養殖ブリ及びカンパチ血合肉の冷蔵中の褐変現象の比較

森岡 克司,* 大西 研示, 伊藤 慶明

(2013 年 5 月 1 日 受付, 2013 年 6 月 23 日 受理)

高知大学農学部

Comparison of discoloration of dark muscle between cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* and amberjack *Seriola dumerili* during chilled storage

KATSUJI MORIOKA,* KENJI OHNISHI AND YOSHIAKI ITOH

Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan

This study was conducted to clarify the difference in discoloration profile of the dark muscle of cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* and amberjack *Seriola dumerili* during chilled storage. Discoloration of dark muscle was observed in yellowtail after storage for 24 h at 5°C, whereas no discoloration was observed in amberjack. The ratio of metmyoglobin (metMb) to total myoglobin (Mb) gradually increased in the dark muscle of both fish during storage, although it was higher in yellowtail than in amberjack. The pH of yellowtail dark muscle (pH 6.6) was lower than that of amberjack (pH 6.9). Similarly, the pH of yellowtail ordinary muscle (pH 6.0) was lower than that of amberjack (pH 6.1). Discoloration of the dark muscle of yellowtail initially appeared near the boundary between dark muscle and ordinary muscle. In crude Mb solutions prepared from the dark muscle of yellowtail and amberjack, the ratio of metMb to total Mb gradually increased during incubation at 25°C, and in both fish, this increase was accelerated by a decrease in pH from 7.0 to 6.0. These results indicate that a difference in the pH values of the dark and ordinary muscles of yellowtail and amberjack affects the difference in discoloration profile of dark muscle between these fish during chilled storage.

キーワード : pH, カンパチ, 褐変現象, 血合肉, フィレー, ブリ, 冷蔵

ブリ *Seriola quinqueradiata* 及びカンパチ *Seriola dumerili* を含むブリ類は, 日本の海面養殖魚総生産量の約 6 割を占める重要養殖魚である。¹⁾ 両種は, 同じブリ類であるが, その肉質は異なっており, 市場関係者の間ではカンパチはブリに比べて淡泊である, 身持ちがよい, 切り身の色持ちがよい, 歯応えがあるなどと言われており, 生食用としては, カンパチで比較的高い単価で取引されている。²⁾ これらの点に関連してこれまでに著者らは, ブリの歯応えは, カンパチに比べて低く, 周年大きく変動するが, カンパチではその変動が小さいこと, ブリ筋肉の脂質含量は, 周年大きく変動し, 脂質の増加に伴い, 筋隔付近ばかりでなく, 筋隔間にも細かく脂質が蓄積すること報告した。さらにブリの歯応えは, 筋肉の脂質含量と負の相関を, コラーゲン含量とは正の相関を示すが, カンパチでは, その歯応えはいずれのパラメーターとも相関を示さないことを報告した。³⁻⁵⁾ 一

方, カンパチ切り身の色持ちがよい点についての詳細は不明である。

ブリ類は, 主に刺身や切身などの生鮮品として消費者の下に届くが, ブリでは, 血合肉の変色が速く, 商品価値の低下を招いている。^{6,7)} 血合肉の褐変には, 肉組織中に存在するミオグロビン (Mb) が関与しており, 生鮮肉において Mb は, デオキシミオグロビン (還元型 Mb) または, これに酸素分子が結合 (酸素化) したオキシミオグロビン (オキシ型 Mb) として存在し, 還元型 Mb は暗赤色, オキシ型 Mb は鮮赤色を呈し, 両誘導体は 2 価ヘム鉄を有している。これら誘導体が酸化を受けると, ヘム鉄は 3 価になり, 褐色のメトミオグロビン (メト型 Mb, metMb) を形成し, この現象はメト化として知られている。⁸⁾

以上のように, 血合肉の褐変は Mb の酸化と関連しており, Mb の酸化を抑制することが血合肉の褐変の抑

制につながることから、抗酸化作用を有する成分を添加した飼料の開発が行われ、現在では、ユズ果汁,⁹⁾ オリーブ葉粉末,¹⁰⁾ γ -オリザノール,¹¹⁾ エノキダケ抽出エキス¹²⁾を添加した飼料により、ブリ血合肉のメト化が抑制されることが報告されており、一部は、実際に養殖現場で使用されている。このように養殖ブリの色持ちを向上させる技術は、徐々に進歩してきている。一方、同じブリ類のカンパチの血合肉は、前述したように、ブリより褐変が遅いと言われているが、兩種血合肉の褐変進行の差について同一保存条件で調べた例はなく、実際にメト化の進行にどの程度差があるのか、また兩種のメト化の差異にどのような要因が関係するのかについては不明である。これらの点を明らかにすることで、結果として養殖ブリ類の新たな褐変防止法の開発の一助となることが期待できると考えられる。そこで本研究では、市場に流通している養殖ブリ及びカンパチを対象にして、血合肉の冷蔵中の褐変を調べ、その差異の有無を調べることを目的とした。

