油脂の酸化生成物による着色料の分解

梶本五郎*・山口真季*・吉田弘美*

Decomposition of Food Dyes by
Oxidation Products of OilGoro KAJIMOTO*, Maki YAMAGUCHI*
and Hiromi YOSHIDA** Faculty of Nutrition, Kobe Gakuin University,
Arise, Ikawadani-cho, Nishi-ku, Kobe-shi,
Hyogo 651-21

Decomposition of added phloxine (Food red No. 104) and β -carotene in oils (olive, soybean and whale oils), and its extent in oils with different degrees (peroxide value 2, 98, 292 and 695 meq/kg) of oxidative deterioration were investigated. Oils containing 0.01% phloxine and 0.1% β -carotene were placed in a beaker (4×5.5 cm, oil: 10 g) and oxidized at a window (room temperature: $25 \pm 2^\circ\text{C}$). Oxidative deterioration of oils and the decomposition of phloxine and β -carotene in oils during storage were determined by Oven test (at the window) and a Lovibond colorimeter, respectively. Phloxine and β -carotene with oxidative products (oxidized fatty acids (OFA); fatty substances insoluble in petroleum ether) separated from oxidized soybean oil in ethanol were placed in a test tube (10 ml), and decomposition of phloxine and β -carotene during storage at the window were determined by absorption spectrometry at 548.5 and 470 nm, respectively. The degree of decomposition of β -carotene in oils was observed to be much higher in whale oil than in soybean and olive oils during storage, and it depended on the degree of oxidative deterioration of oils. On the other hand, no significant large difference could be found in the decomposition of phloxine among the three kinds of oils. The decomposition of phloxine and β -carotene in an ethanol solution was apparently promoted by OFA, and it increased with increasing concentration of OFA. (Received Feb. 15, 1995)

合成着色料である赤色色素 2 号 (色素は以後略す), 赤色 102 号, 赤色 104 号, 黄色 4 号, 黄色 5 号, 青色 1 号, 青色 2 号および緑色 3 号を添加した油脂を明所保存した場合, これらの合成着色料のうち, 赤色 104 号 (フロキシン) のみが油脂の酸化を著しく促進させることを報告した¹⁾. 同時に赤色 104 号 (フロキシン) 添加油の赤色色調が保存に伴い次第に退色していくことを経験した. したがって, 赤色 104 号 (フロキシン) の退色現象や分解機構を検討することは赤色 104 号 (フロキシン) による油脂の酸化促進機構を知る上でも重要であると考えた.

そこで, 今回, 合成着色料である赤色 104 号 (フロキシン) と天然着色料である β -カロテンについて, 添加油脂の酸化と両着色料の退色現象ならびに油脂の酸化生成物による着色料の分解について検討した.

実験方法

1. 試料

(1) 試料油

大豆油 (シリコン油 5 ppm 添加) は日清製油 (株) からの提供を受け, オリーブ油と鯨油 (シリコン油無添加) はナカライテスク (株) より購入し, これらは使用前に精製した. 精製はシリカゲルカラムに油脂を負荷し, n -ヘキサンで溶出後, ヘキサンを減圧で除去した. 精製油の一般性状, 脂肪酸およびトコフェロール組成は既報²⁾のとおりである.

(2) 着色料

合成着色料である赤色 104 号 (フロキシン, ナカライテスク (株)) と天然着色料で, かつ栄養強化剤である β -カロテン (和光純薬工業 (株)) の 2 種を選んだ. β -カロテンの純度はメーカーの保証によれば 80% である. 赤色 104 号 (フロキシン) と β -カロテンを選んだのは, 赤色 104 号 (フロキシン) は油脂の酸化促進性を有し, かつ, たらこやソーセージなどの油脂を含む加工食品に, β -カロテンはマーガリン, チーズ, スナック食品などの油脂加工食品の着色と栄養強化のため添加されているからである.

(3) 乳化剤

太陽化学 (株) より提供を受けたサンソフト 818 SX (成分組成, 縮合リシノレイン酸ヘキサグリセリン, ヨウ素価 80~95, 酸価 4 以下) を用いた.

