

原著論文

## マアジ筋肉からの ATP 関連化合物の簡易抽出法の検討

可児祥子・坂口明美・村田裕子・村田昌一\*

Investigation of a Simple Extraction Method for ATP and Its Related Compounds from the Muscle of Horse Mackerel (*Trachurus japonicus*)

Yoko KANI, Akemi SAKAGUCHI, Yuko MURATA and Masakazu MURATA

To develop a simple extraction method for ATP and its related compounds from fish muscles for on-site measurements with ATP sensors, we tested different methods of homogenization or extraction solvents. Extractions of ATP related compounds from the skeletal muscles of the horse mackerel (*Trachurus japonicus*) were carried out by 1) homogenizing with a Polytron homogenizer, 2) homogenizing with a food processor, 3) mincing with a glass rod, and 4) cutting the tissues into cubes of side ca 5 mm. Sufficient amounts of ATP for detection by an ATP sensor were extracted from the small cubes by shaking in 10% PCA.

Effectiveness of ATP extraction with various solvents such as water, 3% NaCl aqueous solution, 80% ethanol, 10% TCA, 10% HCl, 20% acetic acid, acetic acid/ethanol/water (10/40/50%, v/v/v%), and 1% PCA were compared with that with the conventional solvent, 10% PCA. A one percent solution of PCA was able to extract ATP without degradations and yielded an ATP solution at a concentration of 80  $\mu$  M, higher than the detection-limit by an ATP sensor. Thus it was inferred that ATP and its related compounds can be extracted from tissues cut into small pieces with shaking in 1% PCA.

2011年12月22日受付, 2012年3月28日受理

魚肉中の核酸関連化合物の主成分である ATP (アデノシン三リン酸) は死後 ADP (アデノシン二リン酸), AMP (アデノシン一リン酸) IMP (イノシン一リン酸), HxR (イノシン), Hx (ヒポキサンチン) へと分解が進み, これらの成分は ATP 関連化合物と呼ばれている。この変化を基に魚の鮮度指標としてこれまで K 値および Ki 値が使用されてきた<sup>1-5)</sup>。K 値は魚肉中の HxR と Hx の ATP 関連化合物総量に対する割合を%で示したものである。各種魚肉製品の K 値は活魚及び洗いに供しうる魚肉では 0 ~ 10%, 刺身用には 20% 以下, 鮮魚として一般に市販されているものは 15 ~ 35%, 煮魚用には 40% 以下, すり身などの加工原料用には 60% 以下であったと報告されている<sup>3), 6)</sup>。一方, K 値は ATP 分解の最終に近い分解物である HxR と Hx の割合であるため, 同じ K 値でも, その成分組成では主成分が ATP である場合

や IMP である場合があるなど異なっている。例えば K 値が 10% の場合, ATP が 90% である漁獲直後の場合と IMP が 90% である漁獲後 10 時間以上経った場合の 2 つが考えられ, 鮮度の判定, 特に高鮮度魚肉の鮮度判定は困難である。

近年, 魚の流通形態が変わり直販, 直接取引等により, 一般消費者にも高鮮度の魚が手に入るようになり<sup>7-9)</sup>, 消費者の魚介類の鮮度に対する意識も高くなってきている<sup>10)</sup>。このような背景から, K 値に替わる高鮮度魚類にも有効な鮮度判定法が必要と考えられている<sup>3)</sup>。さらに, ATP 関連化合物中の ATP の割合が高鮮度魚類の鮮度判定において有効という考えも出ている<sup>11, 12)</sup>。村田らは ATP を多く含む魚肉微細化物はゲル形成能が高く凍結変性抑制効果も有することを報告しており<sup>13)</sup>, 加工原料の ATP 含量を把握することの重要性が示唆されている。ま

\* 独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所

〒235-8648 横浜市金沢区福浦 2-12-4

National Research Inst. of Fisheries Science 2-12-4, Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-8648, Japan

aa47041@gmail.com

た、現在 ATP 関連化合物の測定には、専門技術および設備が必要であり、水産流通現場（船上、市場、加工場等）での測定は困難である。そのため鮮度の判定は、生産者、流通業者、小売店等の各段階でそれぞれの経験値での評価および漁獲後の時間等で判定されている。

