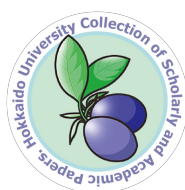




HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マガキ凍結貯蔵中の不快味の発生と変色
Author(s)	羽田野, 六男; 飯田, 遙; 堰, 圭介 他
Citation	日本水産学会誌, 56(9), 1481-1484 https://doi.org/10.2331/suisan.56.1481
Issue Date	1990
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/52077
Rights	© 1990 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	JSFS56_1481.pdf



マガキ凍結貯蔵中の不快味の発生と変色

羽田野六男, 飯田 遙, 堰 圭介, 高橋是太郎

(1990 年 3 月 12 日受付)

Occurrence of Unacceptable Taste and Coloring of Giant Pacific Oyster

Mutsuo Hatano,*¹ Haruka Iida,*² Keisuke Seki,*¹ and Koretaro Takahashi*¹

Occurrence and causes of the unacceptable taste and coloring of Giant Pacific Oyster *Crassostrea gigas* during frozen storage were investigated.

Aldehydes, hydroxy fatty acids and free fatty acids interact synergetically so as to cause the unacceptable taste. It was speculated that dimethylsulfide also plays a subordinate part. The water soluble fraction did not exhibit unacceptable taste, while on the other hand, this fraction was responsible for the onset of unacceptable coloring during frozen storage.

Since unacceptable coloring occurred prior to the development of any unacceptable taste during frozen storage, it was considered that freezing temperature is much more important than glazing in storing the oyster.

マガキは産地と漁獲時期が冬季の 3~4 カ月間に限られているため、生鮮または加工原料として周年にわたって利用するためには冷凍貯蔵する以外に方法はない。現在、カキむき身の年間生産高は約 4 万トンであるが、そのうちの約 1 万トンが冷凍貯蔵されている。凍結されたマガキは貯蔵中に表面の褐色化、渋みおよび異臭の発生、煮熟による表面の赤黄色化などが起こることがあり、問題となっている。冷蔵、冷凍貯蔵中におけるカキむき身の主な劣化現象に関する研究はもっぱら微生物汚染に関するものが多く、化学的原因についての究明はほとんどなされていないのが現状である。

本研究はこの不快味の発生と表面の変色がどのような原因に基づいて生じるのかを化学的に明らかにするために行った。

実験方法

試料 1987 年 2 月と 1988 年 2 月に広島県にて生産されたマガキむき身をグレージングし、 $-8 \sim -10^{\circ}\text{C}$ および -20°C に凍結保存した。

脂質の抽出 Bligh-Dyer¹⁾法に準じて行った。ただし、クロロホルム層の回収は遠心分離法 ($1500 \times g$) によった。

脂質成分の同定と定量 TLC-デンシトメトリーにより行った。ただし、オキシ酸については次のようにして

その存在を確認してから定量を行った。すなわち、まず、全脂質を Prevot と Mordret²⁾の変法によりメチルエステル化し、その 266 mg を *n*-ヘキサン 5 ml に溶解、これを SEP-PAK シリカカートリッジ (Waters Associate 社) に供し、*n*-ヘキサン 20 ml を用いて非極性脂質を除いたのち *n*-ヘキサン: エチルエーテル (1:1, v/v) 50 ml を用いてオキシ酸粗画分を得た。³⁾ これを *n*-ヘキサン: エチルエーテル (2:3, v/v) を展開剤とした調製 TLC に供して $R_f=0.1$ 付近のオキシ酸と思われるバンドより脂質をエチルエーテルにて抽出し、一部をビリジン溶液としたのち無水酢酸を用いて室温にて 12 時間アセチル化した。⁴⁾ アセチル化物の回収は溶媒を窒素気流下で除いたのちエチルエーテルによって行った。残りの一部を TBDMS 化剤 (*tert*-ブチルシリルクロロシランとイミダゾールのジメチルホルムアミド溶液: Applied Science 社) 1.0 ml とともにガラス管に封入後、 160°C で 10 分間反応させて TBDMS 化物を得た。⁵⁾ TBDMS 化物の回収はクロロホルムと水を同量加えたのち、クロロホルム層を回収することによって行った。以上のようにして得たオキシ酸と思われる画分のアセチル化物、TBDMS 化物を下記の GLC に供して、アセチル化、TBDMS 化することにもなる保持時間の遅延によりオキシ酸の確認を行った。また、重量法と TLC-デンシトメトリーの併用によってオキシ酸量の定量も行った。

