総 説

基準油脂分析試験法の最近の進歩

橋 本 哲 太 郎

工業技術院中国工業技術試験所（呉市広町 15,000）

Recent Developments in Standard Methods
For the Analysis of Fats and Oils

Tetsutaro HASHIMOTO

Government Industrial Research Institute, Chugoku
(15,000 Hiromachi, Kure, Hiroshima 737-01)

はじめに

日本油化学協会は昭和 27 年 11 月に油脂及び油脂製品試験法部会を設置して、基準となる油脂分析試験法の制定に着手し、これまでに昭和 31 年、41 年、46 年の 3 回にわたって「基準油脂分析試験法」を刊行した。その後の社会情勢の変化に伴う基準分析法に対する新しい要請及び分析技術の進歩によって、新規分析法の追加、既存分析法の改訂などが行われ今日に至っている。本稿では、これら最近の分析法について、取り上げた背景、意義、方法の要点などを概観することによって、最近における我が国の基準油脂分析試験法の進歩の跡をたどてみたい。

1 昭和 46 年刊行「基準油脂分析試験法」
制定までの経緯

油脂及び油脂製品試験法部会（以下、部会と略称）が初めて「基準油脂分析試験法」を成書として刊行したのは昭和 31 年 5 月であるが¹⁾、その後約 10 年を経過して改訂の必要が認められ、40 年 5 月に部会内に改訂作業のための 5 小委員会が組織されて全面的な検討が行われ、さらに新規分析項目を加えたものと合わせて、昭和 41 年 10 月「基準油脂分析試験法」として再び刊行された²⁾。

分析試験法の進歩及び専門化に対処するため、部会内に原料及び脱脂かすを対象とする原料委員会、油脂を対象とする油脂委員会、標準ガスクロマトグラフ法の確立を目的とするガスクロ委員会が昭和 41 年 9 月設置された。これら各委員会では当時各方面からの要請にこたえて、種々の分析項目について多くの合同実験を実施するなどして審議された結果、油脂原料、脱脂かす関係として粗灰分、粗繊維、ウレアーゼ活性度を、油脂関係としてオキシラン酸素、固体脂指数、脂肪酸メチルエステル調製法、脂肪酸組成（ガスクロマトグラフ法）などが制

定された。

昭和 41 年 10 月刊行の「基準油脂分析試験法」の在庫がわずかになったのを機に、44 年 10 月から既設の試験法について全面的な見直しが再び行われた。特に、油脂原料・脱脂かすについては、これまでの原料・脱脂かす一般とは別に大豆、綿実、コブラ、サフラワーの 4 原料及びそれぞれの脱脂かすが別項目として分析法が制定された。改訂作業が完了し、前記した粗灰分、オキシラン酸素などの項目も合わせて、現在利用されているルーズリーフ形式の「基準油脂分析試験法」が昭和 46 年 10 月刊行された。同時に、41 年刊行の分析書は絶版となった。今回刊行されたものは、従来のものに対して次の諸点が異なっている。1) コード番号が改訂され、コード番号末尾に制定年度が付記された。2) 試験法制定に際して行われた合同実験のデータ、調査結果などは協会誌に掲載される。3) 従来、制定された試験法は協会誌部会欄にいったん掲載された後、一括して図書として刊行されたが、今後は制定あるいは改訂の都度、協会から実費頒布される。従って、追加、差し替えの便利なルーズリーフ形式がとられた。

2 その後新規に追加された分析試験法

2・1 ガスクロマトグラフ法脂肪酸組成

TCD 検出器を用いるガスクロマトグラフ法による脂肪酸組成の基準法が制定されたのは昭和 45 年であるが³⁾、さらに FID 検出器を用いる方法が昭和 48 年制定された⁴⁾。これらの方法が制定されるまでには多数の機関の参加による合同実験が何回も重ねられた。その実験データは昭和 47 年 4 月ロサンゼルスで開催された第 1 回日米油化学合同会議で発表され、アメリカ側の強い関心を呼び、J. Am. Oil Chem. Soc. への投稿を要請され、2 報文として同誌に掲載されている^{5), 6)}。さらに、装置の進歩に伴って、FID 検出器を用いる昇温法による脂肪酸組成定量法が制定されると共に、三フッ化