2. 酸化油の調製

大豆油 100 g を 200 ml ビーカーに入れたものを 5 個用意し, これを $60 \pm 2^\circ\text{C}$ に調整した電気恒温器内に置

* 神戸学院大学栄養学部 (〒651-21 兵庫県神戸市西区伊川谷町有瀬)

き、1日1回、2分間かくはんして過酸化価値(POV) 98, 292 および 695 meq/kg のいわゆる酸化度の異なる油脂を調製した。油脂の酸化度合は便宜上 POV で示した。

3. 過酸化熱分解処理油の調製

POV695 の酸化大豆油(カルボニル価, CV21.3, アニシジン価, An. V 132) 200 g に既報³⁾ 同様、窒素ガスを吹き込みながら 160°C で 30 分間加熱処理して、過酸化物を減少させた油脂(POV8.6 meq/kg, CV, 23.6, An.V 141.2)を調製した。本調製油を過酸化熱分解処理油と呼ぶ。

4. 酸化酸の分別

油脂の酸化生成物である酸化酸(西ドイツ⁴⁾、アメリカ油化学協会⁵⁾では、石油エーテル不溶性の酸化脂肪酸のことを酸化酸と呼んでいる。わが国では油脂用語辞典⁷⁾、過酸化脂質実験法⁸⁾、その他の成書中にも酸化脂肪酸として記載されている⁹⁾¹⁰⁾ 同様、過酸化熱分解処理油をケン化し、常法どおり不ケン化物を除き、アメリカ油化学協会基準油脂分析法⁶⁾に準じては石油エーテル不溶性の酸化酸を分別した(POV, CV, An, V は 3.0, 37.2, 415)。石油エーテル可溶性脂肪酸を未酸化脂肪酸として表現した(POV, CV, An, V は 3.6, 19.8, 72.7)。

5. 着色料添加油の調製

赤色 104 号(フロキシン)は脂溶性に乏しいので乳化剤を用い、赤色 104 号、0.01%、乳化剤 1% をオリーブ油、大豆油、鯨油ならびに酸化度の異なる大豆油および過酸化熱分解処理油にそれぞれ添加してこれらをよくかくはんした。赤色 104 号を添加しない脂肪には乳化剤のみを添加し、これを対照油とした。 β -カロテンは乳化剤を用いずに上記の各油脂に 0.1% 添加して、これをよくかくはんした。対照油にも乳化剤は添加しなかった。

6. 着色料添加油の自動酸化試験

赤色 104 号(フロキシン)および β -カロテンの各添加油ならびに対照油の 10 g を 100 ml 容ビーカー(4×5.5 cm)に秤取し、これを外壁側のガラス窓から 1 m 離れた室内の机上に置いた(4月2日～9月30日、ただし、7月～9月の間、日中はクーラーを使用し、午前8時から午後7時までの室温は 25±2°C であった)。ガラス窓には半開きのブラインダーが取り付けであったので試験油には直射日光は当らなかった。各試験油はそれぞれ 3 点ずつ調製したものを保存し、経時的に各試験油の POV と赤色 104 号(フロキシン)と β -カロテンの分解度を測

定し、3 点の平均値を示した。

POV は基準油脂分析試験法¹¹⁾に準じて測定した。

7. 添加油中の着色料の分解

0.01, 0.0075, 0.005 および 0.0025% 赤色 104 号(フロキシン)添加油(1, 0.75, 0.5 および 0.25 mg/10 g 油脂)についてロビボンド比色計(Lovibond 5/1 inch cell)にて赤色度(R)をそれぞれ測定し検量線を作成した。 β -カロテンについても 0.1, 0.075, 0.05 および 0.025% 添加油(10, 7.5, 5 および 2.5 mg/10 g 油脂)の黄色度(Y)を測定し検量線を作成した。

経時的に両着色料添加油の R および Y をロビボンド比色計で測定し、検量線から油脂中の残存赤色 104 号(フロキシン)および β -カロテン量を求め、試験開始時の赤色 104 号および β -カロテン量に対する割合からそれぞれの分解率を算出した。

8. 着色料と酸化酸の混合および着色料の分解

赤色 104 号(フロキシン)や β -カロテン添加油に酸化酸を添加せずに着色料に直接酸化酸を混合させた。なぜなら酸化酸により油脂が著しく酸化されるので⁹⁾¹²⁾、両着色量が酸化酸により分解されたのか、あるいは酸化酸よりも酸化された油脂により着色料が分解されたかについては判然としないからである。

