

一般社団法人化のご挨拶

2017年4月に任意団体「日本食品保蔵科学会」は一般社団法人『日本食品保蔵科学会』となります。

1975年、任意団体「コールドチェーン研究会」として本学会は発足しました。「コールドチェーン」勧告の出された1965年は、まだまだ低温流通システムが確立していない時代でした。-18℃の低温状態における食品素材・加工食品等の貯蔵・保存・輸送時でも「一定の低温で保存・管理」が品質保持に重要であることを示しています。これらを、食品取扱者・製造者・消費者に理解してもらい、実施に必要な設備・システムを追究することから始まりました。冷凍食品が女性の社会進出を応援し、外食産業が「セントラルキッチン」、「コールドチェーン」によって支えられていることを考えると、「コールドチェーン研究会」の果たした役割は大きいといえるでしょう。

1987年、組織の拡大と共に名称を「日本食品低温保蔵学会」とし、日本学術会議登録団体の認定を受けました。1997年、学会名称をより広がりのある『日本食品保蔵科学会』に改め、現在に至っています。

この度の一般社団法人化にあたっては、「定款・総則」を引き継ぎ、これまで学会が担ってきた「食品保蔵」に関する研究・情報発信・広報活動を踏襲すると共に、なお一層積極的にこれらを行うこととしております。

本学会では2009年より、食の安全にかかわる「HACCP管理者資格認定制度」(*1)を実施しております。合格者は1,630名で、有資格者は食品製造分野においてHACCP管理者として活躍しています。本学会ではHACCP管理者認定審査と更新審査を継続実施すると同時に、有資格者の技能向上とブラッシュアップのための講習会を開催しています。HACCP管理者として、職場で信頼され、生産現場で活躍していただくことで、本学会の考えである食の安全・安心を生産現場でも確実に実施する手だてとなるでしょう。

食の安全・安心は、食品に危害物質が含まれるか否かであり、さらに食がさまざまな国や地域にまで進出することを考えると、それぞれの地域で食べることが許されるか否か、禁忌食材の有無もまた食の安全・安心につながるものと理解する必要があります。このようなことを認識しながら、世界を見据えた食の「安全」について理解することが必要であり、外国からの客人に対する礼儀であることも知っておく必要があります。

私たちは「美味しく、愉しく」食をいただくという姿勢で食の世界にコミットしていきたいと思います。今後食糧が不足することはすでに明らかであり、発展途上国の収穫後の食糧損耗が30%、先進国では調理後の食品の30%が廃棄されている現状を是正することで、多くの食資源が確保されることになります。食資源の有効利用と損耗のこの部分での努力もまた私たちの課題であるかもしれません。

学会の大きな役割は、「食」に関する安全・安心、食文化、食素材の調理法、保存法、発酵方法……多くの興味ある食品関連事項に若い諸君を誘い、食研究のおもしろさ、楽しさを伝えながら、新たな研究仲間として育てていただくことが肝要と思っています。このプロセスが食品研究者を増やし、育てる重要な道筋と思います。

本学会では会員・役員の尽力により、大会を各地方で開催しております。地域の食材、特産物の発掘、特産物の賞味等々、地域の特色ある「食」と「食文化」に関心を寄せ、日本の「食文化」を愉しむこともまた、地方開催のメリットと考えております。

食の研究テーマはさまざまに広がっています。学会活性化のため、ぜひ大会で発表していただき、さらには研究を論文にまとめ、ご投稿ください。研究者の「登竜門の一つ」として「日本食品保蔵科学会誌」を利用していただくことで、研究者の力を飛躍的に引き出すことができると期待しております。その努力が学会誌のレベル向上への階段と心得ております。

最後になりましたが、一般社団法人『日本食品保蔵科学会』にまで育ててくださった先輩諸氏に敬意を表しますと共に、後を引き受けた私たちは食の安全・安心、美味しい食と楽しい食文化をめざしたいと思います。会長、理事、代議員一同尽力し、法人化後の活動が軌道に乗りますよう大いに奮闘いたします。会員諸兄のご協力、ご鞭撻をお願いいたします。

2017年4月1日
一般社団法人日本食品保蔵科学会
会長 高井陸雄

(*1) <http://nodaiweb.university.jp/jafps/haccptop.html> ご参照ください。

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 43 NO. 2

会 長	高井 陸雄	副 会 長	太田 英明	小宮山美弘	早坂 薫
編集委員長	太田 英明				
編 集 委 員	稲熊 隆博	井上 茂孝	今堀 義洋	恩田 匠	竹永 章生
	古庄 律	松田 茂樹	宮本 敬久		

<報 文>

ゆば被膜の形成における脂質の影響ならびにタンパク質と脂質の相互作用について…………… (57)
 /国正重乃・野口智弘・高野克己

天然ウップルイノリの色調，食感，ミネラル含量，揮発性成分ならびに形状…………… (63)
 /鶴永陽子・高橋哲也・松本真悟
 永田善明・吉野勝美

<研究ノート>

米デンプンの糊化および粘度挙動に対する内在タンパク質および脂質の影響…………… (71)
 /塩野弘二・辻井良政・野口智弘・高野克己

<技術報告>

可視・近赤外分光法による水ナス果実の空洞果判別技術…………… (77)
 /橋田浩二・谷本秀夫・執行正義
 山内直樹・板村裕之

<総 説>

シークワシャー (*Citrus depressa* Hayata) 果汁の品質特性と搾汁残渣の利用に関する研究 …… (83)
 /宮城 一菜

<文献抄録>…………… (89)

<本会記事>…………… (90)

<会 告>…………… (93)

Food Preservation Science

CONTENTS OF VOL. 43 NO. 2 (2017)

<Article> (Japanese)

- Effects of Lipids and the Interactions among
Soybean Protein-lipid of Yuba-Films Formation
KUNISHO Shigeno, NOGUCHI Tomohiro and TAKANO Katsumi (57)

- Color, Texture, Mineral, Volatile Components, and Shape of Naturally Occurring
Uppurui Nori (*Porphyra pseudolinearis*)
TSURUNAGA Yoko, TAKAHASHI Tetsuya, MATSUMOTO Shingo,
NAGATA Yoshiaki and YOSHINO Katsumi (63)

<Research Note> (Japanese)

- Effects of Proteins and Lipids of Rice Starch on Gelatinization and Viscosity
SHIONO Koji, TSUJII Yoshimasa, NOGUCHI Tomohiro and TAKANO Katsumi (71)

<Technical Report> (Japanese)

- Discriminating between Pithy and Non-pithy 'Mizu-nasu' Eggplant Fruit
by Visible or Near-infrared Spectroscopy
KITSUDA Koji, TANIMOTO Hideo, SHIGYO Masayoshi,
YAMAUCHI Naoki and ITAMURA Hiroyuki (77)

<Review> (Japanese)

- Use of the Quality Characteristics and the Waste Peels of
the Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) Fruit Juice
MIYAGI Kazuna (83)

ゆば被膜の形成における脂質の影響ならびに タンパク質と脂質の相互作用について

国正重乃^{*1}・野口智弘^{*2§}・高野克己^{*3}

^{*1} (株)ミットヨ

^{*2} 東京農業大学応用生物科学部食品加工技術センター

^{*3} 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科

Effects of Lipids and the Interactions among Soybean Protein-lipid of Yuba-Films Formation

KUNISHO Shigeno^{*1}, NOGUCHI Tomohiro^{*2§} and TAKANO Katsumi^{*3}

^{*1} MitutoyoCo., Ltd., 2200, Shimoguri-cho, Utsunomiya-shi, Tochigi 321-0923

^{*2} Food Processing Center, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

^{*3} Department of Applied Biology and Chemistry, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

To improve quality and production efficiency of yuba films, this study aimed to clarify the mechanism underlying the formation of yuba films, by investigating the effects of lipids and elucidating the molecular interaction between proteins and lipids. A thin film with dense structure was produced after heating soybean protein isolate (SPI) solution, whereas a thick film with a porous structure was formed upon heating soybean milk, and SPI solution with added soybean oil, indicating that lipids are indispensable to the formation of yuba films. FT-IR imaging demonstrated the distribution of lipids as oil bodies in the protein phase of the yuba films. Analysis of structural proteins by diagonal two-dimensional electrophoresis (D-2DE) identified a specific 17-kDa protein in the yuba films, which was identified to be oleosin 1-like by LC/MS/MS. This lipophilic protein is known to have a cysteine residue. The existence of oleosin in the yuba films suggested the presence of disulfide (SS) bonds in polymers formed by oleosin with β -conglycinin (β -GC α), β -conglycinin (β -GC α') and glycinin acidic (GA), and with GA and glycinin basic (GB) protein subunits. These proteins and oil bodies polymerize to form an aggregate and form the structural framework of yuba films.

(Received Oct. 27, 2016 ; Accepted Dec. 15, 2016)

Key words : yuba-films, oleosins, soybean protein isolate, lipid, disulfide bond

ゆば, オレオシン, 大豆分離タンパク質, 脂質, ジスルフィド結合

ゆばは、豆乳を加熱した時に表面に形成するタンパク質を骨格とした被膜である。ゆば製造は手作業による製造工程が多いため収量が安定しない、また、製造時の温度や湿度等の環境条件によりゆばの硬さが安定しないなどの製造上の課題が多いのが現状である。このため、ゆばの成膜形成機序の解明は重要であり、これまでの研究では、大豆の主要タンパク質である β -コングリシニン

およびグリシニンのモデル系豆乳を用いて、ゆば被膜の形成にはタンパク質分子間のジスルフィド結合 (SS 結合) が関与することが報告^{1),2)}されている。ゆばの主成分は、固形量換算でゆば被膜骨格のタンパク質は約53%と、次いで脂質も約37%と³⁾、脂質も多く含まれているが、脂質のゆば被膜形成への関与、タンパク質と脂質の相互作用については明らかにされていない。

^{*1} 〒321-0923 栃木県宇都宮市下栗町2200

^{*2} 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

§ Corresponding author, E-mail : tomo@nodai.ac.jp

^{*3} 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

そこで、本研究ではゆば被膜形成に及ぼす脂質の影響を明らかにするとともに、タンパク質と脂質の相互作用について検討を行い、新たな知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 試料

(1) 大豆 大豆は、アメリカ産大豆PG-1040を用いた。

(2) 脱脂大豆粉の調製 脱脂大豆粉は、脱皮大豆粉(ソイソーラN', フジ産業製) 400 gに10倍容のヘキサンを加え24時間攪拌した後、吸引ろ過にてヘキサンを取り除き、分離し、さらに24時間放置して残留するヘキサンを除去し脱脂大豆粉とした。

(3) 大豆油の調製 大豆50 gをワンダーブレンダー(WB-1, サンプラック製)にて粉碎し、粉碎物50 gに石油エーテル500mlを加えた。振とう後、ろ紙(Na 2, ADVANTEC製)にてろ過し、ろ液の石油エーテル層を湯浴温度40℃にてロータリーエバポレーター(RE-46 B, ヤマト科学製)を用いて蒸散させ、大豆油を得た。

(4) 豆乳の調製 大豆100 gに純水1,800mlを加え、20℃, 16時間浸漬し、洗浄した。水切り後、純水750mlを加えてジューサーミキサーにて摩砕(10,000rpm, 5分間)し呉汁を得た。呉汁を約95℃, 5分間加熱後放冷し、ナイロン製の布でろ過しておからを除去し、加熱豆乳を得た。また、呉汁を加熱しない非加熱豆乳を得た。なお、加熱豆乳および非加熱豆乳は、屈折糖度計(520-0型, アタゴ製)を用いて糖度(Brix) 7.0%に調製した。

(5) 大豆分離タンパク質(SPI)溶液の調製 SPI溶液の調製は、Naganoらの方法⁴⁾に従い調製した。すなわち、脱皮大豆粉240 gに15倍容の純水を加え1 M水酸化ナトリウム溶液を用いてpH7.5に調整し、スターラーで20℃, 3時間攪拌した後、遠心分離(4,400rpm, 30分間, 4℃)して得られた上澄液をSPI溶液とした。SPI溶液を透析膜に入れ、ポリエチレングリコールにて濃縮し、豆乳のタンパク質濃度(55~60mg/ml)と等しくなるように純水にて濃度を調節した。さらに、本SPI溶液に大豆油1~3%添加し、超音波ホモジナイザーにて乳化処理を行ったものを大豆油添加SPI溶液とした。

2. 被膜の調製および性状測定

(1) 被膜の調製 加熱豆乳、SPI溶液および大豆油添加SPI溶液をそれぞれアルミニウム製バット(120×140×55mm)に100ml入れ、約4℃に冷却後、90℃のシリコンバス中に保持して被膜を形成させ、これをステンレス製の棒にて液面から引き上げ採取した。加温開始後最初の20分で1枚目の被膜を採取し、引き続き15分ごとに2枚目以降の被膜を採取した。

(2) 被膜の重量、厚みおよび破断力の測定 採取した被膜は凍結乾燥を行い、重量を測定した。厚みは、採取した被膜を2枚重ね(120×70mm)にし、その中心部の四角形(30×40mm)頂点4か所の厚さをダイヤルシッ

クネスゲージ(7301, ミットヨ製)にて測定し、平均値を求めた。

被膜の物性は、被膜を120×120mmの大きさに切断し、それをリング状の重り($\phi 77$ mm, 277 g) 2個に挟み、テクスチャーアナライザー(TA.XP.Plus, Stable Micro System)にて測定した。測定は、球状のプランジャー($\phi 5$ mm)を用い、室温にて貫入速度1.0mm/secにて試験し、荷重-変形曲線から被膜の破断力(gf)を求めた。

また、得られたデータは、Tukey法による有意差検定(危険率5%未満を有意差)を行った。

3. 組織観察

採取した被膜の断面を電子顕微鏡および赤外顕微鏡を用い観察した。

(1) 電子顕微鏡による観察 岡本らの電子顕微鏡を用いた観察方法により⁵⁾、凍結乾燥した被膜の切片を電導性の両面テープにて試料台の上に固定し、卓上型電子顕微鏡(TM-1000, 日立ハイテクノロジーズ製)にて観察した。

(2) 赤外線顕微鏡による観察 被膜を凍結用包埋剤(Neg-50, Thermo)で包埋皿(角型, 10×10×5 mm)に満たし、凍結切片作成装置内(クリオスターNX70, Thermo)で-80℃に凍結させた後、低温室にてマイクロームで厚さ約10 μ mに調整した。フッ化バリウム(BaF₂)ではさみ、赤外顕微鏡・イメージングシステム(FTIR イメージングSpectrum Spotlight 300, PerkinElmer)にて室温で測定を行った。イメージング波長は、脂質(C=O) 1,740cm⁻¹、タンパク質(CONH) 1,550cm⁻¹とした。

4. タンパク質の電気泳動

豆乳より調製した被膜を5 M尿素溶液にて溶解し、Laemmli法^{6),7)}に従い1次元目の電気泳動(SDS-PAGE)、非還元に供した。SDS-PAGE後クマシーブリリアントブルー(CBB) R250にてタンパク質を染色した。さらに、染色したSDS-PAGEゲルのレーンを切り出し、ジチオスレイトール(DTT)処理液で還元処理(室温にて30分間振盪)を行い、対角線電気泳動(2D-PAGE)を行った。2D-PAGE後Sypro-robby染色(Lonza製)を行い、高解像度・高感度化学発光撮影装置(WSE-6100, アトー製)にて解析を行った。分子量マーカーは、Precision Plus Protein Standard Plugs Unstained (Bio-RAD製)を用いた。

5. タンパク質の同定

SDS-PAGEおよび2D-PAGEによって分離したタンパク質をLC-MS/MSで同定分析した。MSはQSTAR XL (Applied Biosystems)を用い、UPLCはBio Nano LC System (KYA TECH), ColumnはsilC18W-3 (内径0.1×長さ50mm, KAY TECH)を用いた。移動相は0.1%ギ酸を含むアセトニトリルとした。データベース検索はMascotを使用し、NCBI Protein BLASTにて相同性検索を行った。

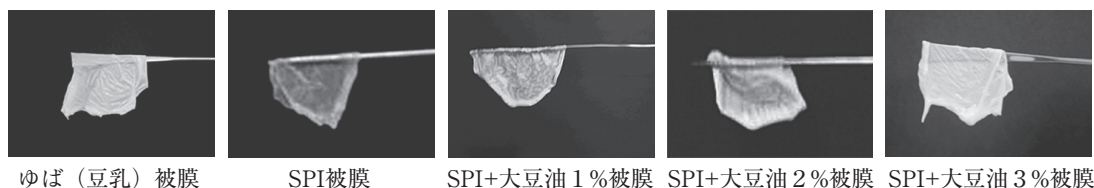


図1 豆乳 (ゆば) 被膜および脂質添加SPI被膜の外観

表1 豆乳 (ゆば) および脂質添加SPI被膜の重量および厚みへの影響

	豆乳	SPI + 大豆油添加量 (%)			
		0	1	2	3
被膜重量 (mg)	1263 ± 78	471 ± 43	827 ± 62	1204 ± 48	1561 ± 91
被膜厚み (mm)	2.0 ± 0.05	1.0 ± 0.02	1.6 ± 0.06	2.1 ± 0.03	2.5 ± 0.07

平均値 ± 標準偏差

実験結果および考察

1. 被膜の性状および組織に及ぼす脂質の影響

(1) 豆乳およびSPI溶液から調製した被膜の性状比較

豆乳およびSPI溶液から調製した被膜の性状を比較した。図1に示したように豆乳の被膜は白濁していたのに対し、SPI被膜は透明であったが、SPIに大豆油を1%添加すると白濁した被膜となった。また、SPIに大豆油を2%以上添加した被膜は豆乳の被膜と同等の外観を示した。

