

カルシウム塩添加が温州みかん果汁の嗜好に及ぼす影響

小早川和也・柴田哲典*

厚生省の国民栄養調査の結果では日本人の栄養摂取量は、おおむね満足されるものであるが、全世代に亘るカルシウム摂取不足と若年女性の鉄不足が問題視されている¹⁾。特にカルシウムの摂取不足はこの数年来指摘され^{1), 2)}、これを受けて、一部の乳製品、タブレット型の健康食品、菓子の分野でカルシウム強化を表示した食品が開発されている。

しかし、カルシウム塩は一般に溶解度が低く、苦味、酸味など特有の味を持つものが多く、嗜好を十分に満足させるものとはなっていない。特に果汁飲料では外観（沈殿の発生）、嗜好（フレーバー、味）への影響が大きく、実際の使用に際し多くの問題点が残っている。

本研究ではグルコン酸カルシウム、乳酸カルシウム、クエン酸カルシウムなどのカルシウム塩の添加による温州みかん果汁の嗜好に及ぼす影響を調べ、併せて嗜好に及ぼす因子についても検討した。

実験材料及び実験方法

1. 実験材料

1.1 温州みかん果汁

N社（和歌山県1994年度産）製、未加熱温州みかんストレート果汁冷凍品（18ℓ/缶）を流水解凍後、ナイロン/ポリプロピレン製袋に2ℓずつ小分けし、-60℃の冷凍庫で保管したものを必要に応じ解凍して使用した。

1.2 試薬類

グルコン酸カルシウムは藤沢薬品工業（株）製の食品添加物用を、その他の試薬は特級試薬を用いた。

2. 実験方法

2.1 試料調製

未加熱温州みかんストレート果汁にグルコン酸カルシウム（以下G-Caと略す）、乳酸カルシウム（以下L-Caと略す）、クエン酸カルシウム（以下C-Caと略す）、塩化カルシウム（以下Cl-Caと略す）及び炭酸カルシウム（以下Ca-Caと略す）をそれぞれ所定の濃度になるよう添加した試料を官能審査、液体クロマトグラフィーなどの分析用試料とした。

2.2 官能審査

当センター職員及び研究生（大学4年生及び企業からの派遣生）をパネラーとし、3点比較法による識別もしくは2点比較法による嗜好調査を行った³⁾。パネラーの人数は18人から30人、その構成は20歳代の男子約25%、女子約40%、30歳代の男子約15%、40、50歳代の男子併せて約20%であった。

試料にカルシウム塩をそれぞれ所定の濃度入れ、十分攪拌した後、恒温水槽で冷却し5℃～10℃の品温にしたものを官能審査用試料とした。ただし、香りのみの官能審査用試料は室温とした。

2.3 高速液体クロマトグラフィー

果汁中の有機酸、糖類、リモニンの高速液体クロマトグラフィーの分析は次の条件で行った。

有機酸

カラム：Shodex KC-811 $\phi=10\text{mm}$ $L=300\text{mm}$ 、検出部：紫外外部吸収、溶出液：0.1%リン酸溶液、溶出速度：1.0 mL/min 、カラム温度：50℃

単糖、二糖

カラム：Shodex Asahipak NK2 P-50 4E $\phi=10\text{mm}$ $L=300\text{mm}$ 、検出部：示差屈折、溶出液：アセトニトリル：水=3：1、溶出速度：1.0 mL/min 、カラム温度：20℃

リモニン

カラム：Zerbox BP-ODS $\phi=4.6\text{mm}$ $L=250\text{mm}$ 、検出部：紫外外部吸収、溶出液：アセトニトリル：水=6：4、溶出速度：0.5 mL/min 、カラム温度：50℃

2.4 ガスクロマトグラフィー

果汁を25 mL ねじ口バイアル瓶に入れ、40℃の恒温水槽中で15分間加熱したものをヘッドスペースバ（HSV）用試料とした。ガスクロマトグラフィーの分析は次の条件で行った。

