



Title	イワシ油の酸化により生成する過酸化物質とアルデヒド含量の関係
Author(s)	木村, 友紀; KIMURA, Tomoki; 宮下, 和夫 他
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 54(3), 53-57
Issue Date	2003-12
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/21983
Type	departmental bulletin paper
File Information	54(3)_P53-57.pdf



イワシ油の酸化により生成する過酸化物質とアルデヒド含量の関係

木村 友紀¹⁾・宮下 和夫¹⁾

Relationship between Hydroperoxide and Aldehyde Levels in the Oxidation of Sardine Oil

Tomoki KIMURA and Kazuo MIYASHITA

Abstract

Triacylglycerol (TG) from soybean oil and sardine oil was autoxidized in the air at 50°C. Since sardine oil TG contained highly unsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5*n*-3) and docosahexaenoic acid (DHA; 22:6*n*-3), the formation rates of hydroperoxides and aldehydes in the oxidation of sardine oil TG was much higher than those in the oxidation of soybean oil TG. The comparative study on the formation of both oxidation products showed that hydroperoxides from sardine oil TG were easy to decompose to produce higher amounts of aldehydes, as compared with that from soybean oil TG. Tocopherol (0.1%~1.0%) effectively inhibited the formation of aldehydes in the oxidation of sardine oil TG, while it had little effect on the formation rate of hydroperoxides. Aldehyde is known to be a main factor which causes the development of objectionable flavors and odors by the lipid oxidation. Therefore, the characteristic effect of tocopherol on the formation of aldehydes would be useful for the inhibition in the oxidative deterioration of fish oils.

Key words: Fish oil, Autoxidation, Hydroperoxides, Aldehydes, Oxidative deterioration, Tocopherol

緒 言

油脂あるいは油脂含有食品を空气中に放置すると、風味の劣化や栄養価の低下が引き起こされる。これは油脂に含まれる高度不飽和脂肪酸 (PUFA) が自動酸化を受けるためである。油脂が酸化されるとまずヒドロペルオキシド基 (OOH 基) を有する過酸化物質が生成する。さらに酸化が進行すると、分解・重合反応などを介して、過酸化物質は種々の二次酸化生成物へと変化する。これら二次生成物のうち、特に、アルデヒド類は酸化劣化による風味低下の原因となり、過酸化物質よりも強い毒性を示すことが知られている (Frankel, 1998)。したがって、油脂中のアルデヒド含量を知ることは、その劣化程度を判定する上で非常に重要である。

ところで、各種油脂の酸化安定性は含まれる不飽和脂肪酸の不飽和度に比例して低下する。したがって、不飽和度の高いドコサヘキサエン酸 (22:6*n*-3; DHA) やエイコサペンタエン酸 (20:5*n*-3; EPA) を多く含む魚油は、リノール酸 (18:3*n*-6) をその主な不飽和脂肪酸とする植物油よりも酸化されやすい (Cho et al., 1987)。一般的に油脂の酸化程度は過酸化物質生成量の多少により判断されるが、魚油の場合、生ずる過酸化物質が不安定なことが推測され、過酸化物質の測定だけで劣化のレベルを知ることは不適当と考えられる。

そこで本研究では、イワシ油の自動酸化により生成するアルデヒド含量を測定し、その特徴について植物油である大豆油のそれと比較した。また、抗酸化剤としてのトコフェロールをイワシ油に添加した場合のアルデヒド生成量についても検討した。一般にアルデヒドの測定方法はヒドラゾン法 (2,4-DNPH 法) (Henick et al., 1954) が用いられる。しかし、魚油のような酸化されやすい油脂のアルデヒド含量をヒドラゾン法で分析した場合には、加熱と長時間の測定により操作中に酸化物質の分解が起こり、新たなアルデヒドを生ずる等の問題があった。そこで、本研究では、以前我々が開発した、低温、短時間でアルデヒドを定量する方法 (DPPD 法)(Miyashita et al., 1991) を用いた。

試料および実験方法

試料

大豆油はナカライテスク (株) より購入した。また、イワシ油は日本化学飼料 (株) より提供されたものを用いた。両油脂は、まず、活性炭—セラライトカラムクロマトグラフィーに供し色素並びにトコフェロールなどの抗酸化物質を除去した (Frankel et al., 1979)。ついで、ケイ酸カラムクロマトグラフィーによりトリアシルグリセロール (TG) 画分のみを分取した。こうして得られた大豆油 TG とイワシ油 TG 中にトコフェロール、及び、TG 以外の脂質クラス

