

核酸成分の変化から見た缶詰原料の鮮度—Ⅱ

水産缶詰中の核酸成分の変化

毛利 威徳・橋田 度・秦 圭子

Assesment of Freshness of Marine Products Based on Composition in Nucleic Acid Related Substances in Canned Sea-foods.-II Determination of the Nucleic Acid Related Substances in Canned Fish.

Takenori Mouri, Wataru Hashida and Keiko Hata

The quality of canned fish is greatly influenced by the freshness of the material used.

The relation between the quality of canned fish and freshness of the material used was examined, with hakuren (*Hypophthalmichthys molitrix*) and saba (mackerel) of Samma (meckerel pike) were used for this purpose.

As the indices for the freshness the ratios of the amounts of IMP, HxR and Hx to their total was adopted.

Remerkable decrease in the amount of ATP and increase in the contents of oter nucleotides or nucleosides took place during the canning process of fishes.

During storage at room temperature or 37°C for 6 months, no increase in the amounts of nucleotides were observed. A good correlation was observed between the IMP ratio in raw fish meats and the inspection scores given to the canned fishes.

1. 緒 言

水産動物筋肉中の核酸関連物質の死後変化が詳細に調べられ、その消長は他の生体成分の変化に比して非常に速いことが明らかになった。従来用いられてきたVB-N(揮発性塩基窒素)TMA(トリメチルアミン)を測定する鮮度判定法に加えて、生体自身の酵素活性による分解生産物を測定する必要性が考えられ齋藤¹⁾らはK値で鮮度の指標とすることを提唱した。また Jones²⁾らは、ヒポキサンチン量より鮮度を判定しているが著者らは、前報にて酵素法及びカラム法によりヒポキサンチンの定量の吟味検討を行った。本報では、缶詰製造工程及び保存中に於けるヒポキサンチン量の変化、また従来鮮度の指標として提唱されている2、3の方法について比較を行ったので報告する。

2. 実験方法

2・1 標準物質 標準物質としてのヌクレオシドポリホスフェイト類、ヌクレオシドモノホスフェイト類、ヌクレオシド類、塩基類は市販品を用いた。

2・2 試料および調製法 供試魚類の学名は前報³⁾に準じた。核酸分析のカラムクロマトグラフィ酵素法の試料の調製は前報³⁾の如く過塩素酸抽出法にて抽出を行った。過塩素酸抽出法は氷冷下で10%過塩素酸、次に5%過塩素酸と共にホモジナイズし、遠沈して抽出液を合併し、5N-KOHで中和後沈澱を遠心分離機で除き試料とした。揮発性塩基窒素は富山氏¹⁾らの方法に準じて行った。すなわち抽出法は氷冷下、7%TCA抽出10% K₂CO₃ 加え、水蒸気蒸溜にて測定した。

2・3 分析方法 個々の核酸成分は Dowex 1 を用うるカラムクロマトグラフィによった。方法は前報³⁾に準ずる。カラムクロマトグラフィによる斎藤¹⁾らのK値は酸可溶性物質の260m μ の全吸光度に対するカラムクロマトグラフィによるヒポキサンチン+イノシン画分の同波長での吸光度の百分率(K値)で表わされているが本報においても、K値を用いた。イノシン酸、イノシン、ヒポキサンチンの定量は酵素法を用い、その方法は前報³⁾に準ずる。揮発性塩基窒素は富山氏¹⁾らの方法に準じた。

3. 実験結果

3・1 ハクレン缶詰工程中また貯蔵中の核酸成分及び揮発性塩基窒素の変化 ハクレン缶詰の製造工程については、Fig. 1のごとくであり、サンマ、サバ缶詰も同様に製造した。

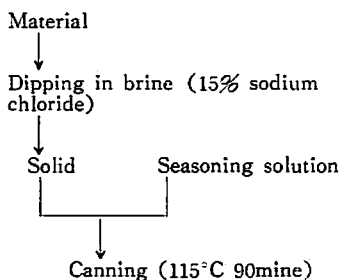


Fig 1 Outline of Hakuren canning process.

Table 1 Hypoxanthine and VB-N formation in Hypophthalmichthys. moritrix.

