

可食原料を利用したフィルムの試作(第四報)

—米粉フィルムへの粉末セルロースとトランスグルタミナーゼ添加効果—

大西 茂彦

米粉フィルムの機械特性向上を目的として、粒子サイズの異なる粉末セルロース (W-50, W-400G および W-10MG) とトランスグルタミナーゼ (TG) の併用効果を検討した。粉末セルロース単独添加試験では、粒子サイズの最も大きい W-50 において突刺し強度および引張弾性率の高い改善効果が確認され、粒子サイズに依存した物性変化が認められた。さらに粉末セルロースと TG の併用試験では、物性ごとに最適な粒子サイズが異なる挙動が確認され、突刺し強度は W-400G, 引張強度は W-50 および W-10MG, 引張弾性率は W-50 で高い改善効果を示した。このことから、単独添加とは異なる物性発現挙動が生じ、粉末セルロースによる物理補強と TG による化学架橋が複合的に作用した可能性が示唆された。以上より、粉末セルロースと TG による酵素架橋の組み合わせは米粉フィルムの機械特性制御に有効であり、粒子サイズ選択により物性制御が可能であることが示された。

1 緒言

石油を原料とするプラスチックは、我々の生活に高い利便性をもたらしているが、自然界での分解性が低く、海洋等の環境汚染が世界的な問題となっている。この課題の解決に向け、環境負荷の低いプラスチック代替素材の開発が進められている¹⁾。筆者らはこれまでの研究において、糖質(主としてでんぷん)を77%、たんぱく質を6%含む高分子複合体である米に着目し、トランスグルタミナーゼおよびクエン酸を添加することで、厚さ0.16 mm、突刺し強度2.9 N、引張強度7.1 Nを有する米粉フィルムの調製が可能であることを報告した²⁻³⁾。さらに、米粉に対して20%相当量の粉末セルロースを添加することで、フィルムの機械的強度が向上することを明らかにしている⁴⁾。しかしながら、実用的なフィルム材料としての利用には、さらなる機械的特性の改善が求められる。

本研究では、米粉フィルムのさらなる性能向上を目的として、粒子サイズの異なる粉末セルロースの添加効果とトランスグルタミナーゼ (TG) との併用効果を検証した。

2 材料と方法

2.1 材料

米粉の原料として、香川県産米(平成30年度産)を使用した。米粉の作製は既報^{2,3)}に準じ、ふるい(目の開き100 μm)を通過した米粉を試験に供した。

可塑剤は、D-ソルビトール(試薬一級、富士フィルム和光純薬(株))を使用した。

使用した粉末セルロース W-50(粒度50メッシュパス)、W-400G(粒度400メッシュパス)、W-10MG2(平均粒子径約10 μm)は、日本製紙(株)から提供を受けた。粉末セルロースの顕微鏡観察にはシステム生物顕微鏡((株)エビデント BX53)を使用した。

2.2 フィルム作製

フィルムの作製方法は既報⁴⁾に準じた。米粉7.5 g、D-ソルビトール3 g、粉末セルロース1.5 g、蒸留水138 g

を300 mL容三角フラスコに秤量して90°Cの湯浴中で糊化させて得られたゲルを45°Cに冷却し、真空条件下で脱気した後にアクリル板(200 mm x 200 mm, 5 mm厚)に乗せ、200 mm幅の膜圧調整機能付きフィルムアプリータ(064-10, オールグッド)で1.8 mmの厚さに引き伸ばし、70°Cのオーブンで2時間乾燥させてフィルムを作製した。試作したフィルムは剥離後、性能試験に供するまで、飽和臭化ナトリウム水溶液で相対湿度57%(25°C)に調整したデシケータ内で保管した。

トランスグルタミナーゼを使用する場合は、米粉糊化後に55°Cまで冷却し、酵素製剤を添加して55°Cで1時間反応させた。反応終了後、90°Cで加熱して酵素を失活させ、真空条件下で脱気した後、前述と同様の方法でフィルムを作製した。

2.3 フィルムの性能評価

フィルム厚さの測定には、シックネスゲージ(最小読取値0.001 mm, SM-1201L, テクロック)を用いた。各試験料につき5か所の厚さを測定し、その平均値をフィルム厚さとした。

フィルムの突刺し試験は既報^{2,3)}に準じて実施した。フィルムから5点を採取して測定し、その平均値を突刺し強度とした。

フィルムの引張強度および引張弾性率は、日本産業規格 JIS Z 1707:2019 に準拠して測定した。測定にはクリップメーター(RE-33005, 山電)、平行締付型引張チャック(TJ-3305-2030, 山電)および破断強度解析ソフトウェア(BAS-3305W, 山電)を使用した。試験片は幅10 mm、チャック間初期距離100 mmとした。引張強度は引張速度5 mm/sec、引張弾性率は0.1 mm/secで測定した。試験片はキャスト方向に対して垂直となるよう5点切り出して測定し、平均値を算出した⁴⁾。

3 結果と考察

本研究では、食品添加物グレードで粒子サイズの異なる粉末セルロース3種類を使用した。粉末セルロースの顕微鏡写真を図1~3に示した。米粉の20%に相当する



図1 粉末セルロースの顕微鏡写真 (W-50)



図2 粉末セルロースの顕微鏡写真 (W-400G)



図3 粉末セルロースの顕微鏡写真 (W-10MG)

粉末セルロースを添加して米粉フィルムを調製した。

前報⁴⁾において、粉末セルロースを添加した米粉フィルムは、乾燥後にアクリル板から問題なく剥離することを確認している。粉末セルロースを添加して調製した米粉フィルムの物性を表1および図4に示した。3種類の粉末セルロースのうち、粒子径の最も大きいW-50(粒度50メッシュパス)添加区が、突刺し強度および引張弾性率の試験で、他の試験区と比較して高い値を示すことが明らかとなっている。顕微鏡観察からも明らかなように、W-50は長い繊維長を有しており、米粉フィルム中に分散されることにより機械的強度に寄与したものと考えられる。

次に、粉末セルロースとトランスグルタミナーゼ(TG)を併用した米粉フィルムの物性について検討した。併用

試験区の物性を表2および図5に示す。その結果、粉末セルロース単独添加試験とは異なり、物性ごとに最適な粒子サイズが異なる挙動が確認された。すなわち、突刺し強度は粒子サイズが中程度のW-400G、引張強度は粒子サイズが大きいW-50および小さいW-10MG、引張弾性率はW-50で高い値を示した。物性ごとに最適な粒子サイズが異なったことは、各物性が反映する変形様式の違いに起因すると考えられる。突刺し試験では局所的な変形および破壊抵抗が支配的であるのに対し、引張試験ではフィルム全体の応力伝達およびネットワーク構造が影響する。このため、中程度の粒子サイズを有するW-400Gは局所変形抵抗に優れた構造を形成した一方、長繊維であるW-50はフィルム全体の応力伝達経路形成に寄与し、引張特性の向上に寄与したものと推察される。このような単独添加とは異なる物性発現挙動は、粉末セルロースによる物理補強効果とTGによるタンパク質架橋が複合的に作用した結果と考えられる。TGは米粉中に含まれるタンパク質のグルタミン残基とリジン残基間に共有結合架橋を形成し、米粉ゲルのネットワーク構造を強化することが知られている。本研究においてもTG添加により米粉ゲルの構造が緻密化し、粉末セルロースによる補強構造と相互作用することで物性発現挙動の変化が生じたものと考えられる。特に長繊維であるW-50は架橋ネットワーク中で物理的架橋点として機能し、顕著な弾性率向上を示したものと推察される。この弾性率増加は、剛直な複合ネットワーク構造形成を反映するものと考えられる。この結果は、粉末セルロース粒子サイズと酵素架橋の組み合わせが米粉フィルムの複合ネットワーク構造形成を制御する主要因であることを示唆している。

以上の結果から、粉末セルロースとTGによる酵素架橋の組み合わせは米粉フィルムの機械特性制御に有効であり、粒子サイズ選択により物性制御が可能であることが示された。

4 結言

本研究では、粒子サイズの異なる粉末セルロースの添加効果およびトランスグルタミナーゼ(TG)との併用効果について検討した。その結果、粉末セルロース単独添加試験では、繊維長の最も大きいW-50において突刺し強度、引張強度および引張弾性率の高い改善効果が確認され、粒子サイズに依存した補強効果が明らかとなった。さらに粉末セルロースとTGの併用試験では、単独添加とは異なる物性発現挙動が認められ、粉末セルロースによる物理補強効果とTGによるタンパク質架橋が複合的に作用した可能性が示唆された。特に長繊維であるW-50は架橋ネットワーク中で物理的架橋点として機能し、顕著な弾性率向上を示した。以上より、粉末セルロース粒子サイズおよび酵素架橋の組み合わせは米粉フィルムの機械特性制御に有効であり、本研究は米粉フィルムの材料設計に関する有用な知見を提供するものと考えられる。

参考文献

- 1) A. D. Bartolo, G. Infurna, N. T. Dintcheva: A Review of Bioplastics and Their Adoption in the Circular Economy, *Polymers*, **13**, 1229-1254 (2021).

- 2) 大西茂彦:可食原料を利用したフィルムの試作(第二報)-米粉フィルムの厚膜化-, 令和4年度香川県産業技術センター研究報告, 41-43 (2022).
- 3) 大西茂彦:可食原料を利用したフィルムの試作(第一報)-米粉フィルム作製方法の確立とその性能評価-, 令和3年度香川県産業技術センター研究報

- 告, 44-45 (2021).
- 4) 大西茂彦, 久保和子, 浅井貴子, 松原梓, 西村冨加: 可食原料を利用したフィルムの試作(第三報)-米粉フィルムへの粉末セルロース添加効果-, 令和5年度香川県産業技術センター研究報告, 39-40 (2023).

表1 粉末セルロースを添加した米粉フィルムの物性

	厚さ(mm) (±標準偏差)	突刺し強度(N) (±標準偏差)	引張強度(MPa) (±標準偏差)	引張弾性率(MPa) (±標準偏差)
粉末セルロース 無添加区	0.12 (±0.01)	1.8 (±0.24)	5.2 (±0.11)	9.8 (±1.0)
W-50	0.13 (±0.01)	2.6 (±0.35)	7.7 (±0.58)	44 (±8.6)
W-400G	0.12 (±0.00)	2.0 (±0.15)	7.2 (±0.86)	32 (±5.2)
W-10MG2	0.11 (±0.00)	1.7 (±0.44)	8.3 (±0.18)	32 (±1.6)

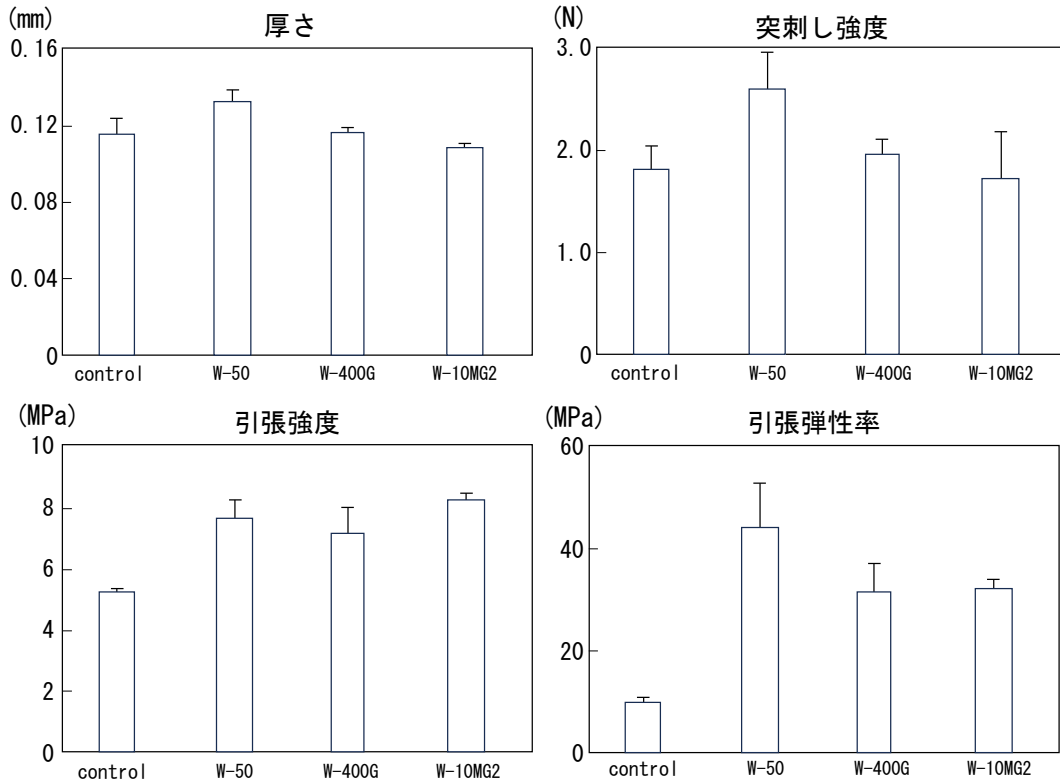


図4 粉末セルロースを添加した米粉フィルムの物性比較
control: 粉末セルロース無添加区

表2 粉末セルロースおよびトランスグルタミナーゼ (TG) を併用した米粉フィルムの物性

	厚さ(mm) (±標準偏差)	突刺し強度(N) (±標準偏差)	引張強度(MPa) (±標準偏差)	引張弾性率(MPa) (±標準偏差)
米粉+TG	0.12 (±0.01)	2.0 (±0.49)	5.8 (±0.49)	24 (±2.7)
W-50+TG	0.13 (±0.01)	2.7 (±0.43)	11 (±0.89)	100 (±5.1)
W-400G+TG	0.17 (±0.03)	4.7 (±1.2)	7.4 (±1.3)	70 (±6.6)
W-10MG2+TG	0.12 (±0.01)	2.6 (±0.62)	12 (±1.1)	69 (±7.4)

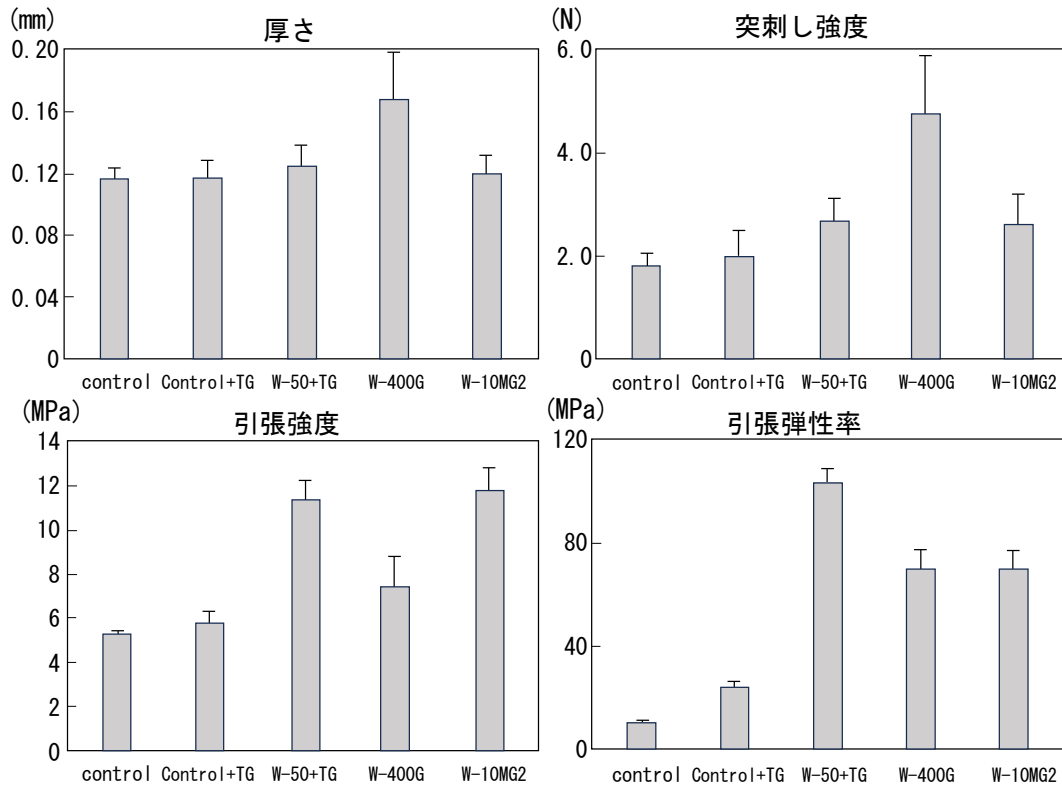


図5 粉末セルロースおよびトランスグルタミナーゼを併用した米粉フィルムの物性比較
 control: 粉末セルロース無添加区, control+TG: 粉末セルロース無添加・TG 添加区

可食原料を利用したフィルムの試作(第五報)

—米粉フィルムへのバイオマスナノファイバー等の添加効果—

大西 茂彦

米粉フィルムの性能向上を目的として、多糖由来バイオマスナノファイバー（セルロース、キトサン、キチン）およびバイオマス誘導体ナノファイバー（カルボキシメチルセルロース（CMC））の添加効果を検討した。ナノファイバーを添加して調製したフィルムの物性評価の結果、セルロース、CMC およびキトサンナノファイバーは米粉フィルムの物理強度を向上させた。さらにトランスグルタミナーゼ（TG）との併用効果を検討したところ、セルロースおよび CMC ナノファイバーでは物性低下が認められた一方、キトサンおよびキチンナノファイバーでは物性向上が確認された。特にキチンナノファイバーは低添加量においてもセルロースナノファイバー（TG 無添加）に匹敵する強度向上効果を示した。以上より、キチンナノファイバーは TG 併用により米粉フィルムの高機能化に有効であることが示唆された。

1 緒言

石油由来プラスチックは、高い成形性および大量生産性を有し、さらに安全性や耐久性に優れることから、食品包装材料や容器として広く利用されている。一方で、プラスチックは自然環境中での分解性が低く、海洋をはじめとする環境中に長期間残存することが問題視されており、海洋生物への影響などの環境負荷が懸念されている。このため、環境負荷の低いプラスチック代替素材の開発が求められている¹⁾。

筆者らはこれまでに、糖質を約 77%（主にでんぷん）、たんぱく質を約 6% 含む高分子複合体である米に着目し、代替素材としての利用可能性を検討してきた。その結果、トランスグルタミナーゼ（TG）およびクエン酸を添加することで、たんぱく質およびでんぷん間に架橋構造を形成し、突刺し強度 2.9 N、引張強度 7.1 N を有する米粉フィルムの調製が可能であることを報告した²⁾。しかし、添加剤としてナノファイバーの種類と TG の併用効果についての検討は十分に行われていない。

本研究では、米粉フィルムのさらなる性能向上を目的として、多糖由来バイオマスナノファイバー 3 種類（セルロース、キトサン、キチン）およびバイオマス誘導体ナノファイバー（カルボキシメチルセルロース（CMC））を添加してフィルムを調製し、機械的物性の改善効果と、トランスグルタミナーゼ（TG）の併用効果を検証した。

2 材料と方法

2.1 材料

米粉の原料には、香川県産米（平成 30 年度産）を使用した。米粉の調製は既報^{2,3)}に準じて行い、ふるい（目開き 100 μm ）を通過したものを試験に供した。

可塑剤には D(-)-ソルビトール（試薬一級、富士フィルム和光純薬）を使用した。トランスグルタミナーゼ製剤にはアクティブコシキープ（STG-M、味の素）を使用した。バイオマスナノファイバーおよびバイオマス誘導体ナノファイバーとしてスギノマシン製、セルロースナノファイバー（CNF）、カルボキシメチルセルロース（CMC）ナ

ノファイバー、キトサンナノファイバーおよびキチンナノファイバーを使用した。

2.2 フィルム作製

フィルムの作製方法は既報^{2,3)}に準じて行った。米粉 5 重量%、D-ソルビトール 2 重量%、ナノファイバー 0.5~1 重量%に蒸留水を加えて全量を 100 重量%とした。使用したナノファイバーの規格およびフィルムへの添加量を表 1 に示した。

表 1 添加剤として用いたナノファイバー

名称	商品名	粘度規格 (mPa·s)	添加量 (重量%)
セルロース ナノファイバー	WFO-10002	$\geq 3,000$	1.0
CMC ナノファイバー	TFO-10002	$\geq 2,000$	1.0
キトサン ナノファイバー	EFO-10002	$\geq 1,000$	1.0
キチン ナノファイバー	EFO-08002	≥ 800	0.5

各材料をコニカルビーカーに秤量し、超音波発生装置（トミー工業株式会社、UD-211、微量チップ TP-040）を用いて分散処理を行った。得られた分散液を 90°C の湯浴中で加熱して糊化させ、その後 45°C まで冷却した。次いで真空条件下で脱気を行い、米粉ゲルを調製した。

調製したゲルをアクリル板（200 mm × 200 mm、厚さ 5 mm）上に展開し、膜厚調整機能付きフィルムアプリケーション（064-10、オールグッド）を用いて膜厚 1.8 mm に塗布した。塗布後、70°C のオープン中で 2 時間乾燥させてフィルムを作製した。

キチンナノファイバーを 1 重量% 添加した場合、米粉ゲルの粘性が著しく増加し、アクリル板上への塗布が困難となったため、添加量は 0.5 重量% とした。

トランスグルタミナーゼを使用する場合は、米粉糊化後に 55°C まで冷却し、酵素製剤を添加して 55°C で 1 時間反応させた。反応終了後、90°C で加熱して酵素を失活させ、真空条件下で脱気した後、前述と同様の方法でフィ

フィルムを作製した。

作製したフィルムは剥離後、性能試験に供するまで、飽和臭化ナトリウム水溶液により相対湿度 57% (25°C) に調整したデシケータ内で保管した。

2. 3 フィルムの性能評価

フィルム厚さの測定には、シックネスゲージ (最小読取値 0.001 mm, SM-1201L, テクロック) を用いた。各試料につき 5 か所の厚さを測定し、その平均値をフィルム厚さとした。

フィルムの突刺し試験は既報^{2,3)}に準じて実施した。フィルムから 5 点を採取して測定し、その平均値を突刺し強度とした。

フィルムの引張強度および引張弾性率は、日本産業規格 JIS Z 1707:2019 に準拠して測定した。測定にはクリップメーター (RE-33005, 山電), 平行締付型引張チャック (TJ-3305-2030, 山電) および破断強度解析ソフトウェア (BAS-3305W, 山電) を使用した。試験片は幅 10 mm, チャック間初期距離 100 mm とした。引張強度は引張速度

