K 値の温度履歴の理論式、近似式と偵察実験

原 明 弘・宇 田 文 昭

(1984 年 3 月 5 日受理)

Theoretical and Experimental Studies on the Time-Temperature Tolerance of Fish Muscle K Value

Akihiro HARA*¹ and Fumiaki UDA*²

The Time-Temperature Tolerance (T-TT) of fish muscle during storage under various temperature conditions was investigated using K value as a freshness estimation index.

K value of fish muscle during the early stage of storage at a low temperature, where the freshness of fish is not affected by bacterial action, is nearly predicted by the following equation.

$$K(t) = 100 - (100 - K(0))e^{-kt}$$

where k is the rate constant of IMP degradation, t is storage time, and $K(t)$ is K value at t . The rate constant k obeys Arrhenius's function:

$$k = Ae^{-(E/RT)}$$

where E is activation energy (cal/mol), R is gas constant, T is absolute temperature, and A is constant (1/day).

When temperature changes with the other conditions being the same as described above, K value at a given storage time and temperature is predicted by the following approximate equation.

$$K(t_2) = K(t_1) + \left\{ a_1 \int_{t_1}^{t_2} \theta(t) dt + a_2 \int_{t_1}^{t_2} \theta(t)^2 dt + a_3 (t_2 - t_1) \right\} (100 - K(t_1))$$

where a_1 to a_3 are constants, t is storage time, $\theta(t)$ is temperature at t , and $K(t)$ is K value at t .

K value at first increases gradually by auto-degradation, and then usually after an inflection point shows another rapid increase which is caused by bacterial action.

漁場で漁獲されてから水揚げされるまで何度の温度条件下で何時間経過したとき、どの位の魚類鮮度判定恒数、K値になるのか。それからいろいろな流通過程での温度履歴を経て、小売の店頭で並べられたときのK値はどうか。その魚が売れ残って、翌朝店頭で並べるときでは？このように任意の温度パターンの時間的経過を与えたとき、魚のK値はどのようになるのであろうか。温度履歴と品質劣化については T-TT (Time-Temperature Tolerance) という言葉があるが、任意の温度履歴に対する T-TT の定量的関係は、魚の鮮度についても現在のところあまり明確にされていない。また、その関係を求めるための基礎データも公表されている資料からでは不十分であると判断されるので、K値に関する T-TT の関係の理論式とその近似式を求め、サバとタイを用いた偵察実験により、その検証を行なった。

この実験は、ライフエンジニアリング (株) が水産庁から委託された「57年度水産物集中処理配送システム開

発検討調査事業」並びに全国漁業協同組合連合会から委託された「全漁連船橋集配センター企業化調査」の二つの課題を実施するために設けた、水産および水産以外の食品分野の学識経験者で構成した委員会*³の承認のもとに行なわれたものである。発表の御了承をいただいた水産庁、全漁連および委員会に深謝申し上げます。またデータの提供とヒントをいただいた大洋漁業 (株) と同東京支社副支社長岩淵富士丸氏、恒温温室等の実験場所の提供と実験およびデータ解析を援助していただいた味の素 (株) と同情報システム部河合健司氏、中央研究所白井 満氏ならびに試験魚を調達していただいた香川県連東京営業所長陶山一昭氏に感謝申し上げます。

資料および実験方法

資料 K 値の温度履歴に関する T-TT の理論式 (後述) の検証と腐敗菌が与える K 値への影響の指摘のための資料として、大洋漁業 (株) より提供されたサバ

*¹ ライフエンジニアリング株式会社 (Life Engineering Co. Ltd., Akihabara 1-9, Taitou, Tokyo 110, Japan).

*² 株式会社 野村生物科学研究所 (NRI Life science, Kajiwarra, Kamakura, Kanagawa 247, Japan).

*³ 「57 年度水産物集中処理配送システム開発検討調査委員会」、「全漁連船橋集配センター企業化調査委員会」、委員長はいずれも中井 昭東京水産大学教授

Fig. 1. Changes in K values of Pacific mackerel muscle during storage at 0° (●—●), 5° (×—×), 10° (○—○), 20° (□—□) and 25°C (△—△).

Fig. 2. Changes in concentration of histamine in Pacific mackerel muscle during storage at 0° (●—●), 5° (×—×), 10° (○—○), 20° (□—□) and 25° (△—△).

Scomber japonicus についての K 値とヒスタミンのデータ⁴⁴を用いた。Fig. 1 および Fig. 2 はそれを図示したものである。

また K 値が最初ゆるやかに立上ることにつながる

ATP 関連化合物の動向を知るための資料として同じく大洋漁業 (株) より提供されたハマチ (ワカシ) *seriola quinqueradiata* についてのデータを用いた。Table 1, 2 に示す。

Table 1. Changes in levels of ATP and its related compounds in muscle of a young yellowtail (No. 1) during storage at 15°C**

	(μmol/g)					
h	ATP	ADP	AMP	IMP	HxR+Hx	Total
0	5.2 (46)*	1.2 (11)	0.8 (7)	3.9 (35)	0.1 (1)	11.2 (100)
5.5	1.2 (12)	0 (0)	0.7 (7)	8.3 (81)	0 (0)	10.2 (100)
11.5	0 (0)	0 (0)	0.5 (4)	11.1 (90)	0.7 (6)	12.3 (100)
17.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4.4 (92)	0.4 (8)	4.8 (100)
23.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10.0 (88)	1.4 (12)	11.4 (100)
29.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9.1 (72)	3.5 (28)	12.6 (100)
35	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8.6 (75)	2.9 (25)	11.5 (100)
41.3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9.7 (71)	4.0 (29)	13.7 (100)
47.2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10.8 (70)	4.6 (30)	15.4 (100)

* Numerals in parentheses are percentages of total amounts.

