目されるルテインやβ-カロテンがホウレンソウやコマツナなど他の緑黄色野菜に比べて多く含まれていることを報告している。ルテインは、野菜や果物に含まれるカロテノイド色素成分であり、ヒトでは眼の網膜の中心に位置する黄斑部に存在し、青色光の侵襲から黄斑を保護することや網膜の酸化ストレスを軽減することで、光の刺激から眼を保護し視機能の維持などの健康維持に寄与すると考えられている<sup>2)</sup>。ルテインを含む食品を継続的に摂取することで網膜黄斑部の色素量が増加することが報告されており<sup>3)</sup>、ルテインを関与成分とした機能性表示食品が多く届出されている。また、ビタミンAの前駆体であるβ-カロテンは、摂取することによってビタミンAに変換され、夜間の視力の維持を助けるとともに、皮膚や粘膜の健康維持を助ける機能が知られている。

そこで本研究では、県産モロヘイヤの機能性素材としての可能性を探ることを目的に、モロヘイヤに基本的な加熱調理（ゆで、レンジ、炒め）を行い、機能性成分であるルテイン含量およびβ-カロテン含量を測定した。さらに、新品種の特徴である茎の軟らかさに焦点を当て、ゆで調理前後の茎の物性評価を行ったので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試料および試薬

香川県農業試験場で栽培、6月下旬および8月下旬に収穫されたモロヘイヤ2品種：「さぬきのヘイヤ：新品

種」、「県内慣行品種：慣行品種」について、収穫後冷蔵保存し、3日以内に実験に供試した。モロヘイヤは葉身部分と茎部分に分け、葉身は機能性成分分析用、茎は物性測定用のサンプルとした。

ルテイン標準品はSIGMA-ALDRICH製、β-カロテン標準品は富士フィルム和光純薬製を用いた。その他の試薬は市販の特級試薬を使用した。

### 2.2 調理条件

モロヘイヤの葉身は傷んだ葉を除いて80gを計量し、水洗後ざるにあげて水を切り、以下の3条件で加熱試料を調整した。各加熱試料の調整は3回行い、未加熱および加熱後の試料を凍結乾燥後に粉碎し、機能性成分分析用のサンプルとした。

茎は直径5~6mmのものを約15cmの長さに切り揃え80gを計量し、水洗後ざるにあげて水を切り、以下のゆで条件で加熱試料を調整した。未加熱、ゆで調理後の試料を物性測定用のサンプルとした。

各加熱時間は、予備実験の結果、試料の性状が喫食に適した状態となるように設定した。

#### 1) ゆで調理

アルミ製の鍋（直径20cm）に1Lの水を入れ沸騰後、80gの葉身または茎を投入し、葉身は40秒間、茎は90秒間加熱した。加熱終了後のモロヘイヤは、直ちに流水中にさらし軽く水気を絞った。

#### 2) レンジ調理

プラスチック製の耐熱容器（直径20cm）に80gの葉身を入れ、蓋をした後、500Wで2分間加熱した。加熱終了後のモロヘイヤは、直ちに流水中にさらし軽く水気を絞った。

#### 3) 炒め調理

ダイヤモンドコーティングされたフライパン（直径28cm）を熱し、食用サラダ油4.3gを添加後、表面温度が170~180℃に到達したら、80gの葉身を投入し、1分40秒間加熱した。加熱終了後のモロヘイヤは、直ちに皿に移し放冷した。

### 2.3 葉身の機能性成分の分析

葉身の加熱前、加熱後のルテインおよびβ-カロテン量は、菅原らの方法<sup>4)</sup>に準じて抽出および高速液体クロマ

トグラフィー (HPLC) 分析を行った。すなわち、凍結乾燥粉末 300 mg に純水 2.7 mL, 氷冷したアセトン 8 mL を加え、氷水中で 5 分間超音波抽出を行い、遠心分離 (3,000 rpm, 15 分間) 後、上清を回収した。以降、沈殿にアセトン 8 mL を加え、色がなくなるまで同様に抽出し、回収した上清を全て合わせて 50 mL に定容した。この抽出液を孔径 0.45  $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過して分析用試料溶液とした。

HPLC は装置に Prominence UFLC システム ((株) 島津製作所製) を用い、次の条件で分析した。カラム: YMC-Pack ODS-A AA12S05-1546WT (150 $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m, YMC 製), カラムオープン温度: 40 $^{\circ}$ C, 流速: 1.0 mL/min, 移動相: A) アセトニトリル/水 (90/10), B) 酢酸エチル, 初期条件 0% B, 0~13 分 (0 $\rightarrow$ 50% B), 13~23 分 (50% B のまま), 23~24 分 (50 $\rightarrow$ 0% B), 24~30 分 (0% B), 検出波長: 450 nm とした。ルテインおよび $\beta$ -カロテンは各吸光係数<sup>5,6)</sup>を用いて標準溶液の濃度を求め、ピーク面積からの検量線により、生鮮物 100 g あたりの含有量として算出した。

## 2. 4 茎の物性測定

茎の未加熱、ゆで調理後の物性測定は、クリープメーター RE-33005 ((株) 山電製) を用いて、破断強度試験モードで破断荷重を測定し、破断応力 (N/m<sup>2</sup>) として算出した。茎の先端から 5 cm および 10 cm の部位に繊維に対してプランジャーが直角になるように設定した。測定条件は次のとおりである。プランジャー No.67 (剪断用, ステンレス製, 1mm $\times$ 5 mm), ロードセル 20 Kg, アンブ倍率 1 倍, 格納ピッチ 0.02, 測定速度 1 mm/sec, 接触面積 5 mm<sup>2</sup>, サンプル厚さ実測値である。10 回測定し、平均値および標準偏差を算出した。

## 3 結果と考察

### 3. 1 調理条件におけるルテイン含量の変化

各調理条件におけるモロヘイヤ葉身のルテイン含量の変化を図 1 および図 2 に示した。6 月収穫におけるルテイン含量は、新品種で 10.8~14.4 mg/100 g 生鮮重、慣行品種で 13.0~17.1 mg/100 g 生鮮重であった。また、8 月収穫におけるルテイン含量は、新品種で 9.8~14.0 mg/100 g 生鮮重、慣行品種で 10.0~15.0 mg/100 g 生鮮重であり、6 月収穫と大差ない結果となった。炒め調理はゆで調理およびレンジ調理と比較して、わずかに低い値を示した。今回、新品種および慣行品種ともに、未加熱のルテイン含量が調理後に比べて低い結果となっており、未加熱試料においては、凍結乾燥もしくは抽出過程で酵素による酸化反応が進行し、ルテインが減少した可能性が考えられた。

2021 年 3 月 1 日現在、ルテイン摂取量が 10 mg/日 (生鮮食品では 5 mg/日) 以上であることを以て、光による刺激から目を保護するとされる網膜黄斑部の色素量増加を謳う農産物 (ホウレンソウ, ケール, カボチャ) が届出・受理されている<sup>7)</sup>。本研究の結果から、モロヘイヤ新品種、慣行品種ともに 1 日 100 g の葉身を基本的な加熱調理 (ゆで, レンジ, 炒め) を行い、食すことによって、10 mg 以上のルテインを摂取できることから、モロヘイヤは網膜黄斑部の色素量増加を謳う

機能性表示食品届出の可能性のある素材であると考えられる。

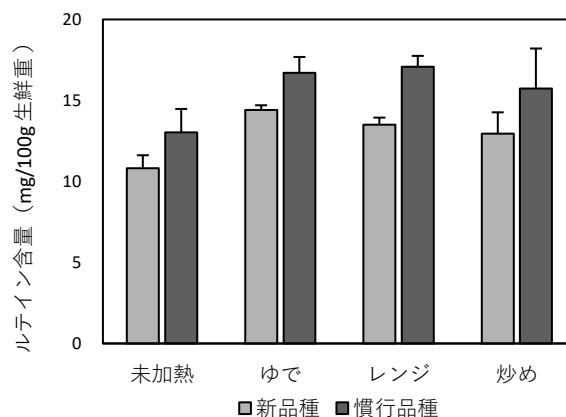


図 1 ルテイン含量の変化 (6 月収穫)

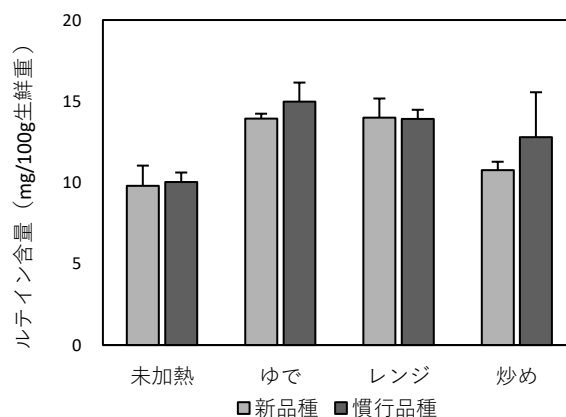


図 2 ルテイン含量の変化 (8 月収穫)

### 3. 2 調理条件における $\beta$ -カロテン含量の変化

各調理条件におけるモロヘイヤ葉身の $\beta$ -カロテン含量の変化を図 3 および図 4 に示した。6 月収穫における $\beta$ -カロテン含量は、新品種で 6.6~9.2 mg/100 g 生鮮重、慣行品種で 8.2~11.8 mg/100 g 生鮮重であった。また、8 月収穫における $\beta$ -カロテン含量は、新品種で 7.0~10.1 mg/100 g 生鮮重、慣行品種で 7.5~10.8 mg/100 g 生鮮重であり、6 月収穫と大差ない結果となった。また、ルテイン含量の結果と同様、未加熱および炒め調理はゆで調理、レンジ調理と比較して、 $\beta$ -カロテン含量が低い傾向があった。

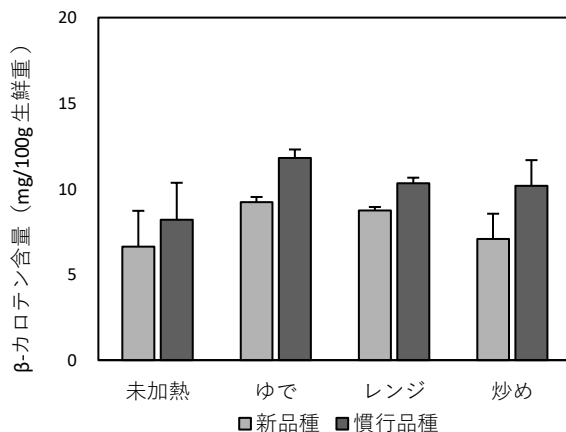


図 3  $\beta$ -カロテン含量の変化 (6 月収穫)



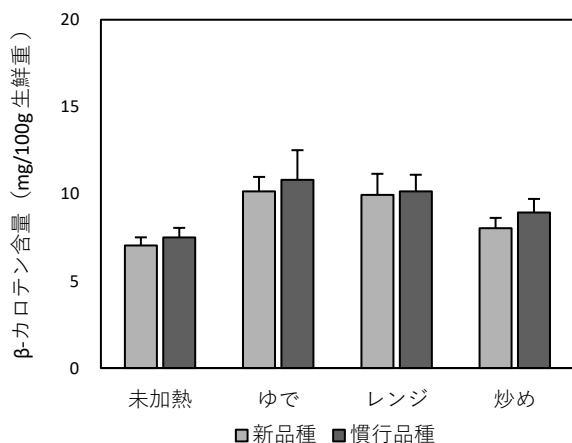


図4  $\beta$ -カロテン含量の変化 (8月収穫)

### 3. 3 品種による物性への影響

モロヘイヤ茎の破断応力の結果を図5および図6に示した。6月に収穫したモロヘイヤの茎においては、先端から5cmの部位と10cm部位は、破断応力に差は見られなかった。また、未加熱およびゆで調理後ともに、新品種と慣行品種の差は見られず、ゆで調理を行うことによって破断応力が低くなった。一方、8月に収穫したモロヘイヤの茎においては、先端から5cm部位は6月収穫のものより破断応力が低い結果となったが、10cmの部位はゆで調理を行うことによって、新品種のみ破断応力が低くなった。このことから、新品種は茎が軟かく茎も食べることができるという特徴を裏付ける結果となり、6月収穫のモロヘイヤより8月収穫の方がその差が顕著に表れた。

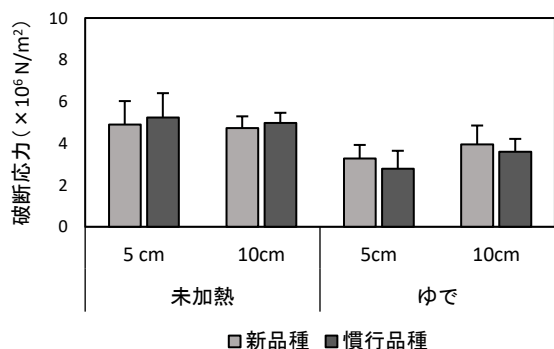


図5 茎の破断応力の変化 (6月収穫)

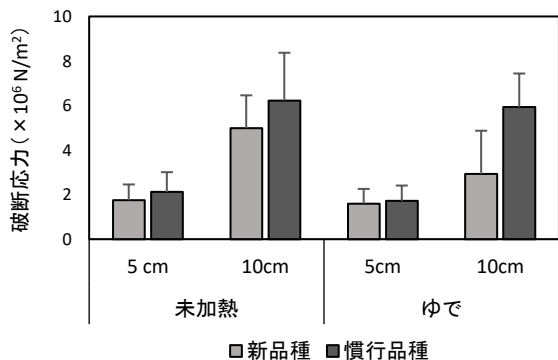


図6 茎の破断応力の変化 (8月収穫)

## 4 結言

モロヘイヤに基本的な加熱調理 (ゆで, レンジ, 炒め) を行い, 機能性成分であるルテイン含量および $\beta$ -カロテン含量を測定した. その結果, モロヘイヤ新品種, 慣行品種ともに1日100gを基本的な加熱調理を行い, 食すことによって, 網膜黄斑部の色素量増加が報告されているルテイン摂取量 (10 mg/日) を充足できることから, モロヘイヤは機能性表示食品としての可能性がある素材であると考えられた. また, 物性評価を行うことによって, 新品種の特徴である茎の軟らかさを裏付けることができた.

## 参考文献

- 1) Aizawa K. *et al.* : Quantitation of Carotenoids in Commonly Consumed Vegetables in Japan, *Food Sci. Technol. Res.*, **13**, 247-252 (2007).
- 2) 消費者庁 (事業受託者: 公益財団法人日本健康・栄養食品協会): 「食品の機能性評価モデル事業」の結果報告, pp. 32-35 (2012).
- 3) (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構: 機能性をもつ農林水産物・食品プロジェクト, 農産物の研究レビュー (届け出様式作成例), [https://www.naro.affrc.go.jp/project/f\\_foodpro/2016/063236.html](https://www.naro.affrc.go.jp/project/f_foodpro/2016/063236.html), 2021.
- 4) 菅原晃美ら: 葉を食用とするサツマイモ「すいおう」葉部のルテイン, ポリフェノール含量に及ぼす加熱調理法の影響, *日本調理科学会誌*, **44**, 291-298 (2011).
- 5) 日本農林規格: ほうれんそう中のルテイン含量-高速液体クロマトグラフ法, 0008 (2019).
- 6) 文部科学省: 日本食品標準成分表 2015年度版 (七訂) 分析マニュアル, pp. 88-93 (2015).
- 7) 消費者庁: 機能性表示食品の検索, <https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc01/>, 2021.