材料と方法

供試魚 2007年7月から12月にかけて養殖ブリ *Seriola quinqueradiata* 及びカンパチ *Seriola dumerili* の活魚を高知県内の養殖魚卸売業者から購入した。市場で流通している養殖ブリは、主にEPにより飼育されたものが多く、一方、養殖カンパチは主に生餌で飼育されたものが多い。そこで今回は、ブリは市販EPにより、カンパチは生餌により、養殖されたものを使用した。供試魚を即殺・脱血後、氷に直に触れないようにポリ塩化ビニル製の袋に入れ、クーラーボックスに氷詰めして1時間以内に研究室まで輸送した。体長及び体重を測定後、魚体の内臓を除去し、ポリ塩化ビニル製の袋に入れ、1日間または4日間氷蔵したものを試料魚とした。なお、本研究では、市場流通において、即殺翌日に店頭に並ぶことを想定したものを魚体氷蔵1日、流通過程で3, 4日氷蔵・保管されることを想定したものを魚体氷蔵4日とし、両魚体から切り出した切身の褐変を比較した。また、用いたブリの体長は 60.1 ± 2.6 (cm)、体重は、 3478 ± 569 (g)、カンパチの体長は 59.0 ± 1.6 (cm)、体重は 3733 ± 252 (g) であった。

血合肉色の測定 1日間または4日間氷蔵した供試魚各2尾を3枚におろし、各フィレーにつき厚さ1 cmの切身を1枚、合計2枚切り出し、これを測定試料とし、プラスチックトレイに入れ、乾燥を防ぐために食品包装用ラップフィルムで包み、5℃の低温室で冷蔵した。調製直後を開始時(冷蔵0時間)とし、冷蔵時間0, 4, 8, 12, 24 及び48時間に、切身の血合肉のL*値、a*値及びb*値を色彩色差計(CR-300, コニカミノルタ 株)を用いて、試料1つにつき2回測定し、Mbのメト

化の指標となるa*値とb*値比(a*/b*値)^{6,13)}及び色差 ΔE^*ab を算出した。試験は、ブリについては2007年7月20日及び9月10日に、カンパチについては2007年9月10日及び10月22日に、各回2尾ずつを購入して行った。また各冷蔵時間において、にデジタルカメラ(Canon Super Shot A-80, 52 mm Close-Up Lens 250D 装着)にて切身を撮影した。なお、色差の程度の評語については、CR-300 取り扱い説明書の記載に従った。

ミオグロビン含量の測定 Mb含量の測定は、Krzywickiの方法^{14,15)}に準じて行った。まず、1日間氷蔵した供試魚(ブリは2007年11月28日及び12月6日にそれぞれ1尾、カンパチは2007年12月11日及び17日に2尾購入)2尾を3枚におろし、各フィレーから調製した細切血合肉2 gをプラスチック遠心管に取り、0.04 M リン酸緩衝液(pH 6.8)を20 mL添加し、ガラス棒で10分間攪拌した。これを8,000 rpmで5分間遠心分離し、上清を回収した。沈殿を用いて、同工程をもう一度繰り返し、回収した全ての上清を合わせ、濾紙(No. 5A 110 mm, 東洋濾紙)を用いて濾過した。得られたMb抽出液に2%(w/v)亜ジチオン酸ナトリウム溶液を1.85 mL添加した後、0.04 M リン酸緩衝液(pH 6.8)で全量を50 mLにし、親水性メンブレンフィルター(孔径: 0.45 μ m, DISMIC-13cp, 東洋濾紙 株)を用いて濾過したものを測定試料とした。これを分光光度計(DU 530, BECKMAN)で525 及び730 nmの吸光度を測定し、Mbの525 nmにおけるミリモル吸光係数7.6を用いた式からMb濃度を算出し、Mbの分子量を17,500 ダルトンとして、肉のMb含量(g/100 g meat)を求めた。¹⁵⁾なお、すべての操作は、低温下(5℃)で行った。

メト化率の測定 1日間または4日間氷蔵した供試魚各2尾を3枚におろし、各フィレーから血合肉をそれぞれ採肉し、フードプロセッサー(MK-K58, パナソニック 株)で細切した。細切した血合肉3 gをガラスシャーレに取り、厚さが均一になるように薄く広げた。これを各フィレより6枚、合計24枚調製し、メト化率測定試料とした。全てのガラスシャーレをチャック付きの塩化ビニル製の袋に入れ、5℃の低温室で冷蔵した。供試魚は、血合肉色の測定に用いたものと同じ魚体を使用した。メト化率測定試料の調製直後を0時間とし、冷蔵時間が0, 4, 8, 12, 24 及び48時間のときに低温室から試料を取り出し、Mb抽出液を以下の手順で調製した。まず、試料の血合肉3 gをプラスチック遠心管に取り、冷純水を10 mL添加し、ガラス棒で10分間攪拌した。これを8,000 rpmで5分間遠心分離後、上清を回収し、濾紙(No. 5A 110 mm, 東洋濾紙)を用いて濾過した。濾液を親水性メンブレンフィルター(孔径: 0.20 μ m または0.45 μ m, DISMIC-13cp, 東洋濾紙)を用いて濾過

