



| | |
|------------------|---|
| Title | 魚類筋肉脂質の冷凍貯蔵中における変化：Ⅰ ホンマグロ筋肉脂質 |
| Author(s) | 高間, 浩蔵; TAKAMA, Kōzō; 座間, 宏一 他 |
| Citation | 北海道大學水産學部研究彙報, 18(3), 240-247 |
| Issue Date | 1967-11 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/23322 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 18(3)_P240-247.pdf |



魚類筋肉脂質の冷凍貯蔵中における変化

I ホンマグロ筋肉脂質

高間 浩蔵*・座間 宏一*・五十嵐久尚*

Changes in the flesh lipids of fish during frozen storage
Part I. Flesh lipids of bluefin tuna, *Thunnus orientalis*

Kōzō TAKAMA, Kōichi ZAMA and Hisanao IGARASHI

Abstract

Minced flesh of bluefin tuna was stored at -20°C and the composition of the lipids were determined at intervals during a total period of about 100 days.

The 100 g of minced tuna contained a total about 1.60 g of lipids. This included about 0.56 g of phospholipids (lecithin 0.37 g, cephalin 0.17 g, and others), 1.03 g of neutral non-phospholipids (sterolesters 0.03 g, sterols 0.10 g, triglycerides 0.73 g, and others) and 0.07 g of free fatty acids.

After 10 days, the phospholipids and the neutral non-phospholipids had decomposed markedly, but there appeared a slight increase in their amounts at around 30-50 days and then they decreased gradually.

After about 50 days, when ca. 43% of the lecithins had been decomposed, no further breakdown was observed.

In the case of the triglycerides, at the end of the experiment ca. 61% of the initial amount had been broken down.

緒 言

冷凍貯蔵中における魚肉の品質に及ぼす脂質の影響が著しく大きいことに関しては、すでに数多くの研究報告がある。タラのごときリン脂質成分の占める割合の多い少脂魚類では、筋肉リン脂質分解酵素の作用を受けそのリン脂質が終局的には遊離脂肪酸と水溶性リン酸化合物とに分解する(LOVERNら¹⁾)。この酵素作用は -20°C 以下のごとき低温状態においても進行し(OLLEYら^{2,3)})、しかもこれら生成遊離脂肪酸が或る量に達すると蛋白質と結合し、その疎水性を増し不溶化をまねく(KINGら⁴⁾, ANDERSONら⁵⁾)。とくに魚肉のごとき高度不飽和脂肪酸を含有するものではその脂質成分の分解変性が蛋白質の変性をひきおこす要因として極めて大きいものと考えられる。多脂魚類はリン脂質に由来する脂肪酸以上に中性脂質に由来するものの影響も見のがすことは出来ない。従って魚肉を冷凍するにあたり、その品質を維持するためにはその脂質成分の変化を知ることが必要であろうと考えられる。

従来の研究報告は魚肉フィーラーの状態によるものが殆んどであるが著者らは魚肉細碎肉を冷凍貯蔵した場合の脂質変化を、比較的多脂である近海産ホンマグロの筋肉を用い、とくにレシチン、トリグリセライド及び遊離脂肪酸区分の変化について検討した。

実 験

試料 1965年8月北海道戸井村沖で水揚げされたホンマグロ2尾の普通肉をチョッパーで細碎した

* 北海道大学水産学部食品化学第一講座

後、直ちに 500g ずつポリエチレン袋に詰め -20°C に貯蔵した。

脂質抽出 各実験期 (0, 5, 10, 15, 20, 30, 50 及び 100 日目の 8 期) 毎に上記袋詰試料を取出し、3 倍容のクロロホルム・メタノール (2:1, v/v) で 1 度、さらに同様溶剤 1.5 倍容で 2 度、攪拌抽出を繰返し、抽出液を水洗後、クロロホルム層を濃縮し得られた残留物を総脂質とした。

ケイ酸カラムクロマトグラフィー ケイ酸 (Mallinckrodt 製, 100 mesh, クロマトグラフ用) をメタノールで処理し、コロイド性微粒子を除去した後、窒素気流中で 110°C , 24 時間活性化した。これを 2.5 倍容の n-ヘキサン中に貯え、冷暗所に置き、使用に際し必要量 (80g 相当) を分取して用いた。カラムは $3 \times 30\text{cm}$ の二重管式のものを用いクロマト中の温度変化を防ぐ為に $+5^{\circ}\text{C}$ の流水を通し、また窒素気流下で行った。