5 mm/sec, 引張弾性率は 0.1 mm/sec で測定した。試験片はキャスト方向に対して垂直となるよう 5 点切り出して測定し、平均値を算出した。

3 結果と考察

本研究では、食品添加物グレードのセルロース、カルボキシメチルセルロース (CMC), キトサンおよびキチンをナノファイバー化した素材を用いた。米粉に対して 10~20% に相当するバイオマスナノファイバーおよびバイオマス誘導体ナノファイバーを添加して米粉フィルムを調製し、フィルムの機械的物性に対する影響を評価した。まず、ナノファイバー単独の添加効果を明らかにするために、トランスグルタミナーゼ (TG) を添加せずにフィルムを調製した。

ナノファイバーを添加した米粉フィルムは、70°C での乾燥後に容易にアクリル板から剥離可能であった。調製したフィルムの物性を表 2 および図 1 に示す。

表 2 バイオマスナノファイバーを添加した米粉フィルムの物性

	厚さ (mm) (±標準偏差)	突刺し強度 (N) (±標準偏差)	引張強度 (MPa) (±標準偏差)	引張弾性率 (MPa) (±標準偏差)
バイオマスナノ ファイバー無添加	0.12 (±0.01)	1.8 (±0.24)	5.2 (±0.11)	9.8 (±1.0)
セルロース ナノファイバー	0.13 (±0.01)	4.1 (±0.43)	12 (±1.1)	65 (±4.3)
CMC ナノファイバー	0.11 (±0.00)	3.6 (±0.04)	9.7 (±0.72)	29 (±4.1)
キトサン ナノファイバー	0.11 (±0.01)	2.6 (±0.46)	8.2 (±0.93)	42 (±6.4)
キチン ナノファイバー	0.10 (±0.01)	2.9 (±0.47)	4.9 (±1.0)	36 (±6.8)

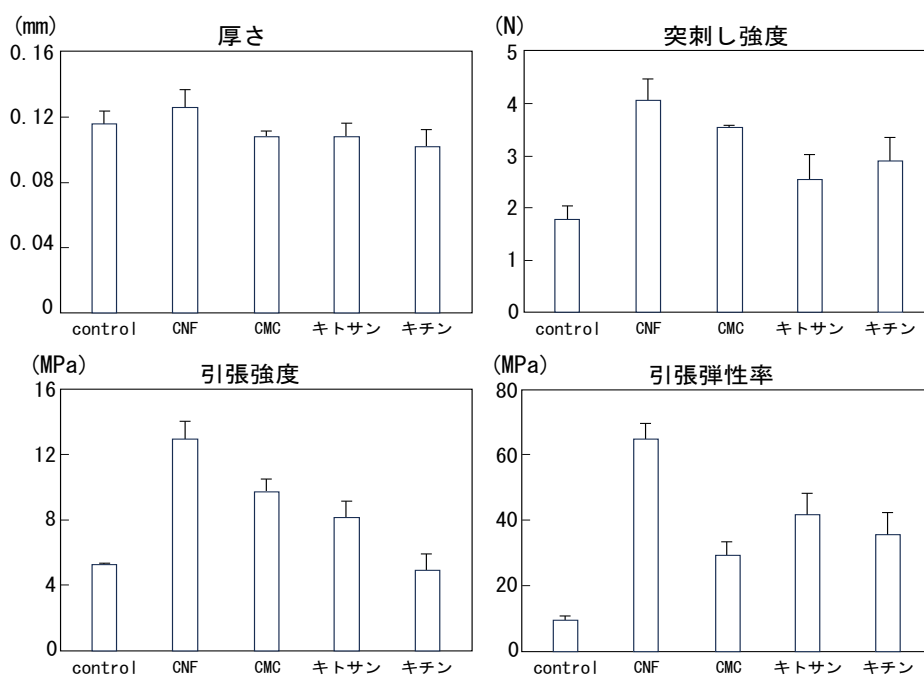


図 1 バイオマスナノファイバーを添加した米粉フィルムの物性比較

control: ナノファイバー無添加区, CNF: セルロースナノファイバー, CMC: カルボキシメチルセルロース
ナノファイバー, キトサン: キトサンナノファイバー, キチン: キチンナノファイバー

4種類すべてのナノファイバーにおいて、添加により突刺し強度および引張弾性率の向上が認められた。弾性率の増加はフィルム構造の剛直化を反映していると考えられる。引張強度については、セルロース、CMCおよびキトサンナノファイバーの添加により向上した一方、キチンナノファイバー添加区では無添加区と比較してわずかな低下が認められた。ナノサイズの添加剤がポリマーマトリックス中に均一に分散されたナノ複合フィルムは、機械的特性が向上することが知られている^{4,5)}。したがって、セルロース、CMCおよびキトサンナノファイバーによる物性向上は既報と一致する結果であった。一方で、キチンナノファイバーは他の素材と異なる挙動を示した。

次に、バイオマスナノファイバーおよびバイオマス誘導体ナノファイバーとTGを併用した場合の影響を検討

した。調製したフィルムの物性を表3および図2に示す。その結果、セルロースナノファイバーおよびCMCナノファイバーをTGと併用した試験区では、ナノファイバー単独添加区と比較して突刺し強度、引張強度および引張弾性率の低下が認められた。セルロースおよびCMCナノファイバーは分子内にアミノ基を有しておらず、TGによる架橋反応の基質とはならない。このため、TGによる架橋は主に米たんぱく質間で進行すると考えられる。TGによるタンパク質架橋がナノファイバー分散構造に影響を及ぼした可能性も考えられる。しかしながら、物性低下の要因については現時点では明確でなく、ナノファイバー分散状態や高分子ネットワーク構造への影響を含め、今後詳細な検討が必要である。

表3 バイオマスナノファイバーおよびトランスグルタミナーゼ (TG) を併用した米粉フィルムの物性

	厚さ(mm) (±標準偏差)	突刺し強度(N) (±標準偏差)	引張強度(MPa) (±標準偏差)	引張弾性率(MPa) (±標準偏差)
米粉+TG	0.12 (±0.01)	2.0 (±0.49)	5.8 (±0.49)	24 (±2.7)
セルロース ナノファイバー+TG	0.10 (±0.01)	2.7 (±0.17)	15 (±1.7)	56 (±2.2)
CMCナノファイバー +TG	0.12 (±0.01)	1.9 (±0.32)	5.7 (±0.32)	16 (±2.5)
キトサン ナノファイバー+TG	0.10 (±0.01)	2.9 (±0.31)	13 (±1.0)	50 (±3.4)
キチン ナノファイバー+TG	0.11 (±0.00)	3.4 (±0.56)	11 (±2.2)	54 (±4.6)

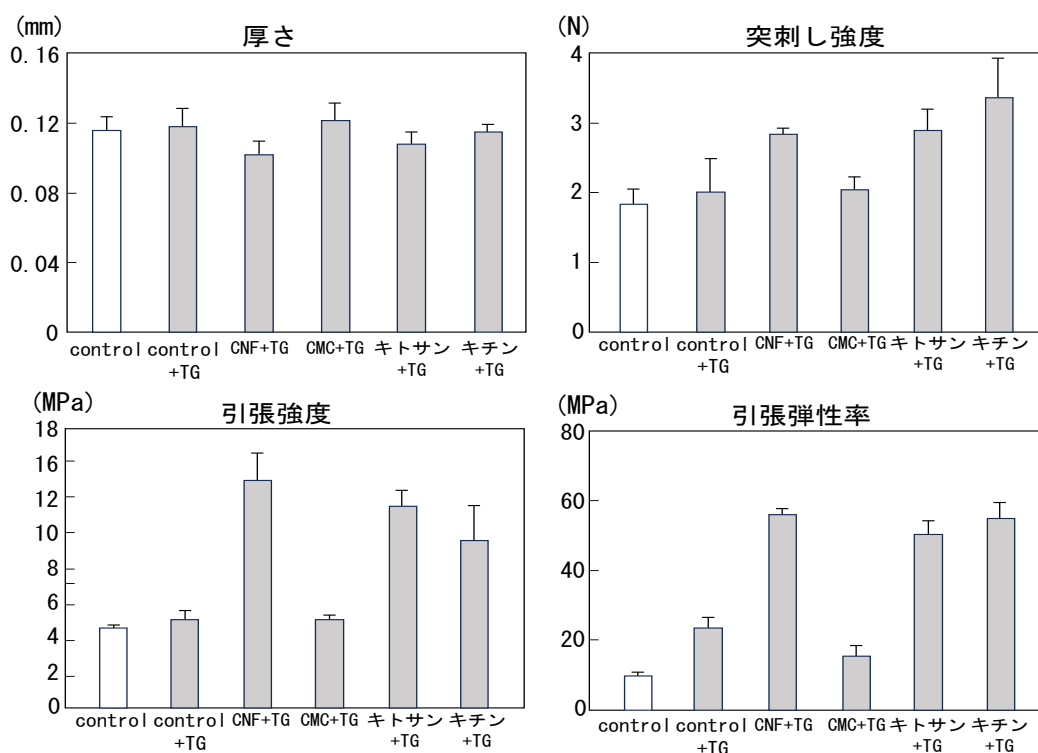


図2 バイオマスナノファイバーおよびトランスグルタミナーゼ (TG) を併用した米粉フィルムの物性比較
control: ナノファイバー無添加区, control+TG: ナノファイバー無添加・TG添加区, CNF+TG: セルロースナノファイバー・TG添加区, CMC+TG: カルボキシメチルセルロースナノファイバー・TG添加区, キトサン+TG: キトサンナノファイバー・TG添加区, キチン+TG: キチンナノファイバー・TG添加区

一方、キトサンナノファイバーとTGを併用した試験区では、TGを添加しなかった試験区と比較して、突刺し強度12%、引張強度48%および引張弾性率19%の向上が認められた。また、キチンナノファイバーとTGを併用した試験区では、突刺し強度17%、引張強度140%および引張弾性率50%の向上が認められた。キトサンおよびキチンの構成糖であるグルコサミンは、2位炭素にアミノ基を有しており、TGの基質として知られるリジンやグルタミンと同様に酵素反応を受けることが報告されている⁹⁾。したがって、キトサンナノファイバーあるいはキチンナノファイバーが米たんぱく質とTGにより架橋結合し、形成された高分子ネットワーク構造がでんぷん分子を包埋することで、フィルムの機械的物性が向上したものと考えられる。特に、キチンナノファイバーは、他の試験区より低添加量である0.5重量%においても、CNF(TG無添加)試験区に匹敵する物性向上効果を示した。少量添加で効果を示す点は実用化上重要な利点である。今回使用したキトサンナノファイバーおよびキチンナノファイバーの脱アセチル化度は、それぞれ75%以上および5%以下であった。このことから、多糖鎖中におけるアミノ基の存在状態や分子構造の違いがフィルム強度に影響を及ぼしている可能性が示唆された。以上より、キチンナノファイバーの添加は、米粉フィルムの物性改善手法として有望であると考えられる。

4 結言

本研究では、3種類のバイオマスナノファイバーおよび1種類のバイオマス誘導体ナノファイバーの米粉フィルムへの添加効果を検討した。その結果、バイオマスナノファイバーとTGの併用により、キトサンナノファイバー-TG併用区およびキチンナノファイバー-TG併用区で機械的物性の顕著な向上が確認された。

特に、キチンナノファイバーはTGと併用することで、他の試験区の2分の1の添加量においても同等の補強効果を示した。このことから、キチンナノファイバーはTGを介した高分子ネットワーク形成に寄与し、米粉フィルムの高機能化に有効であることが示唆された。

米に含まれるでんぷんおよびたんぱく質に加え、使用したバイオマスナノファイバーはいずれも生分解性を有する天然由来素材である。したがって、本研究で得られた複合フィルムは、環境負荷の低いプラスチック代替材料としての応用が期待される。また、本研究の結果は、米粉フィルムの物性制御に関する設計指針として有用な知見を提供するものと考えられる。

参考文献

- 1) A. D. Bartolo, G. Infurna, N. T. Dintcheva: A Review of Bioplastics and Their Adoption in the Circular Economy, *Polymers*, **13**, 1229-1254 (2021).
- 2) 大西茂彦: 可食原料を利用したフィルムの試作(第二報)-米粉フィルムの厚膜化-, 令和4年度香川県産業技術センター研究報告, 41-43 (2022).
- 3) 大西茂彦: 可食原料を利用したフィルムの試作(第一報)-米粉フィルム作製方法の確立とその性能評価-, 令和3年度香川県産業技術センター研究報告, 44-45 (2021).
- 4) J. Jeevahanl, M. Chandrasekaran and A. Sethu: Influence of Nanocellulose Addition on the Film Properties of the Bionanocomposite Edible Films Prepared from Maize, Rice, Wheat, and Potato Starches, *Proc. Int. Conf. Adv. Mater.* 020073-1-9 (2019).
- 5) W. Ban, J. Song, D. S. Argyropoulos and L. A. Lucia: Improving the Physical and Chemical Functionality of Starch-Derived Films with Biopolymers, *J. Appl. Polym. Sci.*, **100**, 2542-2548 (2006).
- 6) H. A. Silva, E. G. Paiva, H. M. Lisboa, E. Duarte, M. Cavalcanti-Mata, T. Gusmão, R. de Gusmão: Role of chitosan and transglutaminase on the elaboration of gluten-free bread, *J. Food Sci. Technol.*, **57**(5), 1877-1886 (2020).

密封条件下で製造した黒ニンニク中の含硫化合物含量

藤川 護, 山地 瑞穂

黒ニンニク製造時に問題となる臭気や装置への負荷対策として、缶詰内に密封した状態で黒ニンニクの製造を行った。密封容器内で加温処理を行うことで、含硫ガスによる周辺環境や製造装置への負荷が低減可能なうえ、既存の製造方法よりも Cycloalliin 含量が増加することが明らかとなった。

1 緒言

黒ニンニクはニンニクの持つ健康訴求性の高さと加工の容易さ及び喫食の簡便さからニンニク加工品として広く普及している。本県は青森県、北海道に次いでニンニクの収穫量が全国第3位であり、西日本最大の産地となっている¹⁾。そのため、県内で収穫されたニンニクを黒ニンニクに加工する企業も多数存在している。

一般的に黒ニンニクは約 70°C 付近の温度帯でニンニクを2週間程度加温し製造している。その際に健康機能が報告されている S-allyl-L-cysteine や Cycloalliin が増加することが報告されているが²⁾、製造時に含硫ガスが発生し、周辺環境や製造施設に悪影響を及ぼし問題となっている。黒ニンニク製造時にニンニクは装置内に開放状態かもしくは乾燥を防ぐためにタッパー内で加温されているためガスの拡散は完全には防げていない。しかし、缶詰容器など完全に密封された容器内で加温すればガスの拡散を防ぐことが可能であると考えられるが、密封状態で加温した場合に含硫化合物に与える影響は報告されていない。

本研究では、空気を遮断した状態での加温がニンニク中の含硫化合物に与える影響を調査するため、ニンニクを缶詰内に密封した状態で黒ニンニクを調製し、その際の含硫化合物含量を従来製法の黒ニンニクと比較し、当該製造方法について検討を行った。

2 実験方法

2.1 試料

県内の小売店で購入した令和7年度香川県産ニンニクを試料として用いた。

2.2 黒ニンニクの調製

個体間差の影響を小さくするため、予めニンニク1玉を未処理区、従来区、缶詰(空気)区、缶詰(窒素)区及び缶詰(真空)区用に5等分し、4玉分をまとめて1組とした。従来区はポリプロピレン製タッパー内に、缶詰区は6号缶内にそれぞれ1組のニンニクを封入した。缶詰区はそのまま封入する缶詰(空気)区、窒素置換後封入する缶詰(窒素)区及び減圧後に封入する缶詰(真空)区の3試験区を設けた。各試験区について3反復を準備し、恒温恒湿器 IG401 (ヤマト科学) 内で 70°C、2週間加温を行った。

2.3 水分含量と含硫化合物含量

ニンニクと黒ニンニクを約 1.5 mm 幅にスライスし、液体窒素により凍結後に一晩凍結乾燥処理し、凍結乾燥前後の重量から水分含量を求めた。また、凍結乾燥後の試料を粉碎後、山崎らの方法³⁾ に準じて水:メタノール:ギ酸を 50:

50:1 (v/v/v) の割合で混合した抽出溶媒を用いて含硫化合物を抽出し、Bond elute Jr. SCX カートリッジカラムでクリーンアップ後、HPLCを用いて含硫化合物含量を求めた。

2.4 統計処理

各種成分含量の試験区間の比較は、統計解析ソフト Statcel 4 (OMS 出版) を用い多重比較検定 (Bonferroni-Dunn) を行った。

3 結果

3.1 黒ニンニクの外観及び水分

加温後の黒ニンニクとその水分含量をそれぞれ図1と表1に示す。加温時にタッパー内に封入した従来区ではニンニク特有の臭気が外部に漏れ出ていたが、缶詰区では臭気は認められなかった。ただし缶詰区では全ての試験区において開封時にスルフィド様の強い刺激臭があった。また、外観については全ての缶詰区で従来区と比較して変色が進んでいなかった。加温後の水分含量は従来区が約 11% の減少したのに対して、缶詰区は全ての試験区で 4% 程度の減少にとどまった。タッパー内に封入し



図1 加温処理後の黒ニンニク (a:従来, b:缶詰(空気), c:缶詰(窒素), d:缶詰(真空))

表1 各試験区の水分含量

	水分 (%)	
	平均	標準偏差
未処理	59.4 ± 0.9 ^c	
従来区	48.0 ± 2.8 ^a	
缶詰 空気	55.5 ± 0.1 ^{bc}	
缶詰 窒素	55.7 ± 0.4 ^{bc}	
缶詰 真空	55.2 ± 1.4 ^{bc}	

異符号間は有意差を示す (p<0.01, n=3)

た場合では完全に密封することはできなかつたが、缶詰区では密閉ができたため水分含量の変化が小さかつたものと考えられた。

3. 2 含硫化合物含量

各試験区の Alliin 含量を図2に、Isoalliin 含量と Cycloalliin 含量を図3に示す。従来区、各缶詰区ともに加温によって未処理区と比較して Alliin 含量が有意に減少したが、従来区と各缶詰区との間に有意な差は認められなかつた。Isoalliin 含量も Alliin 含量と同様に加温によって未処理区と比較して従来区と各缶詰区は有意に減少したが、加温後の従来区と各缶詰区との間に有意な差は認められなかつた。Cycloalliin 含量は未処理区と比較して従来区は有意ではないものの約 220 mg/100g から約 280 mg/100g へと増加し、缶詰区では缶詰(空気)区が約 480 mg/100g、缶詰(窒素)区と缶詰(真空)区がそれぞれ約 500 mg/100g へと有意に増加した。また、各缶詰区は従来区と比較しても有意に増加しており、従来区と比較して缶詰(空気)区が約 1.7 倍、缶詰(窒素)区と缶詰(真空)区がそれぞれ約 1.8 倍増加したものの、各缶詰区内の各試験区間では有意な差は認められなかつた。Isoalliin を加温することにより非酵素反応で Isoalliin から Cycloalliin が 1 対 1 で生成することが報告されており⁴⁾、両者の分子量は同一である。そのため変換効率が 100% の場合、減少した Isoalliin 含量分だけ Cycloalliin 含量が増加する。本試験において、未処理区と従来区間では Isoalliin から Cycloalliin への変換で Cycloalliin 含量増加の説明が可能であるものの、缶詰区では未処理区の Isoalliin からの Cycloalliin 生成だけでは説明ができず、異なる反応が起きているものと推測されたが詳細は不明であつた。

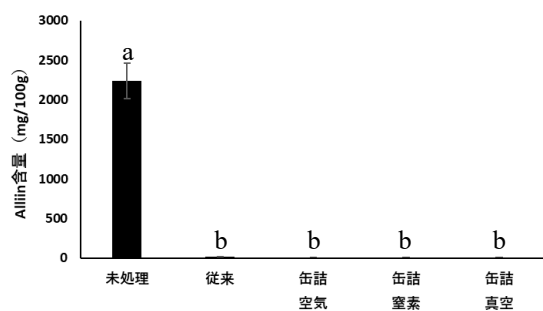


図2 Alliin 含量
異符号間は有意差を示す (p<0.01, n=3)

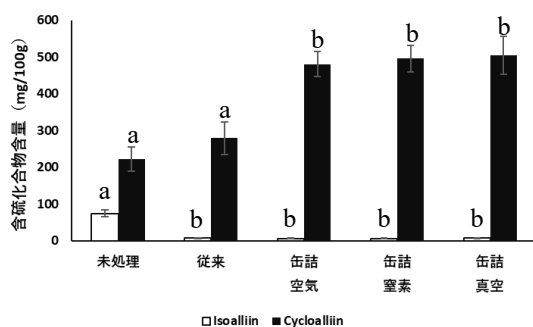


図3 Isoalliin と Cycloalliin 含量
異符号間は有意差を示す (p<0.01, n=3)

Cycloalliin は線溶活性促進作用⁵⁾ や腫瘍細胞の浸潤抑制⁶⁾ などの健康機能が報告されており、近年、黒ニンニクでは S-Allyl-L-Cysteine のみならず Cycloalliin 含量も注目されている。黒ニンニク中の Cycloalliin を増加させる方法として、低温下での一定期間保管⁷⁾ または発芽⁸⁾ により Isoalliin を増加させたのち加温処理を施す方法が報告されている。密封条件下で加温する本製造方法では、既存の方法と比較して Isoalliin を増加させる工程が不要であることから、Cycloalliin 含量が多い黒ニンニクを簡便に製造できる可能性が示された。

4 結言

黒ニンニク製造時にニンニクを缶詰内に密封後に加温を行うことで、これまで問題となっていた含硫ガスによる周辺環境や製造施設への負荷を低減できる可能性が示された。また、密封状態での加温により黒ニンニク中の Alliin 含量や Isoalliin 含量は従来方法と同じ挙動を示すものの、Cycloalliin 含量は増加することも明らかとなった。

