

重回帰分析を用いた緩衝能成分の定量について

Quantification of Buffer Components Using Multiple Regression Analysis

星 祐二*
Yuji HOSHI

Richness and *umami* of food are affected by buffer capacity. From the viewpoint of cookery science, buffer capacity measurement of food is a means to provide useful information. The buffer capacity is defined as the molar concentration of base necessary for unit pH change and can be obtained analytically, but in actual foods, the buffer capacity is obtained from the reciprocal of the slope of the tangential line subtracted to the titration curve. However, the experimentally obtained buffer capacity curve often does not coincide with the theoretical one. This is because the acid dissociation constant varies depending on ionic strength of the system. Therefore, the buffer capacities of predicted buffer components in a food were measured separately, followed by performing multiple regression analysis with the buffer capacity values of the food as the objective variable. As a result, it was possible to significantly determine the concentrations of the buffer components contained in the model system consisting of tris (hydroxymethyl) aminomethane and phosphoric acid or peach liquor.

Keywords: buffer capacity, buffer component, multiple regression analysis
緩衝能, 緩衝成分, 重回帰分析

I. 緒言

緩衝能は、液状食品のコクやうま味に関係し¹⁾、緑茶、清酒などの品質評価や伝統的調味料の熟成程度の評価指標にもなっている^{2,3)}。また、各種だしやスープストックの味質と最適抽出時間との関係など⁴⁾、調理科学的な側面からも食品の緩衝能測定は有用な情報を提供する手段である⁵⁾。

緩衝能は「緩衝価 (β)」などとも呼ばれ、Van Slyke によって最初に提唱された概念で⁶⁾、単位 pH 変化に必要な塩基のモル濃度と定義されている。緩衝能は、解離 (緩衝) 成分の濃度、酸解離定数、水素イオン濃度から解析的に求められるが、食品の場合は、一定の pH 変化に必要な塩基量から実験的に緩衝能曲線を求めることが多く^{1,6-8)}、著者も、通常の実験室に常備されている pH メーターとビュレットを用いた簡便な緩衝能測定法について報告した^{9,10)}。一方、実験的に求めた緩衝能曲線が理論緩衝能曲線と一致しないことも多く、特に二塩基酸や三塩基酸においてその傾向が著しく、その原因として、著者は緩衝成分の酸解離定数におよぼすイオン環境変化の影響を挙げ、緩衝能曲線による食品中の緩衝成分の同定・定量は、緩衝成分の実測曲線に基づいて行われることが望ましいとした¹⁰⁾。

そこで今回、種々の標準物質の緩衝能曲線を測定し、そ

れらを 1.0 M 濃度あたりに規格化した「標準化緩衝能」をもとに、重回帰分析による食品中の緩衝成分の定量法について検討したので報告する。

II. 理論

緩衝能の理論の詳細については、文献¹⁰⁾を参照されたいが、例えば、酢酸の緩衝能は次式で求められる。

$$\beta = \frac{dC_{\text{base}}}{dpH} = 2.303 \left\{ \frac{C_a K'_a [H^+]}{(K'_a + [H^+])^2} + [H^+] + \frac{K'_w}{[H^+]} \right\} \dots\dots\dots (1)$$

ここで、 C_{base} は塩基濃度、 C_a は酸濃度、 $[H^+]$ は水素イオン濃度、 K'_a は濃度酸解離定数、 K'_w は水のイオン積である。なお、 $2.303 ([H^+] + K'_w/[H^+])$ の項は、「水の緩衝能」と呼ばれるもので、緩衝成分の種類に関わらず、強酸性領域や強塩基性領域において水溶液の緩衝能が増加する原因となっている。

実際の (液状) 食品では、緩衝成分の種類や濃度が既知であることは稀で、そのため滴定曲線に引いた接線の傾きの逆数から緩衝能を求めることになるが、その際には、滴定にともなう希釈の影響を考慮する必要がある^{9,10)}。滴定にともなう液量増加の影響を考慮した一塩基酸の緩衝能は、塩基として水酸化ナトリウム水溶液を滴下する場合、

