

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*

山田金次郎・原田勝彦・河原敏明

伊東良太郎・塚本真一

Comparative Rates of ATP Degradation in Rested and Exhausted Young
Yellowtail *Seriola quinqueradiata* in Relation to Rigor Mortis

By

Kinjiro YAMADA, Katsuhiro HARADA, Toshiaki KAWAHARA,
Ryotaro ITO and Shin'ichi TSUKAMOTO

The rapid changes occurring in the postmortem degradation of fish muscle nucleotide have recently suggested that the measurement of the degradation products might correlate with the time fish was held in storage. Few investigations, however, have been made to follow the changes of these products during the progress of rigor from onset to full rigor.

The work presented here gives the results of postmortem changes of the ATP degradation products determined by ion-exchange chromatography during the progress of rigor using two different groups of young yellowtail, rested and exhausted at death which were subsequently stored in ice. The contents of ATP decreased with the progress of rigor in the reflection of IMP increasing in both the rested and the exhausted fish. And, moreover, the manner of the decrease both in the rested and the exhausted was the same statistically. In the majority of the fish tested, regardless of the way of slaughtering, ATP disappeared at the time of full rigor, but in some others it showed the value more than 1 μ mole per g.

1. 緒 言

魚肉中のATPが死後急速に分解されることから、最近ATP分解物質の測定が魚肉の鮮度判定法として注目されている。しかし、死後硬直とこれら物質の消長とに関する研究は少ない。

TOMLINSON ら¹¹は直殺ならびに苦悶死のニジマスとヒラメについて死後硬直と酸可溶性リン酸化合物の消長との関係を調べている。それによると、魚種および屠殺方法に関係なく、ATP画分成分(ADP、ヘキソース二リン酸、グルコース-1-リン酸をも含む)の含量がきわめて低い値に達すると硬直が起き、最大硬直時でその画分成分はほと

* 水産大学校研究業績 第970号、1983年1月20日受理

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 970. Received Jan. 20, 1983.

本報告では次の略号を用いる。ヒポキサンチン, Hx; イノシン, Ino; イノシン酸, IMP; アデニル酸, AMP; アデノシン二リン酸, ADP; アデノシン三リン酸, ATP; グアニン, G.

んど消失するという。一方、藤井ら²⁾はヒラメの鮮度とATP分解物質消長との関係を調べ、死後硬直までにATPが激減し、それに対応してIMPが急増すると報告している。しかし、それは屠殺から最大硬直に至るまでの硬直過程でのATP分解物質の消長を細かく調べたものではない。また、FRASERら³⁾は麻酔薬を用いて屠殺したタラを氷蔵した場合、死後24時間たっても高いATP含量を維持し、その結果硬直の開始が遅れるといっているが、これもまた硬直過程でのATP分解物質の消長を詳しく調べたものではない。

このため、著者らは直殺ならびに苦悶死ハマチについて屠殺直後から最大硬直に至る硬直過程のATP分解物質の消長を詳細に調べた。

2. 試料および実験方法

2・1 試料

実験材料としては平均体長31cm、平均体重633gの養殖ハマチ当才魚を使用した。致死条件を異にして屠殺した実験材料を1尾あてポリエチレン袋に入れ、これを発泡スチロール製トロ箱(45×30×7.5cm)に右体側を下に横置して碎氷で覆い8-15°Cの室外で氷蔵したものを、硬直指数測定の試料ならびにATP分解物質含量測定のための過塩素酸抽出液の作製試料とした。なお、碎氷は必要のつど補充した。

2・2 硬直指数

硬直指数の測定は改良CUTTING法^{*1}によった。すなわちFig.1のように魚体の前半身(体長の1/2)を横向き(本試料の場合、右体側を下にする)にして水平板上にのせ、水平線から垂れ下った尾びれ付け根までの長さlの変化から硬直指数を求めた。すなわち、屠殺直後の長さをl_oとし、x時間後の長さをl_xとすると、x時間後における試料の硬直指数Rは $[(l_o - l_x)/l_o] \times 100$ で表わされる。