本試験では風味や食味、品種による差異及び保存性についての検討が十分に行われていないため、今後の項目に評価を実施し実用化を目指す。

参考文献

- 1) 農林水産省：令和 6 年度産野菜生産出荷統計，<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?tclass=000001235420&cycle=7&year=2024/> (検索日：2026.3.9)。
- 2) 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)。
- 3) 山崎賀久，徳永隆司，奥野智且：ニンニク中のフレーバ前駆体，S-アルケニルシステイン誘導体の HPLC 分析，日本食品科学工学会誌，52，pp.160-166(2005)。
- 4) Ichikawa, M., Ide N., Ono K.: Change in organosulfur compounds in garlic cloves during storage, J. Agric. Food. Chem., Vol 54, No. 13, pp. 4849-4854(2006)。
- 5) Agarwal, R.K., Dewar, H.A., Newell, D.J., and Das, B.: Controlled trial of the effect of cycloalliin on the fibrinolytic activity of venous blood., Atherosclerosis, 27, pp.347-351(1977)。
- 6) Sasaki A., Yamaya Y., Notoya N., Nishizuka M.: Cycloalliin, an Organosulfur Compound in Garlic, Inhibits EMT and Invasion of the A549 Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line., BPB Reports, Vol 7, pp.101-105(2024)。
- 7) Yamazaki, Y., Yamamoto, T., and Okuno, T.: Causes and Remedies for Green Discoloration of Processed Garlic Puree: Effects of Storage Conditions on Ingredient Bulbs, Food Sci. Technol. Res., Vol 18, pp.187-193(2012)。
- 8) 藤川護，田村啓敏：発芽にんにくを原料とした黒にんにくの水溶性含硫化合物含量，日本食品科学工学会誌，68(10)，pp.407-412(2021)。

オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第5報）

—小仕込み試験（2回目）—

佐々原 浩幸

前報^{1,3)}にて得られた条件にて、オリーブ葉後発酵茶の小仕込み試験を行った。GlcNAc 量の推移から、麴菌の生育は、製麴60時間ではほぼ定常となった。シイタケ菌の生育は、製麴2週間で8割程度となり、仕込み後2週間目まで菌体量は増大した。試作した3つの後発酵茶において、仕込み前のグルコースは、それぞれ17 mg, 12 mg, 12 mg/g 乾燥茶葉（以下同様）残存していた。しかしながら前報⁴⁾にて選択された乳酸桿菌を用いても、乳酸発酵は生じなかった。今回のオリーブ茶葉の初期総ポリフェノール量は100 mg/g であり、仕込み終了時、3つの後発酵茶の総ポリフェノール量は、76 mg, 31 mg, 32 mg/g となり、ポリフェノールの分解は進行していなかった。緑茶タイプのオリーブ茶に認められる独特の苦味（渋味）は、後発酵茶において低減するものの、味認識装置による味質の評価結果とは一致しなかった。

1 緒言

前報では、本県の県花・県木であるオリーブの葉を用いた後発酵茶を開発するため、主要な地場産業である醤油製造業の「発酵」技術を応用し、醤油用麴菌や乳酸菌を用いた試作を行った¹⁻³⁾。その結果、オリーブの葉の後発酵茶における麴菌やシイタケ菌の培養条件および仕込み期間の適正化が進んだ一方、醤油乳酸菌はオリーブ葉に含まれるポリフェノールにより強い生育阻害を受けることが判明した。また、シイタケ菌を用いた後発酵茶では、緑茶タイプのオリーブ茶特有の苦味（渋味）が緩和されることも確認された。本報では、前報で得られた麴菌・シイタケ菌の適正条件に加え、オリーブ葉抽出物培地において良好な生育を示した乳酸桿菌⁴⁾を用い、再度仕込み試験を行った結果について報告する。

2 実験方法

2.1 使用菌株

麴菌は *Aspergillus sojae* ATCC 200440, シイタケ菌 (*Lentinula edodes*) は当センター保存株, 乳酸桿菌は前報, 選択した *Lactobacillus* (*Lactiplantibacillus*) 属と推定される乳酸桿菌5株⁴⁾を用いた。

2.2 製麴（培養）条件

乾燥オリーブ葉を粉碎したものに、160%散水し、121°C, 20分オートクレーブを行った。PDA培地で培養した麴菌から、麴菌孢子懸濁液 (O. D. 600 nm=100) を調製し、乾燥オリーブ葉重量に対し1 v/w%添加した。培養温度は30°Cとし、温度経過を確認しながら、製麴24時間、48時間に手入れを行い、60時間で出麴とした (①)。

シイタケ菌による製麴（以降、シイタケ菌の培養も製麴と記載する）はPDA培地でジャイアントコロニーを形成させ、菌糸部分の培地ごと切片 (2 mm×2 mm) を調製した。乾燥オリーブ葉重量2 gに対し、一個の切片を、上記のオートクレーブ処理したオリーブ葉に添加した。培養温度は25°Cとし、温度経過を確認しながら、培養7日目、10日目に手入れを行い、14日目で製麴を終了した

(②)。

シイタケ菌の培養が終了したものに、麴菌を上述の条件にて添加・製麴したものも調製した (③)。

2.3 仕込み

出麴時の重量から、乾燥オリーブ葉に対して200%散水となるよう加水し、個別にMRS培地にて培養した乳酸桿菌5株の培養液を当量混合し、混合培養液を0.1 v/w%添加した。培養温度は30°C, 仕込み期間は28日間とした。

2.4 試料調製

経時的に試料を採取し、凍結乾燥後に粉碎したものをを用いた。

2.5 分析

麴菌体量は試料を37°C, 2%Yatalase+1%セルラーゼ ONOZUKA R-10にて6時間処理し、溶出したN-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 量を藤井らの方法⁵⁾にて測定した。総ポリフェノール量は試料を80%メタノールにて3回振とう抽出し、定容後にオレウロペインはHPLC法⁶⁾, 総ポリフェノール量はフォーリン・チオカルト試薬を用いたフォーリン法にて測定した⁷⁾。単糖及び乳酸は試料を超純水で5回抽出し、定容後に単糖はHPLC法⁸⁾, 乳酸はLactate Assay Kit-WST (同仁化学研究所製)にて測定した。

2.6 茶の調製

試作されたオリーブ葉後発酵茶は天日乾燥した。乾燥茶葉2 gをティーパックに採り、100°Cの熱水100 mlにて5分間抽出したものをお茶とした。

2.7 後発酵茶の評価

2.6の方法で調製された後発酵茶について、色調は日本電色工業 (株) の分光測色計SE7700を用いて測定した。味については、官能評価とともに、味認識装置AS402Bにて味質 (苦味・渋味) を比較した。比較対照としてオリーブ茶 (緑茶タイプ) をを用いた。

3 結果と考察

3.1 オリーブ葉における麹菌及びシイタケ菌の生育 オリーブ葉を用いた後発酵茶の製造過程における麹菌 およびシイタケ菌の生育状況を、GlcNAc 量を指標として 検討した。

図の横軸の Asp は麹菌を、Lac は乳酸菌を、Len はシイ
タケ菌を表し、それに続く数字は経過 (培養) 時間 (h :
時間, w : 週) を示している。

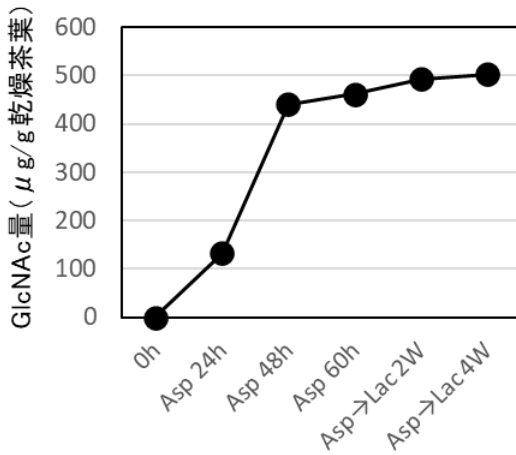


図1 菌体量の推移 (①)

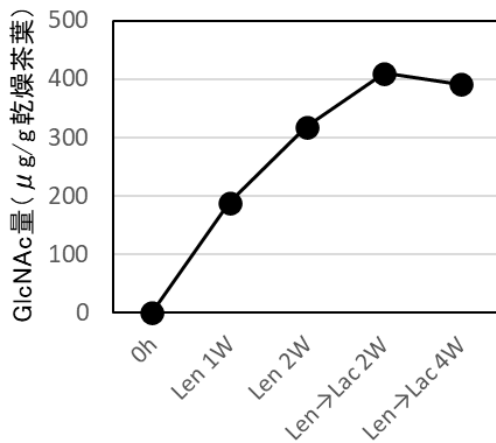


図2 菌体量の推移 (②)

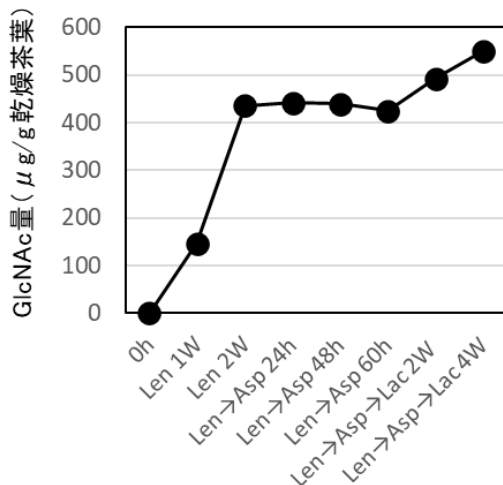


図3 菌体量の推移 (③)

麹菌を用いた製麹では、培養 24 時間から 48 時間にか
けて GlcNAc 量が顕著に増加し、60 時間以降は増加が緩
慢となった。これは前報¹⁾と同様の傾向であった (図 1)。

シイタケ菌による製麹では、2 週間の製麹期間を通じて
GlcNAc 量は直線的に増加した。また、前報³⁾とは異なり、
仕込み後においても増加傾向が維持された (図 2)。両菌
を併用した場合、シイタケ菌による製麹期間 (2 週間) は
GlcNAc 量が増加したものの、続く麹菌による製麹期間中
は横ばいで推移し、仕込み開始後に再び増加に転じた (図
3)。今回、GlcNAc 量の測定条件を前報¹⁾より強化 (酵
素量 2 倍、処理時間 1.5 倍) して分析を行ったが、目視
で確認された麹菌の増殖が数値に反映されない結果とな
った。このことから、本試料における菌体量の正確な評価
には、測定条件のさらなる改善が必要であると考えられ
た。

3.2 オリーブ葉後発酵茶での糖類の推移

麹菌を用いた際の糖類推移を図 4 に示した。グルコー
ス量は製麹 60 時間目に最大値 (17 mg/g) に達した後、
仕込み後に緩やかに減少した。オリーブ葉 (製麹 0 日目)
に認められたスクロース (9 mg/g) および、製麹 24 時間
目に生成したフルクトース (7 mg/g) は、いずれも製麹
48 時間目までに消失した。ガラクトースは原料葉中に 2
mg/g 存在し、製麹 24 時間目で最大値 (6 mg/g) を示した
後、仕込み後に消失した。これらの推移は前報¹⁾と比較
して時期的な差異はあるものの、質的な増減傾向は概ね
一致した。ただし、アラビノースのみが製麹から経時的に
増加し、仕込み終了時に 12 mg/g に達した点は、前報の
傾向とは異なる挙動であった。

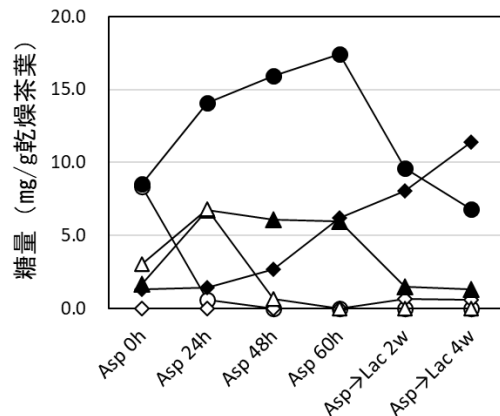


図4 後発酵茶の糖類の推移 (①)

グルコース (●)、スクロース (○)、ガラクトース (▲)、
フルクトース (△)、アラビノース (◆)、キシロース (◇)

シイタケ菌を用いた場合の糖類推移を図 5 に示した。
グルコース量は製麹 1 週間目に最大値 (18 mg/g) を示し、
その後、緩やかに減少した。スクロース、フルクトース、
キシロースについては、前報³⁾と時期的なズレはあるも
の、増減の傾向は同様であった。ガラクトースは製麹
1 週間で 5 mg/g に達した後、仕込み終了時まで一定値を
維持した。アラビノースは麹菌の場合と同様に仕込み終
了時まで増加し続け、最終的に 25 mg/g に達した。

両菌を併用した際の糖類推移を図 6 に示した。グルコ
ース量はシイタケ菌による製麹 1 週間後に最大値 (25

mg/g) を示した後、減少に転じた。続く麹菌の植菌・製麹過程では、菌の生育に伴うグルコースの消費が確認されたが、出麹時にはわずかな増加が認められた。前半のシイタケ菌製麹時における糖類推移は前報の単独培養時と類似していた。その後の麹菌製麹期間中、糖類に大きな増減は見られなかったが、ガラクトースおよびアラビノースについては微増傾向を示した。

以上の通り、糖類の推移は麹菌やシイタケ菌の生育状態に強く依存するため、完全に再現することは困難であった。しかしながら、仕込み前のグルコース残存量は各試験区で17 mg/g, 12 mg/g, 12 mg/gであり、これらは阿波番茶と同程度の乳酸⁹⁾を生成するための基質としては、必ずしも十分とは言えない。しかし、後続の乳酸発酵を進行させる一定の基質量は確保されているものと考えられた。

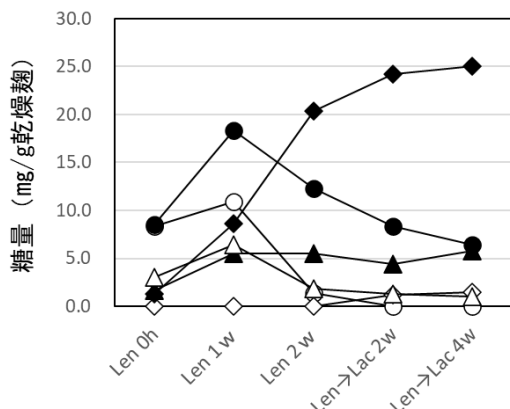


図5 後発酵茶の糖類の推移 (②)

グルコース (●), スクロース (○), ガラクトース (▲), フルクトース (△), アラビノース (◆), キシロース (◇)

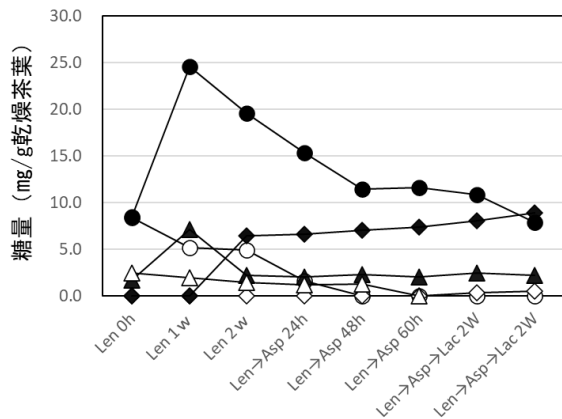


図6 後発酵茶の糖類の推移 (③)

グルコース (●), スクロース (○), ガラクトース (▲), フルクトース (△), アラビノース (◆), キシロース (◇)

3. 3 乳酸発酵

前報^{1,3)}において、オリーブ葉後発酵茶の乳酸発酵に醤油乳酸菌 (*Tetragenococcus halophilus*) を用いた際、顕著な生育阻害が認められた。これを受け、オリーブ葉抽出物に対して耐性を有する乳酸菌の選抜を行い、乳酸桿菌5株 (いずれも *Lactobacillus*, 現 *Lactiplantibacillus* 属と推定される) を候補として得ていた⁴⁾。本報における仕込み試験では、これら選抜菌株を用いたが、3種の麹 (麹菌, シイタケ菌, および両菌の併用) のいずれにおいても、

4週間の仕込み期間中に乳酸発酵は進行しなかった (データ省略)。発酵基質となるグルコースは残存していたことから、前報⁴⁾で示唆された通り、オリーブ葉特有のポリフェノール成分による強い生育阻害が、選抜菌株においても生じたものと推察された。

3. 4 総ポリフェノール量の推移

各試作条件における総ポリフェノール量の推移を図7 (麹菌), 図8 (シイタケ菌), 図9 (両菌の併用) に示した。前報^{1,3)}で用いたオリーブ葉の総ポリフェノール量は65 mg/gであったのに対し、本試験の原料葉は100 mg/gと極めて高い値を示した。その結果、試作品の最終的な総ポリフェノール量は、麹菌区で76 mg/g, シイタケ菌区で38 mg/g, 併用区で32 mg/gとなった。麹菌やシイタケ菌による分解作用は認められたものの、原料葉の初期含有量が高かったため、試作品中に残存したポリフェノールが、選抜乳酸桿菌による乳酸発酵を阻害した一因であると推察された。

オリーブ葉のポリフェノール含有量は、栽培環境や栽培条件、品種等によって大きく変動する¹⁰⁾。前報において、オリーブ茶特有の苦味 (渋味) が総ポリフェノール量に起因することが示唆されている点や、乳酸発酵の進行にはポリフェノール量を一定以下まで低減させる必要がある点を考慮すれば、原料葉の初期含有量に応じた製麹条件の最適化を再構築する必要があった。

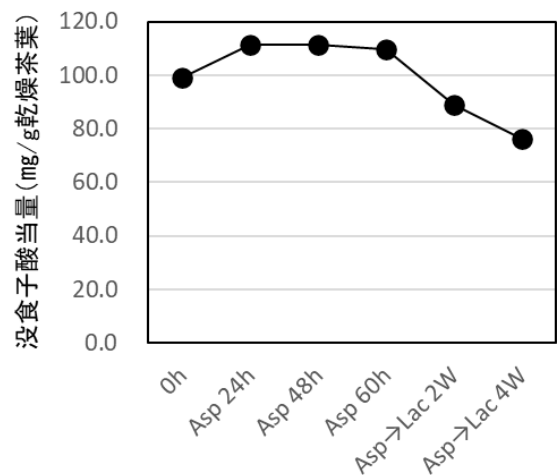


図7 総ポリフェノールの推移 (①)

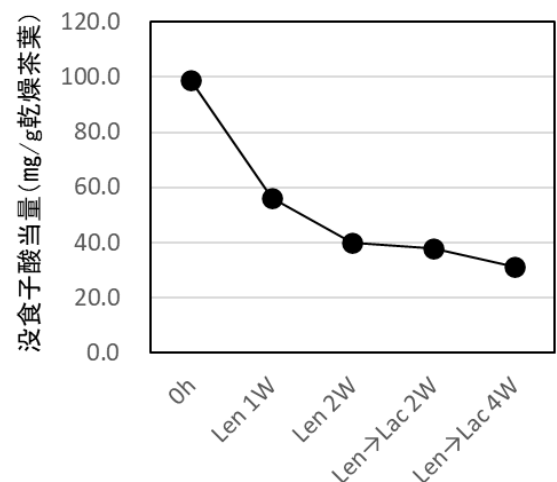


図8 総ポリフェノールの推移 (②)

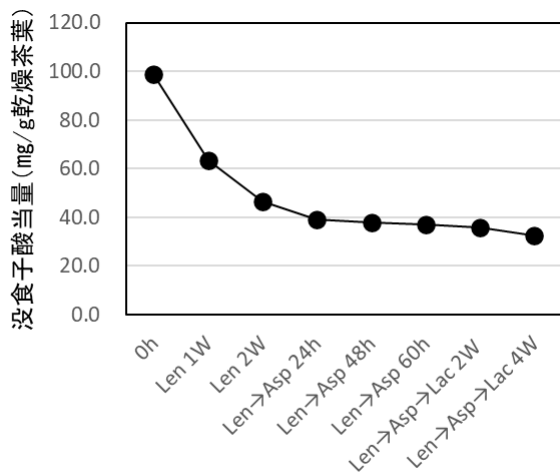


図9 総ポリフェノールの推移 (③)

3. 5 茶の評価

原料葉を乾燥・粉碎して得た緑茶タイプのオリーブ茶と、試作した後発酵茶の色調比較を行った (図10, 表1)。

後発酵茶は、微生物が産生するポリフェノールオキシダーゼによる酸化分解を受け、特有の赤褐色を呈した。

試験区の中では、シイタケ菌および麹菌を併用した後発酵茶において最も褐変が進行し、赤味の増大が認められた。この結果は、前報³⁾の知見とは異なる挙動であった。

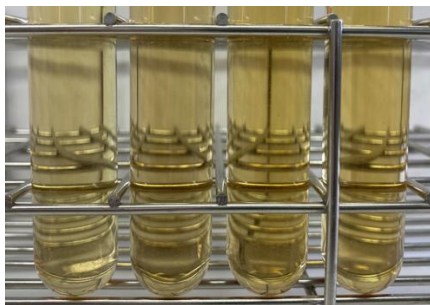


図10 後発酵茶の色調

左からオリーブ茶 (緑茶タイプ)、後発酵茶①、②、③

表1 オリーブ茶とオリーブ後発酵茶の色調

	L*	a*	b*
オリーブ茶	91.88	-1.33	28.95
後発酵茶①	88.20	0.64	33.67
後発酵茶②	87.62	1.00	45.90
後発酵茶③	87.56	1.24	45.81

官能評価の結果、緑茶タイプのオリーブ茶特有の苦味および渋味は、後発酵茶において低減することが確認された。苦味の強度は、オリーブ葉緑茶 \geq 後発酵茶① > 後発酵茶② > 後発酵茶③ の順であった。しかし、前報^{1,3)}と比較すると苦味および渋味の残存が顕著であった。これは、原料葉の初期ポリフェノール量が高かったことに加え、シイタケ菌の培養時間を短縮したことでポリフェノールの分解が不十分となり、残存量が前報の約2倍に達したことが主因と考えられた。一方で、培養時間の短縮に伴い、前報で認められたシイタケ特有の風味は付与されなかった。味認識装置による分析結果 (図11) では、オリーブ葉緑茶と比較して渋味と塩味の低下が認められたが、その他の項目は増加傾向を示し、官能評価の結果とは一致しなかった。

4 結言

オリーブ葉を用いた後発酵茶を開発するため、前報で得られた麹菌やシイタケ菌の適正な製麹条件、仕込み期間にて、またオリーブ葉抽出物による生育阻害に対して耐性のある乳酸桿菌を用いて、再度の小仕込み試験を行ったところ以下の結果を得た。

オリーブ葉後発酵茶の製麹条件を検討した結果、麹菌は培養60時間で定常期に達した。一方、シイタケ菌は仕込み後2週間まで菌体量が増大し続けることが判明した。シイタケ菌の過度な生育は茶葉に強いシイタケ様風味を付与するため、風味と菌体量のバランスを考慮すると、シイタケ菌による製麹期間は2週間、最大でも3週間までが適正であると考えられた。

糖類の推移については、グルコース、スクロース、フルクトース、ガラクトース、キシロースの各成分において、前報と時期的な差異はあるものの同様の増減傾向を示した。特筆すべき点として、アラビノースが麹菌またはシイタケ菌単独の試作品 (①および②) では仕込み4週間後まで増加し、併用区 (③) でも微増傾向を示したことが挙げられる。いずれの試験区においても、仕込み時のグルコース量は10 mg/g以上確保されており、後続の乳酸発酵における炭素源としては十分な基質量であると判断された。

前報⁴⁾で選抜した耐性乳酸桿菌を用いて乳酸発酵を試みたが、3種類の試作品すべてにおいて発酵は進行しなかった。この要因として、原料葉の初期総ポリフェノール量が100 mg/gと前報¹⁾の約1.5倍に達していたことが挙げられた。製麹時間の短縮も影響し、仕込み終了時の総ポリフェノール量は31~76 mg/gに留まった。これは、醤油乳酸菌において乳酸発酵が可能であった閾値 (20 mg/g以

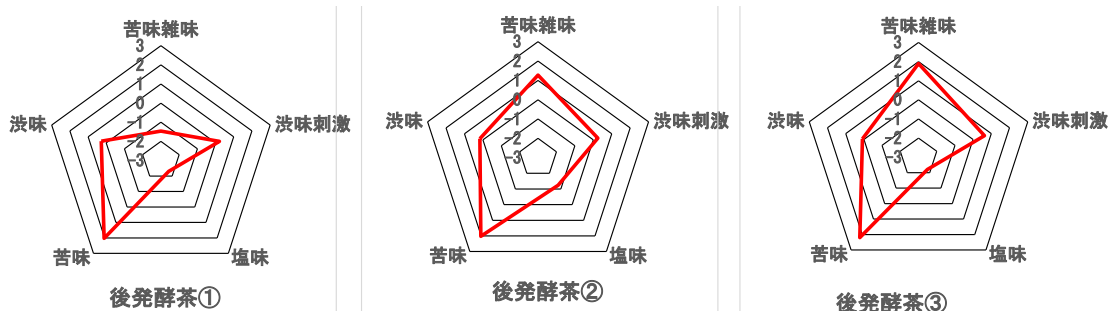


図11 オリーブ茶 (緑茶タイプ) と後発酵茶の味認識装置による味質の比較

下)を大きく上回る値であった。オリーブ葉のポリフェノール含有量は、栽培環境や品種等に大きく左右される¹⁰⁾。本結果から、乳酸発酵を安定させるためには、原料葉の状態に応じて製麹工程を柔軟に調整し、ポリフェノール量を一定水準以下まで低減させる技術の確立が不可欠と考えられた。

官能評価において、後発酵茶は緑茶タイプのオリーブ茶特有の苦味(渋味)が低減されていた。苦渋味の強度は「オリーブ葉緑茶≧後発酵茶① > 後発酵茶② > 後発酵茶③」の順であり、シイタケ菌と麹菌を併用した③が最も低減効果が高かったものの、依然として苦渋味の残存が認められた。味認識装置による評価では、渋味と塩味の低減が確認された一方、他の項目では数値が増大し、官能評価の結果を完全には再現できなかった。

参考文献

- 1) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発 (第1報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 87-88 (2024).
- 2) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発 (第2報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 89-90 (2024).
- 3) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発 (第3報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 91-94 (2024).

