

煮干しイワシの酸化による褐変—I

マイワシ普通肉を用いたモデル試験

滝口明秀・堀口辰司

はじめに

魚類加工品は脂質中に不安定な高度不飽和脂肪酸を含むために、酸化し易く、これに伴って臭いや色調などに悪変が生じる。乾製品では酸化に伴ない油焼けと呼ばれる褐変が生じ商品価値低下の原因となっている。

煮干しいわしでは油焼けを抑制するため、抗酸化剤を使用する例が多く、前報でもこの効果を報告した。

酸化による褐変現象は、酸化生成物のカルボニル化合物とアミノ酸や揮発性塩基などとのメイラード反応によるもので、カルボニル化合物の中でも、アセトアルデヒド²⁾、半アルデヒド³⁾および不飽和のアルデヒド^{2),4)}などの影響が報告されている。

しかしながら、酸化によるカルボニル生成と魚肉の褐変進行の関係についての報告は見られない。今回は煮干しいわしの油焼け機構を推測するため、魚粉モデルによる試験を行ない、幾つかの知見を得た。

1. 酸化の進行と褐変

煮干しいわしでは脂肪酸化による褐変が品質に大きな影響を及ぼすが、煮干しの色調を直接機器で測定することは困難であり、一般には視覚判定によっている。

今回は煮干しいわしのモデルとして、機器による色調測定が可能のように、乾燥粉体試料を調整し、色調の変化と酸化の関係を検討した。

材料と方法

1) 試料の調整：昭和58年6月に水揚げされたマイワシ(普通肉の粗脂肪量1.78%)を沸騰した5%食塩水中で10分間煮熟し、普通肉を採取、ホモジナイザーで細砕して天日乾燥し、20メッシュ以下に粒度をそろえた。(以下天日乾燥試料という)。

同時に、乾燥工程を真空凍結乾燥によった試料も調整した(以下真空凍結乾燥試料という)。

乾燥試料の粗脂肪量は12.5%、水分量は10.5%であった。

2) 保存条件：試料を湿度65~70%に調整した褐色デシケーター中に収容し、室温(8月より実験開始)においた。

3) ヨウ素価の測定：ウイス法を用い常法によって行った。

4) 色調の測定：色差計(日本電色工業社製)を用いL, a, b値を測った。

5) 脂肪酸の分析：和田ら⁵⁾の方法によった。

結果と考察

天日乾燥試料の貯蔵経過を図1に示した。

脂質酸化はヨウ素価の変化で、褐変は彩度($\sqrt{a^2+b^2}$)の変化で表わした。図中Aは真空凍結乾燥試料の未変色の彩度を、Bは原料普通肉のヨウ素価を、それぞれ製造工程中の変化の参考として図示した。

天日乾燥試料の酸化をヨウ素価の低下で判定すると、原料の198から乾燥終了までに158に低下し、更に貯蔵の初期4日目までに急激な低下を示しており、その後は殆んど変化していない。

表1に原料と保存20日後の脂肪酸組成を示した。

高度不飽和脂肪酸(C20:5+C22:6)は原料の30.2%から3.3%と著しい減少を示しており、図1のヨウ素価と対比すると、保存4日目までに大部分が失われ、以後の酸化は殆んど停止したものと考えられる。

次に変色の経過を彩度で見ると、真空凍結乾燥試料のA点に対し、天日乾燥試料では乾燥中に上昇しており、その後4日目までの変化が大きく、ヨウ素価と同様の経過をたどっている。

図2に真空凍結乾燥試料の経過を示した。酸化と彩度の変化が関連深いことを図1同様に表わしている。

次に、色の変化を彩度、色相の両面から比較するため図3に天日乾燥試料のa, b値の変化を示した。

乾燥工程中はb値の変化のみで、a値はほとんど変ら

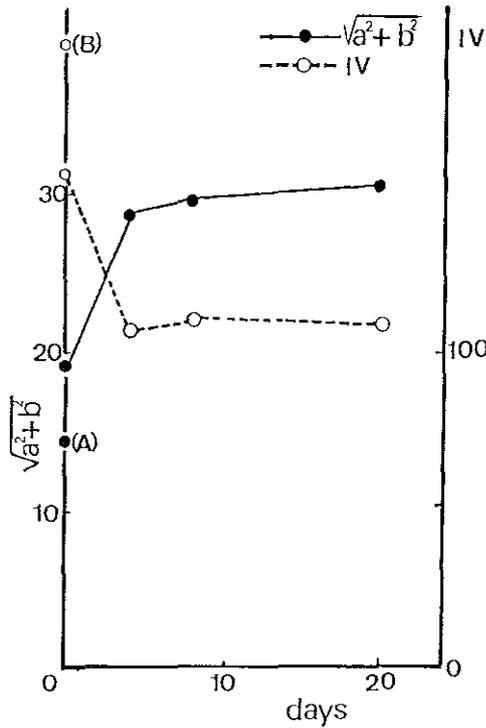


図1 天日乾燥試料の褐変とヨウ素価(IV)の経日変化
 (A): 無変色試料の色調
 (B): 原料普通肉のヨウ素価(IV)

