

淡水魚筋肉の氷蔵中における ATP とその関連物質の変化

谷本 昌太, 平田 孝, 坂口 守彦

(1998 年 4 月 13 日受付)

The Change in Content of ATP and Its Related Compounds
in Freshwater Fish Muscle during Ice StorageShota Tanimoto,^{*1} Takashi Hirata,^{*2} and Morihiko Sakaguchi^{*2}

Changes in level of ATP and its related compounds were investigated in the muscle of eight species of freshwater fishes and compared with those of seawater fishes during ice storage. Changes in content of ATP and its related compounds showed the same pattern through the storage periods among all species of both freshwater and seawater fishes tested; IMP accumulated in the early stage of storage with the rapid decrease of ATP, and then inosine (HxR) and hypoxanthine (Hx) increased during storage with the decrease in IMP level. IMP-degrading and HxR- and Hx-forming rates were different among the fish species, and thus the K value-increasing rate showed considerable difference in the range of 1.6–14.6%/day in freshwater fishes and 1.2–24.6%/day in seawater fishes, respectively. These findings suggest that the K values of all freshwater fishes do not increase more rapidly than those of seawater fishes during ice storage.

キーワード：淡水魚, 核酸関連物質, K 値, 鮮度

魚類の筋肉には遊離アミノ酸, 核酸関連物質, 有機塩基, ペプチドなどの含窒素低分子成分が多く含まれている。これらの中で核酸関連物質とくに ATP とその関連化合物は, 魚類の死後における分解パターンが最も良く研究されている。また, これらの化合物の組成比 (K 値) は, 死後の比較的早期における筋肉の鮮度低下の模様を反映するものとしてよく知られている。^{1,2)}

現在, 中国を中心として淡水魚の漁獲高は大きく, また古来よりわが国においても淡水魚は広く食用に供されてきた。しかし, 淡水魚は一般に生きたまま流通される場合が多いこともあって, 死後における筋肉の化学変化に関して海産魚ほど研究されていない。

そこで, 本研究では 8 種類の淡水魚種について, 氷蔵中における筋肉 (普通肉) の ATP およびその関連物質の変化を検討し, つづいて K 値の変化速度を算出し, 海産魚 5 種と比較した。

実験方法

試料 供試魚として 8 種類の淡水魚および 5 種類の

海産魚を用いた。供試魚の尾数, 平均体重を Table 1 に示す。供試魚は, 1996 年 5 月から 1997 年 3 月にかけて, 石川県水産総合センター, 滋賀県南郷水産センターおよび京都市内の活魚店より購入した。延髓刺殺により即殺後, ただちに氷蔵して 2 時間以内に試料の調製に供した。すなわち, 供試魚を速やかに三枚におろした後, 血合肉を取り除き, 背肉のみを採取した。氷冷した少量の 1% 食塩水で魚肉表面を洗浄し, 2 重にしたポリエチレン袋 (10 cm×5 cm) に封入し, 抽出を行う日まで氷蔵した。氷蔵に際してクーラーボックス (30 cm×60 cm×30 cm) 中に細砕した氷を入れ, 試料を埋め込んだ。クーラーボックスは 10°C の冷蔵庫内に設置し, 氷は 1 日または 2 日に 1 回新しいものと交換した。ATP およびその関連物質の分析用試料は各個体ともに血合肉の混入を避けつつ, 氷蔵中の背肉の中から任意に約 25 g を採取し, 細切, 混合し調整した。

ATP およびその関連物質の定量 ATP およびその関連物質は, 中島らの方法³⁾に準じて抽出した。すなわち, 分析試料 2.5 g は 10 倍量の 10% 過塩素酸でホモゲ

^{*1} 広島県立食品工業技術センター (Hiroshima Prefectural Food Technology Research Center, Minami, Hiroshima 732-0816, Japan).

^{*2} 京都大学大学院農学研究科 (Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawa Oiwake, Kyoto 606-8502, Japan).