10 ml 容目盛付ガラス管に 0.01% 赤色 104 号(フロキシン)および 0.1% β -カロテンの 95% エタノール液 5 ml に 1% 酸化酸エタノール溶液を 0.5, 1.0, 1.5 および 2.0 ml ずつ添加し、ついで、95% エタノール液で 10 ml にフルアップした(10 ml 中の酸化酸量はそれぞれ 5, 10, 15 および 20 ml である)。これらをよくかくはん後、窓際から 1 m 離れた机上に置いた。

経時的に各試験試料の吸光度(赤色 104 号は 548.5 nm, β -カロテンを含む試料は 470 nm)を測定し、予め作成しておいた両着色料の検量線から残存赤色 104 号および β -カロテン量を求め、試験開始時の赤色 104 号(フロキシン)および β -カロテン量に対する割合から両着色料の分解率を算出した。両着色料の分解率はそれぞれ 3 点試料の平均値で表わした。

実験結果および考察

1. 着色料添加油の酸化度と着色料の分解

赤色 104 号(フロキシン)と β -カロテン添加オリーブ油、大豆油および鯨油の保存と油脂の酸化および両着色料の分解率を求め、Fig. 1 の結果を得た。

既知の事実ではあるが不飽和度の高い鯨油が最も酸化されやすく、ついで、大豆油、オリーブ油の順であった。

0.01% Phloxine addition

0.1% β - Carotene addition

Fig. 1 Changes in peroxide value of oils added phloxine and β -carotene and decomposition of phloxine and β -carotene in oils during storage

Olive, soybean and whale oils containing phloxine (Food red No. 104) dissolved in 1 ml of the emulsifying agent (Sunsoft No. 818 SX, condensed ricinoleic acid hexaglycerin) and β -carotene without emulsifying agent was oxidized in a beaker (4×5.5 cm, oil:10 g) at a window (room temperature: $25\pm 2^\circ\text{C}$).

Decomposition amounts of phloxine and β -carotene in oxidized oils were expressed as a percentage of their initial amounts. Data are means $\pm$ SD of triplicate determinations.

- $\triangle$, Whale oil [full line --- with phloxine and β -carotene
dotted line ---- without phloxine and β -carotene]
 $\blacktriangle$, Soybean oil [full line --- with phloxine and β -carotene
dotted line ---- without phloxine and β -carotene]
 $\blacksquare$, olive oil [full line --- with phloxine and β -carotene
dotted line ---- without phloxine and β -carotene]

Fig. 2 Changes in the decomposition amounts of phloxine and β -carotene in soybean oil with different degrees of oxidative rancidity during storage at the window

a), b) for abbreviations see Fig. 1. Others are the same as in Fig. 1. Data are means $\pm$ SD of triplicate determinations.

添加した赤色 104 号（フロキシン）は保存中いずれの油脂中でも比較的すみやかに分解をうけ、わずかに大豆油、オリーブ油中では鯨油中よりも分解量が少ない程度であった。一方、 β -カロテンは鯨油中で最も分解されやすく、ついで、大豆油、オリーブ油の順で、いわゆる油脂の酸化度の高い鯨油中で β -カロテンの分解量が多く、逆に酸化度の低いオリーブ油中では分解量が少なかった。このようにオリーブ油、大豆油、鯨油中での β -カロテンの分解は油脂の酸化度合と比較的よく似た傾向を示したが、赤色 104 号の分解は三油脂間でほとんど差がみられなかった。その理由として赤色 104 号（フロキシン）は蛍光を有し、保存中に光酸化をうけやすく、保存初期の段階ですみやかに分解されたのではないかと思われる。

た。確認のため赤色 104 号添加オリーブ油を窓際に置いた場合（明所保存）と暗室に置いた場合（暗所保存）の油脂の酸化度合と赤色 104 号の分解度合を調べた（結果省略）。明所保存 15 日目の添加オリーブ油の POV は 30 meq/kg で、それは暗所保存 15 日目の 18 meq/kg よりも少し高い程度であった。一方、赤色 104 号の分解率は明所保存で 96%、暗所保存では 18% と低い。したがって、赤色 104 号の分解は油脂の酸化に伴う分解よりも光酸化による分解が主であるといえる。本報でロビボンド比色計を用い添加油脂の色度から両着色料を定量したのは、保存初期の鮮明な赤色や黄色が保存に伴い退色していくのが肉眼でも明確に判別できることからロビボンド比色計が利用できるのではないかと考えたからである。

Fig. 3 Decomposition of phloxine and β -carotene in heat-treated soybean oil during storage at the window

a), b) for abbreviations see Fig. 1.

