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—IV

水氷および -3°C 空気放置中の凍結カツオ肉の
グリコーゲン分解^{*1}

石川 宣次・中村 邦典・藤 井 豊

(1974 年 11 月 15 日受理)

Studies on the Prevention of the Browning of Canned Skipjack
and Albacore (Orange Discoloration)—IV

Decomposition of Glycogen in Frozen Skipjack
Meat in Iced Water and in Air at -3°C

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

Frozen skipjack prestored at -40°C was warmed once or several times up to $-2\sim-10^{\circ}\text{C}$ during the storage period and finally thawed at 15°C for 5 hr in water. The amounts of glycolytic intermediates in the frozen and defrozen meats after storage were examined in relation to the extent of orange discoloration.

1. When sample fish was thawed after standing at -0.5°C and -6°C for 2 and 4 days, the amounts of D-glucose-6-phosphate (G6P) and D-fructose (F6P) in the meats were increased remarkably and an intense orange discoloration was induced on cooking.

2. In samples thawed after standing at -10°C for 2 days, there was little change in the amounts of G6P and F6P in the meat and no orange discoloration, while in those left standing for 4 days, the amounts of both increased remarkably, resulting in the most intense discoloration on cooking.

3. In meats thawed after standing at $-2\sim-5^{\circ}\text{C}$ for 7 hr, there were increased amounts of G6P and F6P and on cooking, only slight orange discoloration developed.

前報¹⁾において、 -40°C に凍結貯蔵中のカツオを $-0.5\sim-10^{\circ}\text{C}$ に 1~4 日間放置し、 -40°C に再貯蔵後解凍したが、その結果、大部分の放置および解凍肉で G6P が急増し、蒸煮肉のオレンジミートの発生が著しくなることを認めた。本報では、このような処理による凍結および解凍肉中の G6P の蓄積原因を明らかにするため、水氷と -3°C の空气中に放置した凍結カツオについて、放置中のグリコーゲン分解物の消長を調べた。

実験方法

試料魚 前報²⁾と同様に、静岡県水産試験場の指導練習船富士丸が 1973 年 8 月、マリアナ海域で釣獲

^{*1} 東海区水産研究所業績 B 第 605 号

本研究の内容は昭和 49 年 4 月の日本水産学会年会で発表した。

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

本報では以下の略号を使用した。

G1P; D-glucose-1-phosphate, G6P; D-glucose-6-phosphate, F6P; D-fructose-6-phosphate, FDP;
D-fructose-1,6-diphosphate, HK; hexokinase, PFK; phosphofructokinase

したブライン(-17°C)凍結カツオを試料魚とした。試料魚は体重 3~4 kg で、供試まで -40°C に 7 カ月間貯蔵した。なお、放置中の魚体温を速やかに放置温度まで上昇させるため、供試前の 2 日間は試料魚の貯蔵温度を -10°C とした。

3 尾ずつの試料魚を氷水と -3°C の室内に 8 日間放置し、魚体中央部から尾部に向かって背側の普通肉約 10 g ずつを経時的に採取した。試験に用いた氷水と -3°C 空気放置は、前者をオレンジミートが発生しない条件、後者をオレンジミートの発生が著しい条件として、それぞれ前報^{1,2)}の結果に基づいて選んだ。なお、放置中の魚体温は、氷水区では 5 時間後、-3°C 区では 30 時間後にそれぞれの放置温度に達した。

分析方法 グリコーゲン、D-グルコース、G1P、G6P、F6P、FDP および乳酸の測定は、前報^{1,3)}の方法に従った。なお、前報で指摘した過塩素酸抽出中に起こる G1P から D-グルコースへの分解を防ぐため、抽出操作は 0°C 付近の室内で行なった。また、分析にはすべてペーリンガー製の試薬を用いた。

ATP 分解物の測定には著者ら⁴⁾の酵素法を用い、インシン酸(IMP)、イノシン(HxR)およびヒポキサンチン(Hx)量を測定した。

蒸煮肉のオレンジ強度の測定 前報¹⁾と同様に、試料肉 5 g を 2% 食塩水 5 ml とともに塩化ビニリデンチューブに入れ、密封後 100°C、60 分および 114°C、90 分蒸煮した。冷却後の内容物に 60% 過塩素酸 1 ml を加え、磨砕後遠心分離した上清の 450 nm の吸光値を測定して蒸煮肉のオレンジ強度の指標とした。