Table 1. Properties of fish samples used for analysis

Species	Date	number	body weight (g)		
			average	maximun	minimun
Ayu <i>Plecoglossus altivelis</i>	July 17 1996	20	49.3	57.3	41.2
Biwa trout <i>Oncorhynchus rhodurus</i>	August 23 1996	6	422.0	630.0	279.9
Bluegill <i>Lepomis macrochirus</i>	May 10 1996	7	267.0	326.6	225.5
Carp <i>Cyprinus caprio</i>	May 30 1996	8	369.0	547.0	247.1
Eel <i>Anguilla japonica</i>	June 20 1996	10	254.0	300.5	227.5
Large-mouth bass <i>Micropterus salmoides</i>	May 10 1996	7	613.0	893.7	397.0
Nigorobuna <i>Carassius auratus</i>	June 26 1996	14	137.0	209.9	88.5
Rainbow trout <i>Oncorhynchus myskiss</i>	June 14 1996	14	75.0	101.6	61.4
Cod <i>Gadus macrocepharus</i>	March 13 1997	3	4629.0	5375.0	3881.0
Japanese flounder <i>Paralichthys olivaceus</i>	June 19 1996	3	485.0	498.7	469.7
Red seabream <i>Pagrus major</i>	September 2 1996	1	1766.6	—	—
Sardine <i>Sardinops melanostictus</i>	July 25 1996	23	17.0	33.1	5.7
Yellowtail <i>Seriola quinqueradiata</i>	June 19 1996	2	3463.0	3794.1	3131.9

ナイズした。ホモジネートを遠心分離し、沈殿に試料の10倍量の5%過塩素酸を加え再びホモゲナイズし、さらに遠心分離した。すべての上清を集め、10N水酸化カリウムおよび13%炭酸カリウムで中和した。遠心分離により上清を集め25mlに定容した。定量はRyderらの方法⁴⁾に準拠したHPLCにより行った。HPLC装置はポンプとして日本分光BIP-1、検出器として日本分光UV-DEC100-IV、インテグレーターとして島津製作所C-R3Aを用いた。カラムはCHEMOSORB 7-ODS-L (4.6 mm I.D.×250 mm (株)ケムコ製)を用いた。溶離液として0.1Mリン酸カリウム緩衝液(pH 6.6)を用い、25°Cで流速1.0 ml/minで溶出した。検出は254 nmにおける吸光度で行い、各物質の含量 $\mu\text{mol/g}$ (湿重量)を求めた。分析値は1試験日当たり、3点の抽出試料を調整し、定量し、その平均を示した。

K値およびその変化速度の計算 Saito^ら⁵⁾が報告した次式より計算を行った。

$$K \text{ 値}(\%) = (\text{HxR} + \text{Hx}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}) \times 100$$

K値の変化速度(%/日)は、K値が貯蔵時間に対してほぼ直線関係を示す範囲内(K値80%以下)におい

て、最小二乗法を用いて算出した。この変化速度の有意差はt-検定により検定した。⁵⁾

結 果

ATP およびその関連物質含量の変化

淡水魚および海産魚筋肉の水蔵中におけるATPおよびその関連物質含量の変化をFig. 1 および Fig. 2 に示す。ATP およびその関連物質の総量は、貯蔵期間中、幾分ばらつきが見られるもののいずれもほとんど変化しなかったが、淡水魚のATP およびその関連物質の総量は、ビワマスで9.3 $\mu\text{mol/g}$ 、ニジマスで8.6、アユで7.8、ブラックバスで7.7、ブルーギルで7.5、コイで6.9、ニゴロブナで5.3、ウナギで5.1 となり、魚種により差が見られた。また、海産魚の総量は6.8~10.4 $\mu\text{mol/g}$ であり、6.8のマダラを除いた場合は8.9~10.4 $\mu\text{mol/g}$ で、淡水魚に比べ高い値を示した。

