

〔醸工 第43巻, 第12号, p.936~941, 1965〕

ニトロフラン誘導体の食品防腐剤としての研究

(第10報) ニトロフラン誘導体のシステインによる
分解に影響する条件について (その1)

松 田 敏 生

(上野製薬株式会社)

Studies on Nitrofuran Derivatives as Food Preservatives

(X) On Conditions Causing a Reduction of Nitrofuran Derivatives Using Cysteine (Part I)

Toshio Matsuda

(Ueno Seiyaku Co., Ltd., Kōraibashi, Osaka)

A few conditions causing the reduction of nitrofuran derivatives using cysteine were examined. Results were as follows:

1. Reduction of nitrofuryl acryl amide (Z) using cysteine was greatly affected by the pH value. Cysteine quantity required for 50% reduction of Z was exponentially increased with decrease of the pH value.
2. Reduction of both Z and nitrofurazone (F) were increased with increased boiling time and increased temperature. A higher concentration of cysteine and a longer boiling time were needed for the reduction of F but a much lower concentration of cysteine and shorter boiling time were needed for the reduction of Z.
3. The maximum absorption peak of F at 375 m μ was decreased and shifted during boiling time to a peak having a shorter wave length. When Z was reduced with cysteine at various time intervals the absorption maximum at 360 m μ was reduced and a new absorption peak at about 304 m μ appeared.
4. Lower boiling temperature caused a decreased reducing ratio of F and Z. The boiling time required for 50% reduction in Z was exponentially increased with a decrease in boiling temperature. Q_{10} calculated for the above relationship was about 1.9.

緒 言

ニトロフラン誘導体の食品中における分解の主な原因は、食品中の SH 基による還元であることはすでに報告したが^{1,2)}、本研究では分解に関係する因子として、1) システイン濃度、2) 反応時の pH、3) 反応温度、4) 反応時間などを考慮し、これらの各因子について検討することにした。これらの各因子については、一連の過去の報告においては単に 90°C、30分、pH 7.0 のりん酸かん衡液中において加熱することに定め、システイン濃度のみを変化せしめて行なっている。これはこの条件が、魚肉ソーセージや蒲鉾などの魚肉ねり製品の製造条件に近いことを考慮したためである。本報告ではこれらの条件を変えてシステインとニトロフラン誘導体の分解の関係について検討し、ニトロフランのシステインによる分解の反応速度や、温度係数について測定したので

報告する。

実験方法および結果

1) **pH の影響** 清水³⁾は nitrofurazone (F) や nitrofuryl acryl amide (Z) のシステインによる分解を検討し, pH の影響については, pH が酸性側ではニトロフラン誘導体は同一システイン濃度同一加熱条件ではより分解しがたいことを示している。

本実験では pH の影響をさらに明らかにするためつぎの実験を行なった。

供試ニトロフラン誘導体: Z (上野製薬株式会社製品) を 10 γ /ml の濃度に溶解して実験に供した。

pH の変化: McIlvaine かん衝液により pH 4.0 より pH 8.0 までの各条件を調整した。

SH 化合物: 片山化学工業株式会社製, 特級システイン塩酸塩を用い, 使用時 McIlvaine かん衝液に溶解して所定の濃度および pH の溶液とした。

加熱条件: 褐色共栓試験管中に溶液を入れ湯煎中にて 90°C 30 分間加熱し直ちに冷却した。

分解率の測定: 島津製作所製自記分光光度計 SV-50A 型により吸光度曲線を描き, 360 $m\mu$ の吸光度の減少により測定した。この結果は Fig. 1 に示した。すなわち各 pH 条件下でシステイン濃度を変化させて 90°C 30 分後の吸光度の減少を追うと, 既報のようにそれぞれの pH 値で Z の吸光度の残存率をシステイン濃度に対してプロットすることができる。これらの結果より, それぞれ所定の pH 値における Z の吸光度が 50% に低下するのに必要なシステイン濃度を求めると, pH の値とシステイン濃度の対数値の間には, 明らかな直線関係が得られる。結局 pH が低下するに従って, Z を分解するために必要なシステイン量は exponential に多量に必要となって来ると云える。

