

## ヒラメの貯蔵に伴う核酸関連物質および血小板凝集抑制能の変化

村田道代<sup>1)</sup>#・土井悦四郎<sup>1)</sup>・松田芳和<sup>2)</sup>・山本浩<sup>3)</sup>・

塚正泰之<sup>4)</sup>・杉山雅昭<sup>4)</sup>・峯岸裕<sup>4)</sup>・坪内涼子<sup>5)</sup>・

中塚正博<sup>5)</sup>・太田隆男<sup>5)</sup>・坂口守彦<sup>6)</sup>・柴田幸男<sup>5)</sup>

(<sup>1)</sup>京都大学食糧科学研究所\*, <sup>2)</sup>日本クリニック Co. Ltd. \*\*, <sup>3)</sup>ヤンマーディーゼル Co. Ltd. \*\*\*,

<sup>4)</sup>丸大食品 Co. Ltd. \*\*\*\*, <sup>5)</sup>愛知県医科大学生化学教室\*\*\*\*\*, <sup>6)</sup>京都大学農学部水産学科\*\*\*\*\*)

### Changes in Contents of ATP-related Compounds and Depressing Ability of Platelet Aggregation in Plaice *Paralichthys alivaceus* Muscle During Ice Storage

Michiyo MURATA<sup>1)</sup>, Etsushiro DOI<sup>1)</sup>, Yoshikazu MATSUDA<sup>2)</sup>, Hiroshi YAMAMOTO<sup>3)</sup>,

Yasuyuki TSUKAMASA<sup>4)</sup>, Masaaki SUGIYAMA<sup>4)</sup>, Yutaka MINEGISHI<sup>4)</sup>, Ryoko TSUBOUCHI<sup>5)</sup>,

Masahiro NAKATSUKA<sup>5)</sup>, Takao OTA<sup>5)</sup>, Yukio SHIBATA<sup>5)</sup>, Morihiiko SAKAGUCHI<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Institute for Food Science, Kyoto University, <sup>2)</sup>Nihon Clinic Co. Ltd., <sup>3)</sup>Yanmer Diesel Enzine,

<sup>4)</sup>Marudai Food Co. Ltd., <sup>5)</sup>Department of Biochemistry, Aichi Medical University and

<sup>6)</sup>Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University

The sensory and chemical analysis of plaice muscle stored in ice was conducted in relation to the depressing ability of platelet aggregation. Sensory analysis revealed that there was no significant change in all profiles during 17 hrs. However, measurable decline in hardness, appearance and allover acceptability was recognized at 6th day but not found in umami, sweetness, sourness and thickness. ATP was present 9.45  $\mu$ mol/g at initial storage time, but fell rapidly within 17 hrs. While, IMP which was little at 0 time, attained a maximum of 9.0  $\mu$ mol/g during 17 hrs and kept its level well thereafter.

The platelet aggregation was depressed only by the extract at 0 time of the storage, suggesting the

\*所在地：京都府宇治市五ヶ庄（〒611）

\*\*所在地：京都市右京区太秦春日町10（〒616）

\*\*\*所在地：大分県国東郡武藏町大字糸原（〒873-04）

\*\*\*\*所在地：大阪府高槻市緑町21-3（〒569）

\*\*\*\*\*所在地：愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21（〒480-11）

\*\*\*\*\*所在地：京都市左京区北白川追分町（〒606）

#現在の住所：華頂短期大学家政学科 京都市東山区林下町3-456（〒605）

participation of ATP in depressing platelet aggregation.

魚肉の貯蔵に伴う呈味の変化や鮮度の低下には核酸関連物質が重要な役割を果たしている。ところで、カキ (Oyster) においては、核酸関連物質のうちアデニル酸 (AMP) は重要な呈味成分としての役割以外に血小板凝集を抑制する作用があることを我々はすでに報告した<sup>1-3)</sup>。本実験では、ヒラメ筋肉を6日間氷蔵し、風味及び物性の変化を、官能評価と化学的分析法で調べると同時に、血小板凝集に対するエキスの抑制作用についても調べ、鮮度と生理作用との関わりを検討した。

## 実験方法

### 試料魚

体長4~7cmのヒラメ種苗(12尾)を13ヶ月間、ヒガシマル製人工餌料(粗タンパク質52%)で陸上水槽(17~22°C)にて飼育した。体長42~46cm、体重880~1120gに成長したヒラメを小型水槽(1m<sup>3</sup>)に移し、3日間餌止め後即殺した。

