ノ ー ト

曇り点測定方法の検討
固体脂専門委員会合同実験結果について

武谷 宏二^{*1}・横溝 和久^{*2}・青山 稔^{*3}・阿部島紀于^{*4}・大捕 雅志^{*5}・
坂田 正史^{*6}・鹿間 達雄^{*7}・田中 幸隆^{*8}・平田 芳明^{*9}・森 弘之^{*10}

- *1 雪印乳業株式会社 技術研究所 (〒350 川越市南台 1-1-2)
- *2 味の素株式会社 横浜工場 (〒230 横浜市鶴見区大黒町 7-41)
- *3 財団法人日本食品油脂検査協会 東京検査所 (〒103 東京都中央区日本橋浜町 3-27-8)
- *4 日本油脂株式会社 王子工場 (〒114 東京都北区豊島 4-18-11)
- *5 旭電化工業株式会社 食品油脂開発研究所 (〒116 東京都荒川区東尾久 8-4-1)
- *6 ミヨシ油脂株式会社 千葉工場 (〒260 千葉市新港 2-5)
- *7 社団法人日本油料検定協会 化学分析研究所 (〒231 横浜市中区山下町 71)
- *8 花王株式会社 鹿島研究所 (〒314-02 茨城県鹿島郡神栖町東深芝 20)
- *9 財団法人日本食品分析センター 名古屋支所 (〒460 名古屋市中区大須 4-5-13)
- *10 不二製油株式会社 研究所 (〒598 泉佐野市住吉町 1)

Modified Determination of Cloud Point for Fats and Fat Products
A Collaborative Study by Solid Fat Committee of The Japan Oil Chemists' Society

Koji TAKEYA^{*1}, Kazuhisa YOKOMIZO^{*2}, Minoru AOYAMA^{*3}, Toshiyuki ABESHIMA^{*4},
Masashi OTORI^{*5}, Masashi SAKATA^{*6}, Tatsuo SHIKAMA^{*7}, Yukitaka TANAKA^{*8},
Yoshiaki HIRATA^{*9}, and Hiroyuki MORI^{*10}

- *1 Snow Brand Milk Products Co., Ltd. (1-1-2, Minami-dai, Kawagoe-shi, 〒350)
- *2 Ajinomoto Co., Inc. (7-41, Daikoku-cho, Tsurumi-ku, Yokohama-shi, 〒230)
- *3 Japan Institute of Oils and Fats, Other Foods Inspection Foundation
(3-27-8, Nihonbashi-Hamacho, Chuo-ku, Tokyo, 〒103)
- *4 Nippon Oil & Fats Co., Ltd. (4-18-11, Toshima, Kita-ku, Tokyo, 〒114)
- *5 Asahi Denka Kogyo K.K. (8-4-1, Higashiogu, Arakawa-ku, Tokyo, 〒116)
- *6 Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd. (2-5, Shinminato, Chiba-shi, 〒260)
- *7 Japan Oil Stuff Inspectors (71, Yamashita-cho, Naka-ku, Yokohama-shi, 〒231)
- *8 Kao Co., (20, Higashifukashiba, Kamisu-machi, Kashima-gun, Ibaragi-ken, 〒314-02)
- *9 Japan Food Research Laboratories (4-5-13, Ohsu, Naka-ku, Nagoya-shi, 〒460)
- *10 Fuji Oil Co., Ltd. (1, Sumiyoshi-cho, Izumisano-shi, 〒598)

Three modified methods for measuring cloud point using a cooling bath in accordance with JIS (K 2269-1980) were compared with the present JOCS method for many kinds of oils. The results of five collaborative studies conducted by 10 laboratories indicated that statistical deviation among these methods were very little and that no significant differences could be found between these and presently used methods.

These modified methods facilitate cloud point measurement since the temperature of the cooling bath can be more easily controlled than the conventional methods.

1 緒 言

油脂の硬さを表す指標として固体脂含量の高い試料に対しては、上昇融点や軟化点がある。固体脂含量の低いものやサラダ油などの液状油試料に対しては、曇り点や冷却試験が採用されている。これらの試験法は、いずれも日本油化学協会編，“基準油脂分析試験法”で公定化されている^{1)~3)}。

近年、パーム油由来の分別油を含めて、各種の低融点脂が商品化されている。この低融点脂の品質基準や商取引における分析項目としては、上記の上昇融点及び軟化点と冷却試験との中間的な指標である、曇り点が採用されている。

