

未利用広葉樹の活用技術 — 寸法安定化処理の検討 —

大北 一也

天然乾燥後のクヌギについて、人工乾燥特性並びに寸法安定化処理を検討した。その結果、人工乾燥試験においては、厚さ 30 mm、初期含水率 35% のクヌギを含水率約 11% まで乾燥するまでに 21 日間を要した。また人工乾燥後、約 6 か月間養生した試験体であっても反りが発生していたため、寸法安定化を目的に熱処理を行った。スライス法によりひずみを測定し熱処理の効果を調べたが、材料の内部応力を低減する結果が得られなかった。一方、熱処理を実施する過程で軽微ではあるが木口割れが生じたことから、クヌギについては乾燥後に熱処理を適用するのは難しいと思われた。

1 緒言

これまで 7 樹種の厚さ 30 mm の県産広葉樹材について人工乾燥実験と強度試験並びに試作を行い、県産広葉樹の木製品への利用可能性について検討してきた¹⁾。また、厚さ 60 mm のアベマキの人工乾燥技術の検討も行い、乾燥特性の調査を行ってきた²⁾。

木材は乾燥が進むにつれ、木材内部に応力が発生し、その後時間経過とともに木材の変形につながる事が知られている。そこでこの内部応力を除去するために、人工乾燥の最終段階でイコーライジングとコンディショニングという工程と、外気中で一定時間養生することで内部応力の除去が行われる³⁾。

今回も同様の処理を行ったが、時間経過とともに、板材の反りが生じ、人工乾燥、6 か月間の養生を経ても内部応力が除去されていなかったことが分かった。

本研究では、クヌギにおいて人工乾燥実験並びに人工乾燥後に内部応力が除去されていない材について熱処理を行い、板材の寸法安定化を検討したので報告する。

2 実験条件

2.1 試験体

実験に供したクヌギは、香川県高松市の森林で 2023 年 1 月に伐採されたものである。この丸太を製材し、厚さ 30 mm、長さ 2.0 m の板材を 40 枚採取し、同森林の敷地内で、2023 年 1 月から 2023 年 7 月までの約 7 か月天然乾燥を行った。

その中から幅が約 30 cm、長さが約 1 m の板材 2 枚（試験体名を B2, G2 とする）を選び、人工乾燥実験に供した。

2.2 人工乾燥スケジュール

クヌギの人工乾燥スケジュールは、木材乾燥スケジュール簡易決定法⁴⁾（以下 100℃試験とする）で作成した。

今回人工乾燥実験に用いたクヌギは、当センターで入手した際には天然乾燥が終了していた。そのため 100℃試験に使用できる含水率 50% 以上の材が得られなかった。代替策として、ほぼ同じ時期に県内の他の地域の森林で伐採されたクヌギを用いて作成した。

人工乾燥実験には木材乾燥試験機（DK-1E-HT 型：日本電化工機株式会社製）を用いた。人工乾燥に用いた試験体は長さ 1 m、厚さ 3 cm で、幅は調整していない。

2.3 寸法安定化処理条件

熱処理の実験条件は、遠矢ら⁵⁾の軟化処理とホットプレスを組み合わせて板材の反りを矯正する方法を参考に、軟化処理（80℃ 95%RH 40 分）、プレス処理（1.1 MPa 130℃ 30 分）、冷却（70 分）、調湿（40℃ 90%RH 150 分）、養生（室温 65 時間）とした。

材料内の内部応力の測定はスライス法⁶⁾で行った。乾燥後の試験体の幅が約 30 cm あったため、髓から左右で 2 分割してそれぞれを試験体（イ）、（ニ）とし、試験体ごとに各 5 mm の厚さで木裏、内部、木表に分割し、ノギスで寸法測定を行った。熱処理前と熱処理後の寸法変化の比率を表すひずみの値は、以下の式で算出した。

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L} \dots \dots (1)$$

ここに、 ε ：ひずみ（%）

L：切断前の寸法（mm）

ΔL ：切断後の寸法の変化分（mm）

3 結果と考察

3.1 人工乾燥スケジュール

表 1 に 100℃試験で求めた乾燥条件の結果を示す。表中の初期割れ及び断面変形は 8 段階、内部割れは 6 段階で評価しており、値が大きいほど損傷が大きいことを示す。初期割れと断面変形は 4 段階で中程度であった。内部割れは 5 段階で、内部割れが生じやすいことを示した。内部割れは、乾燥初期及び後期の乾燥温度が高く、初期の乾湿球温度差が大きい場合に発生しやすいとされている⁴⁾。そのため比較的低温から始める人工乾燥スケジュールとなった。

表 1 100℃試験から求めたクヌギの乾燥条件

欠点の種類と程度			推定された条件		
初期割れ	断面変形	内部割れ	初期温度℃	初期温度差℃	終末温度℃
4	4	5	48	3.0	71

一方、今回の結果では初期割れが4段階で中程度であったが、筆者がこれまで実施したクヌギの100℃試験では、7段階になることが多かった。今回用いたクヌギに限って、初期割れの評価が中程度になった可能性がある。

表1の100℃試験の結果から、表2のとおり人工乾燥スケジュールを作成した。

含水率%	乾球温度℃	乾湿球温度差℃
～35	48	3
35～30	50	3
30～25	54	5
25～20	60	8.6
20～15	66	15
15～	70	20
調湿	70	4

3. 2 人工乾燥経過

図1に人工乾燥経過を示す。試験体の初期含水率は約35%で、506時間(約21日)後にB2は含水率10.2%、G2は12.6%になり人工乾燥を終了した。その後6時間調湿し、人工乾燥試験機を停止させた。

人工乾燥後の試験体には、著しい乾燥割れは生じていなかったが、髄付近では放射方向の割れが生じた。

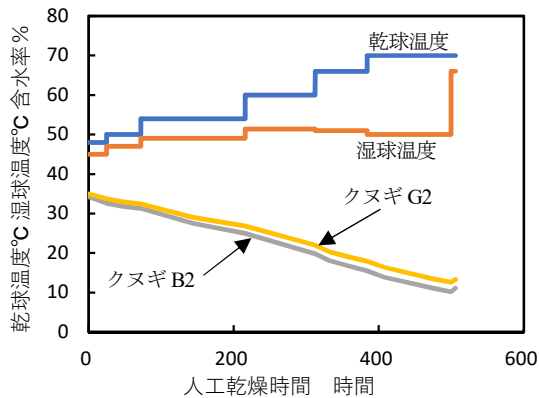


図1 クヌギの人工乾燥経過

3. 3 熱処理による内部応力の変化

図2にクヌギ(G2)における、熱処理前後の内部応力の変化を示す。図の縦軸のひずみは「+」の場合、切断前に圧縮応力を受けていたことを示し、「-」の場合は引張応力を受けていたことを示す。(イ)は熱処理前の板内部は+0.18%で圧縮応力状態であり、熱処理後は-0.07%で引張応力の状態になり逆転したが、熱処理で各表層及び内部の差異は減少した。(二)は、木裏側で熱処理前の+0.12%から熱処理後は-0.31%と、圧縮応力から引張応力に大きく変化した。ひずみ分布は0%付近で推移し、測定位置による差異が少ない方が時間経過による変形や割れの発生が少ないと思われる。今回の結果では試験体数の少ないことも原因と考えられるが、明確な寸法安定効果は得られなかった。

一方、130℃でプレス処理をした際、木口面に軽微な割れが生じた。表1の結果から、クヌギは高温で内部割れを生じやすい性質が示されており、それが原因で木口割れが生じたと考えられる。

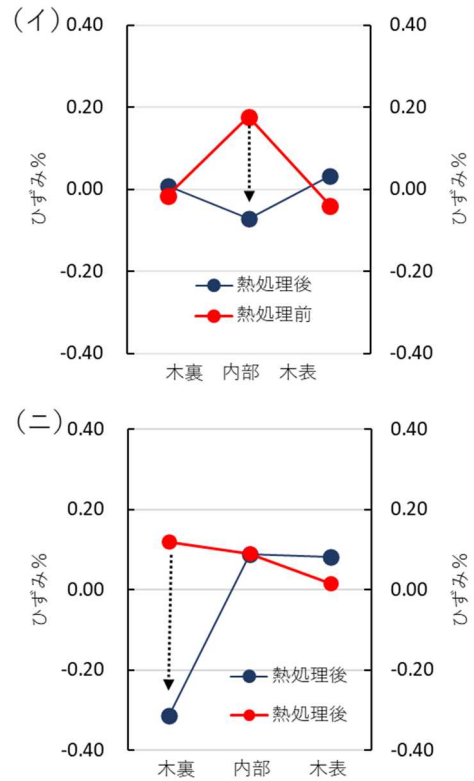


図2 熱処理前と熱処理後の内部応力の変化

4 結言

初期含水率35%の厚さ30mmのクヌギについて、人工乾燥実験及び寸法安定処理を行い、以下の知見を得た。

初期温度48℃、乾湿球温度差3℃の条件で21日間人工乾燥を行うことにより、木材含水率は10.2%から12.6%となった。

寸法安定化を目的とした熱処理は、明確な効果は得られず、再検討が必要であった。

参考文献

- 1) 大北一也：未利用広葉樹の活用技術，香川県産業技術センター研究報告，No. 21，pp. 39-41 (2020)。
- 2) 大北一也：未利用広葉樹の活用技術，香川県産業技術センター研究報告，No. 23，pp. 48-49 (2022)。
- 3) 寺沢真：木材の人工乾燥，公益社団法人日本木材加工技術協会，pp. 116-118 (1992)。
- 4) 寺沢真：木材乾燥スケジュールの簡易決定法，木材工業，公益社団法人日本木材加工技術協会，pp. 2-7，21 (1965)。
- 5) 遠矢良太郎，山角達也：板材の反り矯正技術の開発，鹿児島県工業技術センター研究報告，第4号 pp. 129-135 (1991)。
- 6) 藤本登留：第2章木材乾燥の基礎 第7節乾燥応力とひずみ，木材科学講座7 木材の乾燥 I 基礎編，pp. 81-82 (2020)。

Deep Learningによる画像異常検知の検証システム開発

—PatchCore Web UIの開発—

長谷見 健太郎, 坂東 慎之介, 小林 宏明, 竹中 慎, 福本 靖彦, 神内 杜夫

AI, 特にDeep Learningによる画像処理技術は, ものづくり企業において工業製品の目視検査への応用が期待されている. これまでの研究で, 異常判定および異常部の可視化を行うことのできるPatchCore手法を検証し, 高精度な異常検知ができることがわかった. 一方で, 性能の高さはわかるものの, 現場に導入するにはハードルが高そうという意見も聞かれ, ユーザーが感じる実用への壁が課題であることがわかった. そこで本研究では, ユーザー独自のデータでPatchCoreの異常検知性能を簡単に検証できるシステム, PatchCore Web UIを開発した.

1 緒言

ものづくり企業における画像処理技術の応用分野として期待されている一つが目視検査である. 目視検査は, 製品を正常か異常かに判別することであるが, 工業製品では正常に比べて異常の発生数が少ない場合が多い. そこで, これまでの研究では, 正常データのみを使って学習を行うことができるMetric Learning¹⁾, SPADE²⁾, およびPatchCore³⁾の各手法を検証した. その結果, PatchCore手法が最も高精度に異常検知と異常部分の可視化ができることがわかった. 一方で, 現場に導入するにはハードルが高そうという意見も聞かれ, ユーザーが感じる実用への壁が課題であることがわかった.

そこで本研究では, ユーザーがPatchCoreの使用を身近に感じることができるよう, ユーザー独自のデータで簡単に異常検知を検証できるシステム, PatchCore Web UIを開発した.

2 PatchCoreについて

PatchCore Web UIはPatchCoreのパラメーター操作や異常検知のプロセスを行うシステムであるため, PatchCoreの手法に関する理解が必要である. そこでシステムの説明に入る前にPatchCore手法について説明し, システムで設定できるパラメーターについて触れる.

PatchCoreは, Deep Learningによる画像の特徴抽出を異常検知に応用した手法である. PatchCoreではImageNetで学習済みのWide-ResNet50x2⁴⁾を用いて特徴量の抽出を行う. Wide-ResNet50x2では3つのグループ(Group1, Group2, Group3)の最終CNN層の出力を特徴量(Layer1, Layer2, Layer3)として用いることができる. これらのうち, 先行研究³⁾やPatchCoreの論文⁵⁾で評価していた工業画像のデータセットMVTec AD⁶⁾に対しては, Layer2とLayer3を採用することが精度の向上に寄与していた. 一方でユーザー独自のデータに対しては, 同じ特徴量を採用することが常に高精度につながるとは限らない. そこでPatchCore Web UIでは, どの特徴量を採用するかを選択できるようにした(図1).

PatchCoreでは次に, 抽出した特徴量に対してパッチ化を行う. パッチ化とは, 特徴量のある要素の周囲

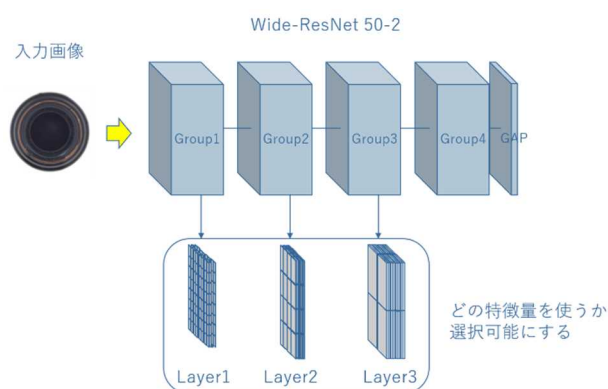


図1 特徴量の選択

を平均化し, 新たな要素とすることである. パッチ化は1つの要素が表現する領域を広げることを目的としている. 先行研究やPatchCoreの論文では, 前述のMVTec ADに対して周囲3x3の領域をパッチ化していた. 特徴抽出と同様に, パッチ化する最適な領域はデータによって異なる可能性がある. そのためPatchCore Web UIでは, 3x3(パッチサイズ3), またはさらに広い5x5(パッチサイズ5)から選択できるようにした(図2).

次にPatchCoreでは, Coreset Subsamplingを行う. Coreset Subsamplingは正常画像の表現力をなるべく維持しつつ特徴量の間引きを行い, 必要なメモリと計算量を抑える処理である. 先行研究では90%の間引き,

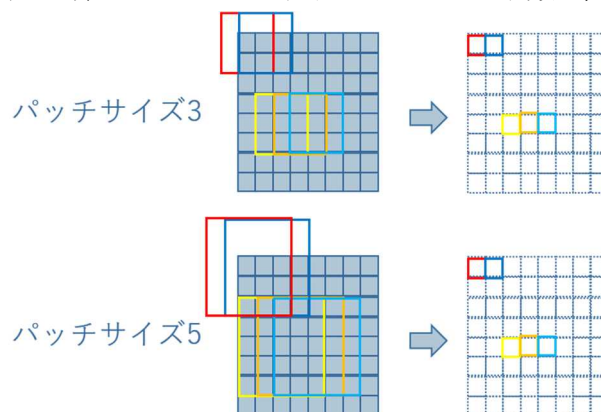


図2 パッチサイズの選択

10%のみをCoresetとして使用していた。データによってどの程度間引くかの最適値も異なるため、PatchCore Web UIではCoresetとして1%から100%(間引きなし)まで選択できるようにした。

3 PatchCore Web UI について

3.1 動作環境

PatchCore Web UIは、PatchCoreを動作させるWebサーバーであるPatchCoreサーバーと、そのサーバーが接続されたローカルネットワークに、画像データとブラウザが入ったユーザーの端末を接続して動作させる(図3)。ユーザーの端末のブラウザにPatchCoreサーバーのIPアドレスを入力することで、PatchCore Web UIの画面が表示される。ユーザーの端末は基本的にPCを想定しているが、画像データとブラウザが入っていれば、タブレットやスマートフォンでも動作する。ユーザーの端末に特別なソフトウェアのインストールなどは発生せず、手軽に取り組めることを目指している。また、ネットワークはインターネット接続を必要としない。ユーザーのデータがインターネット上に流出する可能性がないため、秘匿性の高いデータでも安心して試すことができるよう考慮している。

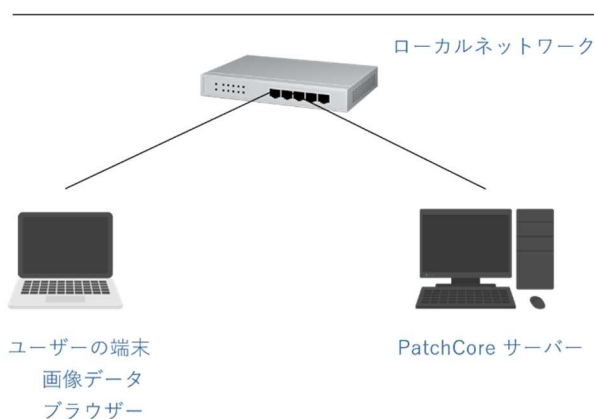


図3 動作環境

3.2 動作の流れ

動作は学習、推論、そして評価の3つに分けられる。学習(図4)では、まず学習用の正常画像をサーバーにアップロードする。次に2で説明したLayer、パッチサイズ、そしてCoreset Subsamplingで何%まで間引きを行うかの各パラメーターを設定する。最後に「学習す

学習

The screenshot shows the '学習画面' (Learning Screen) of the PatchCore Web UI. It features a '正常画像フォルダ' (Normal Image Folder) section with a file selection button and '213 ファイル' (213 files) displayed. Below this is an 'Upload' button. Further down, there are settings for 'Layer' (with radio buttons for 1, 2, and 3, where 2 is selected), 'Patch size' (with radio buttons for 3 and 5, where 3 is selected), and 'Subsampling (1 ~ 100)' (with a text input field set to '10'). A '学習する' (Learn) button is at the bottom.

図4 学習画面

る」ボタンを押下することで、PatchCoreサーバーを学習させる。

推論(図5)では、PatchCoreサーバーで異常検知をさせたい正常画像、異常画像をそれぞれアップロードする。また、もしあるならば異常正解画像をアップロードすることもできる。異常正解画像とは、異常画像のどの部分が異常であることを示した画像である。たとえば図6左側に示すようなトランジスタにおいて、3本のリード線のうち左右の2本が穴に入っていない異常では、リード線のはみ出ている部分を白、それ以外を黒で表現した図6右側の画像が異常正解画像である。異常正解画像を用意することで、後述する評価において、ピクセル単位での評価指標を計算することができる。各画像のアップロード後、「推論する」ボタンを押下することで、さきほど学習させたPatchCoreサーバーで各画像の異常検知をさせる。異常検知によって、画像それぞれの異常度と、画像の各ピクセルの異常度を得ることができる。

推論

The screenshot shows the '推論画面' (Inference Screen) of the PatchCore Web UI. It has three sections for uploading images: '正常画像フォルダ' (Normal Image Folder) with '60 ファイル' (60 files), '異常画像フォルダ' (Abnormal Image Folder) with '40 ファイル' (40 files), and '異常正解フォルダ' (Abnormal Ground Truth Folder) with '40 ファイル' (40 files). Each section has an 'Upload' button. At the bottom, there is a '推論する' (Infer) button.

図5 推論画面



図6 異常正解画像

評価画面では、各画像の異常度と、各ピクセルの異常度を元画像に重ね合わせたヒートマップ画像、そして各ピクセルの異常度がしきい値以上の部分だけを示す異常部画像を表示する(図7)。それぞれの画像は異常度ごとにソートされて、並べて表示される(図8)。詳しく見たいときは画像をクリックすることで拡大して表示される。

また、総括的に異常検知の性能を評価するために、画像単位での各種評価指標が表示される。表示されるのは混同行列、Accuracy(正解率)、AUROC、そしてAccuracyが最も高くなる異常度のしきい値である。

混同行列は表1に表されるように、画像の正常・異常と、予測・正解の関係を表した行列である。4つのエリア

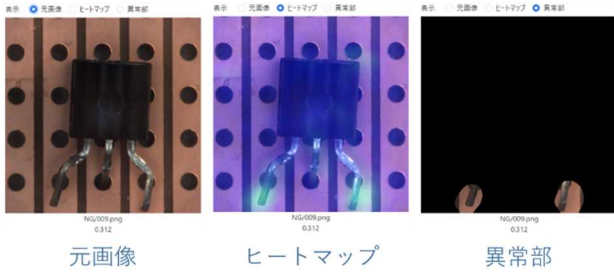


図7 評価画像

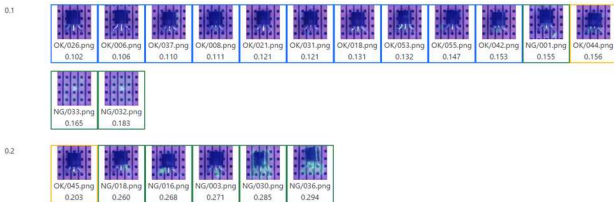


図8 画像一覧

表1 混同行列

		予測	
		正常	異常
正解	正常	True Positive (TP)	False Negative (FN)
	異常	False Positive (FP)	True Negative (TN)

$$Accuracy = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (1)$$

には、異常検知を行った結果の画像数が表示される。
 Accuracyは表1の混同行列において式(1)で表される。すべての予想が実際と合っていれば1、逆にすべての予想が実際と合っていなければ0となる。
 AUROCとはArea Under Receiver Operating Characteristicの略で、縦軸にTPR(True Positive Rate)、横軸にFPR(False Positive Rate)の割合をプロットしたROC曲線の下部分の面を表す。AUROCの面積が大きいほど機械学習の性能が良い事を意味しており、最大で1となる。AUROCは図9のような形で示される。
 PatchCoreはそれぞれの画像に異常度を付与するが、いくつ以上の異常度を異常と判断するかのしきい値はユーザーが決めることができる。たとえばしきい値を下げると異常の見逃しを防ぐ効果がある一方、正常を異常と誤判定する確率も上がる。PatchCore Web UIは、与えられた推論画像の中でAccuracyが最も高くなる異常度のしきい値を計算し表示する。

もし異常正解画像がアップロードされていれば、ピクセル単位での評価指標としてAUROCとAccuracyが最も高くなるしきい値が表示される。

これらの評価指標は図10のように表示される。

4 結言

本研究では高精度な異常検知アルゴリズムPatchCor

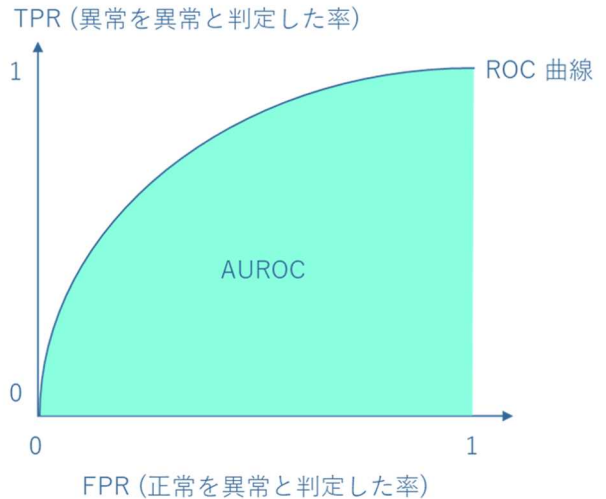


図9 AUROC



図10 評価指標

eをユーザーが簡単に検証できるPatchCore Web UIを開発した。本システムは画像検査に対するハードルを下げることに寄与できると考えている。

参考文献

- 1) 長谷見健太郎, 多田幸弘, 竹中慎, 高原茂幸, 濱田敏弘: Deep Learningによる工業製品画像の異常検知—異常検知へのMetric Learning適用—, 香川県産業技術センター研究報告, No. 20, pp. 47-51 (2019).
- 2) 長谷見健太郎, 多田幸弘, 高原茂幸: Deep Learningによる画像異常検知の可視化—異常検知へのSPADE手法適用—, 香川県産業技術センター研究報告, No. 21, pp. 43-46 (2020).
- 3) 長谷見健太郎, 高原茂幸, 坂東慎之介, 小林宏明, 竹中慎, 福本靖彦, 神内杜夫: Deep Learningによる画像異常検知の可視化—異常検知へのPatchCore手法適用—, 香川県産業技術センター研究報告, No. 23, pp. 50-53 (2022).
- 4) S. Zagoruyko, and N. Komodakis: Wide Residual Networks, *arXiv 1605.07146* (2016).
- 5) K. Roth, L. Pemula, J. Zepeda, B. Scholkopf, T. Brox, P. Gehler: Towards Total Recall in Industrial Anomaly Detection, *arXiv 2106.08265* (2021).
- 6) P. Bergmann, M. Fauser, D. Sattlegger, C. Steger: MVTec AD – A Comprehensive Real-World Dataset for Unsupervised Anomaly Detection, *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)* (2019).

