水産乾製品に対する天然ビタミン E の抗酸化効果

浅原 充雄*・松崎 幸夫**・松森 茂*

Antioxidative Effect of Natural Tocopherols Mixture on Salted and Dried Marine Fish

MITSUO ASAHARA, YUKIO MATSUZAKI and SHIGERU MATSUMORI

The antioxidative activities of natural tocopherols mixture and the synergistic effects of calcium phytate and ascorbic acid on salted and dried round herring were examined.

Round herrings were dipped into 20% saline solutions with or without tocopherols mixture for 3.5 hours and dried. Below 0.01% concentration of tocopherols had no antioxidative effects, but beyond 0.05% concentrations showed a good protective effect during their storage. Calcium phytate and ascorbic acid showed synergistic effect.

0.05% Tocopherols mixture with 0.05% calcium phytate or 0.50% ascorbic acid and 0.10% tocopherols mixture showed similar effect as 0.02% BHA. (Received Jan. 10, 1975)

一般に動物性の水産加工食品は脂質中に高度不飽和脂肪酸を多く含むため、保存中に酸化し、不快な臭いや褐変をおこす。また栄養価も下がり、はなはだしい場合は毒性を示すようになる。このような悪象を防止するため、水産乾製品には BHA や BHT を主体とした合成抗酸化剤が一般に用いられている。近年食品添加物に対する消費者やマスコミの批判が高まりこれに呼応して厚生省は食品添加物を再点検しようとしている¹⁾。こうした実情を反映して天然抗酸化剤であるトコフェロールの利用が最近注目されてきている。酸化防止剤としてのトコフェロールの利用は油脂をはじめ多くの食品に対して検討されてきた^{2)~15)}しかし水産加工食品の場合、これまでほとんど検討されておらず最近外山ら⁸⁾が天然トコフェロール混合物を塩蔵品、塩乾品、煮乾品などに BHA よりやや多量に使用し BHA にほぼ匹敵する効果をあげたと報告しているにすぎない。

そこで水産乾製品におよぼす天然ビタミン E[†] 及びアスコルビン酸、フィチン酸カルシウムを相乗剤として併用した場合の抗酸化効果を検討したので結果を報告する。

実 験

1. 実験材料

仙崎魚市場に水揚げされた鮮度良好なウルメイワシ *Etrumeus micropus* (TEMMINCK & SCHLEGEL) を使用した。原料の性状は肉質部で水分 76.5%, 粗脂肪 1.5%, pH 5.9, 揮発性塩基窒素 12.88 mg%, 抽出粗脂肪で過酸化価 0.0 meq/kg, 酸価 20.21 であった。

2. 塩乾イワシ(目刺し)の調製

原料を氷水で水洗したのち 20% 食塩水に Table 1 の割合で抗酸化剤を添加した各溶液 3 l にウルメイワシ 3 kg あてそれぞれ 3.5 時間浸漬した。この時の浸漬溶液の温度は約 0°C 付近であった。次に氷水で軽く水洗し、魚体表面についている塩分を除いた後、東熱株式会社製の HAP-20 型冷風乾燥機により 22°C で 47 時間連続乾燥した。製品は水分含量 36% 前後で腹切れもなく光沢は銀白色にかがやいており良好であった。Table 1 で供試した抗酸化剤は次のとおりである。

† 天然トコフェロール同族体の混合濃縮物で本報告では以下天然ビタミン E と表現する。

* 山口県外海水産試験場 (長門市仙崎大泊)

Yamaguchi Gaikai Prefectural Fisheries Experimental Station, Senzaki Nagato-shi.

** 現在山口県公害センター (山口市朝田)

Yamaguchi Prefectural Environmental Science Center. Asada Yamaguchi-shi.

Table 1. Amounts of antioxidants in the brine used for the manufacture of salted and dried round herring.

