

食品添加物に対する γ 線照射の影響に関する研究 (8) : 水溶液およびかまぼこ中におけるポリリン酸 に対する γ 線照射の影響

浜田, 盛承
水産大学校

石尾, 真弥
九州大学農学部水産化学教室

<https://doi.org/10.15017/22281>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 36 (1), pp.13-18, 1981-08. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :

食品添加物に対する γ 線照射の影響に関する研究

VIII. 水溶液およびかまぼこ中におけるポリリン酸 に対する γ 線照射の影響

浜田盛承*・石尾真弥

九州大学農学部水産化学第一教室

(1981年4月18日 受理)

Studies on the Influences of γ -Ray Irradiation upon Food Additives

VIII. Influences of γ -Ray Irradiation on Polyphosphates in Aqueous Solution and in "Kamaboko"

MORITSUGU HAMADA and SHINYA ISHIO

Laboratory of Fisheries Chemistry, Faculty of Agriculture,
Kyushu University 46-04, Fukuoka 812

緒 言

生鮮、加工を問わず、食品に γ 線を照射すれば、これらの保蔵期間が延長されることは広く知られている。また、照射食品の安全性は動物実験の結果からも確かめられており (Read, 1960; Josephson and Calhoun, 1978; Urbain, 1978), 照射食品は今後大いに利用されると考えられる。しかし、加工食品には通常、種々の食品添加物が添加されていることが多く、このような加工食品に γ 線を照射する場合、食品添加物の照射破壊生成物が衛生上、安全なものかどうか懸念される。

ここでは、ハム、ソーセージ、かまぼこなどの保水性を高め、柔らかさを増し、結着力を増強するために使用されているポリリン酸に γ 線を照射し、懸念される破壊生成物の有無を調べた。

実験方法

1. 試薬

トリポリリン酸ナトリウム ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, 片山化学(株)製, 特級) および食品添加物として用いられているポリリン酸添加剤を用いた。

2. 水溶液におけるポリリン酸の分画および含量測定

ポリリン酸の分画には、Karl-Kroupa (1956) のペーパークロマトグラフィー、Matsuhashi (1957) のカラムクロマトグラフィーが知られている。ここでは Matsuhashi (1957) の方法によつてポリリン酸の分画を行つた。すなわち、Dowex 1-X4 (Cl 型) のカラム (ϕ 0.9×30 cm) にポリリン酸水溶液を添加した後、M/20 ホウ酸緩衝液 (pH 8.0) で調製した 0.2 M KCl 溶液と 0.5 M KCl 溶液を用い、KCl 濃度が 0.2 M から 0.5 M まで変化するように流してポリリン酸の分画を行つた。溶出液は 9 ml ずつフラスココンコレクターによつて分取した。

3. かまぼこおよびサバ肉

供試かまぼこは、かまぼこ研究所 (東京) において調製されたものであり、その製法は、1) スケソウダラ冷凍すり身をすり身カッターで細切、2) すり身の温度が 0°C となるまで室温で解凍した後、搥潰機に投入、3) 前報 (浜田ら, 1981) に示す順序で各原料を添加し、35~40 分間搥潰、4) このすり身を一次結索した塩化ビニリデンフィルム (折径 6.0 cm, 長さ 25 cm) に 170 g ずつ充填した後、アルミワイヤーで二次結索、5) 85°C の熱水中で 40 分間加熱、6) 流水中で 20 分間冷却の 6 工程から成る。このようにし

