

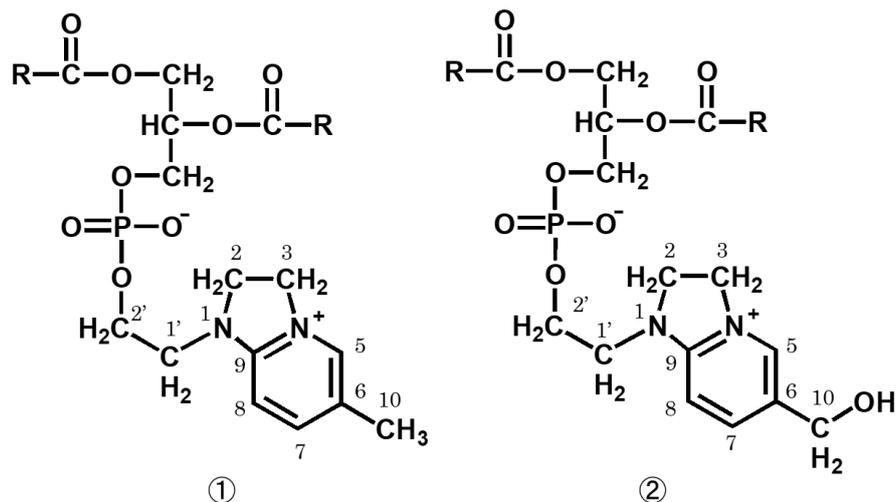
## 学位論文全文に代わる要約 Extended Summary in Lieu of Dissertation

氏名： 藤本 祐希  
Name

学位論文題目： 大豆レシチンの熱変性抑制機構に関する研究  
Title of Dissertation

学位論文要約：  
Dissertation Summary

レシチンは、1845年にフランスの化学者 Gobleby によって卵黄から発見されたグリセロリン脂質の一種であり、名称はギリシャ語の卵黄 (Lekithos) に由来している<sup>1)</sup>。古くは、レシチンは単一のリン脂質成分と考えられており、卵黄に多く含まれる特定のリン脂質、すなわちホスファチジルコリン (PC) を意味していたが、レシチンは複数のリン脂質から構成されており、細胞膜の構成成分として動植物界に広く分布していることが明らかになったことから、近年では PC 以外にもホスファチジルエタノールアミン (PE)、ホスファチジルイノシトール (PI)、ホスファチジン酸 (PA) を主体としたリン脂質混合物の総称として取り扱われている<sup>2)</sup>。食品添加物公定書第9版において、レシチンは“油糧種子又は動物原料から得られたもので、その主成分はリン脂質である”と定義されており、日本国内では油糧種子原料として大豆レシチン、なたねレシチン、ヒマワリレシチン、動物原料として卵黄レシチンが食品添加物として認可されているが、工業的に利用されるレシチンは大豆レシチンが最も多い。大豆レシチンの原料となる大豆は油分を約 20% 含んでおり、原料大豆を精選、脱皮、粗砕、予熱、圧扁を行った後、*n*-ヘキサンで油分を抽出、濃縮することで大豆粗原油が得られる。その後、大豆粗原油を 60~80°C に加温して 2~3% の水を加えて攪拌することで、リン脂質を含む水溶性成分が水和し、沈降するガム状物質を遠心分離することで油滓が得られる。この大豆油精製工程の脱ガム工程で発生する油滓を乾燥、精製することで、液状大豆レシチン (SL) は製造されている<sup>3,6)</sup>。このように得られた SL は、PC、PE、PI、PA を含むリン脂質以外に、大豆油、大豆脂肪酸、ステロール、大豆オリゴ糖 (スクロース、ラフィノース、スタキオース) を含む炭水化物、水分で構成されており、外観は粘稠なペースト状で茶褐色を呈している。レシチンを使用する際、多くは溶解、乾燥、殺菌等の目的で加熱工程が加わるが、レシチンは熱に弱い性質があり、例えばレシチンを配合した油脂を 100°C 以上に加熱すると、油脂は徐々に黄褐色に着色し、最終的には殆ど黒色へと変化する。レシチンには離型作用があり、レシチンを配合した油脂で加熱調理すると、歩留りや作業性の向上が得られるものの、焼成時に 180°C 程度の高温となるため、レシチンの褐変によって食材の色や風味に悪影響を及ぼすことが知られている<sup>7,12)</sup>。このような背景から、レシチンを配合した油脂は優れた離型作用を示すものの、加熱調理時にレシチン由来の着色や風味が悪影響を及ぼさない料理でしか利用されておらず、利用にはある程度の制限が加わっている。レシチンの利用拡大を目指すため、古くからレシチンの加熱褐変に伴い生成する褐変物質の生成機構に関する研究が数多くなされてきたものの、近年まではその生成機構が不明のままであった。このような中、園ら<sup>13,14)</sup>は粗精製大豆レシチンのオクタン還流を実施し、これまで報告のあった 240 nm、280 nm 付近の極大吸収に加え、新たに 350 nm にも極大吸収が出現することを見出した。さらに、350 nm に極大吸収を持つ化合物を単離し、褐変物質は 4 種の新規化合物であると同定した (図 1)。