0日目のATP量はニジマスを除く淡水魚で1.4~4.5 $\mu\text{mol/g}$ 、海産魚で2.4~8.2 $\mu\text{mol/g}$ であった。なおニジマスでは貯蔵0日目から0.3 $\mu\text{mol/g}$ と低い値を示した。2日目にはいずれの魚種も0.1~0.5 $\mu\text{mol/g}$ に急激に減少し、その後一定になった。

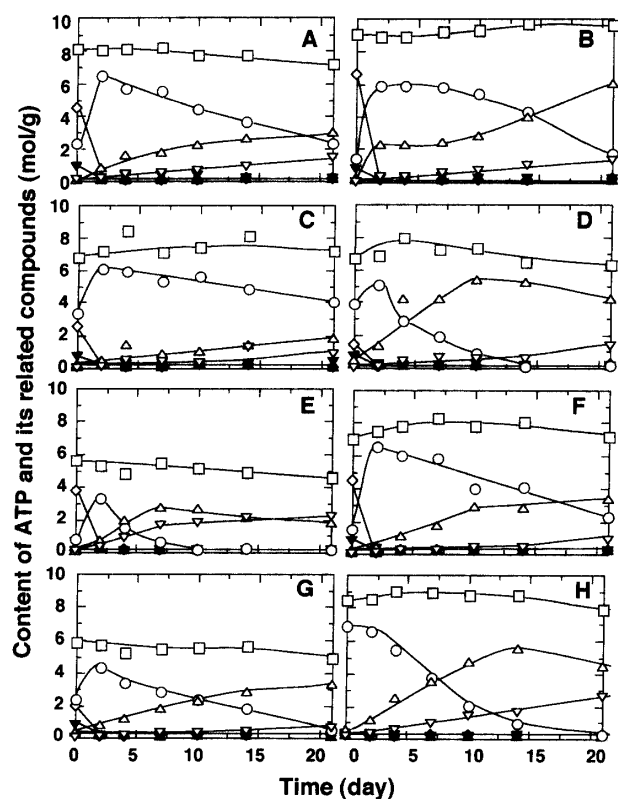


Fig. 1. Changes in content of ATP and its related compounds in freshwater fish muscle during ice storage.

A: Ayu B: Biwa trout C: Blue gill D: Carp E: Eel F: Large-mouth bass G: Nigorobuna H: Rainbow trout

◇, ATP; ▽, ADP; ▲, AMP; ○, IMP; △, HxR; ▽, Hx; □, total of ATP and its related compounds

ADP および AMP はすべての魚種において同様の变化パターンを示し、ADP は貯蔵0日目の0.7~1.2 $\mu\text{mol/g}$ から2日目に0.1~0.3 $\mu\text{mol/g}$ に低下し、その後は、ほぼ一定の値となった。AMP は貯蔵期間中、0.1~0.4 $\mu\text{mol/g}$ と低い値で推移した。

IMP はニジマスを除く全ての魚種において貯蔵0日目から2日目にかけて上昇し、最高値に達し、その後低下した。ニジマスでは0日目に最高値を示し、その後減少した。淡水魚におけるIMPの最高値は、アユ、ブラックバス、ニジマスで6.5 $\mu\text{mol/g}$ 、ブルーギルで6.1、ビワマスで5.9、コイで5.0、ニゴロブナで4.5、ウナギで3.3 となり、魚種により差が見られた。一方、海産魚のIMPは4.3~8.9 $\mu\text{mol/g}$ の範囲にあり、マダラを除く海産魚(8.1~8.9 $\mu\text{mol/g}$)は淡水魚に比べ高い値を示した。IMPの減少速度は、淡水魚、海産魚ともに魚種により異なっており、コイ、ウナギ、ニジマス、マダラなどが比較的大きい傾向を示した。