この結果は Z の分解が, たとえば肉中の SH 基によって起るものとすれば, むしろ肉中の SH 基量を問題とするよりも, pH の値のわずかな変動を問題とすることの方が, Z の分解を阻止する上からは重要であると考えられる。このような pH と分解との関係は, 他のニトロフラン誘導体についても同じであることは, たとえば, 魚肉ソーセージに 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acryl amide (AF-2) を添加使用した場合に残存率は, 0.1% のソルビン酸により pH が 0.4 程度低下せしめられていると 20~30% 増大することからも容易に推測される。

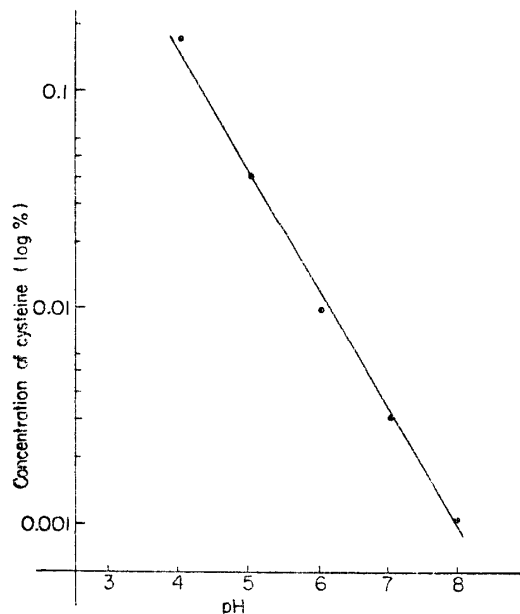


Fig. 1. Relationship between pH value and cysteine concentration required for the 50% reduction of absorbance of Z boiled for 30 min 90 C.

2) **加熱時間の影響** F および Z に対して pH 7.0 (りん酸かん衝液), システイン濃度一定の条件で実験 1) と同じように試験した。F に対してはシステイン濃度 0.05% および 0.1%, Z に対しては 0.01% および 0.005% として 90°C の加熱温度で各時間ごとにおける吸光スペクトルの変化を測定した。これらの結果は Fig. 2, 3, 4 および 5 に示した。まず Z の場合には 90°C で加熱すると, 非常に短時間内に 360 $m\mu$ の吸光度が減少し, それに代わって 300~305 $m\mu$ 附近に新しい吸光ピークが出現し, さらに加熱を続けるとこのピークもふたたび減少する。360 $m\mu$ の吸収は Z のニトロ基に起因するものであるから明らかにニトロ基の還元を示しており, またこの減少は加熱条件を 90°C 30 分 pH 7.0 に一定として, システイン濃度を変化せしめた場合の結果と一致している (Fig. 3)。すなわち 360 $m\mu$ の吸光度は濃度を増すに従い減少し, 一方 300~305 $m\mu$ の吸光度はいったん増加しシステイン濃度が 0.006125% の時に最大となり, それ以上の濃度ではふたたび減少する。この新しい 300~305 $m\mu$ に出現するピークが何を示しているかについては検討中である。

F においては Fig. 4 および 5 の結果より明らかなように 90°C 30 分の加熱では分解が進まないにかかわらず, 70 分以上の加熱では急激に 375 $m\mu$ の吸光度が減少し, ニトロ基の還元が起ることが明らかである。結局 Z と F

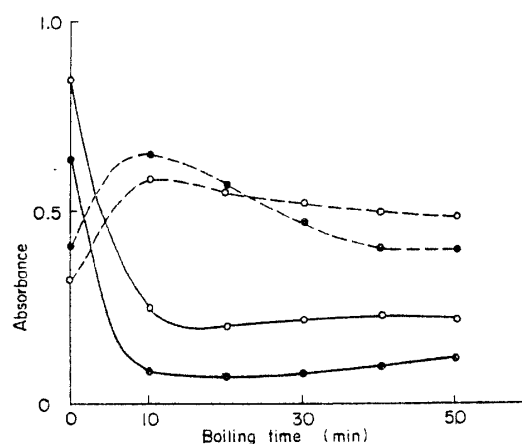


Fig. 2. Change of the absorbance of Z at 304 and 360 $m\mu$ boiled for various intervals with 0.005% and 0.01% cysteine at pH 7.0 and 90°C.