No	Kind of antioxidant	Concentration of antioxidant
1	Control	0 %
2	BHA	0.02
3	Natural tocopherols*	0.01
4	Natural tocopherols	0.05
5	Natural tocopherols	0.10
6	{Natural tocopherols Calcium phytate}	0.05 0.05
7	{Natural tocopherols Ascorbic acid}	0.05 0.50
8	Calcium phytate	0.05
9	Ascorbic acid	0.50

* Natural tocopherols mixture: containing 86.6% as total tocopherols.

i) BHA*: Butyl hydroxyanisole, 日揮ユニバーサル株式会社製品, 商品名サステン乳液-A.

ii) 天然ビタミンE: エーザイ株式会社製品, 食添用天然ビタミンE, 総トコフェロールとして 86.6% のトコフェロール異性体混合物を含有する。(エーザイ株式会社にて分析) その組成比は分析していないが, エーザイの食添用の天然ビタミンEは α 10~20%, γ 30~60%, δ 20~30% 含有する⁸⁾。天然ビタミンEはそのままでは食塩水に溶解しないので, いったん 10 ml のエチルアルコールに溶解し, 攪拌操作をしながら均一に分散させた。

iii) アスコルビン酸: 片山化学工業株式会社製。

iv) フィチン酸カルシウム: 半井化学薬品工業株式会社製。

3. 保蔵試験

乾燥終了後各試料をポリエチレン製の袋に収容し軽く封をした後, 室温 11.6~26.0°C, 湿度 57.3~67.3% (10 日ごとの平均) で直射日光をさけ加工実験台上に 90 日間放置し, 経時ごとに 10 尾宛取り出し過酸化価, TBA 値, 酸価, 試料の水抽出液の 350 nm の吸光度, ビタミンE含量を測定しあわせて官能検査(外観, 色調, 臭い等)を実施した。

4. 分析方法

(1) 試料油の抽出: 四塩化炭素抽出法によった。すな

わち頭部と尾部を除去した後, 内臓を含めた魚体(10尾)を細切し, 均一に混合し試料とした。この試料に適当量の無水硫酸ナトリウムを加え脱水後4倍量の四塩化炭素を加え, 窒素ガスを封入した後よく混和し, 室温で2時間ときどき攪拌し抽出した。抽出した四塩化炭素液は一部過酸化価の測定に用い, 他は減圧下で四塩化炭素を除去して酸価を測定した。TBA 値の測定には別に四塩化炭素で抽出した油を用いた。

(2) 過酸化価 (POV): 基準油脂分析試験法の LeA 改良法¹⁶⁾に準じた。

(3) 酸化 (AV): 基準油脂分析試験法¹⁷⁾によった。

(4) TBA 値: 測定は Yu および SINNHUBER¹⁸⁾の方法により分析し, TBA 値は SINNHUBER および Yu¹⁹⁾にしたがって油脂 1000 g 当りの malonaldehyde の mg 数で示した。

(5) アスコルビン酸の TBA 反応生成物の吸収曲線: 本実験に供試した抗酸化剤のうちアスコルビン酸が TBA 反応生成物を生ずると考えられたので, アスコルビン酸溶液の濃度を変えた場合とこの溶液を放置し自動酸化させた時の TBA 反応について測定した。方法は 100 ml のメスフラスコに 0.5 M のアスコルビン酸溶液 100 ml を入れ栓をして直射日光を避けて室温 (20~27°C) に放置した。この溶液を 0 日, 40 日, 50 日ごとに Yu および SINNHUBER の方法により発色させた TBA 反応液を 1 cm セルを用いて島津製作所製のダブルビーム分光光度計 UV-200 を用いて吸収曲線で表わした。

この時の TBA 反応液中 (50 ml) のアスコルビン酸濃度が 1 mM, 10 mM, 20 mM, 30 mM になるように上記のアスコルビン酸溶液をそれぞれ添加した。

(6) 水抽出液の吸光度: 水溶性褐変現象の度合を測定するため次の方法をとった。すなわち, 試料 1 g を乳鉢に取り少量の水で粥状にし, 全量 45 ml の蒸留水で 5 分間攪拌抽出後, 東洋濾紙 No. 5A で吸引濾過し, 次に蛋白等のケン濁物を除くため濾液に 20% トリクロ酢酸 5 ml を加え, 東洋濾紙 No. 5A で濾過後, 1 cm セルを用いて濾液の吸収曲線を測定したが, 吸収の極大がみられなかったため, 便宜的に 350 nm の波長で吸光度を測定した。なお値は保蔵期間中水分含量の減少がみられたため最初の水分含量の平均値, 36% に換算して表わした。

(7) ビタミンE: DEAN・MILLBURN の方法²⁰⁾および池田・田口の方法²¹⁾を多少変えておこなった。還流冷却装置のついた 100 ml 容ケン化フラスコを用いて試料 3 g にアスコルビン酸 500 mg と 10 ml のエタノールを