近年、酵素を用いて ATP を測定するセンサーが開発され<sup>14,15)</sup>、これにより現場で即時に ATP を測定することが可能となった。このセンサーを使用するためには試料から ATP を抽出する必要がある、抽出溶液にはセンサーに使用している酵素の活性に影響のないものを使用する必要がある。そこで本研究では、船上、市場、加工場等においても行うことができ、酵素センサーによる測定が可能な ATP 関連化合物の簡易抽出法の検討を試みた。すなわち、使用部位、ホモジナイズ方法、抽出溶媒の検討を行い、既報<sup>16)</sup>に準じた従来法に代わる現場で行うことができる簡便・迅速・正確・安全な抽出法を選定した。

## 試料と方法

**試料** 活マアジ *Trachurus japonicus* は 2011 年 4 月に活魚業者から購入し、中央水産研究所内の飼育水槽にて蓄養後実験に使用した。水槽から実験に使用するマアジを網で掬い氷水中で安静化した後、延髄刺殺<sup>17,18)</sup>により即殺し筋肉を採取した。マアジは尾叉長  $20.0 \pm 0.8$  cm、体重  $110.7 \pm 17.6$  g ( $N=10$ ) であった。

**ATP 関連化合物の部位差の確認** マアジの試料採取部位による ATP 関連化合物の違いを測定するため、同一個体の 3 か所（背部、尾部、腹部）から試料を採取し、従来法にて抽出し、抽出物を HPLC にて分析した。

**ホモジナイズ方法** 採取した筋肉は、以下の 4 方法で抽出した。①従来法：背部から採取した筋肉を 5 mm 角程度に裁断し筋肉約 2 g に 10% 過塩素酸 5 ml を加えポリトロンホモジナイザー（Kinematica, Littau-Lucerne, スイス製）でホモジナイズ後、遠心分離（2500 g, 7 分, 4°C）を行った。残渣に 2 ml の 5% 過塩素酸を加え、ホモジナイズ後遠心分離を行った。上清を合一した後、冷却しながら 10N KOH で中和した後、再び遠心分離を行った。上清をろ紙（ADVANTEC No.2）でろ過した後、蒸留水で 50 ml に定容した。②ミキサー前処理法：三枚卸にした筋肉 1 尾分を 1 cm 角程度に裁断し、これをフードプロセッサーにて粗いペースト状にした。なお、フードプロセッサー処理による試料の加熱を防ぐため、3 秒ミンチ後小休止を 5 回程度繰り返して、粗いペースト状にした。このペースト状の筋肉約 2 g を 4°C に冷やした 10% 過塩素酸 10 ml を入れたチューブに加え、チューブの蓋を閉めて約 20 秒間手で上下に振盪した。これをろ紙でろ過し、ろ紙を蒸留水で洗ったものと合一し、10N KOH で中和後（中和が必要なもののみ）、遠心分離を行い上清を蒸留水で 50 ml に定容した。③ガラス棒抽出法：背部から採取した筋肉を 5 mm 角程度に裁断し、筋肉約

2 g に 10% 過塩素酸 10 ml を加え、ガラス棒で 20 秒程度叩き、20 秒程度振盪後、遠心分離（2500 g, 7 分, 4°C）を行った。上清を冷却しながら 10N KOH で中和した後、再び遠心分離を行った。上清を蒸留水で 50 ml に定容した。④振盪法：背部から採取した筋肉を 5 mm 角程度に裁断し、筋肉約 2 g に 10% 過塩素酸 10 ml を加え、20 秒程度振盪後、遠心分離（2500 g, 7 分, 4°C）を行った。上清を 10N KOH で冷却しながら中和した後、再び遠心分離を行った。上清を蒸留水で 50 ml に定容した。**抽出溶媒の検討** 抽出溶媒の選定については、畑江ら<sup>19)</sup>の方法を基に現場適応性を考慮し選定を行った。

