

レーザー散乱を利用した食品の物理的構造の計測法の検討

指導教員 粉川 美踏・北村 豊

安慶名 夏鈴 (201610626)

1. 背景および目的

分光法による食品の測定法は非破壊かつ迅速な技術として広く検討されているが、多くは食品の化学的特性に着目した測定であった。本発表では物理的構造と化学的特性の両方に着目し、液体試料を用いたレーザー照射による散乱と吸光による輝度の変化を利用した測定法の検討を行った。Wattéら^[1]の先行研究では幅広い波長域のレーザー光源を用いた計測を行っているが、このような光源は高額であり、また情報量が膨大であることから処理に時間がかかり実用的とはいえない。このため、単一波長のレーザーで安価かつ簡便な計測・解析手法の確立と実用化を行うことを目指した。

2. 材料および方法

1) 液体試料の調製

蒸留水に標準乳濁液と色素を異なる濃度で混合することで、様々な散乱・吸光特性をもつ試料を調製した。乳濁液は O/W エマルジョンである Intralipid、色素はアナトー色素を使用した。濃度はいずれも $1 \times 10^{-3} \%$ 、 $1 \times 10^{-2} \%$ 、 $1 \times 10^{-1} \%$ 、 1% (v/v)の4通りであり、これらを組み合わせた液体試料 200 ml を 16 種類作製した。

2) レーザー照射・撮影

530 nm、635 nm の 2 種類のレーザーを試料に対して垂直に照射し、試料液面の様子を CCD カメラ (ORCA-spark、浜松ホトニクス) で撮影した。輝度の変化の様子を詳しく撮影するためにカメラの露光時間を $10^0 \sim 10^3$ ms (10^0 乗刻み) と 7 通りに設定し、画像を取得した。

3) 解析

数値解析ソフト MATLAB2019a を使用し画像を解析し、16 通りの試料についてレーザー照射点からの距離と輝度の関係を調べた。まず、各露光時間で取得した画像からダイナミックレンジ内の輝度値を求め、露光時間の逆数を乗じたのちに 7 枚の画像の輝度値の平均値を求めた。また、輝度値の変化が照射点に対して対称となることを利用し、作成したグラフを折り返した場合に差が最小となる点を求め、折り返したプロットの平均を取った。

3. 結果および考察

アナトー色素 1%、および $1 \times 10^{-3} \%$ 試料の結果を以下の図 1 および 2 に示した。アナトー色素濃度 1% の試料において 2 色のレーザー照射

による輝度の変化を比較すると 530 nm のレーザー照射時の輝度の減少が急激であることから、アナトー色素による吸光が生じていると考えられた。一方、アナトー色素 0.001% 試料ではレーザーの波長による輝度の挙動に違いは見られず、Intralipid 濃度の上昇によって輝度値が上昇し、照射点付近で輝度が飽和した。

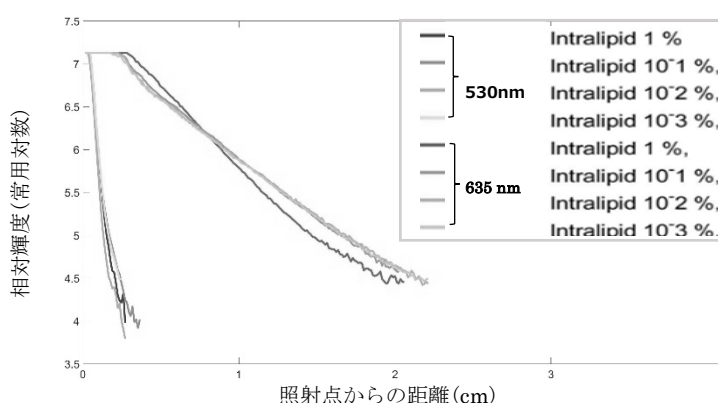


図 1 アナトー色素 1% 試料の輝度の変化

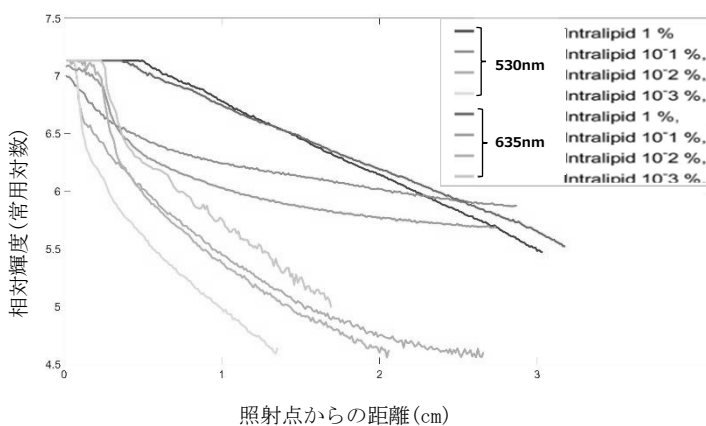


図 2 アナトー色素 $1 \times 10^{-3} \%$ 試料の輝度の変化

4. 今後の課題

今後の課題は波長の異なるレーザーの特性の標準化である。現在の機材と解析方法では波長の特徴がノイズによって輝度と散乱、吸光のモデル化や特性の解明が困難であった。今後はレンズやピンホールを用いた機材の改良やキャリブレーションによる波長の異なるレーザーのノイズ削除を行う。

参考文献

[1] Rodrigo Watté et al. (2013), OPTICS EXPRESS Vol. 21, No. 23

水挽玄米を用いたホームベーカリーによる食パンの焼成特性

指導教員 北村 豊
副指導教員 粉川 美踏

江原 綾子(201813512)

1. 背景と目的

現在、日本のコメ消費量は年々減少しており、2011年にはパンの消費額がコメの消費額を上回った。しかし、現在販売されている多くのパンを小麦アレルギー患者は摂食できない。そのため、アレルギーリスクの低いコメをパンの原料とするのは有効である。さらに白米に代えて玄米を利用したパンは保健効果も期待できる。そこで本研究は、新規の食素材である水挽玄米を用いたアレルギーフリーパンの開発を目指した。水挽玄米とは、玄米を生のまま加水しながら石臼でペースト化した素材である。湿式粉砕で加工するため、パン膨化の妨げとなるデンプン損傷を低減できる。ここでは家庭用ホームベーカリーによる調理を前提として、水挽玄米の粒径、水分、温度がその製パン性に与える影響を実験的に解析することを目的とする。

2. 材料と方法

2-1 材料

製パン性に優れるとされる高アミロース米のモミロマンの玄米から水挽玄米を作製した。副材料として砂糖、食塩、オリーブオイル、ドライイーストを用いた。

2-2 水挽玄米の調製

水玄米重量比=1:1 または 1.5:1 の条件で、水挽玄米を作製した。前者については石臼に2回通す処理も適用した。また後者については水玄米比=1:1になるまで24時間冷蔵庫内で漉布による脱水を行った。

2-3 水挽玄米の物性測定

市販の玄米粉と水挽玄米の澱粉損傷度を測定（測定キット、Megazyme社）した。また、各条件で作製した水挽玄米の500 μmメッシュ上の残留物を粗大玄米粒として秤量（炉乾法）した。