* BHA: B, 天然ビタミンE: T, アスコルビン酸: A, フィチン酸カルシウム: P と略し天然ビタミンE 0.01% 区は, T 0.01, 天然ビタミンE 0.05% + フィチン酸カルシウム 0.05% は T 0.05 + P 0.05 のように表記する。

添加後窒素ガスを封入し、フラスコ内をアルコール蒸気で満たした後 60% KOH 5 ml 添加し、沸騰水中で 15 分間ケン化した。(ケン化中には窒素ガスは通気しなかった)ケン化後ただちに急冷しエチルエーテル 30 ml で 3 回当て抽出した。エチルエーテル層を水洗後減圧下で溶剤を除去した。残存している水分は少量のエチルアルコールを用いて減圧下で除去し不ケン化物を得た。(DEAN・MILLBURN 法を多少変えた)この不ケン化物を少量の石油エーテルに溶かした後池田・田口の方法により酸性アルミナカラムクロマトグラフィーで不純物を除去しビタミンE画分を得た。ビタミンEの定量は Bathophenanthroline を用いる比色法²⁰⁾で定量した。値はエーザイ製の純 *dl*- α -トコフェロールで検量線を作成し、試料中の総トコフェロール量を *dl*- α -トコフェロールとして $\mu\text{g}/100\text{g}$ 試料(水分含量 36%)として表わした。

(8) 官能検査: 製品を 0 日~90 日保蔵した時保蔵期間が長くなると頭部、胸鰭の基底の周囲、臀鰭の基底の周囲、肛門の周囲、腹部に変色(褐変現象)が現われ、同時に酸敗臭が強くなる。製品 0 日の良好な状態を 1 としもっとも変敗の進んだ状態を 6 とし保蔵期間中に現われ

た変色、臭いの状態から変質の程度を 1~6 の段階で表示した。

実験結果および考察

ウルメイワシ乾製品を室温に保蔵した際の POV, TBA, AV 変化について Fig. 1, 2, 3 に示した。POV は Fig. 1 から明らかなように製品が出来た時点では特に高く、保蔵 1~4 日ではほぼ最低値を示し以後増加の傾向をたどり保蔵 20 日頃にピークに達した。更に保蔵日数が経過すると減少の傾向を示した。POV からみると抗酸化効果は T0.01* はさほど効果は認められないが、T0.05, T0.01 と高濃度に添加するほど長期間保蔵してもかなり強い効力が認められた。また P0.05, A0.50 もかなりの抗酸化効果が認められ、天然ビタミンEとフィチン酸カルシウム、アスコルビン酸と併用すると天然ビタミンE 単独よりさらに抗酸化力が増加した。なお B0.02 と同等かそれ以上の抗酸化効力が認められたのは T0.10, T0.05+P0.05, T0.05+A0.50 であった。

TBA 値は Fig. 2 に示すごとく保蔵 1~2 日で増加の傾向がみられ、4 日頃減少し再び増加の傾向をたどり保蔵 10 日頃にピークがみられ以後減少傾向を示した。TBA 値と POV の関係をみると本実験では TBA 値のピークの方が POV のピークより早くあらわれる傾向にあった。後藤ら²¹⁾はサワラー油、ナタネ油、綿実油、サンマ油を用いセライトにこれら油脂を添加したモデル食品を温度 30°C で保蔵すると TBA 値のピークの方が POV より早くあらわれ、過酸化物が生成される以前に TBA 反応物が生成されたと報告している。本実験でも TBA 反応物が POV より早く生成されたと推定される。TBA 値からみると抗酸化効果は T0.01 は効果がみられず、T0.05, T0.10 はかなり強く効果がみられ、T0.10 は B0.02 とほぼ同等の効力があつた。また P0.05, A0.50 は POV からみるとかなりの抗酸化力が認められたが、TBA 値か

Fig. 1. Antioxidative effect of natural tocopherols on the POV of the oils in salted and dried round herring during their storage.

