

油脂TBA試験紙を用いた牛肉脂質過酸化度の測定と脂質安定性の予測

誌名	日本畜産學會報 = The Japanese journal of zootechnical science
ISSN	1346907X
巻/号	854
掲載ページ	p. 549-552
発行年月	2014年11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



油脂 TBA 試験紙を用いた牛肉脂質過酸化度の測定と脂質安定性の予測

今成麻衣¹・柴 伸弥¹・米内美晴¹・渡邊 彰¹

¹ (独)農研機構東北農業研究センター, 盛岡市 020-0198

(2014. 5. 7 受付, 2014. 6. 25 受理)

要 約 牛肉の脂質過酸化度の測定と脂質安定性の予測における油脂 TBA 試験紙の利用の可能性について検討した。牛肉ミンチ試料に対して、脂質過酸化度の異なる試料を準備するために3種の処理(処理1:貯蔵なし, 処理2:4℃で3日間貯蔵, 処理3:30℃で1日間貯蔵)を行った。処理後に試料ホモジネートを調製し、脂質過酸化度を既存の TBARS 測定法および TBA 試験紙の赤色度 (a*値) で測定した。その結果、処理1, 2 および 3 の試料から得られた TBARS 値と TBA 試験紙の a*値の間には有意 ($P < 0.001$) な相関 ($R^2 = 0.869$) が認められた。このことから、TBA 試験紙は油脂だけでなく牛肉に対しても有効に利用できるかと判断した。また、処理3の TBARS 値および a*値は、両者ともに処理2の TBARS 値と有意 ($P < 0.001$) な相関 ($R^2 = 0.569$ および 0.546) が認められた。これらの結果から、30℃で1日間貯蔵した牛肉試料の TBARS 値を用いて通常展示の消費期限である処理2の結果を予測することがある程度可能であり、同様の結果が油脂 TBA 試験紙の a*値からも得られることが示された。

日本畜産学会報 85 (4), 549-552, 2014

脂質過酸化度の測定法としては、過酸化物質、酸素吸収量、酸化分解物、共役ジエン含量など様々な方法がある(寺尾ら 1995)が、その中でも食肉の評価において広く用いられているのはチオバルビツール酸 (TBA) 法である(Shahide 1998)。TBA 法は脂質ヒドロペルオキシドから遊離するマロンジアルデヒド等の TBA 反応性物質 (TBARS) と TBA の反応で生じる赤色色素の定量によって脂質の過酸化度を評価する方法である(菊川 1995)。この原理に準じた多数の測定法が存在するが、これらは、数種の試薬、分光光度計や遠心分離機といった機器と数時間間の反応時間を必要とするもので、実験室での操作を想定したものである。他方、食品業界では、食用植物油や油脂加工食品に対して、市販の油脂 TBA 試験紙を利用した簡便かつ迅速な測定が実施されている(浅川と松下 1987)。食肉の脂質過酸化度を本試験紙で測定できれば、流通段階での食肉評価への利用が期待できる。そこで本報告では、TBA 試験紙を用いた牛肉の脂質過酸化度測定の可能性と、本試験紙を用いた牛肉の品質評価について検討した。

材料および方法

1. 試料の調製

去勢雄肥育牛 31 頭を供試した。屠畜後、2 日目の枝肉より半腱様筋の塊を採取し、これをアルミ袋(三菱ガス化学(株), 東京)で真空包装し、2℃で8日間熟成させたものを試料とした。各試料の内部から空気と接触のない部分

を採取し、ミンチ肉を調製した。微生物の影響を排除するために Mitsumoto ら (1991) の方法に従い、抗生物質のクロロテトラサイクリン塩酸塩を混和し (30 ppm)、50 mL 容試験管 3 本にミンチ試料約 4.5 g を精秤した。各試験管について、脂質過酸化度の異なる試料を準備するために、以下の3種の処理を行った。処理1:貯蔵なし, 処理2:4℃で3日間貯蔵(牛挽肉の可食期間の目安(中央畜産会 2005)), 処理3:30℃で1日間貯蔵。各処理後にミンチ試料 30 (w/v) %となるように 1.15% 塩化カリウム水溶液を加え、ホモジネートを調製した。各ホモジネートについて、以下の2つの手法で脂質過酸化度の測定を行った。

