

## 高速液体クロマトグラフィーによる果実搾汁液の 糖分析における簡易試料調製法<sup>†</sup>

藤原孝之\*・坂倉 元\*・伊藤 寿\*\*、\*\*\*\*・本庄達之助\*\*\*、\*\*\*\*

Simplified Sample Preparation for Analysis of Sugar Concentration in  
Squeezed Fruit Juice by High Performance Liquid Chromatography

(Studies on Analysis of Sugars in Fruits Part II)

Takayuki FUJIWARA\*, Hajime SAKAKURA\*, Hisashi ITO\*\*, \*\*\*\*  
and Tatsunosuke HONJO\*\*\*, \*\*\*\*

\* Mie Agricultural Research Center, 530, Kawagita,  
Ureshino-cho, Ichishi-gun, Mie 515-2316

\*\* Department of Agriculture in Iga-Region, Mie Agricultural Research Center,  
1240, Moridera, Ueno-shi, Mie 518-0126

\*\*\* Department of Kinan Citrus Fruits, Mie Agricultural Research Center,  
1823, Shihara, Mihama-cho, Minami-murou-gun, Mie 519-5202

\*\*\*\* Present Address : \*

To establish a simpler method instead of alcohol extraction for HPLC analysis of sugars in Satsuma mandarins, melons, strawberries, grapes and Japanese pears, a method using squeezed fruit juice was studied. Sugar contents in each fruit juice which was analyzed immediately after squeezing showed high correlation with values achieved by ethanol extraction. Sugar composition of juice in Satsuma mandarin differed slightly from the data by ethanol extraction, but this was due to differences between sugar compositions in juice and residue. Sugar composition of Satsuma mandarin differed slightly with squeezing rate, so the method of squeezing must be consistent between samples to produce accurate results. When squeezed juice or diluted and filtered juices were placed at room temperature for 24 or 48 hours, respectively, sucrose degradation occurred in all samples except Satsuma mandarin. Microwave heating was found to be effective in reducing sucrose degradation in each of the samples except for undiluted grape juice. For these reasons, it has been concluded that the HPLC analysis using squeezed juice with proper microwave heating could give accurate data on sugar contents in many samples of fruits.

(Received Jun. 10, 1998 ; Accepted Sep. 18, 1998)

果実類の糖を組成別に高速液体クロマトグラフィー (以下, HPLC) により定量する場合, 前処理時にショ糖がインペルターゼの作用等により分解することが懸念される。そのため, 一般には高温下でのアルコール抽出が

<sup>†</sup> 果実類の糖分析法の検討 (第2報) (前報, 文献2))

\* 三重県農業技術センター (〒515-2316 三重県一志郡嬉野町川北 530)

\*\* 三重県農業技術センター伊賀農業センター (〒518-0126 三重県上野市森寺 1240)

\*\*\* 三重県農業技術センター紀南かんきつセンター (〒519-5202 三重県南牟婁郡御浜町志原 1823)

\*\*\*\* 現在, 三重県農業技術センター

比較的安定した方法と考えられているが、手順が煩雑なため簡便性の高い手法の確立が望まれている。イチゴでは、低温下で搾汁し、直ちに測定すればアルコール抽出法と同様な信頼性のある測定値が得られることが報告されている<sup>1)</sup>が、他の果実類についても同様な検討が望まれるとともに、室温下で搾汁できれば、さらに簡便な方法になるものと考えられる。また、栽培、育種等の試験研究においては、多数の試料を扱う場合が多いので、オートサンプラーを用いた連続測定にも適用可能な方法が望まれる。

そこで、本報告では搾汁が比較的容易であり、しかも前処理時に分解が懸念されるショ糖を含む果実、すなわちウンシュウミカン、メロン、イチゴ、ニホンナシおよびブドウの5種類について、搾汁液を用いた糖の簡便なHPLC分析手法を検討した。はじめに、室温下で搾汁した果汁を用いて得た糖の測定値を、アルコール抽出法による測定値と比較した。次に、搾汁後のショ糖分解を抑制する方法として、マイクロ波による加熱および除タンパク能を有するメンブランフィルターによる濾過の効果について検討した。

## 実験方法

### 1. 供試材料

前報<sup>2)</sup>において、ブドウ果実の搾汁液中のショ糖分解はインベルターゼが主な原因であり、その活性には品種間差異があることを明らかにした。他の果実類についても品種間に同様な差がある可能性を考慮し、本報では各果実について複数の品種を供試した。