2-4 製パンと製パンの物性測定

製パンはホームベーカリー（SD-BMT1001）を使用し、コメ粉パンモードで行った。焼成1時間後にパンの比容積測定（菜種置換法）を行い、その翌日に硬さをテクスチャーアナライザーにより測定、その切断面の画像をスキャナーにより撮影した。

2-5 生地初期温度の製パン性への影響解析

ホームベーカリー容器に生地を入れた際の初期温度を25℃、30℃、35℃に調整し、製パン後、各種の物性測定を行った。

2-6 水挽玄米水分量の製パン性への影響

水挽玄米の水分量を玄米に対する水の割合で100、105、110、115、120%に調整し、製パン後、各種の物性測定を行った。

3. 結果と考察

3-1 水挽玄米の特性と製パン性の関係

図1に示すように玄米粉より水挽玄米のデンプン損傷度の方が小さかった。水挽玄米が大きな力や熱を与えられずに加工されたためと考えられる。その結果、水挽玄米パンは玄米粉パンより比容積が大きく、硬さが小さくなった。また、同じ水挽玄米でも、粗大玄米粒割合が多いものでは比容積が小さく硬いパンになった。これは、玄米粒が大きいことで発酵時に生地が割れ、ガス抜けによる生地の膨張不良が起きたためと考えている。

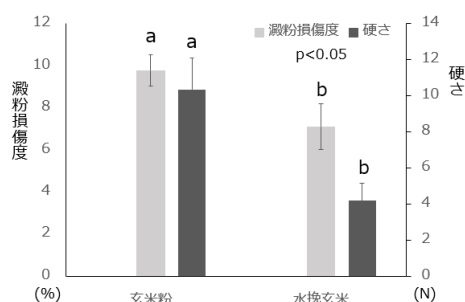


図1 玄米粉と水挽玄米の澱粉損傷度と焼成後の硬さ

3-2 生地初期温度と製パン性の関係

生地初期温度が30℃のものは25℃と比べて比容積が大きく、硬さが小さくなったが、35℃になるといずれも逆の傾向となった（図は示していない）。この結果から、本実験で使用するホームベーカリーでは初期の生地温度30℃の時に、製パン性は良好になることがわかった。

3-3 水挽玄米の水分量と製パン性の関係

図2, 3に示すように水分量による比容積の違いはあまり見られなかったが、水分量105%以上では水分量が多くなるほど硬さが小さくなった。これは水分量の増加により、生地が軟らかくなり、それが焼成後の硬さにも影響したと考えている。

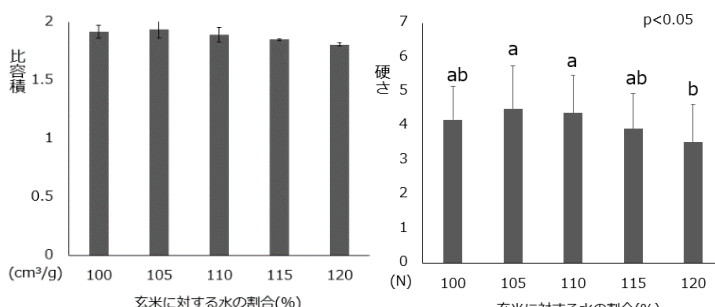


図2 玄米に対する水の割合と焼成後の比容積

図3 玄米に対する水の割合と焼成後の硬さ

4. 今後の課題

本研究では製パンの際、ホームベーカリーを用いたが、今後の実験では各工程の時間や温度を調整することでどの工程が製パン性に影響を与えるのかを調べたり、副材料を用いて製パン性を向上させたりする必要がある。

蛍光指紋によるオリーブ葉の機能性成分の評価

指導教員 粉川美踏
副指導教員 北村豊

遠藤加奈子(201610643)

1. 背景

近年世界的にオリーブオイルの需要・生産量が上がっているが、収穫シーズンを終え剪定されたオリーブの葉の多くが廃棄されている。

一方でオリーブ葉に多く含まれるポリフェノールであるオレウロペインの生体における機能性が注目され、地球温暖化による家畜の暑熱ストレスに対する軽減作用も期待されている¹⁾。しかしオリーブ葉のオレウロペイン含量は品種・生産場所・保存状態によって異なる為、機能性を評価する際ロットごとに量る必要がある²⁾。

2. 目的

本研究では、蛍光指紋を用いてオリーブ葉のオレウロペイン含量の推定モデルを作成し、未利用資源であるオリーブ葉の利用拡大につなげることを目的とした。蛍光指紋の利点として、非破壊で迅速な測定が出来ること、高価な分析機材や煩雑な前処理を必要としないことが挙げられるため、オリーブ葉の機能性に着目した生産・流通の現場での利用が期待される。

蛍光指紋測定時のオリーブ葉のオレウロペイン抽出条件を検討し、簡易・迅速なオレウロペイン量推定モデルを作成した。

3. 材料・方法

1) 抽出条件の検討

オリーブ葉粉末を直接測定した結果、オレウロペイン由来の蛍光が観察されなかったため、抽出液での測定を試みた。粉末はオレウロペイン含量 2.9 g/100 g のものを用い、それぞれ 20 g/L、50 g/L、80 g/L 濃度で熱水と 80%エタノールによって抽出を行い、液体用セルに入れて蛍光指紋を測定した。さらにそれぞれを 1/100 倍濃度、1/1000 倍濃度で熱水抽出した溶液についても蛍光指紋を測定した

2) 本実験

8 種類のオリーブ葉乾燥粉末(オレウロペイン含量が乾燥粉末中 2.70 g、4.31 g、4.49 g、4.50 g、4.90 g、4.92 g、5.08 g、9.57 g)それぞれ 0.04 g/L 濃度で熱水抽出し、各オリーブ葉につき抽出液を 3 回調製し、それぞれ 3 サンプルの測定を行って 72 個の蛍光指紋データを得た。測定波長は励起・蛍光ともに 200~700 nm に設定した。

蛍光指紋の測定には分光蛍光光度計(F7000(株)日立ハイテクサイエンス)を用い、解析には統計ソフト MATLAB を用い PLS(Partial Least Square、部分最小二乗)回帰を行った。モデルの有効性を調べる為に、葉乾燥粉末(オレウロペイン含量が 100g 中 2.70 g、4.31 g、9.57 g) 抽出液を用いて prediction の精度を検討した。

また、2つの葉乾燥粉末(オレウロペイン含量が 100g 中 4.31 g、9.57 g) 抽出液に、それぞれ 0.025 g/L オレウロペイン標準溶液を 1~4 mL 添加し、オレウロペイン量の異なる疑似的な 8 個の抽出液

サンプルの蛍光指紋を測定し、標準品の添加がモデル精度向上に寄与するかを検討した。

4. 結果と考察

20 g/L、50 g/L、80 g/L 濃度では熱水抽出・エタノール抽出どちらも濃度消光によりオレウロペイン由来の蛍光が観察されなかった。1/1000 倍、1/100 倍濃度では蛍光が観察され、うち低濃度の 4 サンプルでオレウロペイン濃度と蛍光強度に線形性がみられた。