表1 原料と20日間保存後の脂肪酸組成(%)

脂肪酸	原料	20日保存
14:0	7.4	12.4
:1	0.2	0.7
15:0	tr	0.2
16:0	22.8	35.7
:1	9.8	14.1
:2	0.7	0.6
17:0	0.3	0.1
18:0	4.6	7.0
:1	14.3	19.4
:2	1.7	1.2
:3	0.6	tr
:4	tr	tr
19:0	0.2	1.5
20:0	1.6	2.9
:1	1.2	tr
:5	18.3	3.3
22:0	1.6	—
:1	0.8	—
:5	2.0	—
:6	11.9	—

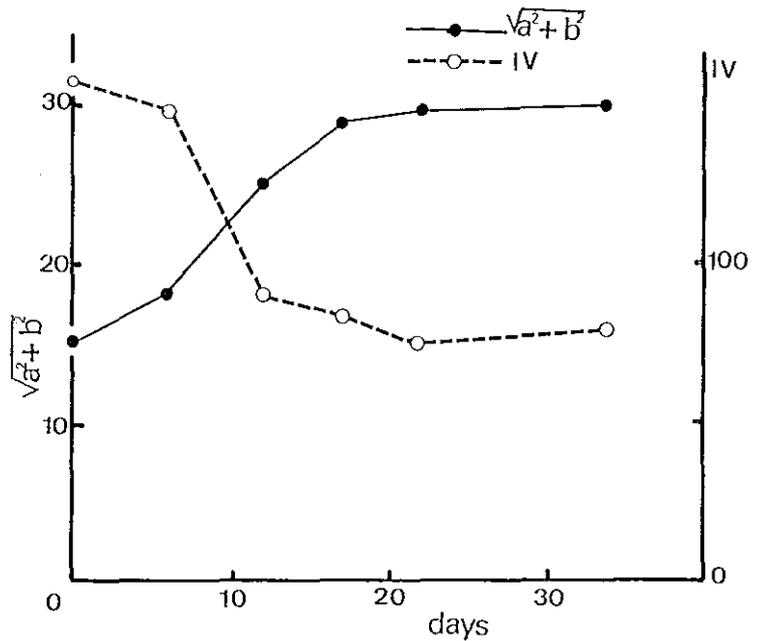


図2 真空凍結乾燥試料の褐変とIVの経日変化

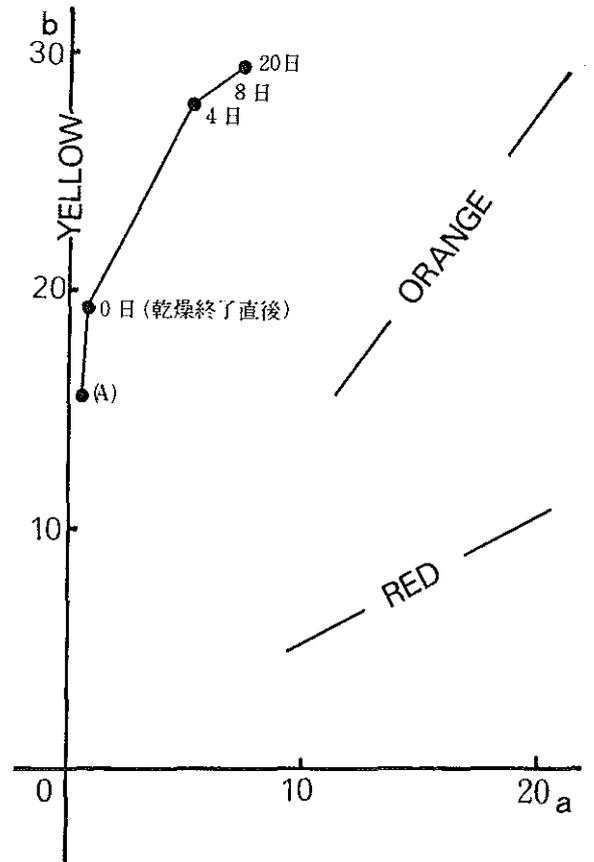


図3 天日乾燥試料の色調の経日変化
 (A): 図1の(A)と同じ試料

ず色相の変化はない。

同様に図4の真空凍結乾燥試料でも12日までは色相の変化は少なく、視覚的にはこの時点までは褐変は判定されなかった。

その後、図1の4日、図2の17日目にa値が増加した時点で明らかに褐変が確認され、その後、日数の経過とともに濃度をました。

これらのことから、視覚的に褐変と判定されるのはa値の増加と関連が深く、初期b値のみの増加する段階では幾分黄色化が目視的に観察されるが、a値即ち赤色化が増加する段階に至って褐変が視認されるようになることがわかった。