Acyl groups	linoleoyl	linoleoyl and palmitoyl
①	Compound A	Compound B
②	Compound C	Compound D

図1 大豆レシチン加熱時に生じる 350 nm の UV 吸収増加起因物質

また、濱口ら<sup>15, 16)</sup>はこれら 4 種の 350 nm の UV 吸収増加起因物質が PE と糖の褐変反応であり、種々の糖と PE をオクタン還流したところ、5 単糖、6 単糖、7 単糖のいずれも 350 nm 付近に極大吸収を示したものの、2-Deoxyglucose や 2-Deoxyribose などの 2-デオキシ糖を使用した場合は 350 nm に極大吸収は出現しないことを明らかにした。さらに、林ら<sup>17, 18)</sup>は<sup>13</sup>C 標識糖と PE 試薬を用いたオクタン還流により、350 nm に極大吸収を有する褐変物質のピリジニウム環は糖が形成していること、糖の 1-2 位間の C-C 結合が開裂しており、1 位の炭素の転移反応を伴っていることを明らかにしただけでなく、2 mol の PE と 1 mol の糖が中間体を形成した後、ピリジニウム化合物を形成する新規のメイラード反応機構を見出した。つまり、大豆レシチンは、PC、PE、PI、PA を含むリン脂質以外に、大豆オリゴ糖 (スクロース、ラフィノース、スタキオース) を含んでいることから、大豆レシチンを含む油脂を加熱すると 2 mol の PE と 1 mol の大豆オリゴ糖がメイラード反応を引き起こし、350 nm に極大吸収を有する褐変物質のピリジニウム化合物を形成する。大豆レシチンの褐変現象はこのようなメカニズムであることから、液-液分配やイオン交換樹脂処理によって大豆レシチン中に含まれる大豆オリゴ糖を除去した脱糖レシチンを油脂に配合すれば、調理に使用しても PE と大豆オリゴ糖によるメイラード反応は起こらないものの、調理に供される食材由来の糖が混入するため、結果として調理時に大豆レシチンと食材由来の糖によるメイラード反応は抑制することができない。一方、ホスホリパーゼ D (PLD) を用いて大豆レシチンに含まれる PE を PA に変換した酵素処理レシチンを油脂に配合することでもメイラード反応は抑制できるものの、PLD が高価である上に製造工程が長く、得られる酵素処理レシチンが高価になってしまい、食品分野で油脂に配合できる価格帯で製造することができない。このような背景から、レシチンに含まれる PE とオリゴ糖のメイラード反応を阻害する抜本的な解決方法の提案が望まれている。Helmy ら<sup>19)</sup>は、綿実油の脱ガム工程で金属ケイ酸塩を添加すると、精製綿実油の色相を改善できることを報告しているが、粗綿実油は高レベルのレシチンを含んでいることが知られている。金属ケイ酸塩の添加による精製綿実油の色相改善は、金属ケイ酸塩が上記のメイラード反応を阻害している可能性があるものの、詳細な色相改善機構は述べられていない。そこで、本研究では PE とオリゴ糖によるメイラード反応を阻害することで、レシチンの加熱褐変を抑制することを目的とし、種々の金属ケイ酸塩の効果の確認とその機構解明について探求を行った。

