カツオ・マグロ缶詰の褐変（オレンジミート） 防止に関する研究—I

解凍および製造工程中のグリコーゲン分解物量の変化^{*1}

藤井 豊・石川宣次・中村邦典

(1974年9月10日受理)

Studies on the Prevention of the Browning of Canned
Skipjack and Albacore (Orange Discoloration)—I
Changes in Amounts of Glycolytic Intermediates in Skipjack
Meat during Thawing and Canning Process

Yutaka FUJII^{*2}, Senji ISHIKAWA^{*2}, and Kunisuke NAKAMURA^{*2}

The browning of canned skipjack and albacore is called "orange discoloration" and it is well-known that the appearance of orange discolored meat is particularly noted in brine frozen fish. It has been shown by YAMANAKA *et al.* that glucose-6-phosphate (G6P) is the sugar primarily responsible for orange discoloration. In this paper, changes in the amounts of glycolytic intermediates in skipjack meat during its canning process were examined in connection with the extent of the discoloration.

The amounts of glycolytic intermediates in skipjack meat obtained from canning factories were 9~253 mg/100 g for glycogen, 8~319 mg/100 g for D-glucose, 22~229 mg/100 g for G6P, and 237~858 mg/100 g for lactic acid.

There existed a linear relation with a high correlation coefficient between the amount of D-glucose or G6P in defrozen meat and the intensity of orange discoloration. The most intense discoloration occurred in all skipjack meats with more than 150~200 mg of G6P per 100 g of meat.

近年、わが国のカツオ・マグロ缶詰に広く発生している褐変はオレンジミートと呼ばれ、ブライン凍結魚に多発している。この変色がグルコース-6 磷酸をおもな糖類とする MAILLARD 反応の結果であることは、すでに、清水ら^{1,2)}、山中ら^{3,4)} によつて実験的に証明されている。オレンジミートは製品の色調を損なうばかりでなく、特異な刺激臭を生ずるため、輸出缶詰の官能検査において格づけ等級の低下原因の一つになっており、業界に与える経済的な損失も大きい。

現在までに知られている予防法としては漁獲直後の予冷処理が最も有効であるが⁵⁾、新しい設備や労力が必要なため、まだ一部の漁船で実施されているに過ぎない。したがつて、本研究では、産業的観点からみたオレンジミートの発生原因を明らかにし、適切な防止法を開発することを目的とした。本報では、まず実態調査の意味で缶詰工場における原料肉のグリコーゲン分解物量と解凍および製造工程中におけるそれらの変化を調べ、さらに、製品中のオレンジミートの発生率との関係を検討した。

実験方法

試料および試験区の種類 使用した試料魚は3グループで、ともに北太平洋北西部（東沖）海域で釣獲

^{*1} 東海区水産研究所業績 B 第 601 号

^{*2} 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Kachidoki, Chuo-ku, Tokyo)

後ブライン凍結し、水揚げ後 -30°C 冷蔵庫に数カ月間貯蔵した凍結カツオであつた。分析にはすべて尾部の普通肉を用いた。

工場原料からの試料魚としては、焼津市の2工場から解凍中のカツオ(体重 $1.8\sim 2.1\text{ kg}$) 10尾ずつを選んで分析した。冷蔵庫搬出から分析までの経過時間は、A工場では約 30°C の空気中で 22 hr, B工場では 18°C 流水中で 2 hr であり、ともに半解凍の状態であつた。

解凍および製造試験の試料魚としては、凍結カツオ(体重 $1.6\sim 1.8\text{ kg}$) 200尾を 4°C の止水中で1晩放置し、ほぼ完全に解凍された魚の尾部肉約 5 g ずつを採取して 114°C , 60分蒸煮後、官能判定によつて正常魚とオレンジミート発生魚(以下オレンジ魚と略す)に区分した。まず、判定直後、正常魚とオレンジ魚を解凍試料として分析し、つぎに、オレンジ魚のみについて、さらに放置を続けた場合のグリコーゲン分解物の変化を調べた。すなわち、オレンジ魚5尾ずつを以下の条件でさらに1晩放置後分析した。放置条件は、a. 水氷区: 水氷に浸漬, b. 止水区: $10\sim 15^{\circ}\text{C}$ の止水に浸漬, c. 流水区: $18\sim 21^{\circ}\text{C}$ の流水に浸漬, d. 加温区: 流水中に1晩放置後、さらに 35°C の温湯に4hr浸漬であつた。なお、個体によつて判定したオレンジミートの強度に著しい差があつたため、できるだけ官能判定の結果が等しい魚を各試験区に配分した。