以上の結果を取りまとめると、脂質の酸化と色差計の $\sqrt{a^2+b^2}$ との相関は深く、酸化が変色の原因となっていることは明らかである。しかしながら、視覚的な褐変はa値の変化に依存しており、酸化の進行とは時間的なズレが生じる。この辺りの経過は図5に示したようにヨウ素価とa値の変化時期のズレによって理解できる。また、この関係は前報¹⁾の煮干しいわしでの結果とも一致している。

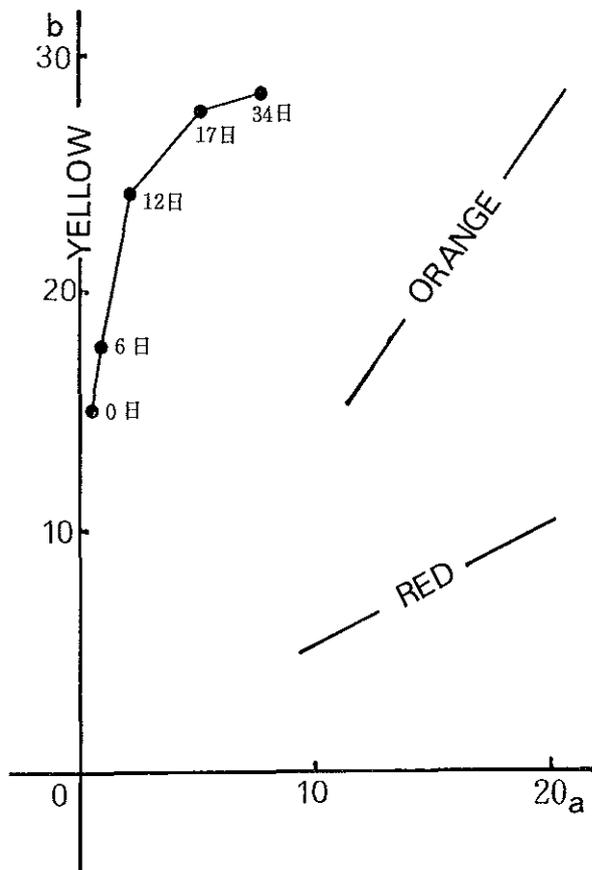


図4 真空凍結乾燥試料の色調の経日変化

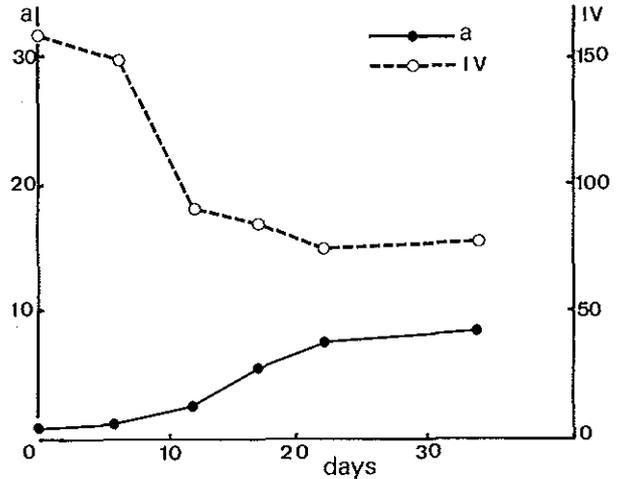


図5 真空凍結乾燥試料のIVとa値の経日変化

2. 揮発性カルボニルの生成と褐変

脂質の酸化によりカルボニルが生成することは知られており、これに伴ないメーラード反応による褐変が進行すると考えられるので、前試験と並行して行った揮発性カルボニルの生成量と褐変の関係を考察した。

材料と方法

- 1) 材料：前試験と同じ天日乾燥試料を用いた。
- 2) 揮発性カルボニルの定量：滝川ら⁶⁾の方法に準じて行った。すなわち、試料5gを水と共に加熱し、留出液中の揮発性カルボニルを2-4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応させ、2-4-ジニトロフェニルヒドラゾン(2-4-DNP)として捕集し、内部標準にオクタデカンを用い薄層クロマトグラフィー自動検出装置(ヤトロン社製、商品名イヤトロスキャン)で定量した。(カルボニル量は2-4-DNP量で表わす。)
- 3) 飽和、不飽和カルボニルの算出：丸田ら⁷⁾の方法を用い、2-4-DNPを分光光度計で358と373nmの吸光値を測定し、次式によって算出した。ただしこの測定法では、モノエンナール以外の不飽和カルボニルの存在下では誤差が生じる可能性が考えられる。