* 水産大学校

て調製したかまぼこを直ちに福岡まで空輸し、実験に供した。

また、生鮮および加熱魚肉中におけるポリリン酸の変化を検討するために、市販のサバ普通肉を肉挽器に通して用いた。

4. かまぼこおよび魚肉中におけるポリリン酸の抽出、分画ならびに含量測定

かまぼこ、またはサバ肉ホモジネート中におけるポリリン酸の抽出には、6%過塩素酸(以下、PCAと略記する)水溶液を用いた。すなわち、約5mm角に細切したかまぼこ、またはサバ肉ホモジネートの各10gに6%PCA溶液100mlを加えてホモジナイズし、東洋濾紙(株)製のろ紙(No. 5A)を用いてろ過し、ろ液を得た。このろ液に濃アンモニア水を滴下してpHを8.0~8.5に調整した後、この5mlをDowex 1-X4 (Cl型)のカラム(φ0.9×30cm)に通し、M/20ホウ酸緩衝液(pH 8.0)でポリリン酸を溶出した。最初の溶出液9mlを捨て、続く25mlの溶出液を採取した。この溶出液5mlを別のカラム(Dowex 1-X4, Cl型, φ0.9×30cm)に通し、水溶液中におけるポリリン酸の分画に用いた方法と同じ方法によつてポリリン酸を分画した。

5. リン酸含量の測定

試験管に分取した溶出液(各9ml)に、それぞれ2N-H₂SO₄ 1mlを加え、沸騰水中で60分間加水分解した後、Fiske and Subbarow (1925)の方法によつてリン酸含量を測定した。

6. γ 線照射

0.2%トリポリリン酸ナトリウム水溶液20mlを外径1.7cm、高さ19cmの共栓付褐色試験管に入れ、 1.36×10^5 rad/hの線量率で 0.30×10^6 、 2.49×10^6 および 4.38×10^6 radの γ 線を照射した。照射後、各試料1mlをとり、前述の方法でポリリン酸の分画と含量測定を行った。また、かまぼこには 1.12×10^4 rad/hの線量率で、 3.00×10^5 および 6.00×10^5 radの γ 線を照射した。

結果および考察

1. 水溶液およびかまぼこ中におけるポリリン酸の分画および含量測定結果

0.2%トリポリリン酸ナトリウム水溶液1mlをカラムに通してリン酸の分画および含量の測定を行った。その結果をFig. 1に示す。

Fig. 1の結果から明らかのように、供試したトリポリリン酸ナトリウムはo-リン酸、ピロリン酸および

トリポリリン酸の3成分に分画され、それぞれの含量は7 μ g, 134 μ gおよび1,410 μ gであつた。また、テトラポリリン酸よりも高次のポリリン酸は検出されなかつた。すなわち、このトリポリリン酸ナトリウムの組成はo-リン酸が0.5%、ピロリン酸が8.6%およびトリポリリン酸が90.9%であつた。

かまぼこ中におけるポリリン酸の分画および含量測定に先立つて、6%PCA共存下におけるポリリン酸の分画を検討した。予備試験の結果、6%PCA共存下では添加したトリポリリン酸ナトリウムは、Dowex 1-X4 (Cl型)のカラム(φ0.9×30cm)を用いるカラムクロマトグラフィーでは2, 3番目のフラクションに集中的に溶出されることが判明した。よつて、これらのフラクションを得た後25mlに希釈し、この中の5mlを別のDowex 1-X4 (Cl型)のカラム(φ0.9×30cm)に通してポリリン酸の分画を行った。その結果をFig. 2に示す。

Fig. 2から、6%PCAが共存する時にも2回のカラムクロマトグラフィーによつて、ポリリン酸はo-リン酸、ピロリン酸およびトリポリリン酸に分画できることが明らかである。本方法によるリン酸の回収率は、o-リン酸で95.4%、ピロリン酸およびトリポリリン酸ではともに85.5%であつた。

