総説

核酸関連化合物からみた魚類鮮度化学研究の現状*

内山 均・江平重男

(1970年5月9日受理)

The Current Studies on the Freshness of Fish with Special Reference to Nucleic Acids and their Related Compounds

Hitoshi UCHIYAMA and Shigeo EHIRA**

魚類筋肉の ATP については、死後硬直、“洗い”の現象など、蛋白に中心をおいた右田¹⁾の綜述がある。また、斎藤²⁾は ATP に関する歴史的研究の概要を記述し、魚類、軟体動物などの筋肉中における ATP ならびに関連化合物について述べ、魚類鮮度との関係を論じている。両綜述とも 1961 年に発表され、前者は 1962 年にも続報³⁾が出ているが、それぞれ、当時の研究の現状を把握し、進むべき方向を示唆した点、水産化学における歴史的文献の一つであると思う。

以来 10 年、水産研究をとりまく情勢も変り、この間、応用学としての水産化学に要請された目的基礎研究あるいは開発研究なるものが幾つかあつた。そして、国立の研究機関においては、こうしたプロジェクトシステムによる研究開発が強化されてきたように思う。科学技術庁による“低温流通機構に関する総合研究”⁴⁾もそうしたものの一つであつたと思われる。これは、わが国の食料流通の今日の実態を分析し、今後の方向を指し示した、同庁資源調査会の“食生活の改善と食糧流通の近代化”勧告⁵⁾(1965)、いわゆるコールドチェーン勧告⁶⁾に基づいて、同年設定されたものである。それは、品質の規格化がいたつて困難と言われる生鮮三品、魚、畜肉、野菜の規格化が論理的根拠をもつて設定されるかどうか、また、現状の流通上での品質低下の実態調査などを骨子とするものであつた。国立の 9 研究所がこの研究を命ぜられ、5 年間の継続研究として発足した。著者らは、そのうち、氷蔵魚に関する研究の分担を課せられ、一応本年 3 月その任務を終了させてもらうことができた。このような事情から本稿の依頼を受けたが、以下の内容はあくまで魚類の品質判定という応用を指向したものであり、その間におけるわれわれのささやかな読書会での記録⁷⁾である。その記述の前に、多少の思考実験を試み、問題提起を明らかにしておきたい。

考えてみると、魚類の品質は鮮度と密接な関係があることがわかる。したがって、魚類鮮度化学は重要な課題としてとり上げられ、わが国におけるその関連報告は優に 100 報余りになる。そうした知見を通して提

* 東海区水産研究所業績 B 第 536 号

** 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Kachidoki, Chuo-ku, Tokyo)

本報報では以下の略号を用いる。

ATP: アデノシン三リン酸, ADP: アデノシン二リン酸, AMP: アデニール酸, IMP: イノシン酸, HxR: イノシン, Hx: ヒポキサンチン, GTP: グアノシン三リン酸, UTP: ウリジン三リン酸, CTP: シチジン三リン酸, CMP: シチジナーリン酸, CP: クレアチンリン酸, NAD: ニコチンアミド・アデニン・ニヌクレオチド, Ad: アデニン, Xa: キサンチン, G: グアニン, U: ウラシル, C: シトシン, G-1-P: グルコース 1 リン酸, G-6-P: グルコース 6 リン酸, R-1-P: リボース 1 リン酸, R-5-P: リボース 5 リン酸, F-1-P: フルクトース 1 リン酸, F-6-P: フルクトース 6 リン酸, F-1,6-dP: フルクトース 1,6 二リン酸, VB-N: 揮発性塩基窒素, TMA-N: トリメチルアミン窒素, PCA: 過塩素酸。

案された鮮度判定法は 20 数種⁹⁾ におよんでいる。ということは、これらの業績を参照し、当面するコールドチェーン構想の品質規定に利用できるものは、それを正しく継承して行かねばならない。だが、大学とちがつて、著者らのごとく、産業研究機関にいる者は、薄弱な論理から応用を指向するより、現場を通じて、既報の論理を学ぶ方が応用目的に接近しやすい。そこで、各地の漁港での魚類鮮度に関する聞き込み調査にはいつた。その過程で学んだことの第一は、水産の実験室化学と現場で言う鮮度との間にはかなりの隔りがあることであつた。こうした疑問をもつて、わが国の既報の鮮度判定法を検証してみると、有用と認められるものは極めて少なく、なかには鮮度低下を示すはずの沈殿反応が、漁獲直後の筋肉にすら形成することを知つた。そこで、是非とも考えなければならないことは、なぜ有用でないかを検討し、それを総括してみなければならないことである。

VB-N, TMA-N は、多くの鮮度判定法のうちでも広く採用され、現在でも用いられている方法である。これらが象徴するように、これまでの鮮度判定法の多くは、魚類の鮮度は細菌作用によつて低下するという発想が共通概念となつている。各種の細菌代謝生産物が、多くの魚類鮮度判定法の対象物質になつていることをみても、以上のことを指摘できる。だが、現場における漁師、市場仲買人らの鮮度なるものは、細菌作用との関連ではなく、魚自身の質的变化を経験によつて会得しているものであつた。いわゆる“生きのよさ”と言うのは、その集中的表現であらう。したがつて、コールドチェーン構想における品質規定とは、“生きのよさ”を表示できるようなものでなければならず、言うなれば、漁師、仲買人らの経験を納めさせ得るものでなければ役に立たない。それは応用研究の提案内容を吟味する上での、重要な検証の場であると言つてよいであらう。しかし、その原則自体は単純でも、その具体的表示はどうすればよいのであろうか。

こうした摸索の中で、最も注目を引いたのが SAITO ら⁹⁾ の提唱による K 値測定の鮮度判定法であつた。それは魚肉の PCA 抽出液の 250 mμ における吸光度 (A) と、この抽出液をアニオン交換樹脂にかけ、nucleotide を除いた 250 mμ の吸光度 (B)、すなわち HxR+Hx 含量を求め、 $K = B/A \times 100$ とし、K 値を鮮度の尺度とするものである。この報告は、1959 年に発表されているが、本邦では未だその有効性が検討されていないようであつた。そこで、即殺ヒラメ¹⁰⁾ を氷蔵し、その間の筋肉の細菌数、VB-N, TMA-N などとともに K 値を測定してみた。その結果、細菌数、VB-N, TMA-N の増大は顕著でないにもかかわらず鮮度の低下を来し、生鮮魚としての価値は約 10 日で消失することが認められた。そして K 値はその消失過程を判断するのに有力な指標であることを知つた。また、即殺カツオでは K 値の増大がヒラメに比べて著しく速く、K 値をもつて魚種による鮮度落ちの遅速を判断し得ることが予測できた。

野中ら¹¹⁾ が TARR の報告で例証しているように、魚類の腐敗の徴候が現われる時点での生菌数は $10^5/g$ 以上とされている。上述の実験において、そのような菌数になるのはヒラメでは約 2 週間、カツオでは 9 日後に至つてもそれに達しなかつた。菌数計算による鮮度判定には論理性のない点もあるが、LISTON¹²⁾ は English sole に増殖させた菌体を照射殺菌し、菌数が $10^3/g$ になるまでは腐敗活性が顕著でないとしている。つまり、氷蔵魚では菌数が増大する以前に鮮度の低下を来し、その低下原因を細菌作用に求めるには論理性がないということである。そして、その増大以前とは自己消化作用であり、それを探る一つの方法が K 値の追求であらう。したがつて、この観点から文献的にも考証しなければならないと言う帰納であつた。

魚肉 ATP の死後変化

魚肉 ATP に関しては、褐変反応の問題から論じた TARR^{13~19)} の詳細な報告がある。遊離 ribose の形成を魚種別に検討し、lingcod, lemon sole などは著しく、tuna, salmon などには少い。しかし、生きた魚を液体窒素凍結したものは痕跡であるとしている。褐変因子は遊離 ribose であり、魚肉は畜肉に比べてその形成が顕著である。そして NaHSO_4 あるいは *Lactobacillus pentoceticus* による褐変防止を提案している。わが国においても、山田ら^{20~22)} の報告があり、1948 年当時、サバ筋肉で、磷酸化反応によるアンモニアの形成を示唆したのは、鮮度化学史的にみて注目すべきであらう。その他、天野²³⁾、藤巻²⁴⁾、野口ら^{25,26)} の報告があり、漁獲条件や死後硬直に重点をおいた研究であるが、いずれも単報程度で終つているの

