

励起蛍光マトリクスを用いた玄米の非破壊品質評価の検討

高津 地志*1, 中田 健太*2, 藤田 明子*1, 渡邊 義之*3, 野村 正人*4

Non-destructive Evaluation for Quality of Brown Rice by Excitation-Emission Matrix

Kunimoto TAKATSU*1, Kenta NAKATA*2, Akiko FUJITA*1, Yoshiyuki WATANABE*3,
and Masato NOMURA*4

Excitation-emission matrices of powdery and granular brown rice, whose cultivars were Koshihikari, Hitomebore and Kirara397, were measured by a fluoroluminescence spectrometer and the relativities between the matrices and the fatty acid value, the peroxide value, the freshness degree of brown rice or the storage period were analyzed based on a partial least squares regression to verify the availability of non-destructive evaluation for rice quality. High correlations were obtained between measured and predicted values on the fatty acid value of granular rice and the storage period, suggesting the effectiveness of the present procedure on non-destructive evaluation and the contribution of lipid degradation in rice grain during storage period to deterioration in the quality.

Keywords: Brown Rice, Excitation-Emission Matrix, Fatty Acid Value, Non-destructive Evaluation, Partial Least Squares Regression, Variable Importance in the Projection

1. はじめに

米は、小麦、トウモロコシとともに世界三大穀物といわれており、日本を含むアジア諸国では主食として食べられている。世界で生産されている米はジャポニカ種、インディカ種、ジャバニカ種に分類され、日本では、主にジャポニカ種の生産が行われているが、世界での生産量はインディカ米が多い。近年、日本では米の食味に強い関心が持たれており、米の品種改良が盛んにおこなわれている。米の食味は、人間の視覚、聴覚、臭覚、味覚および触覚という五感で感じ取られるものであり、米の品種が強く影響するほか、産地、栽培時の気象、栽培方法、収穫後の乾燥・調整手法、貯蔵条件、精米・炊飯方

法などによっても影響されている。一般に米の食味は、貯蔵期間が長くなるにつれて徐々に低下する。貯蔵中の米の食味低下には種々の要因が寄与することが推測されるが、その一つに玄米内の生化学反応に起因したものが考えられる。そのため、米の食味を保つためには低温貯蔵が効果的であると考えられており、日本での米の貯蔵の多くは 15°C 以下の低温で貯蔵されている⁽¹⁾。米の食味を評価するためにはその鮮度評価が重要であり、様々な鮮度評価方法が考案されている。その中に pH 指示薬や脂肪酸度測定などの方法があるが、これらには試薬を用いた処理を行なう必要があり、手間と時間がかかるだけでなく、体に悪影響を及ぼす可能性のある試薬の使用や

原稿受付 2017年4月28日

*1 株式会社サタケ 食味研究室 (〒739-8602 東広島市西条西本町 2-30)

E-mail g-syokumi@satake-japan.co.jp

*2 近畿大学工学部 化学生命工学科 (〒739-2116 東広島市高屋うめの辺 1 番)

*3 近畿大学大学院 システム工学研究科 システム工学専攻 教授, 工学部化学生命工学科 教授, 次世代基盤技術研究所 教授 (〒739-2116 東広島市高屋うめの辺 1 番)

E-mail wysyk@hiro.kindai.ac.jp

*4 近畿大学大学院 システム工学研究科 システム工学専攻 教授, 工学部化学生命工学科 教授

(〒739-2116 東広島市高屋うめの辺 1 番)

E-mail nomura@hiro.kindai.ac.jp

連絡先: 渡邊義之 (研究代表者)

大量の試薬の利用は人体や環境への負荷の観点からも好ましいとは言えない。また、米試料を破壊する手法では、評価に選定した試料を食することが不可能になるため、実際に食する米そのものの評価ができることにはならない。さらに、人の目視による測定も多くあり、この場合は誤差が大きくなり再現性が得られにくいという欠点もある。そこで、試薬による処理を行うことなく、蛍光分光光度計を用いて迅速に非破壊的な評価を可能とする分析方法が、環境分野の水質管理や生化学分野の成分分析などに利用されている。また食品分野でも利用されており、マンゴーの産地判別^②、小麦カビの汚染濃度の定量推移^③、そば粉と小麦粉の混合割合の推定^④など、様々な測定対象物についても蛍光分光光度計利用の可否が研究されている。蛍光分光光度計を用いた測定は前処理を必要とせず、非破壊的に米の励起蛍光マトリクスを取得することが可能である。励起蛍光マトリクスは、励起波長と蛍光波長の両方を走査して試料の蛍光強度を測定することにより得られるものであり、励起波長、蛍光波長および蛍光強度の組み合わせからなる膨大な3次元データで構成される。物質の詳細な蛍光特性を反映したものである。励起蛍光マトリクスは、特定の波長だけでは判別できない蛍光の特徴を網羅して計測されるものであるため、試料中の物質あるいは成分固有の蛍光特性が反映されている。そのため、未知の試料において特定の物質や成分を同定する場合に適した手法である。

