

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

PROTEIN FRACTION IN SOY PROTEIN ISOLATE
BOUND WITH OFF-FLAVOUR COMPOUNDS

藤巻正生・本間清一（お茶の水女子大学家政学部）

Masao FUJIMAKI and Seiichi HOMMA

Department of Food and Nutrition, Ochanomizu University

ABSTRACT

n-Hexanal and *n*-hexanol, which mainly contribute to bean flavour of soy protein, were determined in the soy protein isolate, Fujipro R. These off-flavour compounds consist of both free and bound types: the free type was determined by swirling soy protein isolate (SPI) with an aqueous solution covered with ether phase, and the bound type was measured by digesting SPI with Molsin at pH 2.5 and 30° for 21 hr covered with ether phase. Off-flavour compounds were extracted with ether and determined by GLC.

n-Hexanal and *n*-hexanol of free type were found to be 310-370 and 50-70 μg per 100g SPI respectively. Those of bound type were 600 and 30 μg respectively. SPI was fractionated into 7S and 11S proteins. The bound type hexanal in 7S and 11S proteins was found to be 706 and 347 μg per 100g protein respectively. Bound hexanol was 70-90 μg per 100g protein in both fractions.

分離大豆たん白質 (SPI) は食品の機能特性を有するたん白質素材として利用度が高い。しかし SPI を素材の一つに用いた食品では依然として“豆臭”によるオフフレーバーが感知されることがある。

本研究では分離大豆たん白質のオフフレーバーに多く強く関与しているヘキサナール (*n*-hexanal) およびヘキサノール (*n*-hexanol) に着目し分析を行った。これらオフフレーバー成分は化学的前処理をせずに抽出定量される“遊離型”とたん白質に結合し、たん白分解酵素を作用させることにより抽出定量される“結合型”に分けて定量した。この方法により分離大豆たん白質 100 g 当たりの含量および 11 S と 7 S たん白質の含量を測定し、オフフレーバー成分の除去の基礎的知見を得ることを目的とした。

実験 1. オフフレーバー成分の定量方法

昨年度の実験では、SPI に含まれる結合型のヘキサナールとヘキサノールの定量については、pH 7.5 においてビオブラーゼにより酵素水解してからオフフレーバー成分を抽出した。特に、ヘキサナールは Fig. 1 に示すとおり、酵素水解がすすむと却って定量値は減少する傾向を示した。この原因は pH が中性付近では遊離したヘキサナールがペプチドやアミノ酸と Schiff 塩基を形成するためと考えられた。本年度はアルデヒドとアミノ基との縮合がおり難い pH 2.5~3 において作用し得るたん白分解酵素モルシン（盛進製薬㈱）を用いて結合型のフレーバー成分を定量した。

実験材料

分離大豆たん白質 (SPI)：フジプロ R (不二製油㈱)

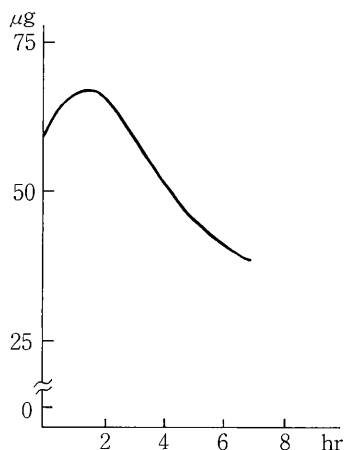


Fig.1 *n*-Hexanal liberated from SPI during hydrolysis with Bioprased at pH 7.5

エチルエーテル：4%酸性亜硫酸ナトリウム水溶液とともに振盪し、水洗、芒硝による脱水後精溜した。遠心沈殿管：ネジ栓付遠心沈殿管（岩城硝子(株) 8422 CTF)

実験方法

SPI 2.50 g を遠心沈殿管に秤り、これにエチルエーテル 25ml を加える。次に、0.1 N 塩酸 20ml を加え SPI を懸濁し、さらに 1 N 塩酸を約 1 ml 加え pH 2.5 とした。最後に 125 mg のモルシンを含む pH 2.5 クエン酸緩衝液 (0.5 M) を加え、攪拌棒により SPI を均一に懸濁する。ネジ栓をしめ、30°C にてインキュベートした。一定時間後遠心沈殿管を氷冷し、GLC 定量のための内部標準物質 *n*-オクタノール (35 μg/ml) のヘキサノール溶液 1 ml を加え、手で 120 回振盪し、遊離してくるオ

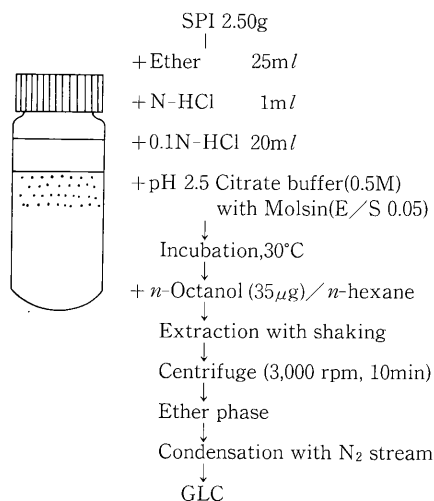


Fig.2 Determination of bound type off-flavour compounds in soy protein isolate.