## 1. 金属ケイ酸塩処理による SL の加熱褐変抑制

Helmy ら<sup>19)</sup>は、綿実油の脱ガム工程で金属ケイ酸塩を添加すると、精製綿実油の色相が改善できることを報告している。粗綿実油は高レベルのレシチンを含んでいることが知られていることから、金属ケイ酸塩は糖と PE のメイラード反応を阻害している可能性が考えられるものの、詳細な色相改善機構は不明である。そこで、まずは、SL に大豆脂肪酸を添加して酸価を 10 mgKOH/g~35 mgKOH/g まで 5 mgKOH/g 刻みとなるように試料を調整した後、ケイ酸マグネシウム、あるいはケイ酸カルシウムで処理した後に加熱試験 (200℃、15 分間、リン脂質含量 1 wt%濃度)を実施し、SL を金属ケイ酸塩処理することで加熱褐変を抑制できるか実験を行った。その結果、ケイ酸マグネシウム処理、ケイ酸カルシウム処理ともに、金属ケイ酸塩処理時の SL の酸価が高い程、加熱褐変は抑制できること、ケイ酸マグネシウム処理と比較し、ケイ酸カルシウム処理を施した方が SL の加熱褐変抑制効果は高いことを見出した (図 2)。

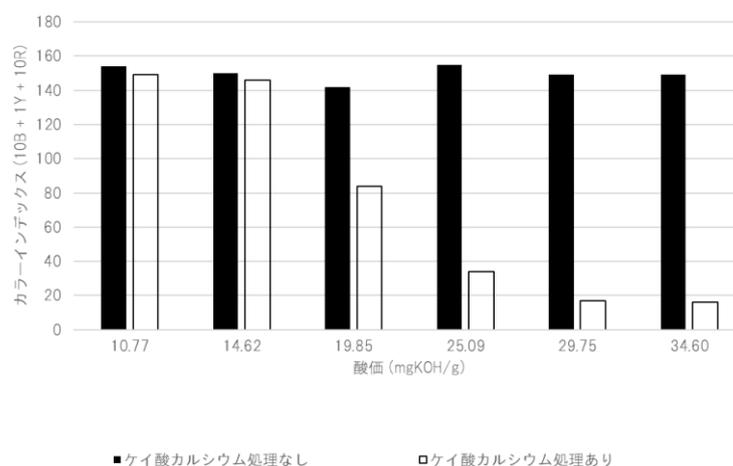


図2 酸価を変動してケイ酸カルシウム処理を施したSLの加熱試験後の色相

また、SL のケイ酸カルシウム処理時に種々の脂肪酸試薬を配合したところ、飽和脂肪酸を添加した場合は SL の加熱褐変は抑制できなかったものの、不飽和脂肪酸を添加した場合は SL の加熱褐変は大幅に抑制できること、この際、得られた SL のカルシウム濃度が高くなっていることを明らかにした。つまり、ケイ酸カルシウム由来のカルシウムと脂肪酸から脂肪酸カルシウムを生成することによって SL の加熱褐変が抑制されていることが示唆された。