なお、製造試験の全試料魚について、1尾ずつ別々に常法に従つて水煮缶詰を製造し、蒸煮肉(ロイン)と缶詰肉を分析した。缶詰に使用した缶はツナ2号缶で、尾部肉を肉づめた缶詰を供試した。

グリコーゲンの定量 常法⁹⁾に従つて抽出したグリコーゲンを2N硫酸で加水分解し、生じたグルコースをフェリシアン化カリ滴定法⁷⁾で測定した。

グルコース-6 磷酸(G6P)の定量 HOHORST⁸⁾の方法に従い、試料肉の6%過塩素酸(PCA)抽出液を中和して分析に供した。供試液に G6P-dehydrogenase と nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADP)を加え、増加した NADPH (NADP の還元型)の 340 nm の吸光値を測定し、標準検量線から求めた回帰直線式を適用して G6P 量を算出した。

グルコース-1 磷酸(G1P)の定量 BERGMAYER⁹⁾の方法に従い、供試液に phosphoglucumutase, G6P-dehydrogenase, NADP を同時に添加して G1P を G6P に変え、G6P の場合と同様に 340 nm の吸光値の増加から G1P 量を算出した。

D-グルコースの定量 glucose oxidase による酸化法^{7,9)}を用いた。供試液に glucose oxidase, peroxidase, o-dianisidine を加え、増加した酸化型 dianisidine の 400 nm の吸光値を測定し、標準検量線から求めた回帰直線式を適用して D-グルコース量を算出した。

なお、現場で処理した PCA 抽出液は原則として直ちに -20°C に貯蔵し、実験室で解凍、中和して供試液を調製したが、現地試験の都合上、しばしば温度管理が不完全な場合が生じた。このため、試薬液を用いて、前記化合物の6%PCA溶液中の安定性を調べた。貯蔵温度が高くなるにつれて G1P から D-グルコースへの分解が著しく、たとえば、 -20°C に1カ月貯蔵後温湯で解凍すると 27.8%, $10\sim 20^{\circ}\text{C}$ に10日間放置後は 97.8% の G1P が、それぞれ D-グルコースに分解しており、PCA 溶液中の G1P が非常に不安定であることが確認された。したがつて、本報の D-グルコースの測定値は、D-グルコース+G1P として解釈されねばならない。また、D-グルコースおよび G6P はともに PCA 溶液中で極めて安定であつた。

乳酸の定量 BARKER¹⁰⁾の方法に従い、供試液中の妨害物質を水酸化カルシウムで除去後、乳酸を acetaldehyde に変えるため濃硫酸と加熱し、p-oxydiphenyl によつて発現する深青紫色の強さを 560 nm の吸光値で測定した。

官能検査とオレンジミートの強度(オレンジ強度と略す) 缶詰の官能検査は日本缶詰検査協会の検査員によつて行なわれた。検査項目としては、輸出用缶詰に対する検査で重点項目に挙げられている色調と香味を選んだが、さらに、オレンジ強度に対しても、5段階の判定を実施した。なお、オレンジ強度の指標として、原料肉の場合は尾部肉に倍量の水を加え、密封後 114°C , 90分蒸煮して得られた肉汁について、また、缶詰試料の場合は液汁 5 ml に 60% 過塩素酸 1 ml を加えたものについて、それぞれ上清液の 450 nm の吸光値を測定した。

実 験 結 果

工場原料肉のグリコーゲン分解物量 Table 1 に A, B 2 工場の原料肉の分析結果と 蒸煮後の肉汁の吸光値を示した。この肉汁は缶詰の液汁に相当するが、缶詰液汁の 450 nm の吸光値については、すでに、オレンジ強度に対する官能判定とよく一致することが確認されている¹⁾。本試験においても官能的に強度のオレンジミートが出現した試料の加熱肉汁または缶詰液汁の 450 nm の吸光値はすべて 0.3 以上であつた。