# 機能性表示食品に対応した製品化支援 -GABA を関与成分とした機能性表示食品としての可能性調査-

大島 久華, 浅井 貴子

県内企業に対し機能性表示食品の開発支援を目的とし、県内企業が製造する製品 31 点について GABA を関与成分とした機能性表示食品としての可能性を調査した。その結果、10 製品において血圧低下やストレス・疲労感の軽減を謳った機能性表示食品届出の可能性があると示された。

## 1 緒言

機能性表示食品制度は 2015 年 4 月から施行され、事業者が食品の安全性と機能性に関する科学的根拠などの必要な事項を、販売前に消費者庁長官に届出を行うことで、機能性を表示することができる制度である。この制度の下では、最終製品を用いたヒト臨床試験、あるいは、最終製品または機能性関与成分に関する研究レビューのいずれかを事業者が選択できることから、中小企業でも参入しやすい制度となっている。

γ-アミノ酪酸 (GABA) は、野菜や果物に含まれるアミノ酸の一種で、血圧上昇抑制効果<sup>1)</sup>、抗ストレス効果<sup>2)</sup>、睡眠の質改善効果<sup>3)</sup>、皮膚改善効果<sup>4)</sup>など多様な機能が報告され、これらの効果を謳った機能性表示食品が多く販売されている。2021 年 3 月 1 日現在、GABA を機能性関与成分とした商品の届出件数が最も多く、GABA を配合した加工食品のみならず、トマト、パプリカ、メロン、バナナ、えのきたけ等の生鮮食品や、農産物を加工した食品も多く届出されている<sup>5)</sup>。

そこで本研究では、県内企業に対し機能性表示食品の開発支援を目的とし、県内企業が製造する製品について GABA を関与成分とした機能性表示食品としての可能性を調査したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 供試試料

県内企業 9 社から提供を受けた製品 31 点を試料とした。

### 2.2 GABA の分析

フードプロセッサーで均質化した試料 1~2.5 g を、42 mL 容のポリエチレン遠沈管に採取し、75%エタノール濃度となるようにエタノールを加えた後、75%エタノール 15 mL を加え、70°C の湯浴中で 25 分間加温抽出した。放冷後、抽出液を遠心分離 (13,000 rpm, 10 分間) し、その上澄液を回収した。再び、残渣に 75%エタノール 13 mL を加え、70°C で 25 分間抽出、遠心分離 (13,000 rpm, 10 分間) を行い、上澄液を回収した。上記の操作をもう一度行った後、75%エタノールで 50 mL に定容した。この抽出液 5 mL を 40°C 以下で減圧乾固してから、0.02 N 塩酸水溶液 5 mL で溶解し、孔径 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過して分析用試料溶液とした。75%エタノールによる加熱で、固まった C 社 5 点 (表 1) に関しては、75%エタノールの代わりに水で同様に加熱抽出を行い、

膜分画分子量 10,000 限外ろ過フィルター (アミコンウルトラ, メルク (株) 製) でろ過して分析用試料溶液とした。

分析は、アミノ酸分析システム (Prominence, (株) 島津製作所製) を用い、OPA-ポストカラム法<sup>6)</sup>で分析した。

## 3 結果と考察

### 3.1 製品中の GABA 含量

提供を受けた製品 31 点中の GABA 含量を測定した結果、販売されているものについては商品当たりの GABA 含量に換算した結果を表 1 に示す。

表 1 製品中の GABA 含量

会社	種類	GABA (mg/100g)	GABA (mg/商品)
A	穀類加工品-1	21.2	24.4
	穀類加工品-2	3.9	12.3
	穀類加工品-3	5.5	17.3
	穀類粉	2.0	2.2
	穀類-1	1.1	1.0
	穀類-2	5.8	5.5
	穀類-3	2.4	2.3
B	果樹葉粉末-1	44.5	1.1
	果樹葉粉末-2	68.1	1.7
	果実類	20.5	-
C	穀類加工品-1	1.7	5.6
	穀類加工品-2	2.3	7.6
	穀類加工品-3	0.7	0.5
	穀類加工品-4	1.1	0.8
	穀類加工品-5	1.9	-
D	野菜類加工品-1	1.9	5.4
	野菜類加工品-2	6.2	12.4
	野菜類加工品-3	36.0	68.4
	野菜類加工品-4	56.9	93.9
E	果樹葉粉末	4.2	0.1
F	肉類粉末	1.4	-
	肉・魚介・きのこ類粉末	47.4	-
	魚介類粉末-1	0.6	-
	魚介類粉末-2	1.3	-
	魚介類粉末-3	0.9	-
魚介類粉末-4	0.2	-	
G	野菜果実類加工品	8.0	14.4
	果実類加工品-1	20.0	36.0
	果実類加工品-2	21.0	35.7
H	果実類加工品	22.0	119.2
I	穀類加工品	8.0	4.0

GABAは全ての製品に含まれていたが、穀類、野菜、果実類に多く、肉類や魚介類に低い傾向があった。

現在、研究レビューを用いた機能性評価により、GABA摂取量が12.3 mg/日(生鮮食品では6.15 mg/日)以上で血圧が高めの方の血圧を下げる機能、28 mg/日以上で一時的な精神的ストレスや疲労感を緩和する機能を謳った商品が機能性表示食品として届出・受理されている<sup>5)</sup>。今回調査した製品のなかで、A社の穀類加工品-1,2,3、B社の果実類、G社の野菜果実類加工品において、商品当たりのGABA含量が12.3 mg以上となり、血圧低下をヘルスクレームとした機能性表示食品になり得る可能性が示唆された。また、D社の野菜類加工品-3,4、G社の果実類加工品-1,2、H社の果実類加工品においては、商品当たりのGABA含量が28 mg以上となり、血圧低下とストレス・疲労感緩和の2つのヘルスクレームを謳った機能性表示食品の開発が可能であると考えられた。

#### 4 結言

県内企業が製造する製品についてGABAを関与成分とした機能性表示食品の可能性を調査した。その結果、血圧低下をヘルスクレームとした機能性表示食品の可能性のある製品が5点、血圧低下とストレス・疲労感緩和の2つのヘルスクレームとした機能性表示食品の可能性のある製品が5点見出された。今後、本調査結

果を基に、配合の検討や新たな形態の製品開発を進めることで、更なる発展が期待される。

#### 参考文献

- 1) Inoue K. *et al.* : Blood - pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **57**, 490-496 (2003).
- 2) Yoto A. *et al.* : Oral intake of  $\gamma$ -aminobutyric acid effects mood and activities of central nervous system during stressed condition induced by mental tasks, *Amino Acids*, **43**, 1331-1337 (2012).
- 3) 外菌英樹ら：健常成人におけるGABA経口摂取が睡眠に与える影響 - 無作為化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験 - , *薬理と治療*, **46**, 757-770 (2018).
- 4) 外菌英樹ら： $\gamma$ -アミノ酪酸の経口摂取による皮膚状態改善効果, *日本食品科学工学会誌*, **63**, 306-311 (2016).
- 5) 消費者庁：機能性表示食品の検索, <https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc01/>, 2022.
- 6) (株)日立ハイテクノロジーズ：OPA-ポストカラム法を用いたアミノ酸の分析, TECHNICAL DATA, LC NO.181.

# 機能性表示食品に対応した製品化支援 —加工食品中の EPA・DHA 含有量調査—

松岡 博美, 久保 和子, 栩野 秀平, 松原 梓

県内企業が製造および販売している 15 製品について EPA および DHA 含有量を調査した結果、ヘルスクレーム表示可能な機能性関与成分の含有が示され、今後機能性表示食品取得に向けた商品開発につながる可能性が期待された。

## 1 緒言

近年の健康志向の高まりを背景に保健機能食品制度が定められ、特に平成 27 年 4 月に開始された機能性表示食品については、既に全国での届出件数が 3700 件 (R3.2 現在) に達しており、商品の高付加価値化ツールとして活用され始めている。当センターにおいても香川県機能性表示食品等開発研究会での情報提供や機能性成分の分析により新商品開発を支援してきた結果、県内企業の機能性表示食品の届出も増えつつある。

機能性関与成分の一つである EPA および DHA はその含有量により「中性脂肪の軽減」、「認知機能のサポート」、「記憶力・判断力の維持」などの表示が可能であることから、難消化性デキストリン、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) に次ぐ第 3 位の機能性素材として市場をけん引している。

今回県内企業が製造・販売する製品のうち EPA・DHA に注目して製品中の含有量を分析し、機能性表示食品としての可能性を探るための調査を行ったので報告する。

## 2 実験方法

### 2. 1 分析試料

県内企業が製造および販売している製品 (5 社 15 製品) を分析試料とした。

### 2. 2 脂質測定

脂質測定はソックスレー抽出法に基づいて以下のように行った。試料 2 g を精秤し、水分の多い試料には珪藻土 3 g を加えてガラス棒でかき混ぜながらホットプレート上で乾燥させ、珪砂および硫酸ナトリウム (無水) をそれぞれ 3 g 加えて磨砕し、抽出溶媒にジエチルエーテルを用いて 8 時間抽出を行った後、抽出物の恒量を測定した。

### 2. 3 脂肪酸測定

試料 (必要に応じて凍結乾燥) 200 mg に脂肪酸メチル化キット (ナカライテスク株式会社) 付属の抽出試薬 1.5 ml および内部標準として 1 mg/ml ヘプタデカン酸ヘキサノール溶液 0.5 ml を加えてボルテックスミキサーで攪拌後、上澄み液を 0.5~1.5ml 回収し、窒素ガスを吹きつけて溶媒を蒸発させたものを油脂試料とした。油脂試料のメチル化は、脂肪酸メチル化キット (ナカライテスク株式会社) を用いて行った。油脂試料にキット付属のメチル化試薬を加えて 37 °C で 1 時間反応

させ、さらにメチル化試薬を加え 37 °C で 20 分間反応させた。抽出試薬 1.0 ml を加えてボルテックスミキサーで混合し、上層を回収した。そこにイオン交換水 1.0 ml を加えボルテックスミキサーで攪拌洗浄した後、上層をメチル化脂肪酸精製キットにより精製し、表 1 の条件でガスクロマトグラフ (GC-2010Plus, 株式会社島津製作所) により分析した。また、ヘプタデカン酸無添加の試験も同時に行った。

表 1 GC分析条件

カラム	Agilent J&W DB-23, 30 m×0.25 mm, 0.25 $\mu$ m
キャリアガス流量 注入口	ヘリウム, 14psi, 定圧モード スプリット/スプリットレス, 250 °C, スプリット比50:1
オープン	50 °C (1min), 25 °C/min で 170 °C まで昇温, 4 °C/min で 230 °C まで昇温 (5min)
FID	280 °C, 水素:40 ml/min 空気:400 ml/min メークアップガス:25 ml/min
注入量	1 $\mu$ l

## 3 結果と考察

### 3. 1 脂質および EPA・DHA 含有量

脂質および EPA・DHA 含有量を測定した結果について、表 2 に示した。今回測定した製品のうち水産加工品では脂質含有量が 0.6~3.5 g/100g, EPA 含有量が 30~150 mg/100g, DHA 含有量が 110~520 mg/100g であり、水産加工品素材では脂質含有量が 0.8~15.4 g/100g, EPA 含有量が 10~440 mg/100g, DHA 含有量が 40~1200 mg/100g, 水産調理食品では脂質含有量が 11.4~42.9 g/100g, EPA 含有量が 70~430 mg/100g, DHA 含有量が 160~280 mg/100g であった。また、これらの商品形態のものを 1 商品当たりに換算した場合の EPA および DHA の合計含有量は 140~360 mg/商品であった。

現在、消費者庁に届出・受理されている機能性表示食品のうち EPA・DHA を機能性関与成分として、EPA+DHA 含有量が 133 mg/day 以上で中性脂肪の軽減、EPA+DHA 含有量が 400 mg/day 以上で記憶力・判断力の維持というヘルスクレームをうたっている商品がある<sup>1)</sup>。したがって、今回調査した商品は中性脂肪の軽減をヘルスクレームとする機能性表示食品になり得る可能性が示唆された。ま

表 2 脂質および EPA・DHA 分析結果

	FAT	EPA	DHA	EPA+DHA	EPA+DHA
	g/100 g		mg/100 g		mg/商品
A 社 (水産加工品)					
1a	1.9	120	260	380	-
2a	0.7	30	110	140	-
3a	0.6	50	110	160	-
4a	2.3	150	200	350	-
B 社 (水産加工品素材)					
1b	12.7	40	140	180	-
2b	6.1	20	40	60	-
3b	15.4	370	1200	1600	-
4b	2.7	30	60	90	-
5b	0.8	10	70	80	-
6b	14.1	440	1400	1800	-
C 社 (水産加工品)					
1c	4.1	150	520	670	200
2c	3.6	90	470	560	170
D 社 (水産調理食品)					
1d	37.4	70	160	230	180
E 社 (水産調理食品)					
1e	11.4	300	170	470	140
2e	42.9	430	280	710	360

た、その他製品においても 1 日あたりの摂取量や利用方法を工夫することで、記憶力・判断力の維持をヘルスクレームとする機能性表示食品の開発が期待できると考えられた。

一方で、魚介類に含まれる EPA および DHA 含有量は漁獲場所や漁獲時期により変動することが報告されており<sup>2)</sup>、加工食品においても原料である魚介類の加工および保存条件、さらには調理条件によっても EPA および DHA 含有量が変動することが報告されている<sup>2, 3)</sup>。したがって、これらの機能性関与成分について原料の仕入れ時期による変動や保存中の経時変化、加工時の変動および製品中の経時変化を把握することが重要であり今後の課題である。

### 3. 2 脂質含有量と EPA+DHA 含有量の相関

水産加工品試料 100 g あたりの脂質含有量と EPA および DHA 含有量の合計値の相関を図 1 に示した結果、これらの間には強い相関関係がみられ、脂質含有量が多いほど EPA および DHA 含有量の合計値も多いことがわかった。

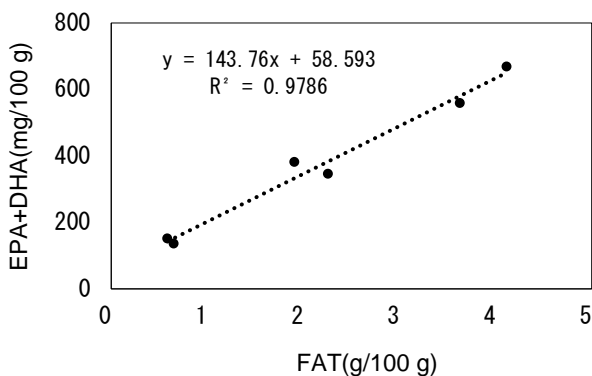


図 1 脂質含有量と EPA+DHA 含有量との相関

したがって、水産加工品では脂質含有量から機能性関与成分含有量がある程度予測できると考えられた。

一方で、データは示していないが今回測定した水産調理食品を含む全製品では相関関係はみられなかった。これは水産調理食品の脂質には原料である魚由来の EPA および DHA を多く含む油だけでなく、その他の原材料由来の油も含まれるためであると考えられる。そのため、水産調理食品では脂質含有量から機能性関与成分含有量を予測することは難しいと思われた。

## 4 結言

県内企業が製造および販売している製品の機能性表示食品としての可能性を探るため、EPA および DHA 含有量を測定した。その結果、既存製品において中性脂肪の軽減を表示できる機能性関与成分含有量が含まれていたため、機能性表示食品になり得る可能性が示唆された。今後、これらの製品の 1 日に摂取する量や利用方法を工夫することで、さらなるヘルスクレームを付加した機能性表示食品の開発も期待できると考えられた。

## 参考文献

- 機能性表示食品の届出情報検索  
[https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/foods\\_with\\_function\\_claims/search/](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/foods_with_function_claims/search/)
- 長田博光ら：魚介類のエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸含量について、東洋食品工業短大・東洋食品研究所報告書, 22, 57-63 (1998)
- 玉利正人ら：魚のエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸含量に及ぼす調理方法の影響(第1報), 長崎大学教育学部自然科学研究報告, 51, 67-74 (1994)

# キウイフルーツの品種および追熟による香気特性の評価

松岡 博美, 松原 保仁

香川県産キウイフルーツ 3 品種の追熟前および追熟後の香気成分を分析した結果, 果実の追熟前後の香気成分の変化および品種による香気成分の特徴が明らかになった. 今後, 食べごろの指標となっている糖度や硬度に香りを組み合わせることで, より総合的な評価ができる可能性が示唆された.

