

蛍光分光分析を用いた生鮮スルメイカの評価に関する研究

菅原智明、野村保友*、加藤早苗**、吉岡武也、木下康宣、小田 功***

A Study of Evaluation of Freshness by Fluorescence Spectroscopy in Analysis of Raw Squid Mantle Muscle

Tomoaki Sugawara, Yasutomo Nomura*, Sanae Kato**, Takeya Yoshioka,
Yasunori Kinoshita and Isao Oda***

要 旨

生鮮イカを迅速に非破壊で評価するため、蛍光分光分析を行なった。生スルメイカの組織に含まれる還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドとトリプトファンの蛍光を測定した結果、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドの蛍光強度は、サンプルの冷蔵保存時間とともに減少した。一方、トリプトファンの蛍光強度は保存時間に依存せず、一定の値を示した。

近海で漁獲される水産物は重要な資源であり、水産物の鮮度を維持しながら流通・販売することが、要望されている。鮮度保持技術の研究において、水産物の鮮度を迅速に評価することが重要である。これまでの研究によると、水産物の鮮度とアデノシン三リン酸（ATP）との関連性が知られており、K 値測定や ATP の分析によって鮮度の評価が行なわれている¹⁾⁴⁾。しかし、K 値測定や ATP の分析には時間がかかるといった短所がある。一方、光学的測定法には、迅速に非破壊で高感度に分析可能といった特徴がある。本研究では生鮮イカをサンプルとし、非破壊かつ迅速な鮮度評価技術開発のため、蛍光分光分析を行ない、鮮度との関連性について検討を行なった。

試料には、函館沿岸で漁獲されたスルメイカを用いた。活スルメイカの外套膜を 3 × 3 mm、長さ 15 mm にカットし、測定用試料とした。試料の保存温度は 10 ℃ とし、保存時間ごとに蛍光測

定を行なった。

蛍光スペクトル測定には、蛍光分光分析装置（日本分光（株）製 FP-6600）と三角柱の石英ガラスセルを用いた。蛍光測定は、光電子増倍管を用いて室温で行なった。測定条件は、蛍光側の光学スリット幅を 6 nm、励起側を 5 nm とした。波長走査スピードは、100 nm/min に設定した。本報告では生体組織に含まれる還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NADH）とトリプトファンに注目し、蛍光測定を行なった。蛍光の励起波長については、NADH では 365 nm、トリプトファンでは 295 nm とした。

図 1 (a) に、生鮮イカ外套膜の NADH の蛍光測定結果を示す。ピーク波長が 454 nm の蛍光スペクトル (Em) と、ピーク波長が 361 nm の励起スペクトル (Ex) が観測された。蛍光スペクトルは、図 1 (b) に示す試薬の β - NADH 溶液のスペクトルと一致した。一方、励起スペクト