*¹ 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, Hakodate 041, Japan).

*² 中央水産研究所 (National Research Institute of Fisheries Science, Kachidoki, Chuo, Tokyo 104, Japan).

脂肪酸とオキシ酸の誘導体のガスクロマトグラフィー GLC はつぎの条件で行った。装置, 日立 063 型ガスクロマトグラフ; カラム, Unisole 3000, Uniport C, 80/100 mesh, 3 mm×4 m; カラム温度, 210°C; 試料注入口温度, 260°C; 検出器, FID; 検出器温度, 260°C; キャリアガス, N₂, 40 ml/min.

チオバルビツール酸 (TBA) 値の測定 グレージングを取り除いた試料をそのまま用いて, Vyncke⁶⁾の方法によって測定した。

カルボニル値 (CV) の測定 抽出脂質 7~8 mg をベンゼン 5 ml に溶解して 0.05% 2,4-DNPH ベンゼン溶液 5 ml, 4.3% トリクロロ酢酸-ベンゼン溶液 3 ml を加え, 密栓をして 60°C で 30 分間加熱した。冷却後, 4% 水酸化カリウム-無水エタノール溶液を 10 ml 加えて発色させ, 5 分後にエタノールで定容後, 440 nm の吸光値を測定した。⁷⁾

過酸化物質の測定 AOAC の公定法⁸⁾ に準じて行った。すなわち, 脂質量 30~100 mg をナス型フラスコに精秤し, クロロホルム-酢酸混液 (2:3) 5 ml に溶解後, 過飽和ヨウ化カリウム溶液を 0.5 ml 加えて, 暗所で 5 分間反応させた。ついで, 水 15 ml を加えて反応を停止させ, 1% 可溶性デンプン溶液を 1 ml 加えて, 窒素ガスのバブリングを行いながら 0.01 N チオ硫酸ナトリウムをマイクロビューレットで滴定した。

水溶性物質中の不快味成分の検索 約 20 カ月間 -20°C にて凍結貯蔵を行ったマガキのグレーズを除去したのち細切し, 2 倍量の水を加えて 10,000 rpm で 1 分間ホモジナイズした。このものをそのまま透析用チューブに入れて 6 時間ごとに 4 回外液を交換して透析し, 外液を集めて元の抽出液量まで濃縮し, 官能試験に供した。

変色物質の検索 約 20 カ月間 -20°C にて凍結貯蔵して変色したマガキの表面の組織のみを剥離後細切し, 少量の水を加えて遠心分離を行い, 上澄液の色調を調べた。一方, クロロホルム抽出し, 抽出液の着色状態についても調べた。

測色 測色色差計 (Z-1001DP 型, 日本電色工業) を用い, 照射面の直径を 3.0 cm に規定して UCS 系の Lab 値を測定した。

臭気原因物質の分析 ジメチルサルファイド (DMS), およびアルデヒドを先の報告の捕集装置⁹⁾ で回収した。すなわち, 試料をナス型フラスコにとり, 加温しながら窒素ガスを通気, これによって揮散した物質を液体酸素に浸漬してある U 字管に導入し, 固定した。この U 字管には 30~60 mesh のガラス粒を充填し, また, GC のフラッシュサンプラーとしてリボンヒーターを巻きつけてあるものを用いた。GC は以下の条件で行った。装置,

