



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	凍結乾燥・貯蔵時における魚肉タンパク質と脂質との相互作用：Ⅰ．コイ筋原繊維と魚油との相互作用
Author(s)	國本, 正彦; KUNIMOTO, Masahiko; 松本, 幸三 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 36(1), 50-56
Issue Date	1985-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23873
Type	departmental bulletin paper
File Information	36(1)_P50-56.pdf



凍結乾燥・貯蔵時における魚肉タンパク質 と脂質との相互作用

I. コイ筋原繊維と魚油との相互作用

國本正彦・松本幸三・座間宏一*

The Interaction of Fish Proteins and Lipids during Freeze-Dry and Storage

I. The Interaction of Carp Myofibrils and Fish Oil

Masahiko KUNIMOTO, Kōzō MATSUMOTO and Kōichi ZAMA*

Abstract

Deterioration of fish products caused by autoxidation of highly unsaturated fatty acids is particularly a problem in the utilization of dark-fleshed fishes.

This study was performed in order to determine the changes in lipid and protein moiety from a mixture of carp myofibrils and sardine lipids, freeze-dried and stored under various relative humidity environments.

Autoxidation of lipids occurred during the freeze-dry and the storage period. Humidity of the environment effected the autoxidation of lipid moiety and the browning of protein moiety. In a high humidity environment, peroxide value as well as thiobarbituric acid value had a low value, whereas dimers and trimers of lipid increased. Browning of protein moiety occurred more rapidly in high humidity environments than in lower ones. Loss of available lysine was proportional to the browning of protein moiety, but little change in digestibility of protein moiety was observed during the storage.

結 言

我国にとっては水産物は安定したタンパク質資源として貴重なものであるが、国内水揚げの過半はイワシ、サバなどの多獲性赤身魚で占められている。多獲性赤身魚は多脂魚であるため脂質の加水分解、酸化生成物による品質劣化が起こり易く加工、貯蔵にあたり問題となっている。

酸化脂質のタンパク質に及ぼす影響に関しては Roubal ら^{1),2)}、堀米ら^{3),4)}、Zirlin ら⁵⁾、柳田ら^{6),7)}、および Karel ら⁸⁾ の報告がみられるが、これらの研究はいずれも、脂質としてリノール酸、タンパク質として卵アルブミン、セラチンあるいはカゼインを用いたモデル系によるものである。また、貯蔵環境の相対湿度が脂質の酸化あるいは脂質とタンパク質との相互作用に及ぼす影響に関しては、高橋の総説⁹⁾ およびモデル系についての Heidelbaugh¹⁰⁾、Karel ら¹¹⁾、Schaich ら¹²⁾ の報告がみられるが、水産食品については少なく、凍結乾燥したサケを0~32%の相対湿度環境に貯蔵して脂質の酸化、褐変などを検討した Martinez ら¹³⁾ の報告がみられる。

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

本研究では、凍結乾燥、貯蔵中の魚肉筋原繊維タンパク質と魚油との相互作用を検討するため、脂質を除いたコイ筋原繊維タンパク質と高度不飽和酸含量の多いイワシ油との混合系を凍結乾燥し、相対湿度の異なる環境下に貯蔵して、脂質と筋原繊維タンパク質の性状の変化を検討した。

試料および実験方法

脱脂コイ筋原繊維タンパク質の調製

即殺したコイ (*Cyprinus carpio*) の背肉より Ando の方法¹⁴⁾ に準じて脂質を除いた筋原繊維タンパク質 (以下 Mf と略す) を調製した後、10 倍量の冷蒸留水を加えて希釈沈殿を行い、2100 r.p.m. (750×G)、10 分間遠心分離して得た沈殿を透析チューブに入れ、冷蒸留水に対し 3 回透析した。

タンパク質の定量

牛血清アルブミンを標準として、ビュレット法によって定量した。

試料の調製と貯蔵

コイ Mf 溶液にタンパク質とイワシ油の比が 7:3 になるようにイワシ油を添加し、ウルトラターラックスで混合後、庫内圧力 0.2 mmHg、棚温度 5°C で 52 時間凍結乾燥した。凍結乾燥試料は相対湿度 (RH) 0, 32, 75% の環境中に 20°C、100 日間貯蔵した。また対照としてコイ Mf を同様に処理、貯蔵した。

脂質区分とタンパク質区分の分離

コイ Mf タンパク質とイワシ油の混合試料に 3 倍容のアセトンついでジエチルエーテルで、それぞれ 3 回脱脂したものをタンパク質区分とした。また上記試料を 6 倍容のクロロホルム-メタノール (2:1) で 3 回抽出し、抽出部を脂質区分とした。