し、等容の0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を添加したものをMb抽出液とした。このMb抽出液を用いてKrzywickiの方法¹⁴⁻¹⁶⁾によってメト化率を測定した。なお、すべての操作は、低温下 (5℃) で行った。

pHの測定 細切した血合肉及び普通肉1gをそれぞれガラスシャーレに取り、厚さが均一になるように薄く広げた。これを6枚、合計24枚調製し、pH測定試料とした。調製した試料は、チャック付き塩化ビニル製の袋に入れ、5℃の低温で冷蔵した。pH測定試料の調製直後を0時間とし、冷蔵時間が0, 4, 8, 12, 24及び48時間のときに低温から試料を取り出し、試料肉1gに冷純水を10 mL添加し、8,000 rpmで3分間ホモジナイズ後、pHメーター (F22, 榊堀場製作所) を用いてpHを測定した。供試魚は、血合肉色の測定に用いたものと同じ魚体を使用した。なお、すべての操作は、低温下 (5℃) で行った。

粗ミオグロビン溶液によるメト化のpH依存性試験 即殺後1日間氷蔵した供試魚 (ブリは2007年12月6日に、カンパチは2007年12月11日に購入) を3枚におろし、血合肉を採肉後、フードプロセッサー (MK-K58, パナソニック株) で細切した。細切した血合肉をプラスチック遠心管に取り、4倍量の冷純水を添加し、ガラス棒で10分間攪拌した。これを8,000 rpmで5分間遠心分離後、上清を回収し、濾紙 (No. 5A 110 mm, 東洋濾紙) を用いて濾過した。得られた濾液を1 M 水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを6.8~7.0に調整し、8,000 rpmで5分間遠心分離した。上清を回収し、3つに分け、pH 6.0, 6.5及び7.0の0.2 M リン酸緩衝液をそれぞれ等容添加し、それぞれpH 6.0区、pH 6.5区及びpH 7.0区とした。緩衝液添加後の各区のpHは、それぞれpH 6.0区で6.09~6.10、pH 6.5区で6.54~6.55、pH 7.0区で7.00であった。各Mb抽出液をそれぞれねじ口試験管に3 mL分注したものをメト化率測定試料とし、全ての試料を5℃もしくは25℃恒温水槽に静置した。ここで、5℃は、一連の保存試験と同様冷蔵を、25℃は室温を想定した。試料の調製直後を加温0時間として、経時的に恒温水槽から各ねじ口試験管を取り出し、メンブレンフィルター (孔径: 0.45 µm, DISMIC-13cp, 東洋濾紙) を用いて、Mb抽出液を濾過し、Krzywickiの方法に準じて、メト化率を測定した。

統計分析 Office Excel 2003 (Microsoft) を用いて、有意差検定 (Student's *t*-test) を行った。また、メト化のpH依存性試験においては、EXCEL統計Ver. 6.0 (エスミ) を用いて、Tukeyの方法により有意差検定を行った。

結 果

血合肉冷蔵中の褐変の比較 即殺後1日間氷蔵した

養殖ブリ及びカンパチから調製した直後の切身の血合肉のL*値、a*値、b*値及び両種の色差 ΔE^*ab をTable 1に示した。目視では、ブリ血合肉の色調は濃赤色であるのに対し、カンパチでは淡赤色であり、両種血合肉の色調は異なっており、色彩色差計によるL*値、a*値及びb*値でも差が見られた。L*値は、カンパチで41.50と、ブリの39.06に比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。一方、a*値は、ブリで22.09と、カンパチの21.43に比べて高い傾向が見られ、b*値もブリで11.93と、カンパチの10.62に比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。また、両種の色差 ΔE^*ab は2.8であり、色差の程度の評語で表すと、両種血合肉の色は、“感知し得るほど異なる (noticeable)” に該当した。

血合肉の赤色の濃淡は、主に肉中の色素タンパク質であるMbの量によって影響を受ける。^{17,18)} そこで、養殖ブリ及びカンパチ血合肉のMb含量を測定したところ、ブリ血合肉のMb含量は 848 ± 37 mg/100 g meatであるのに対し、カンパチ血合肉のMb含量は 757 ± 49 mg/100 g meatとブリで有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。ブリ血合肉のMb含量は、400~800 mg/100 g meatであると報告されており、¹⁷⁾ 本研究の結果は若干高い値を示した。

養殖ブリ及びカンパチから調製した切身おける5℃で冷蔵中の血合肉の経時的な色調の変化の代表例をFig. 1に示した。即殺後1日間氷蔵したブリから調製した切身の血合肉は、冷蔵12時間までに変化が見られなかったが、冷蔵24時間で一部が褐変し、冷蔵48時間で大部分が褐変した。ブリ血合肉の褐変は、普通肉との境目付近から起こり始めていた。一方で、即殺後1日間氷蔵したカンパチから調製した切身の血合肉は、冷蔵48時間までに褐変が見られず、ブリ血合肉の褐変はカンパチより速いことを確認した。

即殺後4日間氷蔵したブリから調製した切身の血合肉では、冷蔵12時間でわずかに褐変が見られ、1日間氷蔵したものより褐変が速く起こった。その後、冷蔵24時間で褐変部分は広がり、冷蔵48時間には血合肉全体が褐変した。一方、即殺後4日間氷蔵したカンパチ

Table 1 Color (L*, a*, b*)^{*1} and color difference (ΔE^*ab) value of dark muscle of cultured yellowtail and amberjack

Fish	L*	a*	b*
Yellowtail	39.06 ± 1.62 ^{*2}	22.09 ± 2.73	11.93 ± 1.65 ^{*2}
Amberjack	41.50 ± 3.47	21.43 ± 1.04	10.62 ± 0.90
ΔE^*ab	2.8		

^{*1} mean ± S.D. (n = 16)

^{*2} A significant difference ($p < 0.05$) was observed between yellowtail and amberjack.