### 官能検査

官能検査は、刺身に相当する大きさ(10mm厚さ)に切った筋肉を食塩水に浸した後、実際に食べる際に噛む回数を想定して10回噛んで評価した。氷蔵17時間目の試料肉を基準とし(評価点=0)、これと即殺直後、または氷蔵144時間目(6日目)のものを2点比較法で+1から-1までの3段階に評価し、得られた評価点を有意差検定した。検査項目はうま味、甘味、酸味、こく、生臭さ、歯ごたえ、外観、総合評価で、外観以外はすべて赤色の眼鏡を着用して行った。

### 破断強度及び凹みの測定

厚さ10mmに切った筋肉の破断強度と凹みを、安藤らの方法<sup>4)</sup>に準じて測定した。すなわち、直径4mmのプランジャーで試料の中心部を筋繊維と平行に3~5回突き刺し、その時かかる最大力をレオメーター(山電3305型)で記録し、破断強度とした。また、破断凹みを凹みとした。

### ATP-関連化合物の定量

筋肉の過塩素酸(PCA)抽出液を中島らの方法<sup>5)</sup>に従って調製し、Waters 741に装着したCAPCELL PAK C<sub>18</sub>カラム(4.6×150mm、資生堂製)に、移動相として20mM クエン酸一水和物、20mM 酢酸、40mM トリエチルアミン混合液を用い、ATP-関連化合物を定量した。

### 血小板凝集抑制作用の測定

血小板凝集能は、健常な男性3名より採血した血液に凝集惹起物質としてADPを加え、比濁法(京都第一科学社製アグリコーダ)で測定した。また、凝集抑制作用は、反応液に凝集抑制物質としてヒラメエキス(乾燥済みのもの)を加えた場合の凝集能を求め、これと加えない場合との差の割合とした。

## 実験結果および考察

魚は死後、魚種により速度は異なるが、数時間以内に硬直が始まり、一定期間この状態が続いた後、解硬、軟化と進んで鮮度を下げていく。刺身として生で食べる場合の歯ごたえ(堅さ)は、おいしさを

構成する要素として特に重要であるが、これは硬直とは別で、魚体の死と同時に減少していくものが多い。ヒラメを5℃で貯蔵した場合には、即殺直後から24時間以内に穏やかではあるが筋肉の堅さは減少する<sup>4)</sup>。今回の氷蔵条件下(0℃)では、物性測定の結果、噛んだ時の歯ざわりに近い破断強度は、即殺直後よりむしろ17時間目、6日目の方が有意義に高い値を示した(Fig. 1)。これはヒラメは一定期間内身のしっかりした魚であることを裏づけている。凹みは17時間目まで増加傾向を示したが、6日目には0時間目の値よりも低い値にまで減少した。このことは、ヒラメ筋肉は、即殺後17時間目くらいまでは弾力性においてもむしろ優れた状態であるが、氷蔵6日目ともなると弾力性はおちてきていることを示している。

官能評価の結果、即殺直後と17時間目のヒラメ筋肉ではうま味、甘味、酸味などの呈味項目をはじめ、生臭さ、歯ごたえ、外観、総合と全てにおいて区別できないことがわかった(Table 1)。しかし、氷蔵17時間目と6日目では、味および臭いに関しては有意な差はなかったものの、歯ごたえ、外観、総合評価においては差が認められた(Table 2)。

ところで魚介類は種々の生理活性物質を含んでいることが明らかにされて以来<sup>6-8)</sup>、健康食品としてもその価値が見直されてきている。飽食の時代とも言われる昨今、特にヒラメのような高級魚の活けづ