Sample	Hypoxanthine μ mole/g		VB-N mg/100g
	Enzymatic method	Column method	
Rew material	0.27	0.23	9.81
After processing	0.60	0.52	26.81
Room temperature for 1 month	0.61	0.50	26.25
Room temperature for 3 months	0.65	0.53	25.85
Room temperature for 6 months	0.67	0.54	26.48
37°C for 1 months	0.62	0.50	28.29
" 3 months	0.64	0.49	33.19
" 6 months	0.68	0.55	32.04

常法³⁾により製造した缶詰について室温と37°Cにて貯蔵し、経時的にはヒポキサンチン及び、揮発性塩基窒素を測定した結果は Table 1 のごとくである。

この様にヒポキサンチン量について、酵素法とカラム法を比較すると酵素法の方がかなり多くヒポキサンチン量ができるようであるが、傾向としては、ほぼ同様にヒポキサンチン量を測定することができる。原料から缶詰製造直後に大きなヒポキサンチン量の変化があるが、保存中には室温、および37°C 6ヶ月間経過したものほとんど変化がないのに対して揮発性塩基窒素(VB-N)においては、原料から缶詰製造時にやはり大きい変化を示し、また保存中においては、37°C保存区では多少の増加を示した。ハクレンの核酸成分、ヒポキサンチン量とVB-Nについて図示すると、Fig 2の如くである。

この図からも良くわかる様に製造工程中に核酸成分の酵素的分解と化学的分解が行われこれは主

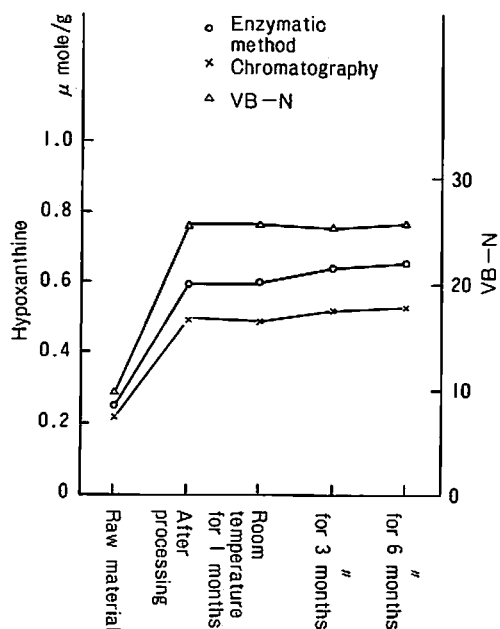


Fig 2 Hypoxanthine and VB-N formation in Hypophthalmichthys moritrix.

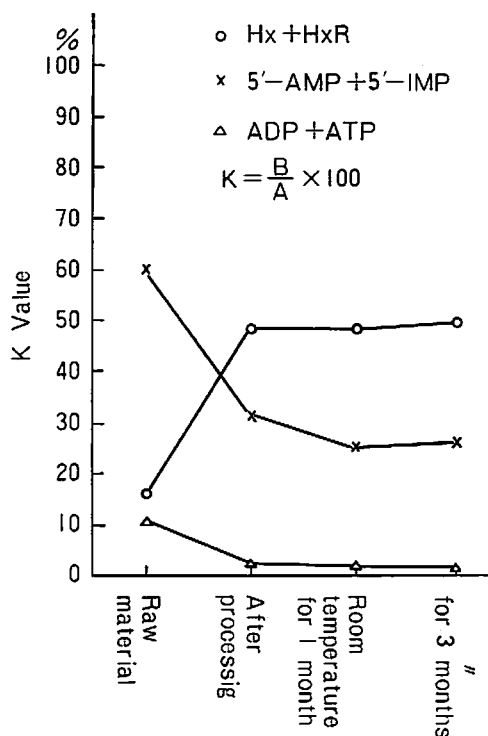


Fig 3 Amounts of individual nucleotides in perchloric acid extract Hypophthalmichthys moritrix.

に殺菌時での酵素的分解が主体であるが、保存中の化学的分解はほとんどないのではないかと考えられる。

3・2 ハクレン缶詰におけるヌクレオシド、ヌクオチド、塩基の割合 ハクレンについて斎藤¹⁾らの方法によりK値を算出した結果 Table 2, Fig 3のごとくである。

尚、試料数は缶詰で4缶、原料魚では3尾であった。以下サンマ、サバについても同様である。

Table 2 Amounts of individual nucleotide in perchloric acid extract of Hypophthalmichthys moritrix.