Fig. 1 Changes in appearance of sliced meat prepared from cultured yellowtail and amberjack during storage at 5°C. Sliced meat was prepared from both fish stored in ice for one day and for four days after sacrificing.

から調製した切身の血合肉では、1日間氷蔵したものと異なり、冷蔵48時間で一部褐変が見られた。また、血合肉の褐変は、1日間氷蔵したブリのものと同様に普通肉の境目付近から起こっていた。以上の結果から、両種共に血合肉の褐変は、切身調製前の魚体の氷蔵期間に影響されることが明らかとなった。

養殖ブリ及びカンパチから調製した切身における5°Cで冷蔵中の血合肉の L^* 値、 a^* 値、 b^* 値及びMbのメト化の指標となる a^*/b^* 値^{6,13)}の経時変化をFig. 2に示した。即殺後1日間氷蔵した養殖ブリ及びカンパチから調製した切身における L^* 値は、両種共に冷蔵時間に伴い、わずかに上昇する傾向が見られたが、その変化は小さかった。ブリの a^* 値は冷蔵時間と共に低下し、冷蔵48時間までに7.93低下した。一方、カンパチの a^* 値はブリのような低下が見られず、冷蔵48時間において、ブリと比べて有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。両種の b^* 値は冷蔵時間と共にわずかに上昇した。また、冷蔵8時間以降のブリの b^* 値は、カンパチと比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。 a^*/b^* 値において、ブリでは冷蔵初期及び冷蔵12時間以降の低下が著しく、冷蔵48時間までに1.05低下したが、カンパチでは冷蔵初期でのみ低下が見られ、その後は緩やかに低下し、冷蔵48時間までに0.52低下した。冷蔵8時間以降のカンパチの a^*/b^* 値は、ブリと比べて有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。ブリ血合肉において、褐変の進行と a^*/b^* 値の低下は、冷蔵時間12~24時間で一致していた。

即殺後4日間氷蔵した養殖ブリ及びカンパチから調製した切身では、 L^* 値は、両種共に冷蔵8から12時間で一旦低下した後、冷蔵時間に伴い、上昇する傾向が見られたが、その変化は小さかった。 a^* 値において、ブリは冷蔵時間と共に低下し、冷蔵12時間以降に著しい低下が見られ、冷蔵48時間までに14.51低下した。カ

Fig. 2 Changes in L^* , a^* , and b^* values in dark muscle of sliced meat prepared from cultured yellowtail and amberjack during storage at 5°C. Sliced meat was prepared from both fish stored in ice for one day and for four days after sacrificing. L^* , a^* , and b^* values were determined using a chromo meter (CR-300, Konica Minolta). Data are presented as mean $\pm$ S.D. ($n = 8$). Asterisks show a significant difference ($p < 0.05$) between yellowtail and amberjack at the same storage time. Symbols are as follows: closed circle: yellowtail, open square: amberjack.

ンパチは1日間氷蔵したものから調製した切身と同様で、ほとんど低下が見られず、冷蔵24時間以降において、ブリと比べて有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。 b^* 値は両種共に冷蔵時間と共にわずかに上昇し、冷蔵4時間以降のブリはカンパチに比べて有意に高く ($p < 0.05$)、1日間氷蔵したものから調製した切身と同じような傾向だった。 a^*/b^* 値において、ブリは冷蔵初期及び冷蔵12時間以降に低下が著しく、冷蔵48時間までに1.34低下し、1日間氷蔵のものより大きく低下した。カンパチは、1日間氷蔵したものから調製した切身と同様の傾向で、冷蔵初期のみで低下が見られ、それ以降はほとんど低下が見られなかった。冷蔵12時間以降のカンパチの a^*/b^* 値は、ブリと比べて有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

冷蔵中の血合肉におけるメト化率の変化 養殖ブリ及びカンパチの細切した血合肉を5°Cで冷蔵し、経時的に

Fig. 3 Changes in the ratio of metmyoglobin to total myoglobin (metMb [%]) in dark muscle of cultured yellowtail and amberjack during storage at 5°C. Sliced meat was prepared from both fish stored in ice for one day and for four days after sacrificing. The metMb (%) was evaluated according to the method of Krzywicki. Data are presented as mean $\pm$ S.D. ($n=4$). Asterisks show a significant difference ($p<0.05$) between yellowtail and amberjack at the same storage time. Symbols are as follows: closed circle: yellowtail, open square: amberjack.