装置：パーキンエルマー社オートシステムガスクロマトグラフ、カラム：ステンレス製キャピラリー $\phi=0.53\text{mm}$ $L=30\text{m}$ 、充填剤：HR-20M、注入口、検出部温度：225℃、

検出器：水素炎イオン化検出器、キャリアガス：ヘリ

*（株）丸越

ウム (5 ml / min), カラム温度: 40℃ 2分保持, 40~215℃ 5℃ / min 昇温, 215℃ 15分保持, 試料注入量: 0.2 μ l

実験結果及び考察

1. 糖及び有機酸組成に及ぼすカルシウム塩の影響

試料とした温州みかん果汁の一般成分分析結果は表1のとおりである。88% (w/w) 以上が水分, 次いで炭水化物が約11% (w/w) であり, たんぱく質, 脂質, 灰分は少量であった。また, クエン酸を中心とする数種の有機酸を含むため pH は3.6であった。

表1 温州みかん果汁の成分分析結果

	割合 (%)	分析方法
水分	88.4	105℃ 乾燥法
灰分	0.3	550℃ 灰化法
脂質	0.1	ソックスレー (液/液抽出) 法
たんぱく質	0.4	ケルダール分解法
炭水化物	10.8	100%から上記4成分を減じた値

一般に温州みかん果汁の炭水化物の主成分は単糖 (グルコース, フルクトース), 二糖 (スクロース) で, 全糖量は成熟とともに増加し, 最終的には10~11%に達する。糖組成も成熟とともに変化し, 成熟初期では6割近くが単糖であるが, 完熟果汁中の糖組成はスクロースが約2/3, 単糖が約1/3となると報告されている⁴⁾。今回使用した試料の糖組成はグルコース約18%, フルク

トース約22%, スクロースが約60%であり, 完熟果汁のそれとほぼ一致した。

G-Ca, L-Ca, C-Ca, Cl-Ca, Ca-Caの5種類のカルシウム塩を1% (w/v) 濃度で試料果汁に添加したときの上清液の pH 及び糖組成を表2に, カルシウム塩添加果汁の4名のパネラーによる予備的官能審査の結果を表3に示した。

表2からも明らかなように, 果汁中の糖組成はいずれの試料においてもスクロース: グルコース: フルクトースの比が3: 1: 1, 全糖量も11g / 100ml であり, 無添加果汁及び各カルシウム塩添加果汁間でそれぞれ差は認められなかった。

しかし, 揮発性の弱酸と強塩基の塩である Ca-Ca 添加果汁は, 添加時に果汁中より炭酸が発泡・揮散し, 塩基のみが果汁中に残り, 果汁中の有機酸を中和するため pH が5.51と大きく中性側に移行した。また強酸と強塩基の塩である Cl-Ca 添加果汁では pH が3.18と酸性側に移行した。さらに, C-Ca は溶解度が低く1%添加では完全に溶解せず, 沈殿が認められた。

表3に示したように C-Ca, Cl-Ca 添加果汁は味, 色, 香り, テクスチャーなどが大きく変化し, みかん果汁飲料としては嗜好を満足できないと判断された。Ca-Ca 添加果汁は酸味が減少し, 味の切れが悪く, 甘味料, 香料を主成分に調製した飲料に似た感じとなり, これら3種のカルシウム塩はみかん果汁のカルシウム強化に不向きであった。一方, G-Ca, L-Ca の添加は味, 香り, 色な

表2 温州みかん果汁中の pH, 全糖量及び糖組成に及ぼすカルシウム塩の影響

試料	pH	全糖量 (g/100ml)	グルコース (%)	フルクトース (%)	スクロース (%)
無添加果汁	3.58	10.9	59	18	23
G-Ca 1%添加果汁	3.71	11.0	58	18	24
L-Ca 1%添加果汁	3.81	11.1	60	17	23
C-Ca 1%添加果汁	3.88	11.0	62	18	20
Cl-Ca 1%添加果汁	3.18	10.9	61	18	21
Ca-Ca 1%添加果汁	5.51	11.0	61	18	21

