

オフフレーバー成分と結合する 分離大豆たん白質画分について

DETERMINATION OF OFF-FLAVOUR COMPOUNDS ABSORBED IN SOY PROTEIN ISOLATE

藤巻正生・本間清一（お茶の水女子大学家政学部）

Masao FUJIMAKI and Seiichi HONMA

Department of Food and Nutrition, Ochanomizu University

ABSTRACT

This study was undertaken to determine flavour compounds in soy protein isolate and to investigate the mechanism in absorption of the flavour compounds to protein.

Soy protein isolate, Fujipro R was brought into fractions with aqueous and 0.01N sodium hydroxide extractions. For the combined form of flavour compound, fractionated proteins were hydrolyzed with Biopraxe and extracted with ethyl ether. For the free form, proteins were incubated without Biopraxe and treated similarly. The ether extract was applied for gas chromatography to determine *n*-hexanol and *n*-hexanal.

Hexanol in the combined form was found both in the residues of aqueous and sodium hydroxide extractions, 25% and 30% of the total hexanol respectively. Most of hexanol in other fractions was found in the free form.

In the alkaline extraction hexanal in the combined form was hardly detected in the protein fractions, and most of hexanal was in the free form. The amount of hexanal per gram of protein was almost similar level in every protein fraction. In the aqueous extraction 20% of total hexanal was found in the cryosoluble protein, and hexanal in other fractions was found in the free form. The total amount of hexanal per protein was found to be the greatest, 0.7 mg in the cryoprecipitated protein.

This protein isolate contained 44-46 ng hexanol per gram of protein and 18-23 mg hexanal. It shows that the quantity of hexanal was more than its threshold value in the case of 1 gram intake.

分離大豆たん白質は豆臭を殆んど感じないが、それを添加した食品を摂取して消化がすすむにつれ、いわゆる“げっぷ”の中に豆臭が感じられる。このことは分離大豆たん白質にはいまだオフフレーバー成分が相当量収着しており、消化とともにオフフレーバー成分が遊離してくることによると考えられる^{1,2)}。

そこで不二製油㈱より入手した分離大豆たん白質、脱脂大豆粉、全脂大豆粉の3種の粉末試料各5gをビオプラゼ（長瀬産業㈱）により5時間加水分解したものの

ヘッドスペースと加水分解しないものについて本学食物学科の学生による官能評価を行ったところ、次のような結果がえられた。

		ビオプラゼ			
		加水分解前		5時間加水分解	
全脂大豆粉	青草臭、ぬか臭	青草臭	青草臭	青草臭	青草臭
脱脂大豆粉	ぬか臭	青草臭	青草臭	青草臭	青草臭
分離大豆たん白質	無	無	臭豆臭	臭豆臭	青草臭

本研究は分離大豆たん白質から生ずる豆臭の主体をなしている *n*-ヘキサノールと *n*-ヘキサナールについて、遊離型と結合型とに分けて定量し、これらのオフフレーバー成分と結合しているたん白質画分を明らかにし、オフフレーバー成分除去の基礎とするものである。

実験方法

分離大豆たん白質：不二製油㈱のフジプロ R を昭和55年6月に入手、4℃に保存した。

分画：フジプロ R を2方法により分画した。

まず、フジプロ R を10倍量の水で抽出し、遠心分離により不溶性たん白質を除去し、抽出液を4℃に一晩放置した。4℃にて遠心分離し、冷沈画分を分離した。各画分のたん白質収量はマイクロビュレット法により測定し、() 内に%で示した (Fig. 1)。

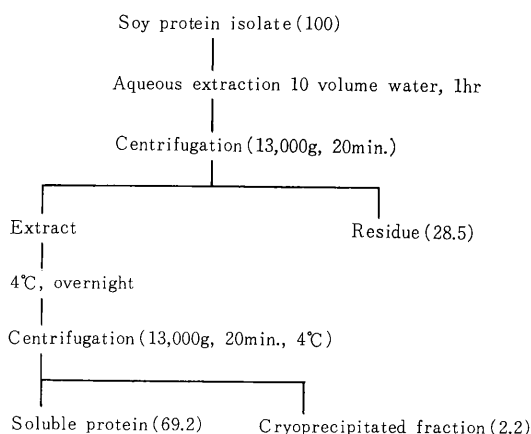


Fig. 1 Cryoprecipitation

次に、フジプロ R を 0.01N NaOH により抽出し、不溶性たん白質を除いたのち、抽出液を塩酸により中和した。溶液に終末濃度が 1 M になるよう食塩を加えたのち、塩酸により pH 4.5 に調整した。生じた沈殿は遠心分離により分け、各たん白質画分の収量は () 内に%にて示した (Fig. 2)。