## 1 緒言

キウイフルーツは国産が 12 月~4 月, ニュージーランド産が 5 月~12 月と年間を通して流通しており, ビタミンやポリフェノールなどの抗酸化物質を多く含む果物として知られている<sup>1)</sup>. 他の果実と異なり収穫後に一定期間貯蔵し, 追熟してから食べられるようになるため貯蔵方法や追熟方法が検討され, 糖度や硬度により可食適期が判断されている<sup>2)</sup>. また, 追熟にともない酸度は低下し, 糖度が増加するといった成分変化や, ポリフェノールやカロテノイドなどの抗酸化成分は追熟に関わらず安定していることなどが報告されている<sup>1, 3)</sup>. しかし, キウイフルーツの香りについての知見は多く見受けられない.

香川県農業試験場では昭和 50 年代より全国に先駆けてキウイフルーツの育種に取り組み, 他の産地になく香川県オリジナル品種として積極的にブランド化を進めている. そこで本研究では, これまでに本県で品種登録されたさぬきゴールドおよび香緑を含む 3 品種のキウイフルーツを用いて追熟前後の香気成分を調査したので報告する.

## 2 実験方法

### 2.1 分析試料

2020 年 10 月から 12 月に香川県農業試験場府中果樹研究所より収穫直後および収穫後エチレンガスで追熟し適熟となったキウイフルーツ 3 品種 (さぬきゴールド, 香緑, ヘイワード) を分析試料とした.

### 2.2 匂いかぎ GC-TOFMS 分析と解析

キウイフルーツの GC-TOFMS 分析は松原ら<sup>4)</sup>の方法を参考にして, 以下のように行った. ざく切りしたキウイフルーツ 4.5 g を 20 ml 容量のバイアルに入れて密封し, ヘッドスペース (HS) の香気成分を SPME ファイバー (DVB/CAR/PDMS) (Sigma-Aldrich) に 38 °C, 30 分間捕集した後, 表 1 の条件でガスクロマトグラム飛行時間型質量分析 (GC-TOFMS, Pegasus BT (LECO)) に供した. また, GC-TOFMS 分析と並行して匂いかぎ分析も行った. 各試料につき繰り返し 3 回測定を行い, 得られたクロマトグラムから, ChromaTOF ソフトウェア (LECO) の自動解析機能デコンボリューションによるピーク検出およびライブラリー検索を行った. 検体間比較を行うため, Statistical Compare ソフトウェア (LECO) を用い, データアライメントおよび全検出化合物の分散比に基づく Fisher Ratio (FR) 値<sup>5)</sup>を算出し, 検体間で差があると判断された化合物を抽出した.

さらに有意差の高い FR 値 10.0 以上の化合物を用いて, 主成分分析を行った.

表 1 香気成分の分析条件

気化室温度	230 °C
キャリアガス	ヘリウム, 1.0 mL/min
カラム	InertCap Pure-WAX 60 m×0.25 mm I. D. 膜厚 0.25 μm (ジーエルサイエンス社製)
カラム温度	40 °C (2 min) -5 °C/min-250 °C (10 min)
イオン化法・ イオン源温度	電子イオン化法 (EI), 230 °C
検出器	Pegasus BT TOFMS (LECO)
ピーク検出	True Signal Deconvolution
ライブラリー	NIST17

## 2. 3 統計解析

分析データの主成分分析には, EXCEL 多変量解析 Ver. 8.0 (株式会社エスミ) を用いた.

## 3 結果と考察

### 3.1 追熟前後の部位別の香気成分比較

追熟前のさぬきゴールドについて, 果肉のみ, 果肉+果皮および果皮のみの試料を調製し, GC-TOFMS 分析することで, 部位別の香気成分を比較した. さらに追熟後のさぬきゴールドについても同様の分析を行った. 追熟前 (図 1) と追熟後 (図 2) の GC-TOFMS のトータルイオンクロマトグラム (TIC) は, ピーク形状が大きく異なるが, 部位間の比較では TIC の形状に大きな違いはみられなかった. これらの結果から, 追熟前後で香りの特徴は異なるが, 部位による香りの特徴に差は認められなかった. また, 香緑およびヘイワードについても同様の結果であったため, 以後の分析には果肉のみを用いた.

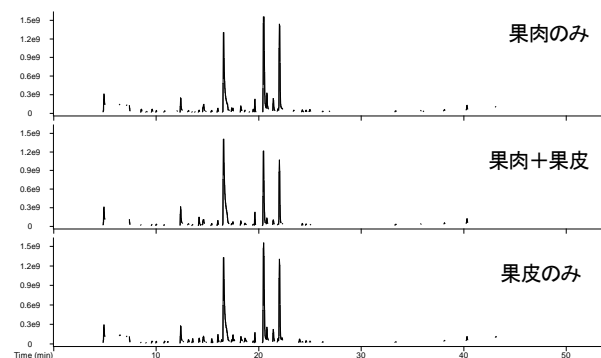


図 1 GC-TOFMS 分析による TIC (追熟前, 部位別)

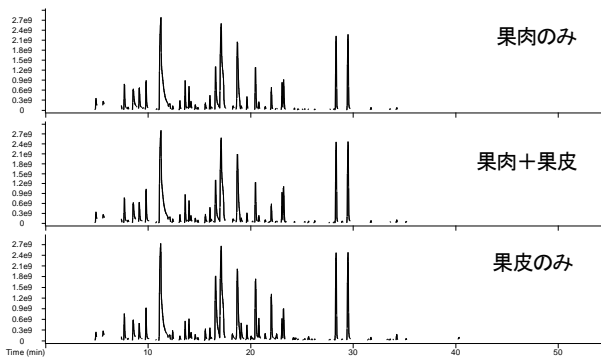


図2 GC-TOFMS分析によるTIC (追熟後, 部位別)

### 3. 2 カット後の時間経過による香気成分の変化

追熟前および追熟後のさぬきゴールドをカット直後, 30分後および90分後に分析したGC-TOFMSのTICを図3および図4に示した. 追熟前は時間経過とともにTICが変化していたことから, 時間経過とともに香気成分が変化した可能性が示唆された. 時間経過とともに消失した成分はヘキサナール, 2-ヘキサナールおよび青葉アルコールなどであった. 追熟後についてはエステル類が多く検出されたが時間経過による大きな違いはみられなかった. また, 香緑およびハイワードについても同様の結果であった. したがって, 果肉の分析はカット直後に行うことにした.

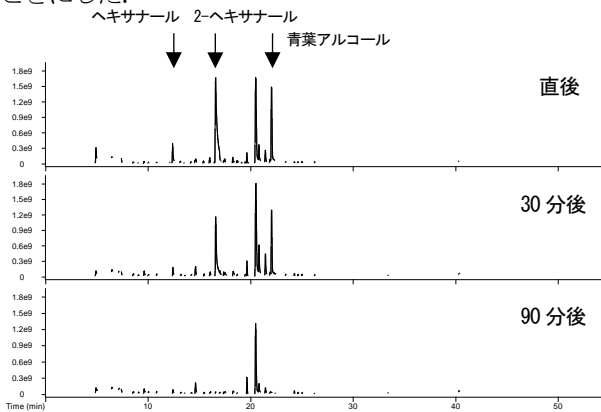


図3 GC-TOFMS分析によるTIC (追熟前, 時間経過)

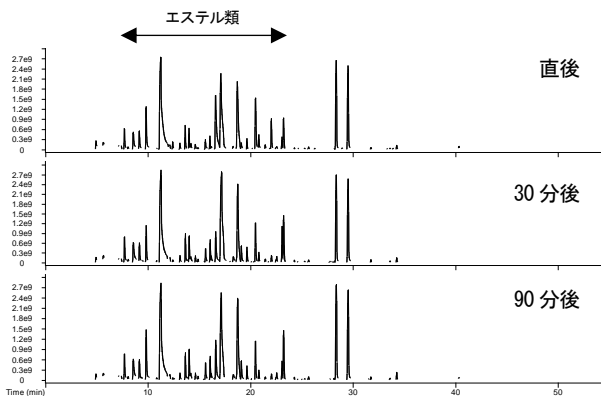


図4 GC-TOFMS分析によるTIC (追熟後, 時間経過)

### 3. 3 追熟前後の品種間の香気成分比較

追熟前および追熟後の各キウイフルーツ果肉のHS香気成分をChromaTOFソフトウェアにより自動ピーク同定を行った結果, 約200のピークが同定された. 図5に

同定された成分のうち香気特性を評価するため有意差の高いFR値10.0以上の125成分を用いて主成分分析を行った結果を示した. 得られたスコアプロット(図5(A))より, 第1主成分(34.4%)および第2主成分(27.8%)で分散の約62%を説明でき, 第1主成分で熟度による違いが, 第2主成分で品種による違いが説明できることが示唆された. また, 香緑とハイワードはさぬきゴールドから離れたところで近い位置にプロットされていることから, この2種はよく似た特性をもっていることが示唆された. 追熟前(図6)と追熟後(図7)のGC-TOFMSのTICはいずれの品種もピーク形状が大きく異なるが, 品種間ではさぬきゴールドが他の2品種と異なる形状となっており, 品種による香りの特徴がみられた. この結果は主成分分析の結果とも一致した. 図5(B)に示したローディングプロットにおいて匂いかぎ分析で感知した8成分を抽出した.

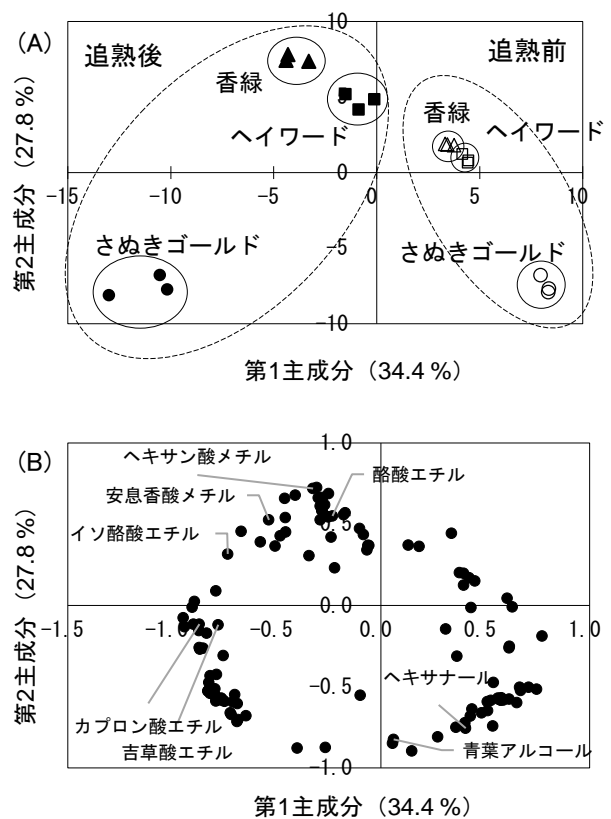


図5 主成分分析 (A: スコア, B: ローディング)

第1主成分(横軸)において, 追熟前は正側, 追熟後は負側を示していることから, 第1主成分のローディングプロットにおいて正の値の絶対値が大きい成分(ヘキサナール, 青葉アルコールなど)が未熟な果実に, 負の値の絶対値が大きい成分(エステル類など)が追熟後に多く含まれているといえる. キウイフルーツは収穫後のエチレン処理による追熟にともない酸が低下するとともに, 糖含量が増加し, 同時に芳香も発生することで食味が向上するといわれている<sup>1)</sup>. 今回の結果でもキウイフルーツの主な香りは追熟前の青臭い香りから, 適熟になると果実様の甘い香りに変化していることが明らかとなった. 次に, 第2主成分(縦軸)において, グリーンキウイフルーツ(以下, グリ

ーン)である香緑およびヘイワードは正側, ゴールドキウイフルーツ(以下, ゴールド)であるさめきゴールドは負側を示していることから, 第2主成分のローディングプロットにおいて正の値の絶対値が大きい成分(ヘキサン酸メチル, 酪酸エチルなど)がグリーンに, 負の値の絶対値が大きい成分(ヘキサン酸エチル, 吉草酸エチルなど)がゴールドに多く含まれているといえる. 小笹らの官能評価ではグリーンはさっぱりした甘さと青臭い酸っぱい香りであり, ゴールドはねっとりとした甘さとまろやかで芳醇な完熟果実様の香りであったことが報告されている<sup>6)</sup>. 今回の結果でもグリーンはパイナップル様の香りが, ゴールドはリンゴ様の香りが特徴的な成分であり, 品種により香氣成分にも特徴がみられることが明らかになった.

一般的にキウイフルーツの食べごろは糖度や果実硬度により判定されている<sup>2)</sup>. キウイフルーツと同様に収穫後に追熟が必要なラ・フランスについては硬さだ

けではなく追熟に伴い揮散する香氣成分を食べごろの指標にできないか検討した報告もある<sup>7)</sup>. したがって, キウイフルーツでも追熟後の香氣成分の経時変化を詳細に調査することで, 可食適期に主要成分となる香りの指標がみつければ, 糖度と香りあるいは硬度と香りの関係を組み合わせてより総合的に判定できると思われる. そのためには今回の試験では果実をカットして分析したが, カットせずに非破壊の状態での分析を今後検討したい.

#### 4 結言

県産キウイフルーツ3品種の追熟前および追熟後の香氣成分を分析した. 果実の主な香りは, 追熟前はヘキサナールなどの青臭い香りであり追熟後はエステル類の甘い香りであった. またグリーンはパイナップル様の香りが, ゴールドはリンゴ様の香りが特徴的な成分であり, 品種により香氣成分に特徴がみられることが明らかになった.

#### 参考文献

- 1) 阿部大吾: キウイフルーツの品種および成熟段階の違いが抗酸化成分に及ぼす影響, 近畿中国四国農業研究センター研究報告, **15**, 35-48 (2016)
- 2) 真子正史: キウイフルーツの貯蔵方法と出庫後の品質変化に関する試験, 神奈川県園芸試験場研究報告, **29**, 18-28 (1982)
- 3) 松岡博美ら: 健康機能性評価による県産農産物ブランド化高付加価値加工食品開発支援(第2報), 香川県産業技術センター平成24年度研究報告, **13**, 90-94 (2012)
- 4) 松原保仁ら: 乾燥オリーブ葉を活用した煮干しの高品質化(第7報), 香川県産業技術センター令和元年度研究報告, **20**, 71-74 (2019)
- 5) Pierce KM *et al.*: Fisher Ratio Method Applied to Third-Order Separation Data To Identify Significant Chemical Components of Metabolite Extracts, *Anal. Chem.*, **78**, 5068-5075 (2006).
- 6) 小笹保子ら: キウイフルーツの香氣特性, 一般社団法人日本家政学会研究発表要旨集, **60**, 224 (2008)
- 7) 新野清ら: セイヨウナシ‘ラ・フランス’の追熟に伴う香氣成分の変化, 東北農業研究, **56**, 169-170 (2003)

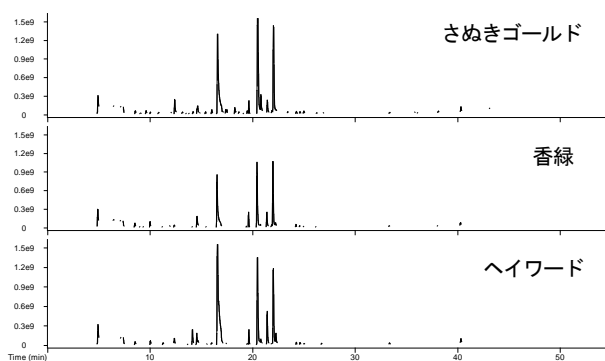


図6 GC-TOFMS分析によるTIC(追熟前, 品種別)

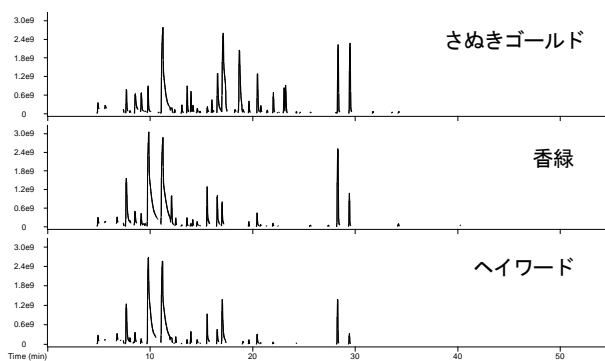


図7 GC-TOFMS分析によるTIC(追熟後, 品種別)



# 乾燥方法の異なるいちごの機能性評価

松岡 博美, 松原 保仁, 久保 和子, 浅井 貴子, 西村 冨加

本研究により, アミノ酸, 有機酸, 糖などの呈味成分および香気などの揮発性成分を詳細に分析することで, 生鮮との比較により乾燥方法が異なるいちごの特徴を明らかにすることができた. 食品の風味は, 味と香りによって構成されることから, 生鮮いちごの風味に關与する成分の損失が少ない乾燥方法は, 凍結乾燥や冷風乾燥と推察された. これらの結果は, 生鮮いちごを加工する際の加工条件の設定や本物感を再現する際の基礎的な知見として活用できると考えられる.

