

油脂の変敗試験法 (1)

山下 太郎*

1. はじめに

油脂はいうまでもなく食品の成分として、栄養的にも風味の上からもきわめて大切な要素であると同時に、食品の調理加工における材料、あるいは手段としての利用も非常に広いものである。しかしながら、油脂の宿命——というより地球上におけるほとんどすべての有機化合物の宿命かもしれないが——ともいうべき酸化による変敗がつねに問題となる。

したがって油脂そのもの、もともと油脂を含む食品または油脂を用いて調理加工した食品の評価に当たって、油脂の面からみた食品としての適性あるいは価値の判断には、油脂含量、脂肪酸組成その他脂溶性ビタミンなど、栄養の見地からの分析も必要であるが、やはりもっとも重要な点は油脂の酸化による変質の度合、あるいは酸化に対する抵抗性すなわち安定性ではないかと考える。もちろん、油脂食品の風味は原料油脂の種類と品質にもよるものではあるが、上述の変敗度により左右されることが多い。

ここでは原料油脂を含めた油脂食品についての油脂の酸化による変敗度の試験法を主体に解説し、さらに経時変化試験とか虐待試験による安定度試験について述べることにする。

2. 油脂の自動酸化

油脂は普通の状態に放置しておくと、結局は自然に劣化して品質が低下する。油脂の劣化は普通の食品が微生物の作用によって劣化する腐敗とは異なり、油自体は微生物に非常に侵され難く、ことに食用油脂のように油脂以外の成分を含まぬものはまず腐敗ということは考えられない。しかしマーガリンのように水分とともにタンパク質などを含む場合は、微生物的变化をうけて、これが原因となって二次的な酸化や分解、すなわち β 酸化を起こすことがある。

油脂や油脂食品を放置しておくと油が劣化するのは、主として自動酸化によるものであり、酸敗試験法の解説

の順序としては、自動酸化の機構について多少説明しておく必要があると考えるので、ここではごく簡単に述べる。

まず、グリセリドの脂肪酸鎖のどこかに外部からの光線とか放射線のようなエネルギーが与えられ普通には二重結合に隣接するメチレン基の水素原子1個がとれて遊離基ができ、ここに空気中の酸素が結合して遊離基をもった酸化物になり、これが他の脂肪酸鎖から水素を取ってヒドロパーオキシドができる。一方水素を抜かれた他の脂肪酸鎖は、遊離基となって同じような反応を繰り返す。すなわち一種の連鎖反応が起こる。

以上が酸化の第一過程で、ヒドロパーオキシドは非常に不安定でさらに熱やその他のエネルギーで容易に二次的に変化してゆき、たとえば開裂してアルデヒドのようなカルボニル化合物ができ、脱水によりケトグリセリドとなり、あるいは酸化や重合により高重合物となる。

酸敗臭の原因となるのは、主としてカルボニル化合物などの脂肪酸の酸化された小分子のものである。

ヒドロパーオキシドはこのように不安定ではあるが、酸化の初期にはきわめて急速に生成し、その分解や重合の速度を上廻るために過酸化物価を測定してゆくとその上昇は急であるが、ある点を越すと分解の方が勝ってきて過酸化物価はしだいに下降するのが普通である。一方分解物は増加するので臭いはますますわるくなる。

以上が自動酸化のごくあらましである。なお酸化脂肪の害は、過酸化物に原因するものももっとも大きいといわれ、事実即席ラーメンなどでかつて問題を起こしたのは、過酸化物価の異常に高いものがほとんどである。

3. 脂肪酸化の程度と食品としての評価

油脂食品が脂肪の酸化によって風味や品質の低下を来たす程度、すなわち食品としての評価はすべての油脂食品について同じとはいえない。

たとえば食用油脂は油脂加工食品に比較すれば僅かの酸化でも風味上問題になるし、同じ食用油でもサラダ油のように、精製度が高く生のまま食用に供されるのはとくに厳密に評価される。また相当酸化していても魚の

