
 報 文

イワシ干物の酸化劣化度評価法の比較について

Evaluation of oxidative deterioration of dried sardine
by several methods瀬戸 美江*
(Yoshie Seto)藤本健四郎**
(Kenshiro Fujimoto)

The oxidative deterioration in refrigerated dried sardine was evaluated periodically by several methods as follows:

- 1) Water content was almost constant during 20 days of storage.
- 2) Fat content, POV, CV and organic solvent-soluble fluorescence reached maximum the level after 13 days of storage and then decreased.
- 3) The measurements of intensities of browning of lipids and fluorescence of protein-bound compounds were found to be good indications of oxidative deterioration of dried sardine.

1. 緒 言

一般に食品中の脂質の酸化劣化の評価には、過酸化価 (POV) やカルボニル価 (CV) の測定が有効な方法として広く用いられている。しかし、水産食品等の高度不飽和脂肪酸を多く含む食品においては、酸化の第一次生成物であるヒドロペルオキシド (hydroperoxide) は比較的不安定であるため、酸化が進行しても一方的に蓄積することではなく、POV では酸化を適切に評価できないことが示唆されている^{1,2)}。また、酸化が著しく進むと蛋白質と結合し、有機溶剤では抽出されにくくなる²⁾ので、脂質を抽出しない方法の開発が望まれている。そこで今回は、酸化の進行が速いといわれるマイワシを用い、食品の酸化劣化度の有効な評価法を検討し、若干の知見を得たのでここに報告する。

2. 材料及び実験方法

(1) 材 料

仙台市内の鮮魚店より、一匹の体長 20~25 cm、体重 60~80 g のマイワシを購入し、頭、内臓を除去し、腹開きにして中骨を除いた。

* 仙台白百合短期大学

** 東北大学農学部

(2) 干物の製造・保存

マイワシを 20% の食塩水に 5°C で 3 時間浸漬させた後、表面の水分をふき取り魚干し金網に皮目を下にして、ドラフト中で一晩乾燥させた。それをラップフィルムでおい、5°C の冷蔵庫で保存した。

(3) 試 料

測定試料は、製造直後のもの、6 日間保存したもの、13 日間保存したもの、20 日間保存したもの、計 4 種について、それぞれ 4 尾のマイワシを用いて行った。

(4) 水分の測定

名試料の水分は、110°C 4 時間の加熱乾燥法³⁾により測定し、乾燥した場合の蒸発減量を百分率で表した。

(5) 脂質の抽出

脂質の抽出は、Folch 法⁴⁾に準じて行った。すなわち、試料約 10 g に抗酸化剤 BHT を 0.002% 含むクロロホルム：メタノール (2:1, v/v) 混液 120 ml を加え、ホモジナイザーで摩砕して抽出後、約 15 分放置し吸引ろ過した。さらに残部に上記のクロロホルム：メタノール混液を加え、上記の操作を 2 回繰り返した。ここで脱脂された魚粉は、有機溶剤抽出後の残渣 (粉末) として蛍光測定に用いるために、密封ガラス容器に入れ、25°C の暗所に保存した。抽出液を合わせて分液ロートに移し、60 ml の 0.1% NaCl を加え攪拌後、0°C で 2~3h 放置

し下層部を分取した。これを減圧濃縮して得た残留物を総脂質とし、化学的測定に用いた。

(6) 脂質の酸化劣化度の評価法

1) 過酸化価 (POV) の測定⁵⁾

試料 0.2~0.5 g を三角フラスコに正確に測り取り、クロロホルム：氷酢酸 (2:3) 混液 35 ml を加えて溶かし、飽和ヨウ化カリウム溶液 1 ml を加え 30 秒間攪拌した。25℃、暗所に 5 分間放置し、蒸留水 75 ml を加えさらに攪拌した。それを 0.01 N チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定した。別に空試験を行い補正した。

