低温貯蔵中のマガキホモジネートの脂質酸化 および加水分解

幡手 英雄, 深田 真史, 井村 英俊, 住川 博敏, 河内 正通

(1991 年 6 月 6 日受付)

Lipid Oxidation and Hydrolysis in Homogenates of Japanese Oyster during Cold Storage^{*1}

Hideo Hatate,^{*2} Shinji Fukada,^{*2} Hidetoshi Imura,^{*2} Hirotohi Sumikawa,^{*2}
and Masayuki Kōchi^{*2}

Lipid deterioration in the homogenate of shelled oyster during cold storage at 4~−25°C was studied.

The progress of lipid oxidation in the homogenate was observed during storage event at −25°C. The oxidation was considered to be that of polyunsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. The oxidation was fairly depressed both by preventing the homogenate from coming into contact with the air and by keeping it below −15°C.

Phospholipid in the homogenate was hydrolyzed far more rapidly than neutral lipid during cold storage at 4°C. The resulting free fatty acids seemed to be most susceptible to oxidation. The enzymatic hydrolysis of phospholipid was substantially inhibited at −25°C.

高度不飽和脂肪酸を含む水産食品の低温貯蔵中に進行する脂質酸化は、食品の変色や酸敗臭などの品質劣化を引き起こすことが知られ、魚肉に関してはその原因や防御方法の解明に多くの研究が行われている。しかし、貝類に関する知見はほとんどなく、¹⁾ 不飽和脂肪酸量が多く急激に酸化されやすいと考えられるカキ類についてはその酸化機構や酸化防止法が未解決のままであり、適切な長期保蔵法は確立されていない。最近、羽田野ら、²⁾ Jeong ら³⁾により凍結貯蔵マガキの不快感原因物質あるいは脂質劣化防御方法等が報告されている。本研究では低温貯蔵中のマガキの品質劣化の主要因の一つであるマガキ脂質の酸化および加水分解の実体について検討し、その防御法について考察した。

実験方法

マガキホモジネートの調製 新鮮なマガキむき身（山口県油谷産，1個体の平均重量約18.5g）を試料とした。マガキむき身は水洗後，氷冷しながらウルトラディスペンサー（ヤマト製，モデルLK-41）で，ホモジネートに調製した。このマガキホモジネート4gをガラス製シャーレ（直径9cm）の底面に均一に広げ，ふたをして所定

の温度に貯蔵した。

マガキホモジネートの酸化測定 チオバルビツール酸（TBA）値の測定は Sinnhuber らの方法⁴⁾によった。試料の TBA 値は試料1kg中のマロンアルデヒド量（mg）で表示した。

脂質の抽出および各種脂質区分の分離 マガキホモジネートからの脂質の抽出は Bligh and Dyer 法⁵⁾によった。この全脂質（TL）を McCarthy and Duthie の KOH 含浸ケイ酸カラムクロマト法⁶⁾に準じて中性脂質（NL），遊離脂肪酸（FFA）およびリン脂質（PL）に分画した。

脂質構成脂肪酸の分析 各種脂質の構成脂肪酸は 5% HCl-MeOH でメチルエステル化し，ガスクロマト法で分析した。NL，FFA および PL 量は内部標準物質として *n*-オクタデカンを用いて定量した。脂肪酸量から算出した。^{7,8)} 装置：島津 GC-5A 型ガスクロマトグラフ，カラム：5% Shinchrom E-71/Shimalite AW 80/100 mesh，3.0mm×3m，ガラスカラム，キャリアガス：N₂，60ml/min，カラム温度：220°C，試料注入温度：250°C，検出器：FID，検出器温度：250°C。

^{*1} 本研究の要旨は平成元年度日本水産学会秋季大会で報告した。

^{*2} 水産大学校製造学科 (Department of Food Science and Technology, Shimonoseki University of Fisheries, Yoshimi-Nagatahonmachi, Shimonoseki, Yamaguchi 759-65, Japan).

