

## 食品酸化劣化の迅速・精確な評価方法の確立(1)

誌名	高知県工業技術センター研究報告 = Reports of Kochi Prefectural Industrial Technology Center
ISSN	09168729
著者名	遠藤,恭範
発行元	高知県工業技術センター
巻/号	49号
掲載ページ	p. 26-30
発行年月	2018年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 食品酸化劣化の迅速・精確な評価方法の確立（第1報） ～油脂加工食品の賞味期限設定～

遠藤 恭範

## Establishment of Rapid and Accurate Evaluation Method for Food Oxidative Degradation(Part1) Setting Shelf Life Limit of Fat Processed Foods

Yasunori ENDO

食品の分析において、非常に煩雑で試験時間が長い、また、試験方法や分析者によって結果の不確かさが大きくなりやすい項目が存在する。特に油脂を用いた食品の劣化指標となる酸価（AV）や過酸化価（POV）は、公定法では再現性や信頼性の高いデータを得ることが難しい。そこで、油脂加工食品の酸化劣化について、化学発光（ケミルミネッセンス：CL）を応用した評価方法で数値化を試みたところ、化学発光量と官能試験結果の間に関係が見られ、賞味期限の設定に有効であることが示唆された。

### 1 はじめに

食品の分析手法や規格値は食品衛生法及び日本農林規格（JAS）等で詳細に規定されており、酸価や過酸化価も定められているが、油脂を使った加工品は再現性のある分析結果が得られないことが多い。

実際に異臭や風味の変化に関するクレームを受けた油脂加工食品サンプルについて、公定法に準拠した分析を行うと、結果として規格範囲内の正常な値が得られ、実状と分析値の間で整合性が見受けられない。

このことは油脂の酸化開始メカニズムに原因が多い。加工食品における油脂の酸化は、内部に熱を貯蔵しているケースを除いて、一般的に空気（酸素）に触れる食品表面から始まる。しかし、油脂分析の公定法では前処理によりサンプル全体を均一化するため、酸素に直接触れないサンプル内部も分析に供与されることになり、結果として分析値が低い傾向となってしまう。

食品の表面の油脂酸化を分析する方法として、バイアルに入れた油脂加工食品を加熱しながら固相抽出をすることで、油脂の揮発成分をガスクロマトグラフで分析するヘッドスペース法や、食品の表面に光を当てて、油脂の劣化により発生するカルボニル化合物とアミノ酸の反応により生成する蛍光物質と強度を測定する蛍光法がある。しかし、前者は同定された揮発成分と酸化した油脂との関連が明確であることと検量線の作成が必要であり、後者は油脂の酸化生成物とタンパク質が反応する環境を持つ加工食品でないと分析できない。

そこで、化学発光（ケミルミネッセンス）分析に

着目した。この分析方法は物質の酸化に伴う化学的変化の過程で発生する化学発光を計測し、その発光量を積算することで、物質の酸化（劣化）状態を定量化することができる。

酸化のプロセスは、物質が空気中の酸素により酸化を始めると、物質内部に酸素原子(O)を2つ持つ過酸化物が生じる。この過酸化物は非常に不安定であり、2分子が反応してアルデヒド（ケトン）と水酸化物と酸素が生成する Russel 反応を引き起こしたり、すぐに近くの有機物から水素(H)を引き抜く形で反応し安定な酸化物へと変化する。このプロセスは油脂の酸化劣化も同じであり、最初に脂質過酸化物が生成した後、酸化二次生成物であるアルデヒド体やケトン体が順次生成され最終的にカルボン酸へと変化する。

