

嫌気条件下におけるブラシカ属野菜の異臭発生機構について

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構
九州沖縄農業研究センター 壇 和弘

1. はじめに

青果物の鮮度を保つためには、第一に品温を下げる事が最も重要であるが、鮮度低下をさらに抑制したい場合には雰囲気中のガス環境も制御する必要がある。一般に、好適な低酸素、高二酸化炭素環境下では空気下に比べ青果物の呼吸が抑制され、品質が良く保たれる。この技術として、CA (Controlled Atmosphere) 貯蔵や MA (Modified Atmosphere) 包装が知られている。しかし、その一方で極端な低酸素、高二酸化炭素環境下では、異臭発生等のガス障害が発生する。

ブロッコリーは鮮度低下が極めて速く、通常 20℃ 以上では収穫後 2～3 日で花蕾が黄化する。そのため貯蔵・流通時の温度をなるべく低温に保持することが重要となる。さらに、CA 貯蔵や MA 包装によって雰囲気中のガス環境を低酸素・高二酸化炭素条件にすることは緑色の保持に有効である。一方、ブロッコリーは嫌気条件下で最も異臭を発生しやすい野菜の一つであり、異臭の発生は流通現場でもしばしば問題となっている。消費者の中には、この異臭を農業に由来するものであると判断する者もあり、異臭の発生は商品性の低下、さらには産地のイメージ低下につながる。

2. 嫌気条件下で発生する異臭成分の同定

ブラシカ属野菜の中でも、特にブロッコリーは

嫌気条件下での異臭の発生が顕著であることから、ブロッコリーをモデルとして研究を行った。

嫌気条件を作出するために、ブロッコリーを厚さ 0.1mm の低密度ポリエチレン袋で密封包装し (嫌気包装)、20℃ で保存した。包装後 8 時間以内に酸素濃度は 0.5% 以下に、二酸化炭素濃度は 20% 以上に達し、以後、包装袋内の雰囲気は極端な低酸素、高二酸化炭素状態であった。この様な嫌気条件下に保存したブロッコリーからは、貯蔵 2 日後までに漬け物様の顕著な異臭の発生が認められた¹⁾。この異臭成分を同定したところ、貯蔵 1 日後にエタノールおよびアセトアルデヒドが検出された (図-1)。また、貯蔵 1 日後に含硫揮発性

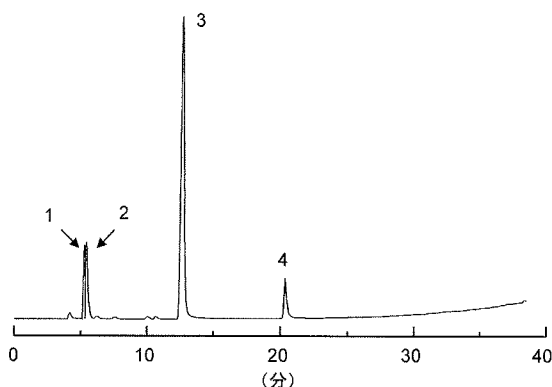


図-1 嫌気処理したブロッコリーから発生する揮発性成分

検出器: FD

1: メタンチオール

2: アセトアルデヒド

3: エタノール

4: ジメチルジスルフィド

成分のメタンチオールが、貯蔵2日後にジメチルジスルフィドが検出された(図-1)。同様の揮発性成分は、ブロッコリー以外にも嫌気条件下においたコマツナ、カリフラワーやキャベツなどのブラシカ属野菜から検出された。

エタノールやアセトアルデヒドは嫌気条件下で植物が一般的に生成する揮発性成分であることは知られており、その代謝についても良く研究されている。一方、メタンチオールやジメチルジスルフィド等の含硫揮発性成分は、ブラシカ属やアリウム属などの限られた植物が特異的に発生する揮発性成分であるが、嫌気条件下においてブラシカ属野菜からこれらの含硫揮発性成分がどのような機構で発生するのかは明らかにされていなかった。このことから、嫌気条件下で発生する含硫揮発性成分の発生機構について調べることにした。

