



Title	低-中間水分活性域における脂質酸化：II．脂質酸化測定法と揮発性生成物との相関性
Author(s)	水島, 好清; MIZUSHIMA, Yoshikiyo; 高間, 浩蔵 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 30(2), 172-179
Issue Date	1979-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23685
Type	departmental bulletin paper
File Information	30(2)_P172-179.pdf



低-中間水分活性域における脂質酸化

II. 脂質酸化測定法と揮発性生成物との相関性*

水島好清**・高間浩蔵**・座間宏一**

Lipid Oxidation at Low-Intermediate Moisture Content*

II. The correlation between the common lipid oxidation measurements and the volatile compounds

Yoshikiyo MIZUSHIMA**, Kōzō TAKAMA** and Kōichi ZAMA**

Abstract

The volatile compounds appearing in the process of oxidation of mackerel oil were studied in a model system consisting of egg albumin. Propanal, one of the major volatile components, was identified by GC-MS analysis. A high correlation coefficient was obtained between propanal formation and COV, Oxodiene value, and COP ratio. At the same time, the formations of some major hydrocarbons, not identified, are also highly correlated with COV. It can be concluded that the measurements of the volatile compounds formed, especially propanal, would be a useful index of lipid oxidation.

脂質酸化の進行に伴って生成するヒドロパーオキシドは、さらに分解や重合の過程を経て種々の物質に変化する。最近、GC-MS (ガスクロマトグラフ-マススペクトル) 分析法の導入により多成分にわたる揮発性物質の分析が可能となり、脂質酸化によって生ずる揮発性成分の同定も行われている。Crawfordら¹⁾は、マグロ油脂の含酸素化合物区分から 64、炭化水素区分から 62 の化合物を同定し、また McGillら²⁾は、冷凍貯蔵タラ肉の揮発性成分として 96 の化合物を同定している。

揮発性成分には人間の臭覚に感じるもの、また“におい”として感じないものが存在し、一概に揮発性成分の多少によってにおいの強弱を論ずることは困難である。しかしながら、Loveら³⁾は卵黄リン脂質のエマルジョンや、牛肉の入った容器のヘッドスペースガスを分析した結果、貯蔵中に生成する n-hexanal の量が酸化進行の指標となり得ることを報告している。また Erikssonら⁴⁾は、リノール酸エマルジョンのヘッドスペースガスを測定し、n-hexanal の出現が特徴的であり、かつ酸化程度との間に相関性のあることを見出している。Fritschら⁵⁾は、低脂肪食品であるコーンフレーク類の入った容器のヘッドスペースガス中より n-hexanal や iso-butyl ketone などを同定し、n-hexanal がヘッドスペースガス中に 5~10 ppm まで増大した時に酸敗臭が認められ、その生成が食品の劣化と関係していると報告している。Sanoら⁶⁾は、大豆油およびラードより 2,4-decadienal を同定し、その生成量は POV, COV などと高い相関を示し、酸化指標となり得ると述べている。また McGillら²⁾は、タラの冷凍貯蔵中に生成する pent-cis-2-enal, hexanal, hex-trans-2-enal, hex-cis-3-enal, heptanal, hept-trans-2-enal, hept-cis-4-enal, hepta-trans-2-cis-4-dienal, deca-trans-2-cis-4-dienal の生成量が酸素吸収と

* 本研究は昭和 53 年度文部省試験研究費の補助によった。

** 北海道大学水産学部食品化学第一講座

(Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

の間に相関性のあることを指摘している。

このように、脂質酸化の指標として分解産物である各種カルボニル化合物の消長が注目されることから、これらの成分の消長と従来より用いられている酸化指標との相関性が明らかになれば、食品の酸敗（酸化的劣化）度の判定に際し、官能的評価から客観的な評価が可能になるものと考えられる。

本研究では、低-中間水分活性域に貯蔵した魚肉より生ずる揮発性物質が酸化の指標になり得るか否かを知るため、種々の水分活性に調整し貯蔵した魚油-タンパク質混合モデル系を用い、そのヘッドスペースガス中の揮発性成分の消長と POV, COV, TBA 値および COP 値との相関性について検討を行った。