焙煎処理したオリーブイリコの特徴

— 遊離アミノ酸, イノシン酸, EPA, DHA 含量, 香気成分の比較 —

松原 保仁, 松岡 博美, 大西 茂彦, 浅井 貴子, 久保 和子, 松原 梓, 西村 冨加

焙煎処理した煮干の特徴を明らかにするため、オリーブイリコを用いて 220℃で 3 分間処理した焙煎オリーブイリコを試作した。焙煎前及び焙煎後のオリーブイリコについて、遊離アミノ酸、イノシン酸、EPA、DHA 含量、香気成分の比較を行った。焙煎処理により、遊離アミノ酸、EPA、DHA 含量は焙煎前の 88%、51%、38% となり、いずれの含量も減少した。一方、イノシン酸含量は焙煎前の 101% となり、わずかに増加した。香気成分は、焙煎することでピラジン類及びフラノン類が顕著に検出され、香ばしさを有する香気成分が増加し、酸化臭を呈するアルデヒド類が減少した。焙煎処理したオリーブイリコの特徴は、旨味成分のイノシン酸が分解されることなく保持され、酸化臭が減少して香ばしい香気特性が新たに付与されていた。

1 緒言

我々は、塩水に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¹⁾を開発し、この製法により製造した煮干(商品名:オリーブイリコ)は、従来製法の煮干に比べてカタクチイワシ特有の魚臭と苦味が減少することを明らかにしている²⁻⁷⁾。また、オリーブイリコ出汁の香りは、ヒト試験において心理・生理的な鎮静効果を有し、心身両面に影響することを明らかにしている⁸⁾。更に、カタクチイワシの煮熟処理を約 5%の塩水から真水に変更して煮干を製造することで、塩分が約 50%以上減少した減塩オリーブイリコの製造方法を確立し、栄養成分、食塩相当量、遊離アミノ酸、旨味成分のイノシン酸、高度不飽和脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)含量について報告している⁹⁾。

焙煎は、熱媒体として油や水を使用せず、食材を加熱乾燥させる加熱プロセスの一つである。青臭いコーヒーの生豆は、焙煎処理により豆に含まれる水分が減少し、タンパク質が変性、分解、糖と化学反応することで新たな味や香りが付与されたコーヒー豆となる。焙煎処理は、コーヒー豆だけでなく、ピーナッツ、香辛料、茶等の加工に利用されている。そこで、煮干の風味を大きく変化させることで新たな利用用途の拡大が図れると考え、焙煎処理した煮干を試作した。

本研究では、焙煎処理した煮干の試作を行い、焙煎前及び焙煎後のオリーブイリコについて、遊離アミノ酸、イノシン酸、EPA、DHA 含量、香気成分の比較を行うことで焙煎オリーブイリコの特徴を検討したので報告する。

2 実験方法

2.1 カタクチイワシ

カタクチイワシは、令和 3 年 8 月下旬に瀬戸内海の燧灘海域で漁獲した体長 6~9 cm のものを用いた。

2.2 オリーブ葉

オリーブ葉低温乾燥粉末は株式会社ヤマヒサから購入し、オリーブイリコおよび減塩オリーブイリコの製

造に用いた。低温乾燥オリーブ葉粉末のオレウロペイン濃度は、約 7 g/100g (新鮮重量)であった。

2.3 オリーブイリコ

オリーブイリコの製造は、カタクチイワシの表面を海水で洗浄後、専用の機械で金網の上に重ならないように静置し、12 枚の金網を上下方向に積層した状態で、0.2% (w/v) のオリーブ葉を添加した 5% 塩水中に浸漬し、3 分間煮熟を行った。煮熟処理したカタクチイワシは、扇風機で送風することで品温を下げた後、工場に設置した煮干専用の乾燥機で 45℃、17~20 時間の乾燥を行い、オリーブイリコを調製した。

2.4 焙煎オリーブイリコ

焙煎オリーブイリコは、熱風型の焙煎機を用いて、220℃の熱風下で、煮干をベルトコンベアーにて移動させながら 3 分間処理し、室温まで冷却することで製造した。

2.5 栄養成分

2.3 項および 2.4 項で調製した煮干の水分は新食品分析法¹⁰⁾に準じて分析した。

2.6 遊離アミノ酸

2.3 項および 2.4 項で調製したオリーブイリコ、焙煎オリーブイリコを用いた。試料約 0.5 g を 100 ml 容三角フラスコに精秤し、75%エタノール 30 ml を加え、冷却管を取り付けて 80℃、20 分間加熱した。抽出液を No. 5A ろ紙でろ過し、ろ液は 100 ml 容メスフラスコに回収した。100 ml 容三角フラスコに 75%エタノール 20 ml を加え、80℃、20 分間加熱し、ろ過してろ液を 100 ml 容メスフラスコに回収する工程を 2 回繰り返した。ろ液回収後、100 ml 容メスフラスコを 75%エタノールで定容した。この抽出液 5 ml を試験管濃縮機用試験管に取り、溶媒を留去し、0.02 N 塩酸水溶液 5 ml で溶解した。この溶液を 0.02 N 塩酸水溶液で 2 倍、10 倍に希釈した。この溶液を 0.45 μm のフィルターでろ過し、10 μl をアミノ酸分析計に供した。アミノ酸濃度は、25 nmol/ml アミノ酸標準溶液 10 μl のピーク面積から計算した。

上記の試料液をアミノ酸分析システム(島津製作所

LC-PROMINENCE) を用いてポストカラム誘導体化法によりタウリンを加えた 18 種の遊離アミノ酸を分析し、無水物に換算した試料 100 g 当たりの mg 数で遊離アミノ酸含量を算出した。遊離アミノ酸の残存率(%)は、焙煎前の含量を焙煎後の含量で除した値に 100 を乗じて求めた。

2. 7 イノシン酸

2. 3 項および 2. 4 項で調製した煮干(頭, 胴体, 尾びれがすべてある個体)を 5 尾, ミキサーで粉碎し, 得られた粉末を各々 0.5 g 精秤し, 15 ml 容スピッツ管に採取した。蒸留水 12 ml 添加し, 室温にてボルテックスミキサーで 30 秒攪拌後, 室温で 5 分放置の操作を 3 回繰り返し, 遠心分離機(LCX-100, トミー工業)を用いて遠心分離(3,000 rpm, 10 分間)を行い, 上清を 50 ml 容メスフラスコに回収した。上記の操作をさらに 2 回行い, 回収した上清を蒸留水で 50 ml に定容して試料液とした。試料液は, 清澄化するために 2.0 ml 容量のエッペンチューブに各々 2.0 ml 採取し, 遠心処理(13,000 rpm, 10 分間, Kendro 社製)を行い, 得られた上清液 1.0 ml を 0.45 μ m のメンブランフィルター(セルロースアセテート)でろ過し, HPLC 分析に供した。無水物に換算した試料 100g 当たりの mg 数でイノシン酸含量を算出した。イノシン酸の残存率(%)は, 遊離アミノ酸の残存率と同様の計算で求めた。

表 1 HPLC 分析条件

カラム	Shim-pack WAX1(島津製作所) (4.0 mm 内径 x 50 mm 長さ 3 μ m 粒子径)
移動相	50mM リン酸-カリウム溶液(pH3.1)
流速	0.8 ml/min
オープン	50°C
検出	UV260nm
注入量	10 μ l

2. 8 エイコサペンタエン酸 (EPA), ドコサヘキサエン酸 (DHA)

2. 3 項および 2. 4 項で調製した煮干を各々ミキサーで粉末化し, 約 200 mg を精秤し, 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 1 ml 回収し, 窒素ガスを吹きつけて溶媒を蒸発させたものを試料とした。試料のメチル化は, 脂肪酸メチル化キットを用いて行った。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て 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。そこに蒸留水 1.0 ml を加えて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(ナカライテスク株式会社)により精製し, 表 2 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。無水物に換算した試料 100 g 当たりの mg 数で EPA 及び DHA 含量を算出した。EPA 及び DHA の残存率(%)は, 遊離アミノ酸の残存率と同様の計算で求めた。

表 2 GC 分析条件

カラム	Agilent J&W DB-23, 30 m 長さ x 0.25 mm 内径, 0.25 μ m 膜厚
キャリアガス流量	ヘリウム, 14psi, 定圧モード
注入口	250°C, スプリット比 50:1
オープン	0 °C(1分保持), 25°C/分で170°Cまで昇温, 4°C/分で230°Cまで昇温(5min 保持)
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 μ l

2. 9 GC-TOFMS 分析と解析

試料は, 2. 3 項および 2. 4 項で調製した煮干(頭, 胴体, 尾びれがすべてある個体)を用いた。各試料 0.5 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 50°C, 30 分間捕集した後, 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(表 3)。カラムは, 極性のキャピラリーカラム InertCap Pure-WAX(60 m x 0.25mm, GLサイエンス)を用いた。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。更に有意差の高い FR 値 50.0 以上の化合物を用いて, 主成分分析を行った。

表 3 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(ジーエルサイエンス), 60 m x 0.25 mm I.D. x 0.25 μ m df
カラム温度	40°C(3 min 保持) → 5°C/min → 250°C(10 min 保持)
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

3 結果および考察

3.1 焙煎オリブイリコ

図1に焙煎処理前後のオリブイリコの外観を示す。焙煎処理前のオリブイリコは、煮干本来の銀色であったが、焙煎処理後のオリブイリコは、220℃、3分間の加熱により、褐色に変色した。煮干の水分含量は、焙煎前14.0 g/100gから焙煎後6.6 g/100gと減少した。煮干の水分含量が減少し、遊離アミノ酸が糖と反応し、アミノカルボニル反応が進行したことにより、褐変化すると考えられた。また、焙煎処理によって、煮干の香りは、生臭い魚臭が消失し、香ばしい香りが付与され、香りの特性が大きく変化した。



図1 焙煎処理前後のオリブイリコ
焙煎前(左)、焙煎後(右)

3.2 遊離アミノ酸、イノシン酸、EPA、DHA含量の比較

表4に焙煎前後のオリブイリコの遊離アミノ酸、イノシン酸、EPA、DHA含量、残存率の結果を示す。

焙煎前後のオリブイリコに含まれるアミノ酸含量は、多い順にヒスチジン、タウリン、アラニン、グルタミン酸であった。山本¹¹⁾は伊吹産煮干の遊離アミノ酸含量は、主にタウリン、ヒスチジン、アラニン、グルタミン酸であることを報告しており、本研究の結果も同様の傾向を示した。プロリンとヒスチジンの残存率は、各々146%、104%となり、焙煎後の値が増加した。一方、プロリンとヒスチジン以外のアミノ酸は焙煎処理によって残存率が72~95%となり、焙煎後の値が減少した。リジンの残存率が72%と最も低い値を示し、全アミノ酸の残存率の平均値は88%であった。うま味や甘みを有するアミノ酸として知られているグルタミン酸、グリシン、アラニンの残存率は、82、88、88%であった。

イノシン酸含量は、焙煎前505 mg/100g、焙煎後510 mg/100gとなり、焙煎処理により僅かに増加し、加熱によって減少しないことが明らかとなった。煮干の旨味成分として知られるイノシン酸は、220℃、3分間の加熱処置で分解されず、安定して煮干に残存していることが確認できた。

高度不飽和脂肪酸のEPA含量は、焙煎処理によって450 mg/100gから229 mg/100gに減少し、焙煎後の残

存率は51%であった。DHA含量も1488 mg/100gから570 mg/100gに減少し、残存率は38%であった。DHAは、EPAに比べて、220℃、3分間の加熱処置で、分解の程度が大きい傾向を示した。

表4 遊離アミノ酸、イノシン酸、EPA、DHA含量

	焙煎前	焙煎後	残存率(%)
遊離アミノ酸			
Tau	644	562	87
Asp	16	13	81
Thr	33	25	76
Ser	32	25	78
Glu	73	60	82
Pro	9	13	146
Gly	42	37	88
Ala	128	113	88
Cys	49	46	95
Val	29	23	81
Met	7	6	85
Ile	20	15	77
Leu	38	29	77
Tyr	23	21	90
Phe	26	21	83
Lys	44	32	72
His	644	669	104
Arg	30	26	85
イノシン酸	505	510	101
EPA	450	229	51
DHA	1488	570	38

頭部と内臓を含むmg/100g(乾燥物)

3.3 焙煎処理による香気特性の変化

各試料のHS香気成分のクロマトグラムから、ChromaTOFソフトウェアにより自動ピーク同定を行った結果、245のピークが検出された。図2に香気特性を評価するため有意差の高いFR値50.0以上の化合物を用いて、焙煎前後のオリブイリコの香気成分に関する主成分分析を行ったスコアプロットの結果を示した。

焙煎前オリブイリコは第2および3象限、焙煎後オリブイリコは第1および4象限にプロットされた(図2)。第一主成分の寄与度が83.1%であり、第二主成分の寄与度は8.9%となり、両者の合計は92.0%となり、分散の92%を説明できていることが示唆された。第1主成分の負側に焙煎前、正側に焙煎後が分類されたことから、第1主成分は焙煎処理の有無による香気成分の違いを説明していると考えられた。

香気成分を記載したローディングプロットの結果から(図3)、焙煎前の香気成分は、プロパナール、ペンタナール、ブタナール、ヘキサナール、ヘプタナール、オクタナール等のアルデヒド類がプロットされ、酸化臭を有する化合物が多いことが示唆された。焙煎後では、2,6-ジメチルピラジン、2,5-ジメチルピラジ

ン、トリメチルピラジンなどのピラジン類、5-ブチルジヒドロ2(3)-フラノン、ジヒドロ-5-ペンチル2(3)-フラノンなどのフラノン類、ブチロラクトンがプロットされ、アミノ酸と糖の加熱によりメイラード反応、脂肪酸の環状エステル化が進行し、ピラジン類、フラノン類が優位に生成し、香ばしい香気成分が付与されることを示唆している。

香気成分の主成分分析の結果から、220℃、3分間の加熱処理によって製造される焙煎オリーブイリコは、煮干に多く含まれる酸化臭の香気成分が減少し、ピラジン類、フラノン類等の香ばしさに関与する香気成分が優位となり、従来の煮干とは異なる香気特性を有することが明らかとなった。

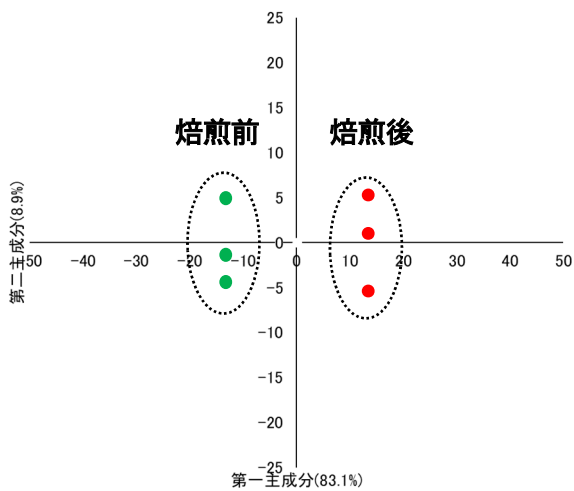


図2 主成分分析のスコアプロット
焙煎前(緑), 焙煎後(赤)

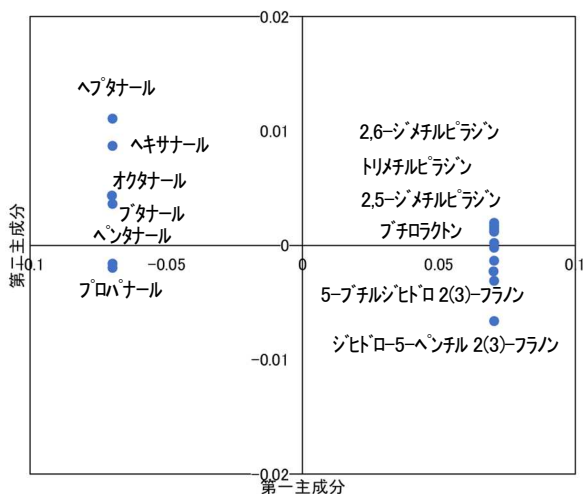


図3 主成分分析のローディングプロット

4 結言

焙煎処理したオリーブイリコの特徴を把握するため、焙煎処理前後の煮干について、アミノ酸、イノシン酸、EPA、DHA 含量、香気成分の比較を行った。焙煎処理により、遊離アミノ酸、EPA、DHA 含量は焙煎前と比較して残存率が 88%、51%、38%となり、いずれの含量も減少した。イノシン酸含量は焙煎前と比べて 101%となり、焙煎処理後も安定に保持されることが明らかとなった。香気成分は、焙煎することでピラジン類及びピラノン類が顕著に生成し、香ばしさを有する香気成分が増加し、酸化臭を呈するアルデヒド類が減少した。焙煎処理したオリーブイリコは、旨味成分のイノシン酸が処理前と同等量保持され、酸化臭が減少して香ばしい香気特性を有することから、食品素材として新たな利用用途が期待できると考えられた。

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: 乾燥オリー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: 乾燥オリー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: 乾燥オリー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: 乾燥オリー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: 乾燥オリー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(オリーブイリコ)の開発, ふーま, **35**(4), 6-29(2019).
- 8) 松原保仁, 大西茂彦, 鬼頭量平, 小野寺麻友, 井上賢治, 矢田幸博: オリーブイリコ出汁の心理・生理的効果について, 香川県産業技術センター研究報告, **21**, 52-54(2020).
- 9) 松原保仁, 田村章, 浅井貴子, 久保和子, 松原梓, 西村冴加: 減塩オリーブイリコの開発, 香川県産業技術センター研究報告, **23**, 54-56(2022).
- 10) 日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編, 新・食品分析法, (光琳, 東京), pp.6-105(1996).
- 11) 山本昌幸: カタクチイワシ煮干しにおける異なる産地のうま味成分の比較, 香川県水産試験場研究報告, **15**, 21-23(2014).

トリメチルシリル誘導体化ガスクロマトグラフィ質量分析法による 清酒中のエチル α -D-グルコシドの定量

大西 茂彦, 久保 和子, 浅井 貴子, 松原 梓, 西村 冨加

清酒中の主要成分であり, 近年コラーゲン生成促進効果が期待されているエチル α -D-グルコシド (α -EG) の定量法を確立した. α -EG は紫外線吸収する官能基を有しないことから, メタボローム解析で利用されているトリメチルシリル化してガスクロマトグラフィ質量分析計に供する分析法を採用した. 本法において α -EG は, 10~80 nmol/tube の範囲において検量線に直線性が確認できた. 市販の清酒に含まれる α -EG の濃度を定量したところ, 文献値と矛盾しない結果が得られたことから, 本法が清酒中の α -EG の定量分析に有効であると考えられた.

1 緒言

エチル α -D-グルコシド (α -EG) は, 清酒の成分中, 水, エタノール, ぶどう糖に次いで多く含まれている, 旨味を示す呈味成分である¹⁻⁴⁾. 近年 α -EG にコラーゲン生成を促進し肌荒れを改善する効果があることが報告されたことから, 清酒の機能性成分として注目されている⁵⁾.