--○-- Cysteine 0.005% at 304 $m\mu$
 —○— Cysteine 0.005% at 360 $m\mu$
 --●-- Cysteine 0.01% at 304 $m\mu$
 —●— Cysteine 0.01% at 360 $m\mu$

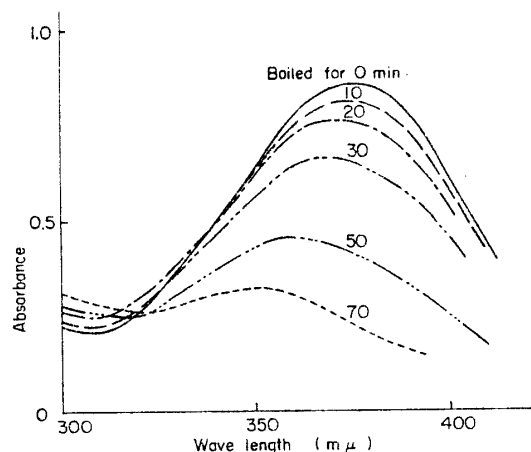


Fig. 4. Change of absorption spectra of F boiled for various intervals with 0.1% cysteine at pH 7.0 and 90°C.

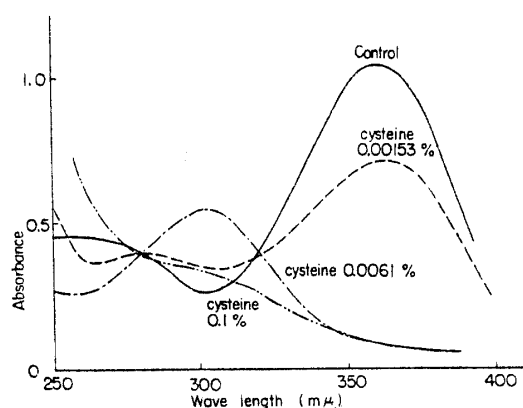


Fig. 3. Change of absorption spectra of Z with various quantities of cysteine boiled for 30 min at 90°C and pH 7.0.

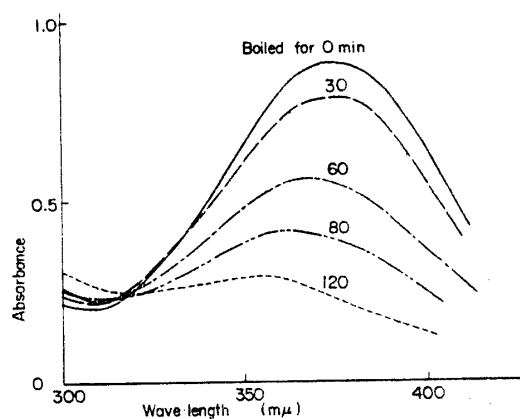


Fig. 5. Change of absorption spectra of F boiled for various intervals with 0.05% cysteine at pH 7.0 and 90°C.

