

報 文

## 後加熱処理が減圧マイクロ波濃縮トマトピューレの 食味および成分に与える影響

佐々木琴瑞<sup>1</sup>, 折笠貴寛<sup>1,2\*</sup>, 加藤一幾<sup>3</sup>, 松嶋卯月<sup>1,2</sup>, 小出章二<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 岩手大学大学院総合科学研究科

<sup>2</sup> 岩手大学農学部

<sup>3</sup> 東北大学大学院農学研究科

### Effects of Post-Heat Treatment on the Flavor and Nutritional Components of Tomato Puree Concentrated by a Vacuum Microwave

Kotomi Sasaki<sup>1</sup>, Takahiro Orikasa<sup>1,2\*</sup>, Kazuhisa Kato<sup>3</sup>, Uzuki Matsushima<sup>1,2</sup> and Shoji Koide<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Arts and Sciences, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550

<sup>2</sup> Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550

<sup>3</sup> Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 468-1 Aramaki Aza Aoba, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8572

We applied a post-heat treatment to the tomato puree production process after vacuum microwave concentration, and investigated its effect on the flavor and nutritional components of tomato puree. The highest levels of glutamic acid and aspartic acid were confirmed in the tomato puree sample with post-heat treatment for 20 min. Among all samples analyzed, the scores for the sensory evaluations of “umami” and “total satisfaction” were the highest in the 20 min post-heated sample. Lycopene, a natural antioxidant in tomato puree, was isomerized from its naturally occurring stable all-*trans* form to the *cis* form by post-heat treatment. No negative effects on the *L*-ascorbic acid and DPPH radical scavenging activity were observed in the tomato puree at the post-heat treatment step. The results of this study suggest that tomato puree subjected to heat treatment after concentration by vacuum microwave treatment retains a good flavor and has a higher *cis*-lycopene content, which results in higher absorptivity.  
(Received Jun. 10, 2020; Accepted Oct. 15, 2020)

**Keywords** : post-heat treatment, vacuum microwave concentration, tomato puree, sensory evaluation, isomerized lycopene

**キーワード** : 後加熱処理, 減圧マイクロ波, トマトピューレ, 官能評価, 異性化リコペン

加工用品種の赤系トマトであるクッキングトマトは、イタリア料理の普及に伴い、日本においてもその需要量の増加が見込まれる<sup>1)</sup>。クッキングトマトは、抗酸化能を有するリコペンが生食用トマトと比べて豊富に含まれているだけでなく、加熱後の赤みが鮮やかで水気が出にくく、煮崩れしにくいという特徴から、加工および調理適性の高いトマトとして注目されている<sup>2)</sup>。また、主要な生食用トマトは無限成長型であり、栽培には支柱が必要となるが、主要なクッキングトマトは有限成長型であることから支柱を必要とせず、地這い栽培などの粗放的栽培が可能である<sup>2)</sup>。これらの特徴から、クッキングトマトは東日本大震災の被災地復興・創生の一助となる青果物としても期待されており<sup>1)</sup>、近年では、国立研究開発法人農業・食品産業技術研究機構により、我が国の気候や土壌に適した“すずこま”や“にたきこま”などの品種が開発されている。しかし、これらの

品種は収穫期間が8月から9月にかけての約一か月程度と極めて短く、生果での周年供給は困難である。さらに、クッキングトマトの流通を生果のみに限定してしまうと、販路が限定される問題を生じる。そのため、周年供給を可能とする取り組みの一つとして、加工処理技術に関する研究が行われている<sup>3)4)</sup>。

代表的なトマト加工品としてトマトピューレが挙げられる。トマトピューレは、平成30年の輸入量が14万tにも達し<sup>5)</sup>、わが国において需要の大きいトマト加工品の一つである。実用レベルにおけるトマトピューレの濃縮工程で一般的に用いられている濃縮法は常圧解放濃縮法（以下、通常濃縮）である<sup>5)</sup>が、研究レベルにおいて、減圧マイクロ波（以下、VMW）を適用した例も報告されている<sup>6)</sup>。マイクロ波による加熱は内部加熱方式に分類され、試料にマイクロ波を照射すると、試料内部に存在する水分子の電気及

<sup>1</sup> 〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8, <sup>2</sup> 〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8, <sup>3</sup> 〒980-8572 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1  
\*連絡先 (Corresponding author), orikasa@iwate-u.ac.jp

極子が電子分極を起こす。双極子がマイクロ波電界により激しい振動回転を行うため、それに伴い分子摩擦が起こることで熱が発生する<sup>7)</sup>。この方法の特徴として、外部加熱方式である通常濃縮に比べ、被加熱体内部からの迅速な加熱が可能であり、水を選択的に加熱するため熱効率が高い<sup>8)</sup>ことが挙げられる。加えて、チャンバ内が減圧されることで試料中の水分の沸点を下げることができ、通常より低い温度での濃縮処理が可能となる。VMW濃縮により、試料の内部温度は60℃付近で留まり、リコペンおよびL-アスコルビン酸(以下、L-AsA)残存率が高いトマトピューレの製造が可能となったという報告もある<sup>6)</sup>。近年、高品質な食品に対する消費者のニーズは高まってきている<sup>9)</sup>ことから、VMWをトマトピューレの濃縮に適用することは、品質向上の観点から効果的であると考えられる。一方で、VMW濃縮トマトピューレは酸味や苦みが強く、食味の低下に影響を及ぼすとの報告もみられる<sup>6)</sup>。VMW濃縮トマトピューレの食味の低下を解決する手段として加熱処理の適用が考えられる。堀江<sup>10)</sup>は、トマトを加熱することでグルタミン酸が増加し、グルタミン酸との相乗効果によりうま味が増加すると報告している。このような加熱処理により、VMW濃縮トマトピューレの食味の改善が期待される一方で、熱による成分損失が危惧される。しかし、加熱処理がVMW濃縮トマトピューレの食味と成分に与える影響について定量的に評価した例は見当たらない。そこで本研究では、VMWによるトマトピューレ濃縮工程の後に加熱処理(以下、後加熱処理)を適用し、後加熱処理がVMW濃縮トマトピューレの食味および成分に与える影響について検討した。

## 実験方法

### 1. 供試材料

2018年8月~9月に岩手県大槌町、岩手大学滝沢農場(岩手県滝沢市)および東北大学農学研究科圃場(宮城県仙台市)で収穫されたクッキングトマト(品種名:すずこま)(*Solanum lycopersicum* L.)約50kgを供試材料として用いた。クッキングトマトの初期含水率は、文献値<sup>1)</sup>より $13.58 \pm 0.24$  (d.b. decimal)を用いた。なお、収穫後は、目視によりトマトの表面全体が赤く色づいたことを確認できた状態を追熟完了とし、追熟後-40℃のフリーザ(MDF-235, 三洋電機(株))で冷凍保存した。トマトピューレ製造の際は、産地による偏りがないよう、全ての産地のトマトをほぼ同じ割合になるよう混ぜて使用した。