供試品種は、ウンシュウミカンが「崎久保早生」、興津早生<sup>3)</sup>および「青島温州」、メロンが「アールスフェボリット（秋系F1）」および「アンデス」、イチゴが「女峰」、<sup>4)</sup>「とよのか」および「章姫」、ニホンナシが「筑水」「豊水」、<sup>5)</sup>「新星」、<sup>6)</sup>「新高」および「二十世紀」、ブドウが「巨峰」、<sup>7)</sup>「安芸クイーン」、<sup>8)</sup>「ガーネット」、<sup>9)</sup>「デラウェア」、<sup>10)</sup>「スチューベン」、<sup>11)</sup>「ルビーオクヤマ」、<sup>12)</sup>「マスカットベリーA」および「グロ・コールマン」であった。3.～5.の各実験においては、それぞれの果実について以上のうち2～5品種を用い、1点の試料を同一品種で作成して、10点を供試した。

メロンは四日市市農業センター、イチゴおよびニホンナシは三重県農業技術センター、ブドウは同伊賀農業センター、ウンシュウミカンは同紀南かんきつセンターで栽培された（ニホンナシおよびブドウの一部は市販果実）適熟果を用いた。

### 2. HPLC分析

HPLC分析は、前報<sup>2)</sup>で示した機器および条件で行い、ショ糖、ブドウ糖、果糖およびソルビトールを定量した。なお、それぞれの糖について、定量可能な最低濃度は約3 ppmと考えられた。また、クエン酸、リンゴ酸など果実の主要な有機酸およびエタノールは各糖のピークとリテンションタイムが異なるため、これらが測定試料中に少量存在しても、糖の測定値に及ぼす影響は極めて小さいことを確認した。

### 3. 搾汁法とアルコール抽出法の比較

試料1点あたりの果実数および試料調製法は以下のとおりであった。ウンシュウミカンはフラベドおよびアルベドを除去した1果実を用いた。メロンは1果実の果柄部、赤道部または果頂部のいずれかを1～2 cmの厚さで輪切りにした後、果皮および胎座部を除去した。イチゴはがくを除去した4～7果実を用いた。ニホンナシは果皮および果心を除去した1～2果実を用いた。ブドウは果皮および種子を除去した10～25果粒を用いた。

次に、各試料を以下のように二分した。ウンシュウミカンは、ひとつおきにじょうのうをとった。メロン、イチゴおよびニホンナシについては、各果実を縦に4～16分割し、ひとつおきに切片をとった。ブドウは、各果粒を縦に半割りし、1片ずつを合わせた。

二分した一方の試料は、エタノール抽出（前報<sup>2)</sup>参照）およびHPLC分析を行った。ここで、ブドウについては、エタノール抽出中のショ糖分解を抑制するため、抽出前に試料を電子レンジ（2450 MHz, 500 W, 後述のものと同じ）で60秒間加熱した<sup>2)</sup>。他の一方の試料は、搾汁液（前報<sup>2)</sup>の方法により搾汁、後述のものと同じ）を直ちに蒸留水で200倍に希釈した後、メンブランフィルター（DISMIC 25 AS, 0.20 μm, 東洋濾紙）で濾過したものをHPLC分析に用いた。なお、これらの処理はすべて室温（22～28℃）下で行った。

また、上記2法による糖組成に差が認められた果実については、以下の実験も行った。はじめに、上記2法の他に、搾汁後の残さについてもエタノール抽出法により糖含量を測定する実験を行った。次に、搾汁率が糖組成に及ぼす影響を明らかにするため、徐々に搾汁を行って果汁を10 mlずつ分取し、それぞれHPLC分析を行った。

### 4. 冷蔵およびマイクロ波処理による搾汁液のショ糖分解抑制

1点の試料に用いた果実数は前項より適宜増やした。ブドウ以外の果実については果皮、種子等を前項と同様

に除去した。ブドウについては、試料調製の簡便性をより高めるために、以降の実験においては果皮をつけたまま供試した。なお、予備実験の結果、多くのブドウ試料において、果皮および種子の除去が搾汁液の糖濃度に及ぼす影響は小さいことを明らかにした。

