

紫外吸収スペクトル法によるイカの加熱程度の測定

隅野 隆永^{*}, 村上 孝之^{**}, 笹谷 隆^{**}

Determination of the Degree of Heat Treatment of Squids by Ultraviolet Absorption Spectroscopy

Takanaga SUMINO^{*}, Takayuki MURAKAMI^{**} and Takashi SASATANI^{**}

^{*}Osaka Customs Laboratory

4-10-3, Chikko, Minatoku, Osaka 552-0021 Japan

^{**}Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

The water soluble protein content of a squid can be determined by means of ultraviolet absorption spectroscopy (UV method). The UV method was found to be more effective than the Kjeldahl method because of less dispersion in measured values. It was also found that the ratio of the thermally coagulated protein content to the water-soluble protein content of a squid determined by the UV method could be used as an effective method for evaluating the degree of heat treatment of the squid.

1. 緒 言

食品の多くを輸入に頼っている我が国では、イカやエビ、その他の魚介類が数多く輸入されている。

実行関税率表上は、大きく分けて生の魚介類は第3類に、加熱等の調製又は保存に適する処理をしたものは第16類（殻付の甲殻類を除く）に分類され、税率も格差が生じている。

また第3類に分類されるもののうち、帆立貝、貝柱及びイカ（モンゴウイカを除く）は、IQ品目に該当する。

このため、加熱処理及びその程度によって分類が異なり、その判定のため分析が必要となる。

従来魚介類の加熱処理の有無については、たんぱく質の熱変性現象に着目し、魚介類に含まれる水溶性たんぱく質（以下WSPと略す）と総たんぱく質の比を判断基準の一つにしている。この時、たんぱく質の定量にはケルダール法を用いるのが一般的であるが、分解や滴定に時間を要すること、硫酸や過酸化水素水等の危険な薬品を使用することから、より簡便で安全な方法が望まれる。そこで、今回、紫外吸収スペクトル法（以下UV法と略す）によるたんぱく質の定量法が魚介類のWSPの定量に応用できないか検討した。また、UV法では水溶液を測定するため、水に溶けないものも含まれる総たんぱく質の定量ができないことから、熱凝固たんぱく質（以下TCPと略す）のWSPに対する割合と加熱時間及び加熱温度の関係を調べ、加熱

処理の判断基準にできないかについても検討した。

2. 実 験

2.1 試 料

ヤリイカ、ケンサキイカ（いずれも生のもの）

牛血清アルブミン（シグマ社製）

2.2 装 置

紫外吸収スペクトル分光光度計 UV-2400PC 形分光光度計（島津製作所製）

遠心分離機 冷却高速遠心機 H-251（コクサン製）

ケルダール分解装置 クイックダイジェスタ QDS-20M

（三田村理研工業株式会社製）

自動滴定装置 KJEL-AUTO VS-KTP（三田村理研工業株式会社製）

2.3 方 法

2.3.1 WSPの抽出

生のイカ及び加熱処理したイカを細かく刻んだものをそれぞれ約4g前後採取し、ホモジナイズしたものを200mlのメスフラスコでメスアップする。それを全量遠心分離機にかけた後、ろ紙でろ過を行う。

2.3.2 WSPの定量

2.3.1で調製したろ液試料からホールピペットで10ml採取し、200mlのメスフラスコでメスアップしたものをUV法で定量す

* 大阪税関業務部 〒552-0021 大阪府大阪市港区築港4-10-3

** 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉6-3-5

る。また、比較のため、同じ10ml をケルダール法でも定量を行った。

2.3.3 TCPの定量

2.3.1で調製した液試料からホールピペットで10ml 採取し、冷却管をつけた100ml 三角フラスコ中で加熱する。加熱後、中味を全て200ml メスフラスコに移す。三角フラスコを蒸留水で数回洗浄し、その洗液も同じメスフラスコに移す。200ml にメスアップし、ろ過したものを UV 法で定量する。2.3.2で求めた WSP から差し引いた分を TCP とする。

