

蛍光測定によるホッケの鮮度評価技術の開発

菅原智明、高瀬雅由*、澤代唯文*、吉岡武也、
木下康宣、須貝保徳*、下野功

Development of Measuring Technique Based on Fluorescence Spectroscopy for Evaluation of Freshness of Pacific Ribbed Sculpin

Tomoaki Sugawara, Masayoshi Takase*, Tadafumi Sawashiro*,
Takeya Yoshioka, Yasunori Kinoshita, Yasunori Sugai* and Isao Shimono

要 旨

魚類鮮度評価装置の開発のため、活ホッケを試料として三次元蛍光スペクトル測定を行った。その結果、ホッケ筋肉の自家蛍光には二つのピークが観測された。ピーク波長340nmの蛍光はトリプトファンに由来し、鮮度にはほとんど関連しなかった。一方、蛍光波長が460nmの還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドからの蛍光は鮮度に依存しており、ホッケの鮮度低下にしたがって蛍光強度が減少することを明らかにした。

日本の近海で漁獲される新鮮で美味しい魚は、重要な食料資源の一つである。近年は和食文化の広がりとともに、水産物の輸出も年々増えてきている。国内のみならず海外の消費者にも新鮮な魚を届けるためには、共通の客観的鮮度評価方法や鮮度検査装置が必要となる。

魚類は死後に、組織中のアデノシン三リン酸(ATP)が徐々に分解してアデノシン二リン酸となり、最終的にはイノシンやヒポキサンチンといった物質に変化してゆく。このような生化学的变化を利用して1959年に斎藤らは、ATP関連物質中のイノシンとヒポキサンチンとの割合(K値)を分析し、魚類鮮度を科学的に評価する方法を開発した¹⁾。このK値による鮮度評価は大変優れており、信頼性の高い方法であるものの、分析には熟練が必要で時間がかかる。

一方、光学的測定には迅速で高感度、非破壊といった特徴があることから、光学的方法を利用した簡便な鮮度評価方法について研究を行っている。本報告では高鮮度のホッケ筋肉の自家蛍光を測定

し、鮮度との関連性について検討した。

実験の試料には、函館近海で漁獲された活ホッケを用い、即殺した後、三枚におろした。このホッケの肉をナイフで約3×3mm、長さ15mmに切り出し、石英セルに入れ、蛍光測定用試料とした。試料の保存温度は5℃として、最長で三日間(72h)保存した。

蛍光測定には蛍光分光分析装置(日本分光(株)製FP-6600)を用い、室温で三次元蛍光スペクトルを測定した。このスペクトルは、励起波長と蛍光波長を変化させながら蛍光強度を測定するもので、励起蛍光マトリックスあるいは蛍光指紋とも呼ばれている。蛍光スペクトル測定条件は、蛍光側の光学スリット幅を6nm、励起側を5nmとした。K値測定では、ホッケの筋肉から核酸関連物質を5%過塩素酸で抽出し、超高速液体クロマトグラフ(日本ウォーターズ製ACQUITY UPLC system)を用い、定法にて各成分を定量してK値を計算した。

図1に、ホッケ筋肉の三次元蛍光スペクトルを

*株式会社電制

責任著者連絡先(Tomoaki Sugawara): sugawara@techakodate.or.jp

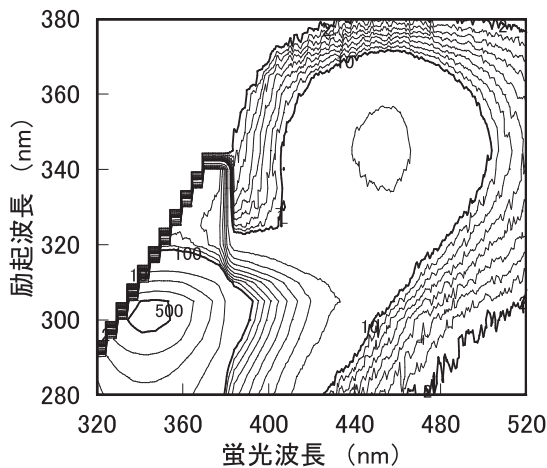


図1 ホッケ筋肉の三次元蛍光スペクトル測定結果

示す。図中の数値は蛍光強度を表し、ライン上は同じ強度である。この図には二つのピークが見られる。蛍光物質を同定するため、試薬の還元型 β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド2ナトリウム塩水和物 (β -NADH) とL-トリプトファン (L-Trp) を用い、それぞれの溶液の蛍光を標準スペクトルとして、図1の蛍光スペクトルと比較した。その結果、蛍光波長が460nmで励起波長が340nmの蛍光は、NADHに由来することが明らかとなった。NADHは、ATPの産生に関連する補酵素として知られている。もう一つの蛍光波長が340nm、励起波長が300nmのピークは、Trpからの蛍光と分かった。Trpはヒトにおける必須アミノ酸の一種で、魚や肉、豆などの食品に多く含まれている。図1の三次元蛍光スペクトルには、NADH蛍光とTrp蛍光以外は見られないことから、これら二つの蛍光について鮮度との関連性を調査することとした。

