

亜硫酸のエビ褐変防止機作並びに そのリンゴ, ジャガイモの褐変防止効果について*

藤 井 実・坂 田 修

The Mechanism for Preventing the Brown Discoloration of Prawn using of Sulfurous Acid as a Preventive Agent, and the Preventive-effect of This Acid against the Brown Discoloration of Apples and Potatos

By

Minoru FUJII and Osamu SAKATA

We studied and demonstrated the mechanism for preventing the brown discoloration of prawn (*Penaeus orientalis* KISHINOUE) using of sulfurous acid as a preventive agent: namely, this acid converted the structure of tyrosine in the muscle and internal organs of prawn to phenylalanine, and correspondingly the activity of tyrosinase in the blood of prawn became not active.

On this same principle, we obtained the favourable results for preventing the brown discoloration of apples and potatos, for 36 hours for apples and 18 hours for potatos using of M/100 sulfurous acid solution.

エビの褐変はその体内のチロシンとチロシナーゼの反応によって、メラニンが生成されるために起こる現象であることを諸研究^{1) 2) 3) 4)}は明らかにした。そして BAILEY⁵⁾等は褐変防止に酸性亜硫酸ナトリウムが効果を有することを実験し発表した。しかし、その防止効果の機作に関しては、今日迄なんら明確な報告を知らない。そこで著者等は亜硫酸がエビに対して褐変を防止する機作を明らかにし、同時に同一理論に基づいてリンゴ、ジャガイモ等の褐変を防止し得ることを実験証明した。

1) チロシナーゼに及ぼす亜硫酸の影響

メラニン生成の第一段階に於てチロシンを酸化するのはチロシナーゼであることは衆知の事である。よつて亜硫酸が該酵素に、どのような影響を与えるものであるかについて検討した。この実験に於ては亜硫酸塩として、すべて亜硫酸ナトリウムを使用した。

チロシンの測定方法は著者等⁶⁾の方法に従った。緩衝溶液 (McILVAINE …… pH 6.8) 10 mlに 0.005 M 亜硫酸ナトリウム溶液を 1, 2 …… 5 ml 宛添加し、これらにそれぞれチロシン溶液 (30 mg/dl 濃度) 3 ml,

※ 水産大学校研究業績 第417号, 1964年1月21日 受理
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 417
Received Jan. 21, 1964

チロシナーゼ溶液 (コウライエビの内臓から製造したもの) 1 ml を添加し, 40°C に1時間保温した後, α -nitroso- β -naphthol (α - β -reagent と略する) で発色させて表1のような結果を得た。

Table 1. Influence of sulfurous acid on the activity of the tyrosinase.

Tyrosinase soln. (ml)	1	1	1	1	1
Tyrosine soln. (30 mg/dl) (ml)	3	3	3	3	3
Sulfurous acid soln. (0.005 M) (ml)	0	1	2	3	4
Distilled water (ml)	4	3	2	1	0
Transmittancy (%)	20.0	24.4	25.6	27.7	34.2

上表の実験結果は亜硫酸溶液無添加区の試料 (No. 1) の発色度を分光光度計 (日立製, EPU 2型) の透過率目盛 20 % に合わせて, 他試験区の色調をこれと比較したものであるが, この結果に依ると, 亜硫酸溶液無添加区に比較して添加試験区では, 亜硫酸溶液の添加量が多くなるにつれてその発色度は逆に少なくなる。即ち, 同一量のチロシナーゼ添加にも拘らず, 亜硫酸溶液の添加量が多くなるにつれて, あたかもチロシナーゼ活性が促進されるような現象を示す結果となった。これはチロシナーゼ活性を阻害するために亜硫酸を添加する意図と全く矛盾するわけであって, この現象に関しては次のように考えるのが妥当であると思う。即ち, 基質であるチロシンが亜硫酸のために化学的変化を受け, 従って反応溶液中のチロシン量が減少するから発色度が弱くなるのであろう。つまり亜硫酸はチロシナーゼ活性に対してなんら阻害的効果を及ぼすものでなくて, 該酵素の基質であるチロシンに化学的変化をあたえるものであると推定された。

2) チロシンに及ぼす亜硫酸の影響

上記の実験により, チロシンは亜硫酸によってその化学構造に変化を受けるために, α - β -reagent との反応を起こさなくなったものと考えられる。そこで, チロシンに対しチロシナーゼを添加することなく, 直ちに亜硫酸溶液を添加し前述と同様にして発色させ, 表2のような結果を得た。

Table 2. Influence of sulfurous acid on the tyrosine.