3. 嫌気条件下における含硫揮発性成分の発生機構

(1) 含硫揮発性成分の発生と生体膜脂質の変化

メタンチオールやジメチルジスルフィド等の含硫揮発性成分は、S-メチル-L-システインスルホキシド(SMCSO)を前駆物質とし、これに酵素C-Sリアーゼが反応することによって生成されてくると考えられている(図-2)²⁾。無包装区と嫌気包装区のブロッコリーの保存期間中のC-Sリアーゼ活性の変化を調べたところ、保存4日間を通して、両区の酵素活性に差は認められなかった。したがって、嫌気条件下での含硫揮発性成分の発生は、C-Sリアーゼの活性の増大に因るものではないと考えられた。

そこで、ブロッコリーの花蕾切片からの電解質の漏出を調査した¹⁾。無包装区の電解質の漏出程度は、貯蔵にともなって徐々に増加したが(図-3)、それ以上に、嫌気包装区の電解質の漏

出程度は顕著に増加した。また、花蕾から調製したマイクロソーム膜脂質についても調査した。無包装区のマイクロソーム膜の全脂肪酸に対する遊離脂肪酸の割合は、貯蔵にともなって増加したが(図-4)、それ以上に、嫌気包装区は高い割合を示し、無包装区と比べると約2倍の値を示した。

顕著な電解質漏出程度の増加や遊離脂肪酸の割合の増加などに示されるように、空気下で自然に老化したブロッコリーに比べ、嫌気条件下では明らかに生体膜の劣化が促進されていた。生体膜中に遊離脂肪酸が増えてくるとゲル化した領域が形成され、ゲル相領域が液晶領域と混在すると二重膜のパッキングが不完全となり、溶質の漏れが起これと言われている³⁾。上述の結果はこのことと一致すると考えられた。

ブラシカ属やアリウム属の植物中にはSMCSO等の含硫アミノ酸およびC-Sリアーゼが存在するが、健全な細胞内ではSMCSOとC-Sリアーゼは別々の場所に局在しており、含硫揮発性成分は発生しない。しかし、細胞が切断や摩砕等の物理的な障害を受けると、酵素と基質が接触して含硫揮発性成分を発生する。

ここまでの調査で明らかになった様に、嫌気条件下に保存したブロッコリーでは、空気下に保存したものと比べ生体膜の機能が明らかに低下していた。生体膜の機能の一つとして、細胞内で合成された酵素や基質の散逸を防ぐ隔壁的役割があると考えられる。したがって、嫌気条件下での含硫揮発性成分の発生は、生体膜の機能低下に伴う局在性の喪失により、酵素と基質が接触することによって生成されたものと考えられた。

(2) メタンチオールの生成要因

酵素と基質の局在性を喪失させる最も簡単な

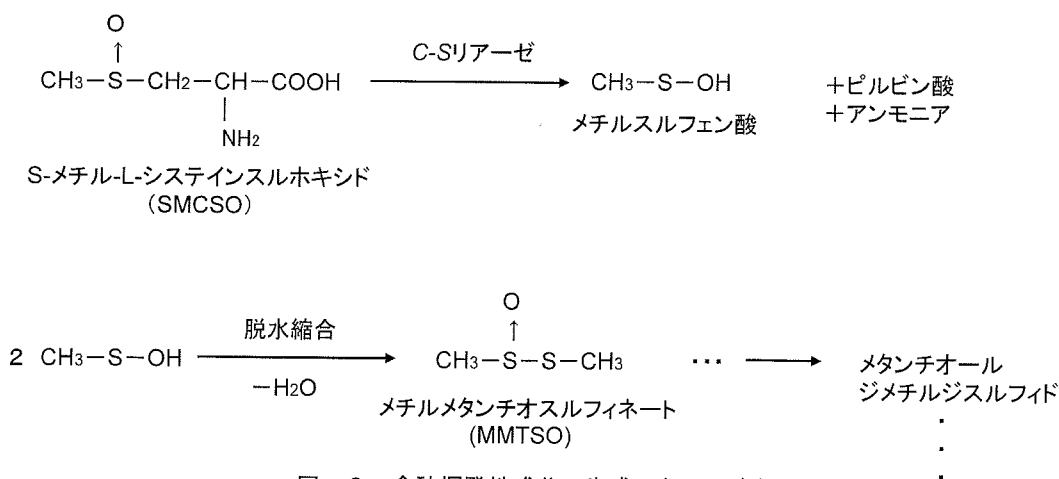


図-2 含硫揮発性成分の生成 (Marks ら)