- 4) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発 (第4報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 95-96 (2024).
- 5) 藤井史子, 尾関健二, 神田晃敬, 浜地正昭, 布川弥太郎: 市販酵素剤を利用した麹菌体量簡易測定法, 醸協, 87, 757-759 (1992).
- 6) 柴崎博行, 藤澤浩子, 八木利枝: テーブルオリーブス脱渋液からのポリフェノールの回収, 香川県産業技術センター研究報告, No. 7, 97-98 (2006).
- 7) Swain, T and W. E. Hillis. The phenolic constituents of prunus domestica. I. The quantitative analysis of phenolic constituents, J. Sci. Food Agric., 10, 63-68 (1959).
- 8) 松岡博美, 大島久華, 久保和子, 浅井貴子, 松原梓, 藤川護: ニンニク加工品の品質評価 (第2報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 19, 61-64 (2018).
- 9) 宮崎絵梨, 中西謙二: 春期阿波番茶製造工程における各種成分分析, 徳島県立工業技術センター企画情報課, No. 16, 37-40 (2007).
- 10) 山口政人, 庭野道夫, 磯田博子: 宮城県で栽培したチュニジア酸オリーブのポリフェノール含量, 感性福祉研究所年報, 22, 69-76 (2021).

オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第6報）

—培養補助基材（フスマ）の影響—

佐々原 浩幸

本研究では、オリーブ葉後発酵茶の品質改善を目的に、培養補助基材としての小麦フスマの添加効果を検討した。その結果、小麦フスマの添加は麹菌の生育および酵素生産を活性化させ、仕込み時のグルコース量を増加させた。これにより、乳酸発酵の基質確保とポリフェノール分解の促進が図られ、茶の苦味・渋味を抑制することが明らかとなった。乳酸発酵に関しては脆弱なままであり、さらなるポリフェノール量の低減化と乳酸発酵の促進について検討を進める必要性があった。

1 緒言

香川県花・県木であるオリーブの葉を用いた後発酵茶を開発するため、これまでに小仕込み試験を行ってきた。前報¹⁻⁴⁾において、オリーブ葉を用いた製麹時には、麹菌が葉の断面を中心に生育すること、および菌体の生育状況と仕込み時のグルコース残量の観点から、製麹時間は60時間が適正であることを明らかにした。

一方で、オリーブ葉茶（緑茶タイプ）特有の渋味や苦味を改善するためには、総ポリフェノール量の低減が必須である^{1,3-5)}。そのためには、麹菌の旺盛な生育を促し、酵素生産量を高めることが味質改善の鍵になると考えられた。そこで本研究では、製麹時に培養補助基材として小麦フスマを添加し、麹菌の生育、糖類の推移、および総ポリフェノール量に及ぼす影響を検討した。

2 実験方法

2.1 使用菌株

麹菌は *Aspergillus sojae* ATCC 200440 を使用した。乳酸菌は、前報⁶⁾で選定した *Lactobacillus (Lactiplantibacillus)* 属と推定される乳酸桿菌5株を用いた。

2.2 製麹（培養）条件

粉碎した乾燥オリーブ葉に160% (w/w) の加水を行い、121°Cで20分間オートクレーブ滅菌した。これに、PDA培地で培養した麹菌から調製した孢子懸濁液 (O. D. 600nm = 100) を、乾燥重量に対して1% (v/w) 接種した。培養温度は30°Cとし、24時間および48時間目に手入れを行い、60時間に出麹とした。小麦フスマの添加量は、乾燥オリーブ葉重量に対して1~5%とした。

2.3 仕込み

出麹に対し、乾燥オリーブ葉換算で200%相当となるよう加水調整を行った。個別にMRS培地で培養した乳酸菌5株の培養液を等量混合し、これを0.1% (v/w) 添加した。30°Cで28日間静置し、発酵を行った。

2.4 試料調製および分析

経時的に試料を採取し、凍結乾燥後に粉碎して分析用試料とした。分析項目および手法は前報¹⁾に準じた。タンパク質量は、BCA Protein Assay Kit (BCA-PAK) (フナコシ株式会社製) を用いた。

2.5 茶の調製および味覚評価

試作したオリーブ葉後発酵茶は天日乾燥に付した。乾燥茶葉2gをティーバッグに封入し、100°Cの熱水100mlで5分間抽出したものを評価用試料とした。味覚評価は、味認識装置「AS402B」を用いて味質（苦味・渋味等）を測定し、小麦フスマ無添加の後発酵茶を対照として比較検討した。

3 結果と考察

3.1 麹菌の生育

小麦フスマ添加時における麹菌の生育指標 (N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 量) を図1に示した。小麦フスマの添加量が増加するに従い、菌体量も増加する傾向が認められた。図2に示す通り、GlcNAc量から算出した生育速度 ($\mu\text{g/h}$) の対数と小麦フスマ添加量の間には直線的な相関が認められ、小麦フスマが麹菌の生育促進に寄与することが示唆された。1%小麦フスマ添加区における菌体推移 (図3) では、無添加区と比較して生育速度および出麹時の最高菌体量が増加し、さらに仕込み後2週間目まで菌体量の増加が確認された。なお図3から図6の横軸の Asp は麹菌を、Lac は乳酸菌を表し、それに続く数字は経過（培養）時間 (h: 時間, w: 週) を示している。

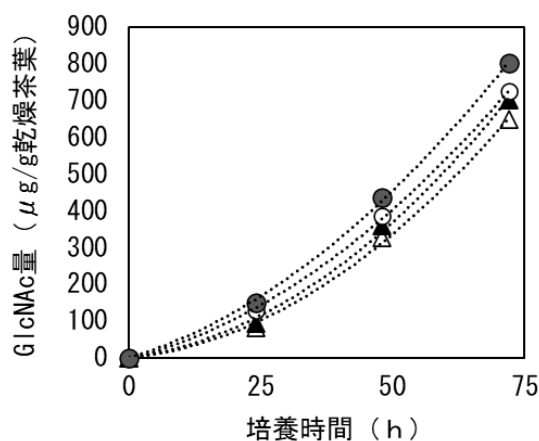


図1 麹菌の生育に及ぼす小麦フスマの影響

△:フスマ0%, ▲:フスマ1%, ○:フスマ2%, ●:フスマ5%

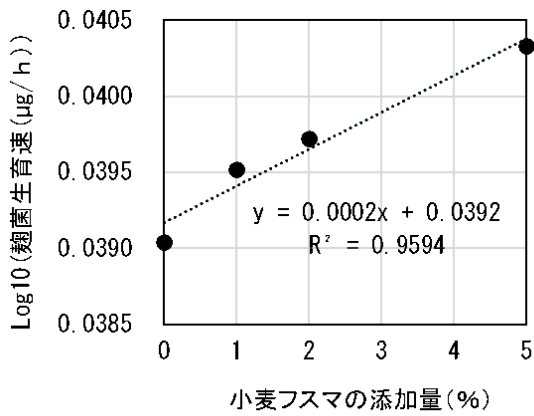


図2 麹菌の生育速度に及ぼす小麦フスマの影響

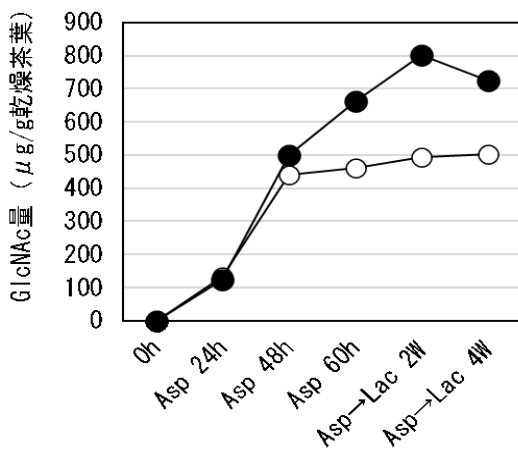


図3 麹菌菌体量の推移

○: フスマ無添加, ●: フスマ1%添加

3. 2 糖類の推移

糖類の変化を図4に示した。各糖類の推移パターンは無添加区の結果¹⁾と類似していたが、製麹後半におけるグルコース量は約4 mg/g 乾燥茶葉（以下同様）程度、高く推移した。仕込み時のグルコース量は21 mg/g に達しており、後段の乳酸発酵における基質として十分な量が存在すると判断された。

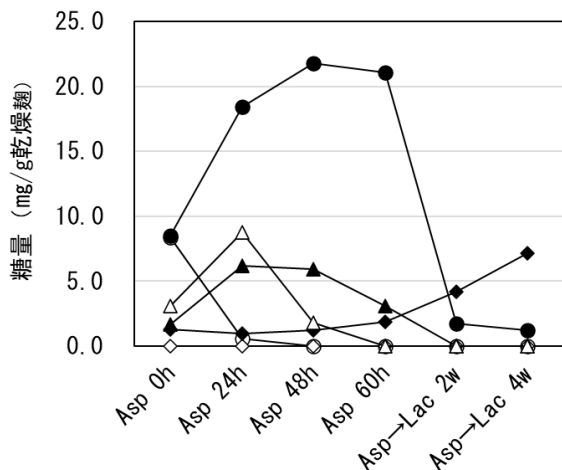


図4 後発酵茶の糖類の推移

3. 3 乳酸発酵

図5に示す通り、本試験における乳酸発酵は極めて緩慢であった。これは、製麹工程が麹菌単独で行われたためポリフェノールの分解が十分ではなく、残存する成分が乳酸菌の生育を抑制した可能性が考えられる。ほぼ不発酵に近い状態ではあったが、仕込み2週間目において約1 mg/gの乳酸生成が認められた。

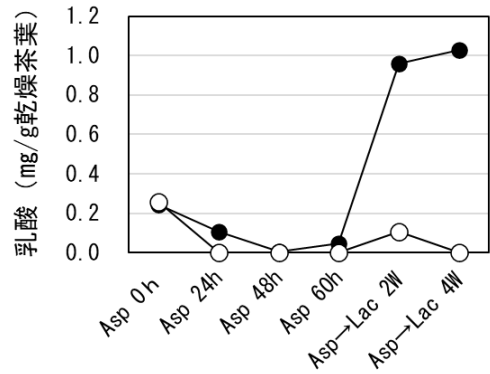


図5 乳酸量の推移

○: フスマ無添加, ●: フスマ1%添加

3. 4 総ポリフェノール量の推移

総ポリフェノール量の推移を図6に示した。製麹段階では総ポリフェノール量は若干増加したが、仕込み開始後は小麦フスマ添加区においてより顕著な低下が認められた。これは、麹菌の生育促進に伴いポリフェノールオキシダーゼ等の酵素生産量が増加（タンパク質量は無添加比で1.3倍に増加）した結果、ポリフェノールの分解・重合が促進されたものと推定された。

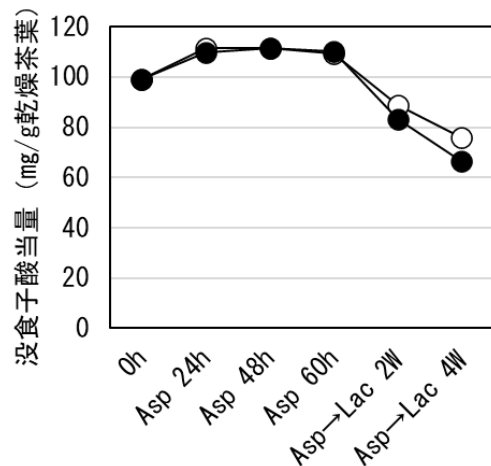


図6 総ポリフェノール量の推移

○: フスマ無添加, ●: フスマ1%添加

3. 5 後発酵茶の評価

色調および味質について、小麦フスマ添加の有無による官能的な大きな差は認められなかった。図7の味認識装置による分析結果では、苦味・渋味の値はマイナス方向（低減）を示したものの、有意差とされる「1」以上の差異には至らなかった。一方、酸味については無添加区より強く検出された。これは、3. 3で述べた微弱ながらも進行した乳酸発酵の結果を反映していると考えられた。

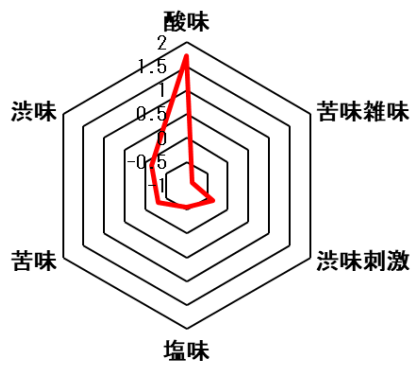


図7 後発酵茶の味質

4 結言

オリーブ葉後発酵茶において、麹菌の旺盛な生育はポリフェノールの分解を促し、味質の改善に寄与する。本報告では、培養補助材として、小麦フスマを添加することの影響を検討し、以下の知見を得た。

小麦フスマの添加により、麹菌の生育速度および最大菌体量が増大した。これに伴い酵素生産量（タンパク質量）も増加したと推察される。

小麦フスマ添加により、仕込み時のグルコース量は21 mg/g（無添加比+4 mg/g）となり、乳酸発酵の基質を確保することが可能となった。

乳酸発酵は依然として脆弱であったが、小麦フスマ添加区では仕込み後の総ポリフェノール量の低下が促進された。

後発酵茶の味質において、小麦フスマ添加による異味等の悪影響は認められず、わずかながら酸味の付与と苦味・渋味の低減傾向が示された。

以上のことから、小麦フスマ等の培養補助材の添加は、微生物の生育と酵素生産を活性化させ、成分改変を促進する有効な手段であると考えられる。今後は、さらなる乳酸発酵の活性化に向けた条件検討を進める必要がある。

参考文献

- 1) 佐々原浩幸：オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第1報），香川県産業技術センター研究報告，No. 25，87-88（2024）。
- 2) 佐々原浩幸：オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第2報），香川県産業技術センター研究報告，No. 25，89-90（2024）。
- 3) 佐々原浩幸：オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第3報），香川県産業技術センター研究報告，No. 25，91-94（2024）。
- 4) 佐々原浩幸：オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第5報），香川県産業技術センター研究報告，No. 26，63-67（2025）。
- 5) 宮崎絵梨，中西謙二：春期阿波番茶製造工程における各種成分分析，徳島県立工業技術センター研究報告，No. 16，37-40（2007）。
- 6) 佐々原浩幸：オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第4報），香川県産業技術センター研究報告，No. 25，95-96（2024）。

オリーブ葉を用いた後発酵茶の試作開発（第7報）

—秋冬番茶添加の効果および秋冬番茶後発酵茶の試作—

佐々原 浩幸

秋冬番茶を等量混合することで、オリーブ茶後発酵茶に比較して、苦味は強く感じたものの、慣れ親しんだお茶の苦味となったことで、嗜好性は高いものとなった。秋冬番茶を等量混合した場合、製造工程での麴菌の生育や生成される成分に大きな影響はなかった。乳酸発酵は生じたが、抑制されていた。

秋冬番茶を用いた後発酵茶では、カテキンの抗菌性により初期の麴菌生育に遅延が生じるものの、最終的には良好な製麴が可能であり、その過程での糖類の分解や乳酸発酵の進行、さらに強い渋みを持つガラート体カテキンの加水分解などを通じて、原料特有の苦渋味を緩和し、馴染みのある味質として高い嗜好性を実現できた。味認識装置の結果から味質の改善に関して明確とはならなかったが、秋冬番茶の後発酵茶では渋味・渋味刺激の値が大きく減少した。

1 緒言

前報¹⁻⁹⁾までに、オリーブの葉を用いた後発酵茶開発のために微生物の選択、小仕込み試験による製麴条件、仕込み期間の適正化、培養補助材の効果について検討し、後発酵茶開発のための知見を得た。

今回、オリーブ葉の茶（緑茶タイプ）が有する独特の苦味・渋味軽減化のため、秋冬番茶の利用について検討した。番茶の利用に関しては二番茶の生葉を混合し、それが有するポリフェノールオキシダーゼを用いて、オリーブ葉を発酵させることで、紅茶タイプの半発酵茶を試作した経緯がある²⁾。その際にオリーブ葉の苦味が増強される結果となり、試作品は味質改善のため、混合比は、オリーブ葉：番茶=1：4となった。

一方、本県には「高瀬茶」が県産ブランドとして存在するが、生産者の高齢化や茶の価格低迷等により、新茶以外は収穫しない生産者も多く、営農を継続するためにも収入の増加は不可欠であり、番茶の利活用、高付加価値化は急務である¹⁰⁾。

本報告では、これまでに得られた知見を基にオリーブ葉の苦味・渋味の緩和のための秋冬番茶の利用と「高瀬茶」の番茶の付加価値化を目的に秋冬番茶を用いた後発酵茶の小仕込み試験を行ったので、その結果について報告する。

2 実験方法

2.1 使用菌株

麴菌は *Aspergillus sojae* ATCC 200440 を使用した。乳酸菌は、前報で選定した *Lactobacillus* (*Lactiplantibacillus*) 属と推定される乳酸桿菌5株を用いた。

2.2 製麴（培養）条件

材料には粉砕した乾燥オリーブ葉（2025年産）および市販の秋冬番茶（2024年静岡県産）を用いた。

製麴は、オリーブ葉単独（①）、オリーブ葉と秋冬番茶を等量混合（②）、秋冬番茶単独（③）の試験区を設けた。それぞれ160%（w/w）の加水を行い、121℃で20分間オートクレーブ滅菌した。これに、PDA培地で培養した麴菌

から調製した孢子懸濁液（O.D. 600nm=100）を、乾燥重量に対して1%（v/w）接種した。培養温度は30℃とし、24時間および48時間目に手入れを行い、60時間で出麴とした。

2.3 仕込み

原材料換算で200%相当となるよう加水を行った。個別にMRS培地で培養した乳酸菌5株の培養液を等量混合し、これを0.1%（v/w）添加した。30℃で28日間静置し、発酵を行った。

2.4 試料調製および分析

経時的に試料を採取し、凍結乾燥後に粉砕して分析用試料とした。分析項目および手法は前報⁴⁾に準じた。

2.5 茶の調製および味覚評価

試作した後発酵茶は天日乾燥に付した。乾燥茶葉2gをティーバッグに封入し、100℃の熱水100mlで5分間抽出したものを評価用試料とした。味覚評価は、味認識装置「AS402B」を用いて味質（苦味・渋味等）を測定した。

3 結果と考察

3.1 麴菌の生育

それぞれの後発酵茶の製造過程における麴菌生育状況を、GlcNAc量を指標として検討した結果を図1に示した。麴菌の生育は、オリーブ葉単独の試験区①、およびオリーブ葉・秋冬番茶等量混合の試験区②については、ほぼ同じであり、培養24時間から48時間にかけてGlcNAc量が顕著に増加し、60時間以降は増加が緩慢となった。秋冬番茶単独の試験区③において、麴菌の生育が24時間程度、遅延する結果となった。また仕込み後も菌体量の増加が認められ、最終的な菌体量（GlcNAc量）は各試験区とも近似の値が得られた。なお図の横軸のAspは麴菌を、Lacは乳酸菌を表し、それに続く数字は経過（培養）時間（h：時間，w：週）を示している。

3.2 後発酵茶での糖類の推移

試験区①-③における糖類の推移を図2-図4に示した。図4から、秋冬番茶には33mg/gのスクロースが存在し、24時間で消失し、グルコースおよびフルクトースが

生じた。ガラクトースは製麹 48 時間で生成し、仕込み後は緩やかに減少した。オリブ葉に認められたキシロースやアラビノースは認められなかった。

試験区②の糖類の推移は、試験区①と試験区③の中間値に近似の値で推移した。

試験区③における麹菌生育の遅延は、少なくとも炭素源が原因ではない。緑茶抽出物の抗菌効果は食中毒細菌や一部の糸状菌で報告されており¹¹⁻¹⁴、カテキン類の抗菌性が一因ではないかと考えた。