脂質区分の性状

過酸化価 (POV) は Lea 法、TBA 価 (TBA-V) は Vyncke の方法¹⁵⁾、ヨウ素価 (IV) は Wijs 法によって測定した。屈折率はアッペ氏屈折計で測定し、20°C における屈折率で示した。また脂質酸化物の分画は Bio-Sil A (BIO-RAD 製、100/200 mesh) カラムに脂質区分を注入し、イソプロピルエーテル (IPE): ヘキサン (Hex); 20: 80, IPE: Hex; 60: 40, IPE, エーテル (Et₂O), メタノール (MeOH) で順次溶出した。さらに各溶出画分の分子量は蒸気圧平衡法 (日立 115 分子量測定装置) により測定した。

タンパク質区分の性状

褐変度は柳田らの方法⁶⁾ によりタンパク質区分にプロナーゼ (科研化学製) を含むリン酸緩衝液 (pH 7.5) を加え、40°C、5 時間分解後、430 nm の吸光度を測定した。人工消化率は Shatterlee らの方法¹⁶⁾ に従いタンパク質区分に水を加えて 1 時間放置後、37°C、pH 8.0 に調整し、37°C、pH 8.0 に調整したトリプシン (Sigma 製, type IX)、キモトリプシン (Sigma 製, type II)、ペプチダーゼ (Sigma 製, grade III) の混合酵素液を加えて、10 分間振盪し、さらにプロテアーゼ (Sigma 製, type XIV) を加えて、55°C の水浴中で 9 分間振盪後、ただちに 37°C の水浴中に移し、1 分後の pH を測定した。並行して ANRC-カゼインナトリウムで同様の操作を行い pH 6.42±0.05 となることを確認した。人工消化率 (%) は 234.84-22.56×pH により算出した。有効性リジンは

Carpenterの方法¹⁷⁾によりタンパク質区分に1-フルオロ-2,4-ジニトロベンゼンを加えてDNP化後, 8.1 N-HClで120°C, 16時間加水分解しε-DNPリジンを分別, 435 nmで比色し, 窒素16gに対するリジンg数として示した。

実験結果および考察

脂質区分の性状

表1に各試料よりの脂質の収率および性状を示した。脂質は貯蔵中のみならず, 凍結乾燥中にも劣化することが認められるが, 貯蔵により, さらに進行している。貯蔵中の環境RHとの関係を見ると, POVはRHの高い条件に貯蔵したもののほど低く, 一方IVはRHの高い条件に貯蔵したもののほど高くなっていることより, RH 0, 32, 75%の順に酸化され難いことを示唆している。これは凍結乾燥を行った試料は非常に大きな表面積となり, 酸化され易い状態であるが¹⁸⁾, Karelら¹¹⁾, Schaichら¹²⁾の報告しているように脂質の酸化に水が保護効果を示したものと考えられる。またTBA-VはRH 75%の条件で貯蔵したものは殆ど増加していないが, これは後にタンパク質区分の褐変の部で述べるように, この条件で貯蔵した試料は褐変が著しく, 貯蔵中に生成したカルボニル化合物はタンパク質の, とくにリジンのε-アミノ基と反応して⁶⁾⁹⁾見かけ上少なくなっているものと考えられ, Karelら¹¹⁾, Schaichら¹²⁾の報告しているように, 水の存在はカルボニル化合物とアミノ基の接触を容易にし, これらの反応を促進しているものと考えられる。このことは, RHの低い条件で貯蔵されたものでも, RHの高い条件に移した場合, 急激にカルボニル化合物とアミノ基の反応が進行するものと予想される。脂質区分の屈折率は試料の貯蔵により高くなっており, 不飽和脂肪酸の酸化による重合体が生成しているものと考えられる。このことは図1および表2に示すように, 脂質区分をシリカカラムで分画し, 各画分の分子量を測定した結果を見ると, 未処理イワシ油は殆ど画分Iに溶出するのに対し, 凍結乾燥したものは画分IIに, 貯蔵後のものでは, さらに画分IV, Vに溶出する成分が増加している。画分I, すなわち, 未処理イワ

Table 1. Changes in lipid moiety due to reaction with myofibril

	Yield(%)	POV	TBA-V	IV	R-index*
Sardine oil	-	5.50	0.54	126.90	1.4834
Freeze-dried	90.3	38.77	3.46	92.90	1.4853
Stored under RH 0	68.3	448.08	39.34	32.90	1.4945
Stored under RH 32	70.1	347.01	23.39	44.73	1.4955
Stored under RH 75	69.5	87.09	3.60	53.41	1.4916