フレーバー成分の分離^{3,4)}：分画したたん白質約 0.5 g を 5ml の pH 7.5 リン酸緩衝液にとかし、ネジ栓付きの試験管に入れた。ビオプラゼを加え、栓をして5時間加水分解した (Fig. 3)。反応終了後、試験管を氷冷し、内部標準物質 *n*-オクタノール (0.01~0.1mg) を含むエーテル溶液 5ml を加え十分に振盪した。振盪により液がエマルジョンになった場合、遠心分離してからエーテル層を分けとった。エーテル溶液の大部分を窒素気流下にて溜去し、遊離型と結合型の全フレーバーを含む試料とした。酵素を加えないでたん白質溶液を同様に処理したものを遊離型のフレーバー量として、酵素水解

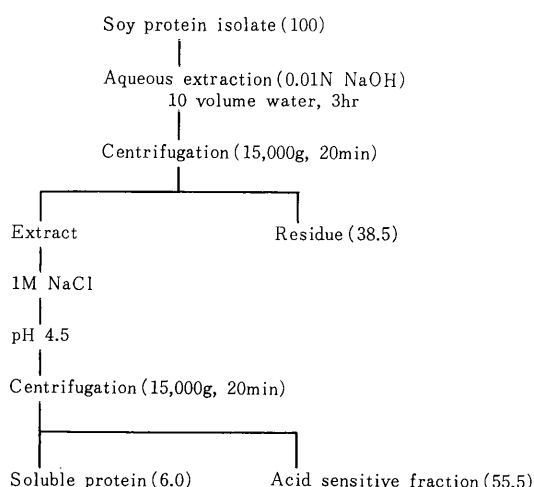


Fig. 2 Acid sensitive fraction

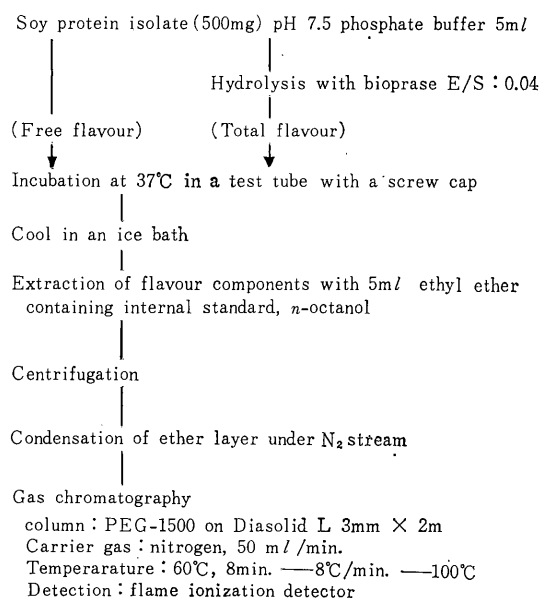


Fig. 3 Determination of flavour components

による生成量との差を結合型とした。

フレーバー成分の定量：フレーバー成分はガスクロマトグラフィーにより分析した。クロマトグラフィーの条件は次のとおりである。

カラム：PEG 1500 (2m×3mm)

温度：昇温 60℃, 8分—8℃/分—
—100℃, 40分

流速：N₂, 50ml/分

検出：水素炎イオン化検出器

ガスクロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

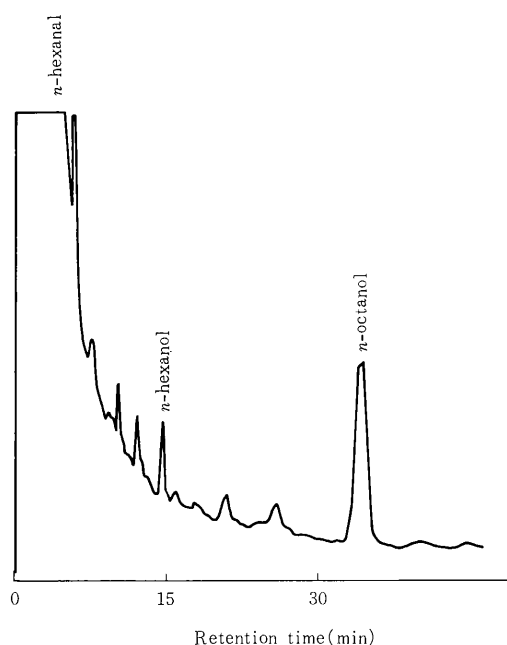


Fig. 4 Gas chromatogram of flavour component in soy protein isolate.

n-Octanol was added into the extract as an internal standard.