2. TBARS 値の測定

Kikugawa ら (1992) の方法に従って、ねじ栓付き試験管に、試料ホモジネート 0.10 mL, SDS 水溶液 0.20 mL, 酢酸緩衝液 1.50 mL, BHT 酢酸溶液 50 μ L, TBA 水溶液 1.50 mL, ミリ Q 水 0.70 mL の順に加え、その都度混和した。密封した試験管を 4℃で 60 分間保った後、沸騰水中で 60 分間加熱し、冷却後にミリ Q 水 1.0 mL, ブタノール-ピリジン混液 5.0 mL を加えて混和した。1.15% 塩化カリウム水溶液を試料としたブランクについても同様の操作を行い、吸光度 (A_0) を測定し、下記の計算式を用いて、試料 1 g から生成する赤色色素量 (μ mol) として TBARS 値を算出した。

TBARS 値 (赤色色素量 μ mol/g 試料) = $((A - A_0) /$

連絡者: 今成麻衣 (fax: 019-643-3541, e-mail: imanari@affrc.go.jp)

$156,000) \times (5.8/10^3) \times (10^2/3) \times 10^6$

3. 油脂 TBA 試験紙による測定

油脂および油脂加工食品用として市販されている油脂 TBA 試験紙 (柴田科学 (株), 埼玉) に試料ホモジネートを浸潤させた。添付された手順に従い、蒸留水を入れた三角フラスコの口に穴を開けたアルミホイルを被せて加熱し、沸騰した状態でアルミホイル上に TBA 試験紙を置き、2 分間加熱した。加熱後、10 秒間放冷し、試験紙の赤色値 (a^* 値) を色彩色差計 (CR-200; MINOLTA, 東京) で測定した。

4. 統計解析

測定により得られた TBARS 値および試験紙の a^* 値については、SAS (Ver. 9.4, SASInst. Inc., Cary, NC, USA) の CORR プロシジャを用いて相関係数の有意性を検定し、REG プロシジャを用いて回帰分析を行った。

結果および考察

1. TBARS 値と TBA 試験紙による測定

Kikugawa ら (1992) の方法により測定された牛肉ホモジネートの TBARS 値は、処理 1, 2 および 3 でそれぞれ 0.034 ± 0.007 , 0.083 ± 0.023 , 0.076 ± 0.034 $\mu\text{mol/g}$ であった。調製直後の試料である処理 1 に対して、調製後に貯蔵を行った処理 2 および 3 では、すべての試料で TBARS 値の増加が示され、脂質過酸化が進行したことが確認された。また、個体間で脂質過酸化の速度が異なることから、処理 2 および 3 については、TBARS 値のばらつきが大きかった。これらの各試料の TBARS 値について、TBA 試験紙から得られた a^* 値との相関解析を行った。その結果、図 1 に示すように、TBARS 値と a^* 値の間には有意 ($P < 0.001$) な相関が認められた ($y = 0.0052x + 0.0004$, $R^2 = 0.869$)。このことから、牛肉の脂質過酸化度の測定にも本 TBA 試験紙の利用が可能であると判断した。TBA 試験紙の利用によって、特殊な機器を必要とせず、簡便な操作で測定時間の短縮が可能となる。今回使用した TBA 試験紙は、本来、試験紙の色調と添付されているカラーモデルの目視による比較で判定するものであるが、ここでは連続した TBARS 値との関連を統計的に検討するために試験紙の発色を a^* 値として測定した。参考として、添付されているカラーモデル No.0, 1, 2 および 3 の a^* 値を測定して図 1 に記載した。

TBA 試験紙は、グラスファイバー濾紙に発色に必要な TBA や酸性条件とするための試薬を含ませたものであり (浅川と松下 1987)、これに試料を浸潤させ、加熱、発色させる。従って、試料は液状のものに限られる。今回の結果から、食肉などの固形試料についても、液状に調製することが可能であれば、TBA 試験紙による脂質過酸化度の測定が可能であると推察された。ただし、TBARS のひとつであるマロンジアルデヒドは、筋肉組織においては、タンパク質やアミノ酸、核酸等の生体成分と結合している