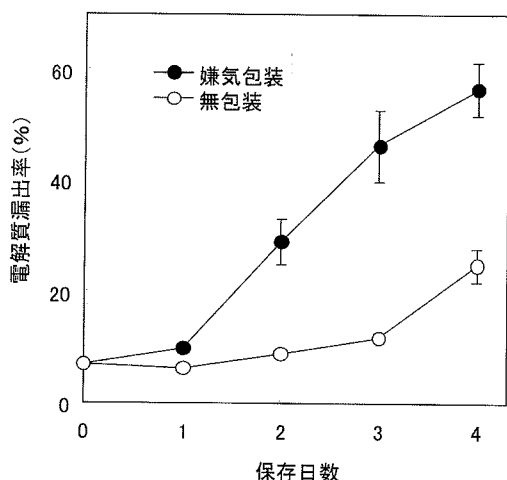


図-3 ブロッコリー花蕾切片からの電解質漏出率の変化

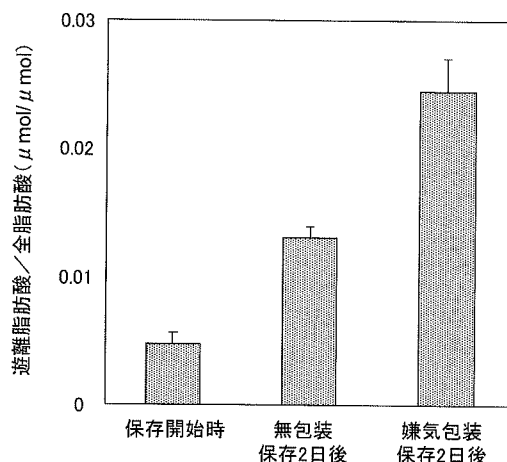


図-4 ブロッコリー花蕾から調製したミクロソーム膜の遊離脂肪酸の割合

方法は組織の摩砕である。そこで、含硫揮発性成分、特にメタンチオールの発生メカニズムを更に詳細に解明するため、ブロッコリーの組織摩砕液を用いてメタンチオールの生成要因を検討した⁴⁾。

1) 組織摩砕液からのメタンチオールの生成

含硫揮発性成分が酵素と基質の局在性の喪失だけで生成されるのであれば、ブロッコリーの組織を摩砕することで多量に発生してくるはずである。そこで、新鮮なブロッコリーの組織摩

砕液を調製し、20℃で1時間保存した。その後、ヘッドスペースガス中のメタンチオールの発生を調査したところ、発生は確認できたものの微量であった(表-1)。このことから、メタンチオールの生成には、酵素と基質の局在性の喪失以外の要因も関与している可能性があると考えられた。組織摩砕液にL-メチオニン、L-システインあるいは酸化型グルタチオンを加えても、メタンチオールの発生に変化はなかったが、L-システインあるいは還元型グルタチオンを加える

と、顕著なメタンチオールが発生が確認された(表-1)。

一方, SH基を持たずに還元作用を持つ物質であるL-アスコルビン酸あるいは水素化ホウ素ナトリウムを組織摩砕液に加えてもメタンチオールの発生に変化はなかった(表-1)。したがって、メタンチオールの生成にはL-システインあるいは還元型グルタチオンのSH基が関与している可能性があると考えられた。

新鮮な組織摩砕液をフィルターを通すことによって得られた分子量10,000以下の画分にL-システインを加えると、顕著なメタンチオールの発生が認められた(表-2)。したがって、新鮮な組織摩砕液にL-システインを加えることでメタンチオールが発生する反応は、非酵素的な反