**溶媒検討 1** 従来の抽出溶媒 10% 過塩素酸をコントロールとし、水、3% 食塩水、80% エタノール、10% トリクロロ酢酸、10% 塩酸、20% 酢酸による抽出を行った。抽出方法は振盪法にて 2 回抽出を行った。試料数は各溶媒につき  $N=2$  とした。

**溶媒検討 2** 従来の抽出溶媒 10% 過塩素酸をコントロールとし、80% エタノール、20% 酢酸、酢酸/エタノール/水（10/40/50, v/v/v%）、1% 過塩素酸にて抽出を行った。抽出方法は振盪法にて 1 回抽出を行った。試料数は各溶媒につき  $N=5$  とした。

**ATP 関連化合物の分析** ATP 関連化合物は、既法<sup>4,20)</sup>に準じ、HPLC 分析システム（ポンプ LC-10ATvp, オートサンプラー SIL-20AC, 検出器 SPD-10Avp）（島津製作所製）を用いて分析を行った。カラムは Asahipack GS-320, 7.6 × 500 mm (Shodex 製) を使用し、溶媒は 0.1M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH 2.80), 流速 0.8 ml/min, 検出波長 250 nm (0.01AUFS) にて分析を行った。

**データ解析方法** 標準偏差は、Microsoft Office Excel 2007 片側検定 STDEV を使用し、5 検体間における値を ± 標準偏差として示した。有意差検定は、Microsoft Office Excel 2007 片側検定 TTEST を使用し、5 検体間における値  $p < 0.05$  を有意とした。

## 結果と考察

マアジ筋肉各部位における ATP 関連化合物およびそれらの組成比を表 1 に示した。背部、腹部、尾部の ATP 含量はそれぞれ 5.56, 5.28, 5.13  $\mu\text{mol/g}$  であり、その ATP 関連化合物中における割合は 77, 79, 78% であった。ATP 含量および割合において有意差検定を行った結果、それぞれの部位間において有意な差はなかった。一方、天然および養殖アジの粗脂肪量はそれぞれ 1-3% および 10-30% と季節および部位により大きな差があることが報告されている<sup>21)</sup>。すなわち、脂質含量が異なれば、魚肉 1 g に占める筋肉の割合も異なり、魚肉 1 g あたりの ATP 関連化合物の含量も異なる。したがって、ATP 関連化合物の量を含量として示す場合は脂質含量を考慮する必要があると考えられる。また、脂肪含量が高い魚肉から ATP 関連化合物を抽出する場合、その抽出効率が

表 1. マアジ筋肉各部位における ATP 関連化合物含量およびその割合

	背部		腹部		尾部	
	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%
ATP	5.560 ± 1.035 <sup>*3</sup>	77.1 <sup>*1*3</sup>	5.280 ± 0.379 <sup>*3</sup>	79.4 <sup>*1*3</sup>	5.130 ± 0.736 <sup>*3</sup>	77.9 <sup>*3</sup>
ADP	0.803 ± 0.125	11.1 <sup>*1</sup>	0.778 ± 0.072	11.7 <sup>*1</sup>	0.649 ± 0.256	9.9 <sup>*1</sup>
AMP	0.133 ± 0.082	1.8 <sup>*1</sup>	0.180 ± 0.062	2.7 <sup>*1</sup>	0.165 ± 0.108	2.5 <sup>*1</sup>
IMP	0.625 ± 0.434	8.7 <sup>*1</sup>	0.245 ± 0.171	3.7 <sup>*1</sup>	0.301 ± 0.192	4.6 <sup>*1</sup>
HxR	0.026 ± 0.008	0.4 <sup>*1</sup>	0.007 ± 0.016	0.1 <sup>*1</sup>	trace <sup>*4</sup>	- <sup>*4</sup>
Hx	0.063 ± 0.023	0.9 <sup>*1</sup>	0.158 ± 0.046	2.4 <sup>*1</sup>	0.339 ± 0.165	5.1 <sup>*1</sup>
K 値		1.2 <sup>*2</sup>		2.5 <sup>*2</sup>		5.1 <sup>*2</sup>

