

魚類の“生き”の保持に関する研究*

Studies on Prolongation of Pre-rigor Period of Fish

岩 本 宗 昭

目 次

序 論	2
第 I 章 研究の沿革と本論文の概要	5
第 II 章 死後硬直の進行とそれに伴う筋肉の化学的变化	12
第 1 節 硬直の進行と硬直指数の変化	12
第 2 節 ATP 関連化合物およびクレアチンリン酸含量の変化	14
第 3 節 乳酸含量およびpHの変化	17
要 約	20
第 III 章 死後硬直の進行と筋肉の化学的变化におよぼす貯蔵温度の影響	21
第 1 節 ハマチ、マダイ、ヒラメの0℃と10℃貯蔵における死後変化	21
第 2 節 ヒラメの種々の貯蔵温度における死後変化	28
第 3 節 その他魚種の0℃と10℃貯蔵における死後変化	32
要 約	36
第 IV 章 死後硬直の進行における天然魚と養殖魚の差異	37
第 1 節 マダイ	37
第 2 節 ヒラメ	40
要 約	43
第 V 章 ATPの分解・再生に関する諸酵素活性の温度依存性	44
第 1 節 クレアチン・キナーゼ	44
第 2 節 筋原線維ATPase	46
第 3 節 筋形質ATPase	49
要 約	51
第 VI 章 総 括	52
文 献	55

* 島根県水産試験場研究業績 No.4, 東京大学農学部審査学位論文 (平成元年2月27日)

序 論

わが国の食文化の特徴の一つとして水産物の生食習慣があげられ、刺身、“洗い”、たたき、鮓、酢の物などの料理がある。これらの料理では主として素材そのものの持ち味とともに舌ざわり、歯ざわりなどの食感が賞味される。したがって、用いる材料も極く新鮮であることが不可欠な条件であり、その鮮度によって商品価値が定まり、通常は活魚が最上位に格付けられる。

従来、消費段階まで活魚で流通していたのは貝類、エビ、カニなどの無脊椎動物とウナギ、コイなど淡水魚であり、生かした状態での集荷が難しい海産魚は例外的であった。しかし、昭和30年代後期にハマチ(ブリ若年魚の通称)の養殖が企業化されて以来、海産魚の活魚流通も一般化し、さらに養殖技術の発展に伴って流通魚種も多様になりつつある。

海面養殖の昭和60年における総生産量は109万tと、漁業総生産量の9%を占めており、その内訳をみると魚類20万t、貝類36万t、海藻類52万t、クルマエビなどのその他水産動物1万tである(農林水産省統計情報部、1986)。さらに魚類のうちブリ類15万t、マダイ2.8万tであり、量的にはこの2魚種で約90%を占めている。近年ヒラメの養殖ものびてはきたが、生産量としてはまだ1,500t程度である。その他、現在流通している活魚対象魚種としてはフグ類、アナゴ、シマアジ、カンパチ、イサキ、インダイ、カサゴ、メバルなどがあげられる。

近年、消費者の高級志向を背景として、外食産業などにおいて水槽からすくい上げた魚を、客の目の前で調理するという営業方式が流行し、活魚の需要が増大しつつある。また、漁業生産の現場でもオイルショック以来、燃油や生産資材の高騰に加えて漁業資源そのものが減少傾向にあり、資源管理型漁業や資源培養型漁業への転換を迫られており、漁獲物の品質向上さらには活魚出荷の推進など量より質、獲ることのみならずより高く売るといふ努力が必要な状況にある。このような生産・消費動向に加えて、『作り育てる漁業』は沿岸漁業振興の重点施策でもあり、今後とも養殖や蓄養による活魚流通は増大していくものと考えられる。しかし、その合理的な流通システムや、料理素材としての科学的性状および評価に関する研究は極めて少ない。

現在これら活魚は、水槽に生かした状態で流通し消費される場合と、消費地市場に入荷した時点または生産地における出荷時点で、延髓刺殺などによって即殺されて流通する場合とがある。前者は少量・多種の品揃えや、生簀保管によるへい死損耗の負担などの関係で、消費地卸売市場での取扱いに難点があるため、専門の活魚問屋による市場外流通が主体である。一方、後者は養殖海産魚の主産地である西日本地区で定着している流通方式で、『活魚』または『活けしめ魚』と通称され、延髓刺殺で即殺する(しめる)ことによって死後硬直を遅延させ、“生き”の状態すなわち硬直前の状態を維持させて市場に上場する。この方式は水槽を必要としないので消費地市場での荷さばぎが行い易く、養殖したハマチやマダイの入荷量が多い京阪神地区の卸売市場では、活魚と同等に評価して取引されている。活けしめ魚は商品価値の維持に限度があり、流通時間も限定される。しか

し、もし死後硬直をより長く遅延させ得る処理方法を明らかにして、その流通性を向上させるなら、水槽による活魚流通より物流の経済性の面で合理的である。

家畜や魚類の死後硬直を遅延させる条件としては、生理条件、致死条件、死後の貯蔵条件などがあげられている(右田,1961,1962)。生理条件としては空腹、疲労の状態がよくないとされ、また致死条件については安楽死または即死より苦悶死の方が硬直が早く起こることが明らかにされており、『しめ』の処理もこの知見に基づいて行われる。死後硬直と貯蔵温度の関係については、後述するようにまだ実験例も少なく魚種によって異なる結果が得られているなど定説はないが、一般的にはより低温の方が硬直は遅延するとみられがちである。しかし、流通の現場では経験的に、0℃より高い温度域に魚体温を調整して効果をあげており、必ずしも低温が良いとはいえないようである。

本研究は活けしめ魚の流通性向上をめざして、死後硬直に及ぼす温度の影響を究明し、合理的な処理条件を明らかにする目的で実施したものである。その結果、マダイ、ヒラメ、ハマチ、イシダイなど主要な活魚対象魚種で、0℃より5～10℃に貯蔵した方がATPの減少が緩慢であり、死後硬直も遅延することを認めた。これは流通現場の経験的な知見を裏付けるものであり、温度の調整によって活けしめ魚の流通性を高め得ることを示唆するものである。また、0℃で硬直が早く始まるのは、畜肉にみられる低温短縮と同様な現象であると推論した。

なお、本研究の内容は下記のとおり印刷公表済である。

1. マダイの死後硬直と貯蔵温度との関係, 日本水産学会誌 51, 443-446 (1985) (井岡 久・齊藤素子・山中英明と共著).
2. 天然ならびに養殖マダイにおける死後硬直の顕著な差異, 日本水産学会誌 52, 275-279 (1986) (山中英明と共著).
3. Effect of storage temperature on rigor-mortis and ATP degradation in plaice muscle. Journal of Food Science 52, 1514-1517(1987) (山中英明・渡部終五・橋本周久と共著).
4. ATP and creatine phosphate breakdown in spiked plaice muscle during storage, along with activities of some enzymes involved. Journal of Food Science 53, 1662-1665 (1988) (山中英明・阿部宏喜・潮 秀樹・渡部終五・橋本周久と共著).
5. 二,三海産魚における死後硬直の進行と貯蔵温度の影響, 日本水産学会誌、印刷中 (山中英明・阿部宏喜・渡部終五・橋本周久と共著) .
6. 天然および養殖ヒラメの死後硬直の進行の比較, 日本水産学会誌、印刷中 (山中英明・渡部終五・橋本周久と共著) .

謝 辞

本研究を行なうにあたり、終始御懇切な御指導と御鞭撻をいただいた東京大学教授 橋本周久博士に衷心より謝意を表す。

また、研究遂行の機会と種々の御便宜を与えていただいた島根県水産試験場の元場長 児島俊平博士、山崎 繁前場長、大野明道現場長、研究に対する御助言と御援助をいただいた東京水産大学 山中英明博士、東京大学 渡部終五博士、共立女子大学 阿部宏喜博士、水産大学校 田川昭治博士、実験の一部に御協力いただいた齊藤素子、潮 秀樹、井岡 久の諸氏に厚く御礼申し上げる。

本論文においては次の略号を用いた。

A T P : Adenosine 5'-triphosphate (アデノシン 5'-三リン酸)

A D P : Adenosine 5'-diphosphate (アデノシン 5'-二リン酸)

A M P : Adenosine 5'-monophosphate (5'-アデニル酸)

I M P : Inosine 5'-monophosphate (5'-イノシン酸)

HxR : Inosine (イノシン)

Hx : Hypoxanthine (ヒポキサンチン)

Cr-P : Creatine phosphate (クレアチンリン酸)

Cr : Creatine (クレアチン)

R値 : Rigor index (硬直指数)

第 I 章 研究の沿革と本論文の概要

家畜や魚の筋肉が死後に硬直、軟化の過程を経て腐敗に至ることは広く知られた現象である。これら死後変化のうち、死後硬直に至る過程は生鮮食品としての品質の維持・管理の面から最も重要な事象の一つである。

死後硬直が起こるまでの生化学的变化とそれに伴う物性の変化については、Bate-Smith & Bendall (1956) がウサギによる一連の研究結果からその大要を明らかにしている。すなわち、死後硬直が ATP の消失を伴って起こるといふ Erdős (1943) の報告を、飽食状態や絶食状態など生理条件の異なるウサギを用いて追試し、死後硬直が生理条件などに関係なく ATP の消失に伴って始まることを確認した (Bate-Smith & Bendall, 1947)。続いて、死直後のウサギ筋肉片に周期的に負荷をかけてその伸張性の変化を記録し、伸張度が大きく且つ一定の状態を持続する段階(delay phase, pre-rigor)から伸張度が急速に低下する段階 (rapid phase, onset of rigor)に進み、完全に硬直して伸張性が消失する段階(full rigor phase)に達することを認め、硬直の進行過程を明らかにした。また、硬直の進行に及ぼす pH や温度の影響、さらには初期および最終 pH を決定する生理条件についても検討して、高温下(37°C)においた場合や絶食状態または苦悶死のようにグリコーゲン消失した筋肉では、硬直する段階で短縮することを認め、この短縮が必ずしも硬直に附随するものではないと指摘している(Bate-Smith & Bendall, 1949)。さらにBendall(1951)は ATP の供給源であるクレアチンリン酸(以下 Cr-P)の消長を調べ、十分に休息して安楽死したウサギ筋肉では死直後の Cr-P 量は比較的多いが、その後速やかに減少し、ATP の顕著な低下が始まる以前に初期量の30%以下となり、ATP が初期量の80%以下になるまでは、伸張性や長さの変化が起こらないことを認めている。

これらの一連の研究結果から、死後における筋肉の伸張性の消失は、ATP の消失によりアクチンとミオシンの結合が不可逆になったため起こる現象であることを示唆すると共に、筋肉の伸張度が大きく且つ一定の状態すなわち硬直前(delay phase)においては ATP の分解と再生が平衡状態にあり、伸張性が低下し始める硬直開始期は、ATP の再生量が減少して分解量を補填し得なくなった段階で、硬直の遅延は ATP の再生源である Cr-P とグリコーゲンの量に依存していることを明らかにした (Bate-Smith & Bendall, 1956)。なお、クジラ(Marsh, 1952)、ウマ(Lawrie, 1953)、ウシ(Marsh, 1954)、ニワトリ(DeFremery & Pool, 1960)などにおいても、基本的には同様な筋肉の死後変化が報告されている。

一方、魚類の死後における化学的变化についても多くの研究がなされており、その概要は斉藤(恒)(1961)、Amlacher(1961)、右田(1962)、内山と江平(1970)、江平(1976)により総述されている。すなわち、天野ら(1953)はソウダガツオの死後変化と致死条件との関係について詳細な実験を行い、苦悶死魚体は断頭や延髄刺殺魚体に比べて死後硬直が早く始まり、グリコーゲンの保有量も少なくその減少が速やかであり、乳酸が早く最大値に達することを明らかにした。また、藤巻と古

城(1953)もソウダガツオで酸可溶性リン酸化合物の消長と致死条件の関係を検討して、即殺筋肉の方が苦悶死筋肉よりCr-Pや $\Delta 7P^*$ 、ATPの保有量が高く、死後硬直も遅く始まり、ATPが消失した時点で完全硬直に到達することを認めた。同様な傾向を斉藤と日高(1955, 1956)がコイについて、山田ら(1983)は養殖ハマチについて明らかにしている。また、野口と山本(1955a, b)は“洗い”すなわち筋肉片の灌流による縮み現象が $\Delta 7P$ やpHと密接な関係にあるとして、“洗い”による筋肉収縮率の経時的变化と $\Delta 7P$ やグリコーゲンの消長を、マダイ、サバ、コイについて比較し、グリコーゲンの減少速度はサバが早くコイが遅いこと、収縮能と $\Delta 7P$ の消失が一致すること、収縮能の保持時間は苦悶死より即殺魚肉の方で長く、魚種による差は小さいことなどを報告している。

以上のように、死後硬直に伴う化学的变化と硬直の進行に及ぼす致死条件や生理条件の影響に関しては、畜肉と魚肉で同様な研究結果が示されており、両者の死後硬直の機構には大きな差異はないと考えられる。

次に死後硬直の進行に及ぼす温度の影響については、ウサギを3.5°C、17°C、37°C(Bate-Smith & Bendall, 1949)、ウシ(Marsh, 1954)およびヒツジ(Marsh & Thompson, 1958)を7~37°C、ブタを10~43°C(Briskeyら, 1962)に貯蔵した結果によると、筋肉の伸張性が消失するまでの時間はいずれも低温ほど長いと報告されている。しかし、DeFremery & Pool(1960)はトリ肉を0~40°Cに貯蔵し、10°Cより0°Cの方でより急速にATPが消失することを認め、ATPの分解速度と肉の硬さは10~20°Cの温度域で最小となることを明らかにした。さらに、Locker & Hagyard(1963)はウシの筋肉片を負荷をかけずに0~42°Cに貯蔵した場合の変化を比較して、37°Cのような高温より0°Cまたは2°Cのような低温の方がより大きく短縮し、短縮の度合は14~19°Cの温度域で最小になること、また、14~19°Cより高い温度域では、短縮の始まりが死後硬直と一致し高温ほど速やかに短縮するが、それより低い温度域では短縮がより急速におこり且つ可逆的であることを認めた。

この低温短縮(cold shortening)は引き続きCassens & Newbold(1967)により確認されたが、ウサギ(Locker & Hagyard, 1963; Cassens & Newbold, 1967)やネズミ(Hill, 1972)では認められていない。なお、Honikelら(1983)もウシの筋肉について詳細な実験を行い、無負荷状態における筋肉の短縮は、収縮に必要なATPが存在する硬直完了以前に起こること、硬直短縮(rigor shortening)と低温短縮(cold shortening)はその機構が異なること、高温域より低温域の方で強く短縮すること、死後硬直は筋肉の伸縮性の不可逆的低下によるものであることなどを明らかにしている。

生筋の収縮は、筋形質中の微量な Ca^{2+} ($10^{-6}M$)によって引き起こされるが、その Ca^{2+} 濃度は筋原線維を取り巻く筋小胞体が、 Mg^{2+} の存在下でATPを消費しながら制御する(Ebashi & Endo, 1968; 山本と丸山, 1986)。しかし、死後における筋肉の短縮機構については十分に解明されていない。筋小胞体の Ca^{2+} 吸収能がpH 6.5で最大値を示し、6.0以下では急速に低下することから(Whiting, 1980; Cornforthら, 1980)、硬直開始時の短縮は、筋小胞体の Ca^{2+} 吸収能のpH依存性に起因するのではないかと指摘されている(Honikelら, 1983)が、まだ仮説の段階である。一方、低

* ATP態のリン酸：1NHClにより、100°C、7分間に水解されるリン酸

温短縮の方はBuege & Marsh(1975)が赤色筋のウシ肉と白色筋のウサギ肉を、窒素ガスと酸素ガスの雰囲気中におき、2°Cと20°Cにおける短縮状態を観察して、ウサギ筋肉は酸素の有無に関係なく両温度で短縮を起こさないが、ウシ筋肉は2°Cでは無酸素状態の方が短縮度が大きく、20°Cでは無酸素状態でも短縮が起こらないことを認め、赤色筋の場合低温ではミトコンドリアからの無酸素状態でのCa²⁺放出が短縮に影響力をもっていることを指摘した。なお、赤色筋の低温短縮では、主としてミトコンドリアがCa²⁺放出源であるとみられているが(Carafoliら, 1969; Whiting, 1980)、筋小胞体のCa²⁺吸収能も低温で低下することが認められており(Mortonosi & Feretos, 1964; Whiting, 1980)、死後のCa制御における両者の生理的機構はまだ明かでない(Mickelson, 1983)。

魚類の死後の化学的变化に及ぼす温度の影響について、斉藤と新井(1957 a, b)はコイ筋肉のATP分解速度は16°Cより0°Cの方が遅く、分解率50%に到達する時間は16°Cで8~10時間、0°Cで14~16時間であり、Cr-Pは36°C、17°C、4°Cにおいて低温ほど分解が遅いことを報告している。また、野口(1957)はコイ筋肉の“洗い”による収縮率の経時的変化とΔ7Pの変化を測定し、30°Cでは10時間後、20°Cで20時間後、0°Cでは48時間後に収縮能とΔ7Pが同時に消失したと報告している。これら報告から、コイについては低温ほど死後硬直が遅延することが伺われる。

しかし、山本と野口(1964)はシイラ、イサキ、トラフグ、キジハタ、ネコザメの筋肉について30°C、20°C、10°C、0°C貯蔵における“洗い”による収縮率の変化を測定し、シイラ、イサキは低温ほど収縮能の持続時間が長く、0°Cではシイラが20時間、イサキは15時間であること、その他の魚は0°Cや30°Cより10°Cおよび20°Cで収縮能が長く持続し、トラフグで24~34時間、キジハタで34時間、ネコザメでは57時間後まで収縮能の保持を認め、死後硬直の進行におよぼす貯蔵温度の影響は、魚種によって大きく異なることを報告している。さらに、山本(巖)ら(1964, 1966)は天然ハマチを0°C、5°C、10°C、15°Cの海水に浸漬して、魚体の垂れの度合いを指標とする硬直指数の変化を測定し、完全硬直に達するまでの時間は0°Cが最も短く、5~10°Cが最も長いことを認め、魚体に急激な温度変化を与えないことが硬直の遅延には有効であると指摘している。また、ほぼ同様な傾向が養殖マダイについても認められている。すなわち本田ら(1971, 1972)は、予冷水温およびその後の貯蔵条件が死後硬直におよぼす影響を肉眼で観察し、夏期(8月)は2~4°Cで予冷して間接施氷(2~5°C)で貯蔵し、冬期(12~1月)は環境水温(10°C)で予冷して無施氷(7~10°C)で貯蔵した場合が、死後硬直が最も遅延すると報告している。また、Poulterら(1981)も熱帯魚のティラピアが0°C貯蔵では約2時間後、22°C貯蔵では6時間後に硬直を開始し、0°Cより22°Cの方がATPの減少が緩慢であることを認めている。このように、魚類についても死後硬直の進行と貯蔵温度との関係は、魚種によって異なった傾向がみられるが、その原因はまだ究明されていない。

以上が死後硬直が起こるまでの筋肉の化学的变化と、それに伴う物性の変化に関する研究成果の概要である。これまでの魚類の死後変化に関する研究は、そのほとんどが、硬直の持続時間または鮮度保持期間の延長を目的としたものであり、序論で述べたような“生き”の保持の観点から着手されたものは極めて少ない。その主因は、魚の流通事情から死後硬直前の魚を入手することが困難

で、実用上の問題とされなかったためであろう。しかし、流通手段が改善され、養殖漁業や活魚出荷が盛んになった今日、魚の生きの保持の観点からその貯蔵条件を明らかにする必要があると考える。

上記の山本(巖)ら(1964, 1966)のハマチ、本田ら(1971, 1972)のマダイの実験は、いずれも死後硬直の遅延を目的として着手され、その結果は現在の活けしめ流通における温度管理と一致している。しかし、 0°C より $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ に貯蔵した方が、硬直の進行が遅延するという現象の科学的な実証はまだなされていない。また、コイ、シラ、イサキとマダイ、ハマチ、ティラピアでは、死後硬直において異なる温度依存性が認められるなど、その機構も明らかでない。 0°C で硬直の進行が速くなるという現象について、山本と野口(1964)やPoulterら(1981)は寒冷刺激による筋収縮として畜肉の低温短縮との関連性を指摘しているが、この点の究明も全くされていない。本研究はこのような背景のもとに、魚類の死後硬直における温度依存性と魚種特異性について検討を加え、最適な硬直遅延条件を明らかにし、魚類の生きの保持に資することを目的に実施したものである。本論文はその研究成果をとりまとめたもので、全6章より成る。

第Ⅱ章では、活けしめ流通の代表的魚種であるハマチ、マダイ、ヒラメの天然活魚を即殺して 0°C に貯蔵し、魚体の硬直過程を数値的に把握しながら筋肉の化学的变化を追跡して、両者の関係を検討した。硬直過程を数値的にとらえる方法として、魚体尾部の垂れ下がりの程度を経時的に計測して、当初の垂れ下がりに対する上昇率を、硬直指数(以下R値)として表示する方法(尾藤ら, 1983a)を採用した。 0°C 貯蔵ではハマチは2時間後、マダイは4時間後、ヒラメは最も遅れて6時間後から硬直し始めた。硬直の進行はハマチが最も速やかで、9時間後に魚体が水平状態に硬化してR値は100%となった。続いてマダイは16時間後、ヒラメは更に遅れて29時間後にR値が100%に達した。完全硬直の持続時間はハマチが15時間と最も短く、次いでマダイ40時間、ヒラメは43時間の順となり、ヒラメはマダイに比べて硬直の進行は緩慢であつたが、完全硬直の持続時間では両者間にほとんど差がなかった。なお、既往の報告ではR値は必ずしも最大硬直時に100%に達しないとされていたが、本実験では3魚種とも、最大硬直時に魚体は水平状態に硬化したので、R値100%が完全硬直とみなされた。

R値の測定と並行して、筋肉中のATP関連化合物、Cr-Pおよび乳酸を定量し、その含量変化と硬直の進行との関係を検討した。即殺直後のATP量はハマチで $7.4\mu\text{mol/g}$ 、マダイで $3.3\mu\text{mol/g}$ 、ヒラメでは $6.4\mu\text{mol/g}$ を示した。ハマチおよびヒラメのATP量は、ATP関連化合物総量の80~88%と高い比率を占めたのに対して、マダイは49%と低い比率であつた。その後は3魚種とも硬直の進行に伴ってATP量は減少し、完全硬直に達した時点でATPもほぼ消失($1\mu\text{mol/g}$ 以下)した。Cr-Pはハマチとヒラメのみ定量した。その即殺直後の含量はハマチで $8.2\mu\text{mol/g}$ 、ヒラメでは $23.0\mu\text{mol/g}$ と両者に約2.8倍の差があり、ハマチでは致死時の消耗が激しかったものと推察された。その後いずれも経時的に減少して、ハマチは7時間後、ヒラメではその約3倍にあたる21時間後に消失した。したがって、Cr-Pの減少速度は両者にほとんど差がなかった。

