水産加工品の褐変に関する研究—Ⅲ. 酸化脂質の関与する褐変におよぼすリボースの影響

藤本健四郎・斎藤淳一・金田尚志

(1970年7月13日受理)

Studies on the Brown Discoloration of Fish Products—III. Effect of Ribose on the Browning Reaction Derived from Autoxidized Oil

Kenshiro FUJIMOTO, Jun-ichi SAITO, and Takashi KANEDA*

It has been considered that the brown discoloration observed in fish products is caused chiefly by two reactions; i. e. the browning derived from autoxidized oil and the MAILLARD reaction. As to which reaction is the main, TOYOMIZU and his coworkers concluded in their model experiments with lysine-ribose-lipid systems that the browning was due mainly to the MAILLARD reaction. In a previous paper³⁾, the authors noticed that volatile base is an important ingredient in the browning with autoxidized oil. In order to find which reaction is responsible for the browning of fish products, the model systems composed of autoxidized oil, ribose, non-volatile amino compounds and volatile base extracted from fish products. These were prepared on the basis of their content in fish products, and the effect of each component on the browning was compared in two types of model experiments: 1) the liquid phase reaction systems in which the solutions of amino compounds and ribose were shaken with autoxidized oil, 2) the solid reaction systems on celite.

As results, in the reaction of autoxidized oil with the solution of ribose and amino compounds, the browning with volatile base was superior to that with non-volatile amino compounds. And as to the effect of ribose, only the reaction with non-volatile amino compounds was accelerated (Fig. 1).

In the model systems on celite, the browning substances were separated to benzene-methanol fraction (reaction with autoxidized oil) and aqueous fraction (MAILLARD reaction), and the optical density of both fractions were measured at 445 m μ (Figs. 2 and 3). The most remarkable browning was noticed by the reaction of autoxidized oil with the volatile base. Presence of ribose accelerated the browning of autoxidized oil with non-volatile amino compounds, but no effect was observed on the reaction with volatile base. This was supported also by the experiments on the change of the carbonyl value of oil and the decrease of ribose during the browning reaction (Table 1). From these data the authors conclude that carbonyl compounds derived from autoxidized oil and volatile base must be important in the browning reaction of fish products.

水産加工品に認められる褐変の生成原因についてはなお不明な点が多いが、おこり得る反応としては、(1) 脂質酸化に基づく反応、(2) 還元糖の関与するいわゆる MAILLARD 反応の2種が考えられる。この両反応のうちいずれが主反応なのか、また両反応は同程度におこるのかという点について従来の報告は一様でなく意見は分れている。豊水ら¹⁾は両反応の関係につき、アジ肉を用いて検討し、脂質含量の高い血合肉で

* 東北大学農学部食糧化学科 (Department of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai)

は脂質酸化による反応が主因となるが、普通肉では MAILLARD 反応が主反応であるとしている。さらに、豊水ら²⁾は、リジン—リボース—脂質からなるモデル系を用い実験を行ない、その実験の結果からも魚肉の褐変は、主として MAILLARD 反応に由来するとした。筆者らは、第1報³⁾において、酸化脂質の関与する褐変では、不飽和カルボニル化合物と揮発性塩基の反応が重要であることを報告した。豊水らのモデル実験では、この揮発性塩基が反応系から除かれており、またリボースの量も実際の魚肉中の含量よりかなり多くなっている。

筆者らは水産加工品に生ずる褐変が、上記両反応のうちのいずれに起因するかを明らかにするための一手段として、酸化脂質—リボース—不揮発性アミノ化合物—揮発性塩基などを含めたモデル系を調製し、各成分を魚肉組成に近い比で反応させ、魚肉の褐変におけるリボースの関与の程度について検討を行なった。なお、モデル系は、各アミノ化合物およびリボースの水溶液と脂質を振盪させる液相反応系と、セライトを担体とした固相反応系の両者を試みた。

実験方法

試料 アミノ化合物として、煮干イワシおよびサンマから抽出した揮発性塩基と不揮発性アミノ化合物を用いた。これらのアミノ化合物の分別方法は第1報に準じたが、不揮発性アミノ化合物中の遊離糖類を除くため、Amberlite IR-120 に吸着した区分を、2N アンモニア水で溶出し、乾固した後実験に供した。煮干イワシについては全体を、サンマは筋肉のみを抽出試料とした。