## 2. 脂肪酸金属塩の添加による SL の加熱褐変抑制

SL のケイ酸カルシウム処理時に不飽和脂肪酸を添加することで、ケイ酸カルシウム由来のカルシウムと不飽和脂肪酸が結合して脂肪酸カルシウムを生成し、SL 加熱時に脂肪酸カルシウムが含まれていると SL の加熱褐変は抑制できることが示唆されたため、SL の金属ケイ酸塩処理ではなく、SL の加熱試験時に種々の脂肪酸金属塩を添加し、SL の加熱褐変を抑制できるキー化合物が脂肪酸金属塩であるか検証を行った。その結果、脂肪酸金属塩無添加の場合、加熱試験後のカラールインデックスは 121 であったものの、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸カルシウム、オレイン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸バリウム、ステアリン酸アルミニウムを添加することで、加熱試験後のカラールインデックスはそれぞれ 93、22、23、25、22、63 となり、脂肪酸の飽和、不飽和および、金属の 1 価、2 価、3 価に関わらず、SL の加熱時に脂肪酸金属塩を添加することで、SL の加熱褐変は抑制できることを新たに見出した。SL のケイ酸カルシウム処理を行った際に様々な脂肪酸を添加したところ、不飽和脂肪酸を添加した場合のみ、ケイ酸カルシウム処理後のカルシウム濃度が上昇し、SL の加熱褐変は抑制できることを確認した。しかしながら、SL の加熱試験時に飽和脂肪酸金属塩を添加することで、SL の加熱褐変は抑制できたことか

(様式 5) (Style5)

ら、SL のケイ酸カルシウム処理時に飽和脂肪酸を添加しても、ケイ酸カルシウム中のカルシウムと飽和脂肪酸の反応性が乏しいために飽和脂肪酸カルシウムがほとんど生成せず、結果として SL の加熱褐変が抑制できなかったことが示唆された。一方、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸バリウム、ステアリン酸アルミニウムを添加した SL の加熱試験結果を比較すると、1 価あるいは 3 価の脂肪酸金属塩と比較し、SL の加熱褐変は 2 価の脂肪酸金属塩が最も抑制できることを見出した (表 1)。

表 1 脂肪酸金属塩を添加した SL の加熱試験結果

脂肪酸金属塩	色相	カラーインデックス (10B + 1Y + 10R)
—	0 + 40 + 8.1	121
ステアリン酸ナトリウム	0 + 40 + 53	93
ステアリン酸カルシウム	0 + 8 + 1.4	22
オレイン酸カルシウム	0 + 8 + 1.5	23
ステアリン酸マグネシウム	0 + 7 + 1.8	25
ステアリン酸バリウム	0 + 7 + 1.5	22
ステアリン酸アルミニウム	0 + 20 + 4.3	63

先にも述べた通り、SL の加熱褐変は 2 mol の PE と 2-デオキシ糖を除く 1 mol の糖がメイラード反応を引き起こし、350 nm に極大吸収を有する 4 種類のピリジニウム化合物の生成を伴うものの、SL の加熱時に脂肪酸金属塩を添加すると、PE と糖のメイラード反応が阻害され、4 種類のピリジニウム化合物が生成しないために加熱褐変は抑制されると推察できる。そこで、濱口ら<sup>15)</sup>の実験を参考に、SL をオクタン中で還流する際にステアリン酸カルシウムを添加し、4 種類のピリジニウム化合物の生成を阻害しているか実験を行った。その結果、SL を単独、あるいはステアリン酸を添加してオクタン還流した場合、得られたオクタン還流物は著しく褐変するとともに、UV スペクトルで 350 nm 付近に極大吸収が出現した。加えて、HPLC 分析の結果、保持時間 26.4 分、27.9 分、35.6 分、37.6 分にピークが出現した。この保持時間は、濱口ら<sup>15)</sup>が述べている 4 種類のピリジニウム化合物と同じ保持時間であったことから、SL を単独、あるいはステアリン酸を添加してオクタン還流すると、PE と糖がメイラード反応を引き起こし、4 種類のピリジニウム化合物が生成することを確認した。一方、SL をオクタン還流する際にステアリン酸カルシウムを添加した場合、オクタン還流物はほとんど褐変せず、350 nm に極大吸収は出現しないこと、4 種類のピリジニウム化合物も生成しないことを確認した。以上の結果より、SL 加熱時にステアリン酸カルシウムを含む脂肪酸金属塩を添加すると、PE と糖のメイラード反応が阻害され、4 種類のピリジニウム化合物の生成が抑制されることで SL の褐変が抑制できることを新たに見出した (図 3)。