FO, fresh soybean oil; OO, oxidized soybean oil (peroxide value 695 meq/kg); HTO, heat-treated soybean oil (peroxide value 8.6 meq/kg): Peroxide was removed from oxidized soybean oil by passing through nitrogen gas and the peroxide free oil was heated at 160°C.

2. 酸化度合の異なる油脂中での着色料の分解

赤色 104 号（フロキシン）の分解は主に光酸化によったが、 β -カロテンは酸化度合の高い鯨油中で分解量が多く、酸化度の低いオリーブ油中で少なかった。したがって、 β -カロテンの分解は油脂の酸化生成物によるものと考えられた。そこで、POV の異なる大豆油での両着色料の分解率を調べた。結果を Fig. 2 に示す。

赤色 104 号は POV の高い油脂中ですみやかに分解するが、POV の低い油脂中でも比較的すみやかに分解し、10 日保存後の分解率は、POV の高い油脂の場合と大差はなかった。前項で述べたように光酸化による分解が大きく影響しているといえる。一方、 β -カロテンは POV

の高いいわゆる酸化度の高い油脂中ではすみやかに分解し、油脂の酸化度が低くなるにしたがい β -カロテンの分解も少なくなった。

3. 過酸化物質熱分解処理油中での着色料の分解

β -カロテンは POV の高い油脂中ですみやかに分解された。したがって、 β -カロテンの分解に油脂の過酸化物質が大きく関与しているものと思われた。油脂の過酸化物質が両着色料の分解にどの程度かかわっているかを検討するため過酸化物質を除去した油脂について赤色 104 号（フロキシン）と β -カロテンの分解を調べた。結果を Fig. 3 に示す。

過酸化物質熱分解処理油中での両着色料の分解は、過酸

Fig. 4 Decomposition of phloxine and β -carotene by oxidized fatty acids

Phloxine and β -carotene in an ethanol solution with oxidized fatty acids was oxidized in a test tube during storage at the window. Decomposition amounts of phloxine (a) and β -carotene (b) were expressed as a percentage of their initial amounts before storage. Data are means $\pm$ SD of triplicate determinations. OFA, oxidized fatty acids; Heat-treated oil (for abbreviations see Fig. 3) is saponified and the fatty acids are isolated by acidifying the mixture with hydrochloric acid and extracting it with petroleum ether. Fatty substances (OFA) are insoluble in petroleum ether. NOFA (nonoxidizable fatty acids) are soluble in petroleum ether.

化物を除去しない油脂に比べて少ない。しかし、新鮮油脂中よりも分解率は高い。したがって、両着色料は油脂の過酸化物の作用をうけ分解されたが、過酸化物のみでなく他の油脂の酸化生成物も分解作用に関与しているといえる。

4. 酸化酸による着色料の分解

過酸化物熱分解処理油から分別した酸化酸による着色料の分解を検討した。比較に石油エーテル可溶性の未酸化脂肪酸、新鮮大豆油およびオレイン酸を用い、エタノール溶液中の赤色 104 号と β -カロテンの分解について調べた。結果を Fig. 4 に示す。

赤色 104 号（フロキシン）や β -カロテンの分解率は酸化酸添加区が最も高く、ついで、未酸化脂肪酸、オレイン酸、新鮮油添加区の順であった。酸化酸の添加量が多くなるほど両着色料の分解率は増加した。