飽和アルデヒドの2-4-DNP濃度

$$(\text{Mol}/\ell) = \left(\frac{A_{358}}{20,500} - \frac{A_{373}}{23,000} \right) / \left(\frac{20,500}{20,500} - \frac{14,500}{23,000} \right)$$

モノエンナールの2-4-DNP濃度

$$(\text{Mol}/\ell) = \left(\frac{A_{358}}{20,500} - \frac{A_{373}}{14,500} \right) / \left(\frac{20,500}{20,500} - \frac{23,000}{14,500} \right)$$

A 358 : 358nmにおける吸光度

A 373 : 373nmにおける吸光度

4) 薄層クロマトグラフィによる分画定量 : 揮発性カルボニルの2-4-DNPを石油エーテル, エーテルの4:1を用いて展開し, これを薄層クロマトグラフィ自動検出装置で定量した。

5) ガスクロマトグラフィによるカルボニルの同定 : Soukup⁸⁾らの方法に準じて行った。

結果と考察

図6を見ると揮発性カルボニル生成は酸化によりヨウ素価が急減する4日目までに増加しており, 以後ヨウ素価が一定に達し, 酸化が停止したと思われる時点からカルボニルは漸減を示している。

この結果から, カルボニルは脂質の酸化により生成されたと判断され, 酸化が停止した以後の減少は各種の反応による消費や揮散等が原因に挙げられよう。

図7に揮発性カルボニル量と変色の関連を表わした。カルボニルが急増する段階で彩度の増加がみられ, カルボニルの減少期にも彩度の微増がみられる。この微増段階でも図3で見たようにa値の増加即ち赤色化が進

行して, 肉眼的には油焼けが顕著になる。

このようにカルボニルが褐変に関連が大きく, カルボニルの減少は褐変に消費された可能性が高い。

以上の経過を見ると, すでに酸化が進行しカルボニルが多く存在する時点で, 真空包装, 脱酸素剤等の酸化を防止させる措置を取っても, 以後の褐変は抑制できないと考えられる。

次に, カルボニルを飽和と不飽和カルボニルに分けて, 経時変化を比較すると図8のように, 不飽和区が大きな比率を示しており, 酸化の進行期の増加と停止期の減少の傾向がより明瞭にうかがえる。

これに比べ飽和区は多少の増減は示すものの変化量は少ない。このように不飽和区が増減がアルデヒド総量の変化に大きな影響を与えていることがわかる。

また, 褐変との関係においても, 酸化が停止する4日目以後, 褐変の進行とともに減少が大きいのは不飽和区であり, 不飽和カルボニルが褐変に強く関与しているものと考えられる。

