

低温貯蔵中におけるマアジ肉脂質の変化

呉, 清熊
九州大学農学部水産製造学教室

豊水, 正道
九州大学農学部水産製造学教室

<https://doi.org/10.15017/23137>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 27 (3/4), pp.165-173, 1973-07. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

低温貯蔵中におけるマアジ肉脂質の変化

呉 清 熊・豊 水 正 道

九州大学農学部水産製造学教室

(1973年3月12日受理)

Changes in the Lipids of Jack Mackerel Muscle during Low Temperature Storage

CHING-SHUNG WU and MASAMICHI TOYOMIZU

Laboratory of Fisheries Technology, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka

緒 言

冷蔵法および冷凍法は新鮮魚介類の保蔵法として広く利用されている。しかし、低温貯蔵中に脂質が変化し、その生産物が魚肉の品質に著しく影響を与えることは当然考えられる。例えば、Lovernら(1959)、Bligh and Scott(1966)は、少脂魚であるタラの冷凍貯蔵中に脂質が加水分解して遊離脂肪酸(FFA)を生成し、このFFAが蛋白変性に関与すると報告している。また、多脂魚においては、脂質変化が酸敗および油焼の原因となつて魚肉品質悪変の上で重要な役割を演じていることはよく知られている。したがつて、魚肉の低温貯蔵中における脂質変化の研究は魚肉の品質保持を検討するために重要である。

氷蔵あるいは冷凍貯蔵中における脂質の変化に関しては少脂魚であるタラ類について比較的詳しく報告されている。Lovernら(1959)は、タラ肉を氷蔵すると、5週間でリン脂質の70%が分解され、それ以上の分解は進行せず、このリン脂質の分解では phosphatidylcholine(PC)でも phosphatidylethanolamine(PE)でも差異がなく、脂質の分解によるFFAの生成の大部分はリン脂質によると述べている。Dyer and Fraser(1959)も、冷凍タラ肉中のリン脂質の加水分解はリン脂質の60~80%が分解されると停止し、この時期に -12°C で15週間、 -18°C で30週間で到達すると報告している。Bligh and Scott(1966)は、タラ肉を -12°C 貯蔵した場合でも、分解されるのは主としてPEとPCであると述べている。また、Lovern and Olley(1962)は、

タラの 0°C 貯蔵では加水分解の誘導期が認められるが、凍結すると誘導期は認められなくなると述べ、リン脂質の加水分解によるFFAの生成が 0°C よりも -7°C で大であると指摘している。一方、多脂魚については、Bosund and Ganrot(1969)は、ニシンの -15°C 冷凍貯蔵中に分解される脂質の70%はリン脂質で、30%は triglyceride(TG)であると指摘している。さらに、高間ら(1967)はホンマグロ細碎肉の -20°C 、100日貯蔵ではPCおよびTGはそれぞれ43%、61%が分解されたと述べている。ところが、魚肉中の脂質は高度不飽和酸を含有しているので、前述のような加水分解のほか、自動酸化も進行し、貯蔵中の脂質変化は複雑と考えられる。それゆえ、著者らは、魚肉の低温貯蔵中の脂質変化に自動酸化も考えに入れて、九州近海で周年漁獲されているマアジを用いて、その主要構成脂質であるTG、FFA、PE、PC、sphingomyelin(SPM)およびlysolecithin(LPC)の低温貯蔵中における挙動と温度との関係について研究を行なつた。

実 験 方 法

試料：活魚マアジ *Trachurus japonicus* を断頭、内臓除去した後、二枚に卸し、片身は直ちに普通肉と血合肉とに分け、実験に供し、他方の骨付き身はポリエチレン袋に入れ、所定温度で貯蔵した。魚類の全脂質含量はもちろん各構成脂質含量も個体によつて異なるので、個体差を除くため貯蔵前後の脂質分析には、かならず同一魚体の対称部位を用い、分析結果は原則として2あるいは3尾の値を平均した。

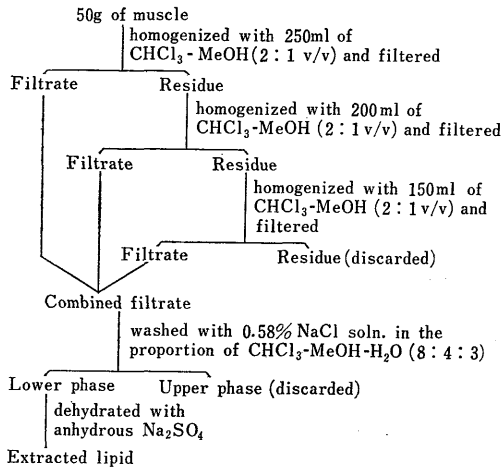


Fig. 1. Folch's Method for lipid extraction from jack mackerel muscle.