総脂質約 2g を出来るだけ少量のクロロホルム・メタノール (2:1, v/v) 溶液としてカラムに供し n-ヘキサン・エーテル (95:5), (80:20), エーテル, クロロホルム・メタノール (7:1), (1:1), (1:4) 各 400ml 及びクロロホルム・メタノール (1:10) 440ml で溶出を行い、溶出液は 20ml ずつ捕集した。

薄層クロマトグラフィー ケイ酸カラムクロマトにより分画された各脂質成分の確認は Wakogel B-5 プレートに 110°C , 30 分活性化し、中性脂質区分には n-ヘキサン・エーテル・酢酸 (90:10:1, by vol.) を、リン脂質区分にはクロロホルム・メタノール・酢酸・水 (25:15:4:2, by vol.) を展開剤とする薄層クロマトによって行った。

ガスクロマトグラフィー 遊離脂肪酸区分はそのまま、レシチン及びトリグリセライドは 2N-KOH アルコール溶液で加水分解し、遊離脂肪酸とした後、ジアゾメタンでメチルエステルとしてガスクロマト分析に供し、それら脂肪酸組成の検索を行った。機器は日立 KGL-2 を用いジエチレングリコール・アジピン酸ポリエステル $4\text{mm} \times 2\text{m}$ によって分析し、組成計算は半値巾法による相対面積比較法によって行った。

その他の分析法 総脂質の酸価は常法通り行い、ヨウ素価は Wijs 法によって行った。

結果及び考察

総脂質量及びその酸価、ヨウ素価を Table 1 に示した。総脂質量は生鮮時、細碎肉 100g に対し 1.60g であったものが 10 日目で 1.52g と減少し、15 日目で再び増加するが以後緩慢な減少を示している。しかし 50 日以後 100 日迄は比較的減少度が高く、1.56g から 1.20g となり約 25% の減少を示している。

ケイ酸カラムクロマトによる脂質分別の結果は、その一例を Fig. 1 及び Fig. 2 に示したごとく fr. 1 炭化水素及びステロールエステル, fr. 2 トリグリセライド, fr. 3 遊離脂肪酸, fr. 4 ステロール, fr. 5 未確認非リン脂質, fr. 6 ケファリン, fr. 7 レシチン及び fr. 8 その他のリン脂質の 8 区分に分別した。

各脂質区分量は細碎肉 100g に対する mg 数として Table 2 に示し、総脂質、非リン脂質区分、リン脂質区分、及び非リン脂質未確認物質区分量の変化を Fig. 3 に、またトリグリセライド、レシ

Table 1. Extracted total lipids and its properties

| Days | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 | 50 | 100 |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Total (g/100g of lipid tissue) | 1.60 | 1.60 | 1.52 | 1.68 | 1.60 | 1.46 | 1.56 | 1.20 |
| Acid V. | 12.6 | 19.0 | 25.6 | 18.0 | 16.3 | 17.8 | 24.1 | 38.4 |
| Iod. V. | 164.6 | 167.9 | 156.5 | 166.8 | 164.1 | 161.0 | 160.4 | 143.8 |