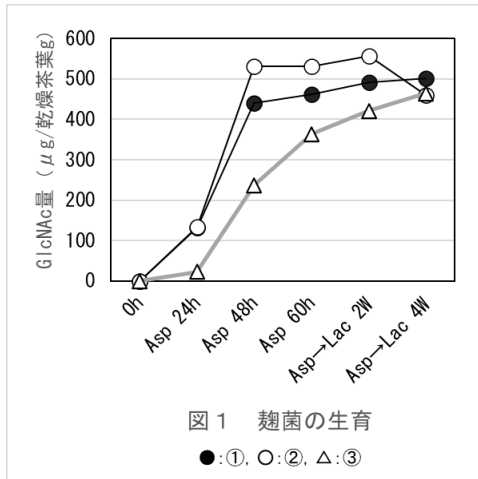


図 1 麹菌の生育
●:①, ○:②, △:③

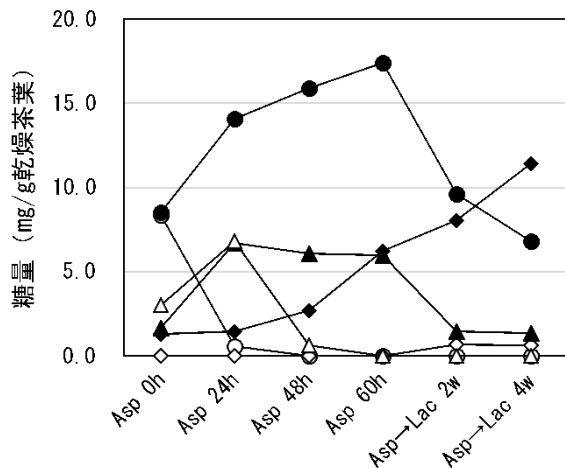


図 2 後発酵茶(①)の糖類の推移

グルコース (●), スクロース (○), ガラクトース (▲), フルクトース (△), アラビノース (◆), キシロース (◇)

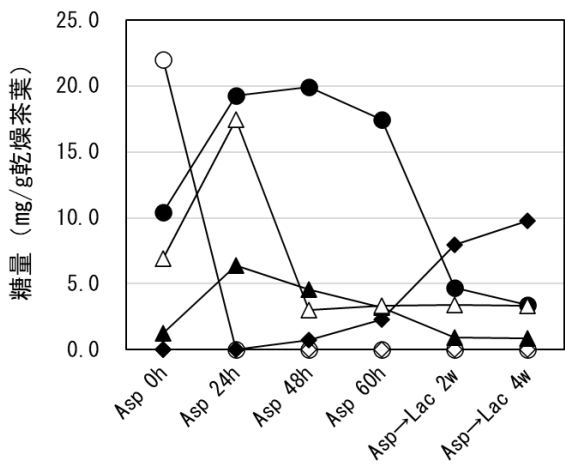


図 3 後発酵茶(②)の糖類の推移

グルコース (●), スクロース (○), ガラクトース (▲), フルクトース (△), アラビノース (◆), キシロース (◇)

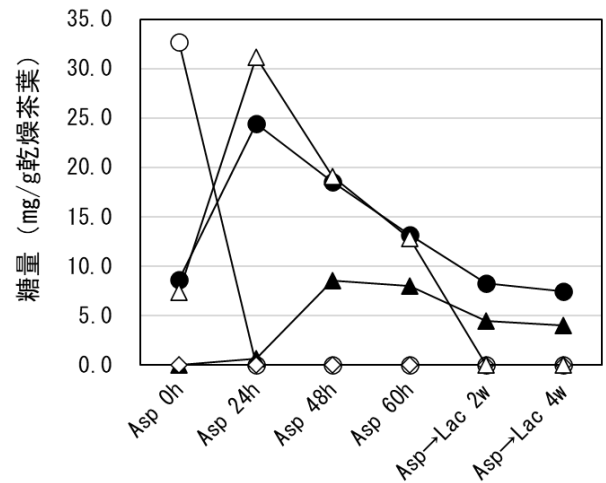


図 4 後発酵茶(③)の糖類の推移

グルコース (●), スクロース (○), ガラクトース (▲), フルクトース (△), アラビノース (◆), キシロース (◇)

3. 3 乳酸発酵とポリフェノールの動態

各試験区の乳酸の推移を図 5 に示した。本報告で使用した秋冬番茶は乳酸を 28 mg/g 含んでおり、この乳酸の存在が何に起因しているかは不明であった。試験区②の初期の乳酸量は 14 mg/g であり、混合比と一致している。

試験区②では 3 mg/g の乳酸が生成が認められ、試験区③では 16 mg/g の乳酸が生成していた。

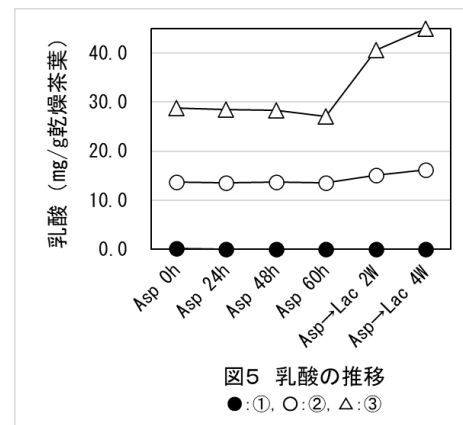


図 5 乳酸の推移
●:①, ○:②, △:③

緑茶のカテキン類は乳酸桿菌 (*Lactobacillus*) に対して抗菌性を有していることが知られており^{15,16}、一方で阿波番茶の乳酸発酵に関わる菌の主体は、*Lactobacillus* 属である。緑茶のカテキン類は、ガレート体カテキン(エピガロカテキンガレート (EGCg) やエピカテキンガレート (ECg)) が 70% を占めており、エピガロカテキンガレートに対する *Lactobacillus* 属の抗菌耐性は大きく異なることが報告されている¹⁷。また麹菌にて製麹することで、加水分解体カテキン(エピガロカテキン (EGC) ・エピカテキン (EC)) への分解が推定された¹⁸。秋冬番茶単独区において、製麹中の総ポリフェノール量は増加し、仕込み期間では減少しており、仕込み直後の総ポリフェノール量は、220 mg/g と高い (図 6)。一方でオリブ葉単独区においては、総ポリフェノール量は低い (110 mg/g) ものの乳酸発酵は完全に抑制されていた。前報⁴⁻⁹の結果も併せ、ポリフェノールの種類および量と共に、分解様式の差異も、乳酸発酵に大きく影響を及ぼすものと考えられた。

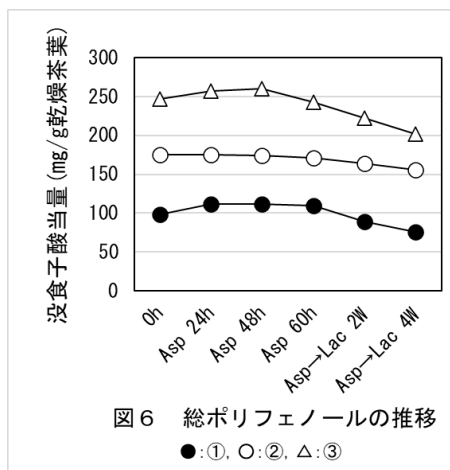


図6 総ポリフェノールの推移
●:①, ○:②, △:③

3. 4 茶の評価

オリーブ葉単独区①を比較対照として、味認識装置による発酵茶の苦味・渋味について検討した結果を図7に示した。官能評価では秋冬番茶単独区が苦味・渋味を強く感じたが、慣れ浸しんだ茶の苦味・渋味であったためか味質の評価自体は悪くなかった。苦味の強度は、③>②>①、嗜好性は③, ②, ①の順で良好と判断された。

味認識装置による比較では、②では苦味、苦味雑味、渋味、渋味刺激が正の値となり、③では苦味・苦味雑味が負の値となり、渋味・渋味刺激は②の値より更に増大した。

酸味に関しては乳酸量と反して、負の値となった。

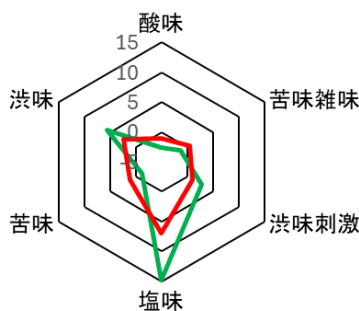


図7 秋冬番茶後発酵茶の味質
—: 等量混合区, —: 秋冬番茶単独区

緑茶の渋みであるカテキン類のうち、ガレート体カテキンは、加水分解体カテキンに比べて渋みが10倍以上であることが知られており、EGCgをEGCに、ECgをECに加水分解することにより渋みを軽減することが可能になるとされている¹⁸⁾。

比較対照を秋冬番茶(緑茶タイプ)とした場合、秋冬番茶単独の後発酵茶は苦味・苦味雑味が正の値となり、渋味・渋味刺激は、負の値となり、その値は大きいものであった(図8)。味認識装置の値で後発酵茶の苦味・渋味を評価することは困難であるが、微生物を用いた後発酵茶とすることで苦み・渋味の軽減は可能であると示唆された。

4 結言

秋冬番茶によるオリーブ葉後発酵茶の味質改善および秋冬番茶の高付加価値化のために後発酵茶を試作し、製

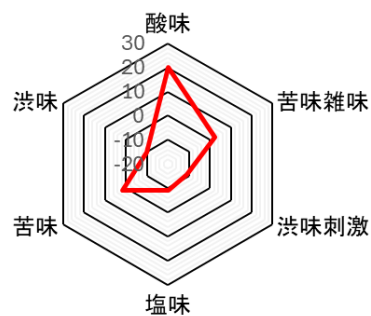


図8 秋冬番茶後発酵茶(③)の味質

造過程における菌の生育や成分変化、および味質評価について検討した。まず、麹菌の生育状況については、オリーブ葉単独区と比較し、秋冬番茶単独区では生育が約24時間遅延することが確認された。これは炭素源の不足ではなく、緑茶に含まれるカテキン類の抗菌性が影響していると考えられた。オリーブ葉・秋冬番茶等量混合区での麹菌の生育はオリーブ単独区のそれとほぼ同じであった。また最終的な菌体量はどの試験区①~③も同程度となり、秋冬番茶を用いることは、製麹では問題はなかった。

成分の変化については、秋冬番茶に含まれるスクロースが分解されてグルコースやフルクトースが生成された。ガラクトースは製麹48時間目に生成し、オリーブ葉で認められたキシロースやアラビノースは秋冬番茶単独区では認められなかった。

麹菌の作用によって強い渋みを持つガレート体カテキンが加水分解され、渋みの軽減に寄与している可能性が示唆された。また、乳酸発酵については、秋冬番茶単独区で最も進行したが、オリーブ葉単独区では完全に抑制されており、既報の結果も踏まえ、ポリフェノールの種類や分解様式の違いが乳酸菌の生育に影響を与えることが示された。

味の評価においては、秋冬番茶を用いた後発酵茶は苦味や渋味が強く残るものの、慣れ親しんだ味わいとして最も高い嗜好性を示した。味認識装置の結果からは、後発酵茶における苦味・渋味の低減を明確に示すことはできなかった。しかしながら後発酵というプロセスを経ることで、オリーブや緑茶本来の苦味や渋みを軽減し、その味質を変化させられることが明らかとなった。

参考文献

- 1) 稲津忠雄, 藤澤浩子: オリーブ葉及び茶葉を原料とした発酵茶製造方法の検討(第1報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 3, 85-87 (2002).
- 2) 稲津忠雄, 藤澤浩子: オリーブ葉及び茶葉を原料とした発酵茶製造方法の検討(第2報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 4, 94-96 (2003).
- 3) 末澤保彦: オリーブ葉及び茶葉を原料とした発酵茶製造方法の検討(第3報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 6, 102-105 (2005).
- 4) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の開発(第1報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 86-88 (2024).
- 5) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の開発

- (第2報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 89-90 (2024).
- 6) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の開発 (第3報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 91-94 (2024).
- 7) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の開発 (第4報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 25, 95-96 (2024).
- 8) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の開発 (第5報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 26, 63-67 (2025).
- 9) 佐々原浩幸: オリーブ葉を用いた後発酵茶の開発 (第6報), 香川県産業技術センター研究報告, No. 26, 68-70 (2025).
- 10) 難波和彦: 香川県三豊市高瀬町における茶産業の現状と課題, 農業食料工学会関西支部報, 126, 13, 759 (2019).
- 11) 小玉一務, 提坂裕子, 後藤正夫: 植物病原細菌および糸状菌に対するカテキンの抗菌活性, 日本植物病理学会報, 57, 306-311 (1991).
- 12) 戸田真佐子, 大久保幸枝, 生貝初, 島村忠勝: 茶カテキン類およびその構造類似物質の抗菌作用ならびに抗毒素作用, 日本細菌学雑誌, 45, 561-565 (1990).
- 13) 大久保幸枝, 戸田真佐子, 原征彦, 島村忠勝: 白癬菌に対する茶カテキンの抗菌・殺菌作用, 日本細菌学雑誌, 46, 509-514 (1991).
- 14) 原征彦, 石上正: 茶ポリフェノール類の食中毒細菌に対する抗菌効果, 日本食品工業学会誌, 36, 996-999 (1989).
- 15) 西山隆造, 小崎道雄: 乳酸菌の生育におよぼす緑茶抽出液の阻害作用について (その1), 日本農芸化学会誌, 48, 83-89 (1974).
- 16) 西山隆造, 小崎道雄: 乳酸菌の生育におよぼす緑茶抽出液の阻害作用について (その2), 日本農芸化学会誌, 49, 629-633 (1975).
- 17) 内野昌孝, 小山翔大, 高野克己: 徳島県産後発酵茶「阿波番茶」の微生物とポリフェノールについて, 日本食品保蔵科学会誌, 46, 63-69 (2020).
- 18) 渡辺祐子, 早川潔, 植野洋志: 麹菌による茶葉の呈味改善, 日本家政学会誌, 59, 999-1004 (2008).
- No. 25, 87-88 (2024).

大豆加工食品副産物の活用方法の検討

— おから入り甘酒への活用 —

松岡 博美, 浅井 貴子, 松原 梓, 西村 冴加, 山地 瑞穂

豆腐製造の際に生じる未利用資源であるおからを甘酒へ活用する可能性について検討を行った。その結果、乾燥おからを3%添加した甘酒は、従来の甘酒と比較して糖含量にほとんど差がない一方で、食物繊維含量が約5倍に増加することが明らかとなった。さらに、本甘酒にはおから由来の機能性成分である大豆イソフラボンも含まれることから、健康志向の消費者ニーズに対応した機能性飲料として活用できる可能性が示唆された。

1 緒言

豆腐製造工程では、おからや型崩れした豆腐が副産物として発生するが、水分が多く腐敗しやすいため、他の食品への利用は少ない。そのため、一部は飼料として利用されているものの、多くは産業廃棄物として廃棄されている。しかし、これらの副産物、特におからには食物繊維をはじめ植物性タンパク質や大豆イソフラボンなど、原料の大豆に由来する有効成分が豊富に含まれていることが知られている^{1, 2)}。これまでに、おからを有効活用するために、調味料の開発^{3, 4)}や食品への活用方法^{5, 6)}についてさまざまな検討が報告されている。

一方、伝統的な発酵食品である甘酒は「飲む点滴」とも呼ばれ、ぶどう糖やアミノ酸、ビタミンなどの栄養素が豊富に含まれていることから、近年の発酵食品ブームを背景に機能性飲料として再評価されている^{7, 8)}。

そこで、本研究では未利用資源であるおからを甘酒に活用することで、甘酒の機能性向上を図ることを目的として検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 原料

甘酒の原料は、市販の米（令和6年産香川県産おいでまい、香川県農業協同組合）、市販の甘酒用米麴（津久茂こうじ、津久茂発酵所製）、および蒸留水を用いた。生おからは県内企業より入手し、試験開始まで-20℃で冷凍保存した。試験には、冷凍した生おからを24時間凍結乾燥して粉碎した凍結乾燥おから粉末および解凍後100℃で3時間加熱乾燥して粉碎した加熱乾燥おから粉末を用いた。

2.2 甘酒の試作

米は米重量の1.3倍量の水を加え、家庭用炊飯器（株）日立製作所製で炊飯した。炊飯米、水および米麴のみを使用した「無添加区」と、無添加区に乾燥おからを加えた「おから区」の2種類の甘酒を試作した。各原料は表1の配合量に従い200 mL容のポリ容器に入れ、57℃、150 rpmに設定した恒温振とう培養機（タイテック（株）製）で加温振とうした。無添加区は7時間、おから区は加えた乾燥おからの糖化への影響を評価するため、1、3、5、7時間加温振とうした。加温振とう終了後、電子レンジ（シャープ（株）製）500 Wで60秒間加熱し、甘酒を調製した。さらに、乾燥おからの添加タイミングの影響を

評価するため、無添加区を7時間加温振とうした後に乾燥おからを添加した「+おから区」も調製した。試作した甘酒は、分析開始まで-20℃で保存した。

表1 試作甘酒の原料配合

		無添加区	おから区				+おから区
			1%	3%	5%	10%	
米	g	30	30	30	30	30	30
米麴	g	30	30	30	30	30	30
水	g	90	90	90	90	90	90
乾燥おから	g	-	1.5	4.5	7.5	15	4.5

2.3 成分分析

2.3.1 甘酒の糖分析

試作した甘酒の糖分析は、高速液体クロマトグラフ（株）島津製作所製で測定した。すなわち、試料2 gに50%エタノール水溶液8 mLを加え30分間超音波抽出を行った後、遠心分離（5,000 rpm, 10 min）し、上清を20 mLメスフラスコへ移した。抽出残渣についても同様の方法で抽出を行った後、50%エタノール水溶液で定容し、0.45 μmメンブランフィルターでろ過したものを分析に供した。カラムはTSKgel Amide-80（内径4.6 mm×長さ250 mm×粒子径5 μm）（東ソー（株）製）、移動相はアセトニトリル/水=75/25(v/v)、流速は1.0 mL/min、カラム温度は80℃とし、示差屈折計（RI）で検出した。

2.3.2 大豆イソフラボン分析

試作した甘酒の大豆イソフラボン分析は、高速液体クロマトグラフ（株）島津製作所製で測定した。すなわち、試料3 gに70%エタノール水溶液25 mLを加え室温で30分間振とう抽出を行った後、遠心分離（3,000 rpm, 5 min）し、上清を100 mLメスフラスコへ移した。抽出残渣についても同様の方法で2回抽出を行った後、70%エタノール水溶液で定容し、0.45 μmメンブランフィルターでろ過したものを分析に供した。カラムはMightysil RP-18 GP（内径4.6 mm×長さ250 mm×粒子径5 μm）（関東化学（株）製）、移動相Aはアセトニトリル/水/酢酸混液（15:85:0.1 v/v/v）、移動相Bはアセトニトリル/水/酢酸混液（35:65:0.1 v/v/v）を用いた。グラジエントの条件はA:B=100:0（0分）→0:100（50分）→100:0（70分）である。その他の条件として、注入量は10 μL、流速は1.0

mL/min, カラム温度は35°C, 検出波長は254 nm とした.

2. 3. 3 栄養成分分析

試作した甘酒の栄養成分は, 食品表示基準⁹⁾ に従い分析した.

2. 4 官能評価

試作した甘酒の官能評価は, 当センター職員 6 名で実施した.

3 結果と考察

3. 1 おからの乾燥条件の検討

入手した生おからは水分量が約 70% と高く, 保存性が低く, 吸水性も高いため, 生おからのままでは加工に適さない. そこで, 凍結乾燥と加熱乾燥により乾燥おからを調製した. 24 時間凍結乾燥した場合, 99.8 g の生おからから 28.2 g の乾燥おから (F) が得られ, 水分は 5.4% まで低減した. 一方, 100°C で 3 時間加熱乾燥した場合, 313.4 g の生おからから 91.2 g の乾燥おから (D) が得られ, 水分は 3.6% まで低減した. F および D を粉砕し粉末 F (FP) および粉末 D (DP) を調製し (図 1), それぞれ 1% および 3% の割合で添加した甘酒を試作したところ, FP より DP の方が膨潤しにくく扱いやすい傾向がみられた. また, 官能評価でも FP 添加甘酒より DP 添加甘酒の方が飲みやすく, 3% 添加でもそれほどザラつき感には気にならないという意見が多かった. したがって, 乾燥時間およびコスト面から, 加熱乾燥の方がより効率的であると判断し, 以降の試験には DP を用いた.



図 1 乾燥後のおから粉末
(左: 凍結乾燥, 右: 加熱乾燥)

3. 2 乾燥おからの配合割合の検討

次に DP の配合割合を検討するため, DP を 3%, 5%, 10% 添加して甘酒の試作を行った (図 2). その結果, 10% 添加では乾燥おからが水分を吸収し, 糖化が十分に進まず, 5% 添加ではペースト状になり, 飲む甘酒より食べる甘酒としての活用の可能性はあったが, 官能評価において, おから特有の臭いとザラつきが気になるという意見が多く, 添加量が多すぎると判断した. したがって, 今回の試験条件では DP の添加量は味および物性のバランスから 3% が最適であることがわかった.



図 2 乾燥おからの配合割合の異なる甘酒
(左から 0%, 3%, 5%, 10%)

3. 3 乾燥おからの添加タイミングの検討

乾燥おからの配合量が決定したため, 添加タイミングの異なるおから区と + おから区を調製し, 官能評価を行った. その結果, 味の違いはそれほど感じなかったが, 物性は + おから区の方がサラサラしていたという結果となった. また, 無添加区と比較しても, おから区はとろみがあり, 無添加区ではあまりみられなかった米もしくは米麴の粒が残っていたことから, おから添加により甘酒の糖化速度が緩やかになった可能性が推察された (図 3).