別報で⁶⁾薄層クロマトグラフィにより揮発性カルボニルを3区に分割する定量法を紹介した。

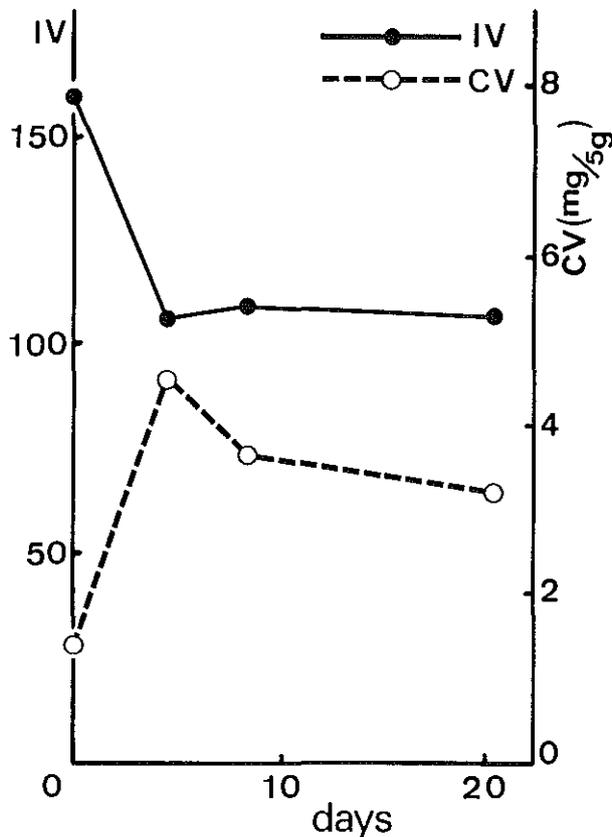


図6 天日乾燥試料のIVと揮発性カルボニル(CV)の経日変化

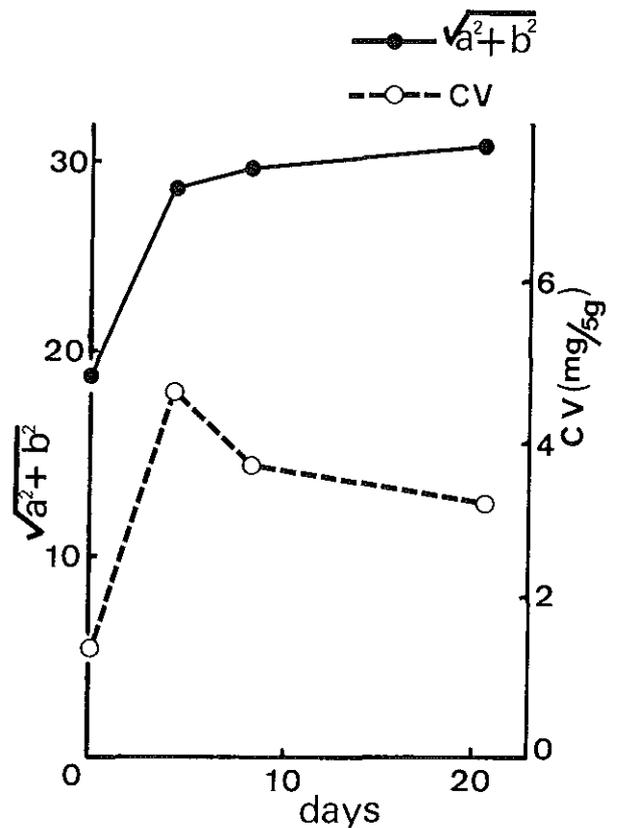


図7 天日乾燥試料の褐変とCVの経日変化

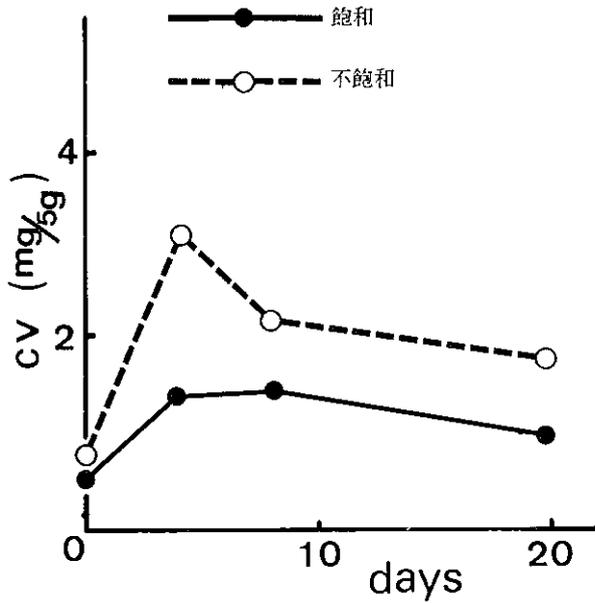


図8 天日乾燥試料より得た揮発性カルボニル中の飽和と不飽和区分の経日変化

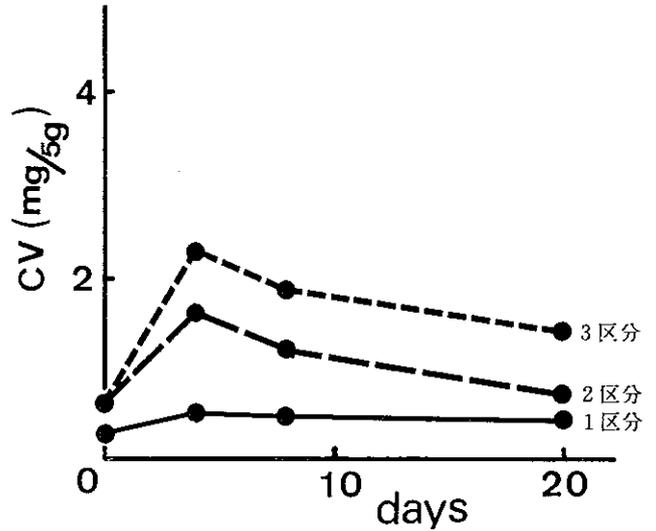


図9 薄層クロマトグラフィーにより分離された3区分の経日変化

今回の試験を同法により測定し、9図の結果を得た。第1区分の変化が小さいのに較べ第2、第3区分は4日までの酸化過程に増加し、その後減少する傾向を示している。このように褐変の進行と関連して増減を示すカルボニルは第2、第3区分であることがわかる。

これらの三区分は別報⁶⁾のよう各々、第1区分はアセトアルデヒド、第2区分はプロピオンアルデヒド、第3区分ではブチルアルデヒドおよび更に炭素数の多いアルデヒド等の飽和アルデヒドが同定されており、今回、これらの三区分の飽和、不飽和カルボニルの比率を測定した結果は表2に示すとおりである。

第1区分は82~95%が飽和であり、この比率は試験保蔵中ほぼ一定しており変化は少ない。

第2区分は、飽和、不飽和の比率が経日的に変化しており、図10に示すように不飽和区は酸化と褐変が急激に進んだ貯蔵初期に、比率、量とも大きな値を示して、その後は飽和、不飽和区とも緩やかに減少している。