## 1 緒言

いちごは生果としてだけでなく, 洋菓子の装飾, 和菓子の材料, その他ジャムやジュース, ゼリーなどの加工食品としても利用されるなど我々の生活において親しみのある果物である. 一方で, 収穫時期は冬春期に集中しているため, さまざまな加工法が開発され, 一年を通して安定的に効率よく利用するための製造が試みられている. 中でも真空凍結乾燥やマイクロ波減圧乾燥による乾燥は, 温風乾燥と比較していちごに含まれるビタミンCや抗酸化活性の大幅な減少を防ぎ, 品質低下の少ない乾燥方法として報告されている<sup>1, 2)</sup>. また, 複雑な香りを有するいちごの香りについては多くの研究がおこなわれており, 品種ごとに香りの特徴があることや乾燥や長期保存により香気成分が変化することなども報告されている<sup>1, 3)</sup>.

さぬきひめは2009年に品種登録された香川県のオリジナルいちごで, 糖度が高くさわやかな酸味があり, 香りも豊かとされているが, さぬきひめを加工した際の品質についての知見は少ない. そこで本研究では, 乾燥方法がさぬきひめの品質に与える影響について網羅的に把握するため, 呈味成分と香気成分について一斉分析を行い, それぞれの乾燥方法を評価したので報告する.

## 2 実験方法

### 2.1 分析試料

2020年4月に県内小売店より購入した香川県産いちご(品種: さぬきひめ)を用いた.

### 2.2 試料の乾燥

可食部を約5 mmにスライスし, 凍結乾燥は $-20^{\circ}\text{C}$ で凍結後48時間, 冷風乾燥は $25^{\circ}\text{C}$ で4時間,  $30^{\circ}\text{C}$ で5時間,  $35^{\circ}\text{C}$ で39時間の計48時間, 温風乾燥は $60^{\circ}\text{C}$ で48時間乾燥し, 乾燥いちごを調製した.

### 2.3 水分測定

試料の水分含量は, 各乾燥いちごをフードミルで粉碎し, 約1 gをアルミ缶に入れ精秤し, 減圧 $70^{\circ}\text{C}$ , 5時間乾燥して分析した.

### 2.4 抗酸化測定

活性酸素吸収能力(H-ORAC)は国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所のH-ORAC分析法標準作業手順書<sup>4)</sup>に従い測定した.

### 2.5 メタボローム解析

分析試料の調製はPongsuwan<sup>5)</sup>らの方法を参考に以下

のように行った. 各乾燥粉末20 mgを2.0 ml容マイクロ遠心チューブに採取し, メタノール-クロロホルム-超純水(5:2:2) 1000  $\mu\text{l}$ と0.2 mg/mlリビトール水溶液(内部標準物質) 60  $\mu\text{l}$ を加え,  $37^{\circ}\text{C}$ , 30分間加温振とうし, いちご中の成分を抽出した. 次に, 1,300 rpm,  $4^{\circ}\text{C}$ , 10分間遠心分離後, 上清900  $\mu\text{l}$ を1.5 ml用マイクロ遠心チューブに回収した. この上清に400  $\mu\text{l}$ の超純水を加え, 1,300 rpm,  $4^{\circ}\text{C}$ , 10分間遠心分離した. 上清(メタノール-超純水相) 50  $\mu\text{l}$ を1.5 ml容マイクロ遠心チューブに採取し, 遠心濃縮器でメタノールを留去後, マイクロ遠心チューブ中に残留した水溶液を $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結させ, 真空凍結乾燥した.

次に, 上記の方法により抽出したいちご水溶性低分子を既報<sup>6)</sup>の方法に従い, TMS化してGC-MS(GCMS-QP2010, 株式会社島津製作所)による分析に供し, メタボローム解析を行った.

### 2.6 GC-TOFMS 分析と解析

生鮮いちご7 gおよび各乾燥粉末0.7 g(生鮮の水分を約90%とし同重量になるよう換算)を20 ml容量のバイアルに入れて密封し, ヘッドスペース(HS)の香気成分をSPMEファイバー(DVB/CAR/PDMS)(Sigma-Aldrich)に $38^{\circ}\text{C}$ , 30分間捕集した後, 既報<sup>7)</sup>の方法に従い, GC-TOFMS(Pegasus BT, LECOジャパン合同会社)分析に供した. 得られたデータのうちFR値<sup>8)</sup> 50.0以上の化合物を用いて解析を行った. また, GC-TOFMS分析と並行して匂いかぎ分析も行った.

### 2.7 統計解析

分析データの主成分分析には, EXCEL多変量解析Ver.8.0(株式会社エスミ)を用いた.

## 3 結果と考察

### 3.1 乾燥いちごの調製

乾燥前後のいちご重量および各乾燥粉末の水分含量を表1に示した.

表1 乾燥前後のいちご重量および乾燥いちごの水分含量

	乾燥前重量	乾燥後重量	水分
	g		g/100g DW
凍結乾燥	212.48	27.75	4.6
温風乾燥	242.63	30.68	2.1
冷風乾燥	240.90	26.90	5.2

同一時間（48 時間）の乾燥では乾燥方法によって、得られた乾燥粉末の水分含量に違いがみられた。また、冷風乾燥の色調は、凍結乾燥および温風乾燥に比べて赤色がもっとも保持されていた。

### 3. 2 活性酸素吸収能力 (H-ORAC) の測定結果

各乾燥粉末の H-ORAC 値を表 2 に示した。凍結乾燥と比較して、冷風乾燥では高く、温風乾燥では低くなっていた。

表 2 H-ORAC 値

	$\mu\text{mol TE/g}$
凍結乾燥	120
温風乾燥	90
冷風乾燥	150

### 3. 3 メタボローム解析結果

異なる方法で乾燥したいちごのメタボローム解析の結果、70 成分が同定された。同定された成分を主成分分析 (PCA) に供し、得られたスコアプロットを図 1 (A) に示した。第 1 主成分 (41.8 %) および第 2 主成分 (16.0 %) で分散の約 58 % を説明でき、凍結乾燥は第 4 象限、温風乾燥は第 3 象限付近、冷風乾燥は第 1 象限にプロットされ、乾燥方法ごとに分散に特徴がみられた。次にローディングプロットを図 1 (B) に示し、内部標準物質であるリビトールとの相対定量値が 0.1 以上のもの 27 成分を抽出したところ、凍結乾燥はアミノ酸や有機酸などが、冷風乾燥は糖などが特徴的な成分であることが明らかとなった。これらの成分を相対定量値で比較すると、凍結乾燥ではグルタミン酸やグルタミン、アスパラギンなどアミノ酸やリンゴ酸などの有機酸が、冷風乾燥ではフルクトースやスクロースなどの糖が他の乾燥物よりも多かった。温風乾燥ではほとんどの成分が他の乾燥物と比較して少なくなっていたが、コハク酸だけが多くなっていた。

### 3. 4 匂いかぎによる評価

香氣成分の分析においては香氣成分の閾値が重要になってくる<sup>9)</sup>。匂いかぎ GC-TOFMS 分析では微量しか含まれていないにも関わらず閾値の低い成分を感知する

表 3 生鮮いちごに含まれる揮発性成分の特徴

No.	検出時間 (分)	成分名	香りの特徴	凍結乾燥	温風乾燥	冷風乾燥
1	9.77	Butanoic acid, methyl ester	果実様	↓	↓↓↓	↓↓
2	10.38	Butanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	果実様	↓	↓↓↓	↓↓
3	11.10	Butanoic acid, ethyl ester	果実様	↓	↓↓↓	↓↓
4	11.55	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	果実様	↓	↓↓↓	↓↓
5	11.98	Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	果実様	↓	↓↓↓	↓↓
6	17.01	Hexanoic acid, ethyl ester	果実様	↓	↓↓↓	↓↓
7	22.94	Acetic acid	酸臭	↑	↑	↑
8	25.91	Linalool	柑橘様を伴う花様	→	↓↓	→
9	27.33	3(2H)-Furanone, 4-methoxy-2,5-dimethyl-	カラメル様 (甘い)	↑	→	↑
10	27.90	Butanoic acid	チーズ様	↑	→	→
11	30.68	Pentanoic acid	不快臭	↑	↑	↑
12	33.27	Hexanoic acid	汗臭	↑	↑	→
13	35.69	Heptanoic acid	腐敗臭	↑	↑	→
14	37.43	Furaneol	カラメル様 (甘い)	→	→	→
15	40.26	2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-	花様 (甘い)	→	↓↓	↓↓
16	44.81	$\gamma$ -Dodecalactone	ココナッツ様 (甘い)	↓	↓↓	↓↓

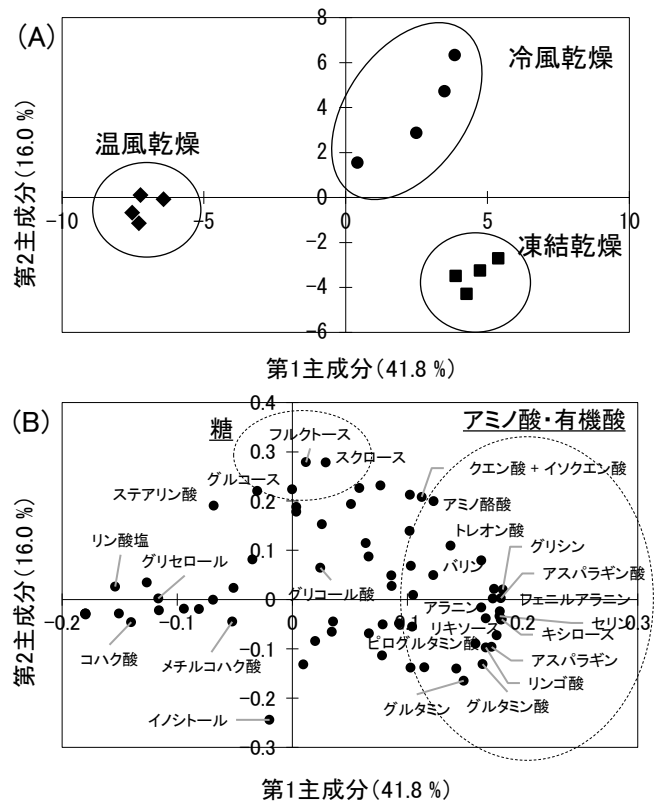


図 1 主成分分析 (A:スコア, B:ローディング)

ことができるが、微量成分はクロマトグラム上ではピークとして検出できない場合がある。反対に、大きなピークであっても閾値が高いと香りを感知できない場合もある。そのため、機器分析だけではなく匂いかぎ分析の結果と照らし合わせながら解析することで、試料の特性をより決定づけることができる。生鮮および各乾燥粉末の匂いかぎ GC-TOFMS 分析を行い、生鮮いちごで感知した成分名、香りの特徴および生鮮と比較した時の各乾燥粉末の香りの強弱を矢印 (↑; 増加, →; 同等, ↓; 減少) で示した (表 3)。生鮮には、いちご

らしい揮発性の高い果実様の香気を有するエステル類、カンキツ様を伴う花様香気 of Linalool, カaramel様の甘い香りを有する Furaneol, 花様の甘い香りを有する 2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-, ココナッツ様の香気 of  $\gamma$ -Dodecalactone, 汗臭の Hexanoic acid が含まれていた。各乾燥粉末の香気の特徴は以下のとおりである。凍結乾燥では、生鮮に比べると揮発性の高い果実様のエステル類の香りが弱くなっていたが、Linalool, Furaneol, 2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-は生鮮と同程度に感じた。一方で酸臭の Acetic acid, チーズ様の Butanoic acid, 汗臭の Hexanoic acid は生鮮に比べると強く感じた。温風乾燥では、生鮮に比べると揮発性の高い果実様のエステル類の香りをほとんど感じず、Linalool の香りも非常に弱くなっていたが、Furaneol の香りは生鮮と同程度に感じた。したがって温風乾燥は、自然ないちごの香りのエステル臭が失われフラノン類のカaramel様の甘い香りが強調され、全体として重くるしい香りであった。冷風乾燥では、温風乾燥ほどではないが生鮮に比べると揮発性の高い果実様のエステル類の香りが弱くなっていたが、Linalool, Furaneol の香りは生鮮と同程度であり、温風乾燥ほどではないが自然ないちごの香りのエステル臭が失われ、フラノン類のカaramel様の甘い香りが強調された香りであった。

### 3. 5 香気成分解析結果

生鮮および各乾燥粉末の GC-TOFMS 分析のトータルイオンクロマトグラム (TIC) を図 2 に示した。各試料に含まれる揮発性成分の TIC は、乾燥方法で異なる形状となっていることが明らかとなり、各乾燥粉末の香気成分に特性があると示唆された。そこで、ChromaTOF ソフトウェアにより自動ピーク同定を行った結果、約 300 のピークが同定され、同定された成分のうち香気特性を評価するため有意差の高い FR 値 50.0 以上の 130 成分を用いて主成分分析を行った (図 3)。得られたスコアプロット (図 3 (A)) より、第 1 主成分 (41.4 %) および第 2 主成分 (34.8 %) で分散の約 76 % を説明で

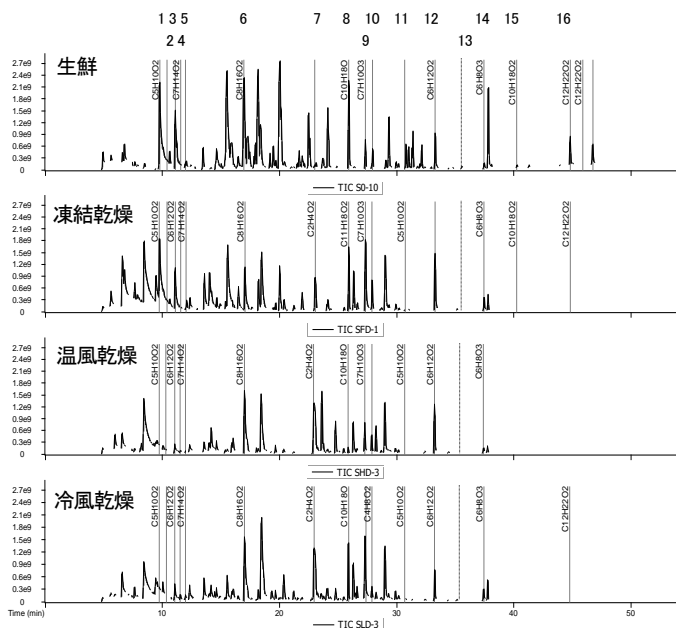


図 2 GC-TOFMS 分析における各試料の TIC

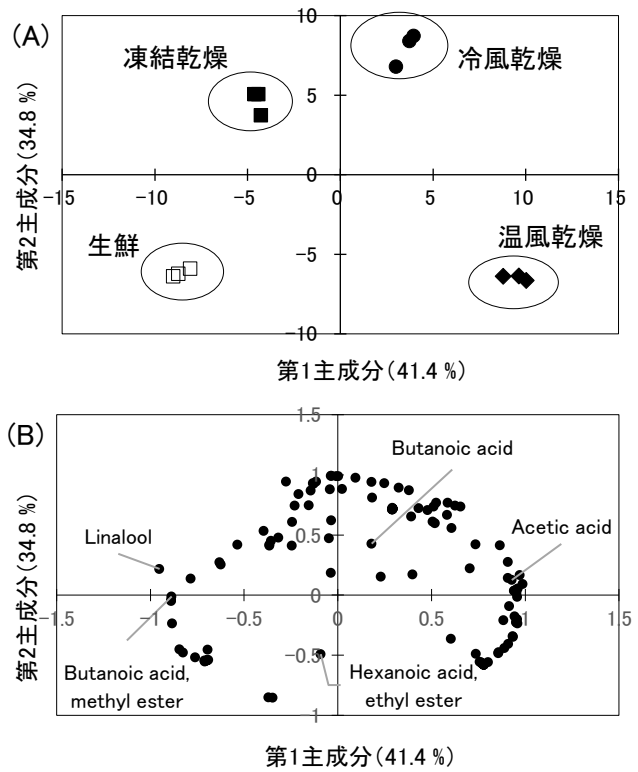


図 3 主成分分析 (A:スコア, B:ローディング)

