脂質の呈味性に関する研究 (第6報)^{注1)}

自動酸化大豆油の呈味性

薄木理一郎・佐藤正之・久保田広・金田尚志

東北大学農学部食糧化学科(仙台市堤通雨宮町 1-1)

Studies on Nature of the Tastes of Lipids. VI.

Tastes of Autoxidized Soybean Oil

Riichiro USUKI, Masayuki SATO, Hiroshi KUBOTA,
and Takashi KANEDADepartment of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku
University (Tsutsumidori-Amamiyamachi, Sendai)

Many flavor deteriorations in lipid-containing foods are attributable to autoxidation of their lipids. It is well known that autoxidized oils show unpleasant taste and odor. However, little research has been made on their taste. This paper deals with the taste of autoxidized soybean oil, and the elucidation of contributing matters to bitter taste. The oil with peroxide value of 2212 was used for the experiments, because it had the strongest bitter and stimulant taste and astrigency characteristic among autoxidized oils. After the systematic fractionation as shown in **Fig.-1**, each fraction was added to the fresh oil on the basis of yields or acid value, and tested organoleptically. A strong bitter taste was detected in both free fatty acids and deacidified glyceride fractions. During several chromatographic analysis, the bitter substance in the former was supposed to be polar oxidized fatty acids rich in functional groups. The volatile compound fraction had a strong astrigency, which may be caused by carbonyl compounds.

1 緒 言

脂肪を含む食品の風味低下は含有脂質の自動酸化による場合が多いが、酸化脂質自体の味を含めたフレーバーに関する研究は非常に少ない。自動酸化油が不快な味やにおいを有することは日ごろ経験するところだが、このうちにおい成分についてはかなり研究が行われているのに対し、味に関してはほとんど報告がなく、わずかに Evans ら¹⁾が脂肪酸メチルエステルの酸化によって生ずる不揮発性含酸素化合物やダイマーは一般に無臭だが無味ではない、という報告があるぐらいである。そこで著者らは自動酸化油の味がいかなるもので、また何によってもたらされるかを明らかにするため自動酸化大豆油を各種成分に分別し、これら成分と味との関係を官能検査により検討した。その結果いくつかの知見とくに不味成分として認められる苦味が官能基に富んだ遊離脂肪酸に由来することが明らかとなったので以下報告する。

注1) 前報: 油化学, **25**, 203 (1976)

2 実 験

2.1 自動酸化大豆油の調製

市販大豆白絞油 3 kg を 5 l のナスフラスコにとり、40~50°C でかくはんしつつ、900 ml/min の酸素を通じて自動酸化し、過酸化値 (POV) の異なる3種の油をとり官能検査を行った。その結果、POVが高い程不快な味やにおいは増すがこれらの質的な差は認められなかったため、味、においとも最も強い POV: 2212 の油を試料油として以下の実験に供した。

2.2 自動酸化大豆油の分画

Fig.-1 に示すように分画を行った。すなわち、自動酸化油 269.5 g をエーテルに溶かして 50 ml の脱塩水で2回水洗し、水層を減圧濃縮、乾燥して 0.0442 g (収率 0.016%) の水溶性区分を得た。次いでエーテル層を 10% 水酸化カリウム水溶液 70 ml で洗い酸性物質 0.8095 g を得たが、TLC の結果グリセリドが混入していると思われたので、陰イオン交換樹脂 Amberlite CG-

Fig.-1 Diagrammatic representation of the fractionation of autoxidized soybean oils.

400 (OH 型) で精製し、遊離脂肪酸区分 0.3240 g (収率 0.12%) を得た。

中性区分 (260.0 g, 収率 97%) の一部 (220 g) を 56.2°C, $3.2 \sim 5.0 \times 10^{-3}$ mmHg で分子蒸留を行い、ドライアイス-アセトンラップに 0.4002 g (収率 0.18%) の揮発性区分を得た。

以上の分別とは別に、自動酸化油 20 g を 1 N 水酸化

Fig.-2 Partition column chromatography of free fatty acid fraction.