実験方法

(1) 試料の調製 前報⁷⁾と同様の魚油-タンパク質混合モデル系を調製し、ヘッドスペースガス分析用として 100ml 容三角フラスコに試料を 5g 秤取したものを、および TBA 値測定用として 0.5g の試料をスクリュウキャップ付試験管に秤取したものを、ならびに POV, COV, COP 値測定のための脂質抽出用として 100ml 容三角フラスコに分取したものをそれぞれを 0, 0.32 および 0.75 の水分活性に調整し、20°C に貯蔵した。

(2) 揮発性成分の分析法 ヘッドスペースガスの分析は Table 1 に示す条件によるガスクロマトグラフ法によって行った。

Table 1. *GLC analysis of volatile compound*

Instrument	: Hitachi Model 063 Gas Chromatograph
Column packing	: 10% Polyethylene glycol 20 M 80-100 mesh Chromosorb W (Gas-chro Kōgyō Co., Ltd.)
Column	: 3 mm i.d. × 2 m Glass tube
Carrier gas N ₂	: 40 ml/min
Column temp.	: 70°C
Injection temp.	: 150°C
Detector temp.	: 150°C
Detector	: FID
Sample size	: Head space gas 100 μl

(3) GC-MS 分析法 GC-MS (ガスクロマトグラフ-マススペクトル) 分析は、日立 RM 4 型 GC-MS を使用し、Table 2 に示す条件によって行った。

Table 2. *GC-MS analysis of volatile compound*

Instrument	: Hitachi Model K53 Gas Chromatograph- RM4 Mass Spectrometer
Column packing	: 10% Polyethylene glycol 20 M 80-100 mesh, Chromosorb W
Column	: 3 mm i.d. × 2 m Stainless steel tube
Column temp.	: Room temp.
CH-V	: 80 eV
MR	: 1-300
DG	: 10
Sample size	: Head space gas 10 ml

(4) TBA 値の測定 Vyncke⁹⁾ の方法に準じ、試料の魚油-タンパク質混合モデル系 0.5g に、10ml の 7.5% TCA 溶液 (0.1% W/V 没食子酸プロピル (PG) + 0.1% W/V EDTA 含有) を加えてホモジナイズした後、濾過し、濾液 5ml に 0.02M TBA 試薬 5ml を添加、沸騰水浴中で 40 分間加熱、流水中で 10 分間冷却後、538 nm における吸光値を測定し、その結果を試料 1g 当りの吸光値として表示した。

(5) 魚油-タンパク質混合モデル系からの脂質抽出 試料の 15 倍容のアセトンでそれぞれ 3 回抽出したのち、残渣をさらに 15 倍容のエチルエーテルで 3 回抽出を行った。抽出液を濃縮し、得られた残留物を全脂質とした。

(6) POV の測定 基準油脂分析試験法⁹⁾ に従って測定した。

(7) GOV の測定 熊沢と大山¹⁰⁾ の方法に従って測定した。

(8) COP 値 (Conjugable oxidation products (assay)) の測定 Parr と Swoboda¹¹⁾ の方法に準じて測定した。すなわち抽出脂質の 0.03~0.1g を 5ml の iso-octane-ethanol (和光純薬工業 K.K. 製 SSG) 1:1 (V/V) に溶解したのち、その 1ml ずつを 3 個の 10ml 容メスフラスコに分注し、それぞれ "O", "R", "D" とした。"O" には 0.5ml の iso-propanol (和光純薬工業 K.K. 製 SSG) を加えたのち ethanol で 10ml に定容した。"R" には予め水素化ホウ素ナトリウム (和光純薬工業 K.K. 製特級) を飽和し濾過した iso-propanol 溶液 (I 液) の 0.5ml を加え、60°C で 30 分間振盪加温後冷却し、ethanol で 10ml に定容した。"D" には 0.5ml の I 液を加え、60°C 30 分間振盪加温、冷却後、20% (W/V) 硫酸 (和光純薬工業 K.K. 製 SSG) を含む ethanol 溶液の 2ml を加え、再び 60°C 30 分間加温、冷却したのち ethanol で 10ml に定容した。このようにして得た "O", "R", "D" のそれぞれについて 268, 275 および 301 nm における吸光値を測定した。Oxodiene 値, COP 値, COP 比は次式により算出した。

$$\text{Oxodiene value} = (A_{275}^O - A_{275}^R) + 2.0W$$

$$\text{COP value} = \{ (A_{288}^D - A_{288}^R) + (A_{301}^D - A_{301}^R) \} + 2.0W$$

$$\text{COP ratio} = (A_{301}^D - A_{301}^R) + (A_{288}^D - A_{288}^R)$$

但し, W: 試料脂質採取量 (g)