次に、この方法がかまぼこに添加したポリリン酸の

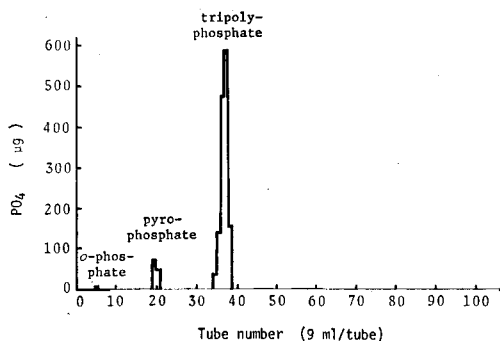


Fig. 1. Separation of tripolyphosphate, pyrophosphate and o-phosphate in special grade triphosphate by subjecting to the column chromatography proposed by Matsushashi (1957). One milliliter of 0.2% sodium triphosphate (special grade) aqueous solution was applied to the column, and eluted by the technique of gradient elution from 0.2 to 0.5 M KCl. PO₄ contents were spectrophotometrically determined by Fiske-Subbarow's method after hydrolyzation to phosphoric acid by sulfuric acid. Exchanger: Dowex 1-X 4 (Cl form). Column size: φ 0.9×30 cm.

分画にも適用し得るかどうかの検討を行った。供試したかまぼこはかまぼこ調製時にポリリン酸を添加していないものである。これを細切し、ポリリン酸を新たに添加し、10倍量の6% PCAを加えてホモジナイズ後、前述の方法でポリリン酸を分画した。その結果を Fig. 3 に示す。

Fig. 3 から、かまぼこに加えたポリリン酸は *o*-リン酸、ピロリン酸およびトリポリリン酸に分画されることから、ここに用いた分画法はかまぼこ中のポリリン酸の分画にも適用できることが明らかである。

かまぼこの調製時に添加したポリリン酸は、Fig. 4 に示すようにピロリン酸とトリポリリン酸から成り、それらの重量比は 2 : 1 であった。このポリリン酸を

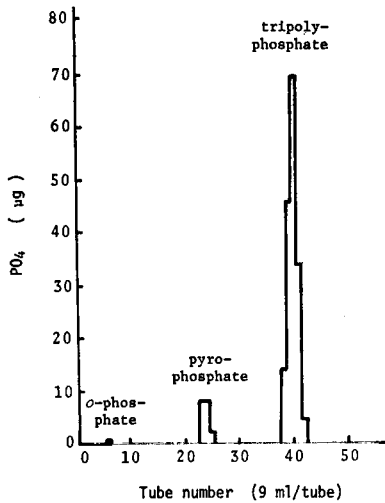


Fig. 2. Separation of tripolyphosphate, pyrophosphate and *o*-phosphate in special grade triphosphate in 6% perchloric acid solution, after subjecting twice to the column chromatography. One fifth percent sodium triphosphate (special grade) aqueous solution and 6% perchloric acid solution were mixed in the volume ratio 1 : 10, and the pH value was adjusted to 8.0 with conc. ammonia water. Five ml of this solution was applied to the column equilibrated with M/20 borax buffer solution (pH 8.0), and eluted with the same solution, then fractions of 9 ml were collected. Eluate in the first fraction was discarded, and succeeding 25 ml eluate was collected in 25 ml volumetric flask. Five ml of this eluate was applied to the column, and subjected to the gradient elution described in the legend of Fig. 1. The eluate from the second column chromatography was subjected to the determination of PO_4 according to Fiske-Subbarow's method.

新たにすり身に加えて調製したかまぼこ中のポリリン酸分析の結果は、Table 1 に示すように *o*-リン酸とピロリン酸の存在のみを示し、それぞれの含量は 1,814 $\mu g PO_4/g$ および 1,023 $\mu g PO_4/g$ であった。一

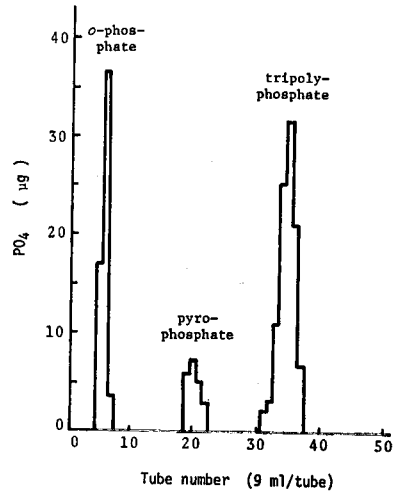


Fig. 3. Separation of tripolyphosphate, pyrophosphate and *o*-phosphate from the homogenate of "kamaboko" to which the polyphosphate additive had been purposely added. "Kamaboko" and 6% perchloric acid solution were homogenized in the weight ratio 1 : 10. The homogenate was filtered through filter paper (TOYO, No. 5A), and the filtrate was subjected to the column chromatography. The detailed procedures of the column chromatography were the same as described in the legend of Fig. 2.

