イカ墨汁の防腐成分^{*1}

望 月 篤

(1979 年 6 月 18 日受理)

An Antiseptic Effect of Cuttlefish Ink

Atsushi MOCHIZUKI^{*2}

Traditionally it has been believed that the cuttlefish ink exhibits an antiseptic effect on cured cuttlefish meat (ika-shiokara) produced in Japan.

Sliced aoriika, *Sepioteuthis lessoniana*, meat with and without the ink of the cuttlefish were stored at temperatures of 2–3°C, 13–15°C and 25°C, and the volatile basic nitrogen (VBN) were measured at intervals. The increase in VBN of muscles with the ink of the cuttlefish added were suppressed as compared with the control.

The substances which were precipitated at pH 4.0 and 11.5 were filtered off the ink, and the resulting supernatant was adjusted to pH 7.0, concentrated at 50°C, and desalted with methanol. The material thus purified exhibited inhibitory effect against *Staphylococcus aureus*, and had physicochemical properties similar to lysozyme.

頭足類は腺組織である墨汁嚢中に墨汁を有している。この主体はメラニンで、毛髪メラニンと性質がよく一致し、またアルブミン様タンパク質と結合しているとも言われている¹⁾。

この墨汁は、欧米にて絵具の原料として使用されているが、わが国では富山県においてイカ塩辛の一種である黒作りに混入されている。この使用目的は主に嗜好に由来するが、製造業者は墨汁に防腐効果があるとも考え、これを使用している^{2,3)}。

本研究はイカ類の墨汁の防腐効果を確かめ、また、その防腐物質が何であるかを検討することにより、水産加工食品に関してかなり多い伝承の一つであるイカ墨汁の防腐効果の科学的解明を試みるとともに、この伝承技法が水産加工食品の保存に役立ちうるか否かを検討しようとしたものである。若干の結果を得たので、ここに報告する。

実験方法

試料 東京中央魚市場で数匹のアオリイカ, *Sepioteuthis lessoniana*, を入手し、実験に供した。これらはいずれもかなり鮮度良好で、肉質部の揮発性塩基窒素量は、17 mg/100 g ほどであった。

墨汁採取 墨汁嚢をイカから取り出し、切開して墨汁を採取した。体重 1 kg ほどのイカから約 10 g の墨汁

が得られた。

保存試料 イカ墨汁の防腐効果の有無を調べるため次の試料を調製した。墨汁を採取したアオリイカの胴肉を小薄片となし、その 100 g に墨汁 10 g を添加混合し、また対照試料として同上肉 100 g に蒸留水 10 g を添加混合し、それぞれをシャーレに入れた。上記の試験試料および対照試料を 3 個ずつ調製した。

変敗度の測定 前記試料肉および対照肉を入れたシャーレの 1 個ずつを 1 組とし、それぞれの組を 25°C, 13°C–15°C および 2°C–3°C に保存し、一定時間ごとに一定量ずつを採取し、常法に準じた通気法にて揮発性塩基窒素を測定した。なお官能検査をあわせて行つた。

墨汁中の防腐成分の分離 墨汁中より防腐効果を有する物質の分離法を種々検討し、Fig. 1 に示す方法をえた。すなわち先ず墨汁中よりメラニンを除去するため墨汁に 0.1 N NaOH を加え、この液の pH を調節することによりメラニンを沈殿させ分別した。次に上記操作により滲液中に多量に混入した NaCl を除去するため、メタノールを添加し脱塩した。最後に目的とする物質を分別するため、エタノールを添加し沈殿物を減圧乾燥して白色粉末を得た。収量は墨汁 10 g あたり約 5 mg であった。

抗菌力試験 FDA 公定試験法にもとづいて実施した⁴⁾。すなわち、ステンレス製カップ (外径 8 mm, 内径

^{*1} 本研究の要約は昭和 47 年度日本水産学会秋季大会において発表した。

^{*2} 日本大学農獣医学部 (College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, 3-34-1, Shimouma, Setagaya-Ku, Tokyo).

Fig. 1. Scheme of extraction and isolation of anti-septic substance from cuttlefish ink

6 mm, 長さ 10 mm) を *Staphylococcus aureus* を加えた寒天培養基平板上に立て、カップ内に上記方法にてえた抽出物を滅菌蒸留水に溶解したものを満した。37°C にて 18 時間培養した後、発育阻止円の直径を測定した。

等電点の測定⁵⁾ 抽出物 22 mg を 0.01 N・NaOH 20 ml に溶解したものに 0.1 N・HCl を滴下しながら、pH および電導度の変化を測定した。pH の測定にはガラス電極 pH メータを、電導度の測定には白金電極および交流ブリッジを使用し、温度 25°C で行つた。得られた結果から電導度を縦軸に、pH を横軸にとつてグラフを描き、電導度が急激に低下した時の pH を等電点とした。