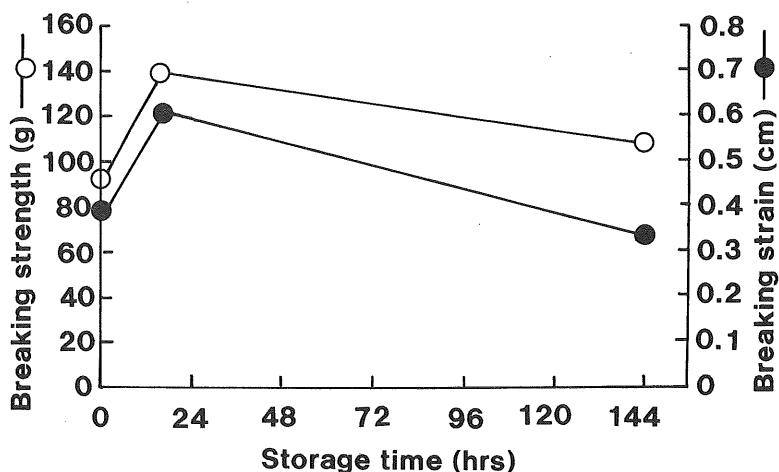


Fig. 1. Changes in breaking strength and breaking strain in plaice during ice storage.

Table 1. Sensory scores of the plaice muscle at the initial of ice storage

	Umami	Sweet-ness	Sour-ness	Thick-ness	Off-flavor	Hard-ness	Appear-ance	overall acceptability
Mean	0.00	-0.09	-0.27	-0.36	-0.36	0.09	0.45	0.27
SEM	0.953	0.668	0.445	0.881	0.771	0.996	0.891	0.962

Muscle stored for 17 hrs was presented as control (n = 11).

くりがもてはやされている。これに対して活け〆後、頃合を見計らって刺身として食べる従来の方法もある。そこでATP-関連化合物の貯蔵変化を調べたところ、即殺直後、即ち活けづくりの状態では、ATPが $9.45 \mu\text{mol/g}$ と大部分を占めていて、うま味物質として重要なIMPはほとんど検出されなかつた。一方、刺身として食べる頃合に近い17時間目には、ATPはもはやわずかに残存するだけで、代わつてIMPが $9.0 \mu\text{mol/g}$ と多量に蓄積していた(Fig. 2)。そしてその後の6日間の氷蔵ではIMPはほとんど減少しなかつた。ところで官能検査では氷蔵0時間目と17時間目とは全項目でまったく区別できないと言う結果が得られたが、IMP含量からみると、このように両筋肉は著しく異なつてゐるのである。熱水抽出液を呈味テストに用いた場合には、加熱操作中にATPがIMPにまで分解されるので<sup>9)</sup>、貯蔵のきわめて早い時期ではうま味の区別ができるない<sup>10)</sup>のは理解できるが、刺身の状態で検査し、しかも物性測定ででも有意に17時間目が高い値を示したのに、なぜ即殺のものと区別できなかつたのか、この点は更に検討が必要である。その他のスクレオチドやスクレオシド類は量的に非常に少なかつた。そこ

Table 2. Sensory scores of the plaice muscle stored for 6 days in ice

	Umami	Sweet-ness	Sour-ness	Thick-ness	Off-flavor	Hard-ness*	Appear-ance*	overall acceptability*
Mean	-0.25	-0.17	0.08	-0.08	-0.17	-0.67	-0.67	-0.67
SEM	0.722	0.687	0.493	0.759	0.898	0.745	0.624	0.624

Muscle stored for 17 hrs was presented as control (n = 12).