化学発光は酸化物に至るまでに生成する不安定な過酸化物から発生する。化学発光の発生メカニズムについて簡単な模式図を図1に示す。

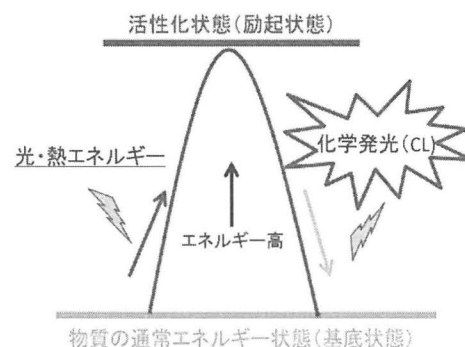


図1 化学発光の発生メカニズム

物質は原子と電子の配列で構成されていて、電子のエネルギーが最も低い状態を基底状態という。物

質が外部から熱や光などのエネルギーを受けると電子が遷移して励起状態になる。しかし、この励起状態は不安定であり、物質は元の安定した基底状態に戻ろうとして、過剰なエネルギーを光エネルギーとして放出する。これを化学発光（ケミルミネッセンス：以下CLとする）と言う。過酸化物生成は前述の励起状態と同じ状態であり、過酸化物が安定化に向かって反応する時に微弱なフォトンレベルでのCLを発生させる。

いくつかの油脂食品は過酸化物価とCLとの間に相関があると報告されており、ポテトチップスやインスタントラーメン等で観察例がある。本研究では従来の分析手法で信頼のあるデータが得られにくい油脂加工食品の酸化劣化について、CL分析を応用して数値化を試みたので、これを報告する。

## 2 試験

### 2.1 試料

試料とする油脂加工食品はビスケット類を選択した。ビスケット類は小麦粉、糖類、食用油脂及び食塩を主原料として、混合機、成型機及びビスケットオーブンを使用して製造した食品を指す。

ビスケットは直径50mm以内の大きさで、遮光フィルムで包装された市販品（以下、試料とする）を用意した。また、油脂の使用を極力抑えたビスケット（以下、ノンフライとする）も市販品で用意した。

### 2.2 装置及び方法

CL分析は極微弱発光検出分光システム（東北電子産業株式会社製 CLA-FS3）を使用した。システムの構成を図2、分析条件は表1に示す。



図2 極微弱発光検出分光システム

表1 CL分析条件

分析時間	20min (1200sec)
加熱温度	100°C
分析雰囲気	空気 (分析室環境)
偏光フィルター	無
分析容器	ステンレス製シャーレ

ビスケットはステンレス製シャーレに1枚入れて

分析することとし、結果は縦軸にビスケット1g当たりのCL量（カウント数）、横軸に分析時間（単位：sec）としてn=2~3の平均値をグラフにした。

## 3 結果及び考察

### 3.1 油脂の使用量とCL量の関係

油脂加工食品のCL分析の有効性を確かめるため、油脂の使用量とCL量の関係を確認した。ノンフライを用意してブランクとし、この表面に市販のサラダ油を0.2g程度塗布した試料（以下、サラダ油塗布とする。）と、市販のサラダ油を塗布した後オーブントースターを用い1300Wの熱量で90秒加熱した試料（以下、サラダ油塗布90秒加熱とする。）を試作した。これらのCL量を比較したグラフを図3に示す。

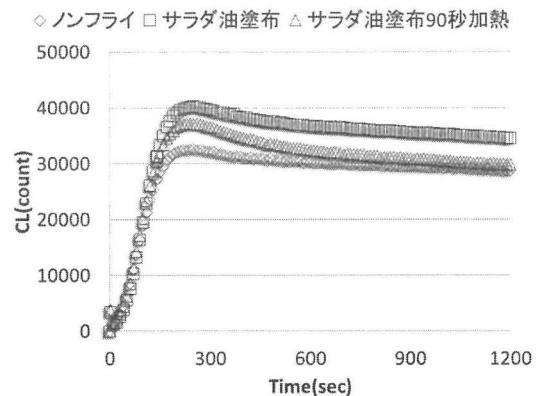


図3 油脂の使用量及び加熱の有無によるCL量比較

ノンフライサンプルと比較してサラダ油塗布サンプルはCL量が多い。これは新たに塗布したサラダ油の酸化に起因すると考えられ、油脂が多いほどCL量が多くなる傾向が確認される。

また、サラダ油塗布90秒加熱サンプルでは加熱しない試料よりもCL量は低下した。これはビスケットを加熱する（焼く）ことにより、もとよりビスケットに存在していた油脂と塗布されたサラダ油の酸化が素早く進行し、CLを発生しない酸化物に変化していると考えられる。

これらの結果より、CL分析はビスケットに存在する過酸化物量を数値化することにより、油脂の使用量を比較できるほか、CL量の増減により油脂の酸化劣化の状態が判断できると推察する。