が惜しまれる。また、SHEWAN ら²⁷⁾は cod を氷藏し筋肉中の VB-N と TMA-N を測定する一方、non-phosphorylated sugar を分別定量し、その量が鮮度判定に役立つことを報告している。これは今日の ATP 関連化合物による鮮度判定に通じるものと言えるだろう。

以上の報告は、主として 1950 年代のものであるが、その後期から、Amberlite IRA 400 を用いたカラムクロマト法による斎藤らの報告が発表されている。それらは斎藤²⁾の綜述に論じられているので、ここでは、主として、1960 年以降の報告について紹介したいと思う。

報告の多くは、漁獲直後あるいは即殺した魚類を氷藏して、その間の ATP 関連化合物の消長をみたものである。JONES ら²⁸⁻³⁰⁾は休息 codling 筋肉の主要 nucleotide の 80% 以上は ATP であり、運動中に IMP に転換し、微量に存在していた GTP, UTP, CTP は疲労魚では検出されなかつた。硬直時の ATP は $0.18 \mu\text{mole/g}$ であり、産卵直前 (2 月) の栄養状態の悪いものと、7 月漁獲の良いものでは adenine nucleotide の変化に違いがあるが、IMP の分解パターンは同様であるとしている。TOMLINSON ら^{31,32)}は 0°C に貯蔵した lingcod 筋肉中の酸可溶性磷酸と核酸を分画定量し、前者には著しい変動があるのに、RNA-P, DNA-P 量には変化がない。このことから、遊離 ribose の来源は核酸ではなく、nucleotide である。また、筋肉を無菌的に採取し、 0°C に 3 週間貯蔵して無機磷酸の消長をみ、その増加は普通に氷藏した対照魚と大差がなかつたとしている。同様に、RHODES³³⁾は γ 線照射した牛肉および羊肉を 2°C に 70 日間貯蔵、IMP は 30~40 日で Hx に分解されることを観察し、自己消化作用は照射によつて抑制できないことを明らかにしている。すなわち、Hx の増大は細菌作用によらない鮮度低下の一端を明らかにしたものと言えるだろう。続いて、TOMLINSON ら³⁴⁾は steelhead trout を用いて、普通肉と血合肉の酸可溶性磷酸の消長から、魚体の硬直現象におよぼす血合肉の影響を示唆した BUTTKUS³⁵⁾の論旨を肯定的に述べている。その根拠は、血合肉の ATP の分解は著しく速いと言う点にある。KASSEMSARN³⁶⁾は Torrey Research Station の JONES, MURRAY らとともに、氷藏 haddock などの筋肉 ATP の消長を追求し、トロールで漁獲したものは、ATP が少なく IMP が主体である、これが次第に HxR から Hx に変化することを明らかにしている。lemon sole の場合、ATP から Ad が形成され、腐敗が進行すると 3 魚種とも Xa が形成されるとしている。このような結果を総括し、魚類筋肉における ATP の分解経路を第 1 図のごとくに示している。もちろん、同氏らも指摘しているごとく、R-1-P の形成などに多少の問題もあるが、主要な経路である ATP→

第 1 図 魚肉 ATP の分解経路、実線は主要経路を示す (B.-O. KASSEMSARN, B. SANZ PEREZ, J. MURRAY, and N. R. JONES (1963)³⁶⁾).

ADP→AMP→IMP→HxR→Hx は、その後多くの研究者によつて承認されている。鮮度判定がこの分解経路を基礎としているだけに、魚種を問わずそれが一定であると言うことは、重要な論理的基盤であり、それが 1963 年頃には確立されていたと言える。TARR ら³⁷⁻³⁹⁾は放射性 glucose, G-6-P を sockeye salmon, rainbow trout に静脈注射し、また、放射性 glucose, G-6-P, ATP, glycogen を lingcod 筋肉に加えて氷蔵し、glucose は EMP 回路にはいり、glycogen は amylolysis と glycolysis の反応を示すこと、そして ATP-¹⁴C は放射性の IMP と遊離 ribose に分解され、この遊離 ribose および glucose は G-6-P からは形成されないことを明らかにした。これは第 1 図の主要分解経路を証明する有力な証拠となる。

ところで、CREELMAN ら⁴⁰⁾が太平洋産サケ類、*Oncorhynchus tshawytscha*, *O. keta*, *O. kisutch*, *O. gorbusha* を用いて指摘しているように、その筋肉には顕著な Hx の蓄積をみず、HxR が蓄積する。同様の指摘はマルソーダを用いた竹田ら⁴¹⁾の報告にも認められ、著者ら^{42,43)}もカツオには Hx ではなく、HxR が蓄積することを吸光比から推定し、アジについてはカラムクロマトグラフィーで確認した。これに対して、MURRAY ら⁴⁴⁾は大西洋産のサケ、*Salmo salar* を用い、Hx が形成されると報じている。後述するように、JONES ら⁴⁵⁾は鮮度判定の指標物質として、Hx を測定することを提唱しているの、HxR 蓄積性の魚種については Hx をもつて鮮度判定はできないことになる。そこで、著者ら^{46,47)}は本邦産の魚類百数十種を氷蔵し、この蓄積性の相異を検討したが、マダイ、マゴロなどは HxR 蓄積性であり、ヒラメ、カレイ類は Hx 蓄積性であること、また両者の中間型と称すべきものが、サンマ、タチウオなどにみられることを知つた。このような違いがなぜあるのか、その理由はさらに検討しなければならず、また比較生化学的な興味もあるが、HxR 蓄積性であるアジ筋肉に、Hx 蓄積性のヒラメ筋肉抽出液を加えると、Hx 蓄積性に変換することが認められた。サケ類の場合、HxR 蓄積性なのは、riboside hydrolase の活性が弱いからであると CREELMAN ら⁴⁰⁾が説明しているけれども、一つの根拠と考えてよいであろう。しかし、魚肉を氷蔵しての実験であるから、それが魚種特有のものであるか、あるいは温度条件などによつて、蓄積性が影響されるかどうか、多少の検討を要するであろう。TARR⁴⁸⁾は cod 筋肉より riboside hydrolase を抽出し、HxR あるいは guanosine より、ribose が形成されること、しかも無機燐を加えなくとも分解が進行するが、R-1-P, R-5-P は分解されないとしている。このように、魚類筋肉 ATP の分解生産物には、HxR あるいは Hx の蓄積性の相違があるが、SAITO ら⁹⁾の K 値は、この両者の合計量をもつて鮮度の指標とするものであるから、蓄積性の如何を問わず、あらゆる魚種の鮮度判定に応用可能である。したがつて、わが国のように産業的に重要な魚種が多いところでは、K 値を採用しなければならないと結論される。

ところで、畜肉における ATP の分解過程には ITP, IDP, IMP の形成があるとの報告²⁹⁾がみられるが、鶏では魚肉と同じく、ATP→ADP→AMP→IMP→HxR→Hx であるとされ⁴⁹⁾、KHAN⁵⁰⁾の報告をみると IMP 含量は即殺時 2.8 mg/g (8.0 μ moles/g)、分解速度は魚肉に比べて緩慢であるが、品質判定には IMP 含量を測定する意義を認めている。また、鶏筋肉では Hx の尿酸および allantoin への分解の可能性を示唆している。

かくして、1964 年以降においては、この方面の研究が、魚類鮮度あるいは flavor quality の判定という応用を意識したものが数多く発表されている。SPINELLI ら⁵¹⁾は English sole などを氷蔵し、VB-N, TMA-N は鮮度の指標には不満足で、Hx 測定の意義を認め、PATASHNIK⁵²⁾は氷蔵 halibut について、FRASER ら⁵³⁾は mackerel につき、また DUGAL⁵⁴⁾は yellow walleye などを氷蔵して、いずれも Hx 測定の有効性を認めている。また、DYER ら⁵⁵⁾は sword fish を氷蔵し、5.2 μ moles/g あつた IMP は、19 日目に HxR になつたが、Hx は緩慢に増大し 1 μ mole/g に達した。血合肉では普通肉より分解が速く、また、HxR, Hx の測定は品質検査上有効であるとしている。ここで注目されるのは、血合肉の PCA 抽出液の 290 m μ の吸光値が、氷蔵日数とともに増大することを認め、尿酸形成の可能性を示唆していることである。この他、halibut⁵⁶⁾, petrale sole⁵⁷⁾ についての報告があり、FRASER ら⁵⁸⁾の red fish を用いた報告では IMP が氷蔵 3 日で消失し、Hx の形成が著しく速やかであつた。内臓酵素が体内に拡散して分解を促進する可能性があると考え、内臓を除去して実験したが、やはり速やかであつた。このため、Hx を鮮度の指標と

