

# 養殖ブリのヤケ肉発生とその性状に関する研究

長崎大学大学院生産科学研究科 デイシー・アロヨ・モラ

養殖ブリは長崎県をはじめ多くの県で養殖され、我が国における養殖魚の重要な位置を占めている。夏季の養殖ブリにおいて、市場に出荷された魚体の筋肉が白濁し不透明となることがしばしばあるとの報告があり、魚体の外見からは肉質の判断が出来ないため、関係業者より早急な発生のメカニズム解明とその対策が望まれている。本現象はマグロなどにしばしば認められる、筋肉の赤い透明な色調が灰褐色で不透明な水っぽい肉質となる“ヤケ肉”と大変近似しており、食品としての市場価値を極めて低くしている。

本研究では、養殖ブリについて①“ヤケ肉”のモデル魚を作成するための馴致水温や殺し方条件の検討、②“ヤケ肉”モデル魚の化学的変化（感覚色度、ATP 関連化合物、グリコーゲン、乳酸、pH）、物理的変化（圧出水分量、破断強度）の測定および組織切片による組織観察、③“ヤケ肉”モデル魚の筋原線維(Mf) ATPase 活性、筋肉タンパク質の変化とカテプシン活性を検討した。さらに、これらの結果から夏季における養殖ブリヤケ肉の防止策を検討した。

第 1 章では、本研究の目的と意義、本研究に関連した従来の研究および本研究の概要について記述した。（第 1 章）

第 2 章では、“ヤケ肉”モデル魚を作成するための飼育水温や殺し方条件の検討を行った。養殖ブリを試料魚として、飼育温度は低温群 13°C または高温群 30°C で行った。また、それぞれ致死方法は苦悶（空气中に 20 分間放置：SA）、即殺（脊髄破壊：SCD）とした。試料魚は血抜きした後に 32°C の高温水槽で保存した。背部普通筋を経時的に採肉し、筋肉の色（感覚色度  $L^*$ ）、圧出水分量、破断強度、ATP 関連化合物、pH 及び乳酸を測定した。また組織固定後、H&E 染色を施し光学顕微鏡観察を行った。

感覚色度  $L^*$  の保存中における上昇は 30°C 群が 13°C 群より早く、SA30°C は保存 1 時間目、SCD30°C は保存 2 時間目で  $L^*$  が約 60 を呈した。また、ヤケ肉 ( $L^* > 55$ ) は SA30°C、SCD30°C、SA13°C で発生したが SCD13°C では発生しなかった。13°C 群の破断強度は保存 1 時間目に SA ( $260 \text{ g} \cdot \text{cm}^2$ ) が SCD ( $525 \text{ g} \cdot \text{cm}^2$ ) より低い値を示した。圧出水分量は保存 2 時間目のヤケ肉で 38%、正常肉で 13% であった。致死直後の ATP 含量は SA ( $3 \mu\text{mol/g}$ ) が SCD ( $8 \mu\text{mol/g}$ ) より低く、SA は保存 1 時間目でほぼ消失し、SCD では保存 1 時間目に約半分となり 2 時間目で消失した。筋肉 pH は SA30°C が致死直後から低く (pH 6.0) 保存 1 時間目でそれ以下となったが、SCD30°C は保存 2 時間目までに pH 6.5 から 6.0 に緩やかに低下した。乳酸含量は致死直後 SA が SCD より高く、13°C 群では SA で  $54 \mu\text{mol/g}$ 、SCD で  $24 \mu\text{mol/g}$  であった。筋肉 pH と乳酸含量の間に有意な負の相関関係が認められ概ね pH 6.2 以下でヤケ肉が発生した。筋細胞間の拡張割合はヤケ肉 40%、正常肉 16% であった。以上より、養殖ブリのヤケ肉発生には高い飼育温度および苦悶が関係していると考えられた。（第 2 章）

第 3 章では、養殖ブリのヤケ肉発生における筋肉タンパク質の変化を検討するため、Mf  $\text{Ca}^{2+}$  及び  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性を測定するとともに筋肉の SDS-PAGE およびイムノブロットングを行った。まず、ヤケ肉モデルの筋肉タンパク質の変化は第 2 章でヤケ肉の発生した SA30°C と発生しなかった SCD20°C の条件の試料魚を用いて検討を行った。それぞれの背部普通筋より致死後 0, 2, 4 時間目に Mf を調製し、

Ca<sup>2+</sup>-ATPase 及び Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性を測定した。また 0, 4 時間目の背部普通筋の SDS-PAGE を行うとともにミオシン重鎖 (MHC), アクチン, α-アクチニンに対する抗体を用いたイムノブロティングを行った。さらに自己消化酵素とヤケ肉との関係を検討するため, 両群のカテプシン B と L 活性を測定した。

致死直後における Mf Ca<sup>2+</sup> 及び Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性は正常養殖ブリとヤケ肉モデルでそれぞれ明確な違いは認められなかった。しかし, 保存 2 時間目におけるヤケ肉モデルの Mf Ca<sup>2+</sup> 及び Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性は 0.1 μmol/mg/min 以下と大きく減少した。SDS-PAGE では致死直後の正常養殖ブリと比較してヤケ肉モデルのミオシンとアクチン双方の分解がみられた。イムノブロティングでもヤケ肉モデルのミオシンとアクチンの分解が確認できたが, 特にミオシンの分解が顕著であった。α-アクチニンはいずれの方法でも明瞭な変化が認められなかった。また, 酸性領域で働く自己消化に関連するカテプシン B と L 双方の活性はヤケ肉モデルが保存時間を通じて高かった。特にヤケ肉モデルのカテプシン L 活性は保存 2 時間目以降に大きく上昇した。ヤケ肉の特徴である L\*値および圧出水分量と両カテプシン活性との関係では, 両酵素とも有意に高い相関を認め, 中でもカテプシン L 活性 (対数値) とは極めて有意な正の相関 (L\*値 : r=0.62, p<1.0×10<sup>-5</sup>, 圧出水分量 : r=0.70, p<1.0×10<sup>-7</sup>, n=40) を示した。このことから, カテプシン L 活性の多寡がヤケ肉の発生に大きく関与していると考えられた。(第 3 章)

以上の結果から養殖ブリのヤケ肉発生には高温飼育後における苦悶死に伴う低 pH と高温による Mf ATPase 等の酵素の失活が関与し, 特にミオシンの分解が大きく関与していると考えられた。また, 夏季の高水温時における養殖ブリのヤケ肉発生防止には, 致死前に低温で飼育する必要があり, 苦悶死を避けるための脊髄破壊などの致死方法の検討が重要であると考察された。(第 4 章)