

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成22年3月作成

四国地域イノベーション創出協議会
地域食品・健康分科会 編

s-food@m.aist.go.jp

鮮魚のATP関連物質

作成者：徳島県立工業技術センター 主任研究員 吉本亮子

1. 鮮魚について

1. 1 概要

魚の鮮度は、その品質を決定する最も重要な要素である。鮮魚とは文字通り新鮮な状態の魚であり、特に生食用は極めて高い鮮度が要求される。魚は死後数時間程度で死後硬直に至り、その後解硬して軟化し最終的に腐敗する。市場では死後硬直前の鮮魚は活魚と同等の価格で取引される。

1965年1月、科学技術庁資源調査会から提出された「食生活の体系的改善に資する食料流通体系の近代化に関する勧告」を基に、コールドチェーン（低温流通機構）の整備が進められた。このように低温輸送技術の進展とともに生鮮物の広域流通が可能になり、今では地方で水揚げされた魚が中央の大消費地の市場へ高鮮度で輸送されるようになっている。

徳島県沿岸は、国内でも有数のハモの産地である。ハモは7、8月に京阪神方面での需要が高まり、主に活魚輸送が行われている。ハモは、死後放置すると、変色や異臭が顕著に発生するため、水揚げ後直ちに生き締め脱血処理を行い、高い鮮度を保持した状態での輸送も行われている。

ハモは、特に京都の祇園祭りや大阪の天神祭りにはなくてはならない高級食材として珍重される。骨切り後さっと湯を通したハモの湯引きは代表的な調理法であり、その繊細な味は初夏の味覚の代表格である。さらに魚体に脂が乗ってくる秋以降は、「金ハモ」「松茸ハモ」などと呼ばれ、また違った味を楽しむことができる。



図 1. 1 - 1 ハモ

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

ATP 関連物質（ATP：アデノシン三リン酸、ADP：アデノシン二リン酸、AMP：アデノシン一リン酸、ノシン酸、イノシン、ヒポキサンチン）は、魚類の鮮度指標として用いられる。魚類は死後 ATP が急激に減少する。ATP はアデノシンにリン酸が 3 つ結合した物質であるが、リン酸が一つ外れた ADP、二つ外れた AMP に順に分解し、更にイノシン酸、イノシン、ヒポキサンチンへと変化して行く。鮮度は K 値として下のように表される。K 値が小さいほど鮮度が高いことを示す。即殺魚は 10% 以下、刺身は 20% 以下と言う数値が目安とされているが、魚種により異なる。

<引用・参考文献>

1. 上田幸男・里圭一郎：わが国の水産業「はも」、(社)日本水産資源保護協会

2. ATP 関連物質についての説明

ATP は生体内で用いられるエネルギーの保存および利用に関与する物質である。生物は ATP サイクルとよばれる代謝機構によりエネルギーを発生させる。しかし、死後は ATP サイクルが回らなくなり、魚類では ATP が急激に減少する。ATP はアデノシンにリン酸が 3 つ結合した物質であるが、リン酸が一つ外れた ADP、二つ外れた AMP に順に分解し、更にイノシン酸、イノシン、ヒポキサンチンへと変化して行く。

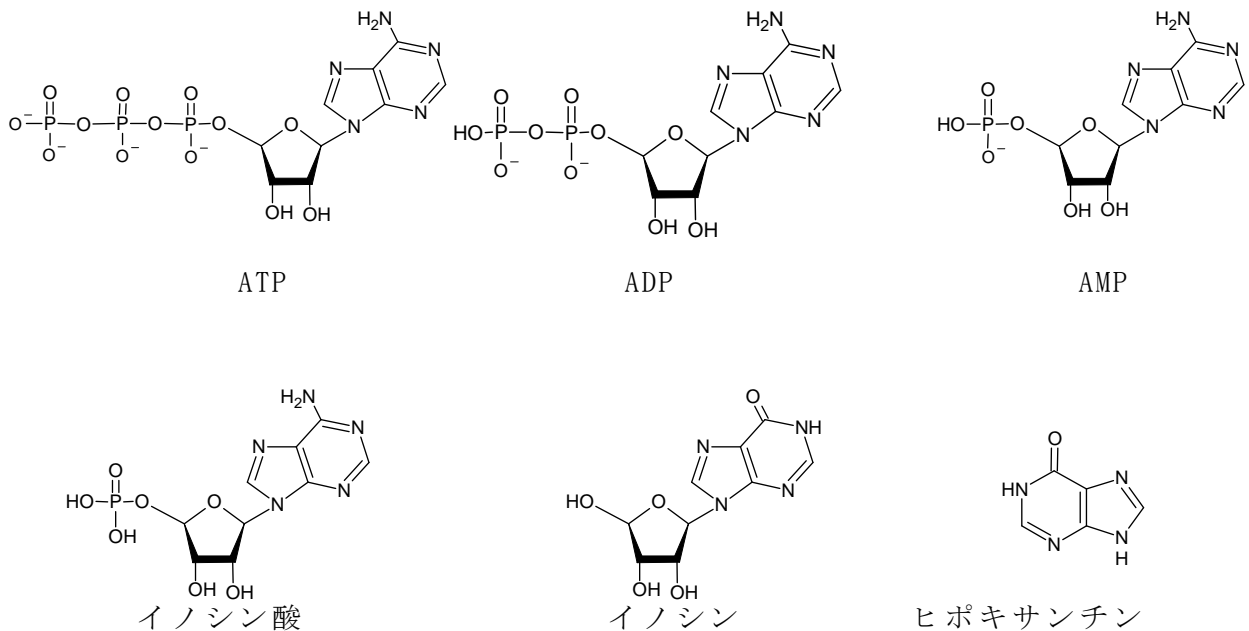


図 2 - 1 ATP 関連物質

3. 定量分析の方法について

ATP 関連物質 6 種を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて定量する方法を述べる。

3. 1 準備する器具など

1. ホモジナイザー
2. 遠沈管
3. 遠心機 (冷却機能付きのもの)
4. pH メーター
5. 10ml 容メスフラスコ
6. 高速液体クロマトグラフシステム。紫外検出器(UV 検出器)、カラム恒温槽 (25℃ が保てるもの)。
7. 順相カラム (4.6mmID×250mm、 TSKgel Amide-80, 粒子径 5 μ n, 東ソー製)