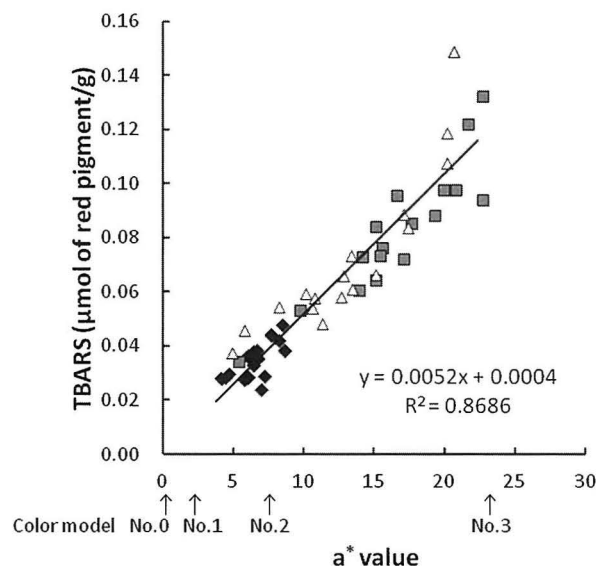


Figure 1 Relationship between TBARS-value and a^* value.

TBARS-value are plotted as follows: \blacklozenge , Treatment-1 (no storage); \blacksquare , Treatment-2 (storage for 3 days at 4°C); \triangle , Treatment-3 (storage for one day at 30°C).

Arrows indicate the corresponding a^* values obtained from the color model (No. 0, 1, 2 and 3) of commercial TBA test paper.

め (Shahide 1998)、試料はこれらの生体成分を含んだものである必要がある。予備試験では、ホモジネートの他に、ホモジネートを遠心分離した際の上澄についても試したが、TBARS の抽出が不完全で、TBA 試験紙の発色が著しく悪くなった。このことから、TBA 試験紙を用いて牛肉の脂質過酸化を測定する際には、液状かつ生体成分を含むホモジネートを調製する必要がある。

2. TBARS 値による牛肉の評価

食肉は店頭展示中あるいは調理されるまでに脂質過酸化が進行する。すなわち食肉の脂質過酸化に対する安定性を予想できれば、流通段階において、これまでとは異なる視点からの牛肉の評価が可能となる。そこで、牛肉の脂質過酸化を意図的に促進させた処理 3 (30°C で 1 日間貯蔵) を X 軸に、通常の冷蔵貯蔵である処理 2 (4°C で 3 日間貯蔵) を Y 軸にして、TBARS 値をプロットした。その結果、両者の間には有意 ($P < 0.001$) な相関 ($y = 0.6838x + 0.0397$, $R^2 = 0.569$) が認められた。処理 2 は、期限表示のためのガイドライン (平成 18 年 7 月改訂) に記載された可食期間であり、この時点での TBARS 値を予測するためには、高温での貯蔵が有効であると示唆された。食肉の脂質過酸化に影響する内的要因には、脂肪酸、抗酸化物質、酸化促進物質などがあり、これらの関係を極力温存して食肉を評価する必要がある。そこで、本報告では、外的要因である貯蔵条件に着目し、その中でも容易に制御

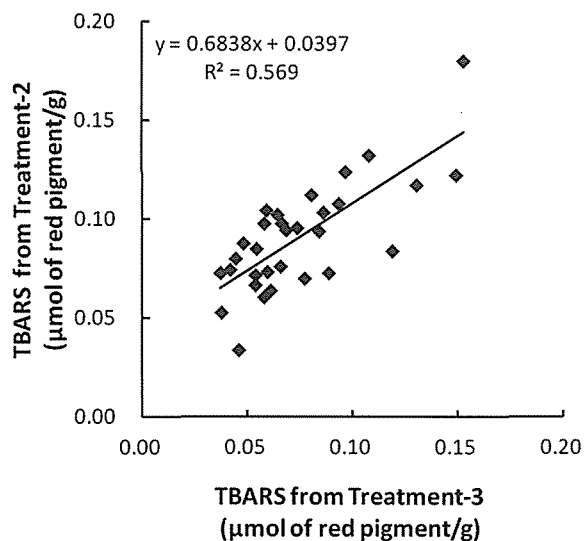


Figure 2 Relationship between TBARS-value from Treatment-2 and Treatment-3.
Treatment-2 : Storage for 3days at 4°C. Treatment-3 : Storage for one day at 30°C.