しかし、曇り点の現行基準法については、冷却浴の温度制御など操作上の難点があることや、類似の国内外公定法^{4)~7)}との整合性を図るべきであるとの観点から、改訂を要望する意見が多かった。そこで、油脂及び油脂製品試験法部会・固体脂専門委員会では、現行基準法より簡便な改訂曇り点測定法の標準化を目的に、上述の背景をも勘案して一連の合同実験を実施した。

2 実 験

2.1 試 料

試料として、パームオレイン、大豆油、大豆微水添油及びそれらの混合油を用いた。試料の一般性状と脂肪酸組成を Table-1 に示した。

2.2 装置及び用具

装置は、Fig.-1 に示すように、温度計 (JIS B 7410-AP-39: -38~+42℃, 1/5℃ 目盛) をコルク栓 (15, 30 mm φ) にて固定した小試験管 (15 mm φ × 75 mm) と

Fig.-1 Apparatus for measuring cloud point.
(All dimensions are in millimeters)

大試験管 (30 mm φ × 150 mm) 及び冷却浴としてこれら全体を冷却できる容量のビーカー (1~2 L) を用いた。冷却浴用の寒剤は、日本工業規格⁴⁾に準じて、氷に水を加えて 0~+2.5℃ の温度が保持できるようにしたもの (以下、「第 1 冷却浴」と略記)、及び、砕いた氷に氷重量の 25% 以上の塩化ナトリウムを加えて -17.5℃ ~ -15℃ の温度が保持できるようにしたもの (以下、「第 2 冷却浴」と略記)、の 2 種類を用いた。

2.3 測定方法

試料を約 80℃ まで加温して完全に結晶を融解したのち、約 40℃ で小試験管に 4 mL 採取した。小試験管に温度計を固定したのち大試験管に取り付け、これを冷却浴に垂直に浸して冷却した。

試料温度の測定は、推定曇り点より 20℃ 高い温度から開始し、推定曇り点より 5℃ 高い温度になってからは、10~30 s おきに大試験管をビーカーから取り出し、試

Table-1 Properties and fatty acid composition of fats and oils.

Colab. No.	Sample	IV (Wijs)	mp (°C)	Fatty acid composition (%)								
				C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C _{16:1}	C ₁₈	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C ₂₀
1	Palm olein (POF)	55.9	22.7	0.4	1.1	39.0	—	3.6	44.9	11.0	—	—
	POF-Soybean oil mixture [50 : 50] ^{*1)}	93.3	18.1	0.2	0.6	23.7	0.1	4.4	34.1	32.5	4.2	0.2
2	Re-fractionated POF	61.3	14.9	0.2	1.1	35.4	—	3.8	46.7	12.3	0.3	0.2
3	Partially hydrogenated soybean oil (PHSBO)	115.4	19.4	—	—	11.5	—	5.0	41.1	38.8	3.3	0.3
	PHSBO-Soybean oil mixture [70 : 30] ^{*1)}	128.9	— ^{*2)}	—	—	11.2	—	4.5	27.9	49.8	6.4	0.2
4&5	POF	56.5	23.6	0.6	1.1	42.2	0.1	3.7	42.2	9.7	0.2	0.2
	POF-Soybean oil mixture [75 : 25] ^{*1)}	76.4	20.5	0.4	0.8	34.5	0.1	3.8	37.6	20.8	1.8	0.2
	POF-Soybean oil mixture [25 : 75] ^{*1)}	115.3	— ^{*2)}	0.2	0.3	18.0	—	3.7	27.0	44.4	6.2	0.2

*1) : blending ratio   *2) : not detected (below 15℃)

料の曇りを観察した。試料の一部が結晶化して曇り始めた時の温度を曇り点とした。

3 実験結果及び考察

5次にわたって合同実験を実施したが、これらの実験において、前述の第1冷却浴のみを使用する場合を「方法1」、最初に第1冷却浴を使用し、試料温度が10℃になってからは第2冷却浴を使用する場合を「方法2」、また、第2冷却浴のみを使用する場合を「方法3」と規定した。

3・1 改訂測定法による機関間の測定値差の検定

同一試料を用いて一定の方法で測定した場合の、機関間の測定値の差を検定するために以下の実験を行った。

[合同実験 No.1]

試料 (Table-1 参照—以下同じ) としてパームオレインを用いて、前述の「方法1」で10機関による曇り点測定を行った際の全測定値を Table-2 に、同じく試料にパームオレインと大豆油の50対50混合油を用いて「方法2」で行った全測定値を Table-3 に示した。この測定値を乱塊法配置の考え方⁸⁾によって分散分析した結果を Table-4、-5 に、繰り返し数3回の測定によるばらつきの程度 (95% 信頼限界幅—以下同じ) を Fig.