メト化率を測定した結果を Fig. 3 に示した。1 日間氷蔵した魚体から調製した血合肉において、ブリのメト化率は、切身から細切肉を調製した直後の開始時で 24.2% を示し、冷蔵時間と共に上昇し、冷蔵 48 時間で 65.4% まで上昇した。カンパチのメト化率は、開始時で 20.6% を示し、冷蔵時間と共に上昇し、冷蔵 48 時間で 48.3% まで上昇した。また、冷蔵 8 時間、24 時間、48 時間におけるブリのメト化率は、カンパチと比較して有意に高い値を示した ($p<0.05$)。4 日間氷蔵した魚体から調製した血合肉において、ブリのメト化率は、開始時で 28.5% を示し、冷蔵 12 時間まで著しい上昇が見られた。その後は、緩やかに上昇し、冷蔵 48 時間で 78.5% まで上昇した。カンパチのメト化率は、開始時で 27.7% を示し、ブリと同様に冷蔵 12 時間まで上昇が見られた。その後は、緩やかに上昇し、冷蔵 48 時間で 59.1% まで上昇した。また、冷蔵 12 時間から 48 時間におけるブリのメト化率は、カンパチと比較して有意に高い値を示した ($p<0.05$)。これらの結果から、血合肉のメト化の進行は、カンパチよりブリで速く、また両種とも魚体の氷蔵期間が長いほど、氷蔵 12 時間までのメト化の進行が速く、メト化率も高くなることが明らかとなった。

次に 1 日間または 4 日間氷蔵した養殖ブリ及びカンパチから調製した切身の 5°C 冷蔵中の血合肉の a^*/b^*

Fig. 4 Relationship between a^*/b^* value and metMb (%) in dark muscle prepared from cultured yellowtail and amberjack during storage at 5°C.

値とメト化率の相関関係を Fig. 4 に示した。両種共にマグロ普通肉と同様に¹³⁾ 養殖ブリ及びカンパチの血合肉の褐変 (a^*/b^* 値) と Mb のメト化率に高い負の相関が確認できた。この結果から、血合肉の細切肉を用いたメト化率の測定は、切身の血合肉の表面色の変化を検討するためのモデルとして利用できるものと判断した。

即殺後 1 日間または 4 日間氷蔵した養殖ブリ及びカンパチから調製した血合肉を 5°C で冷蔵し、経時的に pH を測定した結果を Fig. 5 に示した。1 日間氷蔵した魚体から調製した血合肉において、ブリの pH は切身から細切肉を調製した直後の開始時で 6.57 を示し、その後 6.6 付近で推移し、冷蔵 48 時間で 6.66 だった。一方、カンパチの pH は開始時で 6.85 を示し、その後はわずかに上昇し、冷蔵 48 時間で 7.06 だった。また、開始時から 48 時間において、カンパチの pH はブリと比較して有意に高い値を示した ($p<0.05$)。一方、普通肉の pH では、ブリは 6.0 付近で推移したのに対して、カンパチは 6.1 付近で推移し、冷蔵 8 時間以外でブリより有意に高い値を示した。また、血合肉の pH と比較すると、普通肉の pH は著しく低かった。

血合肉のメト化の pH 依存性 即殺後 1 日間氷蔵した養殖ブリ及びカンパチ血合肉から Mb を抽出後、pH 6.0、pH 6.5 及び pH 7.0 の 0.2 M リン酸緩衝液で pH を調整した Mb 抽出液を 25°C で加温し、経時的にメト化率を測定した (Fig. 6)。ブリでは、加温 0 時間における各 Mb 抽出液のメト化率は 6~9% で同程度だったが、加温 1 時間で pH 6.0 区は 33.2%、pH 6.5 区は 19.7%、pH 7.0 区は 12.0% まで上昇し、pH 6.0 区 >

Fig. 5 Changes in pH value in dark and ordinary muscle of sliced meat prepared from cultured yellowtail and amberjack during storage at 5°C. Sliced meat was prepared from both fish stored in ice for one day after sacrificing. Data are presented as mean $\pm$ S.D. ($n=4$). Symbols are as follows: closed circle: yellowtail, open square: amberjack.

Fig. 6 Effect of pH on the ratio of metmyoglobin to total myoglobin (metMb [%]) in crude myoglobin solution prepared from cultured yellowtail (a) and amberjack (b) dark muscle. Crude myoglobin solution was incubated at 25°C in 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0, 6.5, 7.0). Symbols are as follows: closed circle: pH 6.0, open square: pH 6.5, open triangle: pH 7.0. Data are presented as mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

pH 6.5 区 > pH 7.0 区の順で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。その後、加温時間と共にメト化率は上昇し、加温 10 時間で pH 6.0 区は 79.7%, pH 6.5 区は 60.7%, pH 7.0 区は 36.2% となり、加温 1 時間から常に pH 6.0 区 > pH 6.5 区 > pH 7.0 区の順で有意に高い値を示していた ($p < 0.05$)。カンパチにおいて、加温 0 時間における各 Mb 抽出液のメト化率は 15~16% で同程度だったが、加温 1 時間で pH 6.0 区は pH 6.5 区及び pH 7.0 区と比べて有意に高く ($p < 0.05$)、加温 2 時間で pH