*宮城学院女子大学食品栄養学科

以下のように求められる。

$$[\text{HA}] + [\text{H}^+] = C_{\text{ai}} \frac{V_i}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \dots\dots\dots (2)$$

$$[\text{Na}^+] = C_{\text{NaOH}} \frac{V_{\text{NaOH}}}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \dots\dots\dots (3)$$

$$\frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = K'_a \dots\dots\dots (4)$$

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = K'_w \dots\dots\dots (5)$$

$$[\text{H}^+] + [\text{Na}^+] = [\text{OH}^-] + [\text{A}^-] \dots\dots\dots (6)$$

ここで、 C_{ai} は酸の初濃度、 V_i は被滴定液の開始液量、 V_{NaOH} は滴定量、 $[\text{Na}^+]$ は被滴定溶液中のナトリウムイオン濃度（水酸化ナトリウムは完全に解離するとした）、 C_{NaOH} は滴定に用いた水酸化ナトリウム水溶液の濃度である。(2)、(4)式から次式が得られ、

$$[\text{A}^-] = \frac{K'_a}{K'_a + [\text{H}^+]} C_{\text{ai}} \frac{V_i}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \dots\dots\dots (7)$$

(3)、(5)、(7)式を(6)式に代入して整理すると、(8)式となる。

$$\frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} V_{\text{NaOH}} = \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) + \frac{C_{\text{ai}} K'_a}{K'_a + [\text{H}^+]} \dots\dots\dots (8)$$

滴定にともない変化する V_{NaOH} を $[\text{H}^+]$ で微分すると、次式が得られ、

$$\begin{aligned} \frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d[\text{H}^+]} &= \frac{-C_{\text{ai}} K'_a}{(K'_a + [\text{H}^+])^2} \\ &+ \frac{1}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d[\text{H}^+]} \\ &- \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]^2} + 1 \right) \dots\dots\dots (9) \end{aligned}$$

また、 $d[\text{H}^+]/\text{dpH} = -2.303[\text{H}^+]$ であるから、

$$\begin{aligned} \frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} \frac{dV_{\text{NaOH}}}{\text{dpH}} &= \frac{2.303 C_{\text{ai}} K'_a [\text{H}^+]}{(K'_a + [\text{H}^+])^2} \\ &+ \frac{1}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{\text{dpH}} \\ &+ 2.303 \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]} + [\text{H}^+] \right) \dots\dots\dots (10) \end{aligned}$$

となり、上式を変形すると次式が得られる。

$$\begin{aligned} 2.303 \left\{ \frac{C_{\text{ai}} K'_a [\text{H}^+]}{(K'_a + [\text{H}^+])^2} + [\text{H}^+] + \frac{K'_w}{[\text{H}^+]} \right\} \\ = \frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} \frac{dV_{\text{NaOH}}}{\text{dpH}} - \frac{1}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{\text{dpH}} \\ - 2.303 \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K'_w}{[\text{H}^+]} + [\text{H}^+] \right) \dots\dots\dots (11) \end{aligned}$$

(11)式の左辺は緩衝能を求める理論式であり、pH測定から求められる水素イオン濃度、滴定に用いた水酸化ナト

リウム濃度、被滴定液の開始液量、および滴定間隔 (dV_{NaOH}) ごとの pH 変化量 (dpH) を右辺に代入することにより、特定の pH における緩衝能値を求めることができる。

III. 方法

1. 試薬類

試薬類は、すべて和光純薬製の特級を用いた。

2. 滴定による緩衝能曲線の測定

実測緩衝能曲線を求めるための滴定は、0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液を入れた 50 mL 容量のビュレットの先端にシリコンチューブ（外径 3 mm、内径 1 mm）を接続し、ローラーポンプ（GILSON Minipuls2）を用いて 0.2 mL/min の流速で行った。シリコンチューブの他端には外径 1.5 mm、内径 0.8 mm、長さ 220 mm のステンレスチューブを挿入し、ステンレスチューブの先端は被滴定溶液中に浸るようにして滴定液を注入した。25°C の外部恒温槽（ADVANTEC IMMERSION CIRCULATOR LP-3110）から水を循環させた 100 mL 容量の二重ビーカーに、所定の濃度に調整した被滴定溶液 20 mL を入れ、攪拌しながら、0.5 mL 滴定間隔で被滴定液の pH を 0.001 pH 単位まで読み取った（METTLER TOLEDO MP230）。被滴定液の pH が 2 よりも高い場合には、塩酸を用いて pH を 2 程度に調整後、所定の濃度に希釈してから滴定を開始した。滴定曲線の数値微分と平滑化は、前報に従って中心差分法および 7 点法で行った⁹⁾。なお、(11)式の右辺の計算を行って実測の緩衝能を求めるには、水素イオンのモル濃度が必要であるが、pH メーターの示度値は水素イオン活量の逆数の対数値であり、活量係数を用いて水素イオン濃度に変換する必要がある。しかしながら、実際の食品では、先述のように系のイオン環境が不明であることが多く、pH 示度値から $10^{-\text{pH}}$ で求められる値をそのまま水素イオン濃度として扱うこととした。

