



Title	低 - 中間水分活性域における脂質酸化： . 金属の触媒作用に及ぼす水の影響
Author(s)	水島, 好清; 高間, 浩蔵; 座間, 宏一
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 30(2), 163-171
Issue Date	1979-05
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/23684">http://hdl.handle.net/2115/23684</a>
Type	bulletin (article)
File Information	30(2)_P163-171.pdf



[Instructions for use](#)

## 低-中間水分活性域における脂質酸化

### I. 金属の触媒作用に及ぼす水の影響\*

水島好清\*\*・高間浩蔵\*\*・座間宏一\*\*

## Lipid Oxidation at Low-Intermediate Moisture Content\*

### I. Effect of water on metal-catalyzed oxidation

Yoshikiyo MIZUSHIMA\*\*, Kōzō TAKAMA\*\* and Kōichi ZAMA\*\*

#### Abstract

The oxidation of mackerel oil catalyzed by various metals was studied in a model system based on egg albumin. In the case of water activity ( $A_w$ ) at 0.75,  $Fe^{+++}$  and hemin showed lower oxidative activity than in that of  $A_w \approx 0$  or 0.32, while  $Cu^{++}$  showed higher prooxidant activity at  $A_w = 0.75$  than at  $A_w = 0.32$ . Thus, when the  $Cu^{++}$  catalyst is present, there is some critical water activity from which the effect of added water on the rate of oxidation is reversed. But, when  $Fe^{+++}$  and hemin are present and the metals are absent, there is no critical water activity from  $A_w \approx 0$  to 0.75. In the  $Cu^{++}$  added system at  $A_w = 0.75$ , hydroperoxide decomposition is found to proceed on monomolecular and bimolecular decomposition kinetics, simultaneously. In the other systems, hydroperoxide decomposition is found to proceed on monomolecular kinetic up to 1-2% oxidation level, following the bimolecular decomposition kinetic.

#### 緒 言

魚肉乾製品では、脂質成分が高度不飽和脂肪酸を構成成分とするため、酸素による悪変が重要な問題となる。とりわけ、真空凍結乾燥食品は表面が多孔性になり、酸素との接触面積が拡大し、一層酸化を受けやすい状態となっている。この脂質酸化を促進する要因の一つである金属塩、なかでもCu、Feは食品加工の過程で夾雑することが多く、さらに魚肉においては、畜肉と同様、血色素、肉色素のようなヘム化合物も共存する。

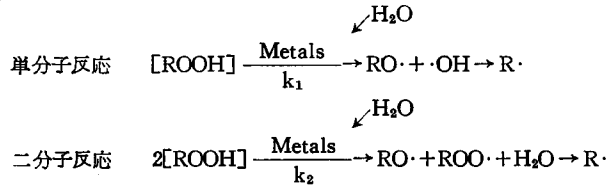
異なった水分活性域における金属塩の脂質酸化促進性については、すでに多くの研究が為されている<sup>1)</sup>。しかし、それらの研究結果は、実験条件の違い、すなわち、油系で為されているか、あるいは油と他の成分との混合系で為されているかにより、金属塩の作用が必ずしも一様ではない。例えば、油系では、サバの皮および肉より得た脂質の酸化を $Fe^{++}$ や $Cu^{++}$ が促進することをKeら<sup>2)</sup>が認めている。しかし、タラ肝油の高度不飽和脂肪酸メチルエステルと卵アルブミンの混合乾燥系では、 $Cu^{++}$ や $Fe^{+++}$ は脂質の酸化に関与していないことをEl-Zeany<sup>3)</sup>は報告している。一方、Labuzaら<sup>4-7)</sup>は、リノール酸とセルローズ微粉末 (microcrystallin cellulose) との混合系を用い、 $Co^{++}$ が乾燥系と