¹⁾ 北海道大学大学院水産科学研究科生物資源化学講座
(Laboratory of Marine Bioresources Chemistry, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

を含まないことを高速液体クロマトグラフィーと薄層クロマトグラフィーによりそれぞれ確認した (Kubouchi et al., 2002)。 α -トコフェロールはエーザイ (株) より供与されたものを用いた。

油脂の酸化

大豆油 TG 及びイワシ油 TG それぞれ 3 g を 30 ml 容の円筒形ガラス容器にとり、50°C、暗所にてインキュベートすることで自動酸化させた。イワシ油にトコフェロールを添加する場合には、イワシ油 2 g を 30 ml 容の円筒形ガラス容器にとり、これにイワシ油 TG 重量の 0.1%, 0.5%, 1.0% となるようにトコフェロールを添加した。なお、トコフェロールを添加しないものをコントロール (0%) とした。また、トコフェロールを添加する場合には、トコフェロールをまずジエチルエーテルに溶解し、これを油脂に添加してよく攪拌後、ジエチルエーテルを不活性ガス (窒素) 下で除去した。

酸化の分析

過酸化物価は比色法 (Takagi et al., 1978) により測定した。一定時間インキュベートした試料 (10~30 μ l) を 25 ml メスフラスコにとり精秤した。これにクロロホルム (5 ml)、酢酸 (10 ml) 及び 50% ヨウ化カリウム水溶液 (1 ml) を加え、よく振り混ぜた後、5 分間室温・暗所に放置した。ついで、2% 酢酸カドミウム水溶液をメスフラスコの標線まで入れ、よく振り混ぜた。2 層に分離後、上層をセルにとり、410 nm の吸光値を測定した。過酸化物価は以下の計算式により算出した。過酸化物価 = (試料の吸光値 - ブランクの吸光値) \times 60.41 - 0.69 / 0.008 \times 試料の重量 (mg)。なお、ブランクは試料を入れないで測定した値である。

酸化に伴うアルデヒドの生成は DPPD 法 (Miyashita et al., 1991) により測定した。すなわち、一定時間毎に試料 (10~50 μ l) を 25 ml メスフラスコにとり精秤した。これに 0.021% トリフェニルホスフィンベンゼン溶液 (10 ml) を加え、よく振り混ぜた後、30 分間室温・暗所に放置した。ついで、0.3% N,N-ジメチル-p-フェニレンジアミン (DPPD) 酢酸溶液とメタノールの混合溶液 (1: 24, v/v) を 5 ml 加え、よく振り混ぜてから 30°C の水浴で 10 分間インキュベートした。その後、400nm, 460nm, 500nm での吸光値 (それぞれ A400, A460, A500) を測定し、以下の計算式でアルデヒド含量を求めた。アルカナール (mmol/kg) = (11.90 \times A400 - 8.041 \times A460 + 3.937 \times A500) \times 1,000 / 試料の重量 (mg); アルケナール (mmol/kg) = (1.539 \times A460 - 1.236 \times A500) \times 1,000 / 試料の重量 (mg); アルカジエナール (mmol/kg) = (1.109 \times A500 - 0.524 \times A460) \times 1000 / 試料の重量 (mg); 総アルデヒド含量 = アルカナール + アルケナール + アルカジエナール。

酸化により生ずるモノヒドロペルオキシド (OOH 基を一個有する過酸化物) とモノヒドロペルオキシドより極性の高い 2 次酸化生成物の生成量は TLC-FID 検出器 (イア

トロン) を用いて分析した (Miyashita et al., 1990)。すなわち、試料 (10 μ l) を試験管にとり、これにクロロホルム (0.2~0.5 μ l) を加えて試料溶液を調製した。この 1 μ l をクロマトロッド (S-III 型; イアトロン) にスポットした。このロッドを、ヘキサン/ジエチルエーテル (85: 15, v/v) の展開溶媒が入った展開槽に入れ、試料を展開した。その後、110°C のインキュベーターにロッドを 0.5~1 分間放置することで、溶媒を除去し、TLC-FID 装置で分析した。

なお、酸化実験はそれぞれの試料について 2 回以上行った。過酸化物価とアルデヒド含量の測定は同一の試料について 2 連で行い、TLC-FID 分析については 5 連で行った。値は平均値として表した。