表3 温州みかん果汁の味覚などに及ぼすカルシウム塩の影響

試料	パネラー*による総合評価**
G-Ca 1%添加果汁	ほとんど差を感じない。甘味が少し増した。
L-Ca 1%添加果汁	差は少ないが明らかな酸味を感じる。
C-Ca 1%添加果汁	完全に溶解しないため, テクスチャーが悪く, 色も鮮やかさが無い。味も苦味, えぐみを感じる。
Cl-Ca 1%添加果汁	フレーバーが悪く, 酸味, 塩味が強い。
Ca-Ca 1%添加果汁	酸味が無くなり相対的に甘味が増強され, くどい。果汁の清涼感が無い。

* パネラー: 20代男子 2名, 20代女子 1名, 40代男子 1名

** 無添加果汁を対象として評価

どへの影響が少なく、G-Caでは甘味の増強が、L-Caでは酸味の増強が指摘されたが、実用的な果汁へのカルシウム強化に有効であることが示唆された。

みかん果汁中の有機酸は成熟とともに減少し、完熟果では1%程度となる。有機酸の約90%が不揮発性のクエン酸で数%のリンゴ酸と少量の他の有機酸が含まれる⁴⁾。クエン酸の呈味性は一般に「強い」、「派手な」、「びりっとした」と表現され、乳酸、グルコン酸は反対に「弱い」、「地味な」、「まろやかな」、「あっさりした」と表現される淡白な酸である³⁾。また、酸味に関しては乳酸がクエン酸とほぼ同等の強さ（対クエン酸比 0.91~0.96）であるのに対し、グルコン酸はクエン酸の1/3程度（対クエン酸比 0.29~0.35）と低く、酸味をあまり感じさせない酸である⁵⁾。

表4に示したとおり、無添加、G-Ca添加、L-Ca添加果汁の有機酸組成に変化は認められなかった。L-Ca添加果汁の酸味が強調されたことはクエン酸とほぼ同等の呈味性を持つ乳酸の添加による総酸量の増加に起因すると思われる。一方、総酸量が増加したにも関わらずG-Ca添加果汁の甘味の増強は、表2の糖組成、表4の有機酸組成のみからは説明が不可能であり、他の要因を検討する必要がある。

2. 嗜好に及ぼすカルシウム塩の影響

一般に果汁飲料の嗜好は甘味、酸味、苦味、テクスチャーの味覚部分と香り、色の臭覚、視覚の各因子のバランスで決定される（表5）。温州みかん果汁の官能審査を行うにあたっての聞き取り調査においても、みかん果汁の嗜好因子として甘味、酸味、香りをあげるパネラーがほとんどであった。

表4 温州みかん果汁中の有機酸組成に及ぼすカルシウム塩の影響

試料	クエン酸 (mg/100g)	リンゴ酸 (mg/100g)	乳酸 (mg/100g)	グルコン酸 (mg/100g)
無添加果汁	810	60	—	—
G-Ca 1%添加果汁	825	65	—	900
L-Ca 1%添加果汁	800	65	850	—

表5 温州みかん果汁の嗜好決定因子と主要成分

嗜好決定因子	温州みかん中の主要成分
甘味	スクロース、グルコース、フルクトース
酸味	クエン酸
テクスチャー	ペクチン、ヘスペリジンなどのコロイド性不溶物、パルプ質
苦味	リモノイド系リモニン、ノミリン
色調	β -カロチン、クリプトキサンチン
香り	テルペノイド（リモネン、ピネン）、テルペン、エステル

酸味の強さ（クエン酸約6%）が特徴のレモン、微量の苦味（ナリンギン0.03~0.07%）⁶⁾が必要なグレープフルーツ、夏みかんなどと異なり温州みかんは甘味、酸味のバランスが嗜好を決定する重要な因子である。

