

ポリフェノール化合物による油脂の加熱劣化防止法の開発

奥山 由梨^{*1}, 閑田 文人^{*2}, 原 節子^{*3}

Development of Prevention Method for Heat-deterioration of Oils with Polyphenol Compounds

Yuri OKUYAMA^{*1}, Ayato KANDA^{*2} and Setsuko HARA^{*3}

ABSTRACT :

Prevention of heat deterioration of oils used in deep fat frying is important for the safety of frying foods. Tocopherol, the most typical antioxidant for edible oils, is unstable at high temperature and causes coloring of frying oils. Polyphenol compounds such as quercetin and epigallocatechin gallate have strong antioxidative activities based on their radical-quenching activities. We have reported that the antioxidative activities of rooibos tea extracts which contain quercetin and lutein as major polyphenol compounds for unsaturated oils are higher in the emulsifying system than in the bulk system. However, it is not easy to add most polyphenol compounds into oils directly because of their hydrophilic properties. In the present study, we developed the novel method for utilization of antioxidative activities of water-soluble polyphenol compound as an alternative for tocopherol by addition of these compounds into frying foods, not into oils directly.

Keywords: polyphenol, heat-deterioration, deep fat frying, tocopherol, antioxidant, edible oils

(Received March 16, 2009)

1. 緒 論

油脂は空気中の酸素と反応して酸化一次生成物であるヒドロペルオキシドを、酸化二次生成物であるアルデヒド、ケトン、脂肪酸などの分解物と各種重合物を生成する。加熱条件下においてはこれらの酸化反応はさらに促進され、劣化が急速に進行する。したがって、食用油脂および油脂含有食品において、油脂の劣化は風味や栄養価の低下をもたらすため、品質管理上、その酸化防止が大きな課題となる。

食品衛生法では各種の油脂含有食品の安全基準として、酸化劣化度に関して以下のように定められている¹⁾。

- 1) 油分を10%以上含む菓子を対象として、酸価(AV)が3を超え、かつ過酸化価(PV)が30meq/kgを超えるもの、あるいはAVが5を超えるか、PVが50 meq/kgを超えるものは販売してはならない。
- 2) 油脂で処理した即席めんについて、AV:3 以下、PV:30 meq/kg 以下でなければならない。
- 3) 弁当・そうざいについて、原材料である油脂の基準値が AV:1 以下、PV:10meq/kg 以下であり、200℃以下の温度で調理して油脂量が 7%減った場合には新たに油脂を補充する。また、油脂の品質劣化の基準を発煙点:170℃, AV:2.5, カルボニル価が 50 以下とし、これを超えた場合には新油に交換する。

そこで、油脂を安全かつ有効に利用するために、油脂の酸化劣化を防止する方法についてこれまでに多くの検討がなされてきた。油脂の酸化劣化反応は主に空気中の酸素とのラジカル連鎖反応および活性酸素による酸化反応によって進行する。

これらの反応機構に基づき、油脂含有食品においては

^{*1}: 成蹊大学大学院工学研究科博士前期課程修了生

^{*2}: 成蹊大学理工学部物質生命理工学科助手

^{*3}: 成蹊大学理工学部物質生命理工学科教授

(Professor, Dept of Materials and Life Science,
e-mail: shara@st.seikei.ac.jp)

以下に示す種々の酸化防止対策が講じられている¹⁾。①酸素存在量の低減を目的とした窒素置換、真空包装、脱酸素剤の使用など、②光、熱、放射線エネルギーを遮断するための包装形態の工夫、冷蔵・冷凍保存など、③酸化促進作用をもつクロロフィルのような光増感剤の精製による除去、④金属の触媒作用を抑制するための金属不活性剤の使用、⑤ラジカル連鎖反応を停止する酸化防止剤の使用。これらの方法はそれぞれ組み合わせて実際の食品において利用されているが、これらの中で最も効果的であるのが⑤の酸化防止剤の利用である。