本研究の目的は、蛍光分光光度計を用いた米の非破壊的鮮度評価方法の可能性を検証することである。そのために、米の鮮度評価方法として現在利用されている脂肪酸度測定^⑤、pH指示薬による鮮度測定および米の劣化初期段階の状態が反映される過酸化価の測定^⑥を行い、得られた計測値と米の励起蛍光マトリクスとの相関関係を解析した。

2. 実験方法

2.1 材料および試薬

平成27年度に収穫された新潟県産コシヒカリ、北海道産きらら397および宮城県産ひとめぼれの玄米を試料として使用した。フェノールフタレイン、水酸化カリウム、硫酸アンモニウム鉄(II)六水和物およびヨウ化カリウムは和光純薬工業(株)、ヘキサンおよびメタノールは米山薬品工業(株)、99.5%エタノールは上野化学工業(株)、塩酸は関東化学(株)および1-ブタノールはキシダ化学(株)から購入した。

2.2 米の貯蔵

約5kgの各種玄米をそれぞれプラスチック袋で密封し、30℃の恒温槽内で12週間貯蔵した。4週間ごとに米試料

を採取し、その後-18℃の冷凍庫内で保存された試料を取り出して測定に使用した。

2.3 脂肪酸度の測定

米試料をそれぞれ約20g秤量し、ミルサー(800DG, 岩谷産業(株))で1分間粉砕した。粉砕された米試料を200mL容共栓付き三角フラスコに約10.00g秤量した。その後、ヘキサンを50mL加え、30℃の恒温水槽内で15分間振とう攪拌(200rpm)させた。この試料溶液を吸引ろ過し、ろ液を脂肪酸抽出液とした。この抽出液25mLを新たに200mL容三角フラスコに測り取り、フェノールフタレイン0.2gを99.5%エタノール500mLに溶解して調製されたフェノールフタレインエタノール溶液を25mL加え滴定に供した。滴定は、水酸化カリウム1.4gを蒸留水500mLを溶解して調製された0.05mol/L水酸化カリウム標準溶液と10mL容ビュレット(一目盛0.02mL)を用いて行われた。試料溶液の微紅色が30秒間持続した時点を滴定の終点とした。ブランク測定には、抽出液の代わりにヘキサン25mLを使用した溶液を用いた。各品種の米試料について3回の脂肪酸抽出を行い、それぞれ3回の滴定を行なった。滴定値にはそれぞれ9回の測定結果の平均値を採用した。脂肪酸度は式1を用いて算出した。

$$D = (A - B) \times 1.004 \times 2.805 \times \frac{50}{25} \times \frac{100}{E \times \frac{100}{100 - C}} \quad \text{式 1}$$

ここで、Aは試料の滴定値[mL]、Bはブランクの滴定値[mL]、Cはサンプル水分[%]、Dは脂肪酸度[mg-KOH/100g]、Eは試料量[g]、2.805は0.05mol/L KOH標準溶液1mLに含まれるKOHの質量[mg]をそれぞれ表す。

2.4 過酸化価の測定^⑥

上記2.3で調製された脂肪酸抽出液を25mLを200mL容ナスフラスコに入れ、50℃のウォーターバス(BW200, ヤマト科学(株))とロータリーエバポレータ(RE200A-W, ヤマト科学(株))を用いてヘキサンと油分を分離させた。その後、得られた油分の質量を測定した。試験管内で油分と10mLのメタノール-1-ブタノール溶液(1:2(v/v))を混合した。油分を溶解させたメタノール-1-ブタノール溶液を、3本の遠心沈降管に2.7mLずつ分注した。塩酸0.22mLとメタノール100mLで25mmol/L塩酸メタノール溶液を、また0.9gの硫酸アンモニウム鉄(II)を100mLの蒸留水に溶解させて12.5mmol/L硫酸アンモニウム鉄(II)水溶液を調製した。それぞれの溶液を120μLずつ遠心沈降管に添加しよく攪拌した。さらに、約10mLの蒸留水を約12gのヨウ化カリウムに加えて調製された飽和ヨウ化カリウム水溶液

80 μ L を添加し、十分に攪拌した。その後、遠心分離機 (CN-2060, アズワン(株)) を用いて、3,000 rpm にて 3 分間遠心分離を行なった。飽和ヨウ化カリウム水溶液を加えてから 15 分間静置後、3 本の遠心沈降管の上清を分光光度計 (V-630, 日本分光(株)) に供して波長 360 nm での吸光度を測定した。各品種の米試料について 3 回の油分溶解を行い、それぞれ 3 回の吸光度測定を行なった。吸光度にはそれぞれ 9 回の測定結果の平均値を採用した。過酸化価(POV)の算出には式 2 を用いた。

$$\text{POV}[\text{meq./kg - oil}] = \frac{\text{Abs}_{363\text{nm}} \times V \times F}{\epsilon_{363\text{nm}}} \quad \text{式 2}$$

ここで、 $\text{Abs}_{360 \text{ nm}}$ は 360 nm における吸光度、 $\epsilon_{360 \text{ nm}}$ は 360 nm における $\text{I}^{\cdot-}$ のミリモル吸光係数 [mM^{-1}] (18.3 mmol/L), V は反応溶液の体積 [L], F は脂質量を 1 kg あたりに換算する希釈因子 [kg^{-1}] を表す。

