Co⁶⁰ γ -線照射の生揚げに及ぼす影響 VIEffects of Co⁶⁰ γ -Rays on Fried Bean Curd (VI)

異臭に関して大豆揚げ油および生揚げ外皮油の検討

Examination of Heated Soybean Oil and the Oil Absorbed in the Outer Crust of the Bean Curd in Relation with the Irradiation Odor

(昭和 36 年 4 月 10 日受理)

浦 上 智 子 細 見 倫 子 友 永 敬 子
(Chieko Urakami) (Michiko Hosomi) (Keiko Tomonaga)

An irradiation odor of the oil extracted from the crust of irradiated (3×10^6 r) fried bean curd was found to be much stronger than that of the irradiated heated-soybean oil. Chemical, paper chromatographic and ultraviolet spectrophotometric analyses of these oils revealed some effects of irradiation. The results also indicated that the chemical compositions of the two oils differed remarkably from each other.

緒 言

先に生揚げの外皮となかみとを分離し、揮発酸についてペーパークロマトグラフィーを行なった結果、照射および対照試料から酢酸と思われるもの 1 個のみが検出された¹⁾。また揮発性カルボニル化合物について外皮となかみとを分離して検討した結果でも、照射および対照試料からほとんど同じ Rf 値を示す 3 個の 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体を得たのみで²⁾、照射の影響はわからなかった。すなわち普通食品分析に用いられる実験方法では異臭に関係する化合物の捕捉は困難である事がわかった。放射線照射により分解する分子数は概算によれば、 10^6 r 程度で食品 1 g 中 0.03% といわれている。また Lea³⁾によればフレパーの threshold は $10^8 \sim 10^9 : 1$ であろうといわれている。従って生揚げの異臭も γ -線照射により生成する微量成分によるものと考えられ、その探索には新しいテクニックを必要とする。

そこで、放射線の影響を受け易いと考えられる油脂成分の変化について、一般化学分析、ペーパークロマトおよび紫外吸収の測定を行なった。この報告では揚げ油と生揚げ外皮に吸着している油脂成分について得た結果を述べる。

揚げ油のごとく、一度加熱した油脂に放射線照射を行なった報告はあまり見当たらない。ただ、最近アルカリ異性化を行なった油脂に紫外線を照射した例がある⁴⁾。すなわち紫外線照射 3 時間では共軛ポリエンを有する油脂成分のうち、共軛ジエン以外のものは破壊され易く、

ジエンの分解は起こるとしてもわずかであると報告されている。油脂を加熱($180 \sim 200^\circ\text{C}$)した場合、cis は trans 型に、そして非共軛のポリエンは共軛型になることが知られているので、照射により起こる揚げ油成分の変化は紫外線照射の場合に類似するであろう。しかし揚げ油には共軛二重結合ばかりでなく、パーオキシドやカルボニル化合物も存在するであろうから、放射線照射によりこれらの破壊が起こるであろう。他方これらのものはまた放射線照射によるフリーラジカル反応で生成されることも考えられる。

油脂のフリーラジカル反応は加熱による場合でも、放射線照射による場合でも、極くわずかな条件の差により、その生成物が異なることが知られている。従って生揚げ外皮に吸着している油脂成分は揚げ油の成分とは異なるものと考えられる。すなわち揚げ油では主として油脂に起こるフリーラジカル反応であるが、外皮吸着油の場合では、蛋白質および水分を媒体としてフリーラジカル反応が起こると考えられる。そこで生揚げを照射した後、外皮から抽出した油脂成分は揚げ油に照射した場合の成分とは異なることが予想される。

実 験 方 法

1. 試料揚げ 市販の豆腐一丁を 30~40 分水切りした後、四等分(三角形)し、新鮮な大豆油を用いて $180 \sim 200^\circ\text{C}$ で、一個につき数分間揚げた。加熱中の中実の温度は $80 \sim 90^\circ\text{C}$ であった。生揚げは冷却後、前報⁵⁾と同様な方法でポリエチレンフィルム(積水化学製品、5/100

mmの厚さ)に減圧密封した。試料は照射日まで冷蔵庫に保存し、また運搬および照射中は氷詰にした。

2. 油脂の抽出 生揚げのなかみを十分除去し、外皮のみを集め、小さくきざんだ後、適量の精製ベンゼンを用い、室温で抽出した。ベンゼンは減圧下、窒素気流中、50℃のバース温度で溜去した。ベンゼンの完全除去は Le Rosen のホルマリン反応⁶⁾を用いて検した。油脂は出来るだけ、光や空気をさけて取扱い、分析を行なうまでは冷蔵庫に保存した。