島津 GC-3BFP 型ガスクロマトグラフ; カラム, 25% 1, 2, 3, Tris (2-cyanoethoxy) propan-Shimalite, 80/100 mesh, AW-DMCS 処理, 2.6 mm×4 m, ガラスカラム; キャリアガス, N₂, 50 ml/min; カラム温度, 75°C; 検出器, FPD; U 字管昇温速度, -183°C~+120°C まで 2 分間で昇温; 試料導入管 (U 字管と GLC を連結) 温度, 120°C。

結果および考察

凍結貯蔵マガキの不快味の原因としてオキシ酸の関与が推察されることから, まずオキシ酸の検出と定量を試みた。オキシ酸は単純脂質分析用の TLC 条件では部分グリセリドと重なる部分にスポットが現れる。そこで, まず -20°C にて 20 カ月間凍結貯蔵を行ったマガキの全脂質のメチルエステル化を行い, 部分グリセリドを取り除いた画分についてアセチル化ならびに TBDMS 化を行って, Unisole 3000 を用いた GLC に供した。その結果, DHA のメチルエステルの保持時間を 100 とした

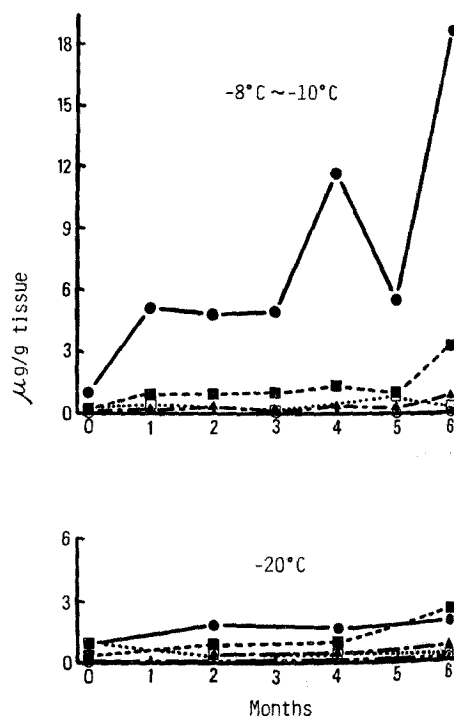


Fig. 1. Changes in aldehydes of Giant Pacific Oyster during storage at -8°C~-10°C and -20°C.

●—● Propionaldehyde; ■---■ Acetaldehyde; ▲---▲ n-Valeraldehyde; □---□ iso-Butylaldehyde; ○---○ n-Butylaldehyde.

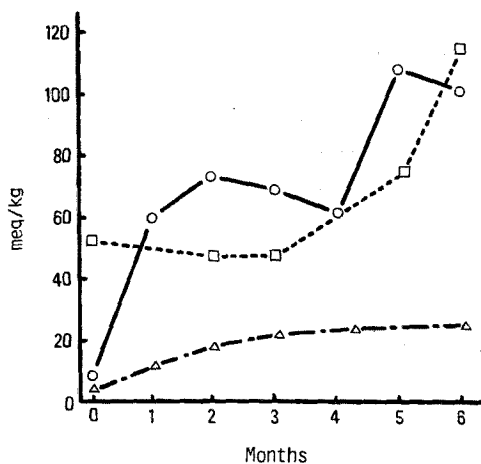


Fig. 2. Changes in carbonyl value, TBA value and peroxide value of Giant Pacific Oyster during storage at $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$.

○—○ Peroxide value; □---□ Carbonyl value; △-△ TBA value.