すると官能検査による鮮度低下の進行より著しく速く、Hx による鮮度判定は応用できないとしている。これは、その官能検査の内容にも問題があると思われる。なぜなら諸外国の官能検査を詳細にみると、魚を生食するわが国と違って、あいまいな点もないではない。この点については、わが国の市販魚類の鮮度調査と併せて後で検討してみたい。

わが国における、魚肉 ATP に関する研究で、直接鮮度を指向したものは少い。竹田ら⁵⁹⁾は産卵期のマグロ筋肉の IMP 含量を調査し、産卵後の含量は減少し、これが品質に関係しているだろうとしている。富山^{60,61)}は、コイ、ササノハベラを氷藏し、ATP の分解と VB-N および細菌数との関係を調べ、貯蔵初期における VB-N の形成は adenine nucleotide の脱アミノ作用によること、従来の変敗度を基礎とした鮮度ではなく、flavor quality の重要性を指摘している。また、上岡⁶²⁾は、養殖ハマチの出荷条件の基礎調査として、撲殺や、麻酔などで殺したものの氷藏中における筋肉 ATP の消長を調べ、品質判定には TMA-N ではなく、ATP 関連化合物を測定する必要を報告している。

なお、筋肉 nucleotide の魚体部位別分布の問題だが、SPINELLI⁵⁶⁾は halibut について IMP と Hx を測定し、部位別含量は類似しているとし、DUGAL⁵⁴⁾は white fish における左右半身の Hx 量の分散、平均値、および Hx の形成速度にはいずれにも有意な差が認められなかつたと述べている。しかし、著者⁶³⁾が即殺マダラ、ヒラメについて検討したところでは、背部では IMP が、尾部では HxR+Hx が主体をなす場合のあることがわかつた。つまり、試料の採取に当つては背肉を採る必要を認めた。

加工水産物については、サバ水煮缶詰などを用いて藤井^{64,65)}が、ニシン缶詰について HUGHES⁶⁶⁾が、また、干製品については和田⁶⁷⁾が報告している。著者らも、K 値の測定意義を中心として、ヒラメ¹⁰⁾、カツオ⁴²⁾、アジ⁴³⁾、マダイ、マダラ⁶⁸⁾、イカ⁶⁹⁾などを即殺して氷藏試験を実施し、その有用性について報告した。K 値の増大を魚種別にみると、タラ類、サバ類は最も急速であり、ヒラメ、タイ類は緩慢で、その中間にアジ、ブリなどがはいることがわかつた。すなわち、従来から言われている魚種による鮮度落ちの遅速のちがいが K 値に反映しているとみられる。

以上、基礎研究から応用研究という思考を通して、ATP 関連化合物の測定による鮮度判定法は、VB-N、TMA-N の測定に代り得る論理性をもつと結論してよいであろう。しかも、HASHIMOTO⁷⁰⁻⁷²⁾が記述しているように、これらの nucleotide は呈味成分として重要なものであり、その消失は flavor quality あるいは bitter “off” flavor に密接な関係がある。

1965 年に開かれた“水産動物筋肉におけるりん酸代謝に関する諸問題”のシンポジウムにおいては、富山⁷³⁾は魚類鮮度を bacterial freshness と enzymatic freshness という言葉を使つて、後者の重要性を強調している。これを受入れるならば、従来の水産化学における“鮮度”なる言葉は、多少とも明確にして使用しなければならないことになる。思えば、各種の防腐剤、CTC 氷が魚類の鮮度保持剤として使用されて来たが、その有効性はどのようなものであつたであろうか。最近いわゆる低温細菌⁷⁴⁻⁷⁶⁾に関する基礎知見が明らかにされ、魚類低温処理を想定した笹島⁷⁷⁾や興津⁷⁸⁾の報告にみられる TMA-N の形成も、中温細菌による還元作用^{79,80)}とはかなり違うことが指摘されている。同時に抗生物質の有効性も改めて再検討すべきとの指摘⁸¹⁾もある。博多、戸畑港における CTC 氷の使用状況を調査した底曳網協会の資料によると、昭和 39 年の 6,660 t から、44 年の 226 t に激減し、CTC としての、長崎、下関、博多港における購入合計も昭和 38 年の 138 kg から 44 年の 15 kg と同様の減少傾向を示している*。これらの事情は野外科学的思考⁸²⁾からみた有効性判断の一素材であり、応用研究というものは、最終的には現場検証してみなければならない重要性を物語るものと言えるだろう。その意味で、 γ 線照射による鮮度保持も、かつて、原子力平和利用という名の脚光をあびたものであるけれども、その有効性はどのようなものであろうか。後述する細胞の構造と機能という点から検証してみるべきだろう。

では、K 値の現場検証はどのようにしたらよいのであろうか。先にも述べたように、現場における“生

* 福岡県水産試験場、松尾新一氏、西海区水産研究所、浜田七郎氏の調査による。

第2図 即殺魚 (I), 高級まぐろ, 高級すし種 (II), 一般すし種 (III) の VB-N, TMA-N, および K 値の平均値の 95% 信頼区間 (内山・江平・小林・清水 (1970)⁸³⁾).

きのよさ」の判定は、経験技術とは言うものの、かなり適確に品質を判断しているとみられる。それは、水産業を支えてきた、伝統的意味での、日本的 flavor score とみることができる。市場仲買人、すし屋の職人は、その判断から利得を考え、彼らの生活をかけている。このような市販品を買求め、即殺魚を基準として、VB-N, TMA-N, K 値の母平均の 95% 信頼区間を調べたのが第2図⁸³⁾である。すなわち、VB-N, TMA-N の測定結果からは、即殺魚類、高級まぐろ、高級すし種、大衆店のすし種相互間に、何ら鮮度を識別し得る傾向は得られなかったが、K 値は即殺魚では 10% 以下、高級まぐろは 20% 前後、価格の安い大衆的すし屋のすし種は 40~60% に分布していることがわかった。このような結果は、現場における生鮮魚の品質を計量化する一つの方法と言える。また、その詳細は省略するが、各漁港における操業船の漁獲物は一定の鮮度で水揚げされているものではない。漁船研究所、葉室親正博士の依頼により、岩手県宮古港における操業船の漁獲物鮮度調査を行ない、K 値の測定から、漁業組合と協同で、漁船別鮮度の相異を示唆することができた。このような調査を、漁港別に、また産地から消費地市場⁸⁴⁾、さらに小売店舗⁸⁵⁾にいたる間についても実施し、流通上における鮮度低下段階がいかなる過程にあるかを明らかにすることができた。

言うまでもなく、魚類の鮮度という概念には極めて総括された意味が含まれている。それを K 値のみで規定するには不十分な点もある。だが、K 値の意味するものが十分なるものではないにせよ、以上の考察から鮮度判定に対する必須条件の一つとして、魚類の品質規定上、一応、確立されたものと結論してよいと思われる。そのためには、その有効性をさらに裏づけ、確実なものにする検討が行われなければならない。その接近方法の一つは、後述する細胞の構造と機能という観点から、それらが魚類の死後、どのような具体性をもつて変化して行くのかを明らかにすることだと思う。

魚肉 ATP 関連化合物の冷凍中における変化

魚肉 ATP の分解は酵素系による共役反応であるから、低温によつて反応が抑制されるのは想像に難くない。だが、冷凍技術的にみて、その抑制温度はどのようなものなのであろうか。

斎藤⁸⁶⁾らはコイ筋肉の緩慢凍結中、ATP は IMP に分解され、 $-5 \sim -8^{\circ}\text{C}$ の貯蔵では HxR, Hx が形成されることを報告し、尾藤ら⁸⁷⁾は ATP の測定から、 -2°C 付近でのこの値の低下は淡水魚にみられるが、海産魚では顕著でなく、原因は無機塩の相異によるものであると報告している。JONES ら^{88,89)}はトロールで