被膜の重量 (mg) および厚さ (mm) を測定したところ (表1), 豆乳の被膜ではそれぞれ1,263 ± 78mgおよび2.0 ± 0.05mmであるのに対し, SPI被膜はそれぞれ471 ± 43mgおよび1.0 ± 0.02mm, SPIに大豆油1%添加は827 ± 62mgおよび1.6 ± 0.06mmに増加し, 2%添加では約1,204 ± 48mgおよび2.1 ± 0.03mmになり豆乳の被膜と同等の重量と厚さになった。大豆油3%添加ではさらに重量と厚さは増加し, 豆乳被膜の性状に脂質の存在が重要であることが明らかになった。また, 被膜の破断力 (gf) は, 豆乳は約27gfを示し, SPIのみでは約12gfと豆乳の半分以上であったが, 大豆油1~3%添加ではSPI被膜より有意差が高い値 ($p < 0.05$) となり, 大豆油2%および3%添加では, 豆乳の被膜とほぼ同様の破断力となった (図2)。以上の結果より, ゆばの形成時に脂質が取り込まれることにより安定した硬さの被膜となることが認められた。

(2) 被膜の組織観察 豆乳, SPIおよび大豆油添加SPI被膜の断面を電子顕微鏡にて観察した (図3)。豆乳の被膜では, 気相に接した表面 (A) が密な組織になっていたが, 溶液に接していた液面 (B) は多孔質な層になっていることが確認された。一方, SPIの被膜は薄く, 被膜全体の組織が密であり, 豆乳の被膜とは組織が大きく異なっていた。大豆油2%添加SPI被膜は, 豆乳の被膜と同様に多孔質の組織を示したことから, ゆば特

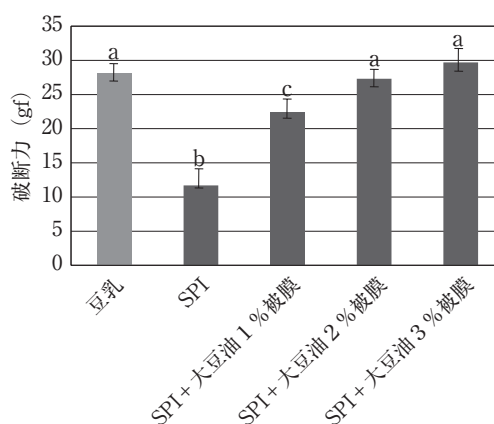


図2 豆乳 (ゆば) 被膜および脂質添加SPI被膜の破断強度

平均値 ± 標準偏差 (n = 10)

アルファベットの小文字はTukey-Kramer法により有意差があることを示す ($p < 0.05$)

有の組織を形成するためには脂質の存在が重要であることが明らかになった。ゆばの断面は多孔質であることは既に報告されているが^{8),9)}, 今回の試験において, 脂質が存在することにより多孔質の組織が形成されることが推察された。

2. 被膜におけるタンパク質と脂質の存在状態

赤外顕微鏡にアレイ検出を搭載したIRイメージング法¹⁰⁾にてゆばにおけるタンパク質と脂質の多層構造を観察した。その結果を図4に示した。タンパク質は緑色, 脂質は赤色, 水分は青色で示した。被膜はタンパク質相と水相が交互に存在し多層構造であった。また, タンパク質相内に脂質が油滴の状態で連続して存在していた。

3. 被膜タンパク質の解析

(1) 被膜を構成するタンパク質と分子間結合 被膜の2D-PAGEの結果を図5に示した。DTTにてSS結合を還元処理後2D-PAGEに供した結果, タンパク質分子間SS結合を示す対角線の下方領域においては, DTT非

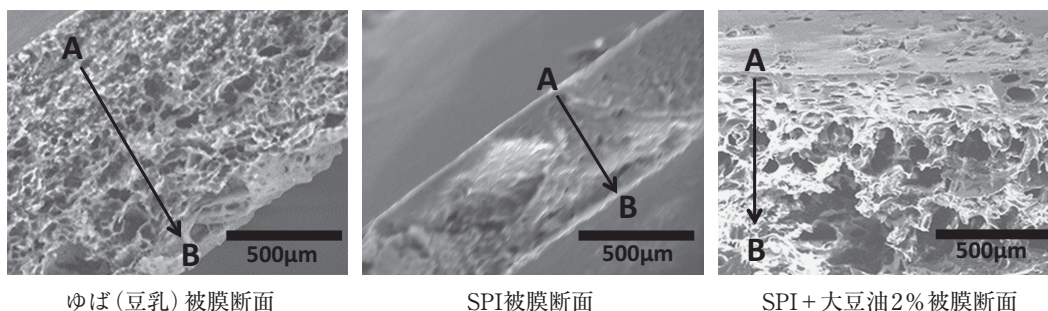


図3 各種被膜の顕微鏡観察

A：表面（気相）側 B：液面側

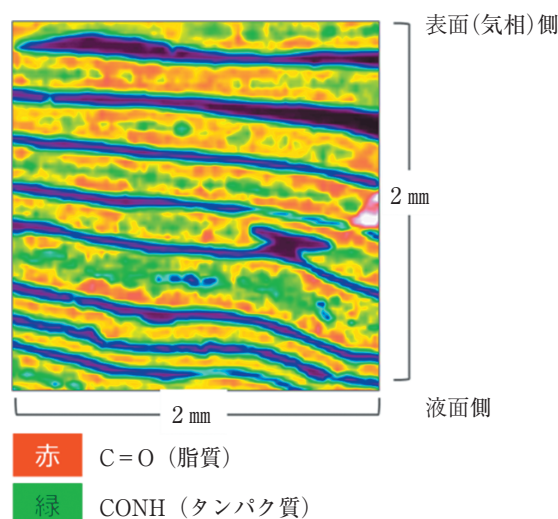


図4 豆乳（ゆば）被膜断面のタンパク質および脂質の分布（IRイメージング）

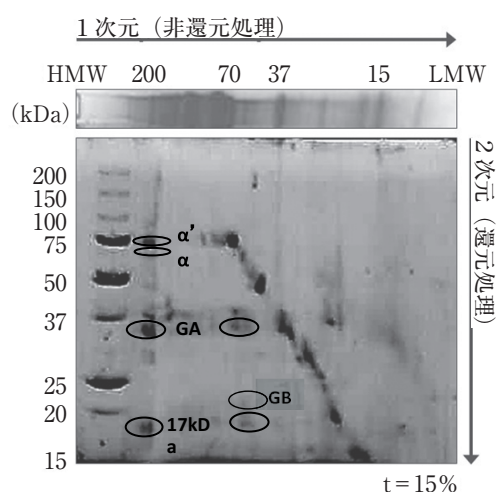


図5 ゆば（豆乳）被膜のタンパク質の2D-PAGE

還元処理のSDS-PAGEで200kDaのバンドが検出され、この高分子量側のタンパク質は、69kDaの β -コングリシニンの α' (β -GC α'), 63kDaの β -コングリシニンの α (β -GC α), 32kDaの酸性のグリシニン (GA) および17kDaのスポットで構成されていた。また、SDS-PAGEの低分子量側には70kDaのバンドが検出され、GA, 20kDaの塩基性のグリシニン (GB) および17kDaのスポットが確認されたため、200kDaおよび70kDaのバンドが被膜の主要タンパク質になることが推察された。

以上の結果より、被膜は β -GC α' 、 β -GC α 、GAおよび17kDaのタンパク質がSS結合した高分子量タンパク質200kDaとGA、GBおよび17kDaのタンパク質が各1分子ずつSS結合した70kDaのタンパク質が被膜中に存在することを明らかにした。これらのタンパク質は、大豆の主要なタンパク質であり、SS結合により重合化して大きなタンパク質分子が形成されて不溶化し、被膜形成の骨格となるのではないかと推察された。

(2) 被膜中の17kDaタンパク質の同定 被膜の骨格タンパク質に共通して確認された17kDaタンパク質についてLC-MS/MS分析した結果、16.5kDaの大豆オレオシン 1-likeと同定された (表2)。

大豆オレオシンには、このほか24kDaおよび18kDaが存在する¹²⁾、オレオシン 1-likeのみにシステイン残基が存在する¹³⁾。また、オレオシンは植物組織において油貯蔵体の膜を構成するタンパク質で¹⁴⁾、親水性環境下の中で脂質を安定に存在させている¹⁵⁾ことが報告されている。以上の結果より、豆乳中の油貯蔵体の膜タンパク質のオレオシンと大豆の主要タンパク質であるGAおよびGB、またはGAおよび β -GC α 、 β -GC α' とがSS結合にて重合し、タンパク質と脂質が複合体を形成することにより、ゆば被膜が生ずることが明らかになった。

要 約

ゆばの品質向上およびゆば製造の効率化技術の開発を目指し、ゆば被膜形成機序の解明を目的に検討を行った。まず、被膜形成における脂質の影響について検討した。その結果、SPI溶液は薄く脆弱な被膜となるが、豆乳より調製したゆばおよびSPIに大豆油を添加によって膜厚で安定した強度の被膜となり、被膜形成に脂質が必要であることが認められた。被膜はタンパク質相と水相が交互に存在し多層化しており、脂質はタンパク質相中に油滴の状態で局在していた。

表2 LC/MS/MSによる豆乳(ゆば)被膜中の分子量17kDaタンパク質の同定

豆乳(ゆば)被膜タンパク質		GSYSYGTSGYAPYGTYYETNSSINNPPSR.....	

オレオシン 1-like	1	MATISTDQPRGSYSYGTSGYAPYGTYYETNSSINNPPSRQTVKFITAATI	50
オレオシン24kDa	1	MTTVPPHSVQVHTTTTHRYEAGVVPPARFEAPRYEAGIKAPSSIIYHSERGP	50
オレオシン18kDa	1	MADRDRAGGYQQQRQGVGETVKGILPEKAPSASQALTVATLFLPLGGLL	50
オレオシン 1-like	51	GITLLLLSGLTTLTGTVIGLI IATPLLVI FSPILVPAAFVLFLVASQFLFS	100
オレオシン24kDa	51	TTSQVLAVVAGLPVGGILLLLAGLTLAGTLTGLVVATPLFI IFSPVLIPA	100
オレオシン18kDa	51	VLSGLALAASVVGLAVATPVFLI FSPVLVPAALL IGLAVAGFLTSGALGL	100
		↓	
オレオシン 1-like	101	GGCGVAAIAALSWIYNYVSGNQPAGSDTLDYAKGYLTDKARDVKERAKDY	150
オレオシン24kDa	101	TVAIGLAVAGFLTSGVFGLTLASSFSWILNYIRETQPASENLA AAAKHHL	150
オレオシン18kDa	101	GGLSSLTFLANTARQAFQRTPDYVEQARRRMAEAAAHAHGKTAQAGHAIQ	150
オレオシン 1-like	151	GSYAQQRINEATQGTY	166
オレオシン24kDa	151	AEAAEYVGQKTKEVGQKTKEVGQDIQSKAQDTREAAARDARDAREAAARD	200
オレオシン18kDa	151	GRADQAGTGAGAGGGAGTKTSS	172
オレオシン24kDa	201	ARDAKVEARDVKRTTVTATTATA	223

オレオシン 1-like: 相同率100%

(NCBI-BLAST)

MW 17469

*: matched peptides, ↓: システイン残基

次に、タンパク質と脂質の相互作用について検討した結果、豆乳中の油貯蔵体の膜タンパク質であるオレオシンが大豆主要タンパク質のGAおよびGB, GAおよび β -GCa, β -GCa'とそれぞれSS結合し、脂質とタンパク質の複合体が形成され、被膜の骨格になることが明らかになった。

謝 辞 本研究を遂行するにあたり、IRイメージング分析でご協力頂きました太陽化学㈱おいしさ科学館様に心から感謝いたします。

文 献

- 1) 白井正澄・渡辺 研・岡本 奨:大豆11S, 7Sグロブリンからの湯葉状皮膜の生成と膜質について, 日本食品工業学会誌, **21**, 324~328 (1974)
- 2) 岡本奨:伝統食品の研究 ゆばの科学, 日本伝統食品研究会誌, **10**, 43~49 (1991)
- 3) 国正重乃・柳沼 勲・野口智弘・高野克己・内村信宏・青柳吉紀:ゆばの褐変ならびにグルタチオンの抑制効果, 日本食品保蔵学会誌, **28**, 331~336 (2002)
- 4) NAGANO, T., HIROTSUKA, M., MORI, H., KOHYAMA, K. and NISHINARI, K.: Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of β -conglycinin, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 941~944 (1992)
- 5) 渡辺 研・岡本 奨:湯葉皮膜の組織とその形成について, 日本食品工業学会誌, **22**, 325~330 (1975)
- 6) LAEMMLI, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, **227**, 680~685 (1970)
- 7) 岡田雅人・宮崎 香:「無敵のバイオテクニカルシリーズタンパク質実験ノート(下)一次構造の決定まで」第3版(羊土社, 東京), pp.14~23 (1996)
- 8) 岡本 奨:ゆば生成と利用, 日本調理科学会誌, **9**, 135~141 (1976)
- 9) 高宮和彦・関口みつえ:大豆分離タンパク質の湯葉様皮膜の膜質と中間組織の形成, 日本食品科学工学会誌, **29**, 605~610 (1982)
- 10) 蔦 瑞樹・杉山純一・相良泰幸:近赤外分光イメージング法による食品品質計測法の開発, 日本食品科学工学会誌, **58**, 73~80 (2011)
- 11) GUSTAV, W., BIRGITTA, S., THOMAS, V. and ANN, V.: Soybean Oleosomes Behavior at the Air-Water Interface, *J. Phys. Chem.*, **116**, 10832~10841 (2012)
- 12) ROWLEY, D. L. and HERMAN, E. M.: The upstream domain of soybean oleosin genes contains regulatory elements similar to those of legume storage proteins, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1345**, 1~4 (1997)
- 13) HUNG, A.H.C.: Oil bodies and oleosins in seeds, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **43**, 177~200 (1992)
- 14) 鈴木美葉子・中村朋之・岡井直子・小川智久・村本光二:大豆プロテオリビド-アボたん白質とオレオシンの分子構造的相関性, 大豆たん白研究会会誌, **4**, 27~32 (2001)

(平成28年10月27日受付, 平成28年12月15日受理)

天然ウップルイノリの色調, 食感, ミネラル含量, 揮発性成分ならびに形状

鶴 永 陽 子^{*1§}・高 橋 哲 也^{*1}・松 本 真 悟^{*2}
永 田 善 明^{*3}・吉 野 勝 美^{*4}

*1 島根大学教育学部

*2 島根大学生物資源科学部生物資源科学部附属生物資源教育研究センター

*3 島根県産業技術センター浜田技術センター

*4 島根県産業技術センター

Color, Texture, Mineral, Volatile Components, and Shape of Naturally Occurring Uppurui Nori (*Porphyra pseudolinearis*)

TSURUNAGA Yoko^{*1§}, TAKAHASHI Tetsuya^{*1}, MATSUMOTO Shingo^{*2},
NAGATA Yoshiaki^{*3} and YOSHINO Katsumi^{*4}

*1 Faculty of Education, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690-8504

*2 Education and Research Center For Biological Resources, Faculty of Life and Environmental Science,
Shimane University, 2059 Kamihonjo-cho, Matsue, Shimane 690-1102

*3 Shimane Institute for Industrial Technology, Hamada Branch,
388-3, Shimoko-cho, Hamada, Shimane 697-0006

*4 Shimane Institute for Industrial Technology, 1 Hokuryo-cho, Matsue City, Shimane 690-0816

To characterize naturally occurring Uppurui nori (*Porphyra pseudolinearis*), we examined its color, volatile components, texture, and mineral content in comparison with cultured Uppurui nori, Susabi nori (*Pyropia yezoensis*) and commercial Asakusa nori (*Porphyra tenera*) with which, the Japanese are very familiar. We found that naturally occurring Uppurui nori is rich in volatile components and minerals such as Na, Ca, and Fe. It is highly chewy while eating and dark black in color compared to cultured Uppurui nori, Susabi nori, and commercial Asakusa nori. Uppurui nori's ductile and chewy texture is affected by its water content and thickness.