フフレーバー成分をエーテル層に抽出した。エーテル層を明瞭に分離するため遠心分離 (3,000 rpm, 10 min) した。このように加水分解を行ってから抽出される量を総オフフレーバーとした (Fig. 2)。

遊離型のオフフレーバー量は次のように定量した。SPI 2.50 g を共栓三角フラスコ (200ml) に秤り、ここにエーテル 25ml, *n*-オクタノール 35 μg を含むヘキサノール 1 ml を加えた。次いで各種の水溶液 25ml を加え、栓をしてマグネチックスターラーにより 30 min 攪拌した。液全体を遠心沈殿管に移し、遠心分離しエーテル層を分離した。エーテル層が水とたん白質を含みゲル状になる場合にはスパチュラにより小型フラスコに移し芒硝により水を除去して清澄なエーテル溶液を得た。

ヘキサナールとヘキサノールの定量

オフフレーバー成分を抽出したエーテル溶液 2 ~ 5 ml を小型試験管にとり、窒素気流下でエーテルを乾固せぬよう徐々に溜去し、0.3ml ほどに濃縮した。ガスクロマトグラフィー (GLC) による分析条件は以下のとおりである。

カラム PEG 1500 (3 mm × 2 m)
 温度 60°C, 16 min—昇温 (10°C/min) —120°C
 キャリアーガス N₂, 50ml/min
 検出器 水素炎イオン化検出器
 注入量 6 ~ 8 μl
 定量 *n*-オクタノールによる内部標準法
 (島津クロマトパック CRIA)

結果と考察

分離大豆たん白質は粉体で弱い豆臭を呈するが、水に溶解するとき一層強い豆臭が感ぜられる。これは分

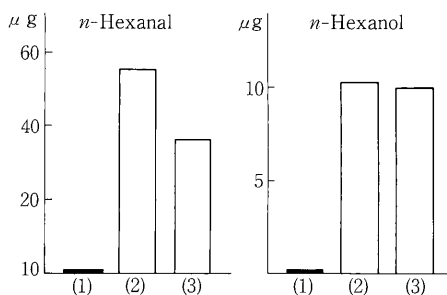


Fig.3 Effect of the order of the solvent addition on the liberation of off-flavour compounds

- (1) SPI 10g + ether 50ml
- (2) (SPI 10g + ether 50ml) + 0.01N NaOH 100ml
- (3) (SPI 10g + 0.01N NaOH 100ml) + ether 500ml

Table 1. Off-flavour compounds liberated from soy protein isolate with aqueous solution.

Solution	$(\mu\text{g}/100\text{g SPI})$	
	<i>n</i> -Hexanal	<i>n</i> -Hexanol
0.1N HCl	370	57
0.01N HCl	368	52
Water	338	56
0.01N NaOH	312	69

離大豆たん白質に吸着している成分が水と置換して出てくる遊離型のオフフレーバーのためであり、定量の際この量は無視し得ないと思われる。Fig. 3 は、ヘキサナールは分離大豆たん白質をエーテル抽出してもほとんど抽出されないが、あらかじめエーテルを加えオフフレーバー成分を溶解捕集できるようにしてから微アルカリに溶解するとヘキサナールの回収量が大きくなることを示している。ヘキサノールは飛散しにくいのでエーテルを加える順序に関係ない。

本年度は、Fig. 2 に示したように、溶液の表面を常にエーテルでおおい、分離大豆たん白質を各種水溶液に攪拌しながら分散、溶解して、オフフレーバー成分を抽出した。Table 1 に各溶液中で分散した時の pH とその条件で抽出されたオフフレーバー量を示した。遊離型ヘキサナール含量は $310\sim 370 \mu\text{g} / 100 \text{g SPI}$ であり、溶液の pH が低いとわずかながら抽出量が多い傾向を示した。ヘキサノールの含量は $50\sim 70 \mu\text{g} / 100 \text{g SPI}$ であり、pH 条件は抽出量に影響はないようである。