N=5

\*<sup>1</sup> ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx = 100%とした場合の各化合物の割合を示す。

\*<sup>2</sup> (HxR + Hx)/(ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx) × 100

\*<sup>3</sup> t 検定 (片側検定) の結果, 含量, 割合とも部位間において有意差なし (p<0.05)。

\*<sup>4</sup> trace, <0.001  $\mu\text{mol/g}$ ; -, 算出不能

表 2. 4 種ホモジナイズ法により得られたマアジ筋肉中 ATP 関連化合物含量およびその割合

	従来法		ミキサー前処理法		ガラス棒抽出法		振盪法	
	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%
ATP	4.597 ± 1.494	72.9 <sup>*1*3</sup>	3.356 ± 0.801	72.3 <sup>*1*3</sup>	3.697 ± 1.054	70.7 <sup>*1*3</sup>	1.786 ± 0.570	68.7 <sup>*1*3</sup>
ADP	0.721 ± 0.117	11.4 <sup>*1</sup>	0.469 ± 0.085	10.1 <sup>*1</sup>	0.555 ± 0.078	10.6 <sup>*1</sup>	0.297 ± 0.063	11.4 <sup>*1</sup>
AMP	0.094 ± 0.034	1.5 <sup>*1</sup>	0.063 ± 0.015	1.4 <sup>*1</sup>	0.093 ± 0.009	1.8 <sup>*1</sup>	0.054 ± 0.018	2.1 <sup>*1</sup>
IMP	0.895 ± 1.037	14.2 <sup>*1</sup>	0.744 ± 0.785	16.0 <sup>*1</sup>	0.874 ± 0.674	16.7 <sup>*1</sup>	0.461 ± 0.553	17.7 <sup>*1</sup>
HxR	N.D.	- <sup>*4</sup>	0.008 ± 0.018	0.2 <sup>*1</sup>	0.011 ± 0.015	0.2 <sup>*1</sup>	N.D.	- <sup>*4</sup>
Hx	N.D.	- <sup>*4</sup>						
K 値		0.0 <sup>*2</sup>		0.2 <sup>*2</sup>		0.2 <sup>*2</sup>		0.0 <sup>*2</sup>

N=5

\*<sup>1</sup> ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx = 100%とした場合の各化合物の割合を示す。

\*<sup>2</sup> (HxR + Hx)/(ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx) × 100

\*<sup>3</sup> t 検定 (片側検定) の結果, 割合において処理法の間で有意差なし (p<0.05)。

\*<sup>4</sup> N.D., 検出なし; -, 算出不能

悪くなることが予想される。このことから、ATP の割合を用いることにおいては、アジ筋肉における ATP 関連化合物の抽出はどの部位を用いても良いが、含量を用いる場合には各部位の脂肪量を把握する必要がある。

各種ホモジナイズ方法により求められた核酸関連化合物含量およびその組成を表 2 に示した。ATP 含量は、従来法、ミキサー前処理法、ガラス棒抽出法、振盪法にてそれぞれ 4.6, 3.4, 3.7, 1.8  $\mu\text{mol/g}$  であった。最も ATP 含量が低かった振盪法は従来法の含量の 1/3 程度の含量であったが、50 mL に定容した水溶液中の濃度は 80  $\mu\text{M}$  であり、ATP センサーでの測定閾値以上 (> 10  $\mu\text{M}$ ) であった。また ATP の割合はそれぞれ 73, 72, 71, 69% であった。ATP の割合について従来法と他の方法との間で有意差検定を行ったところ、有意な差は認められなかった。これらのことから振盪法は ATP センサーによる検出可能な ATP 量が得られ、その組成も他のホモジナイズ法と差が無く、さらに特殊な装置を必要とせず水産物の現場での抽出が容易な試料調整法であることが確認できた。そこで、振盪法を用いて抽出溶媒の検討を行った。