3. 照射方法 揚げ油を照射する場合は、空気中で冷却した油約 5g 程度を 10 ml 容量の試験管内に収めたポリエチレン袋に入れ、試験管を減圧密封した。保存方法および照射条件は、生揚げの場合とほとんど同じで、後者についての条件は第 1 表に示す通りである。照射には、大阪大学産業科学研究所、浅田研究室のご好意によりフルール型装置を使用させていただいた。

第 1 表 試料の照射条件

試 料	照射日迄の 保存日数	線 量 率	照射時間	総 線 量
生揚げ	4	7×10^4 r/hr	45.5	3.2×10^6 r
揚げ油	6	7×10^4 r/hr	44.5	3.1×10^6 r

4. 一般化学分析 酸化、鹼化価、沃素価の測定は常法によった。パーオキサイド価(以下 P.V. と略す。100 g 試料当たりの酸素の mM で表わす)は Volz-Gortner⁷⁾の方法で、またカルボニル量は Henick 法⁸⁾に準じて行なった。標準試料を用いなかったのも、カルボニル量とし、430 mμ の吸光度を測定した。

5. 紫外吸収の測定 油脂は精製ヘキサン(1% 過マンガン酸カリで洗滌、乾燥後、蒸溜した)で 0.5% 溶液とし、ベックマン分光光度計で測定し、 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ の値を求めた。

6. 脂肪酸のペーパークロマト 油脂は常法により鹼化し、酸性にした後、精製エーテルで抽出し、乾燥後、濾過した溶液をクロマトに供した。既知試料はメタノー

ルあるいはエーテル溶液としてスポットした。既知試料の濃度は 0.5mg/ml (0.2ml スポットする)または 5mg/ml (0.02 ml スポットする)に調製できたが、未知試料では油脂量が少ないので、濃度をコントロールすることは困難であった。そこで、予備実験の結果から、それぞれの試料をスポットする量を定めた。

東洋濾紙 No. 50 に 20% 流動パラフィンベンゼン溶液を吸着させ、空気乾燥後、CaCl₂・パラフィンを入れたデシケーター中で乾燥した。展開方法は主として Skipski⁹⁾の方法に従った。この方法では 2 種類の展開液を用いる。(i) 95% 酢酸-流動パラフィン飽和溶液; (ii) 氷酢酸-H₂O₂ (9:1) の混液に流動パラフィンを飽和させた溶媒 (i) 法のみでは、“Critical Pair”の脂肪酸を見わけることができないが、(ii) 法を併用すれば、Critical Pair のうちの不飽和脂肪酸は H₂O₂ により酸化され、濾紙上にスポットを残さないで、飽和脂肪酸のみを認めることができる。この方法では 25℃あるいは 35~40℃の展開温度が良いといわれているが、われわれの実験室ではことに冬期にこのような温度調節をすることは困難であるので、あらかじめ試料油を H₂O₂-HCOOH で酸化させて置いてペーパークロマトを行なうという Buchanan¹⁰⁾の方法を必要に応じて試みた。

脂肪酸の発色について Skipski の蒼鉛-H₂S 法は困難であったので、Buchanan の水銀塩-δ-diphenyl-carbamide 法を採用した。

ペーパークロマトは一個の試料について 2~6 回行なった。

結 果 と 考 察

1. 異臭について くわしいことは次報で述べるが、照射揚げから抽出した油脂 B は非常に強い異臭を有していた。他方照射した揚げ油 A では異臭はほとんど感知できないか、あるいはあるとしても弱いものであった。

2. 揚げ油 (A, A') について 第 2 表に示す結果から、酸価、鹼化価、沃素価、カルボニル量は照射試料 A

第 2 表 照射の化学測定値に及ぼす影響

		揚 げ 油		外 皮 抽 出 油	
		A (照 射)	A' (対 照)	B (照 射)	B' (対 照)
酸	価	2.22 ± 0.19	2.19 ± 0.07	4.62 ± 0.01	2.49 ± 0.06
鹼	化 価	96.3 ± 0.8	94.8 ± 1.7	75.7 ± 2.1	82.4 ± 0.5
沃	素 価	124.9 ± 3.3	121.9 ± 0.8	123.3 ± 0.5	113.1 ± 2.2
P. V.		0.41 ± 0.01	0.29 ± 0.02	1.44 ± 0.03	0.39 ± 0.02
カル	ボニル量	0.023 ± 0.003	0.027 ± 0.002	0.019 ± 0.003	0.031 ± 0.012