### 2. トマトピューレの製造

#### (1) VMW濃縮

VMW濃縮は、マイクロ波加工業者(NPO法人明日に架ける橋、香川県)に委託して行った。冷凍トマトをマイクロ波により解凍して皮をむき、裏ごし器(N3004BG, Louis Tellier)で裏ごしをした後、減圧マイクロ波処理装置

(SMW-131, 四国計測工業(株))を用いてVMW濃縮を行った。濃縮条件は、試料質量43.4kg、マイクロ波出力3150W(214W/g-DW)、処理時間210min、圧力3kPaとした。トマトピューレは、農林水産省のトマト加工品の日本農林規格<sup>11)</sup>により、無塩可溶性固形分が24%未満の濃縮トマトと定義されており、Brix糖度を無塩可溶性固形分とみなして良いとされている。この基準に基づき、柴崎ら<sup>12)</sup>はBrix糖度12%を目標としてトマトピューレを製造しており、本研究においてもこの条件に従いトマトピューレを製造した。製造されたトマトピューレ(以下、試料)を再び冷凍した後、岩手大学に納入した。その後、実験に供試するまでの間-40℃のフリーザで保存した。

#### (2) 後加熱処理

冷凍された試料を冷蔵庫(平均1.5℃)(SJ-55W, シャープ(株))で約40h解凍した。解凍した試料を200gずつ200mL容の蓋つきのガラス瓶(以下、瓶)に入れ、蓋で密閉後、沸騰水中で加熱した。瓶を沸騰水中に入れてから取り出すまでの時間を加熱時間とし、加熱時間は10min、20minおよび30minの3条件とした。未加熱試料については、解凍した試料をそのまま実験に供試した。また、後加熱中の試料温度測定のため瓶の蓋に穴を開け、データロガー(GL220, グラフテック(株))に接続した素線径0.3mmのT型熱電対を通して液状シリコンで穴を塞いだ。後加熱中の試料温度は1min間隔で測定した。なお、105℃-24h炉乾法により測定した各試料の水分は、未加熱試料、10min加熱試料、20min加熱試料および30min加熱試料において、それぞれ $83.9 \pm 0.22\%$ 、 $83.8 \pm 0.16\%$ 、 $83.9 \pm 0.41\%$ 、 $83.7 \pm 0.18\%$  ( $n=10$ )であり、有意差は認められなかったことから、各試料の乾物率はほぼ同じ水準であると考えられた。

### 3. 官能評価

官能評価は2点比較法<sup>12)</sup>を用いて行った。事前に行った味覚感度試験<sup>12)</sup>により選抜された8名のパネリスト(男:女=3:5)(平均年齢21.9歳)に、未加熱試料と後加熱試料(10min、20minまたは30min)をスプーン1杯分(5.18±0.35g) ( $n=10$ )ずつ食してもらい、うま味、甘味、酸味、苦味、青臭さ、総合の6つの項目に対して、後加熱試料が未加熱試料よりも強く感じたら1点、同じくらいと感じたら0点、弱く感じたら-1点を付けて評価させた。それぞれの試料を食す際は、一度蒸留水で口を漱いだ。なお、プラセボ効果を排除するため、パネリストには試料に関する説明を行わずに官能評価を実施した。パネリストにはインフォームドコンセントを行い、評価参加の承諾を得た。また、官能評価は、岩手大学研究倫理審査委員会による承認(201916号)を得て実施した。

### 4. グルタミン酸およびアスパラギン酸含有量

アミノ酸はうま味に関与する成分で、トマト加工品の食味に影響を与える<sup>13)</sup>。トマトは、味にうま味やくくを求め

られ<sup>14)</sup>、アミノ酸はトマトピューレの食味を決定する重要な成分である。アミノ酸の中でも、トマトの食味に大きく影響を及ぼすとされるグルタミン酸とアスパラギン酸<sup>15)16)</sup>を本研究における評価対象とした。アミノ酸分析は古館らの方法<sup>17)</sup>に基づき行った。すなわち、試料 3g に蒸留水 100ml を加え、ホモジナイザ (HG-200, アズワン(株)) を用いて 5000rpm で 10 min, 均一になるまで摩砕した後、遠心分離機 (3700, 久保田商事(株)) を用いて 4℃, 14970 ×g で 15 min 遠心分離し、その上澄をろ紙 (NO.1, φ150 mm, アドバンテック東洋(株)) を用いてろ過した。この溶液 90ml に対して同量の *n*-ヘキサンを加え、脂溶性成分の分離を行った。脂質分離後の水層を 2ml 測り、4ml のクエン酸リチウム (pH2.2) を加えて希釈し、メンブレンフィルタ (SPARTAN™13/0.45RC, Whatman) でろ過したものをアミノ酸分析に用いる試料溶液とした。アミノ酸分析は、アミノ酸自動分析計 (JLC-500/V2, 日本電子(株)) により行い、グルタミン酸およびアスパラギン酸含有量を測定した。測定された値 (nmol/ml) は乾物試料 1g あたりの値 (mg/g-DW) に換算して表した。

#### 5. グアニル酸含有量

堀江の報告<sup>10)</sup>を一部改変し、HPLC 法により測定した。すなわち、試料 3g に 12g の蒸留水を加え、ホモジナイザを用いて 5000rpm で 10 min, 均一になるまで摩砕した後、遠心分離機を用いて 4℃, 14970 ×g で 15 min 遠心分離し、その上澄をろ過した。これをさらにメンブレンフィルタ (SPARTAN™13/0.45RC, Whatman) でろ過し、測定溶液とした。装置は、送液ユニット (LC-20AD, (株)島津製作所), UV-VIS 検出器 (SPD-20 A, (株)島津製作所), カラムオープン (CTO-10 A, (株)島津製作所) より成り、データの解析にはクロマトパック (C-R8 A, (株)島津製作所) を用いた。カラムには、C30 を固定相とするカラム (粒子径 5 μm, 内径 4.6 mm × 250 mm,) (Develosil RPAQUEOUS, 野村化学(株)) にガードカラム (Mightysil RP-18, 5-4.6, 関東化学(株)) を接続して用いた。移動相は、A 液として 50 mM リン酸緩衝液 (pH2.8) を用い、アセトニトリルと超純水を 9 : 1 (v/v) で混合した液を B 液とした。流速は 1 ml/min とし、グラジエント条件は、0 min では A 液 100 %, B 液 0 % とし、20 min に A 液 95 %, B 液 5 % になるようにした。なお、測定溶液の注入量は 10 μl とし、検出波長 250 nm における注入後 17 min のピーク面積を標品と比較して定量した。測定された値 (nmol/ml) は乾物試料 100g あたりの値 (mg/100 g-DW) に換算して表した。