### 3.2 CL分析における装置ノイズの影響

CL分析で得られる数値の精度を確認するため装置ノイズの影響を評価した。分析容器となるステンレス製シャーレを、サンプルを入れずに同条件で分

析を行い、数回使用したシャーレ（シャーレA及びB）と未使用のシャーレ（シャーレC及びD）についてCL量を比較したグラフを図4に示す。また、表2に各シャーレのCL量に関する基本統計量を示す。

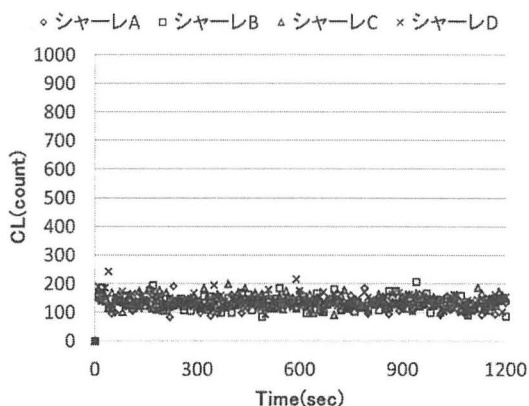


図4 シャーレのCL分析

表2 シャーレのCL量に関する基本統計量

シャーレ	平均値	標準偏差	変動係数
A	128.02	23.51	0.1836
B	132.59	25.51	0.1924
C	139.60	25.72	0.1842
D	140.57	26.10	0.1857

表2より変動係数は各シャーレそれぞれ0.183～0.193の範囲内であった。また、図3に示したノンフライサンプルのCL量平均値は実測値で約54900であることから、ノイズの割合は約0.23～0.26%と算出された。このことから、今回の油脂加工食品のCL分析は、装置のノイズの影響をほとんど受けないことを確認した。

### 3.3 ビスケットのCL分析

#### 3.3.1 分析値の精度評価

製造日と賞味期限が同じである4袋から試料を2枚ずつランダムに採取して合計8枚（サンプルA～H）をCL分析を行った。結果を図5に示す。

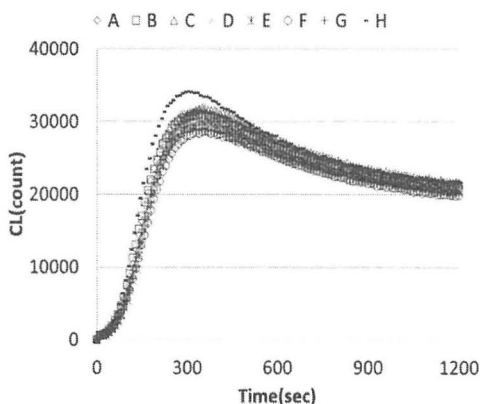


図5 試料のCL量のばらつき

表3 試料のCL量に関する基本統計量

平均値	22446
標準偏差	1097.8
変動係数	0.049

これらのCL量について基本統計量を表3に示す。8つのCL量から算出された変動係数は0.049と非常に小さい値を示し、各データ間のばらつきはほとんどないと言える。

よって、油脂加工食品のCL分析は測定サンプル数を増やさなくても、ばらつきの少ない精度の良いデータが得られることが示唆される。

#### 3.3.2 保管期間とCL量の関係

製造日と賞味期限が同じである試料を3袋用意し、(A)すぐに分析をする試料（製造すぐ開封）、(B)24℃恒温の部屋に放置して賞味期限終了まで保管した試料（製造6カ月後開封）、(C)賞味期限終了後さらに6ヶ月間恒温の部屋に保管した試料（製造12カ月後開封）に分け、それぞれ袋から2枚ずつ取り出しCL分析を行った。図6にそれぞれの試料のCL量を示す。