応であると推察された。しかし、あらかじめ加熱処理をした組織から調製した組織摩砕液にL-システインを加えてもメタンチオールの発生は認められなかった(表-2)。この結果は、メタンチオール生成の一部に酵素反応が含まれることを示唆している。以上のことから、新鮮な組織を摩砕した時に酵素反応によって何らかの物質が生成され、その生成された物質とL-システインが非酵素的に反応してメタンチオールが発生するものと考えられた。

2) 組織摩砕液中におけるMMTSOの生成

含硫アミノ酸のSMCSOはブロッコリーを含むブラシカ属野菜に普遍的に存在し、その含量は乾物重量あたり1%程度であると報告されている^{2, 5)}。前述のように、メタンチオール等の含硫揮発性成分は、酵素C-Sリアーゼと基質SMCSOが反応した結果生成されと考えられている(図-2)。C-SリアーゼとSMCSOが反応するとメチルスルフェン酸が生成されるが、メチルスルフェン酸は不安定な物質であるため、脱水縮合することによってより安定なメチルメタンチオスルフィネート(MMTSO)に変わる。本研究においても、新鮮なブロッコリーの組織摩砕液からは調製後ただちにMMTSOが検出され、20℃で2時間のインキュベート後、約10倍に増加した(表-3)。また、新鮮な組織摩砕液にSMCSOを加

表-1 各試薬を添加したブロッコリー組織摩砕液からのメタンチオールの発生

処 理	メタンチオール (ピーク面積×10 ⁻⁴)
対 照(無添加)	0.7
L-システイン	131.4
L-メチオニン	0.7
L-シスチン	0.6
還元型グルタチオン	91.1
酸化型グルタチオン	0.8
L-アスコルビン酸	0.7
水素化ホウ素ナトリウム	0.8

各試薬の添加量は10mM
20℃で1時間インキュベート後に測定

表-2 ブロッコリー組織摩砕液からのメタンチオールの発生

処 理	L-システイン の添加(mM)	メタンチオール (ピーク面積×10 ⁻⁴)
新鮮組織摩砕液	0	0.7
	5	108.7
新鮮組織摩砕液 分子量10,000以下の画分	0	1.3
	5	119.4
加熱処理後の組織摩砕液	0	0.6
	5	1.6

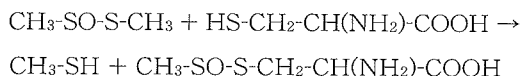
20℃で1時間インキュベート後に測定

表-3 ブロッコリー組織摩砕液中のMMTSO

処 理	MMTSO (ピーク面積 $\times 10^{-4}$)
新鮮組織摩砕液(摩砕直後)	5.2
新鮮組織摩砕液 20℃・2時間インキュベート	58.9
新鮮組織摩砕液 + 10mM SMCSO 20℃・2時間インキュベート	229.9
新鮮組織摩砕液 + 5mM L-システイン 20℃・2時間インキュベート	不検出
加熱処理後組織の摩砕液	不検出

えると多量のMMTSOの生成が認められた。一方、L-システインを新鮮な組織摩砕液に加えると、MMTSOは消失した。また、あらかじめ加熱処理した花蕾から調製した組織摩砕液中には、MMTSOは検出されなかった(表-3)。

これらの結果より、MMTSOとシステインや還元型グルタチオンなどのSH基を持った物質との反応によるメタンチオール生成は次のように考えられる。



Di Pentima ら⁶⁾ は、ブロッコリーを良好なMA条件下に0℃で10日間貯蔵したところ、遊離のアミノ酸は少量しか検出されず、遊離の含硫アミノ酸は検出できなかった。しかし、嫌気条件下に貯蔵したブロッコリーでは遊離のアミノ酸および遊離の含硫アミノ酸共に増加しており、このような条件下においてブロッコリーはメタンチオールを含む含硫揮発性成分を発生したと報告している。平田ら⁷⁾ は嫌気条件下に保存したブロッコリー中のグルタチオンは著しく減少したと報告している。これらの報告は、嫌気条件下に保存したブロッコリーにおいてメタ