結果および考察

(1) 揮発性成分の消長と propanal の同定 水分活性を 0, 0.32 および 0.75 に調整した試料の 20°C 貯蔵中におけるヘッドスペースガスの分析結果を Fig. 1 に示す。貯蔵期間の延長、すなわち酸化の進行に伴って増大する主要なピークは No. 1, No. 2, No. 5, No. 7 および No. 17 である。保持時間および Porapak Q カラムを用いた GC 分析 (日立 063 型ガスクロマトグラフ, 2m×3mm スチールカラム, カラム温度 150°C, N₂ 流速 40ml/min, FID) から、No. 1, No. 2 は低分子の炭化水素であり、No. 1 は methane, ethane, propane 等の混合成分、また No. 2 は ethylene, pentane 等の混合成分と推定される。No. 5 は propanal の保持時間 (Rt) と一致し、No. 7 および No. 17 の Rt と一致する標品は見出せない。とくに No. 17 の Rt は n-hexanal と n-heptanal の中間に位置し、アルデヒド成分とすれば側鎖あるいは不飽和アルデヒドであると推定される。また、No. 14 は標品との比較から n-hexanal と推定されるが、この成分は極めて僅少であるか、あるいはすべての試料に共通して出現する成分ではない (Fig. 1)。n-hexanal はリノール酸列脂肪酸 (ω-6) を構成成分とする脂質の酸化分解産物として認められる^{3,4,5,12)} がリノレン酸列脂肪酸 (ω-3) を主要構成成分とする魚肉脂質からは主要生成物になり得ないことは容易に予想される。

propanal と推定される No. 5 は、GC-MS 分析の結果、Fig. 2 に示すように m/e 58 (M⁺), m/e 57

水島ら： 低-中間水分活性域における脂質酸化 II.

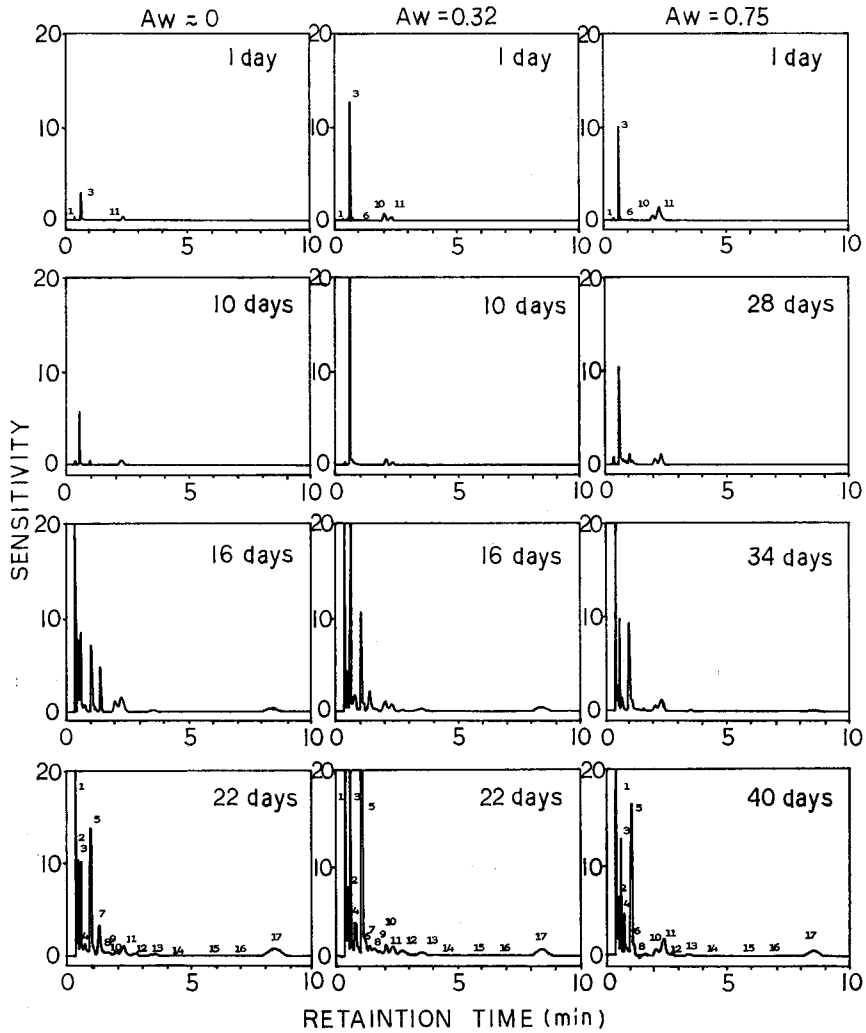
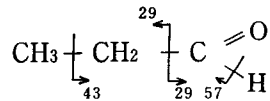