** Unpublished data from Taiyo Fishery Co., Ltd.

Table 2. Changes in levels of ATP and its related compounds in muscle of a young yellowtail (No. 2) during storage at 15°C**

	(μmol/g)					
h	ATP	ADP	AMP	IMP	HxR+Hx	Total
0	7.4 (65)*	0.9 (8)	1.0 (9)	2.0 (18)	0.1 (1)	11.4 (100)
5.5	0 (0)	0 (0)	0.5 (6)	7.8 (86)	0.7 (8)	9.0 (100)
11.5	0 (0)	0 (0)	0.4 (3)	13.2 (91)	0.9 (6)	14.5 (100)
17.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16.4 (91)	1.7 (9)	18.1 (100)
23.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	14.7 (89)	1.8 (11)	16.5 (100)
29.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10.9 (76)	3.5 (24)	14.4 (100)
35	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15.0 (84)	2.9 (16)	17.9 (100)
41.3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	12.2 (74)	4.2 (26)	16.4 (100)
47.2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11.9 (76)	3.7 (24)	15.6 (100)

* Numerals in parentheses are percentages of total amounts.

** Unpublished data from Taiyo Fishery Co., Ltd.

⁴⁴ 大洋漁業 (株) より日本缶詰協会へ提供されたデータ

Table 3. Temperature of storage room and sampling time during T-TT experiments

Sample		1st day								2nd day							
Group	No.	10	12	14	16	18	20	22	24	2	4	6	8	10	12	14	16 (h)
A	1	7°C															
	2	(1)			(2)								(3)			(4)	
B	3	7°C								24°C							
	4			(1)								(2)		(3)		(4)	
C	5	7°C								24°C							
	6			(1)								(2)		(3)		(4)	
D	7	24°C				7°C								24°C			
	8		(1)		(2)							(3)				(4)	
E	9	24°C				7°C								24°C			
	10		(1)		(2)								(3)			(4)	
F	11	24°C				7°C								24°C			
	12		(1)		(2)							(3)				(4)	
G	13	34°C				7°C								34°C			
	14		(1)		(2)								(3)			(4)	
H	15	24°C															
	16				(1)											(2)	

Arrows ↑ indicate sampling time.

実験方法 K 値に関する T-TT の理論式を簡略化した近似式 (後述) を検証するため“鯖の生き腐れ”, “腐っても鯛”と言われるマサバ *scomber japonicus*, マダイ *Pagrus major* を代表魚種に選び, 下記の方法で実験した。

マダイ (約 1 kg, 紀州産, 第 1 日午前 2 時即殺, 氷水保蔵) およびマサバ (約 500 g, 前日銚子港水揚, 氷水保蔵) は香川県漁連東京営業所に依頼し, 入手した。恒温温室は 7°C, 24°C (湿度 78%), および 34°C (湿度 78%) を用いた。

タイおよびサバ各 16 尾について, Table 3 に示したような温度履歴の異なる A~H の各試験区 (1 区 2 尾) をもうけた。試験魚は 1 試験区 (タイ, サバ計 4 尾) ないし 2 試験区ごとにポリエチレン袋にまとめて入れ, さらに脱臭剤を加えて袋の端を折りたたんだ。したがって, 非サニタリー的に相互に影響を受ける可能性の下に

あった。^{*5} また, 積重ねられた下側の魚は上側の魚と比べて, 過渡的には同一温度でなく最高 3°C の差があった。サンプリングは数 g を切り取り, -40°C に凍結し保管した。K 値は酵素法¹⁾により測定した。

結果および考察

K 値の温度履歴に関する理論的考察 温度一定下で時間と共に K 値がどのように変化するかについては, いろいろな魚種について報告されているが,²⁻⁵⁾ Fig. 3 のように, K 値が最初ゆるやかに立上り一次反動的に上昇した後, 変曲点をもって再び立上って増加し, やがて停滞または若干減少するパターンが一般によくみられる。

仮説的に考えたのは, 最初から変曲点までは, 腐敗菌の影響が無視される状態下における魚筋肉の自己消化過程の生化学的変化であり, 変曲点以降の動向は腐敗菌が増殖した結果の反応ではないかということである。[Fig.

^{*5} 同じ袋の中なので, サンプリングのため, 切取った個所から出る体液が他の魚にもかかるので, 他の魚に汚染の影響を与えやすい。

Fig. 3. Schematic diagram of change in K values of fish muscle during storage at a constant low temperature at which temperature influence of bacterial action is at first less than auto-degradation of fish muscle.

1 および Fig. 2 に示したデータを用いてこの仮説を検討した。

1. 魚体の死後の生化学的变化

生物の死後、筋肉内 ATP はその酵素により $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} \rightarrow \text{AMP} \rightarrow \text{IMP} \rightarrow \text{HxR} \rightarrow \text{Hx}$ という経路で分解され、さらには尿酸まで酸化される。しかし中々 Hx から尿酸に酸化されにくいことから、ATP 関連化合物の総量は筋肉 1g あたりにつきほぼ一定とすることができる。魚類筋肉内では、IMP までの過程は比較的短時間（数時間）で進行するから、やがて、IMP, HxR, Hx の合計は ATP 関連化合物の総量とほぼ等しくなり、一定の値を示すとしてよい。ATP 関連化合物の濃度をモル比百分率で表わせば、近似的に K 値を次のような (1) 式として表わすことができる。

$$K = \frac{\text{HxR} + \text{Hx}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}} \times 100$$

$$K = \frac{[\text{HxR}] + [\text{Hx}]}{[\text{IMP}] + [\text{HxR}] + [\text{Hx}]} \times 100$$