\* 本研究は昭和53年度文部省試験研究費の補助によった。

\*\* 北海道大学水産学部食品化学第一講座 (Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

中間水分活性系では、脂質の酸化を促進することを認めているが、Labuzaら<sup>8)</sup>やTjhiroら<sup>9)</sup>は高水分活性域 ( $A_w=0.98$ ) では促進しないとしている。しかしながら、いずれにしても低水分食品においては、水の存在状態が脂質酸化に及ぼす金属塩の作用に対し、重要な影響を与える要素となることは明らかである。

一方、Maloneyら<sup>9)</sup>、Labuzaら<sup>4,9)</sup> および Tjhiroら<sup>9)</sup> は、脂質酸化の進行過程を動力学的見地から考察し、ハイドロパーオキシドの分解は、次のような単分子反応と二分子反応の二種類の反応によって進行するとしている。すなわち、



また、これらにおける反応速度は次式のように定義されている。

$$\text{単分子反応} \quad \frac{-d[\text{O}_2]}{dt} = \frac{d[\text{ROOH}]}{dt} = K_M[\text{O}_2]^{1/2} \quad (\text{A})$$

$$\text{二分子反応} \quad \frac{-d[\text{O}_2]}{dt} = \frac{d[\text{ROOH}]}{dt} = K_B(1-[\text{O}_2])[\text{O}_2] \quad (\text{B})$$

但し  $K_M$ : 単分子反応速度恒数

$K_B$ : 二分子反応速度恒数

本報では、低-中間水分活性域における脂質酸化に及ぼす金属塩の影響を明らかにするために、魚油-タンパク質混合モデル系を基質として、魚肉加工上、混入・夾雑をまぬがれないと思われる Cu, Fe およびヘム化合物 (ヘミン) の作用について検討し、合わせて動力学的考察を行った。

#### 実験方法

(1) 魚油-タンパク質混合モデル系の調製 サバ油 (トリグリセリド含量 93%, 平均分子量 281.1) を、過酸化物を除去したエチルエーテル溶液とし、卵アルブミン (Difco 製) と油/タンパク質 3:7 (W/W) の割合になるように混合し、これに金属塩を金属イオンとして、脂質量に対し 10ppm になるように添加後、エチルエーテルを留去し、魚油-タンパク質混合モデル系を調製した。

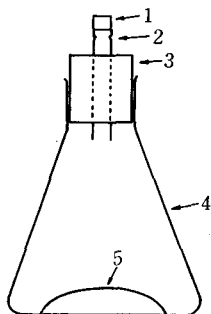
(2) 水分活性の調整 前項で調製した混合モデル系の 5g を、100ml 容の三角フラスコに秤取したのち、飽和塩溶液であらかじめ水分活性 ( $A_w$ ) を 0, 0.32 および 0.75 に調整してあるそれぞれのデシケータ中に入れ、減圧して 20°C で一週間水分量を平衡化し、常圧にもどしたのち、Fig. 1 に示すようにゴム栓で密封し、直ちに 20°C に貯蔵して、それぞれの  $A_w$  における供試試料とした。

(3) 酸素吸収量の測定 酸素吸収の測定は、Table 1 に示す条件でガスクロマトグラフ分析<sup>10)</sup> を行った。貯蔵試料のヘッドスペースガスを経時的に気体用マイクロシリンジで採取し (50  $\mu$ l), 直接ガスクロマトグラフへ注入して分析を行い、貯蔵直後の空気中の酸素と窒素量をもとにして、基質に吸収された酸素量 (%) を次式より算出した。

$$\text{酸素吸収量 (\%)} = 100 - \frac{\frac{[\text{O}_2]_t}{[\text{N}_2]_t + [\text{O}_2]_t}}{[\text{O}_2]_0}}{\frac{[\text{N}_2]_0 + [\text{O}_2]_0}}{[\text{O}_2]_0}} \times 100$$

但し  $[\text{N}_2]_0, [\text{O}_2]_0$ : 試料貯蔵直後の窒素および酸素量

$[\text{N}_2]_t, [\text{O}_2]_t$ : 一定時間後の窒素および酸素量



1. Silicone rubber
2. Glass tube
3. Caoutchouc stopper
4. 100 ml Erlenmeyer flask
5. Oil-protein model mixture

Fig. 1. Schematic diagram of flask used in oxygen absorption analysis of an oil-protein model system.