また、Cr-P量はATP量に先立って減少し、Cr-PがATPと同じ濃度に達した時点からATP量の減少が認められた。

乳酸の致死時蓄積量および最大蓄積量は、ハマチで14.1および97.3 mol/g、マダイで24.8および59.6 μ mol/g、ヒラメで7.7および43.2 μ mol/gと、いずれも完全硬直時にはほぼ最大量に達した。乳酸の死後生成量はハマチで83.2 μ mol/gと最も多く、マダイおよびヒラメでは34.8~35.5 μ mol/gと差がなかった。また、致死時pH値および最低pH値は、ハマチで6.9および5.8、マダイで6.6および6.1、ヒラメで7.3および6.8を示し、それぞれの最低値到達時点は乳酸が最大量に達した時点とほぼ一致した。以上の実験から、R値、ATP量、Cr-P量、乳酸蓄積量およびpHなどの変化が相互に連動していることが認められ、死後硬直に至る過程は畜肉の場合とほぼ同じであることを確認した。

第Ⅲ章では、死後硬直の進行と筋肉の化学的変化におよぼす貯蔵温度の影響について検討した。まず、ハマチ、マダイ、ヒラメの天然活魚を即殺したのち10℃に貯蔵して、その死後変化を上記0℃貯蔵の結果と比較したところ、いずれも0℃より10℃に貯蔵した方がATPの消失時間は2~3倍遅延した。また、10℃貯蔵においても完全硬直に達した時間とATPの消失時間はほぼ一致し、乳酸もほぼ同じ時点で最大量を示した。さらに、Cr-PもATPに先立って消失しており、硬直の進行と筋肉の化学的変化の関係は0℃貯蔵の場合と同じであった。硬直の開始時期は3魚種の間で差があり、両貯蔵区ともハマチで最も速く、ヒラメで最も遅かった。また、ハマチの硬直開始時期は両貯蔵区で差がみられなかったが、マダイおよびヒラメでは0℃より10℃の方が4~9時間遅れて硬直を開始した。

次に、上記の実験で貯蔵温度によって最も顕著な差異を示したヒラメを0~20℃の範囲で種々の温度に貯蔵し、死後変化におよぼす貯蔵温度の影響をより詳細に検討した。その結果、0℃および20℃より5~15℃に貯蔵した方が、ATPの減少が緩慢で死後硬直も遅延することを認めた。しかし、イノシン酸の分解は貯蔵温度が高くなるほど速やかとなり、K値の上昇および官能的評価の点から、15℃および20℃貯蔵では24時間以上の生鮮度維持は困難であることを確認した。したがって、活けしめ流通における温度管理としては、0℃より5~10℃に保持することが死後硬直の遅延を図る観点から最適と推察された。また、一旦完全硬直に達した場合は生鮮度の保持のため、速やかに0℃貯蔵に切り替えることが必要と考えられた。

以上のハマチ、マダイ、ヒラメの実験から、ATPの代謝速度や硬直遅延の程度は魚種によって差があり、死後の変化に魚種特異性が認められた。そこで、さらにイシダイおよびマゴチについて0℃と10℃貯蔵における死後変化を比較したところ、いずれも0℃より10℃に貯蔵した方がATPの減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延することを認めた。このように5魚種の実験で、各魚種とも貯蔵試料魚の致死時のATP量や解糖によるATP再生量にはほとんど差がないにもかかわらず、いずれも0℃より5~15℃に貯蔵した方が硬直の進行が遅いことを確認した。また、硬直の進行速度は魚種によって差があり、ヒラメ、マダイ、マゴチはハマチ、イシダ

イに比べて硬直の進行が緩慢であった。

これまでの実験は、いずれも天然魚を試料としてきた。しかし、活魚または活けしめ流通に占める割合は養殖魚の方が高くなる傾向にある。そこで、第Ⅳ章では硬直の進行における天然魚と養殖魚の差異をマダイおよびヒラメについて比較検討した。まず、養殖マダイを天然魚の場合と同様に0℃と10℃に貯蔵して、その死後変化を検討したところ、養殖魚でも天然魚と同様に0℃より10℃に貯蔵した方がATP量の減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延することを認めた。また、養殖魚と天然魚の硬直の進行速度には顕著な差があり、天然魚の方が0℃貯蔵で1.6倍、10℃貯蔵では2倍程度遅れて完全硬直に達した。なお、生鮮度の指標とされるK値の変化は両貯蔵区とも、天然魚の方が養殖魚より低い値で推移した。

次に、これまでの実験で最も硬直の進行が緩慢であったヒラメについて、天然魚と養殖魚の死後変化を比較した。その結果、0℃より10℃に貯蔵した方がATPの減少が緩慢で死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延した。しかし、養殖魚と天然魚の硬直の進行速度やK値の変化にはほとんど差が認められなかった。これらの実験から、死後変化における養殖魚と天然魚の差異はマダイでは顕著であったが、ヒラメではほとんど認められず、魚種によって異なることが明らかにされた。

なお、魚類の死後硬直におよぼす致死条件の影響に関して、ハマチでは致死条件は硬直後の変化には影響しないと報告されている(上岡ら,1969; 山田ら,1983)。そこで、ヒラメにつき、即殺魚と苦悶死魚の死後変化の差異を上記実験と並行して検討した。20Vの電気刺激を間欠的に与えて苦悶死させたヒラメを10℃に貯蔵したところ、同じ10℃に貯蔵した即殺魚に比べて、硬直の進行は著しく速やかであったが、K値の上昇速度ではほとんど差が認められず、ヒラメでも致死条件は硬直後の変化には影響しないことが確認された。

第Ⅱ～Ⅳ章に示した実験結果から、硬直の進行速度すなわちATPの減少速度には温度依存性や魚種特異性が認められ、0℃のような低温ではATPの分解を促進する何らかの機構が存在するものと示唆された。そこで第Ⅴ章ではATPの分解・再生に関与する主要な酵素について、その活性におよぼす温度の影響を調べ、死後硬直の温度依存機構の解明を試みた。

まず、死後初期のATP再生に関与する酵素と考えられるクレアチン・キナーゼの活性を、ヒラメおよびマダイの天然魚普通筋から調製した筋形質のタンパク質画分について測定した。pH 6～7の範囲内で温度依存性を調べたところ、マダイおよびヒラメとも反応温度の上昇に伴って活性も上昇し、同一温度ではpH 7付近で最小活性を示した。すなわち、同一pHにおいてヒラメでは10℃における活性は0℃のときの約3倍、同じくマダイでは約2倍と測定された。また、単位タンパク質量当たりの比活性はマダイの方がヒラメより低い値を示した。

次に、ATPの分解に関与する酵素として筋原線維のATPase活性を、同じくヒラメ、マダイの普通筋から調製した筋原線維について測定した。まず5 mM Mg²⁺および0.25 mM Ca²⁺存在下におけるATPase活性のpHおよび温度依存性を検討したところ、両魚種とも反応温度の低下に伴って比

活性は急激に低下し、同じ温度ではpHによる活性の差はほとんど認められなかった。また、筋原線維の主要な構成タンパク質であるミオシンのATPase活性の温度依存性を確認する目的で、マダイ筋原線維の5mM Ca^{2+} 存在下におけるATPase活性を測定した。その結果、pH依存性は認められず、反応温度の低下に伴って比活性は低下したが、先の Mg^{2+} -ATPase活性に比べて低下の度合いは小さかった。さらに筋形質のタンパク質画分に含まれるATPaseのpHおよび温度依存性について検討した結果、両魚種ともpHおよび反応温度の低下に伴って比活性は低下した。

以上の実験で、ATPの分解・再生に関する主要酵素は温度が低下するにしたがって、いずれもその活性が低下することを確認した。したがって、ATPの消費が 10°C より 0°C で促進されるという現象は、これら酵素活性の温度依存性からは説明ができない。しかし、上記実験に供した筋形質のタンパク質画分中には、その調製方法からみて筋肉内の Ca^{2+} 濃度を調節する器官である筋小胞体や、 Ca^{2+} を多量に取り込んでいるミトコンドリアを含むことから、筋形質のATPaseは両者の膜ATPaseが主成分と考えられる(Mortonosi & Feretos, 1964; Whiting, 1980)。したがって、筋形質のATPase活性が、反応温度の低下に伴って小さくなるという上記の実験結果は、両器官の Ca^{2+} 取り込み能も温度の低下とともに小さくなることを示唆する。

また、筋原線維 Mg^{2+} -ATPase活性は微量(10^{-6}M 程度)の Ca^{2+} の存在下で著しく賦活されることが知られている。そこで、即殺後の筋肉が弛緩状態にあるとするなら、魚体温が 0°C に低下することによって、筋形質中の遊離 Ca^{2+} 濃度が高まり、そのために筋原線維の Mg^{2+} -ATPase活性が賦活されて、ATPの消費を促進するという機構が考えられる。これは畜肉の低温短縮現象と同様な機構であり、魚類もこのような機構で 0°C 貯蔵での死後硬直が促進されるものと推論した。

第Ⅴ章では、上記の諸結果に総括的考察を加えた。

第Ⅱ章 死後硬直の進行とそれに伴う筋肉の化学的变化

魚類筋肉の死後における化学的变化としては、ATP関連化合物、Cr-P、乳酸およびグリコーゲンの消長が主要な指標とされている。これらエネルギー代謝関連化合物の変化と、致死条件や貯蔵温度との関係についてはすでに多くの報告がある。しかし、死後硬直の進行との関係を詳細に追跡した報告は極めて少ない。本章では、活けしめ流通の代表的魚種であるハマチ、マダイ、ヒラメを即殺して0℃に貯蔵し、魚体の硬直過程を数値的に判定しながら筋肉の化学的变化を追跡して、両者の関係を検討した。

第1節 死後硬直の進行と硬直指数の変化

死後硬直の進行過程を判定する方法としては、魚体の硬化度や弾力性を官能的に観察することのほか、機器を用いて魚体の凹みの程度や弾力を計測したり（田内ら,1931；Messtorff,1954）、肉片の破断応力を計測して硬さの変化をみる方法（山中ら,1978）および肉片の収縮度や伸張度の変化を計測する方法（Bate-Smith & Bendall, 1949；野口,1957；Honikelら,1983）が用いられている。しかし、肉片を用いる測定法では、魚体の硬直度と必ずしも一致した結果が得られるとは限らない。

尾藤ら(1983a)は魚体尾部の垂れ下がりの程度を経時的に計測して、当初の垂れ下がりに対する上昇率を硬直指数として表示する方法を提案している。この方法は官能的観察を数値化したものであり、活けしめ魚の場合は魚体そのものの硬直度が品質評価の対象とされるので、流通現場の評価との適合性には問題がないと考えられる。

そこで、ハマチ、マダイ、ヒラメの硬直の進行状態を硬直指数の変化を指標として追跡した。

試料および方法

試料 天然ハマチ *Seriola quinqueradiata* (体長35cm, 体重0.5kg)、天然マダイ *Pagrus major* (30cm, 0.8kg)、天然ヒラメ *Paralichthys olivaceus* (48cm, 1.6kg)各1尾を水槽中で充分休養させたのち、延髄刺殺によって即死させ水中で脱血した。その魚体をポリエチレン袋に封入して、0℃に調整した恒温水槽に浸漬して貯蔵した。

硬直指数の測定 尾藤ら(1983a)の方法によって測定した。すなわち、図1に示すように水平な台上の端に、体長の1/2が垂れ下がるように魚体の頭部を置き、台から尾び

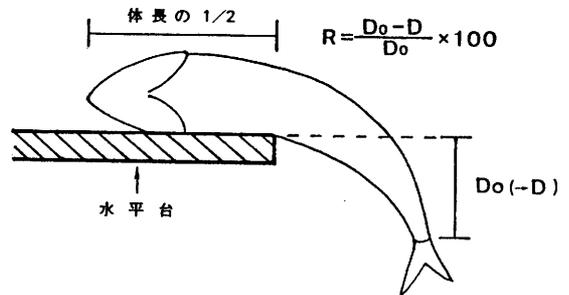


図1. 硬直指数の測定方法

れの付け根までの鉛直距離を一定時間毎に測定した。即殺直後の測定値 (D_0)とその後の測定値 (D)から、図1に示す式によって尾びれの上昇率を求めて硬直指数 (Rigor index, 以下R値) とした。

結果および考察

図2にハマチ、マダイおよびヒラメの0°C貯蔵中における硬直指数の変化を示した。ハマチは2時間後、マダイは4時間後、ヒラメは最も遅れて6時間後から硬直し始めた。硬直の進行はハマチが最も速やかで、9時間後に魚体が水平状態に硬化してR値は100%となった。続いてマダイは16時間後、ヒラメは更に遅れて29時間後にR値が100%に達した。その後ハマチは24時間以降、マダイは56時間以降、ヒラメは72時間以降から解硬しはじめ、ハマチは48時間後の測定でR値94%に、マダイは72時間後、ヒラメは96時間後の測定でR値はそれぞれ70%、50%に減少した。したがって、完全硬直の持続時間はハマチが15時間と最も短かった。他方、マダイの完全硬直持続時間は40時間、ヒラメでは43時間となり、ヒラメの場合硬直の進行はマダイに比べてはるかに緩慢であったが、完全硬直の持続時間は両魚種間で大きな相違は認められなかった。

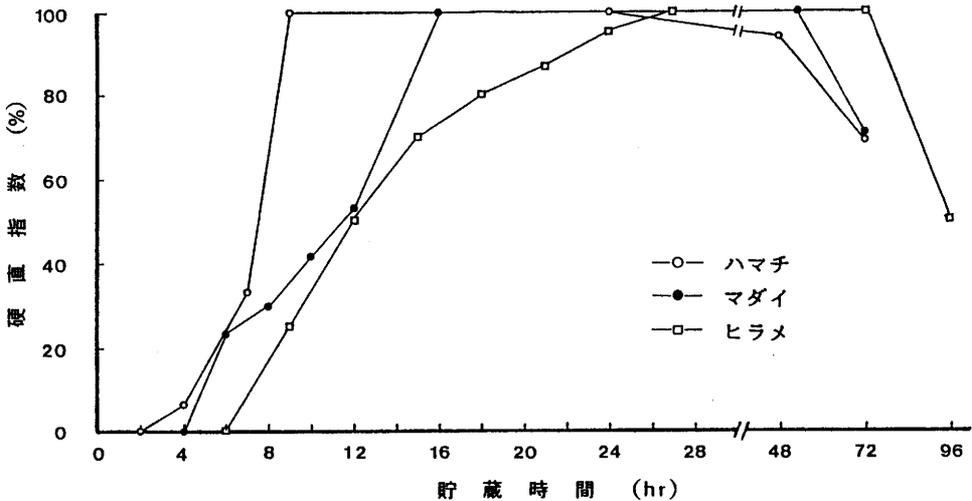


図2. ハマチ、マダイ、ヒラメの硬直指数の変化

尾藤ら(1983a)は定置網で漁獲された17魚種について、即殺後室温放置(9~15°C)してR値の変化を測定し、ヒラメ、サバフグは20時間後、メジロザメ、カワハギ、アカメフグは10時間後、メイタガレイ、マアジ、ホウボウ、ウルメイワシは5~7時間後、ヒラアジ、サンマ、スズキは2~3時間後にそれぞれ最大硬直に達したと報告している。また、マトウダイはR値の最大値が50%以下であり、アンコウは全く硬直しなかったが、その他の魚種は最大硬直時にR値は100~80%であるこ

と、解硬時のR値の下降は緩慢であり必ずしも0%まで戻らず、アオミシマはR値が上昇中であるにもかかわらず腐敗臭を発生したことを認めており、魚種によりR値の変化の様子が異なると指摘している。本実験では、3魚種とも最大硬直時に魚体は水平状態に硬化したので、R値100%が完全硬直とみなされる。また、硬直の開始時期や硬直の進行速度についても、試料間の相違を判別し得ることが確認された。なお、マイワシなどのように体長が短い試料では尾部の垂れ下がりの距離が短いため、その上昇度合いの微妙な差異がR値を大きく変動させるので正確なR値を判定し難い。

第2節 ATP関連化合物およびクレアチンリン酸含量の変化

前節の実験で、硬直の進行状態が魚種により異なることが明らかとなったが、これは各魚種のエネルギー代謝条件に相違があることを示すものである。哺乳動物の死後硬直現象は、筋収縮のエネルギー源であるATPの含量低下または消失によって起こり、硬直の開始時期はATPの補給源であるCr-Pとグリコーゲンの量に依存することが明かにされている(Bate-Smith & Bendall, 1956)。

魚類については、藤巻と古城(1953)がソウダガツオで、野口と山本(1955a, b)はサバ、タイ、コイで、斉藤と日高(1955, 1956)や斎藤と新井(1957a, b)はコイで、山田ら(1983)はハマチで、ATPの消失と死後硬直の完了(完全硬直)する時点が一致することを認めている。しかしながら、尾藤ら(1983b)は定置網の漁獲物13魚種について、 $\Delta 7P$ とR値との関係を調べ、最大硬直時が必ずしも $\Delta 7P$ の消失とは一致しないことを指摘している。したがって、魚類筋肉におけるATP関連化合物およびCr-Pの含量の変化と、死後硬直の進行との関係は魚種によって異なるようであるが、その点についての十分な究明はまだなされていない。

そこで、本節ではハマチ、マダイ、ヒラメの3魚種につき、ATP関連化合物およびCr-P含量の変化と死後硬直の進行との関連性について検討した。

試料および方法

試料 前節と同じ試料魚体から一定時間毎に背部の普通肉を採取して分析に供した。

ATP関連化合物の定量 清水ら(1969)の方法に準じて定量した。すなわち、筋肉2gに氷冷した10%過塩素酸5mlを加えてすり潰したのち、3,000rpmで3分間遠心分離し、沈殿に上記10%過塩素酸を3ml加えて洗い、再度遠心分離してはじめの上澄液と合わせ、KOH溶液でpH6.5~6.8に調整した。生成した沈殿を遠心分離し、沈殿に中和過塩素酸3mlを加えて洗い、再度遠心分離してはじめの上澄液と合わせ、15mlに定容して分析試料液とした。ATPとその関連化合物の分別定量は、データ処理装置(島津C-R1A)を装備した高速液体クロマトグラフ(島津LC-3A)を用いて行った。なお、分析条件は次の通りである。

カラム：AG1-X4(CI型、-400mesh, Bio-Rad社製)4.6mm×100mm、溶出液：Ⅰ液 H₂O (HxR+Hx分画)、Ⅱ液 0.1MNaCl, pH3.0(AMP, IMP分画)、Ⅲ液 0.3MNaCl, pH1.8(ADP, ATP分画)、検出波長：260nm、流速：3ml/min、試料注入量：25 μ l、溶出時間：16min。

クレアチンリン酸の定量 上記の過塩素酸抽出液を試料として陰イオン交換樹脂カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーによって分別定量した。分析条件は次の通りである。

カラム：Nucleosil 5SB 4.6mm×200mm、溶出液：Ⅰ液 0.05MKH₂PO₄ (10%メタノール, pH 4.0)、Ⅱ液 0.3MKH₂PO₄ (10%メタノール, pH 3.0)、検出波長：210nm、流速：1ml/min、試料注入量：20μl、溶出時間：21min。

結果および考察

ATP関連化合物 図3に各試料魚の0℃貯蔵中におけるATPおよびその関連化合物の含量変化を示した。ハマチの死直後におけるATP量は7.4μmol/gで、ATP関連化合物総量の80%を占め高い水準にあり、4時間後でも7.0μmol/g(75%)を維持した。しかし、その後は速やかに減少し

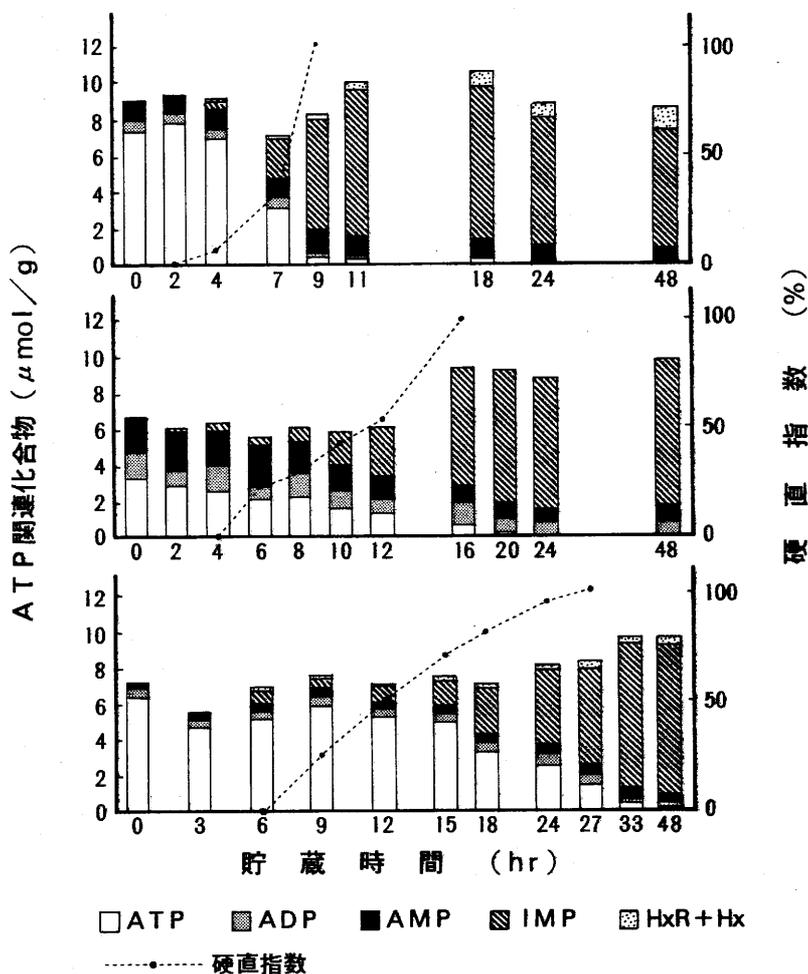


図3. ハマチ、マダイ、ヒラメの死後硬直の進行に伴う ATP 関連化合物の消長

て7時間後に $3.1\mu\text{mol/g}$ と半減し、9時間後には $0.4\mu\text{mol/g}$ に減少した。ATP量の変化に対応して硬直も進行し、ATP量が高い値を維持した4時間後まではR値も0~5.8%であったが、ATPが半減した7時間以降からR値は急激に上昇して9時間後には100%に達して完全硬直状態となった。マダイは即殺直後のATP量は $3.3\mu\text{mol/g}$ とATP関連化合物総量の49%と低水準であったが、その後の減少速度は遅く、死後硬直は4時間目以降から始まった。その後ATP量は経時的に低下して16時間後には $0.5\mu\text{mol/g}$ となりR値も100%に達した。

