

アサリ (*Venerupis semidecusata. Deshayes*)

水煮缶詰の黒変に関する化学的研究 (第2報)

シスチン分解に及ぼすグルコース, 無機リン酸, pHの影響

長 田 博 光 岡 屋 忠 治

Chemical Studies on The Blackening of Canned Baby Clam,

(*Venerupis semidecusata. Deshayes*)—II

The Effect of Glucose, Inorganic Phosphoric Acid, and

pH to Decomposition of Cystine

Hiromitu Osada and Chuji Okaya

The blackening of canned baby clam was caused by chemical and bacteriological mechanisms.

The present paper deals with the effect of glucose, inorganic phosphoric acid and pH on the decomposition of cystine with special reference to the chemical mechanism.

The results obtained were as follows:

- 1) The decomposition of cystine was not excessively effected by the glucose.
- 2) The decomposition of cystine was fairly effected by the pH. Especially, when the glucose was included in the solution, it has effected, by the alkaline solution, more than acidic solution.
- 3) The decomposition of cystine was fairly effected by the inorganic phosphoric acid.

The formation of hydrogen sulfide increases proportionally with an increase in quantity of the inorganic phosphoric acid.

アサリ水煮缶詰黒度の原因として化学的機構と細菌学的機構¹⁾があげられている。谷川氏等¹⁾はその化学的機構についてシスチン, システイン等の含硫アミノ酸が熱あるいは他の要素によって分解され生成した硫化水素と肉中の鉄, 銅, または缶内面における露出鉄面と化合し生成した硫化物により黒変が生ずるのであるといっている。しかしこれら含硫アミノ酸の分解に何が影響を及ぼすかについてはまだ研究がなされていない。ただこの問題とは別に市原, 須田氏等²⁾にシステイン脱硫化水素酵素の反応において無機リン酸が触媒的作用を持つという報告があるのみである。そこで今回私達はこれら含硫アミノ酸のうち特にシスチンを取りあげ, このシスチンを加熱したとき硫化水素の生成がどのようになるか, また pH の変化がシスチン分解にどのように影響を及ぼすか, さらに糖, 無機リン酸が存在するとどのような影響があるかについて実験したので以下にその結果を報告する。

実 験 方 法

A：生アサリ肉中のシスチン，システイン，糖，無機リン酸の含有量について

1. 試料：9月伊勢湾産の市販アサリ（殻巾約3cm）を充分水洗し-5°Cに凍結³⁾してムキ身を調製した。

2. 分析方法

i) シスチン，システインの定量

シスチン，システインの定量には赤堀氏等⁴⁾のヒドラジノリシスを使用した。即ち試料1gにヒドラジンハイドレイト：水等モル溶液0.5ml加え120°C 5時間逆流冷却の下に加熱し生成硫化水素を測定することによって定量した。

ii) 糖の定量

生アサリの糖類はグリコーゲン，グルコース，グルコサミン³⁾である。

そこでこれらのうちグルコースとグルコサミンを次の方法で定量した。即ち試料1gを4N-HClにて15時間加水分解し，その分解物をDowex 50w-x4 (200~400メッシュ) (1×15cm)，Amberlite IR-45 (50~100メッシュ) (1×15cm)の両樹脂に通し，中性，塩基性糖に分別⁵⁾し，中性糖はSomogyi法⁶⁾にて，塩基性糖はElson-Morgan法⁷⁾にて定量した。

iii) 無機リン酸の定量

無機リン酸はFiske-Subbrow法⁸⁾によって定量した

Table 1 Cystine, cysteine, carbohydrate and inorganic phosphoric acid content in baby clam meat

(per cent. in dry matter)

Cystine Cysteine	Carbohydrate		Inorganic Phosphoric acid
	Glucose *	Glucosamine	
4.8	9.8	0.182	0.279

* In the hydrolysates of baby clam meat

3. 実験結果

アサリのシスチン，システイン，グルコース，グルコサミン，無機リン酸の定量値はTable 1に示された如くである。

B：生アサリおよび缶詰アサリの硫化水素

1. 試料：実験に使用した缶詰は次の方法で製造した。即ちアサリを充分水洗し100°C 5分加熱しムキ身を採り，このムキ身190gをC-エナメル7号缶，ラッカー7号缶に詰め水100mlを加えて真空巻締後，C-エナメル缶は20 Lb 30分，40分，50分，ラッカー缶は10 Lb 60分，それぞれ加熱殺菌し急冷製造したものについて実験を行なった。

2. 実験方法

硫化水素の測定にはAlmy法⁹⁾を使用した。即ち硫化水素を酢酸亜鉛に吸着させ塩化鉄，P-aminodimethyl aniline hydrochlorideにて発色させ745m μ で比色定量した。

3. 実験結果

生ムキ身，缶詰アサリに含まれている硫化水素量はTable 2に示された如くである。

Table 2 Hydrogen sulfide content in baby clam and
baby clam meat by heat processing
(mg per cent in dry matter)

		No. 1	No. 2	No. 3
Canned food in	M. F	1.0563	1.3673	1.2412
C-enamel can	M. F. H	1.9352	2.0267	2.0412
Canned food in	M. F	0.9794	0.8654	1.7309
Lacquer can	M. F. H	1.9879	1.1636	1.9588
Stripped baby clam		0.0727	0.0582	0.1346

No. 1, Canned food in C-enamel can is sterilized by heating it at 20Lb for 30 minutes.