	Measured				K Value		
	ADP + ATP	5'-AMP + 5'-IMP	Hx + HxR	Total	ADP + ATP	5'-AMP + 5'-IMP	Hx + HxR
Frozen	29.77	117.24	38.97	203.99	14.6~16.8	57.5~34.0	19 ~16
	53.79	182.87	40.77	319.66			
Frozen immediately	25.38	150.01	43.59	203.12	8.7~10.6	51.2	14.1~18.7
	32.73	192.71	54.71	308.22			
After processing	1.95~3.95	59.76	94.12	188.92	1.03~1.47	30.3~31.6	49.2~49.8
		81.51	132.25	268.88			
Room temperature for 1 month	2.99	79.11	141.17	316.91	1.00	25.0	44.5
37°C for 1 month	3.64	71.72	138.84	289.12	1.30	24.8	48.0
Room temperature for 3 months	Trace	75.96	138.92	282.89	Trace	26.9	49.1
37°C for 3 months	Trace	117.51	215.30	386.09	Trace	30.4	55.8

ハクレンについては、Hx+H_R は缶詰製造時（殺菌時）に増加し、また ATP+ADP, 5'-AMP+5'-IMP の含量は低下することが明らかになった。これは ホスファターゼの影響ですみやかに ATP, ADP, 5'-IMP, 5'-AMP, が分解されるものと思われる。また室温にて保存した場合は、殺菌後はほとんど変化はなかった。

3・3 サンマ缶詰工程中また貯蔵中の核酸成分及び揮発性塩基窒素の変化 サンマ缶詰の製造工程については Fig 4 のごとくである。

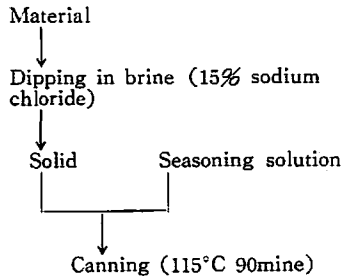


Fig 4 Outline of canning process

ハクレン缶詰と同様に 37°C と室温にて貯蔵を行い、経時的

Table 3 Hypoxanthine and VB-N formation in Cololabissira.

Sample	Hypoxanthine $\mu\text{mole/g}$		VB-N mg/100g
	Enzymatic method	Column method	
Raw material	0.63	0.61	13.94
Brine dipping	0.79	0.70	16.50
After processing	0.82	0.65	23.82
Room temperature for 1 month	0.78	0.64	28.36
Room temperature for 6 months	0.83	0.68	30.57
37°C for 1 month	0.82	0.64	26.73
37°C for 6 month	0.80	0.68	35.66

に核酸成分及び揮発性塩基窒素を測定した結果 Table 3 の如くである。

ハクレンと同様にヒポキサンチン量は殺菌時及び殺菌後もほとんど変化しない。この事は原料サンマがすでに鮮度が悪くヒポキサンチン量が 0.6 $\mu\text{mol/g}$ も有り、原料鮮度が悪いたため殺菌時の変化が少ないものと思われる。

3・4 サンマ缶詰におけるヌクレオチド、ヌクレオシド塩基の割合 ハクレンと同様、K値につ

Table 4 Amounts of individual nucleotide in perchloric acid extract of Cololabissira.

	Measured				K Value		
	ADP + ATP	5'-AMP + 5'-MP	Hx + H _x R	Total	ADP + APP	5'-AMP + 5'-IMP	Hx + H _x R
Raw material	Trace	158.64	62.62	319.36	Trace	49.67	19.61
	26.08	224.49	135.61	409.09	6.38	54.88	33.15
Brine dipping	6.94	136.06	82.73	29.93	2.35	45.62	28.05
	18.68	154.81	99.63	339.34	5.30	46.13	29.36
After processing	Trace	186.71	132.13	430.29	Trace	43.39	30.71
Room temperature for 1 months	Trace	193.78	128.68	411.28	Trace	47.12	31.29
37°C for 1 months	Trace	150.33	126.35	377.22	Trace	39.85	33.50
Room temperature for 3 months	Trace	167.15	151.26	378.80	Trace	44.13	39.93
37°C for 3 months	Trace	190.40	168.64	359.04	Trace	41.75	36.27
Room temperature for 6 month	Trace	161.74	130.80	355.72	Trace	45.47	36.77
37°C for 6 months	Trace	117.81	88.76	257.64	Trace	34.84	34.45
		100.32	113.60	287.95		45.73	39.45

