

共役リノール酸強化クッキーの開発： ココアパウダーによる品質改善効果

山本久美¹⁾ 矢羽田 歩²⁾ 山本健太²⁾
船越淳子¹⁾ 古賀民穂¹⁾ 太田英明²⁾

Development of Cookies Fortified with Conjugated Linoleic Acid : Effect of Improving Quality with Cocoa Powder

Kumi Yamamoto¹⁾ Ayumi Yahada²⁾ Kenta Yamamoto²⁾
Atsuko Funakoshi¹⁾ Tamiho Koga¹⁾ Hideaki Ohta²⁾

(2014年11月28日受理)

緒 言

国民健康・栄養調査の栄養素等摂取状況調査結果において、エネルギー摂取量は年々減少しているものの、エネルギー摂取量に占める脂質摂取量の割合は徐々に増加している。脂肪エネルギー比率の増加は、肥満やメタボリックシンドローム、動脈硬化性心疾患等の生活習慣病のリスクを高めることが指摘されている。これらを鑑み、脂質の摂取は量ばかりでなく、その質的内容を考慮した摂取が重要とされ、脂質の量や質を考慮した加工食品や機能性食品も多く開発されるようになってきた。リノール酸の幾何および位置異性体である共役リノール酸 (Conjugated linoleic acid: CLA) は、反芻動物の肉や乳製品の脂肪中に微量に存在する共役二重結合を持つ化合物の総称である¹⁾。近年、CLA は体脂肪量減少^{2,3)}、発がん抑制⁴⁾、抗アレルギー⁵⁾等、多くの生理作用が報告されている。CLA の安全性についても研究が進み、トリグリセリド型 CLA を3ヵ月間摂取させたヒト試験において、健康な日本人男性における安全性レベルは3.4g/日であると報告されており⁶⁾、安全な脂肪酸であることが示唆されている。実際のCLA 摂取量は、アメリカでは151~212mg/日⁷⁾、ドイツにおいては350~430mg/日⁸⁾と報告されている。我が国のCLA 摂取量は、筆者らが予備的に行った調査において、平成11年国民栄養調査結果を基礎に作成したモデル献立から約130mg/日、大学女子寮および学生食堂の食事から分析した値では約180mg/日と推定された⁹⁾。しかしながら、CLA の生理効果は2~3g/日を摂取することで発現することが報告されており¹⁰⁾、食事の内容から見ると

欧米人よりも肉や乳製品の摂取が比較的少ない日本人においてはCLA 摂取量が少ないと考えられ、通常の食事からでは有効量を摂取できていないと推測される。

著者らは、これまでに日常食からのCLA 摂取量向上を目的として、トリグリセリド型CLA を用いたCLA 強化パンおよびクッキーの開発を行っている。製品の総脂肪量を一定にし、材料中のバターの一部をCLA に置き換える方法でCLA 強化食品の製造を試み、食パン1枚(約90g)当たりCLA1.0g¹¹⁾、丸いパン1個(約40g)当たりCLA2.0gを強化したCLA 強化パンの製造が可能であることを報告している¹²⁾。CLA 強化パンの開発において、有意な差は認められないもののCLA 強化量が増すほど香りや味などの嗜好性が低下する傾向がみられた。その要因として、使用したトリグリセリド型CLA そのものの油臭が影響したこと、CLA 強化量の多い製品では材料のバターを多くCLA に置き換えたため、バターの風味が薄れたことが推察された。食品素材本来に好ましくないにおいがある場合や、加工工程で発生する加熱香や発酵臭などにより食品として適さないにおいが生じる場合に、香料を使用してマスキングすることがある¹³⁾。そこで本研究では、トリグリセリド型CLA 強化製品の開発・品質向上を目的に、CLA が持つ独特の油臭の影響を低減させるため、香料として製菓用ココアパウダーを加えたココアクッキーの開発を試みた。官能評価および物性測定によりCLA がクッキーの品質に及ぼす影響を評価するとともに、ココアパウダー添加によるクッキーの品質向上を検討した。さらに、製造過程および貯蔵中におけるCLA 含量、脂肪酸組成の変化を調査したのでその結果を報告する。