Fig. 7 Effect of pH on the ratio of metmyoglobin to total myoglobin (metMb [%]) in crude myoglobin solution prepared from cultured yellowtail (a) and amberjack (b) dark muscle. Crude myoglobin solution was incubated at 5°C in 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0, 6.5, 7.0). Symbols are as follows: closed circle: pH 6.0, open square: pH 6.5, open triangle: pH 7.0. Data are presented as mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

6.0 は 31.0%, pH 6.5 区は 26.2%, pH 7.0 区は 18.8% まで上昇し、pH 6.0 区 > pH 6.5 区 > pH 7.0 区の順で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。その後、加温時間と共にメト化率は上昇し、加温 10 時間で pH 6.0 区は 77.6%, pH 6.5 区は 50.1%, pH 7.0 区は 31.2% となり、加温 2 時間から常に pH 6.0 区 > pH 6.5 区 > pH 7.0 区の順で有意に高い値を示していた ($p < 0.05$)。また、ブリ及びカンパチの Mb 抽出液は pH が同じであれば、ほぼ同様の傾向でメト化率は上昇した。ただし、ブリにおける pH 6.0 区の Mb 抽出液のメト化率は、カンパチのものより加温初期の上昇が著しく、若干傾向が異なったが、最終的には加温 10 時間で両種のメト化率は同程度となった。次に Mb 抽出液を 5°C で加温し、経時的にメト化率を測定した結果を Fig. 7 に示した。ブリ、カンパチとも 25°C 加温に比べ、メト化の進行は緩やかであった。ブリ Mb 抽出液では、25°C 加温と同様、5°C 加温時間においてもメト化率は pH 6.0 区 > pH 6.5 区 > pH 7.0 区の順で有意に高い値を示していた ($p < 0.05$)。一方、カンパチ Mb 抽出液では、加温 24 時間まではいずれの pH でもメト化率はあまり上昇せず、加温 48 時間では、pH 6.0 区においてメト化率は、pH 6.5 区及び pH 7.0 区に比べて有意に上昇したが、pH 6.5 区及び pH 7.0 区ではあまり上昇しなかった。

考 察

ブリ類は、主に刺身や切身などの生鮮品として消費者の下に届き、色や物性、風味等の官能的な品質がその商品価値を左右する。消費者はこれらの生鮮品を購入する

際、肉色を鮮度評価の目安とする現状がある。¹⁸⁾ そこでまず即殺後1日間氷蔵した養殖ブリ及びカンパチから調製した直後の切身の血合肉の色調を比較すると、ブリでは濃赤色であるのに対し、カンパチでは淡赤色と、その色調は異なっていた (Table 1)。Nakamura ら¹⁹⁾は、完全養殖クロマグロにおいて成長に伴い、Mb 含量が増加するとともに、普通肉の色調が淡赤色から赤色へ変化することを報告しており、ブリとカンパチでの血合肉の色調の差も、一義的には Mb 含量の差によるものと考えられた。一方、カンパチ血合肉にはブリ血合肉に見られない脂質の蓄積を示す白色の層が多数見られ (Fig. 1)、これがカンパチ血合肉の色を淡く印象付けているようであった。ブリ肉では、脂質が筋隔及び細胞周囲の結合組織に広く分布しており、⁴⁾ このような脂質の分布形式も血合肉の外観 (色調) に影響するものと推察した。

ブリ及びカンパチの切身を 5℃ で冷蔵したところ、ブリは 24 時間で血合肉が褐変したのに対して、カンパチは冷蔵 48 時間までに褐変が見られず、市場で流通している両種で“カンパチはブリより色持ちがよい”ことを確認できた。(Fig. 1) ブリについては、モイストペレット、⁹⁾ 生餌を中心とした混合試料 (生餌平均 63% 含有)、¹⁰⁾ EP¹²⁾ を給餌したもので、切身冷蔵中の血合肉の褐変が観察されており、今回の我々の結果も含め、ブリ血合肉の褐変は、切身の冷蔵中に進行するものと考えられる。一方、カンパチについては、実際に流通しているものが主に生餌で飼育したものであることから、生餌給餌カンパチを用いたが、血合肉の褐変は、ほとんど見られなかった。また著者らは、市販 EP 給餌で試験的に飼育した両種から調製した切身を冷蔵したとき、ブリでは、冷蔵中血合肉の褐変が見られたが、カンパチでは、褐変は見られなかった。(データは省略) 以上のことから、カンパチでは、切身冷蔵中の血合肉の褐変はブリよりも起こりにくいものと推察した。

両種の a^* 値及び a^*/b^* 値は冷蔵時間と共に低下したが、ブリは冷蔵 12 時間からの低下が著しかった。また、両種共に 4 日間氷蔵したものでは、1 日間氷蔵したものより褐変が速まり、魚体の氷蔵期間が冷蔵中の血合肉の褐変に影響することが明らかとなった。(Fig. 3) また両種共に 5℃ 冷蔵中の血合肉の a^*/b^* 値とメト化率の変化に高い負の相関が見られ、マグロ肉の結果¹⁹⁾ と同様に、両種の血合肉の褐変と Mb のメト化率が深く関係していることを確認できた。