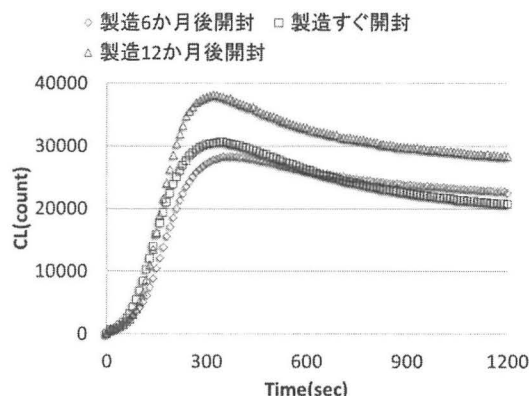


図6 製造後保管期間別のCL量

最初に現れるピークは、ビスケット内に当初から蓄積されている過酸化物質由来するCLであり、CL量はその蓄積量を表す。また、分析時間が経過するごとにCL量は減少し、徐々に安定に向かうのは、未だ酸化されていなかった物質が、分析中の熱エネルギーを受けて一定量の過酸化物質を生成し始めるためである。

図6より、(A)製造すぐ開封の試料と(B)製造6カ月後開封の試料の結果を比較すると、分析開始300秒以降に現れる最初のピークの高さが、(B)製造6カ月後の試料では低下することが確認された。また、(C)製造12カ月後開封の試料では、製造すぐ開封の試料よりも最初のピークの高さが上昇することも確認された。

CL 分析に並行して、それぞれの試料の食味 (官能) 試験も行った。その結果を表 4 に示す。

表 4 ビスケットの保管期間と食味の関係

製造すぐ開封	喫食可
製造 6 カ月後開封	喫食可
製造 12 カ月後開封	喫食不可

製造後 6 カ月までの試料であれば通常の風味で喫食することができるが、賞味期限を大幅に超えた製造後 12 カ月の試料になると、油脂が酸化した臭いが強くなり風味が変わって喫食できなかった。

よって、CL 分析と官能試験の間には、CL 量 30000 前後をボーダーラインとして喫食の可否が判断できる可能性が示唆された。

一般的に食用油の酸化と CL 量との間には比例関係があることが知られている<sup>1)</sup>が、本研究結果では、油脂加工食品について製造後の保管期間と CL 分析の間に相関を見いだせなかった。

しかし、試料の保管状態を考慮すると次のような仮説を立てることができる。

製造後のビスケットは全く酸化していないわけではない。極端に言えば油脂を使用した直後から酸化が始まっている。製造後すぐに開封した試料では CL 分析での最初のピークは開封時にビスケットが内包していた過酸化物を検出していると考えられる。

賞味期限となる 6 か月を経過する時には、当初存在した過酸化物は減少して酸化物へと移行し、保管している間に新たに発生した過酸化物を最初のピークとして検出するため減少すると考えられる。実際に製造後 6 カ月を経過するまでに、ビスケットが袋内の空気 (酸素) を消費して酸化し始め、試料の小袋が徐々に圧縮され真空状態となる様子を確認している。

さらに製造後 12 か月を経過すると、小袋は内部のビスケットの輪郭が分かるほど真空状態を呈するほどになる。この時ビスケットの油脂は酸化プロセスがサイクル化する自動酸化となり、酸素は自給され外部からの供給は必要ない。よって、生成した過酸化物量は製造直後よりも増え、また測定中の加熱による過酸化物の生成量も増えて CL 量が全体的に大きくなっているものと考えられる。

### 3. 4 クレーム品の公定法及び CL 分析

#### 3. 4. 1 クレーム品の公定法による分析

試料と同じ種類のビスケットで異臭が発生したクレーム品 5 種類 (クレーム品 A~E) について、公定

法による酸価及び過酸化物価の分析を行った。

公定法は日本油化学会の「基準油脂分析試験法」にある油脂の劣化度評価法に基づいて行った。酸価は水酸化カリウムを用いた常法、過酸化物価は酢酸-クロロホルム法に準拠した。分析サンプルは試料であるビスケットを約 5mm 四方程度に乳鉢を使って粉碎した後、有機溶媒 (石油エーテル) を使って含まれる油脂を抽出したものを使用した。各クレーム品の酸価 (以下、AV とする。) 及び過酸化物価 (以下、POV とする。) の値を表 5 に示す。