脂質の抽出法: Folch ら (1957) の方法に準じて CHCl_3 -MeOH 混液 (2:1 v/v) を用い、Fig. 1 の操作で脂質の抽出を行なった。また、クロロホルム溶液の一定量をとって全脂質含量を求めた。

脂質の分画および同定法: 脂質成分の分離、同定には薄層クロマト法 (TLC) を用いた。約 200 mg/ml のクロロホルム溶液とした脂質試料から 5~10 μl (脂質量約 1~2 mg) を薄層にスポットした。非極性脂質の分離には、Wakogel B-O の 0.25mm 薄層を用い、Skipski ら (1965) の方法により一次展開溶媒として isopropyl ether-AcOH (96:4 v/v)、二次展開溶媒として petroleum ether-Et₂O-AcOH (90:10:1 v/v/v) を用いた。極性脂質の分離には、Wakogel B-10 の 0.25mm 薄層を用い、Wagner ら (1961) の方法により展開溶媒として CHCl_3 -MeOH-H₂O (65:25:4 v/v/v) を用いた。同定のために、市販 TG, diglyceride (DG), monoglyceride (MG), cholesterol, および卵黄から分離精製した PC, PE を標品として用いた。また、アミノ基を ninhydrin 試薬, コリンを Dragendorff 試薬, 糖を diphenylamine 試薬, リンを Zinzadze 試薬で検出した。また、各脂質の定量およびガスクロ分析のためのスポットの検出には、それぞれ 2% ヨウ素-EtOH 溶液および 0.2% 2',7'-dichlorofluorescein-EtOH 溶液を用いた。

各脂質の定量法: TG の定量は Vioque and Holman (1962) の方法によつた。TLC で分離した TG をシリカゲルと共にかきとり、アルカリ性 hydroxylamine 試薬を加え、ferric perchlorate 試薬で発色させた後、530 m μ の吸光度を測定してエステル基の

量 (μmole) を求めた。この値の $\frac{1}{3}$ に TG の平均分子量 887 を乗じて TG 量を算出した。

リン脂質の定量は Bartlett (1959) の方法によつた。TLC で分離したそれぞれのリン脂質をかきとり、硫酸と過酸化水素で加水分解した後、5% ammonium molybdate および Fiske-SubbaRow 試薬を加え、100°C で発色させてから、820 m μ の吸光度を測定し、リン量 (μg) を求めた。この値に 25.4, 27.1, 23.7, および 16.9 を乗じて、それぞれ PE, PC, SPM および LPC 量を算出した。

FFA の定量は脂肪酸を銅塩とし、0.1% sodium diethyldithiocarbamate で発色させる Duncombe (1963) の方法によつた。本法の測定範囲は 0.05~0.5 μmole であるから、TLC で分離した FFA では測定不能なので、2~10 mg の抽出脂質を試料とした。本法ではリン脂質も発色するから、まず脂質を 10 ml の CHCl_3 -MeOH (95:5 v/v) に溶かし、活性化した 1g のシリカゲルでリン脂質を除去した後、定量した。えられた脂肪酸の μmole 値に FFA の平均分子量 285 を乗じて FFA 量を算出した。

これらの値はすべて魚肉 100g 中の mg 量で表わした。cholesterol の定量は行なわなかつた。

ガスクロマト法による脂肪酸組成の分析法: ガスクロマト分析の前処理のためのメチル化法は A.O.C.S. 法 (1969) によつた。すなわち、TG および各リン脂質はけん化後、 BF_3 -MeOH でメチル化し、FFA は直接 BF_3 -MeOH でメチル化して、ガスクロマト法で分析した。使用したガスクロマトグラフは島津 GC-4APF (Hydrogen flame ionization detector), column は 10% diethylene glycol succinate polyester (60~80 mesh) 2m, 分析温度は 150~200°C (4°C/min), 試料気化室温度は 300°C, N₂ gas の流速は 50 ml/min, H₂ gas の流速は 40 ml/min であつた。半値中法で各脂肪酸のピーク面積を測定して、脂肪酸組成を求めた。えられた値は同一試料で 3 回行なつた結果の平均値である。

同定は、200°C 恒温で行ない、標品 R_t の値と Hofstetter ら (1965) の equivalent chain length とを併用して行なつた。

脂質酸化の測定法: 脂質の酸化指標として C_{22:6} 酸の減少率を測定した。C_{22:6} 酸の減少率は庄野・豊水 (1971) が提唱したガスクロマト法で求め、C_{22:6} 酸減少率(%) = $\left(1 - \frac{t_{C_{22:6}}/C_{22:6}}{t_{C_{16:0}}/C_{16:0}}\right) \times 100$ で表わした。

$0C_{22:6}$, $0C_{16:0}$: 貯蔵前における C_{22:6}, C_{16:0} 酸のピーク面積。

$tC_{22:6}$, $tC_{16:0}$: 貯蔵 t 日における $C_{22:6}$, $C_{16:0}$ 酸のピーク面積.