カリウム-エタノール溶液で一昼夜冷けん化して不けん化物を得、更に混入した遊離脂肪酸を Amberlite CG-400 で除去して 0.1443 g (収率 0.72%) の不けん化物区分を得た。

2.3 遊離脂肪酸区分の分画

遊離脂肪酸区分 115 mg をメタノール-ベンゼン系の分配カラムクロマトグラフィー²⁾ に付し、溶出液 5 ml を 1 Fraction として分別, Fig.-2 のような溶出曲線を得た。便宜上 Fraction 1~3 を A 区分, 37~39 を B 区分 41~43 を C 区分, 49~51 を D 区分, 76~79 を E 区分として TLC 及び官能検査を行った。この場合の官能検査には各分画区分 3 mg を 1 g の新鮮大豆油に添加したものをを用いた。

2.4 官能検査

前報³⁾ 同様、強さを 5 段階尺度で表すプロフィール法を用いた。

3 結果及び考察

3.1 自動酸化大豆油分画区分の呈味性

酸化日数の異なる 3 種の自動酸化大豆油及び新鮮大豆油を Table-1 に示した。カルボニル価 (COV) は熊沢法⁴⁾ により求めたので、POV の高い試料油では真の値よりいくらか高い値を示していると思われる。Table-2 に分画区分の POV, COV, 酸価 (AV) 及び官能検査の結果を示した。分画前の自動酸化大豆油は強い苦味、強

Table-1 Chemical characteristics of fresh and autoxidized soybean oils.

	Period of oxidation	POV*	COV*	AV	IV
Fresh oil	0	0	5	0.01	135
Autoxidized oil I	20	101	49	0.02	134
II	43	1010	497	0.84	129
III	48	2212	948	4.51	116

* meq/kg

Table-2 Chemical and organoleptic characteristics of the fractionated substances from autoxidized soybean oil.

	POV	COV	AV	Organoleptic descriptions*	
				Taste	Odour
Autoxidized oil	2212	948	4.5	sBitter, sAstringency, sStimulant	sStimulating, sOxidized
Water-soluble substances	—	—	—	wBitter	Oxidized, Acidic
Free fatty acids	108**	460	—	sBitter, sStimulant	Stimulating, Acidic, Oxidized
Volatile compounds	1086**	5420	—	sAstringency	Stimulating, Oxidized
Non-volatile deacidified oil	1408	837	1.0	sBitter	Oxidized
Unsaponifiable matters	39	492	—	vwSweet, vwBitter	wPainty

* Fresh soybean oils were tested, to which fractionated substances were added on the basis of yields or acid value. The symbols "s", "w" and "vw" represent strong, weak and very weak, respectively.

** Measured colorimetrically by Stamm's method.

い刺激味及び強い渋味を呈していたが、苦味は遊離脂肪酸区分及び脱酸油区分に、刺激味は遊離脂肪酸区分に、渋味は揮発性区分に移行しているように思われた。揮発性区分はその COV から直鎖アルデヒド及びケトンが主成分と思われ、それが渋味と関係があるのは興味深い。低級アルデヒドや低級脂肪酸が主であると思われる水溶性区分、及びステロールやテルペンアルコールが主である不けん化物区分は量的にも少なく、自動酸化油の味にはほとんど影響がないと思われた。

揮発性区分を除いた脱酸油区分は 99% 程度グリセリドより成ると考えられるが、苦味が何に起因するかを知るためケイ酸カラムクロマトグラフィーを行った。展開溶媒はヘキサン中のイソプロピルエーテル (IPE) の濃度を 5, 15, 30, 60, 100% と変えたもの及びエチルエーテルを用いた。官能検査の結果、苦味は 30, 60, 100% IPE 区分に認められた。これらの区分の POV はおのおの 1246, 1020, 1401, COV は 935, 950, 1145 でまた IR スペクトルによりヒドロキシル基の存在も示唆された。従って脱酸油区分の苦味は過酸化基、ヒドロキシル基、カルボニル基等の官能基の多いグリセリドによるものと推定されるが、わずかに残存する遊離脂肪酸の影響も否定できず、今後更に検討しなければならない。

3.2 遊離脂肪酸区分の苦味

分配カラムクロマトグラフィーによる遊離脂肪酸の分画区分の官能検査の結果を **Table-3** に、TLC 図を **Fig.-3** に示した。カラムクロマトグラフィーの溶出が進むにつれて苦味が増加し、TLC の結果はそれと対応して極性物質が増加していることを示している。**Fig.-3** に示すようにスポットはおおむね Zone a~d の 4 つに分かれたが、その R_f 値は Vioque 及び Holmann⁵⁾ の報告と比較すると Zone a は通常の脂肪酸、b はケトン酸、c 及び d はヒドロキシ酸及びそれより極性の高い酸化酸に相当する。Zone a の脂肪酸組成を GLC により検討したところ、主な脂肪酸はパルミチン酸 (21%), オレイン酸 (23%), リノール酸 (44%) であり、リノレン酸はもはや消失していた。TLC 板上のジニトロフェニルヒドラジン-塩酸溶液及びヨウ化カリウム-酢酸溶液による定性試験の結果、Zone b~d はカルボニル基を

Table-3 Organoleptic description of five representative fractions separated from free fatty acids by partition chromatography.