$$K = \frac{C - [\text{IMP}]}{C} \times 100$$

$$([\text{IMP}] + [\text{HxR}] + [\text{Hx}] = C)$$

[] をモル比 % で表わせば $C = 100$

$$K = 100 - [\text{IMP}] \quad (1)$$

1.1 一次反応近似: いま、IMP から HxR への脱リン酸反応を一次反応とし、反応速度定数を k とすると (2) 式として表わされる。

$$\frac{-d[\text{IMP}]}{dt} = k [\text{IMP}] \quad (2)$$

(2) 式を積分して

$$[\text{IMP}] = [\text{IMP}]_{t=0} e^{-kt} \quad (3)$$

(1) 式に用いると

$$K = 100 - [\text{IMP}]_{t=0} e^{-kt} \quad (4)$$

$t = 0$ とすると

$$K_{t=0} = 100 - [\text{IMP}]_{t=0}$$

これを (4) 式に用いて

$$K = 100 - (100 - K_{t=0}) e^{-kt} \quad (5)$$

これが実際に適用できるかどうかを Table 4 のデータにより検討した。 $K_{t=0}$ には 0 日の K 値 29.7 を用い、 k は各温度毎に、0 日と 1 日との K 値差により求めた。例えば 5°C は $k = (42.3 - 29.7)/100 = 0.126/\text{日}$ であるから 5°C の理論式は $K = 100 - 70.3 e^{-0.126t}$ となる。こうして求めた理論値と実測値の比較を Table 4 に示す。 5°C と 10°C の 1~5 日のデータは理論値と実測値とが比較的良好に合っていることがわかる。しかし 20°C および 25°C では、理論値と実測値の乖離が大きくなる。この乖離の理由は、後に考察するように、高温になるにつれて、腐敗菌の増殖が早く、その影響による IMP 分解の促進が無視できなくなり、それが加わって実測値が理論値を上まわったものと解される。後述するように乖離する日が、腐敗菌がその温度で増殖して腐敗段階とみられる 10^7 個/g に達するまでの日数とほぼ符号していること、そしてまた実際の観測でもその日が腐敗段階に入ったと記録されているからである。

Table 4. Changes in the observed and calculated K values of muscle of Pacific mackerel during storage at 5° , 10° , 20° and 25°C

Days	5°C		10°C		20°C		25°C		(%)
	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	
0	—	29.7	—	29.7	—	29.7	—	29.7	
1	30.8	42.3	40.0	45.5	45.0	54.2	53.6	71.9	
2	45.4	50.0	48.7	50.6	56.9	65.1	69.4	84.1	
3	51.8	52.3	56.2	58.9	66.3	83.5	79.8	84.4	
4	57.5	53.0	62.6	61.6	73.6	82.7	—	—	
5	62.5	—	68.1	—	—	—	—	—	
6	67.0	66.2	72.8	84.9	—	—	—	—	
7	70.9	66.1	76.7	84.0	—	—	—	—	

したがって以上から比較的温度が低く経過時間が短い間、すなわち腐敗菌の影響が無視できる範囲では、IMP がほぼ生成された後は一次反応に従う、とみなせる。

1.2 反応速度定数の温度変化: 反応速度数 k の温度による変化率がアレニウスの式によるとすれば (6) 式として表わされる。ただし一次反応が成立つ範囲 (腐敗菌の影響が小さい範囲) を対象としている。

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E}{RT^2} \quad (6)$$

E: 活性化エネルギー, cal/モル (反応に特有な定数)

R: 気体定数, 1.986 cal/°K・モル

積分すると

$$k = A e^{-E/RT} \quad (7)$$

A: 反応に特有な定数, 1/日

未知数が A と E と 2 つあるので, 5°C, 10°C のデータから連立方程式で A, E を求め (7) 式により, 20°C, 25°C のデータについてどれほど当てはまるものかチェックしてみる。

前述の 5°C および 10°C のデータ (5°C=278 K; $k=0.126$ /日, 10°C=283 K; $k=0.158$ /日) を用いると E は

$$\frac{\ln(0.158) - \ln(0.126)}{283 \text{ K} - 278 \text{ K}} = \frac{E}{R \times 280.5 \text{ K}^2}$$

$$\frac{E}{R} = \frac{0.2263}{5} \times 280.5^2 = 3561$$

$$E = 3561 \times 1.986 = 7072 \text{ (cal/mol)}$$

(7) 式より 10°C のデータを用いると A は

$$A = 0.158 \div e^{-3561/283} = 0.158 \div (3.430 \times 10^{-6})$$

$$= 4.608 \times 10^4 \text{ (/日)}$$

以上のようにして求めた E および A の値を用いて, 20°C および 25°C の k を計算すると 20°C では 0.243/日 (実測値: 0.245/日), 25°C では 0.297/日 (実測値: 0.416/日) となった。20°C では実測値と非常によく一致したが, 25°C では, 理論値に比べ 40% も実測値が大きな値を示した。これも高温域では, 腐敗菌による影響が早く大きく出たためと推定される。しかし予想以上に合っており, 細菌の影響が小さく一次反応が成立つ範囲では, アレニウス則が適用できることがわかった。

2. 最初のゆるやかな立上がり

ATP から ADP, さらに AMP, IMP, HxR, Hx へと進む各反応がすべて一次反応と仮定したとき, 各 ATP 関連物質の動向について時間的關係を検討してみる。

反応速度定数を上記のように $k_1 \sim k_4$ とする。これら ATP 関連物質のモル濃度の総量に対するモル濃度百分率構成比を [] で表わすと ATP 関連化合物の総量を 100(%) 一定として,

$$\begin{aligned} & [\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}] + [\text{IMP}] + [\text{HxR}] + [\text{Hx}] \\ & = 100 \end{aligned} \quad (1)$$

まず [ATP] → [ADP] について

$$\frac{-d[\text{ATP}]}{dt} = k_1 [\text{ATP}]$$

これより

$$[\text{ATP}] = [\text{ATP}]_{t=0} e^{-k_1 t} \quad (8)$$

[ADP] の増減を考えると

$$\frac{d[\text{ADP}]}{dt} = k_1 [\text{ATP}] - k_2 [\text{ADP}]$$

(8) 式を代入すると

$$\frac{d[\text{ADP}]}{dt} + k_2 [\text{ADP}] = k_1 [\text{ATP}]_{t=0} e^{-k_1 t}$$