* 食品油脂検査協会

干物などはあまり苦にならない。大体の傾向としては加熱調理しないで供される油脂食品は初期の酸化でも鋭敏に感受され、加熱処理するものはある程度まで酸化していても感じられないことが多い。これは油脂の酸化によって生じた過酸化物質や、低分子の分解生成物の加熱による分解、または揮散によるものもしくは焙焼等により生成した香気成分、炭化物、加熱により強調された香辛料の香味などによる臭気成分の相殺、希釈、吸着効果あるいはフライなどの場合には置換、溶出の効果等によるものと考えられる。しかし揮発成分である香気とか臭気は官能的には摂取時の食品の温度に影響されることが多いし、また加熱による酸化の促進ということもあるので一概にはいえない。

4. 油脂の酸化度の測定法

油脂の酸化の度合を数字的に示すためには、油脂が酸化した場合の変化の状態を、その時点において何らかの形で知る必要がある。もともと油脂は単一の化学物質でないうえに、脂肪酸の酸化はすでに述べたように、きわめて複雑なものであり、各種の反応が酸化の進行とともに段階的にまた相互に影響を与え、しかもオーバーラップしつつ行なわれるので、解明が困難であると同時に、酸化の度合をこれらの反応生成物の理化学的性質から適確に数字として求めることもむずかしい。

とくに酸化のごく初期における油脂の香味の損失いわゆる戻り臭などは、生成物もごく微量であって、官能試験以外に指数としてこれを捕えることは、実際問題として不可能といっても過言ではない。しかしある程度酸化の進んだ状態では、酸化生成物の化学的特性を利用して、酸化の程度を推定する資料となしうるような各種の方法が考えられるのである。推定の資料という意味は、ある一つの指数、たとえば過酸化物質を例にとれば、これは自動酸化の初期から中期までの状態をよく表わすが、いわゆる酸敗の段階に入った中期から後期にかけては、測定の対象の主体であるヒドロパーオキシドの生成と分解の平衡は、むしろ下向線をたどるようになるので、この時期における酸化状態を示す指数としては不十分である。このように単一の数値で酸化程度を表わすことは、前提条件のない限り無理であって、いいかえれば、すべての段階における油脂の酸化度を示すユニバーサルな方法あるいは指数というようなものはないということにもなる。

以上のような油脂の酸化の特徴および酸化度の測定の意味を理解した上で、以下に述べる試験を行なうことが必要である。

4.1 試料油の調製法

一般に酸化度に関連をもつ諸数値を測定するためには、測定の時点における試料中の油脂の状態をできるだけ変えずに抽出することが肝要である。測定だけをいかに厳密に行なっても試料油がその時点における原試料中の状態と違っては無意味である。

したがって、脂肪含量の測定に通常用いられるソックスレー抽出装置をそのまま使用することはできない。また抽出を容易にするための前処理として、脱水の目的に普通の加熱乾燥器を用いたり、あるいは抽出液の溶剤を最後まで常圧で蒸留除去することもよくない。

通常の油脂食品の場合はつぎの方法のいずれかにより前述の目的に適う試料油の抽出調製を行なうことができる。

4.1.1 乾燥試料

即席ラーメンやビスケットのような乾燥試料の場合は、約20メッシュに破碎した試料を、油分含量と必要試料油量に応じて適当量とり、容量で約5倍量のエチルエーテルまたは石油エーテルを加え1~2分間振り混ぜ抽出し、上澄から先に乾燥口紙でろ過する。大部分の溶剤を湯浴上で留去し、残った少量の溶剤は吸引減圧下に、40°C以下の湯浴中で加温蒸発除去し残分を調製試料とする。

4.1.2 含水試料

ソーセージや天ぷらのような水分の多い試料は、細切磨砕した試料を乳パチまたはピーカーに「4.1.1」と同様適当量とり、これに無水硫酸ナトリウムおよび/または乾燥したセライトを加えながら乳棒またはガラス棒でよくかき混ぜ均一の粗粉状になったならば混合物を三角フラスコに移し、エチルエーテルまたは石油エーテルを混合物の容量の3~5倍量加え、「4.1.1」と同様に振り混ぜ抽出ろ過したのち溶剤を留去し調製試料を得る。