酸化酸の性状を調べると、エポキシド、アルデヒド、 α -ケト酸の呈色反応はいずれも陽性であった。また、既報¹³⁾の方法に準じて測定した酸化酸の IR 測定結果は、 $3\,600\sim 3\,300\text{ cm}^{-1}$ に OH の吸収、 $2\,700\sim 2\,500\text{ cm}^{-1}$ の OH 結合、 $1\,725\sim 1\,700\text{ cm}^{-1}$ の C=O、 $1\,380\text{ cm}^{-1}$ の C-CH₃、 $1\,250\text{ cm}^{-1}$ の C-O-C-、 $970\sim 960\text{ cm}^{-1}$ の -CH=CH- (トランス)、 880 cm^{-1} の OH と思われる吸収が認められた。したがって、酸化酸による着色料の分解は、これらの各種の官能基の作用によるものと思われる。しかし、どのような官能基が着色料の分解に大きく関与したかについては不明である。さらに酸化酸により活性酸素が産生¹⁴⁾、活性酸素による分解の可能性も考えられるので分解機構については今後の課題とした。

酸化酸分別時に石油エーテル可溶物を未酸化脂肪酸と呼称したが、酸化特数である CV, An. V は 19.8 および 72.7 で比較的高い。したがって、未酸化脂肪酸による着色料の分解は各種の官能基による分解と考えられる。オレイン酸や新鮮大豆油添加区での赤色 104 号（フロキシン）や β -カロテンの分解は、保存に伴うこれらの脂肪酸および油脂の酸化ならびに光酸化による分解と思われる。

要 約

合成着色料である赤色 104 号（フロキシン）と天然系の着色料である β -カロテンについて、油脂中での分解、ならびに油脂の酸化生成物による分解について検討した。

(1) 赤色 104 号は保存中オリーブ油、大豆油、鯨油などいずれの油脂中でも比較的すみやかに分解をうけ、大

豆油、オリーブ油中では鯨油中よりもわずかに分解が少ない程度であった。

(2) β -カロテンは保存に伴い分解するが、中でも鯨油中で最も分解されやすく、ついで大豆油、オリーブ油中の順であった。いわゆる油脂の酸化度の高い鯨油中で β -カロテンの分解量が多く、逆に酸化度の低いオリーブ油中では分解量が少なかった。

(3) 赤色 104 号や β -カロテンは過酸化物価の高い油脂中ですみやかに分解した。

(4) 過酸化物価 695 meq/kg の酸化油より過酸化物を除去した過酸化物熱分解処理中での赤色 104 号と β -カロテンの分解割合は、過酸化物を除去しない酸化油に比べて低くなったが、新鮮油よりも高かった。

(5) 過酸化物熱分解油より分別した酸化酸（石油エーテル不溶性の酸化脂肪酸）により赤色 104 号および β -カロテンはすみやかに分解された。

文 献

- 1) 梶本五郎・山口真季・粕谷尚司・吉田弘美・芝原章：日食工誌，41, 793 (1994)。
- 2) 梶本五郎・嘉ノ海有紀・田中恵美子・吉田弘美・芝原章：栄食誌，45, 285 (1992)。
- 3) 梶本五郎・吉田弘美：農化，47, 515 (1973)。
- 4) Deutsh Gesellschaft für Fettwissenschaft-Einheits Method, C III-3 (1968). DGF-Einheitsmethodev (Stuttgart)。
- 5) ARENS, A., GUHR, G., WAIBEL, J. and KROLL, S.: *Fette Seifen Anstrichm.*, 79, 310 (1977)。
- 6) Official and Tentative Methods of the Am. Oil Chem. Soc., G-53 (1946). American Oil Chemists Society (Chicago)。
- 7) 日本油化学協会 (編)：油脂用語辞典，p. 76 (1987)。
- 8) 金田尚誌・植田伸夫：過酸化脂質実験法 (医歯薬出版，東京) p. 62 (1983)。
- 9) 梶本五郎・吉田弘美・芝原章：栄食誌，42, 313 (1989)。
- 10) 梶本五郎・嘉ノ海有紀・吉田弘美・芝原章：栄食誌，43, 281 (1990)。
- 11) 日本油化学協会 (編)：基準油脂分析試験法，2・4・26-81 (1981)，2・3・1・1b-71 (1971)。
- 12) 梶本五郎・高岡真由美・吉田弘美・芝原章：栄食誌 41, 405 (1988)。
- 13) 梶本五郎・生田啓一・吉田弘美・芝原章：栄食誌 42, 185 (1989)。
- 14) 梶本五郎・高岡真由美・吉田弘美・芝原章：農化 63, 37 (1989)。

(平成 7 年 2 月 15 日受理)