	Taste	Odour
A	Tasteless	Fruity, Rancid
B	ωBitter	Fruity
C	ωBitter	ωAcidic
D	Bitter	ωAcidic
E	sBitter	Acidic

Three mg of each fraction was added to fresh soybean oil.

Fig.-3 Thin layer chromatogram of methyl esters of five representative fractions separated from free fatty acids fraction by partition column chromatography.

Zone c~d は過酸化物を含むことがわかった。このように遊離脂肪酸が苦味を生じるためには種々の官能基が必要であることを知った。

苦味と官能基との関係を知るために、遊離脂肪酸区分、同分画 B 及び C 区分についていくらか化学修飾を行った。水素化ホウ素ナトリウムで還元したところ、三区分共に弱い甘味を生じたほか、C 区分を除く二区分において刺激味の消失と苦味の減少がみられた。ケト酸が主成分と思われる B 区分を亜硫酸水素ナトリウム処理すると苦味が減少した。これらの結果はカルボニル基、過酸化基がヒドロキシル基より苦味に関与している可能性を示唆している。一方 Henick ら⁶⁾はヒドロペルオキシドが無味無臭であることを報告しており、著者らも POV 5600 程度の精製リノール酸メチルヒドロペルオキシドがほとんど無味であることを認めている。従って過酸化基よりカルボニル基の方が苦味に関係しているといえよう。

最も苦味の強い D 区分はヒドロキシル基を二以上もつものやダイマー酸が含まれると思われる。C, D 相当区分は 20% 程度を占めているが、まだかなりの混合物であり、今後更に分別が必要であろう。

今回用いた自動酸化大豆油は POV が 2212 という通常我々が出会うことのない極度に酸化した油であるが、POV 100 程度の油でも弱い苦味を呈した。C, D 区分は非常に低濃度でも苦味を示すことから、このような低い POV の油の苦味に遊離脂肪酸が寄与していることは充分予想される。また今回の自動酸化大豆油中に通常の脂肪酸が 3.3% しか存在しなかったのは特筆すべきことであり、自動酸化過程における遊離脂肪酸の量的変化と共に、酸化酸の生成も含めた質的变化に検討を加えることが必要である。

著者らは酸化脂質がそのフレーバーに影響を及ぼしていると思われた酸敗身欠きにしんの不味成分について検討し、遊離脂肪酸区分及び脱酸トリグリセリド区分に強い苦味が存在したことを既に報告した⁷⁾。にしんはリ

ン脂質を含むので大豆油の場合と単純な比較はできないが、本実験でも同様の結果が得られたことは、食品においてもある特定の構造をもった酸化酸が苦味を出現させる可能性があることを示唆している。また Evans ら¹⁾は大豆油脂肪酸メチルエステルの過酸化物を蒸留して得たダイマーが mild, tangy, bitter, and persistent taste をもっていると報告しており、脂肪酸ダイマーや酸化酸を含んだトリグリセリドが苦味を示す可能性も十分に考えられ、今後の検討が期待される。

なおリノール酸及びリシノール酸をモデル化合物として酸化させ、苦味との関連を追求した。その結果は次報⁸⁾に報告する。

(昭和 54 年 1 月 8 日受理)

文 献

- 1) C.D. Evans, E.N. Frankel, P.M. Cooney, H.A. Moser, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **37**, 452 (1960)
- 2) E.N. Frankel, D.G. McConell, C.D. Evans, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 297 (1962)
- 3) 薄木理一郎, 金田尚志, 油化学, **25**, 203 (1976)
- 4) 熊沢 恒, 大山 保, 油化学, **14**, 167 (1965)
- 5) E. Vioque, R.T. Holman, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 63 (1962)
- 6) A.S. Henick, M.F. Benca, J.H. Mitchell, Jr., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 88 (1953)
- 7) 端本謙一, 薄木理一郎, 金田尚志, 昭和 49 年度日本水産学会春季大会発表 (東京)
- 8) R. Usuki, T. Kaneda, *Agr. Biol. Chem.* (under preparation for submitting) "On the bitter taste of oxidized fatty acids"