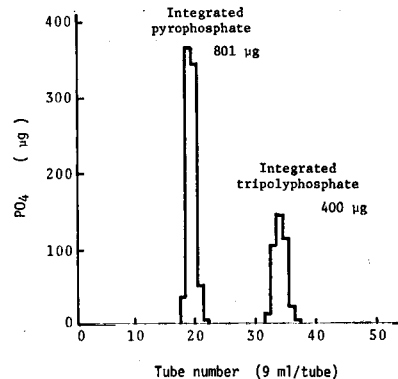


Fig. 4. Separation of tripolyphosphate, and pyrophosphate in the polyphosphate additive used in this experiment. The conditions of the column chromatography were the same as described in the legend of Fig. 1.

Table 1. Contents of *o*-phosphate and polyphosphates in "kamaboko". Both tripolyphosphate and pyrophosphate added to "surimi" had been completely changed to *o*-phosphate during the period of frozen storage of "surimi". Therefore, polyphosphate additive consisted of tripolyphosphate and pyrophosphate was added to the "surimi" for the test. The conditions of the column chromatography were the same as described in the legend of Fig. 3.

	PO ₄ (μg/g)		
	<i>o</i> -phosphate	pyrophosphate	tripolyphosphate
"surimi"* original	1,205	0	0
"surimi" added with polyphosphate additive	1,205	1,088	544
"kamaboko" from "surimi"	1,814	1,023	0

* Minced and washed flesh of Alaska Pollack, *Theragra chalcogramma* (Pallas).

Table 2. Changes in the contents of phosphates in 0.2% sodium triphosphate (special grade) aqueous solution due to γ -ray irradiation. The conditions of column chromatography were the same as described in the legend of Fig. 1.

Irrad. dose (rad)	PO ₄ (μg/ml)		
	<i>o</i> -phosphate	pyrophosphate	tripolyphosphate
0	7.1	134	1,410
0.30×10 ⁶	5.5	134	1,427
2.49×10 ⁶	8.1	139	1,378
4.38×10 ⁶	6.2	130	1,392

Table 3. Changes in the contents of added phosphates in "kamaboko" due to γ -ray irradiation. The conditions of column chromatography were the same as described in the legend of Fig. 3.

	Irrad. dose (rad)	PO ₄ (μg/g)		
		<i>o</i> -phosphate	pyrophosphate	tripolyphosphate
"kamaboko"†	0	1,814	1,023	0
	3.00×10 ⁵	1,866	890	0
	6.00×10 ⁵	1,864	716	0
"kamaboko" usual	0	1,702	0	0
	3.00×10 ⁵	1,691	0	0
	6.00×10 ⁵	1,656	0	0

† Shown lower most in Table

方、ポリリン酸を添加せずに調製したかまぼこのリン酸を分析した結果、*o*-リン酸のみであり、その含量は 1,205 μg PO₄/g であった。これらの結果から、すり身に添加したポリリン酸は、かまぼこに調製されるまでの間に *o*-リン酸とピロリン酸に変化することが明白である。

2. 水溶液およびかまぼこ中におけるポリリン酸に対する γ 線照射

ト、ポリリン酸ナトリウムを水溶液として、あるいはこれをすり身に加えてかまぼこに調製し、これらに γ 線を照射した。照射線量とリン酸含量との関係を、それぞれ Table 2 および 3 に示す。

Table 2 から、水溶液では 4.38×10⁶ rad の高線量の γ 線を照射しても *o*-リン酸、ピロリン酸およびトリポリリン酸の含量は、いずれも非照射時のそれと比べてほとんど変化していないことが明らかである。