結果および考察

I. マアジ肉の脂質成分とその含量

マアジ肉の貯蔵中における脂質変化を調べるのに先立ち、全脂質含量を異にする7試料のマアジ普通肉中の各脂質成分を分析した. その結果は、Fig. 2 に示してあるように、非極性脂質としては TG のほか FFA, cholesterol が検出されたが、DG, MG は検出されなかった. 極性脂質としては PE, PC のほか SPM, LPC が検出されたが、糖脂質の存在は認められなかった. しかし、本実験で用いた TLC では PE と phosphatidylserine との分離はかならずしも良好でなかったため、僅少量含有されている phosphatidylserine は PE として測定した.

マアジ普通肉中の全脂質含量は、個体差はもちろん漁獲時期によっても異なり、Table 1 に示されているように 2.0%~13.5% であった. 筋肉 100g 中のリン脂質含量は 0.63~0.80g で全脂質含量の相違による差異は大でなく、その約 87~89% が PE と PC であり、しかも PC 含量は PE より全試料を通じて高かった. これに対して、TG 含量の差異は大であり、Fig. 3 に示すように全脂質含量と TG 含量との間にはほぼ比例関係が認められた. すなわち、マアジ肉の全脂質含量の差異は、貯蔵脂質である TG 含量の差異に基づくもので、組織脂質であるリン脂質含量には反映されなかった. 著者ら、Bosund and Ganrot (1969) および Bligh and Scott (1966) がそれぞれ

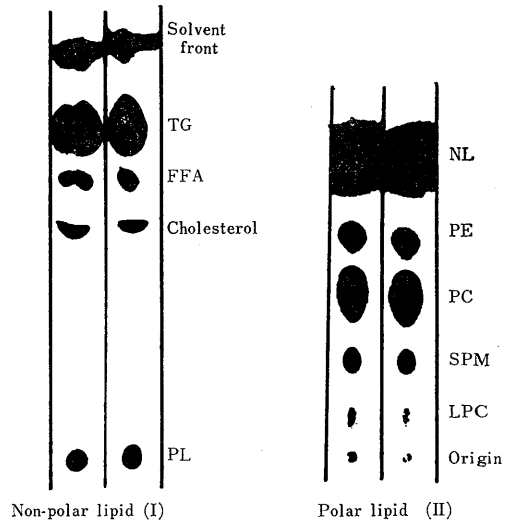


Fig. 2. TLC of non-polar and polar lipid extracted from jack mackerel muscle.

(I)
 Adsorbent: WAKOGEL B-0
 Developing solvent:
 1st step: isopropyl ether-AcOH
 (96: 4 v/v)
 2nd step: PE-Et₂O-AcOH
 (90: 10: 1 v/v)
 Indicator: 50% H₂SO₄

(II)
 Adsorbent: WAKOGEL B-10
 Developing solvent:
 CHCl₃-MeOH-H₂O
 (65: 25: 4 v/v)
 Indicator: 50% H₂SO₄

Table 1. Lipid contents of jack mackerel (mg/100g muscle).

Muscle	Total lipid (%)	TG	FFA	PE	PC	SPM	LPC	
Jack mackerel	ordinary	13.5	11700	26	170	470	63	18
		12.5	11400	36	160	530	83	31
		3.2	2060	43	160	550	66	27
		3.0	2090	22	160	440	65	21
		2.8	1830	23	160	460	37	10
		2.0	1090	24	160	460	32	13
Carp	ordinary dark	7.4	6170	64	140	410	71	10
		20.0	16800	200	540	970	110	51
Herring ¹⁾	ordinary dark	5.1	3920	25	130	390	55	15
		24.0	20400	77	270	520	85	23
Cod ²⁾	ordinary dark		2000	17	146	382		
			10000	48	561	952		
Cod ²⁾	ordinary dark		18	13	161	475		
			112	151	576	995		

1) From Bosund and Ganrot (1969). 2) From Bligh and Scott (1966).

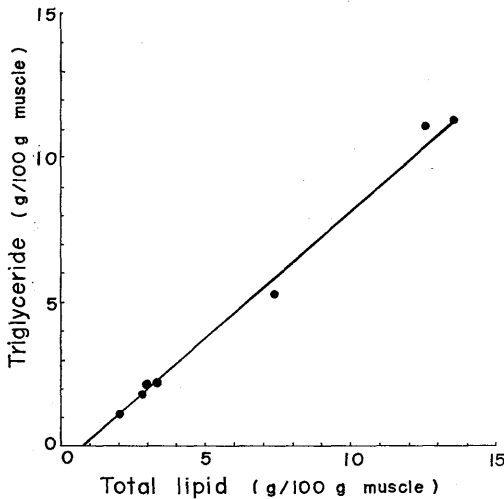


Fig. 3. The relationship between total lipid and triglyceride content in jack mackerel ordinary muscle.