Fig. 1. Gas chromatogram of volatile components produced from model system during storage at 20°C.

(M-1), m/e 29 (基準ピーク) を含む。 m/e 29 は $C_2H_5^+$ イオンおよびアシリウムイオン ($H-C\equiv O^+$) に基づくものであり、M-1 が明瞭に出現していることはアルデヒド基の水素離脱に由来していることを示すものであり、次のような fragmentation に基づいていると解釈される。



このことから No. 5 は propanal であることが明らかとなった。

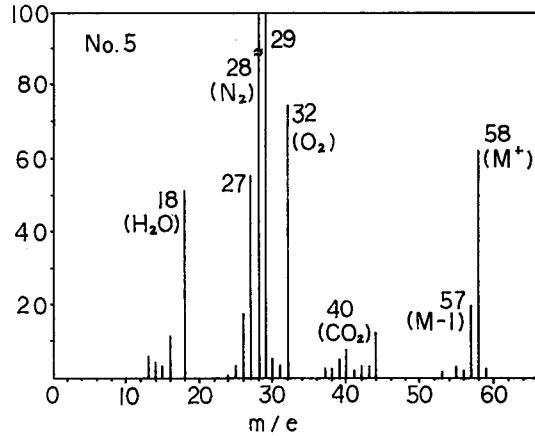


Fig. 2. Mass spectrum of Peak No. 5.

Table 3. Correlation coefficients of TBA-V, POV, COV, COP-V, O-V and COP ratio with propanal increase in mackerel oil-egg albumin model system at 20°C

Aw		r					
		TBA-V	POV	COV	COP-V	O-V	COP ratio
≈0	Blank	0.930	0.858	0.934	0.442*	0.979	-0.953
	Hemin	0.625*	0.817	0.972	0.735*	0.996	-0.965
	Cu ⁺⁺	0.770	0.901	0.931	0.601*	0.954	-0.916
	Fe ⁺⁺⁺	0.764	0.968	0.913	0.487*	0.963	-0.873
0.32	Blank	0.698	0.690*	0.913	0.976	0.899	-0.931
	Hemin	0.301*	0.895	0.602*	0.781	0.529*	-0.561*
	Cu ⁺⁺	0.446*	0.493*	0.990	0.924	0.931	-0.865
	Fe ⁺⁺⁺	0.364*	0.320*	0.960	0.902	0.999	-0.895
0.75	Blank	0.706	0.879	0.899	0.983	0.941	-0.922
	Hemin	0.759	0.816	0.961	0.995	0.908	-0.984
	Cu ⁺⁺	0.816	0.429*	0.743*	0.851	0.746*	-0.822
	Fe ⁺⁺⁺	0.763	0.931	0.952	0.952	0.850	-0.872

* Insignificant at 95% deficiency level.