搾汁液を直ちに容量 50 ml のガラス製バイアル瓶 3 本に 30 ml ずつ入れ、それぞれ室温 (24~27°C) 保存、4°C 保存およびマイクロ波処理を行い室温保存の 3 処理を行った。ここで、マイクロ波処理とは、搾汁液を電子レンジで沸騰が始まるまで加熱し、直ちに流水で冷却することである。なお、ブドウについては、マイクロ波処理後 4°C で保存する処理も行った。

保存前、保存 5 時間および 24 時間後に、前項の搾汁液と同様に HPLC 分析を行った。

#### 5. マイクロ波加熱処理と膜濾過による HPLC 分析用試料のショ糖分解抑制

各果実類の搾汁液を、直ちに蒸留水で 200 倍に希釈した。この液を、タンパク質の吸着が少ないセルロースアセテート膜のメンブランフィルター<sup>3)</sup> (DISMIC 25 CS, 0.20 μm) で濾過し、HPLC の専用サンプル瓶 (ガラス製、容量 4 ml) に 3 ml 入れ、マイクロ波無処理、20 秒および 30 秒処理の 3 種類の処理を行った。ここで、マイクロ波処理とは、濾過後の試料を入れたサンプル瓶 5 本を電子レンジにより所定時間加熱した後、直ちに流水により冷却することである。一方、同様に前述の希釈液を、除タンパク質能があるセルロース混合エステル膜のメンブランフィルター<sup>3)</sup> (DISMIC 25 AS, 0.20 μm) を用いて濾過した。

以上の前処理後、直ちに試料を HPLC 専用のオートサンプラーに入れ、前処理直後、12、24 時間後および 48 時間後に糖濃度を測定した。なお、オートサンプラー内の温度は 31~36°C であった。

#### 6. 水希釈が果汁のショ糖分解に及ぼす影響

ブドウ ('マスカットベリー A') 果実 300 g より得た搾汁液を、蒸留水を用いて 10、20、50、100、200 倍に希釈してそれぞれ 100 ml とした。これらの搾汁液および希釈液を室温 (25°C) 下で保存し、試料調製直後、15、30、60、120 および 240 分後に、それぞれ原液の 200 倍希釈液を作成して、メンブランフィルター (DISMIC 25 AS) で濾過後、HPLC により糖濃度を測定した。

### 実験結果及び考察

#### 1. 果実の糖類

全実験を通じ、ショ糖、ブドウ糖および果糖は、全て

の果実で検出された。ソルビトールはニホンナシのみに認められ、他の果実では検出されなかった。他の糖および糖アルコールは、いずれの果実でも検出されなかった。

#### 2. 搾汁法とアルコール抽出法の比較

Fig. 1 に示したように、エタノール抽出法と、搾汁液を用いた方法による糖測定値の間には、各果実において高い相関が認められた。

各糖の合計値に対するそれぞれの糖の組成比を、エタノール抽出法および搾汁法について比較したものを Fig. 2 に示した。メロン、イチゴ、ニホンナシ、およびブドウに関しては、2 方法間の糖組成に有意な差は認められなかった。しかし、ウンシュウミカンの場合、搾汁法ではエタノール抽出法よりもショ糖の比率が高く、果糖の比率が低かった。

そこで、ウンシュウミカンについて、じょうのうと砂じょう (以下、果実全体という)、搾汁液および搾汁残さの糖測定値、並びに搾汁液および残さの糖測定値から重量比を考慮して計算した果実全体の糖組成推定値を Fig. 3 に示した。残さは果実全体よりもショ糖比率が低く、果糖比率が高いという、搾汁液とは逆の傾向を示した。果実全体の糖組成推定値と実測値との間には、有意差は認められなかった。また、ウンシュウミカンは、今回供試した果実の中で、搾汁前の重量に対する残さの割合 (26%) が供試した果実の中で最も高かった (メロン 18%、イチゴ 16%、ニホンナシ 20%、ブドウ 18%)。これらのことから、エタノール抽出法と搾汁法によるウンシュウミカンの糖組成の差は、残さ中に残る糖の影響であり、酵素等による組成の変化が原因である可能性は低いものと考えられた。しかし、搾汁率の違いが糖組成に影響することが懸念されたので、'崎久保早生' を用いて検討した。

Fig. 4 に、果実を徐々に搾汁して得た果汁における、画分ごとの糖濃度 (図 A) およびその結果から計算した搾汁量と糖濃度との関係 (図 B) を示した。後半に搾汁した果汁は、ショ糖およびブドウ糖がやや減少し、果糖がやや増加していった。搾汁量の違いによる各糖濃度の差はわずかであるが、統計上有意差が認められた。'青島温州' についても同様の結果が得られた (データ略)。