2.3.4 UV法¹⁾

上記方法で調製した試料の215nm と225nm の吸光度を測定する。次式よりたんぱく質濃度を算出する。

$$\text{たんぱく質濃度} (\mu\text{g/ml}) = (A_{215} - A_{225}) \times 144$$

元の試料中のたんぱく質 (g)

$$= \text{たんぱく質濃度} (\mu\text{g/ml}) \times 4/1000$$

ただし、 A_{215} 、 A_{225} は、それぞれ215nm、225nm における吸光度である。

3. 結果及び考察

3.1 WSPの定量

実際の試料を使った実験の前に、定量性の確認のために牛血清アルブミンの定量を行った。Fig.1 は、横軸を実際に使用したアルブミンの濃度とし、縦軸を UV 測定によって得られた値をプロットし、その相関性を調べたものである。10 ~ 120 $\mu\text{g/ml}$ の間で良好な直線性が見られた。数値的には少し低めとなったが、比較的近い数字が得られた。

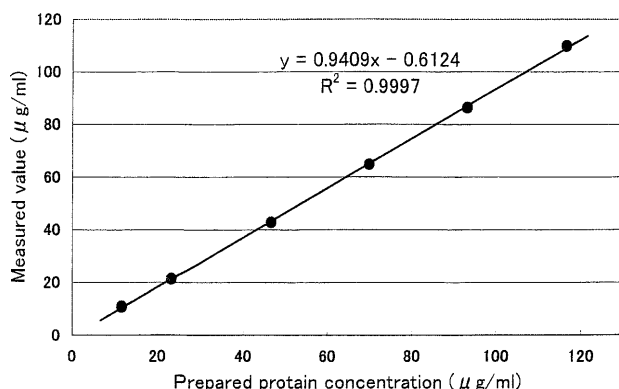


Fig.1 Relation between protein concentration and measured value

3.2 ケルダール法との比較

Fig.2 は、同一のイカ試料について UV 法とケルダール法でそれぞれ5回、WSP の測定を行った結果をグラフに表した。ケルダール法に比べて、UV 法の方がばらつきが小さい結果となった。数値については3.1でも述べたように、少し低めとなった。しかし、ケルダール法が、たんぱく質以外の窒素化合物も含めて定量していることやたんぱく質の種類によって窒素含有量に

違いがあることを考えると、相対的なたんぱく質の量を測定するには十分な結果であると思われる。

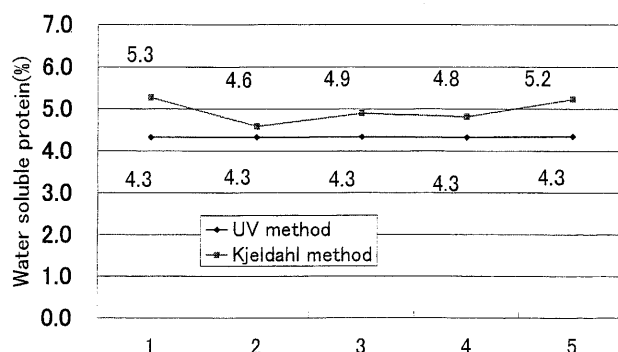


Fig.2 Analytical results of water soluble proteins

3.3 加熱時間とTCPの関係

Fig.3 は、試料を 100℃ で加熱処理した時間と TCP の WSP に対する割合を示したものである。最初の数分で大きく減少しそれ以降、ほぼ横ばいとなった。

