

5. 光学的特性による水産物の品質評価技術の開発

応用技術支援グループ	○菅原智明
食産業技術支援グループ	吉岡武也、木下康宣
前橋工科大学	野村保友
旭川医科大学	加藤早苗
木更津工業高等専門学校	小田 功

1. はじめに

ホタテガイやスルメイカもしくはイカ類などの水産物は、北海道で年間 100 万トンを超える漁獲量がある。水産物の流通・販売において鮮度保持は、漁業従事者にとって重要な課題の一つである。また鮮度保持技術の研究には、水産物の鮮度を迅速に評価することが必要不可欠である。従来の評価方法としては、死後に体内のアデノシン三リン酸 (ATP) の分解産物が蓄積することを利用した K 値測定や ATP 分析が知られている。どちらの化学的分析方法も鮮度を精度よく評価することが可能であるが、分析に時間がかかるという短所がある。一方、光学的評価方法には迅速で非破壊、高感度といった長所がある。

魚の品質分析に蛍光分光分析を用いた研究例としては冷凍—解凍切り身魚、生で 5 日以上冷蔵した魚などが報告されているが、これまでに短期間冷蔵品への応用はなかった。蛍光分光分析の短所としては、蛍光強度が励起光の強度やサンプルの表面状態によって変化するため、高精度の測定を行うためには蛍光強度の較正が必要となることである。

本研究では新鮮なホタテガイやスルメイカを生そのまま 3 日間冷蔵保存したときの鮮度を、光学的特性を用いて評価した。その結果、自家蛍光物質の蛍光スペクトルを測定することにより、水産物の迅速な品質評価が可能であることが分かった。

2. 実験方法

2.1 試料

試料には、函館近海で漁獲されたホタテガイとスルメイカを使用した。活ホタテガイ貝柱や活スルメイカを 3×3 mm、長さ 15 mm にカットして測定用サンプルとした。サンプルは、石英ガラス製の三角セルに入れてセルの中で動かないように固定した。サンプルはセルに入れたまま、10℃に保たれた冷蔵庫に保管し、保存中は試料表面の乾燥を防ぐため、セルをプラスチック包装フィルムで覆った。測定する前にはサンプルを冷蔵庫から取り出し、サンプルの温度を 20℃付近まで徐々に上昇させてから、蛍光を測定した。測定後は、冷蔵庫の中でサンプルの温度をゆっくり下げて 10℃で保存した。蛍光スペクトルを比較するため、試薬として純度 98 %のβ型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型 2 ナトリウム塩水和物 (β-NADH) と純度 98 %のL-トリプトファンを用いた。

2.2 測定

蛍光スペクトルの測定には蛍光分光分析装置 (日本分光 (株) 製 FP-6600) を用いた。光検出には光電子増倍管を使用し、室温で測定を行った。蛍光の測定条件は、光学スリット幅を放射側で 6 nm、励起側で 5 nm とした。波長走査スピードは 100 nm/min として 270~600 nm の波長範囲で蛍光スペクトルを測定した。自家蛍光物質として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。

3. 実験結果

3.1 蛍光スペクトル測定

図 1 に、紫外線照射によるホタテガイ貝柱とスルメイカの蛍光の様子を示す。青く光って見えるのが自家蛍光物質からの蛍光である。図 2 に、生鮮スルメイカの蛍光スペクトル測定結果を示す。サンプルに波長 365 nm の紫外線を照射すると、454 nm にピークを持つ蛍光放射スペクトル (Em) が観測された。励起スペクトル (Ex) のピーク波長は 361 nm を示した。両者のスペクトルをこれまでに知られている自家蛍光物質のスペクトルと比較した結果、この青色蛍光の成分は、NADH という補酵素であることが分かった。試薬のβ-NADH 溶液と比較すると、試料の蛍光放射スペクトルは、β-NADH 溶液のスペクトルと一致した。一方、試料の励起スペクトルは、β-NADH 溶液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 の状態と異なっていることが考えられる。