4.1.3 O/W型乳化試料

マヨネーズのような水中油滴(O/W)型の乳化試料は、よくかき混ぜて均質とした試料を100ml程度のピーカーに適当量とり、「4.1.2」と同様に処理し、あとは「4.1.1」と同様にして溶剤を除去し調製試料とする。

4.1.4 W/O型乳化試料

マーガリンやバターのような、油中水滴(W/O)型の乳化試料は、ピーカーにとりかき混ぜながら60°C以下の温度で融解し、直ちに40°C以下の温所に移し、しばらく静置して水分および固形分の大部分を沈澱させる。必要以上の加温をさげ上澄を乾燥口紙でろ過し試料油とする。

4.1.5 容量採取法

油脂の変敗試験法

上記の方法は一旦試料油を調製する方法であるが、この方法は試料を溶剤で抽出した溶液を脱水ろ過したのち、ピペットで一定容ずつ2本の試料を溶液のままとるもので、一つはあらかじめ乾燥ひょう量したフラスコにとり溶剤を蒸留除去したのち、105°Cで乾燥して重量をはかり試料の重量を求め、他の一つはそのまま、たとえば酸価測定の場合にはエチルエーテル抽出液に中性エタノールを適量加えて、ただちに滴定するという方法である。過酸化物質の場合にはクロロホルムを溶剤として抽出すれば、そのまま試薬を加えて測定に用いることができ、また含水試料たとえば豚の脂肉などの場合は、細切した試料をミキサーに入れこれに適量の溶剤を加えて約30秒はげしくかき混ぜ抽出を行なったのちろ紙でろ過し、溶剤層から（必要ならば脱水して）一定容ずつをピペットで採取すればよい。

備考：(1) エチルエーテルは一度蒸留し初留および残留各10%を除く。

(2) 石油エーテルは蒸留して40~60°Cの画分を硫酸で数回洗浄し、硫酸が着色しなくなったら1回水洗し、さらに水酸化ナトリウム溶液で1回洗浄したのちふたたび水洗し、無水硫酸ナトリウムで脱水して再蒸留する。

(3) 蒸留に使用するガラス器具の接続部は、すべてすり合わせのものを用いる。

(4) 溶剤の減圧留去の際水分を完全に除くには、1~2 mlのアセトンを加えるとよい。

(5) 調製試料油はただちに測定に使用すべきであるが、やむをえぬ場合は不活性ガスで空気を置換し密センして冷蔵庫に保存する。

4.2 酸 価

一般に油脂中にはグリセリドのほか、脂肪酸が遊離の形で存在しその量は油脂の精製度、加水分解度などに関係がある。酸価はこの遊離脂肪酸の量を示す指数で、油脂の種類によって一定の値を示さず変数であるが、油脂の品質判定には重要なものである。

油脂食品の場合は原料油脂およびその他の原料から受け継がれた酸価に、調理加工中および加工後の酸化による変敗、あるいは加水分解による酸価が加算されることになる。

上述の理由から油脂食品における酸価は原料油脂の精製度にもよるため、2~3以下の比較的低酸価の場合は酸価がただちに酸化または分解度を示すとはいえないが、酸価のかなり高い場合は相当酸化も進んでいるとみて差支えない。