酸化防止剤として現在最も多く利用されているものはほとんどの植物油に含まれている天然成分であるトコフェロール (Toc) である¹⁾。Toc はフェノール性水酸基から、脂質の酸化によって生成した脂質ペルオキシラジカル (LOO $\cdot$) へ水素ラジカルを供与し、自らが安定なラジカルとなることによってラジカル連鎖反応を停止する作用を示す。通常、油脂に 500-1000ppm を添加すると油脂の酸化が効果的に抑制される。また、アスコルビン酸やリン脂質の共存により Toc の酸化防止効果は相乗的に向上することも知られている^{2,3)}。しかし、Toc は過剰に添加された場合には酸化促進効果を示すことがあるため、添加量に留意することが必要である。また、一般的な加熱調理温度である 160℃以上の高温になると急速に分解し、酸化防止効果が低下すること、さらに Toc の酸化生成物による油脂の着色現象が見られることなどが報告され、油脂の加熱劣化を効果的に防止できる、Toc に代わる新たな酸化防止剤の開発が望まれている。

一方、茶葉に含まれているカテキン類など、天然物に含まれるポリフェノール化合物の生理機能が注目され、これまでに多くのポリフェノール化合物のラジカル消去能に関する研究が報告されている⁴⁻⁶⁾。

筆者らはこれまでに南アフリカ産のルイボスティ抽出物(RTE)に含まれるポリフェノール化合物、および2種のぶどう種子抽出物であるプロシジン (Pro) とグラビノール (Gra) の酸化防止効果について検討し、RTE の主たるポリフェノール成分はルチン(Ru)とケルセチン(Qu)であり、ポリフェノール量当りのラジカル消去能は Toc に比較して高いことを報告している⁷⁾。さらに、リノール酸メチルに対する酸化防止効果を 30℃暗所下での非水系試験および乳化系試験で検討し、RTE は乳化系で顕著な酸化防止効果を示し、特に水層に発生するラジカルの捕捉に有効であることを明らかにしている⁸⁾。

これらの結果に基づくと、油脂の加熱劣化を RTE により防止することが期待される。本研究では油脂の加熱劣化に対するポリフェノール化合物の防止効果について検

討するとともに、その性状を活かした実際の加熱調理における有効利用法の開発を目的とした。

2. 実験方法

2. 1 試料と試薬

ポリフェノールを含む試料として RTE⁷⁾、Pro⁷⁾ を、ポリフェノール標準物質として、Ru、Qu、エピガロカテキンガレート(EGCG)、没食子酸プロピル(PG)を用いた。加熱試験の試料油脂として、主構成脂肪酸がリノール酸である大豆油(日清オイリオグループ(株)製)とこれをカラムクロマトグラフィーにより精製した精製大豆油の2種を用いた。

2. 2 ポリフェノール化合物の定量⁸⁾

フェノール化合物検出試薬 (Folin-Ciocalteu 試薬) を用いて、RTE、Ru、Qu および Pro のポリフェノール含有量を吸光度法(760nm)により測定した。定量に際しては、予め標準物質として EGCG を用いて検量線 ($y=0.0122x+0.1027$, $R^2=0.9836$) を作成し、すべてのポリフェノール化合物量を EGCG 量に換算して求めた。

2. 3 ラジカル消去能の測定⁸⁾

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)エタノール溶液を用いた方法により、各ポリフェノール化合物のラジカル消去能を吸光度法(517nm)により評価した。なお、各ポリフェノールのラジカル消去能は Toc の消去能を 1.00 とする相対値で示した。

2. 4 CDM 試験による酸化防止効果の測定

Toc を除去した精製大豆油に RTE、Pro、Ru、Qu、EGCG、PG を Toc500ppm のラジカル消去能相当量添加し、150℃と 180℃で酸化安定性(CDM)試験を行った。また、加熱油のポリフェノール残存率の経時変化を調べた。

2. 5 フライ加熱試験による酸化防止効果の測定

実際の加熱調理を考慮して、揚げ種を揚げ、加熱酸化に加えて加水分解も起こる条件下にポリフェノール化合物の酸化防止能について検討した。すなわち、Toc を含まない精製大豆油100 g を基質として、①基質 (コントロール)、② 基質 + Toc 500ppm、③ 基質 + RTE 769.2ppm (ラジカル消去能としてToc500ppm相当)、④ 基質 + Pro 161.3ppm (ラジカル消去能としてToc500ppm相当)の4種の試料油を調製した。揚げ種には天ぷら粉(昭和産業(株)製、以後、粉と表記) 4 g をイオン交換水 (以後、水と表記)

6 gで溶かしたものを用いた。試料油を180℃で24 h加熱し、2 hごとに揚げ種を数分間揚げ、4 hごとに試料油を採取し、極性化合物（PC）量を経時的に測定した。

また、RTEを揚げ種に混ぜて用いた系については、大豆油(Toc 508ppm含有)100 gを試料油として、180℃で合計24 h加熱した。揚げ種には以下の5種を用い、RTE添加量と調理間隔について比較検討した。