実験方法

1. CLA 強化クッキーの調製

対照となるクッキー（対照区）は、小麦粉（日清製粉株式会社製フラワー薄力小麦粉）90g、バター（雪印乳業株式会社製雪印無塩バター）60g、製菓用ココアパウダー（共立食品株式会社製クックハウス製菓用ブラックココアパウダー）10g（薄力粉の10%）、卵黄（市販新鮮卵）17g、砂糖（大日本明治製糖株式会社製上白糖）50gをそれぞれ用いた。CLAは日清オイリオグループ株式会社製のトリグリセリド型（9c, 11t: 37.0%, 10t, 12c: 38.4%）の液状油を使用した。試料は対照区がバターのみ（CLA置換率: 0%）、CLA強化区は、CLAの生理効果の有効性等を考え、クッキー1枚（約7.5g）当たりCLA 0.3g（CLA置換率: 16%）、0.6g（同置換率: 32%）の2種類を製造した。なお、CLA置換率はバターの重量から換算し、油脂含量は小麦粉重量の約49.8%に合わせた。また、官能評価の比較対照としてココアパウダー無添加かつCLA無添加のクッキー（ココア無添加対照区）を製造した。ココア無添加対照区は小麦粉100g、バター60gとした。すべての材料を混合して生地を作り、4℃で30分間保存した。その後、生地を厚さ0.8cmに伸ばし、直径3.3cmの円形に型抜きした。180℃に予熱したオーブン（株式会社日立製作所製水蒸気オーブンレンジMOR-FV200）で18分間焙焼した。

2. 色調測定

測色式差計（日本電色工業株式会社製ZE6000）を用い、反射式によるL*値（明度）、a*値（+赤色度、-緑色度）、およびb*値（+黄色度、-青色度）を求めた。クッキーの上面の色を各試料15枚ずつ測定し、その平均値で表した。

3. 官能評価

対照区とココア無添加対照区とCLA強化区のクッキーについて、平均年齢22.9歳の本学教職員および学生（いずれも女性）40名を対象に、7段階評点法を用いた官能評価を実施した。評価項目は色、香り、味、硬さ、もろさ、総合評価の6項目とした。

4. 物性測定

卓上型物性測定器（株式会社山電製、TPU-2C）を使用して、硬さ応力および硬さエネルギーの測定を行った。測定は、プランジャー：くさび型（W13×30°先端1mm幅平面くさび）、測定速度：1mm/sec、歪率：90%、温度：25±2℃の条件で行った。各試料を15枚ずつ測定してその平均値を算出した。

5. 製造過程におけるCLA含量および脂肪酸組成の変化

製造過程におけるCLA含量および脂肪酸組成の変化を調査するため、CLA 0.3g強化クッキーの焙焼前と焙焼後の2工程のクッキーを試料に用い、ガスクロマトグラフィー（以下GC）によりCLA含量および脂肪酸組成を測定した。脂質の抽出はFolchら¹⁴⁾の方法を用い、試料1gをクロロホルム/メタノール（2:1, v/v）混液でホモジナイズし、ろ過したろ液の全体容量の20%の精製水を加え一晩放置した後、下層のクロロホルム層を減圧・濃縮・乾固したものをヘキサンで25mlに定容し試料溶液とした。試料溶液1mlをけん化後、内部標準物質（ヘキサン1mlに溶解したヘプタデカン酸1mg）を加え、窒素気流下で乾固後、三フッ化ホウ素メタノール溶液2mlを用いてメチル化したものをGC分析に供した¹⁵⁾。脂肪酸組成は、CP-Sil 88 for FAME（100m×0.25mm i.d., 0.2μm膜厚）を装着したガスクロマトグラフ（島津製作所製GC-14B）を用いて測定した。GC分析は、カラム温度：100℃で4分間保持し、3℃/分で240℃まで昇温後、20分間保持、注入口温度：250℃、検出器温度：250℃、キャリアガス：ヘリウムの条件で実施した。CLAは、SupelcowaxTM-10キャピラリーカラム（60m×0.32mm i.d., 0.25μm膜厚）を装着したガスクロマトグラフ（島津製作所製GC-14A）を用いて分析を行った。GC分析は、カラム温度：200℃、注入口温度：250℃、検出器温度：250℃、キャリアガス：ヘリウムの条件で実施した。CLA含量の算出には、内部標準物質のピーク面積比を用い、生理作用が報告されている9c, 11t-CLAと10t, 12c-CLA含量について求め、その合計値を総CLAとして表した。GCより求めた総CLA量（mg）をクッキー重量（g）で除してCLA含量（mg/g）を算出した。重量法により、総脂肪量の測定を行った。