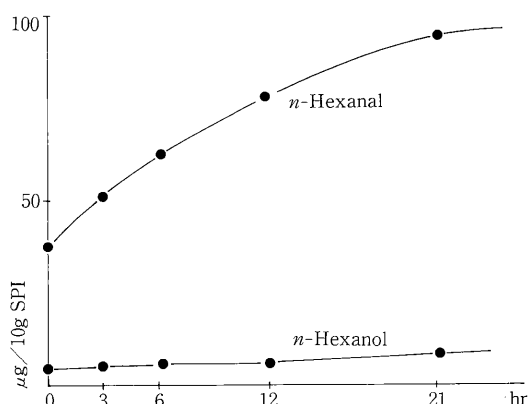


Fig.5 Liberation of off-flavour compounds from SPI with hydrolysis by Molsin (30°C)

分離大豆たん白質をモルシンにより加水分解した時のオフフレーバーの GLC を Fig. 4 に、オフフレーバー量と加水分解時間との関係を Fig. 5 に示した。この条件下では、ヘキサナールはビオブラーゼによる加水分解と異なり加水分解時間とともに増加し、21 時間で最大量に達した。その結果、結合型のヘキサナールは約 $600 \mu\text{g} / 100 \text{g SPI}$ となる。一方、ヘキサノールの結合型は極めて少なく、約 $30 \mu\text{g} / 100 \text{g SPI}$ である。

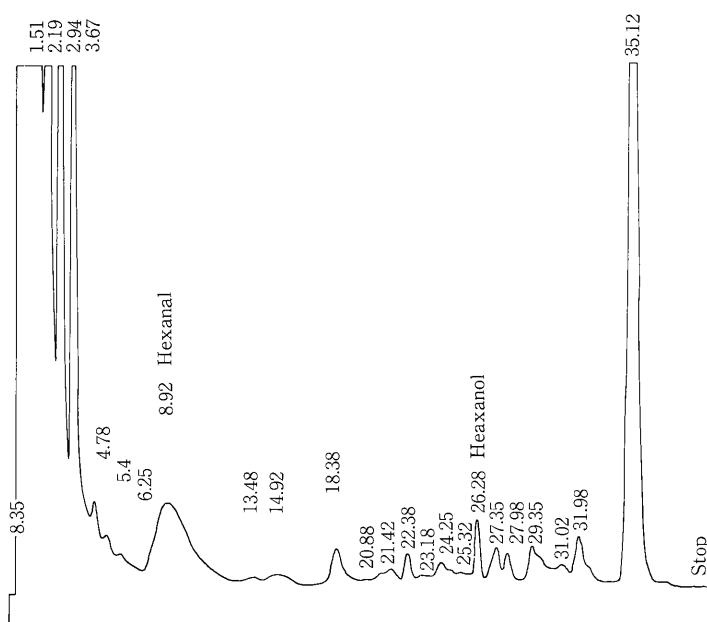


Fig.4 Gas chromatogram of off-flavour compounds liberated from soy protein isolate with hydrolysis by Molsin

実験2. 11Sと7Sたん白質に結合する オフフレーバー

実験方法

大豆の主要なたん白質である11Sと7Sたん白質について、結合型のヘキサナールとヘキサノールの量を測定した。たん白質の分画は斎尾、渡辺らの方法¹⁾により11Sと7Sたん白質に粗分画した。分画したたん白質溶液はマイクロビュレット法により比色定量し、Hammerstein カゼイン量に換算した。たん白質溶液は塩酸により pH 2.5 に調整し、Fig. 2 の方法によりオフフレーバー成分を定量した。

結果と考察

分画操作の過程で大部分の遊離型のヘキサナールとヘキサノールが除かれた。ヘキサナールについては7Sたん白質は11Sたん白質の2倍の結合量であるが、ヘキサノールは7Sと11Sとも同程度である (Table 2)。今回のたん白質の分画は粗分画であり、さらに精製度をあげてオフフレーバー成分量を比較する必要がある。Kinsella のグループ²⁾はモデル実験において11Sと7Sたん白質の2-ノナノン (2-nonanone) に対する結合力を比較し、11Sたん白質はほとんど結合力がなく、7Sたん白質は2-ノナノンと疎水結合により結合していることを示した。ヘキサナールについては、

Table 2. Bound type off-flavour compounds in soy protein isolate

Protein	(μg/100g protein)	
	<i>n</i> -Hexanal	<i>n</i> -Hexanol
11S	347	77
7S	706	94

本実験の結果も類似の傾向を示しているが、アミノ基との結合も考えられ、たん白質との結合形式はメチルケトンの場合より複雑であると思われる。

文 献

- 1) SAITO, K., KAMIYA, M., and WATANABE, T. (1969): Food processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins. Part 1. Effect of difference of protein components among soybean varieties on formation of tofu-gel. *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 1301-1308.
- 2) DAMODARAN, S., and KINSELLA, J. (1981): Interaction of carbonyls with soy protein: Thermodynamic effects. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 1249-1253.