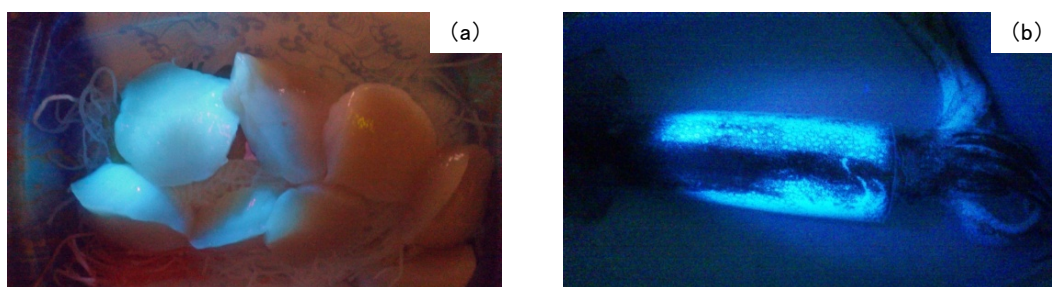


図1 紫外線照射による蛍光
(a)ホタテガイ貝柱 (b)スルメイカ

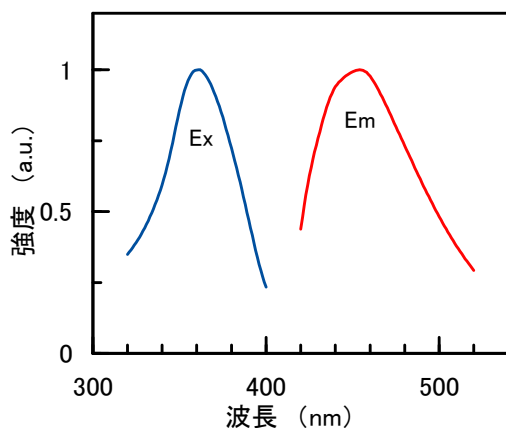


図2 スルメイカのNADHに関連する
蛍光スペクトル
Em:放射スペクトル
Ex:励起スペクトル

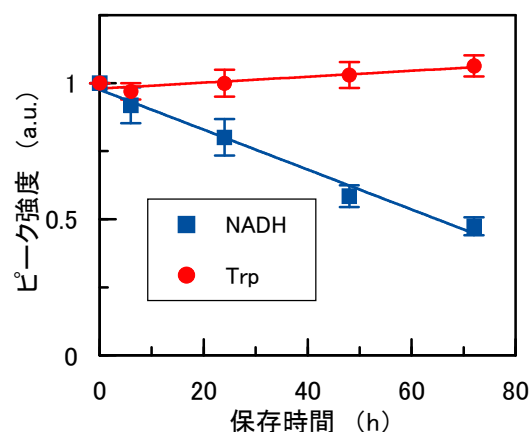


図3 スルメイカの蛍光ピーク強度の
保存時間依存性
保存温度:10°C
Trp:トリプトファン

3.2 蛍光と鮮度

NADHは生体のエネルギー代謝に関連する物質であることから、NADHの蛍光強度を測定することで鮮度が評価可能か、検討を行った。また分析精度の向上のために、アミノ酸の一種であるトリプトファンの蛍光についても測定を行った。図3に、スルメイカの蛍光ピーク強度の保存時間依存性を示す。図の蛍光強度は、0時間の強度で規格化されている。NADHの蛍光強度は冷蔵保存時間とともに単調に減少し、72時間後には約0.5にまで低下した。蛍光強度の減少の理由としては、NADHはATPが産生するときの必須物質の一つとして知られていることから、保存時間とともに代謝が低下し、NADH濃度とATP濃度の両方が減少したことが考えられる。一方、トリプトファン(Trp)の蛍光強度については、保存時間に依存せず、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。例えば測定においてトリプトファンの蛍光強度が変化する場合には、原因として測定系の変動が考えられ、強度の変化分を誤差として修正することもできる。以上のことから、トリプトファンの蛍光を基準としてNADHの蛍光強度を評価することで、精度の高い品質評価が可能であると考えられる。また、蛍光測定波長を限定し、LED光源や光学フィルタ等を利用することによって、評価機器の小型化が期待できる。

4. まとめ

水産物の光学的特性を評価することによって、非破壊かつ迅速な品質評価技術を開発した。蛍光測定の結果、生体内のNADHの蛍光強度が鮮度に強く依存することが分かった。またトリプトファンの蛍光を同時に測定することで、品質評価の精度向上が期待できる。今後、流通現場で使用可能な小型評価機器の開発に向け、さらに研究を行う予定である。

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)」補助事業により実施した。