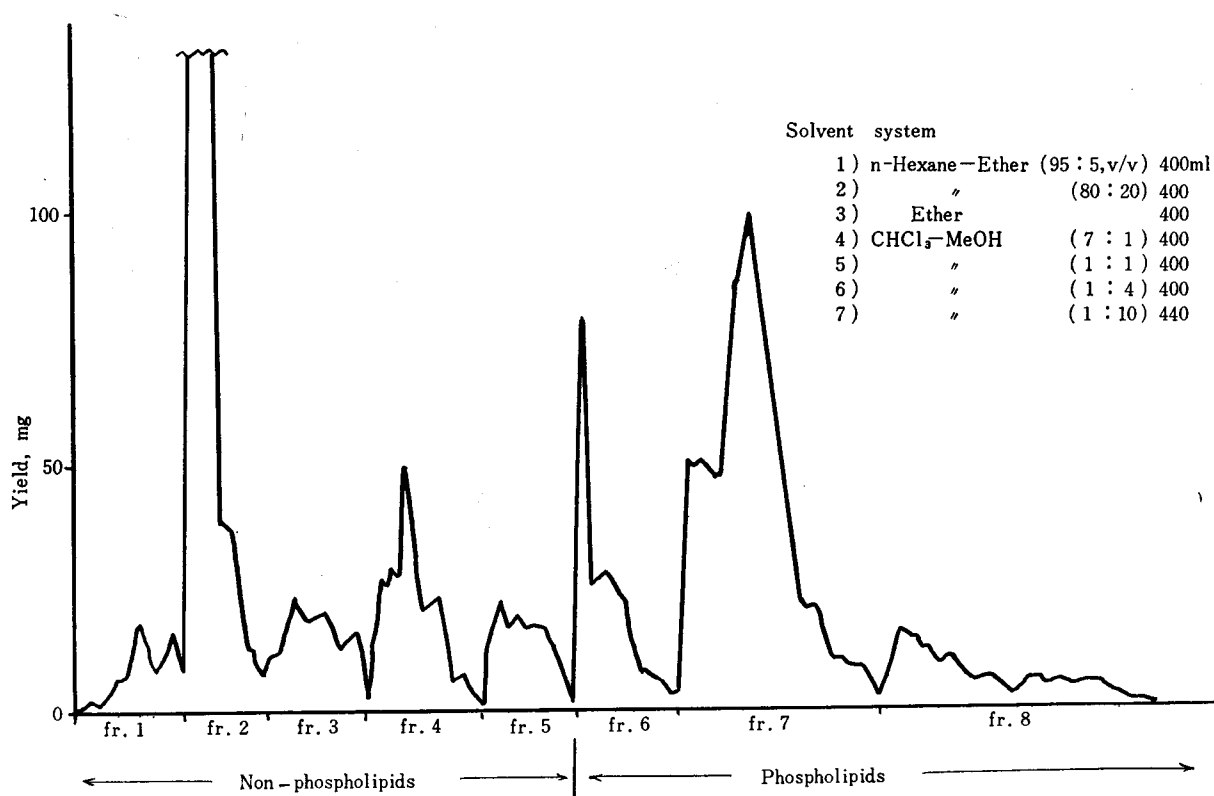


Fig. 1. Typical elution pattern of silicic acid column chromatography (0 day storage)

Table 2. Yields of chromatographic fractions (Values as mg/100 g minced tissue)

| Storage days | Total lipids | Non-phospholipids | | | | | Phospholipids | | |
|--------------|--------------|-------------------|-------|-------|-------|--------|---------------|-------|---------------|
| | | fr. 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | | HC SE | TG | FFA | FS | Others | Cep | Lec | Other Ph-L |
| 0 | 1.60 | 33.6 | 731.2 | 68.8 | 100.8 | 100.8 | 171.2 | 366.4 | 25.6 |
| 5 | 1.60 | 9.6 | 740.8 | 113.6 | 86.4 | 56.0 | 134.4 | 382.4 | 75.2 |
| 10 | 1.52 | 57.8 | 442.3 | 150.5 | 150.5 | 372.4 | 115.5 | 174.8 | 54.7 |
| 15 | 1.68 | 25.2 | 519.1 | 199.9 | 147.8 | 409.9 | 121.0 | 218.4 | 38.6 |
| 20 | 1.60 | 89.6 | 435.2 | 110.4 | 72.0 | 433.6 | 171.2 | 233.6 | 49.6 |
| 30 | 1.46 | 40.9 | 550.4 | 105.1 | 128.5 | 75.9 | 144.5 | 305.1 | 122.6 |
| 50 | 1.56 | 96.7 | 589.7 | 117.0 | 60.8 | 159.1 | 234.0 | 210.6 | 93.6 |
| 100 | 1.20 | 44.4 | 288.1 | 110.4 | 207.6 | 98.4 | 133.2 | 213.6 | 104.4 |

