

# 市販の調理冷凍食品の品質

## (2) コレステロール

中村 泰彦・藤田 雅子\*

(1980年10月15日 受理)

## Quality of Prepared Frozen Foods on the Market

### (2) Cholesterol

Yasuhiko NAKAMURA and Masako FUJITA

食品の品質をはかる際の尺度は食品の種類により異なるが、基本的には嗜好的性質、栄養的価値、衛生状態の良否を総合的に評価しうるようなものであることが必要であろう。ハンバーグステーキ、シューマイ、ギョーザ、肉だんごなどの挽き肉を主材料とする食品においては、品質と密接な関係がある成分として含窒素成分や脂質を挙げるができる。これらの食品では、遊離アミノ酸やある種の塩基は旨味に関係しているし、蛋白質のアミノ酸組成は栄養的価値を左右するし、揮発性塩基窒素は鮮度と関係がある。一方脂質は、栄養的面からはその脂肪酸組成やコレステロール含量などが、また衛生的面からは酸化の程度などが品質に影響する因子になりうる。なかでもコレステロールは、動脈硬化による虚血性心臓疾患の原因の1つと考えられることから、注目されている成分である。

食品のコレステロール含量については食品材料や加工食品を中心にこれまでに多くの報告があり、1976年ころまでの結果は辻ら<sup>1)</sup>によりまとめられている。初期には主として比色法により測定されたが、比色法はコレステロール以外の共存物質の影響を受けるため、さらに正確あるいは簡便な方法を求めてガスクロマトグラフ法、酵素法、高速液体クロマトグラフ法が試みられ、それらによる測定結果も報告されている<sup>2)~4)</sup>。一方、調理冷凍食品は日本では1958年から生産されているが、一般に広く利用されるようになったのは1970年ころからであり、製品の規格が設けられたのは1978年である。そのコレステロール含量についての報告<sup>5)</sup>は少なく、また規格制定後のものは見当らない。調理食品の場合、そのコレステロール量は材料から計算により求めることができるが、市販の調理冷凍食品は原材料の組成が公表されていないので、算出することが難しい。そこで調理冷凍食品の中から、集団給食施設や家庭でよく使われている種類4つを選び、そのコレステロール含量を酵素法で測定した。なお含窒素成分については前回報告した<sup>6)</sup>。

## 実験方法

### 1. 試料

\* 鹿児島県立市木農芸高等学校

調理冷凍食品は、ハンバーグステーキ 15 銘柄、シューマイ 8 銘柄、ギョーザ 8 銘柄、肉だんご 6 銘柄を、鹿児島市内のスーパーマーケットより購入した。これらの調理冷凍食品は再現性試験の場合（1981年6月製造のものを使用）を除き、1980年5月から8月にかけて製造されたものである。購入後は冷凍庫に保管し、製造後3か月以内に分析した。鶏卵および挽き肉はすべて販売場所の異なるところから1試料ずつ購入した。

## 2. 試薬

酵素法の試薬は食品分析用のキット（F-キットコレステロール、ベーリンガーマンハイム製）を、コレステロールおよびコレステロールパルミテートは標準品および特級品（いずれも純度99%、半井化学製）を、その他の試薬は特級品を使用した。

## 3. コレステロールの測定

(1)酵素法 使用説明書のソーセージへの適用例を一部改変して次のように行なった。調理冷凍食品は包丁でみじん切りにした後、乳鉢でできるだけ細かくすりつぶした。この2.5gを50ml容の共栓遠心沈殿管にとり、海砂1g、0.5M水酸化カリウムのメタノール溶液10mlを加え、還流冷却器をつけ、マグネチックスターラーで攪拌しながら25分間加熱した。3,000rpmで遠心分離し、得られた上清は25mlのメスフラスコに移した。残渣にイソプロパノール6mlを加えて5分間加熱後遠心分離し、上清は先の上清に合わせた。このイソプロパノールで洗う操作を2回行ない、さらにイソプロパノールを加えて25mlにした。よく混和してしばらく放置した後、濾過した。濾液0.48mlにカタラーゼ試薬6mlを加え混合した後、その3mlにコレステロールオキシダーゼ試薬0.024mlを加え、37°Cに1時間おき発色させた。コレステロールオキシダーゼを加えないものをレファレンスにして405nmの吸収を測定し、別に作成した検量グラフから総コレステロール量を求めた。