両種血合肉の pH は、切身調製直後、ブリでは約 6.6、カンパチでは約 6.9 で、差が見られ、冷蔵中も両種とも切身調製直後の pH とほぼ同じ値で推移した。両種普通肉の pH は、切身調製直後、ブリでは約 6.0、カンパチでは約 6.1 で、冷蔵中は両種共に約 6.0 で推移し、血合肉の pH と差が見られた。(Fig. 5) 松浦ら²⁰⁾

は、魚類、哺乳類の Mb とともに、pH の低下によって自動酸化が著しく促進されることを明らかにしている。Chow ら²¹⁾は、凍結したティラピアの切身を、解凍後、10% 乳酸処理することで、氷蔵中の血合肉の褐変が進むことから、ティラピア Mb のメト化は pH の影響を受け、特に 6.3 以下で著しく進むことを報告した。今回見られた養殖ブリ及びカンパチ血合肉のメト化の進行の差異にも、両種血合肉の pH の影響が示唆されたことから、両種の Mb 抽出液を用いてメト化の pH 依存性を調べたところ、ブリ及びカンパチ血合肉から調製した Mb 抽出液は、pH が低いほど褐変が速く、メト化の進行も速い (pH 6.0 区 > pH 6.5 区 > pH 7.0 区) ことが明らかとなった。(Figs. 6, 7) この結果は Chow らの結果を支持するものである。一方、ブリの血合肉の pH は、約 6.6、カンパチの pH は、約 6.9 と、Chow らが指摘した pH 6.3 よりも高い値を示した。またブリでは、カンパチに比べて、血合肉の褐変が著しかったほか、粗 Mb 溶液を用いた試験での 5℃ 加温、25℃ 加温ともに初期においてブリ Mb 溶液でメトミオグロビンの生成が若干、速く進行する傾向が見られた。Mb のメト化には、Mb の構造安定性などそれ自身の性質が関係するほか、筋肉中にビタミン C やビタミン E などの抗酸化物質やメトミオグロビン還元酵素などの還元因子が関与することが報告されている。^{8,22,23)} Chiou ら²⁴⁾は、メトミオグロビン還元酵素溶液にマグロ肉を浸漬することで、冷蔵中のマグロ肉のメト化を抑止できることを報告した。今回見られたブリ及びカンパチの Mb のメト化の進行の差異には、両魚肉に含まれる Mb の構造安定性に対する pH の影響の差のほか、メトミオグロビン還元酵素などの還元因子に対する pH の影響の差などが関係する可能性もある。しかし、これまでに両種血合肉に含まれる Mb の構造安定性やメトミオグロビン還元酵素の性質についての報告はなく、今後、これらの点を検討していくことで、両種血合肉の褐変現象をより詳細に明らかにできるものと考ええる。

カンパチ Mb 溶液を用いた試験では、5℃ 加温で pH 6.5 区及び 7.0 区でメト化の進行が、細切血合肉でのメト化の進行に比べて非常に緩やかであった。Mb 溶液を用いた試験では、細切血合肉に含まれる脂質などの脂溶性成分が除去されている。Sohn ら⁷⁾は、ブリにおいて脂質の酸化が Mb の酸化に密接に関係することを報告しており、カンパチ Mb 溶液を用いた試験と細切試験でのメト化進行で見られた差の一因として、脂質成分の関与も考えられる。一方、脂質の酸化が Mb のメト化を促進するのか、逆に Mb のメト化が脂質の酸化を促進するのかについては不明な部分が多く、⁸⁾ 両種血合肉における Mb のメト化と脂質の酸化の関係については今後の課題であろう。

以上, 本研究では, ブリとカンパチの血合肉の褐変現象の差には, 両者の pH の差が関係することが示唆された。また, 両種の切身における血合肉の褐変は, 血合肉と普通肉の境目付近から起こる傾向が見られたが, これは両種普通肉の pH が血合肉の pH より低いことが影響したと考えられた。死後魚肉の pH には, 致死前の絶食²⁵⁾や致死条件^{26,27)}などが影響することが報告されている。Nakamura ら²⁵⁾は, 完全養殖クロマグロを 10 日間絶食させたとき, 普通肉の pH の低下がおさえられるとともに, Mb のメト化も抑制されることを報告している。養殖ブリ類は, 通常, 3~4 日程度餌抜き(絶食)してから, 出荷されるが, さらに餌抜き期間を伸ばすこと, 筋肉 pH の低下を抑制でき, 結果として Mb のメト化も抑制できるかもしれない。一方, 魚の致死条件については, 苦悶死したブリの普通肉の pH の低下は, 即殺したものより早く進むが,²⁶⁾ブリ及びカンパチの血合肉の pH がどの程度致死条件の影響を受けるかは不明である。また本研究では, カンパチ血合肉はほとんど褐変が見られなかったが, カンパチでも致死条件などによっては血合肉の褐変並びに Mb のメト化が進む可能性も考えられる。両種の Mb に及ぼす致死条件については, 今後明らかにする予定である。