2.5 新鮮度の測定

米の新鮮度測定は、pH 指示薬を用いたシンセンサ装置 (RHSIA, (株)サタケ) にて行った。玄米 5 g にシンセンサ用試薬 10.0 g を加えて 1 分間振とう攪拌した。その後、6,200 rpm にて 1 分間の遠心分離を行い、上澄み液を試料としてシンセンサ装置に供し、新鮮度は FD 値として示された。測定回数は 1 試料につき 1 回行われた。

2.6 励起蛍光マトリクスの測定と解析

蛍光分光光度計 (F-7100, (株)日立ハイテクサイエンス) およびデータオペレーションソフト (FL Solutions2.1, (株)日立ハイテクサイエンス) を用いて励起蛍光マトリクスの測定および解析を行った。蛍光分光光度計の励起・蛍光波長のスリット幅と計測波長間隔は、いずれも 10 nm とした。励起波長(E_x)および蛍光波長(E_m)は、いずれも 200 ~ 600 nm とし測定を行った。約 5 g の玄米の粉状および粒状試料をオートデシケーター内で、それぞれ 48 時間および 96 時間保存し、水分を除いた。1 種類の試料につき、3 個のシャーレに分け置き、それぞれのシャーレで 3 回の測定を行ったため、計 9 回の測定結果が得られた。幅広セルを 3 個用意し、測定用の米試料を測定の度に詰め替えて使用した。幅広セルの特性が測定値に影響することを避けるために、3 個のセルを均等に使うように測定を実施した。3 個のシャーレの内、任意の 2 個のシャーレ上の米試料を検量線作成用 (以下キャリブレーション群と略す)、残りの 1 個の試料を検量線評価用 (以下バリデーション群と略す) とした。3 品種の玄米について、4 週間おきの貯蔵期間 (0, 4, 8 および 12 週間) ごとに 9 回の測定を行ったため、合計 108 回の測定となった。そして、キャリブレーション群の測定結果が 72 個、バリデーション群が 36 個となり、これらは分け

て多変量解析の一つである偏最小二乗(PLS)解析に適用された。キャリブレーション群試料の励起蛍光マトリクスデータを用いた統計解析ソフト (JMP12, SAS Institute Japan(株)) による PLS 回帰分析から予測式が作成された。作成された予測式の推定精度を評価するため、バリデーション群の試料を用いて、励起蛍光マトリクス測定における推定値と、試料の実際の脂肪酸度、過酸化価および新鮮度、さらには保存期間との間の決定係数 (R^2) をそれぞれ求め、相関性評価の指標とした。

3. 結果および考察

3.1 脂肪酸度、過酸化価および新鮮度の経時変化

30°C で貯蔵した北海道きさら 397, 宮城ひとめぼれ, 新潟コシヒカリの玄米の脂肪酸度, 過酸化価および新鮮度の経時変化を、それぞれ図 1~3 に示す。脂肪酸度と過酸化価には有意差検定を適用した。グラフ中の同一のアルファベットは、有意差なしと解析されたものを示す。図 1 の結果から、北海道きさら 397 および宮城ひとめぼれについては、貯蔵期間中に脂肪酸度が概ね増加したことが確認された。新潟コシヒカリの脂肪酸度は、4 週をピークに以後は少しずつ減少した。玄米には約 3% の脂質が含まれており、中性脂質、糖脂質およびリン脂質で構成されている。玄米の脂質を構成する脂肪酸には少なくとも 9 種があり、主な構成脂肪酸は含有量が多い順にオレイン酸, リノール酸およびパルミチン酸となっている⁽⁷⁾。玄米の貯蔵中に中性脂質であるアシルグリセロールに生じた加水分解反応によって脂肪酸が遊離することが、脂肪酸度が増大する原因と考えられる⁽⁸⁾。新潟コシヒカリにおける脂肪酸度の減少についての理由はわからないが、上述のオレイン酸やリノール酸といった不飽和脂肪酸の過酸化反応の後に低分子化反応が生じることがあり、アシル鎖長の短い低級脂肪酸は揮発しやすいため、これらの結果として試料からの脂肪酸の消失が起きた可能性が考えられる⁽⁹⁾。

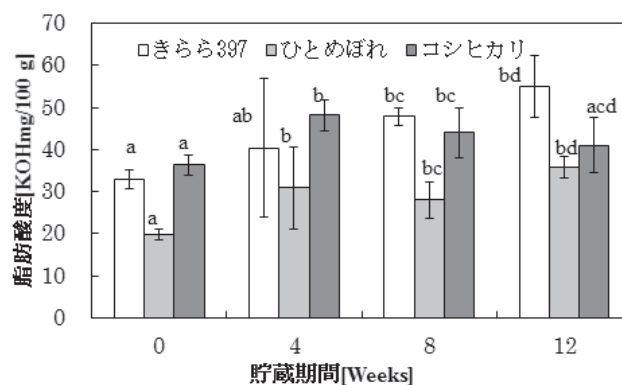


図 1. 玄米の脂肪酸度の経時変化

図 2 に示すように、いずれの品種の過酸化物価も貯蔵期間中に大きな変化が観察されなかった。特に、北海道きさら 397 および魚沼コシヒカリでは誤差が大きく、全ての週の試料で有意差がないことが示された。一方、宮城ひとめぼれでは 0 週と 8 週、12 週で有意差が示された。宮城ひとめぼれの過酸化物価は 0 週から 12 週にかけて減少していることが確認できたが、誤差が大きいため正確性はないと判断した。いずれの品種もその玄米内に含まれる不飽和脂質量が少ないために、大きな過酸化物価やその変化が観察されなかったことや、最初の 4 週間過酸化の進行とそれにより生じた過酸化物の分解が進んだことなどが原因として推察される。