HxR はビワマスおよびヒラメを除くすべての魚種で

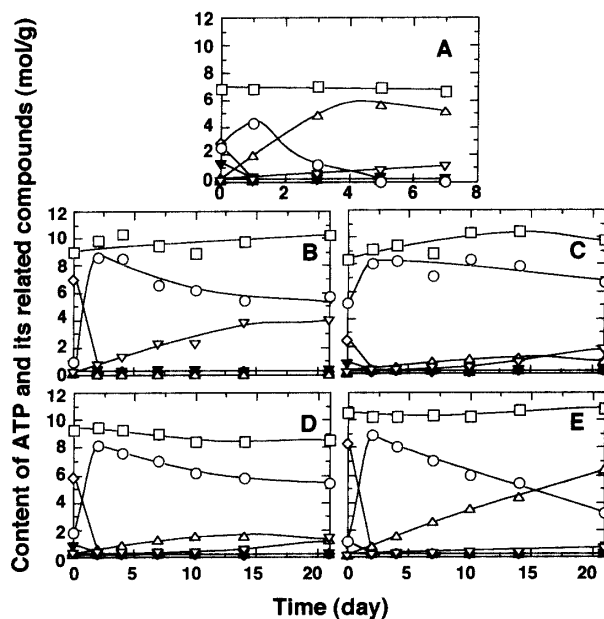


Fig. 2. Changes in content of ATP and its related compounds in seawater fish muscle during ice storage.

A: Cod B: Japanese Flounder C: Red seabream D: Sardine E: Yellowtail

◇, ATP; ▽, ADP; ▲, AMP; ○, IMP; △, HxR; ▽, Hx; □, total of ATP and its related compounds

貯蔵0日目に0.1~0.5 $\mu\text{mol/g}$ と最も低い値を示し、その後、すべての魚種で日数の経過とともに増加した。貯蔵初期に増加率の大きいコイ、ウナギ、ニジマスおよびマダラは貯蔵後半に減少した。また海産魚のイワシおよびマダイは貯蔵初期の増加率が小さいにもかかわらず、貯蔵後半に減少した。ビワマスでは貯蔵2日目で2.3 $\mu\text{mol/g}$ に急激に増加し、その後ゆっくりと増加した。ヒラメでは貯蔵期間中にHxRの蓄積は認められなかったが、今回分析した淡水魚ではこのような変動を示す魚種は見られなかった。

Hx は、どの魚種においても貯蔵0日目は0.2 $\mu\text{mol/g}$ 以下の低い値で、その後、徐々に増加した。ヒラメを除くすべての魚種において貯蔵初期のHxの増加率は、HxRの増加率に比べ低いことがわかった。

K 値の変化および変化速度

淡水魚および海産魚の氷蔵中におけるK値の変化をFig. 3 および Fig. 4 に示す。ビワマスを除く淡水魚および海産魚において、およそ80% までの値と貯蔵時間との間に直線性が見られた。ビワマスにおいては、2日目に28.9% まで急激に増加し、4日目まではあまり変化せず、その後増加した。コイ、ウナギ、ニジマスおよびマダラでは、80% を越える付近から、増加率が減少し、直線性が失われることがわかった。

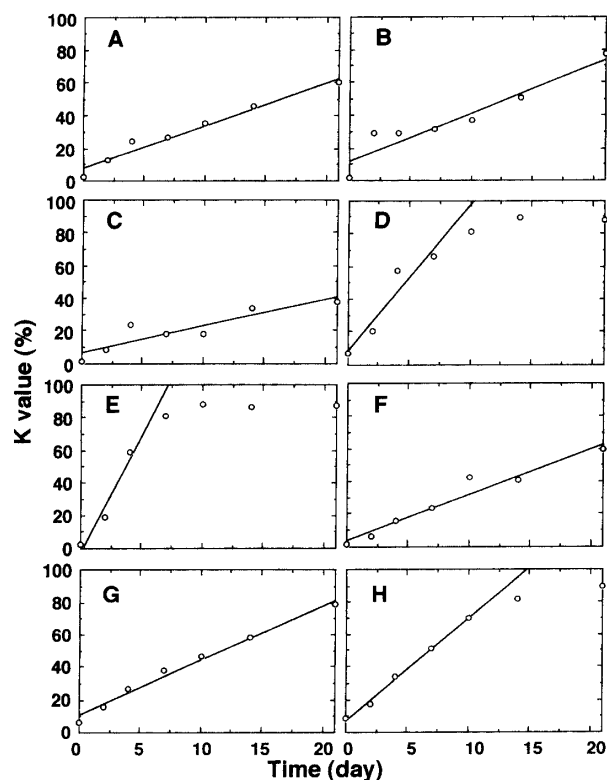


Fig. 3. Changes of K value in freshwater fish muscle during ice storage.