ところで、同じ致死条件の魚でも個体により硬直の進行が相違する。このため、同じ致死条件の試料群の硬直指数は平均値 \bar{R} で表わした。

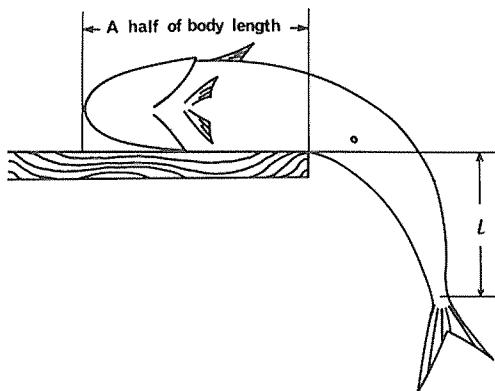


Fig. 1. Measurement of rigor index.

Rigor index: $R = [(l_o - l_x)/l_o] \times 100$, where l_o and l_x indicate the tailing length of the fish immediately after slaughtering and of the fish allowed to stand for a certain interval (x) respectively.

2・3 過塩素酸抽出液の作製

試料右片身のフィレーを肉挽器で3回挽き、挽肉10.0gを秤量して既報⁴⁾に従って過塩素酸抽出液を作製した。なお、フィレー作製においては多少真皮が混入したが、特定の試料では残存した真皮を完全に削除した。

3. 実験結果および考察

3・1 屠殺直後のATP分解物質含量に及ぼす致死条件の影響

屠殺直後の魚肉におけるATP分解物質含量が致死条件によりどのように相違するかを見るために、次の4方法を用いてハマチを屠殺した。

A 投餌後間もなく、生簀からハマチを採取して、これを径1m、高さ1.5mの丸網かごに移し、揚陸後直ちに生きしめ^{*2}を行なった(A群)。

B 生簀から丸網かごに移したハマチを養殖場内で1夜かごを海水に浸し、魚を休息させた後、生きしめを行なった(B群)。

*1 尾藤方通・山田金次郎・三雲泰子・天野慶之：東海区水研報告、109号、1983年掲載予定。

*2 山口県北浦地方の生きしめは手がきで延縄をえぐるもので、操作が完全であれば屠殺後軀体の躍動は全くみられない。この場合、生きしめが“つぼ”に入ったという。一方、操作が不完全であれば屠殺後軀体が躍動する。この場合、生きしめが“つぼ”を外れたという。生きしめの熟練者でもしめた魚がすべて“つぼ”に入ることはない。

C 養殖場内で1夜休息させたハマチを、かごを上下に揺することにより、15分間激しく運動させた後、生きしめを行なった（C群）。

D 養殖場内で1夜休息させたハマチを、かごを上下に揺することにより、15分間激しく運動させた後、床上に放置して苦悶死させた（D群）。死亡の判定は眼球、第一背びれおよび胸びれのけいれんが停止した時点とした。

なお、本実験で生きしめを行なったハマチはすべてが“つぼ”に入っていた。

上記4方法を用いて屠殺した1群3尾のハマチについて屠殺後直ちに過塩素酸抽出液を作製し、ATP分解物質の分離定量を行なった結果はFig. 2のとおりである。

Fig. 2のAとBとの比較から、生きしめ前に十分な休息を与えなければ、ATPが少なくIMPが多いことがわかる。したがって、直殺方法としてはその後Bの方法を採用した。

Fig. 2のCとDとの比較から、15分間激しく運動させれば、ハマチのATP分解物質含量はその後の致死方法に関

係ないことがわかる。しかし、十分な消耗を与えるために苦悶死の屠殺方法としてはその後Dの方法を採用した。

3・2 硬直指数の経時変化

直殺ハマチと苦悶死ハマチとでは硬直の様相がどのように相違するかを明らかにするため、直殺試料と苦悶死試料それぞれ5尾について硬直指数の経時変化を調べた。なお、本実験に用いた直殺試料5尾中2尾は生きしめが“つぼ”に入り、残りが“つぼ”に入らなかった。得られた結果はTable 1のとおりである。硬直指数の経時変化を一定の関数で表現できれば、直殺ならびに苦悶死ハマチにおける硬直指数の解析が容易である。このため、経時変化がロジスティック曲線に似ていることから、この変化をこの曲線で表現した。この結果、R=50に達する時間を直殺試料と苦悶死試料について比較したところ、前者は7±1時間、後者は3±1時間となり、苦悶死ハマチは直殺ハマチに比べ早く硬直することがわかった。