また、Table 3 からわかるように、ポリリン酸をすり身に加えないで調製したかまぼこでは α -リン酸のみが存在し、その含量は 3.00×10^5 rad および 6.00×10^5 rad の γ 線を照射してもほとんど変わらなかった。一方、ポリリン酸添加かまぼこでは、 α -リン酸の含量は照射前には $1,814 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ 、 3.00×10^5 rad および 6.00×10^5 rad 照射後にはそれぞれ $1,866 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ および $1,864 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ となり、照射線量を増大させてもその含量に変化がほとんどみられなかった。ピロリン酸含量は非照射時には $1,023 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ 、 3.00×10^5 rad および 6.00×10^5 rad 照射後にはそれぞれ $890 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ および $716 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ となり、照射線量の増大に伴って減少した。他方、トリポリリン酸においては、添加量からその含量が $544 \mu\text{g PO}_4/\text{g}$ になると計算されるのにこのかまぼこ中には残存せず、 γ 線照射による影響を明らかにすることはできなかった。

照射線量の増大に伴うかまぼこ中のピロリン酸含量の減少は、ピロリン酸が水溶液では照射破壊をきわめて受け難かつたこと (Table 2)、かまぼこでは照射線量を増大させても α -リン酸含量は増大しなかつたこと (Table 3) を考えれば、ピロリン酸の照射破壊を意味しているとはみなし難い。すなわち、かまぼこ中におけるピロリン酸は、 γ 線照射によつて6% PCA 溶液に抽出され難いリン化合物に変化したと推測されるが、その形態については本研究では明らかにし得なかつた。また、ここで用いたかまぼこにおいて、トリポリリン酸が残存していなかつた理由は、筋肉に広く分布するエキソポリフォスファターゼ (Mandl and Neuberg, 1955) によつて、トリポリリン酸がすり身の保藏中およびかまぼこ製造中に α -リン酸に加水分解されたためと推測される。魚肉に加えたポリリン酸の加水分解を確かめるために、サバ普通肉のホモジネートに約10%のピロリン酸ナトリウムを含むトリポリリン酸ナトリウムを加え、トリポリリン酸、ピロリン酸および α -リン酸の含量変化を調べた。その結果を Fig. 5 に示す。

Fig. 5 に示すように、 100°C で15分間加熱したサバ肉ホモジネート中では、 α -リン酸、ピロリン酸およびトリポリリン酸の含量はいずれも 0°C でのインキュベーション中に変動しなかつたが、生サバ肉ホモジネート中ではトリポリリン酸含量は速やかに減少し、同時に α -リン酸とピロリン酸含量は速やかに増大した。すなわち、トリポリリン酸は魚肉中の酵素によつて加水分解されることが明らかであり、これがかまぼこに

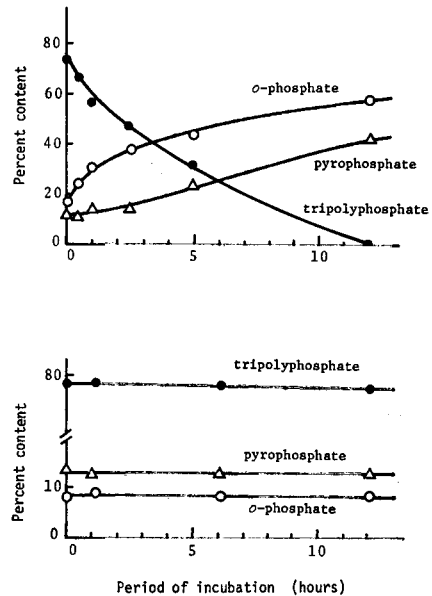


Fig. 5. The changes in the contents of tripolyphosphate, pyrophosphate and α -phosphate in raw muscle homogenate (upper) and in boiled muscle homogenate (lower) during the incubation at 0°C . Two hundred grams raw or boiled ordinary muscle of mackerel was homogenized with 200 ml 0.4% sodium tripolyphosphate solution, and incubated at 0°C . At appropriate time interval, polyphosphates were extracted from the homogenates with 6% perchloric acid solution and filtered. The filtrates were subjected to column chromatography.