2) カルボニル価 (CV) の測定

カルボニル価の測定は、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを用いる熊沢法⁶⁾に、過酸化物の影響を避けるため、トリフェニルホスフィン還元前処理操作を加えた改良法⁷⁾で行った。すなわち、試料 0.05~0.1 g を 20 ml 容メスフラスコに正確に測り取り、トリフェニルホスフィンベンゼン溶液 (2.1 mg/ml) 0.4 ml を添加し、ベンゼンで定容した。暗所で、室温に 30 分放置後 5 ml を取り、0.05% 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンベンゼン溶液 5 ml, 4.3% トリクロロ酢酸ベンゼン溶液 3 ml を加え、60℃ 30 分加温した。これを 30 分、暗所室温で放置した。次に、4% 水酸化カリウムエタノール溶液 10 ml を加え、正確に 10 分後に 440 nm の吸光度を求めた。対照セルは蒸留水とし、試料を入れない空試験を行い、その吸光度をブランク値とし補正した。

3) 脂質の着色度の測定

試料約 0.2 g を 20 ml 容メスフラスコに正確に測り取り、ヘキサンで溶かし定容した。これを比色セル (1 cm) にとりヘキサンを対照セルとし、波長 430 nm における吸光度を測定した。

4) 蛍光強度の測定

蛍光測定は、有機溶剤抽出後の残渣 (粉末) 及び有機溶剤抽出画分 (溶液) の各々について行った。粉末の場合は、日本分光 FP-1060 型固体試料測定装置のセル内に試料 (約 0.3 g) を直接入れ、また、溶液については、試料約 0.2 g を 20 ml 容メスフラスコに正確に測り取り、ヘキサンで溶かし定容した。これを角型石英セルに入れ、いずれも日本分光 FP-770 型分光蛍光光度計を用いて、魚肉モデル系で観察された蛍光スペクトル⁸⁾を参考にして、粉末の場合は、励起波長 (Ex) 360 nm, 蛍光波長 (Em) 470 nm で、溶液の場合は、Ex. 430 nm, Em. 500 nm で測定した。蛍光強度は硫酸キニーネ 1 µg/ml 0.1 N 硫酸溶液を標準溶液として、標準溶液の Ex. 370 nm, Em. 460 nm の強度を 0.1 に設定し、試料の相対蛍光強度を表した。

3. 実験結果及び考察

(1) 水分含量

水分含量について測定した結果を図 1 に示す。製造直後の干物の水分含量は 49.4% に対し、20 日後のものは 48.7% とほとんど変化が認められなかった。水分は食品

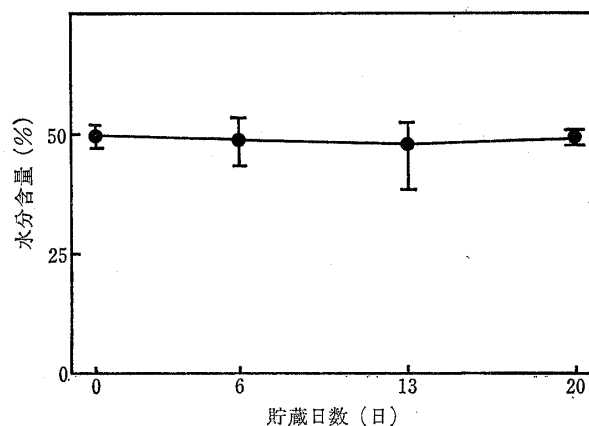


図 1. 水分含量の経時的変化

の保蔵に大きな影響をもち、脂質酸化に対して、その存在状態によって抑制的にも促進的にも作用するといわれている⁹⁾。本試料の水分活性 (A_w) は測定していないが、水分含量から判断して A_w は 0.90 以上と推定され、これらの高水分食品では、水分は、酸化を触媒する成分が可溶化されるため、脂質酸化に対して促進的に作用すると考えられている。しかし、後述するように、魚粉モデルに比べると^{2,8)}、本研究における抽出油の過酸化価の減少が早期に見られないことから、水和によりヒドロペルオキシドがある程度安定化されていたものと推定される。