一方、解硬についてはTable 1の直殺ならびに苦悶死試

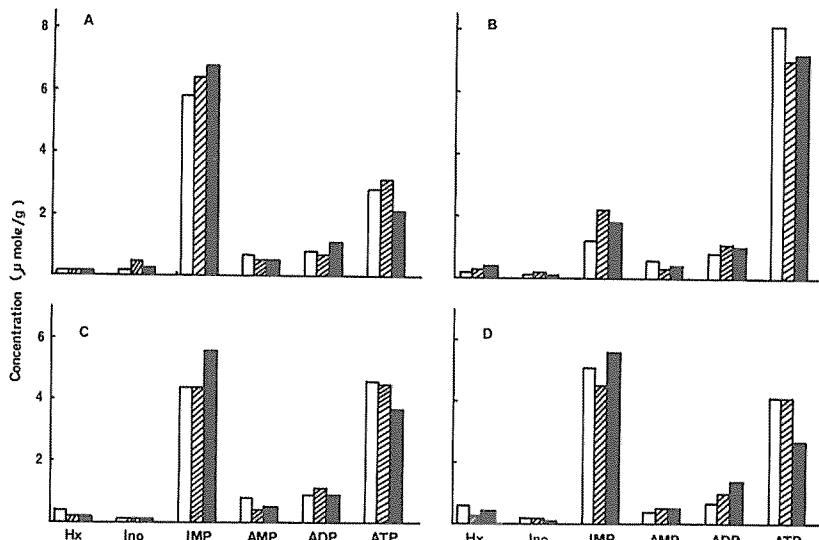


Fig. 2. Changes of ATP and its degradation products in the muscle of yellowtail slaughtered by different methods.

A, killed by the puncture of medulla oblongata with hook immediately after being landed (stunned fish); B, killed by the puncture of medulla oblongata after being rested in fishpond overnight (rested fish); C, killed by the puncture of medulla oblongata after strenuous exercise for 15 minutes (exercised fish); D, killed on standing on the floor after strenuous exercise for 15 minutes (exhausted fish).

Table 1. Changes of rigor index during ice storage

Time elapsed	Rested fish						Exhausted fish					
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	Means	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	Means
hours												
1	0	0	0	0	0	0	16	76	0	0	0	18±23
2	0	0	0	0	0	0	48	100	8	11	20	37±38
3	0	0	0	0	0	0	89	100	32	45	75	68±29
4	0	0	0	38	0	8±17	100	100	93	100	100	99±3
5	0	0	13	64	9	17±27	100	100	100	100	100	100±0
6	23	41	25	85	19	38±28	100	100	100	100	100	100±0
7	49	60	68	98	32	61±25	100	100	100	100	100	100±0
8	63	86	90	100	66	81±16	100	100	100	100	100	100±0
9	75	100	90	100	95	92±10	100	100	100	100	100	100±0
10	79	100	95	100	100	95±9	100	100	100	100	100	100±0
11	88	100	100	100	100	97±6	100	100	100	100	100	100±0
12	100	100	100	100	100	100±0	100	100	100	100	100	100±0
days												
1	100	100	100	100	100	100±0	100	100	100	100	100	100±0
2	94	100	92	94	92	94±3	100	96	95	93	91	95±3
4	90	86	85	90	84	87±3	91	90	88	86	84	88±3
7	77	77	73	78	69	75±4	80	76	76	78	75	77±2
10	73	67	68	69	67	69±3	77	69	69	64	69	70±5
14	71	65	65	65	65	66±3	72	65	65	63	66	66±4
18	69	63	62	61	61	63±3	71	63	61	61	63	64±4

料の平均値の比較からわかるように、直殺ハマチ、苦悶死ハマチ共に進行が緩慢で両者間の硬直指指数一時間曲線に相違が認められない。すなわち、致死条件はハマチの硬直に影響するが、解硬には影響しないことがわかる。