Table-2 Cloud point of POF by experimental method 1.

Lab.	Cloud point (°C)			Average (°C)	Range	Overall average (°C) and standard deviation
	Repetition					
	1	2	3			
a	12.0	12.5	12.2	12.23	0.5	av. : 12.17 σ_{n-1} : 0.479 [Coefficient of variation : 3.94%]
b	12.1	12.3	12.4	12.26	0.3	
c	12.3	12.2	12.4	12.30	0.2	
d	12.6	12.5	12.6	12.57	0.1	
e	12.4	12.4	12.5	12.43	0.1	
f	12.4	12.1	12.2	12.23	0.3	
g	11.4	11.3	11.4	11.37	0.1	
h	12.8	13.0	12.6	12.80	0.4	
i	12.0	12.3	12.2	12.17	0.3	
j	11.2	11.0	11.9	11.37	0.9	

Table-3 Cloud point of POF-soybean oil mixture by experimental method 2.

Lab.	Cloud point (°C)			Average (°C)	Range	Overall average (°C) and standard deviation
	Repetition					
	1	2	3			
a	6.0	5.6	5.5	5.70	0.6	av. : 5.64 σ_{n-1} : 0.629 [Coefficient of variation : 11.15%]
b	5.7	5.9	6.0	5.87	0.3	
c	6.3	6.6	6.1	6.33	0.5	
d	4.5	4.9	4.2	4.53	0.7	
e	5.7	6.0	6.0	5.90	0.3	
f	5.7	5.4	5.6	5.57	0.3	
g	4.6	4.7	4.7	4.67	0.1	
h	6.1	6.1	6.3	6.17	0.2	
i	6.4	6.2	6.3	6.30	0.2	
j	5.4	5.4	5.3	5.36	0.1	

Table-4 Analysis of variance for cloud point by experimental method 1.

Source	S.S.	D.F.	M.S.	F Value	Significance
Treatments	5.8441633	9	0.6493515	16.0717	** 0.000
Residuals	0.8080667	20	0.0404033		
Total	6.6522300	29			

Table-5 Analysis of variance for cloud point by experimental method 2.

Source	S.S.	D.F.	M.S.	F Value	Significance
Treatments	10.709203	9	1.189911	30.9121	** 0.000
Residuals	0.769867	20	0.038493		
Total	11.479070	29			

-2, -3 に示した。

分散分析表 4, 5 から明らかなように, 各機関間測定値の差は, 有意水準 1% 以下で有意であることがわかった。しかし, Table-2, -3 に示したように, 変動係数は, それぞれ, 3.94%, 11.15% であり, この値は IUPAC が標準法として採用する際の一つの目安としている 15% より小さかった。従って, 当委員会では油脂及び油脂製品のコンシステンシーの基準法について検討した場

合⁹⁾と同様に, 本合同実験における機関間の測定値の差は, 充分許容範囲内にあるものと判断した。

3.2 改訂測定法による測定値の比較

「方法 1」, 「方法 2」, 及び「方法 3」による測定値の比較をするため, 1~3 種の試料を用いて 9 または 10 機関により, 以下の合同実験を行った [合同実験 No.2 ~4]。

3.2.1 「方法 1」と「方法 2」との比較—繰り返しを含む 2 因子要因実験

パームオレイン (ダブルフラクション) を試料に用いて, 「方法 1」と「方法 2」の測定法で 10 機関による曇り点測定を行い, 測定法 (A) 及び機関 (B) を因子として測定値に対する影響を解析した。要因と水準ならびに分散分析表を Table-6 に示した。これから, 主効果 A, B ならびに交互作用 $A \times B$ のすべてが有意水準 1% 以下で有意であることがわかった。交互作用 $A \times B$ における測定値のばらつきの程度を Fig.-4 に示すが, 総体的に見て「方法 2」($=A_2$) の方が「方法 1」($=A_1$) より測定値のばらつきが小さいものと判定した。

3.2.2 「方法 1」と「方法 2」との比較—繰り返しを含む 3 因子要因実験

大豆微水添油及び大豆微水添油と大豆油の 70 対 30 混合油の 2 種の試料を用いて, 「方法 1」と「方法 2」で 9 機関による曇り点測定を行い, 測定法 (A), 機関 (B) 及び試料 (C) を因子として測定値に対する影響について解析した。要因と水準ならびに分散分析表を Table-

Fig.-2 Deviation of cloud point dependent on ten measuring lab. by experimental method 1. (Sample : POF)

Fig.-3 Deviation of cloud point dependent on ten measuring lab. by experimental method 2. (Sample : POF-Soybean oil mixture)

Fig.-4 Factors affecting cloud point of re-fractionated POF.