1. Silicone rubber
2. Glass tube
3. Caoutchouc stopper
4. 100 ml Erlenmeyer flask
5. Oil-protein model mixture

Table 1. GC analysis of oxygen absorption

Instrument	: Hitachi Model 164 Gas Chromatograph
Column packing	: Molecular sieve 5A, 60~80 mesh (Nihon Chromato Works, Ltd.)
Column	: 3 mm i.d. × 2 m Stainless steel tube
Carrier gas He	: 40 ml/min
Column temp.	: 70°C
Detector	: TCD
Bridge current	: 100 mV
Sample size	: Head space gas 50 $\mu$ l

(4) 水分量の測定 Tjhioら<sup>9)</sup>の方法に従い、共栓試験管に試料約 1g を精秤し、5ml の無水メタノールを添加して振盪し、上澄の水含有メタノールについて、Table 2 に示す条件でガスクロマトグラフ分析を行った。同時に、5ml の無水メタノールに 0, 0.05, 0.1g の水をそれぞれ添加し、同時に分析を行い、検量線を作製した。

Table 2. GC analysis of water content in methanol

Instrument	: Hitachi Model 164 Gas Chromatograph
Column packing	: Porapak Q, 80~100 mesh (Water Associates, Inc.)
Column	: 3 mm i.d. × 1 m Stainless steel tube
Carrier gas He	: 40 ml/min
Column temp.	: 70°C
Detector	: TCD
Bridge current	: 100 mV
Sample size	: 5 $\mu$ l

#### 結果および考察

- (1) 酸素吸収に及ぼす水分活性の影響 食品中の水の存在状態は、単分子層、多分子層および毛

管凝縮層の水に分類されている。<sup>6,11-14)</sup>

本報では、単分子層域として  $A_w \approx 0$ 、多分子層域として  $A_w = 0.32$ 、および毛管凝縮層域として  $A_w = 0.75$  を設定し、これらの水分活性域における脂質酸化に及ぼす金属塩の作用について検討した。なお、 $A_w \approx 0$  に調整した試料の水分含量は 1.2%、 $A_w = 0.32$  は 6.2%、および  $A_w = 0.75$  は 15.8% であった。

Fe, Cu, ヘミン添加系および対照系 (金属塩無添加系) を、それぞれの水分活性域で、20°C に貯蔵した際の酸素吸収パターンを示したのが Fig. 2 である。図から明らかなように、対照, Fe およびヘミン添加系では、誘導期が  $A_w = 0.75$  で最大であり、次いで 0.32, 0 の順に小となっている。すなわち、Labuza<sup>6,15)</sup> および Heidelbaugh<sup>16)</sup> による知見とは異なった結果を示した。Heidelbaugh<sup>16,17)</sup> は、多分子層域においては脂質酸化が最も抑制されるが、毛管凝縮層域では促進されることを認め、脂質酸化の進行に対する水の作用が逆転する臨界水分活性域の存在することを報告している。