A は照射日より 14~27 日後に、B は 13~27 後に測定した。

A' は照射試料と同様に保存し、照射日より 8~10 日後に、B' は同様に 9~11 日後に測定した。

と射照試料 A' との間には実験誤差範囲で差はないことがわかる。しかし P. V. は、照射試料の方が大きい値を示している。第一図の紫外吸放曲線は照射の結果、270~280 m μ 付近の吸放が減少していることを示している。

第1図 照射による揚げ油紫外吸放曲線の変化

また A' の示す 230m μ の吸収は減少し、A では 235m μ に弱い吸収が見られる。

270 m μ 付近の吸収は、自動酸化した油脂にも見られる吸収であるが、化学組成との関係はまだ明らかではない。280 m μ 付近はカルボニル化合物によるものである。230~235 m μ の吸収は何によるかわからないが、あるいは不飽和カルボニルによるかと思われる。それは自動酸化したオレイン酸エステルで見られる 224 m μ の吸収は α , β -不飽和ケトンによると考えられており¹¹⁾、 α , あるいは β に置換基があれば、長波長にずれることが考えられるからである。紫外吸収測定の結果は必ずしも化学測定の結果と一致していないが、加熱により生成され、強い紫外吸収を示すカルボニル化合物は照射により、破壊されたのではないかと考えられる。しかしその量は前にも述べたごとく、極めてわずかであろう。

第3表 揚げ油脂肪酸のペーパークロマト Rf 値
温度 16~17°C.; 展開時間 23.5~24 時間

A (照射)		A' (対照)	
(i)	(ii)	(i)	(ii)
0.84 $\pm$ 0.02	0.88 $\pm$ 0.02	0.86 $\pm$ 0.02	0.85 $\pm$ 0.00
0.56 $\pm$ 0.01	なし	0.55 $\pm$ 0.02	0.32*
0.44 $\pm$ 0.00	なし	0.41 $\pm$ 0.02	0.21*

* 酸化後 7~9 日に行なったクロマトグラムには現われなかったが、14~16 日経過後に行なったクロマトグラムに現われた。同様な現象は A 試料では見られなかった。

この試料油の脂肪酸のペーパークロマトの結果は第3表に示すように、A も A' も近似の Rf を示す 3 個のスポットを示した。

200°C の加熱とはいえ、短時間であるから、大豆油の主成分であるオレイン酸 (Rf 0.41~0.46) およびリノール酸 (0.55~0.56) が残っている。Rf 0.84~0.86 のものは、この結果では飽和脂肪酸とみなされ、第4表の既知試料の Rf 値と比較すると、カプリン酸より小さい炭素数の脂肪酸のようである。このスポットは、他のものに比べ非常にうすく発色し、可成り多量の試料をスポットしないと現われない。この方法では、発色する時のペーパーの洗滌により <C₁₀ の脂肪酸は検出できないといわれているので、このスポットが淡色であることはこのような理由によるのかも知れない。

第4表 既知試料の Rf 値と文献値¹²⁾

脂 肪 酸	Rf (実験値)	Rf (文献値)*
ステアリン酸	0.26 $\pm$ 0.02	0.19
パルミチン酸	0.42 $\pm$ 0.02	0.29
ミリスチン酸	0.59 $\pm$ 0.01	0.38
ラウリン酸	0.69 $\pm$ 0.03	0.53
カプリン酸	0.80 $\pm$ 0.02	0.57
オレイン酸	0.46 $\pm$ 0.02	0.26
リノール酸	0.58 $\pm$ 0.02	0.40
リノレン酸		0.53

* 展開液は 90%酢酸-流動パラフィン飽和溶液、展開温度 21°C, 時間 16 時間、実験値は未知試料の場合と同一条件で得た。

(ii) 法により A' に示された Rf 0.32 の 0.21 ものは、同一条件下で A 試料には示されていないから、照射により失われたものと考えられる。これらは (i) 法では示されていないから、加熱中に生成された酸化脂肪酸で、ペーパークロマト展開液中の H₂O₂ により酸化分解したものであろう。