漁獲した cod を -78°C で凍結後、 -14°C 、 -20°C 、 -30°C に貯蔵した場合、いずれも glycolysis によつて、2週間までは ATP の増大をみるが、以後低下する。HxR は $0.047\text{ }\mu\text{mole/g}$ であつたが、 -14°C で 62週間後には $3.01\text{ }\mu\text{moles/g}$ に、 -20°C では $1.08\text{ }\mu\text{moles/g}$ に増大したが、 -30°C では増大は認められなかつた。Hx も -14°C では多少の増大をみたが、 -20°C 、 -30°C では変化がない。また、haddock についても同様の結果を得、これらのことから、 -14°C では ATP の分解に共役している ATPase, myokinase, AMP-deaminase, 5'-nucleotidase, nucleoside phosphorylase および hydrolase の活性を阻止することができないとしている。cod, haddock には凍結中、G が検出され、母体は IMP あるいは adenine nucleotide であろう。このような実験結果から、冷凍魚の保管は -20°C 以下にすべきだと示唆している。TOMLINSON ら⁹⁰⁾は lingcod を撲殺、 -10°C 、 -20°C 、 -30°C に 6 カ月間貯蔵し、酸不安定磷酸の減少は -30°C では緩慢になる。また、凍結直後の筋肉と凍結貯蔵中に変性した筋肉蛋白の結合 nucleotide の 90% 以上は ADP で、この含量は硬直前と冷凍変性した蛋白との間に相異は認められず、 100°C 、4~15 分間の加熱で遊離すると報告⁹¹⁾している。この外、竹田ら⁹²⁾はミナミマグロを -16°C ~ -18°C に 3~4 月間貯蔵し、DYER ら^{55,93)}は sword fish を -26°C に 4~5 カ月間貯蔵して、いずれも nucleotide の著しい減少がなかつた。しかし、 -26°C に 2 年間貯蔵した場合は IMP の減少および HxR の増大を認めたとしている。また、最近、上岡ら⁹⁴⁾はハマチを麻酔処理して殺したものおよび氷蔵 20 時間、4 日間というように鮮度区分したものを -75°C 、 -20°C に凍結し nucleotide の変化をみているが、麻酔処理筋肉の ATP 含量は凍結によつて著しい変化をうけないとしている。以上、上述した報告から、魚肉 nucleotide の分解は、 -26°C 以下の温度では抑制されるもののようである。したがつて、 -30°C 以下で貯蔵されている市販の冷凍魚の筋肉 IMP, HxR, および Hx は冷凍以前の含量を反映するものであり、ひいてはその測定から、冷凍原料魚の鮮度がどのようなものであつたかを推測することが可能と言える。この意味において、現在冷凍ケースで販売されている魚類の K 値は如何なるものであろうか、“消費者学”⁹⁵⁾の立場から調査することが望まれる。

一方、魚類の解凍条件と nucleotide の消長に関する報告は少ないが、西元⁹⁶⁾は K 値を上昇させないで解凍するには、急速短時間で行なう方がよいと述べ、著者らも東京中央市場におけるメバチマグロの解凍実験において、同様の結果を得た。解凍に関する研究は今後の重要課題の一つと思われるが、いずれにしても、現場におけるマグロの解凍方法には、K 値を増大させてしまう条件が多分にある。長期にわたる操業と -30°C 以下の船内保管条件で帰港しても、僅か半日程度の解凍で K 値を増大させてしまうのは、その実態を計量化した示唆がないためであろう。このようなことは、細菌汚染に対する食品衛生学的見地からも指摘されている。三村ら⁹⁷⁾は、東京中央市場の魚類取り扱いに関する継続調査から、生食するマグロの解凍には、細菌汚染を防止する低温衛生管理場およびせり場の設置の必要を説いている。コールドチェーンにおける品質とは、言うまでもなく、このような衛生学的問題と両立していなくてはならないが、石原⁹⁸⁾、河端⁹⁹⁾らは現状の魚類流通上には、種々の改善しなくてはならない問題があると指摘している。

一般に冷凍魚は、解凍後における鮮度低下が速やかであると言われている。こうした問題が魚肉 nucleotide の消長に反映しているだろうか。KEMP ら¹⁰⁰⁾は sole, salmon など -20°F (-28.8°C) と -40°F (-40°C) に凍結し、48 時間以内に解凍して 34°F (1.1°C) に貯蔵した場合、生鮮魚および解凍魚間に IMP の分解速度に有意な差は認められなかつたとしている。また、FRASER ら⁵³⁾も mackerel を用いて、 -26°C 、6 週間凍結後、 5°C に貯蔵、IMP の分解速度は非凍結魚を 5°C に貯蔵した場合と大差がないとしている。DUGAL⁵⁴⁾は white fish を -35°C 、5 週間貯蔵し、解凍後の氷蔵中における Hx の形成は非凍結魚の場合と著しい相違がないとし、著者ら⁴⁶⁾も魚種別 HxR, Hx の蓄積性を調査するに当つて、ヒラメを -20°C 、3 カ月間貯蔵後、再び氷蔵して Hx の形成をみたが、即殺魚を氷蔵した場合と顕著な違いは認められなかつた。したがつて、解凍魚の鮮度低下が著しいと言う問題は、ATP 関連化合物の消長と言うよりも、SIEBERT ら^{101~103)}が示唆しているように、魚類筋肉内顆粒の崩壊とその関連酵素の活性化に関係があるのかも知れない。

ATP 関連化合物の定量法

この問題については、中島¹⁰⁴⁾の綜述がある。だが、その後、魚肉 nucleotide の測定が鮮度判定に応用されるにおよんで、簡易迅速定量法あるいは自動分析法の開発が進んで来た。そこで、鮮度判定を目的としたものを中心に述べてみたい。

JONES ら¹⁰⁵⁾は Dowex 1×8 を用いて、魚肉 PCA 抽出液中の脱リン酸化化合物を蒸留水で溶出する batch 法および樹脂滲過法による鮮度判定法を発表し、続いて Hx を xanthine oxidase で尿酸に酸化し、これを 290 mμ で測定する簡易定量法⁴⁵⁾を発表している。本法はその後、BURT ら¹⁰⁶⁾によつて形成尿酸を 2,6-dichlorophenol indophenol で発色させ 618 mμ で自動分析されるようになった。この xanthine oxidase 法は、多くの研究者によつて採用されたが、HxR 蓄積性の魚種に応用できないことは前述したごとくである。そこで著者ら¹⁰⁷⁾は、nucleoside phosphorylase を用いて HxR を Hx に分解し、しかる後、xanthine oxidase で尿酸とする 2 酵素併用法を検討した。そして、本法はいかなる魚種の K 値測定にも利用し得ることを明らかにした。その他、酵素法では、xanthine oxidase, nucleoside phosphorylase および 5'-nucleotidase 併用による IMP 定量法⁶⁴⁾、hexokinase および G-6-P dehydrogenase を用いる定量法¹⁰⁸⁾などが報告されている。

カラムクロマト法では、中島ら¹⁰⁹⁾が用いた Dowex 1×8 ギ酸型樹脂が広く採用されているけれども、分画時間が長く、段階的に溶出液を交換する関係上、簡易に鮮度を判定するには不満足である。見元ら¹¹⁰⁾はこの点を回転装置と 3 種の溶出液を用いて迅速化をはかり、HxR+Hx, AMP+IMP, および ADP+ATP の 3 区分に分画する簡易定量法を発表しているが、回収率が低い難点がある。一方、SPINELLI ら¹¹¹⁾は、Dowex 1×2 塩酸型樹脂を用い、塩基と nucleoside は蒸留水で、nucleotide は 6N H₂SO₄ で分画、adenosine を、KMnO₄ を用いる DAVIS ら¹¹²⁾の方法で定量し、これを全 nucleotide 量から差引いて IMP 量を求めることを提唱している。これを追試してみたが、魚種によつては、6N H₂SO₄ を用いるため、260 mμ の吸光値が大きくなることを知り、これを改良すべく著者ら¹¹³⁾は稀塩酸と食塩を用いる K 値の迅速測定法について報告した。

連続濃度勾配 カラムクロマト法は TARR ら⁸⁸⁾によつて魚肉 ATP 関連化合物の定量に利用されている

第3図 魚肉 ATP 関連化合物の連続濃度勾配カラムクロマト法による自動分析 (AG 1×4 C1 型樹脂, 吸光度: 250 mμ, 260 mμ, 280 mμ). (清水・宇田・松宮・宮内・鴈野 (1969)¹¹³⁾).