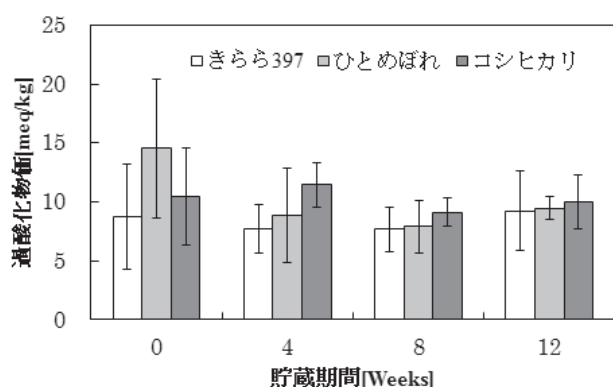


図 2. 玄米の過酸化物価の経時変化

宮城ひとめぼれ試料の新鮮度は、貯蔵期間が長くなるにつれて減少した (図 3)。他方、北海道きさら 397 および魚沼コシヒカリでは 0 週から 4 週にかけては減少した後、4 週から 12 週にかけては増加した。

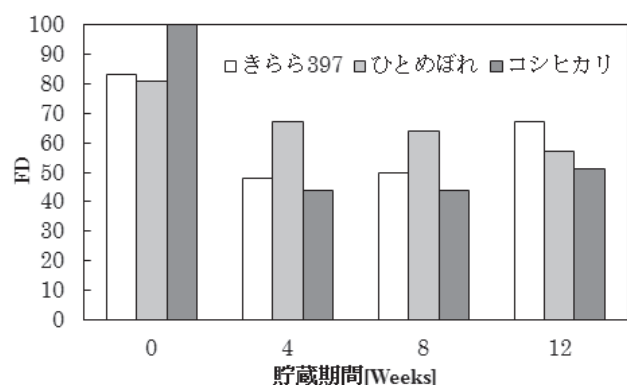


図 3. 玄米の新鮮度の経時変化

3.2 励起蛍光マトリクスの比較

貯蔵した 3 品種の玄米の粉状および粒状試料の励起蛍光マトリクスを測定した。それぞれ 0 週の試料の蛍光強度を基準 (100%) とした比率を等高線として表した図を図 4~6 に示す (粉状および粒状試料をそれぞれ粉砕米および粒米と示す)。新潟コシヒカリと北海道きさら 397

では、粉状および粒状試料ともに Ex 350 ~ 400 nm, Em 400 ~ 500 nm の領域で貯蔵中の蛍光強度の低下が観察された。また、粒状試料については、Ex 250 ~ 300 nm, Em 300 ~ 350 nm での蛍光強度が増加した。一方、宮城ひとめぼれは、粉状および粒状試料ともに蛍光強度の顕著な増減が認められなかった。次に、試料の初期状態の影響を排除すべく硫酸キニーネによる蛍光強度の標準化を行い、上記の測定結果において特徴的な蛍光強度の減少を示した波長領域について検討した。Ex 350 nm / Em 460 nm における蛍光強度比の推移を表 1 に示す。

表 1. 硫酸キニーネを基準とした

Ex 350 nm / Em 460 nm での蛍光強度比

保存期間 [weeks]	蛍光強度比 [%]					
	新潟コシヒカリ		宮城ひとめぼれ		北海道きさら397	
	粉状	粒状	粉状	粒状	粉状	粒状
0	156.4	32.7	139.0	31.0	140.7	31.9
4	143.1	32.6	152.2	33.4	135.6	32.2
8	125.8	26.1	146.0	34.0	125.3	24.4
12	108.4	24.0	152.3	32.0	107.8	21.4

新潟コシヒカリおよび北海道きさら 397 では、粉状および粒状試料ともに貯蔵期間に蛍光強度が減少する傾向が示された。一方、宮城ひとめぼれでは 0 週での蛍光強度が最も低く、貯蔵中の蛍光強度の増減について傾向が示されなかった。

測定対象物質の濃度が高くなると蛍光強度が低下することから、3.1 の結果を踏まえると、蛍光強度の低下は玄米中の遊離脂肪酸量の増大を支持する結果と推察される。一方、蛍光強度が増大した現象は、不飽和脂質の酸化および分解などを経て、これらの関連物質の系内濃度の低下に起因したものと考えられる。