今回のパネラーのG-Ca、L-Caに対する閾値を蒸留水及びカルシウム塩水溶液の3点比較法で調べた結果を表6に示した。パネラーのG-Ca、L-Caの閾値はそれぞれ0.1%以下であり、文献値のG-Ca0.25%、L-Ca0.12%よりもいずれも低く⁵⁾、カルシウム塩の添加効果に関するパネラーとして十分な感度があると判断できる。

パネラー30人によるL-Ca、G-Ca添加果汁及び無添加果汁の味覚による3点比較法を試みた結果を表7に示す。表7からも明らかなようにG-CaとL-Caの両者を比較した場合、1%以上の添加で両者を識別（危険率5%）することが可能であったが、0.5%添加では両者を識別することはできなかった。しかし、無添加果汁を対象とした場合L-Caは0.5%添加で30人中21人（0.1%危険率で

表6 3点比較法によるカルシウム塩の閾値

試料の組み合わせ	パネラー	識別者	評価
蒸留水 0.1%G-Ca水溶液	20人	17人	1%危険率で有意差あり
蒸留水 0.1%L-Ca水溶液	16人	15人	0.1%危険率で有意差あり

表7 味による3点比較法によるカルシウム塩添加果汁の識別調査

試料の組み合わせ	パネラー	識別者	評価
2%G-Ca添加果汁 2%L-Ca添加果汁	30人	21人	0.1%危険率で有意差あり
1%G-Ca添加果汁 1%L-Ca添加果汁	30人	16人	5%危険率で有意差あり
0.5%G-Ca添加果汁 0.5%L-Ca添加果汁	30人	10人	有意差なし
無添加果汁 1%G-Ca添加果汁	30人	16人	5%危険率で有意差あり
無添加果汁 0.5%G-Ca添加果汁	30人	9人	有意差なし
無添加果汁 0.5%L-Ca添加果汁	30人	21人	0.1%危険率で有意差あり

表8 香りによる3点比較法によるカルシウム塩添加果汁の識別調査

試料の組み合わせ	パネラー	識別者	評価
無添加果汁 2%G-Ca添加果汁	30人	7人	有意差なし
無添加果汁 2%L-Ca添加果汁	30人	15人	5%危険率で有意差あり
無添加果汁 1%L-Ca添加果汁	30人	10人	有意差なし

有意差あり)が両者を識別したのに対し、G-Caは0.5%添加では有意差は認められず、1%添加においても5%危険率で有意差が認められたにすぎなかった。

ガスクロマトグラフによるHSV分析ではL-Ca、G-Caそれぞれ2%添加しても無添加品と顕著な差は認められなかった。しかし、香りのみによる官能審査ではL-Ca、G-Ca両者間に差が認められた(表8)。表8に示すとおりG-Caは2%添加においても無添加品と識別できず、香りに影響を与えないが、L-Caは2%添加で危険率5%の有意差で識別が可能であった。これはグルコン酸と比較し乳酸の揮発性が高いことに起因すると考えられ、香りに影響を与えないためにはG-Ca添加が好ましいと考えられた。

無添加果汁とG-Ca添加果汁(0.5%, 1%)及びL-Ca添加果汁(0.5%, 1%)の2点比較法による官能審査結果を表9に示した。パネラー27人中、G-Ca 1%添加果汁を好むもの13人、無添加果汁を好むもの14人で嗜好的に両者間に差は認められなかった。G-Ca0.5%添加果汁と無添加果汁では19人中12人とG-Ca添加果汁を好む傾向が見られたがサンプル数が少ないため統計的な有意差は認められなかった。一方、L-Ca添加果汁と無添加果汁では濃度1%では20人中15人が無添加果汁を好み5%危険率で有意差が認められ、0.5%濃度では21人中11人とほぼ半数が無添加品を好み有意差は認められなかった。0.5%程度のG-Ca、L-Ca添加ではそれぞれ甘味、酸味ともみかん果汁の嗜好の許容以内であるのに対し、L-Ca 1%添加での酸味は不自然さを伴い無添加果汁へ嗜好が大きく偏ったのに対し、G-Ca 1%添加でも無添加品と嗜好上の差は認められず、味、香りともG-Caがカルシウム塩としてみかん果汁に適していることが判った。