3. 重回帰分析による緩衝成分の解析

重回帰分析は、結果となる被説明変数（目的変数）に対し、原因となる複数の説明変数がどのような影響を与えるかを明らかにする手法¹¹⁾で、実測値と予測値とが最も近くなるような一次多項式の係数（偏回帰係数）を統計学的に見積もることができる。

今回は、0.05 M リン酸-0.05 M トリスヒドロキシメチルアミノメタン（以下 Tris）水溶液をモデル系とし、混合溶液中のリン酸および Tris 濃度が不明であるとの仮定のもとで滴定を行い、所定の pH 間隔で、(11)式からリン酸-Tris 水溶液の緩衝能を求めた。また、上記モデル系混合水溶液とは別に、0.1 M リン酸水溶液、0.1 M Tris 水溶液の緩衝能を別個に測定し、得られた緩衝能の実測値を 10 倍したものを「基準化緩衝能」とした。具体的には、各測定溶液の初期 pH を、塩酸を用いて 2 に調整後、所定の濃度に希釈し、pH を 0.4 変化させるのに必要な滴定量が

ら、水の緩衝能を差し引いた緩衝能値を得た。pH 2~12 における0.05 M リン酸-Tris 水溶液の実測緩衝能値に対して、重回帰分析を適用してリン酸-Tris 水溶液中のリン酸と Tris の偏回帰係数と定数項を求めた (得られた偏回帰係数が濃度となる)。重回帰分析は、Microsoft Excel 2010の「分析ツール」を用いて行った。

4. モモ酒の熟成過程と緩衝能について

1) モモ酒の仕込み

モモ (皮なし種つき) 1 kg, 氷砂糖400 g, (35度) ホワイトリカー1.8 L, レモン3個を使用してモモ酒を仕込んだ。

2) モモ酒の緩衝能曲線の測定

熟成過程のモモ酒の緩衝能曲線の測定は以下のように行った。すなわち、仕込み後1週間ごとにモモ酒25 mL の pH を塩酸で2に調整後 (pH 調整に要した塩酸量を記録し、開始液量を補正した)、「2. 滴定による緩衝能曲線の測定」に従って、モモ酒の緩衝能曲線を作成した。

3) 官能評価

本学4年生3名による試行的な官能評価を行った。試行的な官能評価のため、統計解析等は行わなかった。

IV. 結果と考察

1. 重回帰分析を用いた緩衝成分の解析

滴定曲線から緩衝能曲線を求める場合、滴定にともなうイオン強度の変化により緩衝成分の酸解離定数も変化する。したがって、実測緩衝能曲線と食品に含まれる緩衝成分の理論緩衝能曲線との比較から解離成分の同定・定量を行うことは、実際上困難である¹⁰⁾。そこで、食品に含まれる緩衝成分を予め推定し、重回帰分析を適用することで緩衝成分の定量が可能か検討することとした。今回は、リン酸と Tris をモデル系とし、0.05 M リン酸-0.05 M Tris 水溶液 (以下0.05 M リン酸-Tris 水溶液) の緩衝能曲線を測定した。また、0.1 M リン酸水溶液および0.1 M Tris 水溶液の緩衝能も別個に測定し、実測値を10倍したものを「基準化緩衝能」とした。