6. 貯蔵中におけるCLA含量の変化

CLA 0.3g強化クッキーを低密度ポリエチレン袋（厚さ0.08mm）に密封し、室温（25±2℃）暗所のデシケーター内で40日間貯蔵したものを分析に供した。前述と同様の方法でGC分析を行い、GCより求めたCLA量（mg）をクッキー重量（g）で除してCLA含量（mg/g）を算出した。

7. 統計解析

官能評価の結果は二元配置の分散分析法で解析した¹⁶⁾。その他の結果については、平均値±標準偏差で表した。破断応力および破断エネルギーの結果はSPSS Ver.19.0を用い、CLA強化量を要因として一元配値の分散分析にて統計解析を行った。

実験結果および考察

1. CLA 強化クッキーの品質評価

(1) クッキーの色調

試作したクッキーの写真を図1に、クッキーの測色値を表1に示した。対照区とCLA強化区の L^* 、 a^* および b^* 値はそれぞれ、27.6~28.6、12.9~13.2および11.2~11.9となり、全ての試料において色調に有意な差はみられなかった。

(2) 官能評価

官能評価の結果を図2に示した。前報の結果において¹²⁾、丸いパン1個(約40g)当たりCLA0.5g、1.0g、2.0gを強化したCLA強化パンの結果では、有意な差は認められないが、CLA強化区は対照区と比べて香りや味等の嗜好性が低下する傾向がみられた。一方、本研究で製造したCLA0.3gおよび0.6g強化クッキーは、対照区と比較して香りと風味の項目において有意差が認められず、その他の項目においても同様の高い評価が得られた。ココア無添加対照区と比較したところ、CLA0.3gおよび0.6g強化クッキーは色の項目のみやや良い評価が得られたが、その他の項目においては同様の結果となった。以上のことから、クッキーの品質を劣化させるCLA独特の油臭や、バターをCLAに置き換えたことによるバターの風味減少等の影響は、添加したココアによりCLAの油臭がマスキングされて減少し、香りと味が改善されて品質向上に寄与したと考えられた。



図1 試作したクッキーの写真

表1 色調測定の結果

CLA量/枚	対照区	CLA 0.3g	CLA 0.6g
L^* 値	27.6±0.85	27.98±1.43	28.55±2.06
a^* 値	13.22±0.71	13.14±0.80	12.90±1.15
b^* 値	11.92±1.13	11.51±1.00	11.18±1.36

測色色差計(日本電色工業株式会社製ZE6000)反射光による L^* 、 a^* 、 b^* 値

L^* 値(明度)、 a^* 値(+赤色度、-緑色度)、 b^* 値(+黄色度、-青色度)

平均値±標準偏差(n=15)

(3) 物性測定

焙焼後のクッキーの破断応力の結果は図3、破断エネルギーの結果を図4に示した。破断応力は硬さの指標、破断エネルギーはもろさの指標となると報告されている¹⁷⁾。破断応力の結果より、CLAを0.6g/枚強化しても対照区のクッキーと比べて有意な差はみられなかった。破断エネルギーも同様に、CLAを0.6g/枚強化しても対照区のクッキーと比べて有意差は認められなかったが、CLA強化量が増すほど破断応力および破断エネルギーの値は低くなる傾向が示された。和田らは、液状油で製

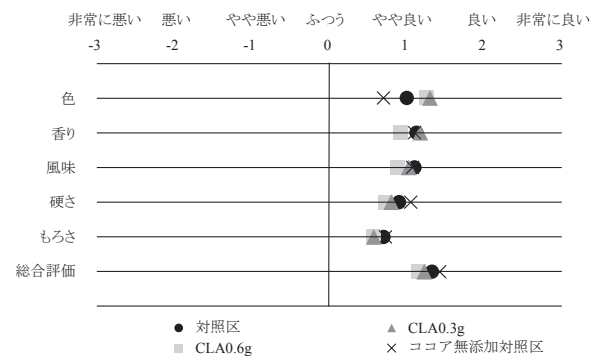


図2 官能評価結果

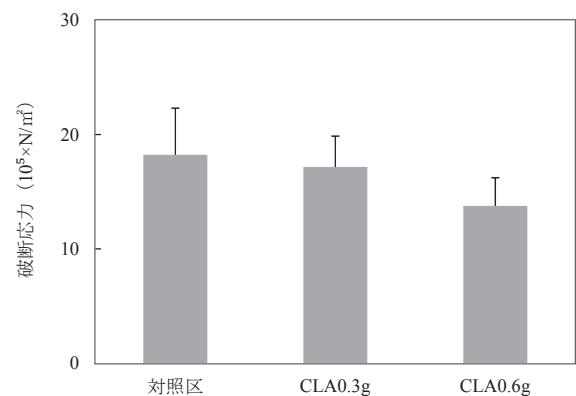


図3 破断応力の結果

平均値±標準偏差(n=15)