我々は, 食品中の水溶性低分子化合物をトリメチルシリル誘導体化 (TMS 化) し, ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) で一斉分析するメタボローム解析を用いて香川県産品の優位性評価を行ってきた⁶⁻⁸⁾. この実績を活かし, 本報告では α -EG を TMS 化して GC/MS で定量分析する方法を報告する.

2 材料と方法

分析に供した清酒 4 点は, 高松市内の小売店で購入した. α -EG (食品分析用) は富士フィルム和光純薬 (株) 製を使用した.

ガスクロマトグラフ質量分析計による α -EG および清酒中の水溶性低分子成分の分析は, 既報および成書を参考に, 一部改変して行った⁶⁻¹⁰⁾. 清酒および濃度調整した α -EG エタノール溶液 300 μ L を 1.5 mL 容マイクロ遠心チューブ (以下, 遠心チューブとする.) に取り 700 μ L のメタノールを加え, ボルテックスミキサーで攪拌後, 13,000xg で 20 分間遠心分離した. 上清 10 μ L を遠心チューブに移し, 内部標準物質 (I.S) として 1 mg/mL リピトール水溶液 5 μ L を加え 1 時間遠心濃縮した. 溶媒を完全に留去後, 10 mg/mL メトキシアミン塩酸塩・ピリジン溶液 15 μ L を加え, 37°C, 1,300 rpm, 90 分加温振とうした. 次に, N-メチル-N-トリメチルシリル-トリフルオロアセタミド (MSTFA) 50 μ L を加え, 37°C, 1,300 rpm, 30 分加温振とうした. 反応終了後, 全量を 200 μ L 容ガラスインサートを挿入したオートサンプラー用バイアルに移した. 誘導体化した試料は, 成書¹⁰⁾を参考に, 下記の条件で GC/MS 分析した.

清酒の分析は清酒 1 製品につき 4 連で行った.

GC/MS : 島津製作所 GCMS-QP2010 Ultra
カラム : フェーズドシリカキャピラリーカラム CP-SIL 8 CB low bleed(30 m \times 0.25 mm i.d., 膜厚

0.25 μ m, アジレントテクノロジー)

注入量 : 1 μ l

気化室温度 : 230°C

インジェクションモード : スプリット (1 : 25)

オープン温度 : 80°C (2 min) - (15°C/分) -
330°C (6 min)

カラム流量 (線速度) : 1.12 ml/min (ヘリウム)

ページ流量 : 5.0 ml/min

インターフェース温度 : 290°C

検出器電圧 : チューニング結果からの相対値

マスレンジ : m/z 85-500

分析モード : Scan

スキャンスピード : 10,000 u/sec

3 結果と考察

清酒中には, 200 mg~700 mg/100 ml の α -EG が含まれているとされている^{2,11,12)}. α -EG は紫外線吸収する官能基を有しないため, 紫外可視分光検出器付き高速液体クロマトグラフィ (UV/Vis-HPLC) では定量分析できない. そこで, アセチル化してパックドカラムガスクロマトグラフィで分析する方法¹¹⁾や, 示差屈折率検出器付き高速液体クロマトグラフィ (HPLC-RI) を用いた方法¹²⁾が定量に使われている. また, 大渡ら¹³⁾は 2020 年に清酒中の水溶性低分子化合物を TMS 化して GC/MS で一斉分析するメタボローム解析で α -EG が検出できることを報告している.

本報告では, 2021 年に西海らが提案した食品中の水溶性低分子化合物の TMS 化法⁹⁾を一部改変して実施した. α -EG を 0~100 nmol/tube の範囲で TMS 化し GC/MS 分析した結果 (図 1 (a)), 80 nmol/tube 以下において分析量とトータルイオンクロマト (TIC) のピーク面積に直線性が得られた (図 2). 市販されている清酒も同様の方法で分析し (図 1 (b)), 図 2 の検量線で定量を行った結果を表 1 に示した. いずれの清酒の α -EG も, 文献値^{2,11,12)}と矛盾しない濃度であった.

酒類は特定機能性食品や機能性表示食品の対象とならないが, α -EG の機能性を情報発信することにより清酒の消費者層を拡大する一助となると思われる.

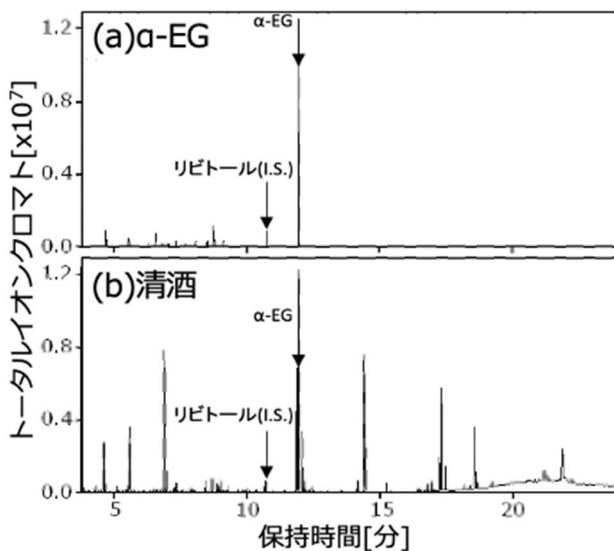


図1 α -EG および清酒の GC/MS 分析結果 (TIC)
(a) α -EG (40 nmol/tube), (b) 清酒分析例

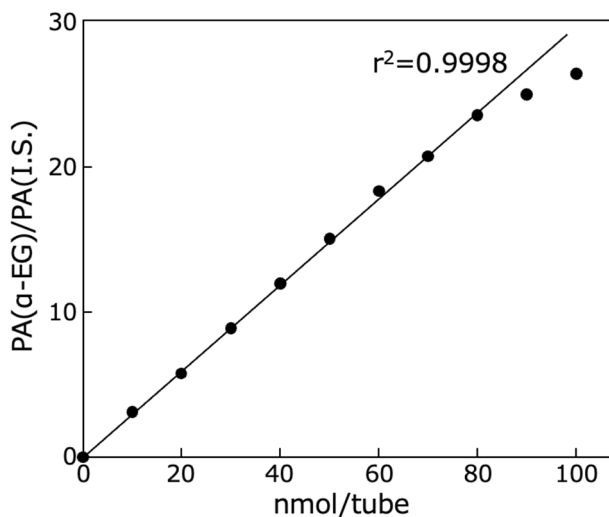


図2 α -EG の検量線

縦軸は α -EG のピーク面積を内部標準 (I.S.) のピーク面積で除した値

表1 清酒中の α -EG 濃度

	mM	mg/100 ml
清酒 1	17.0	354
清酒 2	13.3	278
清酒 3	11.1	231
清酒 4	12.4	257

また、本法により測定したデータはメタボローム解析用ソフトウェア MS-DIAL (ver. 4.9.221218) で解析することにより有機酸類、アミノ酸類、糖類など 76 種類の水溶性低分子化合物を同定できた。このことから、メタボローム解析による清酒成分のワイドターゲット分析と同時に α -EG の定量が可能であり、清酒の品質評価と機能性成分の定量に本法が有効であると考えた。

今回報告した分析条件では 70~500 mg/ml の濃度範囲で α -EG の定量が可能であるが、500 mg/ml を超える α -EG 濃度の清酒を分析する際には、分析に供する清

酒量 (本報告では 300 μ L) を適宜減らすことで対応可能である。その場合、メタボローム解析により検出できる化合物数が減少する可能性があるため、 α -EG の定量と清酒品質評価のどちらに重点を置くかについて検討が必要である。

4 結言

α -EG を TMS 化して GC/MS 分析する定量法を確立した。本法において α -EG は 10~80 nmol/tube の範囲において検量線に直線性が確認できた。市販の清酒に含まれる α -EG の濃度を定量したところ、文献値と矛盾しない結果が得られたことから、本法が清酒中の α -EG の定量分析に有効であると考えられた。

参考文献

- 1) Imanari T, Tamaru Z.: The Identification of α -Ethyl Glucoside and Sugar-alcohols in Sake, *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 321-324 (1971).
- 2) 岡智, 佐藤 信: 清酒の風味構成に対するエチル α -D-グルコシドの寄与, *日本農芸化学会誌*, **50**, 455-461 (1976).
- 3) 岡智, 岩野君夫, 布川弥太郎: 清酒醸造過程におけるエチル α -D-グルコシドの生成, *日本農芸化学会誌*, **50**(10), 463-468 (1976).
- 4) 森本良久, 北本勝ひこ, 藤田義人, 五味勝也, 熊谷知栄子: 清酒麹中の α -グルコシダーゼ活性と清酒醸造における働き, *生物工学会誌*, **73**(2), 97-104 (1995).
- 5) 坊垣隆之, 尾関健二: エチル- α -D-グルコシド高含有酒類の開発とその保湿機能, *日本醸造協会誌*, **113**(6), 336-345 (2018).
- 6) 大西茂彦, 松岡博美, 浅井貴子: そら豆醤油の成分的特徴, *香川県産業技術センター研究報告*, **13**, 85-86 (2012).
- 7) 大西茂彦, 松岡博美, 井上昌子, 浅井貴子: メタボローム解析によるそら豆醤油の成分的特徴の解明, *香川県産業技術センター研究報告*, **14**, 71-74 (2013).
- 8) 大西茂彦, 松岡博美, 浅井貴子: クルマエビ飼育用餌へのオリーブ搾油滓添加効果, *香川県産業技術センター研究報告*, **15**, 70-72 (2014).
- 9) 西海信, 辻井良政: GC-MS を用いたメタボローム解析, *メタボロミクス実践ガイド*, pp. 87-98 (2021).
- 10) 篠原正和: GC/MS メタボロミクスのデータ処理プロトコール, *メタボロミクス実践ガイド*, pp. 179-201 (2021).
- 11) 佐藤信, 大場俊輝, 小林建: 酒類中のエチル α -D-グルコシドの定量, *J. Brew. Soc. Japan*, **77**(6), 393-397 (1982).
- 12) 坊垣隆之, 尾関健二: 保湿機能を有するエチル α -D-グルコシド高含有酒粕再発酵酒の製造, *生物工学会誌*, **94**(10), 594-600 (2016).
- 13) 大渡康夫, 牧野正知, 松林和彦, 田畑光政: メタボローム解析を用いた食品成分の評価技術の確率 (第 1 報), *島根県産業技術センター研究報告*, **56**, 7-12 (2020).

オリーブ釜揚げいりこの冷凍保存性に関する検討

松岡 博美, 松原 梓, 久保 和子

脂イワシの新たな活用法を探るため、オリーブ釜揚げいりこの冷凍保存試験による品質評価を行った。その結果、オリーブ釜揚げいりこは従来の釜揚げいりこ遜色ないことが明らかとなったが、優位性を見出すまでには至らなかった。原料となるカタクチイワシの脂質含量と煮熟時のオリーブ葉の添加濃度の最適条件の設定については今後の検討が必要である。

1 緒言

瀬戸内海の燧灘海域で6月頃に漁獲されるカタクチイワシは、脂質含量が少なく煮干しの製造に最適であるが、8月頃になると煮干しの製造に適さない脂質含量の多いカタクチイワシ、すなわち「脂イワシ」の漁獲が多くなっていく。そのため、県内企業の中には煮干しに加工されなかった蒸煮後の脂イワシを直ちに冷凍し、「釜揚げいりこ」として流通・販売するところが増えてくる¹⁾など、脂イワシの新たな活用法が模索されている。一方、本県では塩水に低温乾燥オリーブ葉を添加し煮熟処理後に乾燥する、新たな煮干魚の製造方法（特許第6439116号）を開発し²⁾、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ことを明らかにしている³⁻⁵⁾。したがって、本技術を釜揚げいりこにも適用できれば、オリーブイリコと同様に従来品と異なる特徴をもつ「オリーブ釜揚げいりこ」が製造できるのではないかと考えられる。

既報⁶⁾において、モデル試験としてオリーブ葉処理がマイワシの脂肪酸含量および香气成分に及ぼす影響を検討したところ、オリーブ葉処理による冷凍保存中の脂肪酸含量の減少低減効果は低かったものの、香气成分においては酸化の程度を遅らせることができる可能性が示唆されたことを報告した。

そこで本研究では、実際にオリーブ葉処理した釜揚げいりこ、すなわちオリーブ釜揚げいりこを冷凍保存した際に脂肪酸含量および香气成分がどのように変化するか検討したので報告する。

2 実験方法

2.1 分析試料

2021年8月に漁獲したカタクチイワシを用いて製造した釜揚げいりこ（体長約7.1 cm、重さ約2.7 g/匹）およびオリーブ釜揚げいりこ（体長約7.8 cm、重さ約4.0 g/匹）は製造後直ちに冷凍し、2022年1月に200 gずつ小袋に分けた状態で県内企業より入手した（図1）。

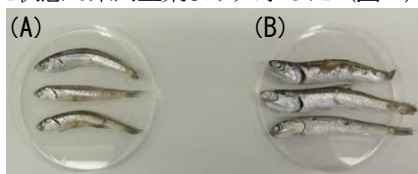


図1 (A) 釜揚げいりこ (B) オリーブ釜揚げいりこ

入手した時点を初発（保存開始0か月）とし、 -30°C で冷凍保存したものを24か月間にわたり3か月ごとに1袋ずつ取り出し、自然解凍した後フードカッターで粉砕し、凍結乾燥したものを分析試料とした。脂質含量および脂肪酸含量は3か月ごと、香气成分は初発と保存終了時に分析した。

2.2 脂質測定

脂質含量は、既報⁷⁾に従いソックスレー抽出法により測定し、結果を生鮮重あたりに換算した。

2.3 脂肪酸（EPAおよびDHA）測定

脂肪酸含量は、既報⁷⁾に従い脂肪酸メチル化キットおよびメチル化脂肪酸精製キット（ナカライテスク（株））を用いてメチル化・精製を行った後、ガスクロマトグラフ（GC-2010Plus, (株)島津製作所）で測定し、結果を生鮮重あたりに換算した。

2.4 香气成分分析

香气成分は、既報⁷⁾に従い測定した。すなわち、各試料0.5 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）の香气成分をSPMEファイバー（DVB/CAR/PDMS）（Sigma-Aldrich）に 50°C 、30分間捕集した後、GC-TOFMS（Pegasus BT, LECOジャパン合同会製）で分析した。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。更に有意差の高いFR値5.0以上の化合物を用いて、EXCEL多変量解析Ver.8.0（（株）エスミ）により主成分分析を行った。

3 結果と考察

3.1 脂質および脂肪酸（EPA+DHA）含量

釜揚げいりこおよびオリーブ釜揚げいりこの冷凍保存中の脂質含量および脂肪酸（EPA+DHA）含量を測定した結果についてそれぞれ図2および図3に示した。冷凍保存中の100 gあたりの脂質含量は釜揚げいりこが1.9 g～2.1 g、オリーブ釜揚げいりこが2.5 g～3.1 gであった。一般的に脂質含量が2%以上のカタクチイワシを脂イワシと呼んでいるが⁹⁾、釜揚げいりこの製造に用いたカタクチイワシは脂イワシの中でも脂質含量が少ないもので

あることがわかった。また、カタクチイワシは成長に伴い脂質含量が増加するが、成魚では産卵期に脂質含量が低下することも知られている⁸⁾。実際の製造現場で釜揚げいりことオリーブ釜揚げいりこを同時に製造することは難しく、今回の試験では同じ月に漁獲されたカタクチイワシを用いたが、漁獲場所や漁獲時期の違いのため同程度の脂質含量の脂イワシを用いた試験とはならなかった。冷凍保存中の100gあたりの脂肪酸(EPA+DHA)含量は釜揚げいりこが300mg~380mg、オリーブ釜揚げいりこが510mg~670mgであった。これまでの報告では、冷凍保存後に脂肪酸含量の減少⁶⁾や、冷凍保存中に脂質含量の増加¹⁰⁾がみられていたが、今回の試験ではどちらの試料も冷凍保存中に大きく変動することなく脂質含量および脂肪酸含量は安定していた。これは、冷凍保存時の形態が密閉した小袋であったため、試料の取り出しのための袋の開封がなく、袋内の霜の発生や空気中の酸素による酸化の影響を抑えられたためと思われる。

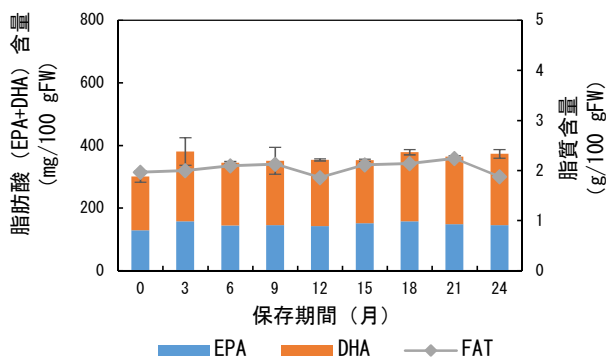


図2 釜揚げいりこの冷凍保存中の脂質および脂肪酸含量の変動

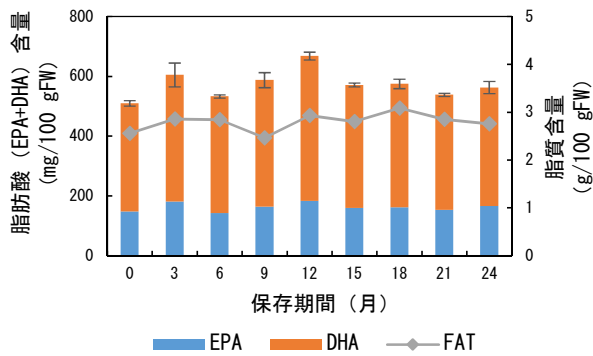


図3 オリーブ釜揚げいりこの冷凍保存中の脂質および脂肪酸含量の変動

3. 2 香気成分

各凍結乾燥粉末の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、254のピークが同定された。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5.0以上の241成分を用いて主成分分析を行った。得られたスコアプロット(図4)より、第1主成分(81.0%)および第2主成分(9.1%)で分散の約90%を説明できた。第1主成分の負側に初発、正側に冷凍保存後が分類されたことから、第1主成分で保存期間による違いが説明できることが示唆され、第2主成分の正側に釜揚げいりこ、負側にオリーブ釜揚げいりこが

プロットされたことから、第2主成分でオリーブ葉処理の有無による違いが説明できることが示唆された。

得られたローディングプロット(図5)において特徴的な香りを持つ成分を記載したところ、イワシ脂の刺激的な腐敗臭といわれる1-Penten-3-olをはじめ、脂質酸化とも関連するアルデヒド類やケトン類(赤字)および脂質酸化物(青字)が第1主成分の正側および第2主成分の負側に多くプロットされたことから、冷凍保存期間が長くなると魚中の油の酸化が進み、酸化臭が多くなることが示唆された。また、一般的に脂質含量が多いほど酸化されやすいと考えられるため、脂質酸化に関わる成分が多くプロットされている第2主成分の負側にオリーブ釜揚げいりこがプロットされているのは、オリーブ釜揚げいりこが脂質含量の少ない釜揚げいりこよりも酸化の影響を受けやすかったためと考えられる。しかし、第2主成分の寄与率(9.1%)は第1主成分の寄与率(81.0%)に比べて極めて小さいことから、保存期間と比較すると脂質含量に及ぼす酸化の影響は少ないと考えられた。

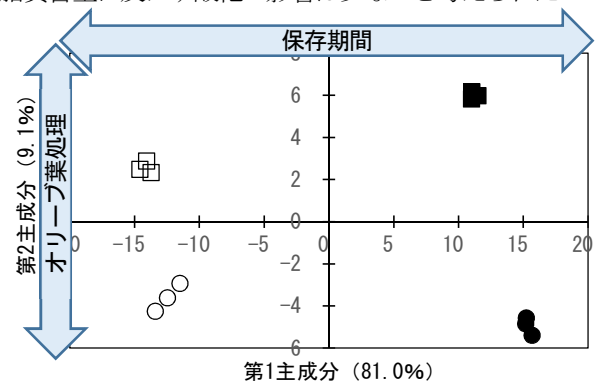


図4 主成分分析のスコアプロット

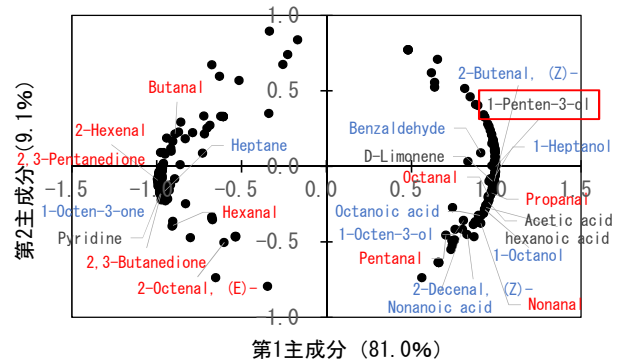


図5 主成分分析のローディングプロット

松原らの報告³⁾によると、脂質含量の比較的多いカタクチイワシを用いてオリーブイリコを製造した際にも、0.1%以上のオリーブ葉添加処理で煮干しの臭気抑制効果を有することを確認していたことから、今回の試験では実際の現場での製造を想定してオリーブイリコで効果のある0.1%~0.2%のオリーブ葉を添加し、オリーブ釜揚げいりこを製造した。しかし、釜揚げいりことオリーブ釜揚げいりこの冷凍保存後の香気成分の変動は同様の傾向を示し、オリーブ葉処理による酸化抑制効果や魚臭抑制効果はみられなかった。オリーブ釜揚げいりこは脂

質含量が多く煮干し製造のような乾燥工程もないため、オリーブイリコの製造と同じ濃度のオリーブ葉の添加ではこれらの効果がみられなかったと考えられる。既報⁶⁾のモデル試験においては、0.5%のオリーブ葉添加処理で脂質含量4.5%~5%のマイワシの冷凍保存後の酸化臭の抑制効果がみられたことから、付加価値の高いオリーブ釜揚げいりこを製造するためには、原料となるカタクチイワシの脂質含量と煮熟時のオリーブ葉の添加濃度の検討が今後の課題である。

4 結言

冷凍保存したオリーブ釜揚げいりこの脂肪酸含量および香氣成分の変動について調査した。その結果、オリーブ釜揚げいりこは従来の釜揚げいりこと同様に2年間の冷凍保存中に脂肪酸含量の減少はみられなかったが、香氣成分においても酸化臭の抑制効果はみられなかった。したがって、オリーブイリコのようなオリーブ葉処理による優位性を見出すためには、原料となるカタクチイワシの脂質含量と煮熟時のオリーブ葉の添加濃度の最適条件について再度検討する必要があると考えられた。

謝辞

本試験を行うにあたり、分析試料を提供していただいた株式会社キョーワ様に感謝申し上げます。

参考文献

1) <https://ibukijima.com/kamaage> (検索日:

2024. 3. 12).
- 2) 松原保仁, 柴崎博行: 特許第 6439116 号 (煮干魚の製造方法).
 - 3) 松原保仁, 柴崎博行: 乾燥オリーブ葉を活用した煮干しの高品質化 (第 1 報), 香川県産業技術センター研究報告, **14**, 102-105 (2013).
 - 4) 松原保仁, 柴崎博行: 乾燥オリー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).
 - 5) 松原保仁, 柴崎博行: 乾燥オリー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).
 - 6) 松岡博美, 久保和子, 松原梓: オリーブ葉処理がマイワシの冷凍保存に及ぼす効果の検討, 香川県産業技術センター研究報告, **23**, 57-59 (2022).
 - 7) 松岡博美, 久保和子, 棚野秀平, 松原梓: 機能性表示食品に対応した製品化支援, 香川県産業技術センター研究報告, **21**, 60-61 (2020).
 - 8) 山本昌幸: 瀬戸内海燧灘東部におけるカタクチイワシのサイズ別の粗脂肪含量, 香川県水産試験場研究報告, **9**, 11-12 (2008).
 - 9) 山本昌幸, 中山博志: カタクチイワシ煮干しにおける「脂イワシ」の評価基準の検討, 水産技術, **5**, 179-182 (2013).
 - 10) 松岡博美, 久保和子, 松原梓: 冷凍釜揚げいりこの保存性に関する検討, 香川県産業技術センター研究報告, **22**, 64-65 (2021).