直殺試料のうち“つぼ”に入ったものと、“つぼ”を外れたものについてのR=50に達する時間の比較については本実験では試料数が少ないため、別に本研究に用いたすべての試料中解析可能な試料について比較を行なった。その結果、R=50に達する時間は“つぼ”に入った試料(n=4)で6±1時間，“つぼ”を外れた試料(n=11)で6±1時間で、両者間に差が認められなかった。すなわち、生きしめは“つぼ”を外れてもハマチの硬直を遅らせる効果の上で“つぼ”に入ったものと同等といえる。

3・3 硬直指指数とATP分解物質含量との関係

硬直の進行にともなってATP分解物質の含量がどのように変化するかをみるため、直殺試料と苦悶死試料について次の実験を行なった。なお、一部の実験では真皮を完全に削除した直殺試料を使用した。特記しない試料では真皮を多少含むものを使用している。

氷蔵した試料のうち適当な時間をおいて1尾をとり出し、その硬直指指数を測定した後直ちに過塩素酸抽出液を作

製してATP分解物質の分離定量を行ない、硬直指指数0(屠殺直後)から100(最大硬直到達時)に至るまでのATP分解物質含量の変化を調べた。得られた結果はTable 2のとおりである。このデータに基づき、硬直指指数とそれぞれのATP分解物質含量との間の回帰式を求めTable 3の結果を得た。

硬直指指数とHx含量との間には直殺試料で相関が認められず、苦悶死試料で逆相関が認められた。しかし、直殺試料のデータは大部分苦悶死試料の回帰直線の棄却帶内に位置した。

ところで、真皮を完全に削除した直殺試料(n=17)と真皮が多少混入した苦悶死試料(n=21)について硬直指指数と無関係にHxとInoの関数であるK値を求めたところ、直殺試料のK値は2±1、苦悶死試料のそれは4±2となり、両者間に0.01水準で有意差が認められた。これは、すでにマイワシで報告したように⁴⁾、真皮混入によるGのHx画分出現のため、苦悶死試料のK値が直殺試料のそれより大きな値を示したものと推量される。

硬直指指数とIMP含量との間には致死条件の相違を問わず正の相関が認められた。これは硬直指指数とATPとの間の逆相関を反映しているためと解される。

硬直過程におけるATP含量変化で直殺ハマチと苦悶死

Table 2. Relationship between the rigor index and the content of ATP degradation products of iced yellowtail

Sample No.	Rigor index	Hx	Ino	IMP	AMP	ADP	ATP
%		μ mole/g					
1	0	0.00	0.14	8.78	0.95	0.75	8.14
2	0	0.00	0.16	10.46	1.06	1.05	7.04
3	0	0.00	0.07	8.84	0.74	1.04	7.20
4	9	0.03	0.24	4.59	0.67	0.65	3.00
5	15	0.15	0.02	2.70	1.35	0.60	4.30
6	16	0.02	0.04	1.92	0.52	0.98	6.00
7	23	0.03	0.09	3.14	0.81	0.78	4.37
8	27	0.05	0.15	4.57	0.76	0.57	2.66
9	31	0.09	0.20	3.30	0.66	0.66	3.91
10	47	0.02	0.06	3.23	0.91	0.77	4.04
11	51	0.07	0.30	1.30	0.47	0.78	4.36
12	56	0.07	0.16	4.93	0.71	0.81	3.09
13	70	0.05	0.11	4.06	0.66	0.66	1.31
14	83	0.05	0.11	4.74	0.73	0.45	1.28
15	87	0.02	0.07	5.52	0.92	0.55	1.12
16	89	0.02	0.15	3.65	0.89	0.61	3.48
17	100	0.03	0.03	3.56	0.50	0.74	1.78
18	100	0.04	0.14	6.37	0.77	0.32	0.00
19	100	0.03	0.13	6.23	0.66	0.15	0.00
20	100	0.03	0.16	6.10	0.79	0.34	0.16
21	100	0.00	0.34	5.11	0.44	0.36	0.59
22	100	0.00	0.31	4.54	0.45	0.20	0.00
23	100	0.00	0.31	5.60	0.45	0.24	0.00
<hr/>							
1	0	0.56	0.18	5.11	0.44	0.73	4.08
2	0	0.31	0.20	4.54	0.45	1.03	4.13
3	0	0.43	0.09	5.60	0.45	1.42	2.70
4	10	0.30	0.40	3.60	0.87	0.72	4.38
5	17	0.15	0.11	4.68	0.87	0.78	3.00
6	21	0.12	0.23	4.89	0.93	0.78	2.42
7	31	0.56	0.15	5.43	0.85	0.78	2.59
8	32	0.23	0.20	5.43	1.06	0.77	1.58
9	43	0.10	0.14	5.21	1.02	0.71	1.94
10	49	0.10	0.13	5.72	1.08	0.86	1.57
11	65	0.12	0.13	6.02	1.14	0.67	1.08
12	68	0.22	0.16	6.21	1.01	0.77	1.50
13	78	0.12	0.23	6.98	1.06	0.65	1.66
14	80	0.05	0.24	6.20	0.91	0.71	1.96
15	80	0.08	0.15	6.87	1.08	0.67	0.84
16	81	0.07	0.19	6.93	1.06	0.63	1.41
17	87	0.07	0.20	7.41	1.11	0.59	0.83
18	100	0.12	0.15	5.69	0.97	0.78	1.84
19	100	0.07	0.28	9.31	0.75	0.63	0.00
20	100	0.15	0.31	9.16	0.81	0.41	0.00
21	100	0.08	0.27	8.66	0.94	0.41	0.00