A: Ayu B: Biwa trout C: Blue gill D: Carp E: Eel F: Large-mouth bass G: Nigorobuna H: Rainbow trout

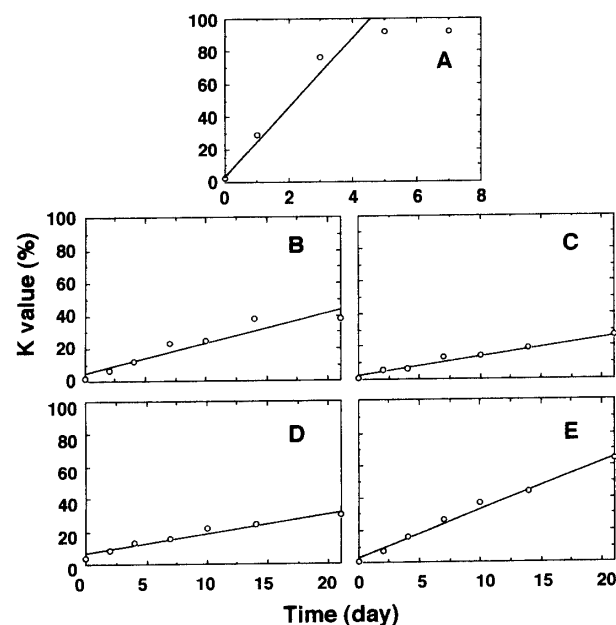


Fig. 4. Changes of K value in seawater fish muscle during ice storage.

A: Cod B: Japanese flounder C: Red seabream D: Sardine E: Yellowtail

K 値の変化速度を淡水魚相互および海産魚と比較するため、直線性を示す範囲内 (80% 以下) で、最小二乗法により求めた結果を Table 2 に示す。淡水魚の変化速度は、ブルーギル、アユ、ブラックバス、ビワマス、ニゴロブナ、ニジマス、コイ、ウナギの順に大きくなり、最も小さいブルーギル (1.6%/日) は、最も大きいウナギの 14.6%/日に比べ 1/8 以下であった。一方、海産魚ではマダラが最も大きく 24.6%/日で、イワシおよびマダイが最も小さく 1.2%/日であった。また、この変化速度の有意差検定の結果は、ビワマスを除く淡水魚間および淡水魚と海産魚の間のはとんどの組み合わせで、変化速度に明らかな有意差が認められた (Table 3 および Table 4)。なお、ビワマスは K 値が 80% 以下の範囲内において直線性を示さないため、他のすべての魚種に対して有意差が認められないという結果になった。

考 察

一般的に魚の死後、筋肉中の ATP は一連の酵素群 (ATPase EC 3.6.1.3, myokinase EC 2.7.4.3, AMPdeaminase EC 3.5.4.4, 5'-nucleotidase EC 3.1.3.31, phosphomonoesterase EC 3.1.3.1 および 3.1.3.2, nucleoside phosphorylase EC 2.4.2.1 など) が作用することによって Hx まで逐次分解される。この一連の反応の中で、IMP の分解が律速段階となるため貯蔵初期に IMP が蓄積する。⁶⁾ この傾向は今回分析に供したすべての魚種で観察された。一方、IMP の減少速度は淡水魚および海産魚ともに魚種により非常に異なっていた (Fig. 1 および Fig. 2)。

Table 2. Increasing rates of K value in freshwater and seawater fishes during ice storage