溶媒検討 1 に示した方法で、水、3% 食塩水、80% エタノール、10% トリクロロ酢酸、10% 塩酸、20% 酢酸で

ATP 関連化合物の抽出効率を比較した結果を表 3-1 に示した。10% 過塩素酸、水、3% 食塩水、80% エタノール、10% トリクロロ酢酸、10% 塩酸、20% 酢酸で抽出された ATP の筋肉中の含量は、それぞれ 4.6, 0.002, 0.004, 0.8, 4.2, 3.0, 0.6  $\mu\text{mol/g}$  であり、それらの ATP 関連化合物総量に占める割合は 75, 0.1, 0.1, 63, 76, 55, 68% であった。水および 3% 食塩水により抽出された ATP 関連化合物の大半が IMP であった。80% エタノールは ATP の分解をかなり抑制できていたが、10% トリクロロ酢酸、10% 塩酸、20% 酢酸よりも分解抑制が弱かった。この結果から ATP の分解抑制には酸および酸とエタノールの混合液が有効であることが示唆された。

つぎに、ATP センサーの使用に適する溶媒を検討した。溶媒検討 1 の結果を基に、弱酸である酢酸、またエタノールと酸の混合液として酢酸/エタノール/水 (10/40/50, v/v/v%)、さらに従来法で使用する 10% の過塩素酸の濃度を下げた 1% 過塩素酸について検討を行った。抽出回数を振盪法による 1 回抽出とし、上記 2 種の溶媒に加え 80% エタノール、20% 酢酸による抽出効果を 10% 過塩素酸と比較した。その結果を表 3-2 に示した。得られた筋肉中の ATP 含量は 10% 過塩素酸、80% エタノール、20% 酢酸、酢酸/エタノール/水 (10/40/50, v/v/v%)、

表 3-1. 各種抽出溶媒により得られたマアジ筋肉中 ATP 関連化合物含量およびその割合 (溶媒検討 1)

	10%過塩素酸		水		3%食塩水		80%エタノール		10%トリクロロ酢酸		10%塩酸		20%酢酸	
	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%
ATP	4.612	75.4 <sup>*1</sup>	0.002	0.1 <sup>*1</sup>	0.004	0.1 <sup>*1</sup>	0.763	62.4 <sup>*1</sup>	4.167	75.7 <sup>*1</sup>	3.033	54.9 <sup>*1</sup>	0.600	67.8 <sup>*1</sup>
ADP	0.743	12.1 <sup>*1</sup>	0.012	0.3 <sup>*1</sup>	0.006	0.1 <sup>*1</sup>	0.023	1.9 <sup>*1</sup>	0.601	10.9 <sup>*1</sup>	1.392	25.2 <sup>*1</sup>	0.111	12.5 <sup>*1</sup>
AMP	0.094	1.5 <sup>*1</sup>	0.007	0.2 <sup>*1</sup>	0.032	0.6 <sup>*1</sup>	0.009	0.7 <sup>*1</sup>	0.091	1.7 <sup>*1</sup>	0.434	7.8 <sup>*1</sup>	0.002	0.3 <sup>*1</sup>
IMP	0.518	8.5 <sup>*1</sup>	1.817	42.0 <sup>*1</sup>	2.857	55.2 <sup>*1</sup>	0.367	30.0 <sup>*1</sup>	0.547	9.9 <sup>*1</sup>	0.479	8.7 <sup>*1</sup>	0.134	15.1 <sup>*1</sup>
HxR	0.069	1.1 <sup>*1</sup>	1.703	39.4 <sup>*1</sup>	1.930	37.3 <sup>*1</sup>	0.057	4.7 <sup>*1</sup>	0.065	1.2 <sup>*1</sup>	0.076	1.4 <sup>*1</sup>	0.026	3.0 <sup>*1</sup>
Hx	0.085	1.4 <sup>*1</sup>	0.785	18.0 <sup>*1</sup>	0.350	6.8 <sup>*1</sup>	0.004	0.4 <sup>*1</sup>	0.033	0.6 <sup>*1</sup>	0.114	2.1 <sup>*1</sup>	0.012	1.3 <sup>*1</sup>
K 値		2.5 <sup>*2</sup>		57.5 <sup>*2</sup>		44.0 <sup>*2</sup>		5.0 <sup>*2</sup>		1.8 <sup>*2</sup>		3.4 <sup>*2</sup>		4.3 <sup>*2</sup>