ホッケ筋肉のTrp蛍光強度の保存時間依存性を図2に示す。この図では、保存時間0hのときの蛍

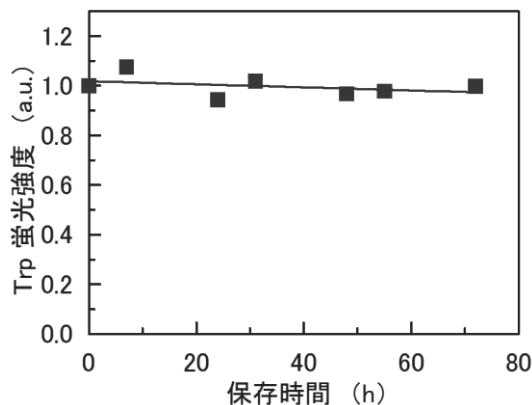


図2 Trp 蛍光強度の保存時間依存性

光強度を1にしているが、Trp蛍光強度は保存時間が長くなってもほとんど変化しないことが分かる。この理由としては、Trpが生体内で比較的安定な物質であり、代謝の影響を受けにくいと考えられる。

これまでに、ホタテやイカのNADH蛍光については、鮮度と関連があると報告されている^{2)~4)}。そこで冷蔵保存時間ごとに、ホッケ筋肉のNADH蛍光強度と一般的鮮度指標のK値とを測定して比較した。NADH蛍光強度を評価するにあたって、前述のTrp蛍光強度が鮮度に関連しないことから、Trp蛍光強度を基準に用い、NADHとTrpの蛍光強度比から、鮮度との関連性を分析した。なおK値は、鮮度が低下するほど大きくなる鮮度指標である。

図3に、NADH - Trp蛍光強度比およびK値の保存時間依存性を示す。NADH - Trp蛍光強度比は、保存時間0hのときに約0.032で、保存時間が長くなるとともに徐々に減少し、72h後には0.010まで小さくなった。一方、K値については保存時間が長くなるほど増加し、72h後には50%以上を示した。これらの実験結果から、NADH - Trp蛍光強度比とK値とは関連性が認められ、NADH - Trp蛍光強度比を用いることによって、ホッケの鮮度を評価できることが分かった。

本研究では、蛍光測定によるホッケの鮮度評価について検討した。三次元蛍光スペクトル測定の結果から、ホッケ筋肉のTrp蛍光強度は鮮度にほとんど依存しないが、NADH蛍光は鮮度に関連することを実証した。今後は評価対象となる魚種を拡大し、分析精度や測定速度をさらに向上させ

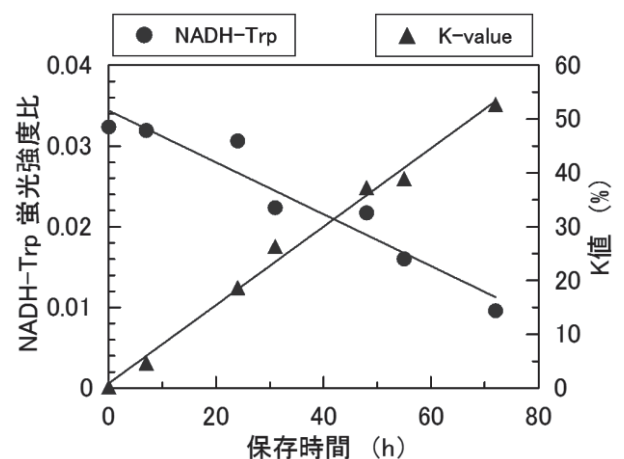


図3 NADH-Trp 蛍光強度比および K 値の保存時間依存性

て、水産加工現場で利用可能な鮮度評価装置の開発に取り組む予定である。

謝 辞

本研究の一部は、科学技術振興機構（JST）の研究成果展開事業「マッチングプランナープログラム」の支援により実施した。関係各位に感謝する。

参考文献

- 1) 渡邊悦生編：魚介類の鮮度と加工・貯蔵(改訂版)
（成山堂）、(1998)、P10
- 2) 菅原智明、野村保友、加藤早苗、吉岡武也、
木下康宣、小田功：北海道立工業技術センター
研究報告、第11号（2010）、P21～24
- 3) 菅原智明、野村保友、加藤早苗、吉岡武也、
木下康宣、小田功：北海道立工業技術センター
研究報告、第12号（2012）、P50～52
- 4) 菅原智明：工業材料（日刊工業新聞社）、第65
巻、第1号（2017）、P10～11