の差は使用しているシステイン濃度が10倍であることなど、SH に対する安定性の差があることは明らかであるが、しかし多量の SH と長時間の加熱では、著しい分解が認められることは、実際に防腐剤として使用するようなきわめて長期間保存するような条件下では、同じように徐々に還元されることを意味している。既報⁵⁾の肉中で加熱した場合に90°Cで90分の加熱を行なった時には急にFが減少することや、あるいは魚肉ソーセージの保存中におけるFの減少⁶⁾の傾向を説明することは本実験の結果からうなずける理由が与えられる。

またFでは375 $m\mu$ の吸収が減少して行くにつれ、吸収のピークは短波長域に移動することが認められる。この移動は大山⁶⁾や Asnis⁷⁾などの報告による、細菌によるFの還元の場合にも認められており、恐らく還元により生成される物質が同じであると思われる。H.E. Paulによるとこの物質は多分アミノフランであると推定している⁹⁾が、細菌による還元と、システインによる還元が、同じような生成物を作ることは興味あることであり、生物学的な還元にもSH 酵素の関与も考えられる。

3) 加熱温度の影響 実験1)と同よう10 γ /ml の濃度でFおよびZを用いて調べた。pH はりん酸かん衝液による7.0としFでは70°Cと90°Cの二つの温度段階で、Zでは30°C、50°C、70°Cおよび90°Cの四つの

温度段階で、各加熱時間ごとの吸光度を測定した。システイン濃度はFでは0.1%, Zでは0.01%および0.005%とした。

まずFについては90°Cの場合はFig. 4 および5に示したので、Fig. 6 では70°Cの場合についてのみ示した。Fig. 6 で明らかなようにFは90°Cの場合と同じ傾向が少し遅れて現われる。

ZについてはFig. 7, 8, 9に示した通りの結果となるが、Fig. 2 の90°Cの結果と合わせて、図より360m μ の吸光度が、時間0の半分になるのに必要な時間を求め、これより温度と時間の関係を求めるとFig. 10の通りである。すなわちZの50%分解に必要な加熱する時間は、温度変化に対して、指数的に変化し、ほぼ直線関係が得られる。この図から、吸光度が半分になるのに必要な時間を t とし温度を T とすると

$$\ln t = A - KT$$

の関係が成り立つ。

システイン濃度が0.01%の時は上式中Aの値は約24, Kの値は 6.5×10^{-2} である。(ただし T は絶対温度)

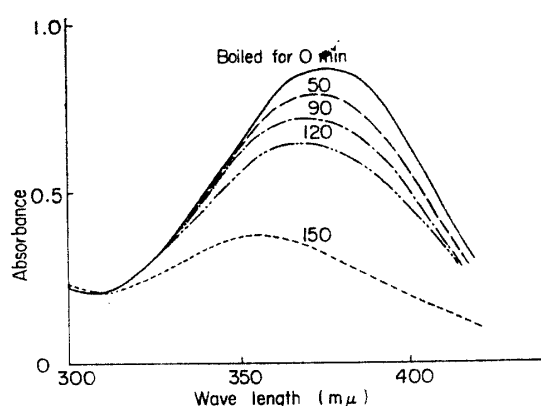


Fig. 6. Change of absorption spectra of F boiled for various intervals with 0.1% cysteine at pH 7.0 and 70°C.

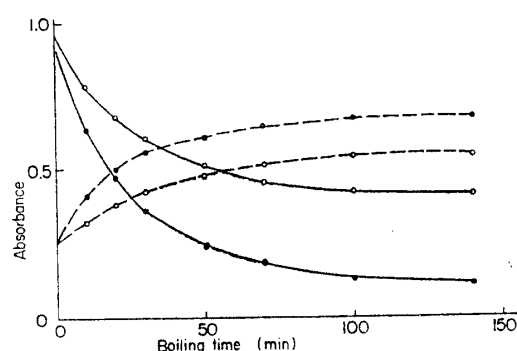


Fig. 8. Change of absorbance of Z at 304 and 360m μ boiled for various intervals with 0.005 and 0.01% cysteine at pH 7.0 and 50°C.