文 献

- 平成 22 年度漁業・養殖業生産統計年報, 農林水産省大臣官房統計部, 東京, 2012.
- 阿部宗明, 本間昭郎. 「現代おさかな辞典 漁場から食卓まで」(山本保彦編) エス・ディー・エス, 東京. 1997; 290-582.
- Thakur DP, Morioka K, Itoh Y, Obatake A. Influence of muscle biochemical constituents on the meat texture of cultured yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) at different anatomical locations. *J. Sci. Food Agri.* 2002; **82**: 1541-1550.
- Thakur DP, Morioka K, Itoh Y, Obatake A. Lipid composition and deposition of cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* muscle in relation to meat texture. *Fish. Sci.* 2003; **69**: 487-494.
- Thakur DP, Morioka K, Itoh N, Wada M, Itoh Y. Muscle biochemical constituents of cultured amberjack *Seriola dumerili* and their influence on raw meat texture. *Fish. Sci.* 2009; **75**: 1489-1498.
- Hiraoka Y, Ohsaka E, Narita K, Yamabe K, Seki N. Preventive method of color deterioration of yellowtail dark muscle during frozen storage and post thawing. *Fish. Sci.* 2004; **70**: 1130-1136.
- Sohn J, Taki Y, Ushio H, Kohata T, Shiota I, Ohshima T. Lipid oxidations in ordinary and dark muscles of fish: Influences on rancid off-odor development and color darkening of yellowtail flesh during ice storage. *J. Food Sci.* 2005; **70**: 490-496.
- 落合芳博. 魚類ミオグロビンの構造安定性. 「水産物の色素」(平田孝・菅原達也編) 恒星社厚生閣, 東京. 2008; 19-31.
- 深田陽久, 橋口智美, 柏木丈弘, 妹尾歩美, 高桑史明, 森岡克司, 沢村正義, 益本俊郎. ユズ果汁添加飼料を給与したブリにおける血合筋の褐変抑制と筋肉中からのユズ香気成分の検出. 日水誌 2010; **76**: 678-685.
- 大山憲一, 榎野元秀, 植田 豊, 竹森弘征, 多田武夫. 養殖ブリの血合筋の褐変抑制に及ぼすオリブ葉粉末添加飼料の投与効果. 水産増殖 2010; **58**: 279-287.
- 長阪玲子, 風間貴充, 潮 秀樹, 坂本浩志, 坂本憲一. γ-オリザノールの添加がアスタキサンチン含有飼料によるブリ切り身の変色抑制作用に及ぼす影響. 日水誌 2011; **77**: 1101-1103.
- Bao HND, Shinomiya Y, Ikeda H, Ohshima T. Preventing discoloration and lipid oxidation in dark muscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina velutipes*) cultured medium. *Aquaculture* 2009; **295**: 243-249.
- Ochiai Y, Chow C, Watabe S. Evaluation of tuna meat discoloration by hunter color difference scale. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1988; **54**: 649-653.
- Krzywicki K. The determination of hem pigments in meat. *Meat Sci.* 1982; **7**: 29-36.
- 落合芳博. 品質成分, 色素, 動物色素. 「新・食品分析法」(日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編) 光琳, 東京. 1996; 669-678.
- Lee BJ, Hendricks DG, Cornforth DP. A comparison of carnosine and ascorbic acid on color and lipid stability in a ground beef pattie model system. *Meat Sci.* 1999; **51**: 245-253.
- 橋本周久. 色素タンパク質. 「白身の魚と赤身の魚—肉の特性」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 1976; 28-41.
- 木村 凡. 養殖魚の鮮度保持技術の現状と課題. 養殖 2000; **8**: 44-48.
- Nakamura Y, Ando M, Seoka M, Kawasaki K, Tsukamasa. Changes of proximate compositions and myoglobin content in the dorsal ordinary muscles of cultured Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* with growth. *Fish. Sci.* 2007; **73**: 1155-1159.
- 松浦文雄, 橋本周久, 横川田樹, 山口勝巳. 魚類ミオグロビンの自動酸化速度について. 日水誌 1962; **28**: 210-216.
- Chow C, Yang J, Lee P, Ochiai Y. Effects of acid and alkaline pretreatment on the discoloration rates of dark muscle and myoglobin extract of skinned tilapia fillet during iced storage. *Fish. Sci.* 2009; **75**: 1481-1488.
- 落合芳博, 橋本周久. 色素タンパク質. 「水産動物タンパク質の比較生化学物」(新井健一編) 恒星社厚生閣, 東京. 1989; 108-115.
- Bekhit AED, Faustman C. Metmyoglobin reducing activity. *Meat Sci.* 2005; **71**: 407-439.
- Chiou TK, PongCY, Nien FP, Jiang ST. Effect of metmyoglobin reductase on the color stability of blue fin tuna during refrigerated storage. *Fish. Sci.* 2001; **67**: 694-702.
- Nakamura Y, Ando M, Seoka M, Kawasaki K, Sawada Y, Miyashita S, Okada T, Kumai H, Taikamasa Y. Effect of fasting on physical/chemical properties of ordinary muscles in full-cycle cultured Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* during chilled storage. *Fish. Sci.* 2006; **72**: 1079-1085.
- 岡 弘康, 大野一仁, 二宮順一郎. 養殖ハマチの致死条件と冷蔵中における魚肉の硬さとの関係. 日水誌 1985; **56**: 1673-1678.
- 望月 聡, 佐藤安岐子. マサバおよびマルアジ筋肉の死後変化に対する致死条件の影響. 日水誌 1996; **62**: 453-457.