TBA-V: Thiobarbituric acid value, POV: Peroxide value, COV: Carbonyl value, COP-V: Conjugable oxidation products value, O-V: Oxodiene value, COP ratio: Conjugable oxidation products ratio

(2) propanal と各種酸化指標との相関性 揮発性成分中、前項で同定した propanal (No. 5 ピーク成分) と TBA 値, POV, COV, COP 値, O (Oxodiene) 値および COP 比との相関を求めるに当たり、種々異なった酸化程度の試料を得るために、前報⁷⁾に示したと同様の金属塩を含有する各系を調製し、Aw ≈ 0, 0.32 および 0.75 のそれぞれの水分活性域における経時的変化を検討した。

これらの結果から求めた各水分活性域における propanal と TBA 値, POV, COV, COP 値, O 値および COP 比との相関係数を求めた結果を Table 3 に示す。表中 * 印の数値は、いずれも危険率 5% 以上のものであり、propanal の生成量との相関性が低いことを示している。従って、乾燥状態 Aw ≈

Table 4. Correlation coefficients of increase of several volatile components (No. 1, No. 2, No. 7 and No. 17) with COV in mackerel oil-egg albumin model system during storage at 20°C.

Aw		r			
		No. 1	No. 2	No. 7	No. 17
≈0	Blank	0.892	0.761	0.595*	0.857
	Hemin	0.937	0.860	0.768	0.936
	Cu ⁺⁺	0.955	0.930	0.677*	0.980
	Fe ⁺⁺⁺	0.961	0.926	0.776	0.955
0.32	Blank	0.834	0.830	—	0.986
	Hemin	0.805	0.708*	—	0.841
	Cu ⁺⁺	0.937	0.951	—	0.954
	Fe ⁺⁺⁺	0.981	0.962	—	0.859
0.75	Blank	0.963	0.931	—	0.923
	Hemin	0.988	0.990	—	0.972
	Cu ⁺⁺	0.995	0.997	—	0.995
	Fe ⁺⁺⁺	0.942	0.952	—	0.918

* Insignificant at 95% deficiency level.

Table 5. Correlation coefficients of increase of several volatile components (No. 1, No. 2, No. 7 and No. 17) with propanal increase in mackerel oil-egg albumin model system during storage at 20°C.

Aw		r			
		No. 1	No. 2	No. 7	No. 17
≈0	Blank	0.962	0.815	0.129*	0.892
	Hemin	0.986	0.911	0.543	0.946
	Cu ⁺⁺	0.964	0.876	0.198*	0.950
	Fe ⁺⁺⁺	0.985	0.932	0.533	0.954
0.32	Blank	0.975	0.965	—	0.832
	Hemin	0.780	0.884	—	0.750
	Cu ⁺⁺	0.886	0.885	—	0.889
	Fe ⁺⁺⁺	0.982	0.967	—	0.905
0.75	Blank	0.992	0.970	—	0.955
	Hemin	0.931	0.940	—	0.900
	Cu ⁺⁺	0.735	0.649	—	0.655
	Fe ⁺⁺⁺	0.560	0.984	—	0.920

* Insignificant at 95% deficiency level.

0の系においては、propanalの生成量はCOV、O値およびCOP比と極めて相関性が高く、またPOVともやや高い相関のあることを示している。Aw=0.32および0.75の場合には、POVやTBA値との相関性が低く、とくにAw=0.32におけるTBA値との間でこの傾向は顕著であるが、COV、COP値、O値およびCOP比との相関性は高く、水分活性域の違いや金属の有無にかかわらず高い相関のあるものはCOV、O値およびCOP比であることが認められた。

脂質酸化の中・後期過程は過酸化物の分解、重合期であり、POVを指標とするよりはむしろCOVやO値を指標とする方が妥当であり、propanal生成量がCOVやO値と高い相関性を示すことは、脂質酸化の中・後期過程における酸化指標として有用であることを示している。