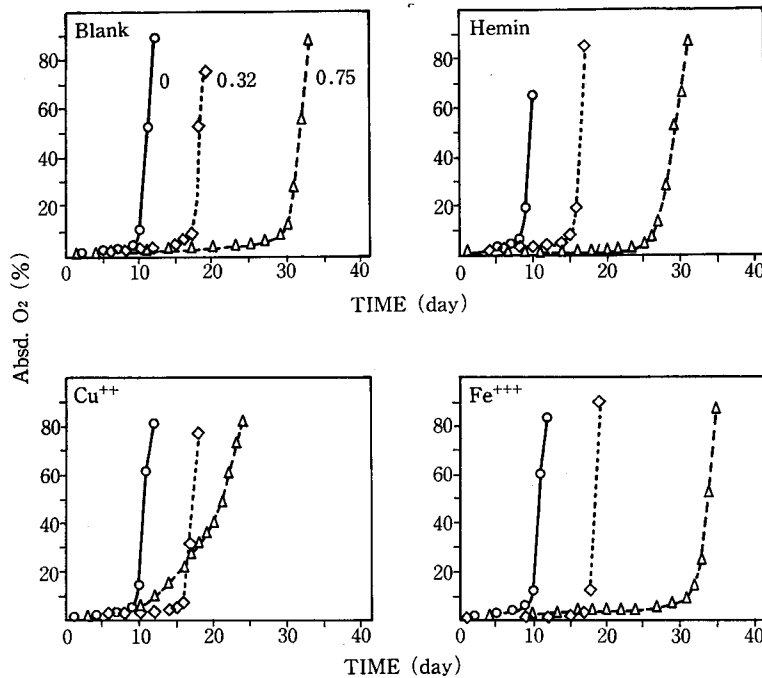


Fig. 2. Oxygen absorption of a model system as a function of  $A_w$  at 20°C.

Fig. 2 に示したように、Cu 添加系では、酸化進行のパターンが他の 3 系 (Fe, ヘミン, 対照) とは異なり、 $A_w = 0.75$  の誘導期が  $A_w = 0.32$  よりも短かく、これらの両  $A_w$  域の間に臨界水分活性の存在することを示している。しかし、Fig. 3 に示すように、Cu 添加系を除いた他の系では、 $A_w$  の増大に伴って誘導期を延長させる水の脂質酸化抑制作用が増大する。すなわち、これらの 3 系では、水の作用が逆転する臨界水分活性の存在は認められない。

(2) 酸素吸収に及ぼす金属塩の影響 金属塩の脂質酸化作用の特異性を明らかにするために、各水分活性域における酸素吸収パターンを求めたのが Fig. 4 である。 $A_w \approx 0$  では、ヘミンのみが促進的

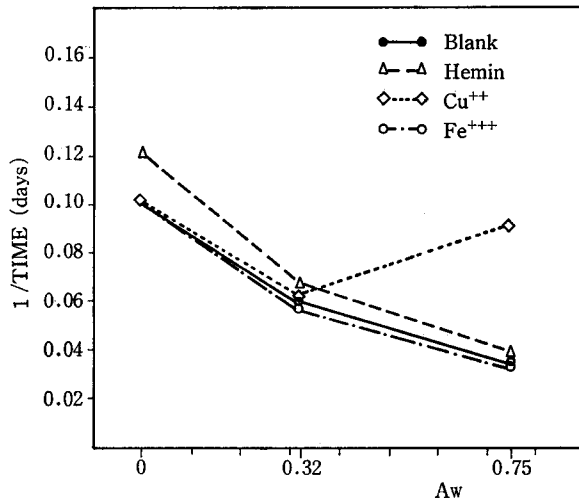


Fig. 3. Relation between reciprocal value of induction period (days) and  $A_w$ .