本実験において 72 個抽出溶液の蛍光指紋のうち、主成分分析で外れ値とされた 6 サンプルを除いた 66 個の蛍光指紋図に PLS 回帰を適用し、検量線を作成した(図 1)。Prediction を実行した決定係数 R^2 Pred は 0.997、予想二乗平均平方根誤差(Root Mean Square Error)はオリーブ葉乾燥粉末 100 g に置き換えると 0.525g であった。このモデルは、暑熱ストレスによる不妊問題の解決策として期待されているオリーブ葉の活用に十分な精度で推定が可能であると言える(図 1)。

また、上記の比較として 66 サンプルに疑似的な 8 サンプル(×3 回分)を加えた蛍光指紋図の 90 サンプル群に対しても PLS 回帰を適用したところ、RMSEP の値は 1.15 g であり、疑似サンプルを加えない 66 サンプル群の方が、RMSEP の値が小さく Calibration データセットの作り方として適切であった。このことは標準品添加サンプルを加えることによるモデルの精度向上はほとんど見られなかったことを示している。

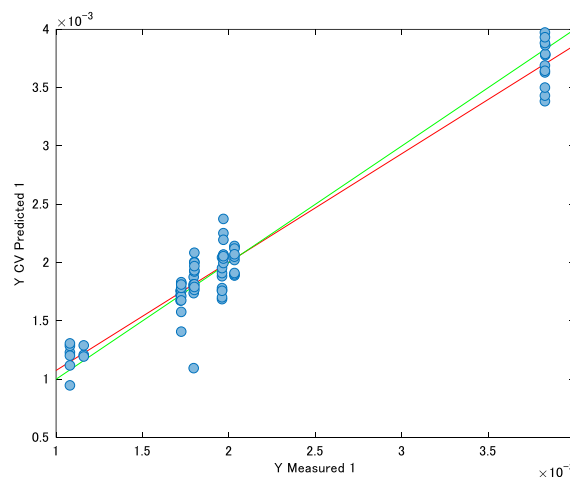


図 1 オレウロペイン濃度推定モデル

¹⁾ 若林由季ほか『オリーブ葉含有化合物による卵巣機能の改善作用』(2008)

²⁾ 大山憲一ほか『香川県産飼料用オリーブ葉のポリフェノール含量に及ぼす保存方法の影響』(2016)

Process Optimization for Drinkable Yogurt Based on By-product Water from Wash-free Rice Processing

無洗米製造の副生水を原料とする飲むヨーグルトの加工プロセス最適化

方 家 (201821174)

Supervisor: 北村 豊、粉川美踏

1. Background and objectives

Wash-free Rice is a new type of rice product which does not require washing before cooking, due to the advance separation of “skin bran” during processing. By-product Water (BPW), which is produced simultaneously during the processing of Wash-free Rice, has high nutritional value however still in a low rate of utilization nowadays.

In order to improve the utilization rate and added value of this potential raw material, this study focuses on using lactic acid bacteria starter culture to study the applicability of BPW for a development of drinkable yogurt.

2. Preliminary identification of fermentation characteristic in BPW

As a newest application of unknown raw material, the fermentation characteristics and growth curve of three selected starter cultures in BPW were identified. Also, to resolved the unpleasant flavour and long fermentation time of final product, domestication of starter culture in BPW substrate was carried out, which showed significant promotion on bacteria activity.

3. Process optimization of drinkable yogurt based on BPW

Relationship between three single factors (type of starter culture, fermentation temperature, and initial glucose content) with two responses (viable count of LAB, titratable acidity) was investigated using Response Surface Methodology (RSM) by Center Composite Faced Design. Optimal process condition was obtained at 38.2 °C fermentation temperature, 4.2 g/100 mL initial glucose content and

fermented by starter culture 1 (YO-MIX 505). The final product derived from this optimum process reached to 7.7 log CFU/mL of LAB viable count and 1.2% titratable acidity with high sensory properties. Model regression analysis and verification experiment showed the high reliability of predicted models and condition. Finally, as conclusion, process condition of BPW-based drinkable yogurt is successfully optimized by RSM.

4. Conclusion and prospect

This research was the first time to utilize BPW for beverage production. The growth pattern of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* in BPW was investigated, which may provide theoretical support to further study. Domestication of three starter cultures also showed significant promotion on bacteria activity. An optimal process condition of BPW-based drinkable was optimized by RSM. The final product derived from this optimum process could reach to a high quality. All results showed utilization value of BPW has been promoted in this research. And BPW is potential to be used as a material for fermented products.

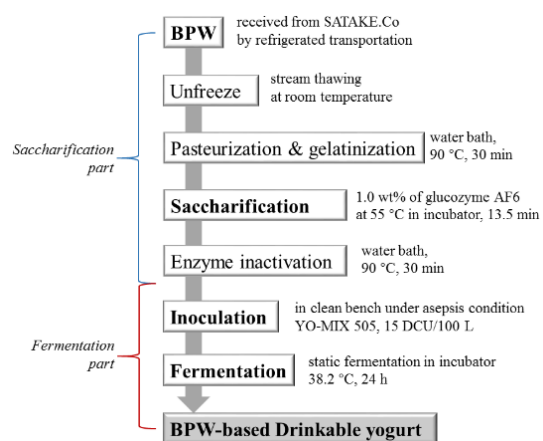


Fig 1. Process flow chart of BPW-based drinkable yogurt under optimal process condition

Effect of Roasting and Storage on Chemical Component and Sensory Score of Specialty Coffee (スペシャルティコーヒーにおける焙煎と貯蔵が内部物質の化学的变化及び官能評価に与える影響)

幸島 柚里 (201821100)

指導教員：北村 豊・粉川 美踏

1. Background

Coffee is one of the most consumed food products in the world and Specialty coffee consumption is increasing in recent years. Changes in coffee quality after roasting and during storage are the most interesting factors for consumers. Although the expiration date evaluation requires an accurate definition, the degradation of specialty coffee during storage has not yet been elucidated. Chemical and physical changes that occur during storage alter the flavor of coffee as the final beverage. The products resulting from lipid oxidation and acid degradation can directly cause off-flavors.

2. Objective

In this experiment, the quality change of coffee due to the change of chemical composition was determined with sensory evaluation. Effect of roasting condition and storage period on lipid oxidation, organic acid composition, and sensory evaluation were determined.

3. Material and Method

Lipid oxidation and sensory evaluation

To determine the lipid oxidation, changes of peroxide value (PV) as conjugated diene and conjugated triene content, and acid value (AV) as a free fatty acid content were analyzed. To evaluate the changes in the flavor of the coffee, cup quality was determined by following the brewing standard of the Specialty Coffee Association (SCA). Sample coffee beans were roasted in 3 different levels: light roast, medium roast, and dark roast, then stored up to 85 days after roasting.

Organic acid composition and sensory evaluation

To clarify the changes of organic acids, carboxylic acids (citric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, pyruvic acid, formic acid, and acetic acid), quinic acid, Caffeine and phenolic compounds (chlorogenic acid and caffeic acid) were analyzed by HPLC/UV-VIS. For sensory analysis, cupping was performed by following the standard of SCA. Sample coffee beans were roasted in 3 different levels and stored up to 105 days.

4. Result and Discussion

Roasting caused rapid oxidation of lipids, and most organic acids in coffee beans were reduced, but monocarboxylic acids such as pyruvic acid, formic acid, and acetic acids were produced during roasting. Chlorogenic acid was thermally decomposed and produced quinic acid and caffeic acid. Storage had a greater effect on lipid oxidation, the results suggest that lipid oxidation after roasting progressed rapidly during the first 40 to 50 days and slowed down. The composition of the organic acid was relatively stable during storage. In all sensory experiments, the rating score decreased as storage proceeded.