すなわち線形の微分方程式となる。これを解くと

$$\begin{aligned} [\text{ADP}] &= \frac{k_1}{k_2 - k_1} [\text{ATP}]_{t=0} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \\ &+ [\text{ADP}]_{t=0} e^{-k_2 t} \end{aligned} \quad (9)$$

同様にして

$$\begin{aligned} [\text{AMP}] &= \frac{k_1 k_2}{k_2 - k_1} [\text{ATP}]_{t=0} \left\{ \frac{e^{-k_1 t}}{k_3 - k_1} - \frac{e^{-k_2 t}}{k_3 - k_2} \right. \\ &\quad \left. - \left(\frac{1}{k_3 - k_1} - \frac{1}{k_3 - k_2} \right) e^{-k_3 t} \right\} \\ &+ \frac{k_2}{k_3 - k_2} [\text{ADP}]_{t=0} (e^{-k_2 t} - e^{-k_3 t}) + [\text{AMP}]_{t=0} e^{-k_3 t} \end{aligned} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} [\text{IMP}] &= \frac{k_1 k_2 k_3}{k_2 - k_1} [\text{ATP}]_{t=0} \left[\frac{e^{-k_1 t}}{(k_3 - k_1)(k_4 - k_1)} \right. \\ &\quad - \frac{e^{-k_2 t}}{(k_3 - k_2)(k_4 - k_2)} - \left(\frac{1}{k_3 - k_1} - \frac{1}{k_3 - k_2} \right) \\ &\quad \times \frac{e^{-k_3 t}}{k_4 - k_3} - \left\{ \frac{1}{(k_3 - k_1)(k_4 - k_1)} \right. \\ &\quad \left. - \frac{1}{(k_3 - k_2)(k_4 - k_2)} - \left(\frac{1}{k_3 - k_1} - \frac{1}{k_3 - k_2} \right) \right. \\ &\quad \left. \times \frac{1}{k_4 - k_3} \right\} e^{-k_4 t} \Big] + \frac{k_2 k_3}{k_3 - k_2} [\text{ADP}]_{t=0} \\ &\quad \times \left\{ \frac{e^{-k_2 t}}{k_4 - k_2} - \frac{e^{-k_3 t}}{k_4 - k_3} - \left(\frac{1}{k_4 - k_2} - \frac{1}{k_4 - k_3} \right) e^{-k_4 t} \right\} \\ &+ \frac{k_3}{k_4 - k_3} [\text{AMP}]_{t=0} (e^{-k_3 t} - e^{-k_4 t}) + [\text{IMP}]_{t=0} e^{-k_4 t} \end{aligned} \quad (11)$$

$$K = [\text{HxR}] + [\text{Hx}]$$

$$\begin{aligned} &= 100 - \frac{[\text{ATP}]_{t=0}}{k_2 - k_1} \left[\frac{k_2 k_3 k_4}{(k_3 - k_1)(k_4 - k_1)} e^{-k_1 t} \right. \\ &\quad - \frac{k_1 k_3 k_4}{(k_3 - k_2)(k_4 - k_2)} e^{-k_2 t} - \left(\frac{1}{k_3 - k_1} - \frac{1}{k_3 - k_2} \right) \\ &\quad \times \frac{k_1 k_2 k_4}{k_4 - k_3} e^{-k_3 t} - \left\{ \frac{1}{(k_3 - k_1)(k_4 - k_1)} \right. \\ &\quad \left. - \frac{1}{(k_3 - k_2)(k_4 - k_2)} - \left(\frac{1}{k_3 - k_1} - \frac{1}{k_3 - k_2} \right) \right. \\ &\quad \left. \times \frac{1}{k_4 - k_3} \right\} k_1 k_2 k_3 e^{-k_4 t} \Big] - \frac{[\text{ADP}]_{t=0}}{k_3 - k_2} \end{aligned}$$

$$\times \left\{ \frac{k_3 k_4}{k_4 - k_2} e^{-k_2 t} - \frac{k_2 k_4}{k_4 - k_3} e^{-k_3 t} - \left(\frac{1}{k_4 - k_2} - \frac{1}{k_4 - k_3} \right) k_2 k_3 e^{-k_4 t} \right\} - \frac{[\text{AMP}]_{t=0}}{k_4 - k_3} \\ \times (k_4 e^{-k_3 t} - k_3 e^{-k_4 t}) - [\text{IMP}]_{t=0} e^{-k_4 t} \quad (12)$$

なお当然ながら、(8)~(12) 式を足し合わせると右辺は 100 となり、(1)' 式の関係になる。

Table 1, 2 により、どの程度成立つかチェックしてみる。Table 1 から、ハマチ No. 1 について k_1 は [ATP] が 0 時間 46%, 5.5 時間 12% であることから (8) 式より、

$$12 = 46 e^{-0.5 k_1}$$

これより $k_1 = 0.24/\text{時}$

検出誤差を 0.1 $\mu\text{mol/g}$ とすると ADP の 5.5 時間データが 0 となっているが、これを検出誤差の 0.1 $\mu\text{mol/g}$ と置けば、構成比では 1% に当るから、(9) 式より

$$1 = \frac{0.24}{k_2 - 0.24} \times 46 \times (e^{-0.24 \times 5.5} - e^{-0.5 k_2}) + 11 e^{-0.5 k_2}$$

これより $k_2 = 3.2/\text{時}$

5.5 時間後までの途中のデータがないために仮定して求めた目安をつける程度の値である。

k_3 は 5.5 時間と 6 時間後の 11.5 時間のデータから

(10) 式を用いて

$$k_3 = 0.46/\text{時}$$

k_4 は 17.5 時間と約 30 時間後の 47.17 時間のデータから (3) 式を用いて

$$k_4 = 0.009/\text{時}$$

この $k_1 \sim k_4$ により (8)~(12) 式を計算すると、Table 5 のようになる。

ハマチ No. 2 については、 k_4 を 17.5 時間と 47.17 時間のデータから求めて

$$k_4 = 0.006/\text{時間}$$

他の $k_1 \sim k_3$ は、ハマチ No. 1 と同じとして計算すると、Table 6 のようになる。

両表とも実測値と計算値とは概略よく合っていることがわかる。

$k_1 \sim k_3$ に比べて k_4 は小さい。そして K 値の増加速度は IMP の量に比例することから、ATP から分解して行って IMP がほぼ生成されてから (ハマチのデータでいえば 5~10 時間後から)、K 値が一次反応的に進行する。その間つまり最初の立上がりはゆるやかであることが確認された。そして ATP 関連化合物の時間経過は