結果と考察

不飽和油脂の自動酸化はラジカル連鎖反応で進行し、初期反応生成物として OOH 基を 1 個有するモノヒドロペルオキシドを生ずる (Frankel, 1998)。モノヒドロペルオキシドはさらに酸化・重合・分解反応などを経て様々な 2 次酸化生成物を生成する。一般に油脂の酸化の主反応生成物はモノヒドロペルオキシドとされるが、EPA や DHA から生ずるモノヒドロペルオキシドは非常に不安定であり、これらの酸化ではモノヒドロペルオキシドの生成量は極めて少ないと考えられている (Cho et al., 1987)。本実験で用いたイワシ油 TG の場合、その主要 PUFA は EPA や DHA であるため (Table 1) 酸化により生ずる生成物のほとんどはモノヒドロペルオキシドではなく、それより極性の高い化合物であった (Table 2)。こうした極性化合物としては、

Table 1 Fatty acid profile of soybean oil TG and sardine oil TG

Fatty acid (wt%)	Soybean oil TG	Sardine oil TG
14:00	0.1	8.7
16:00	11.3	20.1
18:00	3.7	2.4
16:1n-7	0.2	6.6
18:1n-7	1.6	3.1
18:1n-9	19.9	9.3
20:1n-9	0.1	1.7
20:1n-11	ND	2.8
22:1n-11	ND	3.0
18:2n-6	56.1	1.8
18:3n-3	6.0	1.2
18:4n-3	ND	3.1
20:5n-3	ND	11.2
22:5n-3	ND	1.7
22:6n-3	ND	11.6

ND: Not detected
TG: Triacylglycerol

Table 2 Formation of monohydroperoxides and polar oxidation products during the autoxidation of sardine oil TG

Time (hr)	Peroxide Value (meq/kg)	Oxidation products (%)	
		Monohydroperoxides	Polar oxidation products
0	1	0	0
19	52	0	0.37
28	163	0	0.64
31	303	0	3.85
34	665	0	9.23
36	743	0	14.51

TG: Triacylglycerol.

Table 3 Formation of monohydroperoxides and polar oxidation products during the autoxidation of soybean oil TG

Time (hr)	Peroxide Value (meq/kg)	Oxidation products (%)	
		Monohydroperoxides	Polar oxidation products
0	0	0	0
197	64	0.57	0.07
243	108	0.65	0.09
270	167	1.95	0.73
294	252	3.04	1.21
308	412	3.71	3.69
319	700	7.82	6.94

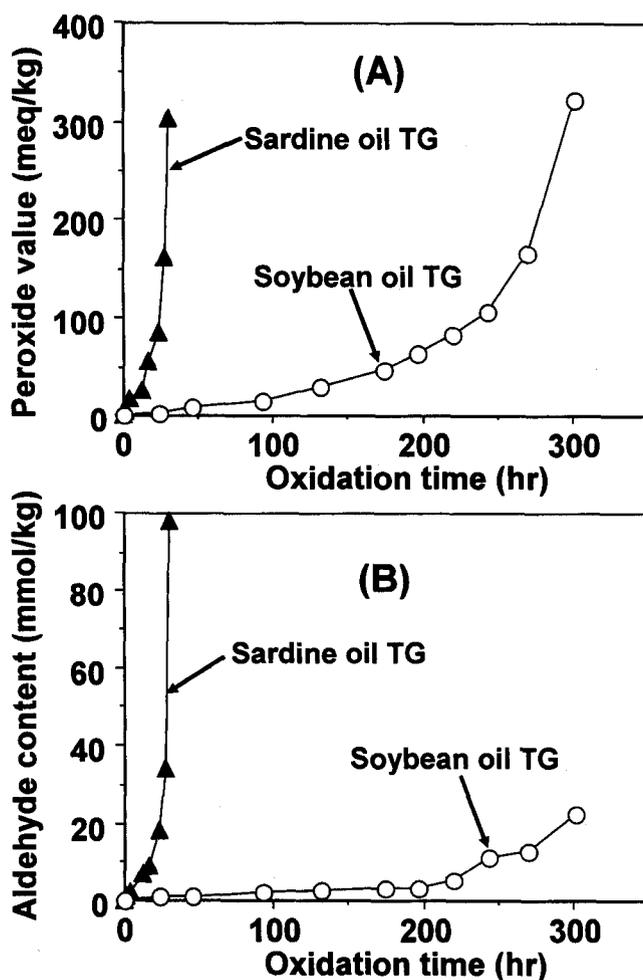


Fig. 1. Changes in peroxide value (A) and total aldehyde contents (B) during the autoxidation of soybean oil TG and sardine oil TG.