いて検討を行った結果 Table 4, Fig 5 の如くである。

原料が市販品であるために原料自身の鮮度が悪く、もうすでに核酸系成分が低分子のヌクレオシド、塩基以下になっているために変化は少ない。

3・5 サバ缶詰工程中また貯蔵中の核酸成分及び揮発性塩基窒素の変化 サバについてはサバの生ぐされと言われる様に鮮度の低下がタイやサンマ等と比較して早いと言われている。サバのホスファターゼ活性は、他のアジ、ハクレンと比して強いと推察されるのでホスファターゼ活性を調べた結果 Table 5 のごとくである。

これよりg当りの活性を比較してみるとホスファターゼ活性がサバについては非常に強く鮮度が早く低下する一原因の一端と考えられる。サバ缶詰の製造工程については Fig 6 のごとくである。

ハクレン缶詰やサンマ缶詰と同様にして経時的に核酸成分及

Table 5 Activities of phosphatase in Saba Agi and Hakuren.

Sample	Units	Protein (mg)	Activite Specific (unit/mg)
Reneumalophorus. japonicus	5600	28.0	200.0
Trachurus. japonicus	2205	33.8	5.2
Hypophalmichthys. molitrix	4214	48.7	86.5

び揮発性塩基窒素を測定した結果は、Table 6 のごとくである

サバの場合については原料のヒポキサンチン量が少ないが、イノシンが多く、したがって鮮度が悪いことが明らかになった塩基性窒素は、ハクレン、サンマと比較すると大分多いことが認められるが、VB-N の量とから考えると鮮度は正常であると思われる。

又、ハクレン、サンマ、サバ缶詰を室温 37°C 区で6ヶ月保存した結果、室温の場合は

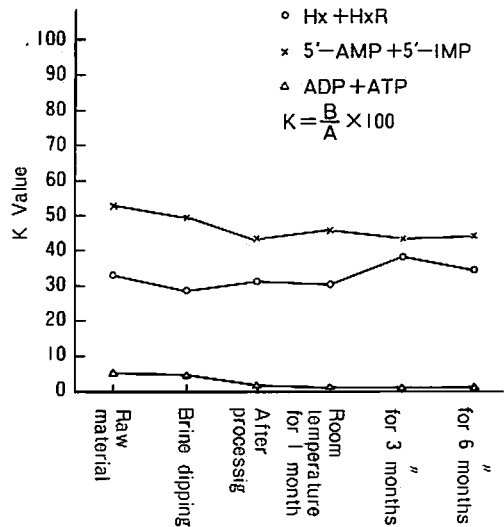


Fig 5 Amounts of individual nucleotide in perchloric acid extract of Cololabiss aira.

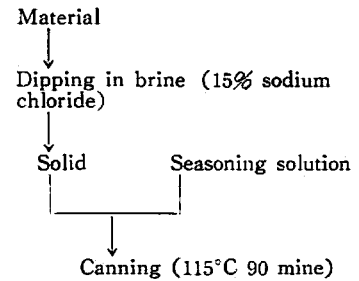


Fig 6 Outline. of Saba canning process.

Table 6 Hypoxanthine and VB-N formation in Peneumalophorus, japonicus.

Sample	Hypoxanthine μ mole/g		VB-N mg/100g
	Enzymatic mehod	Column method	
Raw material	0.48	0.41	21.63
Brine dipping	0.61	—	22.64
After processing	0.57	0.47	32.55
Room temperature for 1 month	0.56	0.41	31.52
Room temperature for 6 moths	0.50	0.44	33.86
37°C for 1 month	0.50	0.41	36.56
" 6 months	0.60	0.40	44.05

揮発性塩基窒素 (VB-N) は変化しいなが、37°C区においてはハクレン、サンマ、サバ缶詰3者共にかなりの量が増加することが明らかになった。

3・6 サバ缶詰におけるヌクレオチド、ヌクレオシド、塩基の割合 ハクレン、サンマと同様、K値を表わすと Table 7, Fig 7のごとくである。

Table 7 Amount of individual nucleotide in perchloric acid extract of Penemalophorus, japonicus.