ンチオールなどの含硫揮発性成分はSH基をもった遊離のアミノ酸やペプチドとMMTSOとの反応によって発生している可能性が高いことを支持するものである。

4. 含硫揮発性成分の発生に影響を及ぼす要因

(1) 温度および予備貯蔵期間

含硫揮発性成分の発生に及ぼす保存温度の影響を調べるために、収穫した新鮮なブロッコリー小花をガラス瓶に入れ、瓶内の雰囲気気を100%窒素で置換することで嫌気処理し、10℃、20℃および30℃で保存した。保存温度が高い区ほど含硫揮発性成分は早くから発生し、また、発生量も多かった⁸⁾。植物の生理的な反応速度は温度の影響を強く受けるため、高温ほど発生量が多いことは当然の結果といえる。

また、嫌気処理前の予備貯蔵期間の影響を調べるために、収穫した新鮮なブロッコリーを1℃の空気下で7、14および21日間予備貯蔵した。その後、ブロッコリー小花をガラス瓶に入れ、瓶内の雰囲気気を100%窒素で置換することで嫌気処理し、20℃で保存した。低温予備貯蔵の期間が長くなると、嫌気処理した後の含硫揮発性成分の発生量は少なくなる傾向が認められた。一方、小花におけるSMCSO含量はいずれの予備貯蔵の期間のものでも差はなかった。また、C-Sリアーゼ活性も大きな変化は認められず、低温予備貯蔵による含硫揮発性成分の発生減少は、SMCSOおよびC-Sリアーゼが直接の要因ではないと考えられた⁸⁾。

(2) 植物体の部位

ブロッコリーの花蕾あるいは花茎部を嫌気処理し20℃で保存した。含硫揮発性成分の発生は花茎部に比べ花蕾部で顕著であった。また、花蕾部におけるSMCSO含量は花茎部に比べ約4

表-4 SMCSO 含量, C-S リアーゼ活性と嫌気条件下でのメタンチオール発生量

品種名		部位	メタンチオール (ppm)	SMCSO (mg/g)	C-S リアーゼ活性 (units/g)
キャベツ	松波	葉	0.2±0.0	0.75±0.02	1.3±0.15
		花蕾	81.0±9.2	2.90±0.32	5.2±1.63
ハクサイ	空海65	葉	3.1±1.1	0.18±0.01	0.8±0.11
		花蕾	35.5±7.2	0.82±0.04	1.4±0.04
ブロッコリー	ハイツ	葉	13.3±7.6	0.40±0.09	1.6±0.17
		花蕾	70.4±10.3	2.18±0.23	6.0±1.10
	スリーメイン しげもり	花蕾	133.6±15.7	2.00±0.18	7.6±0.30
		花蕾	43.2±4.4	2.62±0.16	5.2±0.28

倍多かった。さらに、花蕾部におけるC-Sリアーゼ活性は花茎部に比べ約6倍高かった⁸⁾。

5. 品種間差

(1) 嫌気条件下におけるメタンチオールの発生

ブロッコリー、キャベツおよびハクサイを嫌気条件下に24時間保存した後のメタンチオールの発生量を調べた(表-4)⁹⁾。ブロッコリーは主な利用部位が花蕾部であるのに対し、キャベツとハクサイは葉部である。作物間での比較を行うために、キャベツ、ハクサイについては抽台後の花蕾部についても、ブロッコリー1品種(品種‘ハイツ’)については葉部についても調査した。キャベツ、ハクサイ、ブロッコリーにおいて、葉部に対する花蕾部からのメタンチオールの発生量はキャベツで約400倍、ハクサイで約11倍、ブロッコリーで約5倍であり、キャベツ、ハクサイ、ブロッコリーのいずれにおいても、花蕾部からのメタンチオールの発生量は有意に多かった。

供試したブロッコリー17品種において、嫌気条件下における花蕾部からのメタンチオールの発生量が最も少なかったものは、最も多かったものの約1/3の発生量で、品種間の差が大きかった⁹⁾。また、キャベツとハクサイともに、食