ヒラメの即殺直後のATP量は $6.4\mu\text{mol/g}$ で、ATP関連化合物総量の88%と高い水準にあり、12時間後まで70%以上の高い水準を維持した。その後18時間後には半減して $3.1\mu\text{mol/g}$ となり、さらに33時間後には $0.2\mu\text{mol/g}$ まで低下した。硬直はATPがまだ高水準にある6時間以降から始まり、ATPが $1.2\mu\text{mol/g}$ 残存している27時間後に完全硬直状態となり、ハマチ、マダイに比べてATPの減少および硬直の進行が緩慢であった。

魚肉のATPの変化についてはすでに多くの研究があり、その主要分解経路は $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} \rightarrow \text{AMP} \rightarrow \text{IMP} \rightarrow \text{HxR} \rightarrow \text{Hx}$ で、IMPまでの変化は極めて速やかで、死後硬直の段階でほとんど終了することが認められている(斉藤(恒),1961; 内山と江平,1970)。本実験においても図3に示すように、ADPとAMPはその蓄積量の変動が少なく、ADPはATPまたはAMPへ、AMPはIMPへ速やかに変化するものと推察された。また、IMPの分解が緩慢であるためATPの減少に伴ってIMPが蓄積し、ATPが消失する時点でIMPは最大蓄積量を示している。IMPの分解量は貯蔵期間に比例して増大することから、ATP関連化合物の総量に対する $\text{HxR} + \text{Hx}$ 量の比率はK値として鮮度判定の指標に用いられている(Saitoら,1959; 内山と江平,1970)。本実験の 0°C 貯蔵では、K値は72時間後においてマダイが2.8、ヒラメは8.8に対してハマチは18.8と前2魚種より2~6倍高い値を示し、ハマチではIMPの分解が速やかで鮮度低下速度が大きいことが明らかとなった。

クレアチンリン酸 図4はハマチとヒラメのCr-P量の変化をATP量と対比させて示したものである。即殺直後のCr-P量はハマチが $8.2\mu\text{mol/g}$ であるのに対してヒラメは $23.0\mu\text{mol/g}$ と2.8倍の高水準にあり、ハマチは致死時の消耗が激しかったものと推察された。その後ハマチは4時間後に $1.9\mu\text{mol/g}$ に低下し、7時間後には消失した。他方ヒラメは9時間後にほぼ半減して $10.5\mu\text{mol/g}$ となり、15時間後には $5.4\mu\text{mol/g}$ とさらに9時間後の値の約50%となり、21時間後にはほぼ消失した。したがって、Cr-Pの減少速度を比較した場合、両者にほとんど差がない。また、Cr-P量とATP量の消長を対比してみると、Bendall(1951)がウサギで、斉藤と新井(1957a,b)がコイについて指摘しているように、本実験のハマチおよびヒラメでもCr-Pの方がATPに先立って減少し、ヒラメではCr-P量がATPと同量以下に低下する時点まで、ATPは顕著な減少を示していない。このことは、哺乳類筋肉と同様にCr-Pがそのリン酸基をADPに転移して、ATPを補給していることを示唆するものである。

なお、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウサギなど畜肉(背肉)の死直後における定量値はATPが6.3~9.1

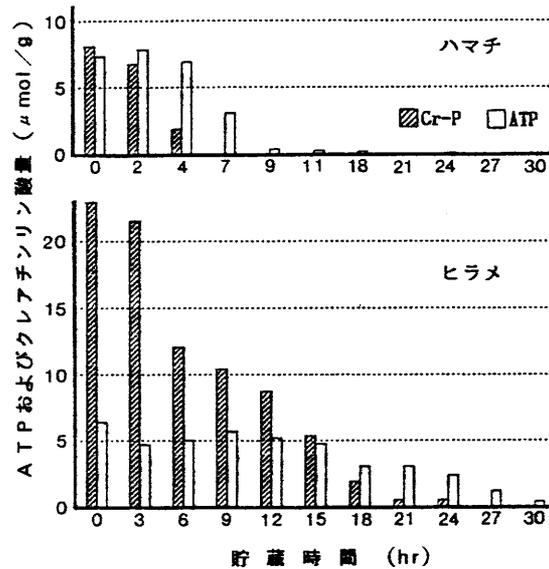


図4. ハマチおよびヒラメのATPとクレアチニン酸量の死後変化

$\mu\text{mol/g}$ 、Cr-Pが $11.1\sim 23.1\mu\text{mol/g}$ (Bendall, 1979)で、本実験で得られた魚肉の値と大差はない。

以上の実験結果から、ATP量の減少に伴ってR値が上昇し、ATPが消失する前後に最大値に達すること、ATPの消長がCr-Pの消長に依存していることなどが確認された。また、野口と山本(1955b)は“洗い”による筋肉収縮能からみた完全硬直到達時間には魚種差は小さく、死後硬直の進行速度には致死条件の方が大きく影響すると指摘しているが、本実験ではハマチとヒラメは即殺直後におけるATPの量的水準に差がないにもかかわらず、その後のATPやR値の推移に顕著な相違が認められた。さらにマダイでは、即殺直後のATP量とその関連化合物を含めた総量の約50%であったにもかかわらず、ヒラメと同様にATP量やR値の変化はハマチよりも緩慢で、底棲魚と回遊魚筋肉の死後の化学的变化には、大きな相違があるものと推察された。また、ヒラメではATP量が比較的高い水準のときに硬直が始まり、尾藤ら(1983b)が指摘しているように完全硬直時でもATPの残存が認められ、この点マダイおよびハマチの場合と異なる傾向を示した。

なお、試料魚の体重はハマチが0.5kg、マダイが0.8kgであるのに対してヒラメは1.6kgとかなり大きく、魚体の大小による影響も考えられるので、この点についてはさらに詳細な検討が必要と思われた。

第3節 乳酸含量およびpHの変化

酸素の供給が停止した死後の筋肉では、グリコーゲンまたはグルコースが嫌氣的代謝によって乳酸に分解され、その過程でATPが生成する。したがって、乳酸の蓄積量はATPの補給量に相当

する。また、ATPの加水分解によって生成するプロトン(H^+)は筋肉を酸性化させるので、ATPの分解量が増大し、解糖が進行するにしたがってpHは低下する。哺乳動物筋肉の死後変化に関してはpHが主要な指標とされ、pHとATP、Cr-Pおよび乳酸の各変化の関係を数式化するなどの試みがなされている(Bendall, 1979)。また、グリセリン処理したウサギ筋肉の収縮張力はpH値に依存し、その値が高いほど強く収縮することが明らかにされている(Izumiら, 1978)。

魚類筋肉についてもグリコーゲン、乳酸およびpHの死後変化が測定されているが(安藤ら, 1939; 山田と新間, 1948a, b; 天野ら, 1953; 野口と山本, 1955b; 齊藤と日高, 1955; 尾藤ら, 1983b)、それぞれ実験の趣旨や方法が異なり、死後硬直の進行との関係を詳細に追究したものではない。そこで、本節では乳酸蓄積量およびpHの変化と死後硬直の進行との関係について検討した。

試料および方法

試料 第1節と同じ試料魚体から、一定時間毎に背部の普通肉を採取して分析に供した。

乳酸の定量 前節の過塩素酸抽出液を用いてBarker-Summerson法(薬科, 1965)によって定量した。

pHの測定 筋肉5gに5倍量の氷冷した5mMモノヨード酢酸を加えてホモジナイズし、複合電極pHメータ(堀場F-8AT)で測定した。

結果および考察

図5に各魚種の0°C貯蔵での乳酸蓄積量とpHの変化を示す。ハマチの即殺直後の乳酸量は14.1 $\mu\text{mol/g}$ であったが、7時間後で46.2、9時間後で73.3と経時的に増加して11時間後には93.3 $\mu\text{mol/g}$ となりほぼ最大量に達し、その後72時間後までは91.2~

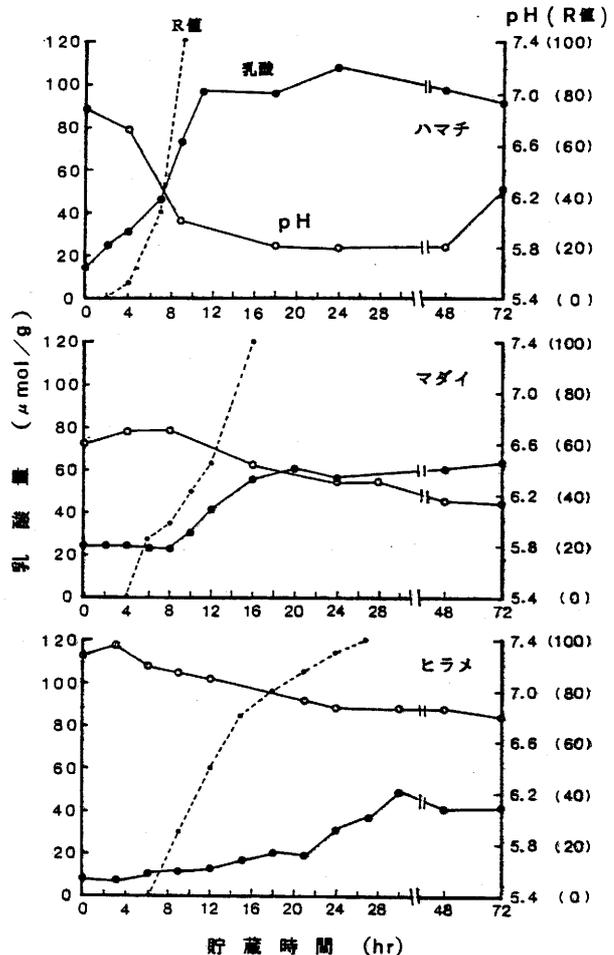


図5. ハマチ、マダイ、ヒラメの死後硬直の進行に伴う乳酸量とのpHの変化

106.7 $\mu\text{mol/g}$ で推移し大きな変動はみられなかった。pHは当初6.9で、以後経時的に低下して9時間後に6.0、18時間後には最低値の5.8を示した。その後、48時間後までは5.8を維持していたが、72時間後では6.2まで上昇した。

マダイの即殺直後の乳酸量は24.8 $\mu\text{mol/g}$ とハマチの約2倍量であったが、その後8時間まではほぼ当初の量で推移した。8時間以降から蓄積量は上昇傾向に転じ、16時間後に55.0 $\mu\text{mol/g}$ とほぼ最大量に達した。pHは当初6.6で、その後は乳酸の消長に対応した変化をみせ、16時間後には6.4、24時間後6.3と低下し、48時間以降は6.1前後で推移した。

ヒラメは即殺直後の乳酸量が7.7 $\mu\text{mol/g}$ と低水準で、その後蓄積量は経時的に増加したが、その割合はマダイ、ハマチに比べて著しく小さく、30時間後に到達した最大量も49.0 $\mu\text{mol/g}$ と少なかった。pHは当初7.3で、その後経時的に低下したが、乳酸が最大量に達した30時間後に6.9を示し、72時間後で6.8であった。

なお、Bendall(1979)は畜肉について、即殺直後の乳酸量は12.5~22.0 $\mu\text{mol/g}$ 、pH 6.9~7.1であり、48時間後にはそれぞれ87~115 $\mu\text{mol/g}$ 、5.4~5.8を示したと報告しており、乳酸蓄積量とpHの変化でみる限りにおいては、ハマチは畜肉の死後変化によく類似している。

表1. ハマチ、マダイ、ヒラメの死後のATPの分解と再生

	完全硬直 到達時間	乳酸量($\mu\text{mol/g}$)			ATP分解・再生量($\mu\text{mol/g}$)			
		致死時	最大値	死後生成量	解糖系	Cr-P	致死時	総量
		(A)	(B)	(B-A)	(C)	(D)	(E)	(C+D+E)
ハマチ	9 hr	14.1	97.3	83.2	124.8	8.2	7.4	140.4
マダイ	16	24.8	59.6	34.8	52.2	—*	3.3	(55.5)
ヒラメ	27	7.7	43.2	35.5	53.3	23.0	6.4	82.7

* 測定せず。

以上の実験結果を硬直の進行と対比してみると、3魚種とも完全硬直時に乳酸が最大量に達し、pHが最低値に達する点ではほぼ一致しているといえる。また、グリコーゲンが完全に解糖されたとすれば、表1に示す乳酸量の最大値からみて、生前のグリコーゲン含量はハマチが最も多く、マダイはハマチの約6割、ヒラメは同じく約5割と推定される。さらに、解糖系からのATP再生をグリコーゲンから出発したとみなすと、乳酸2モルの蓄積に対してATPが3モル再生され、また、Cr-P 1モルの分解に伴ってATPが1モル再生する(Lehninger, 1982)。したがって、致死時のATP量とCr-P量および解糖系からのATP再生量を加えた総ATP分解量は、ハマチの140.4 $\mu\text{mol/g}$ に対してヒラメは82.7 $\mu\text{mol/g}$ と算定される。マダイのCr-Pの消長は測定していないが、致死時のATP量からみて消失に近い値と考えられ、55.5 $\mu\text{mol/g}$ をATP総分解量とみなした(表1)。

なお、表1の乳酸量最大値は、ほぼ最大量に到達した時点以降における測定値の平均値で示した。

尾藤ら(1983b)は、定置網で漁獲した14魚種の即殺後のR値の変化と $\Delta 7P$ およびグリコーゲン量の消長を追跡して、ヒラアジ、スズキ、カマス、ムロアジは硬直の進行が比較的速やかで、ヒラメやムシガレイは最も遅く、ウマヅラハギ、カワハギ、サバフグもかなり遅いと報告している。また、即殺直後の $\Delta 7P$ およびグリコーゲン量が多いほど最大硬直までの時間が長い傾向にあり、死後硬直の進行速度はATPの総分解量と関係があるようにみえるが、ムロアジはヒラメやムシガレイに比べてATPの総分解量が多いにもかかわらず、硬直が速やかに進行したことから、必ずしも魚種間の硬直の遅速をATPの総分解量と結び付けることはできないと指摘している。本実験でもハマチはマダイ、ヒラメに比べてATPの総分解量が多いにもかかわらず、硬直が速やかに進行しており、むしろグリコーゲン含量が高いほど硬直の進行が速やかになるとも考えられる。上記の尾藤らのムロアジとヒラメ、ムシガレイの関係と本実験結果から、第2節で述べたように回遊魚と底棲魚の死後変化にはそれぞれ特異性があるものと推察された。

要 約

- 1) ハマチ、マダイおよびヒラメの3魚種とも、最大硬直時に魚体は水平状態に硬化(完全硬直)して硬直指数は100%を示し、硬直指数の測定によって魚体の硬直開始時期や硬直の進行状態を判定し得ることを確認した。
- 2) 3魚種ともATP量の減少に伴って硬直が進行し、ATPがほぼ消失する時点で完全硬直に達した。なお、ATP量はCr-Pがほぼ $5 \mu \text{mol/g}$ に減少したのち低下し始めた。
- 3) 3魚種ともATPの分解および乳酸の蓄積量に対応してpHの低下が認められ、完全硬直時にはほぼ乳酸量は最大値を、pHは最低値を示した。
- 4) ハマチはマダイ、ヒラメに比べて硬直の進行が速やかであり、ATPの総分解量が多く、その分解速度も速いなど、回遊魚と底棲魚筋肉の死後の化学的変化には大きな違いがあることが明らかにされた。

第Ⅲ章 死後硬直の進行と筋肉の化学的变化におよぼす貯蔵温度の影響

前章でハマチ、マダイ、ヒラメの0℃貯蔵における死後硬直の進行と、それに伴う筋肉の化学的变化について検討し、R値、ATP量、Cr-P量、乳酸蓄積量、pHなどの変化が相互に連動しており、死後硬直に至る過程は、畜肉の場合(Bate-Smith & Bendall, 1956)とほぼ同じ傾向を示すことを確認した。これら死後変化におよぼす温度の影響については、第Ⅰ章で述べたように哺乳動物筋肉では低温短縮現象が認められており、その機構が解明されつつある。

魚類の死後硬直と温度の関係についての研究は極めて少ないが、コイ(野口, 1957; 斉藤と新井, 1957a, b)、シイラ、イサキ(山本と野口, 1964)は低温ほど死後硬直の開始が遅延し、トラブグ、キジハタ、ネコザメ(山本と野口, 1964)、ハマチ(山本(巖)ら, 1964, 1966)、マダイ(本田ら, 1971, 1972)では0℃のような低温より5~20℃の方が、また、ティラピア(Poulterら, 1981)も氷蔵より22℃の方が死後硬直の開始が遅延するなど魚種によって異なった結果が報告されており、その原因も明らかでない。そこで、本章ではハマチ、マダイ、ヒラメおよびその他二・三の魚種の死後硬直の進行と、筋肉の化学的变化におよぼす貯蔵温度の影響について検討した。

第1節 ハマチ、マダイ、ヒラメの0℃と10℃貯蔵における死後変化

本節ではまずハマチ、マダイ、ヒラメを10℃に貯蔵して前章と同様な方法で死後硬直の進行状態を追跡し、0℃での結果と比較検討した。

試料および方法

試料 天然ハマチ2尾(A試料: 体長34cm, 体重0.6kg B試料: 36cm, 0.6kg)、天然マダイ(34cm, 1.0kg)、天然ヒラメ(54cm, 2.1kg)各1尾を前章と同様に処理して10℃に調整した恒温水槽に浸漬して貯蔵した。なお、各魚種とも前章の0℃貯蔵実験と並行して行ったが、ハマチについてはさらに1尾(A'試料: 38cm, 0.8kg)を0℃貯蔵実験に供した。

ATP関連化合物・クレアチンリン酸・乳酸の定量 前章と同様に過塩素酸抽出液を試料として定量した。

硬直指数の測定 前章と同様に尾藤ら(1983a)の方法で測定した。

結果および考察

ハマチ 図6にハマチA、B両試料のATP、Cr-P、乳酸およびR値の死後変化をまとめて示した。なお、A試料に対応する0℃区のデータは上記A'試料の測定結果である。また、B試料

に対応する0℃区のデータには前章の結果(便宜上B'試料とする)を用いた。

ATP量は即殺直後7.4~8.3μmol/gと試料間にはほとんど差がなく、ATP関連化合物総量の80~85%を占めていた。その後、ATP量は0℃区では4時間後から急速に減少し、A'試料は11時間後に、B'試料は9時間後に1μmol/g以下になった。10℃区でも4時間後からATP量が減少し始めているが、その速度は0℃区より緩慢で、A試料は24時間後でも2.2μmol/gを維持し、B試料は18時間後に1μmol/g以下となった。したがって、0℃および10℃両区のATP消失までに要する時間は約2倍以上の差がある。

即殺直後のCr-P量は、10℃区のA試料で14.2μmol/gと高い値を示したが、その他の試料は8~9μmol/gであった。その後、0℃区でCr-P量が7~9時間後に消失したのに対して、10℃区ではA試料で24時間以降、B試料では15時間後に消失しており、ATPと同様に10℃区のCr-Pの消長に要する時間は0℃区の約2倍であった。

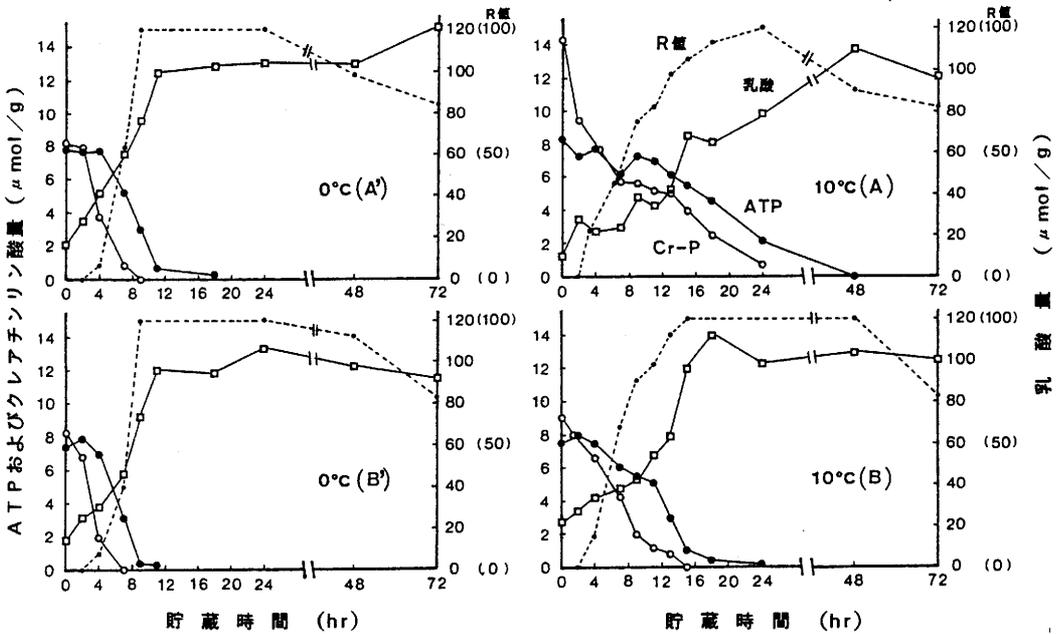


図6. ハマチの0℃と10℃における死後硬直の進行に伴う ATP、クレアチンリン酸および乳酸量の変化

乳酸の蓄積量は、即殺直後11~22μmol/gで前章のマダイの場合に比べて低い値であったが、その後はATPの減少に対応して増大し、0℃区では11時間後、10℃区ではA試料は24時間後以降に、B試料は18時間後にそれぞれ最大値に達した。

死後硬直は0℃、10℃区とも2時間以降から始まり、その後の進行は0℃区の方が速やかで9時間後に完全硬直状態になったが、これはATPの消失時点に一致する。10℃区は、初期の進行

表2. ハマチ、マダイ、ヒラメの0℃および10℃貯蔵における
K値の変化

貯 蔵 時間	ハ マ チ *				マ ダイ		ヒ ラ メ	
	0℃(A')	0℃(B')	10℃(A)	10℃(B)	0℃	10℃	0℃	10℃
24 hr	8.1	8.7	4.1	7.2	0.5	0.9	4.0	3.4
48	13.4	14.4	21.9	29.7	0.7	3.0	4.5	7.6
72	19.2	18.9	29.1	40.0	2.9	6.8	8.8	17.6

* ハマチのみ4尾(A, B, A', B')を供試した。

は0℃区の場合と同様に比較的速やかで、A試料は9時間後、B試料では7時間後にR値は60%に上昇した。その後は進行がやや緩慢となりA試料は24時間後、B試料は15時間後に完全硬直状態になった。

なお、鮮度指標とされるK値は、表2に示すように0℃区が24時間後に約8%、48時間後13~14%、72時間後約19%であった。他方、10℃区は24時間後では4~7%と0℃区とほぼ同じ値であったが、その後は48時間後22~30%、72時間後30~40%と0℃区の約2倍の値で推移した。また、72時間後ではいずれも内臓が分解して腐敗臭を発生し、肉の軟化も顕著になった。