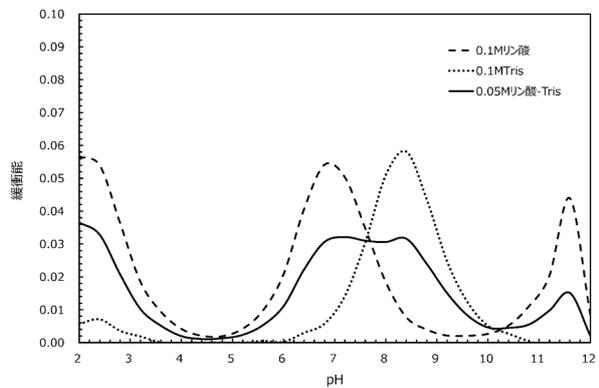


図1 0.1 M リン酸, 0.1M Tris, 0.05 M リン酸-Tris 水溶液の実測緩衝能曲線

図1に、「水の緩衝能」を除いた0.1 M リン酸水溶液, 0.1 M Tris 水溶液, および0.05 M リン酸-Tris 水溶液の緩衝能曲線を示した。0.1 M リン酸水溶液には pH 2, 6.8および11.6付近に、リン酸の3つの解離基に基づくピークが観察された。また、0.1 M Tris 水溶液も、pH 8.4に、アミノ基に基づくピークが存在した。さらに、0.05 M リン酸-Tris 水溶液の緩衝能曲線には、上記の各 pH 値にピークが認められ、緩衝能の加成性が確認できた。

0.1 M リン酸水溶液と0.1 M Tris 水溶液の各 pH における緩衝能値を10倍して求めた「基準化緩衝能」値と0.05 M リン酸-Tris 水溶液の緩衝能値を表1に示した。pH 2~12の範囲で、0.05 M リン酸-Tris 水溶液の緩衝能値を目的変数、1 M リン酸と1 M Tris の緩衝能 (基準化緩衝能) 値を説明変数として重回帰分析を行い、それぞれの偏回帰係数 (0.05 M リン酸-Tris 水溶液中のリン酸および Tris 濃度に相当) を求めたところ、リン酸0.0504, Tris 0.0455, 定数項0.0007が得られ、重回帰式は、

$$0.05 \text{ M リン酸-Tris 水溶液の緩衝能} = 0.0504 \times X_1 + 0.0455 \times X_2 + 0.0007 \dots\dots (12)$$

となった。ここで X_1 と X_2 は、各 pH 値における「基準化リン酸緩衝能」値と「基準化 Tris 緩衝能」値である。また、当てはまりのよさの指標となる決定係数は0.9746 (有意確率 $p=2.18 \times 10^{-19}$) となった。また、リン酸および Tris の理論濃度0.05 M に対する誤差率は、それぞれ-0.8%と-9.0%であった。

リン酸濃度0.0504 M, Tris 濃度0.0455 M, 定数項0.0007として、各 pH 値における緩衝能値を求めてグラフ化した。図2に示したように、pH 2.4から11.2にかけて実測曲線と予測曲線がよく一致していたが、pH 2.4以下の酸性域や pH 11.4以上の塩基性域で予測値と実測値に乖離が生じた。その原因として、基準化緩衝能曲線を求める際の滴定は、単一の緩衝成分を含む水溶液に対して行ったものであり、リン酸-Tris 混合系とのイオン環境 (イオン強度) の相違によって酸解離定数が変化したためと考えられた。