Canned food in lacquer can is sterilized by heating it at 10Lb for 60 minutes.

No. 2, Canned food in C-enamel can is sterilized by heating it at 20 Lb for 40 minutes.

Canned food in lacquer can is sterilized by heating it at 10 Lb for 60 minutes.

No. 3, Canned food in C-enamel can is sterilized dy heating it at 20 Lb for 50 minutes.

Canned food in lacquer can is sterilized by heating it at 10 Lb for 60 minutes.

M.....Meat F.....Fluid H.....Head space

それについて生成硫化水素を測定した。

ii) シスチン分解に対する無機リン酸の影響,

蒸留水にシスチン10mg/gを加え無機リン酸 (KH_2PO_4) 0.5mg/g, 2 mg/g, 5 mg/g, 10mg/gの各々を加え, ラッカー缶に詰め真空巻締後120°C 60分加熱し, 急冷後それぞれについて生成硫化水素を測定した。

iii) シスチン分解に対するpHの影響

pH4 (酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液), pH5.5 (蒸留水), pH8 ($\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_4\text{OH}$ 緩衝液) の各溶液にシスチン10mg/gを加えラッカー缶に詰め真空巻締後120°C 60分加熱し急冷後, それぞれについて生成硫化水素を測定した。

また, この場合グルコースが存在すると, どのような影響があるかを調べるために, それぞれの溶液にシスチン 10mg/g, グルコース 20mg/gを加え, ラッカー缶に詰め真空巻締後120°C 60分加熱し, 急冷後それぞれについて生成硫化水素を測定した。

iv) シスチン分解に対する保存試験

pH4, pH5.5, pH8の各溶液にシスチン10mg/g, グルコース20mg/gを加えラッカー缶に詰め真空巻締後 120°C 60分加熱し, 急冷後 55°Cに7日間保存し, それぞれについて生成硫化水素を測定した。

C: シスチン分解に及ぼすグルコース, 無機リン酸, pHの影響, 並びに保存試験

1. 実験方法

以上のアサリのシスチン, システイン, グルコース, 無機リン酸の含有量をもとにして次の実験を行なった。

i) シスチンに対するグルコースの影響

蒸留水にシスチン 1 mg/g, 2 mg/g, 5 mg/g, 10mg/gのそれぞれを加え, これにグルコース 0.5 mg/g, 2 mg/g, 10mg/g, 20mg/g, 30mg/g 各々加え, ラッカー缶に詰め真空巻締後120°C 60分加熱し, 急冷後それ

Table 3 The effect of glucose on the decomposition of cystine

	Hydrogen sulfide	Cystine	Glucose	Remarks (Blackening)
Cystine 1 mg/g	0.75(γ /g)	(mg/g) 0.99962	(mg/g)	roll wring part
Cystine 1 mg/g glucose 0.5mg/g	1.028	0.99948	0.5	"
Cystine 1 mg/g glucose 2 mg/g	0.520	0.99974	2.0	"
Cystine 1 mg/g glucose 10 mg/g	1.556	0.99922	7.45	"
Cystine 1 mg/g glucose 20 mg/g	0.356	0.99982	20.0	"
Cystine 1 mg/g glucose 30 mg/g	0.260	0.99986	28.5	"
Cystine 2 mg/g	0.352	1.99982		"
Cystine 2 mg/g glucose 0.5mg/g	0.344	1.99982	0.5	"
Cystine 2 mg/g glucose 2 mg/g	2.012	1.99899	1.83	"
Cystine 2 mg/g glucose 10 mg/g	4.636	1.99768	7.80	"
Cystine 2 mg/g glucose 20 mg/g	4.252	1.99787	20.0	"
Cystine 2 mg/g glucose 30 mg/g	3.260	1.99837	30.0	"
Cystine 10 mg/g	0.348	9.99982		no change
Cystine 10 mg/g glucose 0.5mg/g	0.248	9.99987	0.5	"
Cystine 10 mg/g glucose 2 mg/g	1.060	9.99948	1.96	"
Cystine 10 mg/g glucose 10 mg/g	0.260	9.99987	6.60	"
Cystine 10 mg/g glucose 20 mg/g	0.248	9.99987	19.0	"
Cystine 10 mg/g glucose 30 mg/g	0.372	9.99981	30.0	"

2. 実験結果

システチン分解に及ぼすグルコースの影響は、Table 3 に示された如くであり、また無機リン酸、pHの影響はそれぞれ Table 4, 5 に示された如くである。さらに保存試験の結果は Table 6 に示された如くである。