5. Conclusion

In this study, although changes in coffee flavor require consideration of various factors, changes in the organic acid composition during roasting and lipid oxidation during storage were suggested to affect flavor formation. Therefore, this study concluded that lipid oxidation and organic acid composition could be one indicator to determine the shelf life of specialty coffee.

中山大地(201610718)

1. 背景と目的

微酸性電解水(以下電解水)は塩酸を電気分解して生成された次亜塩素酸を含む pH5.0~6.5、有効塩素濃度 10~30 mg/L の液体である。安全性が高く、ほとんどの菌やウイルスへの殺菌効果があるとされている。本研究ではこの電解水を霧状(以下ミスト)に噴霧する方式に着目した。浸漬処理と比較して対象物が濡れず、一度に多量の農産物を処理できるので、将来的に輸送用コンテナや栽培ハウス内での利用が期待されている。ここでは試作したミスト殺菌装置の基本的な特性を明らかにして、続く殺菌研究の基礎資料とすることを目的とする。

2. 材料と方法

2-1. 材料

ミスト殺菌装置は噴霧空間(以下チャンバー)、給排気ファンなどからなる。チャンバーは3段構成である。給排気ファンはダイヤル式で10~100まで10刻みである。電解水は生成装置(ミュークリーンII, 森永乳業)を用いて有効塩素濃度 30 mg/L 程度のものを調製した。これをミスト殺菌装置へ0.1 L/minの割合で送液した。

2-2. 噴霧による温湿度の経時変化、電解水気化量測定

チャンバー中段中央部に温湿度計(605i, testo)を置き、給排気ファンのダイヤルを30、60、90に等しく設定して1時間噴霧し、温湿度の経時変化からこれが定常状態になるまでの時間を求めた。その時にチャンバー内に供給された電解水の量(以下供給量)も測定した。実験中外気は温度 20 °C、相対湿度 50 %程度に制御した。

2-3. 次亜塩素酸の到達量測定

チャンバー各段中央部に次亜塩素酸と反応する蛍光試薬(APF,五陵化薬)で満たしたシャーレを置いた。給排気ファンのダイヤルを2-2と同様に設定し、定常状態で10分間噴霧し検量線から到達量を測定した。

3. 結果と考察

温湿度の経時変化を図1に示す。統計分析の結果全てのダイヤルにおいて55分より変化に有意差(p<0.05)がなくなったため、それ以降を定常状態とみなした。噴霧で生じた温湿度の変化、および供給量を表1に示す。供給量はダイヤル60、90>30の順に大きくなったが、絶対湿度の変化

量はダイヤル60>30、90の順に大きくなった。この理由として、ダイヤル90の操作では供給量のうち気化しない割合、または気化した後再び液体に戻る割合がダイヤル30、60に比べて高かったことを考えている。

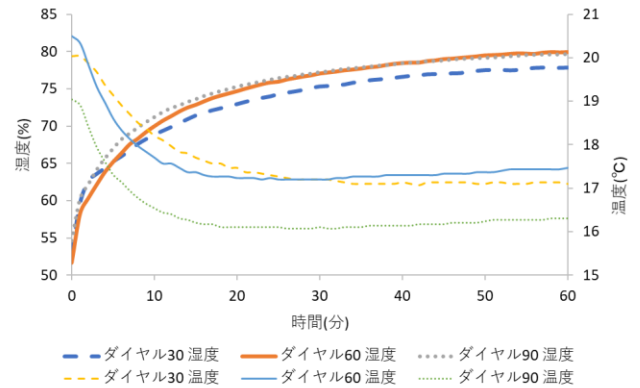


図1 温湿度の経時変化

表1 噴霧で生じた温湿度の変化、および供給量(p<0.05)

ダイヤル	30	60	90
温度(°C)	-2.93	-3.03	-2.73
湿度(%)	25.1	28.2	25.1
絶対湿度(g/kg)	1.78	2.20	1.73
供給量(L)	0.233 ^b	0.443 ^a	0.437 ^a

到達量の結果を表2に示す。棚ごとの到達量には有意差がなかったため、中心部分に限ればどの棚に対象物を置いても殺菌効果は同じだと分かった。ダイヤルごとの到達量には上段のダイヤル30と90の間のみ有意差があった。

表2 次亜塩素酸の到達量(μg/(min・m²))(p<0.05)

ダイヤル	30	60	90
上段	22.08 ± 2.24 ^b	32.40 ± 10.84 ^{ab}	39.18 ± 3.31 ^a
中段	23.48 ± 5.91 ^a	26.57 ± 6.08 ^a	35.92 ± 6.29 ^a
下段	24.32 ± 6.70 ^a	30.29 ± 10.20 ^a	37.24 ± 5.06 ^a

4. 結論と今後の課題

温湿度の変化は噴霧開始55分で定常状態になり、ダイヤル90の時供給量の中で気化しない割合がダイヤル30、60より大きい事が示唆された。また中心部分に限ればどの棚に対象物を置いても殺菌効果は同じだった。今後は培養した試験菌による理論的な殺菌効果、ならびに形状の異なる様々な農産物を使った実践的な殺菌効果を測定していく事を考えている。

麹菌を用いた無洗米製造副生水の糖化プロセス

大川真由子(201821078) 指導教員：北村豊, 粉川美踏

【緒言】

無洗米は、精白米表面の肌糠を予め取り除いてある。無洗米を利用することで、家事の負担が軽減し、水質汚染が防止できる。無洗米製造法は湿式と乾式に大別されるが、湿式では無洗米製造副生水（以下、副生水）が生成する。副生水は栄養価が高く、家畜用飼料として利用されている。本研究では、副生水のさらなる高付加価値化を目指し、糖化による甘酒様飲料の開発を目指した。

糖化には、麹菌 *Aspergillus oryzae* を使用した。麹菌は、安全性が高く、糖化酵素を高生産する。さらに、工業用糖化酵素に代えて麹菌を利用することで、連続培養による連続的な糖化が可能になる。しかし、副生水中で麹菌を培養した例はこれまでにないため、培養条件を定める必要がある。微生物の生育には、植菌量や温度、酸素等が影響する。さらに連続培養では、水理学的滞留時間(HRT)が重要なファクターである。

【目的】

回分培養によって麹菌の増殖・糖化特性を検証し、培養条件を定める。その結果をもとに連続培養を行い、副生水連続糖化プロセス確立のための基礎資料を得る。

【実験方法】

回分培養によって定めた条件をもとに連続培養を行った。

副生水に麹菌 1.5%(w/w)を添加し、30℃温浴中で通気培養を行った。培養 4 h 目以降、1 h 毎に培地の交換を行った。その際、交換する流量を変えることで HRT による影響を確かめた。取り出した培地は、麹菌の増殖の指標として ATP 濃度を測定した。さらに、60℃、4 h 昇温した後、糖化の指標としてグルコース濃度を測定した。