HC : Hydrocarbones

SE : sterolesters

TG : Triglycerides

FFA: Free fatty acids

FS : Free sterols

Cep: Cephalins

Lec : Lecithins

Ph-L: Phospholipids

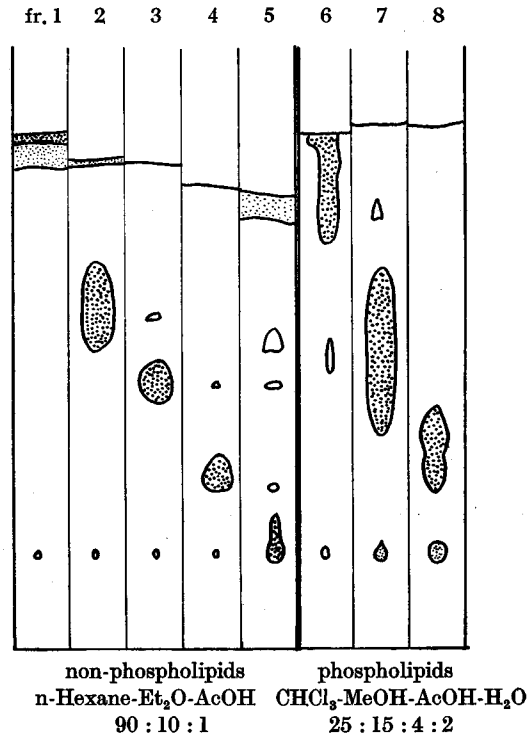


Fig. 2. Typical thin-layer chromatogram of lipids fractionated on silicic acid column

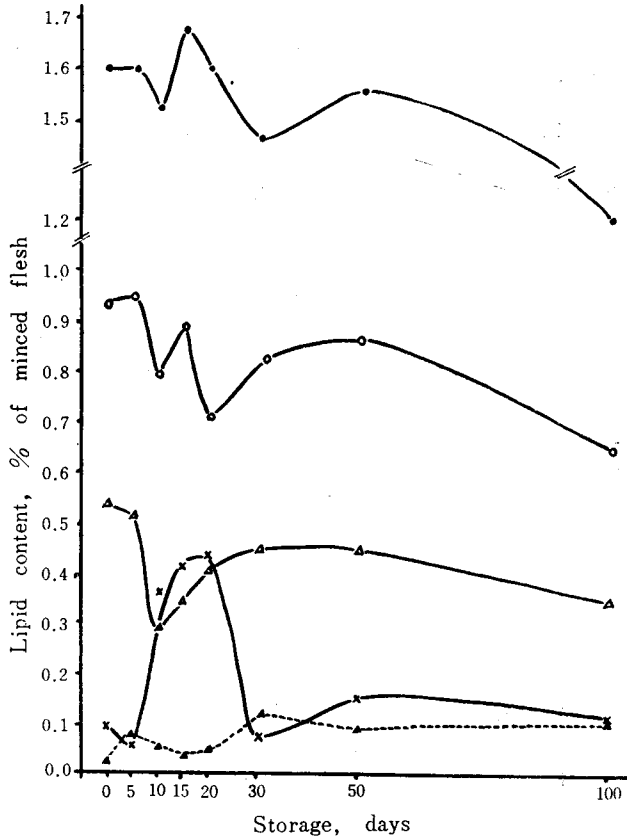


Fig. 3. Yield of various lipids from bluefin tuna

- total lipids
- non-phospholipids (hydrocarbons, sterolesters, triglycerides, free fatty acids and sterols)
- △—△ phospholipids (cephalines and lecithins)
- ×—× others in non-phospholipids
- ▲—▲ others in phospholipids

チン、ケファリン及び遊離脂肪酸量の変化を Fig. 4 に示した。

リン脂質量の変化は生鮮時 0.56g のものが 10 日目で著しい減少を示し 0.35g となり、すなわち約 39% が減少する。その後 30 日目迄は徐々に増加するが、以後、比較的ゆるやかに減少する。リン脂質の約 65% を占めるレシチンは生鮮時 0.37g が 10 日目で 0.17g となり約 52% 分解する。しかし 50 日以後は殆んど分解減少が認められず 43% 分解で止っており、その時期はむしろケファリン区分の分解減少が認められた。