以上のように、緩衝成分の定量に重回帰分析を適用する

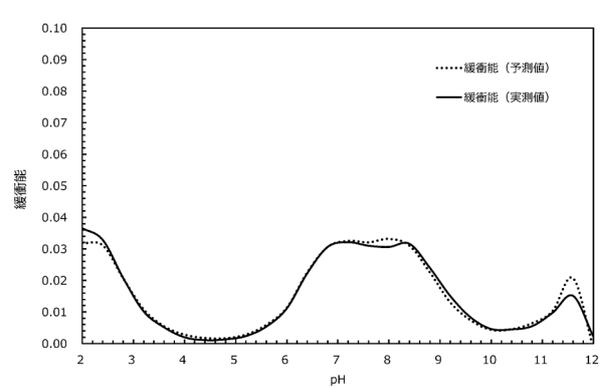


図2 重回帰分析による0.05 M リン酸-Tris 水溶液の予測緩衝能曲線

表1 リン酸および Tris の基準化緩衝能

pH	基準化緩衝能 (1.0M)		0.05Mリン酸-Tris (実測緩衝能値)
	リン酸	Tris	
2.0	0.56648	0.05684	0.03657
2.4	0.53946	0.07088	0.03283
2.8	0.36346	0.03579	0.02077
3.2	0.18417	0.01840	0.01018
3.6	0.09371	0.00105	0.00512
4.0	0.04165	0.00000	0.00197
4.4	0.02065	0.00000	0.00109
4.8	0.01926	0.00000	0.00131
5.2	0.04220	0.00000	0.00235
5.6	0.09863	0.00517	0.00536
6.0	0.20870	0.00247	0.01112
6.4	0.40623	0.02999	0.02225
6.8	0.54124	0.05749	0.03062
7.2	0.50249	0.14249	0.03212
7.6	0.34622	0.30623	0.03100
8.0	0.18368	0.50995	0.03062
8.4	0.07732	0.58112	0.03161
8.8	0.03956	0.43590	0.02396
9.2	0.02138	0.24662	0.01502
9.6	0.02093	0.12280	0.00824
10.0	0.02664	0.05074	0.00460
10.4	0.05188	0.02736	0.00447
10.8	0.11049	0.00365	0.00551
11.2	0.20309	-0.01363	0.00975
11.6	0.43923	-0.04623	0.01511
12.0	0.08534	-0.14501	0.00210

ことは有効であり、特に pH 3 から 11 の範囲で効果的であると考えられた。

2. モモ酒の熟成過程における緩衝能の変化と緩衝成分の定量

1) 熟成過程の緩衝能の変化

モモ酒を作成し、熟成過程における緩衝能の変化を検討するとともに、熟成後のモモ酒に含まれる緩衝成分の定量を試みることにした。モモ酒を仕込み、仕込み後、1週間おきに緩衝能の測定を行い、その結果を図3に示した。ここでは、結果を見やすくするために仕込み後1週目と6週目の緩衝能曲線のデータを示したが、熟成1週目で pH 2.5~6、および9にピークが認められ、6週目には pH 2.2から7の領域における緩衝能が全般的に高まった。味の変化について官能的に評価したところ、熟成1週目では、甘味はあるもののアルコールの味が際立ち、モモの風