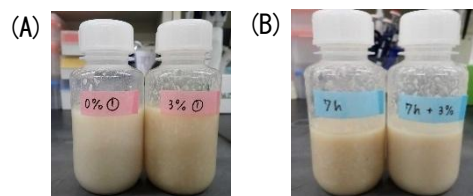


図 3 試作した甘酒

(A) 左: 無添加区, 右: おから区, (B) 左: おから区, 右: + おから区

3. 4 おから甘酒の糖化

甘酒の糖化を確認するため, 糖含量を測定した結果を図 4 に示した. 甘酒の糖含量は約 4% であり, 主成分はぶどう糖と麦芽糖であった. 無添加区および + おから区ではぶどう糖が約 70%, 麦芽糖が約 25% であったのに対し, おから区ではぶどう糖が約 60%, 麦芽糖が約 35% と, 麦芽糖の割合がやや高くなっていった. 甘酒の原料である米および米麴に含まれるでんぷんは, 麴由来の酵素により二糖類の麦芽糖や単糖のぶどう糖に分解される⁷⁾. さらに糖化が進むと麦芽糖もぶどう糖に分解されるため, ぶどう糖の生成が多くなると考えられる. 図 5 におから区の糖含量を経時的に測定した糖化変化を示した. 原料の段階でおからを添加しても糖化は順調に進み, ぶどう糖量および麦芽糖量が増加していることが確認できた. 一方で, 試作した甘酒の糖含量は無添加区とおから区で同程度であるのに対し, おから区の麦芽糖の割合が高かったことから, 無添加区と比べておから区は緩やかに糖化が進んでいると考えられ, 3. 2 の結果とも一致した. したがって, おから添加の場合は糖化時間を長くすることでぶどう糖の割合を高くすることができ, 甘さや物性を調整できると推察された.

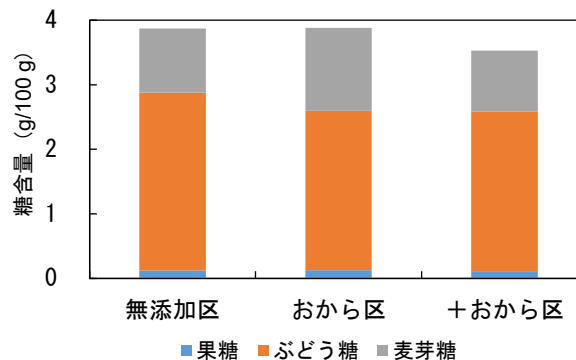


図 4 甘酒の糖含量

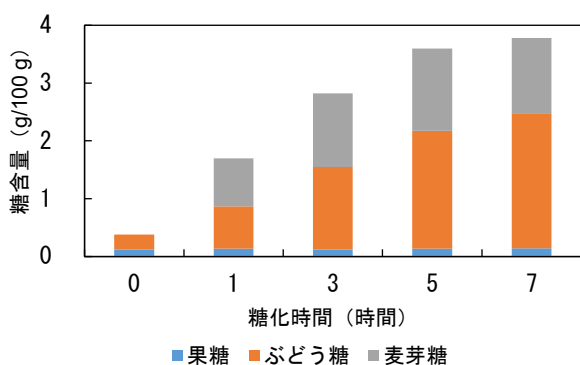


図5 おから区の糖含量の経時変化

3. 5 おから甘酒に含まれる大豆イソフラボン量

甘酒の大豆イソフラボン含量を測定した結果を図6に示した。おからを添加した試験区では大豆イソフラボン含量は約20 mg/100 gであったのに対し、無添加区では検出されなかった。甘酒中の大豆イソフラボンの組成については、ゲニステイン型とダイゼイン型が主成分であった。また、図7におから区の大豆イソフラボン含量を経時的に測定した結果を示した。原料段階でおからを添加した場合でも、多少の変動はみられるものの、分解されることなく安定して存在していることが確認できた。

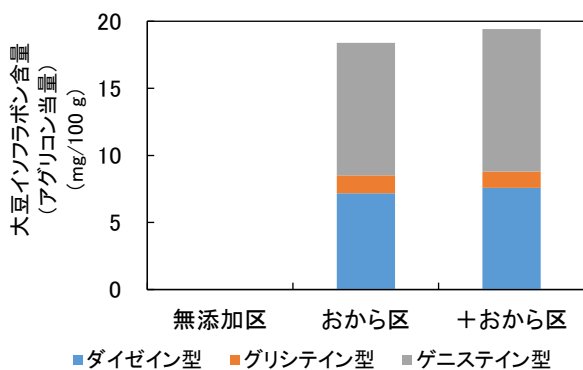


図6 甘酒の大豆イソフラボン含量

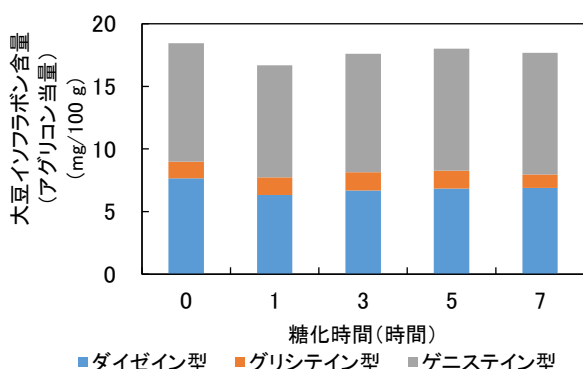


図7 おから区の大豆イソフラボン含量の経時変化

3. 6 甘酒の成分分析結果

表2に甘酒の成分値を示した。無添加区と比較して特に顕著な差がみられたのは食物繊維であり、おから区で約5倍に増加していた。今回使用した乾燥おからには60.3 g/100 gの食物繊維が含まれており、添加量に応じ

て甘酒中にはほぼそのまま残存していることが確認できた。また、おから区ではたんぱく質含量やカリウム含量も増加しており、これらの成分の増加もおから由来であると考えられた。このように、おから添加により食物繊維および栄養成分を効率的に強化できることが示され、健康志向の飲料として活用できる可能性が示唆された。

表2 試作甘酒の成分値(100 gあたり)

		無添加区	おから区
エネルギー	kcal	94	97
たんぱく質	g	1.9	2.4
脂質	g	0.2	0.3
炭水化物	g	21.4	22.3
糖質	g	21.0	20.1
食物繊維	g	0.4	2.2
水分	g	76.4	74.8
灰分	g	0.1	0.2
食塩相当量	g	0.01	0.01
カリウム	mg	18	58

4 結言

今回の試験では、乾燥おからを3%添加した甘酒を試作した。この甘酒は、通常の甘酒と比較して食物繊維が約5倍含まれており、さらに大豆イソフラボンも摂取できることから、健康志向の高い消費者ニーズに対応した機能性甘酒の商品開発への展開が期待される。

参考文献

- 1) 大竹嘉尚：食品副産物を利用した機能性食品の開発，茨城県工業技術センター研究報告，Vol. 23，pp. 28-31 (1994)。
- 2) 笠原貢，鎌田舞，児玉幸彦，林裕里子，石原浩二，益岡典芳：おからに含まれる機能性成分に関する研究，岡山理科大学紀要，Vol. 45，pp. 5-10 (2009)。
- 3) 櫻井正晃，佐藤茂，高和剛：茨城県産大豆由来のおからを用いた醤油風調味料の開発（第2報），茨城県工業技術センター研究報告，Vol. 42(2013)。
- 4) 越智洋，水谷政美，山本英樹，林幸男：オカラを原料とした麴を用いたシイラ魚醤油の製造，日本食品保蔵科学会誌，Vol. 40，No. 4，pp. 161-169 (2014)。
- 5) 遠山良，武山進一，笹島正彦，関村照吉，山口佑子：おからを使用した食品の製造，岩手県工業技術センター研究報告，Vol. 9 (2002)。
- 6) 豊嶋人実，西塔正孝，永井毅：豆腐製造副産物おからを用いた豆腐様食品の開発とその物理化学的特性ならびに官能特性，Vol. 72，No. 4，pp. 115-126 (2025)。
- 7) 倉橋敦：麴甘酒の成分・機能性・安全性，生物工学，Vol. 97，No. 4，pp. 190-194 (2019)。
- 8) 斉藤敦：甘酒のおいしさを探る（第2報），Vol. 15，pp. F7-F10 (2020)。
- 9) 食品表示基準について（平成27年3月30日消費表第139号）別添栄養成分等の分析方法等別添 栄養成分等の分析方法等。

大豆加工食品副産物のしょうゆ風調味料への利用

岡岡 博美, 藤川 護, 松原 梓, 浅井 貴子, 西村 冨加

大豆の代替原料として豆腐の製造工程で生じるおからおよび圧搾豆腐を用いてしょうゆ風調味料の試作を行った。原料段階におけるそれぞれのたんぱく質量から調味料の窒素量が予測できたため、原料配合の設定により調味料の窒素量をコントロールできる可能性が示唆された。官能評価において、おからを用いた調味料は色が薄く、香りや味も通常のしょうゆとは異なる特徴をもっていたが、圧搾豆腐を用いた調味料は通常のしょうゆと遜色ないことが明らかとなった。

1 緒言

豆腐製造工程ではおからや型崩れした豆腐が副産物として発生する。これらの副産物には原料の大豆に由来する有効成分が豊富に含まれていることが知られている^{1, 2)}が、水分が多く腐敗しやすく、保存性が悪いため、他の食品への利用は限定的である。そのため、一部は飼料として利用されているものの、多くは圧搾して産業廃棄物として廃棄されている。

これまでに、これらの副産物を有効活用するために、おからを用いた調味料の開発^{3, 4)}や食品への活用法^{1, 2)}についてさまざまな報告がなされているが、圧搾豆腐の活用法についての報告はみられない。

そこで、本研究では大豆の代替原料としておからおよび圧搾豆腐を用いたしょうゆ風調味料の試作を行い、新たな活用方法について検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 もろみの調製、熟成

県内企業から入手した生おからおよび圧搾豆腐は試験開始まで-20℃で冷凍保存した。冷蔵庫内で一晚(約16時間)浸漬した丸大豆および解凍した生おからおよび圧搾豆腐は、121℃、30分間オートクレーブ処理後、室温となるまで自然放冷した。小麦はフライパンで焙煎後、割砕した。これらをこいくちしょうゆの原料配合⁵⁾を参考にして、表1の配合比で混合した後、種麴(バイオック社製「種麴 旨味(醤油作り用)」)を添加し製麴した。

表1 麴の原料配合

	乾物重量(g)				種麴
	丸大豆	生おから	圧搾豆腐	小麦	
大豆区	216 (468)	-	-	225	0.9
おから区	-	201 (675)	-	225	0.9
豆腐区	-	-	151 (675)	225	0.9

()は湿重量

製麴は不織布を敷いたかごに厚さ約3 cmに盛りこみ、図1の条件で調温調湿し、開始49時間後を出麴とした。手入れは製麴開始から18時間後と24時間後の2回行っ

た。

仕込み方法は全量麴とし、冷却した飽和食塩水(塩分約26%)を720 mL、乳酸菌用醤油培地で3日間培養した醤油乳酸菌(*Tetragenococcus halophilus*)培養液0.72 mLを加えてよく攪拌し、適宜攪拌しながら10℃に静置した。おから区は麴と塩水の混ざりが悪かったため、塩水200 mLおよび乳酸菌培養液0.2 mLを追加した。21日目からもろみ温度を徐々に上げていき、もろみのpHが5.3未満となっていることを確認後、酵母用醤油培地で3日間培養した醤油酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)培養液をおから区は28日目に14 mL、大豆区および豆腐区は31日目に12 mL加えてよく攪拌した。その後、適宜攪拌を続けながら、30℃で6か月間熟成させた。

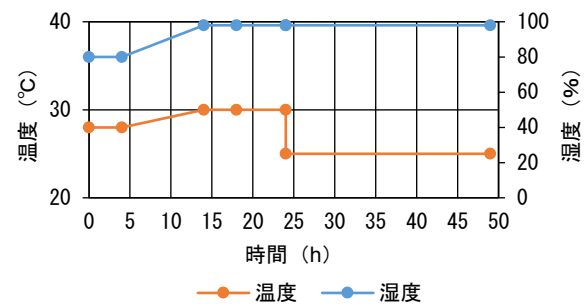


図1 製麴条件

2.2 ろ過

熟成が終了したもろみは、遠心分離後上澄みをガーゼでろ過し、試作調味料とした。

2.3 全プロテアーゼ活性測定

全プロテアーゼ活性は、しょうゆ試験法⁶⁾により分析した。

2.4 成分分析

各試作調味料の全窒素・塩分・無塩可溶性固形分・pHは、しょうゆ試験法⁶⁾により分析した。有機酸、グルコースおよびアルコールは栄養表示基準⁷⁾により分析し、アミノ酸はOPA-ポストカラム法⁸⁾により分析した。

2.5 官能評価

試作調味料の官能評価は、当センターの職員および県内外の食品製造事業者・大学職員等の計23名で実施した。おから区および豆腐区の味と香りについて、大豆区と比較したときの差異の有無と、大豆区の味および香りをそ

それぞれ3点とした際のおから区および豆腐区について、点数が小さいほど高評価になるよう1~5点の5段階で評価した。

3 結果と考察

3.1 原料の成分比較

原料の水分およびたんぱく質を表2に示した。通常こいくちしょうゆの麴の原料配合は大豆と小麦を等量とする⁵⁾ところ、今回の試験では理論上たんぱく質がおから区は大豆区の約1/2、豆腐区は大豆区と同等となるようにしたところ、おからおよび圧搾豆腐の配合量を湿重量で小麦の3倍量となった。

表2 原料の水分およびたんぱく質量

	水分	たんぱく質
	g/100 g	
丸大豆	8.4	34.7
生おから	70.2	5.5
圧搾豆腐	77.7	11.7
焙煎小麦	3.2	14.0

3.2 麴の酵素活性の比較

製麴した麴(図2)の全プロテアーゼ活性を表3に示した。おから区および豆腐区の全プロテアーゼ活性は大豆区と比べて同等以上となっていたため、今回の製麴条件においておから麴および豆腐麴が調製可能であることが確認できた。

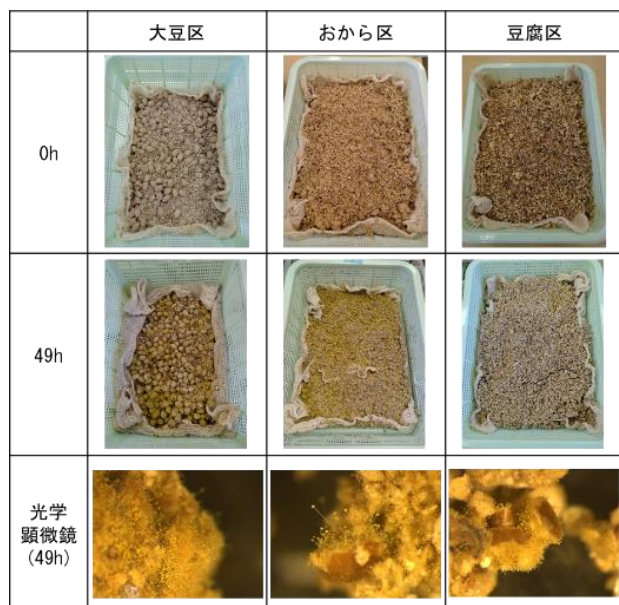


図2 出麴の写真

表3 全プロテアーゼ活性

	units/g
大豆区	230
おから区	380
豆腐区	250

3.3 もろみの比較

図3にもろみの経時変化を示した。0.5か月経過後のもろみでは全試験区で酵母による発酵が進んでいる様子が確認できた。おから区については徐々に塩水と麴がなじみペースト状となっていた。3か月経過後のもろみでは発酵が落ち着き始め、大豆区および豆腐区では固形物が分解されている様子も確認できた。その後、熟成が終了する6か月後まで全試験区において産膜酵母の発生は認められなかった。

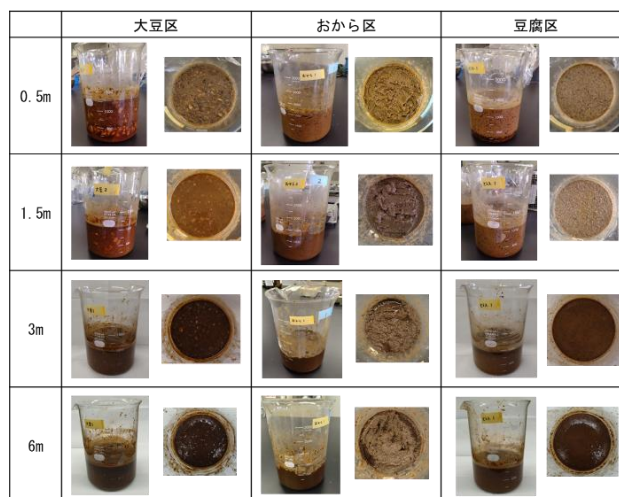


図3 もろみの経時変化の様子
(上から0.5か月後, 1.5か月後, 3か月後, 6か月後)

3.4 試作調味料の成分比較

表4に試作調味料の成分値を示した。全窒素量は当初の想定どおり、おから区は大豆区の約1/2、豆腐区は大豆区と同等となっていた。したがって、原料のたんぱく質量から調味料の全窒素量を予測することができると推察された。大豆区と比較しておから区および豆腐区で塩分濃度は高くなっていた。おから区の塩分濃度については、もろみの初期段階で塩水を追加したことが影響したと考えられた。豆腐区については、しょうゆ試験法による塩分測定は、塩化物イオンを測定することから、豆腐の原料のにがりの影響を受けた可能性が考えられた。そのため、原子吸光法により測定したナトリウム量から食塩分を換算したところ⁷⁾、大豆区は17.5 g/100 g、豆腐区は19.8 g/100 gとなり、こちらの方法でも豆腐区で高い結果となっていた。既報⁹⁾においても今回同様、圧搾豆腐を用いた調味料は通常しょうゆと比べて塩分濃度が高くなっていたが、今回もその理由は明らかにはならなかつ

表4 試作調味料の成分値

	大豆区	おから区	豆腐区
	%		
全窒素	1.45	0.75	1.56
塩分	18.67	22.75	22.55
無塩可溶性固形分	18.3	10.8	16.7
アルコール	1.84	1.14	1.39
pH	4.52	4.40	4.76

表5 試作調味料の有機酸量

	mg/100 mL					
	クエン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸	ピログルタミン酸
大豆区	34	21	44	56	120	570
おから区	-	90	34	-	18	330
豆腐区	-	-	24	15	26	660

表6 試作調味料のアミノ酸量

	mg/100 mL																	
	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	GABA	Lys	His	Arg
大豆区	570	260	350	750	380	190	290	-	340	60	330	480	74	320	26	360	120	440
おから区	230	140	160	240	170	89	150	-	170	25	140	190	39	150	31	160	57	180
豆腐区	620	270	380	730	370	210	320	-	380	66	370	540	59	330	19	340	110	440

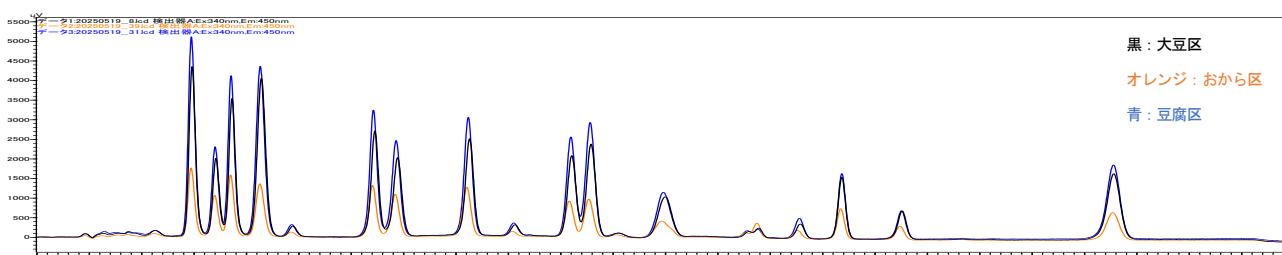


図4 試作調味料のアミノ酸のクロマトグラム

た。一方で、大豆区と比較しておから区および豆腐区のアルコール濃度が低いのは、試作調味料の塩分濃度が高いため酵母による発酵が抑制され、アルコールの生成が低くなったためと推察された。

表5に試作調味料の有機酸量を示した。全試験区で乳酸量が低い傾向がみられ、今回の試験では乳酸発酵がうまく進まなかった可能性が示唆された。

表6に試作調味料のアミノ酸量を示した。大豆区と豆腐区のアミノ酸量については同程度であり、おから区は他の試験区の約1/2となっていた。したがって、試作調味料に含まれるアミノ酸量は全窒素量と相関があると推察された。アミノ酸組成については図4に示すとおり、全試験区で差異はなかった。

図5に醸造中のグルコース量の経時変化を示した。試作調味料のグルコース量は、大豆区で0.84 g/100 mL、おから区で0.10 g/100 mL、豆腐区で2.60 g/100 mLで

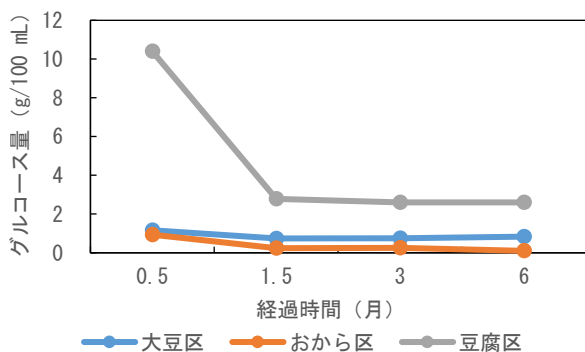


図5 醸造中のグルコース量の経時変化

あり、おから区でグルコースはほぼ残っておらず、豆腐区で多くなっていた。豆腐区では初発からグルコース量が他の試験区に比べて多いことが影響したと考えられた。

3.5 官能評価

図6に試作調味料を示し、官能評価の結果を表7に示した。大豆区と比較しておから区では香り、味ともに違いを感じる人が多かったが、豆腐区ではほぼ同数であり、おから区ほど違いを感じる人はいなかった。

また、評価点数は大豆区の69点(3点×23人)を基準とし、香り・味ともに、大豆区、豆腐区、おから区の順で評価が高くなっていた。



図6 試作調味料
(左：大豆区，中：おから区，右：豆腐区)

表7 官能評価の結果

	香り			味		
	違い		評価 点数	違い		評価 点数
	有	無		有	無	
おから区	17	6	7.4	21	2	7.8
豆腐区	13	10	7.3	12	11	7.3