3. 外皮より抽出した油脂 (B, B') について 酸価、鹼化価および沃素価は照射により減少しているが、カルボニル量はわずかに増加し、P. V. はいちじるしく増加している (第2表)。第二図の紫外吸放曲線は 270~280m μ の吸収に照射により減少していること、そのかわり 253 m μ の吸収が顕著になっていることを示している。また 228 m μ の吸収が照射の影響により現われている。紫外吸収に關係する P. V. およびカルボニル量の測定結果は揚げ油の場合と同様に、270~280 m μ の吸収の減少とは一致していない。253 m μ の吸収については次報で検討するが、228 m μ の吸収は、前項で述べた 230~235 m μ の吸収に類似するのではないかと考えられる。沃素価の減少は脂肪酸の酸化を意味するのではないかと考えら

第2図 照射による揚げ外皮抽出油の
紫外吸収曲線の変化

れ、ペーパークロマトの結果がこれを支持するようである。

すなわち第5表の対照試料B'には、ややRf値は高いが、オレイン酸、リノール酸に相当するもの2個とRf0.88のもの計3個の脂肪酸が存在するが、照射試料Bは(i)法により3個のスポットを示したが、(ii)法によりはっきりした4個のスポットを、鹼化後14~16日目に示した。同じ日数を経過したB'試料ではこのような現象は見られなかった。これらのスポットが示された時には0.88のものは存在しなかったから、0.88のものの分解によるのではないかと考えられる。これらのものが異臭に関係するものであるかどうか現在のところわからないが、容易に酸化分解され易い形態のものであると推察でき、次のような観点から興味ある現象である。

Evansら¹⁴⁾は大豆油に生成する不揮発性カルボニル化合物がフレバーのPrecursorであろうと述べている。またGaddisら¹⁵⁾はHenick法、Pool-Klose法、Girard

第5表 外皮吸着脂肪酸のペーパー
クロマト Rf 値

展開温度 16~17℃; 展開時間 23.5~24 時間

B (照射)		B' (対照)	
(i)	(ii)	(i)	(ii)
0.88±0.01	0.88	0.88±0.02	なし
0.58±0.00	0.61*	0.62±0.02	なし
0.45±0.01	0.32*	0.51±0.02	なし
	0.20*		
	0.11*		

* 鹼化後7~9日に行なったクロマトグラムには0.881個のみで、これらは認められなかったが、鹼化後14~16日目に行なったクロマトグラムに認められた。この場合0.88のスポットは失われていた。この様な現象はB'では同日数経過後には認められなかった。

試薬による方法を検討し、これらは必ずしも酸化油脂に存在するままのカルボニルを定量しているのではなく、これらの方法で使用する試薬、例えば、トリクロール酢酸、HClあるいは反応条件などにより、分解生成したカルボニルを測定しているのではないかという疑問を提出している。同様なことが脂肪酸類についてもいえるのではないかと考えられる。すなわち照射により生成されるものは不揮発性の脂肪酸の酸化物で、それが、種々な条件下で分解し、異臭に関係する揮発酸あるいはカルボニル化合物は漸時生成するという考え方である。今後このような見地から異臭について検討する必要がある。

4. 揚げ油(A')と外皮吸着油(B')の比較 酸価とP. V. とは両者の間に大きな差はないが、鹼化価はB'の方が小さく、そしてカルボニル量はやや大きい(第2表)。またB'の250 mμ~280 mμ(第2図)の吸収はA'の265~280 mμ(第1図)の吸収に比べて可成り幅が広い。更にペーパークロマトの結果では(第3, 5表)B'は不飽和のもの3個のスポットを示したが、A'は不飽和2個と飽和と思われるもの1個およびH₂O₂により酸化されて生成されるもので低いRf値を示すもの2個を示した。これらは両者の組成が可成り異なることを示すもので、加熱中に起こるフリーラジカル反応の条件の差を意味するものと考えられ、ことにB'では蛋白質の媒体作用が考慮されなければならないであろう。このことについては第VIII報のカルボニル化合物に関する報告で更に検討する。

要 約

1. 加熱大豆油と生揚げ外皮油脂に 3×10^6 r照射し、その影響を一般化学測定、紫外吸収、および脂肪酸のペーパークロマトにより検討した。
2. 照射異臭は照射した生揚げ外皮から抽出した油脂の方が加熱油よりも強く、分析の結果も前者では可成りの影響がうかがわれた。
3. またこれらの分析の結果は揚げ油の成分と生揚げ外皮に吸着されている成分とは異なるものであろういうことを示した。

文 献

- 1) 浦上その他、本誌 13, 141 (1960)
- 2) 浦上その他、本誌 13, 145 (1960)
- 3) H. C. Lea; *J. Applied Radiation and Isotopes* 6, 86 (1959)
- 4) M. Kayama and Y. Tsuchiya; *J. Agr. Research* 9, 251 (1959); *CA* 54, 1897 f (1960)
- 5) 浦上その他、本誌 12, 134 (1959)
- 6) F. Feigl; "Spot Tests" II, (Elsevier Publishing Co., New York) (1954)
- 7)~15) は18頁に続く。