第3区分は表2のように95~100%が不飽和で占められ、経日的な比率の変化は少ない。

このように図9で得た3区分のうち、酸化の進行に伴って増加し、酸化の停止期に減少傾向を示すのは、第2、第3区分の不飽和カルボニルであることがわかる。第2区分の飽和カルボニルも似た傾向を示しているが変化量が少ない。

これらの結果から褐変に関連して変化するカルボニルは不飽和区が中心であると推測される。

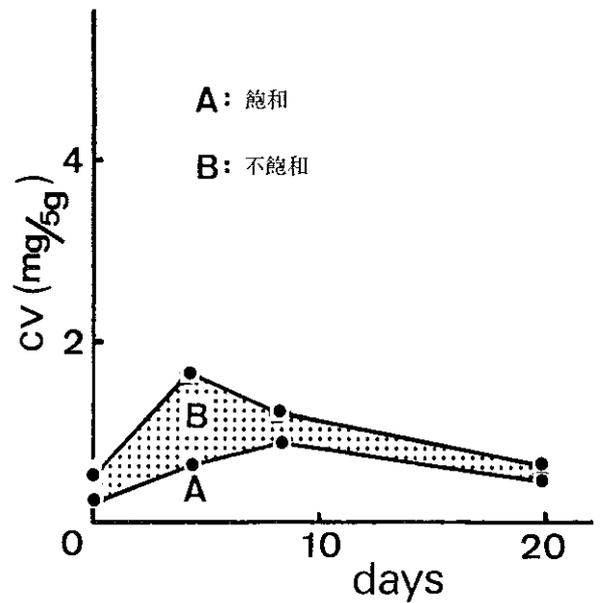


図10 第2区分内の飽和と不飽和カルボニルの経日変化

表2 各区分中の飽和と不飽和の経日変化 (%)

区分	保 存 日 数				
	0	4	8	20	
1	飽 和	88.3	86.5	95.1	82.1
	不飽和	11.7	13.5	4.9	17.9
2	飽 和	36.2	42.3	77.0	76.7
	不飽和	63.8	57.7	23.0	23.3
3	飽 和	3.1	0	0	5.0
	不飽和	96.9	100	100	95.0

3. 脱脂試料への揮発性カルボニルの添加

前試験で揮発性カルボニルの増減と褐変の進行の関係から、揮発性カルボニルの褐変への関与を推測したが、今回は魚肉から捕集した揮発性カルボニルを脱脂魚肉試料に添加して、その変色を観察するとともに、褐変に関与するカルボニルの推定を行う。

材料と方法

1) 脱脂試料の調整：マイワシ普通肉の真空凍結乾燥試料をクロロホルム、メタノール(2:1)溶剤で脂質を除去し調整した。

2) 薄層クロマトグラフィーによる分画、抽出：2-4-DNPをシリカゲル薄層プレート(20×20cm)を用い、石油エーテル、エーテル(4:1)で展開した。展開した3区分をシリカゲルと一緒にかけ取り、酢酸エチルで抽出した。

3) 2-4-DNPのカルボニルへの分解：2-4-DNPの溶剤除去後2Nの硫酸を加えて蒸留し、溜出液中のカルボニルを捕集した⁹⁾。

4) 脱脂試料へのカルボニルの添加：3区に分けたカルボニルを水15ml中に(2-4-DNP相当として4mg)加え、これを7gの脱脂試料(粗脂肪量0%, 水分9.5%)に添加して、色調の変化を測定した。

5) 脱脂試料への標品カルボニルの添加：標品カルボニルとしてアセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、アクロレイン、クロトンアルデヒドの4種を用い、これらを約20mmolずつを脱脂試料5gに添加し、それぞれの色調を色差計で測定した。

結果と考察

長期間冷凍保蔵した変質の著しいマイワシから蒸留法により揮発性カルボニルを捕集して薄層クロマトグラフィーにより3区分に分画した。3区分の飽和カルボニルの比率および、同定された飽和アルデヒドは表3のとおりである。

これらの三区分を脱脂魚粉脂料に添加した結果を表4に示した。

捕集、分画して得たカルボニル量が微量であったので、変色が少なかったが、何れの区でも無添加の対照に比べ変色が認められている。

また、標品アルデヒドを脱脂魚粉試料に添加した10日間の経過を図11に示した。アルデヒドにより褐変能力に違いはあるが、何れも褐変に関与していることが

表3 マイワシの揮発性カルボニル

区分	飽和の比率	GLCで同定された飽和アルデヒド
1	86%	アセトアルデヒド
2	73%	プロピオンアルデヒド
3	39%	イソブチルアルデヒド n-ブチルアルデヒド イソパレルアルデヒド n-パレルアルデヒド カプロアルデヒド ヘプトアルデヒド