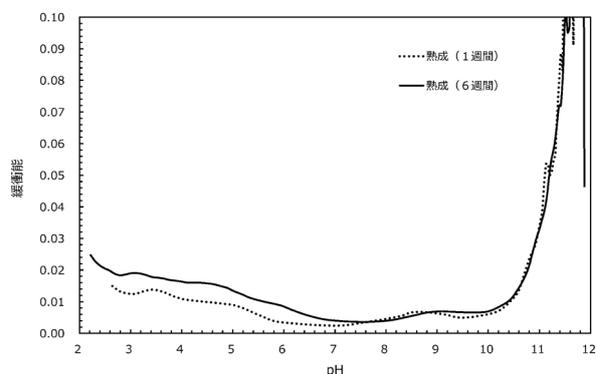


図3 モモ酒の緩衝能曲線におよぼす熟成期間の影響

味はなく、飲用に適さなかった。一方、熟成6週目では、モモの香りが深まり、アルコールのきつさが減って飲みやすさが増し、緩衝能測定がモモ酒の熟成過程判断の目

表2 リン酸, クエン酸, リンゴ酸, アスパラギン酸およびアスパラギンの基準化緩衝能

pH	基準化緩衝能 (1.0M)					モモ酒 (実測緩衝能値)
	リン酸	クエン酸	リンゴ酸	アスパラギン酸	アスパラギン	
2.0	0.58214	0.26048	0.18036	0.66007	0.55904	0.01393
2.4	0.63591	0.40286	0.28498	0.74917	0.67496	0.01539
2.8	0.39364	0.55040	0.37750	0.56765	0.47230	0.01726
3.2	0.21463	0.68161	0.56700	0.52275	0.15958	0.01768
3.6	0.09381	0.67604	0.66248	0.60138	0.26396	0.01776
4.0	0.01745	0.66181	0.65490	0.60102	0.03984	0.01739
4.4	0.04449	0.72900	0.62923	0.43870	0.02193	0.01585
4.8	0.01879	0.78350	0.67111	0.24592	0.00377	0.01644
5.2	0.03952	0.71436	0.53691	0.14436	0.00451	0.01410
5.6	0.09481	0.70223	0.35725	0.03474	0.00231	0.01149
6.0	0.19492	0.64738	0.12990	0.02240	0.00242	0.01012
6.4	0.38497	0.47245	0.07746	0.01496	0.01747	0.00750
6.8	0.57748	0.25497	0.01998	0.00748	0.01248	0.00575
7.2	0.51248	0.12247	0.00498	0.00248	0.03998	0.00387
7.6	0.34746	0.05244	0.00996	0.01746	0.09497	0.00250
8.0	0.18240	0.01737	0.00239	0.02739	0.15492	0.00312
8.4	0.07725	0.00467	0.00473	0.04473	0.37978	0.00436
8.8	0.04437	0.01167	0.00183	0.09932	0.54440	0.00559
9.2	0.02091	0.00541	0.00081	0.23323	0.54091	0.00680
9.6	0.04347	-0.00024	0.00076	0.45029	0.36344	0.00693
10.0	0.00490	0.00929	0.01182	0.55005	0.21474	0.00662
10.4	0.06673	-0.00078	-0.00189	0.49757	0.11659	0.00609
10.8	0.13587	-0.01178	-0.01058	0.30219	0.00745	0.01126
11.2	0.28900	-0.04576	-0.02713	0.10348	-0.01686	0.02231
11.6	0.45165	-0.13836	-0.07977	-0.10111	-0.08090	0.05385
12.0	0.39163	-0.39088	-0.28636	-0.48656	-0.30548	0.08738

安となること確認できた。

2) モモ酒中の緩衝成分の定量

モモの主要な酸は、リン酸、クエン酸、リンゴ酸などであり、またアミノ酸としては、アスパラギン酸やアスパラギンが含まれている¹²⁾。そこで、リン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスパラギン酸、アスパラギンの基準化緩衝能を求め、重回帰分析を適用して各緩衝成分の定量を行った。表2に各pHにおけるリンゴ酸、クエン酸、リン酸、アスパラギン酸、アスパラギンの基準化緩衝能値と実測のモモ酒の緩衝能値を示した。モモ酒の緩衝能値を目的変数にとり、リン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスパラギン酸、アスパラギンの基準化緩衝能を説明変数として、pH 2~10.4の範囲について重回帰分析を行ったところ、リン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスパラギン酸およびアスパラギンの偏回帰係数(濃度)は、それぞれ0.000237, 0.01110, 0.00560, 0.00660, 0.00516, 定数項は0.00200となり、決定係数は0.990 ($p=1.86 \times 10^{-15}$)となった。また、偏回帰係数の有効性を示す統計量 T の実現値 t は、リン酸を除き有意に高かったが(いずれも $p < 0.01$)、リン酸については $p = 0.76$ となり、説明変数としての有効性は低かった¹³⁾。

図4に、0.05 Mのリン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスパラギン酸、アスパラギン、および熟成6週のモモ酒、および重回帰分析に基づいた緩衝能曲線を示した。pH 2~10.4にかけて、モモ酒の実測曲線と予測曲線はよく一致していたが、pH 10.8以降で実測値が増加し始め、予測値との乖離が著しくなった。図5に、市販のモモとリンゴジュースの(水の緩衝能を除去していない)緩衝能曲線