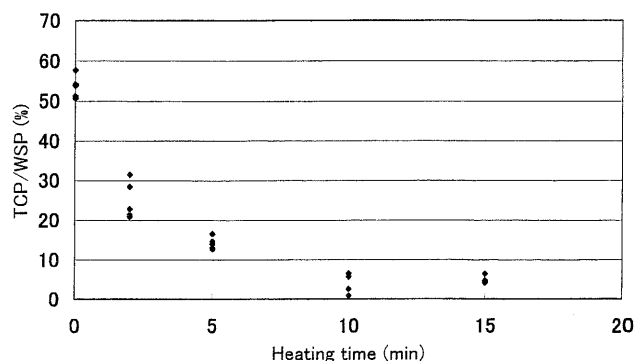


Fig.3 Relation between heating time and TCP/WSP

3.4 加熱温度とTCPの関係

一般に、加熱温度が高いほど熱凝固の速度は速くなると考えられる。逆に加熱温度が低いと熱凝固に時間がかかり、また、熱凝固に必要な温度以下であると、熱凝固しないものと思われる。Fig.4 は、加熱温度と TCP の割合をグラフにしたものである。試料の加熱時間は15分とした。35 から 60℃ では20%程あったものが、70℃ 以上ではほぼ 0%で横ばい状態になった。65℃ ではその中間的な値が得られた。この結果は、加熱温度が高いと15分程度の加熱でほとんど熱凝固したものが、それ以下の温度ではまだ完全に熱凝固していないことがわかる。また、65℃ 付近で大きな差が見られることから、熱凝固に必要な温度がこの付近にあることを示唆するものと考えられる。これまでに色々なたんぱく質が60℃ から80℃ 付近で熱凝固を開始することが知られている。以上の結果は今までに報告されているケルダール

法による結果²⁾とも類似しており、今後、試料間におけるばらつきを検討することによって加熱程度の判定に応用できるものと考えられる。その場合、TCP がほぼ0になる時点をも十分に加熱されたものとみなすとわかりやすい。

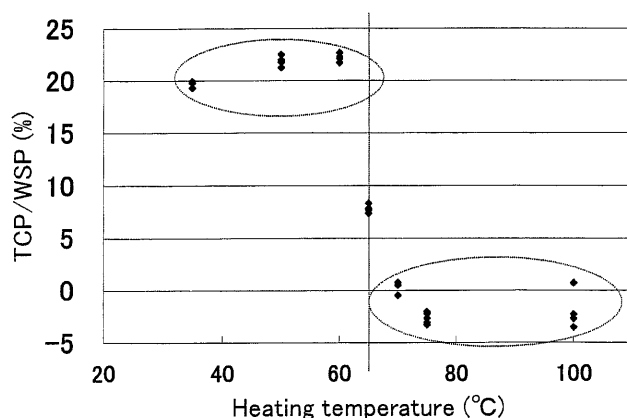


Fig. 4 Relation between heating temperature and TCP/WSP

3.5 化学調味料の影響

最後に化学調味料の影響について調べた。UV 法による測定では、215nm 付近に吸収を持つようなものが共存すると測定に影響を与える。Table 1 は、グルタミン酸ナトリウムを主成分とする市販の化学調味料の濃度を変えて測定したものである。たんぱく質に比べて 10 分の 1 以下の強度ではあるが、濃度が濃い場合には定量に影響を及ぼすものと考えられる。

Table 1 Effect of chemical seasoning concentration on measured value

Chemical seasoning concentration	Measured value by UV method
1000 $\mu\text{g/ml}$	63.2 $\mu\text{g/ml}$
100 $\mu\text{g/ml}$	6.48 $\mu\text{g/ml}$
10 $\mu\text{g/ml}$	0.864 $\mu\text{g/ml}$

Table 2 は、2.3.3 の 10ml を加熱する際に 10mg/ml の化学調味料溶液 2ml (ブランクは蒸留水を 2ml) 加えた場合の WSP, TCP 及び TCP/WSP に対する影響を調べたものである。これは、化学調味料が、その後の希釈により、測定時に石英セル中に 100 $\mu\text{g/ml}$ 存在する量であり (Table 1 参照)、元のイカに対しては 10% 添加した量に相当する。WSP は、やはり Table 1 から予測された程度、大きめに出了が、TCP に関してはほとんど影響がないことがわかった。ただし、WSP が見かけ上、大きく出ているため TCP/WSP の比の大小を直接比べることはできず、化学調味料の影響を考慮する必要がある。

Table 2 Effects of chemical seasoning on measured value

	Chemical seasoning added	Blank test
WSP	8.37 %	7.72 %
TCP	3.10 %	3.17 %
TCP/WSP	37.1 %	41.1 %

4. 要 約

紫外吸収スペクトル法 (UV 法) により、イカの水溶性たんぱく質 (WSP) の定量が可能であることが確かめられた。この方法では、硫酸などの危険な試薬を使うことなく、しかも短時間での測定が可能となる。さらに、UV 法を利用したイカの熱凝固性たんぱく質 (TCP) の測定が加熱程度の判定に使用できることがわかった。今後、その他の魚介類についても十分応用できるものと期待される。

文 献

- 1) 菅原潔, 副島正美: "蛋白質の定量法 (第3版)", P.135 (1990) (学会出版センター)
- 2) 印出進, 白井正澄: 関税中央分析所報, 25,65 (1985)