--○-- Cysteine 0.005% at 304 m μ
—○— Cysteine 0.005% at 360 m μ
--●-- Cysteine 0.001% at 304 m μ
—●— Cysteine 0.01% at 360 m μ

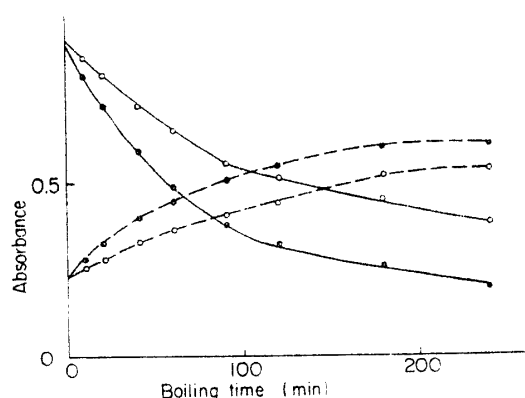


Fig. 7. Change of absorbance of Z at 304 and 360 m μ boiled for various intervals with 0.005 and 0.01% cysteine at pH 7.0 and 30°C.

--○-- Cysteine 0.005% at 304 m μ
—○— Cysteine 0.005% at 360 m μ
--●-- Cysteine 0.01% at 304 m μ
—●— Cysteine 0.01% at 360 m μ

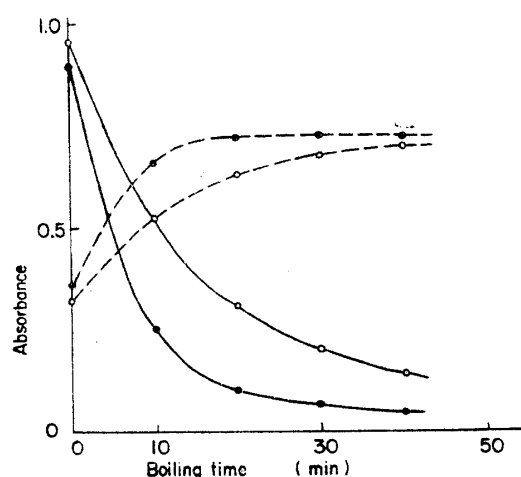


Fig. 9. Change of absorbance of Z at 304 and 360 m μ boiled for various intervals with 0.005 and 0.01% cysteine at pH 7.0 and 70°C.

--○-- Cysteine 0.005% at 304 m μ
—○— Cysteine 0.005% at 360 m μ
--●-- Cysteine 0.01% at 304 m μ
—●— Cysteine 0.01% at 360 m μ

また温度係数を求めると $Q_{10} = 1.9$ であった。
さらに上記の関係から Arrhenius の関係式

$$\ln k = \ln X - E/RT$$

ただし K = その温度の反応速度恒数
より賦活エネルギー E を求めると、たとえば、30℃と50℃における k をそれぞれ k_1, k_2 とすると

$$E = \frac{RT_1 T_2}{T_1 - T_2} \ln \frac{k_1}{k_2}$$

で示されるから、それぞれ数値を代入すると約 12800 cal/mol となり、同ように 50℃と70℃の平均の賦活エネルギーは約 14800 cal/mol であった。

考 察

Z および F のシステインによる分解と、その条件を調べた結果、たとえば Z の分解に必要なシステイン濃度と pH との関係は、

$$\ln C = A - k\text{pH}$$

C : 分解に要するシステイン濃度

A, k : 定数

の式で表わされる関係を示した。このような関係が成り立つ理由は明らかでないが、Z のようなニ

トロフランはアルカリ側ではそれ自体が不安定であり、また酸性側では仮にシステインのカルボキシル基の解離型が主として Z の還元に有効であるとすれば、説明できないこともない。

また反応時間を検討した結果は、Z や F は本質的には同じようにシステインによって還元されることが明らかにされた。既報²⁾ のように pH 7.0, 90℃ 30分の条件下ではシステインに対して、各種のニトロフラン誘導体の間で著しい差のあることを示す結果を得ているが、この条件は、たとえば魚肉畜肉ソーセージのような食品を製造するに際して同じような条件であるので、製造時における各種のニトロフラン誘導体の適、不適の判定には参考となし得る。しかし長時間の加熱によりたとえば F が分解することから、システインによって F が分解しないのでは無くて分解速度が遅いと考えられる。