Species	Increasing rates of K value (%/day)
Ayu	2.6±0.2
Biwa trout	3.0±0.4
Bluegill	1.6±0.3
Carp	9.1±2.1
Eel	14.2±3.4
Large-mouth bass	2.8±0.3
Nigorobuna	3.4±0.4
Rainbow trout	6.3±0.3
Cod	24.6±0.9
Japanese flounder	1.9±0.3
Red seabream	1.2±0.1
Sardine	1.2±0.1
Yellowtail	3.0±0.1

Table 3. Comparison of increasing rates of K value among freshwater fishes

	Ayu	Biwa trout	Bluegill	Carp	Eel	Large-mouth bass	Nigoro-buna	Rainbow trout
Ayu	—	—	—	—	—	—	—	—
Biwa trout	NS	—	—	—	—	—	—	—
Bluegill	S	NS	—	—	—	—	—	—
Carp	SS	NS	SS	—	—	—	—	—
Eel	SS	NS	S	NS	—	—	—	—
Large-mouth bass	NS	NS	SS	SS	SS	—	—	—
Nigorobuna	S	NS	SS	SS	SS	NS	—	—
Rainbow trout	SS	NS	SS	S	S	SS	SS	—

SS, $p < 0.01$ S, $p < 0.05$

NS, not significant

Table 4. Comparison of increasing rates of K value between freshwater and seawater fishes

	Cod	Japanese flounder	Red sea-bream	Sardine	Yellowtail
Ayu	SS	NS	SS	SS	NS
Biwa trout	NS	NS	NS	NS	NS
Bluegill	SS	NS	NS	NS	SS
Carp	SS	SS	SS	SS	SS
Eel	NS	SS	SS	SS	SS
Large-mouth bass	SS	S	SS	SS	NS
Nigoro-buna	SS	SS	SS	SS	NS
Rainbow trout	SS	SS	SS	SS	SS

SS, $p < 0.01$ S, $p < 0.05$

NS, not significant

貯蔵期間中の ATP およびその関連物質の合計は、淡水魚で $5.1 \sim 9.2 \mu\text{mol/g}$ 、海産魚で $6.8 \sim 10.4 \mu\text{mol/g}$ であった。この結果は、江平²⁾が、主に海産魚において報告した値 ($3 \sim 21 \mu\text{mol/g}$) の範囲内にあった。また、斉藤⁷⁾らは、ニジマスの ATP およびその関連物質の合計を約 $8 \mu\text{mol/g}$ と報告しており、この値は今回分析したニジマスの $8.3 \mu\text{mol/g}$ とほぼ一致した。

貯蔵 0 日目の ATP の値は、淡水魚で $0.3 \sim 6.6 \mu\text{mol/g}$ 、海産魚で $2.4 \sim 8.2 \mu\text{mol/g}$ と、淡水魚、海産魚ともに魚種により異なっていた (Fig. 1 および Fig. 2)。この理由として致死時に ATP の消耗の度合いに差があることのほかに、ATP 分解速度に関わる酵素活性に魚種特異性があることも考えられる。特に、ニジマスでは、貯蔵開始時に $0.3 \mu\text{mol/g}$ と非常に低く、さらに斉藤

ら⁷⁾が、コイと比べニジマスは ATP 分解速度が速いことを報告していることから、これはニジマスの ATP から IMP への分解に関与する酵素 (ATPase, myokinase および AMPdeaminase) の活性が高いためと考えられる。

HxR および Hx の生成について江平²⁾は K 値が約 30% の時の HxR と Hx の比を用い、100 種類の日本産魚類を分類している。この分類に準じ淡水魚の HxR および Hx の生成性を分類すると、コイ科のコイ、ニゴロブナにおいて HxR 生成性、その他の淡水魚において HxR, Hx 両生成性であった。海産魚のヒラメは江平の報告²⁾と同様に Hx 生成性であったが、今回分析した淡水魚には Hx 生成性を示す魚種は見られなかった。江平²⁾はコイについて HxR, Hx 両生成性であることを示しており、今回の結果と異なっていた。