Table 1 において、吸光値 0.3 以上の試料は、A 工場で 10 尾中に 7 尾、B 工場に 1 尾認められたが、当日の工場製品についても A 工場ではオレンジミートの発生が著しく、B 工場ではほとんど発生がみられなかつた。また、グリコーゲン、D-グルコースおよび G6P 量は、同じ工場原料の場合でも測定個体によって大きく変動し、10~300 mg/100 g の広範囲に分散している。

つぎに、成分量と吸光値、すなわちオレンジ強度との関係を調べると、Fig. 1 のグリコーゲンの場合は、工場別の試料について求めた相関係数は、それぞれ 0.925, 0.724 と非常に高かつたが、両工場の試料を合せた相関係数は 0.478 に低下している。したがつて、グリコーゲン量と吸光値との間には、同じ原料グループ内では高い相関関係があるが、異なつたグループの原料が混在する場合には必ずしも相関が認められない。Fig. 2 の D-グルコースの場合はグリコーゲンと異なり、工場別または両工場合せた相関係数がともに高く 0.722~0.856 である。また、Fig. 3 の G6P は工場別の相関係数はあまり高くないが、両工場を合

Table 1. Amounts of glycolytic intermediates in skipjack meat samples obtained at canning factories A and B and the optical densities of meat juice after cooking

Sources of samples and conditions of defreezing	Glycogen mg/100 g	D-Glucose (+G1P) mg/100 g	G6P mg/100 g	Lactic acid mg/100 g	E ₄₅₀ of meat juice*
Factory A left at 28°C for 22 hr in air	108	131	45	656	0.193
	96	213	177	355	0.602
	128	173	229	340	0.776
	56	128	138	463	0.426
	253	216	136	237	1.500
	105	160	180	312	0.629
	49	164	204	562	0.449
	179	205	210	381	0.891
	9	64	22	581	0.082
	9	61	44	745	0.117
Factory B left at 18°C for 2 hr in running water	78	122	115	820	0.104
	71	197	89	610	0.096
	106	203	184	769	0.360
	70	49	77	756	0.090
	87	319	228	679	0.250
	11	8	52	760	0.052
	71	68	97	858	0.120
	23	12	53	665	0.058
	56	13	37	583	0.112
	43	172	159	774	0.226

* To 5 g of caudal meat 10 ml of water was added, cooked at 114°C for 90 min after being sealed and the optical density at 450 nm of the filtrate was measured.

Fig. 1. Relation between the amount of glycogen in skipjack meat and the intensity of orange discoloration represented by the optical density at 450 nm of aq. extract of the meat cooked at 114°C for 90 min.

○ sample fish of factory A
● sample fish of factory B
----- each sample regression
—— total sample regression

せた場合には D-グルコースと同様に 0.723 の相関係数を示している。したがって、D-グルコースと G6P 量については、吸光値との間に常に高い相関関係があるように思われた。

正常魚とオレンジ魚のグリコーゲン分解物量の比較

カツオ・マグロ缶詰の製造法は凍結原料を 1 晩解凍し、生切り、蒸煮後さらに 1 晩放冷し、整形、肉づめ、加熱殺菌工程を経て 3 日間で製品化される。この中蒸煮工程では 100°C、100~180 分の加熱（魚肉中心温度 78~80°C）が行なわれるため、魚肉中の酵素はこの工程中に完全に失活し、以後の工程では自家消化酵素による成分変化は考えられない。したがって、製造工程中の成分変化としては、解凍中と肉中の酵素が失活するまでの蒸煮初期の変化が最も重要であろう。なお、本試験では、最初に 1 晩解凍した原料の尾部肉をテスト蒸煮し、官能判定によつて正常魚とオレンジ魚を選別後、オレンジ魚のみを用いてさらに放置試験を行なっている。このため、

Fig. 2. Relation between the amount of D-glucose(+G1P) in skipjack meat and the intensity of orange discoloration represented by the optical density at 450 nm of aq. extract of the meat cooked at 114°C for 90 min*.