挽き肉は乳鉢でさらに細かくすりつぶし、卵黄はそのまま、それぞれ2.5gをとって、調理冷凍食品の場合と同様に操作して総コレステロール量を求めた。

添加試験では、コレステロールパルミテートは10mgを3mlのイソプロパノールに加温溶解したものを添加した。コレステロールは5mgをそのまま加え、試薬溶媒に溶解させた。

(2)比色法 川端の方法<sup>7)</sup>に従った。ただし卵黄はクロロホルムで10倍に希釈して分析試料とした。

## 実験結果および考察

### 1. 酵素法の調理冷凍食品への適用性

使用した酵素法試薬キットで測定できる試料溶液の濃度範囲は、説明書によると0~400mg/lとされている。本実験でもFig. 1に示したように、500mg/l以下ではコレステロール濃度と光学濃度とは比例した。しかし1000mg/l以上では直線関係が成立しなかった。調理冷凍食品の場合は前述の方法により調製した試料溶液のコレステロール濃度は500mg/lに対して十分に小さい

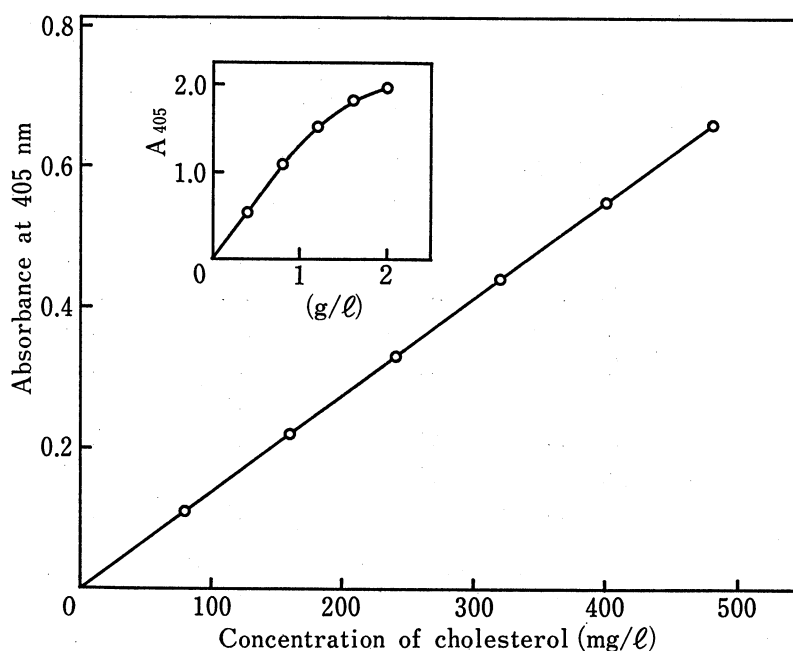


Fig. 1. Calibration Curve of Cholesterol.

A mixture of 6 ml of the premixed catalase reagent and 0.48 ml of a cholesterol solution in isopropanol was divided into two portions, 3 ml and 3.48 ml. The former was mixed with 0.024 ml of the cholesterol oxidase solution, and the mixture was incubated at 37°C for 1 hr together with the latter, a sample blank. Absorbance of the incubated mixture which contained cholesterol oxidase was read at 405 nm against the sample blank.