さらに、副生水の発泡への対策や、雑菌汚染の可能性を検証した。

【実験結果】

○HRT が麹菌の生育・増殖に与える影響

HRT=5 h, 6 h を比較すると、6 h でより高濃度の ATP・グルコースが維持された(図 1, 2)。長い HRT の方が、培養槽中の菌体濃度が下がりにくく、目的物質の高生産にも適していると考えられる。

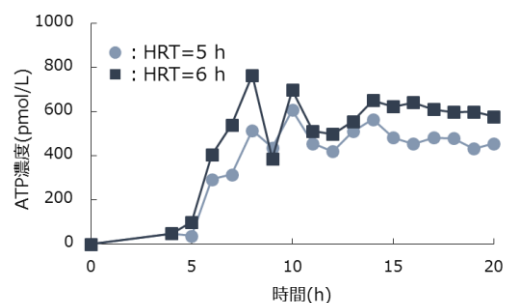


図 1 連続培養における ATP 濃度経時変化

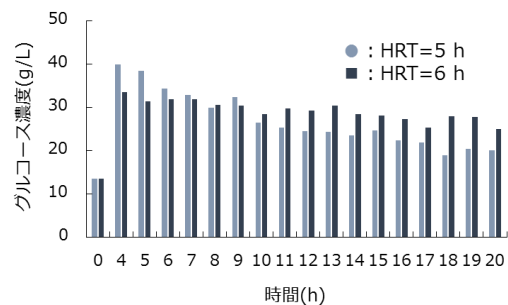


図 2 連続培養におけるグルコース濃度変化

○麹菌の通気連続培養における課題

副生水への通気により、激しい発泡が見られた。上限量以上の消泡剤により、発泡を抑制できたが、生育への何等かの影響が示唆された。さらに、乳酸菌や枯草菌等による汚染が度々見られ、長期間にわたって麹菌の連続培養を行う上での課題となった。

【考察・今後の展望】

長い HRT で連続培養を行うことで、より高濃度の菌体やグルコースを得られる可能性があり、今後も検証を続ける。また、より有効な消泡方法の検証、無菌的な通気方法や操作方法の取得等が必要である。

リンゴ果汁製造工程におけるプロシアニジンの増減と蛍光指紋による簡易分析

指導教員 北村 豊
粉川 美踏

沖野聖矢 (201821082)

1. 背景と目的

近年の研究からリンゴ果実中のポリフェノールの一種であるプロシアニジンが血中の LDL 値を下げる効果があると期待されており、生鮮品における機能性表示食品に認定されたことから注目を集めている。プロシアニジンは細胞中の液胞に多く局在しており、適切な粉碎を経て、リンゴ果汁として加工することで、プロシアニジンの効率的な摂取が可能になることが期待できる。本研究では当研究室で開発された湿式微粉碎(Micro Wet Milling, 以下MWM)を用いて細胞中プロシアニジンの抽出量向上を試みると共に、リンゴ果汁製造工程の各加工処理がプロシアニジンの増減に及ぼす影響を調べることで最も機能性に富んだリンゴ果汁製造系の構築を目的とした。また、プロシアニジンはリンゴ毎に個体差があり、その含有量は加工方法によっても大きく変動する。そのため、リンゴ果汁製造工程の各加工段階において簡便かつ迅速にプロシアニジン濃度を推定できる技術は魅力的である。そのため、本研究では加工工程を経たリンゴ果汁の蛍光指紋を取得してリンゴ果汁の蛍光特性を解明すると共に様々な加工処理を受けたリンゴ果汁に対応できるプロシアニジン濃度の推定モデルの構築及び推定精度の評価を試みた。

2. 試料と方法

(1) 各粉碎リンゴ果汁の作製

実験試料としてリンゴ(品種:ふじ)を用いた。洗浄したリンゴの芯や種子を除去し、褐変抑制のためにL(+)-アスコルビン酸(Final. 1.0%)を添加した。リンゴ小片をブレンダー(CFB 990, Hamilton Beach)で2分間粉碎して粗粉碎スラリーを得た後に、半量をMWMで微細化して微粉碎スラリーを得た。各工程のスラリーを篩(目開き:925 μm , アズワン)で濾過し、各粉碎リンゴ果汁を調製した。

(2) 各粉碎果汁の加工処理

作製した各粉碎果汁に対して遠心分離処理、酵素処理、清澄化処理、殺菌処理を単独及び連続で施した。遠心分離処理は作製した各粉碎果汁を50 mLのコニカルチューブに40 mL分注し、遠心分離機(CN-1050, アズワン)を用いて3000 rpmと5000 rpmで5分間遠心分離を行い、上清を遠心分離試料として得た。酵素処理は作製した各粉碎果汁30 mLに東京化成工業(株)社製のセルラーゼを2.0%(w/w)の濃度で添加し、 $55\pm 2^\circ\text{C}$ で3時間ゆっくりと振とう(100 rpm)させたものを酵素処理試料として調製した。清澄化処理は酵素処理後の果汁を3000 rpmで5分間遠心分離を行い、上清を回収して清澄化処理試料として獲得した。殺菌処理は作製した各粉碎果汁を試験管に5 mL注入し、 $65\pm 2^\circ\text{C}$ で10分間の低温殺菌と、 $95\pm 2^\circ\text{C}$ で1分間の高温殺菌を行い殺菌試料として得た。

(3) 総プロシアニジン濃度測定

各加工処理を施したリンゴ果汁を70%アセトンで抽出及び0.45 μm PTFE シリンジフィルターで濾過し、RF-20AXS 蛍光検出器(株)島津製作所 [Ex:230 nm/Em:321 nm]を装備したHPLC((株)島津製作所)を用いてプロシアニジンの検出を行った。カラムはサイズ排除カラム(Inertsil[®] WP300 Diol, GL Science Inc.) [i. d. 4.6 \times 250 mm; 5 μm]を 30°C で用いた。総プロシアニジン濃度はプロシアニジン2から8量体の合計を総和とし、プロシアニジンB2相当量として算出した。統計解析ソフト JMP13(SAS Institute Inc)を用いて対応する2群間の比較を行い、有意差が見られたペアについて有意水準を3段階で評価した(*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001)。

(4) 抗酸化活性測定

抗酸化活性を測定するために総ポリフェノール濃度とDPPHラジカル消去活性を検討した。総ポリフェノール濃度測定にはFolin-Ciocalteu法を用いた。分光光度計(V-630, JASCO)を用いて総ポリフェノールは765 nm、DPPHラジカル消去能は517 nmの波長で測定した。総ポリフェノール濃度は検量線を利用して没食子酸相当量として示した。

(5) 蛍光指紋計測

5つの加工処理を施した各粉碎果汁を試料として計測を行った。蛍光指紋計測には分光蛍光光度計(F-7000, (株)日立ハイテクサイエンス)及び、データオペレーションソフト(FLSolutions4.0, (株)日立ハイテクノロジーズ)を用いた。石英セルにリンゴ果汁試料を3 mL充填し、励起波長:200~500 nm、蛍光波長:200~700 nmの波長範囲で蛍光指紋を取得した。また、励起光を 45°C でセルに照射する前面測定法を用いた。計測は1つの試料に対して3回を行い、各粉碎果汁の蛍光指紋を合計215個取得した。