マダイ 図7に0℃と10℃における死後変化をまとめて示した。即殺直後のATP量は3.2~3.3 μ mol/gで両区に特に大きな差はなく、ATP関連化合物総量の40~49%と半量以下であった。その後、0℃区では経時的に減少して16時間後に1 μ mol/g以下となった。10℃区では20時間後まで当初の値を維持したが、以後減少し始めて48時間後には1 μ mol/g以下となった。したがって、両区のATP消失までの時間には約32時間の開きがあり、10℃区の方が0℃区の約3倍となった。

乳酸の蓄積量は、即殺直後22~25 μ mol/gで両区に大差は認められなかった。0℃では8時間後まで乳酸蓄積量はほとんど変化せず、その後急上昇して16時間後にほぼ最大値(55 μ mol/g)に達した。他方、10℃区では38時間後でも30 μ mol/gと非常に緩慢な上昇を示したが、以後急上昇して48時間後にほぼ最大値(54 μ mol/g)に達した。

死後硬直は0℃区が4時間以降からATP量の減少によく対応して進行し、16時間後ATPが1 μ mol/g以下になったとき完全硬直状態となった。10℃区は8時間以降から硬直し始めたが、当初のATP量が低水準であるにもかかわらずその後の進行は緩慢で、38時間後でもR値は35%であった。しかし、38時間以降から速やかに上昇し、48時間後に完全硬直に達した。なお、この時点でATP量も1 μ mol/g以下であった。K値は0℃区が24時間後0.5、48時間後0.7、72時間後2.9%であり、同じく10℃区は0.9、3.0、6.8%で推移しておりその上昇は非常に緩慢であった(表2)。

ヒラメ 図8に死後のATP、Cr-P、乳酸量の消長をまとめて示した。ATP量は即殺直後0℃区で6.4 μ mol/g、10℃区では5.6 μ mol/gと、それぞれATP関連化合物総量の87.6%、83.9%

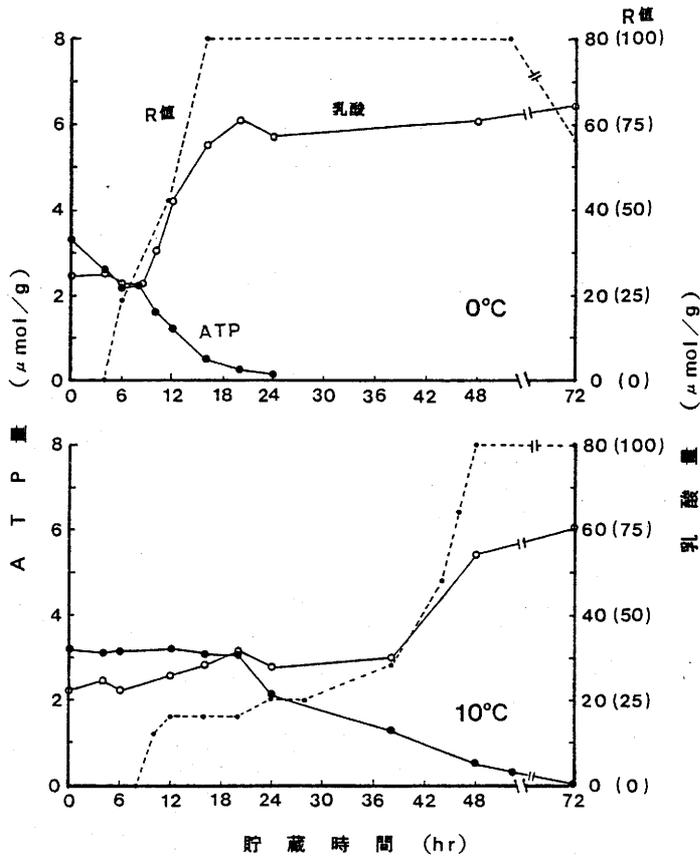


図7. マダイの0°Cと10°Cにおける死後硬直の進行に伴う
ATPおよび乳酸量の変化

を占め高い水準にあった。0°C区は15時間後まで当初の水準を維持していたが、その後減少し始めて30時間後には $1\mu\text{mol/g}$ 以下になった。一方、10°C区では0°C区の2倍に当たる30時間後まで当初の水準を維持したのち減少し始めて、54時間後には $1\mu\text{mol/g}$ 以下になった。

Cr-Pは即殺直後0°C区で $22.9\mu\text{mol/g}$ 、10°C区で $19.2\mu\text{mol/g}$ と、いずれも高い値を示した。その後両区とも経時的に減少したが、0°C区では21時間後に $1\mu\text{mol/g}$ 以下になったのに対して、10°C区では0°C区と同じ量まで減少するのに約2倍の時間を要し、36時間後にはじめて $1\mu\text{mol/g}$ 以下となった。また、図から明らかなようにCr-P量がATP量より高い値を維持している間はATP量がほとんど変化していない。さらに両区のATP減少開始時点の差および表3に示すCr-Pの減少速度の差はいずれも約2倍であり、即殺直後のATP量の維持期間がCr-Pの減少速度に依存していることが伺われる。

即殺直後の乳酸蓄積量は0°C区で $7.7\mu\text{mol/g}$ 、10°C区で $10.2\mu\text{mol/g}$ と、いずれの貯蔵区でも低い値であった。その後、0°C区は21時間後まで、10°C区は33~36時間後まで比較的緩慢に上昇し

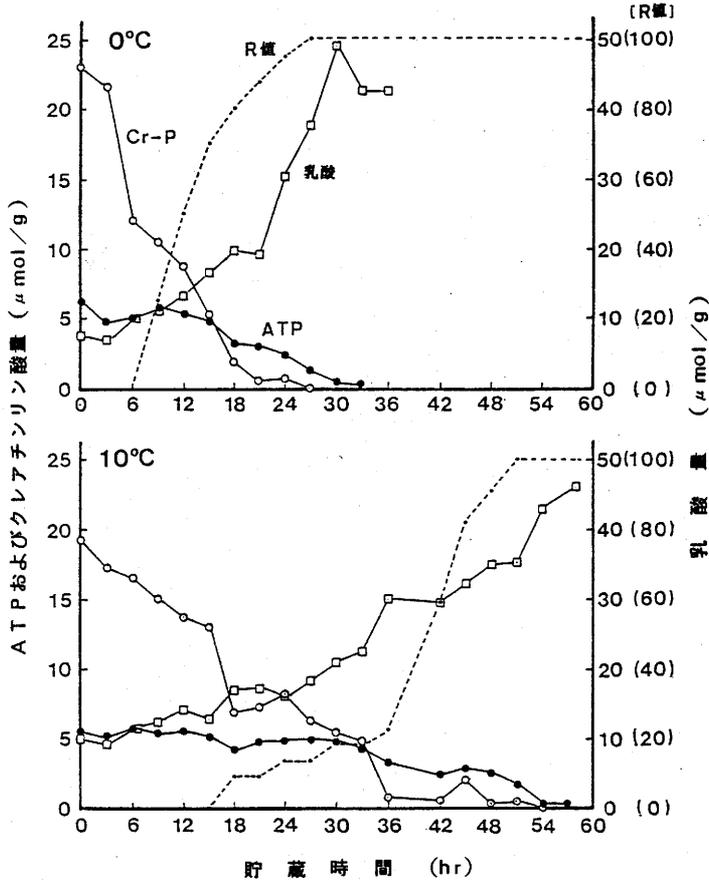


図8. ヒラメの0°Cと10°Cにおける死後硬直の進行に伴う
ATP、クレアチンリン酸および乳酸量の変化

たが、Cr-P量の低下によりATPが減少し始めた時点から速やかに上昇し、0°C区では30時間後に $49\mu\text{mol/g}$ 、10°C区では約2倍の58時間後に $50\mu\text{mol/g}$ と、それぞれほぼ最大値に達した。なお、表3に示すように乳酸の蓄積速度は0°C区では第一段階(0~21時間)で $0.6\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ 、第二段階(21~30時間)では $3.2\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ と算定され、第二段階の蓄積速度は第一段階に比べて約5倍に加速した。一方、10°C区の蓄積速度は第一段階で $0.5\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ 、第二段階では第一段階の約2倍に当たる $1.0\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ であった。したがって、両区の乳酸の蓄積速度は第一段階ではほぼ同じであるが、第二段階では0°C区の方が約3倍速くなる。また、上記2段階におけるCr-Pの分解と解糖に伴うATP再生速度は、0°C区では第一段階で $2.0\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ 、第二段階で $4.8\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ 、10°C区ではそれぞれ $1.2\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ 、 $1.5\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$ と算定される。したがって、0°C区のATP再生速度は10°C区に比べて2~3倍速いが、両段階の総ATP再生量は0°C区と10°C区で大差がなく、 $42\sim 43\mu\text{mol/g}$ であった(表3)。

死後硬直は0°C区では6時間目以降から始まり、27時間後には完全硬直状態となった。10°C区

表3. ヒラメの0℃および10℃貯蔵における
ATPの再生速度と再生量

貯蔵温度 (℃)	死後経過 時間	ATP再生速度($\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$)		総ATP再生量 ($\mu\text{mol/g}$)
		Cr-P	解糖系	
0	0~21 hr	1.1	0.9(0.6)*	42.0
	21~30	0.0	4.8(3.2)	43.2
10	0~36	0.5	0.7(0.5)	43.2
	36~64	0.0	1.5(1.0)	42.0

* 乳酸の蓄積速度($\mu\text{mol/g}\cdot\text{hr}$).

は0℃区より9時間遅れて15時間目以降から硬直し始めたが、36時間までの進行は非常に緩慢でR値の上昇は23%に過ぎなかった。しかし、その後はATP量の低下に対応して硬直の進行速度が加速され、51時間後には完全硬直に達した。

K値は0℃区では24時間後で4.0%、48時間後で4.5%、72時間後で8.8%を示し、10℃区では同じく3.4、7.6、17.6%と、マダイと同様低い値で推移した(表2)。

なお、0℃区の試料は72時間後でも硬直状態にあり生食も可能であったが、10℃区のものにはすでに解硬が始まっており、鮮度低下が顕著であった。

ハマチ、マダイ、ヒラメ3魚種の死後変化の比較 以上3魚種の死後硬直の開始・完全硬直到達時間、ATPとCr-Pの消失時間および乳酸の最大蓄積量到達時間を表4に、また、死後のATP分解・再生量の推定値を魚種別、貯蔵温度別に表5にまとめて示す。

表4から明らかのように、3魚種とも0℃より10℃に貯蔵した方がATPの消失時間は約2~3倍遅延した。したがって、完全硬直到達時間も10℃区が約2~3倍遅延している。さらに、完全硬直およびATP消失と前後して乳酸も最大量に達し、またCr-PはATPに先立って消失しており、硬直の進行と筋肉の化学的变化との間には関連性が認められる。硬直の開始時期は3魚種の間で差があり、両貯蔵区ともハマチで最も早くヒラメで最も遅い。また、ハマチの硬直開始時期は0℃区と10℃区で差がなかったが、マダイやヒラメでは0℃区より10℃区の方が4~9時間遅れて硬直を開始している。このような死後硬直の開始および完全硬直到達時間の魚種や貯蔵温度による相違は、ATPの分解速度に起因するものと推察されるが、その速度が何故異なるのかについては不明である。

なお、死後におけるATPの総分解量(消失量)は魚種によって異なることを前章で認めたが、表5に示すように3魚種とも貯蔵温度による差はほとんど認められなかった。また、鮮度判定指標とされるK値は表2に示すように、24時間後までは3魚種とも0℃区と10℃区ではほとんど差はなかったが、48~72時間では10℃区の方が約2倍高い値で推移した。また、10℃区のマダイ、ヒラメは72時間後でもK値は20%以下の低い値を示したが、いずれも魚体が軟化し、内臓の分解による

表4. ハマチ、マダイ、ヒラメの0℃と10℃貯蔵における
死後硬直の進行と化学的变化の関係

貯蔵温度	硬直開始～完全 硬直到達時間	A T P 消失時間 (1 μ mol/g以下)	乳酸最大量 到達時間	Cr-P 消失時間 (1 μ mol/g以下)
ハマチ				
0℃ (A')	2 ~ 9 hr	11 hr	11 hr(99.4) *	7 hr
0℃ (B')	2 ~ 9	9	11 (96.3)	7
10℃ (A)	2 ~24	24 <	24 < (78.7)	24
10℃ (B)	2 ~15	18	18 (111.2)	13
マダイ				
0℃	4 ~16	16	16 (55.0)	—
10℃	8 ~48	48	48 (54.3)	—
ヒラメ				
0℃	6 ~27	30	30 (49.0)	21
10℃	15 ~51	54	58 (46.2)	36

* 乳酸量(μ mol/g)。

表5. ハマチ、マダイ、ヒラメの0℃と10℃貯蔵におけるA T Pの分解と再生

貯蔵温度	乳酸量(μ mol/g)			A T P 分解・再生量(μ mol/g)			
	致死時 (A)	最大値 (B)	死後生成量 (B-A)	解糖系 (C)	Cr-P (D)	致死時 (E)	総量 (C+D+E)
ハマチ							
0℃ (A')	16.9	106.2	89.3	134.0	8.2	7.9(81) *	150.1
0℃ (B')	14.1	97.3	83.2	124.8	8.2	7.4(80)	140.4
10℃ (A)	11.5	103.5	92.0	138.0	14.2	8.3(84)	160.5
10℃ (B)	22.2	103.1	80.9	121.4	9.1	7.5(85)	138.0
マダイ							
0℃	24.8	59.6	34.8	52.2	—	3.3(49)	(55.5)
10℃	22.5	56.0	33.5	50.2	—	3.2(40)	(53.4)
ヒラメ							
0℃	7.7	43.2	35.5	53.3	23.0	6.4(88)	82.7
10℃	10.2	46.2	36.0	54.0	19.2	5.6(84)	78.8

* A T P 関連化合物中のA T Pの比率(%)。

異臭が認められるなど、官能的には鮮度低下が顕著であった。したがって、I M Pの分解は進行しなくても、10℃の温度域に長時間放置すると変敗が進む危険性があるものと考えられた。

第2節 ヒラメの種々の貯蔵温度における死後変化

前節でハマチ、マダイ、ヒラメの0℃と10℃貯蔵における死後変化を比較検討した結果、0℃より10℃に貯蔵した方がATPの減少が緩慢に進行して死後硬直も遅延することを認めた。そこで、前節の実験で貯蔵温度による差異が最も顕著に認められたヒラメを試料として、0℃～20℃の温度域に5区分の貯蔵温度を設定し、硬直の進行およびそれに伴う筋肉の化学的变化におよぼす貯蔵温度の影響を、より詳細に検討した。

試料および方法

試料 天然ヒラメ(体長37～43cm, 体重0.8～1.1kg) 5尾を水槽中で充分休養させたのち、前章と同様に即殺してポリエチレン袋に入れ、0℃、5℃、10℃、15℃、20℃に調整した恒温水槽中に各1尾ずつ浸漬して貯蔵した。

ATP関連化合物・乳酸の定量 上記5試験区の魚体から一定時間毎に背部の普通肉を採取し、前章と同様に過塩素酸抽出液を試料として定量した。

硬直指数の測定 前章と同様の方法で測定した。

結果および考察

死後硬直の進行 図9に各貯蔵温度における死後硬直の進行状態をR値で示した。この図から明かなように、0℃区で硬直の進行が最も速やかであり、3時間後から硬直し始め15時間後には完全硬直状態になった。次いで20℃区で死後硬直の進行が速く、6時間後から硬直を開始し、18時間後には完全硬直となった。10℃および15℃区も20℃区と同様に6時間以降から硬直を開始したが、18時間までの進行は比較的緩慢でR値は40%以下であった。その後両区とも進行が速やかになり、28時間後には完全硬直に達した。これに対して5℃区では12時間後まで硬直は観察されず、21時間後でもR値は20%程度であったが、その後硬直が急速に進行し、10℃、15℃区と同様に28時間後には完全硬直となった。

完全硬直の持続時間は最も温度が高い20℃区が最短で、完全硬直に達した後6時間すなわち死後24時間後には解硬し始め、内臓の分解による異臭を発した。一方、低温の0℃と5℃区では死後72時間後でも完全硬直を維持したが、10℃区で48時間以降、15℃区では32時間以降から解硬し始めた。

ATP関連化合物 図10に各貯蔵温度におけるATP関連化合物の消長をR値の変化と対比させて示した。即殺直後のATP量は4.3～5.1μmol/gで各貯蔵温度試料間に大差はなく、ATP関連化合物の組成比率はATPが58～68%、ADP 20～23%、AMP 12～19%でイノシン酸(IMP)やイノシン(HxR)およびヒポキサンチン(Hx)は痕跡程度であった。その後の推移は図に示すように、0℃区ではATP量は経時的に減少して15時間後に1μmol/g以下となり、この時点でR値も100%

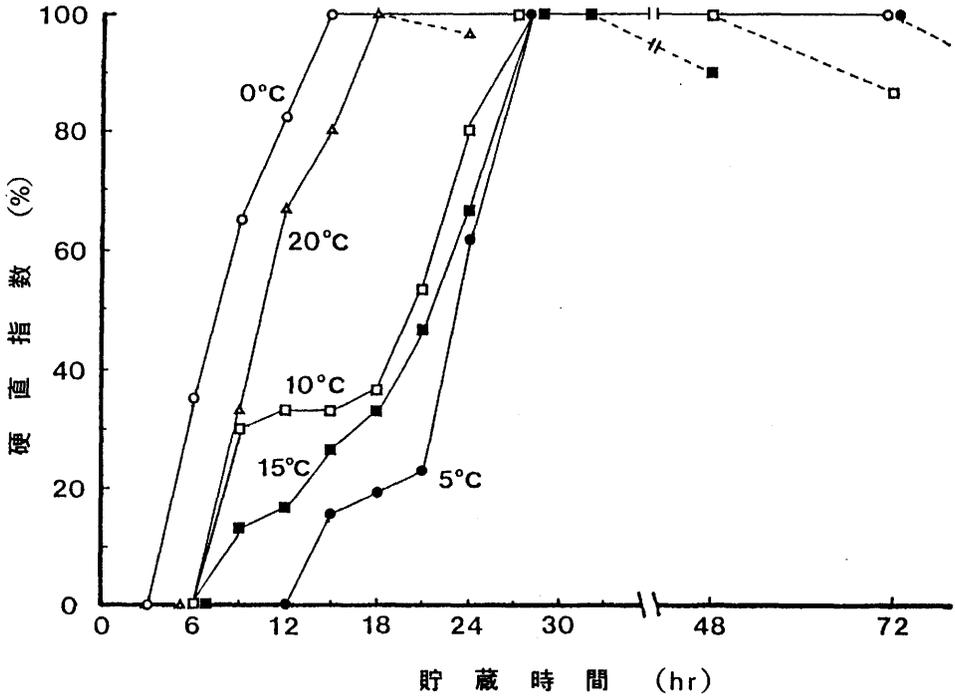


図9. ヒラメの種々の温度における硬直指数の変化

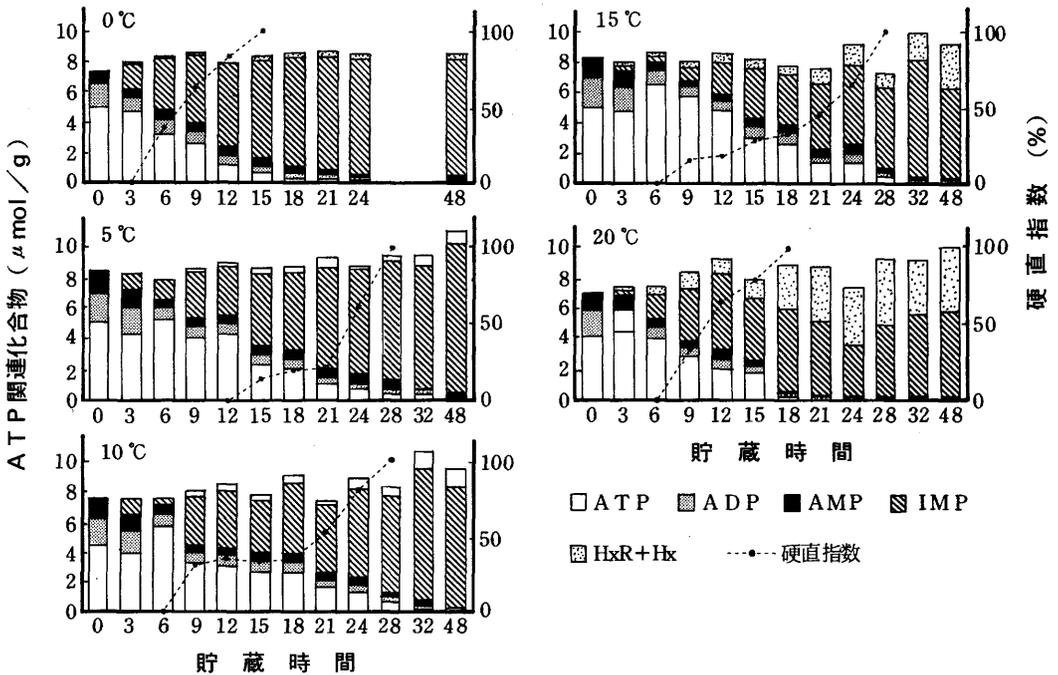


図10. ヒラメの死後硬直の進行とATP関連化合物の消長

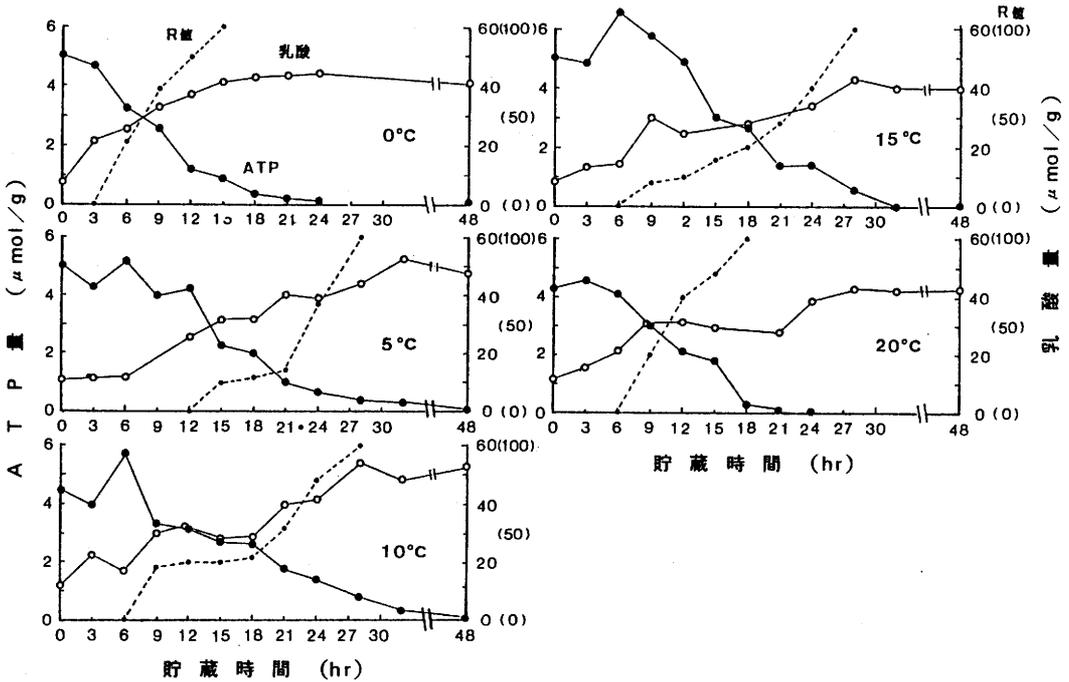


図11. ヒラメの種々の温度における死後硬直の進行に伴う
乳酸およびATP量の変化

に達した。5°C区のATPは12時間後まで当初の含量を維持したが、その後減少し始めて24時間後に $1\mu\text{mol/g}$ 以下になった。R値の変化はATPの消長とよく対応し、ATP量が減少し始めた時点で硬直が開始し、ATP量が $1\mu\text{mol/g}$ 以下に低下した28時間後に完全硬直状態になった。このようなATPの消長と硬直の進行の関連性は10~20°C区でも同様に認められた。また、5°C区を除いて、いずれもATPが $3\mu\text{mol/g}$ 前後の時点でR値は概ね30%を示しており、ATPが $3\mu\text{mol/g}$ 前後に低下する時点が硬直の初期と推察された(表6)。