OOH基, ヒドロキシル基 (OH基), カルボニル基 (CO基) を分子内に複数有する単量体や2量体などの重合物が考えられる (Frankel, 1998)。一方, 大豆油 TG では EPA や DHA よりも不飽和度の低いリノール酸を主要 PUFA とするため, 酸化物としてはモノヒドロペルオキシドが主体

であり, この傾向は特に酸化初期において顕著であった (Table 3)。

緒言でも述べたように油脂の酸化安定性はその不飽和度に反比例して低下する。したがって, 不飽和度の高い EPA や DHA を含むイワシ油 TG は, それより不飽和度の

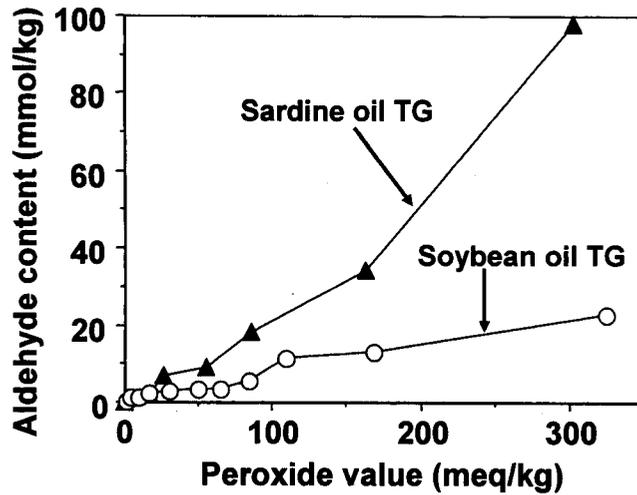


Fig. 2. Relationship between peroxide value and total aldehyde contents during the autoxidation of soybean oil TG and sardine oil TG.

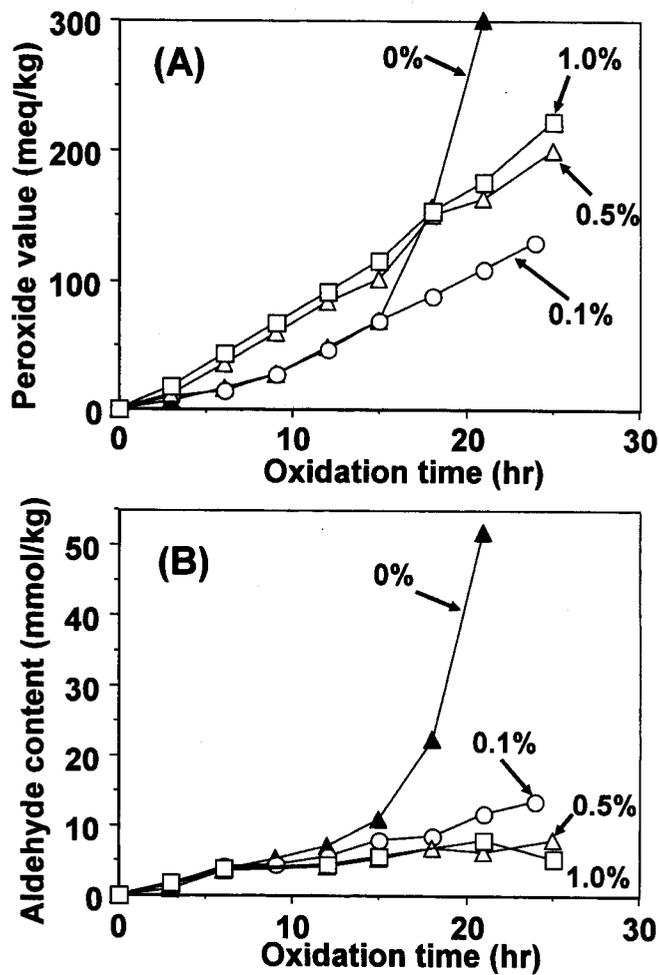


Fig. 3. Effect of tocopherol on the peroxide (A) and aldehyde (B) formation in the autoxidation of sardine oil TG.