ホウ素を用いる脂肪酸メチルの調製法が制定された。

各方面からの要望にこたえて、各種油脂の脂肪酸組成のデータ集作製の目的で部会内にガスクロデータ小委員会が設置され、出所の明らかな植物油脂 24 種、陸産動物油脂 3 種、水産動物油脂 11 種のデータが、昭和 53 年 1 月から約 2 か年間にわたって協会誌に収録された⁷⁾。

2.2 微量金属の定量

重金属試験法の検討が本格的に開始されたのは昭和 44 年ころからで、当時鉛、カドミウム、水銀などの毒性が大きな社会問題となり、一般の関心が高まっていた。それに伴って、各種公定書のヒ素、重金属試験法のような許容限度を判定する方法では満足できず、個別の金属を定量する試験方法が要望される情勢であった。そこで、委員会ではアンケート調査を行った結果を参考にして、試料調製法は灰化法と湿式分解法を、金属はまず鉛を対象に選び、定量法はジチゾン法による吸光光度法の検討から開始された。湿式分解法としては 30% 過酸化水素-硫酸による分解法の試案を作り、多くの実験を重ねると共にアンケート調査を行った結果⁸⁾、本法が基準法として採用された。定量方法としては、前記したように当初吸光光度法の検討がなされていたのであるが、その後の検討過程で急速に普及されて来た原子吸光装置を用いる方法が基準法として制定された。その間に得られたデータは、前記第 1 回日米油化学合同会議で発表されたのをはじめ、昭和 47 年 11 月協会創立 20 周年記念講演会その他で発表されている⁹⁾。その他の金属として、銅、カドミウム、ニッケル、マンガン、鉄が原子吸光法、ヒ素は吸光光度法が基準法として制定された。

2.3 油脂の安定性試験法

食用油脂が変質を起こすと風味が悪くなるだけでなく栄養価の低下を来すので、油脂の保存安定性を予測し、油脂の変質防止を行って、賞味及び使用限界を決めることは重要な課題である。これらの課題に対応するために、昭和 48 年に油脂安定性専門委員会が発足した。自動酸化、熱酸化、フライ、加水分解に対する安定性の中で、アンケート調査¹⁰⁾に基づいてまず自動酸化に対する安定性の審議から開始された。油脂の自動酸化に対する安定性試験法として、AOM 試験とオープン試験が実施された。AOM 試験は既に諸外国で公定法として採用されているものである。オープン試験は、試料油を 60°C の電気恒温器の中に置き、日数の経過に伴う試料油の POV、重量変化の測定ならびに官能検査による試料油の劣化状況を評価するものである。多くの合同実験の結果、AOM 試験は基準法として制定されたのに対し、オープン試験は次に述べる諸点があることから基準化にいたらなかった。重量法は、AOM 試験に比べ少量の試料量 (1g) で装置、測定法が簡便な利点があるが、電気恒温器の仕様の違いにより測定値にばらつきが認められ

る。また官能法は、試料を入れた 5 個のビーカーを恒温器におき、2 d ごとにビーカーを順次取り出し、放冷後試料をスプーンで取り、口に含んで風味に対応するあらかじめ定められた点数をつけ、規定の点数に到達する日数で安定性を表す方法である。この方法も装置、方法が簡便であるが、人の感覚に依存するため、経験のある官能検査員 (パネル) を養成する必要がある。これら両者の方法は新たに設定された「暫定油脂分析試験法」として公表された。

2.4 カルボニル価、アニシジン価

一般に油脂はその酸化の初期においてヒドロペルオキシドを主体とする過酸化物が生成、蓄積されるため、過酸化物価 (POV) を測定して劣化の程度を判定することができる。しかしながら、フライ油のように過酸化物の分解温度以上に加熱された油脂や劣化の進んだ油脂では、過酸化物がカルボニルを含む二次生成物に分解するため、POV が劣化の指標となり得ないことはよく知られている。油脂の劣化の程度の測定法として POV のほかに種々の方法があるが、カルボニル価とアニシジン価が基準化された。カルボニル価測定法としては、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを用いてカルボニル量を求める方法が再現性に優れていることが確認され¹¹⁾、基準法として採用された。また、アニシジン価は、油脂の酸化生成物の一つであるアルデヒドを測定対象とした指標であり、酢酸の存在下で *p*-アニシジン (*p*-メトキシアニリン) をアルデヒドと反応させ、黄色の反応生成物が生成する事実を利用したものである。合同実験の結果、満足すべき結果が得られ¹²⁾、基準化された。