実験結果

グリコーゲンおよび D-グルコースの変化 Fig. 1 に放置中のグリコーゲンと D-グルコース量の変化を示した。グリコーゲンはグルコースに換算して肉 1 g 当りの μmole で表わした。なお、図示した測定値は、すべて試験区別の試料魚 3 尾ずつの平均値である。

0 時間のグリコーゲンは氷水区で $26 \mu\text{mole/g}$ 、-3°C 区で $31 \mu\text{mole/g}$ であったが、氷水区では 5 時間後に約 1/3 に減少し、34 時間以後はほとんど消失した。しかし、-3°C 区では減少が緩慢で、30 時間後に約 1/3 に減少したが、5 日後にまだ $3 \mu\text{mole/g}$ のグリコーゲンが残っていた。

Fig. 1. Changes in the amounts of glycogen and D-glucose in skipjack meat stored in iced water and in air at -3°C. Each point represents the mean value for three fish of the same group.

○ In iced water ● In air at -3°C, — Glycogen --- D-Glucose

D-グルコースは氷水区では 0~3 日の間に $2\mu\text{mole/g}$ から $6\mu\text{mole/g}$ に漸増した。また、 -3°C 区では氷水区と比較して増加速度が一層緩慢になり、0~8 日までの間に $1\mu\text{mole/g}$ から $5\mu\text{mole/g}$ に増加した。

G1P, G6P および F6P の変化 Fig. 2 に G1P, G6P および F6P 量の変化を示した。G1P は凍結カツオ肉中では非常に少なく、その上、氷水区、 -3°C 区ともに放置中の変化もほとんど認められず $0.5\mu\text{mole/g}$ 以下で推移した。僅かに目立つた変化としては、グリコーゲンが急激に減少した氷水区の 5 時間後と -3°C 区の 10 時間後に約 $1\mu\text{mole/g}$ までの増加が認められたに過ぎない。

G6P は 0 時間の含量は極めて低かつたが、G1P, F6P に比べて放置中著しく増加した。放置中の変化は、氷水区では G1P と同様に 5 時間後に $7\mu\text{mole/g}$ の極大値がみられたが、それ以後は $5\sim 7\mu\text{mole/g}$ の範囲で変動し、とくに目立つた増減は認められなかつた。 -3°C 区ではやはり G1P の場合と同様に 10 時間後に低い極大値が認められたが、その後も 4~5 日後まではほぼ直線的に増加し $15\mu\text{mole/g}$ の高含量に達した。

F6P は放置中の G6P のすべての含量範囲で、前報¹⁾でも認められたように常に G6P の約 1/4 であつた。なお、図に示した試験区別の平均値以外に個体別の測定値でも、F6P 量の変化は G6P のそれと完全に一致していた。

FDP および乳酸の変化 Fig. 3 に放置中の FDP および乳酸量の変化を示した。FDP は、氷水区では 0 時間の $5\mu\text{mole/g}$ が 5 時間後に $1\mu\text{mole/g}$ に減少し、その後ほとんど消失した。 -3°C 区では、グリコーゲンの減少に対応して 1 日後に $17\mu\text{mole/g}$ まで急増したが、その後次第に減少して 6 日以後は $2\mu\text{mole/g}$ 以下となつた。

乳酸は FDP の変化とは逆に、氷水区では 0 時間の $171\mu\text{mole/g}$ が 10 時間後に $260\mu\text{mole/g}$ まで激増し、その後 5 日後までは比較的緩慢に減少、また 6 日後からはかなり急速に減少して 8 日後に 0 時間の含量とほぼ等しい $173\mu\text{mole/g}$ まで低下した。これに対して -3°C 区では、2 日後までに $185\mu\text{mole/g}$ までの増加があつただけで、その後 7 日後まで $180\sim 190\mu\text{mole/g}$ の含量で推移した。

蒸煮肉のオレンジ強度の変化 Fig. 4 に放置中の試料魚から調製した加熱肉汁の 450nm の吸光値変

Fig. 2. Changes in the amounts of G1P, G6P and F6P in skipjack meat stored in iced water and in air at -3°C . See the footnote in Fig. 1.