Tyrosine soln. (30 mg/dl) (ml)	3	3	3	3	3	3
Sulfurous acid soln. (0.01 M) (ml)	0	1	2	3	4	5
Buffer soln. (pH 6.8) (ml)	10	10	10	10	10	10
Distilled water (ml)	5	4	3	2	1	0
Transmittancy (%)	50.0	52.3	53.9	54.1	55.5	58.7

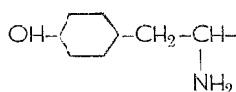
上表の結果は明らかにチロシンが亜硫酸によりその化学構造に変化を受けたことを示している。即ち, チロシンは添加した亜硫酸の量に応じて他の物質に変化し, 従って反応液中のチロシン量が減少するので, その発色度も稀薄になるものと考えられる。

3) 芳香核を有する数種類の化合物に対する α - β -reagent の発色反応

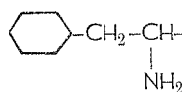
チロシン, チラミン, p-アミノフェノールおよびフェニルアラニンに対して α - β -reagent の発色反応を試みたところ, 表3のような結果を得た。

Table 3. Reaction of α -nitroso- β -naphthol to the compounds containing benzene ring.

Tyrosine soln. (0.0016 M) (ml)	0	1	2	3
Transmittancy (%)	100.0	70.9	50.2	36.3
Tyramine soln. (0.0016 M) (ml)	0	1	2	3
Transmittancy (%)	100.0	66.0	39.0	27.0
p-aminophenol soln. (0.0016 M)	Non-discoloration			
Phenylalanine soln. (50mg/dl)	Non-discoloration			



Structure of radical of discoloration



Structure of radical of non-discoloration



上記の実験結果から、 α - β -reagent はチロシン及びチラミンの分子構造に見られるように、 $\text{OH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}$ の如き構造を有する化合物と反応して発色するのに反し、p-アミノフェノールや

フェニルアラニン等の分子構造に見られるように $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}$ および $\text{OH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2$

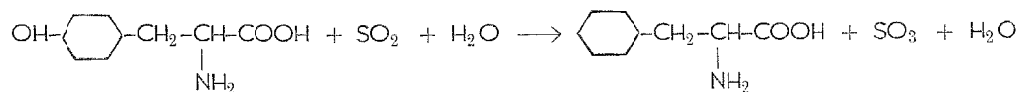
の構造を有する化合物と発色反応をしないものであると判断し得るのである。

4) 亜硫酸の還元作用によりフェノール性 OH 基の消失について

前述の実験により、チロシンに亜硫酸を添加すると、チロシンのフェノール性 OH 基が還元されて消失することが考えられるので、チロシン溶液に亜硫酸を添加した後の反応溶液中に、フェノール性 OH 基が存在するか否かを検討した。即ち、チロシン溶液に亜硫酸を添加して 40°C に 1 時間保温した後、ミロン、ジアゾおよびキサントプロテインの諸発色反応を試みて表 4 の結果を得た。

Table 4. Reaction of sulfurous acid on the tyrosine.

Tyrosine soln. (30 mg/dl) (ml)	3	3	
Sulfurous acid soln. (0.5M) (ml)	—	5	
Distilled water (ml)	5	—	
Millon reaction	Red	Ppt (gray)	Show the loss of phenol-OH
Diazo reaction	Red-brown	No change	
Xanthoprotein reaction	Yellow	Yellow	Recognize the phenyl radical



上表の結果からわかるように、ミロンおよびジアゾ反応が陰性であるところから、溶液中にはもはやフェノール性 OH 基は存在しない。しかし、キサントプロテイン反応は陽性であるからフェニル基の存在は確

かである。さらにまた亜硫酸を添加したチロシン溶液からペーパー・クロマトグラムを得、これを無添加の対照溶液から得たクロマトグラムのスポットの色と比較したところ、亜硫酸の濃度が多くなるにつれてスポットの色は薄くなることを確かめた。