No. 1	○—○	Control	0 %
No. 2	△—△	BHA	0.02
No. 3	□—□	Natural tocopherols	0.01
No. 4	×—×	Natural tocopherols	0.05
No. 5	●—●	Natural tocopherols	0.10
No. 6	▲—▲	{ Natural tocopherols Calcium phytate	{ 0.05 0.05
No. 7	■—■	{ Natural tocopherols Ascorbic acid	{ 0.05 0.50
No. 8	◎—◎	Calcium phytate	0.05
No. 9	▲—▲	Ascorbic acid	0.50

* ここでいう T0.01 は 0.01% 濃度の天然ビタミンEを含んだ 20% 食塩水に魚体を 3.5 時間浸漬した場合という意味で以下同様の表現を用いる。

Fig. 2. Antioxidative effect of natural tocopherols on the TBA value of the oils in salted and dried round herring during their storage.

No. 1	○—○	Control	0 %
No. 2	△—△	BHA	0.02
No. 3	□—□	Natural tocopherols	0.01
No. 4	×—×	Natural tocopherols	0.05
No. 5	●—●	Natural tocopherols	0.10
No. 6	▲—▲	Natural tocopherols	0.05
No. 7	■—■	Calcium phytate	0.05
No. 8	⊙—⊙	Natural tocopherols	0.05
No. 9	△—△	Ascorbic acid	0.50

Fig. 3. Antioxidative effect of natural tocopherols on the AV of the oils in salted and dried round herring during their storage.

No. 1	○—○	Control	0 %
No. 2	△—△	BHA	0.02
No. 3	□—□	Natural tocopherols	0.01
No. 4	×—×	Natural tocopherols	0.05
No. 5	●—●	Natural tocopherols	0.10
No. 6	▲—▲	Natural tocopherols	0.05
No. 7	■—■	Calcium phytate	0.05
No. 8	⊙—⊙	Natural tocopherols	0.05
No. 9	△—△	Ascorbic acid	0.50

らみると抗酸化力は認められなかった。とくに A0.50 の TBA 値は保蔵 2 日, 10 日, 60 日に対照よりも異常に高いピークが認められた。

この理由としてアスコルビン酸自体が TBA 反応生成物を生ずるためと思われる。いろいろな濃度のアスコルビン酸水溶液をウルメイワシ乾製品と同じ条件で保存し TBA 反応試験を行なうと、アスコルビン酸は濃度が高くなるほど、また保蔵期間が長く経過するほど高いピークを表わす。なお本実験のウルメイワシ乾製品の保蔵 0 日の試料より抽出した油の TBA 反応生成物の波長は対照, A0.50 はともに 535nm の波長に吸収の極大がみられたが、アスコルビン酸自体の TBA 反応生成物の波長は若干低く 0 日保蔵で 508 nm, 40~50 日保蔵で 514 nm に吸収の極大を示した。アスコルビン酸は酸化されて種々のレダクトン類を生じることが広く知られておるが^{28)~26)}、このような酸化生成物が試料中で複雑に反応生成して反応生成物を生ずると推定される。

AV については Fig. 3 から明らかのように保蔵経過日数とともに相対的に増加しているが、60 日, 90 日経過した時点では対照区が他の試験区と比べてやや低い値を示した他は他の試験区間では明確な差異はみられなかった。すなわち POV, TBA 値は本実験で使用した抗酸化剤はその上昇を対照に比べて低くおさえる効力はあったが、脂質の分解による遊離脂肪酸の増加の抑制にはその効力はみられなかった。

水溶性抽出物溶液の色調は黄色を呈しており保蔵経過日数にもなって黄色の度合が強くなり、紫外部の透過率も減少した。この水溶性褐変物質は脂質の酸化分解された低分子のものや、糖-アミノ反応等による複合的な生成物と推定される。そこで乾製品の水溶

性褐変物質量の目安に便宜的に 350 nm における吸光度を測定した。結果は Fig. 4 に示すごとく吸光度は保蔵経過日数とともに増加した。特に保蔵 30 日で T0.05 + A0.50, A0.50 の水溶性褐変物質が増加した。これはアスコルビン酸による褐変と推定されるが、保蔵 90 日では各区とも明確な差異はみられなかった。本実験で使用した抗酸化剤は水溶性褐変物質の増加に対する抑制効