4 結言

本研究では、大豆加工食品副産物であるおからおよび圧搾豆腐を用いて、しょうゆ風調味料の試作を行い、大豆の代替原料としての活用方法を検討した。その結果、おからを用いた調味料は通常のしょうゆと比較して窒素量が低く、薄い色の調味料となり、圧搾豆腐を用いた調味料は、通常しょうゆと似た特徴をもつ調味料となった。おからは豆腐と比較してたんぱく質量が低いと、他のたんぱく質源となる原料と合わせることで窒素量の多い調味料を開発している事例^{10, 11)}もあり、おからを活用するためには今後さらなる検討が必要である。一方で、豆腐は圧搾具合を調整することでたんぱく質量を管理できれば、それを原料とした調味料の窒素分をコントロールできる可能性が示された。また、従来豆腐は冷凍保存に適さない食品であるが、本試験では冷凍保存した豆腐でも大豆と同様の扱いが可能であり、窒素源として利用できることが明らかとなった。したがって、しょうゆ醸造においては現在未利用資源となっている豆腐を冷凍保存することで、原料の安定供給につながり、大豆代替原料となる可能性が大いに期待できることが示された。

謝辞

本研究の実施にあたり、しょうゆ醸造全般にわたるご指導をいただいた産業技術センター食品研究課大西茂彦課長ならびにご助言をいただいた佐々原浩幸主任研究員に深謝いたします。

参考文献

- 1) 大竹嘉尚：食品副産物を利用した機能性食品の開発，茨城県工業技術センター研究報告，Vol. 23，pp. 28-31 (1994)。
- 2) 秋山聡子，池田昌代，鈴野弘子：おから粉末を利用した魚肉つみれの高齢者向け介護食品としての品質評価，日本調理科学会誌，Vol. 52，pp. 249-257 (2019)。
- 3) 白川武志，田村桂子，上枝加代子，香川典子：オカラ醤油の仕込み—オカラの再利用—，香川県産業技術センター研究報告，Vol. 2，pp. 98-100 (2001)。
- 4) 櫻井正晃，佐藤茂，高和剛：茨城県産大豆由来のオカラを用いた醤油風調味料の開発（第2報），茨城県工業技術センター研究報告，Vol. 42 (2013)。
- 5) 東和男編著：発酵と醸造 I (2002)。
- 6) 財団法人日本醤油研究所，しょうゆ試験法 (1985)。
- 7) 食品表示基準について（平成 27 年 3 月 30 日消費表第 139 号）別添栄養成分等の分析方法等別添 栄養成分等の分析方法等。
- 8) 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。
- 9) 松岡博美，藤川護，松原梓，浅井貴子，西村冨加，久保和子：大豆加工食品副産物の活用方法の検討—豆腐しょうゆ醸造の可能性調査—，香川県産業技術センター研究報告，Vol. 25，pp. 101-103 (2024)。
- 10) 土佐典照：アナゴ残渣および脱脂粉乳を利用した調味料の試作，島根県産業技術センター研究報告，Vol. 46，pp. 33-37 (2010)。
- 11) 越智洋，水谷政美，山本英樹，林幸男：オカラを原料とした麴を用いたシイラ魚醤油の製造，日本食品保蔵科学会誌，Vol. 40，No. 4，pp. 161-169 (2014)。

出汁抽出に及ぼすファインバブル水の影響

石井 宏志, 山地 瑞穂

出汁抽出の効率化を目的として、ファインバブル水を用いた場合のイノシン酸抽出挙動について調査した。その結果、低温条件下での出汁抽出において、ファインバブル水を使用することで、イノシン酸の抽出効率が向上する可能性が示唆された。

1 緒言

香川県の伊吹島周辺海域で漁獲されるカタクチイワシは、本県を代表する水産加工品「伊吹いりこ」の原料として利用されている。いりこから得られる出汁は讃岐うどんにも広く利用されており、豊富に含まれるイノシン酸に由来する旨味が特長である。イノシン酸は魚介類や肉類に含まれる核酸で、いりこの他にも、鰹節や鮪、鯖といった素材に多く含まれる。

いりこから出汁を抽出する際には、加熱による抽出や長時間の浸漬が必要であり、多くの燃料や作業時間を要する。近年、エネルギーコストの上昇等もあり、これらは生産現場における負担の一因となっており、出汁をより効率的に抽出する技術の確立は、生産者の負担軽減につながるものと期待される。

「ファインバブル (Fine Bubble)」とは、単に小さい泡 (微細気泡) とは異なり、ISO 20480-1 および JIS B 8741-1 で定義された固有名称であり、粒子径 100 μm 未満の気泡を指す¹⁾。このファインバブルは、微細な気泡が隙間に入り込み汚れを浮かせることで洗浄効果を発揮することが知られており、主として洗浄分野での利用が進んでいる²⁾。

一方、食品分野においても、酸化防止を目的としてオイルに窒素バブルを吹き込むことで油中の酸素濃度を低減することや、ファインバブル水 (以下、FB 水) を用いて出汁を抽出することで出汁感や旨味が向上することが報告されている^{3, 4)}。しかし成分含量に言及されているものは多くない。

そこで本研究では、いくつかの原料に関して、出汁抽出に FB 水を用いた場合の抽出効率への影響について、イノシン酸量を指標として検討を行った。

2 実験方法

2. 1 試料

イノシン酸を豊富に含む試料として魚介類の中から、鰹節、いりこおよび鯖節を選定した。鰹節および鯖節は県内企業から提供されたものを使用し、いりこは市販の伊吹島産煮干しいりこを使用した (図 1)。

2. 2 FB 水の調製

FB 水の調製は、ステンレス製両手鍋に貯留した蒸留水 3 L をマグネットポンプ MD-30R (株式会社イワキ製) により循環させ、その循環過程でファイン



図 1 試料 (左から鰹節, いりこ, 鯖節)

インバブル発生器 FB-S15A (株式会社坂本技研製) に 5 分間通水することにより行った。低温の FB 水を調製する場合は、あらかじめ冷蔵庫で冷却した蒸留水を用いて同様に調製した。

2. 3 出汁の抽出

出汁の抽出は 3 種類の方法で行った。常温の蒸留水または FB 水に試料を添加し、その後加温または冷却により抽出を行う方法をそれぞれ「加温抽出」、「冷却抽出」とした。さらに、衛生面のリスクを考慮し、あらかじめ冷却しておいた蒸留水または FB 水に試料を添加し、冷水のまま抽出を行う方法を「冷水抽出」とした。

2. 3. 1 加温抽出

100 mL 容メディウム瓶に常温の蒸留水または FB 水 100 mL と試料約 5.0 g を加え、湯浴中に静置した状態で加熱した。液温が 70°C に達した後 15 分間保持し、合計 22 分間抽出を行い、適宜攪拌およびサンプリングを実施した。

2. 3. 2 冷却抽出

50 mL 遠沈管に常温の蒸留水または FB 水 50 mL と試料約 2.5 g を加え、転倒混和した後、冷蔵庫内で 8 時間静置して抽出を行い、適宜攪拌およびサンプリングを実施した。

2. 3. 3 冷水抽出

あらかじめ冷却しておいた蒸留水または FB 水 (約 10°C) に試料を加え転倒混和した後、冷蔵庫内で 8 時間静置して抽出を行い、冷却抽出と同様に適宜攪拌およびサンプリングを実施した。

2. 4 イノシン酸の分析

得られた出汁 1.0 mL を 0.45 μm メンブレンフィルター (セルロースアセテート製) でろ過し、表 1 に示す分析条件で HPLC 分析に供した。得られたピーク面積を基に濃度を算出し、3 回測定した平均値を結果として示した。

表 1 HPLC 分析条件

カラム	Shim-pack WAX1(島津製作所製) (内径 4.0 mm x 長さ 50 mm, 粒子径 3 μm)
移動相	50 mM リン酸-カリウム溶液(pH3.1)
流速	0.8 mL/min
オーブン	50°C
検出	UV260 nm
注入量	10 μL

2. 5 統計処理

測定結果について、Microsoft 365 Excel の分析ツール（日本マイクロソフト株式会社製）を用いて t 検定を行い、蒸留水と FB 水間の有意差検定を実施した。

3 結果と考察

3. 1 イノシン酸抽出に及ぼす温度の影響

蒸留水と FB 水を使用した際の抽出効率の差異について、加温抽出と冷却抽出で確認を行った。

3. 1. 1 加温抽出

鰹節を加温抽出した際の抽出時間の経過に伴うイノシン酸濃度の変化を図 2 に示す。FB 水を使用した場合、蒸留水と比較してイノシン酸濃度はやや低い傾向が認められたものの、抽出開始後 2 分と 4 分以外では両試験区に有意差は認められなかった。

以上の結果から、加温抽出においては、FB 水の使用による抽出効率の向上は明確には認められなかった。

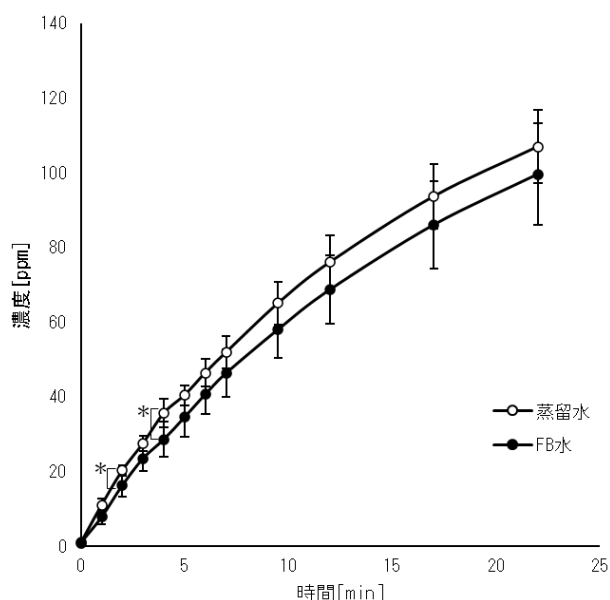


図 2 鰹節の加温抽出におけるイノシン酸濃度の経時変化 (*, $p < 0.05$, $n=3$)

3. 1. 2 冷却抽出

鰹節を冷却抽出した際の抽出時間の経過に伴うイノシン酸濃度の変化を図 3 に示す。FB 水を使用した場合、蒸留水と比較して抽出されるイノシン酸濃度が高くなる傾向が認められ、180 分以降で有意に FB 水中のイノシン酸濃度が高かった。

また、蒸留水で 8 時間抽出した出汁のイノシン酸濃度と、FB 水で 3~4 時間抽出した出汁のイノシン酸濃度が同程度であったことから、FB 水を使用することで約 4~5 時間の抽出時間短縮が可能であることが示唆された。

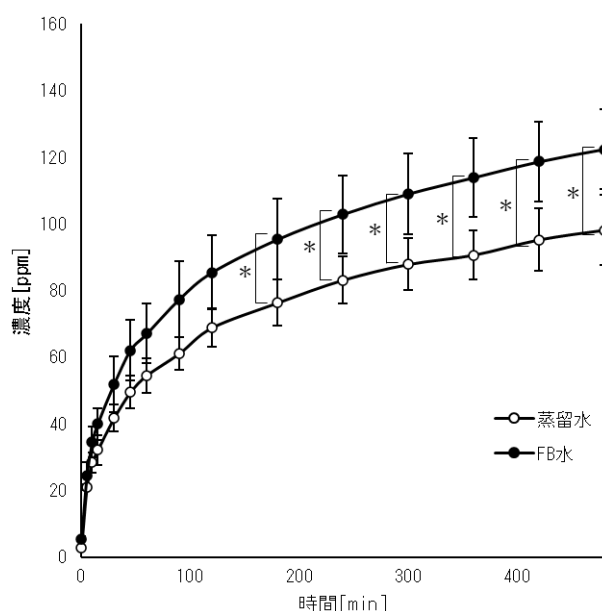


図 3 鰹節の冷却抽出におけるイノシン酸濃度の経時変化 (*, $p < 0.05$, $n=3$)

以上の結果から、冷却抽出においては、FB 水の使用により抽出効率が向上する可能性が示唆された。

3. 2 冷水抽出における各試料からのイノシン酸濃度

次に衛生面のリスク低減や、抽出時間短縮効果の大きさを考慮し、冷水抽出で検討を行った。試料に鰹節、いりこおよび鯖節を用いて冷水抽出を行い、抽出されるイノシン酸濃度を比較した。

3. 2. 1 鰹節を用いた冷水抽出

鰹節を用いた冷水抽出における抽出時間の経過に伴うイノシン酸濃度の変化を図 4 に示す。FB 水を使用した場合、蒸留水と比較して有意差は認められなかったものの、イノシン酸濃度が高くなる傾向であった。また、同程度の濃度に到達する時間を比較すると、FB 水では約 2 時間程度抽出時間が短縮される可能性が示唆された。

3. 2. 2 いりこを用いた冷水抽出

いりこを冷水抽出した結果を図 5 に示す。FB 水を使用した場合、蒸留水と比較して有意差は認められなかったものの、イノシン酸濃度が高くなる傾向が認められた。また、FB 水では同程度の濃度に到達するまでの時間が約 2 時間程度短縮される可能性が示唆された。

3. 2. 3 鯖節を用いた冷水抽出

鯖節を冷水抽出した結果を図 6 に示す。FB 水を使用した場合、蒸留水と比較して有意差は認められなかったが、イノシン酸濃度が高い傾向となった。

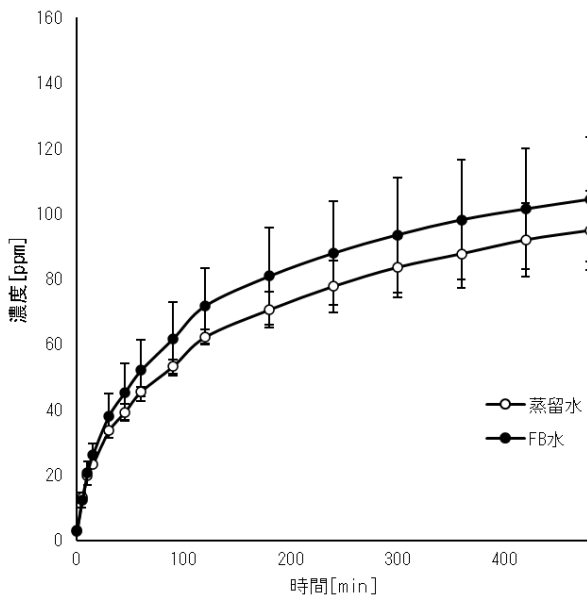


図4 鯉節の冷水抽出におけるイノシン酸濃度の経時変化

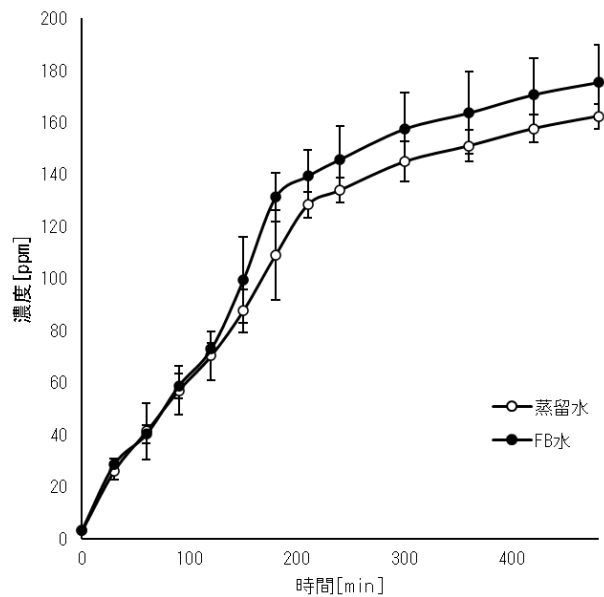


図6 鯖節の冷水抽出におけるイノシン酸濃度の経時変化

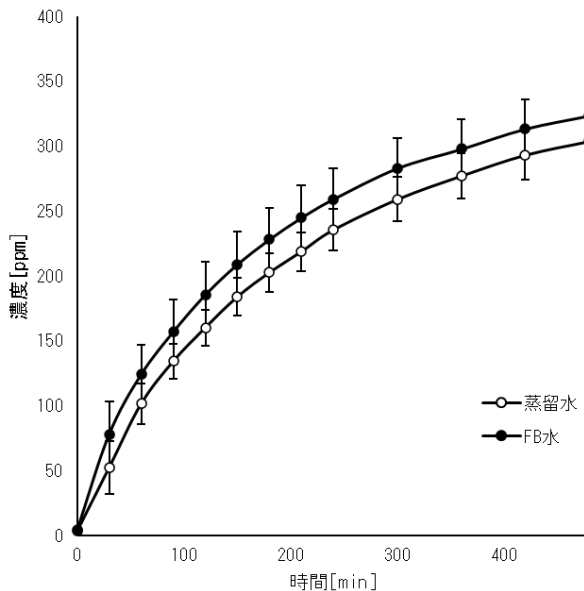


図5 いりこの冷水抽出におけるイノシン酸濃度の経時変化

一方で抽出の初期段階に着目すると、鯉節やいりこと異なり、抽出開始後 120 分までは蒸留水と FB 水の抽出濃度が同程度であった。これは、図 1 に示したように鯖節は試料片が細かいため抽出効率が高く、蒸留水と FB 水で差異が生じにくかったためと推察された。

以上の結果から、冷水抽出においては、全ての試料で有意差は認められなかったものの、FB 水を用いた場合にイノシン酸濃度が高くなる傾向が認められた。また、同程度の濃度に到達するまでの時間は、FB 水を用いた場合、概ね 2 時間程度短縮される可能性が示唆された。

4 結言

本研究では、鯉節、いりこおよび鯖節を対象に、イノシン酸を指標として出汁抽出におけるファインバブル水の影響について検討した。その結果、低温条件下で FB 水を用いることにより抽出されるイノシン酸の濃度が高くなる傾向が認められ、抽出効率が向上する可能性が示唆された。したがって、出汁抽出に要する時間が短縮でき、細菌繁殖リスクの低減や、作業時間の短縮につながる可能性が期待できる。

今後は、抽出効率のみならず、原料使用量の削減や品質向上などの観点から、出汁抽出工程全体に対するファインバブル水の影響について総合的に評価していく必要がある。

謝辞

本研究を実施するにあたり、試料を提供していただいた鎌田醤油株式会社様、ご助言いただきました高知工業高等専門学校秦様、株式会社坂本技研山本様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) ISO20480-1: Fine bubble technology -- General principles for usage and measurement of fine bubbles -- Part 1: Terminology
- 2) 一般社団法人ファインバブル産業界 (FBIA): <https://fbia.or.jp/fine-bubble/fine-bubble-knowledge/> (検索日: 2026. 3. 6).
- 3) 日清オイリオグループ株式会社: <https://www.nisshin-oillio.com/healthy-clear/> (検索日: 2026. 3. 6).
- 4) ダイタン商事株式会社: <https://fujisoba.co.jp/news/entry/entry001991.html> (検索日: 2026. 3. 6).

希少糖アルロースがモデル食品の味質および粘度変化に及ぼす影響

三好 美玖, 佐々原 浩幸, 木村 功, 太田 万里江, 大西 茂彦, 稲津 忠雄

本研究では、モデル食品（レモンティーと田楽味噌）を試作し、希少糖アルロースが味質・物性に及ぼす影響をショ糖等と比較検討した。レモンティーの官能評価では、アルロース区で酸味・渋味が相対的にやや強く感じられ、総合的な嗜好性ではショ糖と同程度の結果を示したが、味認識装置による分析では、酸味・渋味で差は示さなかった。各種糖溶液（Brix 50%）の粘度測定（40℃）では、アルロースが最も低い値を示した。一方、田楽味噌の調味液は、加熱前から非ニュートン流体の性質を示し、加熱により粘度は上昇し、アルロースは他の糖と比較して低い粘性を示した。

1 緒言

近年、希少糖アルロースについて健康機能¹⁻³⁾や食品加工^{4,5)}に関する研究が進んでいる。これまで希少糖含有シロップ（Rare Sugar Syrup: 以下、RSS と略す）は、14%（固形値あたり）の希少糖を含む液糖⁶⁾として様々な食品に利用されてきたが、高純度のアルロースの供給が可能になったことで、既存製品の付加価値向上や新製品の開発を目的に、RSS からアルロース純品への切り替えが検討・実施されるようになってきた。

しかし、液状品である RSS と粉末状のアルロースでは、食品に与える味や物理的特性が異なる可能性がある。RSS は複数の希少糖を含むためシロップ全体として砂糖と同程度の甘味で様々な風味改善効果を示す⁷⁾のに対し、アルロースは、さっぱりとした甘味や、異なる溶解度を有する⁸⁾。これらの特性差は、食品製造現場における配合比や加工工程の調整に直接影響し、企業の試作効率を低下させる課題となっている。

このような背景の下、希少糖を含む各種糖類が食品の物性や味に及ぼす影響を明らかにすることは、今後の食品開発や品質保持に極めて重要である。そこで本研究では、県内企業が新しい食品を開発する際の科学的根拠となるデータを提供するため、糖の味や物性への影響を調べた。

2 実験方法

2.1 材料

糖は、ショ糖（スプーン印グラニュー糖、DM 三井製糖（株））、アルロース（ASTRAEA、松谷化学工業（株））、RSS（Rare Sugar Sweet、松谷化学工業（株））、グルコース（含水結晶ぶどう糖、（株）サナス）、フルクトース（果糖、ウェルネオシュガー（株））、ブドウ糖果糖液糖（フジフラクト F-100、日本食品化工（株））を用いた。また紅茶の調製には、リプトン・ティーアンドインフュージョン・ジャパン（株）製の茶葉（イエローラベル）、田楽みその調製には、本みりん（タカラ本みりん、宝酒造（株））、味噌（赤中みそ、（有）中屋醸造所）を用いた。

2.2 レモンティーをモデルとした味の評価

アルロースには甘味を付与するだけでなく、渋味や酸味の立ち上がりを速め、後味のキレを良くする効果が報告⁸⁾されている。レモンティーは、茶葉の渋味と果

汁の酸味、甘味のバランスが重要な飲料である。従って、このフレーバーバランスの変化がアルロース使用時の味質全体に影響すると考えられた。また神ら⁹⁾は、アルロースを使用した寒天菓子の官能評価において、甘味度の差が嗜好性に影響を与えることを報告している。そこで本研究では、甘味の差が嗜好性に影響しないよう、甘味度を揃えたレモンティーを用いて検討を行った。

2.2.1 試料調製

紅茶にショ糖 7%（w/v）を添加した場合と同等の甘味度になるよう 5 種類のレモンティーを調製した。比較基準としてショ糖 7%（w/v）溶液を対照区とし、その他の試験区は各糖類の甘味度（ショ糖 1.0、アルロース 0.7、ブドウ糖果糖異性化糖および RSS 0.9）に基づき甘味度を揃えて調製した。そのため、試験区は、それぞれショ糖区；ショ糖 7%、ショ糖・アルロース併用区；ショ糖 5%+アルロース 2%、ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区；ブドウ糖果糖液糖 6%+アルロース 2%、RSS 区；RSS 8%、アルロース区；アルロース 10%とした。