① [粉4g+水6g+RTE0.2g]×12回 総RTE量：2.4g

② [粉4g+水6g+RTE0.3g]×12回 総RTE量：3.6g

③ [粉4g+水6g+RTE0.4g]×12回 総RTE量：4.8g

④ [粉2g+水3g+RTE0.1g]×24回 総RTE量：2.4g

⑤ [粉1g+水1.5g+RTE0.05g]×48回 総RTE量：2.4g

なお、調理間隔は①-③では2 h、④では1 h、⑤では0.5 hごととした。加熱4 hごとに試料油を採取し、PC量、AV、アニシジン価（AnV）、重合物量、Toc残存率、ポリフェノール量を経時的に測定した。

2. 6 揚げ種の自動酸化試験

大豆油(Toc 508ppm含有)を180℃で加熱し、3種の揚げ種（RTE無添加（粉4g + 水6g）、RTE添加①（粉4g+水6g+RTE0.1g）、RTE添加②（粉4g+水6g+ RTE0.2g））を揚げ、揚げ種からクロロホルム・メタノール(2:1)を用いて抽出した油脂を30℃暗所で自動酸化し、PV⁹⁾を経時的に測定した。

2. 7 酸化劣化度の測定

脂質の酸化劣化の指標として用いたPV⁹⁾、共役ジエン含有率、AnV、AVは日本油化学会編の基準油脂試験分析法記載¹⁰⁾の方法に基づいて測定した。また、PC量はHaraらの方法に従って測定した¹¹⁾。重合物量は日本分光㈱製ゲル浸透クロマトグラフPU-2080 Plus型に同社製カラムKF-802.5 C 508007 (8.0mm×300mm)とRI-2031 Plus型検出器を接続し、テトラヒドロフランを流速0.7mL/minで流して定量した¹²⁾。

3. 結果と考察

3. 1 ポリフェノール含有率

RTE, Pro, Ru, Qu, PG のポリフェノール含有率をEGCG換算で算出した結果、RTE：35.4%、Pro：99.3%、Ru：48.0%、Qu：92.6%、PG：128.2%であった。

3. 2 DPPH ラジカル消去能

RTE, Pro, Ru, Qu, EGCG, PG のラジカル消去能を、DPPH ラジカルを用いて評価した。なお、各ポリフェノール化合物のラジカル消去能は、3. 1 のポリフェノール含有率を用いてポリフェノール量あたりに換算し、Toc

を1.00とした相対値として表1に示した。RTEは、ポリフェノールあたりではTocの約2倍の消去能を示し、また、RTE以外のポリフェノール化合物はTocの2～4倍の優れたラジカル消去能を持つことが確認された。

表1 ポリフェノール化合物のラジカル消去能

ポリフェノール化合物	DPPH ラジカル消去能
Toc	1.00
RTE	1.83
Pro	3.12
Ru	2.57
Qu	3.74
EGCG	2.82
PG	2.67

3. 3 CDM 試験により測定した酸化防止効果

図1に150℃と180℃のCDM試験におけるポリフェノール添加試料油の誘導期を示した。図1の各酸化防止剤の効果を比較すると150℃では、Qu>Toc≒RTE≒Pro≒Ru≒EGCG≒PG、180℃では、Pro>RTE>Qu>Toc>Ru