測定したコイ、ニシンおよびタラ普通肉の PE, PC でも前述したマアジ肉と同じ傾向が認められたばかりでなく、これらの絶対量もマアジ肉での値とほぼ同じであつた。これらの点は Lovern (1961) の指摘したこととほぼ一致している。しかし、FFA 含量は、その絶対値は大でなかつたが、変動の巾は大であり、全脂質含量との関連が認められなかつた。他方、血合肉では全脂質含量が普通肉よりも高く、TG 含量も高いばかりでなく、PE, PC 含量も高く、とくに FFA 含量が高かつた。

II. マアジ肉の貯蔵中における普通肉および血合肉の脂質変化

全脂質含量を異にする 3 試料のマアジ肉を 5°C, 7 日間貯蔵後、普通肉と血合肉とに分けて脂質変化を調べ、各脂質の残存率の平均値を Table 2 に示してある。TG, PE および PC は明らかに減少を示し、FFA と LPC は増加した。これらの変化割合は、血合肉において普通肉よりも大であつたので、変化の絶

対量も脂質含量の高い血合肉において明らかに大であつた。ところが、普通肉でも血合肉でも TG, PE および PC の減少に対する FFA および LPC の増加は見合わなかつた。7 日間貯蔵後の薄層クロマトグラムには普通肉でも血合肉でも DG, MG のスポットは全く検出されず、LPC の増加量は普通肉、血合肉を通じて小であり、PC から LPC でとどまる分解はわずかと結論される。これらを総合して考えると、5°C における脂質変化には酵素作用による分解のほか FFA を生成しない脂質酸化が関与しているものと推測される。このような酵素作用による加水分解と脂質酸化に基づく脂質変化が血合肉で普通肉よりもはやく進行することは、血合肉が酵素化学的には肝臓機能を代行することおよび脂質酸化を促進する myoglobin, hemoglobin, cyt. c などを普通肉よりも多量に含有していることから当然の結果であるといえる。しかしながら、低温貯蔵中における魚肉の脂質変化を問題にするに当つて、血合肉の含量はマアジ肉では普通肉の $\frac{1}{20}$ を超えることはないので以下の実験は普通肉だけを対象として行なつた。

III. 5°C 貯蔵中における脂質変化

全脂質含量のほぼ等しい平均全脂質含量が 2.4% である 2 試料のマアジ普通肉の 5°C, 10 日間貯蔵中における脂質変化の平均値を Table 3 に示す。前述のように TG, PE および PC は明らかに減少し、DG, MG の蓄積は認められなかつた。TG の含量が最も大であつたから、減少量は最大であり、PC, PE の減少量はこれについている。魚肉低温貯蔵中の lipase および phospholipase の活性は Olley ら (1962) によつて明らかにされた。Lovern ら (1959) は、タラでは氷蔵中の脂質変化は主にリン脂質の加水分解であり、しかも PE および PC の加水分解が同じ速度であつたことを指摘しているが、著者らの結果では PE の減少率がやや大であつた。また、TG, PE, PC の減少に対し、FFA, LPC の増加は著しく小さいため、TG, PE, PC の減少には加水分解よりも酸化が

Table 2. The difference of changes in lipids between ordinary and dark muscle of jack mackerel during storage at 5°C for 7 days.

Lipid classes	Ordinary muscle		Dark muscle	
	remaining rate (%)	amount changed (mg/100g muscle)	remaining rate (%)	amount changed (mg/100g muscle)
TG	96	-210	83	-2120
FFA	160	+ 19	149	+ 76
PE	89	- 15	75	- 114
PC	86	- 59	83	- 151
SPM	95	- 3.3	122	+ 23
LPC	162	+ 9.0	170	+ 32

大きく関与していたと推測される。このことを明らかにするために、貯蔵前後における各脂質の脂肪酸組成を GLC で測定し、Table 4 に示してある。Table 3 からえられる貯蔵前後の TG, PE, PC および FFA 量と Table 4 で示した貯蔵前後の脂肪酸組成とから、TG, PE, PC における C_{16:0}, C_{18:0}, C_{20:5} および C_{22:6} 酸の減少量と FFA におけるこれら脂肪酸の生成量とを算出して Table 5 に示してある。Table 5 に示されているように、TG, PE, PC における C_{16:0} 酸の減少量 43.3 mg/100g muscle に対し、FFA として生成された C_{16:0} 酸は約 $\frac{1}{9}$ 、すなわち 4.9 mg/100 g muscle にすぎなかつた。これは C_{16:0} 酸減少の大部分が加水分解によるのではなく、TG, PE, PC