Table 3. Estimated regression equation of rigor index on the contents of ATP and its degradation products

y	x	Rested fish			Exhausted fish		
		a × 10 ⁻²	b × 10 ⁻²	F ₀	a × 10 ⁻²	b × 10 ⁻²	F ₀
Rigor index	Hx	-1.83	0.63	0.590	-1.64	0.86	18.113**
	Ino	1.19	0.39	1.827	1.03	0.34	0.855
	IMP	-0.03	0.70	0.466	0.20	-0.69	39.479**
	AMP	-0.78	1.14	4.982*	0.95	-0.31	8.722**
	ADP	-1.18	1.29	30.333**	-1.20	1.43	15.935**
	ATP	-0.14	0.98	77.409**	-0.25	1.01	58.097**

Note: y = ax + b

ハマチとの間に相違があるか否かを確かめるため、硬直指數0のデータを除いた直殺試料と苦悶死試料の1次回帰係数の差の検定を行なった。その結果、両者間に差がないことがわかった。なお、多くの試料は致死条件に関係なく最大硬直時にATP含量が0になるが、一部の試料では $1\mu\text{mole/g}$ 以上の高い値を示し、ハマチではTOMLINSONら¹⁾がニジマスとヒラメでみたように最大硬直時にATPがほとんど消失するものばかりといえないことが明らかになつた。

4. 要 約

直殺および苦悶死ハマチについて硬直の進行にともなうATP分解物質の消長を調べ次の結果を得た。

1. 致死条件に関係なくATPは屠殺直後から最大硬直に至る間に減少し、これに対応してIMPが増大した。
2. 硬直過程におけるATP含量変化では直殺ハマチと苦悶死ハマチの間に相違が認められなかった。
3. ハマチのATP含量は、致死条件に関係なく、最大硬直

到達時に多くが0になるが、なかには $1\mu\text{mole/g}$ 以上の高い値を示すものがあった。

終りに、データの統計上の検討に援助をいただいた本校前田 弘教授、また実験材料の収集に便宜を供与された山口県黒井漁業協同組合の浜村正春氏ならびに安尾友彦氏に感謝の意を表する。

文 献

- 1) N. TOMLINSON, E. S. ARNOLD, E. ROBERTS, and S. E. GEIGER: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 18, 321-336 (1961).
- 2) 藤井 豊・内山 均・江平重男・野口栄三郎: 日水誌, 32, 410-416 (1966).
- 3) D. I. FRASER, J. R. DINGLE, J. A. HINES, S. C. NOWLAN, and W. J. DYER: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 24, 1837-1841 (1967).
- 4) 山田金次郎・東野 覧・河原敏明・伊東良太郎: 日水誌, 47, 631-636 (1981).