結果および考察

低温貯蔵マガキホモジネートの脂質酸化 本実験で用いたマガキの脂質含量は平均 1.7% であった。異なる温度に貯蔵したマガキホモジネートの脂質酸化の進行程度を TBA 法で測定し、その結果を Fig. 1 に示す。TBA 値は、4°C と 0°C 貯蔵においては、10 日目まではほぼ同程度に上昇しており、脂質が急激に酸化されたことが示された。貯蔵温度 -15°C と -25°C 貯蔵においては TBA 値は貯蔵日数の延長に伴って上昇したが、4°C や 0°C の場合のような急激な上昇はみられなかった。本実験では均一な試料を得るためにホモジネートを使用したため、むき身そのものの酸化程度と多少異なるものと思われる。しかし、この結果から、実際にマガキを貯蔵する場合にも 0~4°C 程度の低温貯蔵では脂質酸化を充分に抑制できないと考えられる。

マガキ脂質の脂肪酸組成および含有率を Table 1 に示

Fig. 1. Lipid oxidation in oyster homogenates during storage at different temperatures. ● 4°C, ○ 0°C, ▲ -15°C, and △ -25°C.

Table 1. Fatty acid composition of total lipid, neutral lipid, free fatty acid, and phospholipid expressed as weight percent in oysters

Fatty acid (%)				
Fatty acid	TL	NL	FFA	PL
14:0	3.3	4.8	3.9	1.9
16:0	24.5	21.5	26.7	25.5
16:1	2.8	4.1	3.9	1.3
17:0	1.7	1.3	1.9	1.6
18:0	3.9	2.5	5.6	4.6
18:1	7.5	9.2	11.0	5.0
18:2	1.7	2.4	2.1	0.7
18:3+20:0	2.0	3.2	2.5	1.4
20:1	4.0	7.1	4.2	1.8
18:4+20:2	5.5	2.5	7.7	6.8
20:4	1.8	1.5	1.3	2.3
20:5	14.6	17.6	11.3	13.8
22:2	3.4	1.0	1.5	5.3
22:6	15.1	13.6	9.1	19.2
Unidentified	8.1	7.4	7.3	8.8

す。同定した脂肪酸の 50% 以上は不飽和脂肪酸であり、そのうちの 60% 以上は 20:4, 20:5, 22:6 酸のような高度不飽和脂肪酸であった。すみやかに酸化が進行した 4°C 貯蔵のマガキホモジネート (Fig. 1) における不飽和脂肪酸の経日的減少率を Fig. 2 に示す。減少率は庄野と豊水の方法⁷⁾を参考にして 16:0 酸量に対する各脂肪酸量の含量比率から算出した。多くの不飽和脂肪酸の量は貯蔵日数の延長に伴って明らかに減少し、とくに 20:4, 20:5 および 22:6 酸の減少率は高く、マガキ脂質の酸化は主にこれら高度不飽和脂肪酸で進行していることが明らかとなった。マガキホモジネートを -15°C と -25°C で長期間貯蔵した場合もわずかなではあるが同様な減少傾向が認められ、マガキの低温貯蔵中の脂質酸化には主と

Fig. 2. Decrease in unsaturated fatty acid constituting total lipid in oyster homogenates during storage at 4°C.

Fig. 3. Effect of air contact area with oyster homogenates during storage on lipid oxidation. Air contact area: [A], 60.8 cm²; [B], 13.9 cm²; [C], 4.7 cm²; and [D], 1.0 cm².

してこれらの脂肪酸が関与していることが示唆された。

不飽和脂質の自動酸化は、空気（酸素）との接触により引き起こされるものである。それゆえ、異なる断面積の容器 [A]~[D] に同量 (4.0 g) のマガキホモジネートを 4°C および -15°C で貯蔵し、空気との接触面積を調整したときのマガキホモジネートの脂質酸化を調べた。Fig. 3 に示すように、いずれも貯蔵容器の表面積が小さいほど TBA 値の上昇は緩やかであり、表面積が小さく貯蔵温度が低いほど酸化進行が抑制されることがわかった。また、Fig. 4 に示すように酸素との接触機会を減じるように窒素封入した容器 [D] では、-15°C 貯蔵においてほとんど酸化されなかった。また、4°C 貯蔵でも酸化 (TBA 値の上昇) はわずかであった。この 4°C 貯蔵マガキホモジネートにおける脂質酸化は溶存酸素に基づくものと推察され、空気との接触をなくしたとしても、貯蔵温度が 0~4°C 程度ではカキ脂質の酸化を抑制することは困難と考えられる。

以上の結果から、グレーズ処理あるいは Jeong ら⁹⁾の指摘する脱酸素剤等の使用により酸素との接触を絶ち -15°C 以下のできるだけ低温で貯蔵すれば、マガキの脂質酸化を長期間抑制できるものと判断した。