イチゴでは、20°C 下では搾汁液のショ糖分解が非常に大きいため、低温下で搾汁し、直ちに糖分析を行う方法が勧められている<sup>1)</sup>。しかし、今回の実験結果から、メロン、イチゴ、ニホンナシおよびブドウについては、室温下で搾汁しても、直ちに希釈および濾過を行い HPLC

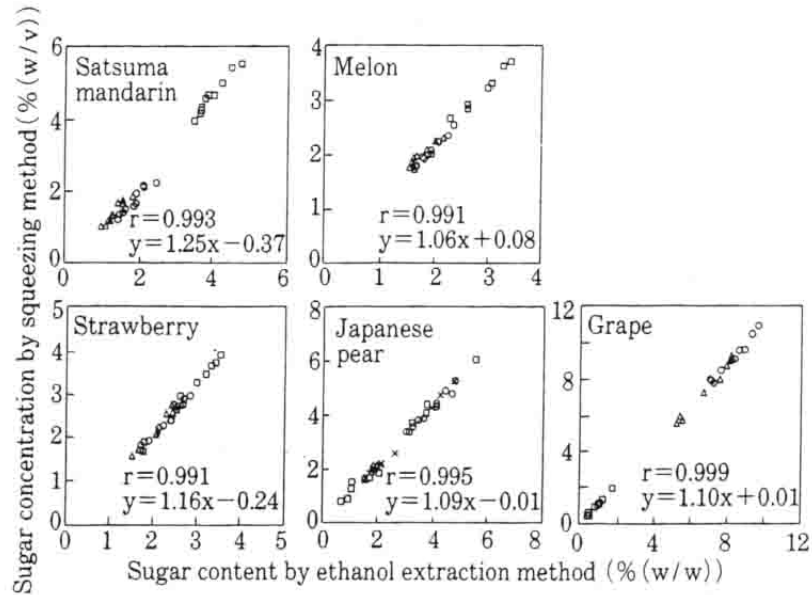


Fig. 1 Relationship between ethanol extraction and squeezing method on sugar determination of various fruits

Ethanol extraction method means HPLC determination of samples prepared by ethanol extraction (20 g of fruit sections with 100 ml of 85% ethanol were kept at 80°C for 1 hour, and then evaporated, and the residue was dissolved with water).

Only grape samples are treated by microwave heating (heating 20 g of pulp with microwave oven for 60 seconds) before ethanol extraction.

Squeezing method means HPLC determination of diluted and filtered juice immediately after squeezing (pressing with manual juicer).

□, Sucrose ; △, Glucose ; ○, Fructose ; ×, Sorbitol

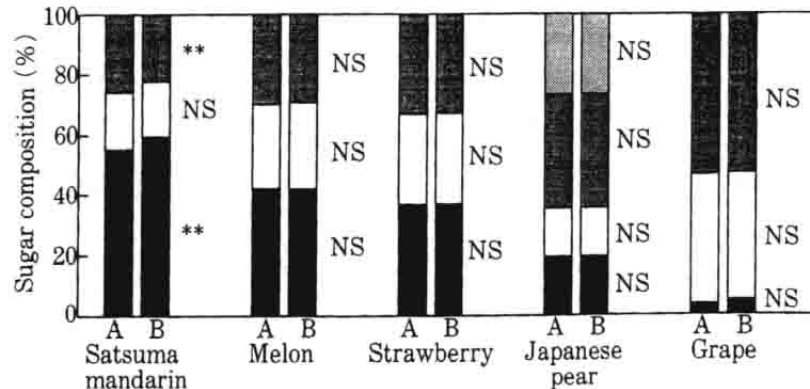


Fig. 2 Comparison of sugar composition in fruits by ethanol extraction method (A) and by squeezing method (B)

Each of the methods is same as in Fig. 1.