表4 3区分のカルボニルによる脱脂試料の変色

区 分	保 存 日 数		
	0	1	2
1	13.4	14.0	14.2
2	13.2	14.1	14.9
3	13.3	14.2	14.6
Blank	12.9	13.1	13.1

(変色度合は $\sqrt{a^2 + b^2}$ 値で表わした。)

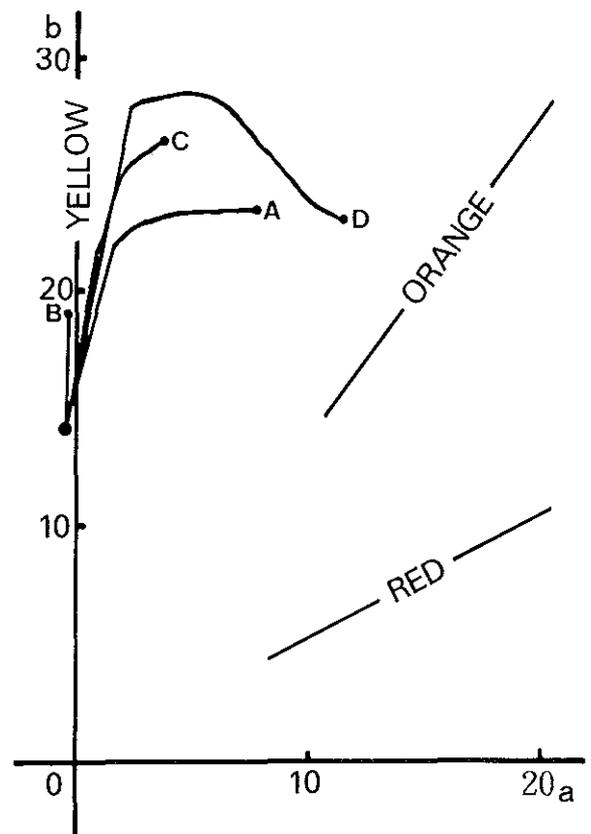


図11 4種の標品カルボニルを脱脂試料に添加したときの色調変化

A: アセトアルデヒド
B: プロピオンアルデヒド
C: アクロレイン
D: クロトンアルデヒド

脱脂試料5gにそれぞれ20mmolを添加した変色の最終点は添加後10日目の色調

認められた。中でもクロトンアルデヒド、アクロレインの不飽和区の変色は、アセトアルデヒドと共に顕著であり、ともにマイワシ製品での生成が知られている。

これらの添加初期の変色を図12に示したが、クロトンアルデヒドは極めて短時間に変色を起している。

これに対してプロピオンアルデヒドは図11, 12とも変色能力は弱いことを示している。

先の三区分の添加試験表4にもどって考察すると、第1区分は表3のように殆んど飽和区のアセトアルデヒドであり、この区の変色の主因物質とみられる。

第2区分では飽和区のプロピオンアルデヒドは上述のように変色能力は弱い。先の標品試験のアクロレインとクロトンアルデヒドを薄層クロマトグラフィーで展開すると図13のようにRfはこの第2区分とほぼ同じ値を示した。不飽和カルボニル中にこの両者が含まれるとすれば第2区分であろう。この両者の前述の褐変能力から考えて、これらを含めた不飽和カルボニルが、この区の重要な褐変原因となっていると考えられる。

第3区分では飽和区の量は少なく、また、存在が認められたn-ブチルアルデヒド、n-パレルアルデヒドを脱脂試料に濃度を高めて添加してみても、ほとんど変化が見られなかった。

このように、この区の変色は不飽和カルボニルによるものと考えられた。ただし、今回の不飽和カルボニ

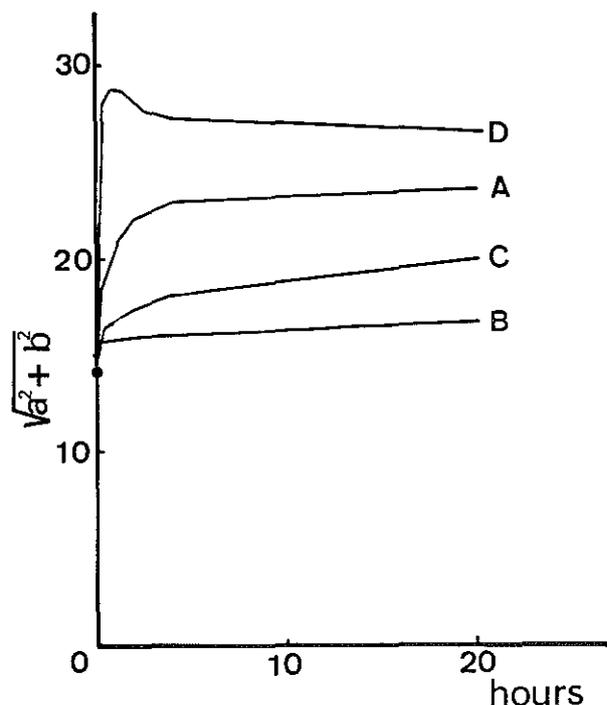


図12 標品カルボニルを脱脂試料への添加による変色の進行
(条件は図12に同じ)