きた。生鮮は第 3 象限、凍結乾燥は第 2 象限、温風乾燥は第 4 象限、冷風乾燥は第 1 象限にプロットされ、HS 香気成分においても乾燥方法ごとに分散に特徴がみられた。したがって、3つの乾燥方法のうち凍結乾燥が最も生鮮に近い香りを有していることが明らかとなった。また、温風乾燥は冷風乾燥に比べて凍結乾燥から離れた位置にプロットされており、冷風乾燥の方が凍結乾燥に近いことが示唆された。図 3 (B) に示したローディングプロットにおいて匂いかぎ分析で感知した 16 成分のうち 5 成分を抽出した。第 2 象限および第 3 象限に果実様の香りである Butanoic acid, methyl ester や Hexanoic acid, ethyl ester および花様の Linalool が、第 1 象限に不快臭である Butanoic acid や酸臭である Acetic acid が特徴的な成分であった。したがって、凍結乾燥では生鮮に特徴的なエステル類の香りが保持されていると考えられ、この結果は匂いかぎ分析の結果と一致した。

## 4 結言

異なる条件でいちごを乾燥し、それぞれの呈味成分と香気成分を評価した。凍結乾燥ではアミノ酸や有機酸が、冷風乾燥では糖が多くなっていたが、温風乾燥ではほとんどの成分が他の乾燥方法と比較して少なくなっていた。また、凍結乾燥は生鮮に近い香気成分を保持していたが、冷風乾燥は温風乾燥ほどではないがカaramel様の甘い香りが強調された香りになっていた。

## 参考文献

- 1) 佐藤信行ら：施設園芸栽培の省力化・高品質化実証研究，宮城県産業技術総合センター研究報告，15, 35-40 (2017)

- 2) 遠藤 (飛川) みのりら: マイクロ波減圧乾燥および複合乾燥がイチゴ果実の品質に及ぼす影響, 九州沖縄農業研究センター報告, **64**, 13-19 (2015)
- 3) 黒飛知香: 果実・果汁飲料と機能性成分 (17), 食品と容器, **55** (5), 282-290 (2014)
- 4) 渡辺純ら: H-ORAC 分析法標準作業手順書, 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所 (2013)
- 5) Pongsuwan W. *et al.*: Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting, *Agric. Food. Chem.*, **55**, 231-236 (2007).
- 6) 藤川護ら: メタボローム解析技術を活用したニンニク乾燥法の評価, 香川県産業技術センター平成26年度研究報告, **15**, 67-69 (2014)
- 7) 松原保仁ら: 乾燥オリーブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第7報), 香川県産業技術センター令和元年度研究報告, **20**, 71-74 (2019)
- 8) Pierce KM *et al.*: Fisher Ratio Method Applied to Third-Order Separation Data To Identify Significant Chemical Components of Metabolite Extracts, *Anal. Chem.*, **78**, 5068-5075 (2006).
- 9) 時友裕紀子: 果実の香気分析, 化学と生物, **55**(11), 743-749 (2017)

# 醤油に含まれるピログルタミルロイシンの分析

大西 茂彦, 藤井 浩子, 立住 千賀香

清酒に含まれていることが報告されている機能性ジペプチドであるピログルタミルロイシン(pEL)の醤油中濃度を定量した。香川県内外の醤油4製品を分析したところ、醤油にも約20 mg/LのpELが含まれていることが明らかとなった。また、分析した小豆島産醤油の1点は、他の製品の2倍以上の46 mg/LのpELが含まれていた。pELには大腸炎抑制などの機能性が報告されており、本データは醤油の健康機能性評価に寄与するものと考えられた。

## 1 緒言

多くの発酵食品は、原料中のでんぷんやたんぱく質などの高分子化合物が、微生物が生産する酵素により糖、アルコール、アミノ酸などに分解されることにより甘味、うまみが増してゆく。高分子化合物がその構成ユニットである単糖、アミノ酸等にまで完全に分解されない場合は、オリゴ糖やペプチドとなるが、これらにも様々な機能性があることが知られている。近年、清酒中にはピログルタミン酸とロイシンのジペプチドであるピログルタミルロイシン(pEL)が存在し、ラットを用いた動物試験において0.1 mg/kg体重の低用量で腸内細菌叢を正常化し、大腸炎を抑制することが報告されている<sup>1,2)</sup>。清酒中のpELは、酒米に含まれるたんぱく質が麹菌の生産するたんぱく質分解酵素で分解される過程で生成すると考えられている。一方、醤油についても微生物が生産するたんぱく質分解酵素が関与していることから、醤油中にもpELが含まれていると考えられる。本研究では、醤油に含まれている機能性ジペプチドpELの含有量を分析し、醤油の機能性を評価することを目的として実施した。

## 2 実験の方法

### 2.1 材料

小豆島(A社, B社)および県外(C社, D社)で製造された本醸造こいくち醤油を分析に用いた。pELの定量に用いた標準物質は、立命館大学生命科学部白子紗希助教から提供をされたものを使用した。

### 2.2 ピログルタミルロイシンの分析

醤油中のピログルタミルロイシンの分析は、Kiyonoらの方法<sup>2)</sup>を参考に、以下の方法で行った。

醤油を、10 mg/L Piperazine-1,4-bis(2-ethanesulfonic acid) (PIPES, 内部標準物質(I.S.))水溶液で20倍に希釈し、フィルタ孔径0.2 μmのディスパーザブルメンブレンフィルタ(DISMIC 13CP020AN, アドバンテック東洋)でろ過した溶液を1.8 mL容オートサンプラー用バイアルに入れて分析に供した。pELの分析には、高速液体クロマトグラフ質量分析計(LCMS) EXACTIVE(サーモフィッシャーサイエンティフィック)を使用し、表1の分析条件で行った。質量分析データでは、イオン選択モードでPIPES(m/z 303.06), pELおよびピログルタミルロイシン(pEI)(m/z 243.13)のトータルイオンクロマトグ

ラム(TIC)を抽出し、定量分析(内部標準法)に供した。

表1 高速液体クロマトグラフ質量分析計の分析条件

カラム	Inertsil ODS-3(長さ250 mm x 内径2.1 mm, 粒子径5 μm, ジーエルサイエンス)
カラム温度	40°C
注入量	20 μL
移動相流速	200 μL/min
移動相	移動相A:水-アセトニトリル(95:5), 0.1%ギ酸含有 移動相B:水-アセトニトリル(20:80), 0.1%ギ酸含有
グラジエントシステム	0 ~ 15 min 移動相B 0 → 80% 15 ~ 20 min 移動相B 100% 20 ~ 30 min 移動相B 0%
質量分析計	ポジティブモード

## 3 結果と考察

醤油は20倍希釈してLCMS(ポジティブモード)に供し、m/z 303.06(PIPES, 内部標準物質), m/z 243.13(pEL, pEI)のイオンを選択的に分析することで精度良く定量することができた(図1)。

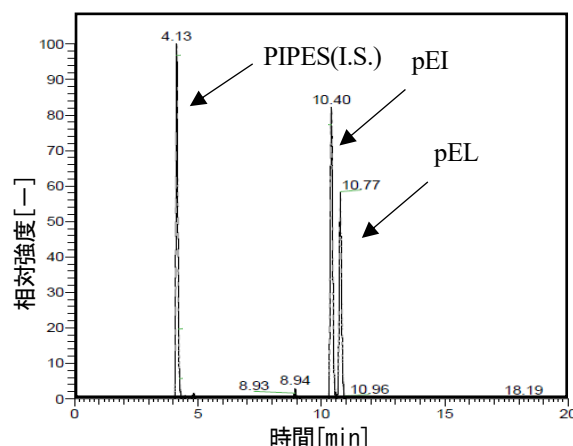


図1 醤油のLCMS分析の典型的なトータルイオンクロマトグラム(TIC)

醤油4製品中のpELを定量分析した結果を表2に示した。分析した醤油のうち3製品は20 mg/L前後のpEL含

有量であったが、小豆島 S 社の醤油中には他製品の 2 倍以上である 46 mg/L の pEL が含まれていた。清酒中の pEL 含有量は 10 mg/L 前後であると報告されており<sup>1)</sup>、大豆など、たんぱく質含量が多い原料を使用する醤油のほう、より多くの pEL を含んでいるものと考えられた。

表 2 醤油中の pEL 濃度

	mg/1000 mL
小豆島 A 社	18
小豆島 B 社	46
県外 C 社	22
県外 D 社	20

pEL は、ラットを用いた動物試験において 0.1 mg/kg 体重の投与量で腸内細菌叢を正常化して大腸炎を抑制するとされている<sup>1)</sup>。60 kg のヒトで同様の効果が得られると仮定すると、この pEL 投与量は 20 mg/1000 mL の pEL を含む醤油 300 mL に相当する。この量の醤油を 1 日の食事で摂取することは現実的ではないが、清酒、味噌など、醤油同様 pEL を含むと考えられる発酵食品と組み合わせた食生活を長期間にわたり継続することで、腸内細菌叢を改善する可能性があると考えられる。

一方、pEL 含有量は製造者により 18~46 mg/1000mL とばらつきがみられた。pEL 含有量は、醤油醸造の製造方法や発酵期間により影響を受けることが予想される。pEL の含有量を最大化する醤油製造方法を確立することで、健

康機能性成分をより多く含む付加価値の高い醤油の製造が可能であると考えられた。今後 pEL 含有量を最大化する醤油製造方法の確立を検討したい。

#### 4 結言

醤油中に含まれている機能性ジペプチドであるピログルタミンロイシン(pEL)の醤油中濃度を定量した。香川県内外の醤油 4 製品を分析したところ、18~46 mg/L の pEL が含まれていることが明らかとなった。pEL には大腸炎抑制などの機能性が報告されており、本データは醤油の健康機能性の評価に寄与するものと考えられた。

#### 謝辞

pEL 標準物質を提供していただいた立命館大学生命科学部白子紗希助教に深謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 佐藤健司, 清野珠美: 食品中の修飾ペプチド—ピログルタミンペプチドの構造・機能, FFI ジャーナル, **222** (3), 216-222 (2017).
- 2) T. Kiyono, K. Hirooka, Y. Yamamoto, S. Kuniishi, M. Ohtsuka, S. Kimura, E. Y. Park, Y. Nakamura and Kenji Sato: Identification of Pyroglutamyl Peptides in Japanese Rice Wine (Sake): Presence of Hepatoprotective PyroGlu-Leu, *J. Agric Food Chem.*, **61**, 11660-11667 (2013).

# しょうゆ統一分析における分析値のバラツキ

岡崎 賢志

県内7機関の醤油の統一分析の結果について統計処理を行い、測定値のバラツキについて検討した。全窒素、塩分、アルコール、無塩可溶性固形分及びpHについては、概ね変動係数が小さい結果が得られており、分析方法や分析者による大きな差は認められなかった。色番については、変動係数が大きかったため、試料は冷蔵し、酸素とできるだけ接触を避け保管するなどの改善が必要であると考えられた。

## 1 緒言

醤油製造では、醤油の成分を正確に分析し、日常的に維持することが、品質管理上重要である。そこで、香川県内の醤油製造事業所5機関と産業技術センター食品研究所及び発酵食品研究所では、毎月同じ醤油サンプルについて成分を分析し（統一分析）、その結果をまとめ、他機関の結果等を参考にして、自社の分析技術の向上を図っている。

今回、統一分析の結果について統計処理を行い、分析値のバラツキについて評価したので報告する。

## 2 分析調査項目

分析項目は、全窒素、塩分、アルコール、無塩可溶性固形分、色番及びpHとした。

## 3 結果及び考察

令和3年1月に行った各機関の分析方法を表1に、また分析結果を表2に示す。

全窒素については、D機関の値のみが低い結果であったが、変動係数も5%以下で、バラツキの無い良好な結果であった。手分析による個人差も認められなかった（A及びC機関）。

表1 各機関の分析方法

	全窒素	塩分	アルコール	無塩可溶性固形分	色番	pH
A 機関	ケルダール法 <sup>1)</sup> (手分析)	モール法 <sup>1)</sup>	酸化法 <sup>2)</sup>	JAS法 <sup>1)</sup>	常法 <sup>3)</sup>	pHメーター
B 機関	ケルダール法 <sup>1)</sup> (自動蒸留滴定装置)	モール法	酸化法	JAS法	常法	pHメーター
C 機関	ケルダール法 (手分析)	モール法	酸化法	JAS法	常法	pHメーター
D 機関	ケルダール法 (自動蒸留滴定装置)	モール法	—	JAS法	常法	pHメーター
E 機関	燃烧法 <sup>1)</sup>	電位差滴定法 <sup>1)</sup>	ガスクロマトグラフ法	JAS法	常法	pHメーター
F 機関	ケルダール法 (自動蒸留滴定装置)	電位差滴定法	ガスクロマトグラフ法	JAS法	常法	pHメーター
G 機関	ケルダール法 (自動蒸留滴定装置)	電位差滴定法	ガスクロマトグラフ法	JAS法	常法	pHメーター

表2 各機関の分析結果

	全窒素 g/100ml	塩分 g/100ml	アルコール g/100ml	無塩可溶性 固形分(%)	色番	pH
A 機関	1.59	16.94	1.96	18.0	19	4.68
B 機関	1.59	16.93	2.05	18.3	19	4.74
C 機関	1.61	16.95	1.94	18.3	19	4.70
D 機関	1.41	16.67	—	19.5	17	4.36
E 機関	1.59	17.18	2.00	17.9	15	4.77
F 機関	1.60	16.84	1.95	18.2	21	4.72
G 機関	1.61	17.20	2.00	17.7	18	4.71
平均値	1.57	16.96	1.98	18.3	18.3	4.67
標準偏差	0.07	0.19	0.04	0.59	1.89	0.14
変動係数(%)	4.46	1.12	2.07	3.22	10.33	3.00

塩分については、変動係数が1.12%であり、バラツキが小さい結果であった。既報<sup>4)</sup>では電位差滴定法はモール法に比べ、塩分値が高くなる傾向が認められたが、今回もF機関を除けば、E機関、G機関が高めの値であった。モール法においても、D機関が若干低めの値であったが、精度よく個人差も認められなかった。

アルコールについては、変動係数が2.07%であり、バラツキが小さかった。また、酸化法及びガスクロマトグラフ法の分析方法の違いによる差も認められなかった。

無塩可溶性固形分については、変動係数が3.22%であり、バラツキ差が小さかった。

色番については、変動係数が10.33%であり、バラツキが大きかった。原因としては、測定するまでの試料の保存方法の違い、また測定方法による個人差が考えられる。この点については今後の課題であると考えられた。なお、色番については、測色色差計での分析値が規定されており、今回の測色色差計での値は19であった。

pHについては、変動係数が3.00%であり、良好な結果が得られた。

全体的に色番以外は概ね良好な結果が得られており、分析方法や、分析者についても大きなバラツキは認められなかった。色番については、冷蔵で保管し、酸素と接触させないようにするなどの改善が必要であると考えられた。

#### 4 結言

県内7機関の統一分析の結果について統計処理を行い、バラツキを検討した。全窒素、塩分、アルコール、無塩可溶性固形分及びpHについては、概ね良好な結果が得られており、分析方法や個人による大きな誤差は認められなかった。

色番については、バラツキが大きかったため、試料を冷蔵し、酸素と接触させずに保管することが重要であると考えられた。

#### 参考文献

- 1) しょうゆの日本農林規格:最終改正 平成27年12月3日農林水産省告示第2596号
- 2) 財団法人 日本醤油研究所しょうゆ試験法編集委員会:しょうゆ試験法 pp.9-12(1985).
- 3) 財団法人 日本醤油研究所しょうゆ試験法編集委員会:しょうゆ試験法 pp.1(1985).
- 4) 岡崎賢志, 藤井浩子, 吉岡直美, 大谷尚美, 立住千賀香, 稲津忠雄:香川県産業技術センター研究報告, **19**, 71-72(2018).