(6) 多変量解析

数値解析ソフト(MATLAB R2018a, Mathworks)と多変量解析アドオンソフト(PLS_Toolbox, Eigenvector Research)を用いて、多変量解析の1つである部分的最小二乗回帰(PLS 回帰分析)を実施し、15個の推定モデルを作成した(Table 1)。推定精度評価の方法には実用性評価指標の1つであるRPD値を算出して検証した。

Table 1 作成したモデル

Model No	サンプル条件 (モデルに用いたサンプル数)	加工処理
Model 1	再粉碎果汁(161)	
Model 2	粗粉碎果汁(81)	粉砕・搾汁、遠心分離、
Model 3	微粉碎果汁(80)	酵素、清澄化、殺菌
Model 4	再粉碎果汁(143)	
Model 5	粗粉碎果汁(72)	粉砕・搾汁、遠心分離、
Model 6	微粉碎果汁(71)	酵素、殺菌
Model 7	再粉碎果汁(125)	
Model 8	粗粉碎果汁(63)	粉砕・搾汁、遠心分離、
Model 9	微粉碎果汁(62)	殺菌
Model 10	再粉碎果汁(107)	
Model 11	粗粉碎果汁(54)	粉砕・搾汁、酵素、殺菌
Model 12	微粉碎果汁(53)	
Model 13	再粉碎果汁(89)	
Model 14	粗粉碎果汁(45)	粉砕・搾汁、殺菌
Model 15	微粉碎果汁(44)	

3. 結果と考察

(1) 単独加工処理がプロシアニジン増減に及ぼす影響

粉碎・搾汁・遠心分離・殺菌の各加工工程がプロシアニジンの増減に及ぼす影響を調べ、最適なリンゴ果汁製造条件を探索した。粉碎工程では果皮を含めて微粉碎処理を行うことで15.6%の有意な増加が確認された。搾汁工程では搾りカス中に粗粉碎果汁の2倍近くのプロシアニジンが残存しており、搾りカスを含めて微細化した微粉碎リンゴ果汁は搾りカスの削減に繋がるだけでなく、残存した多量のプロシアニジンを摂取できる可能性が示された。遠心分離工程及び殺菌工程はプロシアニジンの減少を引き起こし、その減少率は微粉碎果汁の方が高い結果となった。そのため、プロシアニジンの損失を最小限に抑えるためには低速条件での遠心分離処理及び低温殺菌処理が最適だと考える。

(2) 連続加工処理がプロシアニジン増減に及ぼす影響

単独の加工処理で見られたプロシアニジンの増減が一連の製造工程においても確認されるか検討を行なった (Fig. 1)。その結果、各粉碎果汁の総プロシアニジン濃度は加工処理を重ねる毎に減少する傾向にあった。その減少率は粗粉碎果汁で9.9%、微粉碎果汁で21.7%と微粉碎果汁の方が高い減少率を示した。続いて、総ポリフェノール濃度、DPPH ラジカル消去活性の測定を行なった (Fig. 2, Fig. 3)。その結果、総ポリフェノール濃度は微粉碎果汁において段階的に減少し、総プロシアニジン濃度と似た傾向が見られたのに対し、粗粉碎果汁では大きな変動はなかった。DPPH ラジカル消去活性は微粉碎果汁の搾汁後の試料で最も高い値を示し、全加工工程において粗粉碎果汁よりも微粉碎果汁の方が高い抗酸化活性を示した。

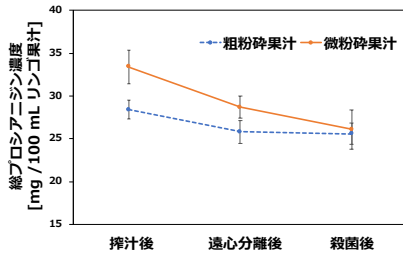


Fig. 1 連続処理による総プロシアニジン濃度の変化

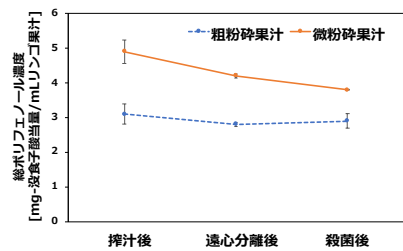


Fig. 2 連続処理による総ポリフェノール濃度の変化

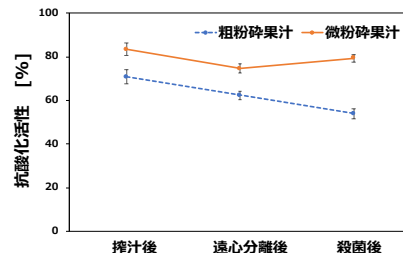


Fig. 3 連続処理によるDPPH ラジカル消去活性の変化

(3) 蛍光指紋法による推定モデル構築と精度評価

リンゴ果汁を計測して得られた前処理後の蛍光指紋データと総プロシアニジン濃度データを組み合わせる様々な加工段階における推定モデルの構築及びクロスバリデーションによるモデルの検証を行なった。モデルは粗粉碎果汁のみ、微粉碎果汁のみ、その両方の果汁 (両粉碎果汁) の3つサンプル条件において粉碎・搾汁処理、遠心分離処理、酵素処理、清澄化処理、殺菌処理の組み合わせを5パターン作成し、計15個のモデルにおいて検証を行った。続いて各モデルにおいてバリデーション群による推定精度の評価を行った。その結果、Model 11においてラフなスクリーニングが可能なレベル、Model 14において品質管理分析レベルの実用性があるモデルだと実証された (Fig. 4, Fig. 5)。このことから上記のモデルで用いた加工処理を施した粗粉碎果汁の蛍光指紋から簡易的に粗粉碎果汁中の総プロシアニジン濃度を推定できる可能性が示唆された。

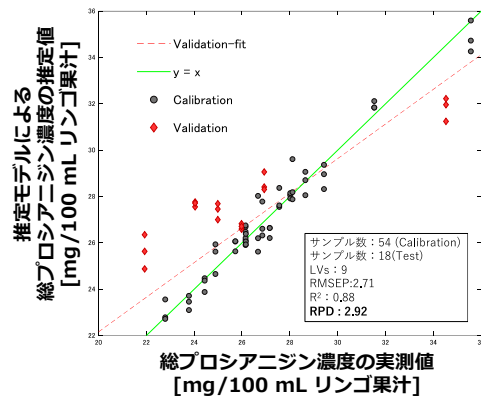


Fig. 4 Model 11における推定値と実測値の散布図

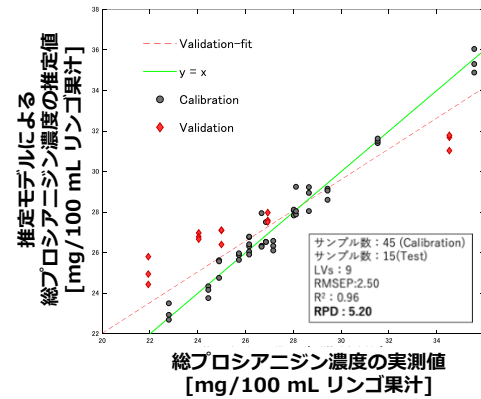


Fig. 5 Model 14における推定値と実測値の散布図

4. 結論

MWMによる微粉碎処理はプロシアニジンの抽出量を向上させ、抗酸化活性を上昇させた。そのため、リンゴ果汁に対して微粉碎処理→低速の遠心分離処理→低温殺菌処理を行う製造系が現段階の最適条件であると予想される。今後は褐変の影響を少なくするための窒素充填したMWMによる微粉碎やMWMの微粉碎能力の向上が、プロシアニジンの抽出向上に繋がると期待される。また、蛍光指紋分光法とPLS回帰分析を組み合わせることで、粗粉碎果汁中の総プロシアニジン濃度推定モデルを実用的な精度で提案できた。今後は試料数を増やし、推定精度のさらなる向上を目指していきたい。