4.2.1 原料油脂に対する基準法（日本油化学協会法）

(1) 定 義

試料 1g 中に含まれている遊離脂肪酸を中和するに要する水酸化カリウムの mg 数をいう。

(2) 装置および用具

300ml 三角フラスコ、25ml ビュレット

(3) 試 薬

i) N/10 水酸化カリウム—エタノール標準溶液：水酸化カリウム 6.4g をできるだけ少量の水に溶かし、95%エタノールで希釈して 1l とし 2~3 日放置後ろ過して炭酸塩、酸性炭酸塩などの不純物を除き標準する。

ii) 溶剤： 1~2 : 1 エチルエーテル—エタノール混液、あるいは 1~2 : 1 ベンゼン—エタノール混液。これらの混液は使用直前にフェノールフタレインを指示薬として上記 N/10 水酸化カリウム標準溶液で中和しておく。

iii) フェノールフタレイン溶液：純フェノールフタレイン 1g を 95%エタノール 100ml に溶かす。

(4) 方 法

試料をその推定酸価に応じてつぎに示す採取量に準じて正確にはかりとる。

酸 価	試料採取量 (g)
0~ 5	20
5~ 15	10
15~ 30	5
30~100	2.0
100 以上	1.0

これに中性の溶剤 100ml およびフェノールフタレイン溶液数滴を加え、試料が完全に溶けるまで十分に振り混ぜる。固体試料の場合には湯浴上で加温融解したのち溶剤を加えて溶解する。これを N/10 水酸化カリウム標準溶液で滴定し指示薬の薄桃色が30秒続いたときを終了点とする。

$$\text{酸価} = 5.611 \times A \times F / B$$

ただし A : N/10 水酸化カリウム標準溶液使用量 (ml)

F : N/10 水酸化カリウム標準溶液のファクター

B : 試料採取量 (g)

4.2.2 調製試料油に対する変法

実際問題として 10g もの試料油を抽出調製することは、操作上時間的経済的負担を増加するので、精度を犠牲にし試料採取量を適当に減らし、これに応じて溶剤使用量、フラスコ容量あるいはビュレット容量を縮小するのが実用的である。

試料 1~2g を 100ml 三角フラスコに正確にはかりとり、これに中性の溶剤 20ml およびフェノールフタレ

ン指示薬数滴を加え試料を完全に溶解し、これを（必要ならばマイクロビュレットを用いて）N/10 水酸化カリウム標準溶液で滴定する。以下計算は基準法と同様に行なう。

備考：(1) N/10 水酸化カリウム標準溶液は、保存中溶剤の蒸発や炭酸ガスの吸収によるファクターの変化を極力防止するとともに、必要に応じて標定し直す。

(2) フェノールフタレインは、炭酸に感受性があり、大気中の炭酸ガスの影響を無視できない場合があるので注意を要する。

(3) 溶剤を回収し再使用する場合には、組成の変化に注意する。つぎのアルカリ水溶液で滴定したときは廃棄した方がよい。

(4) 水酸化カリウム水溶液を用いて滴定することもできるが、この場合は滴定中ににごり終末点が見分けにくくなるので、フェノールフタレイン溶液を1~2mlに増す。なお滴定終了後のエタノール濃度が60%を下らないように注意する（滴定により生成したセッケンの加水分解をさけるため）。

(5) 試料油が濃色の場合には次のような方法のいずれかによるとよい。

i) 指示薬としてアルカリブルー6B、チモールフタレインなどを用いる。

ii) フェノールフタレインろ紙を液外指示薬として用いる。

iii) 側管つきの三角フラスコを用いる。

iv) 試料採取量を少なくし、溶剤と指示薬を多くする。

v) 試料を溶剤に溶かし、さらに飽和食塩水を加えフェノールフタレインを指示薬として食塩水層の着色で終末点を決定する。

vi) 電位差滴定による。

4.3 過酸化物価

すでに述べたように油脂酸化の初期には成分、香味などの変化は数字的にはほとんど現われないが、過酸化物は除々に増加してくる。この時期は誘導期（Induction period）と呼ばれており、その長さが油脂の酸化に対する抵抗性すなわち安定度に関係している。この期間をすぎると急に酸化は激しくなり、酸敗とこれにともなう風味の損失が始まり、過酸化物価の上昇は加速度的になる。またカルボニル化合物の生成もほぼこれに平行している。

過酸化物価の測定法はいろいろあるが、そのうち最も一般的なものは、氷酢酸中で過酸化物がヨウ化カリウムからヨウ素を遊離する反応に基いている。油脂の過酸化物価というのは通常その反応酸素含有量を油脂1kgに対