	Measured				K Value		
	ADP + ATP	5'-AMP + 5'-IMP	Hx + HxR	Total	ADP + ATP	5'-AMP + 5'-IMP	Hx + HxR
Raw material	Trace	230.64	202.65	503.01	Trace	42.65	40.29
	21.40	239.63	245.22	561.83	0.04	45.85	43.65
After processing	Trace	145.69	172.95	376.06	Trace	38.14	45.75
		177.09	205.67	449.52		39.40	45.99
Room temperature for 1 month	Trace	150.67	188.68	408.60	Trace	36.15	45.27
	2.07	151.49	194.71	416.75	0.025	37.08	47.65
37°C for 1 month	Trace	138.81	144.48	350.66	Trace	35.08	41.20
		151.24	220.76	431.08		35.59	51.21
Room temperature for 3 months	Trace	157.17	205.86	458.68	Trace	34.27	44.88
37°C for 3 months	Trace	108.46			Trace		
Room temperature for 6 months	Trace	157.73	191.96	410.47	Trace	34.43	46.77
37°C for 3 months	Trace	182.38	217.90	463.24	Trace	39.37	47.04

サバはすでに原料において ATP, ADP は少なく Hx+HR にまで分解された。又、缶詰製造時における変化は、サンマと同様に少ないことが明らかになった。

4. 考 察

ヒポキサンチン量の測定を行ったが、カラム法と酵素法とでは、多少の差が認められた。これは、カラム法では分解物を単独に測定することができるが、酵素法では使用した酵素が、ヒポキサンチンの他の物質を分解して尿酸にするために測定値として出てくるためと考えられるヒポキサンチンは、缶詰製造直後まで増加するが、それ以後の保存中における変化は余り認められなかった。揮発性塩基窒素 (VB-N) では、37°C 保存区で期間が長くなると、かなり

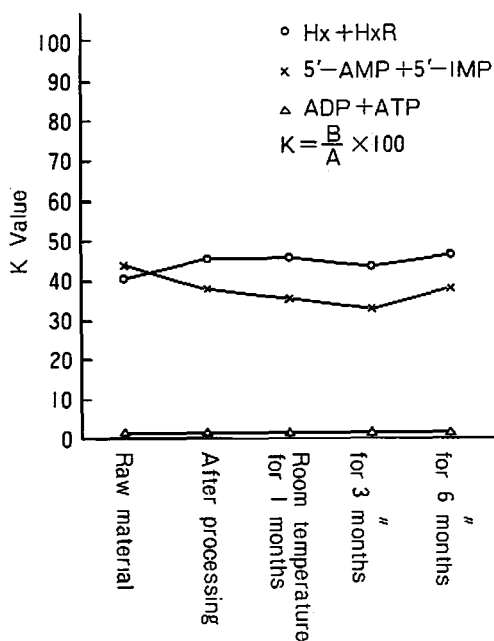


Fig 7

増加することが認められた。またK値から検討するとハクレンでは、缶詰製造法ヒポキサンチンの量は、かなり増加するが、サンマ、サバにおいては、大きなヒポキサンチン増加はなかった。この事は、原料（サバ、サンマ）の鮮度が悪いために核酸系成分が分解されていると推定される。ヒポキサンチン等の核酸系成分を測定することにより腐敗前の鮮度を明らかにすることが、できると同時に37°Cで6ヶ月～1年保存してもヒポキサンチンの量の増加は認められないので、缶詰後の原料魚の鮮度判定に良い結果をえられるものと思われる。

5. 要 約

揮発性塩基（VB-N）は缶詰製造後、37°C保存3ヶ月目より測定値が増加した。室温においてはあまり変化はなかった。ヒポキサンチンの場合、測定値は、製造直後と6ヶ月目と殆んど差異がなかった。製造時のヒポキサンチンの量を推定することができた。酵素法、カラム法によりヒポキサンチン定量及びK値の測定により鮮度判定を行うことは可能である。

文 献

- 1) 齊藤：日水会誌, 23, 265, 579 (1958).
- 2) Jones : J. Biolhlm, 23, 265, 579 (1957).
- 3) 毛利：日食品工会誌投稿中
- 4) 富山：日水会誌, 18, 112 (1952), 32, 262, 600 (1966).
- 5) 缶詰製造講義：日本缶詰協会