ヒドロキシチロソールの分析方法の検討

松岡 博美, 藤川 護*

オリーブに特徴的なポリフェノール成分の1種であるヒドロキシチロソールの分離定量を検討するため、高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いた分析方法を検討した。本分析法によるヒドロキシチロソールの分離は良好で、標準溶液 0.5~200 µg/ml の範囲で検量線を作成したところ、相関係数は 0.999 以上と良好であった。また、添加回収試験では、ほぼ 100% の回収率が得られ、本分析法を用いることによりヒドロキシチロソールを良好に定量できることが明らかとなった。

1 緒言

本県では特産農産物であるオリーブの利活用が活発に行われている。オリーブの健康機能性を生かした商品開発においては、オリーブに特徴的な機能性成分として「オレウロペイン」や「ヒドロキシチロソール」に着目することが多い。これらの機能性成分に着目した商品開発や品質管理においては当該成分の分析が必須であり、例えば、オリーブ茶や菓子などの葉加工品¹⁾や、オリーブハマチの餌 (オリーブ葉を含有)²⁾においては、オレウロペイン含量が、オリーブ葉から抽出したエキスを活用した機能性表示食品³⁾においては、ヒドロキシチロソール含量が品質規格の一つとなっている。

当センターでは、オレウロペインについてはすでに平成 29 年度から手数料項目に設定しているが、ヒドロキシチロソールについてはまだ設定していない。そこで、近年のヒドロキシチロソールを機能性関与成分とする機能性表示食品の開発を行う県内企業からの分析ニーズの高まりに応えるため、ヒドロキシチロソールについても新たに手数料項目に設定することを目的とし、ヒドロキシチロソールの分離・定量性を評価したので報告する。

2 実験方法

2. 1 試薬および試料

ヒドロキシチロソールは東京化成工業株式会社製を用いた。

また、ヒドロキシチロソール含有試料のモデルとして、オリーブ抽出液 (液体)、オリーブゼリー (半固体) およびオリーブ葉 (固体) を用いた。

2. 2 分析試料の調製

試料の抽出方法は、オレウロペインと同時分析を想定して既報⁴⁾に従い以下のように調製した。

オリーブ抽出液は 80%メタノール溶液で 50 倍希釈したものを HPLC (Prominence UCLC XR, 島津製作所社製) に供した。オリーブゼリーは 1 g, オリーブ葉は 2 g 精秤し、80%メタノール溶液を加え、20 分間振とう抽出し、抽出液を No. 2 のろ紙 (アドバンテック東洋社製) でろ過した後、50ml に定容した。定容後の溶液を 0.45 µm の PTFE メンブレンフィルター (アドバンテック東洋社製) でろ過し、HPLC に供した。

* 香川県産業技術センター発酵食品研究所

2. 3 HPLC 分析条件

標準試薬および試料は、既報⁴⁾に従い以下の分析条件で HPLC 分析を行った。

カラム	CLC-ODS (M) 4.6×250 mm 粒径 5 µm (島津製作所社製)
カラム温度	30°C
移動相	2%酢酸 (A) : メタノール (B) A:B=95:5 (0 分)→55:45 (5 分) →35:65 (25 分)→0:100 (36 分) →0:100 (40 分)→95:5 (50 分)
検出波長	280 nm
注入量	10 µl
流速	1.0 ml/min

3 結果および考察

3. 1 機能性成分の分離

本分析法では、食品中のヒドロキシチロソールおよびオレウロペインを 51 分で分離することができた (図 1)。

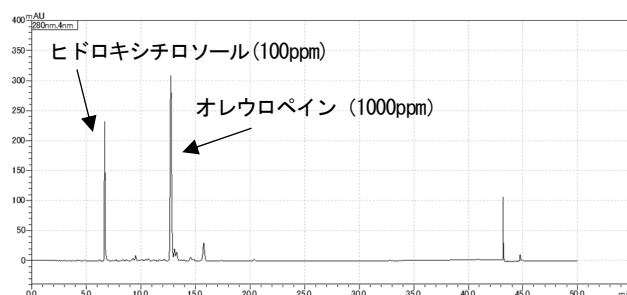


図 1 ヒドロキシチロソールおよびオレウロペイン標準溶液の分離結果

3. 2 定量性と再現性

標準試料における検量線を作成したところ、ヒドロキシチロソールは 0.5~200 µg/ml の範囲で相関係数 0.999 以上の良好な直線関係を示した (図 2)。ヒドロキシチロソールの検量線の下限 (0.5 µg/ml) における変動係数は 2.3% (n=5) であり、検量線の上限 (200 µg/ml) においても 0.5% (n=5) と良好な再現性を示した。

3. 3 添加回収試験

本分析法の精度を確認するため、添加回収試験を行った (表 1)。検量線の下限值より、各試料に 100 g あ

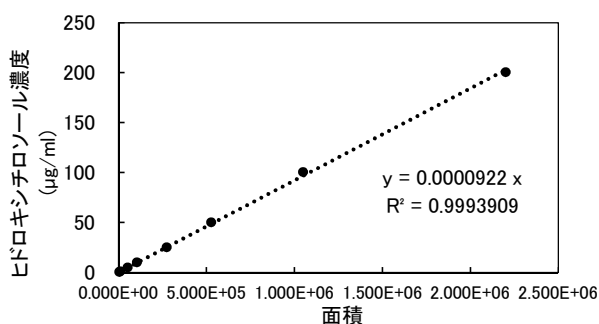


図2 ヒドロキシチロソールの検量線

たり 2.5 mg (分析時 0.5 µg/ml) となるようヒドロキシチロソールを添加して、一連の抽出操作を行った。回収率は 5 回の平均でオリーブ抽出液は 107.5%，オリーブゼリーは 102.9%，オリーブ葉は 110.7% と良好な結果が得られた。また、各試料の回収率の変動係数 (n=5) はそれぞれ 0.4%，0.9%，1.2% であった。以上のことから、液体試料、半固体試料および固体試料のいずれの試料でも本分析法の妥当性が確認された。

4 結言

HPLC を用いてヒドロキシチロソールの分析方法を検討したところ、本分析法によりヒドロキシチロソールが良

表1 各試料の添加回収試験

サンプル	ブランク	添加量	検出量	回収率
	mg/100 g			%
オリーブ抽出液	3.6	2.5	6.2	107.5
オリーブゼリー	12.5	2.5	15.1	102.9
オリーブ葉	19.1	2.5	21.9	110.7

好に分離・定量できることが確認でき、本条件での定量下限は 2.5 mg/100 g に設定可能であることが示唆された。

参考文献

- 1) 柴崎博行：オリーブ葉の乾燥条件の検討，香川県産業技術センター研究報告，18，85-87 (2017)。
- 2) 大山憲一，柴崎博行，大西茂彦，柴田英明，小川雅廣：香川県産飼料用オリーブ葉のポリフェノール含量に及ぼす保存方法の影響，日本食品科学工学会誌，63 (12)，570-574 (2016)。
- 3) 消費者庁：機能性表示食品の検索，<https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc01/> (検索日：2024.3.1)。
- 4) 松原保仁，柴崎博行：乾燥オリー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)。

甘酒における中等度通性好熱性細菌の汚染と酸敗防止対策

佐々原 浩幸, 藤井 浩子

甘酒酸敗の原因菌として米麴より分離された X-1 株は *Bacillus coagulans* と推定され, 米麴由来の菌であった. X-1 株の GYP 培地 (pH6.2) における増殖限界温度は 62.9°C, 至適増殖温度域は 52°C±2°C であり, 35°C 以下においても増殖が可能な中等度通性好熱性細菌であった. 本菌株の甘酒培地 (Brix80.0) における増殖至適温度域は 50±2°C であり, 57.5°C まで増殖が可能であった.

甘酒製造の改良点として米麴の糖化温度を 65°C に設定し, 糖化中の酸敗を防止するとともに, 糖化後, 残存した耐熱性芽胞の殺菌のため, 工場を導入可能な間欠殺菌方法を決定した.

1 緒言

Bacillus 属を主とする耐熱性芽胞細菌の芽胞は耐熱性が高く, 様々な食品の変敗に関与している¹⁻³⁾. 一般的にレトルト殺菌により芽胞は死滅させることができるが⁴⁾, 高温高圧の条件下, 品質への影響も大きく, 零細な食品企業においてはコストの面で導入できない場合がある.

今回, 米麴を糖化して製造される甘酒において, pH が 5.0 以下に低下し, 酸味 (乳酸の生成) を生じるクレームが発生した. また製造工程中においても pH の低下が散見された. 通常の微生物検査では, 一般生菌, 乳酸菌, 真菌ともに検出されなかったため, 当該甘酒の酸敗原因菌の究明と中小企業においても可能な酸敗防止のための間欠殺菌⁵⁾ 条件について検討した.

2 実験方法

2.1 培地

菌株の分離, 菌数の測定には GYP 培地 (グルコース 1.0%, 酵母エキス 0.3%, ポリペプトン 0.5%, 寒天 1.5%) を用いた. 培養は 50°C にて行った. 菌株の耐熱性試験は GYP 培地 (50mM リン酸緩衝液 pH6.2) の培地または米麴を 70°C にて 18 時間糖化し, 遠心分離後の上澄を Brix80.0, pH5.5 に調製, 濾過滅菌した甘酒培地を用いた.

2.2 菌株の同定

Manual for the IDENTIFICATION OF MEDICAL BACTERIA 2nd ed. 及び BERGEYS MANUAL OF Systematic Bacteriology vol.2 に準じて形態学的, 生理学的性質について検討した.

2.3 各温度における増殖特性

甘酒培地にて前培養し, 対数増殖中期の菌体を同培地に植菌し培養した. 再度, 対数増殖中期の菌体を甘酒培地に 10³ cells/ml となるように添加し, ADVANTEC 社製温度勾配バイオフォトレコーダー TN-2623 を用い, 各温度の増殖曲線を求め, 世代時間を算出した.

2.4 X-1 株の死滅曲線

2.3 と同様に調製した対数増殖中期の栄養細胞を GYP 培地及び甘酒培地に 10⁶ cells/ml となるように添加し, 70°C における死滅曲線を求め, D 値を算出した. また芽胞形成培地⁶⁾ にて調製された X-1 株の耐熱性芽胞の甘酒培地における D 値も算出した.

3 結果と考察

3.1 酸敗原因菌の分離と同定

一般生菌数の測定条件である標準寒天培地を用い, 35°C, 48 時間培養後にコロニーの形成は認められなかった. 培養温度 55°C, GYP 培地にて培養を試みた結果, 培養 15 時間後にはコロニー形成が認められた. 酸敗原因菌として分離された菌株の形態学的, 生理学的性質を表 1 に示した.

表 1 X-1 株の形態学的・生理学的特質

大きさ	0.6-1.0×2.4-5.0
芽胞の有無	有
グラム反応	-
運動性	有
45°C における生育	+
65°C における生育	-
pH5.7 における生育	+
7%NaCl における生育	-
ブドウ糖ブイヨンの嫌氣的生育	+
酸生産: D-グルコース	+
L-アラビノース	-
D-マンニトール	-
D-キシロース	-
VP 反応	+
デンプン加水分解	+
硝酸塩還元	-
インドール生産	-
ゼラチン加水分解	-
ウレアーゼ試験	-
LV 反応	-
リゾチウム感受性	+

甘酒の酸敗原因菌として分離された X-1 株はブドウ糖から乳酸及び酢酸を 1:1 の比率で生成した. 表 1 の結果より X-1 株は *Bacillus coagulans* と推定された.

X-1 株は原料の米麴からも分離された. X-1 株の各温度における 24 時間培養の生育を図 1 に示した. 米麴の糖化温度である 55°C において, 甘酒培地, GYP 培地とも旺盛な生育を示した. 生育温度の限界はそれぞれ 60.1°C, 62.9°C であった.

米麴の糖化温度を 60°C 以上とすることで製造工程中の甘酒の pH の低下を防止することができた (図 2). しかしながら X-1 株は耐熱性芽胞を形成し, 常温において生育は緩慢なものの, 保存中に残存した芽胞が発芽し, 酸敗が生じる. そこで残存した芽胞の間欠殺菌条件について検討した.

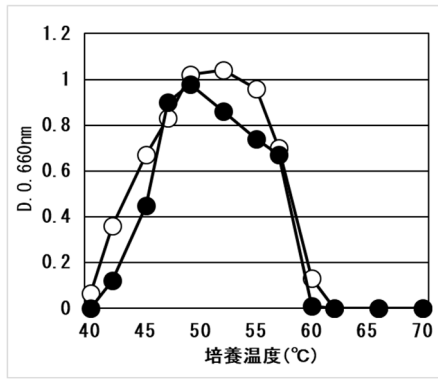


図1 X-1株の増殖温度
○:GYP培地, ●:甘酒培地

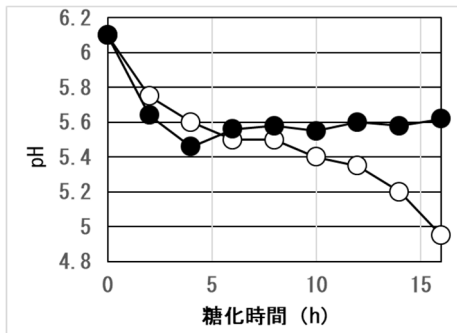


図2 甘酒糖化温度によるpHの推移
○:55°C, ●:60°C

3. 2 各培養温度におけるX-1株の増殖曲線

X-1株の甘酒培地における各温度での増殖曲線を図3に示した。

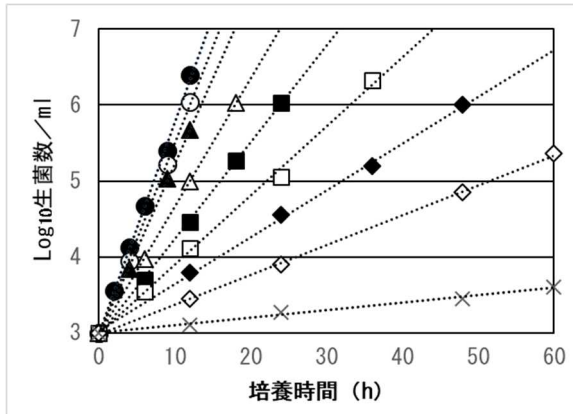


図3 各培養温度におけるX-1株の増殖曲線
●:37.4°C, ○:32.9°C, ▲:29.6°C, △:27.2°C, ■:25.1°C
□:23.1°C, ◆:19.5°C, ◇:17.8°C, ×:16.2°C

従来の殺菌方法は温度 55°Cで 17 時間糖化し、袋詰めしたのちに、60°C達温の湯殺菌を実施している (図5)。芽胞は加熱 (60~70°Cで 30 分間) すれば発芽しやすい状態になることが知られており⁷⁾、また発芽を始動させる代謝化合物や金属イオン等の報告が多数なされている^{8~10)}。また *Bacillus subtilis* の芽胞における発芽までの時間はブイオンを用いた場合、60 分前後でほぼ 100% の発芽率を示すと報告されている¹¹⁾。X-1 株は中等度の好

熱性細菌であり、残存した芽胞は湯殺菌後、室温まで冷却される間に速やかに発芽し増殖していると推定される。図3より栄養細胞の世代時間は 30°Cで 38 分、25°Cで、72 分、20°Cで 144 分であり、常温流通・保存された商品は冬季においても酸敗の防止は困難と考えられた。

3. 3 X-1株の栄養細胞と芽胞の死滅曲線

X-1株の栄養細胞と芽胞の死滅曲線を図4に示した。

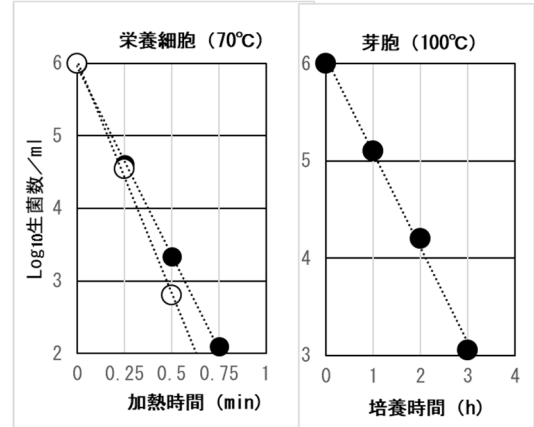


図4 X-1株の栄養細胞と芽胞の死滅曲線
○:GYP培地, ●:甘酒培地

芽胞の耐熱性は高く 100°Cで数時間の加熱が必要である。一方で栄養細胞は 70°Cで 30 秒程度の加熱で十分と考えられた。

従来の殺菌温度である 60°Cは生育限界温度付近であり、温度管理を間違えれば、殺菌中に X-1 株の増殖を促す結果となる。糖化の温度は 65°Cとし、湯殺菌の条件は 70°C、30 秒に設定した。また糖化や湯殺菌後において、X-1 株の増殖を抑制するため、増殖至適温度である 50°C付近を速やかに通過し 30°C以下まで急冷することは必須と考えられた。作業時間の関係から、袋詰めし 1 回目の殺菌から 2 回目の殺菌まで 17 時間放置されるが、冬季の外気温から考えれば、品温が 25°C以下であれば、17 時間で酸敗するリスクは小さい。更に 2 回目から 3 回目の湯殺菌の間隔については作業上、可能であれば 2~3 時間後でもよい。その場合は急冷する必要はなく放冷後に 3 回目の湯殺菌処理を行う。図5に甘酒製造工程の現行法と改良法について示した。改良法において実験室レベルではあるが、30°Cにて保存した場合、酸敗が生じることはなかった。

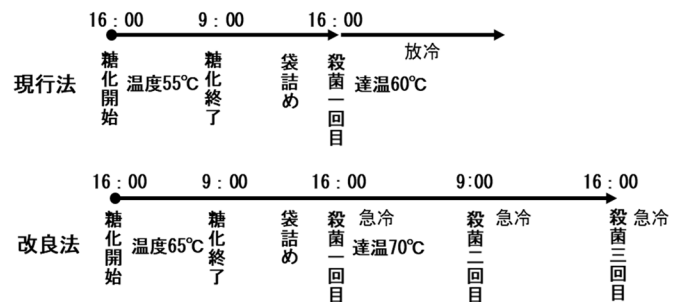


図5 甘酒の製造工程

4 結言

甘酒酸敗の原因菌として米麴より分離された X-1 株は形態学的・生理学的特質より *Bacillus coagulans* と推定された。本菌株は原料である米麴由来の菌であった。X-1 株の GYP 培地 (pH6.2) における増殖限界温度は 62.9°C, 至適増殖温度域は 52°C±2°C であり, 35°C 以下においても増殖が可能な中等度通性高熱性細菌であった。また甘酒培地 (Brix80.0) において増殖至適温度域は 50±2°C であり, 57.5°C まで増殖が可能であった。

甘酒製造の改良点として米麴の糖化温度を 65°C に設定し, 糖化中の酸敗を防止するとともに, 糖化後, 残存した耐熱性芽胞の殺菌のため, 湯殺菌の温度を 70°C とし, 30 秒間の加熱殺菌を 3 度実施する間欠殺菌方法を決定し, 企業へ提案した。

参考文献

- 1) 宮本敏久: 食品における耐熱性芽胞形成菌の生育特性と制御, 日本食品微生物学会雑誌, 26, 92-97 (2009) .
- 2) 松田典彦, 駒木勝, 市川良子, 後藤幸恵: 缶詰食品の変敗原因有芽胞細菌の種と食品の種類との関係, 日本食品工学会誌, 32, 615-621 (1985).
- 3) 鶴木隆文, 吉村浩三, 下野かおり, 間世田春作: 魚肉なり製品の品質保持に関する研究, 鹿児島県工業技術センター研究報告, 12, 23-27 (1998).
- 4) 岡崎 尚, 米田達雄, 鈴木寛一: 加圧・加熱の併用処理による耐熱性細菌胞子の殺菌, 日本食品工業学会誌, 41, 536-554 (1994).
- 5) 涌嶋三津子, 西川景子, 泉 秀美, 鎌田洋一, 西川禎一: レトルトパウチ詰コーンスープの原材料から分離されたフラットサワー菌の耐熱性と間欠殺菌法による制御の試み, 日本食品微生物学会雑誌, 29, 31-174 (1984) .
- 6) 高村一知, 星野浩子, 渡辺智子: *Bacillus Cereus* および *Bacillus Licheniformis* の芽胞形成におよぼす培養条件について, 聖徳栄養短期大学紀要, 15, 31-34 (1984).
- 7) 門田 元, 志知嘉子, 石田祐三郎: 芽細菌胞子の発芽に及ぼす加熱の効果, 日本水産学会誌, 33, 758-762 (1967).
- 8) 蜂須賀養悦: 芽胞 (細菌性胞子) 発芽のメカニズム, 化学と生物, 7, 509-516 (1969).
- 9) 村上八郎: *Bacillus subtilis* PCI 219 の胞子の発芽機構 に関する研究 (第 1 報) 発芽条件の検討およびカチオンならびにアニオンの発芽に及ぼす影響について, 農芸化学会誌, 44, 539-546 (1970).
- 10) 児島宣夫: 細菌性芽胞の研究 第 2 報 *Bacillus terminalis* の発芽と各種炭素源の関係について, 日本細菌学雑誌, 14, 6-8 (1958)
- 11) 蜂須賀養悦: 枯草菌芽胞の発芽に関する研究, 日本細菌学雑誌, 32, 655-669 (1977).