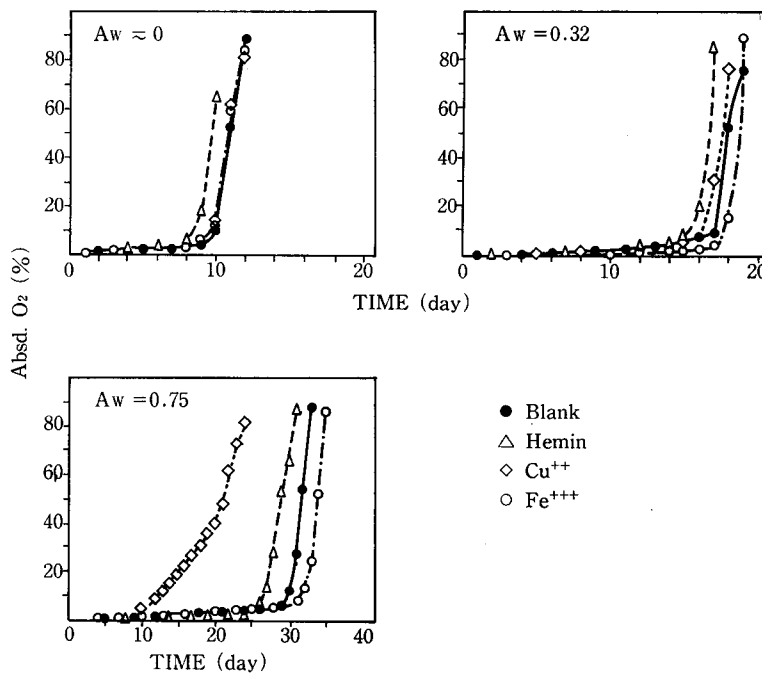


Fig. 4. Oxygen absorption of a model system as a function of  $A_w$  at 20°C.

に作用しているが、 $Fe^{+++}$  や  $Cu^{++}$  はほとんど影響を示さない。しかし、 $A_w=0.32$  では、ヘミンおよび  $Cu^{++}$  が促進的に作用し、 $Fe^{+++}$  はむしろ抑制的に作用している。また、 $A_w=0.75$  においても  $A_w=0.32$  の場合と同様に、ヘミンおよび  $Cu^{++}$  が促進的に作用し、とくに  $Cu^{++}$  の作用が著しい。

Labuzaら<sup>11)</sup>, 渡辺<sup>13)</sup>, 山口<sup>14)</sup> および Heidelbergら<sup>17)</sup> は,  $\text{Co}^{++}$  の脂質酸化促進性について検討し, 金属塩の脂質酸化促進作用に及ぼす水の影響として, ①金属塩の移動性を増大させることによる酸化促進作用の増大, および, ②脂質からの生成ラジカルを安定化させることによる酸化抑止作用, の2つの作用が考えられるとしている. これらのことからすれば, 毛管凝縮層域での  $\text{Cu}^{++}$  の脂質酸化促進作用の増大は, 水の①の作用によるためであり, 一方,  $\text{Fe}^{+++}$  の作用が  $\text{Cu}^{++}$  の場合と異なるのは, 水の②の作用を越え得ないためであると考えられる.

(3) 水の存在状態と金属塩の脂質酸化促進性における動力学的検討 脂質酸化の初期におけるヒドロパーオキシドの分解は, 単分子反応と二分子反応に基づき, 前述した (A) および (B) 式で示される. 両式を積分して導かれる (C), (D) 式は,

$$\text{単分子反応} \quad [\text{O}_2]^{1/2} = [\text{ROOH}] = \frac{K_M}{2} \cdot t \quad (\text{C})$$

$$\text{二分子反応} \quad \ln \frac{[\text{O}_2]}{1 - [\text{O}_2]} = K_B \cdot t \quad (\text{D})$$

前者においては, 貯蔵期間と酸素吸収量の1/2乗が, また後者においては, 酸素吸収量  $\left(\frac{[\text{O}_2]}{1 - [\text{O}_2]}\right)$  の対数が比例関係にあることを示しており, これらの関係をプロットした場合, 直線性を示すことがそれぞれの反応に基づいて進行していることを示すものである. 従って, その直線の勾配より単分子反応速度恒数  $K_M$ , あるいは二分子反応速度恒数  $K_B$  が求められることになる.