* 前橋工科大学システム生体工学科

** 旭川医科大学医学部生化学講座

*** 木更津工業高等専門学校機械工学科

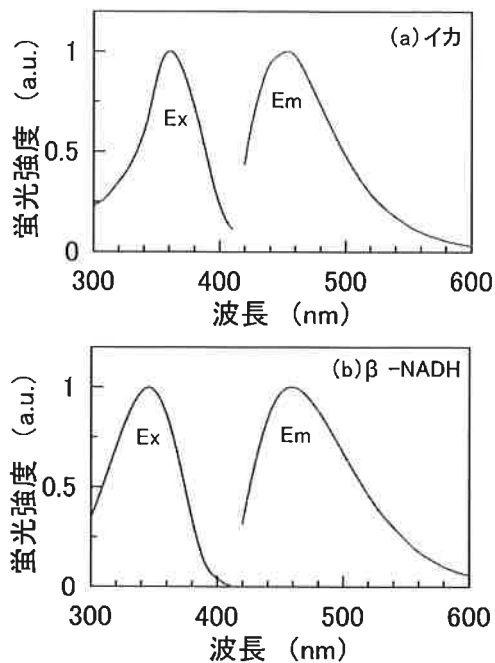


図1 NADH の蛍光測定結果
(a) 生イカ、(b) β -NADH 溶液
Em: 蛍光スペクトル、Ex: 励起スペクトル

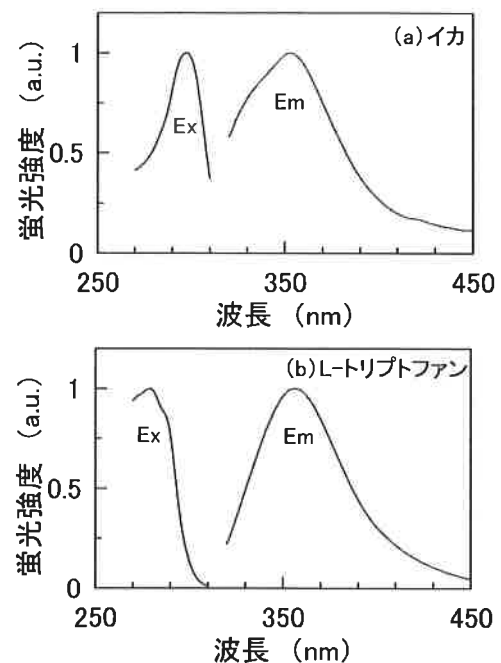


図2 トリプトファンの蛍光測定結果
(a) 生イカ、(b) L-トリプトファン溶液
Em: 蛍光スペクトル、Ex: 励起スペクトル

ルは、 β -NADH のスペクトルに比べて長波長側へシフトした。励起スペクトルのシフトの原因としては、励起スペクトルが試料の化学状態に強く依存しており、生細胞中の NADH の状態が溶液中の NADH と異なっているためと考えられる。図 2 (a) に、生鮮イカ外套膜のトリプトファンの蛍光測定結果を示す。ピーク波長が 353 nm の蛍光スペクトル (Em) と、ピーク波長が 297 nm の励起スペクトル (Ex) が観測された。蛍光スペクトルは、図 2 (b) に示す試薬の L - トリプトファン溶液のスペクトルと一致した。一方、励起スペクトルは、L - トリプトファンのスペクトルに比べて長波長側へシフトした。励起スペクトルがシフトした理由として、励起スペクトルが試料の化学状態に依存しており、生細胞中のトリプトファンの状態と溶液中のトリプトファンの状態が異なっていることが考えられる。

図 3 に、保存時間ごとのイカ外套膜の蛍光ピーク強度測定結果を示す。図中のピーク強度は、0 時間における蛍光強度で規格化されている。NADH の蛍光強度は、保存時間とともに減少し、72 時間後には約 0.5 にまで低下した。蛍光強度の減少の原因としては、サンプル中の NADH の濃度低下と化学状態の変化が考えられる。一方、トリプトファンの蛍光強度については、保存時間に

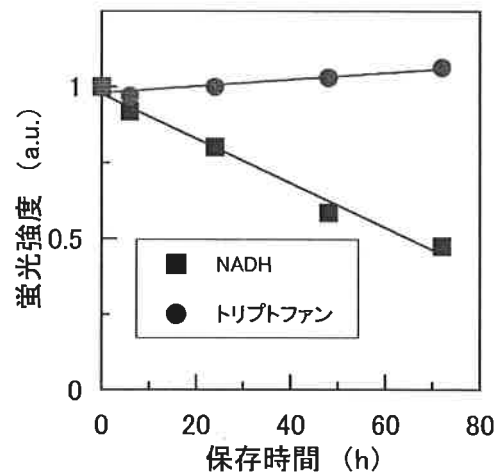


図3 蛍光ピーク強度の保存時間依存性

依存せず、ほぼ一定の値を示した。この理由としては、トリプトファンは NADH と異なり代謝の影響を受けにくいことが考えられる。

本研究では生鮮イカをサンプルとし、蛍光分光分析を行なった。生体組織に含まれる NADH とトリプトファンの蛍光スペクトル測定の結果、NADH の蛍光強度はサンプルの冷蔵保存時間とともに減少することが分かった。一方、トリプトファンの蛍光強度は保存時間に依存せず、ほとんど一定であった。今後、流通現場で使用可能な小型評価機器の開発に向け、研究を行なう予定であ

る。

謝 辞

ご助言・ご協力いただいたファインクリスタル(株)阿部氏、買手氏、小川氏、清野氏に謝意を表す。本研究は、文部科学省地域イノベーション戦略支援プログラム(グローバル型)助成事業で行なわれた。

参考文献

- (1)N. Seki, T. Niki, D. Ishikawa, M. Kimura and H. Nozawa : Journal of Food Science, Vol.69, No.4, pp.FCT262-FCT267 (2004)
- (2)K. Kawashima and H. Yamanaka : Nippon Suisan Gakkaishi, Vol.58, No.11, pp.2175-2180 (1992)
- (3)T. Yoshioka, Y. Kinoshita, H. Yoshino, S. Park, K. Konno and N. Seki : Fisheries Science, Vol.69, pp.408-413 (2003)
- (4)Y. Kinoshita, T. Yoshioka, S. Kato and K. Konno : Journal of Food Science, Vol.74, No.3, pp.S142-S146 (2009)