新規玄米食材における安全認証の評価と購買行動の分析

201821104 坂 壮一郎

指導教員 北村豊・粉川美踏・氏家清和

【緒言】

我が国の国民一人あたりの米の年間消費量は年々減少傾向にあり、現在では約53 kgまで減少している。これはピーク時の約半分の消費量である(図1)。そこで当研究室では、米の消費拡大に対する目的で新規玄米食材(水挽玄米)を開発した。そして現在までに水挽玄米に対する化学的、物理的特性については既往研究等で明らかとなってきたが経済的な評価はなされていない。さらに、近年、2020年6月に施行される食品衛生法の改正に伴い、食品関連事業者はHACCPに沿った衛生管理の導入(安全認証取得)が義務化されるようになったことから食品産業において食の安全性が以前よりも注目されている。しかし、現状の導入率は4割程度となっている(図2)。そこで本研究は、まず、水挽玄米製造における衛生管理の取り組みを行った上で、市場性を評価するために水挽玄米に対する経済的評価の知見および安全認証の取得・導入への評価の知見を得ることとそれらに対する消費者の購買行動の分析を検討した。

【材料と方法】

1. 対象者: 食品関連事業者(54名)2019年9月実施、地方銀行フードセレクション来場者ならびに一般消費者(167名)2019年11月実施、筑波大学学園祭来場者

2. 調査方式: アンケート形式で選択実験得られた回答をもとに多項ロジットモデルおよび潜在クラスモデルを用いて分析を実施した。

【結果と考察】

1. 水挽玄米に対する経済的評価 まず、食品関連事業者に対して行った調査から、水挽玄米に対する評価は概ね高い結果となったが、統計的に有意な結果を示さなかった。一方、一般消費者に対する調査では水挽玄米を使用したパンおよび、米粉を使用したパン

を評価財として用意し、試食の有無による評価を実施した。試食後の水挽玄米の評価は低い評価(MWTP: -248円)となった(表1)。これは試食の有無による影響が考えられる。このことから、消費者にとって味が購買を決める大きな要因となっていることが判明した。さらに消費者選好の異質性を考慮したモデル(潜在クラスモデル)における結果より、試食の有無にかかわらず、水挽玄米に対する評価を高く評価する消費者も一定数存在していることが明らかとなった(試食後のMWTP: 92.2円)(表2)。

2. 安全認証の取得・導入への評価 食品関連事業者の立場において、認証は必須であると考えている事業者が多く、また選択実験の結果においても安全認証に対して高く評価することが明らかとなった。このことから食品取引の場において、HACCPなどの安全認証は有用性が高いといえるだろう。一方、消費者の立場において、味や価格が購買行動に大きく影響を与える中で、安全認証についても高く評価している消費者が全体的に多いことが判明した(MWTP: 135.5円)(表1)。そのため、安全認証は消費者の購買の場においても評価されると考えられるため、食品製造におけるHACCP対応は必要であるといえる。

【結論と今後の展望】

- ・食品安全認証の有用性および水挽玄米に対する消費者の購買行動が明らかとなった。
- ・今後は様々な水挽玄米の加工品による消費者評価のアプローチの最検討が必要といえる。

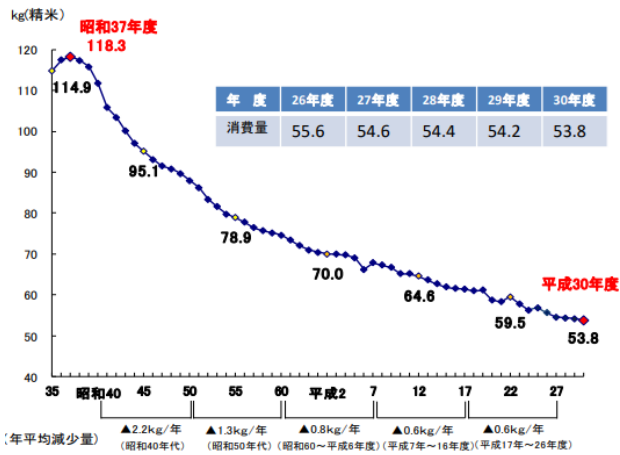


図1 米の年間1人当たりの消費量の推移

表2 一般消費者を対象とした調査における推定モデルによる結果

変数	係数	標準誤差	MWTP(円)
選択肢固有定数項	1.985 ***	0.426	443.3
価格	-0.004 ***	0.000	-
水挽玄米	0.280	0.207	62.4
安全認証なし	-0.838 ***	0.233	-187.1
対数尤度	-278		
観測数	216		

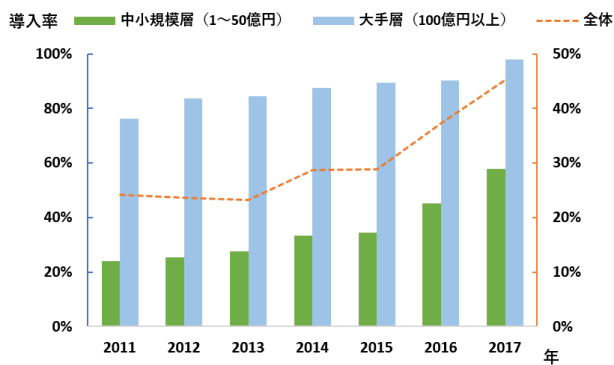


図2 食品製造業における HACCP に沿った衛生管理の導入状況の推移

表1 食品関連事業者を対象とした調査における推定モデルによる結果

変数	係数	標準誤差	MWTP(円)
選択肢固有定数項	2.672 ***	0.149	625.2
価格	-0.004 ***	0.000	-
水挽玄米	0.153 *	0.084	35.8
グルテンフリー	0.192 ***	0.059	44.9
安全認証	0.579 ***	0.061	135.5
試食後:水挽玄米	-1.06 ***	0.101	-248
対数尤度	-2541		
観測数	2672		

Process Development of Blueberry Wine with High Content of Functional Compounds

Supervisor: Yutaka KITAMURA; Toru OKUDA; Mito KOKAWA

王 宏璞 (201821166)

1. Background

Blueberry is well known for its high nutritional content such as phenolic compounds, especially rich in skin and seeds. Therefore, it is suitable to make into wine with higher functional compounds and antioxidant capacity. However, pomace, a kind of by-product that contains most of bioactive compounds, is produced during winemaking process. To increase the utilization of pomace, Micro Wet Milling (MWM) system is used to produce wine with a smaller particle size, which can reserve more nutritional compounds and increase the taste of wine.

2. Objectives:

The aim of this study is to establish a process for producing blueberry wine rich in functional compounds by MWM system and investigate effect of MWM on wine properties by comparing with wine manufacturing by using potassium metabisulfite (PM, a kind of food additives usually used in winery).