が、分画に長時間かかる点、魚類鮮度判定に利用するには不十分である。そこで著者ら¹¹⁴⁾は簡易な濃度勾配装置を作成し、Dowex 1×4 塩酸型カラム、塩酸および食塩の溶出液による迅速定量法について報告した。現在、改良を加えて ATP から HxR および Hx にいたる化合物が約 120 分で分画され、流動セルあるいは autosampler の使用によつて半自動的に分析できることが明らかになった。清水ら¹¹⁵⁾は本法を汎用液体クロマトグラフに採用し、AG 1×4 塩酸型カラムを使用する自動分析法を考案した。第3図はその分画パターンであり、約 1 時間で分画することが可能という。その後、さらに改良を加え¹¹⁶⁾、HxR と Hx の分画、Xa, 尿酸などを含めて全化合物を 40 分で分画できることを明らかにした。このような知見を基礎として、K 値による“魚類鮮度判定機”なるものの開発が可能となつたと言える。

Purine, pyrimidine 塩基および nucleoside など

の測定については、JONES¹¹⁷⁾、新井ら¹¹⁸⁾が魚肉を、関ら¹¹⁹⁾が水産動物臓器を対象として、イオン交換クロマトグラフィーによる定量法について、また、見元¹²⁰⁾がゲル透過による分画法を報告している。なお、ATP 関連化合物の定量には、RATCLIFF ら¹²¹⁾が筋肉を想定した、AMP, IMP, HxR および Hx の各波長における分子吸光係数の一覧表が便利である。

Polyethyleneimine cellulose による薄層クロマトグラフ法は FRASER ら¹²²⁾によつて利用され、本法を用いて、relax させてから殺した cod 筋肉では、氷藏中 24 時間まで ATP の減少が認められなかつた。理由は CP 含量が多いからであるとしている。現在では、この薄層にした市販品が入手できるようになった。汙紙クロマトグラフ法については、鶏肉を用いて DAVIDEK ら¹²³⁾が、また、関ら¹²⁴⁾が 10 種の溶媒を用いてアワビ肝臓中の酸可溶性磷酸成分について同定している。著者ら¹²⁵⁾は、K 値による鮮度判定を甲殻類にも応用すべく、汙紙電気泳動法により、サクラエビ、イセエビの酸可溶性磷酸化合物について検索したが、homarine を除去すれば、魚肉の場合同様に鮮度判定ができる見通しを得た。この見解は DINGLE ら¹²⁶⁾が lobster を氷藏して、その筋肉の ATP 分解経路は魚肉とほぼ同様であるとしていることから肯定されるであろう。いずれにしても、鮮度判定の目的には、市場、検査所、試験場あるいは消費者センターなどで利用される可能性があるため、それぞれに応じた簡易判定法が考案されることが望ましい。

魚肉 ribose については、古くから TARR¹⁹⁾、JONES^{127,128)}らによつて、汙紙クロマト法が採用されているが、回収率が悪く、確実な方法とは言えない。著者ら¹²⁹⁾は、orcinol 反応を利用して hexose と pentose を同時に定量する FERNELL 法¹³⁰⁾を魚肉の ribose の定量に応用したが、正確であるけれども操作がやや煩雑であり、簡易定量法とするには不満足であつた。この点、ribose の特異反応である phloroglycinol による DISCHE の方法¹³¹⁾が、簡易定量への一つの道ではないかと考える。本法は魚肉の RNA 定量¹³²⁾に対しては有効であつた。

Hexose および pentose 磷酸について、JONES ら¹³³⁾は硼酸と塩化物による濃度勾配カラムクロマト法で、G-1-P, G-6-P, R-1-P, R-5-P, F-1-P, F-6-P および F-1,6-dP を分画し、それぞれ、anthrone, orcinol 反応で定量できるとし、BURT¹³⁴⁾はこれを自動分析する方法について述べている。

最近、各種の化合物の自動分析法が Technicon Autoanalyzer¹³⁵⁾ などによつて行なわれ、水産における応用の調査や一般分析、あるいは検査業務にも、このような装置の導入が要請されるようになってきた。

魚類筋肉核酸

魚類筋肉の ATP に関する報告に比べて、核酸に関するものは、いたつて少ないように思われる。しかし、DNA の構成々分である D-deoxyribose の発見が、わが水産化学の森 高次郎先生と LEVENE の業績^{136,137)} (1929) であることは、改めて銘記してよいであろう。TARR¹⁹⁾ は lingcod の筋肉に RNA を加えて、魚肉には強力な RNA 分解活性があるとし、TOMLINSON^{138,139)} は lingcod 筋肉より nuclease を抽出して、phosphodiesterase との共存性、基質特異性などを明らかにしている。しかし、筋肉それ自身の RNA, DNA 含量は氷藏中、変化がみられない。理由は核酸が蛋白質によつて nuclease 作用から防禦されているのであろうと考察^{31,32)}している。著者ら^{140,141)}もマダラ、ブリ、ヒラメを氷藏し、RNA, DNA 含量には変化が認め難いことを観察した。魚肉中の核酸含量については、太平洋産のサケ、タラなどを用いて、TARR¹⁴²⁾が報告し、RNA 42~142 mg/100 g, DNA 0.2~2.5 mg/100 g, 上田¹⁴³⁾は、フグ、メジナを用い、RNA-P 2.2~2.4 mg/100 g, DNA-P 0.8~8.2 mg/100 g としている。すなわち、その含量は、魚種によつてかなりの相違があることがわかる。著者ら¹⁴⁴⁾も、長野県の養殖コイの年間における RNA, DNA 含量を調査したが、肝臓 RNA は春から夏に急増し、冬季に低下するが、DNA は顕著な増減がない。そして、筋肉 RNA, DNA は年間を通じて著しい変動がみられないことを観察した。核酸の塩基組成は、その諸性質を知る重要な要因の一つだが、BLUHM ら¹⁴⁵⁾は sockeye salmon と lingcod の筋肉 RNA の組成を調べ、Ad を 1.0 mole とし、G, 2.0, C, 1.0, U, 1.25 mole ratio であると報告し、続いて、サケ精巢 DNA の生合成¹⁴⁶⁾に対する各種の放射性塩基のとり込み実験を行なつていく。周知のごとく、筋肉細胞の核は筋線維の表面に分

布し、最近、NISHIHARA¹⁴⁷⁾はその状態をコイを用いて鮮明な映像で示しており、LOVE¹⁴⁸⁾は cod 筋肉の冷凍傷害の程度を知るべく、圧縮ドリッブ中の DNA 量を測定して検討している。

以上、魚肉核酸についての報告を通覧すると、いずれも断片的で、応用を指向した継続的研究が少ないように思う。だが一方、近年における核酸の基礎研究は、蛋白質合成機構^{149,150)}と関連して、種々の知見を与えてくれる。そうした知見を基礎にして、LOEWY ら¹⁵¹⁾は、細胞の構造と機能という概念を強調し、生細胞における“machinery of life”という点から生物を統一的に考察する必要を指摘している。そこで、この指摘を応用の立場からとらえるならば、生鮮魚あるいは“生きのよさ”という“生”の概念には、生命現象における生化学的知見の応用と関係があるとみてよいであろう。たとえば、HENNINGS¹⁵²⁾は魚類の死後、細胞膜が透過性になる点に注目し、高低2高周波数における交流抵抗の比を求めて、魚類の鮮度測定器を考案している。これは、すでに有効と認められている^{153,154)}ものだが、その基盤となつているものは、生命現象における細胞膜の active transport 機能の変化を探るものであろう。また、前述した春から夏にかけてのコイ肝臓 RNA の増大は、蛋白合成を反映しているものだろうし、AGRANOFF¹⁵⁵⁾は金魚の訓練による記憶の形成が、脳細胞の蛋白合成反応と密接な関係があることを、蛋白への放射性アミノ酸のとり込みと、その合成阻害剤である puromycin を用いて明らかにしている。

一方、丸尾^{156,157)}、MIZUNO ら^{158~161)}は *Pseudomonas*-P などの膜構造物 (MgP 分画) を用いて、subcellular での生命維持の基本単位には、構造的秩序性がなくてはならない、その秩序構造物の機能を通して、

図版 1. ラッテ骨格筋の polysome, 右は蔗糖濃度勾配法によって分離した polysome.
(C. B. BREUER, M. C. DAVIES, and J. R. FLORINI (1964)¹⁶⁰⁾).