(2) 脂質抽出量

脂質抽出量について測定した結果を図 2 に示す。保存

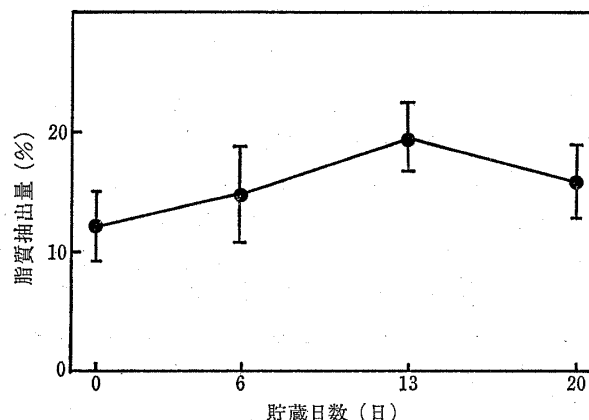


図 2. 脂質抽出量の経時的変化

中に13日までは漸増し、その後減少に転じた。脂質の抽出量が増加したのは、脂質を構成している不飽和脂肪酸部位に酸素が結合したためと考えられるが、その後減少したのは、酸化脂質が蛋白質と結合し、有機溶剤で抽出されない部分が生じたものと推定された。

(3) 脂質の酸化劣化度

1) POV 及び CV

抽出油の POV 及び CV を測定し、その結果を図3、図4に示す。製造直後の試料における POV は16.0で、

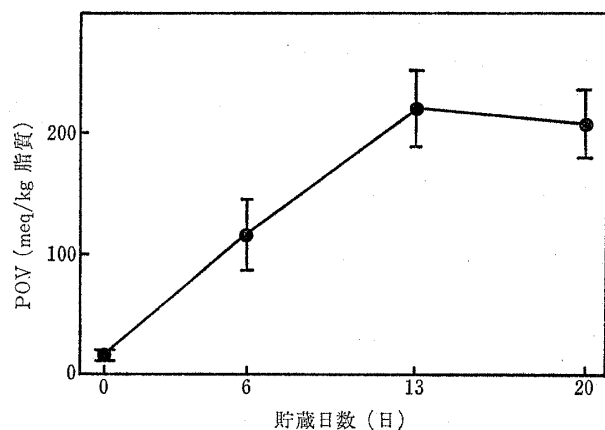


図3. POVの経時的変化

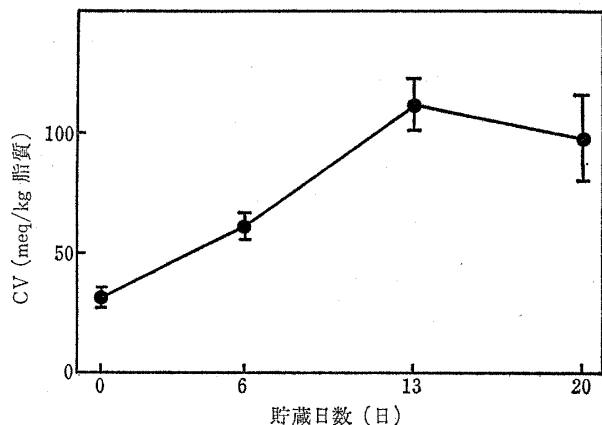


図4. CVの経時的変化

保存13日目までは直線的に急増し、その後減少した。また、CVは、製造直後のものが31.6で、PVと同様の経時変化を示した。これら POV, CV の変化は、前述の脂質抽出量の変化と同様の傾向を示した。Hasegawa ら⁸⁾は、脱脂凍結乾燥したマイワシ肉に魚油を添加して調製したモデル系で保存実験した際の POV 値を測定し、全消費酸素に対する POV によって測定されるヒドロペルオキシド態酸素の割合は、5日目に50%を示すのを最大とし、以後酸化の進行と共に減少し、16日目には約5%に減少したと報告している。今回の結果からも、POV,