Table 1. Repeatability of Cholesterol Determination by the Enzymic Method

Approximate 2.5 g of a sample which had been minced and ground was weighed into a 50 ml centrifugal glass tube. To this tube, 1 g of sea-sand and 10 ml of a 0.5 M methanolic potassium hydroxide solution were added, and the mixture was refluxed for 25 min while stirring with a magnetic stirrer. After centrifugation, the supernatant was transferred, and the precipitate was refluxed with 6 ml of isopropanol for 5 min, and the slurry was centrifuged. This procedure was repeated once more. All the supernatants were collected in a 25 ml volumetric flask and diluted to the mark with isopropanol. The contents were mixed and filtered. Cholesterol was determined as described in Fig. 1 using the filtrate.

Replicates	Cholesterol content (mg/100 g sample)			
	Hamburg steak	"Gyoza"	Shao-mai	Meat balls
1	34.0	32.8	31.2	78.4
2	36.4	33.6	32.0	75.2
3	36.8	34.8	31.4	78.8
4	36.8	31.2	34.4	78.4
5	36.0	34.0	36.8	80.4
6	36.4	34.0	33.2	79.6
$\bar{x}$	36.1	33.4	33.1	78.5
SD	0.96	1.15	1.99	1.64
CV (%)	2.7	3.4	6.0	2.0

Abbreviations:  $\bar{x}$ , mean; SD, standard deviation; CV, coefficient of variation.

Table 2. Recovery of Cholesterol or Cholesteryl Palmitate Added to Prepared Frozen Foods

The procedures of saponification and colorimetry were the same as in Table 1.

Foods	Sample weight (g)	Amount of cholesterol (mg)			Recovery (%)
		In sample	Added	Recovered	
Hamburg steak	2.5008	0.91	5.0 <sup>a</sup>	5.76	97
"Gyoza"	2.5064	0.83	5.0 <sup>a</sup>	5.77	99
Shao-mai	2.5093	0.78	5.0 <sup>a</sup>	5.51	96
Meat balls	2.5025	1.97	5.0 <sup>a</sup>	6.95	100
Hamburg steak	2.5024	0.92	6.2 <sup>b</sup>	7.11	100
"Gyoza"	2.5055	0.87	6.2 <sup>b</sup>	7.02	99
Shao-mai	2.5005	0.80	6.2 <sup>b</sup>	6.90	99
Meat balls	2.5032	1.96	6.2 <sup>b</sup>	7.96	98

<sup>a</sup> Five milligrams of cholesterol was dissolved in 9.5 ml of methanol, and the solution was mixed with 0.5 ml of 10 M potassium hydroxide, 1 g of sea-sand and 2.5 g of a sample.

<sup>b</sup> Ten milligrams of cholesteryl palmitate, which was equivalent to 6.2 mg of cholesterol was dissolved in 3 ml of isopropanol by heating in a water bath, and the solution was mixed with 9.5 ml of methanol, 0.5 ml of 10 M potassium hydroxide, 1 g of sea-sand and 2.5 g of a sample.

ので、試料を希釈する必要はない。むしろ含量が低いため、読み取りの限界から生じる誤差が相対的に大きくなると思われる。しかし4種の冷凍品について同一試料を日を替えて測定したときの測定値は Table 1 のようになり、変動係数は2~6%で再現性は悪くないと考えられた。また添加したコレステロールおよびコレステロールパルミテートの回収率は Table 2 のように96~100%であった。コレステロールパルミテートの結晶をそのまま試料に加えると回収率が低くなることがあるが、これはコレステロールパルミテートがメタノールに難溶であるため、あらかじめ少量のイソプロパノールに加温溶解して添加すれば回収率は100%となる。なお今回試験に供した調理冷凍食品では、添加試験と同じ量のイソプロパノールを加えた後に加熱、けん化を行なっても、総コレステロール量はほとんど変わらなかった。