非リン脂質区分は 5 日目以後、次第に減少しているが、とくにその約 73% を占める (総脂質の約 46%) トリグリセライドの増減は総脂質量の変化と類似した傾向を示している。すなわち生鮮時 0.73g のトリグリセライドが 10 日目で著しく減少し、0.44g となり約 40% 減少するが、その後 50 日目迄徐々に増加するが、その後 100 日迄は他の脂質に比し最も著しく減少し 0.29g となり、結局生鮮時の約 61% が分解した結果を示している。

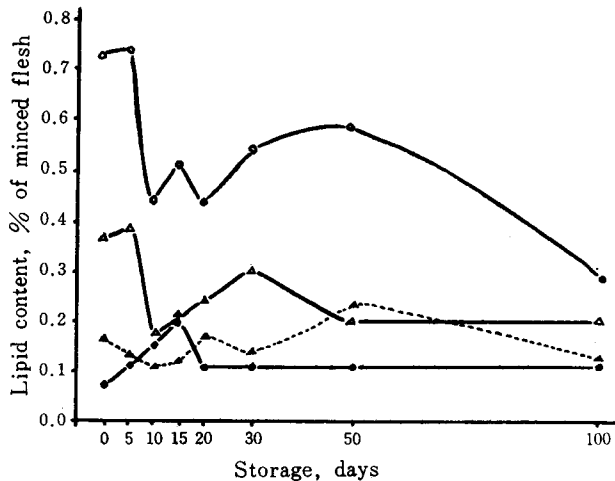


Fig. 4. Yield of various lipids from bluefin tuna

- triglycerides
- △—△ lecithins
- ▲—▲ cephalins
- free fatty acids

遊離脂肪酸は15日目で著しく増加したが以後、減少し、30日目以後は殆んど量的変化は認められない。

Table 3 にレシチン、トリグリセライド及び遊離脂肪酸区分の脂肪酸量を示した。ガスクロマト分析によって得られた各脂質の脂肪酸組成値から各脂質を構成する脂肪酸の平均分子量を求め、さらにレシチン及びトリグリセライドの平均分子量を算出、これに対する脂肪酸量を求め、主な脂肪酸の細碎肉 100g に対する mg 数として示したのが表中の数値である。これによると10日目で著しい減少を示すレシチン及びトリグリセライドではとくに 16:0 及び 18:1 酸を構成成分とするものの減少が顕著である。

10日、15日目で増加をみる遊離脂肪酸区分の組成は10日目では、とくに 22:1, 22:6 酸が、また15日目では 16:0, 20:1 及び 22:6 酸がとくに著しい。しかしレシチン、トリグリセライドの最も顕著な分解消失をみる10日目での生成遊離脂肪酸量がそれら脂質の分解量に比し低いのは、この時期での未確認非リン脂質区分量が極立って増加していることから、一部ジ-或いはモノグリセライドの形に変化したものか、または一部蛋白質-脂肪酸複合体の形となっているものか、或は酸価の増大、ヨウ素価の減少からみて一部生成脂肪酸がさらに分解し、短鎖酸性物質に化した結果とも考えられる。

LOVERNら¹⁾ はタラ (Cod) 肉フィーラー冷蔵の場合、主にレシチンが遊離脂肪酸と水溶性リン酸化合物に分解し、リゾリン脂質(或いはジ-, モノグリセライド)のごとき分解中間物の蓄積は認められないと報告しているが、著者らも薄層クロマトグラムからそれら中間物質を確認することが出来なかった。

また生成遊離脂肪酸の一部が蛋白質と複合体を形成したと考えることについては ANDERSONら²⁾ が或る一定濃度に遊離脂肪酸が増加(存在)すれば、その脂肪酸の種類、貯蔵条件により程度は異なるが蛋白質と結合し蛋白不溶化の原因となることを報告している。また HAMOSHら³⁾ は遊離脂肪酸を吸着する能力、或いはエステル化する能力について研究し、魚肉のエステル化能は -18°C の条件では