[試薬]

1. 過塩素酸素酸溶液 (10%、5%)
2. 水酸化カリウム溶液 (10N、1N)
3. 5%過塩素酸中和溶液: 5%過塩素酸溶液に水酸化カリウムを加えて pH6.4 に調製しろ過する。
4. アセトニトリル (高速液体クロマトグラフィー用)
5. リン酸緩衝液: リン酸二水素カリウムとリン酸水素ニカリウムにより pH4.5 に調製する。

ATP 関連物質はそれぞれ 20ppm 程度の濃度になるように調製する。

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

1. 背部筋肉 2.5g をホモジナイザー容器に精秤する。このとき血合い肉や皮の混入を避ける。
2. 氷冷した 10% 過塩素酸溶液 6ml で磨砕、攪拌する。
3. 遠沈管に移して遠心分離 (3000rpm、4分) し、上澄を得る。
4. 沈殿物に氷冷した 5% 過塩素酸溶液 2ml を加え遠心分離して (3000rpm、4分) 上澄を回収する。この操作を 2 回行う。
5. 得られた上澄を集め、10N と 1N の KOH で pH メータを用いながら pH6.4 に調製する。
6. 遠心分離 (3000rpm、4分) を行い上澄を回収し、さらに沈殿物を 5% 過塩素酸中和溶液 2ml で 2 回洗浄する。
7. 集めた遠心上澄を 25ml に定容し測定用試料溶液とする。

3. 3 HPLC による分析方法

3. 3. 1 HPLC 条件

(1) 移動相の調製

移動相をアセトニトリル(HPLC用)、超純水、リン酸を用いて以下のように調製する。
75mmol/LKH₂PO₄(pH4.5)－アセトニトリル(30+70、V/V)。

(2) 分析条件

① 検出器、恒温槽、溶媒の流量等の条件は以下の通りとする。

流量：1.0ml/min.

検出波長：260nm

カラム温度：25℃

注入量 10 μL

② 移動相はイソクラティックで流す。

(3) 定性及び定量

① 分離された物質の定性は保持時間により行う。

② 定量は標準試料を用いた絶対検量線法により、クロマトグラムの面積から計算する。

4. 分析例

分離された物質は保持時間から(標準物質と比べ)特定する。定量には標準試料を用い、クロマトグラムのピーク面積から濃度を算出する。以下に ATP 関連物質のクロマトグラムを図に示す。

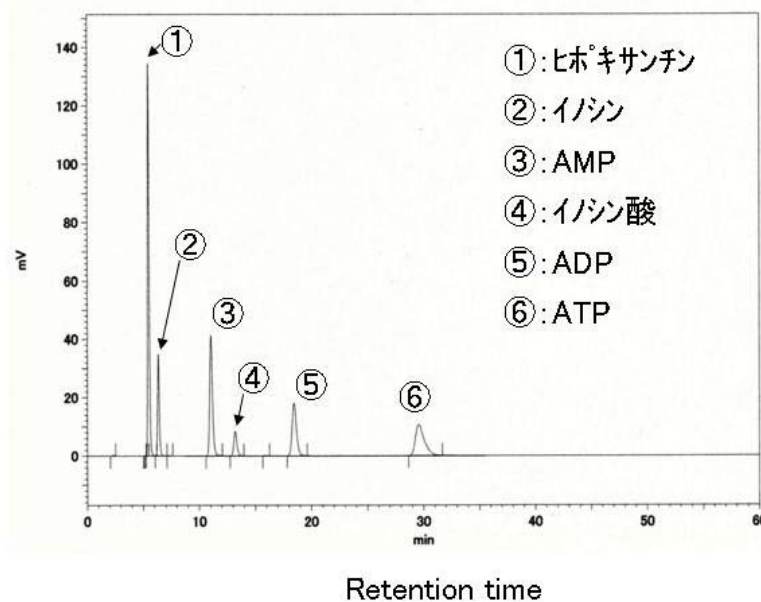


図 4 - 1 ATP 関連物質のクロマトグラム

5. 食品の分析結果例

上記手法を用いて、徳島県産ハモおよびマアジの ATP 関連物質を定量し K 値を算出した一例を下表に示す。

表 5 - 1 徳島県産鮮魚の ATP 関連物質

| 魚種 | ATP 関連物質 | | | | | | Total | K-value (%) |
|-----|-----------------|------|------|-------|---------|--------------|-------|-------------|
| | ATP | ADP | AMP | IMP | Inosine | Hypoxanthine | | |
| | (μ mol/g) | | | | | | | |
| ハモ | 0.08 | 0.11 | 0.15 | 4.32 | 0.20 | 0.09 | 4.95 | 5.86 |
| マアジ | 0.12 | 0.33 | 0.26 | 11.93 | 1.09 | 0.10 | 13.83 | 8.60 |

6. 分析上の留意、注意点

抽出操作中においては、試料、試薬および器具類はできる限り氷冷し迅速に行う。

7. その他

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. 槌本六良・三嶋敏雄・宇津木照洋・北島俊一・矢田殖朗・保田雅人：日水誌，51, 1363-1369 (1985)

—以上—

[トップページに戻る](#)