# 小麦粉生地への延び不良原因の検討（第二報）

稲津 忠雄, 立住 千賀香, 吉岡 直美

長命草粉末を配合した手延そうめん製造工程で発生する麺生地の延び不良について、ポリフェノール成分の関与について検討を行った。小麦粉生地の引張試験結果から、長命草を加えると生地が硬く延びにくくなるが、ポリフェノール成分を除去した長命草粉末を加えると、無添加とほぼ同じ延びを示し、小麦粉生地の延び不良原因はポリフェノール成分の影響が大きいと考えられた。

## 1 緒言

前報<sup>1)</sup>で手延べそうめんに長命草粉末を配合した時に生じる麺生地の延び不良原因について検討を行い、ポリフェノール成分の関与は少ないと報告した。これは長命草粉末をエタノールで処理して、ポリフェノール成分を抽出除去した乾燥粉末と、無処理のものをそれぞれ配合した小麦粉生地の物性試験比較にて評価したものである。しかし、一般にポリフェノールの抽出は含水アルコール、塩酸性アルコール、その他有機溶媒が用いられており、前回のエタノール(99.5%)処理にて、十分に長命草からポリフェノール成分が抽出除去されたか検証できていなかった。

そこで本研究では、ポリフェノールの抽出除去に対する溶媒の影響を評価・確認するとともに、その最適溶媒で処理した長命草粉末等を用いて、小麦粉生地の延び不良原因を検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

小麦粉は市販の中力粉(特雀,日清製粉㈱製),長命草は㈱高橋商店の小豆島産長命草の粉末(水分5.8%),クロロゲン酸0.5水和物はナカライテスク㈱製を用いた。

### 2.2 長命草からのポリフェノール抽出試験

長命草1gに各溶媒20mLを加え,20分間振とう抽出を行い,遠心分離(3,000rpm×5分)を行って上清液を回収した。同溶媒を適量加えて同じ操作を3回繰り返し,50mLに定容したものを試料溶液とした。

溶媒は,食品用途を想定してエタノール,80%エタノール,水とし,80%メタノール抽出した抽出液の総ポリフェノール含量を,長命草に含まれる全ポリフェノール含量とし,各溶媒と比較して回収率を算出した。

### 2.3 総ポリフェノール量の測定

総ポリフェノール量の測定は標準物質をクロロゲン酸として,比色法により行った<sup>2)</sup>。

### 2.4 80%エタノール処理長命草粉末の調製

80%エタノール処理長命草粉末は,長命草粉末に20倍量のエタノールを加え20分間攪拌,エタノールを吸引濾別して残渣に同溶媒を加えて同じ操作を適宜繰り返し洗浄後,常温で減圧乾燥して調製した(水分3.0%)。

### 2.5 小麦粉生地の物性試験

ファリノグラフはブラベンダー社のドウコーダーDCE330を用いた。エキステンソグラフもブラベンダー

社のものを用いた。

試験区は小麦粉のみ区,長命草3%配合区(乾物基準),80%エタノール処理長命草3%配合区(乾物基準),クロロゲン酸添加区の4区を設けた。クロロゲン酸添加区は長命草中のクロロゲン酸含量相当量から,小麦粉300g(水分13.5%)に対して,104mgを加えた。

測定は小麦品質検定方法<sup>3)</sup>により行い,ファリノグラムから吸水率(Abs),形成時間(DT),安定度(Stab),弱化度(Wk)を,エキステンソグラムから面積(A),伸長度(E),伸長抵抗(R),形状係数(R/E)を求めた。

## 3 結果および考察

### 3.1 ポリフェノール成分の回収率

図1は,長命草粉末の各種溶媒に対する総ポリフェノールの回収率を示す。図1に示すとおり,含水エタ

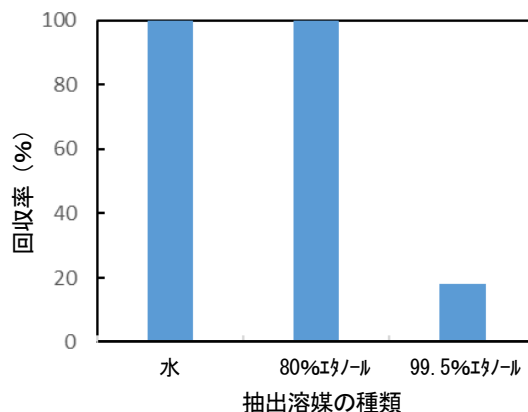


図1 長命草の総ポリフェノール回収率

ノール,水は回収率がほぼ100%であったのに対して,前報<sup>1)</sup>で報告したエタノール処理では回収率が20%を下回り,十分ポリフェノール成分が抽出できていないことが明らかとなった。そこで本研究では,抽出後の乾燥処理も考慮して,80%エタノール処理の乾燥粉末をポリフェノール成分を除去したものとして,以降の実験に供した。

### 3.2 小麦粉生地の物性試験結果

表2にファリノグラム,表3にエキステンソグラムの特性値を示す。

表2に示すとおり,長命草を配合することによって,前回<sup>1)</sup>と同様に混練を続けると生地へのあたり(Wk)が大きくなる結果であった。

表2 ファリノグラムの特性値

試験区	Abs [%]	DT [min]	Stab [min]	Wk [BU]
無添加	61.5	0.8	0.7	50
長命草配合区	62.0	1.0	1.4	110
80%エタノール処理長命草配合区	64.9	1.3	1.1	70
クロロゲン酸添加区	61.1	1.0	1.1	70

表3 エキステンソグラム特性値

試験区	A [cm <sup>2</sup> ]	R [BU]	E [mm]	R/E [-]
無添加	139	1,010	107	9.4
長命草配合区	119	1,030	89	11.6
80%エタノール処理長命草配合区	134	1,025	106	9.7
クロロゲン酸添加区	124	1,030	92	11.2

また、長命草粉末を配合することによって、表3に示すとおり、伸長度(E)が低下する一方、伸長抵抗(R)は逆に高くなり、エキステンソグラムの特性値からも、硬くて粘性の低い伸びにくい生地になり、製麺作業性が劣るといわれている傾向を機器測定から評価することができた。樋口ら<sup>4)</sup>は栗渋皮の有効利用でクッキーにその粉末を配合し試作を行っているが、ポリフェノール成分の影響で小麦粉生地のグルテン膜が破れやすくなったと報告しており、本報告の結果と同様の影響があったものと考えられた。

次に、長命草からポリフェノール成分を除去する目的で調製した80%エタノール処理長命草粉末の配合は、

伸長度、伸長抵抗ともに、小麦粉のみの無添加区とほぼ同じ値を示し、ポリフェノール成分が除去されると伸びにくさが解消される結果となった。さらに、長命草のポリフェノールの主成分であるクロロゲン酸を添加すると、長命草を配合した時と同様に、生地の伸びにくさがアミログラム特性値から再現されており、長命草配合による伸びにくさはポリフェノール成分の関与が大きいと考えられた。

#### 4 結言

長命草を配合した手延べそうめんの製造において、生地の伸長を阻害する要因としては、小麦粉生地の物性試験から、長命草に含まれるポリフェノール成分の関与が大きいと考えられた。

#### 参考文献

- 1) 稲津忠雄, 立住千賀香, 藤井浩子, 吉岡直美, 小麦粉生地の伸び不良原因の検討, 香川県産業技術センター研究報告, **20**, 69-70 (2019).
- 2) 松岡博美, 大島久華, 浅井貴子, 松原梓, 発光動物細胞を用いた県産農産物の機能性評価, 香川県産業技術センター研究報告, **20**, 56-58 (2019).
- 3) 農林水産技術会議事務局: 小麦品質検定方法—小麦育種試験における—, pp. 29-39 (1968).
- 4) 樋口誠一, 高橋学, 早川淳一, 吉川麻美, 国分由梨, 仲島日出男, 県産食品素材を用いた機能性食品の開発—栗ポリフェノールの利用—, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **7**, 56-58 (2009).

# オリーブ新品種「香オリ5号」から採油されたオリーブオイルの特性

柴崎 博行, 藤川 護, 吉岡 直美, 大谷 尚美, 立住 千賀香, 豊嶋 貴司\*

本県が開発したオリーブ新品種のうちオイル用品種である「香オリ5号」の差別化を目的として、そのオリーブオイルに含まれる成分の比較分析を行った。抗酸化成分であるポリフェノール及びトコフェロールの含量は、主要品種であるミッション種、ルッカ種と比べて「香オリ5号」は高い傾向が認められた。

## 1 緒言

「香オリ3号」及び「香オリ5号」は、オリーブでは国内で初めて香川県が開発した新品種である。2017年8月25日に品種登録出願を行い、同年12月19日に出願公表があった。「香オリ3号」は塩蔵・オイル兼用品種であるのに対し、「香オリ5号」はオイル専用種である。炭疽病に対する抵抗性はミッション種より高く、また採油率は「ミッション」種、「ルッカ」種より高い。オイルの官能特性は「ミッション」種、「ルッカ」種と比較して辛味、苦味、収れん性が強いのが特徴である。

「香オリ3号」及び「香オリ5号」については、県内で苗木の生産を行い、今年度から県内の生産者に対して供給を開始したところである。

今後、新品種の生産拡大を行うためには、新品種と従来品種との品質の差別化を行うことが一つの方策であると考えられる。

そこで今回、オイル専用種である「香オリ5号」について、従来品種との機能性成分の比較を行った。

## 2 実験方法

### 2.1 分析用試料

香川県農業試験場小豆オリーブ研究所において栽培されているオリーブから収穫した果実から、試験用小型採油装置 (Abencor system, MC2 Ingenieria y Systemas S.L. 社製) で採油されたオイルを、濾過ののちサンプル瓶に入れて冷蔵保存し、分析に供した。2020年産と2019年産オイルについて、分析を行った。

### 2.2 ポリフェノール成分の分析

オリーブオイルに含まれるポリフェノール成分の分析の前処理である当該成分の抽出は、既報<sup>1)</sup>に従って行った。

総ポリフェノール量の測定は、カフェ酸を標準物質として Folin-Ciocalteu 法に準じて行った<sup>2)</sup>。

### 2.3 トコフェロールの分析

オリーブオイルに含まれるトコフェロールの分析は、常法<sup>3)</sup>を参考にした HPLC 法で分析を行った。分析条件の詳細は表1のとおりである。オリーブオイル1gを精秤し、内部標準物質として 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-hydroxychroman を含む n-ヘキサンで10 mLに定容した溶液を、分析用試料とした。

表1 トコフェロールの HPLC 分析条件

HPLC	X-LC (日本分光社製)
カラム	Shim-pack XR-SIL 75 mm (島津製作所社製)
カラム温度	30°C
移動相	n-ヘキサン : テトラヒドロフラン : 2-プロパノール (97.5 : 2 : 0.5)
	流速 0.8 mL/分
検出	蛍光 (励起波長 298nm, 蛍光波長 325nm)

## 2.4 脂肪酸組成の分析

オリーブオイルの脂肪酸組成の分析は、ガスクロマトグラフ (GC) 法で行った。オリーブオイルからのガスクロマト用脂肪酸メチルエステルの調製は、脂肪酸メチル化キット及びメチル化脂肪酸生成キット (いずれもナカライテスク社製) を用いて行った。GC法の分析条件は表2のとおりである。

表2 脂肪酸組成の分析条件

GC	GC-2010plus (島津製作所社製)
カラム	SUPELWAX10 (30 m×0.25 mm, 膜厚 0.25 μm, Supelco 社製)
カラム温度	50°C (1分) → (25°C/分) → 200°C → (3°C/分) → 230°C (18分)
スプリット比	1/50
キャリアーガス	窒素
メイクアップガス	ヘリウム
検出	FID (260°C)

## 3 実験結果及び考察

### 3.1 ポリフェノール含量

表4にオリーブオイルのポリフェノール含量の分析結果を示した。2019年産オイルと比べて2020年産オイルの方がポリフェノール含量が高く、年変動が大きいことが示唆されたが、いずれの年も従来品種である「ミッション」種、「ルッカ」種と比べて「香オリ5号」の方がポリフェノール含量は高かった。特に2019年産は従来品種との差が大きかった。一般的にバージンオリーブオイルのポリフェノール含量は50~200 ppmとされている<sup>4)</sup>が、「香オリ5号」についてはこれを上回るものであった。

\*香川県農業試験場小豆オリーブ研究所



# 香辛料を用いた新漬けオリーブの殺菌方法の検討

藤川 護, 柴崎 博行, 大谷 尚美

香辛料を用いた新たな新漬けオリーブ製品の開発を支援するため、香辛料を用いた際に問題となる微生物汚染を抑えるための殺菌条件を検討するとともに、その効果と果肉品質への影響を検討した。香辛料を用いた新漬けの殺菌は、従前の殺菌方法で微生物を抑制でき、果肉の色調、硬度も遜色ないことが明らかとなった。

## 1 緒言

新漬けオリーブ（以下、「新漬け」という。）は、収穫したオリーブ果実を脱渋後、塩水に浸漬し、袋詰めを行い、約 85 °C、30 分間の加熱殺菌工程を経て販売されている。新漬けは塩水による味付けのみを施した製品が主流であり、これまでは品種やサイズによる製品の差別化を行っていたが、調味による差別化は行われていなかった。さらなる新漬けの高付加価値のため、調味を施した新漬け（以下、「調味新漬け」という。）など様々な特徴を持った新漬けの開発が重要であり、それらの流通に向けて、製品ごとに対応した製造方法の開発が必要である。

香辛料は簡易な屋外乾燥で製造されたものも多く流通しており、これらは微生物に汚染されている場合も少なくない<sup>1)</sup>。このような香辛料を配合した場合、新漬けの品質に悪影響を及ぼすほか、健康被害を生じる恐れもある。新漬けの殺菌は脱渋時の水酸化ナトリウムによる処理と袋詰め後の加熱殺菌により行われているが、脱渋後に香辛料を加えた時の殺菌条件の検討は行われていない。しかし、既報<sup>2-4)</sup>において長期保存を目的としたレトルト処理による新漬けの殺菌方法を検討しており、本処理が調味新漬けの殺菌に有効な手法になると考えられる。

本研究では調味新漬けの製造条件の確立を目的とし、香辛料添加による微生物殺菌条件など、殺菌方法が果肉の色調や硬度に与える影響を比較したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 原料果実の加工

香川県農業試験場小豆オリーブ研究所で2019年10月下旬に収穫したオリーブ果実（品種：ミッション）を、2%水酸化ナトリウム溶液で脱渋し、常法に従って新漬けを試作した<sup>5)</sup>。試作した新漬けは試験開始まで3%塩化ナトリウム溶液中で冷蔵保存した。香辛料は表1に示す唐辛子とガーリックチップを県内小売店より購入し、フードプロセッサで粉砕後、試験開始まで冷蔵保存した。

表1 試験に用いた香辛料

試験区	菌数 (/g)		
	一般生菌	真菌	耐熱芽胞菌
ガーリックチップ	300以下	100以下	300以下
唐辛子	1.2 × 10 <sup>6</sup>	7.0 × 10 <sup>4</sup>	300以下