Table 5. Changes in the observed and calculated levels of ATP and its related compounds in muscle of young yellowtail (No. 1) during storage at 15°C

h	[ATP]		[ADP]		[AMP]		[IMP]		[HxR+Hx]=K (%)	
	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.
0	46	46	11	11	7	7	35	35	1	1
5.5	12	12	<1	0	12	7	71	81	4	0
11.5	3	0	0	0	3	4	87	90	7	6
17.5	<1	0	0	0	<1	0	85	92	13	8
23.5	0	0	0	0	0	0	81	88	19	12
29.5	0	0	0	0	0	0	77	72	23	28
35	0	0	0	0	0	0	73	75	27	25
41.3	0	0	0	0	0	0	69	71	31	29
47.2	0	0	0	0	0	0	65	70	35	30

Table 6. Changes in the observed and calculated levels of ATP and its related compounds in muscle of young yellowtail (No. 2) during storage at 15°C

h	[ATP]		[ADP]		[AMP]		[IMP]		[HxR+Hx]=K (%)	
	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.	Cal.	Obs.
0	65	65	8	8	9	9	18	18	1	1
5.5	17	0	1	0	15	6	63	86	4	8
11.5	4	0	<1	0	4	3	86	91	6	6
17.5	<1	0	0	0	<1	0	90	91	8	9
23.5	0	0	0	0	0	0	87	89	13	11
29.5	0	0	0	0	0	0	84	76	16	24
35	0	0	0	0	0	0	81	84	19	16
41.3	0	0	0	0	0	0	78	74	22	26
47.2	0	0	0	0	0	0	75	76	25	24

(8)~(12) 式ではほぼ近似されることも分った。

3. 変曲点以降の動向

3.1 ヒスタミン生成からみた変曲点: K 値が再び立上がる変曲点は、Fig. 1 より 0°C, 5°C, 10°C について 4 日付近, 20°C で 2 日, 25°C では明らかではないが、あるとすれば 1 日以内と読みとれる。一方、Fig. 2 に示したヒスタミン生成のデータからみると、ヒスタミンが 1 mg/100 g のオーダーに達する日数は、5°C で 7 日, 10°C で 4 日, 20°C で 2 日, 25°C で約半日であり、K 値の変曲点とほぼ一致した経過になっている。

ヒスタミンの蓄積はヒスチジン脱炭酸酵素形成能の著しい特定の細菌が増殖して、魚肉中に含まれるヒスチジンを酵素的に脱炭酸し、その結果ヒスタミンが生成蓄積されると考えられている。その原因細菌としては皮膚の青い魚に多くみられる *Proteus morganii* であることが明らかにされている。また、ヒスチジン脱炭酸が発育対数期の後期において著しいことも知られてる。⁹⁾

したがって、ヒスタミンの生成は、少なくとも *P. morganii* 菌の増殖を物語るものであり、Fig. 1 に示した K 値の変曲点以降の動向が、菌の増殖による影響であることを示唆している。

3.2 腐敗菌の増殖速度からみた変曲点: 腐敗菌として代表的な低温細菌 *Achromobacter* の増殖と温度の関係を示す SHEWAN のデータ⁷⁾によると、細菌数が腐敗段階とみられる 10^7 個/g に達するまでの日数は、0°C, 7°C, および 25°C でそれぞれ 8.8 日, 3.1 日および 0.8 日である。Fig. 1, Fig. 2 の変曲点と似かよっている。

死後直後の表皮付近の低温細菌数を SIMUDU のデータ⁸⁾を参考に 1 g あたり 100 個とし、加藤の低温細菌の各温度における増殖の世代時間のデータ⁹⁾から、増殖して 10^7 個/g に達する日数を計算してみても、変曲点と概略同じである結果が得られた。

また、Fig. 1, Fig. 2 を実験した大洋漁業(株)の観察

記録にも、変曲点に相当する日付以降は腐敗段階と明記されている。

これらは、K 値の変曲点以降の第 2 の立上りが腐敗細菌の増殖に伴う筋肉組織の変質や phosphatase の作用により、 $\text{IMP} \rightarrow \text{HxR}$ の反応が促進される可能性を示すものである。

もし、このように K 値について、変曲点からの第 2 の立上り以降の挙動(最終点で減少するケースも含めて)が、細菌によるものとすれば、「変曲点は温度が高くなると共に早く現われるだろう」ということは定性的に言えても、それが何日後であるかは、微生物の種類、汚染状況、環境条件等によって違う筈であり、これらの条件が変動する限りははっきりしない。すなわち再現性が保証されないということになる。

以上を仮定すれば、20°C, 25°C において、K 値が一次反応式より高目にずれること、また、Fig. 1 において 25°C で変曲点が見られず、急速に立上っていることも理解される。これを模式的に表わしたのが Fig. 4 である。

一方、これらの知見は、漁獲から消費までのどこかの流通段階で一旦汚染されると、そのときは低温下で菌の増殖が抑えられ、直接鮮度低下にならなくても、温度が上昇したとき一挙にその影響を受けることを示し、したがって生産・流通・消費の各段階が一貫してサニタリーである必要性を示唆するものである。

4. T-TT 関係式の簡略化

以上は一定温度下における K 値の変化について述べたが、実用上は温度が変動するときの関係式が必要となる。このため (5) 式および (7) 式の簡略化を検討した。