#### 6. 糖酸比

糖酸比はトマト加工品の美味しさと正の相関がある<sup>18)</sup>ことから評価項目とした。未加熱試料, 10 min 加熱試料, 20 min 加熱試料および 30 min 加熱試料の糖度および酸度を測定し、糖度を酸度で除すことにより糖酸比<sup>18)</sup>を算出した。Brix 糖度はポケット糖度計 (PAL-J, (株)アタゴ), 酸度は

ポケット酸度計 (PAL-AC1, (株)アタゴ) をそれぞれ用いて測定した。また、各試料の遊離糖含有量を糖分析計 (US-300, 東亜ディーケーケー(株)) を用いて測定し、試料 1g あたりの値 (mg/g-FW) に換算して表した。

#### 7. リコペン含有量

リコペンはトマトの代表的な脂溶性成分であり、抗酸化能を有している。近年、生活習慣病予防が期待されており<sup>19)</sup>、トマト加工品の機能性を判断するうえで重要となるため、測定項目とした。リコペン含有量は、既報<sup>20)~22)</sup>を一部改変し、HPLC 法により測定した。すなわち、試料約 1g に *n*-ヘキサン 3ml を加え、パワー電動ミキサ (23 M-R25, 日本ジェネティクス(株)) を備え付けたホモジナイザ (FT15-HSG, 日本ジェネティクス(株)) を用いながらよくかき混ぜ、遠心分離機 (KS-5200C, 久保田商事(株)) を用いて 1670 ×g で 10 min 遠心分離させ、上層 (ヘキサン層) を回収した。残った水層に対して同様の操作を 2 回繰り返すことにより、カロテノイドを抽出した。抽出液はロータリーエバポレータ (CVE-200D, 東京理化機械(株)) を用いて、30℃ で蒸発乾固した。測定溶媒 (メタノール : メチル *t*-ブチルエーテル : 酢酸エチル = 25 : 65 : 10, v/v/v) を 5 ml 加え、超音波洗浄機 (AU-16C, アイワ医科工業(株)) により超音波処理し、溶解した溶液をフィルタ (DISMIC-13JP 0.20 μm, (株)アドバンテック) でろ過した後、HPLC により分析した。HPLC 分析は、HPLC システム (Alliance 2695, 日本ウォーターズ(株)) およびフォトダイオードアレイ検出器 (2998 PDA 検出器, 日本ウォーターズ(株)) を用いた。カラムには、C30 を固定相とするカラム (YMC Carotenoid S-3 μm, 250 × 4.6 mm I.D., (株)ワイエムシイ) を用い、カラム温度 20℃ とした。移動相は、A 液 : メタノール, B 液 : メチル *t*-ブチルエーテル, C 液 : 酢酸エチルを用い、流速は 1 ml/min とした。グラジエント条件は、0-5 min では A 液 50 %, B 液 40 %, C 液 10 % とし、15 min に A 液 0 %, B 液 90 %, C 液 10 % になるようにし、20 min まで維持した。なお、検出波長は 475 nm とし、それぞれのリコペンのピーク面積を標品と比較して、定量した。測定された値 (μg/ml) は、乾物試料 1g あたりの値 (mg/g-DW) に換算して表した。また、全リコペン含有量に占めるシス型リコペンの割合を求め示した。

#### 8. DPPH ラジカル消去活性

DPPH ラジカル消去活性は、食品の持つ水溶性の抗酸化能を示す指標のひとつである。水溶性の抗酸化物質はリコペンと同様に生活習慣病予防に効果があると期待されており<sup>23)</sup>、食品の機能性を判断するうえで重要であるため、測定項目とした。DPPH ラジカル消去活性は、沖の方法<sup>24)</sup>を一部改変して測定した。試料 2g に 80 % エタノールを 20 ml 程度加え、ホモジナイザを用いて 5000rpm で 10 min, 均一になるまで摩砕した後、ろ過した。残った残渣に対して同様の工程を 2 回繰り返し、全工程で得られたろ液に 80 %

エタノールを加えて 100 ml に定容し、これを測定溶液とした。測定は 100  $\mu$ M Trolox と測定溶液を用いた。それぞれの溶液に 50% エタノール、200 mM MES 緩衝液および 400  $\mu$ M DPPH を加え、20 min 経過後、分光光度計を用いて 520 nm における吸光度を測定した。測定溶液の添加量を変化させて得られた吸光度の値から作製した回帰直線の傾きを Trolox の添加量を変化させて得られたそれと除し、原液 1 L あたりの DPPH ラジカル消去活性を求めた ( $\mu$ mol-Trolox 相当量/L)。ここで得られた値を乾物試料 1 g あたりの DPPH ラジカル消去活性 ( $\mu$ mol-Trolox 相当量/g-DW) に換算して表した。

### 9. L-AsA 残存率

トマトに含まれる L-AsA について、DPPH ラジカル消去活性に対する寄与率は 48% であるという報告がある<sup>23)</sup>。また、L-AsA は、食品の品質評価の指標としてよく用いられている<sup>25)~27)</sup> ため、L-AsA を評価項目とした。試料 3 g に 5% (w/w) メタリン酸水溶液を 12 g 加え、ホモジナイザ (CM-100, アズワン(株)) を用いて 5000 rpm で 10 min、均一になるまで摩砕した。その後、試料をろ過し、得られた溶液を試料溶液とした。得られた試料溶液の L-AsA 含有量 (mg/1000 ml) を反射式光度計 (RQ-flex Plus, メルク(株)) を用いて測定した。得られた値に希釈倍率を乗じて試料 100 g あたりの L-AsA 含有量 (mg/100 g-FW) に換算した。その後、各条件における試料の乾物含有率を 105  $^{\circ}$ C-24h 焔乾法により求め、乾物試料 100 g あたりの L-AsA 含有量 (mg/100 g-DW) に換算した。すなわち、未加熱試料における L-AsA 含有量は、190.0 mg/100 g-DW であった。折笠ら<sup>6)</sup> は、未加熱試料の L-AsA 残存率が 91.26% になると報告している。この残存率における L-AsA 含有量を 190.0 mg/100 g-DW と仮定して、L-AsA 残存率 100% における L-AsA 含有量を算出したところ、208.2 mg/100 g-DW となった。ここで得られた値を生鮮試料の L-AsA 含有量とみなし、各試料の L-AsA 残存率を求めた。

### 10. 統計解析

官能評価については未加熱試料を対照とした Dunnett 法を、遊離糖、グルタミン酸、アスパラギン酸、グアニル酸、DPPH ラジカル消去活性、L-AsA およびリコペンについては Tukey-kramer 法を、糖酸度については Bonferroni 法を用いた有意差検定を行った。各統計解析の有意水準は  $P < 0.05$  とした。統計解析には、エクセル統計 (ver 2.13, 株式会社社会情報サービス) を用いた。