表 5 ビスケットクレーム品の AV 及び POV

クレーム品	AV	POV
A	0.6	24
B	0.9	17
C	0.9	24
D	0.5	3.6
E	0.5	3.3

油脂加工食品に関する AV 及び POV の安全基準として、菓子指導要領 (昭和 52 年環食第 248 号) より油脂を 10 重量%以上含む菓子類では①AV が 3 を超えかつ PV が 30 を超えるものであってはならない、②AV だけで 5 を超え、または PV だけで 50 を超えるものであってはならないと規定されている。表 5 の結果からクレーム品は全てこの基準範囲を満たしている規格上は適合品である。このことより、異臭という実際の現象と公定法での分析結果の間に整合性は確認できなかった。

#### 3. 4. 2 クレーム品の CL 分析及び賞味期限の基準ライン策定

3. 4. 1 で用いた同じクレーム品について CL 分析を行った。その結果を図 7 に示す。

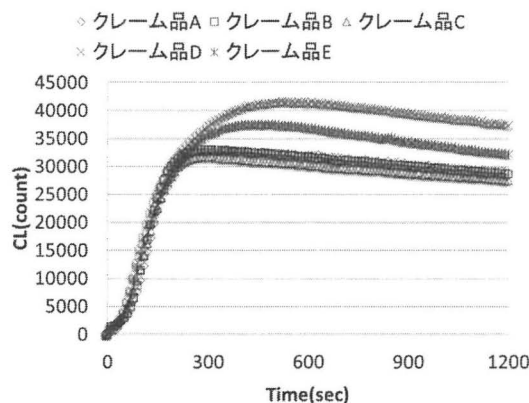


図 7 クレーム品の CL 量

クレーム品のグラフは図 6 で見られるような極大となるピークは確認されず、CL 量は適当な分析時間で最大となった後、徐々に減少する軌跡をたどる。

極大ピークが確認されないことは、サンプル内に当初から存在する過酸化物は少ないと考えられ、酸化がある程度進行している状態であると思われる。また、CL量が全体的に大きいことから、加熱によるエネルギーを得て新しく生じる過酸化物は多く、酸化されやすい物質が多く存在している状態であると考えられることから、クリーム品は全体的に酸化劣化が進んでいるものと思われる。

次に、図6及び図7で得られた分析時間内のCL量の最大値及び平均値を表6に示す。

表6 各サンプルのCL量最大値とCL量平均値

サンプル	CL量最大値	CL量平均値
製造すぐ	30620	22450
製造 6 カ月後	28360	21880
製造 12 カ月後	38150	28030
クリーム品 A	33130	28130
クリーム品 B	33160	28120
クリーム品 C	31880	26960
クリーム品 D	41750	35250
クリーム品 E	49650	31610

※サンプル1g当たり 下一桁四捨五入

クリーム品を含む喫食不可となるサンプルのCL量の最大値は31000より大きく、また、CL量の平均値は26000より大きい。これは喫食可である試料の各値と差別化できると考える。

したがって、CL分析において喫食の可否を決める値は、測定時間内のCL量の最大値及び平均値の両方を指標に使うことで策定可能であると考えられる。

#### 4. まとめ

油脂加工食品の酸化劣化を、公定法では酸価及び過酸化物価という指標で追跡するが、CL分析はその

原理から酸化の過程を捉えている過酸化物価をターゲットとして評価しているため、酸化劣化の経時変化を追跡することができる。

また、CL分析は公定法で行う前処理を必要とせず、サンプルの粉碎を行わないそのままの形状で機器分析するため、実際に酸化が進んでいる表面の情報を収集することができ、かつ簡易な操作で再現性の高い結果を得ることができる。

今回、異臭が発生したクリーム品について公定法で評価した場合、基準の範囲内となり実際の現象と分析結果との整合性は確認できなかったが、CL分析では、最大値及び平均値を官能試験の結果を合わせて比較することにより、喫食の可否を区別できることが分かった。この評価方法を応用して賞味期限設定も可能である。

CLを数値化することでサンプルの酸化によるわずかな変化も捉えることができ、見た目では判断できないサンプルの比較も可能であることから、CL分析は製造後のごく初期段階からの酸化劣化を経時的に捉えることができる。食品分野におけるCL分析は、酸化劣化の進行状態を迅速かつ精確な分析で数値化＝「見える化」することができ、賞味期限設定や寿命予測などの品質管理の高度化につながるものと思われる。

#### 参考文献

- 1) 大澤善次郎：ケミルミネッセンス、丸善(株) (2003) 126-130