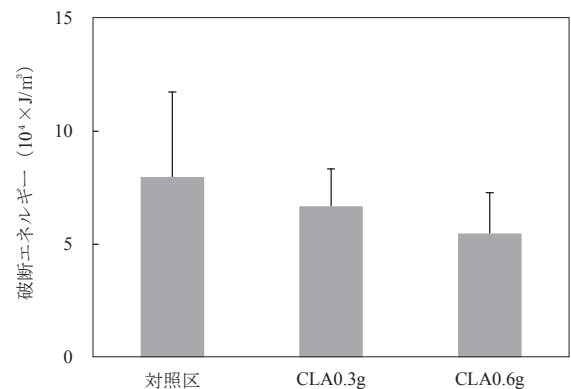


図4 破断エネルギーの結果

平均値±標準偏差(n=15)

造したクッキーのドウ中では、油脂が薄膜ではなく油滴として分散することにより、焙焼時にクッキーの組織が多孔質となり脆化しやすいクッキーとなると報告している¹⁸⁾。本試験で使用したトリグリセリド型 CLA は液状油であることから、クッキーの性状を柔らかくもろくする影響を及ぼしたことが示唆された。

2. 製造過程における CLA 含量および脂肪酸組成の変化

CLA 0.3g 強化クッキーの製造過程における CLA 含量の変化を図 5 に示した。焙焼前と焙焼後のクッキー中の CLA 含量を比較したところ、焙焼によりわずかな増加傾向がみられたが有意な差は認められなかった。脂肪酸組成比の変化を図 6 に表した。製造したクッキー中に含まれる主な脂肪酸は、主にミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸であった。焙焼による脂肪酸組成比に大きな変化はみられなかった。

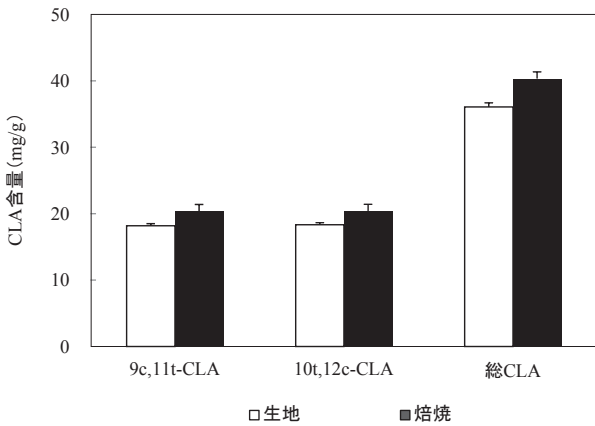


図 5 製造過程における CLA 含量の変化
 平均値±標準偏差 (n=3)