低温貯蔵マガキホモジネートの各脂質構成成分の変化
水産食品の品質を保持する技術を開発するためには、貯蔵中に進行する脂質の自動酸化と脂質加水分解の実体を把握しておく必要がある。本研究では、4°C に貯蔵したマガキホモジネートの脂質 (NL, FFA および PL) の構成成分の経日的変化を調べた (Fig. 5)。この実験に先立って各種抗酸化剤のマガキホモジネートへの抗酸化効果を検討し、ブチルヒドロキシアニソール (BHA) が 4°C 貯蔵マガキホモジネートの脂質酸化を著しく抑制することを明らかにした。なお、この抗酸化剤の実験結果については別の機会に報告する。Fig. 5 に示すように、BHA を添加して脂質酸化を抑制したマガキホモジネートでは貯蔵日数の延長にともない NL の減少はわずかであるが、FFA の増加と PL の減少は著しく、両者の増減に相関が認められた。また、TL (NL+FFA+PL) の減少はほとんどなかったことから、PL の減少が脂質の自動酸化によるものでなく、ホスホリパーゼによる加水分解に基づくものであることが示唆された。この結果は、4°C 貯蔵ではホスホリパーゼの作用が大きいことを意味している。また、BHA を添加していない (自動酸化されやすい) マガキホモジネート (対照) の TL の減少は BHA を添加したものより大であり、両者の TL 量の差は FFA 量の差とよく一致した。これらの差は脂質酸化によるものと考えられるので、マガキ脂質の酸化が主として FFA の酸化に起因することが示された。同様な方法で -25°C で貯蔵したマガキホモジネートの TL, NL, PL およ

Fig. 4. Depression of lipid oxidation in oyster homogenates during storage by replacement of air with nitrogen gas. Oyster homogenates were stored in the vessel [D] as shown in Fig. 3. ● 4°C, Control; ○ 4°C, N₂; ▲ -15°C, Control; and △ -15°C, N₂.

Fig. 5. Changes in the amount of fatty acid constituting total lipid, neutral lipid, free fatty acid, and phospholipid in oyster homogenates during storage in the presence or absence of butylhydroxyanisole (BHA) at 4°C. BHA (0.02%) was mixed with oyster homogenates prior to storage. Control (without BHA): ◆ TL, ▲ NL, ■ FFA, and ● PL. BHA: ◇ TL, △ NL, □ FFA, and ○ PL.

び FFA の増減を検討したところ、4 か月間貯蔵しても PL はほとんど加水分解されず、NL がわずかに分解されたにすぎなかったことから、-25°C 貯蔵によりホスホリパーゼ活性が抑制されていることがわかった。

これらの結果から、4°C 低温貯蔵においてはマガキ脂質の PL はすみやかに加水分解され、相当量の FFA が生成され、この FFA が主として脂質酸化されるものと考えられた。さらに、PL の加水分解 (ホスホリパーゼ作用) 抑制には -25°C 以下の凍結貯蔵が有効であることがわかった。

謝 辞

本研究は文部省昭和 63 年度科学研究費補助金 (試験研究) による。

文 献

- 1) 高木一郎, 清水 亘: 水産動物肉に関する研究—XXXVI. マガキ成分の貯蔵における変化. 日水誌, **29**, 71-73 (1963).
- 2) 羽田野六男, 飯田 通, 堰 圭介, 高橋是太郎: マガキ凍結貯蔵中の不快味の発生と変色. 日水誌, **56**, 1481-1484 (1990).
- 3) B. Y. Jeong, T. Ohshima, C. Koizumi, and Y. Kanou: Lipid deterioration and its inhibition of Japanese oyster *Crassostrea gigas* during frozen storage. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 2083-2091 (1990).
- 4) R. O. Sinnhuber and T. C. Yu: The 2-thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidative deterioration occurring in fats and oils. *Yukagaku*, **26**, 259-267 (1977).
- 5) E. G. Bligh and W. J. Dyer: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- 6) R. D. McCarthy and A. H. Duthie: A rapid quantitative method for the separation of free fatty acids from other lipids. *J. Lipid Res.*, **3**, 117-119 (1962).
- 7) 庄野寿彦, 豊水正道: 魚肉の低温貯蔵 (5°C) 中における脂質構成脂肪酸の変化—脂質酸化指標としての C_{22} 酸減少率. 日水誌, **37**, 912-918 (1971).
- 8) 庄野寿彦, 豊水正道: 低温貯蔵中における魚肉の脂質変化—II. マアジ肉の脂質変化パターン. 日水誌, **39**, 417-421 (1973).