金属塩を添加した魚油-タンパク質混合モデル系を  $A_w \approx 0, 0.32$  および  $0.75$  に調整し,  $20^\circ\text{C}$  に貯

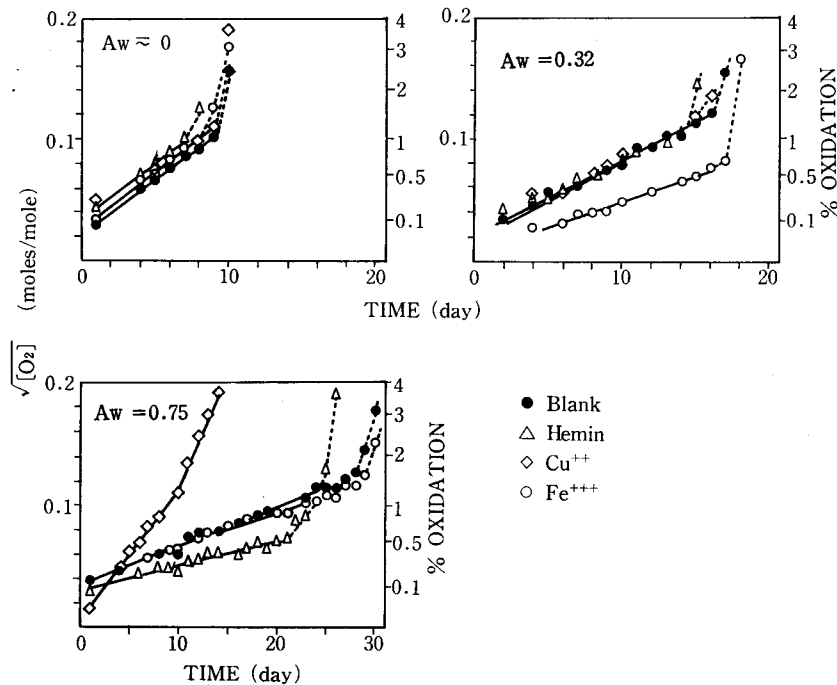


Fig. 5. Kinetic plot for monomolecular rate period of oxygen absorption of a model system as a function  $A_w$  at  $20^\circ\text{C}$ .

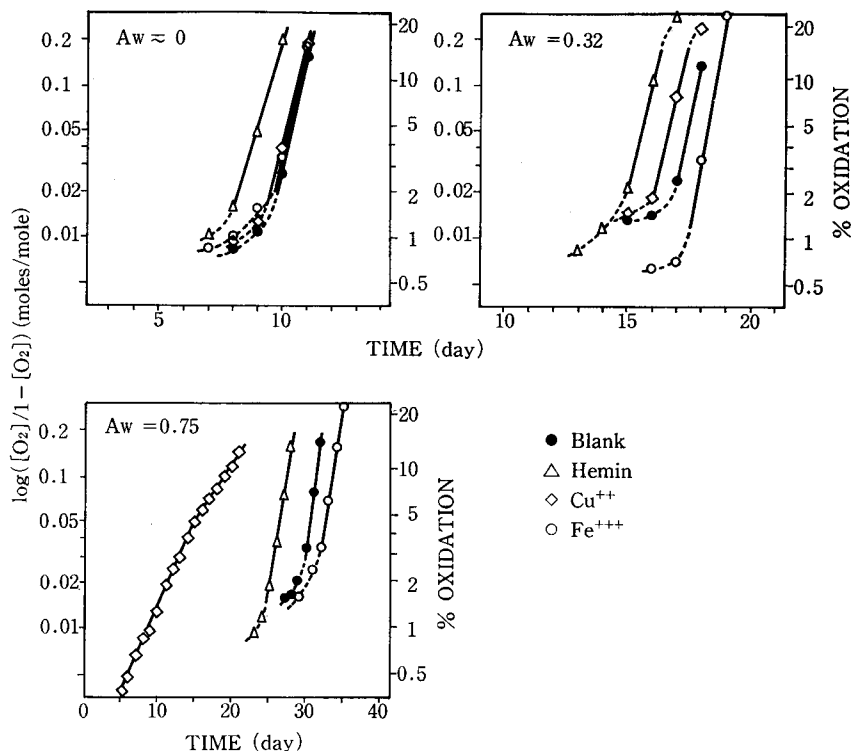


Fig. 6. Kinetic plot for bimolecular rate period of oxygen absorption of a model system as a function of  $A_w$  at 20°C.