(Received Aug. 18, 2016 ; Accepted Jan. 23, 2017)

Key words : Uppurui nori, color, texture, mineral, volatile components, shape

ウップルイノリ, 色調, 食感, ミネラル含量, 揮発性成分, 形状

全国各地に地域特産の海苔があるが、島根県出雲市には雌雄異株である十六島海苔と書いてウップルイノリ(学名; *Porphyra Pseudoline* Ueda)と読む岩のりがある。岩のりとは、アマノリ属のなかで養殖されない天然海藻種の俗名である¹⁾。ウップルイノリは奈良, 平安時代から貢納品として用いられ、鎌倉, 室町時代には進献品, 交易品となっていたほか、領主に献上され、社寺にも寄贈されていた²⁾。江戸時代になるとさらに有名になり、

松江藩松平侯が松江地方を治めると、藩へ上納されるようになった²⁾。出雲市十六島地区のウップルイノリは、十六島鼻を巡る約2,700mの沿岸で収穫され¹⁾、収穫時期は冬期に限定されている³⁾。また、出雲市十六島地区では、田畑のように個人所有の岩場があり、良質なウップルイノリの出荷がなされている。いまでも松江市, 出雲市では、お正月にウップルイノリとモチのみでお雑煮を作る習慣が残っている。その他、お吸い物, あんかけ,

*1 〒690-8504 島根県松江市西川津町1060

§ Corresponding author, E-mail: ytsurunaga@edu.shimane-u.ac.jp

*2 〒690-1102 島根県松江市上本庄町2059

*3 〒697-0006 島根県浜田市下府町388-3

*4 〒690-0816 島根県松江市北陵町1

佃煮等に利用されるとともに、割烹料理に用いられることもある。他のノリにはない特有の香りと食感を有することから、価格は高いもので100 g 当たり5,000～15,000円にもなる。また、島根県では、「ウップルイノリ」をブランド特産品として位置づけ、県内外に広くPRし販路拡大に取り組んでいる。しかし、ウップルイノリが持つ特有の風味と食感、ノリに期待されるミネラル含量についてのデータは皆無に等しい。そのため、具体的な科学的データに基づいた販促活動ができていない状況である。

そこで、本研究では、出雲風土記にも記載があり²⁾、奈良、平安時代から高級品として扱われてきた天然のウップルイノリについて、市販のアサクサノリならびに養殖された愛媛県産のウップルイノリならびにスサビノリと、香り、食感、色調、ミネラル含量を比較し、天然のウップルイノリの特徴を明らかにすることを試みた。また、ノリの種類によって食感を表す値が著しく異なっていたため、その原因についても考察した。

実験方法

1. 原 料

試料は十六島海苔の採取、加工を手がけている有限会社ワタエー（島根県出雲市）から購入した。出雲市の十六島地区でとれる天然ウップルイノリは加工方法により2種類に大別される。本報告では、岩から剥いで乾燥させたノリを「ハギノリ」とし、岩から採取後、板海苔状に成型して乾燥させたノリを「スボシノリ」とした。また、愛媛県産の養殖ウップルイノリ（素干し）を(有)ワタエーより購入した。また、一般的なノリと比較するため、愛媛県産のスサビノリ（素干し）を(有)ワタエーより、アサクサ種から製造されたアサクサノリ（焼ノリ）をわが国の市場で購入した。

2. 分析方法

(1) 色 調 分光測色計（MINOLTA製CR-13）を用いてL*, a*, b*値を測定した。値は、それぞれのノリについて、1枚につき2か所ずつ5枚の表面部分を測定した。測定結果を平均値±標準誤差（n=10）で表した。

(2) 物 性 クリープメーター（YAMADEN社製RE33005）を用いて物性を測定した。突き刺し用プランジャーガイド（YAMADEN社製、No.103）にノリをしっかりと固定してはさみ、No.3（設置面幅3mm）の亚克力樹脂製の円柱形プランジャーを突き刺すことにより物性を分析した。装置の測定条件は、ロードセル20N、SPEED 1 mm/sec、歪み率999%と設定して分析を行った。破断エネルギーは破断に至るまでの仕事量で、応力と歪の積で算出した。また、各ノリのしなやかさを数値化するため、サンプルの元の厚さに対する破断変形の比率（破断ひずみ率）を算出した。

(3) 顕微鏡観察 各ノリの凍結乾燥品について表面ならびに断面を走査電子顕微鏡（日立社製、HITACHI S-3000N）を用いて、加速電圧15kVで観察した。さらに、システム実体顕微鏡（Nikon社製、SMZ1270i）を用いた観察も行った。

(4) 水分ならびに水分活性 水分ならびに水分活性の測定には、包丁で1mm角にみじん切りにした各種ノリを用いた。105℃ 5時間の常圧乾燥法⁴⁾により算出した。水分活性は水分活性測定装置（日本ゼネラル製、アクアラブCX-2）を用いて露点法により測定した。

(5) GC-MSによる揮発成分分析 試料からの香気成分の抽出は次の方法で行った。試料1gを20mlヘッドスペースバイアルに封入し、60℃ 5分保温した。次にバイアル中にSPMEファイバーを挿入し、60℃に保温した状態で30分間抽出を行った。抽出後、SPMEファイバーをGC-MS（ThermoFisher Scientific Trace1310GC, ISQ QD, TriPlus RSH）に導入し、Table.1に示す条件でGC-MS分析を行った。化合物の推定は、得られた質量スペクトルをNIST11MassSpectol libraryおよびOdor search（Alpha M.O.S.社）を用いて照合することにより行った。

(6) 可溶性ならびに全ミネラル 可溶性ミネラルは、試料0.5gに0.1N塩酸50mlを添加し、室温にて1時間振とう抽出後、0.1%硝酸により適宜希釈して分析に供した。全ミネラル分析については、試料0.5gに硝酸5ml、過酸化水素2mlを添加してマイクロウェーブ分解装置（ユニフレックス、UNI8300）で分解後、分解液を0.1%

Table 1 Analytical conditions of GC-MS

GC-MS equipment	ThermoFisher Scientific Trace1310GC, ISQ QD, TriPlus RSH	
SPME condition	Fiber	Supelco DVB/CAR/PDMS10mm
	Extracting method	60℃ for 30min
GC condition	Carrier gas	He, constant pressure150kPa
	Column	TG-WAXMS 0.25mm×60m, 0.25μm
	Vaporizing chamber	Splitless (1 min, 250℃)
	Temperature program	50℃ (4 min) - 5℃/min - 250℃ (15min)
MSD condition	Scanning range	30 - 400 (m/z)
	Ion source	200℃
	Transfer line	250℃

硝酸で適宜希釈して分析に供した。測定には、原子吸光度計（日立ハイテクノロジーズ、Z5010）を用いた。

実験結果

1. 色 調

Fig. 1に示すとおり、明度を示す L^* 値⁵⁾にはほとんど違いがなかったが、赤の度合い（赤-緑）を示す a^* 値⁵⁾に関しては、天然ならびに養殖ウップルイノリと養殖スサビノリは+側に、アサクサノリは-側の数値を示した。

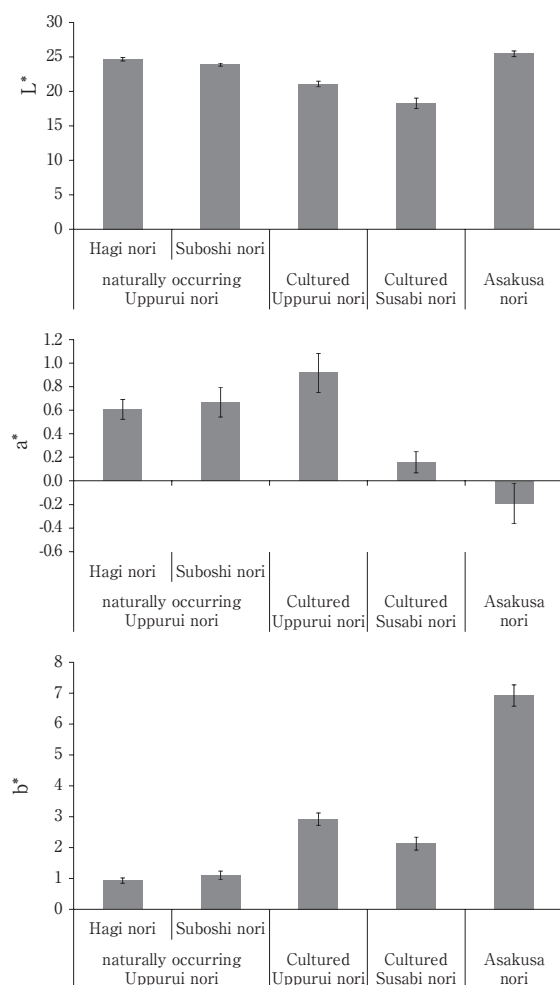


Fig. 1 Color in the different seaweeds

Error bars indicate SE (n=10).

また、黄の度合い（黄-青）を示す b^* 値⁵⁾に関しては、アサクサノリの数値が著しく高く、養殖スサビノリならびに天然、養殖かかわらずウップルイノリのほうが低い値となった。

2. ノリの表面ならびに断面の顕微鏡観察

Fig. 2に、各種ノリの表面と断面の顕微鏡画像を示した。ウップルイノリの表面については、走査型電子顕微鏡（以下、SEM）画像からハギノリ、スボシノリでは横方向に帯状のノリが重なっているような形状がみられ、そのことは実体顕微鏡画像にも表れていた。また、養殖ウップルイノリ、養殖スサビノリは一方方向ではないが、やはりノリが重なったような形状をしていた。一方、アサクサノリは、凹凸が少なかったためかSEM画像では構造をはっきりと確認することはできなかったものの、実体顕微鏡画像では細かいノリの破片が敷き詰められたような形状が観察された。また、SEMの断面構造は、各種ノリによって大きく異なっていた。天然ウップルイノリのハギノリ、スボシノリではノリが何枚も重なり、厚さが300~500 μ m程度にも達することがわかった。特に、スボシノリは密に重なりが形成されていることが確認された。養殖ウップルイノリならびに養殖スサビノリは重なりが数層程度で、隙間があることが確認できた。アサクサノリも多層構造ではあるが、天然ウップルイノリと比較すると層の数は少なく、厚さも100 μ m程度であった。

3. 水 分

Table. 2に各種ノリの水分含量を示す。ハギノリは水分含量が28.3%と最も高く、次いでスボシノリが23.3%と高かった。養殖のウップルイノリは5.7%，養殖のスサビノリは7.7%，アサクサノリは1.2%と天然ウップルイノリに比較すると低く、ノリの種類によって差が顕著に認められた。また、Table. 2に各種ノリの水分活性値を示す。スボシノリが0.693と最も高く、次いでハギノリが0.681であった。養殖ウップルイノリは0.331，養殖スサビノリは0.473，アサクサノリは0.148と天然ウップルイノリに比較すると水分活性値は低く、ノリの種類によって差が顕著に認められた。

4. 物 性

各処理区の各種ノリの応力-歪率曲線をFig. 3に示す。ノリの違いにより、異なる波形となっており、養殖のス

Table 2 Water content and water activity of the different seaweeds

Seaweed	Water content	Water activity
Hagi nori (naturally occurring Uppurui nori)	28.3 ± 0.1	0.681 ± 0.001
Suboshi nori (naturally occurring Uppurui nori)	23.3 ± 0.2	0.693 ± 0.001
Cultured Uppurui nori	5.7 ± 0.8	0.331 ± 0.012
Cultured Susabi nori	7.7 ± 0.1	0.473 ± 0.019
Asakusa nori	1.2 ± 0.1	0.148 ± 0.002

Values are mean ± SE (n=3)

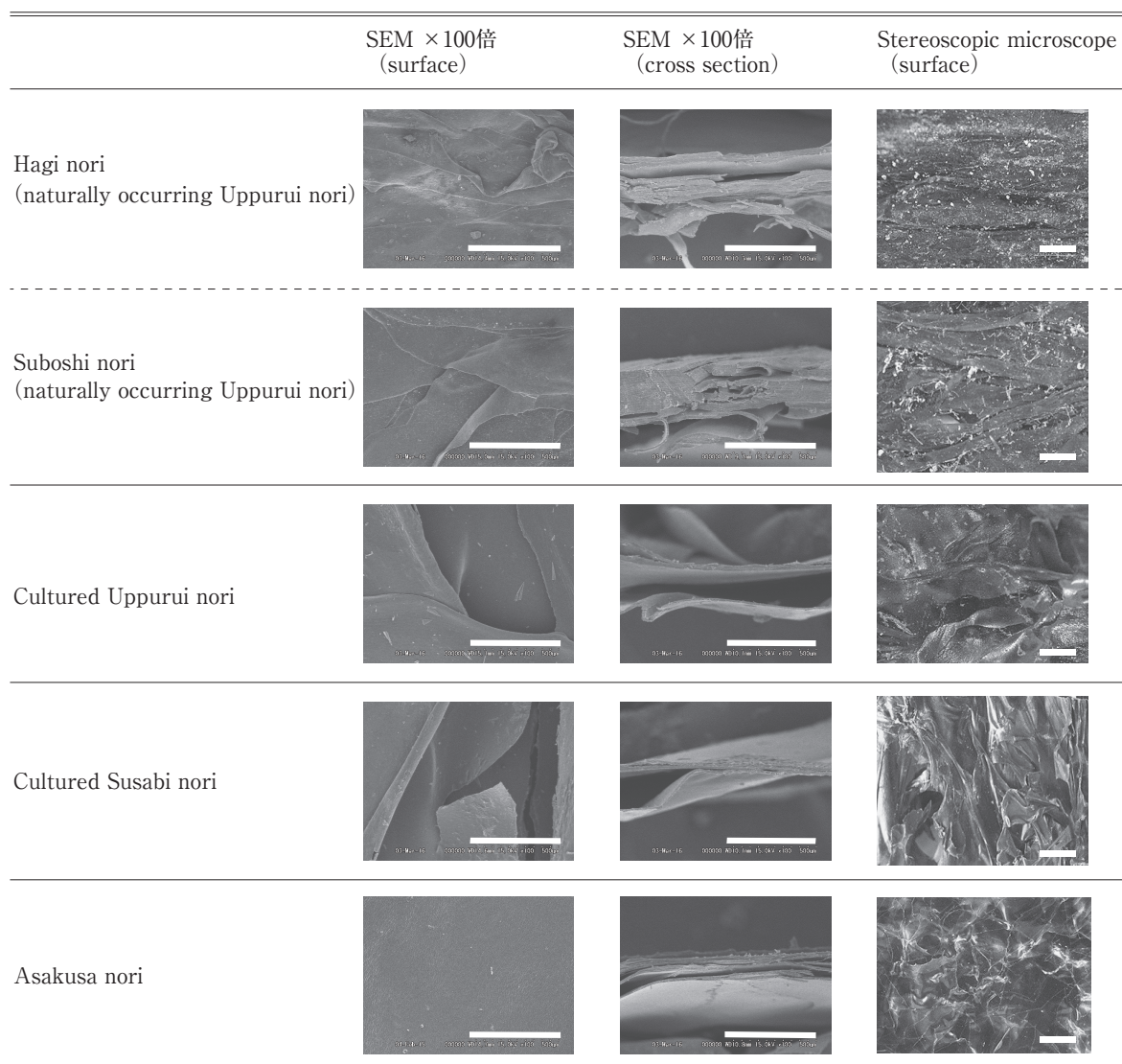


Fig.2 Scanning electron microscope and stereomicroscope images of the different seaweeds

For SEM images scale bar indicates 500nm.

For stereomicroscope images scale bar indicates 1 mm.

サビノリ、アサクサノリは測定開始してすぐに荷重の上昇がみられたのに対し、ウップルイノリでは荷重の上昇が緩やかであった。その傾向は、ウップルイノリの中でも天然のハギノリ、スボシノリで顕著であった。また、ウップルイノリのハギノリとスボシノリの波形は類似していたが、スボシノリの方が破断するまでの時間がかかり、その際の荷重も大きい結果となった。破断するまでの変形度合いを示す破断ひずみ率をFig.4 (a) に、また破断までにかかるエネルギーで、歯ごたえに関する破断エネルギーの結果をFig.4 (b) に示した。破断するまでの変形が最も大きいのはスボシノリ、次いでハギノリで非常に高い値でそれぞれ587%、473%であった。これは、プランジャーがノリに接触した後も破れず、ノリが非常にしなやかであることを示している。一方、養殖ウップルイノリ、養殖サビノリ、アサクサノリはほとんど変形することなくプランジャーの接触によりノリが

容易に破壊されていた。また、Fig.3をみると、スボシノリは破断するまでに時間がかかり、さらに破断に要する荷重も他のノリと比較して非常に大きいことから、破断エネルギーについても2,747,878J/m³と高い値になった。これらの結果から、最もしなやかでかみ切るのに力が必要なのは天然ウップルイノリであるスボシノリ、次いでハギノリで、両者は非常に歯ごたえのあるノリであることが明らかとなった。

5. 揮発成分

それぞれのノリに特徴的なピークを選定しNo.1～No.37 (Fig.5) とした。養殖サビノリのリテンションタイム13分付近に大きなピークがあるが、これは炭化水素類であるためピーク番号をつけなかった。天然のウップルイノリは非常に磯の香りが強いといわれている。Fig.5のGC-MS分析により得られたクロマトグラムのマスペクトルから、各種ノリに含まれるNo.1～No.37に

おける揮発性成分のピーク面積の総計量を算出したところ、天然ウップルイノリのハギノリ、スボシノリがそれぞれ 8.4×10^8 , 6.7×10^8 であるのに対し、養殖ウップルイノリ、養殖スサビノリ、市販アサクサノリはそれぞれ 5.3×10^8 , 3.5×10^8 , 1.9×10^8 であった。5種すべてで検出されたピークはピーク6, 7, 9, 10, 11, 17, 18, 22, 29, 32, 34であった。とくにピーク7 (1-オクテン-3-オール), 9 (3,5,5-トリメチル-2-ヘキセン) はいずれのノリでも比較的大きなピークであったことからノリに共通する香り成分の可能性がある。またウップルイノリでしか認められなかった比較的大きなピークは, 1 (ヘキサナール), 2 (1-ペンテン-3-オール), 養殖スサビノリやアサクサノリにも確認できるもののウップルイノリに特徴的に大きなピークは11 ((E,E)-3,5-オクタジエン-2-オン), 34 (β -イオノン-5,6-エポキシド), 養殖

スサビノリには確認できず, アサクサノリにはわずかに確認できるもののウップルイノリに特徴的に大きなピークは14 ((E,E)-3,5-オクタジエン-2-オン) であった。

におい成分データベースであるOdor searchを使用し、各ピークのおい質を検索した結果を次に示す。ピーク7は慣用名「マツタケオール」とよばれる成分で、松茸香気に大きくかかわっているほか、マッシュルーム様のおい成分である。同様にピーク11, 14にもマッシ

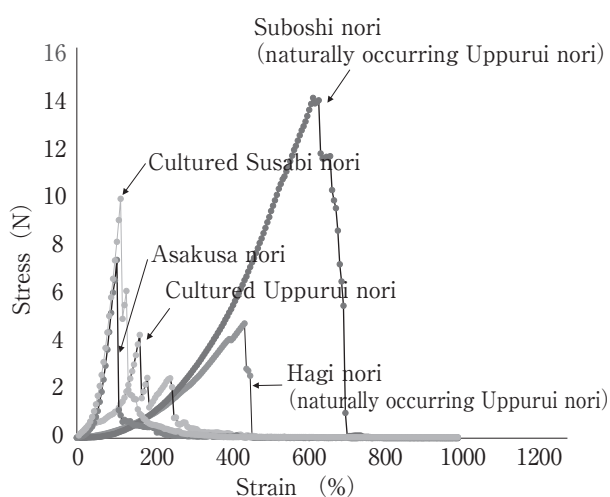


Fig. 3 Stress-strain curve of the different seaweeds

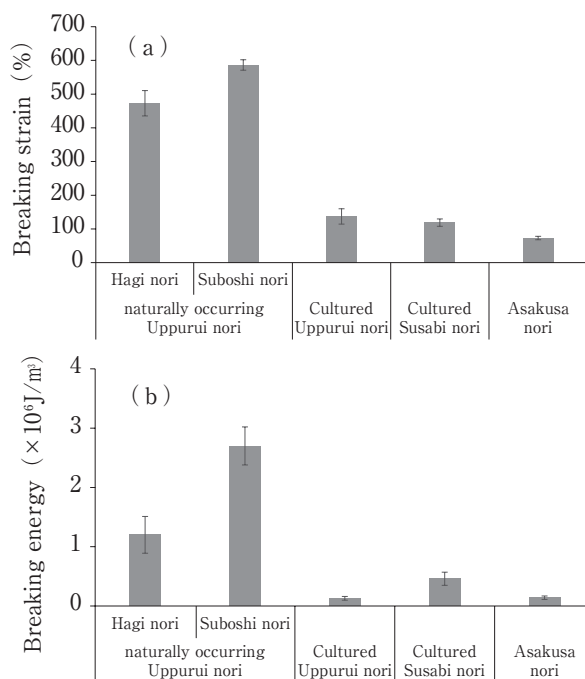


Fig. 4 Breaking strain (a) and breaking energy (b) of the different seaweeds

Error bars indicate SE (n=10).