できる「温度」を選択した。貯蔵温度の選択にあたっては、通常の冷蔵貯蔵時の TBARS 値との相関があることに加え、脂質過酸化の過剰促進による TBARS の分解 (Shahide 1998) が生じていないことを考慮した。すなわち、予備試験において、同一試料を 15, 30 および 40°C で 1, 2 および 3 日間貯蔵した際の TBARS 値と、4°C で 3 日間貯蔵した際の TBARS 値の相関解析を行った。その結果、30°C で 1 日間貯蔵した際の TBARS 値との相関が最も高く、加えて 30°C 貯蔵 3 日目まで TBARS 値の上昇が観察された。このことから、30°C で 1 日間貯蔵して得られる TBARS 値から、冷蔵で可食期間 (4°C で 3 日間) まで貯蔵した際の TBARS 値の予想がある程度可能と判断した。ただし、高温での貯蔵に際しては、微生物繁殖への配慮が必要となる。温度と同様に、微生物についても食肉の脂質過酸化に影響を及ぼすことが報告され (Skibsted ら 1998)、このうちのいくつかは 30°C 前後に最適生育温度をもつ。したがって、通常の冷蔵条件 (0 ~ 10°C 程度) と比較して、高温条件での貯蔵では微生物の影響が大きくなるのが懸念されたため、微生物の影響を低減するために、既報 (Mitsumoto ら 1991) に従い、貯蔵前の試料に抗生物質を添加した。

3. TBA 試験紙を用いた評価

前述のように牛肉の脂質過酸化を意図的に促進した処理 3 の TBARS 値から、通常の冷蔵貯蔵における可食期間 (処理 2) の TBARS 値が予測できるのであれば、TBA 試験紙の発色値からの予想も可能と考えられる。処理 2 から得られた TBARS 値を Y 軸とし、処理 3 から得られる TBA 試験紙の発色値 (a^* 値) を X 軸としてプロットした。図 3 に示すように、両者の間には有意な ($P < 0.001$) 相

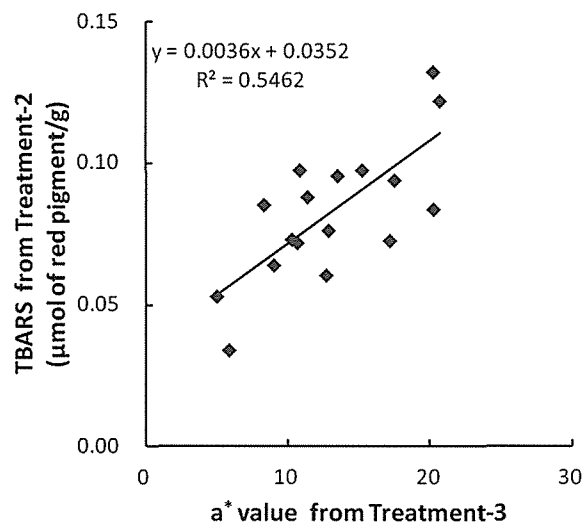


Figure 3 Relationship between TBARS-value from Treatment-2 and a^* value from Treatment-3.
Treatment-2 : Storage for 3days at 4°C. Treatment-3 : Storage at one day at 30°C.

関が認められた ($y = 0.0036x + 0.0352$, $R^2 = 0.546$)。このことから、試料を高温・短日条件で貯蔵し、TBA 試験紙によって判定した脂質過酸化度 (a^* 値) から、冷蔵で可食期間まで貯蔵した場合の TBARS 値を予測できる可能性が示された。

今回用いた試料については、TBA 試験紙の a^* 値が最大値 22.77、最小値 5.44 であり、両者の色調の違いは目視でも明確であった。今後は、「貯蔵性の良い」または「可食期間までの貯蔵性を備えた」牛肉の基準となる TBARS 値を官能評価結果と併用して明らかにすることが課題として挙げられる。