CV は、酸化のごく初期段階での評価には有効であるが、比較的酸化が進んだ段階においては、酸化的劣化度を定量的に評価する方法としては適当でないことが示唆された。

2) 着色度

一般に、水産食品等の高度不飽和脂肪酸を多く含む食品は、脂質の酸化に基づく油焼けを起こしやすいことが知られている。油焼けについては、野中¹⁰⁾の総説、豊水¹¹⁾、藤本¹²⁾らの報告がある。本研究では、油焼け(褐変)の進行を評価するために、脂質の褐変度を測定した。その結果を図5に示す。製造直後の試料の吸光度は0.171、

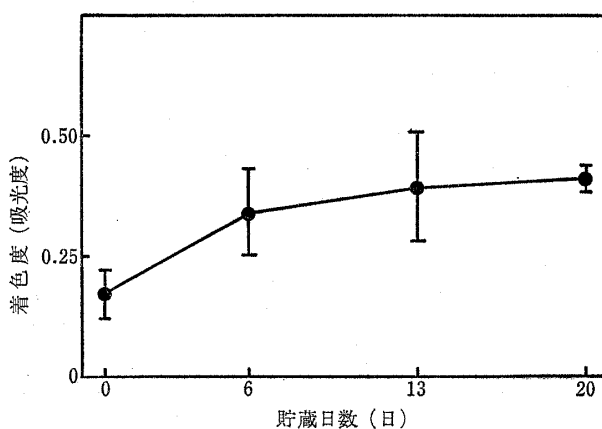


図5. 着色度の経時的変化

6日後は0.340、13日後は0.390、20日後は0.408と、酸化の進行に伴って増加が続くことが示された。ある程度自動酸化が進んだ脂質に、アンモニア、アミン類、ヘム化合物、塩基性金属酸化物、アルカリなどのいずれかを加えると、脂質は速やかに褐変し、その変色度は自動酸化の程度にほぼ比例するといわれている¹³⁾。今回もヘム蛋白質含量の高いマイワシを用いて同様の結果を得ることができた。本研究での着色度の評価には有意差は認められなかったが、着色度の測定は、酸化の初期から後期にわたるまで、酸化的劣化度を評価することができる有効な方法であると考えられる。

3) 蛍光強度

Melton¹⁴⁾は、食品における脂質の酸化的劣化度の有効な評価法として、脂質の二次生成物が、蛋白質、アミノ酸、リン脂質及び核酸等と反応して生成すると考えられる蛍光物質の測定を提唱した。従来定量されてきたものは、有機溶剤可溶性蛍光だけなので、本研究では、不溶化した蛋白質結合型の蛍光強度も測定し、その結果を図6、図7に示す。図6は、有機溶剤抽出画分(溶液)の蛍光測定の結果である。保存13日までは蛍光強度は増加したが、20日後は減少に転じ、脂質抽出量、POV,

イワシ干物の酸化的劣化度評価法の比較について

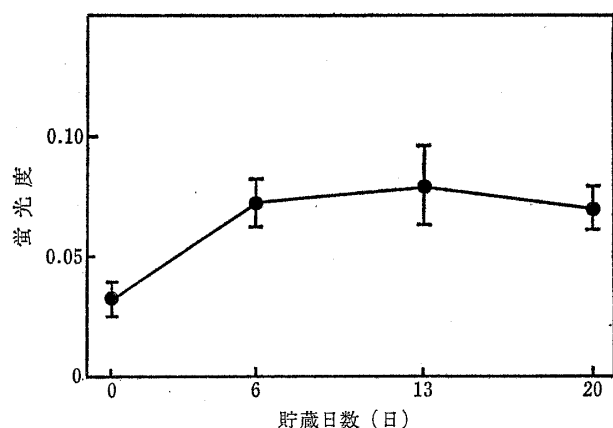
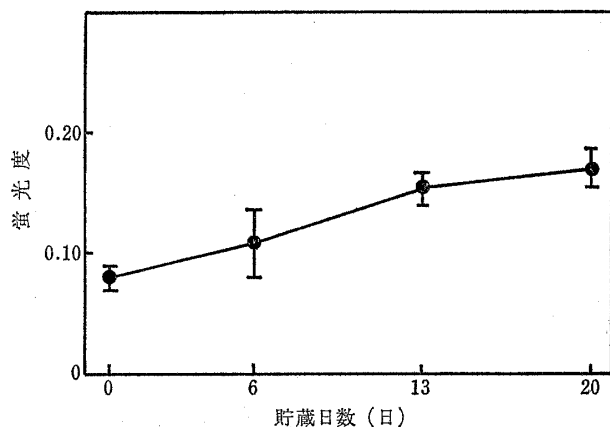