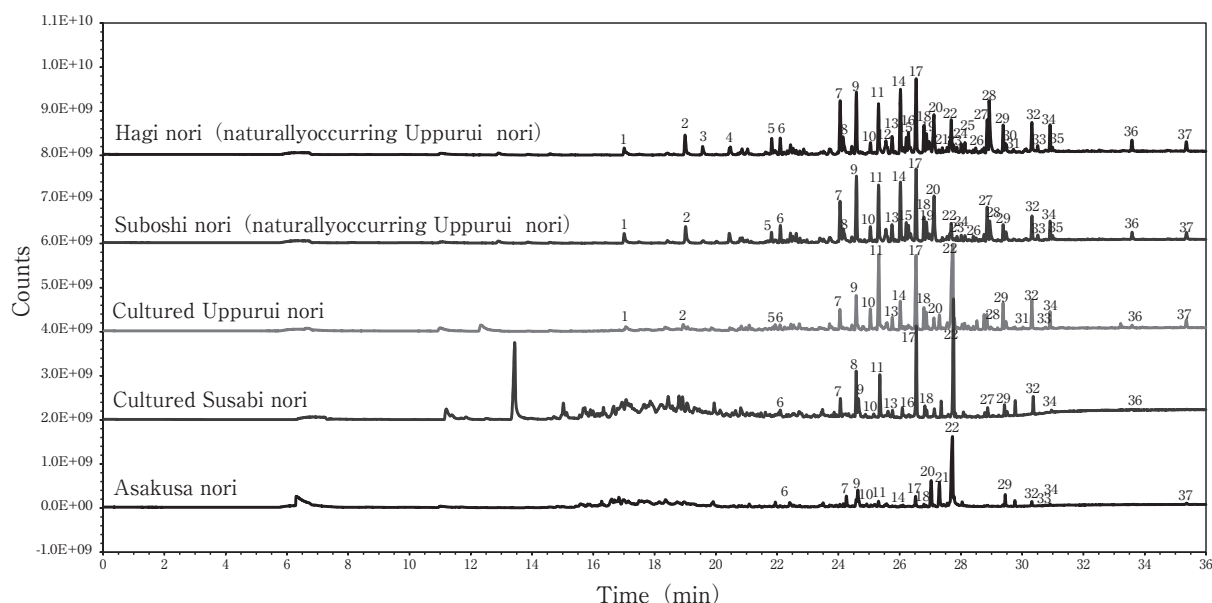


Fig. 5 GC-MS chromatogram of the different seaweeds

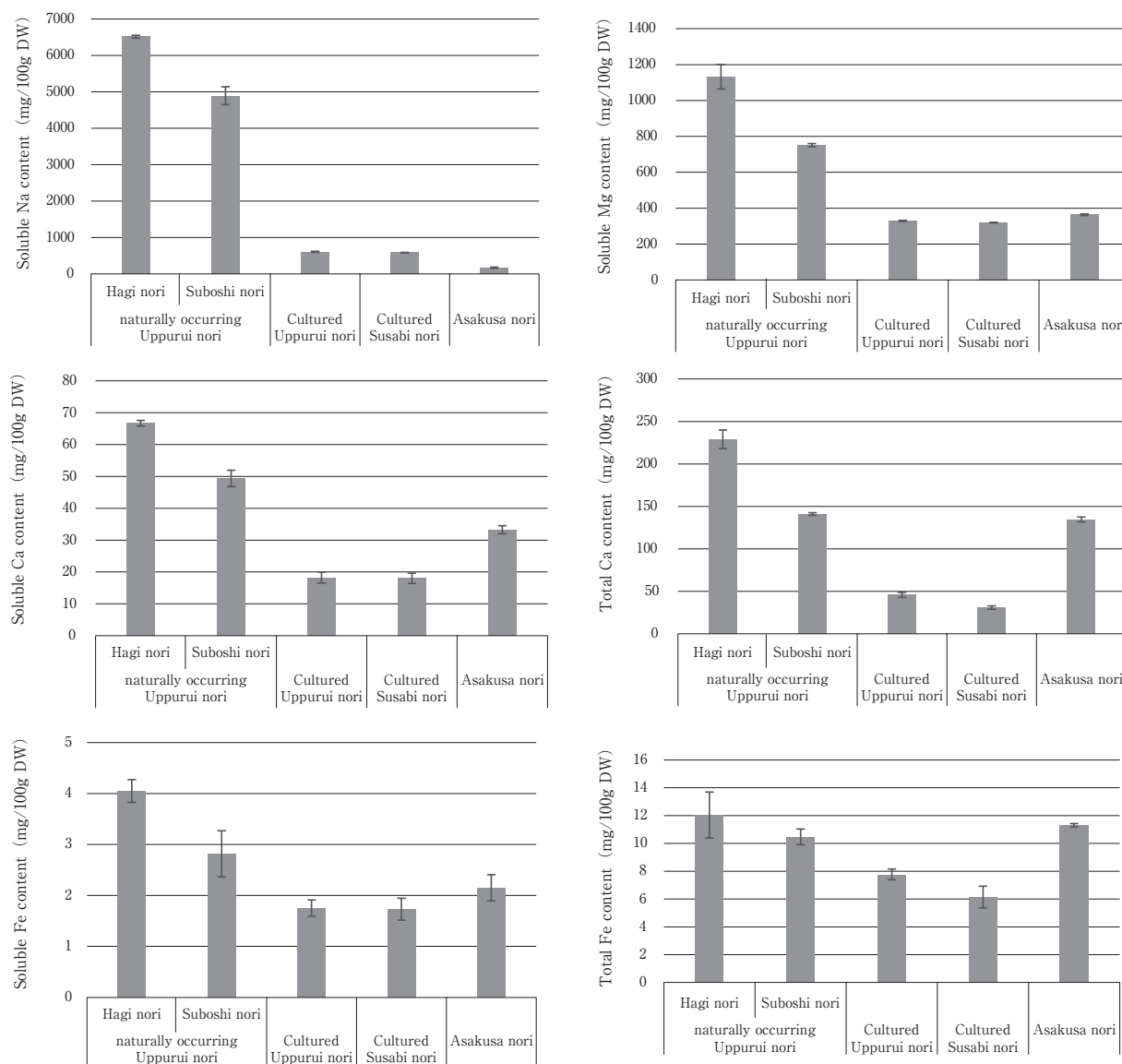


Fig. 6 Mineral content in the different seaweeds

Error bars indicate SE (n = 3).

ェルム様の香りがあるとされている。ピーク22は構造的にはアルカン系の香りと考えられる。ピーク1, 2は青葉アルコールまたは青葉アルデヒドとよばれる草のにおいのする物質で、グリーン臭とよばれる。ピーク15はキュウリの香りである。ピーク34はデータベースににおい質が収載されていないが、イオノン類似だと仮定すればラズベリー、樹木、海藻の香りと考えられる。

6. ミネラル成分

ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄の0.1N塩酸における可溶性含量の測定結果をFig.6に示した。ナトリウムならびにマグネシウムは、可溶性と全量の値が同程度であったが、カルシウムと鉄は可溶性と全量の値が大きく異なっていたため両者のデータを示した。ナトリウムは、天然のウップルイノリであるハギノリとスボシノリの値が高くそれぞれ6,515mg/100gDW、4,892mg/100gDWもの値を示したのに対し、養殖ウップルイ

ノリでは608mg/100gDW、養殖スサビノリでは583mg/100gDWアサクサノリでは173mg/100gDWと大きな差が認められた。マグネシウムについても、ハギノリ、スボシノリの含量は高く、前者が1,132mg/100gDW、後者が751mg/100gDWであった。カルシウムは全量ならびに可溶性ともハギノリとスボシノリの値が高く、前者の可溶性カルシウムが67mg/100gDW、後者が49mg/100gDW、前者の全カルシウムが230mg/100gDW、後者が141mg/100gDWであった。また、全量カルシウムに対する可溶性カルシウムの割合は、ノリの種類によって差があるものの25~40%の範囲にとどまっていた。鉄に関しては、可溶性で最も多かったのはハギノリ、次いでスボシノリで4.0mg/100gDW、2.8mg/100gDWであった。全量鉄に対する可溶性鉄の割合は20~30%にとどまっていた。ミネラル成分として測定した4成分ともハギノリとスボシノリの値が非常に高いことが明らかとなった。

考 察

出雲市十六島地区で採取されるウップルイノリは、色が非常に黒く、つやがあった。島根県ではウップルイノリのことを「かもじのり」とよぶ風習がある。「かもじ」は髷と書き、女性が髪を結うときに添える毛という意味であるため、つややかで黒々した外観を女性の髪の毛にたとえて、かもじのりとよぶようになったといわれている。また、赤の度合い（赤-緑）を示す a^* 値に関しては、天然ならびに養殖ウップルイノリ、養殖スサビノリは+側に、アサクサノリは-側の数値を示した。ノリの色を決定づけているのはクロロフィル a 、フィコエリスリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、 β カロテン、ルテインといわれている⁶⁾。アサクサノリ、スサビノリならびにウップルイノリはいずれも紅藻類のウシケノリ科アマノリ属に属しており⁷⁾、クロロフィル、フィコエリスリン、フィコシアニン、カロテノイドが多いとされている⁷⁾。これらのことから、アサクサノリも a^* 値が+側の数値になると予想されたが、本実験で用いたアサクサノリは焼ノリであるため、加熱によってフィコエリスリンの紅色色素が破壊されて消え⁶⁾、クロロフィル a 、 β カロテン、フィコシアニンの混合色で緑色を示す-側の数値になったものと推察された。

ウップルイノリは他のノリと比較すると非常に歯ごたえがあり、食感がしっかりしているといわれている。本研究でもウップルイノリのハギノリ、スボシノリでは、破断ひずみ率ならびに破断エネルギーが大きく、これらのことにノリの断面構造や表面構造が大きく関与していると考えられた。そこで、SEMならびに実体顕微鏡観察を行ったところ、ハギノリ、スボシノリでは表面に一方方向（画像では横）に帯状のノリが重なっているような形状がみられ、断面はシート状のノリが何枚も重なっていることが観察された。また、養殖ウップルイノリ、養殖スサビノリならびに市販アサクサノリは、クリープメーターのプランジャーが接してすぐに破断するのに対し、ハギノリ、スボシノリはプランジャーを押しつけても破れず、非常にしなやかに変形した。これは、水分も影響しているものと考えられたため、ノリの水分測定を行った結果、一番水分含量が少なかった市販アサクサノリが1.2%であったのに対し、一番多かったハギノリでは28%もの値を示した。これらのことから、天然ウップルイノリにおけるハギノリ、スボシノリの食感は、ノリの形状と、水分含量が大きく影響していると推察された。通常、素干しタイプのノリの水分は8~16%程度で⁸⁾、本研究で比較に用いた素干しタイプの養殖スサビノリの水分含量もその値に近い7.7%であった。それに比較するとハギノリ、スボシノリの水分含量は非常に高い。水分が高いと、一般的に腐敗しやすいといわれているが、ハギノリ、スボシノリとも保存性が高い。本実験で用いた天然ウップルイノリのナトリウム含量の結果は、

6,515mg/100gDW, 4,892mg/100gDWであり、2.54を乗じて食塩相当量に換算すると、それぞれ16.5g/100gDW, 12.4g/100gDWと著しく高い値となる。水分活性を低下させるのに食塩が有効であることが知られている^{9),10)}。天然ウップルイノリは長期間海水にさらされた状態で生育するため海水に含まれる食塩がノリに付着し、そのまま加工することにより食塩が高濃度で含有し、水分活性が抑えられた結果、日持ちが向上すると考えられた。そこで、水分活性について測定した結果、天然ウップルイノリのハギノリならびにスボシノリの水分活性は0.681, 0.693であった。他のノリに比較すると高い数値を示したものの、水分活性が0.85~0.65の食品類は微生物の生育がある程度抑制され、保存性が高いとされていること¹¹⁾、食塩の塩素イオンの作用には、防腐作用や好気性微生物の繁殖抑制などがあることから¹⁰⁾、天然ウップルイノリの保存性が高い理由として、食塩が高含有していることが考えられた。さらに、カルシウムは脂肪酸¹²⁾や食物繊維¹³⁾など、鉄はリントンパク質など¹²⁾の有機物と結合しやすい性質を有していることから、吸収率が非常に低く^{12),13)}、日本人が不足しやすいミネラルとして問題視されている¹²⁾。本研究ではナトリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄について、硝酸-過塩素酸分解による全量と、0.1N塩酸による可溶性の含量を測定したが、ナトリウムとマグネシウムは、両者の差異はほとんどなかったのに対し、カルシウムと鉄は全量に対する可溶性の存在割合が非常に低かった。これは、ノリ中の有機物と、カルシウムや鉄が結合したことによるものと考えられた。本研究で測定したミネラル含量は、すべての成分において最も高いのがハギノリ、次いでスボシノリであった。日本人の焼きノリの摂取量を1日3g（8切1パック）程度とすると、天然ウップルイノリ（ハギノリ）を乾物で3g食べることによってカルシウムを一日あたり6.8mg、鉄を0.4mg摂取できる。これらの値は、日本人の食事摂取基準（2015年版）（男性、30~49歳）における推奨量がカルシウム650mg/日¹⁴⁾、鉄7.5mg/日¹⁵⁾であることから、推奨量のカルシウムの約1%、鉄の約5%を充足できることを示している。著しく高い数値とはいえないが、天然ウップルイノリは、日本人に不足しがちなカルシウムや鉄を補助的に補うには有効な食材であること、日持ちに大きく関係する食塩を多く含むノリであることがわかった。ウップルイノリの特徴として、磯の香りが強いことがあげられていたが、これについてもGC-MS分析により特徴を明らかにすることができた。さらに、本研究により、天然ウップルイノリの独特の歯ごたえは、水分含量ならびにその構造による影響が一因であることが示唆された。これまでウップルイノリの特性に関しての情報は、食経験の伝達や伝聞にとどまっていたが、本研究により、色、物性、ミネラル成分の具体的なデータを得ることができた。今後は、これらのデータに基づいた天然ウップルイノリの特徴を消費者、生産

者、加工業者等に広くPRしていきたいと考えている。

要 約

天然ウップルイノリ（ハギノリ、スボシノリ）について、市販のアサクサノリならびに養殖されたウップルイノリとスサビノリについて、色、香り、食感、ミネラル含量を比較し、天然ウップルイノリの特徴を明らかにすることを試みた。その結果、天然ウップルイノリは、揮発性成分、ナトリウム、カルシウム、鉄などのミネラル成分が豊富に含まれており、歯ごたえが非常に強いことがわかった。また、歯ごたえには水分と形状（厚さ）が関係していることが示唆された。

謝 辞 ウップルイノリの分析にご協力いただいた安木健人さん、茅原万奈さん、小林愛さん、湯村紗都子さん、中務奈美さん、斉藤真苗さんに深く感謝いたします。また本実験についてご助言いただいた島根県水産試験の井岡久様、清川智之様にも深く感謝いたします。なお、本研究の一部は、文部科学省の地（知）の拠点整備事業（大学COC事業）により行われた。

文 献

- 1) 福永英子・荒谷孝昭：ウップルイノリの食文化的考察(Ⅰ)—食習慣の歴史—, 呉女子短期大学紀要, **6**, 33～38 (1992)
- 2) 宮下 章：ものと人間の文化史 海苔, (法政大学出版局, 東京), pp.273～285 (2003)
- 3) 今田節子：山陰沿岸地帯にみられる海藻の食習慣とその背景, 日本家政学会誌, **45**, 621～632 (1994)
- 4) 安本教傳・竹内昌昭・安井明美・渡邊智子編：五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル (建帛社, 東京), p.19 (2006)
- 5) 長尾慶子他編：調理科学実験 (建帛社, 東京), pp.118～119 (2009)
- 6) 能登谷正浩：海苔という生き物 (成山堂書店, 東京), pp.50～57 (2002)
- 7) 加藤保子・中山 勉：食品学Ⅱ 食品の分類と利用法 (南江堂, 東京), pp.94～96 (2007)
- 8) 香川芳子監修：食品成分表2015 (女子栄養大学出版部, 東京), p.114 (2015)
- 9) 青柳康夫・筒井知己：標準食品学総論 第2版 (医歯薬出版, 東京), pp.21～24 (2007)
- 10) 小川 正・的場輝佳編著：食品加工学 第3版 (南江堂, 東京), pp.33～34 (2007)
- 11) 長澤治子編著：食べ物と健康 食品学・食品機能学・食品加工学 第2版 (医歯薬出版, 東京), pp.21～22 (2014)
- 12) 長澤治子編著：食べ物と健康 食品学・食品機能学・食品加工学 第2版 (医歯薬出版, 東京), pp.70～73 (2014)
- 13) 中村丁次：栄養の基本がわかる図解事典 (成美堂出版, 東京), pp.106～109 (2015)
- 14) 菱田 明・佐々木敏監修：日本人の食事摂取基準 (第一出版, 東京), p.283 (2015)
- 15) 菱田 明・佐々木敏監修：日本人の食事摂取基準 (第一出版, 東京), p.335 (2015)

(平成28年8月18日受付, 平成29年1月23日受理)

米デンプンの糊化および粘度挙動に対する 内在タンパク質および脂質の影響

塩野 弘二^{*1}・辻井 良政^{*2}・野口 智弘^{*3§}・高野 克己^{*2}

*1 東京農業大学大学院農学研究科農芸化学専攻

*2 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科

*3 東京農業大学応用生物科学部食品加工技術センター

Effects of Proteins and Lipids of Rice Starch on Gelatinization and Viscosity

SHIONO Koji^{*1}, TSUJII Yoshimasa^{*2}, NOGUCHI Tomohiro^{*3§} and TAKANO Katsumi^{*2}

*1 Department of Agricultural chemistry, Graduate school of agriculture, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

*2 Department of Applied Biology and Chemistry, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

*3 Food Processing Center, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

We examined the effects of components of starch surface granule (included lipids and proteins) on the gelatinization and viscosity properties of rice starch. In water absorbing and solubility test, lipids and proteins inhibited the water absorption power and solubility of starch granule. There effect was stronger for proteins than lipids. The viscosity profile showed that lipids and proteins in the starch granule increased pasting temperature of starch granule. In addition, proteins decreased swelling power of starch granule. The viscosity behavior of gelatinized starch paste showed lipids and proteins promoted retrogradation of starch. These data were suggested promotion of retrogradation of starch was due to interaction with hydrophobicity protein such as glutelin and prolamin in the rice starch granule. These data were suggested component of starch granule such as lipids and proteins are also significant in determining the characteristics of starch granules. It can be valuable in developing novel technologies for starch processing.