* Refractive index

Table 2. Mean molecular weight of each fraction of lipid moiety

Fraction	I	II	III	IV	V
Sardine oil	930	982	1115	1703	-
Freeze-dried	891	949	1100	1909	-
Stored under RH 0	920	994	1207	1995	2214
Stored under RH 32	903	960	1071	1809	2485
Stored under RH 75	928	966	1090	2089	2201

國本ら：魚肉タンパク質と脂質との相互作用-I

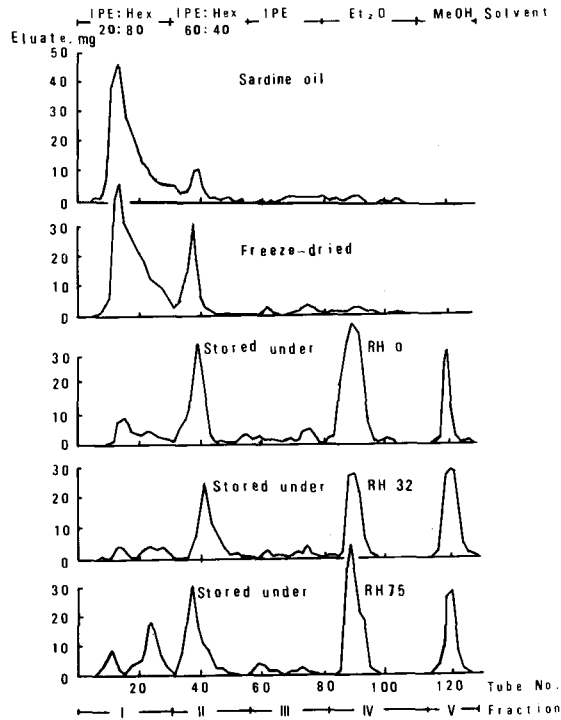


Fig. 1. Chromatogram of lipid moiety on Bio-Sil A.

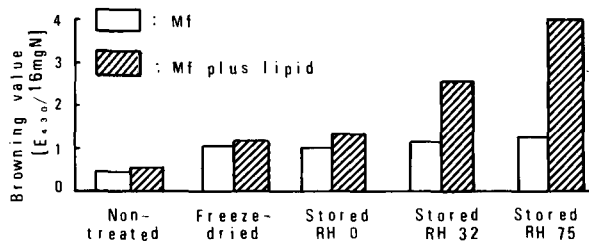


Fig. 2. Changes in browning value of protein moiety.

シ油のトリグリセライドを単量体とすると、画分 IV は 2 量体、画分 V は 3 量体に相当し、これらは貯蔵中に増加している。

タンパク質区分の性状

褐変度

タンパク質区分の褐変度は図 2 に示すように凍結乾燥によっても増大するが、貯蔵により、さらに増大する。Mf のみのものの褐変は少なく、貯蔵環境の RH の影響はみられないが、Mf にイワシ油を添加したものでは褐変が著しく、貯蔵環境の RH の高いものほど褐変度が増大しており、脂質区分において述べたように、脂質の酸化により生成するカルボニル化合物がアミノ基と反応して褐変が起っており、この反応に貯蔵環境の RH の影響が認められる。

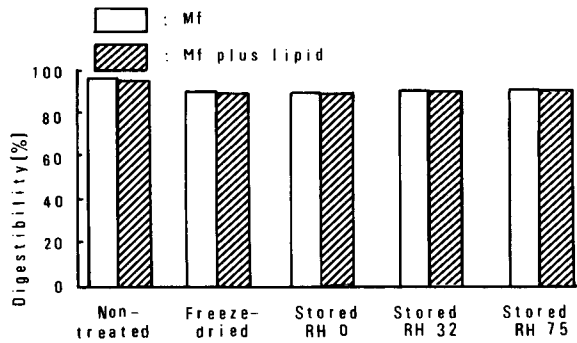


Fig. 3. Changes in digestibility of protein moiety.

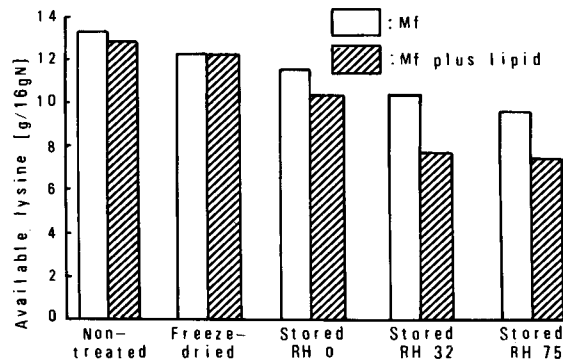


Fig. 4. Changes in the content of available lysine of protein moiety.