コレステロールの定量法には比色法、ガスクロマトグラフ法、酵素法等があるが、比色法は古くから用いられている方法で、日本食品のコレステロール含量もこの方法で測定されたものが多い。しかし比色法は食品によっては真の値より高い値を与えるといわれているので、冷凍ハンバーグステーキおよびハンバーグステーキの材料である挽き肉と鶏卵のコレステロール含量を酵素法と Liebermann-Burchard 反応による比色法で測定し比較した。結果は Table 3 に示したように比色法の値は酵素法より5~30%高く、比色法は過大値を与えるという久城ら<sup>3)</sup>の結果と同じ傾向を示した。しかし中川ら<sup>8)</sup>は酵素法も試料によってはガスクロマトグラフ法より高い値を与えるので、食品の分析には不向きであるとしている。本酵素法キットに含まれるコレステロールオキシダーゼは3 $\beta$ 配置のOHを持つステロールに対して作用するため、 $\beta$ -シトステロール、スティグマ

Table 3. Comparison of the Enzymic Method with the Colorimetric Method

A mixture of 5 g of a sample, 15 ml of 95 % ethanol and 3 ml of a 50 % potassium hydroxide solution was refluxed on a water bath for 30 min, and then extracted with four 15 ml portions of petroleum ether at room temperature. The extract was collected and diluted to 50 ml with petroleum ether. Ten milliliter aliquots were transferred into 100 ml beakers, and the petroleum ether was evaporated. The residue was dissolved in 5 ml chloroform, and the solution was mixed with 2 ml of the reagent for the Liebermann-Burchard reaction. After 15 min of standing, the absorbance of the solution was measured at 610 nm, and the amount of cholesterol in the sample was calculated using a calibration curve. The enzymic method has been already described in Table 2.

Foods	Sample No.	Cholesterol content(mg/100 g food)		A/B
		Colorimetric method (A)	Enzymic method (B)	
Minced meat (beef-pork mix.)	1	81.9	67.5	1.21
	2	94.1	69.7	1.32
Eggs	1	1710.1	1265.6	1.32
	2	1497.7	1222.9	1.20
Hamburg steak	1	74.3	67.2	1.08
	2	68.8	52.0	1.29
	3	65.5	63.2	1.04

ステロールなどのステロールもある程度発色する。従って今回の測定値も真のコレステロール量よりいくらか高い可能性があるが、材料組成の似た市販冷凍品相互の比較や、市販冷凍品とそれに相当する家庭での調理品との比較には差し支えないと思われる。

## 2. 市販冷凍品のコレステロール含量

測定結果を、試料 100 g 中の mg 数で表わして Fig. 2 にまとめた。ハンバーグステーキの最

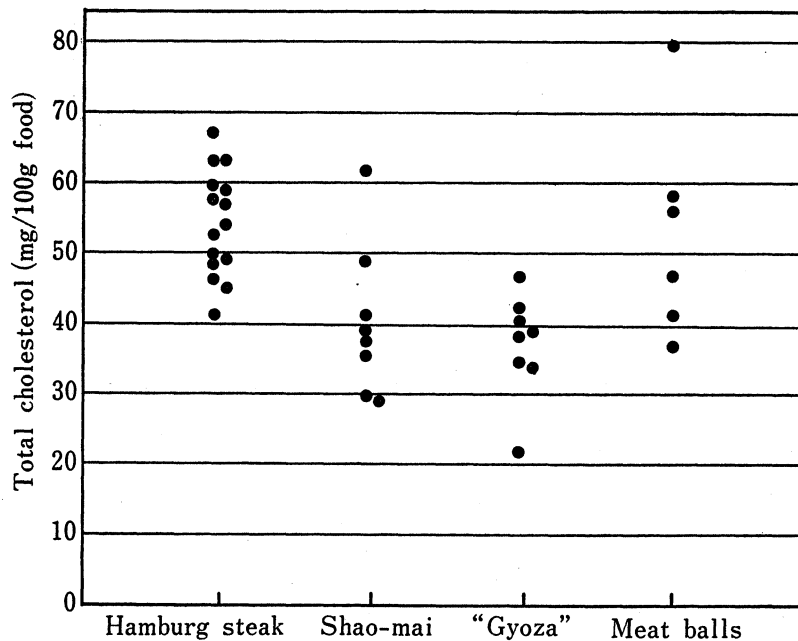


Fig. 2. Cholesterol Content of Prepared Frozen Foods.