濃縮還元オレンジ果汁中へのパントテン酸カルシウム添加により酸味、苦味が減少し、官能審査において明らかに添加区が好まれると云う報告がなされている⁷⁾。また、一般に滴定酸度が同じであっても、塩類が共存す

表9 2点比較法によるカルシウム塩添加果汁の嗜好調査

試料の組み合わせ	パネラー	識別者	評価
無添加果汁	27人	14人	有意差なし
1%G-Ca添加果汁		13人	
無添加果汁	20人	15人	5%危険率で有意差あり
1%L-Ca添加果汁		5人	
無添加果汁	19人	7人	有意差なし
0.5%G-Ca添加果汁		12人	
無添加果汁	21人	11人	有意差なし
0.5%L-Ca添加果汁		10人	

る場合は遊離酸が減少するため官能的に酸度がまろやかになり、みかん果汁においても成熟につれ遊離有機酸は85~90%に減少し、カリウム塩が増加することにより味がまろやかになると報告されている⁸⁾。

カルシウム添加果汁が甘味あるいは酸味を感じる要因として、1)酸の呈味度の差、2)カルシウム塩添加による遊離酸の減少、3)カルシウム塩添加による多糖類(ペクチン)、フラボノイド(ヘスペリジン)など果汁中にコロイド状で分散している不溶物への影響、4)リモノイド系苦味物質リモニンへの影響などが考えられる。

3. テクスチャーに及ぼすカルシウム塩の影響

写真1、2に示したように、G-Ca、L-Caいずれのカルシウム塩を添加してもみかん果汁中の不溶成分が沈降し、果汁上部が清澄化する。また、濁度の指標である660nmの吸光度をカルシウム濃度に対しプロットした結果を図1に示す。

図1からも明らかなようにカルシウム塩の種類に関係なく、カルシウム濃度の増加とともに吸光度は減少し、カルシウム塩濃度が50mg/100g付近から果汁上部の清澄化が始まり、150mg/100g以上では上清は淡黄色の透明な状態になり、コロイド状の不溶物は認められず、ペクチナーゼ処理後の清澄果汁類似の喉ごしとなった。

ペクチンは果皮、果肉に多く含まれる多糖類で、適度な酸、糖、塩類の存在でゲル化し、工業的にはジャムなどのゲル化剤として用いられている。みかんはペクチンの工業的原材料となるほど含有量が多く、みかん果汁中にも多くのペクチンが存在している。カルシウムはペクチンに対し強いゲル化剤として働くと同時に、ペクチン酸と塩を形成しペクチンを不溶化させる働きがある。カルシウム塩添加による果汁上清の清澄化は、コロイド状