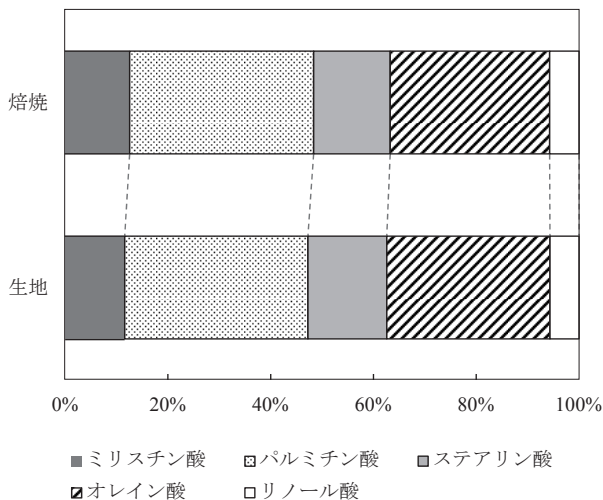


図 6 製造過程における脂肪酸組成の変化

3. 貯蔵中における CLA 含量および脂肪酸組成の変化

室温暗所のデシケーター内で40日間貯蔵した CLA 0.3g 強化クッキー中の CLA 含量を分析し、貯蔵中における CLA 含量の変化を調査した結果を図 7 に示した。CLA 含量は貯蔵10日目まで変化はみられず、貯蔵15日目ですでに減少し、さらに40日目にもわずかな減少を示したが、貯蔵40日間をとおして顕著な変化はみられなかった。室温貯蔵における CLA 0.3g 強化クッキー中の脂肪酸組成の変化を図 8 に示す。脂肪酸組成についても40日間の室温貯蔵中には大きな変化は認められなかった。前述した製造過程においても40日間の室温貯蔵においても、CLA 0.3g 強化クッキー中の CLA 含量および脂肪酸組成に顕著な増減はみられなかった。山内らは、様々な加熱処理を行っても牛肉中の CLA は比較的脂質過酸化に安定であると報告している¹⁹⁾。同様に今回の結果からも、摂食時までクッキー中の CLA 含量は

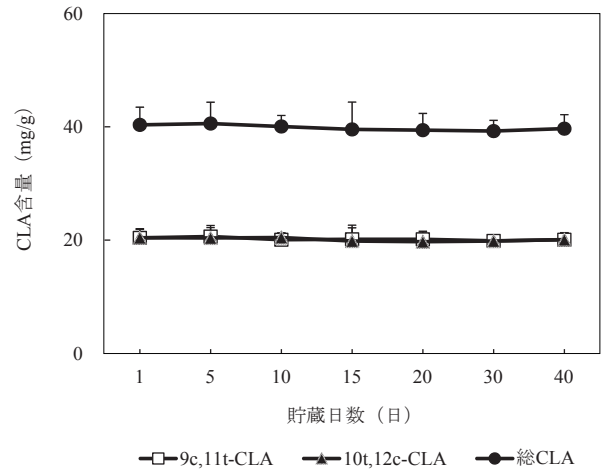


図 7 貯蔵中における CLA 含量の変化
 平均値±標準偏差 (n=3)

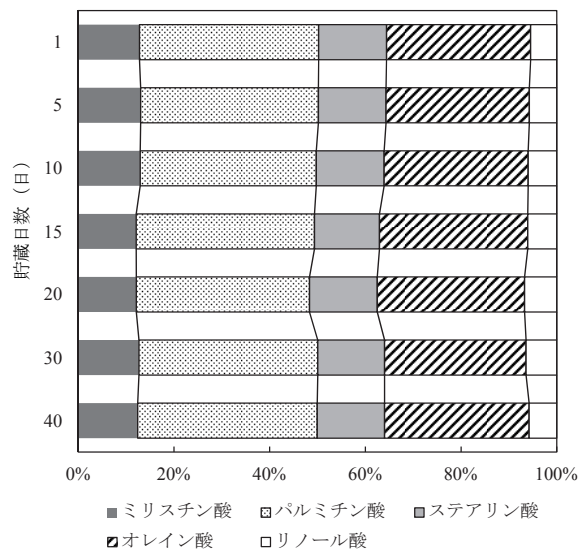


図 8 貯蔵中における脂肪酸組成の変化

製造時と同程度存在するものと示唆され、CLAは熱や貯蔵に比較的安定な脂肪酸であることが推察された。

以上のことから、クッキーの品質向上を目的として加えたココアパウダーにより、CLA独特の油臭がマスキングされ、香りと味が改善されて品質が向上したことが示唆された。また、製造過程および40日間の室温貯蔵においても、CLA 0.3g強化クッキー中のCLA含量および脂肪酸組成は顕著な増減がみられず、CLAは熱や貯蔵に比較的安定な脂肪酸であると示唆されたことから、CLAの有効量を十分に摂取できる機能的食品としての活用が期待できると思われた。