Cholesterol was determined by the same method as in Table 1.

高は 67 mg, 最低は 41 mg, 平均  $54 \pm 7$  mg で, 銘柄間の差は他の 3 品目に比べて一番小さかった。深野ら<sup>5)</sup> は冷凍ハンバーグステーキを含む市販のハンバーグのコレステロールをガスクロマトグラフ法で測定し, 最大値 74 mg, 最小値 28 mg を得ている。著者らの値はこの範囲内にはいる。しかし両者で試料の種類や購入時期が違うので, 厳密には比較できない。シューマイは最高 62 mg, 最低 29 mg, 平均  $40 \pm 10$  mg で, えび, たらの肉使用の 2 試料が高かった。ギョーザは最高 47 mg, 最低 22 mg, 平均  $37 \pm 7$  mg で, 4 品目の中で最も低い値であった。肉だんごは最高 80 mg, 最低 37 mg, 平均  $53 \pm 14$  mg で, 銘柄間のばらつきが大きかった。

市販の調理冷凍品と家庭で作られるものとの比較は, 後者が用いる材料の種類や配合割合が多様なため難しいが, 標準的な配合割合がある程度できていると考えられるハンバーグステーキについて検討した。家庭等で作られているハンバーグステーキの主な材料は挽き肉, 卵, 玉ねぎ, 食パン, 牛乳である。挽き肉は標準的な配合例では牛肉の場合が多いが, 一般に多用されているのは牛肉, 豚肉の合挽き肉である。また配合割合は嗜好や習慣などにより材料以上に変化に富んでいると思われるが, 標準としては挽き肉 50 g, 卵 5 g, 玉ねぎ 25 g, 食パン 15 g, 牛乳 15 cc あるいは挽き肉 60 g, 卵 6 g, 玉ねぎ 25 g, 食パン 10 g, 牛乳 10 cc あるいは挽き肉 80 g, 卵 12 g, 玉ねぎ 30 g, 食パン 12 g, 牛乳 12 cc などを考えるのが適当であろう。これらの配合割合で調製した場合のハンバーグステーキのコレステロール量を計算して Table 5 に示した。なお合挽き肉,

Table 4. Cholesterol Content of Minced Meat and Eggs  
Cholesterol was determined by the method described in Table 1.

	Sample No.	Cholesterol (mg/100 g sample)
Minced meat	1	67.5
	2	69.7
	3	84.6
	4	74.7
	5	92.4
	6	65.4
Egg yolk	1	1265.6
	2	1222.9
	3	1422.0
	4	1302.9

Table 5. Calculated Cholesterol Levels of Home-cooked Hamburg Steaks

Minced meat	Percentage of materials				Cholesterol level <sup>a</sup> (mg/100 g product)		
	Egg	Onion	Bread	Milk	Highest	Lowest	Average
54.8	8.2	20.5	8.2	8.2	98	77	85
54.1	5.4	22.5	9.0	9.0	83	64	71
45.5	4.5	22.7	13.6	13.6	72	56	62

<sup>a</sup> Values were calculated from the highest, the lowest, and the average of cholesterol content of minced meat and eggs.