2.5 ステロール

油脂食品中のステロール組成ならびに含有率は生化学的、栄養学的見地から重要であり、精度の高い定量法の確立が望まれているのに応えて、基準法が制定された。油脂中に含まれるステロールは微量であるので、損失なく効率的に分取する前処理操作を必要とする。方法には種々あるが、ステロールを抽出する手段として極めて簡単であり有効なジギトニン法及び TLC 法が採用された。合同実験の結果、コレステロールまたはフィトステロールを内標準物質とする TLC-GLC 及びジギトニン-GLC により精度よく定量できることが確認された¹³⁾。

上記の方法は、4-デスメチルステロールの分析を主目的とした方法であるが、これだけでは油脂の持つ特徴的ステロール組成が得られない場合が多い。ステロール組成のガスクロデータを協会誌に収録するに当たって、ガスクロデータ小委員会では、TLC により可能な限り、4-デスメチルステロール、4-モノメチルステロール及び 4,4'-ジメチルステロールに分別して、18 種の油脂のステロール組成データを昭和 56 年の後半、半年にわたって協会誌に収録した¹⁴⁾。

2.6 孤立トランス異性体

不飽和脂肪酸の二重結合は、水素添加、加熱、自動酸化などによって、その立体的配置がシス型からトランス型に転移する。トランス化は油脂の物理的性質に大きな影響を及ぼすので、特に硬化油の場合、トランス異性体含量の測定は極めて重要である。定量法には赤外スペクトル法、GLC 法などがあるが、前者については既に AOCS, IUPAC で採用されている。AOCS 法はベースライン法であり、一方 IUPAC 法は差赤外スペクトル法で、トランス異性体以外の特性ピークを、トランス異性体を含まない基質を補償側に加えることにより補正する方法である。油脂委員会では、赤外法を基準化するに当たって、IUPAC 法、AOCS 法について合同実験を実施して検討し、IUPAC 法は精度よい結果が得られたのに対し、AOCS 法はベースラインの引き方を修正することによって満足すべき結果が得られた¹⁵⁾。そこで IUPAC 法はほぼそのまま、AOCS 法は上記新しいベースライン法に修正したものが基準法として制定された。

2.7 ポーマー数

ポーマー数は豚脂に混入された異種動物性固形脂、特に牛脂を検出する目的で測定される指数である。この方法は、規定条件で豚脂から析出する飽和トリアシルグリセリンとその脂肪酸との融点差が、牛脂との混入により小さくなることを利用したものである。ポーマー数測定法は、既に JAS, IUPAC, AOCS で規定されているが、当協会基準法の中に制定の要望があり、ポーマー数専門委員会において検討が行われた。

ポーマー数の測定には、トリアシルグリセリンの分別に溶媒としてアセトンを用いる方法とエチルエーテルを用いる方法とがあり、両者が比較検討された。合同実験の結果¹⁶⁾、エチルエーテル法の方が幾分高い測定値を与える傾向を示し、またアセトン法よりもばらつきは小さかった。しかしながら、全体的に両方法の差は小さく、これらは測定値のばらつきの範囲内であることから、実質上差がないことと推定され、両方法とも基準法として採用された。なお、ポーマー数は一応の目安として牛脂検出のためのスクリーニングテストには利用し得るが、ポーマー数のみで牛脂混入を判定することは無理であろう。

2.8 モノアシルグリセリン

モノアシルグリセリン（モノグリセリド）には 1-及び 2-モノアシルグリセリンの 2 種類の異性体が存在する。通常の市販品は両者の混合物であり、その混合物中では約 90% が 1-モノアシルグリセリンである。モノアシルグリセリンの定量法としては、隣接する 2 個のヒドロキシル基と酸化反応を起こす過ヨウ素酸を用いる方法のほかに、GLC、カラムクロマトグラフィー、TLC

などの方法がある。IUPAC 及び AOCS では過ヨウ素酸を用いて 1-モノアシルグリセリンを定量する方法を定めている。しかし、乳化剤として用いる場合、実際の使用上両異性体を区別する必要がほとんど無いこと、また混合物中の両異性体の割合は時間の経過などにより変化することから、1-モノアシルグリセリンだけを定量するよりも、全モノアシルグリセリンを定量する方が、分析する立場から妥当と考えられる。そこで基準試験法として制定するに当たって、全モノアシルグリセリンの分析法が取り上げられることとなった。合同実験の結果¹⁷⁾ Hartman の方法に準拠し、全モノアシルグリセリンを直接定量する方法が基準法として定められた。この方法は機関内及び機関間のばらつきが極めて小さい。真値からの“かたより”については、飽和モノアシルグリセリンの定量の場合は小さいが、試料の不飽和度が増すに従って分析値が過大となる。