3.3 励起蛍光マトリクスと理化学特性値との相関性

3 品種の玄米の 3 つの理化学特性値 (脂肪酸度、過酸化物価および新鮮度) の測定結果および貯蔵期間と、粉状および粒状試料の励起蛍光マトリクスとの相関関係について検討すべく多変量解析を行った。図 7 の脂肪酸度を例にした PLS 解析手順の通り、独立変数の重要度 (VIP) の閾値を設定して重要な変数の絞り込みを行い、絞り込まれた独立変数を用いてそれぞれの理化学特性値を算出するために必要な予測式を作成した。例えば、脂肪酸度についてのキャリブレーション群の測定結果を用いて 1 回目の PLS 回析から変数重要度プロファイルが得られ、次に一般的な VIP の閾値である 0.8 以上の重要度を有する変数のみを利用すべく絞り込みを行い、2 回目の回析

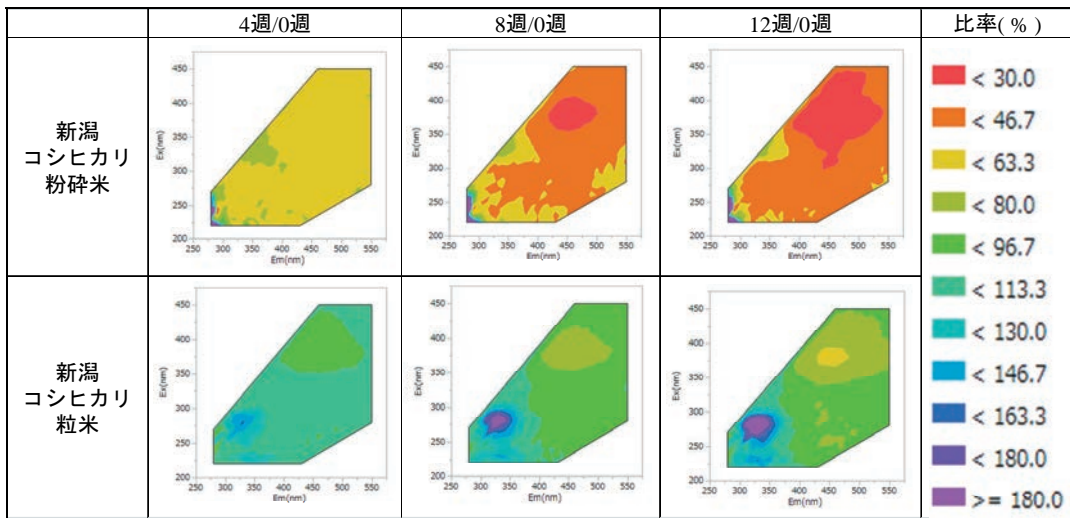


図 4. 新潟コシヒカリの励起蛍光マトリクス等高線

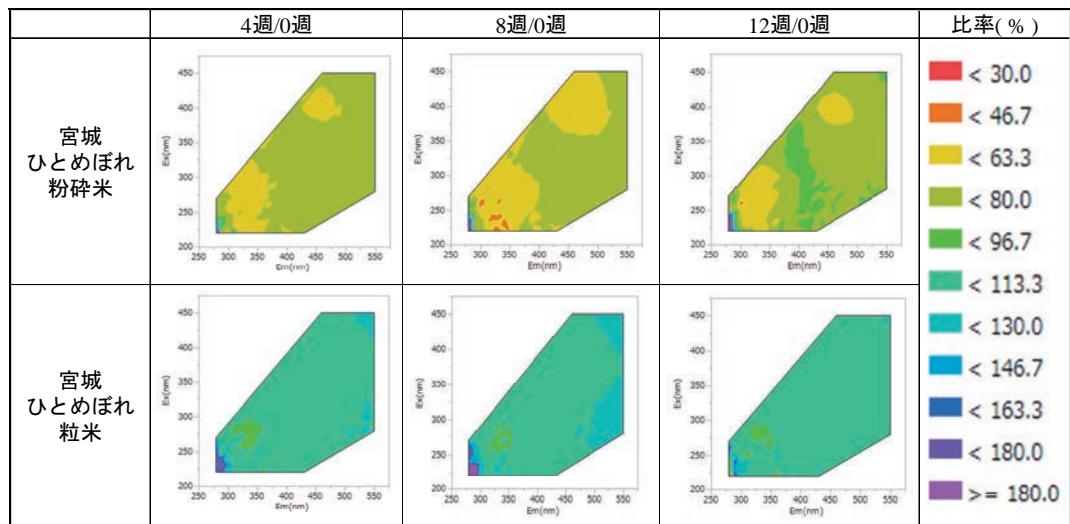


図 5. 宮城ひとめぼれの励起蛍光マトリクス等高線

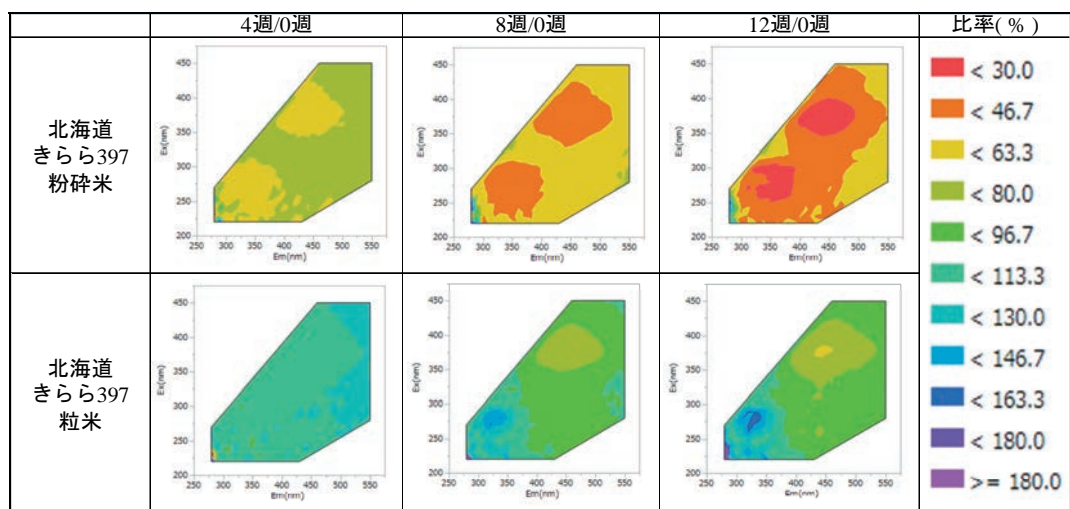


図 6. 北海道きらら 397 の励起蛍光マトリクス等高線

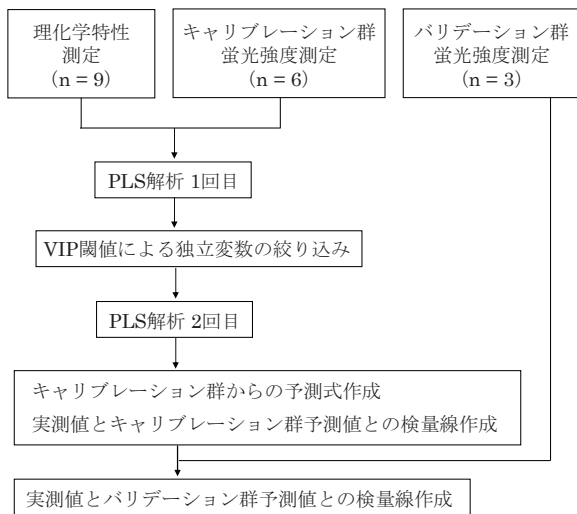


図 7. PLS 解析の手順

から予測式を得た (図 8). キャリブレーション群から得られた予測式を用いて、予測値と理化学特性の実測値との間で検量線を作成し、その R^2 値を求めた. さらに、これらの予測値とバリデーション群の実測値との間の検量線から得られた R^2 値も評価した. このような処理を、0.5 間隔で VIP 閾値を増減させて変数の絞り込みを行って繰り返し、 R^2 値の VIP 閾値依存性について検討した. 粉状および粒状の玄米試料の 3 つの理化学特性値および貯蔵期間について、所定の VIP 値にて絞り込みを行って得られた予測値とキャリブレーション群およびバリデーション群の実測値との相関関係を示す検量線を図 9 および 10 に示す. 