醤油酵母培養における生揚醤油の添加効果（第一報）

岡崎 賢志, 藤井浩子

醤油酵母の培養法について、培地に生揚醤油を添加した場合と添加しない場合について生菌数とアルコール濃度を指標に比較検討した。生揚醤油を添加した培地と添加しない培地では、生揚醤油を添加した培地の方が増殖が速く、アルコール発酵も旺盛であった。醤油の品質において酵母のアルコール発酵は重要であり、今後配布酵母及び配布乳酸菌業務等への活用が期待される。

1 緒言

醤油酵母の培養には培地に生揚醤油を添加することが一般的である¹⁾²⁾。当研究所においても、配布酵母業務における醤油酵母の培養及び生菌数の測定における培地には生揚醤油を添加している。

生揚醤油のなかに、醤油酵母の増殖を促進する物質の存在が示唆されると思われる。

今回、醤油酵母の増殖に関する検討を行い、基礎的な知見が得られたので報告する。

2 実験方法

2.1 使用菌株

当研究所保有の *Zygosaccharomyces rouxii* ZR510 株を用いた。

2.2 培養方法

14%NaCl, 6%生揚醤油, 2%グルコース, 1%酵母エキス, 0.5%ポリペプトン, 0.5%りん酸二カリウムを含む培地(培地 I)を入れたもの及び培地 I の 14%NaCl の代わりに 15%NaCl を入れ、生揚醤油を添加しない培地(培地 II)を 100 mL 及び 50 mL 容の三角フラスコに 30 mL 及び 20 mL 入れた。予め、15%NaCl, 2%グルコース, 1%酵母エキス, 0.5%ポリペプトン, 0.5%りん酸二カリウムを含む培地で 1 週間前培養した培養液を 30 mL に対して 30 μ L 及び 20 mL に対して 20 μ L 接種し、30°C で培養した。

2.3 生菌数の測定

生菌数は末澤¹⁾らの方法に基づいて、培地 I に 100 ppm クロラムフェニコール及び 2%寒天を含む培地を用いた平板塗抹法で測定した。

2.4 培養液のアルコール分析

培養 5 日後の培養液のエタノール濃度の分析は株式会社島津製作所製ガスクロマトグラフ GC-2014 を使い、2%イソプロパノールを内部標準物質とした方法で行った。

(カラム: パックドカラム 2.1 m \times 3.2 mm I. D Thermon-1000 5% Sunpack-A 50/80)

3 実験結果及び考察

図 1 に ZR510 株の培地 I 及び培地 II における培養 5 日間の生菌数を示す。生揚醤油を添加しない培地 II では、培養 2 日目まではほとんど増殖せず、培養 3 日目から緩やかに増殖した。一方、生揚醤油を添加した培地 I は培養 1 日目から急激に増殖し、3 日後には最大値となった。

また、培養 5 日後のアルコール濃度を図 2 に示す。培地 II ではアルコール濃度が低く、その値は 0.07% であっ

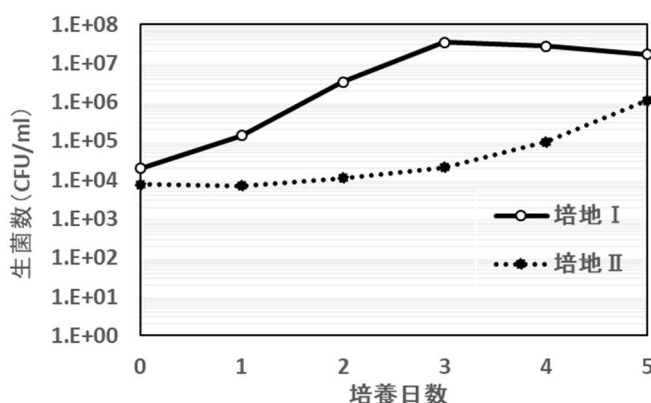


図 1 各培地での醤油酵母の増殖

たが、培地 I では 0.75% と高い値を示した。

これらのことから、生揚醤油に酵母の増殖及びアルコール発酵を促進する成分が存在することが示唆された。

当研究所では、配布乳酸菌業務においても生揚醤油

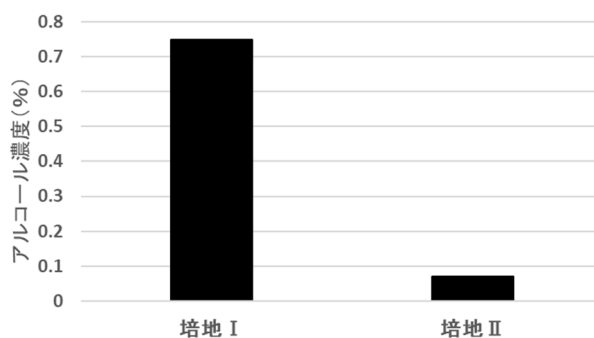


図 2 5 日間培養後のアルコール濃度

を添加しており、それらの促進物質を利用して、安価で品質の優れた配布酵母及び配布乳酸菌の生産に活用することが期待できる。

4 結言

醤油酵母の培養において、培地に生揚醤油を添加した場合、添加しない場合に比べ、増殖が速くアルコール発酵も旺盛であった。今後、増殖促進物質の添加により、配布酵母及び配布乳酸菌業務への活用が期待される。

参考文献

1) 末澤保彦, 尾路一幸, 谷川善弘, 吉岡直美: 醤油

酵母 *Zygosaccaromyces rouxii* ZR510 株の大量培養法の改良 (第 1 報), 香川県食品試験場・香川県発酵食品試験場, 89, 32-34(1996)

2) 岡崎賢志, 藤井浩子: 醤油酵母の大量培養に関する検討 (第一報), 香川県産業技術センター研究報告, **13**, 95-97 (2012)

芳香性チオール高生産清酒酵母の育種法の開発

富本 和也

酒類醸造における芳香性チオール高生産株の取得を目指し、ジメチルジセレニド耐性変異株より同高生産株の探索を行った。ジメチルジセレニド耐性変異株の中には含硫アミノ酸要求性を示すものが存在したので、これらの株を用いて清酒小仕込み試験を行ったが、芳香性チオール高生産株の取得には至らなかった。

1 緒言

県産業技術センター発酵食品研究所では、2020年に県産オリーブよりオリジナル酵母「さぬきオリーブ酵母」^{1, 2)}を分離・育種することに成功した。この酵母は現在香川県酒造組合により頒布され、普及の努力がなされている³⁾。今後も、さらなる県オリジナル酵母の育種・普及が期待される場所である。

清酒において吟醸香は重要な要素であるが、実際上重視されている成分はリンゴ様の芳香をもつカプロン酸エチルと、バナナ・メロン様の酢酸イソアミルの、2種のエステルのみである。近年チオール（一般式：R-SH）の一種でマスカット様の芳香をもつ 4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4-MMP, 図1)が高精白米を使用した吟醸酒中に見いだされることが明らかとなり⁴⁾、低グルテリン米を使用した醸造により、清酒中4-MMP濃度を高める手法も報告されている⁵⁾が、酵母の育種による同手法は報告されていない。4-MMPをはじめとした芳香性チオールは元来、ワイン・ビールの香气成分として知られていたものであり、酒類醸造における芳香性チオール高生産株の適用範囲は広いものと考えられる。そこで、同高生産株の育種に関する研究を行うこととした。

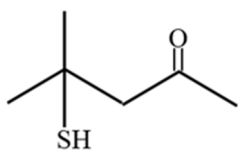


図1 4-MMPの構造

4-MMPは、原料米中に何らかの化合物との抱合体として存在していることが知られている。その状態では揮発性を持たないが、酵母の持つ何らかの酵素によって抱合体が分解を受けると4-MMPが遊離すると考えられている^{6, 7)}。ブドウ果汁を基質とした、酵母の遺伝子破壊株ライブラリーの解析により、含硫アミノ酸（システイン・メチオニン）合成関連遺伝子の破壊株では4-MMPの生産量が増えることから⁸⁾、それらの遺伝子に機能欠損変異を持つ酵母は4-MMP高生産性となる可能性があると考えられた。

硫黄のアナログとして機能するセレンを含む化合物は総じて有毒であるが、これは本来硫黄を含む化合物においてその代わりにセレンが取り込まれた結果、

その化合物が本来持つ機能を発揮できなくなるためと考えられる。酵母の含硫アミノ酸合成関連遺伝子破壊株は、有機セレン化合物の一種ジメチルジセレニド (DMDS) に対し耐性となることが以前に報告されている⁹⁾。そこで、DMDS耐性株から含硫アミノ酸合成関連遺伝子変異株（システイン・メチオニン要求性株）を分離し、それらの変異株の清酒醸造特性を調べた。

2 実験材料および方法

2.1 供試菌株

清酒酵母きょうかい7号（（独）酒類総合研究所より分譲。以下「K7」という）を使用した。

2.2 変異導入・復帰培養

5 mLのYPD5液体培地（1%酵母エキス、2%ペプトン、5%グルコース）にK7を一白金耳植菌して30℃・約2日間振盪培養した。この培養液に終濃度5%のエチルメタンサルホン酸を添加後、30℃・1時間振盪することで処理し、変異導入した（予備実験の結果、この処理条件でのK7生存率は約50%であった。データ示さず）。2,000×g・5分間の遠心分離により集菌・上清を廃棄し（この一連の操作を、以下単に「集菌」という）、菌体を30 mLの滅菌水に懸濁した。集菌して菌体を20 mLのYPD5液体培地に懸濁し、30℃・約2日間振盪培養した。

2.3 変異株選抜

1 mLの復帰培養液を分取し、集菌した。菌体を1.5 mLの滅菌水に懸濁し、集菌した（この操作をさらに2回繰り返した）。菌体を1 mLの滅菌水に懸濁し、この懸濁液200 μLを100 μM L-システイン塩酸塩・50 μM DMDSを含むYNB培地（0.17% yeast nitrogen base, 0.5%硫酸アンモニウム, 2%グルコース）5 mLに植菌して、30℃・約5日間振盪培養した。

この培養液200 μLを100 μM L-システイン塩酸塩・100 μM DMDSを含むYNB培地5 mLに植菌して、30℃・約5日間振盪培養した（同様の操作を、DMDS濃度を200・400 μMと順次高めて実施した）。

最終継代培養液50 μLを5 mLのYPD5液体培地に植菌して、30℃・約2日間振盪して培養した。1 mLの培養液を分取し、集菌した。菌体を1.5 mLの滅菌水に懸濁し、集菌した（この操作をさらに2回繰り返した）。菌体を1 mLの滅菌水に懸濁し、この懸濁液を適当に希釈してOD600値を測定した。同値が0.3になるように再度菌体懸濁液を希釈し、この希釈液の10倍希釈系列

を3段階作製した。これらの4つの希釈液 100 μ L を 100 μ M L-システイン塩酸塩・100 μ M DMDS を含む YNB 平板培地に塗布し、30 $^{\circ}$ C・約7日間培養した。この平板培地に生じたコロニー150個およびK7を、YPD 平板培地 (YPD5のグルコース濃度を標準の2%としたもの) に移植し、30 $^{\circ}$ C・約2日間培養した。増殖した各株を YNB 平板培地 (アミノ酸不含) に移植し、30 $^{\circ}$ C・約3日間培養した。この YNB 平板培地上での増殖が K7 に比べて明らかに悪い株9株 (No. 1-9) を、候補変異株として選抜した。

2. 4 変異株の含硫アミノ酸要求性確認

各菌株を YPD5 液体培地で培養し、集菌した。菌体を 1.5 mL の滅菌水に懸濁し、集菌した (この操作をさらに2回繰り返した)。各菌体懸濁液の OD600 を測定し、同値が 0.05 になるように滅菌水で希釈した。各希釈液を各平板培地に 5 μ L ずつ滴下し、30 $^{\circ}$ C で一定時間培養した (用いた平板培地の組成および培養時間は図2およびその脚注参照)。

2. 5 清酒小仕込み試験

K7 およびそのジメチルジセレニド耐性変異株 No. 1-9 を、5 mL の YPD5 液体培地に一白金耳植菌して 30 $^{\circ}$ C・約2日間振盪培養した。集菌後、適当量の 0.052% (w/v) の乳酸を含む水道水 (これを「汲み水」とした) に菌体を懸濁し、集菌した。再度汲み水に懸濁し、適当に希釈して OD600 値を測定した。予備実験の結果より、菌体懸濁液は 7×10^6 cell/OD600/mL とみなした (結果示さず)。

徳島製麹製 α 化米および乾燥麹 (いずれも精米歩合 70%) を用いて、総米 100 g・麹歩合 20%・汲み水歩合 130%・初発酵母密度約 3.5×10^6 cell/g 醪相当となるように、一段仕込みを行った (n=1)。容器は 500 mL 容のピンホールを開けたスクリュウキャップ付きガラスビンを用いた。気温 15 $^{\circ}$ C・攪拌なしで、21日間発酵させた。

仕込み直後と発酵終了時に容器込みで重量測定を行い、アルコール発酵に伴う二酸化炭素の放出による重量減少の値を算出することで、発酵能を評価した。またその香気を確認した。

3 実験結果と考察

3. 1 変異株の含硫アミノ酸要求性

結果を図2に示す。候補変異株9株は全て、システインまたはメチオニンを含まない培地上での増殖が親株 K7 と比べて悪い、または見られないことから、程度の差こそあれ含硫アミノ酸要求性を示した (No. 4 が中度要求性、No. 1 および 5 が高度要求性、それら以外が絶対要求性)。これらの株は、含硫アミノ酸合成に関連する遺伝子に機能欠損変異を持つものと思われた。いずれの変異株もシステイン・メチオニンのいずれか一方があれば増殖可能または増殖が著しく改善することから、ホモシステインを介してシステイン・メチオニンを相互変換する経路上で機能する遺伝子には機能欠損変異はないものと推定された。このことから、ホモシステイン (システイン・メチオニンを *de novo* 合成する際の共通中間物質) の合成に関わる経路のいずれか、すなわち「硫酸イオンを硫化水素に還元する経

路」・「ホモセリンとアセチル-CoA から O-アセチルホモセリンを合成する段階 (MET2)」または「硫化水素と O-アセチルホモセリンからホモシステインを合成する段階 (MET17)」で機能するいずれかの遺伝子に機能欠損変異を持つ可能性が考えられた (図3。なお、「アスパラギン酸からホモセリンを合成する経路」はいずれの変異株もスレオニン要求性を持たないことから除外される)。

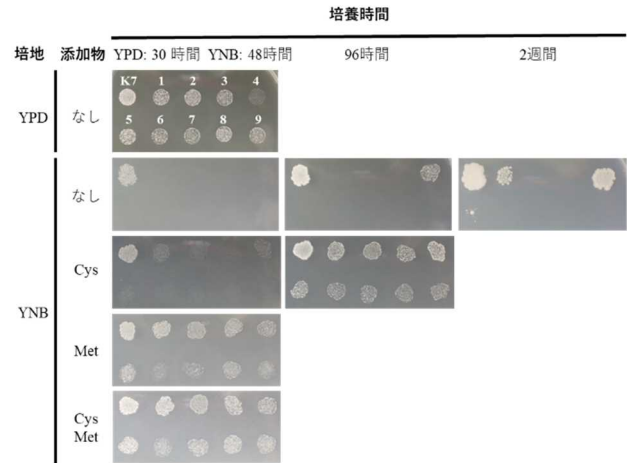


図2 変異株の含硫アミノ酸要求性

Cys : L-システイン塩酸塩 Met : L-メチオニン
※濃度はいずれも 100 μ M.
1-9 が今回得られた変異株 (No. 1-9)。

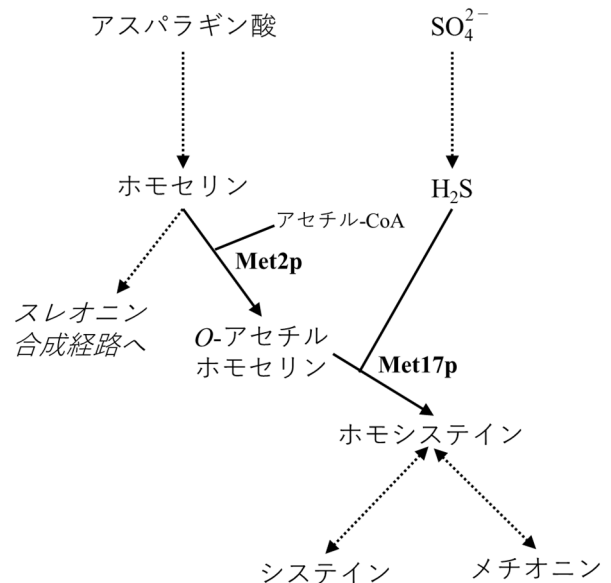


図3 出芽酵母における含硫アミノ酸合成経路

点線は多段階反応を省略したもの。詳細はWebサイト「Saccharomyces Genome Database」の「YeastPathways」のページ¹⁰⁾で検索参照。

3. 2 清酒小仕込み試験

結果を表1に示す。変異株9株中6株は発酵能が低下したものの、3株はわずかながら上昇していた。低下した株も No. 4 を除いて顕著な低下とはいえず、酵母にとってシステイン・メチオニンいずれか一方の要求

性となることは、清酒醸造能において必ずしも決定的に不利となるわけではないようである。一方、親株との香気の比較では、変異株では硫黄臭を示すものこそあったものの、芳香性を示すものは確認できなかった。ジメチルジセレニド耐性株から、4-MMP 高生産株を得ることは、困難であると考えられた。

表 1 清酒小仕込み試験における発酵前後重量減少値

菌株	重量減少値 (g)	対 K7 比
K7	34.4	—
1	35.1	1.02
2	35.4	1.03
3	35.5	1.03
4	30.8	0.90
5	32.6	0.95
6	33.7	0.98
7	34.2	0.99
8	33.3	0.97
9	34.1	0.99

4 結言

ジメチルジセレニド耐性株からは含硫アミノ酸要求性変異株こそ得られたものの、それらの株はいずれも芳香性チオール類の香気を示さなかった。先述のとおり、参考文献 8 には含硫アミノ酸合成関連遺伝子破壊株では 4-MMP の生産量が増えることが報告されているが、それらの遺伝子の中で特に顕著な効果が認められるのは、いずれもシステイン合成関連遺伝子 (*CYS3* および *CYS4*、図 3 のホモシステインからシステインへの経路で機能する遺伝子) である。今回得られた変異株にはシステイン特異的な要求性株が見られなかったことから、この経路に関与する遺伝子の機能欠損株は存在しないと考えられた。今後は他の薬剤に対する耐性株を取得し、システイン特異的な要求性株の、ひいては芳香性チオール高生産株の取得を目指したい。

参考文献

1) 大西茂彦：香川県産オリーブからの醸造用酵母の探索，香川県産業技術センター研究報告，No. 17，pp. 63-64 (2017)。

2) 大西茂彦，藤井浩子，立住千賀香：香川県産オリーブからの醸造用酵母の探索 (第二報)，香川県産業技術センター研究報告，No. 20，pp. 65-67 (2020)。

3) 香川県酒造組合「さぬきオリーブ酵母」のページ <https://sanuki-olive-yeast.jp/> (2024年3月1日現在)

4) 飯塚幸子，磯谷敦子，神田涼子，藤井力：全国新酒鑑評会出品酒に含まれる 4-mercapto-4-methylpentan-2-one の解析，日本醸造協会誌，Vol. 114，No. 2，pp. 93-101 (2019)。

5) Sachiko Iizuka-Furukawa, Atsuko Isogai, Kazutaka Kusaka, Tsutomu Fujii, Yoshinori Wakai: Identification of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one as the characteristic aroma of sake made from low-glutelin rice, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 123, No. 2, pp. 209-215, (2017)。

6) Margarita Santiago and Richard C. Gardner: Yeast genes required for conversion of grape precursors to varietal thiols in wine, *FEMS Yeast Research*, Vol. 15, fov034 (2015)。

7) 岸本徹：チオール化合物の主要な前駆体「ジスルフィド結合型チオール」の麦芽およびホップ中における発見，日本醸造協会誌，No. 118，No. 5，pp. 311-318 (2019)。

8) Michael J. Harsch and Richard C. Gardner: Yeast genes involved in sulfur and nitrogen metabolism affect the production of volatile thiols from Sauvignon Blanc musts, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 97, pp. 223-235 (2013)。

9) Marc Dauplais, Katarzyna Bierla, Coralie Maizeray, Roxane Lestini, Ryszard Lobinski, Pierre Plateau, Joanna Szpunar, and Myriam Lazard: Methylselenol Produced In Vivo from Methylselenenic Acid or Dimethyl Diselenide Induces Toxic Protein Aggregation in *Saccharomyces cerevisiae*, Vol. 22, No. 5, 2241 (2021)。