第4図 即殺直後のカツオ筋肉核酸のメチル化アルブミンカラムクロマトグラフィーによる分画, ×---× NaCl, ●---● 吸光度 260 mμ. (H. UCHIYAMA, S. EHIRA, and N. TSUCHIYA (1970)¹⁷⁶⁾).

ているのであろうか。FLORINI ら¹⁶⁸⁻¹⁷¹⁾は、ラッテ骨格筋の microsome 分画, pH 5 酵素, s-RNA などを反応系として, phe-¹⁴C の蛋白へのとり込みが認められること, しかも, m-RNA として poly U を添加するとそれが促進される, そして, 筋肉には myosin のとき巨大な分子を合成するに充分な polysome が存在することを電顕像¹⁶⁹⁾で示している(図版1)。これは DNase, chymotrypsin, papain では崩壊しないが, RNase で完全に monosome になる。こうした知見をさらに発展させて, HEYWOOD, RICH ら^{172,173)}は、鶏骨格筋ホモジネートの巨大 polysome をふくむ反応系で合成される蛋白質は, myosin であることを acrylamide gel 泳動法で実証し, myosin と polysome の coprecipitation に対する塩類濃度の影響を調べ, polysome の純化方法について示唆している。魚肉における myosin 合成に関する報告はないようだが, NISHIHARA¹⁴⁷⁾はコイ血合肉の電顕像で ribosome の存在を示唆しており, 著者ら¹⁷⁴⁾もヒラメ筋肉より ribosome を抽出し, それが動物細胞の ribosome としての特性を有する 40S, 60S であり, 氷蔵中に崩壊することを報告した。また, phenol 法¹⁷⁵⁾で抽出したヒラメ, カツオ筋肉の高分子核酸をメチル化アルブミンカラムクロマト法で分画し, DNA, s-RNA, r-RNA の存在を確認¹⁷⁶⁾することができた(第4図)。氷蔵中における r-RNA の変性をみると, カツオでは極めて急速であり, ヒラメでは緩慢¹⁷⁷⁾で, K 値の増大と符合することがわかる。すなわち, ATP の消失は ribosome 顆粒の構造維持¹⁷⁸⁾と何らかの関連があると考えられ, こうした考察から K 値の有効性をさらに実証できるのではないだろうか。

お わ り に

いずれにしても, 魚類の鮮度に重点をおいた自己消化の追求がさらに深められねばならない。真仁田¹⁷⁹⁾は無菌サバ筋肉を用いて, 酵素化学的に興味ある知見を明らかにし, 著者ら¹⁸⁰⁾も無菌マダラ, ブリ筋肉の ATP 関連化合物と高分子核酸の消長を調べ, これを一般氷蔵魚と比較して, 品質低下の様相が全く細菌作用と関係ないことを知った。また, 最近, TOKIWA ら¹⁸¹⁾は各種の魚類の筋原線維の fragmentation¹⁸²⁾の度合を調べ, 氷蔵魚類の品質および冷凍の影響について検討しているが自己消化の内容を探る新たな手がかかりとなるものと考えられる。思えば, 自己消化の研究は大谷武夫先生の業績¹⁸³⁾以来, きわめて少ない。水産業における国民食生活への動物性蛋白の供給は, 単なる蛋白質の供給ではなくして, 秩序構造を持つ“生きた細胞集団”としての魚であり, その状態如何によつては, 真の供給は成り立たない。その意味で, 魚類の“生きのよさ”の研究は, 冷凍および解凍問題とも関連して, なお明らかにしなければならない多くの課題

が残されていると言えよう。

本文の一部は野村総合研究所，松宮弘幸室長との討論に負うところがあり，それを記して厚く御礼申し上げる次第である。

文 献

- 1) 右田正男：本誌，**27**，934~945 (1961).
- 2) 斎藤恒行：本誌，**27**，461~470 (1961).
- 3) 右田正男：本誌，**28**，456~470 (1962).
- 4) 中野 英：フードサイエンス，**16**，11~15 (1967).
- 5) 科学技術庁資源調査会編：食生活の改善と食糧流通の近代化，7，資源協会刊，東京 (1965).
- 6) 平野 赴：これからの食品流通，ダイヤモンド社刊，東京 (1967).
- 7) 内山 均・江平重男：魚肉ソーセージ，**169**，41~51 (1969).
- 8) 天野慶之：魚肉鮮度検査法，公衆衛生社刊，東京 (1949).
- 9) T. SAITO, K. ARAI, and M. MATSUYOSHI: This Bull., **24**，749~750 (1959).
- 10) 内山 均・鈴木たね子・江平重男・野口栄三郎：本誌，**32**，280~285 (1966).
- 11) 野中順三九・橋本芳郎・高橋豊雄・須山三千三：水産食品学，74 pp.，恒星社厚生閣刊，東京 (1965).
- 12) J. LISTON: in "The Technology of Fish Utilization, International Symposium" (FAO, ed.), 53~57, Husum (1964).
- 13) H. L. A. TARR: *J. Fish. Res. Bd Canada, Prog. Rep. Pac.*, **74**，17~18 (1948).
- 14) H. L. A. TARR: *ibid.*, **92**，23~24 (1952).
- 15) H. L. A. TARR: *ibid.*, **98**，3~5 (1954).
- 16) H. L. A. TARR: *Nature*, **171**，344~345 (1953).
- 17) H. L. A. TARR: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **7**，522~527 (1949).
- 18) H. L. A. TARR: *ibid.*, **8**，74~81 (1950).
- 19) H. L. A. TARR: *Food Technol.*, **8**，15~19 (1954).
- 20) 山田紀作・新聞弥一郎：本誌，**14**，23~26 (1948).
- 21) 山田紀作・新聞弥一郎：本誌，**14**，41~43 (1948).
- 22) 山田紀作：本誌，**14**，44~47 (1948).
- 23) 天野慶之・尾藤方通・河端俊治：本誌，**19**，487~498 (1953).
- 24) 藤巻正生・古城健三：本誌，**19**，499~504 (1953).
- 25) 野口栄三郎・山本常治：本誌，**20**，1020~1023 (1955).
- 26) 野口栄三郎：日水研報告，**2**，109~145 (1955).
- 27) J. M. SHEWAN and N. R. JONES: *J. Sci. Food Agric.*, **8**，491~498 (1957).
- 28) N. R. JONES and J. MURRAY: *Biochem. J.*, **77**，567~575 (1960).
- 29) N. R. JONES and J. MURRAY: *Zeit. Vergl. Physiol.*, **44**，174~183 (1961).
- 30) N. R. JONES and J. MURRAY: *J. Sci. Food Agric.*, **13**，475~480 (1962).
- 31) N. TOMLINSON, V. M. CREELMAN, and K. G. REID: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **17**，371~376 (1960).
- 32) N. TOMLINSON and V. M. CREELMAN: *ibid.*, **17**，603~606 (1960).
- 33) D. N. RHODES: *J. Sci. Food Agric.*, **16**，447~451 (1965).
- 34) N. TOMLINSON, S. E. GEIGER, and W. W. KAY: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **21**，857~859 (1964).
- 35) H. BUTTKUS: *ibid.*, **20**，45~57 (1963).
- 36) B.-O. KASSEMSARN, B. SANZ PEREZ, J. MURRAY, and N. R. JONES: *J. Food Sci.*, **28**，28~37 (1963).
- 37) H. L. A. TARR and M. LEROUX: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **19**，519~520 (1962).
- 38) H. L. A. TARR and M. LEROUX: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **40**，571~589 (1962).
- 39) H. L. A. TARR: *J. Food Sci.*, **31**，846~854 (1966).
- 40) V. M. CREELMAN and N. TOMLINSON: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **17**，449~451 (1960).
- 41) 竹田正彦・示野貞夫：高知大学学術研究報告，**13**，自然科学 II，225~230 (1964).
- 42) 江平重男・姉川昌彦：本誌，**32**，716~722 (1966).