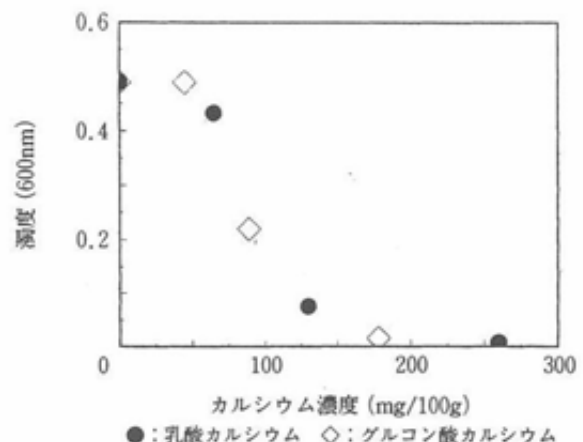


図1 果汁清澄化に及ぼすカルシウム濃度の影響

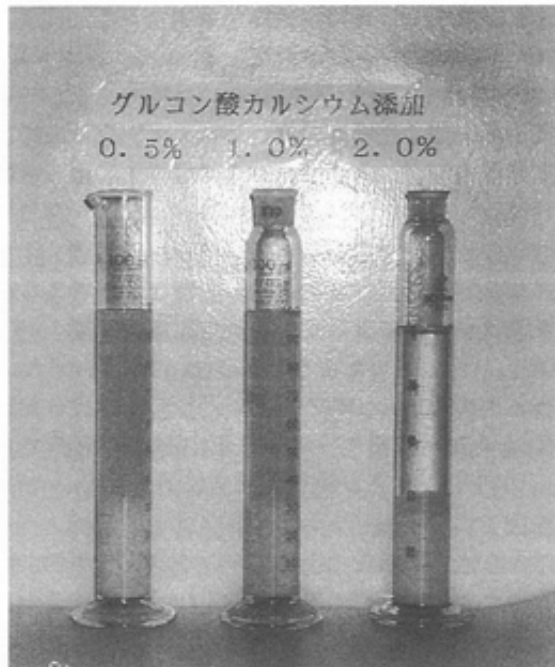


写真1 グルコン酸カルシウム添加による温州みかん果汁の清澄化

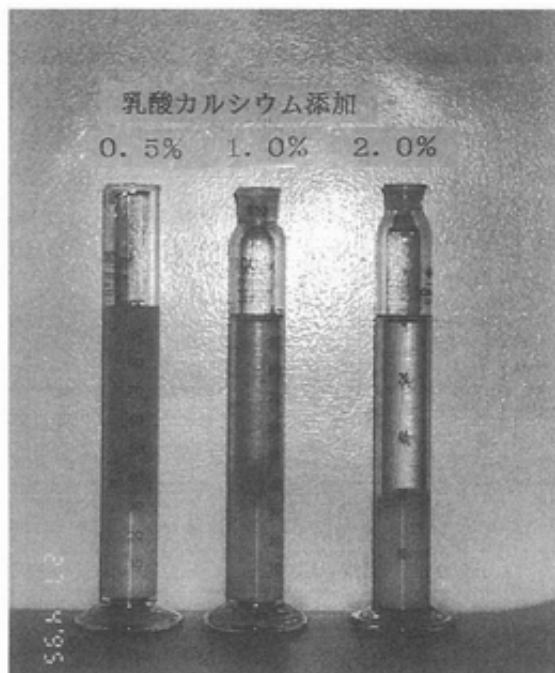


写真2 乳酸カルシウム添加による温州みかん果汁の清澄化

で果汁中に分散していたペクチン及びペクチン酸が不溶性のカルシウム塩となり沈降し、カルシウム塩添加がペクチナーゼ処理と同様の効果を示したと考えられる。

一般に果汁の清澄化のために行われるペクチナーゼ処理はペクチンを加水分解により低分子化し、清澄化することを目的としているが、残存する未分解物除去のため静置、遠心あるいは珪素土濾過などの後工程が行われている。カルシウムは酵素処理と異なりペクチンをカルシウム塩として凝集させるため、短時間の静置で写真に示したようにきれいな上澄を得ることができる。リンゴ、みかんなどペクチン質の多い果汁のカルシウム強化と清澄化を兼ねた技術として今後検討する必要がある。

4. リモニン溶解度に及ぼすカルシウム塩の影響

温州みかん果汁中にはグレープフルーツ、夏みかんなどの苦味成分であるフラボノイド系のナリンギンよりも閾値の小さいリモノイド系のリモニン（10%スクロース溶液中閾値2 ppm）が含まれており⁴⁾、未熟果及びアルペド（みかん果皮内部の白色部）中には特に多く、摘果時期、搾汁方法などにより果汁中のリモニン含量に大きな差が認められ、温州みかん果汁の嗜好に大きく影響している。

表10 リモニンの溶解性に及ぼすカルシウム濃度の影響

試 料	カルシウム濃度 (mg/100mℓ)	リモニン濃度 (mg/100mℓ)
クエン酸緩衝液	0	50
0.5%G-Ca添加緩衝液	45	49
0.5%L-Ca添加緩衝液	65	50
1.0%G-Ca添加緩衝液	89	51
1.0%L-Ca添加緩衝液	130	50
2.0%G-Ca添加緩衝液	178	48
2.0%L-Ca添加緩衝液	260	50