なお、イノシン酸以降の分解は貯蔵温度が高いほど速やかで、15°Cや20°C区ではイノシン酸の生成と分解が同時に進行し、0~10°Cの低温区に比べてイノシン酸の蓄積量が少なかった。

乳酸の蓄積 図11に乳酸量の変化をATP量およびR値の推移と対比して示した。即殺直後の乳酸量は $8.0\sim 12.1\mu\text{mol/g}$ で各貯蔵温度試料間に大差はなかったが、その後はATP量の変化と非常によく対応して推移した。すなわち、ATP量の減少に伴って乳酸量が増大し、ATP量が $1\mu\text{mol/g}$ 以下に低下して完全硬直に達した時点でほぼ最大量($41\sim 54\mu\text{mol/g}$)を示した。また、この図および表6から明らかなように、5°C区を除いてATPが $3\mu\text{mol/g}$ 前後の時点で乳酸量は概ね $30\mu\text{mol/g}$ を示した。

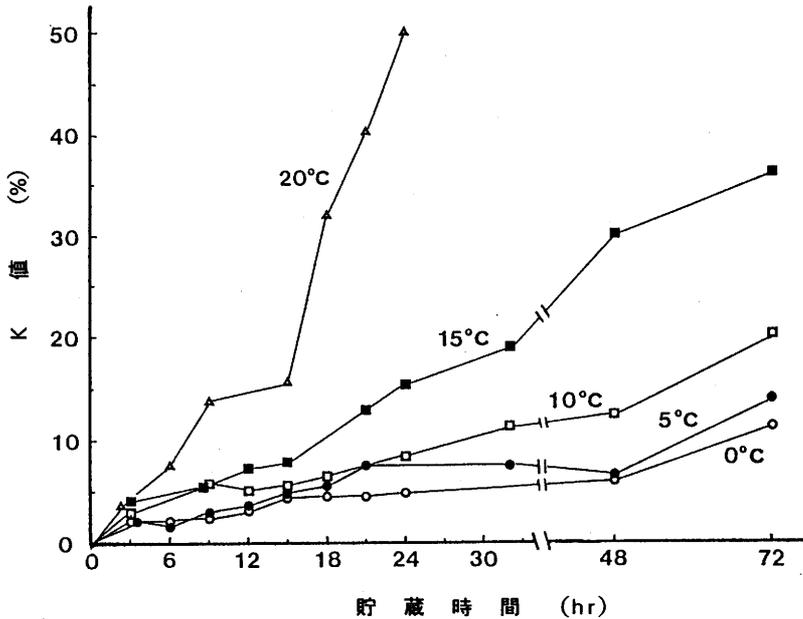


図12. ヒラメの種々の温度におけるK値の変化

表6. ヒラメの種々の貯蔵温度における死後硬直の進行と化学的変化の関係

貯蔵温度 (°C)	硬直開始～完全 硬直到達時間	ATP消失 時間	乳酸最大量 到達時間	ATP約3 $\mu\text{mol/g}$ 時点の指標数値			
				ATP	乳酸	R 値	時間
0	3～15 hr	15 hr	15 hr (41.3)*	3.3	25.5	35.3 %	6 hr
5	12～28	24	28 (44.2)	2.2	31.1	15.4	15
10	6～28	28	28 (53.9)	3.3	29.9	30.3	9
15	6～28	28	28 (42.8)	2.7	28.1	33.3	18
20	6～18	18	28 (42.9)	3.0	30.9	33.3	9

* 乳酸量 ($\mu\text{mol/g}$)。

K値の変化 図12に示すようにK値は0°Cと5°C区が最も低い水準で推移し、48時間後でも6%前後の値を維持した。10°C区では24時間後に8.4%、48時間後12.4%と緩慢に上昇し、48時間後までは官能的に生食が可能であった。15°C区では24時間後は15.4%とK値はまだ低い値を示したが、48時間後には30.3%とほぼ倍増した。さらに、20°C区は24時間後には50.1%に上昇し、異臭を発生するなど官能的にも鮮度低下が顕著であった。

以上の実験から、0°Cおよび20°Cより5～15°Cに貯蔵した方が、ATPの減少が緩慢で死後硬

直も遅延することが認められ、前節の0℃と10℃貯蔵における実験とほぼ同じ結果を得た。しかし、イノシン酸の分解は貯蔵温度が高くなるほど速やかで、15℃や20℃区では24時間以上の生鮮度維持は難しいことが明らかとなった。したがって、活けしめ流通における温度管理としては、死後硬直の遅延を計る目的で0℃よりも5～10℃に保持するのが適当と考えられた。他方、一旦完全硬直に達したのちは、解硬を避けるために0℃に下げて貯蔵することが最良と認められた。

表7. ヒラメの種々の貯蔵温度におけるATPの分解と再生

貯蔵温度 (℃)	乳酸量($\mu\text{mol/g}$)			ATP分解・再生量($\mu\text{mol/g}$)		
	致死時 (A)	最大値 (B)	死後生成量 (B-A)	解糖系 (C)	致死時 (D)	合計 (C+D)
0	8.0	42.6	34.6	51.9	5.1(68)*	57.0
5	10.8	48.2	37.4	56.1	5.0(59)	61.1
10	12.1	51.8	39.7	59.6	4.5(58)	64.1
15	8.4	40.9	32.5	48.8	5.0(60)	53.8
20	11.6	42.6	31.0	46.5	4.3(59)	50.8

* ATP関連化合物中のATPの比率(%)。

死後硬直の進行と筋肉の化学的変化との関係については、すでに述べたように5℃区を除いて、概ねATPが $3\mu\text{mol/g}$ のときR値は30%で、乳酸が $30\mu\text{mol/g}$ という関係が認められた(表6)。このような関係が全ての魚種について当てはまるか否かは明らかでないが、ATPの減少と乳酸の蓄積および硬直の進行が相互に連動していることを示すもので、いずれの貯蔵温度においても前章で示したようにCr-Pなどから補給が絶たれ、ATPが当初の量を維持できなくなった時点から硬直し始めるものと推察される。また、表7に示すように各貯蔵温度区の試料魚の致死時のATP量や、解糖によるATP再生量にはほとんど差がないにもかかわらず、0℃より5～15℃の方が硬直の進行が遅いということは、0℃のような低温ではATPの分解を促進する何らかの機構が存在することを示唆している。

第3節 その他魚種の0℃および10℃貯蔵における死後変化

前節までに活けしめ流通の代表的魚種であるハマチ、マダイ、ヒラメの死後硬直と貯蔵温度との関係を検討した結果、いずれも0℃より10℃に貯蔵した方で硬直の遅延することが明らかにされた。また、ハマチはマダイ、ヒラメに比べて硬直の進行が速いなど、ATPの代謝速度や硬直遅延の程度は魚種によって差があり、死後の変化に魚種特異性が認められた。

そこで、本節ではさらにイシダイとマゴチについて0℃と10℃貯蔵における死後変化を比較検討した。

試料および方法

試料 マゴチ *Platycephalus indicus* (体長50cm, 体重1.2kg) 2尾、インダイ *Oplegnathus fasciatus* (29cm, 0.8kg ; 37cm, 1.5kg) 2尾を水槽中で充分休養させたのち、前章と同様に処理してポリエチレン袋に入れ、0°Cと10°Cに調整した恒温水槽中に各1尾ずつ浸漬して貯蔵した。

ATP関連化合物・乳酸の定量 一定時間毎に背部の普通肉を採取し、前章と同様に過塩素酸抽出液を試料として定量した。

硬直指数の測定 前章と同様の方法で測定した。

結果および考察

マゴチ 図13にATP、乳酸およびR値の死後変化をまとめて示した。即殺直後のATP量は0°C区で7.2 μ mol/g、10°C区で7.1 μ mol/gと大差なく、それぞれATP関連化合物総量の79%、69%を占めていた。その後0°C区のATP量は経時的に減少し、24時間後には1 μ mol/g以下になった。他方10°C区の方は20時間後まで当初の値5~7 μ mol/gを維持したが、以後減少し始めて48時間後に初めて1 μ mol/g以下になった。したがって、10°C区でATP量が1 μ mol/g以下に減少するのに要した時間は、0°C区のはほぼ2倍となる。

乳酸の蓄積量は即殺直後0°C区で4.8 μ mol/g、10°C区で5.6 μ mol/gと両試料とも低水準であった。その後乳酸蓄積量は0°C区では20時間後まで、10°C区では28時間後まで緩慢に上昇していたが、以後蓄積速度は増大し、0°C区では28時間後に37.5 μ mol/g、10°C区では48時間後に57.2 μ mol/gとほぼ最大値に達した。

死後硬直の進行についてみると、0°C区ではATP量の低下に伴い10時間後から硬直し始め、20時間後には完全硬直状態となった。他方10°C

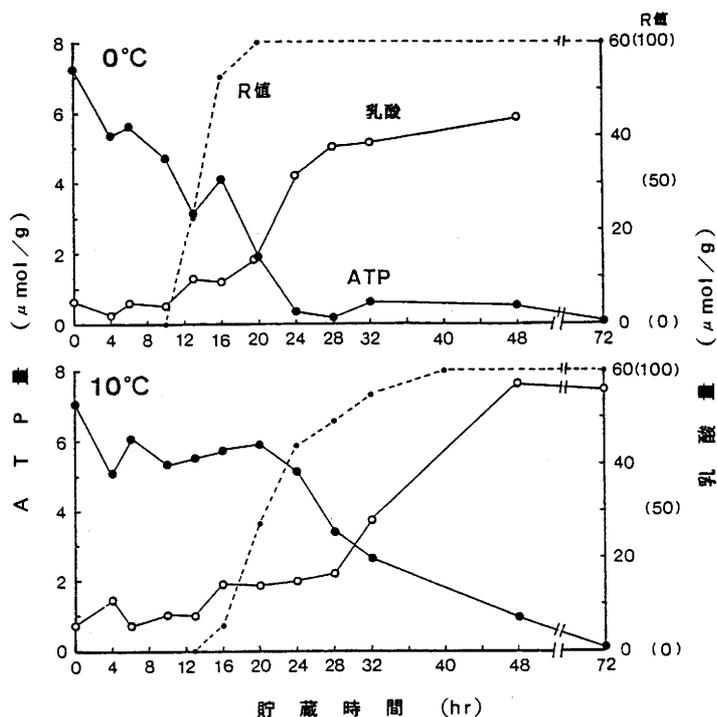


図13. マゴチの0°Cと10°Cにおける死後硬直の進行に伴うATPおよび乳酸量の変化

区では、ATPは当初の量5~7 $\mu\text{mol/g}$ をほぼ20時間維持したが、13時間以降からすでに硬直し始め、40時間後に完全硬直に達した。したがって、完全硬直到達時間においてもATPの消失と同じく、10°C区の方が0°C区より2倍遅延したことになる。しかし、図示するように両区ともATPの消失以前に完全硬直に達し、さらに完全硬直時点の乳酸化も比較的に低値で、ハマチ、マダイおよびヒラメとは異なる死後変化を示すことが注目された。

表8. マゴチ、イシダイの0°Cおよび10°C貯蔵におけるK値の変化

貯 蔵 時間	マゴチ		イシダイ	
	0°C	10°C	0°C	10°C
24 hr	2.2	1.6	4.7	10.4
48	3.2	7.0	9.8	26.4
72	9.2	20.3	11.5	44.9
96	13.0	28.8	18.1	50.6
120	16.8	45.6	19.6	65.7

ATP関連化合物の測定値からK値を計算すると、0°C区では24時間後2.2%、48時間後3.2%、72時間後9.2%であった。他方、10°C区では同じ時点で1.6%、7.0%、20.3%で、24時間以降は10°C区の方が0°C区より約2倍高い値で推移した(表8)。しかし、マゴチの10°C区試料魚は、マダイ、ヒラメの10°C区試料魚と異なり、72時間後でも感覚的に抵抗なく生食することができた。また、両区とも120時間後でもR値は100%を維持し、鮮度低下の進行も官能的評価ではさほど顕著でなかった。

イシダイ 図14にATP、乳酸およびR値の死後変化をまとめて示した。ATP量は即殺直後0°C区が5.4 $\mu\text{mol/g}$ 、10°C区が5.8 $\mu\text{mol/g}$ で、それぞれATP関連化合物総量の68%、75%を占めていた。その後ATP量は両区ともほぼ経時的に減少したが、0°C区で16時間後に1 $\mu\text{mol/g}$ 以下になったのに対して、10°C区では24~48時間後に1 $\mu\text{mol/g}$ 以下となり、その減少速度は0°C区の方が速やかであった。

乳酸の蓄積量は即殺直後0°C区で8.0 $\mu\text{mol/g}$ 、10°C区で8.8 $\mu\text{mol/g}$ と測定されたが、その後ATP量の減少に対応して増加し、それぞれ20時間後、24~48時間に最大値に達した。しかし、その蓄積量は両区とも30 $\mu\text{mol/g}$ 前後であり、今までの実験試料魚の最大蓄積量に比べて低い値であった。

死後硬直は0°C区では即殺直後から、10°C区では4時間以降から始まり、それぞれ13時間後、20時間後には完全硬直状態になった。また、上記のマゴチと同様にATPの消失および乳酸の最大値到達以前に完全硬直に達した。なお、10°C区は96時間後には解硬状態にあったが、0°C区の方は120時間後でもR値は100%を維持していた。

K値は0℃区が24時間後4.7%、48時間後9.8%、72時間後11.5%、10℃区は同じ時点でそれぞれ10.4%、26.4%、44.9%と算定され、マダイ、ヒラメに比べて高い値で推移した(表8)。しかし、上記のマゴチと同様に両貯蔵区とも72時間後でも生食が可能であった。

以上のように、マゴチ、イシダイにおいてもハマチ、マダイ、ヒラメと同じように0℃よりも10℃に貯蔵した方がATP量の減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延する現象が認められた。硬直の進行と筋肉の化学的変化との関係も表9に示すように、ATPの消失時間と完全硬直到達する時間は、両魚種とも0℃に比べて10℃の方は約2倍遅延しており、ハマチ、マダイ、ヒラメと同じ傾向を示した。また、

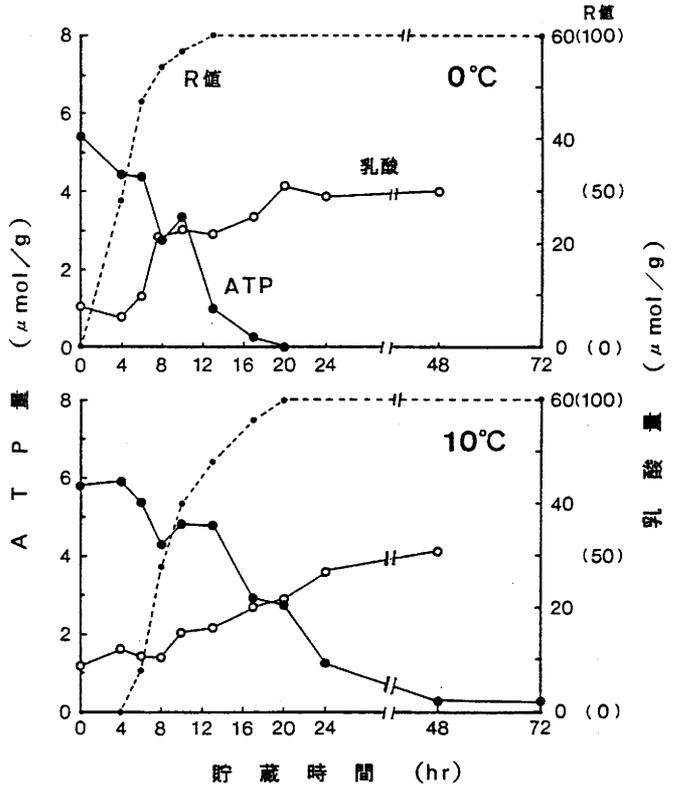


図14. イシダイの0℃と10℃における死後硬直の進行に伴うATPおよび乳酸量の変化

表9. マゴチ、イシダイの0℃と10℃貯蔵における死後硬直の進行と化学的変化の関係

貯蔵温度	硬直開始～完全硬直到達時間	ATP消失時間	乳酸最大量到達時間
マゴチ 0℃	10～20 hr	24 hr	28 hr (37.5)*
10℃	13～40	48	48 (57.2)
イシダイ 0℃	0～13	17	20 (31.2)
10℃	4～20	24 <	24 < (26.6)

* 乳酸量(μmol/g)。

表10. マゴチ、イシダイの0℃と10℃貯蔵における
ATPの分解と再生

貯蔵温度	乳酸量($\mu\text{mol/g}$)			ATP分解・再生量($\mu\text{mol/g}$)		
	致死時	最大値	死後生成量	解糖系	致死時	合計
	(A)	(B)	(B-A)	(C)	(D)	(C+D)
マゴチ 0℃	4.8	40.0	35.2	52.8	7.2(72)*	60.0
	10℃	5.6	56.6	51.0	76.5	7.1(69)
イシダイ 0℃	8.0	29.7	21.7	32.6	5.4(68)	38.0
	10℃	8.8	30.1	21.3	32.0	5.8(75)

* ATP関連化合物中のATPの比率(%)。

表10に示すように解糖によるATP再生量は、マゴチでは貯蔵温度によって多少差があったが、イシダイでは貯蔵温度による差は認められなかった。

要 約

- 1) ハマチ、マダイ、ヒラメ、マゴチ、イシダイの0℃と10℃における死後変化を比較検討した結果、即殺直後のATP量やその後のATP再生量にほとんど差がないにもかかわらず、いずれも0℃より10℃に貯蔵した方が、ATPの消失時間および完全硬直到達時間が約2倍に延長された。
- 2) 10℃貯蔵における死後硬直の開始～完全硬直到達時間はハマチで2～24、マダイで8～48、ヒラメで15～51、マゴチで13～40、イシダイで4～20と、ハマチやイシダイに比べてヒラメ、マダイ、マゴチは硬直の進行が緩慢であった。
- 3) 乳酸の最大蓄積量は貯蔵温度による差はなく、ハマチで100 $\mu\text{mol/g}$ 前後、マダイで55 $\mu\text{mol/g}$ 、ヒラメおよびマゴチで40～50 $\mu\text{mol/g}$ 、イシダイ30 $\mu\text{mol/g}$ と、魚種特異性が認められた。
- 4) ヒラメの0、5、10、15、20℃における死後変化を調べた結果、死後硬直は0℃で最も速やかに進行して15時間後、次いで20℃が18時間後にそれぞれ完全硬直に達した。5～15℃では0℃、20℃に比べてATP量の減少が緩慢で、いずれも28時間後に完全硬直状態になった。なお、5℃に貯蔵した試料を除いて概ねATPが3 $\mu\text{mol/g}$ の時点でR値30%、乳酸が30 $\mu\text{mol/g}$ という関係が認められ、ATP量が3 $\mu\text{mol/g}$ 前後に低下した時点が硬直の初期と推察された。
- 5) ヒラメを0～20℃に貯蔵した場合、イノシン酸の分解は貯蔵温度が高くなるほど速やかで、15℃や20℃では貯蔵中にK値が急上昇して鮮度低下が顕著となり、24時間以上の品質維持は困難であった。したがって、活けしめ魚の温度管理としては5～10℃が適当であり、また、生鮮度維持の観点から完全硬直到達した後は、速やかに温度を0℃に下げて貯蔵する必要があることが明らかにされた。

第Ⅳ章 死後硬直の進行における天然魚と養殖魚の差異

一般に養殖魚は天然魚に比べて食味、食感が劣るといわれている。養殖魚と天然魚の筋肉成分を比較すると、ブリ(志水ら,1973)、マダイ(鴻巣と渡辺,1976)、ヒラメ(佐藤ら,1986)ではタンパク質量に差はないが、脂肪量には顕著な差があり養殖魚の方に多いことが明らかにされている。また、畑江ら(1988)はハマチ、マダイ、ヒラメの物性は、パネルテストによる主観的評価および計測による客観的評価のいずれでも、養殖魚と天然魚の間に有意な差があり、天然魚の方の肉質が硬いと評価することができ、生肉ではヒラメで養殖魚と天然魚の差が最も小さいと報告している。以上の知見は脂肪太りで、肉が軟弱であるという養殖魚の一般的特徴を肯定するものであり、その原因の究明や肉質の改善が研究課題となっている。

一方、養殖魚と天然魚の死後変化の相違については、マダイで養殖魚の方がやや鮮度低下の速いことが指摘されている(黒川,1977; 畑江ら,1984)以外に、詳細な検討はなされていない。養殖魚は活魚または活けしめ状態で流通する割合が天然魚より高く、その死後硬直の進行状態は品質評価に当たって重要な指標とされている。そこで、本章ではマダイ、ヒラメの死後硬直の進行における養殖魚と天然魚の差異を比較検討した。

第1節 マダイ

前章で天然のマダイは0℃よりも10℃に貯蔵した方が、ATPの減少が緩慢に進行して、死後硬直も遅延することを明らかにした。マダイはハマチに次いで養殖生産量が多い魚種で、活けしめ流通に占める割合も非常に高い。そこで、本節では、まず養殖したマダイの死後硬直の進行と、それに伴う筋肉の化学的变化を天然魚と比較した。