溶解性 抽出物 5 mg を各種溶媒 10 ml に入れ攪拌し溶解性を調べた。

沈降恒数 抽出物 6 mg を 1/15 M リン酸緩衝液 (pH 6.2) に溶解し、12 mm の合成界面セルを使用し、7°C, 51,200 rpm で行つた。

結果および考察

アオリイカ墨汁の防腐効果 25°C, 13°C~15°C および 2°C~3°C におけるアオリイカ肉の揮発性塩基窒素生成量の経日変化を、墨汁添加と無添加の場合について比較した結果を Table 1 に示す。表記のとおり 15°C および 25°C 付近では墨汁添加と無添加の肉では、揮発性塩基窒素生成量に明らかな差が認められた。3°C 付近では 4 日目にもほとんど差が認められなかつたが、これは低温効果が優越したためであろう。

次に Fig. 1 に示した方法によつて得た抽出試料について、防腐効果を調べた。Table 2 に示すとおり墨汁と前記抽出試料とは、ほぼ同程度の効果を有している。

また、官能検査による判定でも墨汁添加および抽出試料添加のイカ肉は、対照に比べて鮮度が保持されていることが認められた。

St. aureus を用いたカップ法にて抽出試料の抗菌性を検した結果、0.1%, 0.3%, 0.5% の溶液のそれぞれの発育阻止円 (37°C, 18 時間培養) は平均 12.7 mm, 15.2 mm, 18.4 mm であつた。

墨汁防腐性抽出物の性状 Table 3 に抽出物の溶解性、等電点、沈降恒数についてえた結果を示す。

動物の生体組織に存在する抗菌性物質としては溶菌酵

Table 1. Antiseptic effect of cuttlefish ink on cuttlefish muscle stored at various temperatures

Temp.	Days	Meat added ink		Meat without ink	
		VBN (mg/100 g)	Organoleptic score*	VBN (mg/100 g)	Organoleptic score*
25°C	0	16	8	15	8
	1	19	7	32	6
	2	193	6	224	5
	3	228	5	275	3
	4	271	3	350	2
13°C~15°C	0	12	8	12	8
	1	15	8	15	8
	2	17	8	18	7
	3	29	7	42	6
	4	58	6	105	4
2°C~3°C	0	12	8	12	8
	1	13	8	12	8
	2	13	8	13	8
	3	14	8	14	8
	4	15	8	16	7

* Range of scores: 8 "extremely fresh flavor" to 2 "extremely spoiled order."

Table 2. Antiseptic effects of cuttlefish ink and extract obtained from the ink according to Fig. 1 on cuttlefish meat stored at 25°C for 4 days

Days	Meat added ink	Meat added ink extract	Meat without ink
	VBN (mg/100 g)	VBN (mg/100 g)	VBN (mg/100g)
0	17	17	17
1	27	28	39
2	34	34	38
3	48	52	85
4	122	134	198

Table 3. Properties of extract obtained from the cuttlefish ink and lysozyme from egg white

Properties	Cuttlefish ink extract	Lysozyme ^{6,7)} from egg white
Solubility		
Water	Soluble	Soluble
Methanol	Soluble	Soluble
Acetone	Insoluble	Insoluble
Ethanol	Insoluble	Insoluble
Ethyle Ether	Insoluble	Insoluble
Isoelectric point	10.8	10.5-11
Sedimentation constant (S _{20,w})	1.91	1.9

素リゾチームが知られている。著者のえたイカ墨汁の防腐性物質は、表記の沈降恒数から考えて分子量が14,000

程度のものでタンパク質のように思われる。したがって本物質がリゾチームあるいはその近縁物質のように考えられたので、卵白リゾチームについて報告されている溶解性、等電点、沈降恒数などを比較した。Table 3 に見られるとおり、イカ墨汁から著者が得た防腐性物質の上記3性質は卵白リゾチームのそれらとほとんど同様である。物質の確定にはさらに十分検討する必要があるが、現在のところリゾチームあるいはこれに近い酵素である可能性も考えられる。

終りに本研究を遂行するに当たり、終始多大の御指導を賜った京都大学名誉教授・元日本大学教授清水亘博士に深謝申上げる。また、超遠心分離に御援助下さった味の素株式会社中央研究所添田氏に感謝の意を表する。

文 献

- 1) 土屋靖彦: 水産化学, 第3版, 恒星社厚生閣, 東京, 1968, p. 173.
- 2) 清水 亘: 水産利用学, 第1版, 金原出版, 東京, 1962, p. 338.
- 3) 清水 亘: 日大農獣医学会誌, (16), 46-52 (1970).
- 4) F. REGISTER: Food and Drug Administration. Part 141, Test and Method of Assay for Antibiotic Drugs, Penicillin, Oct., (1946).
- 5) 近藤金助: 蛋白質物理化学, 第1版, カニヤ書店, 京都, 1927, p. 48.
- 6) G. ALDERTON and H. L. FEVOLD: *J. Biol. Chem.*, **157**, 43 (1945).
- 7) E. P. ABRAHAM: *Biochem. J.*, **33**, 622 (1939).