* See the footnote of Fig. 1.

Fig. 3. Relation between the amount of G6P in skipjack meat and the intensity of orange discoloration represented by the optical density at 450 nm of aq. extract of the meat cooked at 114°C for 90 min*.

* See the footnote of Fig. 1.

別直後の試料が工場の解凍原料に相当し、試験区別の放置試料は、解凍後さらに1日を経過した特殊な条件となつている。

Table 2 に、解凍直後の試料の分析結果と対応する缶詰の官能判定を示した。解凍中、すべての試料でグリコーゲンほとんど消失している。D-グルコースと G6P はオレンジ魚に多いが、とくに G6P 量の差が大きい。また、オレンジ魚では、分析値の個体変動が著しく、たとえば、テスト蒸煮肉の判定が + または 卅 であつた No. 20 と 33 の D-グルコースおよび G6P 量は非常に多く、それぞれ 200 mg/100 g 以上、300 mg/100 g 以上であるが、± と判定された試料では、両成分の量が正常魚より少ない場合も認められる。

官能判定については、正常魚ではオレンジミートの発生が全く認められず、香味と色調がすべて上位の a' に判定され、しかも液汁の 450 nm の吸光値は平均 0.121 で非常に低い。これに対して、オレンジ魚では No. 20 と 33 に強いオレンジミートが発生し、香味と色調が下位の b または b' に判定された缶が多く、液汁の吸光値も非常に高く 0.333 である。

放置中のグリコーゲン分解物量の変化 Table 3 に、放置後のオレンジ魚の分析結果と対応する缶詰の官能判定を示した。分析値の個体変動が大きいため、試験区間の比較は平均値によつて行なつた。

放置中の変化は、Table 2 のオレンジ魚の結果との比較から推定できるが、全試験区で D-グルコースと乳酸が増加し、G6P が減少している。しかし、増減の量は試験区によつて異なり、放置温度の高い加温区と流水区は、放置温度の低い氷水区と止水区に比べて D-グルコースの増加が少なく、G6P の減少が多い傾向が認められる。なお、個体別にみると、テスト蒸煮肉の官能判定が + または 卅 であつた個体は、放置中の減少にもかかわらず、放置後の D-グルコースおよび G6P 量が依然として多く、ともに 200~300 mg/100 g である。

官能判定は、加温区の香味と色調の判定が他の試験区にくらべてやや劣つている以外に、試験区間にはとくに差は認められない。この加温区の判定の劣下は、原料魚の鮮度低下によるものと考えられる。オレンジ強度については、液汁の平均吸光値から推定されるように、氷水区と止水区に比べて流水区と加温区の官能判定が弱い傾向があるが、テスト蒸煮肉の官能判定が + または 卅 の個体は液汁の吸光値がほとんど低下することなく、オレンジ強度も非常に強かつた。

蒸煮肉と缶詰肉のグリコーゲン分解物量 Table 4 に試験区別の蒸煮肉と缶詰肉の分析結果を示した。蒸煮肉と缶詰肉の D-グルコースと G6P は未加熱肉に比べて著しく少なくなつているが、加熱中の糖-アミノ反応の進行によるものであろう。Table 2 と 3 の加熱前の解凍肉の糖含量に対する、蒸煮肉と缶詰肉で減少した糖含量の百分比を反応率として、糖の種類別に比較すると、蒸煮肉では、D-グルコース 35~76%、G6P 88~95%、缶詰肉では、それぞれ 68~95%、94~98% である。この結果、D-グルコースに比べて、G6P の反応性が非常に高いことが判る。

考 察

本試験では、まず、缶詰工場の原料分析と缶詰製造試験の結果から、オレンジミートの主要な原因物質が G6P と D-グルコース (G1P を含む) であることを確認した。カツオ肉においては、含量の多少はあつても G6P は必ず存在し、また同時に、アミノ酸も常に充分な量が存在する。したがつて、高温加熱食品である缶詰の場合、G6P の関与する糖-アミノ反応は常に発生しており、その強度が著しいときのみオレンジミートとして識別される。本試験で得られた範囲では、官能的にオレンジミートとして識別され、しかも、輸出缶詰検査における判定等級の低下が生じたときの原料肉の G6P は約 150~200 mg/100 g 以上である。