2.9 脂肪酸

これまでに制定された分析試験法はすべて油脂原料及び油脂が対象であった。昭和 57 年 2 月刊行された追補試験法で初めて脂肪酸を対象として次の諸項目が制定された。すなわち、試料採取方法、水分、灰分、色、融点、タイター、中和価、けん化価、ヨウ素価、不けん化物である。一般的には油脂を対象とする場合に比べて本質的相違はないが、脂肪酸であることにより、融点などの物理的性状、溶剤に対する性質、カルボキシル基による化学反応性の相違などを考慮して、油脂の分析試験法に比べてその一部が変更されている。

3 現在審議中の事項

油脂類の鑑別、検出については、鑑別専門委員会が現在、新しい方法の追加、従来法の見直しなどが行われている。新しい方法として各種機器分析法が採用され、鑑別、検出の有力な手がかりとなっている。油脂の検出法には呈色反応によるものが多く、これら大部分の方法はかなり古くに提案されたもので、呈色の原理、検出の感度、適用の範囲などで不明な点が多かった。委員会では実験的にこれら諸点の解明に努めて来たため、審議にかなりの年月を要している。現在、これまでに実施して来た実験結果のまとめの段階にあるので、いずれ協会誌に投稿され、一般の方々の目に触れることになろう。なお、基準法として成文化、刊行されるのは昭和 59 年と予定されている。

そのほか、各専門委員会が現在審議中の新規項目を列挙すると、酸化酸の定量、フライ油の熱安定性試験、NMR 法による固体脂の定量、GLC による脂肪酸含量、ロジン酸の定量、脂肪酸の安定性試験などがある。また GLC, HPLC などによる脂肪酸異性体、トリアシルグリセリンの分析法の審議も予定されている。

4 おわりに

最近における機器分析の進歩に伴う分析技術の向上は基準法の制定にも大きな影響をもたらしていることは改めていうまでもない。基準油脂分析試験法の今後の動向として、HPLC, NMR などの活用、さらに酵素の特性を利用する分析法がいずれ基準化されるものと予想される。

学術的国際交流を深めつつある今日、またガットスタンダードコード* への我が国の参加の情勢などから、分析試験法の国際的共通化の問題は重要である。日米油化学合同会議の際には部会で実施した合同実験結果を発表して、米国研究者との意見交換を行った。さらに、IUPAC の油脂及び同誘導体委員会の会議には毎回関係者が出席すると共に、同委員会の合同実験にも参加することによって国際的基準油脂分析試験法制定に参画している。基準油脂分析試験法の国際的情勢を述べることは本稿の関連で意義があると思うが、紙数の関係で省略した。

(付 記)

本稿は油脂及び油脂製品試験法部会各委員会から協会誌に投

* 貿易に対する技術的障害に関する協定

稿された記事から主として抜粋させていただいた。なお、引用文献は最小限にとどめた。

(昭和 57 年 4 月 22 日受理)

文 献

- 1) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法” 理化書院 (1956)
- 2) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法” 朝倉書店 (1965)
- 3) 油脂及び油脂製品試験法部会, 油化学, **19**, 261 (1970)
- 4) 基準油脂分析試験法, 2.4.21.2-73 脂肪酸組成 (FID 恒温ガスクロマトグラフ法)
- 5) S. Watanabe *et al.*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 357 (1973)
- 6) S. Watanabe *et al.*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 360 (1973)
- 7) 油脂及び油脂製品試験法部会, 油化学, **29**, 72 (1980)
- 8) 油脂及び油脂製品試験法部会, 油化学, **23**, 196 (1974)
- 9) 野口千秋ら, 油化学, **23**, 154 (1974)
- 10) 油脂及び油脂製品試験法部会, 油化学, **25**, 563 (1976)
- 11) 渡辺治男ほか, 油化学, **22**, 373 (1973)
- 12) 渡辺 寿ら, 油化学投稿中
- 13) 田村利武ら, 油化学, **25**, 853 (1976)
- 14) 油脂及び油脂製品試験法部会, 油化学, **30**, 894 (1981)
- 15) 平山晴男ら, 油化学, **27**, 606 (1978)
- 16) 飯久保彰ら, 油化学, **29**, 663 (1980)
- 17) 渡辺昭一郎ら, 油化学, **30**, 270 (1981)