Table 4 The effect of inorganic phosphoric acid on the decomposition of cystine

	Hydrogen sulfide	Cystine	Inorganic Phosphoric acid	Remarks (Blackening)
Cystine 10 mg/g	(γ /g) 0.348	(mg/g) 9.99982	(mg/g) 0	no change
Cystine 10 mg/g Inorganic phosphoric acid 0.5mg/g	1.824	9.99908	0.5	no change
Cystine 10 mg/g Inorganic phosphoric acid 2 mg/g	2.064	9.99896	2	no change
Cystine 10 mg/g Inorganic phosphoric acid 5 mg/g	2.868	9.99856	5	no change
Cystine 10 mg/g Inorganic phosphoric acid 10 mg/g	3.988	9.99800	10	no change

Table 5 The effect of pH on the decomposition of cystine

		Hydrogen sulfide	Cystine	Glucose	Remarks (Blackening)
		(γ /g)	(mg/g)	(mg/g)	
pH 4	Cystine 10 mg/g	3.910	9.99804		no change
	Cystine 10 mg/g Glucose 20 mg/g	4.434	9.99783	19.7	spots on top
pH 6.5	Cystine 10 mg/g	0.348	9.99982		no change
	Cystine 10 mg/g Glucose 20 mg/g	0.248	9.99987	19.0	no change
pH 8	Cystine 10 mg/g	0.493	9.99975		no change
	Cystine 10 mg/g Glucose 20 mg/g	1.994	9.99900	18.4	roll wring part

Table 6 The test of storage on the decomposition of cystine

(55 C for 7 days)

		Hydrogen sulfide	Cystine	Glucose	Remarks (Blackening)
		(γ /g)	(mg/g)	(mg/g)	
pH 4	Cystine 10 mg/g	5.295	9.99736		roll wring part
	Cystine 10 mg/g Glucose 20 mg/g	5.120	9.99744	18.75	"
pH 5.5	Cystine 10 mg/g	0.607	9.99969		"
	Cystine 10 mg/g Glucose 20 mg/g	2.463	9.99876	20.00	"
pH 8	Cystine 10 mg/g	1.554	9.99922		"
	Cystine 10 mg/g Glucose 20 mg/g	3.638	9.99818	19.20	roll wiring part liquid

考 察

以上の実験結果からわかるように生アサリにはシスチン、システインが約5%含まれており、これらの一部が加熱の際に分解して硫化水素を生成するものとする。このことはアサリムキ身では硫化水素が0.07~0.14mg%であったものが、缶詰中には約2mg%存在していることにより証明できる。しかし加熱時間の増加による硫化水素生成の変動はあまりない。このことは肉中に含有されている遊離のシスチン、システインのみが分解され結合状態のそれらは加熱によっては分解を受けないものとする。

また pH は酸、アルカリともにシスチン分解に対してかなり影響があり、特にグルコースが存在すると酸性溶液よりアルカリ性溶液の方が大きな影響を及ぼす。このことはグルコースがアルカリにより一部分解し、そのアルデヒド基がシスチン分解に作用するのではないかと考える。このこと

よりアルカリ性になることを絶対に防がねばならない。無機リン酸が存在するとかなり多量の硫化水素を生成しており、その無機リン酸の量が増加するにしたがって生成硫化水素量も増加している。このことはシスチンが分解するとき、SH基を持った中間物質を形成するが、これがさらに分解して硫化水素とアンモニアを放出する。この分解をリンが促進させるものとする。このことより肉中の無機リン酸をできるだけ除去するために充分水洗する必要がある。

なお保存試験の結果からは、高温に長く放置しておくと、シスチンは漸次分解し、多量の硫化水素を放出することがわかる。

また缶内面のみの変色はシスチン、システインのような含硫アミノ酸の分解によって生成する硫化水素が原因と考える。

要 約

1. 生アサリにはシスチン、システインを約5%含んでいてこの一部が加熱によって分解をうけ硫化水素を生成する。
2. シスチン分解に対して、グルコースは溶液が中性のときあまり影響はないが溶液がアルカリ性の場合には相当大きく影響を及ぼす。
3. 無機リン酸が存在するとその量に比例してシスチンの分解を促進する。
4. 高温に保存するとシスチンは漸次分解し多量の硫化水素を生成する。
5. 缶内面のみの変色は、シスチン、システイン等の含硫アミノ酸の分解によって生ずる。

文 献

- 1) 谷川英一, 元広輝重: 缶詰時報, 41, (6), 41 (1962)
- 2) 市原明, 西郷敏子, 須田正巳: 酵素化学シンポジウム, 8, 115 (1953)
- 3) 長田博光, 岡屋忠治: 昭和38年度日本水産学会春季大会口頭発表
- 4) Kazuoki. Kuratomi, Ko. Ohno, shiro. Akabori: J. Biochem, 44, 183 (1957)
- 5) 土屋靖彦, 長田博光: 昭和36年度日本水産学会秋季大会口頭発表
- 6) Somogyi. M.: J. Biol. Chem, 160, 61 (1954)
- 7) Elson. L. A, Morgan. W. T. J.: Biochem. J, 27, 1824 (1933)
- 8) Fiske. C. H, Subbarow. Y.: J. Biol. Chem, 66, 375 (1925)
- 9) Almy. L. H.: J. Am. Chem. Soc, 47, 1381 (1925)