つぎに、変色が予知された魚の放置試験の結果 (Table 3) にみられるように、全体的に、解凍時間の延長あるいは温度の上昇によつてある程度 G6P 量を減少させ、製品のオレンジ強度を低下させることができる。しかし、解凍直後に行なつたテスト蒸煮の官能判定が + または 卅 の個体、すなわち、すでに非常に多量の G6P が蓄積していたと思われる原料魚については、解凍時間の延長または温度上昇によつてオレンジミートの発生を防止することは極めて困難なように思われる。たとえば、Table 3 の加温区の場合は、

Table 2. Amounts of glycolytic intermediates in defrozen meat of the normal and the orange discolored skipjack and the organoleptic judgements on the canned products prepared from the materials

Samples	Specimen No.	Glycogen mg/100 g	D-Glucose (+G1P) mg/100 g	G6P mg/100 g	Lactic acid mg/100 g	Organoleptic judgement			E ₄₅₀ of canned liquid* ³
						Odor	Color	Intensity of orange dis- coloration* ²	
Normal fish	1	5	97	118	556	a'	a'	—	0.090
	22	4	138	84	625	a'	a'	—	0.140
	56	3	110	95	638	a'	a'	—	0.165
	166	4	102	84	665	a'	a'	—	0.090
	Mean	4	112	95	621				0.121
Orange discolored fish	8	4	119	168	614	a'	a'	—	0.167
	20* ¹	7	210	339	776	b	b'	##	0.580
	33* ¹	8	227	370	618	b'	b'	##	0.490
	62	7	86	67	544	a'	a'	—	0.105
	98	5	170	243	371	b	b	±	0.321
	Mean	6	162	237	585				0.333

*¹ When the orange discolored fish was selected, the organoleptic judgement on the intensity of orange discoloration was + or ## for the marked fish and ± for no marked fish.

*² — negative orange color, ± slight orange color, + fairly strong orange color, ## strong orange color, ### very strong orange color.

*³ 1 ml of perchloric acid (60%) was added to 5 ml of canned liquid and the optical density at 450 nm of the filtrate was measured.

Table 3. Amounts of glycolytic intermediates in the orange discolored skipjack meat held at various conditions and the organoleptic judgements on the canned products prepared from the materials

Condition of holding	Specimen No.	Glycogen mg/100 g	D-Glucose (+G1P) mg/100 g	G6P mg/100 g	Lactic acid mg/100 g	Organoleptic judgement			E ₄₅₀ of canned liquid* ³
						Odor	Color	Intensity of orange discoloration* ²	
a. immersing in iced water overnight	50	2	122	92	663	a'	a'	—	0.098
	97* ¹	13	307	283	632	b	b	‡	0.488
	116	39	328	260	539	b	b	‡	0.380
	137	3	101	140	1499	b	a'	±	0.247
	192* ¹	7	238	332	1360	b'	b'	‡	0.563
	Mean	13	219	221	939				0.355
b. immersing in still water at 10~15°C overnight	36	3	190	77	1218	b	a'	±	0.155
	79* ¹	3	272	236	1098	b	b	‡	0.373
	84	2	174	200	1147	a'	a'	±	0.265
	121	3	189	128	1080	b	a'	±	0.228
	183* ¹	3	279	268	910	b'	c	‡	0.720
	Mean	3	221	182	1091				0.348
c. immersing in running water at 18~20°C overnight	10	5	68	31	590	b'	a'	—	0.078
	25* ¹	16	323	243	430	b'	b'	‡	0.530
	41* ¹	8	265	165	576	b	b	+	0.312
	70	4	116	75	554	b	a'	—	0.103
	108	8	132	40	676	b	a'	—	0.080
	Mean	8	181	111	565				0.221
d. immersing in still water at 40°C for 3 hr after immersing in running water overnight	13* ¹	2	215	173	765	b	b	+	0.372
	54	4	210	115	869	b	b	+	0.308
	77	2	182	132	738	b'	b	+	0.402
	109	4	121	115	942	b'	a'	—	0.113
	118* ¹	3	275	189	658	b'	c	‡	0.398
	Mean	3	201	145	794				0.319

*¹, *², *³ See the footnote in Table 2.