(Received Oct. 12, 2016 ; Accepted Dec. 22, 2016)

Key words : starch, lipid, protein, viscosity behavior
デンプン, 脂質, タンパク質, 粘度挙動

デンプンの理化学的性状やデンプン分解酵素の作用性などは、デンプンの起源によって異なる¹⁾。この要因にはデンプンの粒子径やアミロース含量、結晶化度が要因であるとされているが²⁾、米デンプンにおいてこれら要因に差異がないにもかかわらず膨潤度が異なる現象が報告されており³⁾、他の要因が関与することが考えられる。デンプンはアミロース、アミロペクチンの他に微量のタンパク質、脂質などが存在すること^{3)~6)}から、これら成分がデンプンの特性に影響を与えていることが推察され

る。

小麦デンプンでは、その表層にタンパク質が存在することが見出されている⁷⁾。筆者らも先に⁸⁾米、トウモロコシ、小麦、サツマイモおよびジャガイモの各デンプンを0.1%水酸化ナトリウム溶液にて処理し可溶化したタンパク質の解析を行い、それぞれデンプン合成酵素、アミラーゼインヒビター、プロテアーゼインヒビターおよび各植物体の貯蔵タンパク質を同定した。また、トウモロコシデンプンにおいて、タンパク質を減少させると、 α

*1 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

*2 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

*3 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

§ Corresponding author, E-mail : tomo@nodai.ac.jp

ーアミラーゼによる生デンプンの分解性が低下することを報告した⁹⁾。NIERLEは、ドデシル硫酸ナトリウム溶液にて小麦デンプン粒からタンパク質および脂質を除去すると、糊化時の粘性が上昇することを報告している¹⁰⁾。

本研究では、米デンプン粒に存在するタンパク質および脂質が同デンプンの吸水、膨潤、糊化、粘度挙動に与える影響について解析し新規の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

試料に米デンプン（シグマ社）を用いた。デンプン10 g（乾重量）に純水100mlを加え、180rpm、室温で20分振とうし、その後遠心分離（9,000×g, 20℃, 10分）しデンプンを回収し、この操作を2回繰り返し洗浄した。得られたデンプンを凍結乾燥機（VD-800R型、タイテック社）にて乾燥し、実験に供した。

2. 除タンパク質処理

WANGらの方法¹¹⁾に従いデンプンに0.1%水酸化ナトリウム溶液を100ml加え、180rpm、4℃の条件で一晩振とうしたのち、遠心分離（9,000×g, 20℃, 10分）し沈殿と上澄液に分離した。得られたデンプンに純水100mlを加え180rpm、4℃で1時間振とう後、遠心分離（9,000×g, 20℃, 10分）し、デンプンを回収した。この操作を上澄液のpHが中性になるまで繰り返し行った。得られたデンプンを凍結乾燥機（タイテック社）にて乾燥し、除タンパク質米デンプンとした。

3. 脱脂処理

Bligh-dyer法¹²⁾にてデンプン粒より脂質を抽出除去した。試料10 gをスクリュウキャップ付き遠心管に秤量し、クロロホルム：メタノール：水＝1：2：0.9（v/v/v）混液を30ml加え、30℃で1時間振とうしたのち、遠心分離（9,000×g, 30℃, 10分）し、上澄液を回収した。この操作を2回繰り返し、得られた上澄液をろ過（No.5C, アドバンテック社）し、ろ液を分液ロートに移し、さらにクロロホルム：メタノール：水＝1：1：0.9（v/v/v）になるようクロロホルムと水を加え、振とうした。静置後、下層（クロロホルム）を回収した。この操作を再度行い、水溶性成分を除去し脂質抽出液とした。得られた脂質抽出液を遠心エバポレーター（CVE-3100, 東京理化器械社）にて減圧留去し、秤量した。

脱脂したデンプンは風乾後、減圧乾燥を行い脱脂米デンプンとした。

4. タンパク質の測定

タンパク質量は前報⁸⁾に従いCNコーダーMT-700 Mark2（ヤナコテクニカルサイエンス社）によって測定した。得られた窒素量に米のタンパク質係数である5.95を乗し、デンプン100 g当たりのタンパク質量に換算した。

5. デンプンの吸水力および溶解率の測定

デンプンの吸水量、溶解率の測定はCUIらの方法¹³⁾を

一部改良して行った。デンプン500mg（乾物重量）を50 ml容遠心チューブに秤量し、純水25mlを加え、アルミブロック恒温層（DTU-2 CN, タイテック社）を用いて60, 70, 80℃で30分攪拌しながら加温した。懸濁液を遠心分離（9,000×g, 30℃, 30分）し上澄液と沈殿物に分離し、沈殿物の重量を「Wa」、凍結乾燥機VD-800R型（タイテック社）による乾燥後の重量を「Wb」、上澄液の凍結乾燥後の重量を「Wc」とした。次式（1）および（2）にてそれぞれ吸水力および溶解率を算出した。

$$(1) \text{ 吸水力 (g/g) } = W_a / W_b$$

$$(2) \text{ 溶解率 (\%) } = W_c / 0.5 \times 100$$

6. デンプンの糊化粘度挙動の解析

デンプンの糊化粘度挙動の解析は、RIBOTTAらの方法¹⁴⁾を一部改良しラピッドビスコアナライザー（RVA：RVA-TecMaster Perten社製）を用いて行った。デンプンに乾物重量換算で8%（w/v）になるように純水を加え、試験に供した。測定プログラムは開始温度50℃から毎分6℃ずつ昇温させて95℃にし、5分間保温、最後に50℃になるまで毎分6℃ずつ降温させる温度プログラムで行った。パドルの回転速度は、開始から10秒まで960 rpm、その後160rpmで測定した。得られた解析図より糊化開始温度、最高粘度、最低粘度および最終粘度を求めた。

結果および考察

1. 米デンプンに存在するタンパク質および脂質量

米デンプンに存在するタンパク質および脂質量（デンプン100 g）をTable 1に示した。米デンプンのタンパク質量は67.3mg、脂質量は191.0mgであり、米デンプンにはタンパク質が0～0.1%、脂質が0～1%程度含まれるというこれまでに報告のある含有量と類似した値となった¹⁵⁾。また、脱脂処理ではタンパク質は64.7mgと大きな変化はみられず、除タンパク質処理では19.4mgと大きく低下し、同処理によって米デンプンのタンパク質はおおよそ70%が可溶化し、脂質は除タンパク質処理による減少量は10.7mgとわずかであった。これらの結果から、

Table 1 The amount of protein and lipid in each treated rice starch

Starch	Protein (mg/starch 100 g)	Lipid* (mg/starch 100 g)
Untreated	67.3 ± 2.5 ^a	191.0 ± 16.1 ^a
Deproteinized	19.0 ± 1.0 ^b	180.3 ± 4.1 ^b
Defatted	64.7 ± 1.0 ^a	N.D.

n = 3

*Calculated amount of lipid in extracted solution from starch
Data marked with the same superscript letter within a column are not significantly different based on the results of Fisher's PLSD test ($p < 0.05$).

米デンプンに存在するタンパク質と脂質は結合した複合体として存在していないことが明らかになった。

2. 米デンプンの吸水力および溶解率に及ぼすタンパク質および脂質の影響

タンパク質および脂質を除去したデンプンでは、60℃では未処理デンプンと差異はみられなかったが、70℃および80℃で有意に高い吸水力を示し、80℃において、除タンパク質デンプンは15.1 g/gと未処理の約1.8倍、脱脂デンプンは10.3 g/gと約1.2倍、高い吸水力を示した。80℃における両処理デンプンともにコントロールに比べ高い吸水力を示したことから、デンプンのタンパク質および脂質はデンプンの吸水を抑制し、特にタンパク質が強い影響を及ぼすことが明らかになった。また、溶解率においても両処理デンプンは未処理に比べ高い溶解率を示し、80℃において未処理デンプンの2.7%に対し、除タンパク質デンプンは7.8%と約3倍、脱脂デンプンは5.8%で約2倍の高い値となり吸水力と同様の傾向であった (Fig. 1)。Kimら¹⁶⁾は、デンプンの粒表層を覆うように脂質が存在することで、デンプンの疎水性度が高まり、吸水が妨げられることを推察した。UTHUMPORN¹⁷⁾らは米デンプンからタンパク質を除去することで吸水力および溶解率が上昇することを報告しており、私たちも米デンプンにグルテリンやプロラミンなど不溶性タンパク

質の存在を報告している⁸⁾。これらのことから、このような米デンプンにおける吸水力および溶解率の上昇はこれら疎水性の高いタンパク質と脂質の除去によりデンプン粒表面の疎水性度が低下することに起因するものと推察した。

以上、米デンプン粒に存在するタンパク質および脂質は同デンプンの加熱による吸水や溶解を抑制すること、その影響はタンパク質の影響が大きいことが明らかとなった。

3. 米デンプンの糊化および粘度挙動に及ぼすタンパク質および脂質の影響

ビスコグラフィーに供した結果をFig. 2およびTable 2に示した。除タンパク質処理によって糊化開始温度は4.0℃低下し、糊化開始およびデンプンが膨潤する昇温過程において除タンパク質処理によって米デンプンの粘度波形が大きく変化した。脱脂処理では糊化開始温度は1.6℃低下し、昇温時の粘度上昇もやや低温側にシフトし、これらの変化は除タンパク質処理に比べ小さかったが、最高粘度は除タンパク質処理によって未処理デンプンの1.1倍と増加し、脱脂処理によって0.9倍に低下した。また、最高粘度時の温度は未処理デンプンおよび脱脂処理デンプンでは95℃であったが、除タンパク質処理デンプンでは92.7℃と低下した。デンプン粒のタンパク質が

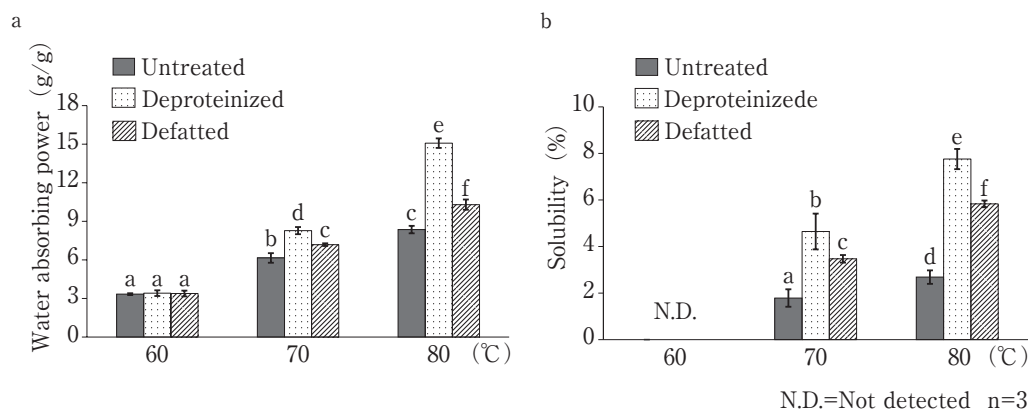


Fig. 1 Effect of proteins and lipids on water absorbing power (a) and solubility (b) of rice starch

Data marked with the same superscript letter within a column are not significantly different based on the results of Fisher's PLSD test ($p < 0.05$).

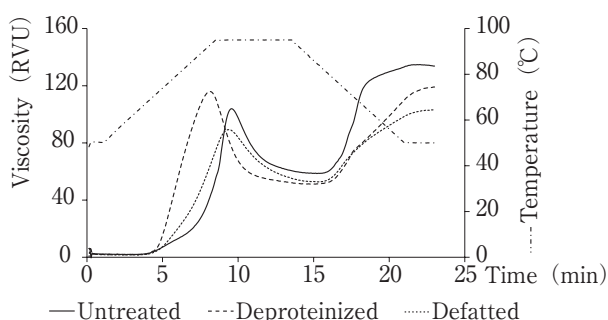


Fig. 2 RVA profile of various treatment starches

Table 2 RVA parameters of various treatment starches

Parameter	Untreated	Deproteinized	Defatted
Pasting temperature (°C)	77.1	73.1	75.5
Peak viscosity (RVU)	103.4	115.9	89.3
Minimum viscosity (RVU)	58.6	52.8	51.2
Final viscosity (RVU)	133.8	119.1	103.1

デンプンの膨潤を抑制する要因であること、膨潤量と膨潤温度の変化からデンプンの固相から液相への熱的挙動に大きな影響を及ぼすことが明らかになった。脱脂処理によって膨潤の挙動が未処理デンプンに比べやや低温域に移行したが、その変化は少なく、また最高粘度時の温度に影響がみられなかった。また、脱脂処理より、除タンパク処理した米デンプンの方が、吸水が促進、糊化開始温度および最高粘度時の温度が低下したことから、脂質よりもタンパク質が糊化および粘度挙動に与える影響が大きいことが明らかとなった。

糊化したデンプンの液相状態を反映する最低粘度(RVU)は、未処理デンプンが58.6、両処理デンプンは約50とやや低下したが大きな差異はみられなかった。タンパク質および脂質はデンプンの糊化状態の粘度に大きな影響を及ぼさないことが明らかになった。

いずれのデンプンも、RVAの冷却過程において85℃付近から粘度上昇がみられ、未処理デンプンでは66℃付近まで急激に増加した。一方、除タンパク質および脱脂処理によってその後の粘度増加は緩慢になり、特に脱脂処理では粘度上昇が小さく、その最終粘度は未処理デンプンに比べ23%低下した。RVAの冷却による粘度の増加は、糊化によって液状化したデンプンが水素結合により構造化(老化)する様相を反映している。糊化したデンプンの螺旋構造に脂質が取り込まれると老化が促進される。脱脂処理で粘度増加が大きく減少したことから、デンプン中の脂質が糊化したデンプンの老化に影響を及ぼすことが推察された。一方、除タンパク質処理での脂質減少は約5%と僅かであり、同処理デンプンの冷却過程での粘度増加の大きな減少の要因が脂質のみでないことが推察された。各種デンプンに存在する主要タンパク質が不溶性の貯蔵タンパク質である⁸⁾ことから、米デンプンにおける液状の糊化デンプンの老化にデンプンに存在するタンパク質が大きく関与することが推察された。デンプンは老化によって疎水性が高くなり不溶化することから、疎水性の高い不溶性タンパク質との相互作用がデンプンの老化を促進することが考えられた。

要 約

米デンプンの糊化、粘度挙動に与える同デンプンに内在するタンパク質および脂質の影響を解析した。これらタンパク質および脂質はデンプンの吸水力、溶解率を低下させる要因であり、その影響はタンパク質が大きかった。粘度挙動解析の結果から、これらタンパク質および脂質はデンプンの糊化開始温度を上昇させること、特にタンパク質は膨潤も抑制することを明らかにした。糊化液状化したデンプンの粘度挙動から、デンプン粒のタンパク質および脂質が同老化を促進することを明らかにし、タンパク質による同現象の促進はデンプンに存在するグルテリンやプロラミンといった疎水性タンパク質が関与するものと推察した。