■, Sucrose ; □, Glucose ; ▒, Fructose ; ▓, Sorbitol ;

NS, Not significant at 5% level by t-test between two treatments ;

\*\* , Significant at 1% level

(47)

藤原・他：果実 HPLC 糖分析の試料調整法

85

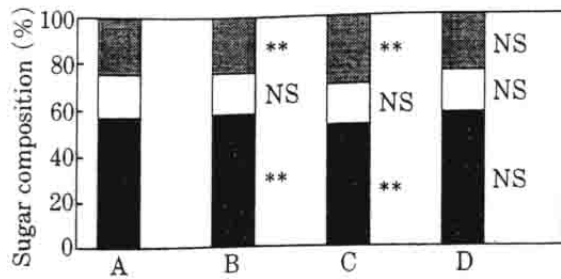


Fig. 3 Differences in sugar compositions of pulp (A), squeezed juice (B), residue of squeezing (C) and estimated value of pulp calculated by sugar content in juice and residue (D) in Satsuma mandarin

■, Sucrose ; □, Glucose ; ▨, Fructose ;  
NS, Not significant at 5% level by t-test between (A) and others ;  
\*\*, Significant at 1% level

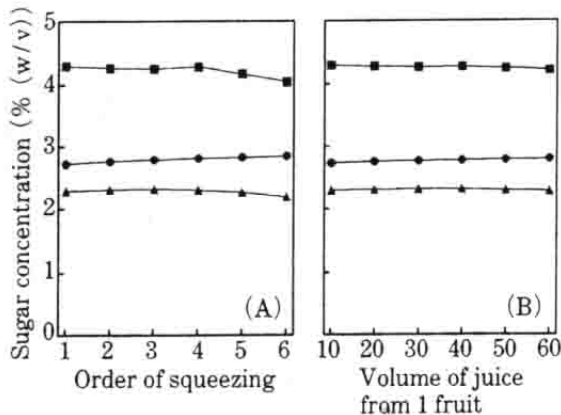


Fig. 4 Effect of squeezing rate on sugar concentration in 'Sakikubo Wase' Satsuma mandarin

A, Juice was squeezed gradually and collected in 10 ml segments ;

B, Calculated values by the values in the left figure (A) ;

■, Sucrose ; ▲, Glucose ; ●, Fructose

分析すれば、エタノール抽出法と同様な信頼性の高い糖濃度測定値が得られることが明らかとなった。ウンシュウミカンについては、この方法によるとエタノール抽出法とは糖組成比がやや異なる測定値が得られるが、本実験の結果と、一般にウンシュウミカンの Brix 値や酸もほとんど果汁を用いて測定されていることを併せて考慮すると、一定の搾汁条件で果汁を得て、測定値が果汁の

糖濃度であることを明記すれば、特に問題はないものと考えられた

なお、本実験における搾汁から HPLC 分析試料作成までの時間は約 3 分、HPLC 分析が終了するまでは約 20 分であった。

### 3. 冷蔵およびマイクロ波処理による搾汁液のショ糖分解抑制

搾汁液の保存温度およびマイクロ波処理が各糖濃度の変化に及ぼす影響を Fig. 5 に示した。マイクロ波処理を行わず室温で 24 時間保存したものは、ウンシュウミカンについては各糖濃度の変化は認められなかった。しかし、メロンでは 24 時間後、イチゴ、ニホンナシおよびブドウでは 5 時間後に、それぞれショ糖の還元糖への分解が起こっていた。4°C で保存すると、室温保存に比べて糖組成の変化は軽減されたが、イチゴ、ニホンナシおよびブドウでは保存 5 時間後からショ糖の分解が認められた。一方、ブドウ以外の果実においては、マイクロ波処理を行ったものは室温に保存しても 24 時間後まで糖組成の変化が認められなかった。しかし、ブドウでは、室温保存 5 時間後からショ糖の分解が認められ、これを 4°C (データ略) で保存しても同様の結果であった。

なお、マイクロ波処理時間は  $35 \pm 5$  秒 (平均  $\pm$  標準偏差、以下も同様)、処理直後の試料温度は  $87.2 \pm 5.2$ °C であった。また、ブドウ以外の果実では、処理直後におけるマイクロ波処理および無処理の糖濃度の間に有意差はなかったが、ブドウでは処理中にショ糖の分解が認められた。

Fig. 5 のようにブドウの搾汁液のショ糖分解量が多く、またマイクロ波処理の効果が低かった理由として、ブドウのインペルターゼ活性が他の果実類より高いこと<sup>2)</sup>およびブドウのインペルターゼは耐熱性を有すること<sup>4)</sup>が考えられる。