Table 4. Amounts of glycolytic intermediates in the cooked and canned meat prepared from skipjack held at various conditions after thawing

Sample	Condition of holding*	Kind of sample meat	Number of sample	Glycogen mg/100 g	D-Glucose (+ G1P) mg/100 g	G6P mg/100 g	Lactic acid mg/100 g
Normal fish	Control	Cooked meat	3	3	27	7	1432
		Canned "	4	3	4	2	1287
Orange discolored fish	Control	Cooked meat	5	6	45	23	1331
		Canned "	5	5	12	7	1410
	a.	Cooked meat	5	15	86	25	619
		Canned "	5	11	44	10	1219
	b.	Cooked meat	5	8	85	21	789
		Canned "	5	3	24	5	1283
	c.	Cooked meat	5	15	118	12	731
		Canned "	5	15	57	7	1297
	d.	Cooked meat	5	5	59	8	630
		Canned "	5	2	8	3	1162

* See the column of condition of holding in Table 3. Control fish was allowed to be followed to the canning process instantly after thawing.

Numerals are average of values measured on 3~5 sample meat of each group.

製品の香味判定において原料魚の鮮度低下による品質の劣下が生ずるまで放置時間の延長および温度の上昇を試みているが、オレンジミートの発生を防止できなかった。

終りに、本研究の御指導と報告のご校閲を受けた東海区水研利用部長岡田稔博士、試料缶詰の製造ならびに官能検査の実施にご協力いただいた清水水産 K. K. 用宗工場、日本缶詰検査協会に厚く御礼申し上げる。

要 約

缶詰工場の凍結原料カツオについて、原料肉、解凍肉、蒸煮肉および缶詰肉のグリコーゲン分解物量を測定し、オレンジミートの発生との関係を調べた。

1. 原料カツオ肉のグリコーゲン分解物量は、グリコーゲン 9~253 mg/100 g, D-グルコース 8~319 mg/100 g, グルコース-6 磷酸 (G6P) 22~229 mg/100 g, 乳酸 237~858 mg/100 g で、測定個体により著しい違いがあつた。

2. 解凍肉の D-グルコースおよび G6P 量とオレンジミートの強度との間には高い相関関係が認められ、肉中の両成分量が多いほど、オレンジミートの発生が著しかつた。本試験の範囲では、G6P 量が 150~200 mg/100 g 以上の原料魚に、すべてオレンジミートが出現した。

3. 強度のオレンジミートの出現が予知された原料魚では、解凍後さらに 1 晩放置を行なつても G6P の減少は僅かで、オレンジミートの強度にもほとんど変化がなかつた。

4. 蒸煮肉および缶詰肉の D-グルコースおよび G6P 量は、解凍肉に比べて著しく少なく、加熱中に糖-アミノ反応が進行したものと推定された。

文 献

- 1) 清水泰幸・尾藤方通：本誌，39，543-549 (1973).
- 2) 清水泰幸・尾藤方通：同誌，39，551-556 (1973).
- 3) 山中英明・尾藤方通・横関源延：同誌，39，1293-1298 (1973).
- 4) 山中英明・尾藤方通・横関源延：同誌，39，1299-1308 (1973).
- 5) 吉田 繁：缶詰時報，49，907-910 (1970).
- 6) 藤井暢三：生化学実験法 (定量編)，第 9 版，南山堂，東京，1949，pp. 216.
- 7) 福井作蔵：還元糖の定量法，第 3 版，東大出版会，東京，1973，pp. 15-17, 137-140.
- 8) H. J. HOHORST: in "Method of Enzymatic Analysis" (ed. by H. U. BERGMAYER), Academic Press, New York, 1963, pp. 131-138.
- 9) A. S. G. HUGGETT and D. A. NIXON: *Biochem. J.*, 66, 12 p (1957).
- 10) 赤堀二郎：酵素研究法，3，朝倉書店，東京，1957，pp. 17-18.