文 献

- 1) 不破英次・小巻利章・松作 進・貝沼圭二：澱粉科学の事典(朝倉書店、東京)(2010)
- 2) XIANGLI, K., PING, Z., ZHONGQUAN, S. and JINSONG, B.: Physicochemical properties of starches from diverse rice cultivars varying in apparent amylose content and gelatinisation temperature combinations, *Food Chemistry*, **172**, 433~440 (2015)
- 3) LINEBACK, D. R.: Current concepts of starch structure and its impact on properties, *J. Jap. Soc. Starch Sci.*, **33**, (1), 80~88 (1986)
- 4) ZOBEL, H. F.: Molecules to granules A comprehensive review, *Starch/Stärke*, **40** (2), 44~50 (1988)
- 5) IMBERTY, A., BULÉON, A., TRAN, V. and PÉREZ, S.: Recent advances in knowledge of starch structure, *Starch/Stärke*, **43** (10), 375~384 (1991)
- 6) RING, S. G.: Stiff tests for designer starches, *Chem. Brit.*, **4**, 303~307 (1995)
- 7) LOWRY, G. D. A., SARGEANT, J. G. and SCHOFIELD, J. D.: Wheat starch granule protein the isolation and characterisation of a salt-extractable protein from starch granules, *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 371~377 (1981)
- 8) SHIONO, K., TSUJII, Y., NOGUCHI, T., SATO, H. and TAKANO, K.: Extraction and Identification of Rice, Maize, Wheat, Sweet Potato and Potato Starch Granule Surface Protein, *Food Preser. Sc I.*, **42** (6), 237~242 (2016)
- 9) NOGUCHI, T., KANEKO, M., OKA, D., and TAKANO, K.: Confirmation of the Presence of Amylase-binding Protein on Maize Starch Granules and Characterization of the Enzyme, *JAFPS*, **38** (2) 67~71 (2012)
- 10) NIERLE, W., EL BAYÄ, A. W., KERSTING, H. J. and MEYER, D.: Lipids and rheological properties of starch. Part II. The effect of granule surface material on viscosity of wheat starch, *Starch/Stärke*, **42** (12), 471~475 (1990)
- 11) SHUJUN, W., HEYANG, L., JIAN, Z., ZHONGGHU, H. and SHUO, W.: Alkali-induced Changes in Functional properties and in Vitro Digestibility of Wheat Starch: The Role of Surface Proteins and Lipids, *J. Agric Food Chem.*, **62**, 3636~3643 (2014)
- 12) BLIGH, E. and DYER, W.: A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911~917 (1959)
- 13) MIN, C., LING, F., HONGXIAN, Z. and HONG, Y.: Effects of amino acids on the physicochemical properties of potato starch, *Food Chemistry*, **151**,

- 162～167 (2014)
- 14) PABLO, D. R. and CRISTINA, M. R. : Effects of enzymatic modification of soybean protein on the pasting and rheological profile of starch～protein systems, *Starch/Stärke*, **62**, 373～383 (2010)
- 15) KIM, C. S., and WALKER, C. E. : Changes in starch pasting properties due to sugars and emulsifiers as determined by viscosity measurements, *Journal of Food Science*, **57**, 1009～1013 (1992)
- 16) SWINKELS, J. J. M. : Composition and properties of commercial native starches, *Starch/Stärke*, **37**, 1～5 (1985)
- 17) UTHUMPORN, U., SHARIFFA, Y. N., FAZILAH, A., and KARIM, A. A. : Effects of NaOH treatment of cereal starch granules on the extent of granular starch hydrolysis, *Colloid Polym Sci*, **290**, 1481～1491 (2012)
- (平成28年10月12日受付, 平成28年12月22日受理)
-

可視・近赤外分光法による水ナス果実の空洞果判別技術

橘田 浩二^{*1, *2}・谷本 秀夫^{*2}・執行 正義^{*3}
山内 直樹^{*3}・板村 裕之^{*4 §}

* 1 鳥取大学大学院連合農学研究科

* 2 大阪府立環境農林水産総合研究所

* 3 山口大学農学部

* 4 島根大学生物資源科学部

Discriminating between Pithy and Non-pithy ‘Mizu-nasu’ Eggplant Fruit by Visible or Near-infrared Spectroscopy

KITSUDA Koji^{*1, *2}, TANIMOTO Hideo^{*2}, SHIGYO Masayoshi^{*3},
YAMAUCHI Naoki^{*3} and ITAMURA Hiroyuki^{*4 §}

* 1 The United Graduate School of Agricultural Science, Tottori University,
4-101 Koyama-Minami, Tottori 680-8553

* 2 Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture,
442 Shakudo, Habikino, Osaka 583-0862

* 3 Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi 753-8515

* 4 Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University,
1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690-8504

We assessed the applicability of an X-ray transmission imaging system and visible or near-infrared spectroscopy for discriminating between pithy and non-pithy ‘Mizu-nasu’ eggplant fruits. We determined that the X-ray transmission imaging system was not appropriate. Visible or near-infrared spectroscopy was considered suitable for discriminating between pithy and non-pithy fruits. The second derivative values of the absorbances at 712 and 832 nm were applied to the discriminant in a multivariable analysis. The discriminant was as follows: $Z = -1067 \times D_2(712 \text{ nm}) - 72900 \times D_2(832 \text{ nm}) - 3.793$. Eggplant fruits were harvested from plants cultivated under the same growth conditions as those used to grow plants for developing the discriminant. The harvested samples were examined for the presence of a fruit pith cavity, and the discriminant was evaluated to assess the applicability of the method. The accuracy of the discrimination between pithy and non-pithy fruits was 92%. This finding suggests that the proposed discriminant is suitable for distinguishing between normal and pithy ‘Mizu-nasu’ eggplant fruits.

(Received Aug. 1, 2016 ; Accepted Dec. 8, 2016)

Key words : ‘Mizu-nasu’ eggplant fruit, pithy fruit, discriminant

水ナス果実, 空洞果, 判別関数

水ナスは、大阪府南部の泉州地域を中心に生産されている卵形の一地方品種である。近年、果皮の柔らかさと果肉のみずみずしさを生かした高品質浅漬「水ナス漬」の原料として人気を博している。水ナスには内部に空隙が生じる障害果、いわゆる空洞果が発生することがあ

る¹⁾。空洞果は漬物原料には適さないが、果実の外観から区別するのは難しいため、原料段階で空洞果を完全に排除することはできない。特に、高級漬物である一本漬けでは、原料を切断して確認できないために、空洞果のまま出荷してしまう危険性が高い。そのため、漬物事業

* 1 〒680-8553 鳥取県鳥取市湖山町南4-101

* 2 〒583-0862 大阪府羽曳野市尺度442

* 3 〒753-8515 山口県山口市吉田1677-1

* 4 〒690-8504 島根県松江市西川津町1060

§ Corresponding author, E-mail: itamura@life.shimane-u.ac.jp

者からは、何らかの非破壊手段で原料果実の空洞を判別し、少なくとも一本漬けには正常果として担保された原料を用い、それ以外の原料は刻み漬けに利用したいとする意向が寄せられている。

青果物の品質を非破壊で判定する手段としては光学的評価が挙げられる。なかでも可視・近赤外分光法は様々な青果物の品質評価が可能で、果実の糖度分析^{2),3)}はもとより、タマネギ⁴⁾、ダイコン⁵⁾およびジャガイモ⁶⁾などの内部障害の検出に可視・近赤外分光法が応用され、実用化が進められている。ナス品質の光学的評価では、果皮光沢の数値化⁷⁾および果皮色素「ナスニン」含量の計測に関する報告⁸⁾がある。また、光学的手法に限らずとも、スイカのような打音による検出法もある⁹⁾。しかし、水ナスの果皮は傷が付きやすい¹⁰⁾ため、こうした接触式の計測手法は適しているとはいえない。

そこで本研究では、空洞のある水ナスを検出して除外することを目的に、光学的手法である、X線透過法と可視・近赤外分光法を用いて、正常果と空洞果を迅速に判別する技術の開発に取り組んだ。

実験方法

1. 空洞度の実測

空洞の有無の判別は、一つひとつの果実を実際に切断して目視する方法ではなく、X線CT (Computed Tomography) による非破壊測定で行った。その理由は、正確な空洞体積を推定することが困難なためである。空洞体積を区分求積法で推定する際には、スライス幅の正確さが基本となる。しかしながら、包丁やスライサーで1 mm幅よりも狭い間隔を均等に切断し、かつ、個体間でもその切断幅に差がないようにすることはきわめて困難である。また、空洞部分の組織は脆いため、スライスの際に切断試料が変形する恐れもあるから、スライス幅の正確さを保証し得ない。なお、X線CTを用いた場合、1 サンプルの測定につき1 分以上を要する。

具体的には、日立アロカメディカル(株)製X線CT (LCT-100Lite) を用い、空洞の発生しやすい部位が赤道であるため、赤道部 (2 cm幅) を1 mm間隔で解析した。解像度は16ピクセル/mm²とした。CT画像は、X線CTに付属の処理ソフトを用いて、ROI値 (関心領域。Region Of Interest) を基に植物組織が充填されている部分と空洞部分に区別し、それぞれの体積を算出した。測定部位全体

に占める空洞部分の体積割合を算出し、空洞度とした。水ナスの空洞度は、Fig. 1に示したように、販売可能品であっても0.8%を下回ることがなかった。そこで、X線CT画像 (Fig. 2) を漬物事業者に提示して、漬物の原料として利用可能な果実の基準を確認した。その結果、空洞度が1%を超える果実は高品質漬物の原料品質として不適格との判断であった。そこで本研究では、X線CT装置による空洞度が1%未満の果実を正常果、1%以上の果実を空洞果とした。平均直径6.5cmのナスの1 mm幅における空洞体積は、空洞度1%では0.033cm³に相当する (Fig. 2)。なお、果実の軸方向に1 mm間隔でCTスキャンしたため、軸方向に1 mm未満の空洞は検出できない。しかし、水ナスの空洞は軸方向に長く広がっているため、軸方向に1 mm未満の空洞はここでは影響が小さいと考えた。

2. X線透過法による空洞果判別の可能性検討

実験材料には、2013年夏に地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所 (以下、環農水研) 内のビニールハウスで栽培した水ナス果実126個を用いた (Table 1上段)。

X線CT装置LCT-100LiteのX線透過機能を用い、果実の側面からのX線透過画像を撮影した。前述の手法で空洞度が予め1%と実測された果実のX線透過画像を基準に、画像の観察により、基準よりも空洞が少ないもしくは多いと認識される果実をそれぞれ正常果、空洞果と判別した。その後、前記1.の手法による実測結果と照合し、X線透過による判別の正答率を算出した。

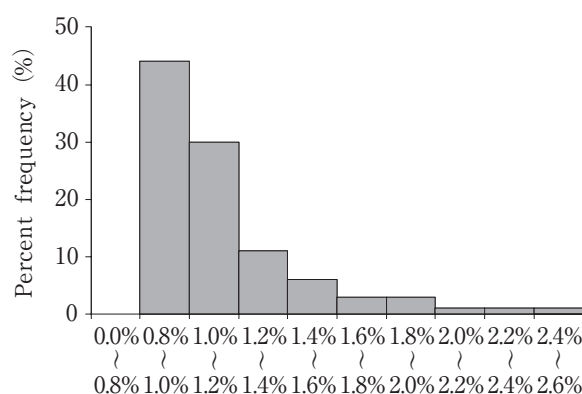


Fig. 1 Histogram representing the degree of pithiness of marketable 'Mizu-nasu' eggplant fruits

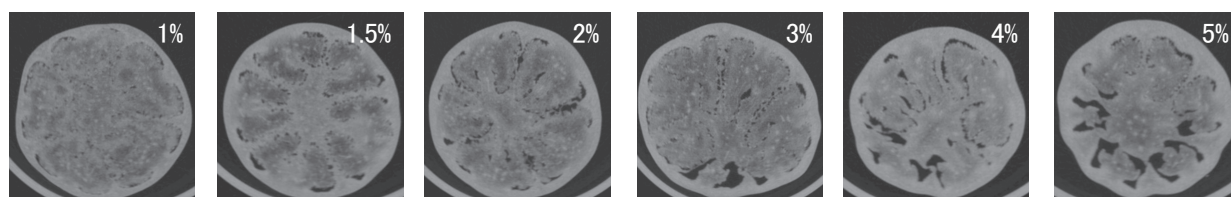


Fig. 2 Images of 'Mizu-nasu' eggplant fruit cross-sections produced by an X-ray computed tomography scanner

The degree of pithiness of individual fruits was 1 ~ 5 %.

Table 1 Sample sets for calibration or validation of ‘Mizu-nasu’ eggplant fruits

Purpose	Source	Number of samples
Calibration (in 2013)	Plants grown in a plastic film greenhouse at the REAF*	126
Validation (in 2014)	Plants grown in a plastic film greenhouse at the REAF	12
	Plants grown in a plastic film greenhouse by a commercial farmer	44
	Plants grown in a field by a commercial farmer	44

* : Research institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka prefecture

3. 可視・近赤外分光法による空洞果判別の可能性検討

(1) 可視・近赤外スペクトルの測定 実験材料には、前記2. で用いた水ナス果実126個を用いた。青果物品質評価装置フルーツセレクターK-BA100R (クボタ製) を用いて650~1,000nmにおける2 nm間隔、176波長の吸光度を測定した。吸光度は、標準板と試料に同量の光を入射した時の、標準板の反射光の強度を試料の反射光の強度で除した値の対数とした。露光時間を0.4秒とし、1 データ当たり10回の露光測定を行った吸光度の平均値を用いた。波長ごとに2次微分値を算出した。2次微分値の平滑化には前後3点の測定値を用い、Savitzky-Golay法により行った。

(2) 2次微分値と空洞度との相関性の探索

前記(1) で得た176波長それぞれにおける2次微分値と空洞度との単相関係数を算出した。計算には、表計算ソフト「エクセル2010」(マイクロソフト製)を用いた。

(3) 判別関数の作成 判別関数の作成には、統計ソフト「SPSS11.0J」(エス・ピー・エス・エス製)のステップワイズ変数選択法を用い、複数の2次微分値を代入することで空洞果か否かの判別が可能となる判別関数を作成した。

(4) 判別関数の評価 判別関数による判別の実用性を調査するため、2014年夏に環農水研内のビニールハウスで栽培した水ナス果実12個、大阪府内水ナス生産者がビニールハウスで栽培した水ナス果実44個および露地で栽培した水ナス果実44個の計100個を用いた (Table 1 下段)。

3. (1) の方法で可視・近赤外スペクトルを測定し、判別関数を用いてそれぞれの果実が空洞果か否か判別した。その後、1. の方法で空洞度を実測し、判別関数による判別結果と照合して正答率を算出した。

実験結果

1. X線透過法による空洞果判別の可能性検討

X線透過画像により正常果か空洞果かを判別した結果が、X線CT法による実測結果に対して正答か誤答か照

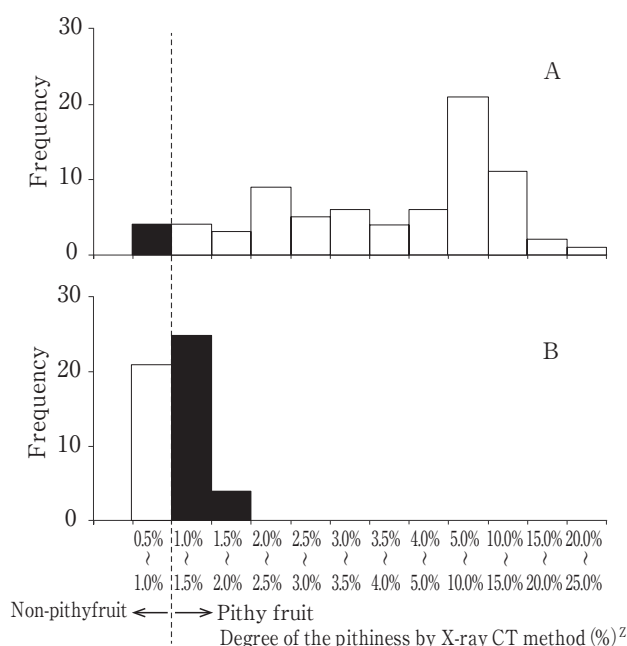


Fig. 3 The number of correct and incorrect predictions of the pithiness of ‘Mizu - nasu’ eggplant fruits according to an X-ray transmittance method

Z: Degree of pithiness of individual fruits as determined using an X-ray CT method.

A: Fruits predicted to be pithy based on an X-ray transmittance method.

B: Fruits predicted to be non-pithy based on an X-ray transmittance method.

Open (□) and closed (■) squares correspond to correct and incorrect predictions, respectively.