試料および方法

試料 養殖マダイ(体長32~36cm,体重0.9~1.2kg)2尾を水槽中で充分休養させたのち、前章と同様に即殺して、0℃と10℃に調整した恒温水槽中に各1尾ずつ浸漬して貯蔵した。

ATP関連化合物・乳酸の定量 一定時間毎に背部の普通肉を採取し、前章と同様に過塩素酸抽出液を試料として定量した。

硬直指数の測定 前章と同様の方法で測定した。

結果および考察

図15にR値の変化を、また表11に死後硬直の進行と化学的变化の関係を、それぞれ前章の天然マダイの実験結果と対比させて示した。

養殖魚は0℃区で4時間後、10℃区では8時間後から硬直し始め、それぞれ10時間後、24時間

後に完全硬直状態となった。また、両貯蔵区とも完全硬直時に ATP 量は $1 \mu\text{mol/g}$ 以下となり、乳酸もほぼ最大量に達した(表11)。養殖魚と天然魚の硬直の開始時期は両貯蔵区とも同じであったが、完全硬直に達した時間は 0°C 区で 6 時間、 10°C 区では 24 時間の差が認められ、養殖魚の方で硬直の進行が速やかであった。

表12に示すように、即殺直後の ATP 量は養殖魚と天然魚で差はなかった。また、乳酸量は即殺直後では養殖魚の方が約 $10 \mu\text{mol/g}$ 高い値を示したが、最大蓄積量の方は養殖魚で $60 \sim 63 \mu\text{mol/g}$ 、天然魚で $56 \sim 60 \mu\text{mol/g}$ とさほど差がなかった。したがって、死後の乳酸生成量すなわち解糖による ATP 再生量は天然魚の方がやや高い値を示した。

表11. 天然および養殖マダイの 0°C と 10°C 貯蔵における
死後硬直の進行と化学的变化の関係

貯蔵温度	硬直開始～完全 硬直到達時間	ATP 消失時間 ($1 \mu\text{mol/g}$ 以下)	乳酸最大量 到達時間
養殖マダイ 0°C	4~10 hr	10 hr	10 hr (63.9)*
10°C	8~24	24	24 (62.2)
天然マダイ 0°C	4~16	16	16 (55.0)
10°C	8~48	48	48 (54.3)

* 乳酸量 ($\mu\text{mol/g}$)。

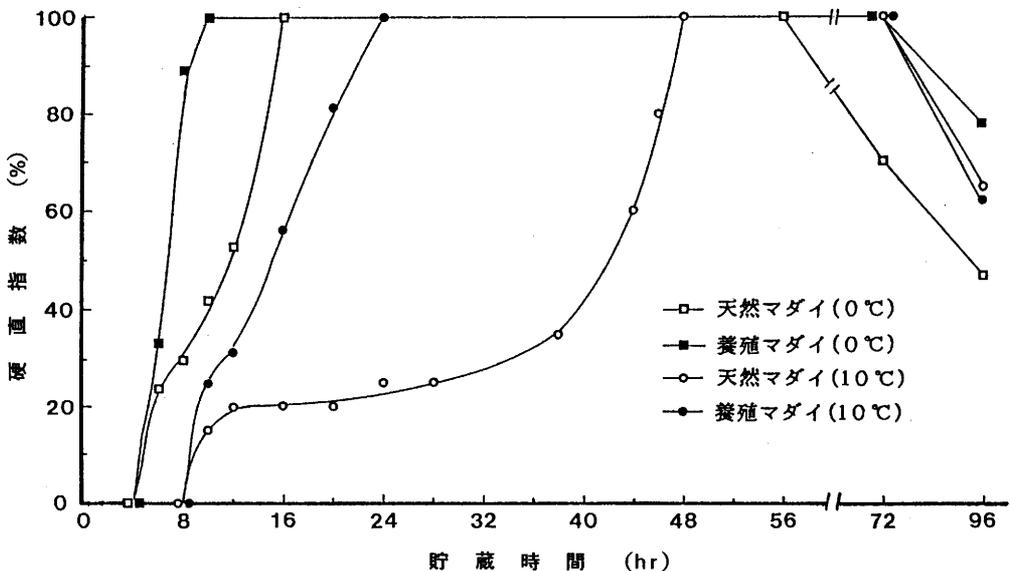


図15. 養殖および天然マダイの 0°C と 10°C における硬直指数の変化

表12. 天然および養殖マダイの0℃と10℃貯蔵における
ATPの分解と再生

貯蔵温度	乳酸量($\mu\text{mol/g}$)			ATP分解・再生量($\mu\text{mol/g}$)		
	致死時 (A)	最大量 (B)	死後生成量 (B-A)	解糖系 (C)	致死時 (D)	総量 (C+D)
養殖マダイ 0℃	35.5	63.1	27.6	41.4	3.4(45)*	44.8
10℃	33.6	60.7	27.1	40.7	3.6(51)	44.3
天然マダイ 0℃	24.8	59.6	34.8	52.2	3.3(49)	55.5
10℃	22.5	56.0	33.5	50.2	3.2(40)	53.4

* ATP関連化合物中のATPの比率(%)。

鮮度指標とされるK値の変化は、図16に示すように48時間後までは両貯蔵区で養殖魚、天然魚とも5%以下の低い値で推移した。その後、0℃貯蔵区は96時間後でも天然魚で4.7%、養殖魚でも5.7%とK値の上昇は非常に緩慢であった。一方10℃区は、96時間後には天然魚で11.0%、養殖魚では15.1%と、0℃区に比べてK値の上昇は2~3倍速くなった。

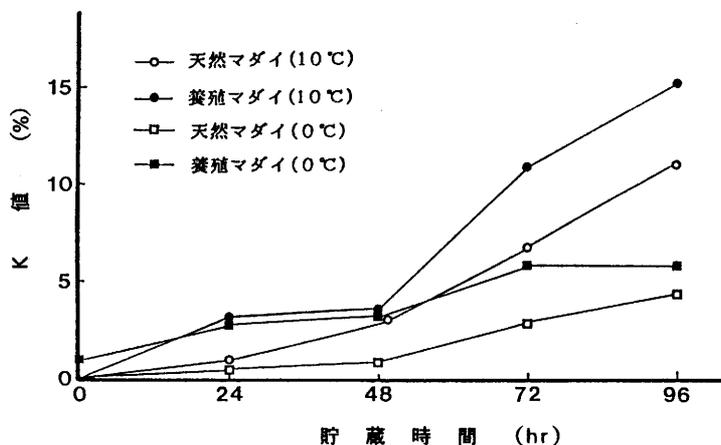


図16. 養殖および天然マダイの0℃と10℃におけるK値の変化

以上の実験で養殖魚でも天然魚と同様に、0℃より10℃に貯蔵した方がATP量の減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間は約2倍程度遅延することが認められた。しかし、養殖魚と天然魚の硬直の進行速度には顕著な差があり、天然魚は養殖魚に比べて0℃区で1.6倍、10℃区では2倍程度遅れて完全硬直に達した。また、K値は両貯蔵区で、養殖魚より天然魚の方が低い値で推移する傾向が認められ、黒川(1977)や堀江ら(1984)が指摘したように、鮮度低下は養殖魚がやや速いと考えられる。なお、マダイでは天然魚、養殖魚とも即殺直後のATP量はATP関連化合物の組成比で40~51%と、ヒラメ、ハマチなど他試料魚に比べて低い値を示した。しかし、黒川(1977)もマダイで同様な測定値を報告しており、マダイは他魚種に比べて致死時のATPの消耗が激しいのかもしれない。

第2節 ヒ ラ メ

前節でマダイの養殖魚および天然魚の硬直の進行状態を比較した結果、両者に顕著な差があり、硬直の進行速度は養殖魚の方が速いことを認めた。本節では、天然魚を試料としたこれまでの実験で、最も硬直の進行が緩慢であったヒラメについて、養殖魚と天然魚の死後変化を比較検討した。なお、併せて即殺魚と苦悶死魚の死後変化の差異についても検討した。

試料および方法

試料 天然ヒラメ(体長41~43cm, 体重1.2~1.7kg) 3尾、養殖ヒラメ(体長40~42cm, 体重1.0~1.6kg) 3尾を水槽中で充分休養させたのち、天然および養殖魚各2尾を前章と同様に即殺してポリエチレン袋に入れ、0℃と10℃に調整した恒温水槽中に各1尾ずつ浸漬して貯蔵し、即殺区試料とした。また、残りの養殖および天然魚各1尾は水槽から取り出して、20Vの電気刺激を間欠的に与えて苦悶死させ、10℃で貯蔵した。なお、苦悶死区のうち天然魚の方は、完全硬直に達した時点で0℃貯蔵に切り替えた。

ATP関連化合物・乳酸の定量 一定時間毎に背部の普通肉を採取し、前章と同様に過塩素酸抽出液を試料として定量した。

硬直指数の測定 前章と同様の方法で測定した。

結果および考察

各試験区試料魚の死後硬直の進行と化学的变化の関係を、それぞれ図17、表13に示した。死後硬直の進行は、10℃に貯蔵した苦悶死区が最も速やかで、養殖魚、天然魚ともに2時間後から硬直し始め、8時間後には完全硬直状態となった。次いで、0℃に貯蔵した即殺区が3時間後から硬直を開始したが、養殖魚、天然魚ともR値の変化にはほとんど差がなく、いずれも21時間後に完全硬直に達した。一方、10℃に貯蔵した即殺区の硬直の開始は最も遅く、養殖魚、天然魚とも6時間後からであった。その後の硬直の進行も緩慢で、R値は24時間後でも50%前後であった。24時間以降は天然魚の硬直の進行が速やかになり、32時間後に完全硬直に達したが、その時点で養殖魚のR値はまだ69%であった。

硬直の進行と化学的变化の関係については、表13に示すように即殺区の10℃貯蔵では養殖魚、天然魚とも完全硬直時にはほぼATPが消失し、乳酸は最大量に達した。しかし、苦悶死区および即殺区の0℃貯蔵では完全硬直に達する2~6時間前にATPが消失すると共に乳酸も最大量を示し、硬直の進行と化学的变化の間に多少のずれが認められた。

死直後のATP量は表14に示すように、即殺区は試料間に差がなく6.1~7.0 $\mu\text{mol/g}$ で、ATP関連化合物の組成比率でも75~77%と高い値であった。一方、苦悶死区の死直後のATP量は1.1~1.4 $\mu\text{mol/g}$ で、2試料魚とも消失寸前の低い値を示した。また、死直後の乳酸蓄積量は即殺区で

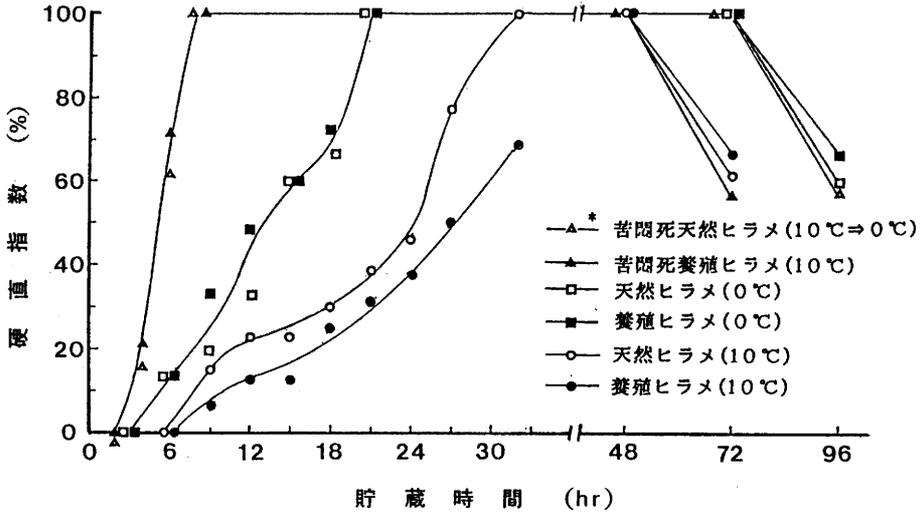


図17. 養殖および天然ヒラメの0℃と10℃における硬直指数の変化
 * 苦悶死天然ヒラメは10℃に放置し、完全硬直に達した時点で0℃貯蔵に切り替えた。

表13. 天然および養殖ヒラメま0℃と10℃貯蔵における
 死後硬直の進行と化学的変化の関係

貯蔵温度	硬直開始～完全 硬直到達時間	A T P 消失時間 ($1 \mu \text{mol/g}$ 以下)	乳酸最大量 到達時間
即殺区：			
養殖ヒラメ 0℃	3～21 hr	18 hr	15 hr (34.1) [*]
10℃	6～32 <	32 <	32 < (30.4)
天然ヒラメ 0℃	3～21	15	15 (34.3)
10℃	6～32	32	32 (33.2)
苦悶死区：			
養殖ヒラメ 10℃	2～8	2	6 (38.6)
天然ヒラメ 10℃	2～8	4	6 (43.2)

* 乳酸量($\mu \text{mol/g}$)。

6.3～9.1 $\mu \text{mol/g}$ 、苦悶死区では20～23 $\mu \text{mol/g}$ と両区に顕著な差が認められ、苦悶死区は最大量の約50%に当たる量をすでに蓄積していた。

K値の変化は、図18に示すように貯蔵温度によって差異が認められたが、養殖魚と天然魚ではほとんど差がなかった。すなわち、0℃貯蔵の養殖魚および天然魚のK値は24時間後で2.2～2.5%、

表14. 天然および養殖ヒラメの0℃と10℃貯蔵における
ATPの分解と再生

貯蔵温度	乳酸量($\mu\text{mol/g}$)			ATP分解・再生量($\mu\text{mol/g}$)			
	致死時	最大値	死後生成量	解糖系	Cr-P	致死時	総量
	(A)	(B)	(B-A)	(C)	(D)	(E)	(C+D+E)
即殺区:							
養殖ヒラメ 0℃	6.3	38.0	31.7	47.6	4.2	6.7(76)*	58.5
10℃	9.1	40.9	31.8	47.7	2.6	6.1(75)	56.4
天然ヒラメ 0℃	8.0	34.6	26.6	39.9	3.7	7.0(78)	50.6
10℃	8.7	35.4	26.7	40.1	3.4	6.5(77)	50.0
苦悶死区:							
養殖ヒラメ 0℃	20.4	37.7	17.3	25.9	0.0	1.4(20)	27.3
天然ヒラメ10℃	22.5	38.7	16.2	24.0	0.0	1.1(14)	25.1

* ATP関連化合物中のATPの比率(%)。

48時間後で4.3~5.6%、72時間後で7.0~7.5%であった。一方、10℃貯蔵の即殺区および苦悶死区のK値は24時間後で6.4~7.8%、48時間後で11.1~12.1%、72時間後で20.2~22.1%であり、K値の上昇速度は0℃貯蔵の約3倍であった。なお、8時間後に完全硬直に達した苦悶死区試料魚のうち、天然魚の方を死後10時間経過時に10℃から0℃貯蔵に切り替えたが、その天然魚のK値は48時間後まで6.1%と低い値を維持していた。しかし、その後は0℃に貯蔵した即殺区試料魚に比べてK値の上昇が速やかになった。

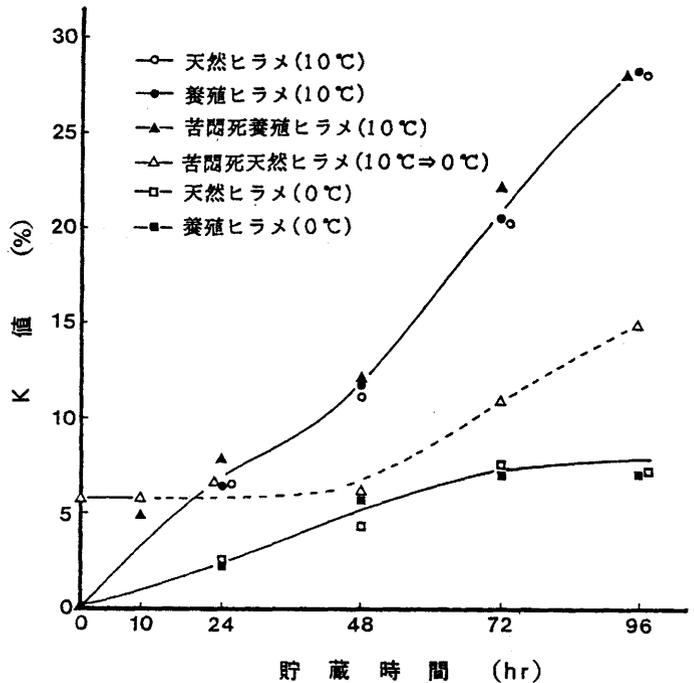


図18. 養殖および天然ヒラメの0℃と10℃におけるK値の変化

以上の実験から、前節の養殖マダイと同様に即殺した養殖ヒラメでは、0℃よりも10℃に貯蔵した方がATPの減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間も遅延することが明らかになった。また、前節のマダイで

は養殖魚と天然魚の硬直の進行速度に顕著な差が認められたが、ヒラメでは両者の間にほとんど差異はなかった。さらに、K値の変化もマダイでは天然魚の方が養殖魚より低い値で推移したが、ヒラメでは0℃および10℃貯蔵とも養殖魚と天然魚の間にほとんど差が認められなかつた。したがって、ヒラメでは養殖魚と天然魚の死後変化には差異がないと考えられる。

苦悶死させたヒラメは、死直後すでにATP量は $1\mu\text{mol/g}$ 前後に低下し、乳酸量も最大量蓄積量の50%に達しており、死後のATP分解・再生総量は即殺区の約1/2であった(表14)。しかし、これら化学的変化からみて、硬直の進行の方はやや緩慢であった。また、苦悶死区のうち10℃に貯蔵した養殖魚は、同じ10℃に貯蔵した即殺区試料魚とK値の変化にほとんど差が認められなかつた。したがって、上岡ら(1969)や山田ら(1983)がハマチで指摘したように、ヒラメでも致死条件は硬直後の変化には影響しないと考えられる。

要 約

- 1) マダイおよびヒラメの死後変化における養殖魚と天然魚の差異を検討した結果、養殖魚でも天然魚と同様に0℃より10℃に貯蔵した方が、ATP量の減少が緩慢で死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延した。
- 2) マダイでは養殖魚と天然魚の硬直の進行速度に顕著な差が認められ、天然魚の方が0℃貯蔵で1.6倍、10℃貯蔵では2倍程度遅れて完全硬直に達した。しかし、ヒラメでは養殖魚と天然魚でそのような差はみられなかつた。
- 3) K値の変化は、マダイでは0℃および10℃貯蔵とも天然魚の方が養殖魚より低い値で推移したが、ヒラメでは両貯蔵区で天然魚と養殖魚の間に差は認められなかつた。
- 4) 苦悶死ヒラメは、即殺ヒラメに比べて硬直の進行は著しく速やかであったが、貯蔵温度やK値の上昇速度ではほとんど差は認められなかつた。

第V章 ATPの分解・再生に関する諸酵素 活性の温度依存性

筋肉中のATPは種々のエネルギー代謝系に関与し、したがってATPの分解や再生に関連する酵素は多岐にわたる。主要な酵素系に絞ってみても、まずATPの再生系では解糖系の諸酵素が挙げられる。この反応系は死後酸素供給が停止する筋肉中においては特に重要で、グルコース1モルから2モルの乳酸が生成する過程において、ATPは2モル産生され、グリコーゲンが加リン酸分解した場合は、乳酸2モルの生成に対してATPは3モル産生される(Lehninger, 1982)。しかし、この系に関与する酵素は数が多く、また基質および生成物阻害などを受けるアロステリック酵素が関与しており、その酵素化学的な解析は容易ではない(Lehninger, 1982)。これに優るとも劣らず、ATPの死後の再生に関与する重要な酵素としてクレアチン・キナーゼがある。この酵素は第III章で既に述べたように、とくに死後の初期においてCr-Pからクレアチンへの反応を触媒することによって、高エネルギーリン酸基をADPに付与する。したがってCr-Pが存在する間は、ATPの減少は見かけ上認められない。

ATPの分解系についてみると、筋肉中においては特に筋原線維のATPase活性による反応が大きな比重を占めると考えられる。このATPase活性は Ca^{2+} や Mg^{2+} など種々の金属イオンおよびpHなどによって影響を受けるが、生体内においては一定の Mg^{2+} 濃度下で、 Ca^{2+} 濃度の増減によって活性は著しく変化する。これは筋原線維中に Ca^{2+} 結合タンパク質トロポニンが存在し、これが Mg^{2+} -ATPase活性を制御するからである(Ebashi & Endo, 1968; 山本と丸山, 1986)。このほか筋肉中には種々のATPaseが存在するが、濃度的にみて筋小胞体およびミトコンドリアが主要なものとなろう。

したがって、本章ではATPの再生系に関与する酵素としてクレアチン・キナーゼを、また分解系に関与する酵素として筋原線維ATPaseのほか、筋小胞体、ミトコンドリアなど筋原線維以外のATPaseで、 Mg^{2+} 存在下で活性を示す酵素を一括して筋形質ATPaseとし、これら諸酵素活性の温度依存性を調べ、死後硬直の温度依存機構につき、タンパク質分子レベルからの解明を試みた。

第1節 クレアチン・キナーゼ

クレアチン・キナーゼ(EC2.7.3.2)は全筋形質タンパク質の10~20%を占め、魚類筋肉のエネルギー代謝に重要な役割を果たすとされている(Nakagawaら, 1988a, b)。現在までギンブナ、マダイ、マサバなどから高純度に単離され、分子量などの物理化学的性状さらには至適pHやクレアチンリン酸、ADP濃度の影響など、種々の酵素化学的性状が調べられ、哺乳類のクレアチン・キナーゼと特に大きくは異なることが知られている(劉, 1979; 中川ら, 1987)。本節では、クレアチン・

キナーゼを含む筋形質タンパク質画分につき、ヒラメおよびマダイを対象にその活性の温度依存性およびpH依存性につき検討を加えた。

試料および方法

試料の調製 天然ヒラメ(体重0.8~1.4kg)および天然マダイ(体重0.6~1.0kg)の活魚を入手し、断頭後、直ちに背側普通筋を採肉して筋形質タンパク質画分を調製した。筋形質タンパク質は、Kielly & Meyerhof(1948)の方法を改変したYamanaka & Mackie(1971)の方法に準じて調製した。すなわち、8倍量の氷冷水を加えた荒びき肉をPolytron PT20S型ホモジナイザーで磨砕し、2,500×gで20分間遠心分離した。この上清を25mMKClを含む39mMホウ酸塩緩衝液(pH7.1)に対して充分に透析し、クレアチン・キナーゼ活性測定用試料とした。

タンパク質濃度の測定 ビュウレット法(Gornallら,1949)に濁度の補正を加えた梅本(1966)の改良ビュウレット法により、牛血清アルブミンを標準タンパク質に用いて測定した。