を構成している高度不飽和酸が酸化されてしまったために貯蔵後には TG, PE, PC として抽出されなかつたか、あるいは TLC で TG, PE, PC として分離されなかつたことによる減少であり、これと同様なことが C_{18:0} 酸でも指摘される。これらのことから、減少脂質の大部分は加水分解前に酸化されたと結論される。また、C_{22:6} 酸は TG, PE, PC における減少量の約 $\frac{1}{18}$ しか FFA として生成されなかつたので、TG, PE, PC 分子中での酸化以外に加水分解によって生成された C_{22:6} 酸の大部分が酸化されたことを示している。

TG, PE および PC の加水分解前の酸化、すなわち、これらを構成している不飽和酸の酸化による

Table 3. Changes in lipids of jack mackerel ordinary muscle during storage at 5°C for 10 days (lipid content 2.4%).

Lipid classes	Content (mg/100g muscle)	Amount changed (mg/100g muscle)	Decrease rate (%)
TG	1460	-130	9
FFA	24	+15	
PE	160	-30	19
PC	460	-50	11
SPM	35	+31	
LPC	12	+13	
Decrease rate of C _{22:6}	17.5%		

Table 4. Percentage composition of the fatty acids in lipids of jack mackerel ordinary muscle before and after storage at 5°C.

Fatty acid ^{a)}	TG		PE		PC		FFA	
	0 ^{b)}	10 ^{c)}	0	10	0	10	0	10
14:0	4.0	4.3	0.3	0.4	0.4	0.2	4.3	2.3
15:0	0.7	0.7	0.6	0.7	0.2	0.5	0.5	0.6
unknown	—	—	0.8	1.1	tr	tr	tr	tr
16:0	21.0	21.0	6.8	8.6	23.5	21.2	29.7	30.5
16:1	7.8	7.9	0.8	1.1	1.2	1.4	4.4	4.7
17:0	2.0	1.9	1.8	1.9	1.1	1.3	1.8	1.8
16:2	1.2	1.2	1.3	0.9	tr	tr	0.6	0.6
18:0	7.9	8.3	20.4	20.3	6.1	12.4	15.5	13.3
18:1	20.1	20.7	6.0	6.2	8.5	8.9	16.2	14.1
18:2	1.6	1.4	1.3	0.9	0.6	0.9	1.6	1.2
20:0	1.2	1.3	0.3	0.2	tr	tr	1.2	0.9
18:3 ^{d)}								
20:1)	2.4	2.4	0.6	0.3	0.4	0.4	1.4	1.1
20:4	2.0	1.8	3.2	3.3	3.4	3.7	3.4	2.9
23:0	1.6	1.7	tr	tr	tr	tr	2.6	1.1
20:5	7.2	6.9	4.4	4.4	8.1	6.4	3.5	6.4
22:4	0.9	0.8	0.5	0.6	1.0	1.1	1.0	0.7
22:5 ω 6	1.6	1.6	2.0	2.0	2.3	1.8	2.3	1.3
22:5 ω 3	2.8	2.8	2.0	2.1	2.8	2.5	0.6	1.8
22:6	14.5	13.7	46.4	44.5	40.6	37.4	8.7	14.9

- a) The number after the ω denotes the position of the ultimate double bond relative to the terminal methyl group.
- b) Fresh fish.
- c) Fish stored for 10 days.
- d) Combined 18:3 and 20:1.

Table 5. The relationship between the decrease of fatty acid in TG, PE and PC and the increase in FFA of jack mackerel ordinary muscle during cold storage.

Fatty acid	10 days at 5°C (mg/100g muscle)		35 days at -5°C (mg/100g muscle)	
	Decrease in TG, PE, PC	Increase in FFA	Decrease in TG, PE, PC	Increase in FFA
16:0	43.3	4.9	42.1	42.1
18:0	9.2	1.6	23.7	17.6
20:5	21.2	1.6	51.7	13.8
22:6	67.8	3.8	140.3	52.4

Table 6. The oxidation of lipids in model system at 30°C for 7 days.

Lipid classes	Decrease rate (%)	Amount changed (mg/g lipid)
TG	11	-87
FFA	0	0
PE	35	-10
PC	5	-4.0

One g of extracted lipid was added to 4 g of Celite (No. 535) which was used as a support medium.