(3) **propanalを除く他の主要揮発性成分とCOVおよびpropanalとの相関性** 揮発性成分中のpropanalが脂質酸化の中・後期過程における酸化指標として、客観的に酸敗度を評価しうる成分であることはすでに述べた。また、同時にpropanalのほかに、揮発性成分としてNo. 1, No. 2, No. 7およびNo. 17も試料貯蔵期間の延長に伴って生成する。従って、これら成分の生成量もpropanalの場合と同様に酸化指標になり得ることが考えられ、propanalの生成と関連性の深かったCOVとこれら成分の消長との関連性について検討した。すなわち、 $A_w \approx 0, 0.32$ および 0.75 における対象揮発性成分の試料貯蔵中における生成量と、同時に測定したCOVとの相関性を求めた結果をTable 4に示す。同様にpropanal生成量との相関性を求めTable 5に示す。表中*印は5%以上の危険率であることを示すものであり、No. 7を除いた他の成分では互いに極めて高い相関性のあることを示している。このことは、No. 7が脂質酸化の進行に伴ってヘッドスペースガス中に出現・増大したとしても、本来かなり不安定な物質であるために急激に減少するものか、水の存在によって、より不安定さが増大するものか、あるいは水の存在では生成し難い物質であることが推察され、酸化の指標とはなり得ない。Labuzaら¹⁹⁾はセルローズ微粉末 (microcrystalline cellulose) とトリリノレートの混合モデル系で、 $A_w \approx 0$ (dry), 0.1, 0.32において、hexanalとheptanalの総量が酸化程度と相関するとしているが、これらの成分は水により影響されやすく、 $A_w \approx 0$ (dry) で最も生成量の多いことを認めているが、このことはNo. 7の場合と類似している。このことより、No. 1, No. 2, No. 17はpropanalと同様に脂質酸化の中・後期過程における酸化指標として極めて有用性の高い対象成分であると考えられる。

魚肉製品の品質の官能的評価には酸敗臭の発生とそれらの強さを基としてみる方法があり、このことは酸敗臭の一要因であるpropanalの生成量を直接測定することによって可能ではあるが、さらに未同定ながら同一ガスクロマトグラム上に確認できるピークNo. 1, 2および17を同時に測定することによって、一層信頼度の高い酸化指標を得ることができると考えられる。

終りに、GC-MS分析に御尽力下さった本学農学部農薬化学教室水谷純也教授に厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) Crawford, L., Kretsch, M.J. and Guadagni, D. (1976) Identification of volatiles from extracted commercial tuna oil with a high docosahexanoic acid content. *J. Sci. Fd Agric.*, **27**, 531-535.
- 2) McGill, A.S., Hardy, R. and Gunstone, F.D. (1977) Further analysis of the volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavour. *ibid.*, **28**, 200-205.
- 3) Love, J.D. and Pearson, A.M. (1976) Metmyoglobin and nonheme iron as prooxidants in egg-yolk phospholipid dispersions and cooked meat. *J. Agric. Food Chem.*, **24**(3), 494-498.
- 4) Eriksson, C.E., Lingnert, H. and Vallentin, K. (1973) Gas phase analysis of lipid oxidation. III^e Symposium International Sur L'oxydation Des Lipids Catalysée Par Les Métaux. p. 65-70 Institut Des Corps Gras, Paris.
- 5) Fritsch, C.W. and Gale, J.A. (1977) Hexanal as a measure of rancidity in low fat foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**, 225-228.
- 6) Sano, H. and Yamazaki, M. (1976) Measurement of the oxidation degree of edible fats and oil by direct gas chromatography. *Agr. Biol. Chem.*, **40**(12), 2485-2486.
- 7) 水島好清・高間浩蔵・座間宏一 (1979). 低-中間水分活性域における脂質酸化 I. 金属の触媒作用に及ぼす水の影響. 北大水産彙報, **30**(2), 163-171.

- 8) Vyncke, W. (1972) Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extraction of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette. Seifen. Anstrichmittel*, **12**, 1084-1087.
- 9) 日本油化学協会編 基準油脂分析試験法 (1971).
- 10) 熊沢 恒・大山 保 (1965). 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをを用いる酸化油の総カルボニル測定法, *油化学*, **14**, 167-171.
- 11) Parr, L.J. and Swoboda, P.A.T. (1976). The assay of conjugable oxidation products applied to lipid deterioration in stored foods. *J. Fd Technol.*, **11**, 1-12.
- 12) Gaddis, A.M., Ellis, R. and Currie, G.T. (1961) Carbonyls in oxidizing fat. V. The composition of neutral volatile monocarbonyl compounds from autoxidized oleate, linoleate, linolenate esters and fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **38**, 371-375.
- 13) Labuza, T.P., Tsuyuki, H. and Karel, M. (1969) Kinetics of linoleate oxidation in model systems. *ibid.*, **48**, 527-531.