以上の諸実験から、亜硫酸はチロシンのフェノール性 OH 基を還元し、その結果チロシンはフェニルアラニンに変化したのであろう。すなわち、エビの褐変防止に対する亜硫酸の効果は、該塩が直接にチロシナーゼ活性を阻害するのではなく、その基質であるチロシンのフェノール性 OH 基を還元することであって、その結果、チロシンの構造変化により、チロシナーゼが作用出来なくなるものであると結論することが出来る。

5) 亜硫酸のリンゴ、ジャガイモに対する褐変防止効果

リンゴ、ジャガイモ等は褐変現象を起し易い果菜であるが、これ等のチロシン含量を測定し、エビ(コウライエビ)のそれと比較した結果を表5に示す。

Table 5. Percentage of tyrosine in apples, potatos and prawn (*Penaeus orientalis* KISHINOUE).

Samples	mg % (in raw material)		
Apples	17.55		
Potatos	14.60		
Prawn	Abdomen		
	Anterior portion	Middle portion	Posterior portion
	69.14	72.22	46.16

この表で示されるとおり、これ等の果菜のチロシン含量はエビ筋肉のそれに比べると相当に少ないが、果菜としてはかなりの含有量といえる。

そこで前述の理論が成り立つならば、これ等の果菜にも亜硫酸の同一効果を期待出来るはずである。そこでリンゴ、ジャガイモの皮をむき、厚さ2mmの板状に切り、M/10、M/50 および M/100 の亜硫酸溶液に常温で1時間浸漬した後、取り出して滅菌したシャーレ中に入れ、40°Cに放置し、経時的にそれ等の外觀的变化を観察した。その結果を表6に示す。

Table 6. Preventive-effect of sulfurous acid against the brown discoloration of apples and potatos (immersion; 1 hour).

Samples	Apples			Potatos			Control
	M/10	M/50	M/100	M/10	M/50	M/100	
Concentration of sulfurous acid							—
Time of incubation (40°C)							
30 (mins.)	Non-change	Non-change	Non-change	Non-change	Non-change	Non-change	Immediately discoloration to brown
60 (mins.)	"	"	"	"	"	"	
90 (mins.)	"	"	"	"	"	"	
18 (hrs.)	"	"	"	"	"	A little brown	
24 (hrs.)	"	"	"	"	A little brown	Considerably brown	
36 (hrs.)	"	"	"	"	A little brown	Putrefaction	

チロシナーゼはモノフェノールを基質とし、酸素を受容体とする酵素であるが、空気中の細菌に対する考慮から、実験は蓋をして外気との直接の接触を防いで行なった。

上表の結果をみるに、リンゴの場合、各試料区とも36時間後に於てもなんらの変色を認めなかった。また、ジャガイモの場合、90分迄は各試料区とも変色しなかったが、18時間経って M/100 試料区がやや褐変し始め、24 時間後、M/50 試料区が褐変し始めた。これに対し M/10 試料区は36時間後に於ても変色しなかった。

これ等に対する対照区は直ちに褐変し始めて、18時間後にはカビが発生し、明らかに腐敗現象を呈した。

以上の諸実験結果を総括すると、亜硫酸の褐変防止効果は基質であるチロシンのフェノール性 OH 基を還元することによってチロシンをフェニルアラニンに変化させ、その結果チロシナーゼの作用する余地を無くするという事実に基づくものであるといひ得よう。

総 括

亜硫酸がエビの褐変防止効果を有することについて、その機作を探究した結果、該酸はエビ生体内に含有されるチロシンを還元してフェニルアラニンとする。その結果としてチロシナーゼ活性を無効にするということを知った。同一の原理に基づいて、リンゴ、ジャガイモの褐変を防止することが出来た。

この論文の概要は昭和38年度日本水産学会春期大会に於て発表した。

文 献

- 1) AFFORD, J. A. and E. A. FIEGER, 1952: *Food Tech.*, **6**.
- 2) 柿本大壺・金沢昭夫, 1956: 日水誌, **22**.
- 3) ————・————, 1957: ————, **23**.
- 4) FAULKNER, M. B., B. M. WATTS and H. J. HUMM, 1954: *Food Research*, **19**.
- 5) BAILEY, M. E. and E. A. FIEGER, 1954: *Food Tech.*, **8**.
- 6) 藤井 実・片岡一治・坂田 修, 1963: 本報告, **12**.