### 実験結果および考察

#### 1. 後加熱中の温度変化

後加熱中の熱湯および試料温度変化を図 1 に示す。図より、熱湯の温度は後加熱処理の間、95  $^{\circ}$ C 以上で維持されていた。試料温度については、ばらつきが大きいものの、加熱開始から 10 min で 49  $^{\circ}$ C、20 min で 73  $^{\circ}$ C、30 min で 85

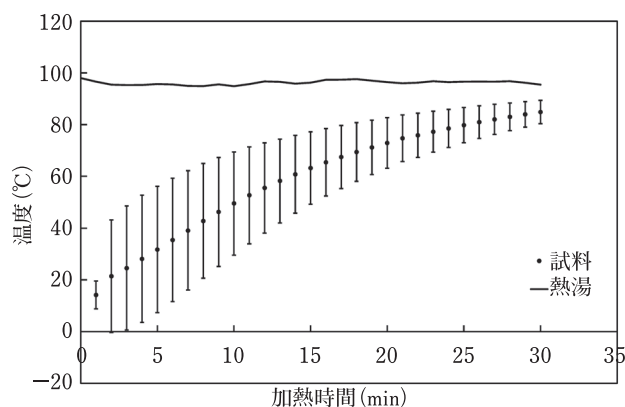


図 1 加熱中の熱湯および試料の温度変化

図中のバーは標準偏差を表す ( $n=6$ )。

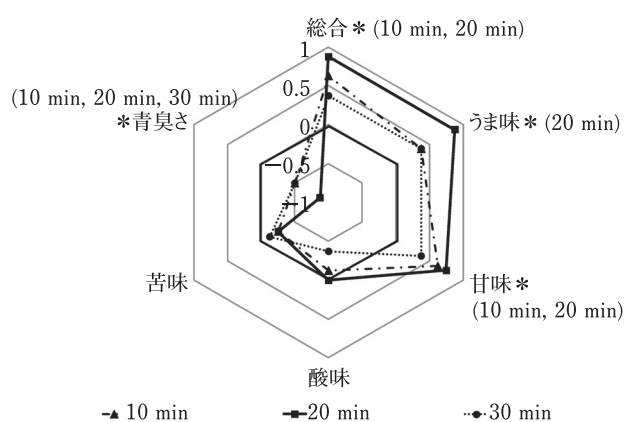


図 2 官能評価結果

\*: カッコ内の加熱条件において未加熱試料に対して Dunnett 法による有意差あり ( $P < 0.05$ )。

$^{\circ}$ C に到達した。

#### 2. 後加熱処理が食味に及ぼす影響

官能評価の結果を図 2 に示す。0 のラインは基準となる未加熱試料の食味を示し、それと比較した後加熱試料の食味が強く感じた場合はプラスの値、弱く感じた場合はマイナスの値で示している。図 2 より、総合と甘味においては 10 min 加熱試料および 20 min 加熱試料で、うま味においては 20 min 加熱試料で、それぞれ未加熱試料に対して有意にプラスの値を示した。

各加熱時間における Brix 糖度、酸度および糖酸比の結果を表 1 に示す。30 min 加熱試料の酸度は、未加熱試料と 10 min 加熱試料よりも有意に小さくなった。酸度の減少に伴い、30 min 加熱試料の糖酸比は、未加熱試料および 10 min 加熱試料と比べて有意に大きくなった。しかし、酸度の減少や糖酸比の増加と官能評価の結果の間には明確な傾向は認められなかった。したがって、本研究で認められた 30 min 加熱試料の酸度の減少は、試料の食味に影響を与えるほどではなかったと考えられる。

表 1 各加熱時間における糖度、酸度および糖酸比

	糖度 (%)	酸度 (%)	糖酸比
0 min	14.5±0.09 <sup>a</sup>	2.1±0.05 <sup>a</sup>	7.0±0.16 <sup>a</sup>
10 min	14.4±0.09 <sup>a</sup>	2.1±0.02 <sup>a</sup>	6.9±0.05 <sup>a</sup>
20 min	14.4±0.07 <sup>a</sup>	2.0±0.05 <sup>ab</sup>	7.1±0.13 <sup>ab</sup>
30 min	14.5±0.05 <sup>a</sup>	2.0±0.06 <sup>b</sup>	7.3±0.21 <sup>b</sup>

値は平均値±標準偏差 ( $n=3$ )。同一項目の異なる英小文字間に Bonferroni 法による有意差あり ( $P<0.05$ )。

表 2 各加熱処理における VMW 濃縮トマトピューレの遊離糖含有量

	グルコース (mg/g-FW)	フルクトース (mg/g-FW)	スクロース (mg/g-FW)
0 min	27.9±1.74 <sup>a</sup>	30.2±3.62 <sup>a</sup>	N.D.
10 min	54.5±2.89 <sup>b</sup>	61.6±6.34 <sup>b</sup>	N.D.
20 min	53.3±4.39 <sup>b</sup>	59.6±7.58 <sup>b</sup>	N.D.
30 min	56.1±2.74 <sup>b</sup>	63.7±5.45 <sup>b</sup>	N.D.

値は平均値±標準偏差 ( $n=3$ )。同一項目の異なる英小文字間に Tukey-Kramer 法による有意差あり ( $P<0.05$ )。

各加熱時間における Brix 糖度の値に有意差は認められなかった。一方で、官能評価の結果においては 10 min および 20 min 加熱試料において甘味が有意に高得点となった。また、有意差が認められなかったものの、30 min 加熱試料における甘味の得点についても、未加熱試料のそれと比べて大きい値となった。山口ら<sup>28)</sup>は、トマト果実を 90℃ で 15 min 加熱処理したとき、トマト果実中のグルコースとフルクトースの縮合またはデンプンやオリゴ糖の分解などの要因により糖組成が変化することを報告している。甘味を感じる強さはフルクトース>スクロース>グルコースの順であることから、含まれる糖の組成が変化すれば甘味の感じ方も異なる<sup>28)</sup>。各試料における遊離糖含有量を表 2 に示す。後加熱試料のグルコースおよびスクロース含有量が未加熱試料のそれと比べて大きい値となった。後加熱処理により糖の組成が変化し、グルコースおよびフルクトースの含有量に顕著な差が生じたため、後加熱試料については甘みが強く感じられたと推察される。