TG, PE, PC の酸化に対する安定性を検討するために、新鮮マアジ肉から調製した脂質 1g を、王水で洗滌した 4g の Celite とよく混合し、30°C、7日間貯蔵して実験に供した。その結果を Table 6 に示してある。すなわち、加水分解をともなわない脂質酸化による減少率は PE, TG, PC の順に高く、自動酸化に対しては PE が最も不安定であつた。

IV. -5°C 貯蔵中における脂質変化

全脂質含量がほぼ等しい平均全脂質含量が 3.0% である 2 試料のマアジ普通肉の -5°C、35 日間貯蔵における脂質変化の平均値を Table 7 に示す。TG, PE, PC の減少が明らかに認められ、これらの減少傾向は 5°C の場合 (Table 3) とほぼ同じで、減少量は TG が最大で、次に PC, PE の順であつた。これら脂質の半減期を算出するといずれの脂質でも 5°C におけるよりも長く、温度低下の効果が認められた。しか

し、TG, PE, PC の減少に対する FFA の生成割合が 5°C におけるよりも大であつたから、酸化の影響は 5°C よりも小さいと推測される。このことは 5°C における C_{22:6} 酸減少率が 17.5% であつたのに対して -5°C は 13% であつたことから肯定される。Table 7 からえられる -5°C、35 日間貯蔵前後における TG, PE, PC, FFA 含量および Table 8 に示してあるこれらの脂肪酸組成から主要構成脂肪酸の減少量と FFA におけるこれら脂肪酸の生成量とを算出した。Table 5 に示してあるように、C_{16:0} 酸の TG, PE, PC での減少量は FFA での生成量と一致したが、C_{18:0} 酸は減少量の約 $\frac{3}{4}$ だけしか FFA として生成されなかつたことから、C_{18:0} 酸の含量が特異的に高い PE の酸化による減少が示唆され、このことは前述のモデル実験の結果と一致する。また、C_{22:6} 酸は TG, PE, PC での減少量の約 $\frac{1}{2}$ が FFA として生成された。Lovern and Olley (1962) は、マタラの冷凍貯蔵で、リン脂質の加水分解は -4°C に最大速度があると報告している。-5°C 貯蔵では、5°C に比べて、温度低下による酵素作用阻害のほかに、凍結による氷の生成にともなう細胞破壊による酵素作用促進の相異なる 2 つの作用が関与すると考えられるが、これらよりも温度低下による酸化抑制効果が大きな役割を果たしたものと考えられる。また、全脂質含量 3.5% である 1 試料のマアジ普通肉の -5°C、35 日間貯蔵における脂質変化を示した Table 9 の例では、TG の変

Table 7. Changes in lipids of jack mackerel ordinary muscle during storage at -5°C for 35 days (lipid content 3.0%).

Lipid classes	Content (mg/100g muscle)	Amount changed (mg/100g muscle)	Decrease rate (%)
TG	2090	-280	13
FFA	22	+168	
PE	160	-40	25
PC	440	-90	20
SPM	65	+13	
LPC	21	+23	
Decrease rate of C _{22:6}		13%	

Table 8. Percentage composition of the fatty acids in lipids of jack mackerel ordinary muscle before and after storage at -5°C .

Fatty acid ^{a)}	TG		PE		PC		FFA	
	0 ^{b)}	35 ^{c)}	0	35	0	35	0	35
14:0	3.8	3.6	0.2	0.3	0.2	tr	2.9	1.0
15:0	0.6	0.5	0.4	0.9	0.2	tr	tr	0.3
unknown	tr	tr	0.9	0.7	tr	tr	tr	tr
16:0	19.5	21.0	6.5	10.2	25.1	24.7	22.9	24.8
16:1	7.3	7.0	1.2	1.2	1.0	1.0	4.4	2.8
17:0	1.4	1.4	1.4	2.3	0.8	1.2	1.7	1.0
16:2	1.0	0.8	1.0	1.1	tr	tr	0.8	tr
18:0	10.6	10.4	17.7	22.0	4.2	10.1	16.7	11.2
18:1	23.4	27.1	10.3	7.8	9.3	11.9	13.9	12.4
18:2	1.2	1.0	2.8	1.0	0.8	0.9	1.1	0.8
20:0	1.0	0.8	0.5	0.3	tr	tr	0.8	0.4
18:3 ^{d)} 20:1 ^{d)}	2.1	2.0	0.8	0.4	tr	tr	0.7	0.7
20:4	1.7	1.4	2.9	3.4	3.5	3.8	4.2	3.0
23:0	1.2	1.5	tr	0.7	tr	tr	2.7	0.9
20:5	7.2	5.8	4.2	4.2	7.7	7.0	6.3	8.0
22:4	0.8	0.5	tr	0.4	0.9	1.1	tr	0.4
22:5 ω 6	1.0	1.0	1.4	1.4	1.8	1.8	6.4	0.9
22:5 ω 3	2.7	2.3	1.8	2.0	2.5	2.3	1.3	2.3
22:6	13.6	11.6	45.1	38.7	42.0	33.7	12.3	29.1

- a) The number after the ω denotes the position of the ultimate double bond relative to the terminal methyl group.
- b) Fresh fish.
- c) Fish stored for 35 days.
- d) Combined 18:3 and 20:1.

Table 9. Changes in lipids of jack mackerel ordinary muscle during storage at -5°C for 35 days (lipid content 3.5%).