- 43) 内山 均・江平重男: 水産学会大会要旨, 67 pp., (1967. 4).
- 44) J. MURRAY, N. R. JONES, and J. R. BURT: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **23**, 1795~1797 (1966).
- 45) N. R. JONES, J. MURRAY, E. I. LIVINGSTON, and C. K. MURRAY: *J. Sci. Food Agric.*, **15**, 763~774 (1964).
- 46) 江平重男・内山 均: 水産学会大会要旨, 88 pp., (1969. 4).
- 47) 内山 均・江平重男: 低温流通機構に関する総合研究 III, 科学技術庁研究調整局編, 3~46 (1968).
- 48) H. L. A. TARR: *Biochem. J.*, **59**, 386~391 (1955).
- 49) M. TERASAKI, M. KAJIKAWA, E. FUJITA, and K. ISHII: *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 208~215 (1965).
- 50) A. W. KHAN, J. DAVIDEK, and C. P. LENTZ: *J. Food Sci.*, **33**, 25~27 (1968).
- 51) J. SPINELLI, M. EKLUND, and D. MIYAUCHI: *J. Food Sci.*, **29**, 710~714 (1964).
- 52) M. PATASHNIK: *Com. Fish. Rev.*, **28**, 1~7 (1966).
- 53) D. I. FRASER, D. P. PITTS, and W. J. DYER: *J. Fish. Bd Canada*, **25**, 239~253 (1968).
- 54) L. C. DUGAL: *ibid.*, **24**, 2229~2239 (1967).
- 55) W. J. DYER, D. I. FRASER, and D. P. LOHNES: *ibid.*, **23**, 1821~1833 (1966).
- 56) J. SPINELLI: *J. Food Sci.*, **32**, 38~41 (1967).
- 57) J. SPINELLI: *ibid.*, **30**, 1063~1067 (1965).
- 58) D. I. FRASER, S. G. SIMPSON, and W. J. DYER: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **25**, 817~821 (1968).
- 59) 竹田正彦・示野貞夫: 高知大学学術研究報告, **14**, 自然科学 II, 123~130 (1965).
- 60) 富山哲夫・小林邦男・北原慶子・白石悦子・大庭信良: 本誌, **32**, 262~266 (1966).
- 61) 富山哲夫・小林邦男・北原慶子・小橋昌裕: 本誌, **32**, 600~604 (1966).
- 62) 上岡康達・末光栄充・岡 弘康・酒井博行: 愛媛県総合化学技術指導所報告, **7**, 23~27 (1969).
- 63) 内山 均・江平重男: 水産学会大会要旨, 92 pp., (1968. 4).
- 64) 藤井 豊・野口栄三郎・蘇 国雄: 本誌, **34**, 1031~1035 (1968).
- 65) 藤井 豊: 東海水研報告, **55**, 185~193 (1968).
- 66) R. B. HUGHES and N. R. JONES: *J. Sci. Food Agric.*, **17**, 434~436 (1966).
- 67) 和田 卓: 昭和 44 年度指定調査研究総合助成事業「利用加工研究」報告書, 静岡県水産試験場刊 (1970).
- 68) 内山 均・江平重男・小林 宏: 水産学会大会要旨, 63 pp., (1968. 10).
- 69) 岩本宗昭・内山 均: 東海水研報告, **60**, 185~190 (1969).
- 70) Y. HASHIMOTO: in "The Technology of Fish Utilization International Symposium" (FAO. ed.), 57~61, Husum (1964).
- 71) 橋本芳郎・日本水産油脂協会報, **5**, 17~20 (1962).
- 72) 藤田孝夫・橋本芳郎・森 高次郎: 本誌, **25**, 147~152 (1959).
- 73) 日本水産学会シンポジウム (斎藤恒行編): 本誌, **32**, 195 pp., (1966).
- 74) 春田三佐夫: メデアサークル, **84**, 1~12 (1966).
- 75) J. FARREL and A. H. ROSE: in "Advances in Applied Microbiology" (W. W. UMBREIT, ed.), **7**, 335~378, Academic Press, New York (1965).
- 76) J. L. STOKES: in "Molecular Mechanisms of Temperature Adaptation" (L. PROSSER, ed.), 311~323, Pub. No. 84, Ame. Asso. Adv. Sci., Wash. D. C. (1967).
- 77) 笹島正秋: 東海水研報告, **55**, 205~214 (1968).
- 78) 興津知明・河端俊治: 本誌, **36**, 195~199 (1970).
- 79) T. UNEMOTO, M. HAYASHI, K. MIYAKI, and M. HAYASHI: *Biochim. Biophys. Acta*, **110**, 319~328 (1965).
- 80) 畝本 力・林 万喜・横井法子・宮本高明: 千葉大学腐研報告, **17**, 15~21 (1964).
- 81) 小島秩夫: 本誌, **35**, 793~796 (1969).
- 82) 川喜田二郎: 発想法, 3~64, 中央公論社刊, 東京 (1967).
- 83) 内山 均・江平重男・小林 宏・清水 亘: 本誌, **36**, 177~187 (1970).
- 84) 内山 均・江平重男・浜田七郎: 低温流通機構に関する総合研究 II, 654~669, 科学技術庁研究調整局編 (1968).
- 85) 内山 均・江平重男・小林 宏・海老根昭夫・加藤 登・小沼不二雄: 水産学会大会要旨, 83 pp., (1970. 4).

- 86) 斎藤恒行・新井健一: 本誌, **23**, 265~268 (1957).
- 87) 尾藤方通・天野慶之: 東海水研報告, **32**, 149~153 (1962).
- 88) N. R. JONES and J. MURRAY: *Biochem. J.* **80**, 26~27 (1961).
- 89) N. R. JONES: *Pro. 11th. Int. Cong. Ref. paper IV-5*, 917~922, Munich (1963).
- 90) N. TOMLINSON, R. E. E. JONAS, and S. E. GEIGER: *J. Fish. Res. Bd Canada*, **20**, 1145~1152 (1963).
- 91) N. TOMLINSON and S. E. GEIGER: *ibid.*, **20**, 187~194 (1963).
- 92) 竹田正彦・示野貞彦: 高知大学学術研報告, **14**, 自然科学 II, 115~121 (1960).
- 93) W. J. DYER and D. I. HILTZ: *J. Fish Res. Bd Canada*, **26**, 1957~1603 (1969).
- 94) 上岡康達・岡 弘康・酒井博行: 愛媛県総合化学技術指導所研究報告, **8**, 24~32 (1970).
- 95) 河野友美編: 魚, 食品事典, 真珠書院, 東京 (1969).
- 96) 西元諄一: 水産学会大会要旨, 86 pp. (1969. 4).
- 97) 三村静男・加藤孝雄・伊藤勝男・池沢聖明: 本誌, **35**, 810~817 (1969).
- 98) 石原 忠・保田正人・河端俊治・安永統男・大久保忠敬・高橋芳樹: 食衛誌, **9**, 442~448 (1968).
- 99) 河端俊治・安永統男・石原 忠・保田正人・大久保忠敬・高橋芳樹: 同誌, **9**, 449~454 (1968).
- 100) B. KEMP and J. SPINELLI: *J. Food Sci.*, **24**, 132~135 (1969).
- 101) G. SIEBERT and A. SCHMIDT: in "The Technology of Fish Utilization International Symposium" (FAO. ed.), 47~52, Husum (1964).
- 102) DE DUVE: *Sci. Ame.*, **208** (5), 64~72 (1963).
- 103) A. L. TAPPEL・S. SHIBKO・小笠原八十吉: 化学と生物, **3**, 401~408 (1965).
- 104) 中島宣郎: 本誌, **32**, 155~164 (1966).
- 105) N. R. JONES and J. MURRAY: *J. Sci. Food Agric.*, **15**, 684~690 (1964).
- 106) J. R. BURT, J. MURRAY, and G. D. STROUD: *J. Fd Technol.*, **3**, 165~170 (1968).
- 107) 江平重男・内山 均: 本誌, **35**, 1080~1085 (1969).
- 108) N. R. JONES, J. R. BURT, J. MURRAY, and G. D. STROUD: in "The Technology of Fish Utilization International Symposium" (FAO. ed.) 14~20, Husum (1964).
- 109) 中島宣郎・市川恒平・鎌田政善・藤田栄一郎: 日農化, **35**, 797~803 (1961).
- 110) 見元孝一・藤井 豊: 東海水研報告, **46**, 69~78 (1966).
- 111) J. SPINELLI and B. KEMP: *Agric. Food Chem.*, **14**, 176~178 (1966).
- 112) J. R. DAVIS and R. N. MORRIS: *Anal. Biochem.*, **5**, 64~69 (1963).
- 113) 小林 宏・内山 均: 東海水研報告, **61**, 21~26 (1970).
- 114) S. EHIRA, H. UCHIYAMA, F. UDA, and H. MATSUMIYA: *This Bull.*, **36**, 490~496 (1970).
- 115) 清水照夫・宇田文昭・松宮弘幸・宮内圭治・鴈野重威: *Japan Analyst*, **18**, 632~640 (1969).
- 116) 宇田文昭・清水照夫・村上宏規・松宮弘幸・内山 均: 日本水産学会大会要旨, 66 pp., (1970).
- 117) N. R. JONES: *Analyst*, **85**, 111~115 (1960).
- 118) 新井健一・斎藤恒行: 本誌, **29**, 168~173 (1963).
- 119) 関 伸夫・金谷俊夫・斎藤恒行: 本誌, **35**, 690~694 (1969).
- 120) 見元孝一: 東海水研報告, **50**, 41~47 (1967).
- 121) P. W. RATCLIFF and M. J. FOLLET: *Nature*, **209**, 1129~1130 (1966).
- 122) 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).
- 123) K. DAVIDEK and A. W. KHAN: *J. Food Sci.*, **32**, 155~157 (1967).
- 124) 関 伸夫・新井健一・斎藤恒行: 北大水産彙報, **17**, 184~192 (1967).
- 125) 江平重男・小林 宏・内山 均: 水産学会大会要旨, 43 pp., (1969. 10).
- 126) J. R. DINGLE, J. A. HINES, and D. I. FRASER: *J. Food Sci.*, **33**, 100~103 (1968).
- 127) N. R. JONES: *Biochem. J.*, **62**, 7 pp., (1956).
- 128) N. R. JONES: *ibid.*, **68**, 704~708 (1958).
- 129) 江平重男・内山 均: 本誌, **33**, 136~140 (1967).
- 130) W. R. FERNELL: *Analyst*, **78**, 80~83 (1953).
- 131) Z. DISCHE and E. BORENFREUND: *Biochim. Biophys. Acta*, **23**, 639~642 (1957).
- 132) 内山 均・小林 宏・江平重男: 水産学会大会要旨, 44 pp., (1969. 10).
- 133) N. R. JONES and J. R. BURT: *Analyst*, **85**, 810~814 (1960).
- 134) J. R. BURT: *Analyt. Biochem.*, **9**, 293~302 (1964).