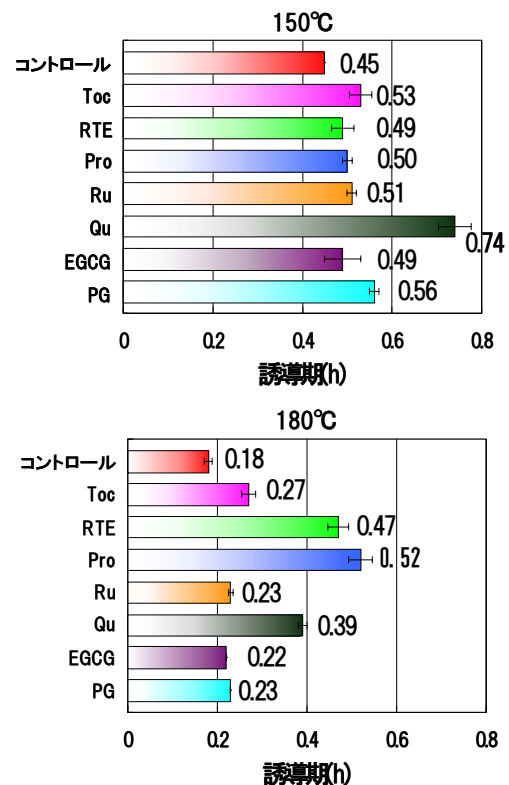


図1 CDM試験における各ポリフェノール化合物の酸化防止効果の比較

≡EGCG≡PGであったが、いずれの酸化防止剤も加熱温度の上昇に伴って誘導期は短縮された。また、150℃の加熱温度では RTE 添加系および Pro 添加系は Toc 添加系とはほぼ同等の酸化安定性を示したが、180℃の加熱温度では、両系とも Toc 添加系の約 2 倍の誘導期を示した。この結果より、RTE 添加系および Pro 添加系は温度の影響を受けにくく、高温においては酸化安定性が Toc 添加系より優れていることが判明した。

また、180℃加熱時の各試料中のポリフェノール残存率と Toc 残存率は図 2 に示したように、RTE のポリフェノール残存率は Toc やその他の酸化防止剤の残存率に比べて高く、耐熱性が認められたため、加熱油に対する酸化防止効果が高いことが推測された。

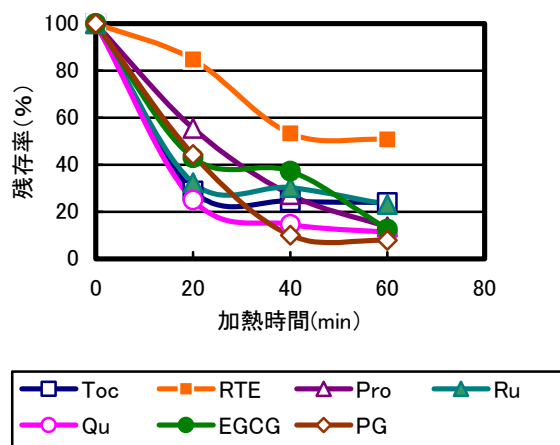


図 2 180℃加熱における残存率の比較

3. 4 フライ加熱試験による酸化防止効果の測定

まず、RTE および Pro を油脂に添加して加熱し、PC 量の経時的变化を図 3 に示した。コントロールに比較して

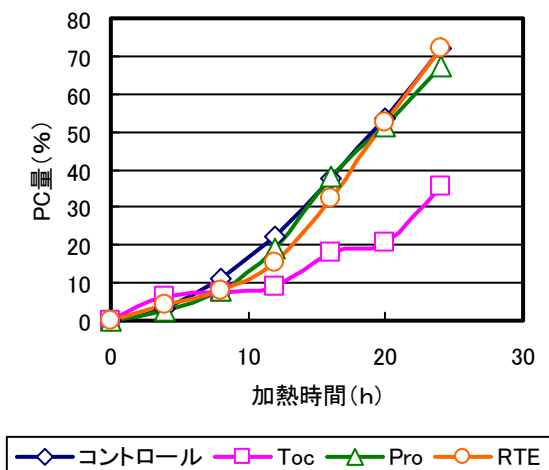
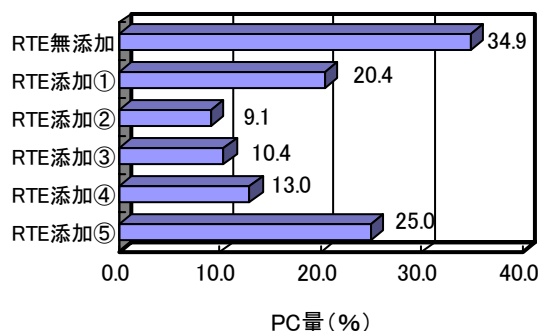


図 3 フライ油に添加した RTE の酸化防止効果

Toc では PC 量の上昇が抑制され、酸化防止効果が見られたのに対し、RTE と Pro ではコントロールとほとんど差がなく、酸化防止効果が観察されなかった。これは、Toc が油溶性であるのに対し、RTE と Pro は水溶性であるため、油脂には溶けない状態で試料油中に存在し、水を含む揚げ種を投入するとその親水性のため揚げ種に吸着され、揚げ種とともに系外へ取り除かれたためと考えられた。