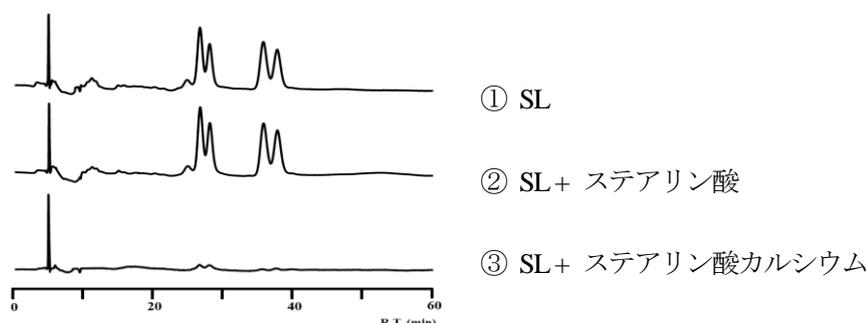


図 3 各種 SL オクタン還流物の HPLC プロフィール

### 3. 脂肪酸金属塩の添加による SL の加熱褐変抑制機構の解明

SL の加熱時に脂肪酸金属塩を添加すると、SL 中の PE と糖のメイラード反応が阻害され、褐変物質である 4 種類のピリジニウム化合物が生成しないため、SL の褐変を抑制できることが明らかとなった。しかしながら、脂肪酸金属塩が PE と糖のメイラード反応をどのように阻害しているかはまったくの不明である。そこで、1,2-Di-*O*-stearyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylethanolamine (DSPE)、D-Glucose、脂肪酸金属塩をオクタン還流する単純系で、DSPE と D-Glucose のメイラード反応阻害機構の解明を試みた。DSPE と D-Glucose をオクタンで還流すると、溶液は黒色化し、カラーインデックスは 69 になること、350 nm に極大吸収が出現することを確認した。この 350 nm の極大吸収の出現は、先述した通り 2 mol の DSPE と 1 mol の D-Glucose がメイラード反応を引き起こし、ピリジニウム化合物が生成するためである。一方、DSPE と D-Glucose をオクタンで還流する際にステアリン酸カルシウムを添加すると、オクタン還流後でも褐変はほとんど見られず、カラーインデックスは 14 となり、350 nm の極大吸収の出現も見られなかった。以上のことから、DSPE、D-Glucose を用いた単純系においても、ステアリン酸カルシウムを添加することで DSPE と D-Glucose によるメイラード反応は阻害できることを確認した。また、オクタン還流後の一次元 TLC 定性分析について、DSPE と D-Glucose をオクタンで還流した場合、DSPE 以外のスポットとして原点部付近にリン酸基を有するスポットを Dittmer-Lester 試薬で検出した。一方、DSPE と D-Glucose をオクタンで還流する際にステアリン酸カルシウムを添加した場合、これらのスポット以外に *R<sub>f</sub>* 値 0.7 に未知化合物の Compound 1 が生成していることを確認した。Compound 1 は Dittmer-Lester 試薬では発色したものの、ニンヒドリン試薬では発色しなかったことから、DSPE 由来のリン酸基を保持しているものの、エタノールアミンの構造に何かしらの変化が生じた化合物であると推定できた。これまで述べてきた通り、SL の加熱褐変は 2 mol の PE と 2-デオキシ糖を除く 1 mol の糖によるメイラード反応により、350 nm に極大吸収を有するピリジニウム化合物が生成するために引き起こる現象である。PE のエタノールアミンは窒素原子上に孤立電子対があるために求核性が高く、反応性が高い性質がある。しかしながら、ステアリン酸カルシウムを添加することで PE の求核性が低下、あるいは何かしらの構造変化を伴う場合、PE と糖のメイラード反応は抑制され、結果として SL の加熱褐変は抑制できると考えられる。今回の実験で生成した Compound 1 は、DSPE 由来のリン酸基を有するものの、エタノールアミンの構造に変化が生じた化合物であると推定できることから、Compound 1 は SL の加熱褐変抑制機構解明のキー化合物であると考えられた。そこで、Compound 1 を単離し、構造解析を実施したところ、Compound 1 は DSPE のアミノ基とリン酸基に 2 mol のステアリン酸が配位した構造を有しており、ステアリン酸カルシウム由来のカルシウムは含まれていない構造であると考えられた。