するミリ当量で表わした数値である。油脂の酸化過程で生成する過酸化物はその生成の条件たとえば温度などによって性質がかなり異なり、被還元性に難易がある。したがってコントロールされた促進酸化でない限り、いかなる油脂でも酸化の状態を予想することは無理である。しかしともかく酸化の程度を知るためには、今のところ過酸化物測定が最良の策ともいえるものである。油脂中に過酸化物が存在する場合酸化の起きていることは確かである。ただ問題はその油がどの程度酸化しているかということが正確にわからないのである。

各国の公定書にみられる現行の過酸化物測定法は、米国で広く行なわれているホイーラー法と、欧州でもっぱら用いられているリー法の二主流に大別される。それぞれ多少変法されてAOCS法およびIFC法などに採用されているが、両法の主たる差はホイーラー法が空気の下にヨウ素滴定を行なうのに対し、リー法は空気を断って行なう点である。

4.3.1 AOCS 法

(1) 定義

本法は規定の条件でヨウ化カリウムを酸化するすべての物質を、試料1,000gに対する過酸化物の反応酸素のミリ当量として定量するものである。

(2) 装置および用具

i) 1mlメスピベット

ii) 250ml共セン付三角フラスコ

(3) 試薬

i) 酢酸-クロロホルム混液：氷酢酸とクロロホルムの3:2V/Vの混液

ii) ヨウ化カリウム溶液：ヨウ化カリウムを水に飽和させたもの

iii) N/10チオ硫酸ナトリウム標準液：正確にファクターを標定したもの

iv) N/100チオ硫酸ナトリウム標準液：N/10チオ硫酸ナトリウム標準液を新たに沸騰冷却した水で正確に10倍に希釈したもの

v) 1%デンプン溶液

(4) 方法

5.00±0.05gの試料を250mlの共セン付三角フラスコに正確にはかり取り、酢酸-クロロホルム混液30mlをスピベットで加えずかき振り混ぜて試料を完全に溶解する。これにヨウ化カリウム飽和溶液0.5mlをメスピベットで加え、密センしてときどき振り混ぜながら正確に1分間おいたのち水30mlを加える。絶えず激しく振り混ぜながらN/10チオ硫酸ナトリウム標準液で滴定し、着色のほとんど消失したときにデンプン溶液0.5mlを

油脂の変敗試験法

加えて、ふたたび滴定を続け無色となる点を終末点とする。

注) 滴定値が 0.5ml 以下の場合は N/100 チオ硫酸ナトリウム標準液を用いて定量をやり直す。別に試薬のみの空試験をその日に行なうこと。

$$\text{過酸化物価 (me/kg)} = \frac{S \times N \times f \times 1000}{\text{試料重量 (g)}}$$

ただし、S = 試料の滴定数 (ml) = 本試験の滴定数 - 空試験の滴定数

N = チオ硫酸ナトリウム標準液の規定度

f = チオ硫酸ナトリウム標準液のファクター

4.3.2 IFC 法 (IUPAC 法)

250ml の共セン付フラスコを純粋な不活性ガスで満たし、下表の予想過酸化物価に相応した量の試料を正確にはかり取る。クロロホルム 10ml を加えて振り混ぜ、すみやかに試料を溶かしたのち 15ml の氷酢酸と 1ml のヨウ化カリウム飽和溶液とを加える。クロロホルムと氷酢酸はあらかじめ純乾燥不活性ガスを通じて酸素を除いておく。

過酸化物価	試料採取量 (g)
0~150	2 ~1.2
150~250	1.2~0.8
250~400	0.8~0.5
400~700	0.5~0.3

フラスコは密センして暗処に 5 分間おいたのち、水 75ml を加えて激しく振り混ぜ、遊離したヨウ素を過酸化物価が 100 以下の場合 N/500、100 以上の場合 N/100 チオ硫酸ナトリウム標準液で、1% デンプン溶液を指示薬として滴定する。同時に同様にして空試験を行ない、空試験の結果が 0 でなければならない。本法では過酸化物価は試料 1g 当たりの酸素のマイクログラム数で表わす。

$$\text{過酸化物価 } (\mu\text{g/g}) = 8000 \times aNf/P$$

ただし、a = 滴定数 (ml)