N=2

\*1 ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx = 100%とした場合の各化合物の割合を示す。

\*2 (HxR + Hx) / (ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx) × 100

表 3-2. 各種抽出溶媒により得られたマアジ筋肉中 ATP 関連化合物含量およびその割合 (溶媒検討 2)

	10%過塩素酸		80%エタノール		20%酢酸		酢酸/エタノール/水 (10/40/50, v/v/v%)		1%過塩素酸	
	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%	μmol/g	%
ATP	2.896 ± 1.016	70.9 <sup>*1*3</sup>	0.567 ± 0.070	64.8 <sup>*1</sup>	0.534 ± 0.087	67.1 <sup>*1</sup>	0.361 ± 0.161	46.4 <sup>*1</sup>	2.174 ± 0.586	70.0 <sup>*1*3</sup>
ADP	0.465 ± 0.101	11.4 <sup>*1</sup>	0.041 ± 0.014	4.7 <sup>*1</sup>	0.135 ± 0.026	16.9 <sup>*1</sup>	0.110 ± 0.025	14.1 <sup>*1</sup>	0.361 ± 0.068	11.6 <sup>*1</sup>
AMP	0.073 ± 0.037	1.8 <sup>*1</sup>	0.009 ± 0.005	1.0 <sup>*1</sup>	0.006 ± 0.001	0.8 <sup>*1</sup>	0.026 ± 0.045	3.3 <sup>*1</sup>	0.046 ± 0.041	1.5 <sup>*1</sup>
IMP	0.500 ± 0.262	12.2 <sup>*1</sup>	0.210 ± 0.083	24.0 <sup>*1</sup>	0.102 ± 0.013	12.8 <sup>*1</sup>	0.241 ± 0.277	30.9 <sup>*1</sup>	0.454 ± 0.262	14.6 <sup>*1</sup>
HxR	0.053 ± 0.053	1.3 <sup>*1</sup>	0.041 ± 0.021	4.7 <sup>*1</sup>	0.015 ± 0.005	1.9 <sup>*1</sup>	0.035 ± 0.042	4.5 <sup>*1</sup>	0.054 ± 0.044	1.7 <sup>*1</sup>
Hx	0.097 ± 0.033	2.4 <sup>*1</sup>	0.007 ± 0.003	0.8 <sup>*1</sup>	0.004 ± 0.001	0.5 <sup>*1</sup>	0.006 ± 0.004	0.7 <sup>*1</sup>	0.017 ± 0.007	0.6 <sup>*1</sup>
K 値		3.7 <sup>*2</sup>		5.5 <sup>*2</sup>		2.4 <sup>*2</sup>		5.2 <sup>*2</sup>		2.3 <sup>*2</sup>

N=5

\*1 ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx = 100%とした場合の各化合物の割合を示す。

\*2 (HxR + Hx) / (ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx) × 100

\*3 t検定 (片側検定)の結果, 割合において10%過塩素酸と1%過塩素酸で有意差なし (p<0.05)。

1%過塩素酸で2.9, 0.6, 0.5, 0.4, 2.2 μmol/gであり, ATP 関連化合物中における ATP の割合は71, 65, 67, 46, 70%であった。ATP の割合について有意差検定を行った結果, 1%過塩素酸と10%過塩素酸間に有意な差は認められなかった。1%過塩素酸抽出物における ATP 濃度は80 μMであり, ATP センサーでの測定可能閾値以上 (> 10 μM) であった。