10) *Saccharomyces Genome Database* 「YeastPathways」のページ <https://pathway.yeastgenome.org/> (2024年3月1日現在)

昆布加工品のレトルト処理による軟化現象の抑制について

—昆布加工品に対する食品素材の添加効果について—

尾路 一幸

レトルト処理は食品の安全性や利便性の向上に有効な手法であるが、過度な軟化による食感の悪化をもたらすことがある。これに対し、味や見た目の変化が生じやすいレトルト条件や pH の調整ではなく、でん粉分解物やオリゴ糖といった食品素材の利用による軟化抑制効果について昆布加工品をモデル系として検討した。調味液に特定の食品素材を添加することで 20% 程度の破断応力の増加がみられ、軟化抑制効果が確認できた。

1 緒言

レトルト処理は食品の安全性の向上(長期保存性)や利便性の向上(簡単調理)に有効な手法であり¹⁾、多くは下処理を行った素材を調味液とともに密封した後、レトルト処理を行い、そのまま製品となる。小豆島の地場産業である佃煮等の調理食品産業においても利用が進んでいる。

このレトルト処理は、素材の変化を伴うことが多く、適度な柔らかさや・味の浸み込み易さといった好ましい変化が見られる反面、過度な軟化による食感の悪化(歯ごたえの喪失)など好ましくない変化を示すこともある。

この軟化については多くの研究が行われており、特に佃煮等に利用される昆布等の海藻類では、昆布の加熱調理における調味成分による物性への影響として有機酸、食塩の存在によるアルギン酸 Ca の Ca 脱離や Na 置換によるアルギン酸 Na の溶出による軟化の促進を、一方糖は軟化を抑制することを指摘している。^{2~4)}

しかしレトルト条件自体の変更や、pH の調整、食塩・砂糖(調味液)の調整は味や見た目の変化が生じやすく最適化は容易ではない。

今回は昆布加工品をモデル系としてレトルト条件や pH・調味液組成の調整を伴わない軟化抑制方法について検討した。具体的には食感保持効果を持つとされる素材を添加し、その軟化抑制効果について試行した結果を報告する。

2 実験方法

2.1 試料

市販の乾燥真昆布を購入し試験に供した。

乾燥昆布を室温 30 分水中に浸漬した後、沸騰水中で湯温洗浄(100℃, 10 分)を行い水で冷却、軽く水切りを行ったものを試料とした。バラつきを抑えるため中帯部(昆布葉の中央部の浅い溝状部)を用い、葉の伸長方向に対して平行に幅 1 cm に細断して試料片とし、以後の実験に供した。

2.2 調味液

調味液として醤油 10 g、砂糖 20 g、みりん 16 g を混合、全体を水で 100 g としたものを調製、これに以

下の食品素材をそれぞれ添加したものを実験に供した。また調味液のみの場合(食品素材を添加しない場合)を対照とした。今回試行した食品素材は、オリゴ糖(製品名 オリゴトース:三菱ケミカル(株))、でん粉分解物(製品名 パインデックス#100, TK-16, H-PDX, パインデックス#6:松谷化学工業(株))、難消化性デキストリン(製品名 ファイバーソル2:松谷化学工業(株))、ゼラチン(製品名 ニューシルバ-顆粒:新田ゼラチン(株))、トレハロース(製品名 トレハ:(株)林原)および Ca 製剤(食品添加物 乳酸 Ca:純正化学(株)、製品名 HN-NB:ハマダフードシステム(株))である。

2.3 レトルト処理

試料片約 10 g に同重量の調味液を加え、真空包装した後、小型レトルト高圧蒸気滅菌器 RK3030S (アルプ(株))を用いてレトルト処理(121℃, 15 分)を行った。

2.4 物性測定

硬さについてはクリープメーター RE2-3305B((株)山電)の破断強度試験モードで破断応力を測定することで評価した。測定はプランジャー No49 (くさび形)を用い、レトルト処理後の試料片の長辺方向(葉の伸長方向)に対して垂直に、0.5 mm/sec の速度で 98% まで圧縮して行い、12 回繰返しその平均を求めるとともに、調味液のみの場合の破断応力に対して有意差検定(t 検定)を行った。

3 結果及び考察

3.1 レトルト条件の検討

レトルト条件をより穏和なものに変更した場合について予備的に検討した。レトルト処理温度は 121℃ で一定にしたまま処理時間のみ 15 分から 4 分に変更した場合の破断応力の変化を図 1 に示す。

処理時間 4 分とすることで 15 分と場合と比べて 10~20% の硬化が見られた。レトルト条件をより穏和にすることは、軟化防止に有効と考えられたが、先述のようにレトルト条件の変更は種々の変化が生じやすいため、次に食品素材の添加効果について検討した。

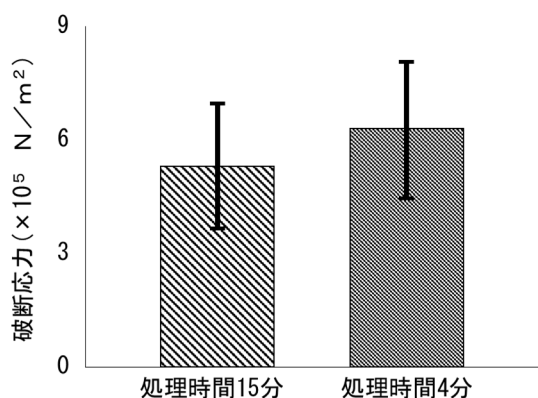


図1 レトルト処理時間と昆布加工品の破断応力

3. 2 食品素材の添加効果の検討

食品素材は、保水や物性保持等の効果が謳われる糖類、でん粉分解物、難消化性デキストリン等を選択した。また果実等の硬度保持に用いられるCa製剤⁵⁾ ⁶⁾も用いた。調味液に対する食品素材等の添加量はオリゴ糖8%、ゼラチン2%、乳酸Ca 0.1%、Ca製剤(HN-NB)1%とし、その他は5%とした。何れも総菜等に対する一般的な使用量としてメーカーが示す値とした。

各種食品素材を添加してレトルト処理を行った結果を、調味液のみの場合の破断応力を1とし、それぞれの食品素材を添加した場合の相対値を示した(図2)。

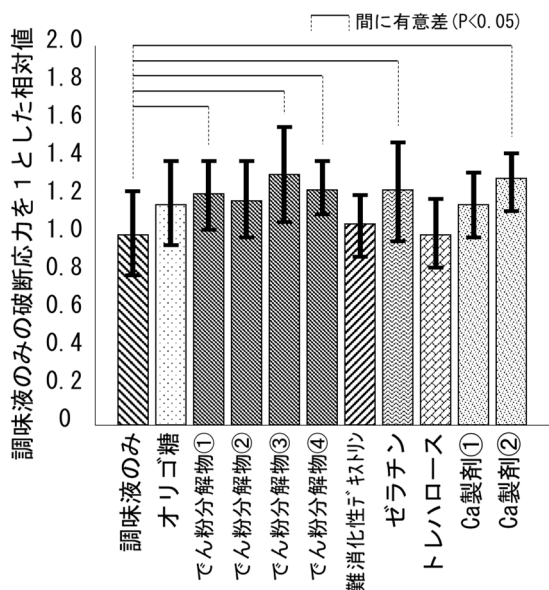


図2 食品素材の添加による昆布加工品の硬化効果

今回検討した食品素材について、トレハロースを除き調味液のみの場合と比べて、破断応力は大きくなった。

Ca製剤は比較的高い値を示し、果実等におけるペクチンの架橋による効果⁷⁾と同様にアルギン酸との架橋⁴⁾によるものと考えられた。

またその他の食品素材についても、でん粉分解物、ゼラチン、オリゴ糖が比較的高い値を示した。調味液のみと比較して15~30%高い応力を示しており、先のレトルト条件を緩和した場合以上の結果を示し、食品素材の添加による軟化抑制効果が確認できた。

ただ今回検討した食品素材について、添加量の最適化を行っていないため、必ずしも個々の食品素材における軟化抑制効果の強弱を評価できるもので無いこと、一部の食品素材については調味液の粘度を増したり、オリゴ糖など若干の甘味を持つため全体の味を変える可能性があるなど、実際の使用にあたっては軟化抑制以外の要素も併せて評価する必要があるなど、更なる検討が必要と考えられた。

また試料ごとのバラツキに対する対応、更に「歯応え」といった官能的評価との相関など、軟化抑制効果の評価方法についても更に検討が必要と考えられた。

4 結言

レトルト処理による昆布加工品の好ましくない物性変化である過度の軟化の抑制方法として、食品素材の添加を検討した。

最適な添加量等の検討が必要であるが、アルギン酸との架橋効果が知られるCa製剤の他、でん粉分解物、ゼラチン、オリゴ糖等の添加によっても軟化抑制効果が確認できた。

今後、官能的評価との相関など、軟化抑制効果の評価方法についても更に検討が必要と考えられた。

参考文献

- 1) 横山理雄：レトルト食品，日本家政学会誌，Vol. 41, No. 8, pp. 791-796 (1990)
- 2) 奥田弘枝ら：乾燥昆布の軟化度に及ぼす調味成分の影響(第1報)，調理科学，Vol. 20, No 4, pp. 341-346 (1987)
- 3) 奥田弘枝ら：乾燥昆布の軟化度に及ぼす調味成分の影響(第2報)，調理科学，Vol. 20, No 4, pp. 347-354 (1987)
- 4) 中山禎人：乾燥昆布の調味成分による物性改良，日本食品工業学会誌，Vol. 45, No 9, pp. 517-525 (1998)
- 5) 小竹佐知子ら：梅漬けの硬度に及ぼすカルシウム化合物の影響およびその官能評価，日本家政学会誌，Vol. 46, No 7, pp. 641-648 (1995).
- 6) 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研究報告，Vol. 18, pp. 91-92 (2017).
- 7) 真部正敏：果実組織の硬度とペクチン質，日本食品工業学会誌，Vol. 28, Vol. 12, pp. 653-659 (1981)

γ-アミノ酪酸の佃煮調理過程における変動 —γ-アミノ酪酸配合佃煮の機能性表示食品としての可能性調査—

芝山 美月, 立住 千賀香

機能性成分の一種であるγ-アミノ酪酸の佃煮の調理過程における変動を探ることを目的に, γ-アミノ酪酸を配合した佃煮を調製し, 加熱後の含量を測定した. 佃煮試料に3 mg/gになるよう添加したγ-アミノ酪酸は2.8 mg/gに減少し, 加熱による影響が見られた. また, 減少の原因として考えられるメイラード反応について, 佃煮に多く使用される異性化糖の存在により反応が起こりやすくなっている可能性が示唆された.

1 緒言

食品に含まれる多くの成分が, 生命維持だけでなく病気の予防に深く関与することが明らかになっており, 栄養とは異なる働きという意味で「機能性成分」と呼ばれている. 特定の機能性成分を増強し, 日常の食品の一部として摂取することで特定の病気のリスクを低減することが期待される食品を機能性表示食品という¹⁾.

γ-アミノ酪酸(以下, GABA)は機能性成分の一種であり, 主な機能性として血圧降下作用が報告されている²⁾. 小豆島における地域資源の一つである佃煮は塩分濃度の高い食品であるため, GABAの血圧降下作用と親和性が高いと考えられるが, これまで佃煮にGABAを配合して機能性表示食品として届け出された製品はない³⁾. 佃煮は高温で調理されるため, その製造過程におけるGABAの消失が懸念されるが, 加工中のGABAの挙動は不明である.

本研究では, 機能性表示が可能な佃煮の開発に向け, 海苔佃煮をモデルとしてGABAを添加した佃煮を試作し, 調理加工前後のGABAの変動を確認した.

2 実験方法

2.1 GABA添加量の決定

市販されている小袋タイプの海苔佃煮の内容量を参考にし, 海苔佃煮の一食当たりの摂取量は10 gと設定した. 研究レビュー⁴⁾より, GABAの摂取量が20 mg/日で血圧降下に, 28 mg/日でストレス低減に関する機能が報告されている. 血圧降下とストレス低減の2つのヘルスクレームを表示できること, 加熱工程により減少が懸念されることから, 加熱前の段階で佃煮10 g当たり30 mgのGABAが含まれるように設定した.

2.2 佃煮の調製方法

GABA配合海苔佃煮の調製にあたり, GABA含有原料として三和酒類株式会社より提供を受けた大麦乳酸発酵液ギャバを使用した.

市販の乾燥真昆布(株式会社大久)1 gに対し100 mLの水を加え, 室温で30分静置した後, 沸騰直前まで加熱し出汁を得た. 乾燥板海苔10 gに対して出汁45 mL, 醤油(盛田株式会社)30 mL, 酒(白鶴酒造株式会社)30 mL, みりん(宝酒造株式会社)15 mL, 果糖ぶどう糖液糖(日本コーンスターチ株式会社)25 gを混合した後, 重量を

測定し, 佃煮1 gに対してGABAが3 mgになるように添加した. 全ての材料をステンレス製片手鍋に入れ, 5分間海苔を調味液に浸漬した後, 鍋を中火にかけ, 沸騰後弱火で約6分間加熱し, 水分を蒸発させた. 対照区はGABAを添加せず同様に調製した.

2.3 アミノ酸の抽出と分析

均質化した試料5 gを200 mL容三角フラスコに採取し, 濃度が75%となるようにエタノールを加えた後, 75%エタノールを20 mL加え80°Cで20分間還流抽出を行った. 加熱後, No. 2のろ紙でろ過し, 残渣に75%エタノールを20 mL加え同様の抽出操作を2回繰り返した後, 残渣を75%エタノールで洗浄し100 mLに定容した. 定容した溶液を100 mL容ナスフラスコに10 mL分取し, ロータリーエバポレーターを用いて減圧下約40°Cで濃縮乾固させた後に試料希釈液(0.02 N塩酸水溶液)10 mLに溶解した. 希釈した溶液をNo. 2のろ紙でろ過し, さらに0.45 μmのメンブレンフィルターでろ過したものを測定試料とした.

分析はHPLCアミノ酸分析システム(EXTREMA, 日本分光株式会社)を用いてOPA-ポストカラム法で行った⁵⁾.

3 結果と考察

GABAを添加した佃煮とその対照区のクロマトグラムを図1に示す. GABA未添加の試料ではGABAのピークは小さく, 佃煮の原料由来のGABAは非常に少量であることが確認できた. 試料ごとのGABA濃度の計算結果を表1に示す. 佃煮1 gに対してGABAが3 mgになるよう調製を行ったが, 加熱を経て0.15 mg/g減少しており, 予想通り加熱による減少が確認できた. 添加するGABAの量は加熱前の総重量から設定したため, 加熱により水分が蒸発し濃縮された濃度が2.85 mg/gであったことから, 添加したGABAの実際の減少はより多いと考えられる.

加熱によるGABA減少の原因として, メイラード反応が考えられる. メイラード反応とは, カルボニル炭素に対してアミノ基が求核反応を起こすことを起点とした化学反応であり, 食品の加工においては還元糖とアミノ酸などのアミノ化合物との間で起こる成分間反応として知られている⁶⁾. 佃煮の製造において広く使用されている異性化糖はメイラード反応が起こりやすく, 従ってGABAと反応が起こり濃度が低下する可能性があると考えた. そこ

で、原材料の異性化糖をカルボニル炭素を持たないショ糖に変更して同様に海苔佃煮を調製し、GABA 濃度を測定した(表 1)。

加熱工程を経ても大きな GABA の減少は見られず、メイラード反応が GABA 減少の主な原因であることが示唆された。

表 1 GABA 濃度測定結果

	GABA 濃度 (mg/g)
GABA 未添加	0.03±0.00 (n=3)
GABA 添加(異性化糖)	2.85±0.02 (n=3)
GABA 添加(ショ糖)	3.04 (n=2)

4 結言

GABA の佃煮調理過程における変動について、GABA を配合した佃煮を調製した結果、加熱により減少することが明らかとなった。海苔佃煮の原料由来の GABA はほぼ含まれないため機能性表示食品とするには GABA の添加が必須であるが、加熱による減少分を含めて量の試算を行う必要がある。また減少の理由として、ショ糖使用時との比較からメイラード反応の可能性が示唆された。

今後は、GABA の減少を抑えるために、添加するタイミ

ングの検討や加工後に添加する場合の均一性の確保、異性化糖から還元末端を持たない糖への変更について検討したい。

参考文献

- 1) 内藤裕二：食品と科学, Vol. 57, No. 3, pp. 59-63 (2015) .
- 2) 江頭裕嘉合ほか;機能性食品の作用と安全性百科丸善出版 (2012).
- 3) 消費者庁：機能性表示食品の検索, <https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc01/>, (検索日:2023.12.1).
- 4) 農研機構：農林水産物の研究レビュー, <https://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/yakudachi/sys-review/index.html>, (検索日:2024.3.22).
- 5) 株式会社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.
- 6) 臼井照幸：日本食生活学会誌, Vol. 26, No. 1, pp. 7-10(2015).

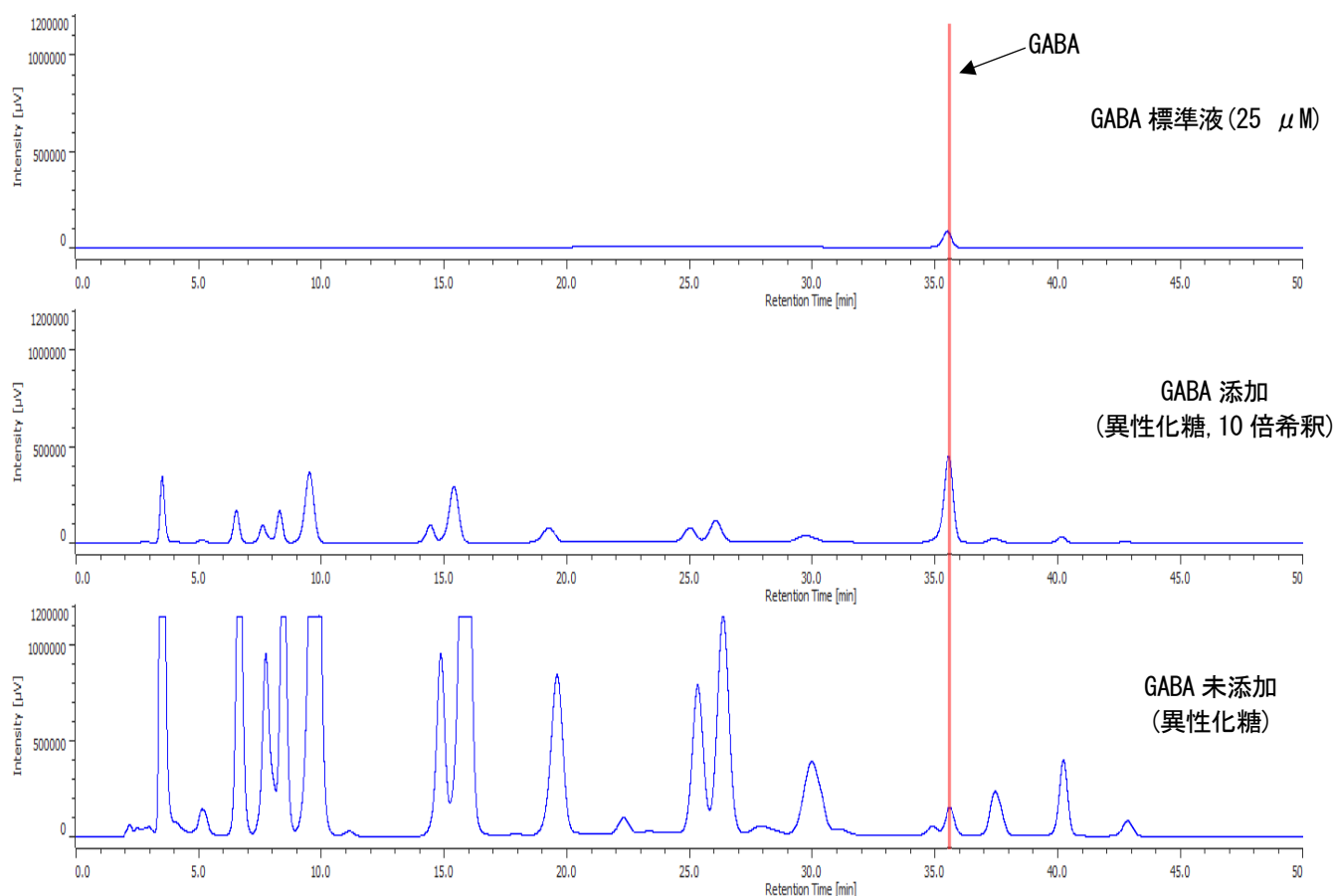


図 1 HPLC によるアミノ酸分析のクロマトグラム

レトルト加熱処理済み麺製品の製造技術検討（第二報）

石井 宏志, 大谷 尚美, 立住 千賀香

茹で麺と調味液を同封しレトルト加熱処理を施した麺製品で、一般的な茹で麺同様に喫食することが可能になる加工食品の製法について検討を行った。茹で麺と同封している調味液にイヌリンを添加することで、一般的な麺を使用しながらもレトルト加熱処理後に茹で麺の食感を維持もしくは強化できることはこれまでに報告してきたが、イヌリン以外にもいくつかの水溶性食物繊維において同様の効果が得られることが本研究で明らかとなった。中でも、イソマルトデキストリンが、イヌリンの使用時に課題であった甘味の付与、麺の褐変、摂取過多による副作用の発現の低減・改善に効果的であった。