N = チオ硫酸ナトリウム標準液の規定度

f = チオ硫酸ナトリウム標準液のファクター

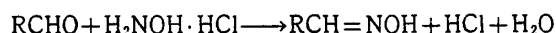
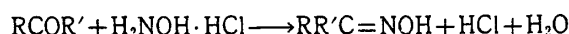
P = 試料採取量 (g)

4.4 カルボニル価

酸化した油脂中に、カルボニル化合物の生成することはすでに述べたが、これらの量を測定することにより、油脂の酸化の度合を知ることができるわけである。

これにはいろいろの方法が提案されているが、現在広く用いられているのはオキシム法および 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法である。オキシム法の原理はケトンおよびアルデヒドのようなカルボニル基を有する化合物が、塩酸ヒドロキシルアミンとオキシムを作る反応を利用したもので、次式で示したような反応によって生成し

た塩酸を、アルカリで滴定して滴定値から計算により、カルボニル化合物を定量的に求める方法である。



オキシム法の代表的なものとして、カウフマン (Kaufmann) 法について解説する。

4.4.1 オキシム法 (カウフマン法)

(1) 定義

規定の方法に基づき、試料に塩酸ヒドロキシルアミンを作用させた場合に、オキシムを生成するカルボニル基を試料 1kg に対するミリ当量数で表わしたものをいう。

(2) 試薬

i) 塩酸ヒドロキシルアミン溶液：35g の塩酸ヒドロキシルアミンを 160ml の水に溶かし、95% エタノールで希釈して 1l としたもの。なお塩酸ヒドロキシルアミンについては次の試験を行ない、遊離酸を含まないものを用いる。塩酸ヒドロキシルアミン 10g を 50ml の水に溶かし、ブロムフェノールブルーを指示薬として N/2 水酸化ナトリウム溶液で中和点 (緑色) まで滴定したとき、8ml 以上のアルカリを消費してはならない。

ii) ピリジン・ブロムフェノールブルー溶液：20g のピリジンと 0.25ml のブロムフェノールブルーの 4% エタノール溶液を試料の溶解性により 95% エタノール、n-オクチルアルコール、またはエチルヘキシルアルコールで希釈し 1l としたもの。すなわち、試料が冷エタノールに難溶の場合は代わりに n-オクチルアルコール、またはエチルヘキシルアルコールを使用する。

iii) N/2 または N/10 水酸化ナトリウム-メタノール (90%) 標準溶液：正確にファクターを標定したもの。

(3) 方法

250ml の三角フラスコに 30ml の塩酸ヒドロキシルアミン溶液と、100ml のピリジン・ブロムフェノールブルー溶液をそれぞれピペットで加える。この混液は緑青色を呈さなければならない。これに試料を (減量法により) 正確にはかり入れ、還流冷却器を付して 1 時間加熱する。反応が終わったら室温まで冷却し、反応で生じたピリジン塩酸塩を N/2 または N/10 水酸化ナトリウム-メタノール標準溶液で滴定し、指示薬の色が空試験 (本試験と平行してその都度行なう) の色と合致する点を滴定の終末点とする。

$$\text{カルボニル価 (me/kg)} = A \times B \times F \times 1000 / C$$

ただし、A = 本試験の水酸化ナトリウム標準溶液の使用量 (ml)

B=水酸化ナトリウム標準溶液の規定度
 F=水酸化ナトリウム標準溶液のファクター
 C=試料採取量 (g)