用にする葉部からのメタンチオールの発生量はブロッコリーと比べ非常に少なかった。

(2) SMCSO 含量およびC-S リアーゼ活性

葉部に対する花蕾部のSMCSO含量はキャベツで約3.8倍、ハクサイで約4.5倍、ブロッコリーで約5.4倍であり、花蕾部のSMCSO含量は有意に多かった(表-4)。また、葉部に対する花蕾部のC-Sリアーゼ活性はキャベツで4倍、ハクサイで約1.7倍、ブロッコリーで約3.7倍で、花蕾部のC-Sリアーゼ活性は有意に高かった(表-4)。

キャベツ、ハクサイ、ブロッコリーのいずれの野菜においても、葉部と比べ花蕾部ではSMCSO含量ならびにC-Sリアーゼ活性が有意に高く、また、メタンチオールの発生も有意に多かった。この結果は、利用部位が花蕾部であるブロッコリーでは、流通過程で雰囲気中のガス環境が極端な低酸素、高二酸化炭素条件になると異臭を発生する危険性が高いことを示唆している。

6. 終わりに

これまで述べてきた様に、含硫揮発性成分は嫌気条件下における生体膜の機能低下に伴う局在性の喪失によって、酵素と基質が接触するこ

とにより生成されることが明らかとなった。また、含硫揮発性成分の中でもメタンチオール生成には、L-システインや還元型グルタチオンの様なSH基をもった物質が非酵素的な反応で関与している可能性が示された。

ブラシカ属野菜からの含硫揮発性成分の発生を防止するためには、貯蔵・流通中のガス環境を嫌気条件にしないことが最も重要となるが、現実には異臭発生という事故がしばしば起きていることから、ガス環境制御以外にも含硫揮発性成分の発生する危険性を低減させる技術の開発が望まれている。その方法として、含硫揮発性成分の発生が極めて少ない品種を選定することは異臭発生の危険性を回避する一手段であると考えた。しかし、ブロッコリーの主な栽培品種において、嫌気条件下での含硫揮発性成分の発生量に品種間差はあったものの、そもそも含硫揮発性成分の官能閾値は極めて低く、すべての品種で顕著な異臭として評価された。異臭発生のリスクを低減させる新たな技術を提示できなかったことは残念である。

引用文献

- 1) Dan, K., Todoriki, S., Nagata, M., Yamashita, I. 1997. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65: 867-875.
- 2) Marks, H. S., Hilson, J. A., Leichtweis, H. C., Stoewsand, G. S. 1992. J. Agric. Food Chem. 40: 2098-2101.
- 3) McKersie, B. D., Crowe, J. H., Crowe, L. M. 1989. Biochi. Biophys. Acta 982: 156-160.
- 4) Dan, K., Nagata, M., Yamashita, I. 1997. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 66: 621-627.
- 5) Morris, C. J., Thompson, J. F. 1956. J. Am. Chem. Soc. 78: 1605-1608.
- 6) Di Pentima, J. H., Rios, J. J., Clemante, A., Olias, J. M. 1995. J. Agric. Food Chem. 43: 1310-1313.
- 7) 平田 孝・中谷敦志・石川 豊・山田千賀子・勝浦ソニア 1995. 日食工誌 42: 996-1002.
- 8) Dan, K., Nagata, M., Yamashita, I. 1998. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 67: 544-548.
- 9) 壇 和弘・永田雅靖・釘貫靖久・山下市二 1999. 園学雑 68: 694-696.

新刊

草地学 用語辞典

日本草地学会/編
(社)畜産技術協会/企画
A5判 120頁 定価4,200円(税込)

- バイオ燃料の急速拡大、輸入飼料価格の高騰によって、わが国における土地利用型畜産の推進が重要になってきた。
- このような状況の中、牧草、飼料作物の生産・利用にかかわる幅広い分野を網羅した草地学用語の決定版として本書が誕生した。
- 対象利用者として研究者のみならず、学生、実務家など幅広い層を想定し、わかりやすく記述されている。

全国農村教育協会

〒110-0016 東京都台東区台東1-27-11
TEL 03-3839-9160 FAX 03-3839-9172
<http://www.zennokyo.co.jp>