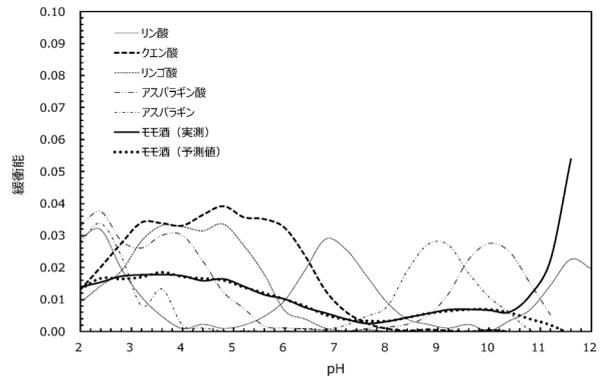


図4 モモ酒およびモモ酒に含まれる緩衝成分の緩衝能曲線

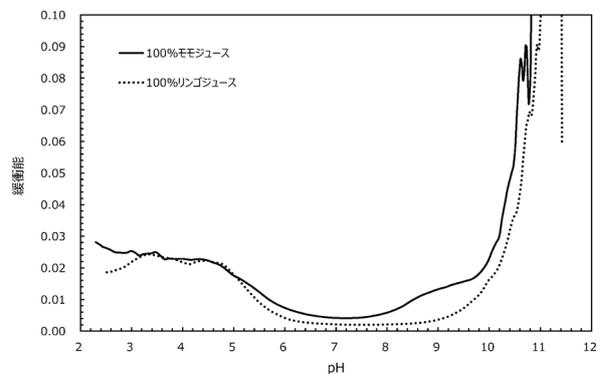


図5 モモおよびリンゴ果汁の緩衝能曲線

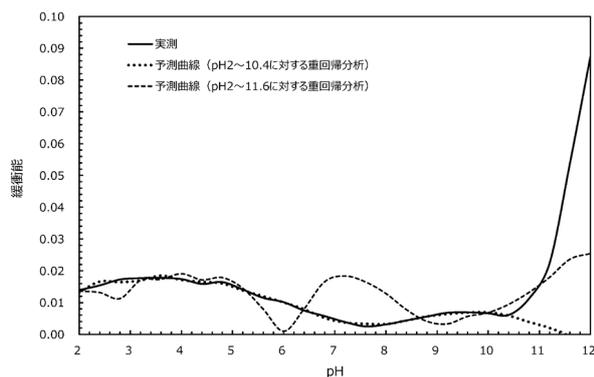


図6 重回帰分析における適用 pH 範囲がモモ酒予測緩衝能曲線におよぼす影響

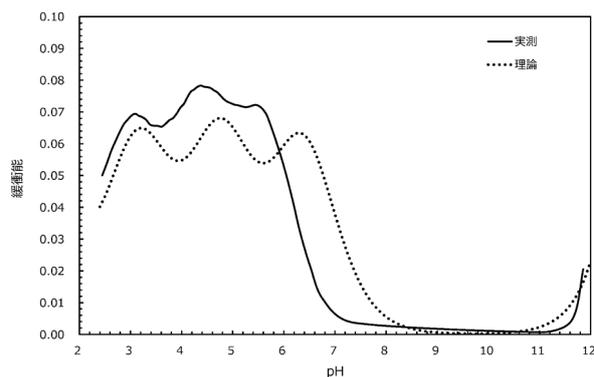


図7 0.1 M クエン酸水溶液の理論および実測緩衝能曲線

を示したが、pH 10以上でモモ酒と同様、緩衝能が急激に上昇しており、図4の強塩基性領域における緩衝能の増加は、果汁一般に認められる現象と考えられた。

重回帰分析を適用する pH 範囲を2から11.6にすると、決定係数は0.317となり、リン酸の偏回帰係数の p 値が0.055と向上したものの、偏回帰係数がマイナスとなる緩衝成分もあり、非現実的な回帰となった。pH 2~11.6の範囲に対して重回帰分析を行った結果、図6に示したように、pH 10.8以上の塩基性領域での予測緩衝能は高まるものの、それでも実測曲線には及ばず、また実測緩衝能曲線に存在していない、リン酸の pK_{a2} 由来のピーク (pH 7から8) が生じるようになったので、重回帰分析は pH 2~10.4の pH 範囲で実施することが有効と考えられた。

モモ酒を含む果汁一般に認められる、塩基性領域における緩衝能の増加に関わる緩衝成分については、まだ同定はできておらず、今後検討する必要がある。一方、各緩衝成分の基準化緩衝能は水溶液系で測定していたにもかかわらず、pH 10以下において、実測緩衝能曲線と予測曲線はよく一致していたことから、共存するアルコールの影響は低いものと考えられた¹⁴⁾。