蔵した際の貯蔵中における酸素吸収パターンは、Fig. 5および6に示してある。

単分子反応の進行を示す Fig. 5から明らかなように、 $A_w \approx 0$ および0.32では、1%酸化、すなわち脂質1モルに対して1/100モルの酸素が吸収されるまで、また $A_w = 0.75$ では、同様に2%酸化に達するまでそれぞれ直線性を示し、この酸化レベルまでは単分子反応で進行するが、1~2%以上の酸化レベルでは直線性が失われ、単分子反応では進行していないことを示している。しかし、 $A_w = 0.75$ におけるCu添加系は、1%酸化付近で折線となるが、その後も直線性を示し、他の金属塩とは明らかに異なった反応形式の進行を示唆している。

二分子反応の進行を示す Fig. 6は、いずれの場合にも約2%以上の酸化レベルで直線性を示している。また、とくに $A_w = 0.75$ におけるCu添加系では、貯蔵直後からすでに直線性を示し、他の金属塩添加系が、1~2%酸化レベル付近で、単分子反応から二分子反応に移行するのは明らかに異なった作用特異性を示している。

Fig. 5およびFig. 6に示した直線の勾配から、単分子反応速度定数  $K_M$  および二分子反応速度定数  $K_B$  を求め、Table 3に要約してある。

$K_M$  は、乾燥状態  $A_w \approx 0$  で高い値を示し、水の単分子層域での酸素吸収速度の高いことを示している。 $A_w = 0.32$ においては、Fe添加系でやや低い値を示すが、Cu、ヘミンは対照と近似した値を示している。また、 $A_w = 0.75$ におけるCu添加系では、他とは異なった著しく高い値を示すことは、前述したように、反応開始時から単分子、二分子両反応の直線性を示し複雑に進行しているためと考え



Table 3. Kinetic constant in a mackerel oil-egg albumin model system at 20°C

Aw	$K_M \times 10^8$ (moles/mole) <sup>1/2</sup> day <sup>-1</sup>			$K_B \times 10$ (day <sup>-1</sup> )		
	≈0	0.32	0.75	≈0	0.32	0.75
Blank	8.11	6.05	3.32	7.79	7.49	3.49
Hemin	9.10	6.16	1.80	6.07	6.85	3.11
Cu <sup>++</sup>	7.60	6.33	10.71	6.97	6.55	1.14
Fe <sup>+++</sup>	7.93	4.37	2.95	7.52	9.53	3.55

$K_M$ =Monomolecular rate constant

$K_B$ =Bimolecular rate constant

られる。

$K_B$  は, Aw≈0において, すべての系でほぼ近似した値 (6.1-7.8×10<sup>-1</sup>/day) を示している。しかし, Aw=0.32 では, Fe 添加系が 9.5×10<sup>-1</sup>/day で他に比し著しく大である。一方, Aw=0.75 では, Cu 添加系で 1.1×10<sup>-1</sup>/day を示し, 他の系の約 1/3 程度であり, 単分子反応速度を促進するが, 二分子反応速度を抑制する作用を有しているものと推察される。

以上のように, 水の存在状態は, 脂質酸化反応の速度恒数に直接影響しており, 反応速度は水分活性の増大に伴って低下している。このことは, 単分子反応においてとくに明瞭である。しかし, Aw=0.75 における Cu 添加系の  $K_M$ , および Aw=0.32 における Fe 添加系の  $K_B$  は, 他の系とは著しく異なった値を示し, Cu<sup>++</sup> あるいは Fe<sup>+++</sup> が, 水の存在状態によって特徴的な作用を発現することを示唆している。すなわち, Cu<sup>++</sup> 添加系は, 酸化初期から単分子反応と二分子反応のどちらにも直線性を示し, 脂質酸化の過程が複雑な反応形式で進行しているものと思われる。Fe<sup>+++</sup> は, 単分子反応よりもむしろ二分子反応の触媒作用が大であり, 金属の脂質酸化促進性が共存する水の状態で, それぞれ特徴的な差異のあることが認められた。