低いリノール酸を主要 PUFA とする大豆油 TG よりも酸化されやすいことが予想される。実際、Fig. 1 に示すように、過酸化生成量及びアルデヒド生成量共にイワシ油 T

G の方が、大豆油 TG よりもその生成速度が速く、酸化されやすいことが確認された。また、Fig. 2 は過酸化物質を横軸に、アルデヒド含量を縦軸にとってイワシ油 TG と大豆

油 TG について比較したものである。図から明らかのように、同じ過酸化物価であっても、イワシ油 TG では大豆油 TG に比べてより多くのアルデヒドの生成していることがわかる。一般に油脂の酸化劣化の程度は過酸化物価で表すことが多いが、本研究の結果より、魚油の場合には過酸化物価の他にアルデヒドなどの分解物含量も考慮する必要のあることが示された。

ところで、アルデヒドは油脂の風味劣化の主因であり、その生成の防止は油脂あるいは油脂含有食品の品質保持のためにも必須である。そこで、抗酸化剤として最も食品に汎用されるトコフェロールを用いてイワシ油 TG の酸化で生ずるアルデヒド生成の抑制について次に検討した。その結果 Fig. 3(B) に示したように、0.1%~1.0% のトコフェロールの添加でアルデヒドの生成が効果的に抑制された。これに対して、過酸化物の生成は、トコフェロールを添加してもほとんど抑制できなかった (Fig. 3(A))。アルデヒドは過酸化物中の OOH 基を有する炭素鎖の開裂によって生成する。すなわち、C-OOH からヒドロキシラジカル (HO•) とオキシラジカル (-CO•) が生じ、オキシラジカルの炭素の両側でさらに開裂が起こり、アルデヒドが生成するのである。イワシ油 TG の酸化に伴うアルデヒド生成に対するトコフェロールによる効果的な抑制作用は、トコフェロールがこうしたオキシラジカルの生成を効率的に抑えていることを示している。一方、過酸化物 (OOH 基) は、様々なラジカルによる基質からの水素の引き抜きにより生ずるが、酸化されやすい EPA や DHA を多く含むイワシ油 TG の場合、0.1%~0.5% のトコフェロールの添加レベルではこうした過酸化物の生成を抑制できないことがわかった。

これまで油脂の酸化の程度は過酸化物価を指針とすることが多かった。しかし、本研究の結果より、特にイワシ油のような EPA や DHA を多く含む魚油あるいは魚油含有食品の劣化レベルを正確に把握するにはアルデヒド含量

も測定する必要があることが示唆された。今後は魚油の酸化に伴って生成するアルデヒドの内容について詳細に検討し、油脂の風味劣化に特に強く影響を及ぼすアルデヒドの特定とその効果的な生成抑制法の開発が必要と考えられる。

文 献

- Cho, S.-Y., Miyashita, K., Miyazawa, T., Fujimoto, K. and Kaneda, T. (1987) Autoxidation of ethyl eicosapentaenoate and docosahexaenoate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 876-879.
- Frankel, E.N., Neff, W.E. and Bessler, T.R. (1979) Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: V. Photosensitized oxidation. *Lipids*, **14**, 961-967.
- Frankel, E.N. (1998) Lipid oxidation. The Oily Press, Dundee, Scotland.
- Henick, A.S., Benca, M.F. and Mitchell Jr., J.H. (1954) Estimating carbonyl compounds in rancid fats and foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 88-91.
- Kubouchi, H., Kai, H., Miyashita, K. and Matsuda, K. (2002) Effects of emulsifiers on the oxidative stability of soybean oil TAG in emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **79**, 567-570.
- Miyashita, K., Takagi, T. and Frankel, E.N. (1990) Preferential hydrolysis of monohydroperoxides of linoleoyl and linolenoyl triacylglycerol by pancreatic lipase. *Biochim. Biophys. Acta*, **1045**, 233-238.
- Miyashita, K., Kanada, K. and Takagi, T. (1991) A simple and quick determination of aldehydes in autoxidized vegetable and fish oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **68**, 748-751.
- Takagi, T., Mitsuno, Y. and Masumura, M. (1978) Determination of peroxide value by the colorimetric iodine method with protection of iodine as cadmium complex. *Lipids*, **13**, 147-151.