Lipid classes	Content (mg/100g muscle)	Amount changed (mg/100g muscle)	Decrease rate (%)
TG	2560	0	0
FFA	21	+77	
PE	170	-73	43
PC	400	-176	44
SPM	68	0	0
LPC	15	+14	

Table 10. Changes in lipids of jack mackerel ordinary muscle during storage at -25°C for 65 days (lipid content 3.4%).

Lipid classes	Content (mg/100g muscle)	Amount changed (mg/100g muscle)	Decrease rate (%)
TG	2490	0	0
FFA	27	+53	
PE	140	-20	14
PC	460	-70	15
SPM	70	-14	
LPC	22	+16	
Decrease rate of C _{22:6}		2%	

化は認められなかったが、PE および PC の減少は顕著であった。

V. -25°C 貯蔵中における脂質変化

平均全脂質含量 3.4% の 2 試料の マアジ普通肉の

-25°C 、65 日間貯蔵中における脂質変化の平均値を Table 10 に示す。TG の減少は認められず、PE、PC の減少にともなつて FFA は増加した。すなわち、 -25°C のような低温貯蔵でも phospholipase の活性

が認められたのに対して、 $C_{22:6}$ 酸減少率は僅かに 2% で、脂質酸化の影響はほとんど現われず、PE, PC の減少量に LPC の増加量を考慮に入れると、PE, PC の分解によつて生成された FFA のほぼ全量が蓄積されたと結論される。

高間ら (1967) は -20°C 貯蔵のホンマグロで、Bosund and Ganrot (1969) は -15°C 貯蔵のニシンで、Ackman ら (1969) は -30°C 貯蔵の capelin で、リン脂質の加水分解だけでなく TG の加水分解も進行することを指摘している。これらに対して、タラ類ではリン脂質の加水分解だけが進行することが知られ、衣巻ら (1970) は、キハダ、メカジキ、タラ、ズキおよびブリを -10°C ~ -20°C に約 5 カ月間貯蔵した結果から、生成される FFA はいずれの魚種でもリン脂質の加水分解のみによると主張している。これらの記述から明らかなように、 -30°C のような低温貯蔵でも、魚肉中の phospholipase は活性を示すが、lipase の活性は魚種によつて異なるようである。本実験の結果を総合すると、マアジ普通肉の低温貯蔵中の脂質変化に関与する因子は、酵素的加水分解および脂質酸化すなわち加水分解前酸化と加水分解後酸化であり、これらの関与は貯蔵温度によつて同一ではなかった。脂質酸化は温度低下によつて明らかに抑制され、最も酸化されやすい脂質は PE であつた。また、lipase 活性は phospholipase 活性よりも低く、しかも貯蔵温度の低下によつて抑制されやすかつたが、phospholipase は -25°C でも活性を示した。 -5°C 貯蔵では、 5°C の場合よりも TG, PE, PC の加水分解前の酸化は抑制されるが、生成された FFA の酸化の進行が認められた。ところが、 -25°C 、65 日間の貯蔵では、lipase は活性を示さず、酸化も抑制された。すなわち貯蔵温度によつて脂質変化のパターンが異なつた。

要 約

マアジ普通肉の低温貯蔵中における脂質の変化を薄層クロマト法とガスクロマト法とを併用して調べ、トリグリセライドおよびリン脂質の減少ならびに遊離脂肪酸の増加およびこれら脂質の貯蔵前後における脂肪酸組成の差異から低温貯蔵中における脂質変化に関与する因子を解明し、さらに貯蔵温度の差異に脂質変化パターンの相違を明らかにした。

1. マアジ普通肉中のトリグリセライド含量は全脂質含量に比例して増加したが、リン脂質含量はほぼ一定で 0.63~0.80% であり、レシチンとケファリンが

リン脂質の 87~89% を占めていた。

2. マアジ肉の貯蔵中における脂質変化は、酵素的加水分解と脂質酸化によるものであり、血合肉では普通肉よりもはやく進行した。

3. 5°C 、10 日間貯蔵では、加水分解よりも酸化の影響が顕著に現われ、トリグリセライド、ケファリンおよびレシチンの減少の大部分は加水分解前酸化に基づき、加水分解によつて生成された高度不飽和脂肪酸も酸化された。

4. -5°C 、35 日間貯蔵では、脂質減少の主な原因は酵素的加水分解であつたが、ダイグリセライド、モノグリセライドおよびリゾレシチンはほとんど生成されなかつた。また、加水分解によつて生成された高度不飽和酸の一部は酸化された。

5. -25°C 、65 日間貯蔵でも、phospholipase の活性が認められ、ケファリンおよびレシチンは減少し、これらの減少にほぼ相当するリゾレシチンの増加と遊離脂肪酸の生成が認められたが、lipase の作用は認められなかつた。また酸化の影響はほとんど現われなかつた。