粉状試料の脂肪酸度について、キャリブレーション群の検量線の R^2 値は 0.966 であり、バリデーション群では 0.909 であった (図 9). 一方、粒状試料ではキャリブレーション群およびバリデーション群における R^2 値は、それぞれ 0.821 および 0.797 であった (図 10). 脂肪酸度と励起蛍光マトリクスとの相関関係は、粒状に比べ粉状試料の方が高い相関を得ることができると示された. 過酸化物質価、新鮮度および貯蔵期間についても同様の解析を行い、励起蛍光マトリクスとの相関性の指標となる R^2 値をそれぞれ得た. 過酸化物質価については、粉状および粒状試料ともにキャリブレーション群での R^2 値が高かったが、他方バリデーション群での R^2 値はそれぞれ 0.330 および 0.531 と低く、過酸化物質価と励起蛍光マトリクスとの低い相関関係が示された. また、粉状試料よりも粒状試料の方が、高い相関を示すことがわかった. この低い相関性については、過酸化物質価実測値の大きな誤差も影響したものと考えられる. 粉状および粒状試料の新鮮度についての R^2 値は、キャリブレーション群でそれぞれ 1.000 および 0.746、バリデーション群にてそ

れぞれ 0.744 および 0.690 であり、新鮮度の励起蛍光マトリクスとの相関関係は脂肪酸度よりも低く、過酸化物質価よりも高いことが示された. 貯蔵期間と励起蛍光マトリクスとの相関関係は、粉状および粒状試料のいずれにおいても高いことが示された. さらに、粉状試料のキャリブレーション群およびバリデーション群での R^2 値がそれぞれ 0.974 および 0.924 であり、粒状試料の R^2 値が 0.973 および 0.917 であったことから、試料の大きさや形状の影響が少ないことが明らかとなった.

脂肪酸度、過酸化物質価、新鮮度および貯蔵期間についての粉状および粒状玄米の R^2 値の VIP 閾値依存性を検討したに示す. 脂肪酸度についての R^2 値は VIP 閾値の影響を大きく受けることはなかった (図 11). 過酸化物質価、新鮮度および貯蔵期間については、一部を除き VIP 閾値が高いほど R^2 値が低下する傾向が観察された. これは予測式の独立変数を増やすことで相関性を高めることができることを示している.