20 min 加熱試料において、うま味が有意に大きくなったことについて考察するため、各加熱時間におけるグルタミン酸およびアスパラギン酸含有量の結果を図 3 に示した。10 min および 20 min 加熱試料のグルタミン酸およびアスパラギン酸は、未加熱試料と比べてその含有量は増加した。El-Miladi et al.<sup>29)</sup>は、トマトジュースを 105℃ で 20 min 加熱処理した際、タンパク質の変性および加水分解によりグルタミン酸およびアスパラギン酸が 9-10 倍に増加したと報告している。本研究における加熱温度は、El-Miladi et al. の報告<sup>29)</sup>とほぼ同程度の加熱温度であったため、10 min および 20 min 加熱試料においては El-Miladi et al. の報告<sup>29)</sup>と

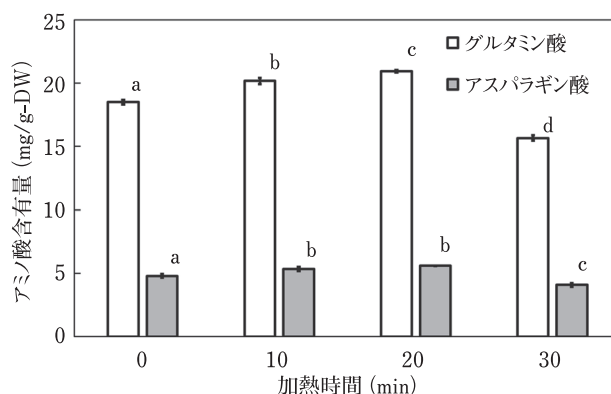


図 3 各加熱時間におけるグルタミン酸およびアスパラギン酸含有量

値は平均値±標準偏差 ( $n=3$ )。同一成分において異なる英小文字間に Tukey-Kramer 法による有意差あり ( $P<0.05$ )。

同様、グルタミン酸およびアスパラギン酸含有量が増加したと考えられる。しかし、本研究におけるグルタミン酸およびアスパラギン酸の増加量は、既報<sup>29)</sup>と比較して小さかった。El-Miladi et al. の報告<sup>29)</sup>ではレトルトで加熱処理されており、加熱時の圧力がグルタミン酸およびアスパラギン酸の増加に影響を及ぼしている可能性が考えられることから、今後、この点について調査する必要がある。一方で、30 min 加熱試料のグルタミン酸およびアスパラギン酸含有量の値が減少したのは、メイラード反応が関係している可能性が考えられる。メイラード反応は、褐変物質であるメラノイジンを生成するだけではなく、フレーバーの生成、物性の変化、栄養生理的变化、が生じる<sup>30)</sup>。また、温度が 10℃ 上昇すると 3-5 倍反応速度が大きくなる<sup>30)</sup>。本研究における後加熱中において、20 min に 70℃ 付近であった試料温度が 30 min には 85℃ 付近に到達しており、10 min 間で試料温度が 15℃ 増加した (図 1)。ゆえに、加熱時間の増加とともにメイラード反応速度が大きく上昇したため、30 min 加熱試料におけるグルタミン酸およびアスパラギン酸が減少したと推察される。しかし、30 min 加熱試料のうま味は未加熱試料と有意差がなかったことから、アミノ酸以外の要因がうま味に影響を及ぼした可能性も考えられる。例えば、図 2 において青臭さとうま味の結果を比較すると、その大小関係は互いに相関があるようにも見える。今後、青臭さに関与する成分 (ヘキサナール等のアルデヒド類<sup>31)</sup>) について分析を行い、青臭さとうま味の相互関係について定量的に評価する必要がある。

各加熱時間におけるグアニル酸含有量を図 4 に示す。グアニル酸含有量は、加熱処理による有意差はなかった。グアニル酸は、リボ核酸分解酵素がグアニル酸を生成することにより増加し、ヌクレオチド分解酵素により分解される<sup>32)</sup>。ゆえに遠藤<sup>33)</sup>は、グアニル酸含有量を多くするポイントは、リボ核酸分解酵素が働き、その後ヌクレオチド分

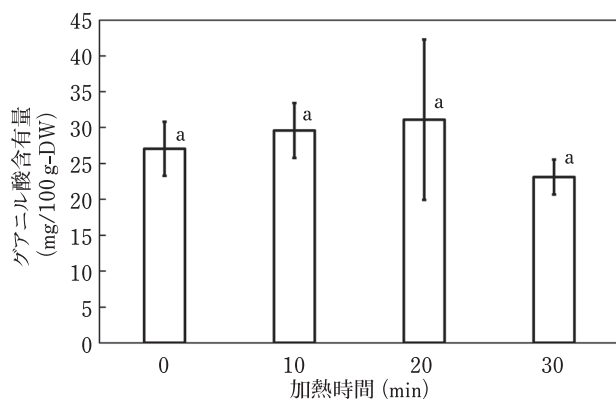


図4 各加熱時間におけるグアニル酸含有量

値は平均値±標準偏差 ( $n=3$ ). 異なる英小文字間に Tukey-Kramer 法による有意差あり ( $P<0.05$ )

解酵素が働く前に温度を上げて酵素を失活させることであり、加熱中の試料の温度上昇速度が  $4-7^{\circ}\text{C}/\text{min}$  が適切であると報告している。図1より、加熱中の試料温度上昇速度は、0-10 min, 10-20 min, 20-30 min において、それぞれ  $3.53\pm 1.50^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $1.59\pm 0.69^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $1.20\pm 0.53^{\circ}\text{C}/\text{min}$  であったことから、リボ核酸分解酵素とともにスクレオチド分解酵素も作用し、グアニル酸が増加する条件に合致しなかったと考えられる。

グルタミン酸は、トマトに含まれるグアニル酸との相乗効果によりうま味が増すとされる<sup>10</sup>。本研究では、10 min および 20 min の後加熱処理において、グアニル酸を十分含む状態でグルタミン酸が増加したことにより、グルタミン酸とグアニル酸の相乗効果が起こり、うま味が強く感じられたと考えられる。以上より、後加熱処理の導入により、既存の研究<sup>6</sup>で課題とされていた VMW 濃縮トマトピューレの食味の改善が可能であると考えられた。

### 3. リコペン含有量

Shi et al.<sup>34</sup> は、トマト果実をピューレ状に潰したものを加熱処理するとリコペンの異性化と酸化反応が起こるが、 $90^{\circ}\text{C}$  から  $110^{\circ}\text{C}$  で加熱すると、加熱処理開始から 120 min 以内ではリコペンのトランス型からシス型への異性化の割合が大きくなると報告している。また同時に、リコペンの酸化反応は  $100^{\circ}\text{C}$  以上で 120 min 以上の加熱処理が行われたときに大きくなると報告している。後加熱中の試料温度は、20 min 経過後では  $60-80^{\circ}\text{C}$  近くまで、30 min 経過後では約  $80-90^{\circ}\text{C}$  近くまで上昇しており (図1)、Shi et al. の報告<sup>34</sup> に示されている酸化反応が大きくなる加熱時間 (120 min) には到達していないことから、後加熱によってシス型リコペンが増加した可能性が考えられる。これを確かめるため、シス型リコペンとトランス型リコペンの増減について評価した。後加熱処理による VMW 濃縮試料のトランス型リコペン、全リコペンおよびシス型リコペンの割合を表3に示す。トランス型リコペンは 30 min 加熱試料に