— D-Glucose-1-phosphate (G1P) — D-Glucose-6-phosphate (G6P)
 D-Fructose-6-phosphate (F6P)

Fig. 3. Changes in the amounts of FDP and lactic acid in skipjack meat stored in iced water and in air at -3°C . See the footnote in Fig. 1.

— D-Fructose-1,6-diphosphate (FDP) ---- Lactic acid

Fig. 4. Changes in E_{450} , an indicator of the orange discoloration of meat juice of the skipjack which was stored for various periods in iced water or in air at -3°C , followed by cooking at 100°C for 60 min and 114°C for 90 min. See the footnote in Fig. 1.

Fig. 5. Changes in the IMP ratio of skipjack meat left in iced water and in air at -3°C . The IMP ratio is percentage of the mole of IMP to the total mole of hypoxanthine (Hx), inosine (HxR) and inosinic acid (IMP). See the footnote in Fig. 1.

化を示した。この吸光値は前報でも指摘したように、カツオ缶詰肉のオレンジ強度に対する官能判定とよく一致した。すなわち、吸光値 0.2 は軽度、0.3 以上は強度のオレンジミートを表わしている。

氷水区では放置中の吸光値は 0.11~0.14 でほとんど変化がなく、オレンジミートの発生は全く認められなかった。これに対して、 -3°C 区では 0 時間の吸光値 0.12 が 1 日後に強いオレンジミートを表わす吸光値 0.30 まで急激に上昇し、5 日後までは常に 0.3 付近の吸光値を示した。また、5 日以後の吸光値は次第に低下したが、8 日後でもまだ 0.21 であった。

ATP 分解物の変化 放置中の試料魚の鮮度低下を調べるため、試料肉の IMP, HxR および Hx 量を測定した。鮮度の指標としては、3 者の合計に対する IMP および Hx の百分比を用いたが、Fig. 5 に

IMP 比の変化を示した。0 時間の IMP 比 99% は 8 日後に氷水区と -3°C 区でそれぞれ 36% と 50% まで低下した。カツオ・マグロ缶詰の品質と原料鮮度との関係について、著者ら⁴⁾は原料肉の IMP 比が 50% 以上、Hx 比が 10% 以下の場合は缶詰原料としてすぐれた鮮度であることを報告した。したがって、本試験の試料魚の鮮度は氷水区では 5 日後、 -3°C 区では 8 日後が、それぞれ缶詰原料としての鮮度限界のように思われた。

考 察

以上の結果から明らかなように、氷水および -3°C 空気放置中の凍結カツオ肉のグリコーゲンの分解には著しい違いが認められた。まず、氷水区では、凍結肉の大部分のグリコーゲンは普通の解糖経路を経て急速に乳酸まで分解したものと推定された。この推定は、氷水区に認められた急速なグリコーゲンの分解消失に対応して、G1P, G6P および F6P が 5 時間後に一時僅かな増加を示しただけで、10 時間後には減少していること、また、FDP は 10 時間後にほとんど消失し乳酸が増加しているが、10 時間後の乳酸の増加量は、この間に減少したグリコーゲンから生成される乳酸量を十分上廻っていたことなどから裏づけられる。

これに対して、 -3°C 区では氷水区に比べて放置中のグリコーゲンの分解が緩慢になっているばかりでなく、乳酸に至るまでの中間代謝生産物の蓄積量が非常に多かつた。たとえば、1 日後に減少したグリコーゲン約 $18\ \mu\text{mole/g}$ はこの間の FDP の増加量にほぼ等しく、さらに 1~4 日の間に減少したグリコーゲン約 $10\ \mu\text{mole/g}$ はこの間の G6P および F6P の増加量にほぼ対応している。このため、 -3°C 放置中に分解した凍結カツオ肉のグリコーゲンは、1 日後まではおもに FDP として、それ以後は G6P および F6P として蓄積したものと推定される。

なお、放置 1 日後に $17\ \mu\text{mole/g}$ に増加した FDP は 2~6 日の間に $2\ \mu\text{mole/g}$ まで減少しているが、この FDP から生成される筈の乳酸約 $30\ \mu\text{mole/g}$ と、この間の乳酸の増加量約 $15\ \mu\text{mole/g}$ との間には大きく違いがある。したがって、2 日以後に減少した FDP については、乳酸への分解以外に、前報¹⁾でも指摘したように D-fructose-1,6-diphosphatase の作用による FDP から F6P への変化が一部進行したのではないかと考えられる。D-グルコースについては、氷水区と -3°C 区で増加速度に違いはあるが、ともに放置中次第に増加している。この D-グルコースの増加は、凍結カツオ肉の HK の不活性化だけでは説明できないため、D-glucose-6-phosphatase による G6P から D-グルコースの生成も考慮する必要がある。