合した。その結果得られたX線透過法による正答数および誤答数の分布をFig. 3に示した。正常果と判別した果実は126個のうち50個で、空洞度は0.80~1.95%に分布していた。空洞果と判別した果実は76個で、空洞度は0.88~20.45%であった。正常果と判別した50個のうち29個は、実際には空洞果であった。逆に、空洞果と判別した76個のうち4個は、実際には正常果であった。合わせて、本調査に用いた126個の果実のうち、空洞果か否かを正

しく判別できたのは93個であり、正答率は74%であった。

ただし、この126個には、果実の外観だけで判断できるほど空洞の程度が甚だしく、実際には出荷されない果実が多数含まれていた。Fig. 1に示したように、原料として出荷されている果実のほとんど(97%)は空洞度が2%未満であった。そこで、126個の中から、空洞度が2%未満であった60個で再計算した結果、正答率は47%となった。

2. 可視・近赤外分光法による空洞果判別の可能性検討

(1) 2次微分値と空洞度との相関性の探索 波長それぞれの2次微分値と空洞度との単相関スペクトルをFig. 4に示した。単相関係数の絶対値が最も高かったのは832nmの2次微分値であり、 $r=0.53$ であった。次いで856nmでの $r=0.50$ であった。この832nmから856nmの間で最も低い単相関係数は $r=0.45$ であり、連続的に高い値を維持していた。

(2) 判別関数の作成 統計ソフトのステップワイズ変数選択法により、空洞果の判別には有効な波長として712nmおよび832nmを選択し、それらの波長における吸光度の2次微分値を用いる次式の判別関数を作成した。

$$Z = -1067 \times D2(712\text{nm}) - 72900 \times D2(832\text{nm}) - 3.793$$

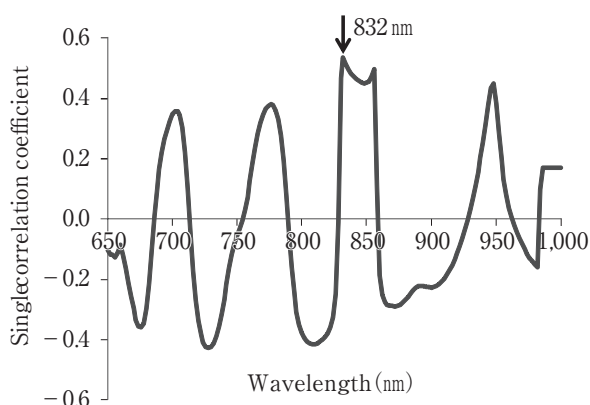


Fig. 4 Single correlation coefficients between second derivative values and the degree of pithiness plotted against wavelength

ここで、D2(712nm)は712nmにおける吸光度の2次微分値を示す。832nmも同様である。Zは判別得点であり、712nmおよび832nmの2次微分値を代入したときの判別得点がプラスであれば正常果を、判別得点がマイナスであれば空洞果を示す。

(3) 判別関数の評価 判別関数による評価用試料の判別正答率をTable 2に示した。2013年の判別関数作成用の試料と同じ条件で栽培した環農水研の水ナス試料群では92%の正答率となった。この結果は、正答率50%に対して有意差(危険率5%の二項検定。以下、同様)があった。大阪府内の生産者の水ナスでの正答率は、ハウス栽培の試料群では57%と有意でなかったが、露地栽培の試料群では66%となり、有意であった。

誤答の中には、実際の正常果を空洞果と判別する場合と、実際の空洞果を正常果と判別する場合がある。そこで、判別関数での正答率を実際の正常果と実際の空洞果に分けて算出した結果をTable 3に示した。判別関数の作成に用いた試料と同じ条件で翌年に栽培した試料群では、正常果に対する正答率は67%、空洞果に対する正答率は100%であった。大阪府内の生産者の水ナスのうち、ハウス栽培の試料群では、正常果に対する正答率は44%、空洞果に対する正答率は76%となり、露地栽培の試料群では正常果に対して36%、空洞果に対して80%の正答率となった。検定の結果、正常果としての正答率は有意でなかったが、空洞果としての正答率はいずれの場合も有意であった。

考 察

地域特産の高級漬物である水ナス漬の一本漬では、外観上は正常であるが、喫食時に切断すると、内部に空洞、いわゆる「す」が入っていることがあり、問題となっていた。そのため、本研究では、X線透過法や可視・近赤外分光法によって、正常果と空洞果を非破壊的に判別する技術の開発に取り組んだ。

食品の内部異常を検出する技術では、金属探知機やX線ラインセンサーの応用装置が主流である¹¹⁾。そこで、

Table 2 Results of discriminations between pithy and non-pithy 'Mizu-nasu' eggplant fruits

Samples for validation	Number of samples	Correct discrimination	Percentage of correct discriminations	Preference of discriminant*
Plants grown in a plastic film greenhouse at the REAF	12	11	92	Detected
Plants grown in a plastic film greenhouse by a commercial farmer	44	25	57	Not detected
Plants grown in a field by a commercial farmer	44	29	66	Detected

* : Calculated using a one-sided binomial test ($P < 0.05$)

Table 3 Results of discriminations between pithy and non-pithy ‘Mizu-nasu’ eggplant fruits based on observations of fruits

Samples for validation		Discrimination results		Percentage of correct discriminations	Preference of discriminant*
		Non-pithy fruits	Pithy fruits		
Plants grown in a plastic film greenhouse at the REAF	3 non-pithy fruits	2 (Correct)	1 (Incorrect)	67	Not detected
	9 pithy fruits	0 (Incorrect)	9 (Correct)	100	Detected
Plants grown in a plastic film greenhouse by a commercial farmer	27 non-pithy fruits	12 (Correct)	15 (Incorrect)	44	Not detected
	17 pithy fruits	4 (Incorrect)	13 (Correct)	76	Detected
Plants grown in a field by a commercial farmer	14 non-pithy fruits	5 (Correct)	9 (Incorrect)	36	Not detected
	30 pithy fruits	6 (Incorrect)	24 (Correct)	80	Detected

* : Calculated using a one-sided binomial test ($P < 0.05$)

最初に、X線透過法の応用によって空洞果の判別が可能か否かを検討した。その結果、外観が正常で、出荷対象となり得る原料果実だけを対象にした場合、X線透過法による正答率は47%となっており、ほぼ無判別（正答率50%）であった。このことから、X線透過法によって水ナス果実が空洞果か否かを判別することは困難と考えられた。

そこで、可視・近赤外分光法による判別の可能性を検討した。最初に、可視・近赤外域における吸光度を測定し、それぞれの波長の2次微分値を算出し、それら2次微分値と空洞度との相関性を調査した。その結果、空洞度と最も相関が強かったのは832nmにおける吸光度の2次微分値であり、 $r = 0.53$ ($n = 126$, P 値 < 0.001 , 母相関係数の信頼範囲0.40~0.65, 危険率5%)であった。一般に、830nm前後の広い範囲は「吸光の窓」と呼ばれ、物質による化学的吸光が他の波長域よりも少なく、光の散乱に影響する要因との関係性が見られることが多い。河野らは、温州ミカンでは844nmの2次微分値は果実径と強い相関があると報告²⁾している。水ナスにおいても、空洞状況といった光の散乱に影響する要因との相関が検出されたと考えられた。

次に、複数の2次微分値を代入することで空洞果か否かを判別する判別関数を作成した。その際、ステップワイズ法により選択した波長は712nmおよび832nmであった。832nmは単相関係数の絶対値が最も高かったため、判別関数の第一波長として選択したと考えられた。次に、第二波長の候補として、単相関係数の絶対値が高い728nmや776nm, 808nmならびに948nmが挙げられるが、これらの2次微分値はすべて832nmの2次微分値と多重共線性があったため、選択しないこととした。

今回の判別関数における第二波長として、ステップワイズ法により712nmを選択した。水ナス果実の表層3mmには約2 mg/100 gのクロロフィルaを含有しており（デ

ータ不掲載）、観察上も紫色の外果皮の内側隣接部が黄緑色を呈していることから、712nmの吸光はクロロフィルaによる680nmをピークとする吸光の一部¹²⁾と推察された。2次微分ではなく原スペクトルにおける712nmの吸光度と空洞度との相関係数は-0.28 ($n = 126$, P 値 $= 0.0013$, 母相関係数の信頼範囲-0.44~-0.11, 危険率5%)であり、クロロフィルが少ないほうが空洞度が高まる関係にある。因果関係は明らかにされていないが、日照量の少ない時期に空洞果が多発するといわれており¹⁾、今回の判別関数で712nmを活用することは、日照量の影響を受けるクロロフィル含量の情報が判別関数に反映されている可能性がある。

本報告では、水ナス果実の空洞果判別の技術的可能性を探るため、空洞以外の品質が極力そろうように、環農水研内ビニールハウスで栽培した試料のみで判別関数を作成し、翌年度に同一の方法で栽培管理した試料を対象に判別の正答率を求めた。その結果は92%の正答率となり、可視・近赤外分光法によって正常果と空洞果を判別しうる可能性を見いだすことができた。

次に、その判別関数の実用性を評価するため、栽培場所や管理方法が判別関数作成用とは異なる試料群に対する判別の正答率を調査した。その結果、ビニールハウス栽培の試料群では57%、露地栽培の試料群では66%となり、後者は二項検定で有意ではあったが、いずれも高い正答率とはならなかった。

そこで、正答率が低くなる試料の傾向を検討した。Table 3に示したように、実際の空洞果が対象の時には76~100%の正答率であり、50%の確率で無作為に判別する場合に対して有意に正しく判別していることが分かった。一方で、実際の正常果が対象の時には50%の確率で無作為に判別する場合と有意差がなかった。今後の課題として、実際の正常果の特徴をスペクトルから抽出し、補正する方策が必要と考えられた。

現在の水ナス漬の製造現場に対する本研究の第一の目的は、一本漬けの原料として空洞果を用いないように、空洞果を空洞果として適切に判別することである。その点では、現状でも空洞果の約8割を空洞果として判別できていることになる。また、正常果の約6割を空洞果と判別する誤答が発生していることになるが、これらの果実は廃棄されることなく刻み漬原料として有効活用されるため、大きな損失は生じない。

またこの機器は、水ナスの表皮損傷や色つやの確認を含めても、現在、約4秒で済むため、作業効率が良い。今後は、漬物事業者が使用できるレベルまで精度を高めていく必要がある。

要 約

本研究では、水ナス果実が空洞果か否かを判別するため、X線透過法および可視・近赤外分光法の有用性を検討した。X線透過法はこの判別に適していなかった。しかし、可視・近赤外分光法には空洞果の判別力が認められた。これらの分光法を空洞果の判別に活用するため、多変量解析によって712nmおよび832nmにおける2次微分値を選択した。得られた判別関数は次のとおりである。

$$Z = -1067 \times D2(712\text{nm}) - 72900 \times D2(832\text{nm}) - 3.793$$

この判別関数を用いて、空洞の有無を判別し、それによってこの判別関数の精度を評価した。結果は92%の正答率であった。これらの結果により、可視・近赤外分光法は水ナス果実が正常果か空洞果かの判別に用いることができると考えられた。

謝 辞 本研究は、公益財団法人園芸振興松島財団・平成24年度第39回研究助成によって実施しました。ここに記し、謝意を表します。

文 献

- 1) 室園正敏：基礎編，農業技術体系「野菜編 5 ナス」（農山漁村文化協会，東京），p.225（1981）
- 2) KAWANO, S., FUJIWARA, T. and IWAMOTO, M.: Nondestructive determination of sugar content in satsuma mandarin using near infrared (NIR) transmittance, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **62**, 465~470 (1993)
- 3) KAWANO, S., WATANABE, H. and IWAMOTO, M.: Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **61**, 445~451 (1992)
- 4) ITO, H., and MORIMOTO, S.: Non-destructive detection of browning of the inner scales of onions using near-infrared spectroscopy, 野 茶 研 報, **13**, 49~53 (2014)
- 5) 小宮山誠一・相馬ちひろ・鳥越昌隆・五十嵐正和：可視・近赤外分光法によるダイコンパーティシリウム黒点病症状の非破壊計測，園学研，**9**，229~233 (2010)
- 6) 河野澄夫：農産物の非破壊検査法および計測機器 [1]，農業および園芸，**65**，131~136 (1990)
- 7) 松岡孝尚・宮内樹代史・孫 徳明：農産物の品質判定に関する基礎的研究—分光反射特性によるナス光沢の定量化—，農業機械，**57**，33~40 (1995)
- 8) 橘田浩二・入江正和・中村 隆・因野要一・西岡輝美・辻 博美：非破壊迅速法による水ナス果皮中ナスニンの定量，食科工，**50**，261~265 (2003)
- 9) 岩元睦夫・河野澄夫・魚住 純：打音による方法，近赤外分光法入門（幸書房・東京），pp.35~36 (1994)
- 10) 内藤重之：地域特産野菜「水ナス」の需給構造と産地の課題，大阪農技セ研報，**38**，1~7 (2002)
- 11) 藤井正司：X線の利用，食品の非破壊計測ハンドブック（サイエンスフォーラム，千葉），p.66 (2003)
- 12) 岩元睦夫・早川 昭・河野澄夫・木村 進：色むらのあるトマト表皮色の色彩判定について，日食工誌，**26**，156~161 (1979)

(平成28年8月1日受付，平成28年12月8日受理)

シークワシャー (*Citrus depressa* Hayata) 果汁の 品質特性と搾汁残渣の利用に関する研究

平成28年度日本食品保蔵科学会奨励賞

宮 城 一 菜^{* §}

^{*} 琉球大学教育学部

Use of the Quality Characteristics and the Waste Peels of the Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) Fruit Juice

MIYAGI Kazuna^{* §}

^{*} Department of Education University of the Ryukyus, 1, Senbaru, Nishihara-cho, Okinawa 903-0213

Key words : Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata), polymethoxylated flavones (nobiletin), synephrine, waste peels
シークワシャー, ポリメトキシフラボン類 (ノビレチン), シネフリン, 搾汁残渣

1. はじめに

シークワシャー (*Citrus depressa* Hayata)¹⁾は、南西諸島や台湾に自生し沖縄でも古くから知られているカンキツ類の一種で、沖縄県内の本島北部で商業的に生産されている。

近年、消費者の健康志向の高まり、生活習慣病予防が国民的な課題となっているなか、シークワシャーには、発ガン抑制作用^{2)~4)}などの高い機能性を示す成分として、ポリメトキシフラボン類 (以降、PMF) の一つであるノビレチンが多く含まれている⁵⁾。他方、交感神経作用をもち、脂肪組織の代謝を活性化するフェンチルアミン誘導体であるシネフリン^{6),7)}がシークワシャー中に存在しており⁹⁾、ノビレチンと並ぶ機能性成分として注目してきた。このことから、シークワシャーの生理作用に大きな関心が寄せられ、健康食品の一つとしてシークワシャー果実およびその加工品に対する需要が急速に拡大してきた。

シークワシャー果実の全収量の70~80%が加工向けとなり、ジュースなど様々な製品に利用されている。しかし、シークワシャー果汁のその強い苦味と酸味から、嗜好上、大変飲みにくく、果実飲料として製品化するうえで大きな問題となっている。また、シークワシャーのジュース加工における搾汁効率は50%程度であり、その搾汁過程で、果皮を含む加工副産物 (以降、搾汁残渣) が多量に排出されている。前述のノビレチン、シネフリン

のような機能性成分は果皮に多く含有されている⁵⁾ことから、その有用成分を著量に含む搾汁残渣の用途開発が求められている。

本研究では、シークワシャー果汁中に含まれているPMFやシネフリンなどの機能性成分を保持しながら、シークワシャー果汁の嗜好性改善を目的とした品質特性を調査した。さらに、調味料原料として直接利用が可能で、かつ、微生物的リスクが低い食酢に着目し、搾汁残渣から食酢によるノビレチンとシネフリンの抽出効率を検討した。

2. シークワシャー果汁の品質特性

(1) イオン交換樹脂処理と不溶性パルプ添加の併用効果による品質改善

シークワシャー果汁の酸度調整を行うために、16種類の塩基性イオン交換樹脂を用い、果汁100mℓに対して添加量を3gに固定し、バッチ法で30分間処理した。

その結果、すべての樹脂に減酸効果がみられた。すなわち、最も減酸率が高い樹脂はWA30 (46.0%) であり、次いで、IRA67 (26.8%), WA10 (23.9%) の順となった。この結果を受け、以降の試験ではWA30を中心にイオン交換樹脂による試験を実施した。イオン交換樹脂を使用して減酸処理したシークワシャー果汁中のノビレチンおよびシネフリン含量を表1に示した。供試した樹脂すべてにおいて、両成分の減少がみられた。減少率が大きかった樹脂はHPA25 (ノビレチン: 20.2%, シネ

^{*} 〒902-0213 沖縄県中頭郡西原町千原1番地

[§] E-mail: k_miyagi@edu.u-ryukyu.ac.jp

表1 イオン交換樹脂処理後のシークワシャー果汁中のノビレチンおよびシネフリン含量

	ノビレチン (mg/100ml)	シネフリン (mg/100ml)
未処理果汁	15.22±0.03	20.83±0.64
WA30	14.30±0.05 (5.9%)	19.55±0.25 (6.0%)
WA20	14.17±0.36 (6.8%)	18.93±0.42 (9.0%)
WA21	14.29±0.50 (6.0%)	19.76±0.42 (5.0%)
IRA67	14.17±0.73 (6.8%)	19.55±0.08 (6.0%)
IRA96SB	14.24±0.02 (6.3%)	19.76±0.44 (5.0%)
SA10A	14.49±0.09 (4.7%)	18.51±0.12 (11.0%)
SA20A	14.42±0.43 (5.1%)	18.51±0.23 (11.0%)
IRA400J CL	14.39±0.35 (5.3%)	18.51±0.10 (11.0%)
IRA410J CL	13.92±0.38 (8.4%)	19.34±0.23 (7.0%)
IRA411CL	12.27±0.30 (19.3%)	18.93±0.23 (9.0%)
IRA458RF CL	13.86±0.36 (8.8%)	18.51±0.12 (11.0%)
IRA900J CL	13.24±0.12 (12.9%)	19.14±0.08 (8.0%)
IRA904CL	14.27±0.12 (6.1%)	19.14±0.12 (8.0%)
HPA25	12.13±0.09 (20.2%)	17.68±0.29 (15.0%)
PA306	12.57±0.41 (17.3%)	19.14±0.35 (8.0%)
WA10	14.04±0.46 (7.6%)	19.34±0.12 (7.0%)

イオン交換樹脂16種（三菱化成工業製ダイヤイオン，オルガノ製アンバーライト）使用

樹脂添加量：3%，処理時間：30分 mean±S.D. (n=4)

() 内は減少率を示す

フリン：15.0%) であった。今回用いた樹脂のなかで最も減酸率の高かったWA30処理区におけるノビレチン，シネフリンの減少割合は両成分とも6.0%程度と低かった。