卵のコレステロール含量は、小売店または生産元より購入したものの数種類について測定し、その最高、最低、平均の値 (Table 4) をそれぞれ用い、玉ねぎ、食パン、牛乳は文献値<sup>9)</sup>を用いた。玉ねぎはそれが含むステロール類のほとんどが  $\beta$ -シトステロールと考えられるが<sup>9)</sup>、酵素法ではこれも測定されるので、発色率の補正係数として0.6を掛けて求めた値を加えた。この結果からみると、市販の調理冷凍ハンバーグステーキのコレステロール含量は家庭で作られるものより30%程度低いと推定される。市販冷凍品は、JAS製品で20%以下の植物性蛋白の混合が認められており、また実際分析に供した試料15品中12品に植物性蛋白を含む旨の表示がなされていた。また卵黄を含むものは15品中3品であった。それらの含有量は不明であるが、前述の配合例に従い調製したハンバーグステーキのコレステロールは46~61%が挽き肉から、33~47%が卵からくることを考えると、挽き肉の代替またはつなぎとしての植物性蛋白の使用と卵の不使用が、市販の調理冷凍ハンバーグステーキのコレステロール含量が低い原因の1つになっていると考えられる。

## 要 約

1980年5月から8月にかけて購入した市販の調理冷凍食品4品目 (ハンバーグステーキ15銘柄、シューマイ8銘柄、ギョーザ8銘柄、肉だんご6銘柄) のコレステロール含量を酵素法で測定した。試料100g当りの最高値、最低値、平均値はハンバーグステーキで41~67 (54 $\pm$ 7) mg, シューマイで29~62 (40 $\pm$ 10) mg, ギョーザで22~47 (37 $\pm$ 7) mg, 肉だんごで37~80 (53 $\pm$ 14) mgであった。市販の調理冷凍ハンバーグステーキのコレステロール含量は家庭で作られるものの計算値より30%程度低かった。本法で、試料の日替り測定における変動係数は2~6%, 添加コレステロールおよびコレステロールパルミテートの回収率は96~100%であった。

終わりに、本研究において実験に協力された富永良子、宮内洋子の両嬢に感謝します。

## 文 献

- 1) 辻 啓介, 中川靖枝, 辻 悦子, 鈴木慎次郎: 栄養学雑誌, **35**, 159 (1977).
- 2) Jalam, K. Punwar and Philip, H. Derse: J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM., **61**, 727(1978).
- 3) 久城英人, 中本潤子, 福井 巖, 小川善資, 山口賀久, 有末一隆, 林 長蔵, 山村雄一: 臨床栄養, **56**, 775 (1980).
- 4) David, R. Newkirk and Alan, J. Sheppard: J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM., **64**, 54(1981).
- 5) 深野駿一, 西田甲子, 牛尾房雄, 道口正雄: 東京衛研年報, **30-1**, 167 (1979).
- 6) 中村泰彦, 梶原さつ子, 西村京子, 江籠美雪: 鹿大教育学部研究紀要自然科学編, **32**, 23 (1981).
- 7) 川端純一: 栄養と食糧, **13**, 300 (1960).
- 8) 中川靖枝, 辻 啓介, 岩尾裕之, 鈴木慎次郎: 栄養と食糧, **32**, 389 (1979).
- 9) 岡 芳子, 桐山修八, 吉田 昭: 栄養と食糧, **26**, 121 (1973).

## Summary

Four kinds of prepared frozen foods, hamburg steak (15 brands), shao-mai (8 brands), "gyoza" (8 brands) and meat balls (6 brands) were purchased at several

local supermarkets from May to September in 1980, and the cholesterol was determined by an enzymic method. The ranges and averages (in parentheses) of the cholesterol in individual items were: hamburg steak 41-67 ( $54 \pm 7$ ), shao-mai 29-62 ( $40 \pm 10$ ), "gyoza" 22-47 ( $37 \pm 7$ ) and meat balls 37-80 ( $53 \pm 14$ ) mg/100 g of samples. The values for the hamburg steak were about 30 % lower than those obtained by calculation from recipes for home-cooked hamburg steaks. In this assay, the coefficients of variation were 2 to 6 % in day-to-day reproducibility tests, and the recoveries of added cholesterol and cholesteryl palmitate were 96 to 100 %.