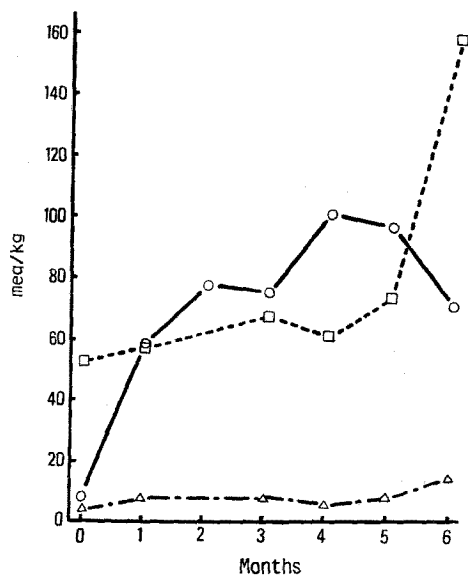


Fig. 3. Changes in carbonyl value, TBA value, and peroxide value of Giant Pacific Oyster during storage at -20°C .

Symbols are the same as in Fig. 2.

ときの相対保持時間 (RRT) でみた場合、アセチル化物については $\text{RRT}=171.6, 193.5, 318.0$, また、TBDMS 化物については $\text{RRT}=291.9$ にピークが出現した。このことから、長期凍結貯蔵後のマガキにはオキシ酸の存在することが確かめられたが、重量法と TLC-デンシトメ

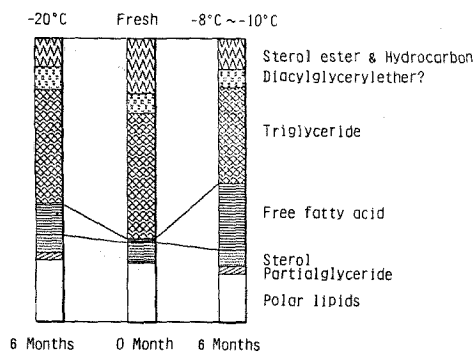


Fig. 4. Accumulation of free fatty acid after storage for 6 months at $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ and -20°C .

トリ併用による定量結果では痕跡程度であり、しかも新鮮な凍結マガキ中にもオキシ酸の存在がごく僅かではあるが認められたことから、オキシ酸が単独で不快味の原因になっていることは考えにくかった。しかしながら、オキシ酸標準物質、例えばリシノール酸そのものはやや刺激味があることから、他の変質物と相補的に作用して長期凍結貯蔵マガキの不快味の原因を成していることも考えられたので、つぎにアルデヒド類の定量を行った。その結果、Fig. 1 にみられるように $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ の凍結貯蔵 6 か月目においてはプロピオンアルデヒドが $18 \mu\text{g/g}$ 組織以上にも達し、アセトアルデヒドも約 $3 \mu\text{g/g}$ 組織程度生成していたことから、これらの低級アルデヒドが不快味にかなり関与しているものと推察した。このことは Fig. 2, 3 の CV ならびに TBA 値の増大ともある程度対応していた。但し、CV は -20°C 貯蔵区が $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 貯蔵区よりも低いことには対し、TBA 値は明らかに $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 貯蔵区のほうが高いことから、不快味に関与するアルデヒドは TBA と反応する物質である可能性が高いと推察された。以上のことに加え、Fig. 4 にみられるように凍結貯蔵半年目のマガキ全脂質には -20°C 貯蔵区で 11%、 $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 貯蔵区では実に 23% の遊離脂肪酸が生成しており、このものも不快味の発現に関与しているものと思われた。

不快味の発現には味そのもののばかりでなく、DMS のような強い臭気性物質の発生も大きく関わっているものと考えられる。そこで DMS について検討を行った結果、Fig. 5 に示すように DMS は $-8^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 貯蔵区で明らかに多かった。すなわち、嫌悪感を感じるに至る数千 ppb の量¹⁰⁾に達しており、このことから、DMS も不快味の“わき役”として関与している可能性が充分あると考えられた。