粒状玄米の励起蛍光マトリクスと貯蔵期間との高い相関性から、本法による玄米の非破壊品質評価の実用性が示唆された. さらに、脂肪酸度と励起蛍光マトリクスとの相関性が高く、貯蔵中の脂肪酸量の増大が玄米の励起蛍光マトリクスの変化に強く影響する可能性が示された. 新鮮度は試料の pH を反映する指標であるため、米の貯蔵過程で生じる脂肪酸などの酸性物質の影響を受けることが容易に想像でき、ゆえに脂肪酸度に準じた相関性が得られたものと考えられる. 過酸化物質価は、複雑な脂質酸化連鎖反応過程で生じた過酸化物質に依存するが、一般的にこれらの物質は当初脂質酸化の進行とともに増加するが次第に分解などにより減少することが知られているため、その励起蛍光マトリクスへの寄与を詳細に評価するには、マトリクス変化も含めより短い貯蔵時間間隔における測定結果が求められるだろう. 励起蛍光マトリクスとの相関性が高かった貯蔵期間や脂肪酸度においては、粒状よりも粉状試料の方がより高い相関関係を得ることができた. これはより細密な試料の装置への充填により品質評価の精度が向上することを表しており、非破壊測定の限界を示すものでもあると考えられる. 一方で、米粒表面と内部で生じた化学的変化の差異を示すものであるという捉え方も可能であり、表面のみを削って得られた試料の評価ができれば、より詳細な知見が得られるものと推察される.