F でシステインによる還元生成物と、細菌による還元生成物が同じ吸収スペクトルを示したが、もし同じようなアミノフランが形成されているのであれば、F の他に、Z や AF-2 についても検討を加える必要があると考える。

要 約

ニトロフラン誘導体の Z と F のシステインによる還元を検討してつぎの結果を得た。

- 1) Z の分解は pH を変化せしめると著しく変化し、pH の低下に伴い、Z の分解に必要なシステイン量は指数的に増加する。
- 2) F および Z に対する加熱時間の影響は、加熱時間が増すと、F および Z はともに分解が進むが、F ではより高濃度のシステインと、長時間の加熱が必要であり、Z は低濃度のシステインと短時間の加熱で分解するが、本質的には両者ともシステインにより還元され、両者の間には著しい安定性の差があることが特徴であると認められた。
- 3) F はシステインとともに加熱還元すると 375m μ の吸光度が減少するとともに短波長に吸光ピークが移動し、Z では一時的に 300~305m μ 附近に新しい吸光ピークが現われ、さらに還元が進むとこの新しいピークも減少する。
- 4) 加熱温度の影響を F と Z について調べ、両者とも温度が低いと分解もそれに応じて遅くなるが、Z では吸光度が50%に減少するのに必要な時間の対数値は、温度に対して直線的な関係を示した。これより計算した温度係

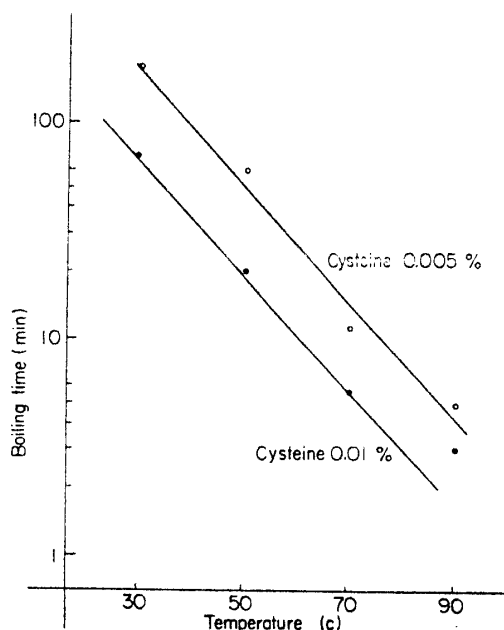


Fig. 10. Relationship between temperature and boiling time required for 50% reduction of absorbance of Z with 0.01% 0.005% cysteine at pH 7.0.

数 Q_{10} は約 1.9 であり, また賦活エネルギーは $30^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$ では 12800cal/mol , $50^{\circ}\text{C} \sim 70^{\circ}\text{C}$ では, 14800cal/mol であった.

本研究の実施に当り種々御指導を賜りました大阪大学工学部教授, 照井堯造, 芝崎勲両先生に深く感謝し, また発表を許可された上野製菓, 上野隆三副社長, および実験に協力された中西秀子氏に深く感謝いたします.

文 献

- | | |
|---|--|
| 1) 松田: 本誌, 43 , 426 (1965). | 7) Asnis, R.E.: <i>Arch. Biochem. Biophys.</i> , 66 , 208 (1957). |
| 2) 松田: 本誌, 43 , 432 (1965). | 8) 小島: 日水誌, 31 , 370 (1965). |
| 3) 清水: 昭和39年度日本水産学会講演 | 9) Paul, H.E. et al: <i>Experimental Chemotherapy</i> , Vol. II, 307 (1964). |
| 4) 松田他: 未発表 | |
| 5) 小島, 松田: 日水誌, 31 , 214 (1965). | (昭40. 7. 9 受付) |
| 6) 大山: <i>Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.</i> , 34 , 1 (1956). | |