### 4. マイクロ波加熱処理と膜濾過による HPLC 分析用試料のショ糖分解抑制

ブドウについて、マイクロ波加熱またはメンブランフィルター濾過の処理が、水希釈した搾汁液のショ糖分解に及ぼす影響を Fig. 6 に示した。セルロースアセテート膜のメンブランフィルターを使用し、マイクロ波処理を行わない場合は、ショ糖の分解が認められた。マイクロ波処理の場合、20 秒処理ではショ糖分解の軽減効果は低かったが、30 秒処理では 48 時間後まで各糖濃度に変化が認められなかった。しかも、マイクロ波処理直後の各糖濃度は無処理のものとの間に有意差が認められなかった。次に、セルロースアセテート膜とセルロース混

合エステル膜のメンブランフィルターとを比較すると、後者の方がショ糖の分解を軽減したが、十分な効果は得られなかった。なお、濾過直後における2種のフィルター処理間の各糖濃度には有意差は認められなかった。

ブドウ以外のデータは省略するが、セルロースアセテート膜のメンブランフィルターを使用し、マイクロ波処理を行わない場合は、ウンシュウミカンでは48時間後まで各糖濃度の変化は認められず、メロン、イチゴおよびニホンナシではショ糖の分解がおこった。マイクロ波処理およびセルロース混合エステル膜メンブランフィルターのショ糖分解の軽減効果は、ブドウと同様であった。

なお、マイクロ波処理直後の試料温度は、処理時間20, 30秒において、それぞれ $77.5 \pm 5.6^\circ\text{C}$ 、 $96.2^\circ\text{C} \pm 2.7^\circ\text{C}$ であった。

#### 5. 水希釈が果汁のショ糖分解に及ぼす影響

Fig. 5とFig. 6におけるブドウのマイクロ波無処理の結果を比較すると、搾汁液を原液で保存した方がはるかにショ糖の分解速度が速い。ブドウ以外の果実でも、同様の現象が認められた。そこで、Fig. 7にブドウ搾汁液の蒸留水による希釈がショ糖分解に及ぼす影響を示した。その結果、水希釈は明らかにショ糖分解の抑制作用があり、希釈倍率が高いほどその効果が高いことがわかった。

#### 6. 果実搾汁液の糖分析における簡易試料調製法の設定

供試した果実類の中で一般にインベルターゼ活性が最も高いブドウについては、搾汁液を直ちに水希釈し、濾過およびマイクロ波加熱を行う処理がHPLC分析の試料調製法として有効と考えられた。

他の果実類については、上記の方法の他に、搾汁直後の液をマイクロ波処理することにより、その後のショ糖分解を軽減できることが明らかとなった。しかし、ウンシュウミカン<sup>5)</sup>、メロン<sup>6)7)</sup>、イチゴ<sup>8)</sup>およびニホンナシ<sup>9)</sup>において、果実の成熟に伴うインベルターゼ活性の変化について検討されており、未熟な果実ほど活性が高い傾向が報告されている。そのため、今回は適熟果を用いた検討であるが、やや未熟な試料も対象にすることを想定すると、ブドウにおいて推奨した方法がより安定的であると考えられた。

以上の結果を総合して、果実類の糖分析における簡易試料調製法を作成し、Fig. 8に示した。このHPLCの設定条件では、試料注入時間も含めた1試料当たりの測定時間が15~18分程度であり(18分はソルビトールを測