- 135) L. T. SKEGGS, ed.: Automation in Analytical Chemistry, TECHNICON SYMPOSIA 1965, Medical Incorporated, New York (1966).
- 136) J. N. DAVIDSON: The Biochemistry of the Nucleic Acid, METHUEN & Co LTD, 6th ed. 9-10 London (1969).
- 137) P. A. LEVENE and T. MORI: *J. Biol. Chem.*, **83**, 803~816 (1929).
- 138) N. TOMLINSON: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 633~643 (1958).
- 139) N. TOMLINSON: *ibid.*, **37**, 945~952, (1959).
- 140) 内山 均・江平重男・小林 宏: 水産学会大会要旨, 44 pp., (1969. 10).
- 141) 土屋伸邦・江平重男・内山 均: 水産学会大会要旨, 91 pp., (1968. 4).
- 142) H. L. A. TARR: *Annu. Rev. Biochem.*, **27**, 228 pp., (1958).
- 143) 上田泰司: 長崎大学水産学部研究報告, **10**, 170~173 (1961).
- 144) 内山 均・江平重男・竹内昌昭・小林 宏: 東海水研報告, **59**, 75~80 (1969).
- 145) H. M. BLUHM and H. L. A. TARR: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **35**, 767~769 (1957).
- 146) H. L. A. TARR: *ibid.*, **42**, 51~57 (1964).
- 147) H. NISHIHARA: *Arch. Histol. Jap.*, **28**, 425~447 (1969).
- 148) R. M. LOVE: *J. Sci. Food Agric.*, **4**, 199~203 (1958).
- 149) R. SCHWEET and J. BISHOP: in "Molecular Genetics" (J. H. TAYLOR, ed.), 353~404, Academic Press, New York (1963).
- 150) 丸尾文治: 化学と生物, **1**, (2), 2~11 (1963).
- 151) A. G. LOEWY and P. SIEKEVITZ: in "Cell Structure and Function", 3~5, Holt. Rinehart and Winston, New York (1963).
- 152) C. HENNINGS: in "The Technology of Fish Utilization International Symposium" (FAO, ed.), 154~158, Husum (1964).
- 153) H. WITTFOGEL and H. L. SCHLEGEL: *ibid.*, 162~164 (1964).
- 154) Bureau of Commercial Fisheries, Technological Laboratory, Gloucester, Mass., U. S. A.: *ibid.*, 165~167 (1964).
- 155) B. W. AGRANOF: in "Bio-organic Chem., Readings from Sci. American", (M. CALVIN and M. J. JORGENSEN, ed.), 291~298, W. H. Freeman and Company, San Francisco and London (1967).
- 156) 丸尾文治・高橋 甫・吉田恵津子・水野重樹: 東大応用微生物研究所シンポジウム第3集, 305~318 (1961).
- 157) 吉田恵津子・水野重樹・三井宏美・高橋 甫・丸尾文治: 酵素化学シンポジウム第15集, 177~182 (1961).
- 158) S. MIZUNO, E. YOSHIDA, H. TAKAHASHI, and B. MARUO: *Biochim. Biophys. Acta*, **49**, 609~611 (1961).
- 159) E. YOSHIDA, H. MITSUI, H. TAKAHASHI, and B. MARUO: *J. Biochem.*, **48**, 251~261 (1960).
- 160) Y. NAGATA, S. MIZUNO, and B. MARUO: *ibid.*, **59**, 404~410 (1966).
- 161) 水野重樹: 化学と生物, **1**, 301~302 (1963).
- 162) A. RICH: in "The Living Cell, Readings from Sci. American" (D. KENNEDY, ed.), 160~169, W. H. Freeman and Company, San Francisco and London (1965).
- 163) 川出由己: 生物物理, **3**, 15~36 (1963).
- 164) 次田 浩: 科学, **33**, 181~187 (1963).
- 165) 魚住武司・有馬 啓: 化学と生物, **3**, 569~574 (1965).
- 166) D. ELSON: *Biochim. Biophys. Acta*, **36**, 372~386 (1959).
- 167) P. F. SPAHR and B. R. HOLINGWORTH: *J. Biol. Chem.*, **236**, 823~831 (1961).
- 168) J. R. FLORINI: *Biochemistry*, **3**, 209~215 (1964).
- 169) C. B. BREUER, M. C. DAVIES, and J. R. FLORINI: *ibid.*, **3**, 1713~1719 (1964).
- 170) J. R. FLORINI: *ibid.*, **4**, 253~257 (1965).
- 171) C. B. BREUER and J. R. FLORINI: *ibid.*, **4**, 1544~1550 (1965).
- 172) S. M. HEYWOOD, R. M. DOWBEN, and A. RICH: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **57**, 1002~1009 (1967).
- 173) S. M. HEYWOOD, R. M. DOWBEN, and A. RICH: *Biochemistry*, **7**, 3289~3296 (1968).

- 174) H. UCHIYAMA, T. SUZUKI, S. EHIRA, and K. KANNA: *2nd International Congress of Food Science and Technology* 164 pp., Warszawa (1966).
- 175) K. KIMURA, J. TOMODA, and A. SHIBATANI: *Biochim. Biophys. Acta*, **108**, 540~550 (1965).
- 176) H. UCHIYAMA, S. EHIRA, and N. TSUCHIYA: *This Bull.*, **36**, 74~82 (1970).
- 177) 内山 均・江平重男: 水産学会大会要旨, 68 pp., (1967. 4).
- 178) Y. OHTAKA and K. UCHIDA: *Biochim. Biophys. Acta*, **76**, 94~104 (1963).
- 179) 真仁田英明・小泉千秋・野中順三九: 本誌, **35**, 1027~1033 (1969).
- 180) 内山 均・江平重男・小林 宏: 水産学会大会要旨, 89 pp., (1969. 4).
- 181) T. TOKIWA and H. MATSUMIYA: *This Bull.*, **35**, 1099~1109 (1969).
- 182) K. TAKAHASHI, T. FUKAZAWA, and T. YASUI: *J. Food Sci.*, **32**, 409~413 (1967).
- 183) 大谷武夫: 水産学会報, **5**, 1~174 (1928).