1 緒言

前報¹⁾では、茹で麺と調味液を同封しレトルト加熱を実施した場合でも、一般的な茹で麺と遜色なく喫食することが可能になる加工食品（以下、「目標製品」という。）の製法について検討を行い、茹で麺と同封する調味液にイヌリンを添加することで、一般的な麺を使用しながらもレトルト加熱後に茹で麺の食感を維持もしくは強化できる可能性があることを報告した。このことから、イヌリンを利用することで目標製品の設計開発に貢献できると考えられた。一方で、イヌリンの添加量が増えると甘味が増す、麺の褐変が生じる、喫食者の摂取量増加により便が緩くなる、といった課題が生じることが確認された。

そこで、目標製品への使用により適した原料の探索検討を行った。その結果、イヌリンよりも使用に適した原料を発見することができたので、その詳細について報告する。

2 実験方法

2.1 試料

麺は市販の乾麺（機械切り、石丸製麺株式会社製）、イヌリンはFuji FF（フジ日本精糖株式会社製）を用いた。その他の試料として、イヌリンに近い性状を有する原料であれば同様の効果を発揮する可能性が高いと推測し、水溶性食物繊維に着目した。加えてイヌリンと同様の使用方法を想定した場合、必要な特性として「高濃度溶解が可能であること」「増粘機能がない、もしくは弱いこと」が挙げられ、それを考慮し選定した原料を表1に示す。

表1 選定した水溶性食物繊維

物質名	商品名	メーカー
イヌリン	Fuji FF	フジ日本精糖（株）
難消化性デキストリン	ファイバースル2	松谷化学（株）
イソマルトデキストリン	ファイバルクサ®	ナガセヴィータ（株）
アラビアガム	イナゲル（アラビアガムJ）	伊那食品工業（株）

水溶性食物繊維には他にも、ペクチン、アルギン酸、グルコマンナン、ガム質等も挙げられるが、これらは増粘作用やゲル化作用があり、今回の使用には適さないとして除外した。

2.2 レトルト加熱処理済み麺の調製

麺はボイル加熱処理工程、調味液は調味液調製工程にてそれぞれ調製し、同封した後に加熱殺菌処理工程を実施した。

2.2.1 ボイル加熱処理工程

乾麺を10倍以上の沸騰水に投入し、ほぐしながら調理方法記載の半分の時間（調理方法に15分と記載のため7分30秒）ボイル加熱処理した。

2.2.2 調味液調製工程

水溶性食物繊維30%溶液（水70.0質量%、水溶性食物繊維原料30.0質量%を配合した）を調味液として調製した。調製方法は各原料を計量後、沸騰水を計量して混合し、必要に応じて火にかけて再加熱を実施し溶解した。

2.2.3 加熱殺菌処理工程

調味液80gをレトルト容器（透明レトルト用スタンド袋BRS-1624S、明和産商株式会社製）に充填し、ボイル加熱処理後の茹で麺40gも同様に充填した。卓上真空包装機（株式会社古川製作所製）を用いてレトルト容器の開口部を密封し、シャワー式レトルト殺菌装置（小型レトルト高圧蒸気滅菌器RK-3030S型、アルプ株式会社製）を用いて加熱殺菌処理しサンプルを調製した。加圧加熱殺菌処理条件は最大圧力0.18MPa、装置内の温度が125℃に到達した後9分間加熱とした。

2.2.4 測定・喫食前準備

調製したレトルト加熱処理済み麺をパウチ包装された状態で沸騰水に10分間投入した後、使用した。なお、本サンプル調製に使用した乾麺と同様の乾麺を、10倍以上の沸騰したお湯の中に投入し、ほぐしながら10分間ボイル加熱したものを、通常加熱処理を実施した麺（以下、「コントロール」という。）として準備した。

2.3 レトルト加熱処理済み麺の評価

2.3.1 物性評価

麺の物性測定は、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（1mm×8mm）、ロードセル20N、アンプ倍率1倍、格納ピッチ0.01、測定速度1mm/secとした。各試験区について10回測定を行った。

2. 3. 2 官能評価

味風味、外観に関して官能評価を実施した。味風味に関しては特徴的なものを抽出し、外観については着色の有無と色の種類について評価した。

3 結果と考察

3. 1 イヌリン濃度と破断強度

イヌリン 30%溶液と同様に調製した 10%溶液, 50%溶液をそれぞれ調味液として用いたレトルト加熱処理麺とコントロールについて、レオメーターで破断荷重(N)を測定した。測定時の歪率(%)と荷重(N)の関係を図1に示した。

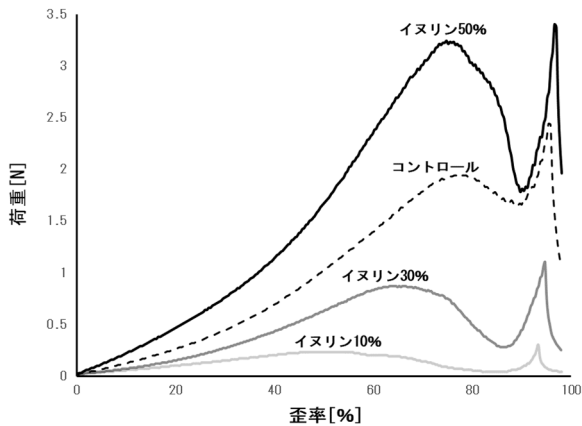


図1 イヌリン濃度と破断強度の関係

図1に示すとおり、イヌリン濃度の上昇に比例して破断荷重も上昇することが確認された。またコントロールの破断荷重はおおよそイヌリン30%と50%の間に位置していた。このことから、イヌリンの添加量を増減させることで一定の範囲内で破断強度の調整が可能であり、設計する製品の目標品質に応じて狙った食感になるように添加量を決定する必要があることが示唆された。

イヌリンを利用して目標製品の設計開発に貢献できる可能性が示唆された一方で、想定される課題もいくつか残った。実際に高濃度溶解させることで、麺の食感により強くすることが可能になるが、イヌリンは甘味度20程度を有する²⁾ため、同時に甘味がより強く現れた。同様に、メイラード反応により麺が褐変する、水溶性食物繊維の摂取量が増加することで便が緩くなる等の課題が確認された。そのため、より目標製品の製造に適した原料を探索することとした。

3. 2 水溶性食物繊維の比較検討

イヌリンと代替可能な原料を探し、表1に示したとおりイヌリンを含めて5種類の水溶性食物繊維を用いて検討を実施した。各水溶性食物繊維30%溶液を使用して調製したレトルト加熱処理済み麺サンプル(以下、「サンプル」という。)について、以下の評価により比較を行った。

3. 2. 1 物性評価

各サンプルについてレオメーターで破断荷重(N)を測定した結果、その歪率(%)と荷重(N)の関係について図2に示した。同濃度溶液下において難消化性デキストリンはイヌリンと同等程度、イソマルトデキストリンとアラビアガムについてはイヌリンよりも大きな破断強度を示した。

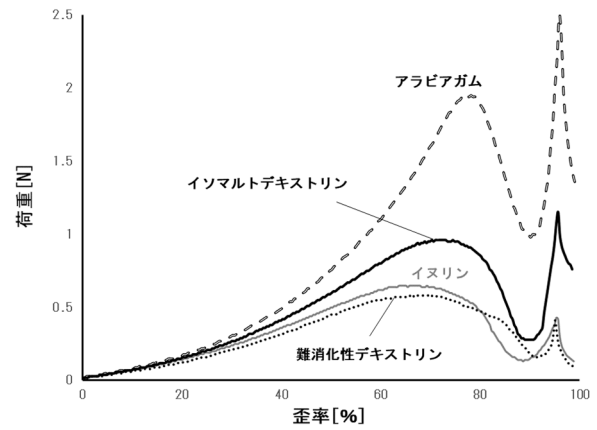


図2 水溶性食物繊維と破断強度

3. 2. 2 官能評価

各サンプルの味風味について、目標製品の品質に影響を与える可能性のある特徴的な味風味について確認するため、官能評価を実施した。結果はそれぞれ表2に示した通り。

表2 各水溶性食物繊維原料の特徴的な味風味

	イヌリン	難消化性デキストリン	イソマルトデキストリン	アラビアガム
	Fuji FF	ファイバソル2	ファイバリクサ®	イナゲル(アラビアガムJ)
味風味等の特徴	甘味	無味無臭	無味無臭	苦味、酸味、えぐみ

難消化性デキストリン、イソマルトデキストリンについては、ほとんど味風味は感じられず、高濃度で使用したとしても調味液の品質にはあまり影響を与えないと推測された。その他の原料については、それぞれ特徴的な味風味の付与が確認され、調味液の品質によっては影響を与えてしまうことが推測された。

3. 2. 3 外観評価

各原料、水に溶解させた際の発色は異なっており、水溶液と、各サンプルの外観について図3に示した。



図3 各サンプルの発色比較

水溶液の発色を見ると、最終製品への影響が少ないと推測されたのはイヌリンとイソマルトデキストリンで、ほぼ無色透明であった。その他原料についても、製品化するメニューや、その際使用する調味料によっては影響を無視できるものもあると推測されるが、使用範囲が限定されるため汎用性に欠けることが示唆された。

またレトルト加熱処理後の麺の褐変に着目した場合、水溶液が無色透明であったイヌリン、イソマルトデキストリンでも軽度の褐変が確認された。さらにこの2種で比較した場合、イソマルトデキストリンの方が褐変の程度は弱かった。

以上を考慮すると、今回比較した原料とその使用方法において、外観への影響が最も小さいのはイソマルトデキストリンであると結論づけられた。

3. 2. 4 最大無作用量（下痢に対して）

一般的に水溶性食物繊維は、大量に摂取すると便の水分量が過剰になり下痢を起こしやすくなるため、メーカーによっては最大無作用量として摂取量の上限值が調査、設定してある³⁾。ただし、メーカーの想定している範囲の使用量、使用方法では副作用の発生が見込まれない場合等、設定がない場合もある。今回は、設定があるものについて、最大無作用量をそれぞれ表3に示す。

表3 最大無作用量（下痢に対して）

	イヌリン	難消化性デキストリン	イソマルトデキストリン	アラビアガム
	Fuji FF	ファイバースル2	ファイバリクサ®	イナゲル (アラビアガムJ)
無作用限度量 (メーカー設定値)	25g/日	男性：1.0g/kg 女性：1.1g/kg	0.8g/kg	不明 (設定値なし)

設定のある3原料を比較すると、難消化性デキストリン、イソマルトデキストリン、イヌリンの順で摂取可能量が多いことが確認された。加えて図2の結果から、同濃度での破断強度はイソマルトデキストリンが大きく、次いで難消化性デキストリンとイヌリンが同程度であることを考慮すると、難消化性デキストリン、イソマルトデキストリンはイヌリンと比較して製品設計の自由度が高いことが示唆された。

3. 2. 5 比較まとめ

これまでに得られた比較結果と、目標製品への使用を考慮した場合の使用性（溶解性、粘度）に関する定性的な評価結果を表4にまとめた。また各評価項目について、便宜上3段階（○：問題なし／△：課題有／×：使用不適）で評点をつけた。

表4 比較検討まとめ

	イヌリン	難消化性デキストリン	イソマルトデキストリン	アラビアガム					
	Fuji FF	ファイバースル2	ファイバリクサ®	イナゲル (アラビアガムJ)					
溶解性	容易	○	容易	○	容易	○	溶け残る	×	
粘度	なし	○	なし	○	なし	○	あり	×	
色	水溶液	無色/透明	○	黄色/透明	△	無色/透明	○	茶色/濁	×
	麺	茶褐色	△	茶色	×	薄茶褐色	△	茶色	×
最大破断荷重 (破断強度)	0.65	○	0.58	○	0.96	○	1.96	○	
味風味	甘味	△	無味無臭	○	無味無臭	○	苦味、酸味、えぐみ	×	
無作用限度量	25g/日	×	1.0g/kg	○	0.8g/kg	○	不明 (設定値なし)	-	

表4の結果から、目標製品への使用にあたって大きな課題がなく、最も適していることが推測されたのはイソマルトデキストリンであり、イソマルトデキストリンについては、当初イヌリン使用時に課題であった甘味、褐

変、最大無作用量について解決もしくは改善できることが明らかとなった。

3. 2. 5 設計例

ここまでの検討を踏まえ、イソマルトデキストリンを採用した製品設計の例を図4に示す。図中の調味液の配合は前報の表1¹⁾を参考にした。

(設計例)

カレーうどん	300g	麺	150g	水	33.7g
		具材	50g	イソマルトデキストリン	30.4g
		調味液	100g	めんつゆ	27.0g
				カレールー	8.1g
				コーンスターチ	0.8g

図4 製品設計例（カレーうどん）

図4に示すとおり、製品を完食した場合、摂取するイソマルトデキストリンの量は30.4gであり、38kg以上の人間であれば問題ない設計ということになる。

上記はあくまで例であり、一食分の重量や、製品内に占める調味液の割合を上げればイソマルトデキストリンの摂取量は増える。製品の形態上、調味液が多い方が品質的に良い場合等もあるため、設計によっては相性の良し悪しが生じることが推測される。また目指す麺の食感によってイソマルトデキストリンの必要量は変化するため、その点にも注意が必要である。

4 結言

本検討では、イヌリンに代替してイソマルトデキストリンを使用することで、目標製品開発時のイヌリン使用における課題を概ね解決できることが示唆された。使用にあたってはいくつか注意点はああるものの、以下手順で開発を進めれば問題ないと推測された。

①製品の味風味に関する目標品質を決定する。

②目標とする麺の食感を目指し調味液にイソマルトデキストリンを調整しつつ添加する。

③摂取量を考慮しながら、製品重量や各部材のバランス等、商品設計を組み立てる。

これにより、麺と調味液を同封しレトルト加熱を実施した場合でも、一般的な麺と遜色なく喫食することができる加工食品を開発することが可能になると推測された。また麺のみでなく、米飯等の他カテゴリーへの転用でも効果があることを確認しており、多種多様な活用の可能性が考えられる。

以上、本検討は小豆島の特産品である手延べ乾麺と、飲料水を消費せず災害時に喫食可能な保存食を結びつけた商品の開発に貢献できると考えられた。

謝辞

水溶性食物繊維原料の提供にご協力いただいたフジ日本精糖株式会社、松谷化学株式会社、ナガセヴィータ株式会社、伊那食品工業株式会社、並びに研究・評価にご協力いただいた製麺技術研究会会員の皆様に感謝いたします。

参考文献

- 1) 石井宏志, 大谷尚美, 立住千賀香, レトルト加熱処理済み麺製品の製造技術検討, 香川県産業技術センター研究報告, Vol. 23, pp. 68-69 (2022).
- 2) フジ日本精糖株式会社: 基礎的な物性 フジ日本精糖株式会社,
https://www.fnsugar.co.jp/inulin/ff_business/properties (検索日: 2024. 3. 21).
- 3) ナガセヴィータ株式会社: ファイバリクサ® | NAGASE グループ 食品素材サイト,
<https://www.nagase-foods.com/jp/products/fibryxa/>
(検索日: 2024. 4. 18).

オリーブ果実貯蔵条件の検討(第五報)

—室温条件下における各保存条件の検討—

柴崎 博行, 藤川 護, 大谷 尚美, 立住 千賀香, 川原 清剛*

塩蔵用オリーブ果実の室温での保存方法として、近赤外光処理、次亜塩素酸処理、包材の3条件の組合せについて検討した。果実の萎縮を防ぐためには、バリア性のある包材として高密度ポリエチレン(HDPE)が有効であること、果実の成熟を抑制するためには近赤外光処理が有効であることが示唆された。

1 緒言

本県の特産品であるオリーブの果実は収穫後の持ち性が低いため、「新漬け」と呼ばれる果実の塩蔵加工処理や、オリーブオイルの製造時においては、原料果実は収穫後速やかに加工処理を行う必要がある。一方、本県ではオリーブの栽培面積の拡大とともに果実生産量が増大しており、将来、果実の収穫から新漬けの加工に至る一連の工程のなかで、果実の一次的な保存による生産調整が必要な場合も想定される。その対策として生産者や行政からは、原料果実の短～中期的な保存策が求められている。

我々はこれまでに、主に保存温度やガス雰囲気、包材などの条件について保存試験を実施してきた^{1)~4)}。昨年度には、農産物の貯蔵に有効な手法として近年急速に普及している近赤外光照射処理^{4)~6)}の、オリーブ果実の保存に対する効果について検討を行った。

これまでの一連の検討では、冷蔵条件での低温保存を前提とした試験を行ってきたが、果実の品質に対して低温条件の影響が大きく、他の保存条件(包材、次亜塩素酸処理、近赤外光処理など)の影響が明確に示唆されなかった。そこで今回、室温条件下でオリーブ果実の保存試験を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 オリーブ果実

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ミッション種のオリーブ樹から10月下旬に収穫した緑果を以下の保存試験に供した。

2.2 果実保存試験

近赤外光処理として、近赤外光照射装置 iR フレッシュ®((株)四国総合研究所)を用いて1秒間近赤外光を照射した果実を近赤外光(以下NIR)試験区とした。次亜塩素酸処理としては、厚生労働省の基準⁷⁾にしたがって、塩素濃度100ppmの次亜塩素酸ナトリウム溶液に10分間浸漬を行った。

各処理を行ったオリーブ果実は300gを量り取り高密度ポリエチレン(以下HDPE)製または不織布の袋に入れ、封をした。HDPEはガス・水蒸気の透過性が限定された条件、不織布はガス・水蒸気のバリア性がない条件を作るものである。

以上、今回の試験において設定した試験区とその条件については表1のとおりである。各試験区の連数(n)は3とした。

各試験区の果実は室温にて保存を行った。7日ごとの果実の状態観察を行った。また14日目の果実は塩蔵(新漬け)の試作に供した。

表1 設定した試験区の条件

試験区名	近赤外光処理 (N+ or N-)	次亜塩素酸処理 (O+ or O-)	包材 (P or F)
N+C+P	○	○	HDPE
N+C+F	○	○	不織布
N+O+P	○	×	HDPE
N+O+F	○	×	不織布
N-C+P	×	○	HDPE
N-C+F	×	○	不織布
N-C+P	×	×	HDPE
N-C+F	×	×	不織布

2.3 果実の状態の評価

果実の重量変化については前報⁴⁾に準じて、保存試験に供した果実試料全体の重量を果実の個数で除して平均重量を求め、保存試験開始時の平均重量との比率から変化率を求めた。果実の病傷害果率及び成熟による着色は、前報⁴⁾に準じて目視で評価した。すなわち、各試験区の果実全てについて外観を観察し、病果(たんそ病状の病変あるいは褐色～黒色に変色した病変の有無)及び傷実(スポット状あるいは線・面状の傷)と、果実の成熟による色の変化(赤色～赤紫色への着色)の度合いを観察、計数してそれぞれ果実の総量に占める百分率で示した。

2.4 新漬けの評価

試作した新漬けの色調評価は既報³⁾と同様に、カラーリーダーCR-20(コニカミノルタ(株)製)を用いてL*a*b*法で行った。測定は20連で行った。

果肉のかたさの評価は、既報²⁾に準じクリープメーターRE2-3305B((株)山電製)を用いて、破断荷重(N)を測定した。測定は30連で行った。

それぞれ測定結果については、Tukey-Kramer法により5%の危険率における有意差検定を行った。

3 実験結果及び考察

3.1 果実の重量変化

果実の重量の変化を表2に示した。HDPE試験区では

*香川県農業試験場小豆オリーブ研究所

ほとんど重量の変化はなかったのに対して、不織布試験区は経時的に重量が減少し 14 日目には元の重量に対して 15%以上減じ、外見上も大きな萎縮が認められた (図 1)。NIR 処理の有無による重量変化への影響は認められなかった。重量の減少は果実の呼吸や乾燥による水分減少によるものであり、バリア性の極めて低い不織布では果実の水分減少が進むのに対して、バリア性の高い HDPE では果実の水分が保たれ重量も維持されるという結果は前回の試験⁴⁾と同じであった。

表 2 果実の重量変化

試験区	保存期間(日)		
	0	7	14
N+C+P	100	101.0±0.2	100.5±0.3
N+C+F	100	93.7±1.4	84.6±2.5
N+C-P	100	99.6±0.1	99.2±0.1
N+C-F	100	92.4±0.3	83.6±2.5
N-C+P	100	101.0±0.1	100.5±0.1
N-C+F	100	94.4±1.6	85.5±3.4
N-C-P	100	99.6±0.1	99.1±0.0
N-C-F	100	92.0±0.3	83.6±1.5

保存前の果実重量に対する保存後の果実重量の百分率 (%)



図 1 不織布を用いて保存したオリーブ

3. 2 果実の成熟度の推移

果実の成熟度(着色)の変化を表 3 に示した。不織布を用いた試験区では保存期間 14 日では果実の萎縮や着色、変色などの変化が大きく (図 1)、正確な観察が困難でありかつ実用的な試験区ではないことから観察を行わなかった。

包材の HDPE と不織布を比較すると、不織布の試験区では果実の成熟が保存期間中に進行したのに比べ、HDPE では成熟の抑制が認められた。

包材が不織布で NIR 処理の有無が異なる試験区 (N+C+F と N-C+F, N+C-F と N-C-F) を比較すると、保存 7 日目では緑果の残存率は NIR 処理区 (N+) のほうが NIR 無処理区 (N-) よりそれぞれ 10 ポイント以上高かった。包材として HDPE を使い次亜塩素酸処理を行わなかった試験区 (N+C-P と N-C-P) で NIR 処理の有無の比較をすると、NIR 処理区のほうが緑果の残存率は高かった。