要 約

リノール酸の幾何および位置異性体であるCLAは、体脂肪減少等多くの生理作用をもつ脂肪酸である。食事からのCLA摂取量向上を目的として製造したCLA強化クッキーの品質改善を目的として、CLA強化ココアクッキーの製造を試みた。官能評価の結果において、CLA独特の油臭による影響は、ココアパウダーを加えることで油臭がマスキングされ、香りと風味等の品質が向上し、対照区のクッキーと同様の評価が得られた。また、色調や物性測定の結果より、CLAはクッキーの品質に大きな影響を及ぼさないことが示された。製造過程においても40日間の室温貯蔵においても、CLA 0.3g強化クッキー中のCLA含量および脂肪酸組成に顕著な増減はみられず、CLAは熱や貯蔵に比較的安定な脂肪酸であることが示唆された。これらのことから、嗜好性の高いCLA強化クッキーの製造は可能であり、CLAの有効量を十分に摂取できる機能的食品として活用が期待できる。

文 献

- Chin, S. F., Liu, W., Storkson, J. M., Ha, Y. L. and Pariza, M. W., Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens, *Journal of Food Composition and Analysis*, **5**, 185-197 (1992).
- Park, Y., Albright, K. J., Liu, W., Storkson, J. M., Cook, M. E. and Pariza, M. W., Effect of Conjugated Linoleic Acid on Body Composition in Mice, *Lipids*, **32**, 853-858 (1997).
- Rahman, S. M., Wang, Y. M., Yotsumoto, H., Cha, J. Y., Han, S. Y., Inoue, S. and Yanagita, T., Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, and β -oxidation of fatty acid in OLETF rats, *Nutrition*, **17**, 385-390 (2001).
- Ha, Y. L., Grimm, N. K., Pariza, M. W., Anticarcinogens from fried ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid, *Carcinogenesis*, **8**, 1881-1887 (1987).
- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Noguchi, M. and Yamada, K., Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats, *Lipids*, **33**, 521-527 (1998).
- Iwata, T., Kamegai, T., Yamauchi-Sato, Y., Ogawa, A., Kasai, M., Aoyama, T. and Kondo, K., Safety of Dietary Conjugated Linoleic Acid (CLA) in a 12-weeks Trial in Healthy Overweight Japanese Male Volunteers, *J. Oleo Sci.*, **56**, 517-525 (2007).
- Ritzenthaler, K. L., McGuire, M. K., Falen, R., Shultz, T. D., Dasgupta, N. and McGuire, M. A., Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology, *J. Ntri.*, **131**, 1548-1554, (2001).
- Fritsche, J., Steinhart, H., Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in german foods and evaluation of daily intake., *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A*, **206**, 77-82, (1998).
- 古賀民穂, 石井利直, 吉田弘子, 堤賢太郎, 高橋由紀子, 堀真生子, 太田英明, 食事中的CLA含量, 日本栄養・食糧学会西日本支部大会講演要旨集, p.27 (2002).
- Whigham, L. D., Watras, A. C. and Schoeller, D. A., Efficacy of conjugated Linoleic acid for reducing fat mass : A meta-analysis in humans, *Am. J. Clin. Nutr.*, **85**, 1203-1221 (2007).
- 佐々木久美, 古賀民穂, 山本健太, 矢羽田歩, 太田英明, 共役リノール酸 (CLA) 強化小麦粉製品の開発, 中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要, **43**, 259-264 (2011).
- 佐々木久美, 古賀民穂, 山本健太, 矢羽田歩, 岩田敏夫, 太田英明, 共役リノール酸強化パンの開発, 日本食品科学工学会誌, **58**, 335-338 (2011).
- <http://www.jffma-jp.org/flavor/> (2014.7.16). フレーバーの役割, 日本香料工業会.
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. H., A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957).
- Hirose, T., Yamauchi-Sato, Y., Arai, Y., and Negishi, S., Synthesis of triacylglycerol containing conjugated linoleic acid by esterification using two blended lipases, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **83**, 35-38 (2006).
- 佐藤信, 分散分析 (二元配置法), 「統計的官能検査法」, 日科技連出版社, 東京, pp.198-202 (1985).
- 和田淑子, 倉賀野妙子, 滝本美幸, クッキーのショートネスについて - 正弦波運動圧縮による破断特性値と官能評価との関係 -, 日本家政学会誌, **36**, 87-92 (1985).

- 18) 倉賀野妙子, 和田淑子, 木原浩, 固体脂指数, 脂肪酸組成の異なる油脂を用いたクッキーの物性 (第2報), 日本家政学会誌, **42**, 611-620 (1991).
- 19) 河原聡, 竹之山慎一, 山内清, 共役リノール酸の生理機能とその生成要因, バイオサイエンスとインダストリー, **60**, 11-16 (2002).