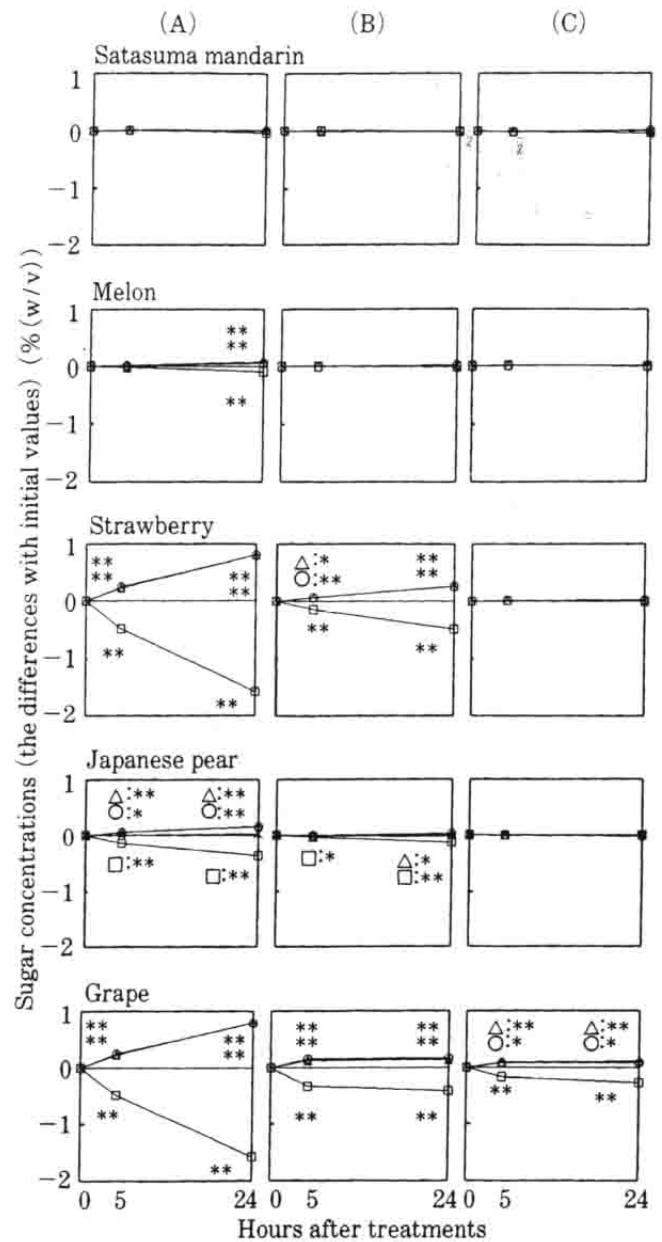


Fig. 5 Effect of microwave treatment or temperature on sucrose degradation of squeezed juice

A, Kept at room temperature (24-27°C);

B, Kept at 4°C;

C, Juice of 30 ml was heated to boiling with microwave oven and cooled in running water, and then kept at room temperature.

□, Sucrose; △, Glucose; ○, Fructose; ×, Sorbitol;

\*, \*\*, Significant at 5% (\*) or 1% (\*\*) level by t-test with immediately after treatment

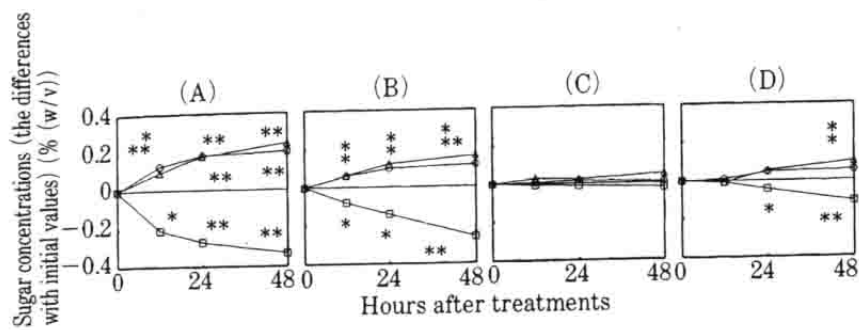


Fig. 6 Effect of microwave or filtration treatments on sucrose degradation of diluted (200×) grape juice

- A, Filtered through a membrane filter made of cellulose acetate ;
  - B, Filtered through a membrane filter made of cellulose acetate, and then 3 ml×5 samples were heated with microwave oven for 20 seconds, and cooled in running water ;
  - C, Same as (B) but heating time was 30 seconds ;
  - D, Filtered through a membrane filter made of mixed cellulose ester.
- Samples were kept in an auto sampler of HPLC equipment (at 31-36°C) ;  
 □, Sucrose ; △, Glucose ; ○, Fructose ;  
 \*, \*\*, See Fig. 5

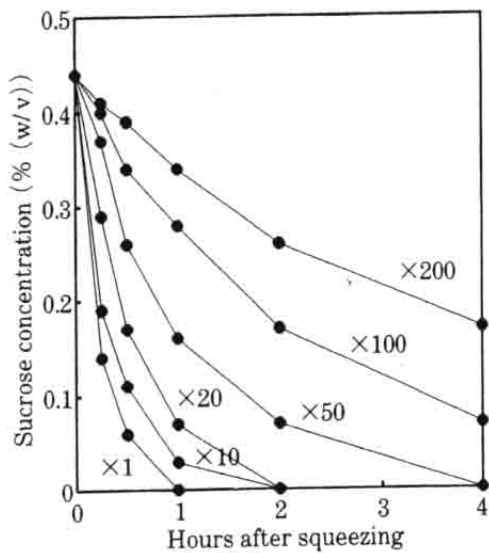


Fig. 7 Effect of dilution with distilled water on sucrose degradation of 'Muscat Bailey A' grape juice