### 2.2 調味新漬けの調製

調味新漬けの調製は約80gの新漬け果実に対し、100 mLの浸漬液（3% (w/w) 塩化ナトリウム溶液 100 mL に0.2gのガーリックパウダーと0.05gの唐辛子を配合）を加え真空包装し6袋の調味新漬けを調製した。この6袋は殺菌しない未殺菌区（2袋）、従来の殺菌方法である85 °C、30分殺菌の従来区（2袋）、120 °C、4分のレトルト処理区（2袋）に分けた。また、果肉の退色と軟化対策を施した調味新漬けは、その対策として約80gの新漬け果実を、乳酸Ca 0.125gと水酸化Ca 10mgをそれぞれ添加した100 mLの3% (w/w) 塩化ナトリウム溶液中に一晩浸漬し、水切り後、同溶液に他の試験区と同じ配合で香辛料を加えた浸漬液100mLを新たに加え、真空包装し調製した2袋をレトルト処理した（レトルトCa区）。試作した新漬けは常温、暗所で1週間保存し各種分析に供した。

### 2.3 微生物試験

食品衛生検査指針に従い、調味新漬け浸漬液中の一般生菌と真菌及び耐熱性芽胞菌の菌数を測定した。

### 2.4 色調評価

新漬けの色調は分光式色彩計 SE2000（日本電色工業株式会社製）を用いて L\*a\*b\* を測定した。新漬け果実を 10 mm φ の試料台に乗せ、各試験区について 15 個ずつ 2 反復合計 30 個の果実の測定を行った。また、未殺菌区を基準として各試験区の L\*a\*b\* の平均値から以下の式（1）を用いて色差 ΔE\*ab を求めた。

$$\Delta E^*ab = \{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2\}^{1/2} \quad (1)$$

### 2.5 物性評価

新漬けの物性測定は、クリープメーター RE2-3305B（株式会社山電製）を用いて、破断強度試験モードで破断荷重（N）を測定した。測定条件は、プランジャー No. 45（1 mm × 8 mm）、ロードセル 20 N、アンプ倍率 1 倍、格納ピッチ 0.02、測定速度 1 mm/sec、接触面積 8 mm<sup>2</sup> とした。新漬けをそのままの状態ですてージ上にセットし破断強度を測定した後、変形距離から計算した種の厚さを除去した果肉部分のみの物性を再解析により評価した。各試験区について 15 個ずつ 2 反復合計 30 個の果実の測定を行った。

### 2.6 統計処理

得られた結果について統計解析ソフト Statcel 2 を用い、多重比較検定（Bonferroni-Dunn）により有意差

検定を行った。

### 3 結果と考察

#### 3.1 殺菌処理の有効性

調味新漬け浸漬液中の菌数を表2に示す。未殺菌の試験区では主に原料に用いた唐辛子由来と考えられる一般生菌や真菌は検出されたものの、耐熱芽胞菌は検出されなかった。同じ原料を用いた場合においても、従来殺菌やレトルト殺菌を行うことで一般生菌や真菌は検出されなくなり、これらの殺菌方法は調味新漬けにおいても有効であることが確認できた。本試験では原料に用いたガーリックパウダーや唐辛子から耐熱芽胞菌は検出されなかったが、松倉<sup>1)</sup>はこれらの香辛料に芽胞菌が多く附着していることを報告しており、芽胞菌に汚染された原料を用いた調味新漬けに対する従来殺菌法の有効性については、今後さらなる検討が必要である。

表2 各種新漬け浸漬液の菌数

試験区	菌数 (/mL)		
	一般生菌	真菌	耐熱芽胞菌
未殺菌区	8.2 × 10 <sup>6</sup>	5.1 × 10 <sup>6</sup>	30 以下
従来区	30 以下	10 以下	30 以下
レトルト区	30 以下	10 以下	30 以下
レトルト, Ca添加区	30 以下	10 以下	30 以下

#### 3.2 各種殺菌処理による色調への影響

各試験区の L\*a\*b\*の値と色差 ΔE\*ab の値を表3に示す。明度を表すLはレトルト・Ca添加区は他の試験区と比較して有意に低い値であったが、その他の試験区間では有意な差は認められなかった。レトルト・Ca添加区において未殺菌区よりもLが低下したことから、乳酸Caと水酸化Caの添加により果肉の色調が暗色へ変化することが判明した。

次に、赤色(+方向)から緑色(-方向)を表すa\*は殺菌処理により増加し、各試験区間で有意な差が認められた。a\*はレトルト区、従来区、レトルト・Ca添加区、未殺菌区の順となり、最も緑色の退色が進行したのはレトルト区であった。既報<sup>3,4)</sup>においてレトルト殺菌時に水酸化カルシウムを加えることでa\*の上昇が抑制でき、緑色の退色に対して水酸化カルシウムの添加が有効であることが明らかになっており、調味新漬けにおいても同様の効果が得られることが確認できた。黄色(+方向)から青色(-方向)を表すb\*はLと同様にレトルト・Ca添加区は他の試験区と比較して有意に低い値であったが、その他の試験区間では有意な差は認められなかった。レトルト・Ca添加区において未殺菌区よりもb\*が低下したことから、乳酸Caと水酸化Caの添加により青色へ色調が変化することが判明した。

化 Ca の添加により青色へ色調が変化することが判明した。

全体的な色調の違いを表す色差 ΔE\*ab はレトルト・Ca添加区、レトルト区、従来区の順で高かった。殺菌処理により ΔE\*ab が上昇し、特にレトルト殺菌を行った試験区で高い値であった。レトルト・Ca添加区は未処理区と比較して緑色の指標である b\*は僅かに増加したのみであったが、L\*と b\*が減少したため結果として ΔE\*ab が上昇した。色差は 2.5 以下であれば離間して判定した場合にはほぼ同一、5.0 以下であれば経時比較した場合にはほぼ同一と感ぜられる<sup>6)</sup>ことから(表4)、いずれの殺菌方法においても経時比較した際に判別できない程度の変色であることが確認できた。また、レトルト・Ca添加区の ΔE\*ab は最も高かったが、各試験区の色調を目視で比較した場合、レトルト・Ca添加区では緑色が保持されていたため、他の殺菌処理を行った試験区と比較して未殺菌の試験区に近い外観であった。既報<sup>3,4)</sup>において、常温での保存中に果実の退色が進行することが明らかとなっているため、今後、長期保存を行った場合の各殺菌方法による色調の差異についても検討が必要であると考えられる。

表4 色差 (ΔE\*ab) の特徴

色差の大きさ	摘要
1.2	並べて判定した場合に、ほとんどの人が容易に色差を認めることができる
2.5	離間して判定した場合に、ほぼ同一と認めることができる
5.0	経時比較した場合に、ほぼ同一と認めることができる

#### 3.3 各種処理による物性への影響

各試験区の破断荷重を表5に示す。レトルト区とレトルト・Ca添加区は未殺菌区や従来区と比較して有意に破断荷重が減少しており、レトルト処理により果肉の軟化が生じた。既報<sup>2)</sup>においてレトルト殺菌時に生じる果肉の軟化を乳酸Caの添加により抑制できることを報告しており、レトルト・Ca添加区においてレトルト区よりも破断荷重が大きかったことから、調味新漬けにおいても同様の効果が得られることが確認できた。

表5 各種新漬けの破断荷重

試験区	破断荷重 (N)	
	平均	標準偏差
未殺菌区	10.1 ± 2.2 <sup>a</sup>	
従来区	9.1 ± 2.3 <sup>a</sup>	
レトルト区	4.6 ± 0.9 <sup>b</sup>	
レトルト, Ca添加区	7.4 ± 1.1 <sup>c</sup>	

異符号間に有意差 (P<0.05)

表3 各種殺菌処理による色調への影響

試験区	L*		a*		b*		ΔE*ab
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
未殺菌区	25.7 ± 1.7 <sup>a</sup>	± 1.7 <sup>a</sup>	-5.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	± 0.4 <sup>a</sup>	16.3 ± 1.7 <sup>a</sup>	± 1.7 <sup>a</sup>	-
従来区	25.9 ± 1.3 <sup>a</sup>	± 1.3 <sup>a</sup>	-4.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	± 0.3 <sup>b</sup>	17.0 ± 1.4 <sup>a</sup>	± 1.4 <sup>a</sup>	1.3
レトルト区	26.1 ± 1.6 <sup>a</sup>	± 1.6 <sup>a</sup>	-3.4 ± 0.4 <sup>c</sup>	± 0.4 <sup>c</sup>	16.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	± 1.5 <sup>a</sup>	1.9
レトルト, Ca添加区	24.2 ± 1.4 <sup>b</sup>	± 1.4 <sup>b</sup>	-4.9 ± 0.5 <sup>d</sup>	± 0.5 <sup>d</sup>	15.0 ± 1.2 <sup>b</sup>	± 1.2 <sup>b</sup>	2.0

異符号間に有意差 (P<0.05)

しかし、過去3年間の報告では、レトルト処理を行った場合であっても乳酸Caの添加により従来区と同程度まで軟化の抑制が可能であったが、本試験では従来区よりも有意に破断荷重が減少していた。本試験に用いたオリーブ果実は未熟なオリーブ果実の使用による脱渋不足を防ぐため、10月下旬に収穫しており、例年よりも収穫が遅く熟度が高かった点がこれまでと大きく異なっていた。この熟度の違いが、乳酸Caによる軟化抑制効果に影響を与えた可能性が考えられるため、今後、熟度と乳酸Ca添加による軟化抑制効果の関係を注意深く検討する必要があると思われる。

#### 4 結言

香辛料を用いた新漬けオリーブの殺菌方法として、従来から用いられている約85℃・30分間の加熱殺菌と120℃・4分間のレトルト殺菌は香辛料に由来する一般生菌と真菌を殺菌でき、両者ともに有効な殺菌方法であることが示された。また、耐熱性芽胞菌対策として用いるレトルト殺菌では、殺菌時に問題となるオリーブ果実の軟化や退色に対して乳酸Caと水酸化Caの併用が香辛料を加えた新漬けにおいても有効である

ことが確認できた。

#### 参考文献

- 1) 松倉十一: スパイスの微生物と分析, 化学と生物, **8**, 217-224, (1970)
- 2) 松岡博美, 柴崎博行: 新漬けオリーブの硬度保持に関する検討, 香川県産業技術センター報告, **18**, 91-92, (2017)
- 3) 藤川護, 柴崎博行: 新漬けオリーブ色調, 硬度保持に関する検討, 香川県産業技術センター報告, **19**, 82-84, (2018)
- 4) 藤川護, 柴崎博行, 大谷尚美: 新漬けオリーブ色調, 硬度保持に関する検討(第2報), 香川県産業技術センター報告, **20**, 78-80, (2019)
- 5) 香川県農業試験場小豆オリーブ研究所HP: オリーブいろいろ 果実の加工 家庭でできるオリーブ果実加工—新漬けオリーブの作り方—, <http://www.pref.kagawa.jp/noshi/olive/kakou.html>
- 6) 財団法人日本色彩研究所編: 色彩管理の基礎, **2**, 79 (1993).

# オリーブオイル化学分析における測定不確かさの見積もり

富本 和也, 柴崎 博行, 藤川 護, 岡崎 賢志, 稲津 忠雄, 木村 功

香川県では「かがわオリーブオイル品質表示制度」を定め、化学分析値・官能評価に基づくオリーブオイルの独自認証を行っている。同表示制度を国際的にも通用するものとするためには、「試験所」における分析業務等に対する要求事項の国際規格「ISO/IEC 17025:2017」の認定取得が求められる。本稿では同規格認定取得の一環として、オリーブオイル化学分析における測定不確かさを「不確かさ要因抽出→各不確かさの評価→実験・文献調査による不確かさの数値化→各数値の合成」という流れで見積もりを行った。

## 1 緒言

香川県におけるオリーブオイルは重要な県農産品であるが、その生産体制は小規模事業者における労働集約型であり、生産量が少なく総じて高価である。そのため市場においては、安価な輸入オイルよりもその価格に見合った高品質・高付加価値であることが求められている。

このため本県においては、県産オリーブオイルに対する品質保証と高付加価値化を図り、その普及と需要拡大を目的として、「かがわオリーブオイル品質表示制度」を定め、オリーブオイルの化学分析・官能評価に基づく独自の認証を行っている。しかし、本県におけるオリーブオイル化学分析の技術水準・信頼性については外部機関による評価・認定等はされていないため、本表示制度の権威を高め、また国際的にも通用するものとするためには、本県におけるオリーブオイル分析機関が International Olive Council (IOC) による認定を取得することが求められる。IOC 認定にあっては、当該分析機関の ISO/IEC 17025:2017 (対応する JIS 規格: JIS Q 17025:2018 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項) の認定取得が前提条件となるため、まずは IOC 認定のオリーブオイル化学分析を実施予定である当センター発酵食品研究所 (以下、「当所」という) が機関としてこれを取得する必要がある。

そこで本稿では、ISO/IEC 17025:2017 取得に係る文書作成の一環として、オリーブオイル化学分析における測定不確かさの見積もりを行ったので報告する。

## 2 測定における「不確かさ」とは？

いかに高度な測定・分析であっても、分析対象の「真値」(測定対象物におけるある物理量(体積・質量・特定物質濃度等)の、測定方法に依存しない真の値)を知ることは不可能であるため、測定精度をその定義上、真値に依存する「誤差」(真値から測定値を減じた値)で論じるのは矛盾がある。そこで、誤差に代わる概念として生み出され、1990年代から普及しだしたのが「不確かさ」である<sup>1)</sup>。不確かさとは、測定値・分析値のばらつき程度を数値によって明示したものである。測定における不確かさの見積もりでは、まず測定過程における不確かさの要因を抽出し、それらの不確

かさによってどの程度のばらつきが試料の採取量や分析器の表示値等に生じるかを予備評価した後、影響が軽微でないものについて実験・文献調査等での大きさを数値化する。各ばらつきの大きさを、それらの平均値に対する標準偏差として表したものを「標準不確かさ」という<sup>2)</sup>。標準不確かさは、ある物理量に対し±数値(その量と同単位または百分率による相対値)による範囲として表示される。

各不確かさ要因の標準不確かさが、最終的な分析結果にどの程度の影響を与えるのかを計算により補正した後、各標準不確かさを合成して測定系全体の標準不確かさ(測定の合成標準不確かさ)を算出する。

## 3 オリーブオイル化学分析における測定不確かさ

### 3.1 フィッシュボーンチャート作成

酸度分析(図1)<sup>3)</sup>を例として、測定不確かさ見積もり過程を詳述する<sup>4)</sup>。まず測定過程のフィッシュボーンチャートを作成し、各過程において生じるであろう不確かさを可視化した(図2)。ここで、測定系全体に対し影響が極めて小さいと推定されるものは無視し、また人為的不確かさ(後述の「試験担当者の違いによって生じる不確かさ」および「同一試験担当者による繰り返しによる不確かさ」)に内包されると考えられるものは数値として個別には見積もらないものとした。以下、数値として見積もった個別具体的な不確かさについて述べる。

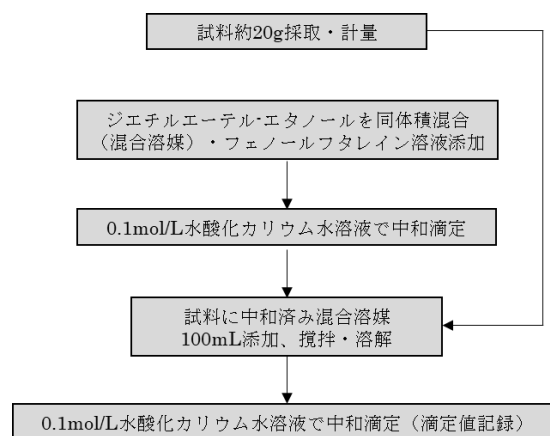


図1 酸度分析の流れ



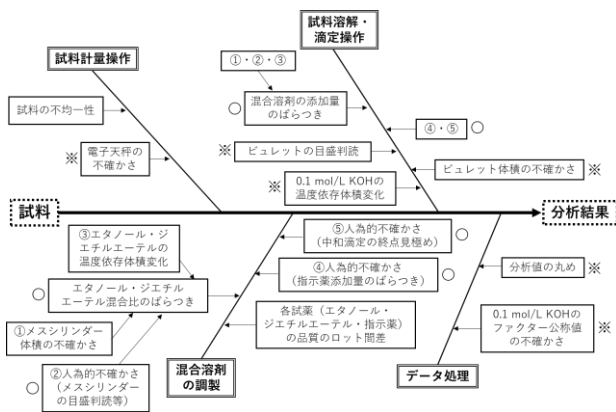


図2 オリーブオイルの酸度分析の測定不確かさ見積もりのためのフィッシュボーンチャート

- ※: 不確かさを数値として見積もったもの (影響軽微とみなして測定合成標準不確かさに組み込まなかったものを含む)。
- : 不確かさを検討した結果、室内試験結果における「同一人物の繰り返し」・「試験担当者の違い」(表1脚注参照)に含まれるものとみなし、個別には見積もらなかったもの。
- 無印: 不確かさを評価したものの、影響軽微と推測して数値としては見積もらず、測定合成標準不確かさにも組み込まなかったもの。