4. まとめ

本研究で得られた知見から、蛍光分光光度計を用いた励起蛍光マトリクスの測定によって、脂肪酸量増大などの脂質劣化に起因した玄米の品質低下を評価できる可能性

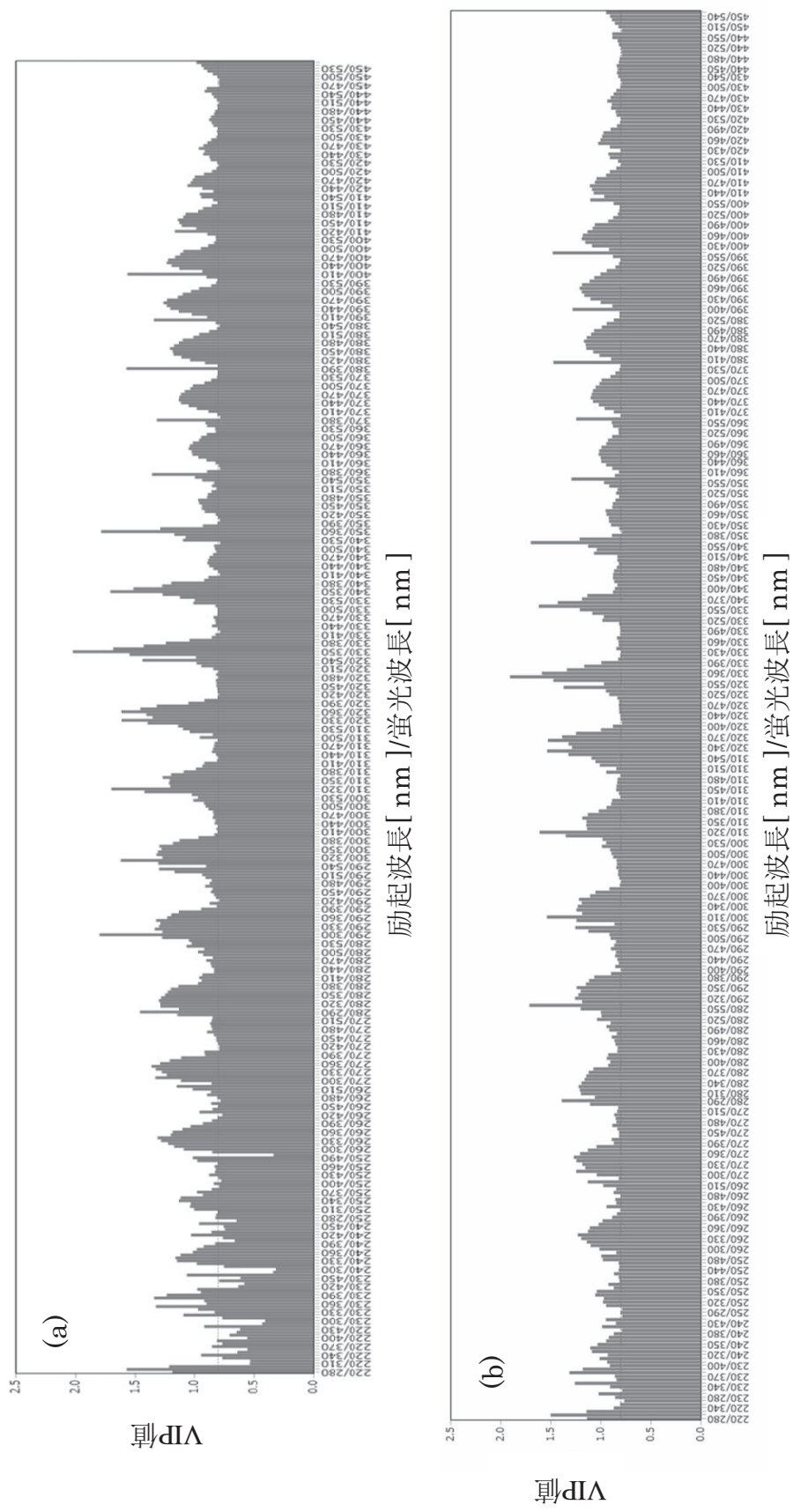


図8. 新潟コシヒカリ玄米粉状試料の変数重要度プロファイル
 (a) 1回目PLS解析結果 (b) VIP閾値を0.8に設定した2回目のPLS解析結果

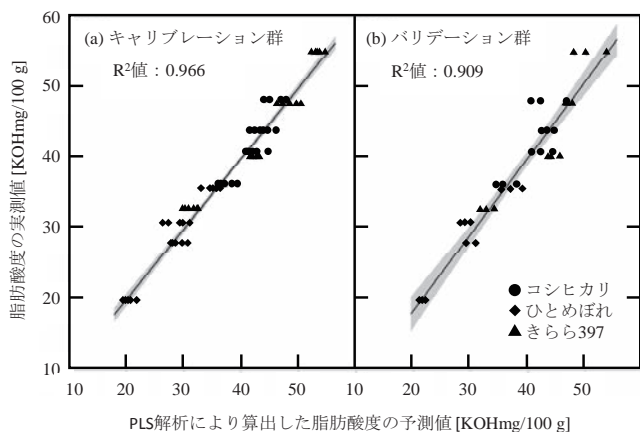


図 9. 粉状試料の脂肪酸度の検量線 (VIP 閾値 0.7)

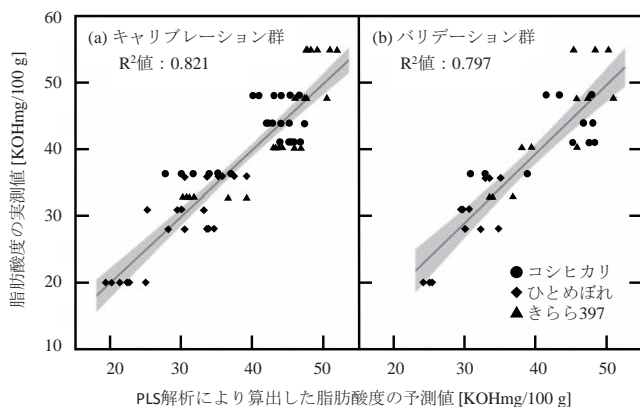


図 10. 粒状試料の脂肪酸度の検量線 (VIP 閾値 0.65)

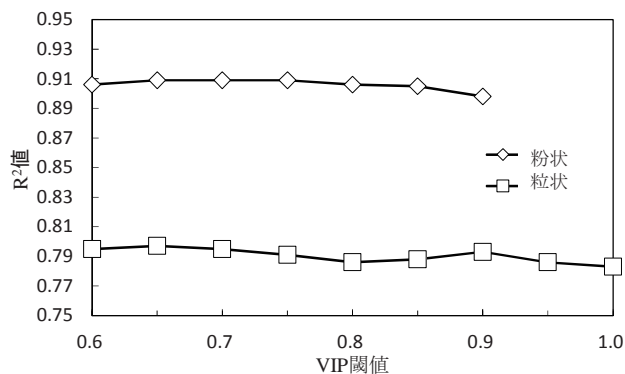


図 11. 脂肪酸度における決定係数と VIP 閾値との関係

が示された。しかしながら、貯蔵中の玄米で生じたどのような化学反応や生成物質がマトリクス変化のどの領域に寄与しているのかの詳細な同定には至っていない。今後は、より多くの品種、古米などのより劣化の進んだ試料、異なる貯蔵条件を経た米試料などについても同様の測定および解析を実施し、非破壊品質評価の実用性の検証を行う必要があると考えられる。また、玄米のみでなく白米における測定結果や品種ごと解析も、生じた現象の詳細を理解する上で有益な知見をもたらすものとする。さらに、測定された励起蛍光マトリクスと食味との相関関係も重要な検討課題であると考えられる。

参考文献

- (1) 貝沼やす子, 日本食品科学工学会誌, 55 巻 10 号 (2008), pp.487-493
- (2) 中村結花子ら, 日本食品科学工学会誌, 59 巻 8 号 (2012), pp.387-393
- (3) 藤田かおりら, マイコトキシン, 63 巻 2 号 (2013), pp.201-208
- (4) 杉山武裕ら, 日本食品科学工学会誌, 57 巻 6 号 (2010), pp.238-242
- (5) 大坪研一ら, 食品総合研究所研究報告, 51 巻 (1987), pp.59-65
- (6) Erik Løvaas, *JAOCS*, 69(8), (1992), pp.777-783
- (7) 藤野安彦ら, 栄養と食糧, 25 巻 6 号 (1972), pp.472-474
- (8) 奥西智哉ら, 日本食品科学工学会誌, 55 巻 2 号 (2008), pp.76-77
- (9) 松下雪郎, 栄養と食糧, 35 巻 6 号 (1982), pp.375-390