果はないようである。

官能検査の結果を Table 2 に表示した。当初の品質は T0.05 + A0.50, A0.50 はアスコルビン酸添加のためかわずかに黄色がかったが、各区とも銀白色に輝いており良好な品質であった。これを室温に保蔵した場合、保蔵 20 日頃より対照区で胸鰭基底の周囲、臀鰭基底の周囲、肛門の周囲にわずかに変色がみられたが、頭部、腹部は正常であった。60 日経過した頃より対照区は頭部や腹部がやや黄色がかった現象がみられた程度で、90 日経過しても外観的にはっきり油焼けといった現象はみられず他の区間でも明確な差異はみられなかった。臭いについては 30 日経過した頃より対照区が他の区に比べて酸敗臭がかなり感じられ、90 日保蔵した時点では対照区は酸敗臭が強く感じられたが、他の試験区は対照より臭いはやや弱く、また試験区間では臭いにはそれほど差異がみられなかった。

保蔵経過中のビタミンEの含量の変化を Fig. 5 に示す。T0.05, T0.10, T0.05 + P0.05, ならびに T0.05 + A0.50 はビタミンE含量は対照より高いが、T0.01 程度では対照と変わらない。このことは試料中のビタミンE含量と POV, TBA 値は相関していることがいえる。つまり試料中のビタミンE含量が高いほど POV, TBA 値が低いことがいえる。ビタミンEを過

Fig. 4. Antioxidative effect of natural tocopherols on the optical density at 350 nm of water soluble extracts from salted and dried round herring during their storage.

No. 1	○—○	Control	0 %
No. 2	△—△	BHA	0.02
No. 3	□—□	Natural tocopherols	0.01
No. 4	×—×	Natural tocopherols	0.05
No. 5	●—●	Natural tocopherols	0.10
No. 6	▲—▲	{ Natural tocopherols Calcium phytate	{ 0.05 0.05
No. 7	■—■	{ Natural tocopherols Ascorbic acid	{ 0.05 0.50
No. 8	⊙—⊙	Calcium phytate	0.05
No. 9	△—△	Ascorbic acid	0.50

Table 2. Organoleptic evaluation of salted and dried round herring. The greater the numeral index in the table, the higher the degree of deterioration.

Sample No.	Storage period (day)									
	0	1	2	4	7	10	20	30	60	90
1	1	1	1	1	2	2	3	4	5	6
2	1	1	1	1	1	2	2	2	4	5
3	1	1	1	1	1	2	2~3	3~4	4~5	5~6
4	1	1	1	1	1	2	2	3	4	5
5	1	1	1	1	1	1	1~2	2	3~4	5
6	1	1	1	1	1	1	2	2~3	3~4	5
7	1	1	1	1	1	2	2	3	3~4	5
8	1	1	1	1	1	2	2~3	3~4	4	5
9	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5~6

- (1971).
- 10) 渡辺 幸雄・綾野雄幸：栄養と食糧, **25**, 621 (1972).
- 11) 岡田安司：食品工誌, **19**, 255 (1972).
- 12) 太田良三・湧口泰昌：食品工業, **15**, 34 (1972).
- 13) 島蘭順雄・勝井五一郎編：ビタミンE, 初版(朝倉書店), p. 366 (1973).
- 14) 山口直彦・大島克巳・村瀬 誠：食品工誌, **21**, 131 (1974).
- 15) 山口直彦・藤巻正生：食品工誌, **21**, 280 (1974).
- 16) 日本油化学協会：基準油脂分析試験法, 初版(朝倉書店), p. 170 (1966).
- 17) 日本油化学協会：基準油脂分析試験法, 初版(朝倉書店), p. 139 (1966).
- 18) Yu, T.C. and SINNHBER, R.O.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **44**, 256 (1967).
- 19) SINNHBER, R.O. and Yu, T.C.: *Food Technol.*, **12**, 9 (1958).
- 20) CHRISTIE, A.A., DEAN, A.C. and MILLBURN, B.A.: *Analyst*, **98** 161 (1973).
- 21) IKEDA, S. and TAGUCHI, T.: 日水誌, **32**, 346 (1966).
- 22) 後藤 美代子・白浜 武人・中川 貞志郎・柴崎一雄：食品工誌, **18**, 272 (1971).
- 23) 加藤博通：日本食品工業学会第13回大会 特別講演ならびにシンポジウム講演集, p. 64 (1966).
- 24) 中村敏郎・柴田明良：食品工誌, **14**, 11 (1967).
- 25) 中村敏郎・木村 進・加藤博通：食品の変色とその化学, 再版(光琳書院), p. 257 (1972).
- 26) 島蘭順雄・勝井五一郎編：ビタミンE, 初版(朝倉書店), p. 8 (1973).

(昭和50年1月10日受理)