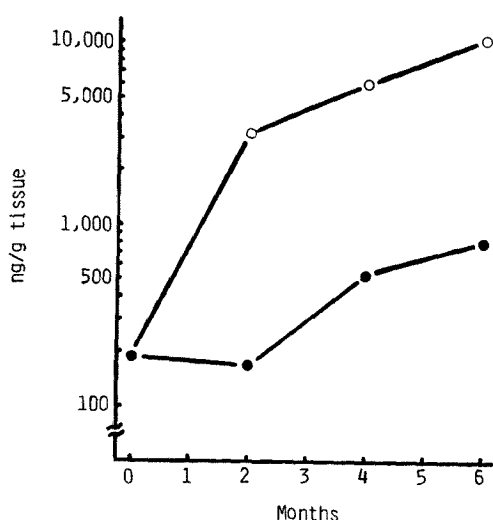


Fig. 5. Changes in DMS during storage at -8°C and -10°C and -20°C .
 ○—○ -8°C and -10°C ; ●—● -20°C .

一方、 -20°C に約20ヵ月間凍結貯蔵したマガキをホモジナイズし、透析して得た透析外液の濃縮物は、官能試験の結果、刺激的な不快感は感じられなかった。このことから長期凍結貯蔵マガキの不快感成分は水溶性物質ではないと判断された。しかしながら、同試料の表面の変色部を剥離して細切したものに水を加えて遠心分離して得た上澄部は明らかに着色していたことから、水溶性画分中には変色により品質を低下させる物質が含まれているものと思われた。この着色原因物質については今後の研究に待たねばならないが、おそらくグリコーゲンの分解物とアミノ化合物との反応により生成されたものであろう。

以上の結果より、マガキを長期間凍結貯蔵した際に生じる不快感の原因は単独の物質によるものとは考えにくく、低級アルデヒドと遊離脂肪酸、さらには微量のオキシン酸とDMSが相補的に作用しあって独特の不快感を発現することによるのではないかと推論した。この点に関しては今後、脂質二重膜センサーを用いて、各低級化合物の苦み度を測定するとともに、それらが複合した場

合の苦み度の変化、さらには閾値との関係についても詳細に検討を加えて明らかにしていく必要があると考える。

一方、 -8°C ～ -10°C の貯蔵においては不快感の発現に至る以前の貯蔵開始後3～4ヵ月付近より表面の変色が起こりはじめたことから、現実的には不快感の発現を防止することよりも表面の変色を防止することの方がより重要と思われる。なお、マガキを完全にグレージングし、かつ品温の変動を可能な限り抑えさえすれば、 -20°C 程度の低温であっても、少なくとも半年間は変色も不快感の発生も十分に抑制できることが今回確かめられた。ちなみに、この条件下では半年間貯蔵してもL値は57～59、a値は6～8、b値は39～42とほとんど変化していなかった。マガキの凍結貯蔵においても魚類と同様、温度管理が最も重要な要因であるといえる。

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)によったものである。

文 献

- 1) E. G. Bligh and W. J. Dyer: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- 2) A. F. Prevot and F. X. Mordret: *Rev. Fse. Corps Gras.*, **23**, 409-423 (1976).
- 3) W. E. Neff and E. N. Frankel: *Lipids*, **15**, 587-590 (1980).
- 4) A. Kuksis and L. Marai: *Lipids*, **2**, 217-224 (1967).
- 5) 金田尚志: 過酸化脂質実験法 (金田尚志, 植田伸夫), 医歯薬出版, 東京, 1987, p. 69.
- 6) W. Vyncke: *Fette Seifen Anstrichm.*, **72**, 1084-1087 (1970).
- 7) 金田尚志: 過酸化脂質実験法 (金田尚志, 植田伸夫), 医歯薬出版, 東京, 1987, p. 61.
- 8) S. Williams (ed.): *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 14th ed., Arlington, 1984, p. 507.
- 9) 飯田 遼: 東海水研報, **124**, 35-111 (1988).
- 10) 飯田 遼: 水産物のにおい (小泉千秋編), 水産学シリーズ74, 恒星社厚生閣, 東京, 1989, pp. 43-44.