おけるトリポリリン酸消失の原因となつていることが確かめられた。

要 約

水溶液およびかまぼこ中におけるトリポリリン酸、ピロリン酸および α -リン酸に対する γ 線照射の影響を調べ、次の結果を得た。

1. 水溶液におけるトリポリリン酸、ピロリン酸および α -リン酸は、いずれも γ 線照射に対してきわめて安定である。
2. スケソウダラのすり身に新たに添加したトリポリリン酸およびピロリン酸のうち、前者はかまぼこに調製されるまでの間に完全に消失したが、ピロリン酸は残存した。このピロリン酸の含量は、照射線量の増大と共に減少した。この減少は γ 線照射によるものであり、消失したピロリン酸は6%過塩素酸に不溶性の化合物に変化するとみなされた。

3. スケソウダラすり身に加えたトリポリリン酸およびピロリン酸は、すり身に残存するエキソポリフォスファターゼによつて *o*-リン酸に加水分解された。

4. かまぼこ原料として用いられるスケソウダラすり身中では、添加したポリリン酸はすべて *o*-リン酸に変化した。この *o*-リン酸は γ 線照射によつて変化を受け難かつたことから、このようなすり身を用いて調製したかまぼこに γ 線を照射しても、衛生上、不都合を生じないといえる。

文 献

- Fiske, C.H. and Y. Subbarow 1925 The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66: 375-400
- 浜田盛承・合屋晏秀・石尾真弥 1981 食品添加物に対する γ 線照射の影響に関する研究 VII. 5'-ヌクレオチドの γ 線照射破壊. 九大農学芸誌, 36: 7-12
- Josephson, E. S. and W. K. Calhoun 1978 Nutritional aspects of food irradiation: an overview. *J. Food Process. and Preserv.*, 2: 299-313
- Karl-Kroupa, E. 1956 Use of paper chromatography for differential analysis of phosphate mixture. *Anal. Chem.*, 28: 1091-1097
- Mandl, I. and C. Neuberg 1955 Triphosphatase. In "Methods in Enzymology," Vol. II, ed. by S. P. Colowick and N. O. Kaplan, Academic Press, Inc., New York, pp. 580-582
- Matsuhashi, M. 1957 Über die Chromatographische Trennung von Kondensierten Phosphaten an Anionenaustauscherharzen. *J. Biochem.*, 44: 65-67
- Read, M. S. 1960 Current aspects of the wholesomeness of irradiated food. *Agr. Food Chem.*, 8: 342-349
- Urbain, W. R. 1978 Food irradiation *Adv. Food Res.*, 24: 155-227

Summary

The effect of γ -ray irradiation on polyphosphates in aqueous solution and in "kamaboko" was investigated to evaluate the rate of decomposition and to examine the safety of the decomposed products.

Tripolyphosphate, pyrophosphate and *o*-phosphate in aqueous solution were very stable against γ -ray irradiation, respectively.

Tripolyphosphate added to "surimi" (minced and washed flesh of Alaska Pollock) completely changed to *o*-phosphate during the period of processing "kamaboko", but pyrophosphate was remained. Pyrophosphate content in "kamaboko" decreased in proportion to the dose of γ -ray. Decreased pyrophosphate was presumed to change into such products as insolubles which can not be extracted with 6% perchloric acid solution.

Both tripolyphosphate and pyrophosphate changed enzymatically to *o*-phosphate. The activity of exopolyphosphatase in "surimi" was still remained.

Polyphosphates added to "surimi" changed completely to *o*-phosphate during the frozen storage of "surimi", therefore, the application of γ -ray irradiation on "kamaboko" was considered not to induce any injurious substances from polyphosphates.