引用文献

- Ackman, R. G., P. J. Ke, W. A. MacCallum and D. R. Adams 1969 Newfoundland capelin lipids: Fatty acid composition and alteration during frozen storage. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26(8): 2037-2060
- A. O. C. S. Method Ce 2-66 1969 Preparation of methyl esters of long-chain fatty acids. In "Official and tentative methods of J. Am. Oil Chemists' Soc." Third edition
- Bartlett, G. R. 1959 Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, 234(3): 466-468
- Bligh, E. G. and M. A. Scott 1966 Lipids of cod muscle and the effect of frozen storage. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 23(7): 1025-1036
- Bosund, I. and B. Ganrot 1969 Lipid hydrolysis in frozen Baltic herring. *J. Food Sci.*, 34(1): 13-18
- Duncombe, W. G. 1963 The colorimetric micro-determination of long-chain fatty acids. *Biochem. J.*, 88(1): 7-10
- Dyer, W. J. and D. I. Fraser 1959 Proteins in fish muscle. 13. lipid hydrolysis. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 16(1): 43-52
- Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane Stanley 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226(1): 497-509

- Hofstetter, H. H., N. Sen and R. T. Holman 1965 Characterization of unsaturated fatty acids by gas-liquid chromatography. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**(6): 537-540
- Lovern, J. A., J. Olley and H. A. Watson 1959 Changes in the lipids of cod during storage in ice. *J. Sci. Food Agric.*, **10**(6): 327-337
- Lovern, J. A. 1961 The lipids of fish and changes occurring in them during processing and storage. In "Fish in Nutrition", ed. by E. Heen and R. Kreuzer, Fishing News Ltd., London, pp. 86-111
- Lovern, J. A. and J. Olley 1962 Inhibition and promotion of post-mortem lipid hydrolysis in the flesh of fish. *J. Food Sci.*, **27**(6): 551-559
- 衣巻豊輔・飯田遙・新聞脩子 1970 冷凍保存した魚の脂質の変化—I. 脂質の抽出法ならびに抽出した脂質の分離法の検討. 東海水研報, **61**: 27-41
- Olley, J., R. Pirie and H.A. Watson 1962 Lipase and phospholipase activity in fish skeletal muscle and its relationship to protein denaturation. *J. Sci. Food Agric.*, **13**(10): 501-516
- Skipski, V. P., A. F. Smolowe, R. C. Sullivan and M. Barclay 1965 Separation of lipid classes by thin-layer chromatography. *Biochim. Biophys. Acta*, **106**(2): 386-396
- 庄野寿彦・豊水正道 1971 魚肉の低温貯蔵 (5°C) 中における脂質構成脂肪酸の変化—脂質酸化指標としての C_{22:6} 酸減少率. 日水誌, **37**(9): 912-918
- 高間浩蔵・座間宏一・五十嵐久尚 1967 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. 北大水産彙報, **18**(3): 240-247
- Vioque, E. and R. T. Holman 1962 Quantitative estimation of esters by thin-layer chromatography. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **39**(1): 63-66
- Wagner, H., L. Hörhammer und P. Wolff 1961 Dünnschichtchromatographie von phosphatiden und glykolipiden. *Biochem. Z.*, **334**: 175-184

Smmary

The changes in the lipids of jack mackerel, *Trachurus japonicus*, muscle during low temperature storage were studied by using thin-layer chromatography for the separation and identification of lipids and using gas-liquid chromatography for the analysis of fatty acid composition of each lipid.

First of all, the relation between total lipid and triglyceride (TG) contents in ordinary muscle of jack mackerel was elucidated. Thus, the total lipid contents varied from 2.0 % to 13.5 %. This variation was due mainly to the TG contents, while the phospholipid contents were relatively constant.

The storage at 5°C for 10 days and at -5°C for 35 days led to the decreases in TG, phosphatidylethanolamine (PE) and phosphatidylcholine (PC) and to the smaller increases in free fatty acids (FFA). However, no accumulation of diglyceride or monoglyceride was detected and the small increase of lysolecithin was observed. Comparing the C_{16:0}, C_{18:0}, C_{20:5}, and C_{22:6} amounts decreased in TG, PE and PC with these amounts increased in FFA, it was concluded that during storage at 5°C the most of the decreases in TG, PE and PC were caused by oxidation before their hydrolysis, whereas during storage at -5°C these decreases were due to their hydrolysis and oxidation of PE, and some of free highly unsaturated fatty acids which were liberated by their hydrolysis were oxidized. In model system, PE was more susceptible to oxidation than TG and PC, this indicated that PE was more unstable during low temperature storage of jack mackerel muscle.

During storage at -25°C for 65 days, neither their appreciable oxidation nor hydrolysis of TG occurred, so the increase in FFA corresponded to the decreases in PE and PC and the small increase in lysolecithin.