Compound 1 に配位した 2 mol のステアリン酸が DSPE 由来かステアリン酸カルシウム由来かは不明であったため、DSPE と D-Glucose をオクタンで還流する際、DSPE のステアリン酸とは鎖長の異なるデカン酸カルシウムを添加した実験を実施し、加熱褐変抑制機構の解明を試みた。その結果、ステアリン酸カルシウムを添加した場合と同様に、オクタン還流後でも褐変はほとんど見られず、カラーインデックスは 28 となり、350 nm の極大吸収の出現も見られなかった。以上のことから、脂肪酸金属塩は鎖長に関わらず、DSPE、D-Glucose によるメイラード反応は阻害できることを確認した。また、一次元 TLC 定性分析結果より、DSPE、D-Glucose、ステアリン酸カルシウムをオクタン還流した際と同様に、DSPE、D-Glucose、デカン酸カルシウムをオクタン還流した場合でも *R<sub>f</sub>* 値 0.7 に未知化合物の Compound 2 が生成していること、Compound 2 は Compound 1 と同様に DSPE 由来のリン酸基を有しているものの、エタノールアミンの構造が変化した構造を有していることを確認した。Compound 2 を単離して構造解析を実施した結果、DSPE、D-Glucose、ステアリン酸カルシウムをオクタン還流した際に生成した Compound 1 と同様に、DSPE、D-Glucose、デカン酸カルシウムをオクタン還流した際に生成した Compound 2 は DSPE に 2 mol のステアリン酸が配位した構造であることを見出した。つまり、DSPE に配位した 2 mol のステアリン酸は DSPE 由来であることから、DSPE に脂肪酸カルシウムを添加して加熱すると、脂肪酸カルシウムが触媒作用を示して DSPE の脂肪酸部位が加水分解を受けるとともに、生成したステアリン酸が DSPE のリン酸基とアミノ基に配位する機構で Compound 1 あるいは Compound 2 が生成していると推測できた。以上の推測が正しい場合、DSPE

(様式 5) (Style5)

とステアリン酸カルシウムのみをオクタンで還流した場合でも、DSPE に 2 mol のステアリン酸が配位した化合物は生成するはずである。そこで、DSPE とステアリン酸カルシウムをオクタンで還流し、DSPE に 2 mol のステアリン酸が配位した化合物が生成するか検証を行った。その結果、DSPE とステアリン酸カルシウムをオクタンで還流した場合でも、DSPE のリン酸基とアミノ基に 2 mol のステアリン酸が配位した構造を有する Compound 3 が生成することを確認した (図 4)。