備考：(1) 試料採取量は、試料の新鮮度（または酸化度）、溶解性、色の濃淡などによって適宜増減せねばならぬが、一応の目安を示すと普通の市販食用油で 10g 程度、固体脂で 5g 程度までで、自動酸化を受けたものはほぼこれに準ずるが、揚物に使用した油のように着色度が高いものは少な目にする方がよい。このほか試料採取量は、ヒドロキシルアミンが 100% 以上過剰になるよう制約されているが、極端に劣化した油以外はとくに考慮しなくてよい。

(2) 水酸化ナトリウム標準溶液の濃度は、通常 N/2 でよいが、とくにカルボニル価の低い試料の場合や試料採取量の非常に少ない場合にはマイクロビュレットを用いるか、N/10 標準溶液を用いる方がよい。

(3) 比色を容易にするため三角フラスコの材質、形状は均一なものを選ぶ必要がある。

(4) 指示薬の色は加熱、冷却により可逆的に変化するから反応完了後の試験液は十分に放冷（約 1.5 時間）することが必要である。

(5) カルボニル価を表わすのに試料に対する百分率または試料 1g 中の mg 数をもってする方法もあるが、その場合の計算は次のように行なう。

$$\text{カルボニル価 (\%)} = A \times B \times F \times 2.8 / C$$

または、

$$\text{カルボニル価 (mg/g)} = A \times B \times F \times 28 / C$$

ただし、A, B, C および F は本文に同じ。

(6) 試料中の遊離酸による影響は、高級脂肪酸から成る普通の油脂の場合は無視して差支えないが、厳密に補正するときはずきの方法による。塩酸化ヒドロキシルアミン溶液の代わりに N/2 塩酸溶液を用いる以外は、相応する空試験も含めて本文と全く同じ方法で酸度に基づく見かけのカルボニル価を求め、その値を差引く。

(7) 本法のように視覚比色によらずに電位差滴定で行なう方法もあるが、測定のと度行なう電極の洗浄が面倒なためあまり実用的ではない。

4.4.2 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法(スペクトル法)

(1) 定義

規定の方法に基づき試料に 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを作用させた場合に、ヒドラゾンを生ずるカルボニル基を試料 1kg に対するミリ当量数で表わしたものをいう。

(2) 装置および用具

- i) 共セン付三角フラスコ：50m l 容
- ii) 水浴：約 60°C に温度を調節できるもの
- iii) 分光光度計：波長 440m μ における吸光度を測定できるもの

(3) 試薬

- i) ベンゼン：カルボニルを含まぬもの
- ii) メタノール(カルボニルを含まぬもの)：1l のメタノールに 5~10g のアルミニウム粉末（または亜鉛末）と 8~10g の水酸化カリウムを加え、湯浴上で還流冷却器を付して 1 時間加熱したのち蒸留し、初留および残留各 50m l を除いたもの。

iii) 0.50% 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNP H)・ベンゼン溶液：上記メタノールから 2 回再結晶した 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン 0.5g をベンゼンに溶かして 1l とする。

iv) 4.3% トリクロル酢酸ベンゼン溶液：4.3g のトリクロル酢酸をベンゼンに溶かして 100m l とする。

v) 4% 水酸化カリウム-エタノール溶液：4g の水酸化カリウムに ii) のメタノールと同様の方法で精製した無水エタノールを加えてしずかに加温溶解し、全量を 100m l とする。

(5) 方法

試料の予想カルボニル価により 0.1~2g の試料を正確にはかり 50m l 容メスフラスコにベンゼン溶液とする。この溶液 5m l を共セン三角フラスコに取り、これに 0.05% DNPH ベンゼン溶液 5m l および 4.3% トリクロル酢酸ベンゼン溶液 3m l をそれぞれピペットで加え、密センして約 60°C の湯浴上で 30 分間加温する。室温に冷却したのち、4% 水酸化カリウム無水エチルアルコール溶液 10m l をピペットで加えて発色させ 10 分後に分光光度計を用いて、試料油を含まないベンゼンについて同様に処理した空試験の溶液を補償にして、440m μ における吸光度を測定する。

$$\text{カルボニル価 (me/kg)} = \frac{E}{0.854 \times W} \times 10^3$$

ただし、E=440m μ の吸光度

W=試料溶液 5m l 中の試料油の重量 (mg)