4.1 直線近似: ブリ、コイ、マダイなど k が小さいものは、細菌汚染の影響が無視できる、比較的低温下の短日時は、(5) 式の代わりに (14) 式のように直線近似できる。 $k_{t=0}=0$ のときは、K 値が 10, 20, 30 のと

Fig. 4. Schematic diagram of changes in K values of aseptic and bacteria-contaminated fish muscle during storage

(1) aseptic muscle: low temperature (—), high temperature (-----). (2) bacteria-contaminated muscle: low temperature [initial contamination: lighter (—), heavier (-.-.)], high temperature (-----)

きの近似値がそれぞれ 10.5, 22.3, 35.7 であり, 5%, 12%, 19% 多目に出る。

$$\frac{-d[\text{IMP}]}{dt} = k[\text{IMP}] \div k[\text{IMP}]_{t=0}$$

$$[\text{IMP}] = [\text{IMP}]_{t=0}(1-kt) \quad (13)$$

(1) 式 $K=100-[\text{IMP}]$ より

$$K = K_{t=0} + k(100 - K_{t=0})t \quad (14)$$

4.2 k の温度変化の 2 次式近似: k を温度 θ の 2 次式で表わすと (15) 式となる。

$$k = f(\theta) = a\theta^2 + b\theta + c \quad (15)$$

この式に, 前述した 5°C, 10°C および 20°C の k の値を用いて三元連立方程式を解くと, $a=1.533 \times 10^{-4}$, $b=0.0041$, $c=0.102$ が得られ, $k=1.533 \times 10^{-4}\theta^2 + 0.0041\theta + 0.102$ (1/日) と表わされる。 $\theta=25^\circ\text{C}$ とすると, k は 0.300/日 となり, これは先にアレニウスの式から出した 0.297/日 とよく一致する。すなわち, 比較的短日時で細菌汚染の影響が無視できるときには, k の変化を 2 次式で近似できる。

(14) 式に (15) 式を用いると, 時間 t における K 値は次式で表わされる。

$$K = K_{t=0} + (a\theta^2 + b\theta + c)(100 - K_{t=0})t$$

……温度が時間に対して一定のとき

$$\theta(t) = \theta = \text{一定}$$

$$K = K_{t=0} + \left(a \int_0^t \theta(t)^2 dt + b \int_0^t \theta(t) dt + ct \right) (100 - K_{t=0}) \quad (16)$$

……温度が時間に対して変化するとき

この式は, 温度履歴をいかにしたかにより K 値を求める近似式である。すなわち, Time-Temperature Tolerance を求める近似式である。より厳密には (5) 式の kt の代わりに (16) 式右辺第 2 項の $(100 - K_{t=0})$ の係数を入れた次式となる。

$$K = 100 - (100 - K_{t=0})$$

$$\times \exp \left(- \left\{ a \int_0^t \theta(t)^2 dt + b \int_0^t \theta(t) dt + ct \right\} \right) \quad (5')$$

偵察実験データの解析と考察

1. K 値の時間的増加率 (反応速度定数 k) の温度変化あるサンプリング時刻 (t_n) から, 次のサンプリング時刻 (t_{n+1}) に至るまでに K 値の時間的増加率 (dK/dt) がその間の代表温度 ($\bar{\theta}$) によりどのように影響されたかを調べてみる。

(16) 式より,

$$\frac{dK}{dt} = (a\theta^2 + b\theta + c)(100 - K_{t=0}) \quad (16')$$

であるから, 代表温度 $\bar{\theta}$ について dK/dt は 2 次曲線状となる筈である。 K の時間的変化

$$\frac{dK}{dt} = \frac{K_{n+1} - K_n}{t_{n+1} - t_n}$$

Table 7. Changes in K values of muscle of Pacific mackerel during T-TT experiments

Sample		Sampling							
		1st		2nd		3rd		4th	
Group	No.	S.P.*	K (%)	S.P.	K (%)	S.P.	K (%)	S.P.	K (%)
A	1	a	6.7	d	8.9	c	16.7	b	19.5
	2	d	5.4	c	8.4	b	16.1	a	18.4
B	3	c	12.9	b	21.5	a	28.8	d	32.7
	4	b	6.3	a	14.6	d	16.0	c	23.2
C	5	c	10.0	b	19.3	a	29.9	d	47.3
	6	b	7.4	a	13.7	d	26.6	c	41.8
D	7	d	8.6	c	20.7	b	38.8	a	48.7
	8	a	7.9	d	15.1	c	34.7	b	40.7
E	9	d	16.3	c	39.3	b	59.6	a	66.1
	10	a	15.0	d	30.3	c	47.7	b	52.0
F	11	a	10.4	d	19.2	c	35.8	b	48.0
	12	a	10.7	c	19.4	b	38.8	a	51.6
G	13	a	14.4	d	37.9	c	65.7	b	82.3
	14	b	8.7	a	28.7	d	56.5	c	87.6
H	15	d	16.2	c	88.8	—	—	—	—
	16	c	14.0	b	62.0	—	—	—	—

* Sampling positions of fish muscle were as follows:

Table 8. Changes in K values of muscle of Japanese red bream during T-TT experiments

Sample		Sampling							
		1st		2nd		3rd		4th	
Group	No.	S.P.*	K (%)	S.P.	K (%)	S.P.	K (%)	S.P.	K (%)
A	1	c	1.8	b	1.8	a	5.5	d	3.9
	2	b	2.1	a	2.7	d	5.2	c	3.7
B	3	d	1.4	c	1.8	b	3.5	a	5.2
	4	a	1.7	d	3.4	c	3.5	b	6.4
C	5	a	1.6	d	2.1	c	5.1	b	8.9
	6	d	1.8	c	3.1	b	4.8	a	8.7
D	7	c	2.3	b	3.5	a	0.2	d	9.9
	8	b	2.8	a	6.8	d	11.3	c	12.4
E	9	b	0.9	a	4.4	d	9.4	c	11.6
	10	c	6.8	b	9.4	a	17.3	d	14.9
F	11	b	1.7	a	2.3	d	7.4	c	9.7
	12	c	1.2	b	1.4	a	6.8	d	10.4
G	13	c	2.6	b	7.7	a	13.5	d	35.8
	14	d	2.4	c	7.2	b	14.3	a	82.2
H	15	b	3.9	a	74.3	—	—	—	—
	16	a	5.8	d	69.2	—	—	—	—

* Sampling positions of fish muscle were as follows:

Fig. 5. Relationship between the ratio $\Delta K/\Delta t$ and $\bar{\theta}_{n,n+1}$ in T-TT experiments on Pacific mackerel
K: K value (%), t: time (h) θ : temperature ($^{\circ}\text{C}$), n: number of sampling.