クレアチン・キナーゼ活性の測定 クレアチン・キナーゼ活性の測定に当たっては、15mM $MgSO_4$ 、4mM Cr-P、2mM ADP、0.5M imidazole-HCl(pH6~7)からなる溶液中、0~25°Cで1~5分間反応を行った。反応終了後、生成されたクレアチン量をジアセチル存在下 α -ナフトールを用いて発色させ540nmで比色定量した(Ennor & Stocken,1948)。

結果および考察

ヒラメ筋肉のクレアチン・キナーゼ活性を、粗抽出液を用いて種々のpH下、反応温度を変えて測定したところ、図19に示す結果を得た。この図にみるように反応溶液pH6.1、6.2および7.0のいずれの条件下においても、ヒラメのクレアチン・キナーゼ活性は、測定温度の低下に伴い、急激に減少した。すなわち、25°Cでは30~40 μ molクレアチン/min·mg、10°Cでは約20 μ molクレアチン/min·mgの活性が得られたが、0°Cでは10 μ molクレアチン/min·mg以下の値を示した。なお、同一温度下においては、測定pH中、7.0の場合で最も活性の低い傾向が認められた。

次にマダイのクレアチン・キナーゼ活性は、図20に示すように、抽出液での活性という条件付きながらヒラメの活性よりは相対的に低い値を示した。すなわち0°C付近のマダイの活性はpHの如何にかかわらず1~2 μ molクレアチン/min·mgであったが、反応温度の上昇に伴い、活性は徐々に増大し、10°Cでは2~3 μ molクレアチン/min·mgと測定された。さらに、10~20°Cにかけて温度の上昇に伴い活性は急激に上昇し、20~25°Cでのクレアチン・キナーゼ活性は6~10 μ molクレアチン/min·mgと測定された。なお、マダイの場合はpH6.0~6.9において、測定温度にかかわらずpH6.0で最小活性を示す傾向にあった。関連して、劉(1979)および中川ら(1987)はギンブナ、マダイ、マサバ、コイなどの精製クレアチン・キナーゼ活性のpH依存性を検討し、pH6~8で最大活性を示すことを報告している。

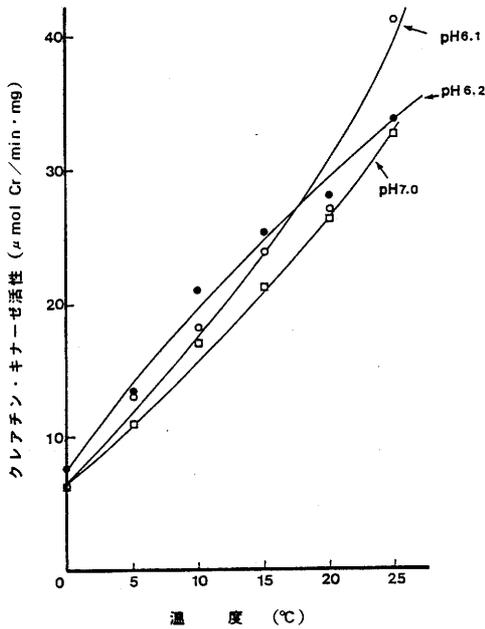


図19. ヒラメのクレアチン・キナーゼ活性と
反応温度およびpHの関係

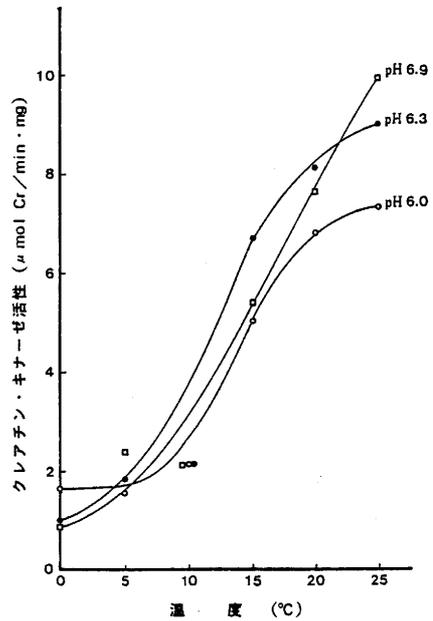


図20. マダイのクレアチン・キナーゼ活性と
反応温度およびpHの関係

ヒラメおよびマダイのクレアチン・キナーゼ活性の温度依存性およびpH依存性に関する上記の諸結果は、これら魚種の筋肉pH範囲内において、温度が低ければ低いほどクレアチン・キナーゼ活性は小さくなることを示している。したがって、前章までに明らかにされた魚類筋肉中のATP消費が、10°Cより0°Cで促進される現象は、0°Cで特にクレアチン・キナーゼ活性が増大するため、あるいは10°Cでこの活性が阻害されるためではないと考えられた。

第2節 筋原線維ATPase

筋肉の運動は、筋原線維中に存在するミオシンが生理的イオン濃度、 Mg^{2+} 存在下、アクチンによって賦活されるATPの末端リン酸基を加水分解する作用、すなわち筋原線維の Mg^{2+} -ATPase活性によって行われている。このATPase活性は Ca^{2+} 濃度に依存しており、 $10^{-7}M$ 程度の Ca^{2+} 存在下ではほとんど認められず、逆に $10^{-5}M$ 程度では非常に大きくなる。これはいわゆるトロポニンを主体とした制御タンパク質の作用によって調節されていることによる (Ebashi & Endo, 1968)。ATPの分解系においては、特にこの筋原線維ATPaseによる割合が大きいと考えられるので、本節ではこの活性の温度依存性に検討を加えた。

試料および方法

試料の調製 前節と同様の大きさの天然ヒラメおよびマダイ活魚を入手し、断頭後、直ちに背側普通筋を採肉し、筋原線維の調製に供した。

筋原線維の調製は、Perry & Grey(1956)の方法に順じて行った。すなわち、荒びき肉に5倍量の25mM KClを含む39mM ホウ酸塩緩衝液(pH 7.1)を用いて前節と同様にホモジナイズした。200×gで1分間の遠心分離で混在する結合組織を沈殿として除去した後、上清を600×g, 15分間の遠心分離に付し、筋原線維を沈殿として回収した。この操作をさらに2回繰り返した後、最終的に少量の0.1M KClを含む39mMホウ酸塩緩衝液(pH 7.1)を加えて懸濁し、筋原線維試料液とした。なお、タンパク質濃度の測定には前節と同様に改良ビュウレット法を用いた。

ATPase 活性の測定 Mg^{2+} -ATPase活性の測定に当たっては、0～25℃の種々の温度下で、5mM $MgCl_2$, 0.25mM $CaCl_2$, 0.05M KCl, 20mM Tris-maleate緩衝液(pH6-7), 1mg筋原線維/ml, 2mM ATPからなる反応液中、一定時間毎に反応液の一部を採取し、終濃度5%となるようにトリクロル酢酸(TCA)溶液を加えた。TCAによる反応停止液中の無機リン酸量を、Fiske & Subbarow(1925)の方法により比色定量し、その経時的变化をもとにATPase活性を測定した。なお、 Ca^{2+} -ATPase活性測定の場合には、上記反応液中、5mM $MgCl_2$ および0.25mM $CaCl_2$ の代わりに、5mM $CaCl_2$ を用いて同様に求めた。

結果および考察

Mg^{2+} -ATPase 活性 ヒラメ筋肉につき、pH6～7, 0～25℃の種々の温度で Mg^{2+} -ATPase活性を測定した結果を図21に示す。この図から明らかなように、pH6～7の範囲内においてATPase活性はpH6.0でやや低い傾向を示したものの、大きなpH依存性は認められず、反応温度の上昇に伴い活性は著しく増大した。例えば、pH6.9では0℃で $0.006 \mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot \text{mg}$ 筋原線維であるのに対し、10℃では $0.070 \mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot \text{mg}$ と、0℃のときの約10倍の高さに及んだ。

次に、マダイについては図22に示すように、pH7.0でpH6.0やpH6.5のときよりやや高いATPase活性が得られたものの、ヒラメと同様に大きなpH依存性は認められなかった。また、比活性も反応温度の上昇に伴い急激に高まり、0℃では $0.02 \sim 0.04 \mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot \text{mg}$ であったが、10℃では $0.10 \sim 0.14 \mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot \text{mg}$ を示した。なお、マダイの比活性は25℃で $0.25 \sim 0.3 \mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot \text{mg}$ とヒラメの同温度での比活性約 $0.2 \mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot \text{mg}$ よりはやや高かった。

本実験で測定した反応液には0.25mMの Ca^{2+} が存在しており、生筋においてこの濃度ではトロポニンなどの制御タンパク質が収縮抑制を解除し、筋肉は収縮した状態にあることがウサギ骨格筋で明らかにされている(Ebashi & Endo, 1968)。コイ筋肉でもトロポニンの存在が確認されているので(今野と関, 1974, 1975; 関と長谷川, 1978; 下村と関, 1978)、魚類の筋収縮においてもウサギ骨格筋と同様な Ca^{2+} 制御が行われると考えられる。このように、魚類筋肉が死後収縮状態にあると仮

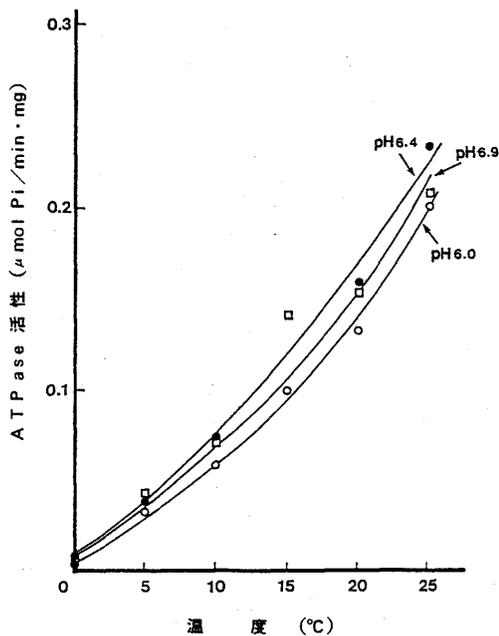


図21. ヒラメの筋原線維 Mg^{2+} -ATPase 活性と反応温度および pH の関係

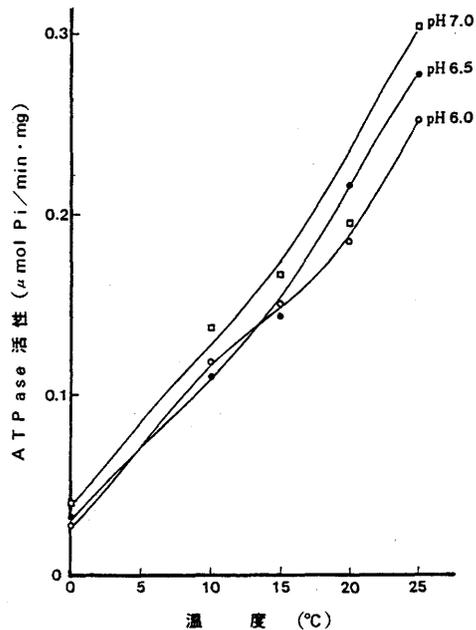


図22. マダイの筋原線維 Mg^{2+} -ATPase 活性と反応温度および pH の関係

定すると、測定温度の低下に伴って Mg^{2+} -ATPase 活性が低下するという本実験結果からは、前節のクレアチン・キナーゼ活性と同様に、0°C で ATP の消費が著しく促進される機構を説明し得ない。

Ca^{2+} -ATPase 活性 5 mM という高濃度の Ca^{2+} 存在状態は筋原線維中ではあり得ない。また、筋原線維の Ca^{2+} -ATPase 活性はミオシンとアクチンの結合すなわち筋収縮とは関連せず、ミオシンの ATPase 活性を示すとみなされている (熊谷, 1959; 阪本と新井, 1979)。本実験では Ca^{2+} -ATPase 活性の温度依存性をマダイについてのみ調べた。その結果、図23に示すようにマダイ筋原線維の Ca^{2+} -ATPase 活性には Mg^{2+} -ATPase 活性の場合と同様に、大きな pH 依存

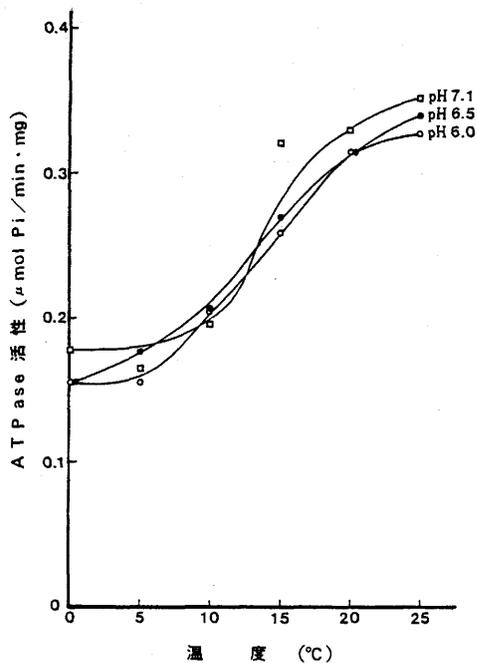


図23. マダイの筋原線維 Ca^{2+} -ATPase 活性と反応温度および pH の関係

性は認められなかった。温度依存性については、 Mg^{2+} -ATPase活性に比較すれば、測定温度の低下に伴う活性の低下はやや緩慢で、とくに0~5°C間では大きな変化は認められなかった。

第3節 筋形質ATPase

前節までに、ATPの再生および消費に重要な役割を果たすと考えられるクレアチン・キナーゼと筋原線維ATPase活性の、pH依存性および温度依存性について検討を加えてきた。その結果、いずれの酵素活性からも魚類筋肉の死後、0°CでATP消費が著しく促進される機構を説明し得ないことが明らかになった。そこで、本節では筋形質のタンパク質画分中に含まれるATPaseの温度依存性を調べることによって、上記死後硬直の温度依存機構の解明を試みた。

試料および方法

試料の調製 天然ヒラメおよび天然マダイは第1節と同じサイズのもの入手し、その背側普通筋を筋形質タンパク質の調製に供した。

筋形質タンパク質の調製にはYamanaka & Mackie(1971)の方法を参照しつつ、第2節の筋原線維の調製に際して得られた600×gで15分間の遠心分離後の上清タンパク質画分を用いた。この上清をさらに5,000×g,10分間の遠心分離に付し、得られた上清を0.1M KClを含む39mMホウ酸塩緩衝液(pH7.1)に対して透折した。なお、タンパク質量は第1節と同様に改良ビュウレット法で測定した。

ATPase活性の測定 筋形質 Mg^{2+} -ATPase活性は、5mM $MgCl_2$,25mMimidazole-HCl(pH5.9-7),1mMATP,1mg筋形質/mlを含む反応液により0~25°Cで測定した。なお、ATPase活性により遊離された無機リン酸量は前節と同様の方法で比色定量した。

結果および考察

ヒラメ筋形質ATPase活性のpHおよび温度依存性について調べた結果を図24に示す。本図からも明らかなように、ヒラメ筋形質ATPase活性は、前節の筋原線維の Mg^{2+} -ATPase活性に比較して著しく低かった。pHの低下および反応温度の低下とともに活性は順次低下したが、特に反応温度のおよぼす影響がより大きかった。すなわち、10°Cでは $0.01\mu\text{mol Pi}/\text{min}\cdot\text{mg}$ 程度と測定されたのに対して0°Cでは $0.001\sim 0.002\mu\text{mol Pi}/\text{min}\cdot\text{mg}$ と1/5以下に低下した。

マダイ筋形質ATPase活性は図25に示すように、0°Cでは $0.002\sim 0.004\mu\text{mol Pi}/\text{min}\cdot\text{mg}$ とヒラメとの間に大きな差は認められなかった。しかしながら、マダイ筋形質ATPaseの温度依存性はヒラメに比べてやや小さいようで、ヒラメの25°Cでの $0.01\sim 0.04\mu\text{mol Pi}/\text{min}\cdot\text{mg}$ に対し、同温度でのマダイの活性は $0.008\mu\text{mol Pi}/\text{min}\cdot\text{mg}$ 程度であった。

上記の諸結果から、筋形質ATPase活性は、ヒラメおよびマダイ双方とも筋原線維 Mg^{2+} -

A T P a s e に比較して比活性が著しく小さく、 $1/10 \sim 1/30$ 程度であること、筋原線維のA T P a s e 活性と同様に測定温度の低下に伴い、活性は順次低下することなどが明らかになった。したがって、魚類筋肉の死後において 0°C でA T P の消費が促進される機構を、この結果から直ちに説明し得ないことは明らかで、これは前節までのクレアチン・キナーゼや筋原線維A T P a s e 活性の場合と同様である。

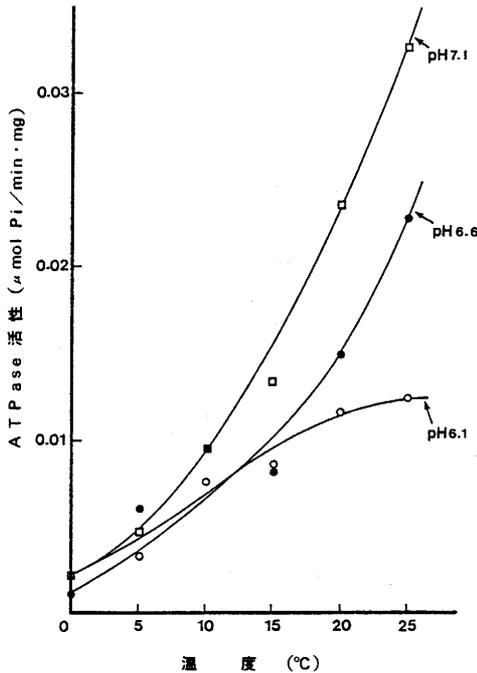


図24. ヒラメの筋形質 Mg^{2+} -A T P a s e 活性と反応温度およびp H の関係

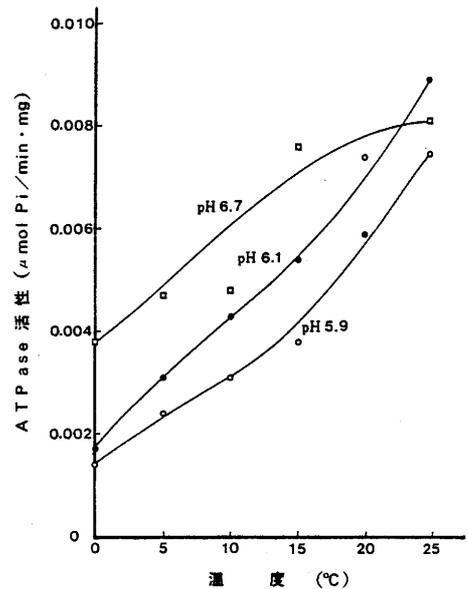


図25. マダイの筋形質 Mg^{2+} -A T P a s e 活性と反応温度およびp H の関係

しかし、本実験に供した筋形質タンパク質はその方法から、筋肉中の Ca 濃度を調節する器官である筋小胞体、さらには Ca^{2+} を多量に取り込んでいるミトコンドリアを含み、また、筋形質A T P a s e は両者の膜A T P a s e を主成分とすることが示唆されている (Martonosi & Feretos, 1964; Whiting, 1980)。すなわち、本節で得られた温度低下に伴う筋形質A T P a s e 活性の低下は、両器官の Ca^{2+} 取りこみ能が低下することを意味する。前節では、魚類の死後の筋肉中に予め多量の Ca^{2+} が放出されているものと仮定したが、 10°C での筋肉中では活けしめの効果によって Ca^{2+} 濃度が低く、筋肉が弛緩状態にあれば、 Mg^{2+} -A T P a s e 活性は低いことも想定される。これに対して 0°C では、弛緩状態にあるこの筋肉の筋原線維中に、筋小胞体およびミトコンドリアから Ca^{2+} が放出され、 Mg^{2+} -A T P a s e 活性が著しく賦活された状態となり得ることが、本節の結果から示唆

されるわけである。

高等脊椎動物でも、低温状態では筋小胞体やミトコンドリアの Ca^{2+} 取り込み能が著しく低下することが認められており(Buege & Marsh, 1975)、畜肉でみられる低温下における硬直の促進機構、いわゆる低温短縮(Locker & Hagyard, 1963; Cassens & Newbold, 1967)の原因と見なされている。

要 約

- 1) ヒラメおよびマダイ筋肉のクレアチン・キナーゼ活性につき、pH 6～7の範囲内で温度依存性を調べたところ、いずれのpHにおいても、温度上昇に伴い活性は順次増大し、 $0^{\circ}C$ における活性は $0^{\circ}C$ のときの2～3倍と測定された。
- 2) ヒラメおよびマダイ筋原線維 Mg^{2+} -ATPase活性の、pHおよび温度依存性を調べたところ、同一温度では測定pHによる差はほとんど認められなかったが、温度の低下に伴う本ATPase活性の低下は急激であった。
- 3) マダイ筋原線維の Ca^{2+} -ATPase活性は、上記 Mg^{2+} -ATPase活性の場合と同様に、pH依存性はほとんど認められず、温度の低下に伴って比活性も低下した。
- 4) したがって、クレアチン・キナーゼや筋原線維ATPase活性の温度依存性からは、 $0^{\circ}C$ でATPの消費が著しく促進される機構を説明し得ないことが明らかとなった。
- 5) ヒラメ筋形質ATPase活性は、筋原線維 Mg^{2+} -ATPaseの1/10～1/30で、pHの低下および反応温度の低下とともに比活性は低下した。
- 6) ヒラメおよびマダイ筋形質ATPase活性は、筋小胞体およびミトコンドリアのCaポンプと共役するATPase活性と考えられることから、魚類筋肉の死後の筋原線維内の Ca^{2+} 濃度が $0^{\circ}C$ で増大し、この Ca^{2+} が筋原線維 Mg^{2+} -ATPase活性を賦活することによって、 $0^{\circ}C$ でのATP消費すなわち死後硬直の進行を促進することが示唆された。

第Ⅶ章 総 括

水産物の生食を習慣とするわが国では、その品質評価に当たって“生き”のよさが重視され、当然活魚が最上位に格付けされる。近年、生かした状態での集荷が困難であった海産魚も、流通方法の改善や養殖漁業の発展に伴って活魚での流通が一般化し、その魚種も多様化しつつある。

一方、養殖海産魚の主産地である西日本地区では、“活けしめ魚”の流通が定着している。活けしめ魚は、即殺することにより死後硬直を遅延させ“生き”の状態すなわち硬直前の状態を維持した魚の通称であり、京阪神地区の卸売市場では活魚とほぼ同格に評価している。この活けしめ魚は、硬直すると商品価値が低下するので流通時間は短い。しかし、硬直を遅延させる条件を魚種毎に明らかにして、その流通性を向上させ得れば、水槽による活魚流通より物流の経済性からみて合理的である。