人工消化率

人工消化率の変化は図3に示すように、MfのみあるいはMfとイワシ油の混合系の両者とも凍結乾燥により、人工消化率の低下がみられるが、その後の貯蔵による変化は殆どみられない。

有効性リジン

有効性リジン量の変化は図4に示すように、凍結乾燥および貯蔵中に減少しており、特に貯蔵環境のRH 32, 75%のイワシ油を添加した系で著しく、この系は先に述べた褐変の著しい系と対応しており、脂質の酸化生成物であるカルボニル化合物とアミノ基の反応が褐変とともに有効性リジンの減少につながっているものと思われる。

要 約

魚肉の凍結乾燥および貯蔵時における食品化学的劣化を知るために、脂質を除いたコイ筋原繊維タンパク質と高度不飽和脂肪酸を多量に含むイワシ油の混合モデル系を用い、タンパク質区分と脂質区分の変化を検討した。

脂質区分は凍結乾燥および貯蔵を通じて酸化が進行している。相対湿度の高い条件で貯蔵した試料では酸化が遅れており、水が脂質の酸化に対する保護作用を持つものと考えられる。重合物の生成は相対湿度の高い条件で貯蔵したものほど多くなっている。タンパク質区分はイワシ油を添加した試料で褐変が著しく、貯蔵中の相対湿度の上昇とともに褐変度も増大することから、脂質の酸化により生じるカルボニル化合物がアミノ基と反応して褐変を起こし、この反応を水が促進するものと推測した。人工消化率は凍結乾燥中に少し低下するが、貯蔵中には殆ど変化していない。有効性リジンは貯蔵中に減少しており、特にイワシ油を添加した試料で相対湿度の高い環境に貯蔵したもので減少が大きく、褐変度の増加と関連しているものと考えられる。

謝 辞

本研究にあたり、種々有益な御助言をいただいた本講座羽田野六男助教授ならびに実験に協力していただいた丸尾智明氏に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Roubal, W.T. and Tappel, A.L. (1966). Damage to proteins, enzymes, and amino acids by peroxidizing lipids. *Arch. Biochem. Biophys.* **113**, 5-8.
- 2) Roubal, W.T. and Tappel, A.L. (1966). Polymerization of proteins induced by free-radical lipid peroxidation. *Ibid.* **113**, 150-155.
- 3) 堀米隆男・柳田晃良・三浦道雄 (1974). 水系において酸化リノール酸メチルと反応させた蛋白質の栄養価. *農化* **48**, 195-199.
- 4) 堀米隆男・三浦道雄 (1974). 粉末状蛋白質と酸化リノール酸エチルとの反応ならびに反応蛋白質の栄養価について. *同誌* **48**, 437-444.
- 5) Zirlin, A. and Karel, K. (1969). Oxidation effects in a freeze-dried gelatin-methyl linoleate system. *J. Food Sci.* **34**, 160-164.
- 6) 柳田晃良・菅野道廣・長 修司・和田正太 (1973). リノール酸エチルの酸化に伴うカゼインの有効性リジン量および消化率の変化. *農化* **47**, 73-78.
- 7) 柳田晃良・菅野道廣 (1974). 脂質の酸化にともなう卵アルブミンの生物価および有効性リジンの変化. *栄養と食糧* **27**, 275-280.
- 8) Karel, M., Schaich, K. and Roy, R.B. (1975). Interaction of peroxidizing methyl linoleate with some proteins and amino acids. *J. Agr. Food Chem.* **34**, 93-99.
- 9) 高橋 勇 (1976). 新しい中間水分食品の技術. *日食工誌* **23**, 601-611.
- 10) Heidelbaugh, N.D. (1971). Effects of model system composition on autoxidation of methyl linoleate. *J. Agr. Food Chem.* **19**, 41-42.
- 11) Karel, M. and Schaich, K.M. (1976). Free radical reactions of peroxidizing lipids with amino acids and proteins. *Lipids* **11**, 392-400.
- 12) Schaich, K.M. and Karel, M. (1975). Free radicals in lysozyme reacted with peroxidizing methyl linoleate. *J. Food Sci.* **40**, 456-459.
- 13) Martinez, F. and Lubuza, T.P. (1971). Rate of deterioration of freeze-dried salmon as a function of relative humidity. *J. Food Sci.* **33**, 241-247.
- 14) Ando, S. (1983). Removal of lipid from myosin B preparation of Triton X-100 treatment. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **49**, 927-932.
- 15) Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette Seifen Anstrichmittel* **72**, 1084-1087.
- 16) Shatterlee, L.D., Marshall, H.F. and Tennyson, J.M. (1979). Measuring protein quality. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **56**, 103-109.
- 17) Carpenter, K.J. (1960). The estimation of the available lysine in animal protein foods. *Biochem. J.* **77**, 604-610.