脂質としてはイカ肝油メチルを使用した。精製イカ肝油をメタノリス後減圧蒸溜したもので、40°C で乾燥空気を吹き込んで酸化させたものを使用した。

液相反応系によるモデル実験 煮干イワシから抽出した揮発性塩基および不揮発性アミノ化合物をそれぞれ試料 4g 相当量、酸化イカ肝油メチル（カルボニル価 835）0.5g およびリボース 15mg を 45°C、4時間振盪して反応させた。魚肉中の還元糖量は、永山⁴⁾によると 12~85mg%（グルコース換算）なので、今回の実験に用いたリボース量は新鮮物換算にすると約 125mg% となり、実際の存在量よりやや大きくなっている。反応後、脂質をエーテル抽出し、エーテル溜去後エタノールで 10ml に定容し、430m μ の吸光度 (E_{430}) を測定し褐変度を判定した。

セライトを担体とした固相によるモデル実験 セライト 545 にサンマから抽出したアミノ化合物、酸化脂質、リボースを添加して行なった。添加量は、脂質 1.0g、リボース 10mg、揮発性塩基はアンモニアとして 8.5mg を含む水溶液、不揮発性アミノ化合物 250mg、さらに各反応系の水分は 3.0g、全量はセライトで 8.0g となるように調整した。各反応系はよく混合した後、共栓三角フラスコにいれ、好気性細菌の繁殖を押えるため窒素ガスを充填し、37°C で1週間 incubate した。今回の実験の各化合物の量比は、サンマから抽出した比そのままである。リボース含量は新鮮物中 52.0mg% であった。その後、各反応系からベンゼン：メタノール（6：4）混液で酸化脂質による変色区分を、その残渣から水抽出によつて MAILLARD 反応区分をえ、10ml に定容し、445m μ の吸光度 (E_{445}) を測定して褐変度を判定した。

褐変時のカルボニル価およびリボース量の変化 褐変前後の脂質のカルボニル価を HENICK 法⁵⁾で、また水抽出区の残存リボース量を SOMOGYI 法によりそれぞれ定量した。

結果および考察

煮干イワシのアミノ化合物、酸化脂質およびリボースからなる液相反応を Fig. 1 に示した。図に見られるように、酸化脂質による変色は、揮発性塩基との反応が強く、これは第1報の結果と一致した。リボース添加の影響は、揮発性塩基—脂質系では全く見られず、不揮発性アミノ化合物の系では、幾分促進効果が認められた。

セライトを担体とした固相系の実験結果を Figs. 2, 3 に示した。Fig. 2 ではカルボニル価 835 の酸化脂質を、また Fig. 3 ではカルボニル価 98 の脂質をそれぞれ使用した。Fig. 2 について各反応系の褐変を

Reaction systems				Optical density (430 mμ)	
No.	Amino compounds	Ribose	Autoxidized ester of cuttlefish liver oil (C. V. 835)	0.1	0.2
1	None	—	+		
2	Volatile	—	+		
3	Volatile	+	+		
4	Non-volatile	—	+		
5	Non-volatile	+	+		

Fig. 1. Effect of ribose on the brown discoloration of autoxidized methyl ester of cuttlefish liver oil with solution of amino compounds extracted from boiled-dried anchovy.

Reaction condition: 45°C, 4 hrs.

Reaction systems				Optical density (445 mμ)				
No.	Amino compounds	Ribose	Autoxidized ester (carbonyl value 835)	Benzene: MeOH fr. (6:4)			Aqueous fr.	
				0	0.2	0.4	0.6	0.8
6	None	—	+					
7	Volatile	+	—					
8	Volatile	—	—					
9	Volatile	+	—					
10	Non-volatile	+	+					
11	Non-volatile	—	+					
12	Non-volatile	+	—					

Fig. 2. Brown discoloration using high carbonyl-content ester on celite.

Reaction mixtures: amino compounds extracted from saury, ribose and autoxidized methyl ester of cuttlefish liver oil. Reaction condition; 37°C, 7 days.