\*. Significantly differ from control p < 0.01

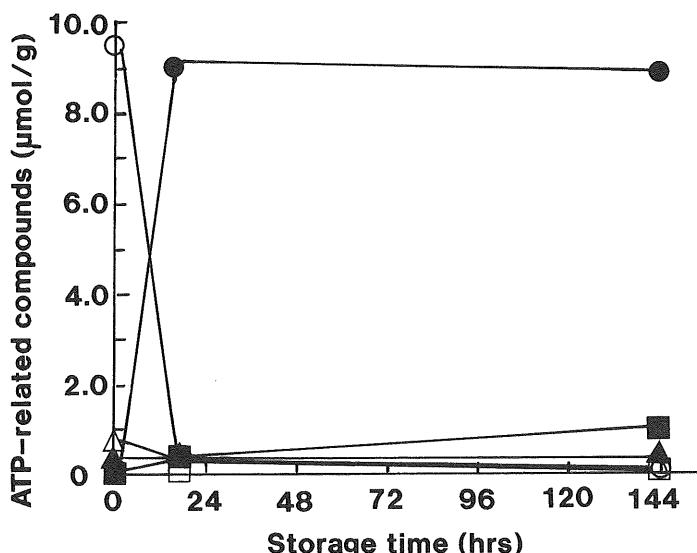


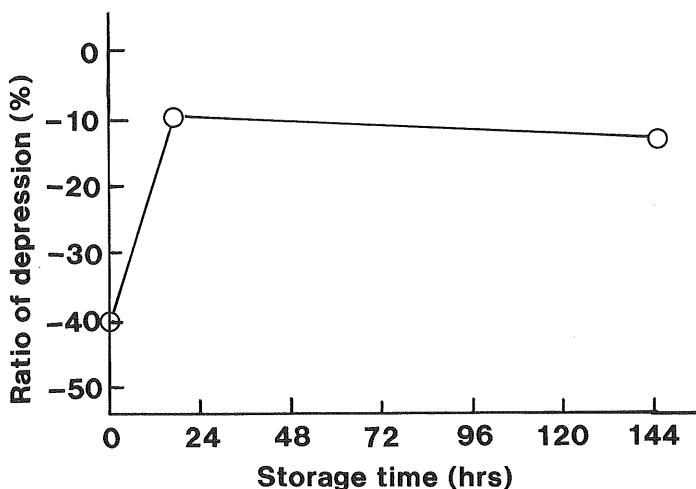
Fig. 2. Changes in ATP-related compounds in plaice during ice storage. ○—○, ATP; △—△, ADP; ▲—▲, AMP; ●—●, IMP; □—□, HxR; ■—■, Hx

で、K値を計算してみると、6日間氷蔵したものでも9.2%と刺身として生で食べる限界とされている20%を遙かに下回り、この点でも極めて良好な状態と言える。

水産物のエキスには、生理活性機能の一つとして、血小板凝集や抑制する物質が含まれていて、それらはヌクレオチドやヌクレオシド類であることが報告されている<sup>1-3,11)</sup>。カキではその物質がAMPであることが明らかにされているので、魚類のヌクレオチド類などにも同様の効果が期待される。そこで、ヒラメの筋肉エキスの血小板凝集に対する抑制効果の変化を調べたところ即殺直後のエキスを添加した場合にのみ、40%の凝集抑制効果が認められた(Fig. 3)。一般に、血小板凝集能の測定では、通常10~20%の誤差が生じ易いとされているが、それでも40%も低下すると言うのは明らかに0時間目のエキスが凝集抑制能を有していることを示唆している。しかし、この時の組成に相当する標準品ヌクレオチド類を組み合わせてみても、これほどの抑制効果は認められなかった。従って、ミネラルなど他のエキス成分の効果も考えられるが、ATPがある程度効果を発しているのは確かである。その意味においては、活けづくりというのは健康的な魚の食べ方といえる。

## 文 献

- 1) 太田隆男, 柴田幸雄 (1985) 微量栄養素研究 2 : 169
- 2) 太田隆男, 柴田幸雄 (1988) 糖尿病動物 2 : 265
- 3) 太田隆男 (1990) 愛知医科大学医学会雑誌 18 : 589
- 4) ANDO M., H. TOYOHARA, Y. SHIMIZU and M. SAKAGUCHI (1991) Nippon Suisan Gakkaishi 57 : 1165
- 5) NAKAJIMA N., K. ICHIKAWA, M. KAMADA and E. FUJITA (1961) J. Agric. Chem. Soc, Japan 35 : 803



**Fig. 3.** Change in depressing effect of platelet aggregation by the addition of plaice muscle extract. Dried plaice extract was added to the reaction mixture at the final concentration of 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The platelet aggregation in the reaction mixture added no plaice extract was also measured as control.

- 6) 小橋紀之, 浜 純吉, 岡林孝直, 八木高秀, 香取 瞭 (1983) 含硫アミノ酸 6 : 97
- 7) BANG H. O., J. DYERBERG and N. HJOME (1976) Acta Med. Scand. 200 : 69
- 8) 藤田孝夫 (1984) 高度不飽和脂肪酸と健康, 水産食品と栄養 (鴻巣章二編) 恒星社厚生閣, 東京 : pp54
- 9) MURATA M. and M. SAKAGUCHI (1989) Nippon Suisan Gakkaishi 55 : 823
- 10) MURATA M. M. SAKAGUCHI, T. SHIMIZU and H. EGUCHI (1990) Nippon Suisan Gakkaishi 56 : 697
- 11) BORN G. V. R. and M. J. CROSS (1963) J. Physiol. 168 : 178