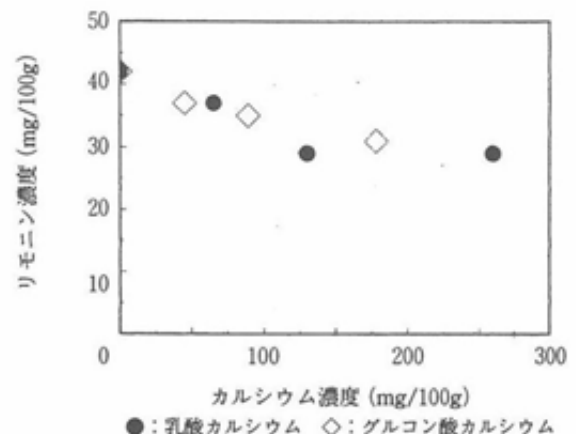


図2 リモニンの溶解度に及ぼすカルシウム濃度の影響

文 献

図2に果汁上清中のリモニン濃度とカルシウム濃度の関係を示した。上清中のリモニン含量もカルシウム塩の増加とともに減少した。しかし、表10に示すようにクエン酸緩衝液(50mM、pH4.0)中に50mg/100mℓとなるようにリモニンを溶解した溶液に、カルシウム塩を添加してもリモニン濃度に変化は認められなかった。これは、ペクチンの不溶化がほぼ終了するカルシウム濃度100~150mg/100g以上で、果汁中のリモニン溶解度に変化がなくなる現象と併せて考えると、果汁中のリモニン濃度の減少が単にカルシウム塩の直接的効果ではなく、ペクチンが不溶化する際にリモニンをゲル中に抱き込んで共沈させる可能性を強く示唆している。

要 約

- 1) 官能審査の結果ではグルコン酸カルシウムが酸としての呈味性が低く、ほとんど無味無臭であることから、試験したカルシウム塩中最も嗜好に影響が少ない(0.5~1%添加で無添加果汁と有意差なし)ことが判明した。
- 2) 嗜好を決定する因子は甘味、酸味であり、G-Ca添加では甘味が、L-Ca添加では酸味が増強されることを特徴としてあげるパネラーが多く存在した。
- 3) カルシウム濃度と果汁上清の清澄度の間に相関が認められ、ペクチンなどのコロイド状に分散している成分がカルシウムにより沈降したことが示唆された。
- 4) カルシウム塩の添加によりみかん果汁中の苦味物質リモニンが減少し、その減少パターンはペクチンの沈降と同一傾向を示し、リモニンの溶解度にペクチンが関与していることが類推された。
- 5) カルシウム塩の添加による味覚の差は、添加された酸の呈味性、苦味物質の減少による甘味の増強、テクスチャーに影響を及ぼすコロイド状分散成分の沈降が複合的に作用していると考えられた。

本報は平成6年度及び平成8年度に藤沢薬品工業(株)からの受託研究をまとめたものである。結果の公表を承諾いただいた藤沢薬品工業(株)に感謝いたします。

- 1) 厚生省保健医療局健康増進栄養課：栄養学雑誌, 55, 137-158 (1997)
- 2) 厚生省保健医療局健康増進栄養課：同上, 54, 205-220 (1996)
- 3) 日科技連官能検査委員会 編：官能検査ハンドブック, 日科技連出版, P252 (1979)
- 4) 尾崎準一編：果汁果実飲料ハンドブック, 朝倉書店, P28 (1967)
- 5) 食品素材有効利用技術シリーズNo. 4 グルコン酸カルシウム：菓子総合技術センター, P2 (1996)
- 6) 伊藤三郎 編：果実の科学, 朝倉書店, P135 (1991)
- 7) 石田欽一・横尾良夫・小山吉人：栄養と食糧, 17, 423-428 (1964)
- 8) 日本果汁協会監修：果汁果実飲料事典, 朝倉書店, P168 (1978)