Table 3. Amounts of fatty acids (mg/100 g minced tissue)

| | | Storage, Days | | | | | | | |
|------|------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| | | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 | 50 | 100 |
| 16:0 | TG* | 120.4 | 180.0 | 77.0 | 107.7 | 87.0 | 114.3 | 144.3 | 74.3 |
| | Lec* | 155.2 | 112.9 | 70.6 | 93.7 | 82.5 | 112.1 | 84.2 | 84.5 |
| | FFA | 41.7 | 50.2 | 55.4 | 66.6 | 40.4 | 38.5 | 41.4 | 52.1 |
| 18:0 | TG | 39.2 | 24.7 | 24.1 | 30.8 | 19.6 | 22.6 | 46.2 | 20.6 |
| | Lec | 21.4 | 36.5 | 10.0 | 10.7 | 17.3 | 8.3 | 11.5 | 12.0 |
| | FFA | 8.1 | 17.4 | 11.4 | 14.4 | 8.6 | 9.6 | 16.0 | 9.3 |
| 18:1 | TG | 181.9 | 194.2 | 118.5 | 161.3 | 123.7 | 149.6 | 143.8 | 42.1 |
| | Lec | 48.3 | 75.8 | 33.2 | 32.0 | 43.4 | 42.4 | 38.1 | 36.3 |
| | FFA | 8.5 | 20.1 | 25.3 | 30.4 | 30.1 | 22.9 | 29.6 | 13.9 |
| 20:1 | TG | 89.6 | 73.4 | 75.8 | 69.0 | 52.5 | 60.6 | 68.2 | 39.6 |
| | Lec | 5.9 | 5.4 | 1.3 | 3.0 | 1.7 | 3.1 | 2.5 | 3.7 |
| | FFA | 1.2 | 3.6 | 4.5 | 7.4 | 1.9 | 4.4 | 4.2 | 4.2 |
| 22:1 | TG | 70.0 | 66.4 | 41.5 | 49.1 | 48.3 | 52.7 | 53.6 | 33.6 |
| | Lec | 2.1 | 6.2 | 1.3 | 3.3 | 6.0 | 14.4 | 2.5 | 3.7 |
| | FFA | 0.8 | 4.5 | 16.6 | 16.6 | 6.2 | 6.7 | — | 1.1 |
| 22:6 | TG | 25.2 | 33.9 | 4.7 | 3.5 | 3.3 | 11.1 | 2.3 | — |
| | Lec | 7.2 | 19.8 | — | 3.5 | 7.2 | 28.1 | 0.6 | 0.5 |
| | FFA | 3.9 | — | 10.5 | 26.2 | 5.4 | 3.9 | — | — |

* TG-Fatty acid (mg/100g minced tissue) =

$$\text{TG Yield (mg/100g minced tissue)} \times \frac{3 \times \text{FA-MW}}{\text{TG-MW}}$$

Lec-Fatty acid (") =

$$\text{Lec Yield (")} \times \frac{2 \times \text{FA-MW}}{\text{Lec-MW}}$$

FA-MW=56108/Fatty acid neutralization value calculated from GLC data

短時間で失われるが、吸着能は何ら低下せず、パルミチン酸、オレイン酸のごときは被吸着率が高い。とくに高度不飽和脂肪酸は極めて固い結合状態で蛋白質-脂肪酸複合体が形成されることを報告している。この様な点からレシチンやトリグリセライドから開裂した脂肪酸の一部には蛋白質との複合体形成に費やされたものもあることは推定出来る。しかし前述のごとく10日目での総脂質量の減少、ヨウ素価の減少及び酸価の増大からみれば、遊離された脂肪酸の大部分は魚肉細碎時に混入包含された空気の影響により分解消失したものと考えられる。

貯蔵日数が30日になるとリン脂質、とくに16:0, 22:1, 22:6酸を構成成分とするレシチンが増加する。50日目では16:0, 18:0, 20:1酸を構成成分とするトリグリセライドが若干増加する。この期に非リン脂質未確認区分が著しく減少しており、あたかもこれら未確認物質が基幹となりレシチン或いはトリグリセライドの再合成が行われたかの様な結果を示しているが、遊離脂肪酸区分のこれら脂肪酸が減少していないこと、及び前述のHAMOSHら⁹⁾の指摘するごとく、冷凍貯蔵下ではエステル化能が殆んど失われていることからすれば極めて脂質再合成の可能性は薄い。結局、30日ないし50日間の冷凍貯蔵により組織的な変化に伴い、元来固く蛋白質-脂質複合体を形成していたものが開裂切断