以上の結果から, マアジ筋肉における ATP 関連化合物の簡易抽出法として1%過塩素酸を用いた振盪法は十分に使用できると考えられた。抽出溶媒は従来の10%過塩素酸より濃度を落とした1%過塩素酸であっても ATP が分解されることなく抽出されていた。今回筋肉約2gから得られた ATP を50 ml 定容すると濃度は80 μMになり, ATP センサーで検出可能な濃度(10 μM)以上となった。更に固液比を変えるなどの検証を行うことにより簡易抽出法のスケールダウン化が見込める。溶媒の pH を測定したところ, 水, 3%食塩水, 80%エタノール, 10%トリクロロ酢酸, 20%酢酸, 10%過塩素酸, 1%過塩素酸それぞれで5.8, 5.4, 7.3, 0.5, 1.7, 0.3, 0.7であった。1%過塩素酸抽出においても抽出後の中和が必要になるが, マアジにおいては筋肉約2gに対して1N KOH を1.3 ml 程度加えると中和付近になることを確かめており, 魚種別に中和に必要な KOH の量を調べることにより中和作業を簡易化することが見込める。今後抽出溶媒温度, 試料採取法, 使用機器および器具の簡

素化, 魚種による適応性等の検討を行い, 現場で導入可能な魚肉中の ATP 関連化合物簡易抽出法の開発を進める必要がある。

表 3-2 において, 10%過塩素酸と酢酸/エタノール/水 (10/40/50, v/v/v%) を比較した場合, 抽出された核酸関連化合物における ATP の割合はそれぞれ71および46%であった。それに対し IMP の割合は12および31%と大きく異なっていたが, この時の K 値はそれぞれ4および5%でほぼ同様であり IMP までの分解は K 値に反映されていなかった。また可見ら<sup>23)</sup>はマアジ即殺後の ATP 関連化合物組成の経時変化を調べ, 即殺後0, 3, 6, 24, 48時間後の ATP の割合は83, 41, 17, 2, 3%と変化したのに対し, K 値は0, 2, 2, 8, 11%と変化はわずかであった。また, 即殺直後 (0時間) および48時間後のマアジを刺身にして官能評価を行ったところ, 即殺後ではぷりぷりしている, 生臭みがない, 鮮度が良いという評価に対し, 48時間後ではやわらかい, 生臭いという評価であった。これらの結果は先に述べたように, 極めて低い K 値あっても各成分組成が異なることを示すものであり, さらに ATP の割合が魚肉の品質に及ぼす影響が大きいことを支持するものである。したがって, 現在の流通形態においては K 値よりも ATP 関連化合物における ATP の割合の方が高鮮度魚類の鮮度判定としては適している可能性が示された。今後, ATP の割合および含量と鮮度の相関関係については詳細な

データを蓄積する必要がある。

本研究による簡易抽出法にて ATP センサーで即時に ATP を測定できれば、これまで経験値および漁獲後の時間等で鮮度を判定していたことに加え、化学的指標として ATP 値による判定も可能となる。ATP センサーが実用化されれば、高鮮度魚類の差別化および魚価向上に結びつくと考えられる。特に魚価の高いマグロ、ブリ等の大型魚での活用が期待できる。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり ATP センサーのご指導を頂いた筑波大学大学院数理工学研究所伊藤大輔氏、鈴木博章教授、株式会社マテリアルデザイン西泰治氏に感謝申し上げます。なお、本研究は農林水産技術会議事務局の新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「魚価向上及び高品質な水産物、水産加工品の提供を目指した品質測定機器の開発」により行われたことをここに付記する。