Reaction systems				Optical density (445 mμ)				
No.	Amino compounds	Ribose	Autoxidized ester (carbonyl value 98)	Benzene: MeOH fr. (6:4)			Aqueous fr.	
				0	0.3	0.3	0	0
13	None	—	+					
14	Volatile	+	+					
15	Volatile	—	+					
16	Non-volatile	+	+					
17	Non-volatile	—	+					

Fig. 3. Brown discoloration using low carbonyl-content ester on celite.

Reaction mixtures: amino compounds extracted from saury, ribose and autoxidized methyl ester of cuttlefish liver oil. Reaction condition: 37°C, 7 days.

比較してみると、最も強い変色をしめしたのは、揮発性塩基と酸化脂質による反応であった。これに比較すると他の反応による褐変は半分以下であった。酸化脂質による褐変に対するリボースの影響についてみると、揮発性塩基との反応ではほとんど差はなかったが、不揮発性アミノ化合物との反応では、促進効果が認められた。これは先に行なつた液相反応系における実験結果と一致する。アミノ化合物として、不揮発性アミノ化合物を含む場合には、酸化脂質による変色よりもむしろリボースとの反応の方が強かつた。また MAILLARD 反応に対する脂質の影響についてみると、不揮発性アミノ化合物との反応ではやはり促進効果が認められたが、揮発性塩基との反応では褐変が弱く差はなかった。Fig. 3 は、あまり酸化が進んでいない脂質との反応であるが、揮発性塩基と酸化脂質による変色が最も強く、Fig. 2 の結果と一致している。

つぎに褐変時における酸化脂質のカルボニル価の変化およびリボースの残存量を Table 1 にしめた。カルボニル価の減少の程度は、Figs. 2, 3 における褐変度の強さとよく一致し、揮発性塩基との反応がもつとも大きかつた。リボース添加によるカルボニル価減少の程度も褐変度の場合と同様、揮発性塩基の場合には差がなく、不揮発性アミノ化合物の場合には促進作用があつた。リボースの残存量についても、カルボニル価の変化と同様、褐変度の強弱とよく一致した結果がえられた。すなわち、リボースは不揮発性アミノ化合物とよく反応しているが、揮発性塩基とはあまり反応していない。また、酸化脂質の添加により、不揮発性アミノ化合物とリボースの反応は促進されることが認められた。

要 約

水産加工品の褐変において、酸化脂質による反応と還元糖による MAILLARD 反応のいずれが大きな割合を占めているかを明らかにするため、酸化脂質、リボース、揮発性塩基、不揮発性アミノ化合物などを適当に組合せるモデル系をつくり検討した。その結果、もつ

Table 1. Change of ribose content and carbonyl values of autoxidized methyl ester of cuttlefish liver oil after the browning reaction. (Systems shown in Figs. 2 and 3)

System No.	Amino compounds	Ribose content (mg)		Carbonyl value of ester (meq/kg)	
		Before incubation	After incubation	Before incubation	After incubation
6	None	0	0	835	697
7	Volatile	10.0	9.8	835	137
8	Volatile	10.0	10.4	—	—
9	Volatile	0	0	835	140
10	Non-volatile	10.0	1.0	835	260
11	Non-volatile	10.0	2.2	—	—
12	Non-volatile	0	0	835	353
13	None	0	0	98	95
14	Volatile	10.0	9.9	98	49
15	Volatile	0	0	98	48
16	Non-volatile	10.0	2.0	98	63
17	Non-volatile	0	0	98	71

とも褐変度の大きかったのは、揮発性塩基—酸化油の反応で、水産加工品の褐変においては、脂質酸化により生成したカルボニル化合物と揮発性塩基による反応がもつとも重要であることが判明した。

また、リボースの存在は脂質による褐変を、脂質の存在は MAILLARD 反応をそれぞれ促進することを認めた。

文 献

- 1) 豊水正道・折田不折・富安行雄：本誌，**29**，1037~1043 (1963).
- 2) 豊水正道・鐘 忠男：本誌，**34**，857~862 (1968).
- 3) 藤本健四郎・丸山雅之・金田尚志：本誌，**34**，519~523 (1968).
- 4) 永山文男：本誌，**26**，1026~1031 (1960).
- 5) A. S. HENICK, M. F. BENCA, and J. H. MITCHELL, Jr.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 88~91 (1954).