ルは、モノエンナールとして算出しているもので、これ以外のカルボニルの存在があれば、表2の不飽和区の比率や組成は再検討の必要が生じる。これらは今後の研究にまたなければならない。

以上のように褐変に関与する主なカルボニルは、飽和区ではアセトアルデヒドであり、その他不飽和カルボニル類の影響が大きいと考えられた。

なお、今回の試験は揮発性カルボニルのみを取り上げており、不揮発性のカルボニルについては検討していない。この点も今後の課題として残るだろう。

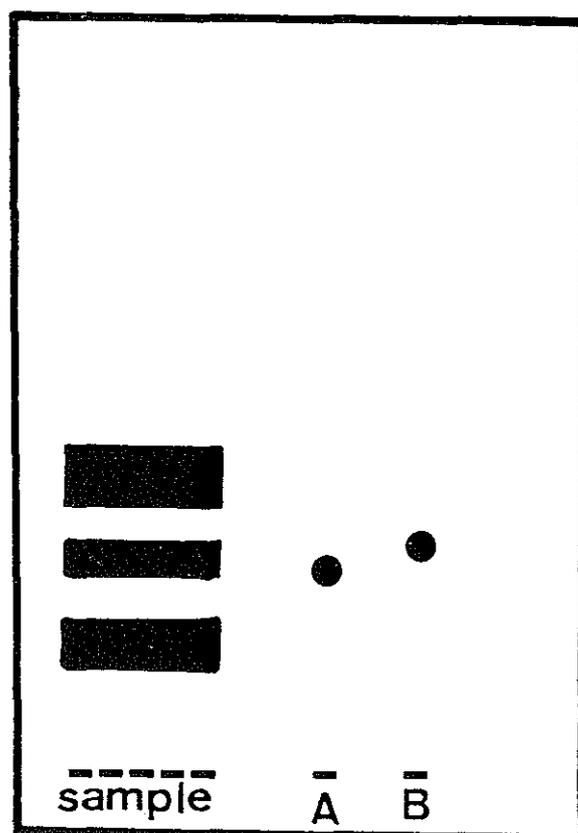


図13 標品とマイワシ肉より得たカルボニル(2-4-DNP)の薄層クロマトグラム
Sample: 真空凍結乾燥試料の17日保存品
A: アクロレイン
B: クロトンアルデヒド

要 約

- 1) 煮干しいわしをモデルにした魚粉試料の酸化と褐変の関係を検討し、酸化生成物のカルボニルが褐変にどのように関与しているかを調べた。
- 2) 変色(彩度, $\sqrt{a^2 + b^2}$)は酸化(ヨウ素価)と相関を持って進行する。
- 3) 変色の初期は黄色化が進み、次いで赤味が増し、この段階で褐変が視認される。赤味の増加は酸化がある程度進んだ段階で生じるため、視覚的に褐変が判定

されるのは、酸化時期より遅れる。

4) 揮発性カルボニルが多く生成されるとき、彩度が増加している。

5) 揮発性カルボニルを薄層クロマトグラフィーで3区に分けて経過をみると、アセトアルデヒドを多く含む区分の経日変化は少ないが、他の不飽和を多く含む2区分は変化量が大きく、酸化と褐変に関連を持った増減を示す。

6) 3区分を脱脂試料に添加したところ、何れも褐変能力を示し、第1区分のアセトアルデヒド、第2、第3区分の不飽和カルボニルがそれぞれの区分の褐変原因と推定され、全体の中では不飽和カルボニルの影響が大きいと考えられる。

文 献

1) 田辺伸・堀口辰司・滝口明秀 (1983) : 千葉水試

研報, 42,

2) 小泉千秋・黒部宗市・野中順三九 (1959) : 日本誌, 25(5), 368,

3) 野中順三九 (1956) : 日水誌, 21 (12), 1250,

4) 藤本健四郎・丸山雅之・金田尚志(1968) : 日水誌, 34(6), 519,

5) 和田 俊・小泉千秋・野中順三九(1976) : 42(10), 1145,

6) 滝口明秀・堀口辰司 (1983) : 千葉水試研報, 42,

7) 丸田銓二郎・鈴木義仁 (1961) : 工業化学雑誌, 64(12), 2129,

8) R.J.Soukup, R.T.Scarpellino, and Ellen Danielczik (1964) : Analytical Chemistry, 36, (12), 2255,

9) 笠原賀代子・西堀幸吉(1975) : 日水誌, 41(1), 43,