K 値の変化速度についてすでに富岡、遠藤⁸⁾は、コイおよび 13 種の海産魚の K 値の変化速度は $0.2 \sim 8.4\%/日$ であり、魚種間で大きな差があることを報告している。ここで分析に供した淡水魚および海産魚の K 値の変化速度はそれぞれ $1.6 \sim 14.2\%/日$ 、 $1.2 \sim 24.6\%/日$ であり (Table 2)、富岡、遠藤の報告⁸⁾と同様に魚種間で大きく異なっていた。また、検定の結果はビワマスと他の魚種および変化速度が近似した魚種間以外では、淡水魚間および淡水魚、海産魚間に関係なく有意な差を示した (Table 3 および Table 4)。

すでに述べたように、K 値の変化速度は淡水魚ではウナギ、コイ、ニジマスが比較的大きく、海産魚ではマダラが圧倒的に大きかった。この K 値の変化速度は IMP の分解速度と関係が深く、これらの魚種はいずれも IMP の減少速度が大きい傾向にある (Fig. 1 および Fig. 2)。これは IMP の分解に関与する酵素 (5'-nucleotidase や phosphomonoesterase) の活性が高いこ

とによるものと考えられる。事実、富岡、遠藤⁸⁾はこの酵素活性と K 値の変化速度との間に高い相関があることを認めている。周知のとうり、IMP は魚肉の呈味成分となっているから、呈味発現の観点から見ると、上記の魚種は他のものと比較して、死後速やかに旨味を失う可能性が高い。実際にウナギ、コイなどの筋肉は死後における旨味の喪失が著しく速いといわれ、⁹⁾ またマダラもハマチと比べてはるかに速いことが実証されている。¹⁰⁾

すでに、多くの魚種（主として海産魚）を用いて K 値の変化速度は魚種によって著しく異なることが明らかにされている。^{6), 8)} 本研究において 8 種の淡水魚と 5 種の海産魚を用いて検討した結果、淡水魚と海産魚の両グループの間に速度の違いを見出すことはできなかった。したがって、これらの事実、K 値は同一魚種における鮮度の比較には指標の一種とはなり得ても、異種間の鮮度の比較には利用できず、多くの要素を取り入れて総合的に十分注意を払う必要があることを示している。

文 献

- 1) T. Saito, K. Arai, and M. Matsuyoshi: A new method for estimating the freshness of fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **24**, 749-750 (1959).
- 2) 江平重男: 魚類鮮度に関する生化学的研究. 東海水研報, **88**, 1-132 (1976).
- 3) 中島宣郎, 市川恒平, 鎌田政喜, 藤田栄一郎: 5'-リボスクレオチドの食品化学的研究 (第 2 報). 農化, **35**, 803-808 (1961).
- 4) J. M. Ryder: Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 678-680 (1985).
- 5) 市原清志: バイオサイエンスの統計学. 南江堂, 東京, 1990, pp. 218-222.
- 6) 内山 均, 江平重男: 核酸関連物質からみた魚類鮮度化学研究の現状. 日水誌, **36**, 977-992 (1970).
- 7) 斉藤恒行, 新井健一, 矢島敏克: 水産動物筋肉中の有機リン酸化合物に関する研究—VII. 血筋におけるアデニンスクレオチドの変化. 日水誌, **25**, 573-575 (1959).
- 8) 富岡和子, 遠藤金次: 各種魚肉の K 値変化速度とイノシン酸分解酵素活性. 日水誌, **50**, 889-892 (1984).
- 9) 清水 亘: 水産利用学. 金原出版, 東京, 1962, pp. 44-45.
- 10) 村田道代, 赤羽義章, 塩田二三子, 坂口守彦: 氷蔵中のタラとハマチ筋肉の旨味と IMP 及び遊離アミノ酸含量の変化. 調理科学, **26**, 310-314 (1993).