され、あらたに抽出されて来た結果によるものと考えられる。20日目を過ぎて以降、レシチンやトリグリセライドがあらたに抽出されたとしても総脂質の増加が認められないのは未確認物質区分の分解消失とともに50日以後ではトリグリセライド及びケファリンの分解が進んでいる結果であろう。50日以後分解するトリグリセライド及びケファリンからの高度不飽和酸は、さらに酸化分解され短鎖酸性物質となる為にヨウ素価の減少と酸価の増大という結果になるものと考えられる。

100日目で各脂質区分の脂肪酸組成はトリグリセライドは主に16:0, 18:0, 18:1, 20:1及び22:1酸、レシチンは16:0, 18:0, 18:1酸、また遊離脂肪酸区分も16:0, 18:0, 18:1酸によって占められている。

結局、魚肉を細砕した状態で、しかも多脂魚肉を冷凍貯蔵した場合はフィーレー少脂魚肉とはかなり異った様子で脂質の変化がみられる。すなわち少脂魚フィーレー低温貯蔵の場合、はじめむしろ緩慢に、1週間後で急速に脂質が減じ、約5週間後で分解が止るが、6週間あたりで僅かに増加する。なおこの際、前述の様に脂質の分解中間体の蓄積は認められず、従ってこのような中間体がより一層速やかに分解されても蓄積されないものか、或いは直接分解終局物に変化してしまう結果であろうということをしてLOVERNら¹⁾やOLLEY²⁾は報告しているが、著者らの実験条件、すなわち細砕肉冷凍貯蔵の場合にはスケトウダラの場合⁷⁾においても、はじめ5~10日目で急激な脂質分解がみられ30~40日で再び増加、以後緩慢なる減少がみられた。この初期の著しい脂質減少は一応魚肉細砕時の混入空気による影響と推察したがLOVERNらの酵素分解とくにホスホリパーゼBの系、或いはYURKOWSKIら⁸⁾の指摘するごとくタラ肉リゾレシチナーゼ活性、及びBILINSKI⁹⁾らのニジマス肉リゾレシチナーゼ活性がレシチナーゼ活性の数倍も高いということ、及び魚肉凍結初期にこれら酵素系が賦活されるらしい³⁾ことなどからすれば魚肉細砕により酵素系が外部へ出て、極めて速かに作用しやすい状態になっているものと考えられ、それらの活性度測定が今後の課題と考えられる。

要 約

- 1) 近海産ホンマグロ (*Thunnus orientalis*) 細砕肉を冷凍貯蔵 (-20°C) した際の脂質変化を検討した。
- 2) ホンマグロ筋肉の主要脂質成分であるトリグリセライド及びレシチンは貯蔵10日目で著しい分解が認められ魚肉フィーレーの低温貯蔵の場合と異った様子を示した。
- 3) 実験終了期の100日目ではレシチンは初期の約43%が、トリグリセライドは約61%が分解しており、この期の各脂質構成脂肪酸は主に16:0, 18:0, 18:1によって占められ高度不飽和脂肪酸は殆んど認められなかった。
- 4) 細砕肉貯蔵の場合、とくに混入空気の影響、遊離脂肪酸・蛋白質複合体形成能、及び各脂質分解酵素活性の測定などの点が今後の課題と考えられた。

文 献

- 1) LOVERN, J. A., OLLEY, J. and WATSON, H. A. (1959) *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 327—337.
- 2) OLLEY, J., PIRIE, R. and WATSON, H. A. (1962) *Ibid.*, **13**, 501—516.
- 3) OLLEY, J., and LOVERN, J. A. (1960) *Ibid.*, **11**, 644—652.
- 4) KING, F. J., ANDERSON, M. L. and STEINBERG, M. A. (1962) *J. Food Sci.*, **27**, 363—366.
- 5) ANDERSON, M. L. and STEINBERG, M. A. (1964) *Ibid.*, **29**, 327—330.
- 6) HAMOSH, M., ATIA, R. and SHAPIRO, B. (1966) *Ibid.*, **31**, 146—150.
- 7) 五十嵐久尚・座間宏一・高間浩蔵・羽田野六男 (1965) 日本水産学会年會にて講演発表。
- 8) YURKOWSKI, M. and BROCKERHOFF, H. (1965) *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **22**, 643—652.
- 9) BILINSKI, E. and JONAS, R. E. E. (1966) *Ibid.*, **23**, 207—220.