結果および考察

I. 酵素水解にともなうフレーバー量の変化

分離大豆たん白質をビオプラーゼにより加水分解し、経時的にフレーバーの生成量をしらべたところ、ヘキサノールは酵素水解開始後約2時間でプラトーに達したが、ヘキサナール生成量は酵素水解開始後4時間においても徐々に増加しつづけた。これは豆臭の主要な構成成分であるヘキサノールおよびヘキサナールのたん白質に対する収着あるいは結合様式の相違によるものと推定される。

例えば、ヘキサナールの場合、たん白質内部の疎水領

域に包み込まれていたものが加水分解の進行とともに遊離してくるが、その一部はペプチドあるいはアミノ酸などのアミノ基と Shift 塩基を形成していることも推定される。

II. フレーバー物質の分画

フレーバー物質が比較的多く収着あるいは結合しているたん白質画分が存在するかをしらべるため、分離大豆たん白質を Fig. 1, 2 に示した方法により分画を行った。各画分のたん白質 1 g 当たりの遊離型および結合型のヘキサノールおよびヘキサナール量を測定した。

II-1 ヘキサノール

各たん白質画分に含まれるヘキサノール量については Table 1 に示した。

II-1-A 0.01N NaOH 抽出による分画

結合型のヘキサノールは主にアルカリ抽出における不溶性画分にあり、全ヘキサノールの約30%を占めた。その他の画分のヘキサノールは殆んどが遊離型であった。

分離大豆たん白質中の全ヘキサノールはアルカリ抽出残渣に最も多く含まれ (44%)、次いで pH 4.5 可溶画分であった。

たん白質 1 g 当たりに含まれるヘキサノールをしらべたところ (Fig. 5)、遊離型ヘキサノールは pH 4.5 可溶性画分のたん白質に特に多くみとめられ、その他の画分は少なかった。結合型のヘキサノールはアルカリ抽出残渣に存在した。

II-1-B 水抽出による分画

分離大豆たん白質を水抽出により分画をした場合、総ヘキサノール (Table 1) の約35%は水抽出残渣 (25%) と冷却可溶画分 (10%) に存在した。遊離型のヘキサノールの約81%は冷却可溶画分に最も多く含まれた。

たん白質 1 g 当たりに含まれるヘキサノール (Fig. 5) については、遊離型は3画分とも大きい差はみとめられない。結合型のヘキサノールは冷沈たん白質に最も結合量が多く、次いで水不溶性画分である。

アルカリおよび水抽出の両方の分画法を通じて、結合型のヘキサノールは、水、アルカリに溶けないたん白質

Table 1. *n*-Hexanol in soy protein isolate (100g)

Extraction	Protein fraction	Free hexanol		Total hexanol	
		Amount in the fraction	Percent constitution	Amount in the fraction	Percent constitution
0.01N NaOH	Residue	6.1ng	19.4%	20.4ng	44.3%
	pH 4.5 soluble	11.4	36.2	10.6	23.0
	ppt.	14.0	44.4	15.0	32.6
Water	Residue	4.5	16.2	15.1	34.5
	Cool soluble	22.4	80.9	26.6	60.7
	cryoppt.	0.8	2.9	2.1	4.8

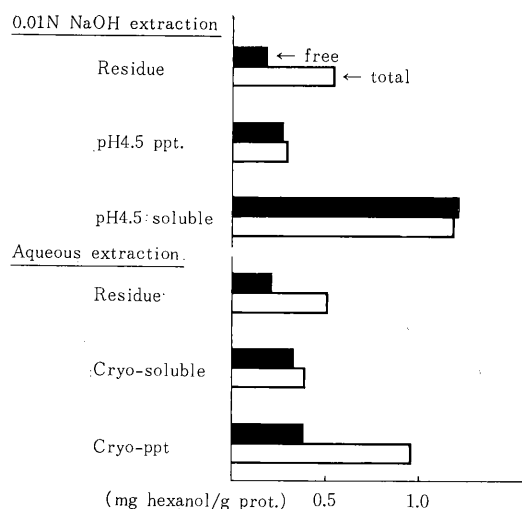


Fig. 5 Concentration of *n*-hexanol in protein fraction from soy protein isolate.