表3 各加熱処理における VMW 濃縮トマトピューレのトランス型リコペン、全リコペンおよびシス型リコペンの割合

	トランス型リコペン ( $\mu\text{g}/\text{g-DW}$ )	全リコペン ( $\mu\text{g}/\text{g-DW}$ )	シス型リコペンの割合 (%)
0 min	$760.08\pm 22.80^{\text{a}}$	$859.58\pm 25.55^{\text{a}}$	$11.60\pm 0.03^{\text{a}}$
10 min	$723.80\pm 9.43^{\text{a}}$	$821.51\pm 10.09^{\text{a}}$	$11.95\pm 0.08^{\text{b}}$
20 min	$726.00\pm 48.39^{\text{a}}$	$825.89\pm 53.53^{\text{a}}$	$12.25\pm 0.24^{\text{b}}$
30 min	$714.48\pm 38.27^{\text{a}}$	$814.49\pm 44.48^{\text{a}}$	$12.20\pm 0.23^{\text{b}}$

値は平均値±標準偏差 ( $n=5$ ). 同一項目の異なる英小文字間に Tukey-Kramer 法による有意差あり ( $P<0.05$ ).

おいて減少傾向にあった。一方、全リコペン含有量の合計値に有意差は認められないものの、全リコペン含有量に対するシス型リコペンの割合はいずれの後加熱試料においても未加熱試料より有意に大きくなった。以上の結果から、後加熱処理によりリコペンのトランス型からシス型への異性化が起こったと考えられる。Böhm et al.<sup>35</sup> は、シス型リコペンの抗酸化能は、トランス型リコペンと比べて最大で 24% 大きいことを報告している。また、Unlu et al.<sup>36</sup> は、シス型リコペンの割合が 45% のトマトソースは、その割合が 5% のトマトソースと比べ、体内へのリコペン吸収率が 1.55 倍大きく、リコペンの体内への吸収率はトランス型よりもシス型の方が高いと報告している。すなわち、30 min 加熱処理によりリコペンの異性化が進み、シス型リコペンが増加したことから、VMW 濃縮と後加熱処理を組み合わせることにより、抗酸化能が高く、かつ体内への吸収率の高いシス型リコペンを多く含むトマトピューレの製造が期待できる。加熱温度  $90^{\circ}\text{C}-110^{\circ}\text{C}$ 、加熱時間 120 min 未満における加熱処理は、リコペンのシス型への異性化を進行させる<sup>34</sup> ことから、今後、シス型リコペンを最大化させる後加熱時間について詳細に検討する必要がある。

### 4. L-AsA と DPPH ラジカル消去活性

各試料の L-AsA 残存率を図5に示す。折笠ら<sup>6</sup> は、VMW 濃縮トマトピューレは通常濃縮のそれと比べ、酸化反応の低下に伴い L-AsA の減少が抑制されると報告している。後加熱処理した VMW 濃縮試料においても L-AsA 残存率に有意な変化は認められず、後加熱処理の有無に関わらず L-AsA は保持されていた。L-AsA は、酸素存在下において容易に酸化されやすく<sup>37</sup>、熱により L-AsA の酸化反応は促進されやすい<sup>38</sup> が、後加熱処理中は、試料が濃縮されたことにより粘度が増加し、流動性が減少したことで酸化反応が抑制された可能性が考えられる。そのため、30 min 加熱処理試料においても、L-AsA をほぼそのまま維持できたと推察される。

各加熱時間における DPPH ラジカル消去活性の結果を図6に示す。加熱処理の有無による DPPH ラジカル消去活性の値に有意な差は認められなかった。DPPH ラジカル消去活性の値の大小に関与する抗酸化物質は主にポリ

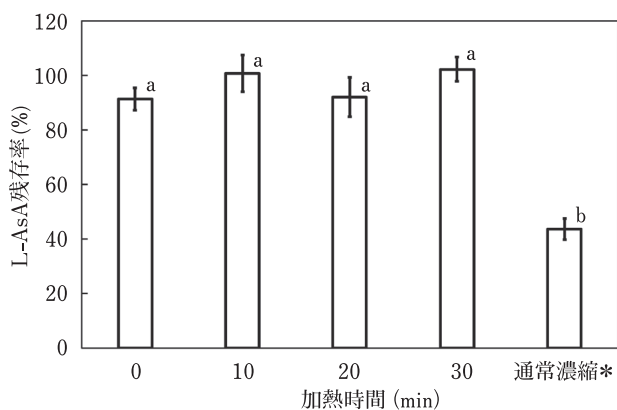


図5 各加熱時間および通常濃縮におけるL-AsA残存率

値は平均値±標準偏差 (0 min:  $n=3$ , その他:  $n=5$ ). 異なる英小文字間に Tukey-Kramer 法による有意差あり ( $P<0.05$ ). \*は折笠ら (2017)<sup>6)</sup> より換算.

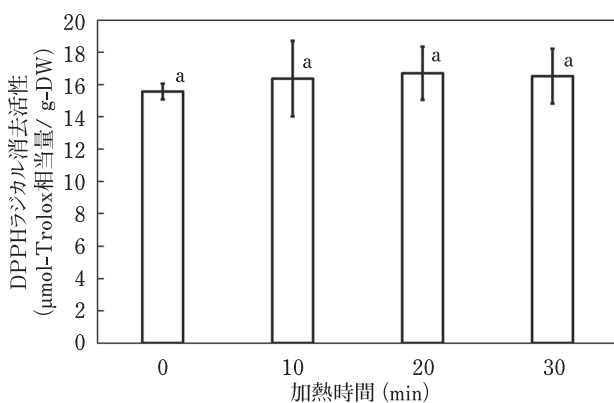


図6 各加熱時間におけるDPPHラジカル消去活性

値は平均値±標準偏差 ( $n=3$ ). 異なる英小文字間に Tukey-Kramer 法による有意差あり ( $P<0.05$ ).