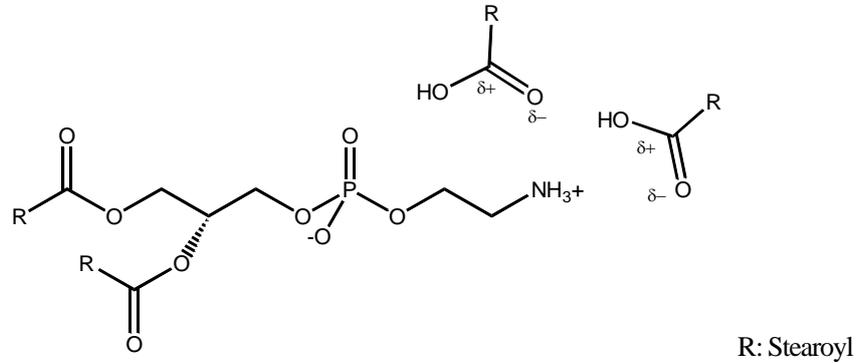


図 4 Compound 1、2、3 の推定構造

#### 4. まとめ

SL の加熱褐変を抑制する簡便な方法を探索したところ、SL の加熱時に脂肪酸金属塩を添加することで SL の加熱褐変は抑制できることを見出した。さらに、脂肪酸金属塩の添加による SL の加熱褐変抑制機構を解明するため、DSPE、D-Glucose、脂肪酸カルシウム (ステアリン酸カルシウムあるいはデカン酸カルシウム) を添加してオクタンで還流したところ、異なる鎖長の脂肪酸カルシウムを添加したにも関わらず、DSPE のリン酸基とアミノ基に 2 mol のステアリン酸が配位しており、脂肪酸カルシウム由来のカルシウムを含まない化合物 (Compound 1=Compound 2) が生成することが明らかとなった。さらに、この化合物は DSPE とステアリン酸カルシウムをオクタンで還流しただけで生成 (Compound 3) することを見出した。これらの結果より、本研究で SL 加熱時に脂肪酸金属塩を添加することで SL の加熱褐変は抑制できることを見出したが、脂肪酸金属塩が PE の脂肪酸部位を加水分解する触媒として作用した後、生成した PE 由来の脂肪酸が PE のリン酸基とアミノ基に配位することで PE の求核性が低下し、PE と糖のメイラード反応が阻害される図 5 に示した機構であると考えられた。

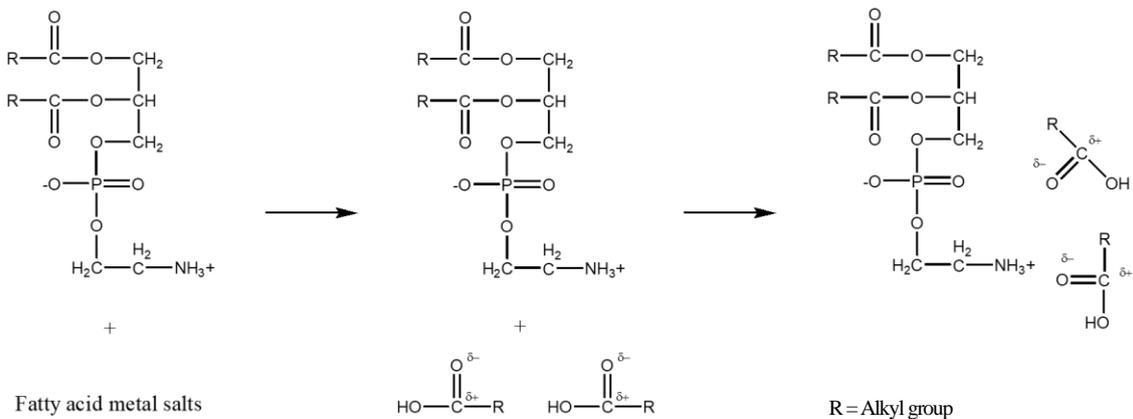


図 5 予想される脂肪酸金属塩の添加による PE の安定化機構

SL を配合した油脂には優れた離型作用があるものの、SL には PE と大豆オリゴ糖が含まれているため、加熱調理時に SL 由来の着色や風味が悪影響を及ぼさない料理でしか利用されてこなかったものの、本研究の技術はSL加熱時にPEと大豆オリゴ糖が存在していても脂肪酸金属塩を存在すれば加熱褐変は抑制できること、脂肪酸金属塩は古くから食品添加物として認可されていることより、極めて簡便にSLの加熱褐変を抑制できる新たな技術であり、すでにこの技術を応用した離型油の商業化が進んでいる<sup>20,21)</sup>。また、本研究内容は食品分野だけでなく、化粧品分野や医薬品分野に至るまで、レシチンの利用拡大に寄与する技術であると言える。