次に揚げ種に RTE を添加した 5 試料を用いて、RTE の酸化防止効果について検討し、その結果を図 4 に示した。



- ① [粉 4g+水 6g+RTE0.2g]×12 回 総 RTE 量：2.4g
- ② [粉 4g+水 6g+RTE0.3g]×12 回 総 RTE 量：3.6g
- ③ [粉 4g+水 6g+RTE0.4g]×12 回 総 RTE 量：4.8g
- ④ [粉 2g+水 3g+RTE0.1g]×24 回 総 RTE 量：2.4g
- ⑤ [粉 1g+水 1.5g+RTE0.05g]×48 回 総 RTE 量：2.4g

図 4 揚げ種へ添加した RTE の酸化防止効果

図 4 から RTE 無添加系に比較してすべての RTE 添加系で PC 量の上昇が抑制され、油脂に直接添加した場合には認められなかった RTE の酸化防止効果が、断続的に揚げ種とともに添加することによって発揮されることが判明した。また、添加量については①～③の比較からフライ油 100 g に対し、RTE を総量として②3.6 g 添加した系が最も効果的であった。また、添加間隔の影響については①、④、⑤の比較から RTE を 1 h ごとに揚げ種に混合した④が有効であった。しかし、②と④のフライ油のポリフェノール含有量はいずれも 5-10ppm であったことから、RTE 添加量を増やすよりも添加頻度を高めることがより有効であると考察した。なお、⑤においては 1 回の添加量が少なく、試料油のポリフェノール含有量が上昇しなかったためと考えられた。

3. 5 揚げ種の自動酸化試験

大豆油を 180℃で加熱し、3 種の揚げ種 (RTE 無添加：粉 4g+水 6g), RTE 添加① (粉 4g+水 6g+RTE0.1g), RTE 添加② (粉 4g+水 6g+ RTE0.2g) を揚げ、揚げ種からクロロホルム・メタノール(2:1)を用いて抽出した油脂を 30℃暗所で自動酸化し、PV を経時的に測定した。その結果、図 5 に示したように、RTE 無添加の揚げ種からの抽出油に比較して、RTE 添加揚げ種からの抽出油は PV の上昇が抑制され、RTE の酸化防止効果が発揮されていることが観察された。この結果から、RTE を添加した揚げ種は酸化安定性が向上すること、さらに揚げ種からの抽出油はフライ油と同じ性状をもつことから、フライ油の加熱後の保存安定性も向上していることも示唆された。

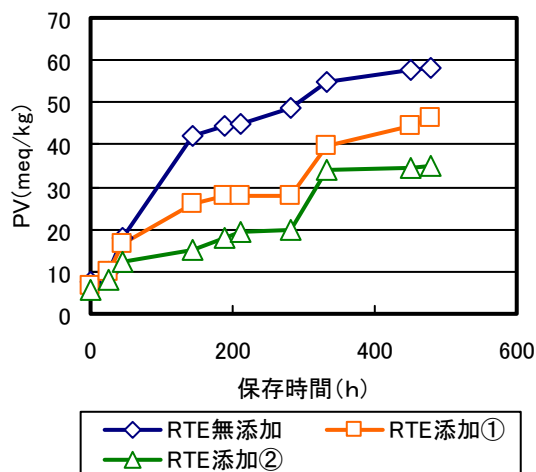


図 5 RTE 添加揚げ種からの抽出油の酸化安定性

4. 総 括

熱安定性に優れた酸化防止剤として、天然ポリフェノールを含む RTE と Pro に着目し、Toc に代わる新規酸化防止剤としての利用について検討した。これらのポリフェノール含有量は、RTE : 35.4%, Pro : 99.3%であり、ポリフェノール量あたりの DPPH ラジカル消去能はそれぞれ Toc の約 2 倍と 3 倍であった。また、ランシマット装置による加熱酸化安定性試験の結果、150℃の加熱温度では RTE 添加系および Pro 添加系は Toc 添加系とほぼ同等の酸化安定性を示したが、180℃では、両系とも Toc 添加系の約 2 倍の酸化安定性を示した。また、加熱時のポリフェノールと Toc 残存率を比較した結果、高温における残存率は RTE と Pro では Toc やその他の酸化防止剤に比べて高く、耐熱性を示した。そこで、油脂の加熱劣化に対する防止効果が期待されたため、フライ加熱試験を行