図 6. 有機溶剤抽出画分(溶液)の螢光度の経時的変化

図 7. 有機溶剤抽出後の残渣(粉末)の螢光度の経時的変化 $P < 0.05$

CV と同じ変化を示した。従って、酸化の初期においては有機溶剤可溶性の蛍光物質が生成するが、酸化の進行に伴って蛋白質と結合し不溶化することが推測された。図 7 は、有機溶剤抽出後の残渣(粉末)の結果である。固体の蛍光強度は酸化の進行に伴って増加を続け、有機溶剤可溶性蛍光と異なり、極大値を示さないことが示され、着色度の値と同様の傾向を示し、5% の危険率で有意差も認められた。このことは、前述の有機溶剤可溶性蛍光物質が不溶性となって蓄積されていることを示している。これらのことから、蛋白質結合型の蛍光物質の測定は、簡便な操作により、酸化の初期から後期にわたるまで、酸化的劣化度を継続的かつ総合的に定量することのできる非常に有効な方法であることが示唆された。有機溶剤可溶部の着色度も、本実験結果では同様な結果を示したが、さらに酸化が進行すれば着色物の不溶化が予想されるので、その有効性についてさらに長期保存によ

る検討が必要と思われた。

4. 要 約

酸化の進行が速いといわれているマイワシを用いて、食品の酸化的劣化度の有効な評価法を検討し、以下の結果を得た。

(1) 水分含量は、20日間貯蔵の間ほとんど変化が認められなかった。

(2) 脂質抽出量, POV, CV は、20 日後に減少に転じた。

(3) 着色度は、酸化の進行に伴って増加を続けた。

(4) 有機溶剤抽出後の残渣(粉末)及び有機溶剤抽出画分(溶液)について蛍光測定したところ、溶液は 20 日後に減少に転じ、粉末は着色度と同様、酸化の進行に伴って増加を続けた。

終わりに、本研究にご協力頂きました東北大学農学部遠藤泰志氏に深く感謝致します。

文 献

- 1) Cho, S. Y., Miyashita, K., Miyazawa, T., Fujimoto, K. and Kaneda, T.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 876 (1987)
- 2) Cho, S. Y., Endo, Y., Fujimoto, K. and Kaneda, T.: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 545 (1989)
- 3) 堤 忠一: 食品成分の分析, 改訂食品分析ハンドブック, 建帛社, 東京, 17 (1982)
- 4) Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. H.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957)
- 5) 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法, 日本油化学協会, 東京, 2.4. 12-71 (1981)
- 6) 熊沢 恒, 大山 保: 油化学, **14**, 167 (1965)
- 7) Chiba, T., Takazawa, M. and Fujimoto, K.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 1588 (1989)
- 8) Hasegawa, K., Endo, Y. and Fujimoto, K.: *J. Fd. Sci.*, **57**, 1123 (1992)
- 9) 山口直彦: 油化学, **25**, 249 (1976)
- 10) 野中順三九: 油化学, **7**, 317 (1958)
- 11) 豊水正道: 日水誌, **36**, 847 (1970)
- 12) 藤本健四郎: 日水誌, **36**, 850 (1970)
- 13) 鴻巣章二, 須山三千三: 水産食品学, 恒星社厚生閣, 東京, 186 (1987)
- 14) Melton, S. L.: *Fd. Technol.*, **37**, 105 (1983)

(平成 4 年 9 月 14 日 受理)