考えられる。すなわち (1) α, β -不飽和エクソシクリックカルボニル⁹⁾, (2) 置換基を有する α, β -不飽和脂肪酸¹⁰⁾, または (3) ダイサルファイドあるいは含硫カルボニル化合物¹¹⁾ である。(3) の可能性は照射により起るフリーラジカル反応に大豆蛋白質 (メチオニン, シスチン, システインを含む) と水が関与するならば充分考えられることである。すなわち, 最近ブチルメルカプタンに γ -線照射を行なうとつぎのような反応が起ることが報告されている¹²⁾,

γ -線によりブチルメルカプタンは 1 式に従ってフリーラジカルを与え, この分子が適合し, 2 式のようにダイサルファイドを与える。もしオレフィンが存在すれば 3 式に従ってフリーラジカルとオレフィンの附加反応が起る。油脂のフリーラジカル反応で α, β -不飽和カルボニル化合物が生成されることはよく知られているので, このようなものが照射により大豆蛋白質の分解により生成されるフリーラジカル (硫黄を含む) と反応し, 含硫カルボニル化合物を与えることが考えられる。このような化合物は異臭に関係するであろうが, 果してこれらの極大吸収波長と異臭との間に密接な関係があるかどうか興味ある問題である。230 m μ の吸収は E および F 試料で最も強く, 対照試料である, E', F' および C' では弱い。従って照射により生じたものであると考えられ, 前報⁹⁾ で論議したことを考慮し, 今後追究して見る必要がある。

要 約

1. 異臭は照射した揚げなみから抽出した油脂および照射揚げ外皮から抽出した油脂で最も強く, 蛋白質お

よび水分が関係していると考えられる。

2. 紫外吸収測定の結果と化学定量, ことに P. V. とカルボニル量, は必ずしも一致しない。

3. 照射の影響を脂肪酸のペーパークロマト法で検出することは困難のようである。

4. 蛋白質や水が媒体となって照射によるフリーラジカル反応が起ると考えられる試料は 230 m μ 附近および 253~258 m μ 附近に強い吸収を示した。異臭に関係してこれらを追究して見る必要があると考えられる。

文 献

- 1) H. Lück and H. Kühn; *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.* 110, 430 (1959); *CA* 54, 4956 g (1960)
- 2) L. R. Dugan and P. W. Landis; *J. Am. Oil Chemists Soc.*, 33, 152 (1956)
- 3) A. Nowtony; *Naturwiss.*, 43, 519 (1956); *CA* 52, 17358 h (1958)
- 4) E. Baer et al.; *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 152, 157 (1952); 78, 232 (1956)
- 5) 浦上・細見・友永; 本誌投稿中 (1961)
- 6) J. Folch et al.; *J. Biol. Chem.*, 226, 499 (1957)
- 7) L. R. Mattick and F. A. Lee; *Food Research*, 24, 451 (1959)
- 8) M. A. Buchanan; *Anal. Chem.*, 31, 1616 (1959)
- 9) R. B. Woodward; *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 76 (1942)
- 10) R. A. Slepecky and J. H. Law; *Anal. Chem.*, 32, 1697 (1960)
- 11) A. E. Gillam et al.; "An Introduction to Electronic Absorption Spectroscopy in Organic Chemistry" (E. Arnold Publishers, London) (1954)
- 12) 荒木・他; 原子力シンポジウム報文集 4, 158 (1957)

(大阪市立大学家政学部)

(14頁より続く)

- 7) F. E. Volz and W. A. Gortner; *J. Am. Oil Chemists Soc.*, 24, 417 (1947)
- 8) A. S. Henick et al., *Ibid.* 31, 88 (1954)
- 9) V. P. Skipski et al.; *Arch. Biochem. and Biophys.* 87, 259 (1960)
- 10) M. A. Buchanan; *Anal. Chem.*, 31, 1616 (1959)
- 11) R. T. Holman et al.; *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 1285 (1954)
- 12) G. King; *J. Chem. Soc.* 1951, 1980.
- 13) P. E. Ballance and W. M. Cronble; *Biochem. J.* 69, 632 (1958)

- 14) C. D. Evans et al.; *J. Am. Oil Chemists Soc.*, 37, 452 (1960)
- 15) A. M. Gaddis et al.; *Food Research* 25, 459 (1960)