った。すなわち、フライ加熱試験①では、精製大豆油にラジカル消去能として Toc 500 ppm に相当量添加したものを、Toc を含まない精製大豆油を Toc 500 ppm 添加大豆油とともに 180℃で 24 h 加熱し、天ぷら粉 4 g をイオン交換水 6 g で溶かした揚げ種を 2 h ごとに揚げて試料油の酸化劣化挙動を検討したが、RTE と Pro のいずれにおいても酸化防止効果は認められなかった。これは RTE と Pro が油に溶けずに試料油中に分散した状態であるため、フライ時に揚げ種に吸着され、系外に揚げ種とともに取り除かれてしまったためと考えられた。

そこで、ポリフェノールを揚げ種に混ぜてフライ加熱試験②を行った。試料油として Toc を 500ppm 程度含有する大豆油を、コントロールには精製大豆油を用い、RTE の総添加量を試料油 100 g に対して 2.4, 3.6, 4.8 g, また、揚げ種の調理間隔を 2 h, 1 h, 0.5 h として試験した。その結果、RTE を揚げ種に混ぜて用いた場合には RTE の酸化防止効果が観察され、最適な RTE 添加量は試料油 100 g に対し、3.6g であった。なお、この実験においてフライ油中のポリフェノール量は試験中 5~10 ppm で一定であったので、調理中の揚げ種からのポリフェノール溶出量と分解・重合などによる減少量が均衡していると考えられた。さらに、調理間隔については、1h が最適であり、これは揚げ種に混ぜたポリフェノールの投入する頻度が 2h より 1h のほうが、フライ油中のポリフェノール量が多く保たれるためと判断された。

次に、RTE を添加して調理した揚げ種から油脂を抽出し、30℃暗所の恒温槽中で自動酸化試験を行い、揚げ種の酸化安定性を検討した結果、コントロールよりも調理後の自動酸化が防止できることが判明した。また、揚げ種に対し RTE を 2%添加すると 1%添加に比べ明確な酸化防止効果が確認された。

以上の結果から RTE は水溶性であるため、油脂に直接添加するのではなく、含水系の揚げ種に混ぜて用いることで、フライ油の酸化を効果的に防止し、さらにフライ食品の安全性を向上することができると判明した。本法は水溶性のポリフェノール化合物である RTE をその性質に合わせて利用する新規法であり、本法により RTE を油脂の加熱劣化に対する有効な天然酸化防止剤として利用することが明らかになった。

参考文献

- 1) 日本油化学会編, 油脂・脂質の基礎と応用, p.260, 日本油化学会 (2005)
- 2) Z. REBLOVA, The effect of temperature on the

- antioxidant activity of tocopherols, *Eur. J. Lipid Res.* Vol. 108, 858-863 (2006)
- 3) J. POLORNY, Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants?, *Eur. J. Lipid Res.* Vol. 109, 629-642 (2007)
 - 4) 寺尾順二, 芦田 均, 機能性ポリフェノール, 化学と生物, Vol.44, 688-698 (2006)
 - 5) I. LAMBROPOULOS and I.G. ROUSSIS, Anti-oxidative activity of red wine phenolic extracts towards oxidation of corn oil, *Eur. J. Lipid Res.* Vol.109, 623-628 (2007)
 - 6) K. SOULTI and I.G.ROUSSIS, Inhibition of butter oxidation by some phenolics, *Eur. J. Lipid Res.* Vol.109, 706-709 (2007)
 - 7) S. HARA, R. FUKASAWA and Y. TOTANI; Evaluation of anti-oxidative activities of south-african herbal tea and grapeseed extracts, *J. Oleo Sci.* Vol.54, 627-632 (2005)
 - 8) R. FUKASAWA, A. KANDA and S. HARA; Anti-oxidative effects of rooibos tea extract on autoxidation and thermal oxidation of lipids, *J. Oleo Sci.*, in press.
 - 9) S. HARA Y. KURODA, S. NAKAGAWA, and Y. TOTANI; Modified potentiometric methods with isooctane for peroxide value determination, *J. Jpn Oil Chem. Soc.*, Vol 43,18-22 (1994)
 - 10) 日本油化学会編, 基準油脂分析試験法, 日本油化学会 (2006)
 - 11) S. HARA, E. OGAWA and Y. TOTANI; Evaluation of heat-deteriorated oils –TLC-FID method for determining polar compounds contents, *J. Oleo Sci.* Vol 55, 167-172 (2006)
 - 12) Y. KUGE, A. KANDA and S. HARA; Pursuit of oxidation behavior for conjugated polyenoyl glycerols and establishment of their novel oxidation prevention method, *J. Oleo Sci.*, in press