### 3.2 電子天秤の標準不確かさ

電子天秤の不確かさは、試料採取量の妥当性・ばらつきに影響を及ぼす。当所にてオリーブオイル化学分析に使用する電子天秤(最大秤量: 205 g・最小表示: 0.1 mg)はメトラー・トレド社製METTLER AE200であるが、この電子天秤は製造元の校正を現状受けておらず、不確かさが不明である。そこで類似のスペックを有するエー・アンド・デイ社製の電子天秤GH-200(最大秤量: 220 g・最小表示: 0.0001 g)の不確かさの規格値を調べたところ、「包含係数」が2.0の場合における「拡張不確かさ」は、表示重量200 gにおいて0.0006 gであるとの情報を得たので、この値を参考値として標準不確かさの仮見積もりを行うことにした。前述の拡張不確かさとは、確率を考慮し、標準不確かさに一定の包含係数を乗じたもので、この係数の値は「信頼区間(信頼水準)」の幅によって決まっている。信頼区間とは、様々な不確かさ要因が存在する中であって、一定の確率(通常95%)で最も妥当な測定値がある範囲内に存在することを保証するものである(信頼区間95%の包含係数は1.96であるが、少数第2位四捨五入により、前述のように2.0とすることもある)。信頼区間を広くする(すなわち、高確率で最も妥当な測定値が収まるであろう範囲を設定しようとする)ほど、包含係数の値は大きくなる。

前段における「測定値」は、電子天秤の場合では重量である。例えば、電子天秤GH-200において重量表示値が「200.0000 g」となった場合、95%の確率で最も妥当な測定値が「200.0000 g±0.0006 g」の範囲内に存在することを意味している。なお、「最も妥当な測定値」とは、「真値」と同義ではない。これはそもそも、「真値は知りえない」ということが不確かさという概念の根幹にあるためである。しかし、信頼できる試験所から測定値を受け取り、これを活用するエンドユー

ザーとしては、「測定値±拡張不確かさの範囲内に真値が存在する」と考えても実用上差し支えはない。

「標準不確かさ×包含係数=拡張不確かさ」なので、GH-200の校正証明書記載の拡張不確かさ0.0006 gを、同じく包含係数2で除すると、拡張不確かさを標準不確かさに戻すことができる。ここから、電子天秤GH-200の標準不確かさは、式(1)の値となる。

$$0.0006/2=0.0003 \text{ (g)} \quad (1)$$

### 3.3 中和滴定量の標準不確かさ

中和滴定量の不確かさは、「自動ビュレット体積の許容誤差」・「ビュレット内の滴定液(0.1 mol/L水酸化カリウム水溶液)の温度依存体積変化」,「試験担当者を問わず生じる、目視による目盛線読取りのばらつき」に起因するものと判断した。

当所にて使用される、「JIS R 3505:1994 ガラス製体積計」に規定されるクラスA・呼び容量10 mLの自動ビュレット体積の許容誤差は、±0.02 mLである。しかし、全ての製品においてこの値は常に最小値または最大値をとる訳では当然なく、±0.02 mLの範囲内にてある分布に従い製品ごとに様々な容量誤差を取りうる。ここではその「ある分布」も不明なので(正規分布を仮定できず、適切な包含係数を設定できないので)、容量誤差は±0.02 mLの範囲内において矩形分布(範囲内の容量誤差が全て等しい確率で生じる場合の分布。身近な例では、サイコロの出目の分布などもこれに該当)していると仮定する<sup>5)</sup>。この仮定に基づく、許容誤差の値を定数(仮の包含係数)である√3で除した値、すなわち式(2)の値が自動ビュレット容量の標準不確かさとなる。

$$0.02/\sqrt{3} \approx 0.0115 \text{ (mL)} \quad (2)$$

本分析は、「JIS K 0050:2019 化学分析方法通則」に規定される常温(20±5°C)の範囲で操作を行う。

「JIS Z 8804:2012 液体の密度及び比重の測定方法」によると、水は20±5°Cの範囲では約±0.1%の密度変動があるとされる。0.1 mol/L水酸化カリウム水溶液の温度依存体積変化率を水に等しいものとし、またその滴定量を当所におけるこれまでのオリーブオイル依頼分析値中央値の近似値である1 mLであると仮定した。さらに、温度変化に三角分布を仮定し定数である√6で除すると<sup>5)</sup>、この標準不確かさは、式(3)の値となる(通常、設定温度20°Cで空調管理された実験室内の実際の室温は20°C付近である確率が高く、そこから離れた温度ほど記録される確率が低くなる。三角分布はこのように、平均値から離れた値ほど出現確率が低い、という正規分布に近い分布である)。

$$0.001 \times 1/\sqrt{6} \approx 0.0004 \text{ (mL)} \quad (3)$$

また、本ビュレットの最小目盛は0.05 mL単位なので、試験担当者を問わず最大で±0.025 mL(目盛と目盛のちょうど中間)の読取りのばらつきが生じると考えられる。このばらつきは、「肉眼で目盛を読む」とい

うビュレットのいわば仕様に基づくものであり、人為的なものではないと解釈した<sup>2)</sup>。これも矩形分布であると仮定し、定数である $\sqrt{3}$ で除した。結果、この標準不確かさは式(4)の値となる。

$$0.025/\sqrt{3} \approx 0.0144 \text{ (mL)} \quad (4)$$

以上3つの標準不確かさの値を合成し、中和滴定値の総合的な標準不確かさである「合成標準不確かさ」を求めた。「合成」といっても単純な加算ではない。これは各標準不確かさには正負両方に範囲が存在するため、3項目全ての不確かさが「正負いずれか一方の最大値」を取ることはまれで、また実際には正負逆の値となりお互いに打ち消しあうこともあるためである(単純な加算では、まず起こらない最悪のケースを想定することになる)。合成標準不確かさは、各標準不確かさの「単純な加算」によって求めた和の標準偏差(すなわち、各標準不確かさが組み合わさった際に生じる不確かさの、正規分布を仮定した場合のばらつきの程度)である。これはこの中和滴定値の事例のように、各不確かさ同士が相関する(ある不確かさと別の不確かさが比例関係にある等)のでなければ、式(5)に示すように各標準不確かさの値の平方二乗和(二乗和平方根)を取ることで算出される<sup>2)</sup>。

$$\sqrt{(0.0115^2 + 0.0004^2 + 0.0144^2)} \approx 0.0184 \text{ (mL)} \quad (5)$$

### 3.4 データ処理の標準不確かさ

データ処理の標準不確かさは、「市販 0.1 mol/L 水酸化カリウム水溶液のファクター公称値の不確かさ」・「計算結果の数値の丸め」によるものと判断した。

滴定に用いる 0.1 mol/L 水酸化カリウム水溶液(富士フィルム和光純薬社製)にはファクターが記載されているが、この値の拡張不確かさは非公開である。しかし、同溶液のファクターは少数第3位の値に丸められていることから、「表示ファクター $\pm 0.0005$ 」の範囲に最も妥当な値が存在していると考えられる。その標準不確かさは、矩形分布を仮定し式(6)のように定数である $\sqrt{3}$ で除した値となる。

$$0.0005/\sqrt{3} \approx 0.0003 \text{ (無単位)} \quad (6)$$

分析結果の表示について、当所にて作成した ISO/IEC17025:2017 関連文書「標準作業書：オリーブオイル化学分析」の案では、酸度の分析値は「オレイン酸当量重量%」(以下、単に「重量%」という)の単位で表示され、さらに

「(前略)2連各分析値平均値の小数第3位を四捨五入して2位までとした値とする。(後略)」

と規定している。この前提に立つと、0.01 重量%以上の分析値の $\pm 0.005$  重量%point の範囲に、最も妥当な分析値が含まれていると考えられる。そこで、計算結果の丸めによる標準不確かさは、矩形分布を仮定し式(7)のように定数である $\sqrt{3}$ で除した値となる。

$$0.005/\sqrt{3} \approx 0.0029 \text{ (重量\%point)} \quad (7)$$

### 3.5 感度係数と単位換算後標準不確かさの算出

感度係数とは、標準不確かさを単位量換算または補正する際に乗ずる係数である<sup>6)</sup>。例えば、3.3で述べた中和滴定値の合成標準不確かさの単位は「mL」であるが、酸度の単位は「重量%」である。両者で単位が異なるため、中和滴定値の合成標準不確かさが最終的な分析結果にどの程度影響を与えるのかが、このままでは評価できない。そこで、全ての(合成)標準不確かさの分析結果に与える影響を「重みづけ」し、標準不確かさの単位を重量%に換算・統一する必要がある。この時、各標準不確かさに乗じる値が感度係数である。この係数の値は、酸度を求めるための式を各変数に対し偏微分し、さらに各変数に代表的な値を代入することにより算出される。酸度(単位:重量%)を求める式は、式(8)のとおりである(Aは「滴定値(単位:mL)」, Bは「0.1 mol/L 水酸化カリウム水溶液のファクター(無単位数)」, Cは「試料オイル重量(単位:g)」)。

$$\text{酸度 (重量\%)} = 2.822333 \times A \times B / C \quad (8)$$

ここで、滴定値は変数Aなのでこれに対して偏微分すると、式(9)となる。

$$f'(A) = 2.822333 \times B / C \quad (9)$$

式(9)に、概数としてB=1(市販の0.1 mol/L 水酸化カリウム水溶液ファクターの規格目標値), C=20(試料オイル重量の目標値)を代入すると、式(10)となる。

$$f'(A) = 2.822333 \times 1 / 20 \approx 0.1411 \quad (10)$$

この値が、滴定値の感度係数である。次に式(5)で求めた滴定値の合成標準不確かさに、式(10)で求めた感度係数を乗じると、式(11)のように中和滴定値の単位換算後標準不確かさ(mL $\rightarrow$ 重量%)が求められる。

$$0.0184 \times 0.1411 \approx 0.0026 \text{ (重量\%point)} \quad (11)$$

0.1 mol/L 水酸化カリウム水溶液ファクターの標準不確かさの感度係数は、式(9)・式(10)と同様に、式(8)をBに対して偏微分しA=1(当所におけるこれまでのオリーブオイル依頼分析値中央値の近似値), C=20を代入すると、式(12)のように求められる。

$$f'(B) = 2.822333 \times 1 / 20 \approx 0.1411 \quad (12)$$

次に、式(6)で求めたファクターの標準不確かさに式(12)で求めた感度係数を乗じると、ファクターの単位換算後標準不確かさは式(13)のとおりとなる。

$$0.0003 \times 0.1411 \approx 0.00004 \text{ (重量\%point)} \quad (13)$$

しかし、この値は極小であるため、影響軽微として各標準不確かさの合成（後述）には用いなかった。

一方、電子天秤の標準不確かさ（変数 C）の感度係数は、式(8)を C に対して偏微分し、A=1, B=1, C=20 を代入すると、式(14)のように求められる。

$$f'(C) = -2.822333 \times 1 \times 1 / 20^2 \approx -0.0071 \quad (14)$$

次に、式(1) で求めた電子天秤 GH-200 の標準不確かさに式(14)で求めた感度係数を乗ずると、電子天秤の単位換算後標準不確かさは式(15) のとおりとなる（感度係数の積算では、同係数の絶対値を乗じる）。

$$0.0003 \times 0.0071 = 2.13 \times 10^{-6} \text{ (重量\%point)} \quad (15)$$

しかし、この値も極小であるため各標準不確かさの合成には用いなかった（仮に実際に用いる電子天秤 METTLER AE200 の標準不確かさの値が上記 GH-200 による仮見積もり値の 20 倍（0.006 g）であったとしても、計算結果はファクターの単位換算後標準不確かさとはほぼ同値であり、影響軽微として無視しうる）。

なお、式(7)で求めた計算結果の丸めによる標準不確かさについて、この値の単位は「重量%point」であって元より分析値と同じであるため（感度係数を「1」とみなしうるため）、単位換算・補正は不要である。

表 1 オリーブオイル酸度分析の測定不確かさ

不確かさの要因	タイプ	標準不確かさ	合成標準不確かさ	感度係数	単位換算後標準不確かさ (%point)
同一人物の繰り返し	A	%point	-	1	
試験担当者の違い		%point			
測定量	B	自動ビュレット許容誤差	0.0184 mL	0.1411	0.0026
		水の温度依存体積変化			
		ビュレット目盛の判読			
計算結果数値の丸め		0.0029%point	-	1	0.0029
測定の合成標準不確かさ(%point)					
拡張不確かさ(単位:%point・信頼区間:95%・包含係数:1.96)					

標準不確かさ・合成標準不確かさ・感度係数・単位換算後標準不確かさは小数第 5 位を四捨五入し 4 位までとした値。単位換算後標準不確かさが極小（0.00005%point 未満）の項目は、事実上影響なしとして除外した。「タイプ」は A が「一連の測定値の統計的解析による評価」で、B が「タイプ A 以外の評価」を意味し、前者が自ら実験によって求める値、後者が機器・試薬・器具等のメーカーが公表する値や、数学的証明等により理論的に決定される値である。

### 3. 6 各標準不確かさの合成

ここまで求めた各単位換算後標準不確かさの内、その値が極小のもの以外をリストアップし、それらを合成することで（平方二乗和を求めることで）、合成標準不確かさを求める（表 1）。なお表 1 中の「同一人物の繰り返し」、「試験担当者の違い」は空欄となっているが、いずれも全試験担当予定者が参加する室内試験（試料・分析手順を統一した 10 連分析）によって得られたデータより今後算出する予定である（ここで、「同一人物の繰り返し」は全試験担当予定者が個別に得た 10 連分析値標準偏差の平均値、「試験担当者の違い」は同じく個別に得た 10 連分析値平均値を集計して求めた標準偏差である）。

### 4 結言

オリーブオイル酸度分析におけるタイプ B の測定不確かさについて、フィッシュボーンによる要因の抽出、各不確かさの標準不確かさの算出、感度係数による各標準不確かさの重みづけを行い、単位換算後の標準不確かさの見積を行うことができた。

今後、タイプ A を含む全ての標準不確かさを求めて、それらを合成することにより測定の合成標準不確かさを算出し、最終的には同値に包含係数 1.96 を乗じて拡張不確かさを確定する予定である。

### 参考文献

- 1) 今井秀孝：計測における不確かさ表現の歴史的経緯と展望，計測と制御，37(5)，300-305（1998）。
- 2) 独立行政法人製品評価技術基盤機構 認定センター 監訳：不確かさの入門ガイド，<https://www.nite.go.jp/data/000050641.pdf>（2014）。
- 3) 日本油化学会編：2.3.1-2013 酸価，基準油脂分析試験法 2013 年版（2013）。
- 4) 小嶋禎，竹中留美子，三原俊一，土田博，大木信一：食品分析における精度管理のシステム，Milk Science，56(4)，187-197（2008）。
- 5) 奥雅司，榎原研正，田中秀幸：第 15 章 計測の信頼性と測定の不確かさ，標準化教育プログラム [個別技術分野編 - 電気電子分野]，[https://www.jsa.or.jp/datas/media/10000/md\\_2469.pdf](https://www.jsa.or.jp/datas/media/10000/md_2469.pdf)（2009）。
- 6) 城野克広：感度係数について，<https://staff.aist.go.jp/k.shirono/download.files/110928Sensitivity.pdf>（公開年次不明）。