表 3 保存果実の成熟による着色の推移

試験区	果実の成熟度(着色)	保存期間(日)		
		0	7	14
N+C+P	緑果	100.0	91.0	39.8
	着色が1/2以下	0.0	5.4	27.2
	着色が1/2以上	0.0	3.6	27.8
N+C+F	果実全体が着色	0.0	0.0	4.8
	緑果	100.0	43.5	—
	着色が1/2以下	0.0	24.0	—
N+C-P	着色が1/2以上	0.0	26.5	—
	果実全体が着色	0.0	6.0	—
	緑果	100.0	96.0	71.8
N+C-F	着色が1/2以下	0.0	4.0	21.3
	着色が1/2以上	0.0	0.0	6.9
	果実全体が着色	0.0	0.0	0.0
N-C+P	緑果	100.0	51.6	—
	着色が1/2以下	0.0	23.3	—
	着色が1/2以上	0.0	21.8	—
N-C+F	果実全体が着色	0.0	3.4	—
	緑果	100.0	93.7	42.8
	着色が1/2以下	0.0	3.9	33.5
N-C-P	着色が1/2以上	0.0	2.3	22.3
	果実全体が着色	0.0	0.0	1.3
	緑果	100.0	32.5	—
N-C-F	着色が1/2以下	0.0	31.0	—
	着色が1/2以上	0.0	32.3	—
	果実全体が着色	0.0	3.7	—
N-C+P	緑果	66.7	96.7	64.0
	着色が1/2以下	33.3	3.8	20.7
	着色が1/2以上	0.0	0.0	15.6
N-C-F	果実全体が着色	0.0	0.0	0.3
	緑果	100.0	37.0	—
	着色が1/2以下	0.0	22.4	—
N-C-F	着色が1/2以上	0.0	32.7	—
	果実全体が着色	0.0	7.8	—

試験区の果実総数に占める各成熟度の異なる果実の数の百分率 (%)

以上のことから、HDPE 製包材の使用と NIR 処理により果実の成熟の進行は抑制されることが示唆された。

3. 3 果実の病傷害への影響

保存試験における病果及び傷果の推移を表 4 に示した。NIR 無処理区では、包材が不織布よりも HDPE を使用した区のほうが傷果はわずかに多かった (N-C+P と N-C+F, N-C-P と N-C-F)。これについては、傷自体が増えたのか、潜在的に果実についていた傷がガスバリア性のない状態で代謝阻害等により可視化したためかは不明である。

NIR 処理区の間では、包材の違いによる差異はほぼ認められなかった。また NIR 処理の効果については、次亜塩素酸処理を行った試験区でのみ、NIR 処理を行った区のほうが病果、傷果の発生は少なかった (N+C+P と N-C+P, N+C+F と N-C+F)。次亜塩素酸処理の効果は明確には示唆されなかった。

NIR 処理と次亜塩素酸処理の両方を行い HDPE 製包材で保存した果実は 14 日間の保存でも 86%以上の果実が病変、傷害がない状態を保っており、他の試験区と比較しても最も良い状態であった。

3. 4 試作した新漬けの品質

表4 保存果実の病傷害果の推移

試験区	果実の状態	保存期間(日)		
		0	7	14
N+C+P	健全な果実	100.0	97.7	86.7
	病果	0.0	1.0	11.0
	傷果	0.0	1.3	2.3
N+C+F	健全な果実	100.0	100.0	—
	病果	0.0	0.0	—
	傷果	0.0	0.0	—
N+C-P	健全な果実	100.0	98.5	77.9
	病果	0.0	1.0	8.9
	傷果	0.0	0.5	13.1
N+C-F	健全な果実	100.0	98.3	—
	病果	0.0	1.0	—
	傷果	0.0	0.7	—
N-C+P	健全な果実	100.0	92.8	70.9
	病果	0.0	2.1	11.7
	傷果	0.0	5.2	17.4
N-C+F	健全な果実	100.0	97.5	—
	病果	0.0	1.7	—
	傷果	0.0	0.8	—
N-C-P	健全な果実	100.0	93.2	75.8
	病果	0.0	1.8	8.4
	傷果	0.0	5.1	15.8
N-C-F	健全な果実	100.0	96.2	—
	病果	0.0	1.5	—
	傷果	0.0	2.3	—

試験区の果実総数に占める各状態の果実の数の百分率 (%)

14日間保存試験を行った後の果実を用いて新漬けを試作した。試験区のうち、包材として不織布を用いた試験区は果実の萎縮が大きく、新漬けを試作するには実用的でないと判断し、包材としてHDPEを用いた試験区(N+C+P, N+C-P, N-C+P, N-C-P)の緑果のみを新漬け試作の対象とした。保存試験を行わずに収穫直後の果実から試作した新漬けを対照区とした。

試作した新漬けの色調とかたさの評価結果を表5に示した。L*は色調の明るさを示す値であるが、対照区と比較して保存試験した果実は測定平均値はわずかに高く(色調が明るめに)なっていた。a*は緑⇄赤の色調を、b*は青⇄黄の色調を表すが、a*についてはNIR処理区でわずかに高く(赤方向)、NIR非処理区ではわずかに低く(緑方向)になった。またb*については、対照区と比較して測定平均値は全体的に高く(黄色方向)なっていた。しかしながら、対照区との有意差検定を行った結果は、b*についてN-C-Pとの間に有意差が認められたのみで、あとの試験区とは有意差が認められず、統計的には対照区と保存試験区の果実の色調についてはほぼ有意差がない、という結果となった。

また、新漬けのかたさ(破断応力)については、対照区と比較して保存試験区はいずれも測定平均値は低めだったものの、いずれも有意差は認められなかった。

以上のことから、今回保存試験を行ったのちに試作した新漬けの品質は収穫直後に調製した新漬けと統計上差異がない、という結果となった。

4 結言

オリーブ果実の保存試験として、昨年度までとは手法を変更し、今年度は室温で保存試験を行った。その結果、果実の成熟の進行抑制に対してNIR処理が有効であるということ、HDPEで用いたガスバリア性環境下での保存は、新漬け原料の果実の保存には有効であるなど、いくつかの新たな知見が得られた。

これまでに得られたオリーブ果実の保存法に関する情報については、全体をまとめたうえで今後普及を図るとともに、現場にフィードバックする方法について関係機関や業界団体、研究会等と検討していく予定である。

謝辞

近赤外光処理について協力いただいた(株)四国総合研究所 垣渕 和正、秦 亜矢子両氏に深謝します。

今回の検討は、香川県公設試験研究機関共同研究事業のなかで実施されたものである。

参考文献

- 柴崎 博行, 藤川 護, 大谷 尚美, 立住 千賀香: オリーブ果実貯蔵条件の検討, 香川県産業技術センター研究報告, Vol. 19, pp. 79-81 (2019).
- 柴崎 博行, 藤川 護: オリーブ果実貯蔵条件の検討(第二報), 香川県産業技術センター研究報告, Vol. 20, pp. 75-77 (2020).
- 柴崎 博行, 藤川 護, 大谷 尚美, 立住 千賀香, 豊嶋 貴司: オリーブ果実貯蔵条件の検討(第三報), 香川県産業技術センター研究報告, Vol. 22, pp. 81-84 (2022).
- 柴崎 博行, 藤川 護, 大谷 尚美, 立住 千賀香, 川原 清剛: オリーブ果実貯蔵条件の検討(第四報), 香川県産業技術センター研究報告, Vol. 23, pp. 70-72 (2023).
- 石田 豊, 秦 亜矢子, 垣渕 和正: 近赤外照射による青果物鮮度保持技術「iR フレッシュ」の開発, 四国電力, 四国総合研究所研究期報, Vol. 104, pp. 19-25 (2016).
- 高附 亜矢子, 石田 豊, 垣渕 和正, 櫻井 直樹, 村田 芳行, 中野 龍平, 久保 康隆: 収穫後の近赤外照射が数種野菜類の蒸散, 気孔開度および外観品質に及ぼす影響, 園芸学研究, Vol. 15(2), pp. 197-206 (2016).
- 厚生労働省: 漬物の衛生規範(最終改正: 平成25年12月13日付け食安発1213第2号) (2013)

表5 試作した新漬けの品質の比較

(平均値±標準偏差)

試験区	対照区	N+C+P	N+C-P	N-C+P	N-C-P
色調 L*	36.5±3.0	38.5±2.4	40.5±2.3	39.6±3.8	40.4±2.8
a*	-0.11±1.4	1.6±0.9	0.52±1.1	-0.8±1.4	-2.2±1.0
b*	23.3±5.8	27.5±4.3	31.4±2.5	28.1±5.3	33.3±3.9
かたさ 破断荷重(N)	9.6±1.6	8.4±2.1	9.4±2.0	9.4±2.4	9.0±2.5

香オリ3号に適した脱渋条件の検討

香川 護, 柴崎 博行, 大谷 尚美, 藤井 浩子

香オリ3号に適した脱渋条件を把握するため、温度と濃度が異なる水酸化ナトリウム溶液を用いて香オリ3号の新漬けを調製し品質の評価を行った。脱渋に対しては温度による影響が水酸化ナトリウムの濃度による影響よりも大きく、香オリ3号の脱渋には20℃以上での処理が必要で、より高温の25℃で浸漬した場合においても新漬けの品質に悪影響を及ぼさないことが明らかとなった。

1 緒言

香川県では平成29年に香オリ3号と香オリ5号を品種登録出願し、令和3年に品種登録された。香オリ3号はオリーブ果実の塩蔵（以下、新漬け）及びオイル兼用品種であり、従来品種のミッションと比較して果実が大きく、病害虫耐性が高いほか、収穫時期が早いなどミッションとは異なる性質を有している。

新漬けは水酸化ナトリウム（以下、NaOH）による脱渋、塩水への置換、包装・殺菌工程を経て製品化されるが、脱渋が不十分であると果実が黒色に変色し商品価値を著しく損ねるため、脱渋は重要な工程である。脱渋には果実の熟度や浸漬時の水温、NaOH濃度及び浸漬時間が影響すると考えられるが、これまで新品種の香オリ3号に対する最適な脱渋条件は検討されていない。

本研究では、香オリ3号に適した脱渋条件を明らかにするため、水温やNaOH濃度が異なる条件で新漬けを調製し、NaOH溶液中の総ポリフェノール濃度、果実の明度や破断荷重、果実へのNaOHの浸透率を指標として各脱渋条件を評価した。

2 実験方法

2.1 新漬けの調製

香川県農業試験場小豆オリーブ研究所で2023年10月下旬と11月上旬にそれぞれ収穫した香オリ3号とミッションの果実を用いた。脱渋工程のNaOH溶液中の総ポリフェノール含量と果実の明度及び破断強度の測定に用いる新漬けは、100gの果実に対して、2.0%、2.2%及び2.4%に調製した100mLのNaOH溶液をそれぞれ加え、15℃、20℃及び25℃の恒温器内で7時間静置し、常法¹⁾に従い1試験区当たり2組を調製した。

2.2 脱渋工程の総ポリフェノール含量、明度及び破断荷重の測定

脱渋工程のNaOH溶液中の総ポリフェノール含量は、新漬け調製時に脱渋開始1時間後から7時間後まで2時間おきに2mLの脱渋液を回収後、0.2mLの塩酸で中和し、分析時まで冷凍保存した試料をFolin-Ciocalteu法で測定した。新漬けの明度及び破断荷重は、1試験区当たり15個ずつ2回で合計30個の果実について、色差計SA5500（日本電色工業株式会社製）とクリープメーターRE2-3305B（株式会社山電製）を用いて、それぞれ既報²⁾に準じて測定し評価した。

2.3 果実への浸透率の測定

200gの果実に対して、新漬け調製時と同じ濃度に調製し

たNaOHを200mL加え、15℃、20℃及び25℃の恒温器内で1時間後から7時間後まで2時間おきに50gの果実を回収し、そのうち6個の果実についてNaOHの浸透率と浸漬速度を測定した。浸透率はオリーブ果実をくし形に切除した部分をデジタルカメラOLYMPUS Tough TG-5（オリンパス株式会社）で撮影し、画像解析ソフトImage J³⁾を用いて種を除く果実の面積とNaOHの浸漬により変色した部分の面積比から算出した（図1）。浸漬距離は変色部の長さを3ヶ所測定し、その平均値から算出した。

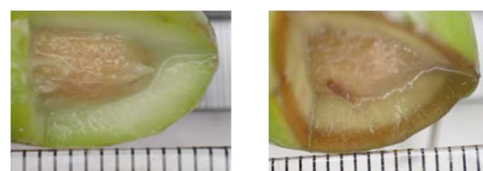


図1 脱渋の様子

左：脱渋前、右：脱渋中

3 結果

3.1 脱渋時の総ポリフェノール含量の変化

NaOH溶液中の総ポリフェノール含量の経時変化を図2に示す。香オリ3号、ミッションともにNaOH濃度よりも浸漬温度による影響が大きく、浸漬温度の上昇に伴いNaOH溶液

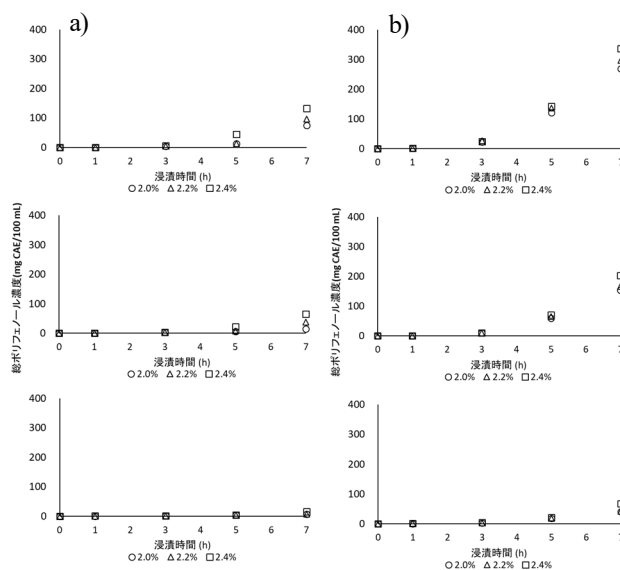


図2 脱渋液中の総ポリフェノール含量

a：香オリ3号、b：ミッション

上段25℃、中段20℃、下段15℃

中の総ポリフェノール含量が増加した。また、全ての浸漬温度において香オリ3号のNaOH溶液中の総ポリフェノール含量はミッションよりも低値であり、同条件下では香オリ3号はミッションよりも脱渋が不十分となる可能性が示唆された。

3. 2 脱渋条件が明度と破断荷重に与える影響

異なる脱渋条件で調製した新漬けの明度 (L^*) を図3に示す。浸漬温度が15°Cの場合は、香オリ3号、ミッションともに果実が黒く変色し、 L^* は約30であった。浸漬温度が20°C以上では香オリ3号ではNaOH濃度が2.0%と2.2%の場合には良好な外観で L^* が約40であったが、2.4%の場合には変色が発生し L^* は約35であった。ミッションでは浸漬温度とNaOH濃度の上昇に伴い L^* が高くなり、20°CではNaOH濃度が2.4%の場合、25°CではNaOH濃度が2.2%と2.4%の場合に良好な外観で L^* が約41であった。20°CでNaOH濃度が2.0%と2.2%の場合と25°CでNaOH濃度が2.0%の場合には果実の一部または半面が黒色化しており、脱渋中に空気に接触したため黒色化し L^* が低下したと考えられた。以上の結果より、異なる脱渋条件時の新漬け果実の明度の挙動は香オリ3号とミッションで異なり、香オリ3号では20°C以上の浸漬温度で、NaOH濃度を2.0%から2.2%にすると、脱渋不足による変色が抑制できることが判明した。

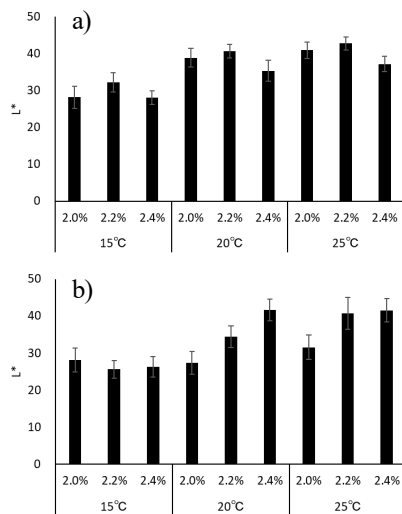


図3 新漬けの明度

a: 香オリ3号, b: ミッション

次に破断荷重を図4に示す。香オリ3号の破断荷重は、浸漬温度が15°Cの場合はNaOH濃度の影響は認められず、全ての濃度で約16 Nであったが、浸漬温度の上昇に伴い破断荷重は低下し、20°Cの場合はNaOH濃度が2.0%と2.4%では約14 N、2.2%では約12 Nとなり、25°Cの場合はNaOH濃度が2.0%と2.2%ではそれぞれ約11 Nと約12 N、2.4%では約13 Nであった。NaOH濃度の上昇に伴い果実の軟化が進行すると考えられたが、浸漬温度が20°Cと25°Cの場合では2.2%よりも2.4%での浸漬で破断荷重が高値であった。ミッションも香オリ3号と同様に浸漬温度が15°Cの場合は全てのNaOH濃度で約13 Nであり濃度による影響は認められなかったが、20°Cと25°Cの場合では香オリ3号と異なり浸漬温度と

NaOH濃度の上昇に伴い果実の軟化が進行した。

以上の結果より、破断荷重も明度と同様に香オリ3号とミッションでは挙動が異なることが判明した。既報²⁾より、新漬けの破断荷重は約8 Nであり、最も破断荷重が低値であった25°C、2.2%の試験区においても香オリ3号の破断荷重は約9 Nであり、香オリ3号の脱渋時に浸漬温度やNaOH濃度を高めることにより過度な軟化は生じないことが示された。

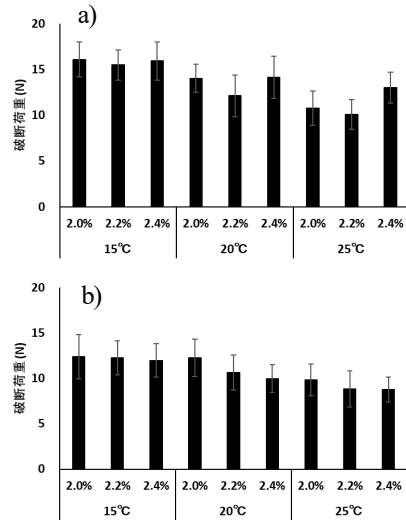


図4 新漬けの破断荷重

a: 香オリ3号, b: ミッション

3. 3 脱渋条件がNaOHの浸透率と浸漬距離に与える影響

異なる脱渋条件で調製した新漬けの浸透率の推移を図5に示す。浸透率も脱渋時の総ポリフェノール含量と同様に、香オリ3号、ミッションともにNaOH濃度よりも浸漬温度による影響が大きく、浸漬温度が上昇するにつれて浸透率が増加した。7時間経過後の浸透率は両品種とも15°Cでは100%

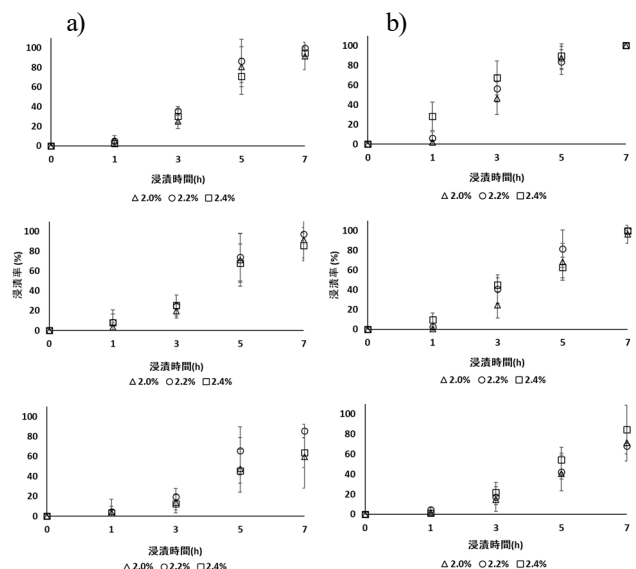


図5 異なる脱渋条件下における浸透率

a: 香オリ3号, b: ミッション
上段 25°C, 中段 20°C, 下段 15°C

に達することはなく、香オリ3号ではNaOH濃度が2.2%の時に最大で約85%、ミッションではNaOH濃度が2.4%の時に最大で約84%であった。20℃以上では浸透率が上昇し、香オリ3号は20℃の場合は約86%から97%、25℃の場合には91%から100%であったが、ミッションは両温度においてほぼ100%であった。ミッションでは20℃以上の場合にはNaOH濃度に関係なく7時間経過後の浸透率がほぼ100%になっていたのに対して、香オリ3号ではNaOH濃度による影響を受けるほか、個々の果実間の浸漬率が大きく異なり、ばらつきが大きくなることが明らかとなった。次に7時間後の浸漬距離を表1に示す。浸漬温度が20℃の場合、全てのNaOH濃度において香オリ3号の浸漬距離はミッションよりも短くなる傾向であり、個々の果実間のばらつきも大きかったが、浸漬温度が25℃の場合には両品種間で浸漬距離に大きな差は認められなかった。以上の結果より、浸漬温度が20℃の場合には香オリ3号はミッションと比較してNaOHが浸透しづらいが、浸漬温度を25℃にすることで改善可能なことが示された。

4 結言

脱渋時の浸漬温度やNaOH濃度に対する挙動は香オリ3号とミッションでそれぞれ異なることが判明した。香オリ3号を脱渋する場合は20℃以上の浸漬温度が必要であり、NaOH濃度が2.4%となるとNaOHの浸透が不十分となるため、2.0%から2.2%での脱渋処理が好ましく、また、個々の果実で浸透率が大きく異なるため、脱渋時には定期的に浸透具合を目視で確認し、全ての果実で適切にNaOHが浸透するよう注意を払うことが重要である。

参考文献

- 1) 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).
- 2) 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).
- 3) Rasband, W. S.: ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2018.

表1 7時間経過後のNaOHの浸漬距離

品種	浸漬温度 (°C)	浸漬距離 (mm)					
		2.0%		2.2%		2.4%	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
香オリ3号	15	2.2	± 1.3	3.0	± 0.8	2.3	± 0.6
	20	3.1	± 0.7	3.2	± 0.6	3.0	± 0.3
	25	3.4	± 0.5	3.6	± 0.3	3.7	± 0.4
ミッション	15	2.4	± 1.0	2.4	± 0.5	3.0	± 1.0
	20	3.4	± 0.4	3.5	± 0.3	3.6	± 0.4
	25	3.4	± 0.5	3.6	± 0.4	3.4	± 0.4