終りに, サバ油の御提供を賜った日本化学飼料株式会社中央研究所に対し深く感謝します。

## 文 献

- 1) 豊水正道 (1973). 水産学シリーズ 食品の水-水分活性と水の挙動 p. 124-137 日本水産学会編, 恒星社厚生閣, 東京.
- 2) Ke, P.J. and Ackman, R.G. (1976). Metal-catalyzed oxidation in mackerel skin and meat lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 636-640.
- 3) El-Zeany, B.A., Pokorny, J. and Janicek, G. (1974). Effect of metallic compounds on the autoxidation of fatty acid and their derivatives. IV. Autoxidation of fish oil fatty acid esters in mixture with protein in presence of copper and iron salts. *Sb. Vys. Sk. Chem.-Technol. Praze Potraviny*, **E 42**, 5-18.
- 4) Labuza, T.P., Maloney, J.F. and Karel, M. (1966). Autoxidation of methyl linoleate in freeze-dried model systems. II. Effect of water on cobalt-catalyzed oxidation. *J. Food Sci.*, **31**, 885-891.
- 5) Labuza, T.P., Tsuyuki, H. and Karel, M. (1969). Kinetics of linoleate oxidation in model systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 409-416.
- 6) Labuza, T.P., Silver, M., Cohn, M., Heidelbaugh, N.D. and Karel, M. (1971). Metal catalyzed oxidation in the presence of water in foods. *ibid.*, **48**, 527-531.
- 7) Labuza, T.P. and Chou, H.E. (1974). Decrease of linoleate oxidation rate due to water at intermediate water activity. *J. Food Sci.*, **39**, 112-113.
- 8) Tjho, K.H., Labuza, T.P. and Karel, M. (1969). Effect of humidification on activity of catalysts and antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 597-600.

- 9) Maloney, J.F., Labuza, T.P., Wallace, D.H. and Karel, M. (1966). Autoxidation of methyl linoleate in freeze-dried model systems. I. Effect of water on the autocatalyzed oxidation. *J. Food Sci.*, **31**, 878-884.
- 10) 高間浩蔵 (1974). 水産学シリーズ 魚の品質 p.138-144 日本水産学会編, 恒星社厚生閣, 東京.
- 11) Labuza, T.P., Tannenbaum, S.R. and Karel, M. (1970). Water content and stability of low moisture and intermediate moisture foods. *Food Technol.*, **24**, 543-550.
- 12) Labuza, T.P., McNally, L., Gallagher, D., Hawkes, J. and Hurtado, F. (1972). Stability of intermediate moisture foods. I. Lipid oxidation. *J. Food Sci.*, **37**, 154-159.
- 13) 渡辺敦夫 (1975). 水と乾燥食品の保藏安定性. *ジャパン フードサイエンス*, **14**(10), 45-54.
- 14) 山口直彦 (1977). 油脂の酸化と水分活性. *New Food Industry*, **19**(1), 58-61.
- 15) Labuza, T.P., Heidelbaugh, N.D., Siver, M. and Karel, M. (1971). Oxidation at intermediate moisture contents. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 86-90.
- 16) Heidelbaugh, N.D., Yeh, C.P. and Karel, M. (1971). Effect of model system composition on autoxidation of methyl linoleate. *J. Agr. Food Chem.*, **19** (1), 140-142.
- 17) Heidelbaugh, N.D. and Karel, M. (1970). Effect of water-binding agents on the catalyzed oxidation of methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **47**, 539-544.