つぎに、放置中のグリコーゲン分解物の消長から G6P および F6P の蓄積原因を考察すると、Fig. 1 の結果からみて、phosphorylase については -3°C 放置では多少の不活性化は起こっていると思われるが、放置期間が長くなればグリコーゲンがほとんど消失することから、この酵素の不活性化はあまり著しいとは考えられない。また、phosphoglucumutase と glucosephosphate isomerase については、放置中の G1P の低含量および G6P と F6P の間に認められた平衡関係⁹⁾ などから考えて、氷水と -3°C 放置でともに目立つた不活性化はなかつたように思われる。

しかし、PFK については、Fig. 2 に示した放置中の G6P および F6P の増加傾向から考えて、とくに -3°C 放置中に PFK の著しい不活性化が進行するように思われる。たとえば、放置 8 日後でも G6P および F6P の蓄積量がほとんど低下しなかつたことから推定されるように、PFK の不活性化によつて -3°C に放置した場合の F6P 以後の解糖系の流れはほとんど完全に停止している。なお、aldolase については、氷水放置では FDP の増加が全く認められないため、とくに不活性化は起こらなかつたと思われるが、 -3°C 放置では、FDP 量の増加期間と試料魚の魚体温が放置温度に達するまでの所要時間がほぼ一致し、その後減少していることから、この酵素の作用は -3°C 以下の低温で著しく阻害されるものと推定した。

以上のような放置中の解糖系酵素活性の変化から、凍結カツオ肉中の G6P および F6P の蓄積原因に対して次のような推定を行なつた。すなわち、前報¹⁾または本試験のように、凍結カツオが $-0.5\sim-7^{\circ}\text{C}$ の温度範囲に放置された場合 PFK の著しい不活性化が起こるが、その時点でまだ肉中に残っているグリコー

ゲンは、このような放置によつてあまり影響を受けなかつた phosphorylase, phosphoglucomutase, glucosephosphate isomerase などの作用によつて F6P まで分解され、まず F6P が蓄積する。さらに、F6P と G6P との間には既述のような平衡関係があるため、F6P の蓄積について約 4 倍量の G6P が蓄積する結果となる。凍結による PFK の失活、凍結肉を解凍した場合の解凍肉中の G6P または hexose monophosphate 量の変化については、ニジマス,⁶⁾ ホタテ貝柱,⁷⁾ ウシ骨格筋の切片,⁷⁾ カツオ凍結肉片⁸⁾ などを用いた報告があるが、PFK 活性に対する凍結の影響の程度についてはまだほとんど検討されていない。したがつて、オレンジミートの防止のためには、今後、種々の凍結、貯蔵および解凍条件下における幅広い検討が必要と思われる。

最後に、ご校閲をいただいた東海区水研利用部長岡田 稔博士、試料魚の提供を受けた静岡県水産試験場に厚く御礼申し上げる。

文 献

- 1) 中村邦典・藤井 豊・石川宣次・和田 卓・沢田敏雄・長谷川 薫: 本誌, 投稿中.
- 2) 沢田敏雄・和田 卓・長谷川 薫・藤井 豊・中村邦典・石川宣次: 同誌, **41**, 35-41 (1975).
- 3) 藤井 豊・中村邦典・石川宣次: 同誌, **40**, 1297-1305 (1974).
- 4) Y. FUJII, K. SHUDO, K. NAKAMURA, S. ISHIKAWA, and M. OKADA: *This Bull.*, **39**, 69-84 (1973).
- 5) D. F. HILTZ and W. J. DYER: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **30**, 45-52 (1973).
- 6) 柴田 猛・中井俊雄・斉藤恒行: 北大水産彙報, **20**, 217-226 (1969).
- 7) R. K. SCOPES and R. P. NEWBOLD: *Biochem. J.*, **109**, 197-202 (1968).
- 8) 山中英明・尾藤方通・横関源延: 本誌, **40**, 941-947 (1974).