謝 辞

本研究の一部は「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」による研究費により実施した。

文 献

- 浅川具美, 松下雪郎. 1987. 第 2 章 過酸化脂質の測定 D. 変敗・劣化度の簡易測定. In: 金田尚志, 植田伸夫 (編), 増補版 過酸化脂質実験法, pp. 75-79. 医歯薬出版株式会社, 東京.
- 中央畜産会. 2005. 期限表示のための試験方法ガイドライン [食肉 (食肉加工品 (半製品) を含む.)], (社)中央畜産会, 東京; {2014 年 3 月 18 日引用}. http://www.niku-kakou.or.jp/kaken/info/linkfile/related_4-3_guide200607.pdf
- Kikugawa K, Kojima T, Yamaki S, Kosugi H. 1992. Interpretation of the thiobarbituric acid reactivity of rat liver and brain homogenates in the presence of ferric ion and ethylenediamine tetra acetic acid. *Analytical Biochemistry* **202**, 249-255.
- 菊川清見. 1995. III 生体試料と過酸化脂質・フリーラジカ

- ル-4 チオバルビツール酸反応と脂質過酸化度の測定. In : 五十嵐脩, 島崎弘幸 (編), 生物化学実験法 34 過酸化脂質・フリーラジカル実験法 第1版. pp. 144-153. (株)学会出版センター, 東京.
- Mitsumoto M, Faustman C, Cassens RG, Arnold RN, Schaefer DM, Scheller KK. 1991. Vitamin E and C improve pigment and lipid stability in ground beef. *Journal of Food Science* **56**, 194-197.
- Skibsted LH, Mikkelsen A, Bertelsen G. 1998. Lipid-derived off-flavours in meat. In : Shahidi F (ed.), *Flavor of Meat, Meat products and Seafoods 2nd edn*, pp. 217-256. Blackie academic & professional, London.
- Shahide F. 1998. Assessment of lipid oxidation and off-flavour development in meat, meat products and seafoods. In : Shahidi F (ed.), *Flavor of Meat, Meat products and Seafoods 2nd edn*, pp. 373-394. Blackie academic & professional, London.
- 寺尾純二, 藤本健四郎, 宮下和夫, 和田 俊. 1995. II 食品と過酸化脂質・フリーラジカル-1 油脂の劣化測定法 (1)-過酸化物質, 酸素吸収量, 酸化分解物の測定, -2 油脂の劣化測定法 (2)-化学発光, 蛍光発光, -3 油脂の劣化測定法 (3)-HPLC, GC, GC-MS. In : 五十嵐脩, 島崎弘幸 (編), 生物化学実験法 34 過酸化脂質・フリーラジカル実験法 第1版. pp. 15-64. (株)学会出版センター, 東京.

Determination and prediction of lipid oxidation in beef by TBA test paper

Mai IMANARI¹, Nobuya SHIBA¹, Miharuru YONAI¹ and Akira WATANABE¹

¹ NARO Tohoku Agricultural Research Center, Morioka 020-0198, Japan

Corresponding : Mai IMANARI (fax : +81 (0) 19-643-3541, e-mail : imanari@affrc.go.jp)

The possibilities were studied for adapting commercial TBA test paper (SIBATA SCIENTIFIC TECHNOLOGY LTD), the tester have developed for cooking oil, to the determination of beef lipid oxidation and to the prediction of oxidative stability during storage. Minced beef with a range of TBARS-values was produced by the following treatments: no storage (Treatment-1), storage for 3 days at 4°C (Treatment-2), and storage for one day at 30°C (Treatment-3). The samples were homogenized and the lipid oxidation level was measured by both a conventional method and the color scale (yielding an a* value for the CIELAB color scale) of the TBA tester. A significant correlation ($P < 0.001$) was observed between the TBARS-value and a* value, indicating that commercial TBA test paper can be applied to the measurement of lipid oxidation in beef, not only oil. The TBARS-value on Treatment 2 also had a significant ($P < 0.001$) correlation with the TBARS-value ($R^2 = 0.569$) or a* value ($R^2 = 0.546$) on Treatment 3. These observations suggest that the TBARS-value of beef stored for 3 days at 4°C was predictable from either the TBARS or the a* value of beef stored for one day at 30°C.

Nihon Chikusan Gakkaiho 85 (4), 549-552, 2014

Key words : beef, lipid oxidation, oxidative stability, storage, TBA test paper for cooking oil.