#### 引用文献

- 1) Theodore L. Sourkes; The discovery of lecithin, the first phospholipid. *Bull. Hist. Chem.*, 20, 9–15 (2004).
- 2) S. Ota, Lecithin. *J. Jpn Oil Chem. Soc. (J. Oleo Sci.)*, 19 (8), 792–806 (1970).
- 3) S. Sato, et al, Production and utilization of lecithin, *J. Jpn Oil Chem. Soc. (J. Oleo Sci.)*, 28 (10), 773-780 (1979)
- 4) R. Sono, Production and utilization of soybean lecithin, *J. Jpn Oil Chem. Soc. (J. Oleo Sci.)*, 48 (10), 1161-1168 (1999)
- 5) 園良治, 植物油製造副産物からの複合脂質の製造と利用, オレオサイエンス, 10 (3), 97-101 (2010)
- 6) 安田耕作, 食用油とその生産, 幸書房 (1992)
- 7) C.R. Scholfield, et al, Sources of color in soybean lecithin. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 258 (1954)
- 8) C.H. Lea, Deteriorative reactions involving phospholipids and lipoproteins. *J. Sci. Food Agric.*, 8, 1 (1957)
- 9) F. Tomioka, et al, Study on the brown discoloration of heated phospholipids. I. The browning reaction of lecithin. *J. Jpn Oil Chem. Soc. (J. Oleo Sci.)*, 23, 777-781 (1974)
- 10) F. Tomioka, et al, Study on the brown discoloration of heated phospholipids. I. The browning reaction of lecithin. *J. Jpn Oil Chem. Soc. (J. Oleo Sci.)*, 23, 782-786 (1974)
- 11) F. Tomioka, et al, Study on the brown discoloration of heated phospholipids. I. The browning reaction of lecithin. *J. Jpn Oil Chem. Soc. (J. Oleo Sci.)*, 25, 784-788 (1976)
- 12) D.W. John, Preferential degradation of noncholine phosphatides in soybean lecithin by thermalization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 1195-1199 (1994)
- 13) R. Sono, et al, Heat deterioration of phospholipids. I. Decomposition of soybean lecithin and formation of new products by heating. *J. Oleo Sci.*, 50, 905–911 (2001).
- 14) R. Sono, et al, Heat deterioration of phospholipids. II. Isolation and identification of new thermally deteriorated products from soybean lecithin. *J. Oleo Sci.*, 51, 191–202 (2002).
- 15) N. Hamaguchi, et al, Heat deterioration of phospholipids. III. Thermally deteriorated products from phosphatidylethanolamine and hexose. *J. Oleo Sci.*, 55, 503–509 (2006).
- 16) N. Hamaguchi, et al, Heat deterioration of phospholipids. IV. Thermally deteriorated products from phosphatidylethanolamine and several sugars. *J. Oleo Sci.*, 55, 607–613 (2006).
- 17) A. Hayashi, Heat deterioration of phospholipids. V. A new rearrangement reaction of sugars and phosphatidylethanolamine. *J. Oleo Sci.*, 56, 277–281 (2007).
- 18) A. Hayashi, Heat deterioration of phospholipids. VI. Clarification of mechanism for the new pseudo maillard rearrangement reaction by using 2-aminoethyl dihydrogenphosphate. *J. Oleo Sci.*, 57, 93–97 (2008).
- 19) H.E. Helmy, et al, Treatments of phospholipids to prevent or decrease colour fixation in cottonseed oil. *Die Bahrung* 38, 418-426 (1994).
- 20) Y. Fujimoto, et al, *JP Pat.* 6498927 (2019).
- 21) Y. Fujimoto, et al, *JP Pat.* 6586268 (2019).

(注) 要約の分量は、学位論文の分量の約10分の1として下さい。図表や写真を含めても構いません。

(Note) The Summary should be about 10% of the entire dissertation and may include illustrations