第Ⅰ章で総述したように、畜肉の死後硬直は、筋収縮のエネルギー源であるATPの消失に伴って、筋肉の伸張性が不可逆的に消失することによって起こる現象であり、硬直の遅延はATPの再生源となるCr-Pやグリコーゲンの量に依存していることが明らかにされている。魚類の死後硬直についても、畜肉と同様な傾向が多くの研究によって認められている。また、死後硬直を遅延させる条件のうち、生理条件としては空腹、疲労の状態がよくないこと、致死条件としては苦悶死したものより安静状態で即死させた方が、エネルギーの消耗が少なく硬直も遅くなることなどがすでに確認されている。一方、死後硬直の進行と貯蔵温度の関係については、哺乳動物では低温短縮現象(cold shortening)が認められ、その温度依存性や種類による特異性が明らかにされて、その機構の解明がなされつつある。魚類の死後硬直の進行にも、温度依存性と魚種特異性が認められ、畜肉の低温短縮現象との関連性が指摘されているが、詳細は不明のままとされてきた。本研究はこのような背景のもとに、魚類の死後硬直における温度依存性と魚種特異性について検討を加え、最適な硬直遅延条件を明らかにし、魚類の生きの保持を図ることを目的として着手した。

魚類の死後変化に関しては多くの報告があるが、それぞれ実験の趣旨や方法が異なり、死後硬直とそれに伴う筋肉の化学的変化との関係を詳細に追跡したものは極めて少ない。また、魚類は哺乳動物に比べて致死時の生理条件を一定にすることが非常に困難なため、実験の再現性に問題があるほか、魚種特異性も著しいことが考えられる。そこで、まず活けしめ流通の代表的魚種であるハマチ、マダイ、ヒラメの天然魚を即殺したのち、0℃に貯蔵してその死後変化を追跡した(第Ⅱ章)。その結果、3魚種ともATP量の減少に伴って硬直が進行し、ATPがほぼ消失する時点で完全硬直に達した。また、Cr-PはATPに先立って減少し、哺乳動物筋肉と同様にCr-Pが死直後のATP補給源となっていることが示唆された。さらに、ATPの分解および乳酸の蓄積量に対応してpHの低下が認められ、完全硬直時に乳酸量はほぼ最大値を、同じくpHは最低値を示した。この実験から、3魚種の死後硬直に至る過程は畜肉の場合と同じ傾向を示すことが確認された。また、ハマチは、マダイ、ヒラメに比べて死後の乳酸蓄積量が多いために、ATPの分解・再生総量も多

いが、ATPの減少速度が速いため硬直の進行も速いなど、その死後変化に顕著な差が認められた。したがって、回遊魚と底棲魚の死後硬直の進行機構には差異があるものと推察された。

次に、死後硬直の進行におよぼす貯蔵温度の影響について検討した(第Ⅲ章)。ハマチ、マダイ、ヒラメ、マゴチ、イシダイの5魚種について、0℃と10℃貯蔵における死後変化を比較した結果、即殺直後のATP量やその後のATP分解・再生量にほとんど差がないにもかかわらず、各魚種とも0℃より10℃に貯蔵した方が、ATPの消失および完全硬直到達時間が約2倍に延長された。また、ヒラメを0～20℃の範囲で種々の温度に貯蔵した結果、5～10℃では0℃および20℃に比べてATP量の減少や死後硬直の進行が緩慢であることを認めた。しかし、イノシン酸の分解は貯蔵温度が高くなるほど速やかで、15℃や20℃ではK値の上昇速度が速くなり、24時間以上の生鮮度維持は困難であった。以上の実験結果は、既往のハマチ(山本(巖)ら,1964,1966)やマダイ(本田ら,1971,1972)の報告と一致し、0℃よりやや高い温度で保管した方が良いという、活けしめ流通現場での経験的知見が妥当であることを実証するものであった。また、この実験でもハマチやイシダイは、ヒラメ、マダイ、マゴチに比べて硬直の進行が速やかであり、硬直の進行における魚種特異性が認められた。

なお、活魚または活けしめ魚の流通においては、天然魚より養殖魚の占める割合の方が高いこと、養殖魚は天然魚に比べて食味・食感が劣るといわれていることなどから、死後硬直の進行における養殖魚と天然魚の差異についても検討した(第Ⅳ章)。養殖したマダイ、ヒラメを0℃と10℃に貯蔵して、その死後変化を天然魚と比較したところ、養殖魚でも天然魚と同様に0℃より10℃に貯蔵した方が、ATP量の減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延した。養殖魚と天然魚の硬直の進行速度は、マダイでは顕著な差が認められ、天然魚の方が時間的に0℃貯蔵で1.6倍、10℃貯蔵では2倍程度遅れて完全硬直に達した。しかし、ヒラメでは養殖魚と天然魚でそのような差は認められなかった。ハマチ、マダイ、ヒラメの一般成分や物性を養殖魚と天然魚で比較した場合、ヒラメでその差が最も小さいことが明らかにされているが(畑江ら,1988)、死後変化についても同様な傾向を示した。

以上第Ⅱ～Ⅳ章に示した実験結果から、山本と野口(1964)やPoulterら(1981)が指摘したように、硬直の進行速度すなわちATPの減少速度には温度依存性が認められ、0℃のような低温では、ATPの分解を促進する何らかの機構が存在するものと考えられた。

第Ⅰ章で総述したように、生筋の収縮は筋原線維を構成するタンパク質のミオシンとアクチンが、 Mg^{2+} の存在下でATPを分解しながら結合することによって起こるが、その度合は筋形質中の微量な Ca^{2+} 濃度の変化によって調節される。すなわち、筋原線維の Mg^{2+} -ATPase活性は Ca 濃度が $10^{-7}M$ 程度では低下するが、 $10^{-5}M$ 程度になると非常に高くなる。この Ca^{2+} 濃度は、筋原線維を取り巻く筋小胞体がATPを消費しながら制御している。畜肉の死後における筋肉の短縮には、ATPの存在中に起こる可逆的な低温短縮(cold shortening)と、硬直開始時に起こる硬直短縮(rigor shortening)が認められている。また、死後硬直はATPの消失により筋肉の伸縮性が

喪失したことによって起こり、必ずしも短縮を伴わないとされている。低温短縮は、低温でミトコンドリアから Ca^{2+} が放出されることや、筋小胞体の Ca^{2+} 吸収能が低下することに起因し、硬直短縮は筋小胞体の Ca^{2+} 吸収能のpH依存性に起因するなどの指摘があるが、 Ca^{2+} 制御における両器官の生理的機構はまだ明らかでない。したがって、畜肉においても死後の短縮機構についてはまだ仮説の段階である。

本研究では、ATPの分解・再生に関与する主要な酵素について、その活性におよぼす温度の影響を調べ、死後硬直の温度依存機構の解明を試みた(第V章)。

ヒラメおよびマダイの天然魚普通筋から、筋形質のタンパク質画分と筋原線維を調製し、前者についてクレアチン・キナーゼ活性および Mg^{2+} -ATPase活性を測定し、後者については、 Mg^{2+} および Ca^{2+} -ATPase活性を測定した。それぞれの酵素活性におけるpHおよび温度依存性を検討したところ、いずれも反応温度(0~25°C)の低下に伴って比活性は低くなることが確認された。したがって、ATPの消費が10°Cより0°Cで促進されるという現象は、これら酵素活性の温度依存性からは説明できない。しかし、この実験で供試した筋形質のタンパク質画分には、その調製方法からみて筋小胞体やミトコンドリアが含まれており、測定した筋形質ATPase活性は両者の膜ATPaseと共役する活性を示していると考えられる。したがって、魚体温が0°Cに低下することによって筋形質中の Ca^{2+} 濃度が高まり、そのために筋原線維 Mg^{2+} -ATPase活性が賦活されて、ATPの消費を促進するという機構が示唆される。これはすでに畜肉で推定されている低温短縮と同様な機構である。

以上、本研究によりハマチ、マダイ、ヒラメなどの活けしめ流通においては、即殺後0°Cより5~10°Cに貯蔵した方が、ATP量の減少が緩慢で、死後硬直の開始および完全硬直到達時間が遅延し、“生き”の保持期間が延長されることを確認した。なお、コイ、シイラ、イサキなどは、低温に貯蔵した方が死後硬直の進行が緩慢であることが報告されており(野口, 1957; 山本と野口, 1964)、本研究でも硬直の進行速度は魚種によって顕著な差異を示すことが明らかにされた。このような死後硬直における温度依存性や魚種特異性には、棲息水温、年齢、魚体の大小、生理・生態など複雑な要素が絡んでいると推察され、その究明にはさらに多くの魚種について詳細な研究の集積が必要である。本研究は、実用的観点から活けしめ流通の代表的魚種に絞って、死後硬直の進行とそれに伴う筋肉の化学的変化の機構を明らかにし、その温度依存性と魚種特異性を確認した点に大きな特徴を有する。

文 献

- 天野慶之・尾藤方通・河端俊治：漁獲直後の処理方法が肉質に及ぼす影響－I. ソーダカツラ筋肉の解糖作用の相違に就いて. 日水誌 19, 487-498(1953).
- 安藤 貞・佐久間今朝四・荻野珍吉：魚肉の死後変化に対する疲労の影響. 日水誌 8, 23-28(1939).
- Amlacher, E.: Rigor mortis in fish. In "Fish as Food" (Borgstrom, G., ed.)
Vol. I, Academic Press, New York, 1961, pp. 385-409.
- Bate-Smith, E.C. & Bendall, J.R.: Rigor mortis and adenosinetriphosphate. J. Physiol. 106, 177-185(1947).
- Bate-Smith, E.C. & Bendall, J.R.: Factors determining the time course of rigor mortis.
J. Physiol. 110, 47-65(1949).
- Bate-Smith, E.C. & Bendall, J.R.: Change in muscle after death. Brit. Med. Bull. 12, 230-235 (1956).
- Bendall, J.R.: The shortening of rabbit muscle during rigor mortis. Its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate and muscular contraction.
J. Physiol. 114, 71-88(1951).
- Bendall, J.R.: Relations between muscle pH and important biochemical parametere during the postmortem changes in mammalian muscle. Meat Sci. 3, 143-157(1979).
- 尾藤方通・山田金次郎・三雲泰子・天野慶之：魚の死後硬直に関する研究-I. 改良 Cutting 法による魚体の死後硬直の観察. 東海水研報 No.109, 89-96(1983a).
- 尾藤方通・山田金次郎・三雲泰子・天野慶之：魚の死後硬直に関する研究-II. 死後硬直の進行および消失と筋肉中の $\Delta 7P$, グリコーゲン量との関係. 東海水研報 No.110, 27-37(1983b).
- Briskey, E.J., Sayre, R.N. & Cassens, R.G.: Development and application of an apparatus for continuous measurement of muscle extensibility and elasticity before and during rigor mortis. J. Food Sci. 27, 560-566(1962).
- Buege, D.R. & Marsh, B.B.: Mitochondrial calcium and post-mortem muscle shortening. Biochem. Biophys. Res. Commun. 65, 478-482(1975).
- Carafoli, E., Patriarca, P. & Rossi, C.S.: A comparative study of the role of mitochondria and the sarcoplasmic reticulum in the uptake and release of Ca^{2+} by the rat diaphragm.
J. Cell Physiol. 74, 17-30(1969).
- Cassens, R.G. & Newbold, R.P.: Effect of temperature on the time course of rigor mortis in ox muscle. J. Food Sci. 32, 269-272(1967).
- Cornforth, D.P., Pearson, A.M. & Merkel, R.A.: Relationship of mitochondria and sarcoplasmic reticulum to cold shortening. Meat Sci. 4, 103-121(1980).

- DeFremery, D. & Pool, M.F.: Biochemistry of chicken muscle as related to rigor mortis and tenderization. *Food Res.* 25, 73-87(1960).
- Ebashi, S. & Endo, M.: Calciumion and muscle contraction. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 18, 125-183(1968).
- 江平重男: 魚類の生鮮度に関する生化学的研究. 東海水研報 No. 88, 1-132(1976).
- Ennor, A.H. & Stocken, L.A.: The estimation of creatine. *Biochem. J.* 42, 557-563(1948).
- Erdős, T.: Rigor, contracture and adenosine-triphosphatatic acid. *Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged* 3, 51-56(1943).
- Fiske, C.H. and Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66, 375-400(1925).
- 藤巻正生・古城健三: 漁獲直後の処理方法が肉質に及ぼす影響-Ⅱ. ソーダカツヲ筋肉の酸可溶性磷酸化合物の変化について. *日水誌* 19, 499-504(1953).
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J. & David, M.M.: Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751-766(1949).
- 畑江敬子・李敬姫・土屋隆英・島田淳子: 養殖魚と天然魚のテクスチャー特性について. *日水誌* 55, 363-368 (1989).
- Hill, D.K.: Resting tension and the form of the twitch of rat skeletal muscle at low temperature. *J. Physiol.* 221, 161-171(1972).
- 本田 彰: 高級魚の鮮度保持試験. 昭和45年度熊本水試事業報告書, 186-199(1971).
- 本田 彰・板崎 清・尾脇満男: 高級魚の鮮度保持試験. 昭和46年度熊本水試事業報告書, 174-185(1972).
- Honikel, K.O., Roncales, P. & Hamm, R.: The influence of temperature on shortening and rigor onset in beef muscle. *Meat Sci.* 8, 221-241(1983).
- 堀江庄座・田中稔秋・久木野憲司・矢田 修・橘 勝康・植本六良・保田正人: 養殖マダイの鮮度低下における餌料及び養殖物と天然物による違いについて. 昭和59年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 131(1984).
- Izumi, K., Ito, T. & Fukuzawa, T.: Effects of pH, calcium ions and ATP on rigor contraction in glycerinated rabbit psoas muscle fiber. *J. Food Sci.* 43, 1188-1190(1978).
- Kielley, W.W. & Meyerhof, O.: Study on adenosinetriphosphatase of muscle-Ⅱ. A new magnesium-activated adenosinetriphosphatase. *J. Biol. Chem.* 176, 591-601(1948).
- 今野久仁彦・関 伸夫: コイ筋肉アクトミオシンの脱感作について. *日水誌* 40, 1277-1284(1974).
- 今野久仁彦・関 伸夫: コイ筋肉トロポニンの調製について. *日水誌* 41, 1327-1333 (1975).
- 鴻巣章二・渡辺勝子: 養成および天然マダイのエキス成分の比較. *日水誌* 42, 1263-1266(1976).
- 熊谷 洋: 筋化学, 医学書院, 東京, 1959, pp.103-106.

- 黒川孝雄：養成および天然マダイの水蔵中におけるATP関連化合物の消長。長崎水試研究報告書 第3号, 143-148(1977).
- Lawrie, R.A.: The onset of rigor mortis in various muscles of the draught horse. *J. Physiol.* 121, 275-288(1953).
- Lehninger, A.L.: Principles of Biochemistry. Worth Publishers, New York, 1982(邦訳, レーニンジャーの生化学-上. 広川書店, 東京, 1984, pp.399-469.)
- Locker, R.H. & Hagyard, C.J.: A cold shortening effect in beef muscle. *J. Sci. Food Agr.* 14, 787-793(1963).
- Marsh, B.B.: Observation on rigor mortis in whale muscle. *Biochim. Biophys. Acta* 9, 127-132(1952).
- Marsh, B.B.: Rigor mortis in beef. *J. Sci. Food Agr.* 5, 70-75(1954).
- Marsh, B.B. & Thompson, J.F.: Rigor mortis and thaw rigor in lamb. *J. Sci. Food Agr.* 9, 417-424(1958).
- Messtorff, J.: Über den Totenstarreverlauf einiger Seefischarten. *Kurze Mitt. Inst. Fischereibiologie Univ. Hamburg.* 5, 1-21(1954).
- Mickelson, J.R.: Calcium transport by bovine skeletal-muscle mitochondria and its relationship to post-mortem muscle. *Meat Sci.* 9, 205-229(1983).
- 右田正男：筋肉の死後変化-I. *日水誌* 27, 934-945(1961).
- 右田正男：筋肉の死後変化-II. *日水誌* 28, 456-470(1962).
- Mortonosi, A. & Feretos, R.: Sarcoplasmic reticulum-I. The uptake of Ca^{++} by sarcoplasmic reticulum fragments. *J. Biol. Chem.* 239, 648-658(1964).
- 中川孝之・永山文男・渡部終五・橋本周久：魚類普通筋アルドラーゼ、グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水酵素およびクレアチンキナーゼの活性。生化学 59, 601(1987).
- Nakagawa, T., Watabe, S. & Hashimoto, K.: Electrophoretic analysis of sarcoplasmic proteins from fish muscle on polyacrylamide gels. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 54, 993-998 (1988a).
- Nakagawa, T., Watabe, S. & Hashimoto, K.: Identification of three major components in fish sarcoplasmic proteins. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 54, 999-1004(1988b).
- 野口栄三郎：魚の鮮度に関する研究。日水研報 No.5, 1-61(1957).
- 野口栄三郎・山本常治：“洗い”の現象に関する研究-III. 死後に於ける筋肉のATP量と遊離SH基の消長。日水誌 20, 1020-1022(1955a)
- 野口栄三郎・山本常治：“洗い”の現象に関する研究-IV. 赤色及び白色魚肉魚類の死後硬直について。日水誌 20, 1023-1026(1955b).
- Perry, S.V. & Grey, T.C.: A study of effects of substrate concentration and certain relaxing

- factors on the magnesium-activated myofibrillar adenosine triphosphate. *Biochem. J.* **64**, 184-189(1956).
- Poulter, R.G., Curran, C.A. & Disney, J.G.: Chill storage of tropical and temperate water fish differences and similarities. In "Advances in Technology in the Chilling, Freezing, Processing, Storage and Transport of Fish, especially underutilized Species" (International Institute of Refrigeration, ed.), Paris, 1981, pp.111-123.
- 劉 秀美：ギンブナの倍数体の生化学的判別に関する研究。東京大学学位論文(1979) 165pp.
- 斉藤 要・日高富雄：魚類の肉質変化に関する生化学的研究－I. 漁獲直後の myosin 区と解糖関与物質の変化について。鹿大紀要 **4**, 90-96(1955).
- 斉藤 要・日高富雄：魚類の肉質変化に関する生化学的研究－V. コイ筋肉の鮮度による myosin 区-A T P ase活性と関連成分の変化について。日水誌 **21**, 1025-1028(1956).
- 斎藤恒行：水産動物筋肉における A T P ならびに関連化合物(綜述)。日水誌 **27**, 461-470(1961).
- 斎藤恒行・新井健一：水産動物筋肉中の有機リン酸化合物に関する研究－II. 鯉肉中の Creatine phosphateの定量に就いて。北大水産彙報 **7**, 243-246(1956).
- 斎藤恒行・新井健一：水産動物筋肉中の有機リン酸化合物に関する研究－III. コイ筋肉中の Adenosine polyphosphateに及ぼす貯蔵温度の影響。日水誌 **22**, 569-573 (1957a).
- 斎藤恒行・新井健一：水産動物筋肉中の有機リン酸化合物に関する研究－IV. 鯉肉中の Creatine phosphateに及ぼす貯蔵温度の影響に就いて。北大水産彙報 **8**, 51-53(1957b)
- Saito, T., Arai, K. & Matsuyoshi, M.: A new method for estimating the freshness of fish. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* **24**, 749-750(1959).
- 阪本正博・新井健一：魚類筋原線維の収縮性とATPase活性の関係に関する基礎研究。日水誌 **45**, 1575-1583(1979).
- 佐藤 守・吉中禮二・西中義裕・森本晴之：天然および養殖ヒラメ肉の栄養成分の比較。日水誌 **52**, 1043-1047(1986).
- 関 伸夫・長谷川栄治：魚類筋肉トロポニンの性質の比較について。日水誌 **44**, 71-75(1978).
- 志水 寛・多田政美・遠藤金次：ブリ筋肉化学組成の季節変化－I, 水分, 脂質および粗蛋白。日水誌 **39**, 993-999(1973).
- 清水照夫・宇田文昭・松宮弘幸・宮内圭治・鷹野重威：イオン交換クロマトグラフィーによるヌクレオチドの迅速分析法。Japan Analyst **18**, 632-640(1969).
- 下村昌夫・関 伸夫：コイ筋肉トロポニン成分の分離と性質について。日水誌 **44**, 231-238(1978)
- 昭和60年漁業・養殖業生産統計年報。農林水産省統計情報部編, 農林統計協会, 東京 1986, pp.170-171.
- 田内森三郎・広瀬郁郎・和田英夫：魚の鮮度を判定する方法。水講研報 **26**, 81-87(1931).
- 上岡康達・末光栄充・岡 弘康・酒井博行：養殖ハマチ肉に関する研究－III, 養殖ハマチの致死条

件が魚肉鮮度のおよぼす影響. 愛媛総化指報 No7, 22-27(1969).

梅本 滋 : ビュレット反応による魚肉たん白定量法の改良. 日水誌 32, 427-435 (1966).

内山 均・江平重男 : 核酸関連化合物からみた魚類鮮度化学研究の現状(総説). 日水誌 36, 977-992(1970).

藁科泰子 : 分析化学実験. 化学同人, 京都, 1965, pp. 324-325.

Whiting, R.C.: Calcium uptake by bovine muscle mitochondria and sarcoplasmic reticulum, J. Food Sci. 45, 288-292(1980)

山田紀作・新聞彌一郎 : 漁獲後早期における魚肉の変質に関する生化学的研究. (第1報) 底魚の変質. 日水誌 14, 23-26(1948a).

山田紀作・新聞彌一郎・鈴木たね子 : 漁獲後早期における魚肉の変質に関する生化学的研究. (第2報) 回遊魚の肉質変化. 其の一 骨格筋における解糖作用. 日水誌 14, 41-43(1948b).

山田金次郎・原田勝彦・河原敏明・伊東良太郎・塚本真一 : 直殺ならびに苦悶死ハマチにおける死後硬直とATP分解について. 水大校研報 31, 59-64(1983).

山本 巖・籠 陽子 : ハマチの死後硬直について. 第一回水産物利用加工ブロック会議(日本海ブロック)資料 63-79(1964).

山本 巖・中村信興・奥村陽子 : ハマチの死後硬直について(第2報). 福井水試報告 No.5, 1-19 (1966).

山本啓一・丸山工作 : 筋肉. 化学同人, 京都, 1986, pp. 39-118.

山本常治・野口栄三郎 : 漁獲物の鮮度保持に関する研究-XVI. 魚の死後硬直におよぼす放置温度の影響. 日水研報 No.13, 119-125(1964).

Yamanaka, H. & Mackie, Ian M.: Change in the activity of sarcoplasmic adenosinetri-phosphatase during iced-storage and frozen-storage of cod. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 37, 1105-1109(1971).

山中英明・中川西 剛・菊池武昭・天野慶之 : コイの硬直に関する研究-I. 死後硬直ならびに解凍硬直の顕著な差異. 日水誌 44, 1123-1126(1978).