●: Test group, A-H, Δ : Data from Table 4
 *1: Test group, D] These data suggest that the increase of K value is accelerated by bacterial action.
 *2: Test group, E]

と代表温度 $\bar{\theta}_{n,n+1}$ として 2 乗平均温度

$$\bar{\theta}_{n,n+1} = \frac{\int_{t_n}^{t_{n+1}} \theta(t)^2 dt}{\int_{t_n}^{t_{n+1}} \theta(t) dt}$$

Fig. 6. Relationship between the ratio $\Delta K/\Delta t$ and $\bar{\theta}_{n,n+1}$ in T-TT experiments on Japanese red breamK: K value (%), t: time (h), θ : temperature ($^{\circ}\text{C}$) n: number of sampling.

●: Test groups, A-E, $\times$: Test groups, F-H (Samples in these groups were kept at 24° or 34°C over 16.5 h).

*1: Test group, G] These data suggest that the increase of K value is accelerated by bacterial action.
 *2: Test group, H]

を用いたときの関係を Table 7 および Table 8 に示す
 偵察実験データから求め、Fig. 5 (サバ)、Fig. 6 (タイ)
 に示す。

サバの場合は1日目に 24°C 室、34°C 室におかれた
 区、タイの場合は2日間に 16.5 時間以上も 24°C また
 は 34°C 室におかれた区を除くと、概略サバは2次曲線
 状タイは直線状の傾向を示している。

(16)' 式は、K 値の増分 $K_{n+1}-K_n$ が大きくなると誤
 差が大きくなる近似式であるが、さらに汚染も関係す
 る。時刻 t_n において腐敗菌により汚染されていない場
 合と汚染されている場合を考えれば、当然汚染されてい
 る場合の K 値の増加はより大きくなる筈である。 K_n の
 サンプル部位と K_{n+1} のサンプル部位の汚染度
 の差も影響する。前者が高度に汚染されており、後者が
 汚染されていない場合、 $K_{n+1}-K_n$ がマイナスというこ
 ともありうる。

Fig. 5, Fig. 6 で * 印をつけた高温の区のデータが、
 傾向からはみ出しているのはこのような事情によるもの
 と考えられる。Fig. 5, Fig. 6 で一本の仮想傾向線を描
 いたとすると、それは、いわば平均的汚染状況下での K
 値の時間的増加率の傾向であるということになる。

Fig. 5 で Δ 印で示した大洋漁業 (株) のデータと比べ
 ると、5°C, 10°C はオンラインといえるが、20°C, 25°C
 では偵察実験の方が高い傾向を示している。このこと
 は、偵察実験が細菌的により汚染された環境にあったた
 めと解される。タイについて異常に高いデータが4つあ
 るが、サバとタイとを一緒にのポリエチレン袋内に入れた
 ため、サバのサンプル跡からにじみ出た体液、血液

で汚染された結果ではないかと考えられる。

2. K 値の予測式のあてはめ

(16) 式で $(100-K_{t=0})$ を a, b, c に乗じた係数を改め
 て A, B, C とおくと

$$K(t)=K+A\int_0^t\theta(t)^2dt+B\int_0^t\theta(t)dt+Ct \quad (16)''$$

(16)'' 式で、係数 A, B, C を回帰分析により求めると、
 サバについては、全データについて相関係数 96.7% で

$$K(t)=K(0)+0.0019\int_0^t\theta(t)^2dt+0.094\int_0^t\theta(t)dt-0.23t \quad (17)$$

タイについては、Fig. 6 の A~E 試験区データについ
 て、相関係数 96.2% で

$$K(t)=K(0)+0.00010\int_0^t\theta(t)^2dt+0.030\int_0^t\theta(t)dt-0.11t \quad (18)$$

が得られた。

Fig. 7, Fig. 8 は、それぞれサバ、タイについての
 (17) 式および (18) 式による K 値の予測値と実測値との
 関係をグラフに示したものである。

ちなみに F 13, F 14 試験区 (1 日目日中 24°C (庫)、
 夜間 7°C (庫)、2 日目日中 24°C (庫)) のサバとタイに
 ついての魚体温度と K 値の実測値および想定温度履歴曲
 線を Fig. 9 に示す。日中 24°C というのは極端な例で
 あるが、鮮魚小売店の店頭でこのような温度経過を受
 けたと想定してみると、サバについていえば購入時の朝
 のサバは、しめさばにできる鮮度であったものが、18:00
 には A ランクのギリギリの K 値になり、19:00 に 7°C の
 冷蔵庫に入れたものの翌朝 9:30 には B ランク限界の K

Fig. 7. Correlation between the observed and calculated K values of muscle of Pacific mackerel
 $\Delta K = K_n - K_1$, $n=2-4$.

Fig. 8. Correlation between the observed and calculated K values of muscle of Japanese red bream
 $\Delta K = K_n - K_1$, $n=2-4$.

Fig. 9. K value, temperature and estimated temperature history of fish muscle (F group) during T-TT experiments.

○: Japanese red bream, ×: Pacific mackerel.