Table-6 Analysis of variance for cloud point.

Source	S.S.	D.F.	M.S.	F Value	Significance
A	0.793500	1	0.793500	24.2908	** 0.000
B	19.866833	9	2.207426	67.5743	** 0.000
A × B	10.601500	9	1.177944	36.0595	** 0.000
Residuals	1.306667	40	0.032667		
Total	32.568500	59			

Experimental factors and levels.

A : experimental method

A₁ : method, A₂ : method 2

B : measuring lab.

B₁ ~ B₁₀ : a~j

Table-7 Analysis of variance for cloud point.

Source	S.S.	D.F.	M.S.	F Value	Significance
A	85.5112	1	85.5112	367.1266	** 0.000
B	94.8513	8	11.8564	50.9033	** 0.000
C	1028.6008	1	1028.6008	4416.1078	** 0.000
A × B	37.0013	8	4.6252	19.8573	** 0.000
A × C	20.7156	1	20.7156	88.9388	** 0.000
B × C	23.6517	8	2.9565	12.6930	** 0.000
Between Blocks	0.1257	2	0.0629	0.2699	0.764
Residuals	18.1678	78	0.2329		
Total	1308.6254	107			

Experimental factors and levels.

A : experimental method

A₁ : method 1, A₂ : method 2

B : measuring lab.

B₁ ~ B₉ : a~i

C : kind of sample

C₁ : PHSBO, C₂ : PHSBO-Soybean oil mixture

Fig.-5 Factors affecting cloud point.

7に示した。これから、主効果 A, B, C 及び交互作用 A × B, A × C, B × C のすべてが有意水準 1% 以下で有意であることがわかった。Fig.-5 に交互作用 A × B 及び A × C における測定値のばらつきの程度を示した。交互作用 A × B から明らかなように、「方法 1」(=A₁) の方が「方法 2」(=A₂) より測定値のばらつきが小さ

かった。また、交互作用 A × C からは、「方法 2」の方が融点の高い試料 (=C₁) と低い試料 (=C₂) との測定値差が大きくなる傾向を認めた。

3・2・3 「方法 2」と「方法 3」との比較—繰り返しを含む 3 因子要因実験

パームオレイン, パームオレインと大豆油の 75 対 25

Fig.-6 Factors affecting cloud point.

Table-8 Analysis of variance for cloud point.

Source	S.S.	D.F.	M.S.	F Value	Significance
A	25.2376	1	25.2376	134.9457	** 0.000
B	5614.2123	2	2807.1062	15009.6473	** 0.000
C	73.1744	9	8.1305	43.4739	** 0.000
A × B	1.5634	2	0.7817	4.1799	* 0.017
A × C	17.5136	9	1.9460	10.4050	** 0.000
B × C	113.7999	18	6.3222	33.8050	** 0.000
Residuals	25.8088	138	0.1870		
Total	5871.3100	179			

Experimental factors and levels.

A : experimental method

A₁ : method 2, A₂ : method 3

B : kind of sample

B₁ : POF, B₂ : POF-Soybean oil mixtureB₃ : POF-Soybean oil mixture <lower mp than B₂>

C : measuring lab.

C₁ ~ C₁₀: a ~ j

混合油及びパームオレインと大豆油の 25 対 75 混合油の 3 種を用いて、「方法 2」と「方法 3」で 10 機関による曇り点測定を行い、測定法 (A)、試料 (B) 及び機関 (C) を因子として測定値に対する影響について解析した。要因と水準ならびに分散分析表を Table-8 に示した。これから、主効果 A, B, C, 交互作用 A×C 及び B×C が有意水準 1% 以下で、また、交互作用 A×B については有意水準 2% 以下で有意であることがわかった。Fig.-6 に交互作用 A×B, A×C 及び B×C における測定値のばらつきの程度を示した。交互作用 A×B, A×C から、「方法 2」(=A₁) と「方法 3」(=A₂) による測定値のばらつきにほとんど差は認められなかった。また、交互作用 B×C は、融点の低い試料 (=B₃) を対象にした場合に、機関間の測定値のばらつきが大きいことを示した。