2.2.2 味認識装置を用いた味の評価

レモンティーの味は、味認識装置 SA402B（（株）インテリジェントセンサーテクノロジー）を用いて測定した。味覚の分析には、5 つのセンサ、CA0（先味：酸味）、AE1（先味：渋味刺激、後味：渋味）、GL1（甘味）を使用し、3 回の測定による平均値を算出した。また、レモンティーは酸味が強く甘味強度に影響が考えられたため、解析には酸味の影響を除くため酸味補正をおこない、甘味強度を算出した。

2.2.2 官能評価

レモンティーの官能評価は、評点法および順位法により実施した（20~60 代男女 22 名）。評点法では、5 試験区のレモンティーについて、酸味や渋味を 5 段階（1 点；ない、2 点；少しない、3 点；普通、4 点；少しある、5 点；非常にある）で評価した。順位法では、評点法と同じ 5 試験区を評価した。総合的に好ましい方から順位を付けた。

2.2.3 統計解析

統計解析には、「4Steps エクセル統計」第 4 版（柳井久江、オーエムエス出版、2022 年）に付属の統計解析ソフト「Statcel 4」を使用した。官能評価の結果は、 χ^2 適

合度検定を用いて正規分布に従わないことが確認された。そのためノンパラメトリック検定として、評価項目間の有意差の検討にはFriedman 検定を適用し、有意差が認められた場合には、多重比較として Holm 補正を施した Wilcoxon 符号付順位和検定を行った。

2. 3 田楽味噌をモデルとした粘性評価

田楽味噌は糖の配合比率が高く、加熱により粘性や風味が付与される。田楽味噌特有の粘性や風味は、メイラード反応が関与するため、メイラード反応性が高く、特徴的な風味を形成しやすいアルロースを使用することで粘性に影響を及ぼすことが考えられた。また、粘性は食材への付着性や製造効率に直結する重要な物性指標である。そこで、モデル食品として田楽味噌を用い、アルロース使用時の粘性特性を従来糖類と比較することで、その物理的特性と加工適性への影響を検討した。

2. 3. 1 各種糖溶液の試料調製

糖類の種類による粘性の差異を検討するため、5 種類の糖類試料（ショ糖、グルコース、RSS、フルクトースおよびアルロース）について、独立した 3 回の実験を行った。なお、各試料は蒸留水を用いて Brix 50% となるよう調製し、粘度分析に供した。

2. 3. 2 田楽味噌の試料調製

糖類の違いによる物理的特性を比較するため、味噌 41% (w/w)、料理酒 17% (w/w)、みりん 2% (w/w) を基本配合とし、糖類添加量を 21% (w/w) に統一した田楽味噌を調製した。糖類には、ショ糖、アルロース、フルクトースの 3 種を用い、独立した 3 回の実験を行った。各材料を混合後、蓋付き容器に入れて密閉し、75°C の恒温水槽にて 15 分間湯浴加熱を行った。加熱終了後、直ちに冷却して室温に戻したのち、粘度測定に供した。

2. 3. 3 粘度測定

田楽味噌に各種糖を添加し、加熱によるメイラード反応などの化学反応が粘度変化に及ぼす影響を検討した。ショ糖添加区を対照とし、アルロース添加区およびフルクトース添加区の計 3 試験区を設定した。なお、粘度測定は、ずり速度 $1 \sim 20 \text{ s}^{-1}$ の範囲で実施した。これらの速度域は、食品の流動挙動（例：容器を傾けた際の流れ）で観察されるせん断速度範囲 ($0.1 \sim 40 \text{ s}^{-1}$)¹⁰⁾ に相当した。

田楽味噌の粘度測定は、B 型粘度計 TVB-10（東機産業(株)）を用いた。少量サンプルアダプターおよびスピンドル (THM1, THM2) を使用し、試料温度 40°C で分析した。なお、測定は 3 回行い、その平均値を算出した。

3 結果及び考察

3. 1 レモンティーをモデルとした味の評価

3. 1. 1 味認識装置によるレモンティーの味質評価

図 1 に味認識装置で分析した各試験群の結果を示した。図 1 は、分析に使用する基準液（味がほとんどない状態を仮定した指標液）を 0 とし、各味項目の強度を定量的にセンサ出力を数値化したものであり、本研究においてはいずれの味においても無味点以上¹¹⁾ の評価となった。また、ショ糖区を基準にして、各試験区の味の強度差を比較した。その結果、アルロース区、ショ糖・

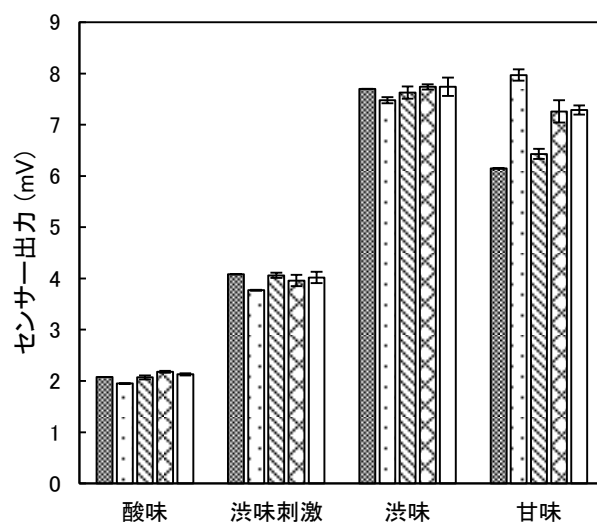


図 1 味認識装置を用いた各種糖の味の評価
 ■, ショ糖区; □, アルロース区; ▨, ショ糖・アルロース併用区; ▩, RSS 区; ▮, ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区

アルロース併用区, RSS 区, ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区において、酸味はそれぞれ -0.1, 0.0, 0.1 および 0.1, 渋味刺激では -0.4, -0.1, -0.2 および -0.2, 渋味は -0.2, -0.1, 0.0 および 0.0 となり（データ未掲載）、人が味の明確な差として認識できる 1.0 以上の差¹²⁾ は、いずれの試験区にも確認されなかった。なお、甘味に関してはレモンティー調製時に甘味度を調整したが、ショ糖区と比較して、ショ糖・アルロース併用区を除き、アルロース区, RSS 区およびブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区においては 1~2 mV 程度の差が認められた（図 1）。池崎の報告¹²⁾ では、甘味度に対する甘味センサ応答は、単糖類や二糖類では応答が異なることが示されており、センサ特性が甘味度の差異に関与したものと考えられた。

味認識装置の分析結果から、酸味や渋味は無味点以上ではあるが、人が味の明確な差として認識できる 1.0 以上の差は、いずれの試験区にも確認されず、また甘味については糖の種類によって数値に違いが認められた。そこで、味認識装置の分析結果と人の知覚との整合性を確認するとともに、数値化が困難な味の質的变化を検証するため、次段階として、人による官能評価を実施した。

3. 1. 2 官能評価によるレモンティーの味質評価

表 1 に評点法によるレモンティーの官能評価の結果を示した。酸味は、5 試験区間で有意な差が認められた（Friedman 検定, $p < 0.05$ ）が、多重比較の結果、特定の群間の組み合わせで有意差は認められなかった。渋味は、5 試験区間で有意な差が認められた（Friedman 検定, $p < 0.01$ ）。多重比較により、アルロースは、RSS 区と比較して有意に嗜好性があることが示された（Holm 補正を施した Wilcoxon 符号付順位和検定, $p < 0.05$ ）。また有意ではないものの、アルロース区は、ショ糖・アルロース併用区や、ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区と比較したところ、嗜好性が高い傾向がみられた（ショ糖・アルロース併用区; $p = 0.052$, ブドウ糖果糖液糖・

アルロース併用区; $p=0.053$) (データ未掲載). これらの結果から, レモンティーにアルロースを添加することで, 酸味や渋味を促進し, 嗜好性を高める可能性が示唆された.

表2に示した順位法による総合的な嗜好性の結果では, アルロース区およびショ糖区が最も高い評価(平均2.6点)を得た. 次いで, ショ糖・アルロース併用区(2.7点), RSS区(3.5点), ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区(3.6点)の順となった. Friedman検定の結果, これら5つの試験区全体において統計的な有意差は認められなかったが, 低カロリー甘味料¹³⁾であるアルロースが, 嗜好性の基準となるショ糖と同等な評価を得る結果となった. これらの結果は, レモンティーの美味しさを損なうことなくカロリーの低減が可能であることを示唆している. さらにアルロースには, 食後血糖値の上昇抑制作用や脂肪蓄積抑制作用等の健康機能性を有することが報告されている¹⁻³⁾. 本研究結果は機能性素材としてのアルロースが砂糖代替品として有用であることを示している.

表1 評点法によるレモンティーの官能評価

	酸味 * ^a	渋味 ** ^a
アルロース区	3.5	3.3 * ^b
ショ糖区	2.8	2.3
ショ糖・アルロース併用区	3.6	3.0
RSS区	3.5	3.5 * ^b
ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区	3.3	3.5

^a; Friedman検定において, 試験区全体に有意差(**; $p<0.01$, *; $p<0.05$)が認められた($n=22$).

^b; Friedman検定後, Holm補正を施したWilcoxon符号付順位和検定による多重比較において, 群間に有意差($p<0.05$)が認められた($n=22$).

また, 被験者の官能評価コメントでは「酸味・渋味・甘味のバランスが取れたレモンティーが好ましい」という意見と, 「酸味や渋味が控えめな方が好ましい」という意見に二分された. 評点法ではアルロース添加により酸味・渋味が相対的に増強される傾向が確認されており(表1), これが順位法評価における意見の分化

表2 順位法によるレモンティーの嗜好性

	合計 (点数)	平均点
アルロース区	57	2.6
ショ糖区	57	2.6
ショ糖・アルロース併用区	60	2.7
RSS区	77	3.5
ブドウ糖果糖液糖・アルロース併用区	79	3.6

Friedman検定において試験区全体に有意差は認められなかった($n=22$).

を導いた主要因と推察される. 以上の結果から, アルロースはレモンティーや紅茶など素材本来のフレーバリリリースを高める効果がある可能性が考えられた. 本研究の知見は, 甘味料の選択によって消費者の嗜好や製品コンセプト(健康志向・素材味重視等)に応じた配合設計が可能であり, 各糖類の特性を生かした商品開発に活用できることを示すものであった.

3. 2 田楽味噌をモデルとした粘性評価

3. 2. 1 各種糖溶液の粘性評価

まずは各種糖類の粘度を調べるために, 5種類の糖類(ショ糖, グルコース, RSS, フルクトースおよびアルロース)をBrix 50%で調製し, 40°Cで粘度を測定した. 本研究の条件での測定可能であった速度の範囲は狭いが, この範囲の中ではニュートン流体性に近い挙動を示した. 粘度は, ショ糖区>グルコース区>RSS区>フルクトース区>アルロース区の順であった. 平均粘度は, それぞれショ糖区10.34 mPa・s, グルコース区9.03 mPa・s, RSS区8.13 mPa・s, フルクトース区7.73 mPa・s, アルロース区7.61 mPa・sであった(データ未掲載). RSSは主成分がグルコースとフルクトースであることから, 両者の中間的な値を示した可能性がある. 広範囲な温度域(0~85°C)や糖濃度域(10~60% (w/w))における糖の粘性をB型粘度計で比較したTelisら¹⁴⁾は, ショ糖, グルコース, フルクトースの順に粘度が高くなることを報告した. 本研究では温度40°C, 糖濃度Brix 50%の限られた条件ではあったが, Telisら¹⁴⁾の結果と傾向が一致した. このことから, 本研究においても糖の種類によって粘性が異なる可能性が考えられた.

糖溶液の粘度差は, 分子量や分子構造に起因する水和特性の差異¹⁵⁾が主要因と考えられる. 特に, ピラノース環のエクアトリアル位のOH基数が多く, 水分子との水素結合が強い糖ほど粘度が上昇する. 本研究で用いた糖の中で, アルロースは水和速度が遅く¹⁶⁾, 水分子との相互作用が弱いため, 自由水の割合が増加し, 粘度が最も低くなったと考えられた. 一方, ショ糖やグルコースはエクアトリアル位のOH基を介して水分子を強く拘束するため, 粘度が高くなる傾向と考えられた.

3. 2. 2 田楽味噌の粘性評価

図2に示す各試験区の粘度測定結果では, せん断速度の増加に伴い粘度が低下しており, せん断速度と粘度の両対数プロットが直線関係の非ニュートン流体の性質を示した. 山本ら¹⁷⁾は, ねり味噌が非ニュートン流体であることを報告しており, 本研究の結果と一致した.

加熱の影響については, 3種いずれの糖を用いた場合においても, 加熱後の粘度は加熱前と比較して高くなる傾向が認められた(図2). 従って, 加熱処理は田楽味噌の粘度を増加させる要因であると考えられる. Motai¹⁸⁾は醤油を加熱した際にメイラード反応によってメラノイジンが重合化し, メラノイジン分子が増大することで粘度が向上することを報告している. 本研究においても加熱によるメイラード反応の進行が, 田楽味噌の粘度を高める要因の一つになったと推察された.

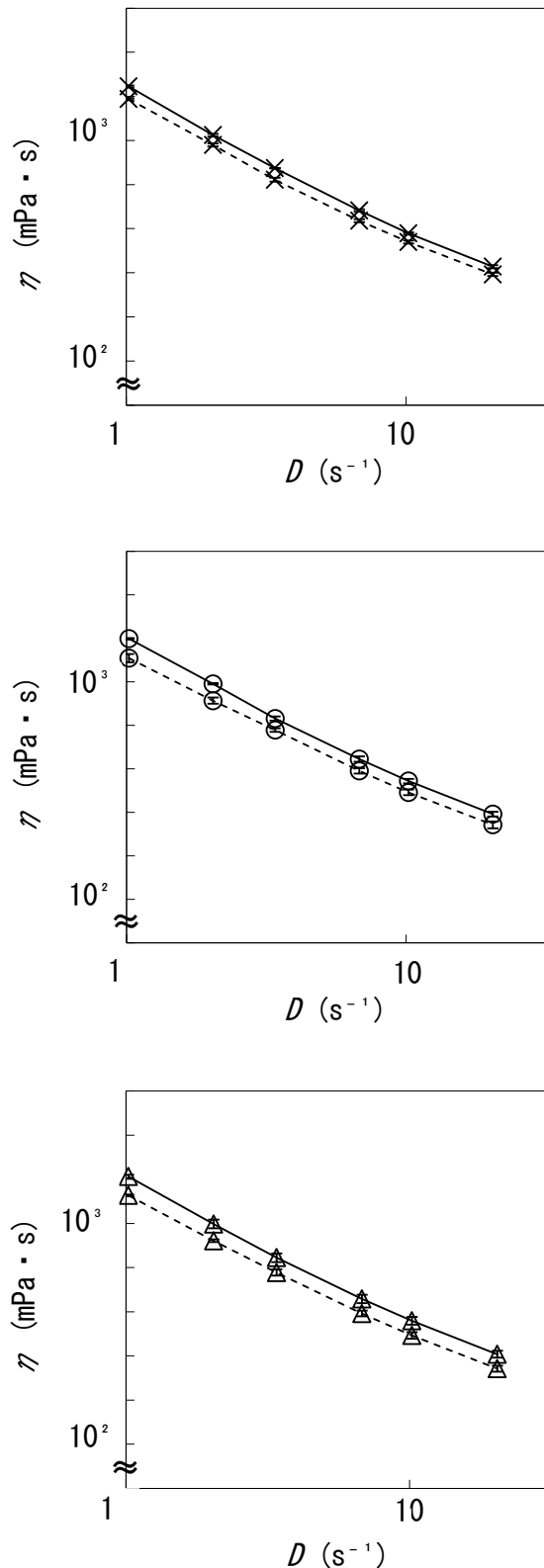


図2 田楽味噌溶液の粘度
 …×…, シヨ糖加熱前; -×-, シヨ糖加熱後; ○, アルロース加熱前; -○-, アルロース加熱後;
 …△…, フルクトース加熱前; -△-, フルクトース加熱後
 η , 粘度; D , ずり速度. いずれも 40°C のときの粘度を測定した.

また、糖類の違いによる粘性を評価するため、加熱後におけるずり速度 10 s^{-1} 時の粘度を比較したところ、シヨ糖区 $379 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 、フルクトース区 $362 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 、アルロース区 $350 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ であった。これらの結果より、シヨ糖を用いた場合に比べ、アルロースやフルクトースを用いることで粘度がやや低く感じられる可能性が考えられたが、経口的評価や嗜好性評価等の官能評価を実施することで、より詳細に検討する必要がある。以上の結果から、シヨ糖をアルロース等に置換する際には、目的とする粘度や食感を維持するために、その食品に合わせた配合や加熱条件などを調整する必要があることが推察された。

4 結言

本研究では、アルロースを用いた飲料および調理加工食品（レモンティー・田楽味噌）における味質・物性への影響を検討した。レモンティーでは、シヨ糖、アルロース、シヨ糖・アルロース併用、RSS、ブドウ糖果糖異性化糖・アルロース併用の5試験区の甘味度を揃えて比較した。味認識装置による分析では酸味・渋味に差は認められなかったが、官能評価ではアルロース区でシヨ糖区より酸味・渋味がやや強く感じられる傾向が確認された。総合嗜好性は、アルロース区とシヨ糖区で同程度に高く、アルロースを用いてもシヨ糖と同等の嗜好性を維持できる可能性が示唆された。

粘度の評価では、Brix 50%の糖溶液はすべてニュートン流体性に近い挙動を示し、粘度はシヨ糖>グルコース>RSS>フルクトース>アルロースの順であった。田楽味噌の加熱前後の粘度を測定したところ、いずれも非ニュートン流体としてせん断速度の増加に伴い粘度が低下し、加熱後に粘度が上昇した。特にシヨ糖区はアルロース区やフルクトース区より高い粘度を示し、目的の食感を得るには配合や加熱条件の調整が必要であると考えられた。以上の結果から、アルロースは他の糖類とは異なる味質増強効果や特有の粘性を有することが明らかとなった。今後は、多様な食品カテゴリーや調理条件下での検討を重ね、アルロースを用いた食品開発のための基礎データを蓄積する必要がある。

謝辞

本研究に用いた試料をご提供いただいた株式会社レアスウィート様に深く感謝申し上げます。本報告をまとめるにあたり、官能評価にご協力いただいた方に心より感謝いたします。

参考文献

- 1) Iida T., Kishimoto Y., Yoshikawa Y., Hayashi N., Okuma K., Tohi M., Yagi K., Matsuo T. and Izumori K.: Acute D-Psicose Administration Decreases the Glycemic Responses to an Oral Maltodextrin Tolerance Test in Normal Adults. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* Vol. 54, pp. 511-514 (2008).
- 2) Ochiai M., Onishi, K., Yamada, T., Iida T. and Matsuo T.: D-psicose increases energy

- expenditure and decreases body fat accumulation in rats fed a high-sucrose diet. *Int. J. Food Sci. Nutr.* Vol.65, pp. 245-250 (2014).
- 3) Iwasaki Y., Sendo M., Dezaki K., Hira T., Sato T., Nakata M., Goswami C., Aoki R., Arai T., Kumari P., Hayakawa M., Masuda C., Okada T., Hara H., Drucker D. J., Yamada Y., Tokuda M. and Yada, T.: GLP-1 release and vagal afferent activation mediate the beneficial metabolic and chronotherapeutic effects of D-allulose. *Nat. Commun.* Vol.9, 113 (2018).
 - 4) O'Charoen S. Hayakawa S., Matsumoto Y. and Ogawa M.: Effect of d-psicose used as sucrose replacer on the characteristics of meringue. *J. Food Sci.* Vol.79, pp. E2463-E2469 (2014).
 - 5) Kwakye A. O., Fukada K., Ishii T. and Ogawa M.: The Effects of D-Allulose on the Gelatinization and Recrystallization Properties of Starches from Different Botanical Sources. *Starch - Starke*, Vol. 76, 2300243 (2024).
 - 6) 高峰啓, 中村雅子, 飯田哲郎, 大隈一裕, 何森健: アルカリ異性化を用いた希少糖含有シロップの製造方法および α -グルコシダーゼの阻害作用, 日本応用糖質科学会誌, Vol. 5, pp. 44-49 (2015).
 - 7) 内山明子: 希少糖含有シロップの味質改善効果, 月刊フードケミカル, Vol. 7, pp. 61-66 (2020).
 - 8) 小川雅廣, 早川茂: 希少糖 D-プシコースの食品加工への応用, 日本食品科学工学会誌, Vol. 68, pp. 101-114 (2021).
 - 9) 神幸子, 三好美玖: 香川県産業技術センター研究報告, Vol. 25, pp. 109-113 (2024).
 - 10) 川端晶子: 食品物性学. 建帛社, pp.155 (1989).
 - 11) 藤井沙代子, 塩見和世, 古田 到真, 永井幸枝, 河合俊和, 平田昭夫: 味認識装置によるサトウキビ由来砂糖製品の評価, 日本食品科学工学会誌, vol. 66, pp. 238-248 (2019).
 - 12) 池崎秀和: 「味の見える化」で世界を結ぶユーザーに導かれ一緒に歩んだ味覚センサの技術開発とビジネス活用, 日本食品科学工学会誌, vol. 70, pp. 429-441 (2023).
 - 13) Matsuo T., Suzuki H., Hashiguchi M. and Izumori K.: D-Psicose is a rare sugar that provides no energy to growing rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, Vol. 48, pp. 77-80 (2002).
 - 14) Telis V. R. N., Telis-Romero J., Mazzotti H. B. and Gabas A. L.: Viscosity of aqueous carbohydrate solutions at different temperatures and concentrations. *Int. J. Food Prop.*, vol. 10, pp. 185-195 (2007).
 - 15) 佐藤之紀: 粘度測定による糖やアミノ酸の水および高分子間相互作用の解析, 日本食品科学工学会誌, vol. 61, pp. 316-322 (2014).
 - 16) Pelin Pocan and Sevil Cikrikci Erunsal.: Exploring the effect of sucrose and dallulose addition on the gelling ability and physical properties of agar-agar vegan gels. *Eur. Food Res. Technol.*, Vol. 250, pp. 2245-2254 (2024).
 - 17) 山本誠子, 茂木美智子: 各種粘ちよう食品の粘度, 家政学雑誌, vol. 31, pp. 387-390 (1980).
 - 18) Motai H.: Viscosity of melanoidins formed by oxidative browning: validity of the equation for a relationship between color intensity and molecular weight of melanoidin. *Agric. Biol. Chem.*, vol 40, pp. 1-7 (1976).