Table 9. Observed and calculated K values of fish muscle (F group) in T-TT experiments

English name	Sample Group	No.	Initial K value (Obs.)	$\int_0^t \theta dt$	$\int_0^t \theta^2 dt$	t	Final K value	
							Cal.	Obs.
Pacific mackerel	F	11	10.4%	407.5 °C·h	5802.1 °C ² ·h	25.4h	53.7%	48.0%
		12	10.7	391.8	6905.4	25.4	55.7	51.6
Japanese red bream	F	11	1.7	393.3	6562.8	25.4	10.6	9.7
		12	1.2	383.6	6360.0	25.4	10.2	10.4

値、そして夕方にはCランク、そしておそらく3日目の朝には売物にできないような状況に至ったという経過である。

サンプリングした第1日目 14:25 を $t=0$ とし、そのときの K 値を $K(0)$ として、第2日目最終の 15.45 における K 値を (17) 式、(18) 式の予測式により予測すると、Table 9 の結果であり1割程度の誤差があるが概略一致している。

とくにタイについては (17) 式が A~E データから求めたものであり、その予測式に F データを適用した結果である。

(16)' 式における係数比 B/A は (17), (18) 式よりサバで 49 倍、タイで倍 300 であるから、サバで $\sqrt{49}=7(^{\circ}\text{C})$ 、タイで $\sqrt{300}=17(^{\circ}\text{C})$ で温度の二乗比例の面積項と温度比例の面積項とが一致する。このことは、サバはチルド温度でも反応速度係数 k が温度に対して2次式で利くのに対し、タイではチルド温度帯ではほぼ温度に対して直線的であることを示す。

サバとタイの係数比がAについて約 20 倍、Bについて約3倍となっている。

要 約

1. 腐敗菌の汚染が無視できる比較的低温で短期間については、一次反応式がよくあてはまり、反応速度定数

を k 、時間 t における K 値を $K(t)$ (%) で表わすと、近似的に次式で K 値が予測できる。

$$K(t) = 100 - (100 - K(0))e^{-kt} \quad (5)$$

そして、反応速度定数の温度変化は、アレニウスの式にほぼ従う。すなわち

$$k = Ae^{-E/RT} \quad (7)$$

ただし E: 活性化エネルギー, cal/モル

R: 気体定数, 1.986 cal/°K・モル

A: 反応による定数, 1/日

死後間もない時間での動向は、[ATP]→[ADP]→[AMP]→[IMP]→[HxR]+[Hx] の各反応は、細菌の汚染が小さく比較的低温であれば、一次反応で近似され、(8)~(12) 式のように表わされる。 k_4 に比べて $k_1 \sim k_3$ が大きいことから IMP がたまるまで K 値は最初ゆるやかに立上ることになる。

2. 1 の関係が成立つ範囲、つまり一次反応で近似できる範囲については、温度履歴による K 値の変化は、時刻 t における温度を $\theta(t)$ 、K 値を $K(t)$ とすると、次式でさらに簡単化して近似できる。なおこの実験式による K 値予測はサバについて 97%、タイについて 96% という予想以上の相関係数を得た。

$$K_2(t) = K(t_1) + \left\{ a_1 \int_{t_1}^{t_2} \theta(t) dt + a_2 \int_{t_1}^{t_2} \theta(t)^2 dt + a_3 (t_2 - t_1) \right\} \times (100 - K(t_1)) \quad (16)$$

$a_1 \sim a_3$ は定数

上式により T-TT の関係が任意の温度履歴により求められる。

3. K 値が最初上昇した後、ゆるやかになり変曲点をもって再び立上りやがて停滞または若干減少するパターンが一般によく見られる。変曲点以降の動向は腐敗菌の増殖による IMP→HxR 反応の促進を示すものと考えられる。温度が高いときは腐敗菌の増殖が早いいため、変曲点を生ぜず立上ることもある。

この 3. の知見は衛生管理が大変重要であることを意味する。それは漁獲から消費者に受取られるまでの一連の流通の中で、低温流通システムがまったく完璧になされたとしても、衛生的に汚染される個所がもし 1 カ所でもあれば、その因果応報が常温（室温）にさらされるとき一挙に鮮度低下として現われることになる。漁獲時の洗浄はきわめて常識であるが、流通を一貫してサニタリーに守られることも鮮度保持の必須条件とされる。

T-TT の関係 (16) 式あるいは (5)' 式は鮮度管理基準ならびに鮮度等級変更基準の指針として実用化できよう。今後、いろいろな魚種について T-TT 関連の研究が幅広くなされ、鮮度管理レベルが早く向上するよう望むものである。

(本研究は 57 年度水産庁委託事業『水産物集中処理配送システム開発検討調査事業』により行なわれた。)

文 献

- 1) 江平重男・内山 均・宇田文昭：水産生物化学・食品実験書（斉藤恒行・内山均・梅本 滋・河端俊治編），恒星社厚生閣，東京，1974，pp. 17-31.
- 2) 内山 均・江平重男・加藤 登：魚の品質（日本水産学会編），水産学シリーズ，No. 4，恒星社厚生閣，東京，1974，pp. 81-103.
- 3) 中村全良・西 紘平・渡辺徹哉・田元 馨：北水試月報，**34**，9-14 (1977).
- 4) 掛端甲一：昭和 53 年度青森県水産物加工研究所試験研究報告，1-34 (1979).
- 5) C. S. NG, Y. N. CHIN, P. Y. LIM, C. E. TAN, S. E. YEAP, S. NIKKUNI, and M. BITO: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 769-775 (1983).
- 6) 宮木高明：新編食品衛生学（豊川行平・宮木高明・辺野喜正夫編），朝倉書店，東京，1972，pp. 74-75.
- 7) J. M. SHEWAN: *Proc. Symp. Cured and Frozen Fish. Technol.*, Swed. Inst. Food Pres. Res., Göteborg, 1953.
- 8) U. SIMIDU, E. KANEKO, and K. AISO: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **35**, 77-82 (1969).
- 9) 加藤 博：千葉大腐研報，**17**，10-14 (1969).