以上の実験を経合的に検討した結果、改訂測定法、す

なわち、「方法 1」、「方法 2」、「方法 3」による曇り点測定値の差は本質的にはないものと判断した。

3.3 改訂測定法と現行基準法による測定値の比較

「方法 3」と現行基準法との比較を行うため、3.2.3 と同一の試料を用いて、分析・試験業務を専業とする 3 機関による曇り点測定を実施した [合同実験 No.5]。

この場合、Table-9 に示したように 3 機関で繰り返し合計 8 個の測定値が得られたが、3 機関を 1 機関にまとめて処理した。換言すると、測定法 (A) 及び試料 (B) を因子にとり、8 個のデータによる、繰り返しを含む 2 因子要因実験として解析した。要因と水準ならびに分散分析表を Table-10 に示した。これから、主効果 B と交互作用 A×B だけが有意水準 1% 以下で有意であることがわかった。すなわち、分散分析表ならびに Fig.-7 に示すように、「方法 3」と現行基準法との間に測定値の有意差はなかった。また、交互作用 A×B につい

Table-9 Cloud point measured by experimental method 3 compared with the present method.
[°C]

Experimental method Kind of sample Repetition	The present method (A ₁)			Method 3 (A ₂)		
	POF (B ₁)	POF-Soybean oil mixture (B ₂)	POF-Soybean oil mixture (B ₃) < lower mp than (B ₂) >	POF (B ₁)	POF-Soybean oil mixture (B ₂)	POF-Soybean oil mixture (B ₃) < lower mp than (B ₂) >
1	11.7	9.4	-0.4	13.7	10.2	-0.6
2	11.5	9.5	-0.6	13.8	10.3	-0.8
3	11.8	9.7	-0.6	13.5	10.2	-0.8
4	12.8	9.1	0.6	12.6	8.0	-0.6
5	13.0	9.1	0.7	12.5	7.9	-1.0
6	13.0	9.2	0.7	12.2	8.2	-1.0
7	12.3	9.4	-0.4	13.6	10.4	-0.6
8	12.1	9.5	-0.5	13.5	10.4	-0.6
Average	12.28	9.36	-0.06	13.18	9.45	-0.75

Table-10 Analysis of variance for cloud point.

Source	S.S.	D.F.	M.S.	F Value	Significance
A	0.1200	1	0.1200	0.2774	0.601
B	1491.8879	2	745.9440	1724.4886	** 0.000
A × B	5.0412	2	2.5206	5.8272	** 0.006
Residuals	18.1675	42	0.4326		
Total	1515.2167	47			

Experimental factors and levels.

A : experimental method A₁ : the present method, A₂ : method 3

B : kind of sample B₁ : POF, B₂ : POF-Soybean oil mixture,

B₃ : POF-Soybean oil mixture < lower mp than B₂ >

Fig.-7 Factors affecting cloud point.

では、「方法3」の方が融点の高い試料(=B₁)と低い試料(=B₃)との測定値差がやや大きくでる傾向にあったが、現行基準法の場合と比べてその差はわずかであった。

4 総 括

曇り点は、一般に融点測定が困難な油脂の物性を判定

するのにも有効な測定法として、油脂業界における商取引や工程管理、製品管理などに適用されている。

当固体脂専門委員会では、曇り点測定の実行基準法の改訂を目指して5次にわたる合同実験を行った。すなわち、JISに準じた2種類の冷却浴の各1種または2種を組み合わせ使用し、3種の改訂測定法について検討した。

その結果、3種の改訂測定法による測定値間のばらつきの程度に本質的な差はなく、また、現行基準法による測定値と比較しても統計的な差がないことがわかった。従って、本合同実験で実施した測定法は、JISに準じた2種類の冷却浴のいずれを用いても、現行基準法より冷却浴の温度制御がはるかに簡便で、測定操作の容易な方法として、改訂基準法化することが適当であると判断した。

本研究の推進ならびに発表にあたり、終始御指導と御べんたつを賜りました、日本油化学協会・油脂及び油脂製品試験法部会、浅原照三部会長、橋本哲太郎幹事に深謝申し上げます。

〔平成元年(1989年)5月12日受理〕

文 献

- 1) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法”, 2.3.4.2-71
- 2) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法”, 2.3.4.3-86
- 3) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法”, 2.3.7-71
- 4) JIS, K 2269-1980
- 5) 日本公定書協会編, “化粧品原料基準”, (1984) p.1387
- 6) AOCS Official Method, Cc 6-25
- 7) BSI, BS 2000 : Part 219 : 1983
- 8) 例えば, 朝木善次郎, “実験計画法”, 共立出版 (1980) p. 67
- 9) 河田 司ら, 油化学, 36, 41 (1987)