3. Materials and methods:

In the research, Rabbiteye blueberry (*Vaccinium virgatum*) was used for fermentation by wine yeast. The total soluble solids content was enriched up to 21°Brix before fermentation to obtain a potential alcohol level of approximately 12%vol. Fermentation was conducted at 22±1°C, and total soluble solids and alcohol content were measured during fermentation.

Blueberry wine fermentation following the conditions above was conducted by different processes, including filtration (Wine 2), MWM before (Wine 4) and after fermentation (Wine 3), then physicochemical properties and functional content such as total polyphenol content (TPC) and anthocyanin content (TAC) were analyzed. Antioxidant activity was also determined to find a relationship with functional compounds.

In order to investigate the effect of MWM on wine properties, blueberry wine fermented with potassium

metabisulfite addition (40, 60, 80, 100 mg SO₂/L wine) was used to compare with wine produced by MWM after fermentation.

4. Results and discussion:

Blueberry wine fermentation could complete after 35 days when total soluble solids content reached a constant level (6-7 °Brix). Total soluble solids and alcohol content changed fast in the first 20 days of fermentation and then became slower until finish.

The TPC, TAC and antioxidant activity of wine with MWM after fermentation (Wine 3) was the highest compared with MWM before fermentation (Wine 4) and without MWM (Wine 1), which indicated phenolic content and antioxidant activity of blueberry wine could be improved by applying MWM after fermentation. Physicochemical properties such as pH, brix and alcohol content didn't show so much difference among wines produced with and without MWM. But wine color was changed along with anthocyanin content and could be improved by MWM after fermentation.

Results of comparison with PM addition experiment showed that wine produced with MWM after fermentation had the similar effect with wine produced with 100 mg SO₂/L and 40-60 mg SO₂/L addition on TPC and TAC, respectively.

5. Conclusion:

The wine fermentation could complete within 35 days. MWM could increase functional compounds such as total polyphenol and anthocyanin content in blueberry wine when it was applied after fermentation. Antioxidant activity of blueberry wine also increased along with these functional compounds. MWM could also improve taste of wine by decreasing particle size. Moreover, blueberry wine with pasteurization and MWM after fermentation might have the potential to replace potassium metabisulfite used in the winery.

蛍光指紋を利用したコーヒー生豆の熟度判別

指導教員 粉川 美踏
副指導教員 北村 豊

山下 剛史 (201610745)

1) 背景と目的

コーヒー豆はコーヒーチェリーの種子である。収穫時のコーヒーチェリーの熟度は、コーヒー豆、および飲料としてのコーヒーの品質に影響を与えるが、果肉を取り除いた生豆の状態で見ただけから熟度の違いを判断するのは困難である。コーヒー生豆の品質評価は、一般的にカップピングによる官能評価で行われており、一度焙煎してから抽出するため一部の豆しか評価できない。そのため、客観的かつ非破壊的に生豆の品質を評価する方法が求められる。

蛍光指紋とは照射する励起光の波長と試料が発する蛍光の波長を網羅的に計測する方法である。情報量が多く、感度が高いため、微量な成分の検出が可能である。コーヒー生豆に含まれるトリプトファンなどの蛍光を発する成分は熟度により変化することが知られている¹⁾。

そこで、本研究では、客観的にコーヒー生豆の熟度を判別する方法として、蛍光指紋を用いた。さらに、蛍光指紋データから判別に寄与する波長を複数選出し、蛍光イメージングによる非破壊かつ迅速な熟度判別への応用の可能性を検討した。

2) 方法

1) 蛍光指紋計測

試料はコーヒーチェリーの熟度により 5 段階（未熟なものから豆 1～豆 5 とする）に選別されたコロンビア産のコーヒー生豆を用い、各試料 2 g をマルチビーズショッカー（MB1001、安井器械（株））により粉碎した。次に、粉末試料をセルに入れ、分光蛍光光度計（F-7000、（株）日立ハイテクサイエンス）を用い、励起波長（以下、Ex）200-500 nm、蛍光波長（以下、Em）200-700 nm における蛍光指紋を 5 サンプル×3 回計測した。蛍光指紋データを用い、PLS 判別分析により、5 段階の熟度による判別を試みるとともに、判別に寄与する波長条件を選択した。

2) 蛍光イメージング

試料には蛍光指紋計測と同じ生豆を用いた。キセノン光源、バンドパスフィルタ、モノクロ CCD カメラからなるイメージング装置を用い、選択した波長条件でのコーヒー生豆、約 60 粒ずつの蛍光画像を取得した。これらの蛍光画像から個々のコーヒー豆の平均強度を求め、再度 PLS 判別分析を行うことによって熟度の判別を試みた。

解析には、数値解析ソフト（MATLAB2019a、MathWorks）を用いた。

3) 官能評価

同生豆試料をサンプルロースター（PRO V3、IKAWA）により焙煎し、5 サンプルでのカップピングによる官能評価に供した。カップピングは日本スペシャルティコーヒー協会のカッ

ピングプロトコルに則り行い、3 名の国際資格を有する専門家パネルとして 100 点満点で実施した。

3) 結果

1) 蛍光指紋計測

蛍光指紋計測より、 $Ex > Em$ となる部分、散乱光や二次光を削除し、合計 15,491 波長条件での蛍光指紋のデータを得た。このデータを用い、5 段階に判別するために PLS 判別分析を行ったところ、15 サンプルは全て正しく判別され、蛍光指紋による熟度判別の可能性が示唆された。判別モデルへの寄与率を示す Variable Importance in Projection (VIP)、Selectivity Ratio (SR) を元に、蛍光イメージングに用いる波長条件として合計 17 波長条件を選出した。

2) 蛍光イメージング

選出した 17 波長条件で蛍光イメージングを行い、得られた個々のコーヒー生豆の蛍光データを用いて PLS 判別分析を行った結果を表 1 に示す。判別率は、豆 1 や豆 4 では 90% を超えたが、豆 3 や豆 5 では 60% を下回り、十分な精度にはならなかった。また、生豆表面の強く光る部分を削除し、PLS 判別分析を行なったが大きな改善は見られなかった。

今回の試料には豆表面の薄皮（シルバースキン）が付着しており、それにより豆内部に励起光が届かず、内部の蛍光物質の特性が反映されていないことが原因として考えられる。

3) カップピング

カップピングスコアの合計の平均は豆 1 から順に、100 点満点中、75.83、75.75、77.67、79.42、80.08 であった。各項目においても熟度が上がるにつれスコアも高くなる傾向が見られたが有意差は見られなかった。

今後の方針として、サンプルを増やし、より多くのデータを集めるとともに、様々な産地や品種による計測を実施し、汎用性を高めていきたい。また、化学分析の実施により、化学成分と熟度の関係にも着目し、蛍光指紋の情報と照らし合わせていきたい。

¹⁾ Setoyama et al. (2013) PLoS One, vol.8

表 1 イメージングデータによる PLS 判別分析の結果

		推定された分類					
		豆 1	豆 2	豆 3	豆 4	豆 5	判別率 (%)
実際の分類	豆 1	61	0	0	0	0	100
	豆 2	0	46	5	1	8	76.7
	豆 3	0	12	20	2	26	33.3
	豆 4	0	2	0	56	2	93.3
	豆 5	0	6	14	5	35	58.3