フェノール類である<sup>39)</sup>。ポリフェノールは熱に安定であり、Murakami et al.<sup>40)</sup> はポリフェノールの一つであるケラチンやカテキンを 100℃で 8h 加熱処理してもその抗酸化能は 80% 以上保持されたと報告している。一方、トマトにおいて、DPPH ラジカル消去活性に対する L-AsA の寄与率が 48% という報告<sup>23)</sup> もあることから、ポリフェノールと L-AsA 両者がトマトの DPPH ラジカル消去活性に寄与していると推察される。前述の通り、L-AsA 残存率はいずれの加熱時間においても、未加熱試料と比べて有意な差は認められなかった。したがって、ポリフェノールおよび L-AsA とともに加熱処理によってほとんど変化しなかったことで、DPPH ラジカル消去活性の値もほとんど差が生じなかったと考えられる。

## 要 約

後加熱処理により、VMW 濃縮トマトピューレのグルタミン酸およびアスパラギン酸は増加した。これに伴い、官

能評価においてうま味の評価が高くなり、美味しさを示す総合も高評価となったと考えられる。また、後加熱処理により、トマトピューレに含まれるリコペンのトランス型からシス型への異性化が起こったと考えられる。シス型リコペンは、トランス型リコペンよりも体内への吸収率が高いことから、後加熱処理の導入による VMW 濃縮トマトピューレの高品質化が期待される。一方、L-AsA 残存率や DPPH ラジカル消去活性においては、その値に有意差はなく、これらの項目について、後加熱処理に伴う負の影響は認められなかった。

以上より、VMW 濃縮トマトピューレに後加熱処理を適用することにより、食味の改善、抗酸化能が高く、かつ体内に吸収しやすいシス型リコペンの増加、L-AsA や抗酸化能の保持、が確認された。これより、後加熱処理の導入により高品質な VMW トマトピューレの製造が期待される。今後、実用レベルにおける VMW によるトマトピューレの製造技術の確立に向けて、スケールアップによる実証研究や製造コストの解析が必要となる。

本研究の一部は、JSPS 科研費 JP17K08015 (基盤研究 C) および旗影会研究助成により実施した。岩手大学農学部長澤孝志教授には、アミノ酸分析法について貴重なアドバイスをいただいた。岩手大学農学部寒冷フィールドサイエンス教育研究センター由比進教授には、実験試料を提供していただいた。ここに記して、謝辞を示す。

## 文 献

- 1) Sato, Y. (2010). Challenge to create a need for new types of vegetables with the focus on cooking behavior-The case of processing tomatoes. *Journal of Food System Research*, **16**, 14-24 (佐藤百合香. 調理行動に着目した新タイプ野菜のニーズ創出における課題-加熱調理用トマトを事例として-, フードシステム研究).
- 2) 小沢 聖, 佐藤百合香編著 (2000). 「クッキングトマトの栽培と利用」, 社団法人農山漁村文化協会, 東京.
- 3) Nakamura, T., Tagawa, A., Orikasa, T., and Iimoto, M. (2005). Vacuum drying of cooking tomato. *Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery*, **67** (6), 105-112 (中村俊輝, 田川彰男, 折笠貴寛, 飯本光雄. 調理用トマトの真空乾燥, 農業機械学会誌).
- 4) Orikasa, T., Koide, S., Sugawara, H., Yoshida, M., Kato, K., Matsushima, U., Okada, M., Watanabe, T., Ando, Y., Shiina, T., and Tagawa, A. (2018). Applicability of vacuum-microwave drying for tomato fruit based on evaluations of energy cost, color, functional components and sensory qualities. *Journal of Food Processing and Preservation*, **42**, e13625.
- 5) Suzuki, T. (1980). From receiving to processing of tomato distribution. *Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery*, **41**, 671-678 (鈴木寔男. トマトの荷受けから加工まで, 農業機械学会誌).
- 6) Orikasa, T., Endo, R., Kato, K., Fujio, T., Yoshida, H., Kawamura, H., and Koide, S. (2017). Evaluation of a novel concentration method for tomato puree by microwave.

- Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **64**, 471-475 (折笠貴寛, 遠藤隆平, 加藤一幾, 藤尾拓也, 吉田泰, 川村浩美, 小出章二. マイクロ波を用いた新しいトマトピューレ濃縮法の検討, 日本食品科学工学会誌).
- 7) 柴田長吉郎 (1994). 第1章マイクロ波加熱の特性・原理・特徴, 「普及版マイクロ波加熱技術集成」初版, 越島哲夫編, (株)エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 4-14.
  - 8) Nakano, K., Kawano, T., Kida, T., Murata, S., Uchino, T., and Inoue, S. (1996). Basic study on microwave drying of rough rice. *Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery*, **58** (6), 13-19 (中野浩平, 河野俊夫, 喜田環樹, 村田 敏, 内野敏剛, 井上眞一. 粗のマイクロ波乾燥に関する基礎的研究, 農業機械学会誌).
  - 9) Matsumoto, K. (2008). Development of evaluation methods for quality, functionality and safety of foods. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **55**, 438-443 (松本 清. 食品の品質・機能性・安全性評価法の開発に関する研究, 日本食品科学工学会誌).
  - 10) Horie, H. (2012). Production of guanylic acid by heating vegetables. *Journal of Cookery Science of Japan*, **45**, 346-351 (堀江秀樹. 野菜の加熱にともなうグアニル酸の生成, 日本調理科学会誌).
  - 11) Shibasaki, K., Takahashi, N., Shitomi, H., Kosodo, K., and Kazumi, H. (1963). Selection of tomato for juice and puree. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi)*, **10**, 39-43 (柴崎一雄, 高橋伸子, 蔀 花雄, 小曾戸和夫, 数見秀次郎. トマトジュースおよびトマトピューレー製造試験, 日本食品工業学会誌).
  - 12) 古川秀子 (1994). 「おいしさを測る—食品官能検査の実際—」, 幸書房, 東京.
  - 13) Yamada, K. (1959). Chemistry of tomato for processing. *Journal for the Utilization of Agricultural Products*, **6**, 190-206 (山田耕二. 加工原料用トマトの化学, 農産加工技術研究会誌).
  - 14) Tamaki, Y., Akuzawa, S., Sawayama, S., Iida, F., and Yamaguchi, S. (2004). Structure of liking of tomatoes related to desirable sensory characteristics in university students. *Japanese Journal of Sensory Evaluation*, **8**, 117-125 (玉木有子, 阿久澤さゆり, 澤山 茂, 飯田文子, 山口静子. トマトに期待される官能特性に関する大学生の嗜好構造, 日本官能評価学会誌).
  - 15) Zhan, Y., Pan, Z., Venkitasamy, C., Ma, H., and Li, Y. (2015). Umami taste amino acids produced by hydrolyzing extracted protein from tomato seed meal. *LWT*, **62**, 1154-1161.
  - 16) Oruna-Concha, M.-J., Methven, L., Blumenthal, H., Young, C., and Mottram, D.S. (2007). Differences in glutamic acid and 5'-ribonucleotide contents between flesh and pulp of tomatoes and the relationship with umami taste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 5776-5780.
  - 17) Furudate, A. and Meguro, T. (2001). Free amino acids in potato tubers and their extraction by boiling water. *Journal of Home Economics of Japan*, **52**, 71-74 (古館明洋, 目黒孝司. ジャガイモの遊離アミノ酸と煮汁への溶出について, 日本家政学会誌).
  - 18) Satoh, Y., Ozawa, K., Ishii, T., and Yui, S. (2004). Evaluation of cooking suitability of processing tomato cultivars for 'cooking tomato'. *Horticultural Research (Japan)*, **3**, 307-312 (佐藤百合香, 小沢 聖, 石井孝典, 由比 進. 「クッキングトマト」としての利用に向けた加工用品種の加熱調理適性の評価, 園芸学研究).
  - 19) Inakuma, T. (2003). Meanings of vegetable intake—focus on utility of carotenoid—. *Vitamin*, **77**, 583-585 (稲熊隆博. 野菜摂取の意味—カロテノイドの効用を中心に—, ビタミン).
  - 20) Gupta, P., Sreelakshmi, Y., and Sharma, R. (2015). A rapid and sensitive method for determination of carotenoids in plant tissues by high performance liquid chromatography. *Plant Methods*, **11**, Article number 5.
  - 21) Ishida, B.K., Ma, J., and Chan, B. (2001). A simple, rapid method for HPLC analysis of lycopene isomers. *Phytochemical Analysis*, **12**, 194-198.
  - 22) Longo, C., Leo, L., and Leone, A. (2012). Carotenoids, fatty acid composition and heat stability of supercritical carbon dioxide-extracted-oleoresins. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 4233-4254.
  - 23) Yamaguchi, T. (2012). Research of evaluation of antioxidative property of vegetables in cooking. *Journal of Cookery Science of Japan*, **45**, 88-95 (山口智子. 調理過程における野菜類の抗酸化性の評価に関する研究, 日本調理科学会誌).
  - 24) 沖 智之 (2008). DPPH ラジカル消去活性評価法, 「食品機能性評価マニュアル集第II集: 農林水産省補助事業: 食料産業クラスター展開事業」, 食品機能性評価支援センター技術普及資料等検討委員会編, 日本食品科学工学会, 茨城, pp. 71-78.
  - 25) Lin, T.M., Durance, T.D., and Scaman, C.H. (1998). Characterization of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices. *Food Research International*, **31**, 111-117.
  - 26) Agüero, M.V., Ansorena, M.R., Roura, S.I., and del Valle, C.E. (2008). Thermal inactivation of peroxidase during blanching of butternut squash. *LWT*, **41**, 401-407.
  - 27) Zheng, H. and Lu, H. (2011). Effect of microwave pretreatment on the kinetics of ascorbic acid degradation and peroxidase inactivation in different parts of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) during water blanching. *Food Chemistry*, **128**, 1087-1093.
  - 28) Yamaguchi, K., Kuriya, N., Nakashima, N., Kitano, N., and Matsuzoe, N. (2017). Influence of heating temperature on tomato sugars, organic acids, and amino acids. *Journal of the Japanese Society of Taste Technology*, **15**, 21-28 (山口心美, 栗谷直子, 中嶋名菜, 北野直子, 松添直隆. トマトの糖, 有機酸, アミノ酸に与える加熱温度の影響, 美味技術学会誌).
  - 29) El-Miladi, S.S., Gould, W.A., and Clements, R.L. (1969). Heat processing effect on starch, sugars, proteins, amino acids, and organic acids of tomato juice. *Food Technology*, **23**, 691-693.
  - 30) 西堀すき江, 加藤保子 (2000). 加工処理による食品成分の変化, 「新しい食品化学」, 川岸舜朗, 中村良編, 三共出版, 東京, pp. 73-87.
  - 31) Xu, Y. and Barringer, S. (2010). Comparison of volatile release in tomatillo and different varieties of tomato during chewing. *Journal of Food Science*, **75** (4), C352-C358.
  - 32) 黒須泰行, 岩黒大志 (2008). シイタケ中のグアニル酸に関する研究. 国際学院埼玉短期大学研究紀要, **29**, 87-91.
  - 33) Endo, K. (1989). Boiling shiitake mushrooms. *Science of Cookery*, **22**, 58-62 (遠藤金次. シイタケを煮る, 調理科学).
  - 34) Shi, J., Maguer, M.L., Bryan, M., and Kakuda, Y. (2003). Kinetics of lycopene degradation in tomato puree by heat and light irradiation. *Journal of Food Process Engineering*, **25**, 485-498.
  - 35) Böhm, V., Puspitasari-Nienaber, N.L., Ferruzzi, M.G., and Schwartz, S.J. (2002). Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene,



- lycopene, and zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50** (1), 221–226.
- 36) Unlu, N.Z., Bohn, T., Francis, D.M., Nagaraja, H.N., Clinton, S. K., and Schwartz, S.J. (2007). Lycopene from heat-induced *cis*-isomer-rich tomato sauce is more bioavailable than from all-*trans*-rich tomato sauce in human subjects. *British Journal of Nutrition*, **98**, 140–146.
- 37) 早瀬文孝, 佐藤隆一郎, 臼井照幸, 金子成延, 竹中麻子, 長澤孝志, 渡辺寛人, 渡邊浩幸 (2019). 3 食品成分の化学, 「わかりやすい食品化学」第2版, 吉田 勉監修, 早瀬文孝, 佐藤隆一郎編, 三共出版, 東京, pp. 68–95.
- 38) 島田和子 (2011). 第8章ビタミン, 「食品学-食品成分と機能性」第2版補訂, 久保田紀久枝, 森光康次郎編, 東京化学同人, 東京, pp. 61–69.
- 39) Fujie, A., Kubota, M., Umemura, Y., and Oba, K. (2001). Vitamin C content, DPPH radical-scavenging activity and polyphenol content in fresh herbs. *Journal of Cookery Science of Japan*, **34**, 380–389 (藤江歩巳, 久保田真紀, 梅村芳樹, 大羽和子. 新鮮ハーブのビタミンC量, DPPH ラジカル捕捉活性およびポリフェノール量, 日本調理科学会誌).
- 40) Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H., and Matoba, T. (2004). Change in the radical-scavenging activity of quercetin and epigallocatechin gallate during heat treatment. *Journal of Home Economics of Japan*, **55**, 213–217.

#### 引用 URL

- i) [https://www.affrc.maff.go.jp/docs/sentan\\_gijyutu/attach/pdf/sentan\\_gijyutu-11.pdf](https://www.affrc.maff.go.jp/docs/sentan_gijyutu/attach/pdf/sentan_gijyutu-11.pdf) (2020. 6. 3)
- ii) <https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/index.html> (2020. 6. 3)
- iii) [https://www.maff.go.jp/j/kokuji\\_tuti/kokuji/pdf/k0000993.pdf](https://www.maff.go.jp/j/kokuji_tuti/kokuji/pdf/k0000993.pdf) (2020. 6. 3)

(令和2年6月10日受付, 令和2年10月15日受理)