画分に多く含まれることが示された。

II-2 ヘキサナール

各たん白質画分に含まれるヘキサナールについては Fig. 6, Table 2 に示した。

II-2-A 0.01N NaOH 抽出による分画

0.01N NaOH により抽出した場合、いずれの画分においても結合型ヘキサナールは殆んどみとめられない。

たん白質 1g 当たりに含まれる遊離型ヘキサナール含量は殆んど同程度であった。各画分に含まれるヘキサナールの総量はたん白質の収量と相関し、pH 4.5 沈殿画分 (67%), アルカリ抽出残渣 (30%), pH 4.5 可溶性画分 (3%) の順である。

II-2-B 水抽出による分画

水抽出してから分画した場合、総ヘキサナールの約20%は結合型として、冷却可溶画分に存在し、その他の画分にはみとめられない。総ヘキサナールの存在分布は、冷却可溶画分52%, 水抽出残渣に46%, 冷却沈殿画分に1%の順であった。

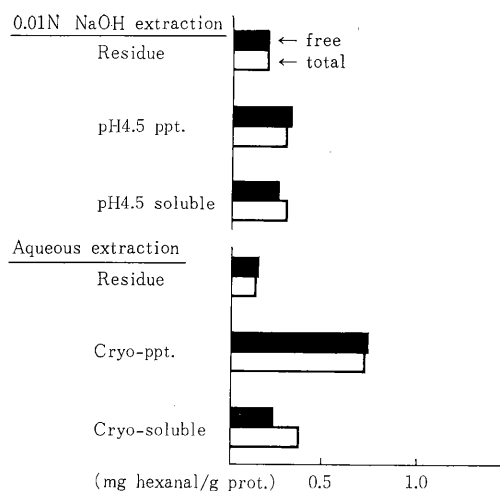


Fig. 6 Concentration of hexanal in protein fraction from soy protein isolate.

Total hexanal was determined after hydrolysis of protein with Biopraxe.

たん白質 1g 当たりに含まれるヘキサナールは冷沈画分が最も多く、他の画分では殆んど差がない。

各画分に含まれるヘキサナールの総量は、ほぼたん白質の収量に相関し、冷却可溶画分 (53%), 水抽出残渣 (46%), 冷却沈殿画分 (1%) の順である。

III. ヘキサノールとヘキサナールの比較

本実験にてしらべた分離大豆たん白質 100g 中の含量は、ヘキサノールが ng オーダー (44~46ng) であるのに対し、ヘキサナールは mg オーダー (18~23mg) であり、物質量としてはヘキサナールの方が多い。閾値⁵⁾については、ヘキサノールが 1,030ppb (空気中)、ヘキサナールが 4.5ppb (水中) であり、ヘキサナールの寄与率の方が大きい。例えば、1g の分離大豆たん白質を摂取した場合、たん白質に対する保持率を文献値⁶⁾より1桁多く見積り99%とし、100ml の空気中に気化したとき閾値に到着するほどである。

Table 2. *n*-Hexanal in soy protein isolate (100g)

Extraction	Protein fraction	Free hexanal		Total hexanal	
		Amount in the fraction	Percent constitution	Amount in the fraction	Percent constitution
0.01N NaOH	Residue	7.22mg	28.4%	7.32mg	30.0%
	pH 4.5 soluble	0.64	2.5	0.73	3.0
	ppt.	17.58	69.1	16.44	67.0
Water	Residue	8.82	59.8	8.32	46.3
	Cool soluble	5.74	1.3	9.44	1.0
	croyppt.	0.19	38.9	0.19	52.7

したがって、ヘキサナールの収着様式とヘキサノールとの相互作用を解明することが今後の課題である。

文 献

- 1) 大豆蛋白質(建帛社): 渡辺, 柴崎監修 p. 231(1979).
- 2) 藤巻正生, 荒井綜一(1976): ダイズ蛋白のフレーバー, 食の科学, 29, 55-58.
- 3) Arai, S., Koyanagi, O. and Fujimaki, M. (1967): Studies on flavor components in soybean. Part IV. Volatile neutral compounds. *Agric. Biol. Chem.*, 31, 868-873
- 4) Arai, S., Noguchi, M., Kaji, M., Kato, H. and Fujimaki, M. (1970): *n*-Hexanol and some volatile alcohols. Their distribution in raw soybean tissues and formation in crude soy protein concentrate by lipxygenase. *Agric. Biol. Chem.*, 34, 1420-1423.
- 5) Qvist, I. and von Sydow, E. (1974): Unconventional proteins as aroma-precursors. Chemical analysis of the volatile compounds in heated soy, casein, and fish protein model systems. *J. Agric. Food Chem.*, 22, 1077-1084.
- 6) Gremli, H.A. (1974): Interaction of flavor compounds with soy protein. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51, 95A-97A.