備考：(1) カルボニル量の単位としては油に対する %、mg、モル、ミリモル、当量またはミリ当量などが用いられているが、ここでは過酸化物価と同じ me/kg を採用した。

(2) 純度の高い結晶 2,4-DNPH ならばベンゼンに溶解後 1 日放置したのち、ろ過して用いてもよい。また本試薬は溶液調製後数カ月使用できる。

(3) 水酸化カリウム無水エタノール溶液は、調製後冷暗処に一夜放置し、炭酸塩等の結晶を生じさせたのちろ

油脂の変敗試験法

過ぎて使用すれば測定完了までにごることはない。本液は使用の都度調製した方がよい。

(4) つぎの(5)に述べるような理由から標準検量曲線によるわけにいかないの、たとえば第1表に示すように、測定吸光度が0.854からかけ離れると誤差を生ずる。したがって、なるべく0.854付近に読みがくるように試料を採取または希釈しなければならない。試料採取の際の大体の用途は、たとえば第2表に示すように、過酸化物価が高い場合はカルボニル価も高いので過酸化物価を目安にし、過酸化物価が低く酸価の高い場合は酸価に大体比例して高いので酸価を参考にするとよい。しかしこれはもちろん大体の傾向であるから例外も多い。

第1表 試料溶液の濃度によるカルボニル価の測定値の差の一例

試料濃度	吸光度	CO-V. (me/kg)
1	1.57	36.9
1/2	0.802	37.7
1/4	0.420	39.3
1/8	0.214	40.3

第2表 過酸化物価および酸価とカルボニル価との関係を示す実測例

P.O.V. (me/kg)	A.V.	CO-V. (me/kg)
709.0	15.5	679.0
58.6	1.74	42.9
10.7	0.53	26.5
1.2	0.06	7.5
9.2	55.2	28.8
10.0	68.2	38.9
10.8	92.4	44.5
6.2	122.2	25.0

(5) 計算式中の0.854という数値は飽和アルデヒドとしてプロピオナル、ヘキサナル、オクタナル、不飽和アルデヒドとしてクロトンアルデヒド、ヘキセナル、ノネナル、およびケトンとしてメチルノニルケトンの各ヒドラゾンの濃度 1×10^{-3} me/5ml の場合の440 m μ における吸光度の平均値である。

注) 本法は主として熊沢・大山法、《熊沢・大山：油化学 14, 167 (1965)》による。

新 刊 紹 介

小池五郎・福場博保共著 「栄養学実験」 (A5判 263ページ 定価 800円 医歯薬出版発行)

◆栄養士養成課程あるいは管理栄養士養成課程においては栄養学実験が課せられることになっており、その他食物に関係のある課程においても栄養学実験を行なっているところも多いことと思う。

◆栄養学実験としてどういう内容を含むべきかについて困難を感じておられる方も多いことと思う。本書は女子栄養大学小池教授が栄養生理実験を、お茶の水女子大学福場教授が栄養化学実験を、それぞれ教育の場で、数年来経験してきたことをもとにして執筆されたものだけに、本書を手にして直ちに実験できるように、実験方法が親切に示されている。

◆栄養生理の面についてはネズミの取扱いから食品の

熱量測定、基礎代謝、血液および尿の検査、体力測定、疲労検査と幅広い範囲をとりあついている。栄養化学の面では基礎実験として秤量・実験器具の名称等初めて化学実験を行なうものに非常に参考となる項目があり、続いて栄養成分の測定、酵素実験、人工消化実験等栄養実験として必要な項目が網羅されている。

◆単位数にもよるが、多少項目が多いのではないかという感じもするが、著者も実習担当者の考えによって適当に取捨撰択できるように余裕をもって内容を充実させたと述べておられるように、学校の設備、単位を考慮して利用すべきであろう。 (元山 正)