食品成分の正確な同定・定量は、高速液体クロマトグラフを使えば容易に行え、そのデータに基づいて理論緩衝能曲線を作成することは可能である。しかしながら、コハク酸やクエン酸のような二塩基酸や三塩基酸の場合、理論緩衝能曲線と実測曲線の乖離が顕著になる¹⁰⁾。例えば、クエン酸は $pK_{a1}=3.1$, $pK_{a2}=4.8$, $pK_{a3}=6.4$ に3つの酸解離定数を有する三塩基酸であり、理論的にはそれらの pH 位置に、強度の等しいピークを有する緩衝能曲線を示すはずであるが、図7のように、実測緩衝能曲線では pK_{a3} の位置が5.5付近に、 pK_{a2} も4.3に移動するとともに、この pK_{a2} に相当するピークの強度が最も強くなるなど、理論緩衝能曲線との一致性が悪化する。したがって、高速液体クロマトグラフィーの分析結果をもとに緩衝成分を予測し、実測緩衝能曲線に重回帰分析を適用すれば、食品の緩衝能に関するより詳細な考察が可能になると考えられた。

V. 要約

緩衝能は、食品のコクやうま味に関係し、調理科学的な側面からも食品の緩衝能測定は有用な情報を提供する手段である。緩衝能は単位 pH 変化に必要な塩基のモル濃度と定義されており、解析的に求められるが、実際の食品では、滴定曲線に引いた接線の傾きの逆数から緩衝能を求めている。しかしながら、実験的に求めた緩衝能曲線と理論緩衝能曲線は一致しないことが多く、それは系のイオン強度によって緩衝成分の酸解離定数が変化するためである。そこで、食品に含まれる緩衝成分を予測し、それらの緩衝能を別個に実測し、食品の緩衝能値を目的変数、含有される緩衝成分の緩衝能値を説明変数として重回帰分析を行い、含有緩衝成分の濃度を決定する方法について検討した。その結果、リン酸-トリスヒドロキメチルアミノメタンからなるモデル系、およびモモ酒に含まれる緩衝成分濃度を有意に決定することができた。

謝辞

実験に協力していただいた本学食品栄養学科卒業生、千葉真弓氏、櫻井奈津子氏、佐藤未央氏に感謝します。

VI. 引用文献

- 1) 辻 啓一：食品と緩衝能曲線, *New Food Industry*, **27**, (10), 51-59 (1985)
- 2) 辻 啓一, 竹尾忠一：緑茶の緩衝能曲線, *農芸化学会誌*, **57**, 461-463 (1983)
- 3) 梅津雅裕, 藪木聡博, 佐藤友清：清酒の緩衝能に関する研究 (第1報) 清酒成分の分別とそれら成分の示す緩衝能について, *醸工*, **7**, 529-537 (1968)
- 4) 星 祐二：食品の緩衝能—理論と応用—, 宮城学院女子大学生生活環境科学研究所研究報告, **34**, 1-15 (2002)
- 5) 宮川金二郎, 難波敦子：食品の緩衝能, *New Food Industry*, **33**, (4), 65-76 (1991)
- 6) Lehmann, G.: Die Messung der Pufferung,

- Biochemische Zeitschrift*, **133**, 30-45 (1922)
- 7) Tsuji, K.: β -Titrator, a Device for Direct Recording of Buffer Capacity Curves: I. Theory and Apparatus, *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 677-682 (1982)
 - 8) Yamano, H., Miyagawa, K.: Buffer Capacity Curves of Green Tea Extracts Using a Personal Computer with Numerically Treated Online Software, *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **3**, 69-73 (1997)
 - 9) 星 祐二：簡便な緩衝能曲線測定法について—シミュレーション—, 宮城学院女子大学生活環境科学研究
 - 10) 星 祐二：滴定による簡便で正確な緩衝能測定法について, *New Food Industry*, **53**, (6), 37-46 (2011)
 - 11) 栗原伸一：入門統計学, オーム社 (2011)
 - 12) 伊藤三郎：果実の化学, 朝倉書店 (1991)
 - 13) 長谷川勝也：これならわかる Excel で楽に学ぶ多変量解析, 技術評論社 (2002)
 - 14) 大滝仁志：非水溶媒中の pH 測定法と標準緩衝溶液, *Japan Analyst*, **22**, 1275-1281 (1975)