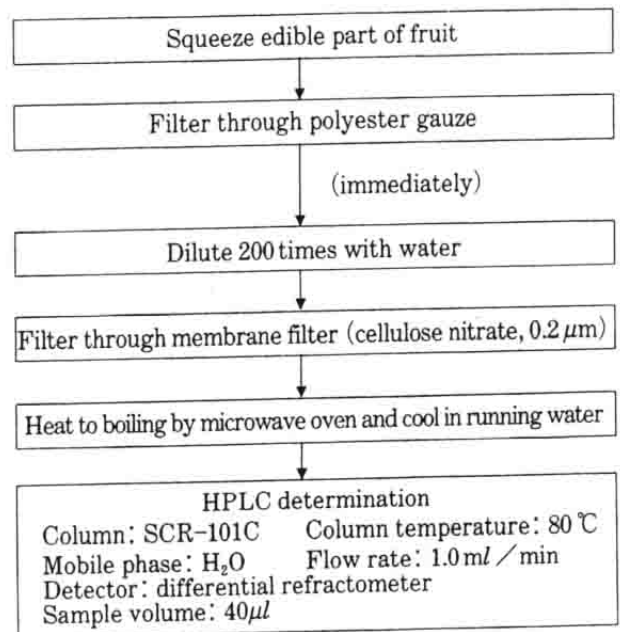


Fig. 8 An example of simplified preparation for HPLC analysis of sugar concentration in fruits

Squeezed juice from fruits except grape may be stored for 24 hours after microwave treatment (see Fig. 5).

定する場合), 多数の試料を扱えるものと考えられた。

要 約

ウンシュウミカン, メロン, イチゴ, ニホンナシおよびブドウの5種類の果実について, HPLCにより糖を測定する場合の, アルコール抽出に代わる前処理法とし

て、搾汁液を用いる簡便な方法を検討した。

(1) 各果実において、室温下で搾汁し、直ちに HPLC 分析することにより、エタノール抽出と同様の信頼性を有する測定値が得られた。なお、ウンシュウミカンでは搾汁法とエタノール抽出法により糖組成にわずかながら差異が認められたが、これは搾汁液と残さ中の糖組成が異なるためと考えられた。また、ウンシュウミカンは、搾汁率の違いがわずかながら果汁の糖組成に影響を与えるので、一定の方法で搾汁を行う必要がある。

(2) 搾汁液を24時間、また、搾汁液を希釈、濾過した試料を48時間それぞれ室温下で保存したところ、ウンシュウミカンでは糖組成の変化は認められなかったが、他の果実ではショ糖の分解がおこった。ブドウでは希釈液、ブドウ以外の果実では搾汁液および希釈液について、それぞれ電子レンジを用いてマイクロ波処理すると、簡便にショ糖分解を軽減できることが明らかとなった。

(3) 以上の結果から、果実の搾汁液を用い、マイクロ波加熱を適宜行う前処理法により、HPLC で多数試料の糖濃度を簡便に測定できることが明らかとなった。

#### 文 献

- 1) 濱野 恵・今田成雄・松尾孝則・長岡正昭：園学雑誌, **61** (別2), 456 (1992).
- 2) 藤原孝之・坂倉 元・伊藤 寿・本庄達之助：食科工, **46**, 24 (1999).
- 3) ADVANTEC 総合カタログ '97-'98 (東洋濾紙株式会社, アドバンテック東洋株式会社, 東京), p. 143 (1996).
- 4) NAKANISHI, K. and YOKOTSUKA, K.: *J. Ferment. Bioeng.*, **69**, 16 (1990).
- 5) KATO, T. and KUBOTA, S.: *Physiol. Plant.*, **42**, 67 (1978).
- 6) HUBBARD, N.L., HUBER, S.C. and PHARR, D.M.: *Plant Physiol.*, **91**, 1527 (1989).
- 7) IWATSUBO, T., NAKAGAWA, H., OGURA, N., HIRABAYASHI, T. and SATO, T.: *Plant Cell Physiol.*, **33**, 1127 (1992).
- 8) POOVAIAH, B.W. and VELUTHAMBI, K.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **110**, 258 (1985).
- 9) YAMAKI, S. and MORIGUCHI, T.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **57**, 602 (1989).

(平成10年6月10日受付, 平成10年9月18日受理)