## 文 献

- 1) SAITO T, ARAI K, MATSUYOSHI M. (1959) A new method for estimating the freshness of fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **24**, 749-750.
- 2) 内山 均・江平重男・小林 宏・清水 亘 (1970) 揮発性塩基、トリメチルアミン、ATP 関連化合物の魚類鮮度判定法としての測定意義. 日水誌, **6**, 177-187.
- 3) 内山 均・江平重男 (1970) 核酸関連化合物からみた魚類鮮度化学研究の現状. 日水誌, **36**, 977-992.
- 4) 宇田文昭・内山 均 (1986) 魚の低温貯蔵と品質評価法, 恒星社厚生閣, 東京, 4-35 pp.
- 5) 渡邊悦生・濱田 (佐藤) 奈保子 (2004) 水産物の品質・鮮度とその高度保持技術, 恒星社厚生閣, 東京, 82-91 pp.
- 6) 小関聡美・北上誠一・加藤 登・新井健一 (2006) 魚介類の死後硬直と鮮度 (K 値) の変化. 東海大学紀要海洋学部, **4**, 31-46.
- 7) 婁 小波 (2009) 生鮮水産物流通システムの変化とサプライチェーンの構築. フードシステム研究, **16**, 59-73.
- 8) 佐野雅昭 (2010) 直接取引推進事業 (尾鷲, まだい) 平成 21 年度国産水産物安定供給推進事業調査研究事業報告書, 財団法人魚価安定基金, 東京, 14-15 pp.
- 9) 赤井雄次 (2010) 産地販売活動活性化事業報告書 (東京, マグロ) 平成 21 年度国産水産物安定供給推進事業調査研究事業報告書, 財団法人魚価安定基金, 東京, 16-17 pp.
- 10) 小川砂郎・白井一茂・石井隆之・山本章太郎・石井 洋・加藤健太・山本貴一・江川公明 (2003) 神奈川県下消費者の魚介類イメージに関する意識調査. 神水研研報, **8**, 25-32.
- 11) 潮 秀樹 (2000) 水産食品の事典. 朝倉書店, 東京, 92-93 pp.
- 12) 岡崎恵美子・大村裕治 (2003) 食品と劣化. 光琳, 東京, 147-149 pp.
- 13) 村田裕子・岡崎恵美子・木村メイコ・今村伸太郎・平岡芳信・木村郁夫 (2010) 高濃度の ATP を含有する魚肉微細化物のゲル形成能と冷凍耐性. 水産技術, **2**, 105-110.
- 14) ITO D, SUZUKI H, NISHI T, MURATA M. (2010) Multi-point ATP sensing for rapid precise fish freshness check. *IEEE Sensors Conference*, 1967-1970.
- 15) 伊藤大輔・西 泰治・可児祥子・鈴木博章 (2011) 魚の鮮度測定のためのマイクロフルーイディックデバイス. *Chem. Sensors*, **27**, 1-3.
- 16) 永峰文洋・福田 裕・石川 哲 (1985) 高速液体クロマトグラフィーによる K 値の測定. 青森県水産物加工研究所報告昭和 60 年度, 八戸, 111-116.
- 17) 岡本 昭・濱田友貴・三浦勝貴・野中 健・桑原浩一・大迫一史・三嶋敏雄・橋 勝康 (2006) 養殖イサキの死後変化に及ぼす刺殺条件と保存温度の影響. 日水誌, **72**, 918-923.
- 18) MISHIMA T, NONAKA T, OKAMOTO A, TSUCHIMOTO M, ISHIYA T, TACHIBANA K, TSUCHIMOTO M. (2005) Influence of storage temperatures and killing procedures on post-mortem changes in the muscle of horse mackerel caught near Nagasaki Prefecture, Japan. *Fish. Sci.*, **71**, 187-194.
- 19) 畑江敬子・香川実恵子・松本美鈴・島田淳子・山中英明 (1995) 6 種の抽出方法によるスルメイカ生肉エキスとそれらの呈味成分. 日水誌, **61**, 619-626.
- 20) 福田 裕・永峰文洋 (1993) 高速液体クロマトグラフィーによる魚介類の鮮度指標「K 値」の測定. *Shodex Technical Bulletin* 技術資料. No. 3 昭和電工株式会社, 東京, 1-5 pp.
- 21) 國崎直道・鷹田 馨・松浦宏之 (1986) 天然および養殖アジの脂肪含有量, 筋肉硬度および脂肪酸組成について. 日水誌, **52**, 333-336.
- 22) 可児祥子・村田裕子 (2011) マアジ刺身における鮮度と IMP の呈味効果. 日本味と匂学会誌, **18**, 405-408.