シークワシャー果汁の品質改善を目的に減酸処理を検討した結果，塩基性イオン交換樹脂処理は有効な方法であることが認められた。しかし，WA30は減酸には効果があったが，ノビレチンおよびシネフリンなどの機能性成分まで減少してしまうという点では十分とはいえない。そこで，さらなる品質の改善を加えるべく，WA30を用

いた減酸処理後の果汁に微細な不溶性パルプ（湿重量）を添加した時のノビレチンの増加率を調査した。

その結果，不溶性パルプ添加量の増加とともに，ノビレチン含量も増加した。果汁100mlに対し不溶性パルプ1g添加でノビレチンは8.5%増加した。前述のWA30処理後では，ノビレチンの減少率は5.9%であった。従って，減酸処理後の果汁に，不溶性パルプ1gを添加することで十分改善が可能であることが示唆された。また，2g以上の添加では，10.2%以上増加し，減酸処理前のノビレチン含量を上回り，ノビレチンが増強した果汁となった。

シークワシャー果汁の品質改善には，イオン交換樹脂WA30を用い，樹脂添加量は果汁100mlに対し3g，攪拌時間30分で減酸処理を行い，その後，果汁100mlに対し不溶性パルプ1g（湿重量）を添加する組み合わせ法が有用であることが明らかになった。

(2) 数種の搾汁方式と保蔵温度が果汁の品質安定性に及ぼす影響

本試験では，沖縄県内の加工場で一般的に利用されているベルトプレス搾汁機，遠心分離搾汁機，スクリープレス搾汁機（図1）を使用して搾汁試験を実施した。これらの搾汁機で搾汁した果汁は，インキュベーター（Sanyo製，MIR-153）を用いて5℃区・20℃区・35℃区の3温度区で4か月間保蔵した。

3種の搾汁機で搾汁された果汁中のノビレチン，シネフリン含量はスクリープレス搾汁機（ノビレチン42.8mg/100ml，シネフリン17.4mg/100ml）がベルトプレス搾汁機（ノビレチン28.0mg/100ml，シネフリン8.6mg/100ml），遠心分離搾汁機（ノビレチン14.0mg/100ml，シネフリン10.8mg/100ml）に比べて最も多かった。スクリープレス搾汁機のノビレチン含量が高かったことは，果皮とともに果実を押し潰す圧力が強いいため，果皮に含まれる成分が果汁中に多く移行したためと推察された⁵⁾。また，品質劣化が進んでいると予想される35℃区4か月

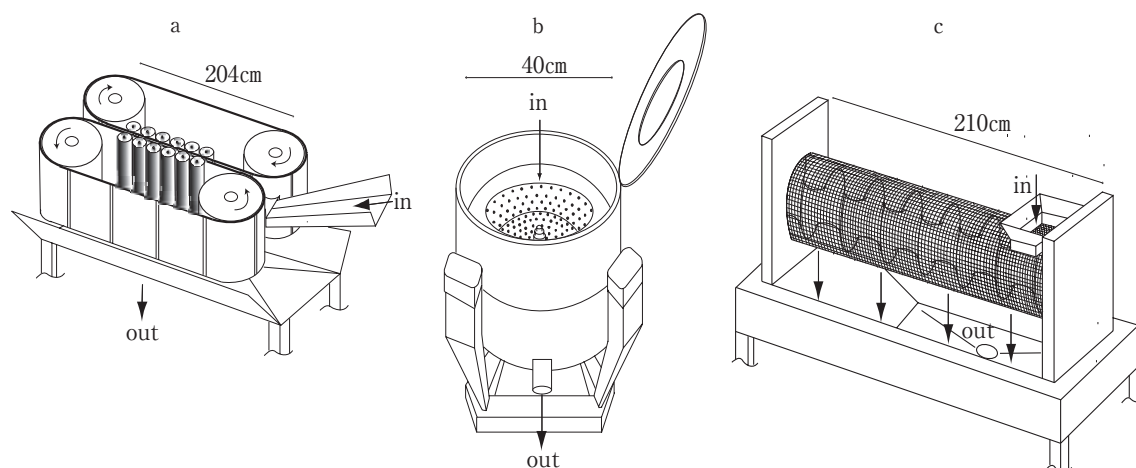


図1 ベルトプレス搾汁機，遠心分離搾汁機，スクリープレス搾汁機の概略図

a：ベルトプレス搾汁機，b：遠心分離搾汁機，c：スクリープレス搾汁機

保蔵後の両成分の減少率をみた場合、ノビレチンはベルトプレス搾汁機が4.9%、遠心分離搾汁機が4.6%、スクリュースプレス搾汁機が2.7%となっており、その減少率は5%程度と高く保持されていた。一方、シネフリン35℃区4か月保蔵後の減少率は、ベルトプレス搾汁機16.3%、遠心分離搾汁機26.1%、スクリュースプレス搾汁機12.6%と25%前後の減少に留まった(図2)。

搾汁機別による各種成分の安定性を比較したところ、3種類の搾汁機間における際だった変化は認められなかった。また、保蔵温度が高くなるにつれて品質劣化傾向が大きいため、低温で保蔵することが望ましい。

(3) 果汁の嗜好的・官能的特性に及ぼす搾汁機の影響

11月、12月上旬に採取したシークワシャー果実を前項の搾汁機によって搾汁した果汁について、酸味、甘味、苦味、風味、後味、総合評価の6項目を調査した。パネリストには「健康飲料としてのシークワシャー果汁」という名目で果汁試料6種類を評価させた。

酸味では11月のベルトプレス搾汁機が-1.60と最も評価値が低かった。果汁の酸度はスクリュースプレス搾汁機、ベルトプレス搾汁機、遠心分離搾汁機の順で高かったが、酸味の評価値は、遠心分離搾汁機、スクリュースプレス搾汁機、ベルトプレス搾汁機の順で評価が高く、酸濃度の高さと嗜好評価は一致してなかった。甘味の評価値は12

月の果汁で高く、そのなかでも遠心分離搾汁機が0.85と最も高かった。11月の果汁の甘味評価値が低いのは、その強い酸味に甘味がマスクされていたのではないかと推定された。苦味の評価値は11月のスクリュースプレス搾汁機で-2.10とすべての調査項目のなかで最も低い値を示した。カンキツ果汁の苦味成分には、ナリンギン、リモニンおよびノミリンなどがあり、これらの成分はフラバド、じょうのう膜および種子に局在している。苦味成分の溶出は搾汁圧力と密接な関係があり、圧力が低いほど苦味成分の少ない果汁を得ることができると報告されている⁹⁾。本研究ではスクリュースプレス搾汁機で搾汁した果汁が最も苦かった。これは、スクリュースプレス搾汁機は他の2機に比較して果実を粉砕し押し潰す力が強いいため、果汁中に苦味成分が移行したと推察された。総合評価値では、すべての果汁で評価はそれほど高くなかったが、12月の遠心分離搾汁機で0.80と最も高い評価値が得られた。遠心分離搾汁機においては3機のなかでも、すべての評価項目において最も良い点数となった(表2)。

3種類の搾汁機には、搾汁収率や官能評価に差異があり、長所と短所が相互にみられた。今後、各搾汁機の特性を活かし、健康食品の材料としてシークワシャー果汁を活用することが望まれる。

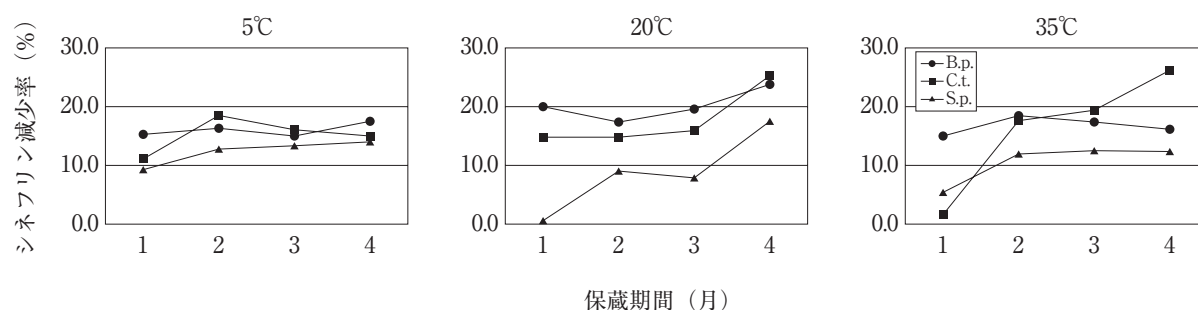


図2 5℃区、20℃区、35℃区保蔵における、シークワシャー果汁中のシネフリンの変化

●B.p.: ベルトプレス搾汁機, ■C.t.: 遠心分離搾汁機, ▲S.p.: スクリュープレス搾汁機

表2 3種類の搾汁機を用いたシークワシャー果汁の官能評価

11月 評価項目	搾汁機			12月 評価項目	搾汁機		
	B.p.	C.t.	S.p.		B.p.	C.t.	S.p.
酸味	-1.60 ^a	-0.40 ^{bc}	-1.25 ^d	酸味	-0.65 ^b	0.40 ^c	-0.50 ^b
甘味	-1.20 ^a	0.05 ^b	-1.25 ^a	甘味	-0.05 ^a	0.85 ^b	-0.25 ^a
苦味	-1.45 ^a	0 ^b	-2.10 ^a	苦味	-0.70 ^{ac}	0.20 ^{ad}	-1.85 ^b
風味	-0.15 ^a	0.75 ^{bc}	-0.05 ^d	風味	0.05 ^a	1.05 ^b	0 ^a
後味	-1.30 ^a	0.05 ^b	-1.75 ^a	後味	-0.50 ^c	0.55 ^{ad}	-1.10 ^b
総合評価	-1.50 ^a	0 ^b	-1.90 ^a	総合評価	-0.50 ^{ac}	0.80 ^b	-1.35 ^{ad}

B.p.: ベルトプレス搾汁機, C.t.: 遠心分離搾汁機, S.p.: スクリュープレス搾汁機

mean ± S.D. (n = 3)

a, b (p < 0.01), c, d (p < 0.05)

3. シークワシャー搾汁残渣の有効利用

ノビレチンやシネフリン等の機能性成分を豊富に含むシークワシャー搾汁残渣の有効利用を目的とし、食酢を用いた有用成分の抽出について検討した。

(1) 溶媒濃度の検討

溶媒として、市販品の穀物酢（酸度4.2%）を基準とし、その0.5倍希釈液（酸度2.1%）、特濃酢（市販品：酸度8.4%）を用い、有用成分の抽出量を比較した。

その結果、ノビレチンは酸度が高くなるほど抽出量が多くなり、抽出量が平衡に達したと考えられる2～4週目の平均値で、酸度8.4%では4.2%の1.26倍、2.1%の1.18倍となった。一方、シネフリンは、抽出量に顕著な差異はみられなかった（図3）。これらのことから、酸度が高くなると、有用成分の抽出量も高くなる傾向にあるものの、食品素材としての利用を考慮すると、酸度が低いほうが配合割合を高くすることが可能となり、機能性を生かすという観点からは、穀物酢（酸度4.2%）が

有効と推察された。

(2) ショ糖添加の検討

穀物酢にショ糖（10, 20, 40, 100 g）を添加して抽出を行ったところ、ノビレチンはショ糖添加10 gで最も抽出量が多くなった（図4）。2～4週目のノビレチン抽出量を比較すると、無添加（6.2mg/100ml）に対して10 g添加（10.0mg/100ml）では1.61倍、20 g添加（8.4 mg/100ml）では1.35倍、40 g添加（7.2mg/100ml）では1.15倍となった。一方、シネフリンでは、各試験区間に目立った差異はみられなかった。また、ショ糖100 g添加では、ノビレチン、シネフリン共に無添加より抽出量が少なくなった。

飲用酢としての展開を考慮すると食味向上のうえでショ糖の添加は欠かせない。ショ糖20%以下の添加なら食味に大きな影響はないことから、酢抽出においてはショ糖の添加によって有用成分の抽出効率が上がるため、ショ糖の添加は有効であると推測された。

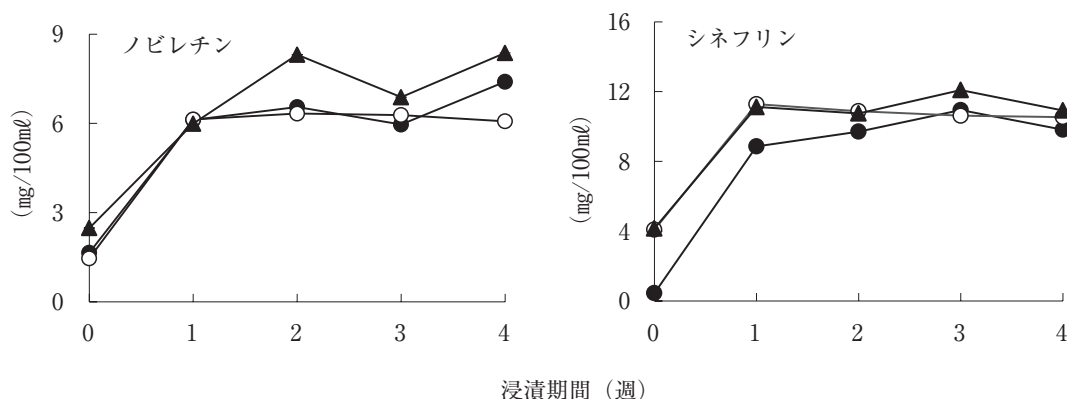


図3 酸濃度の検討によるノビレチンおよびシネフリン抽出量の変化

●2.1%酸度, ○4.2%酸度, ▲8.4%酸度
穀物酢200 g に凍結乾燥果皮10 g を浸漬
mean (n = 3)

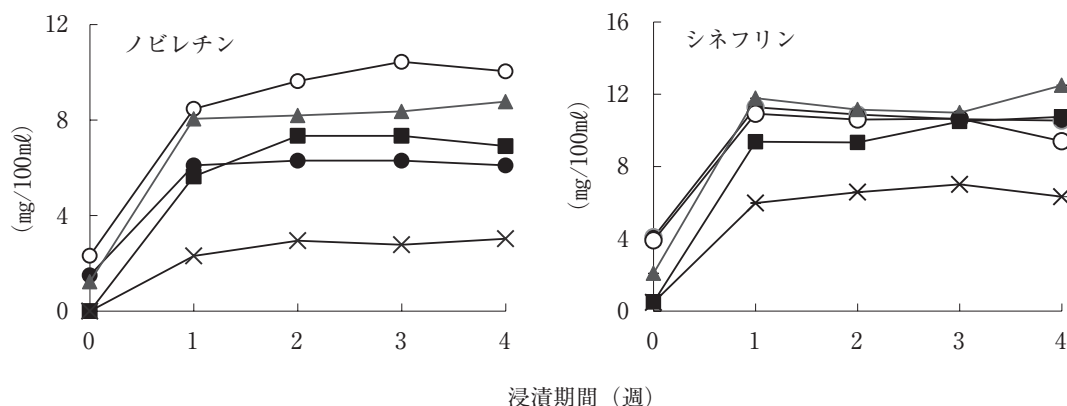


図4 ショ糖濃度の検討によるノビレチンおよびシネフリン抽出量の変化

●対照群, ○10 g (4.8%ショ糖溶液), ▲20 g (9.1%ショ糖溶液), ■40 g (16.7%ショ糖溶液), ×100 g (33.3%ショ糖溶液)
穀物酢200 g に凍結乾燥果皮10 g を浸漬
mean (n = 3)

4. おわりに

本研究において、その強い苦味と酸味から嗜好上、大変飲みにくく、製品化するうえで問題となっているシークワシャー果汁の品質特性を明らかにするとともに、搾汁機の適用試験を通じて果汁特性を示した。また、シークワシャー搾汁残渣の有効利用に関しても道筋をつけることができた。今後とも多様な食品機能性を有する新規な食品素材として、研究を進めていきたい。

謝 辞 本研究を遂行するにあたり、終始ご指導を賜りました中村学園大学栄養科学部・太田英明教授に厚く御礼を申し上げます。さらに、本研究の遂行にご指導を頂きました関係者各位に感謝と御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 国際柑橘学会日本支部編：カンキツ用語集 改訂第2版，(国際柑橘学会日本支部，静岡)，pp.126～127 (1999)
- 2) MURAKAMI, A. and OHIGASHI, H. : Cancer-preventive anti-oxidants that attenuate free radical generation by inflammatory cells, *Biol. Chem.*, **387**, 387～392 (2006)
- 3) WU, Y.-Q., ZHOU, C.-H., TAO, J. and LI, S.-N. : Antagonistic effects of nobiletin, a polymethoxy-flavonoid, on eosinophilic airway inflammation of asthmatic rats and relevant mechanisms, *Life Sci.*, **78**, 2689～2696 (2006)
- 4) SUZUKI, R., KOHNO, H., MURAKAMI, A., KOSHIMIZU, K., OHIGASHI, H., YANO, M., TOKUDA, H., NISHINO, H. and TANAKA, T. : Citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced large bowel carcinogenesis in rats, *Biofactors*, **22**, 111～114 (2004)
- 5) NOGATA, Y., SAKAMOTO, K., ISHII, T., YANO, M. and OHTA, H. : Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 178～192 (2006)
- 6) 木下武司・鮫島美枝子・三川 潮：Citrus 属基原生薬の交感神経作動性物質について，生薬学雑誌，**33**，146～149 (1979)
- 7) 三川 潮：陳皮の薬理・化学・生化学，現代東洋医学，**5**，52～54 (1984)
- 8) MIYAGI, K., FUJISE, T., KOGA, N., WADA, K., YANO, M. and OHTA, H. : Synephrine in Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) : Change during fruit development, and its distribution in citrus varieties, *Food Sci. Technol. Res.*, **15**, 389～394 (2009)
- 9) 福谷敬三・宮本 等：柑橘果実の苦味物質の含量と時期別変化，日食工誌，**30**，642～649 (1983)