

締め方の違いがニジマスの品質に及ぼす影響

角田 出¹・高瀬 清美²

Effects of Different Killing Procedures on the Quality of the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*

Izuru KAKUTA* and Kiyomi TAKASE*

* Faculty of Science and Engineering, Ishinomaki Senshu University, Ishinomaki 986-8580, Japan

Abstract

The effects of different killing procedures on the quality of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* were investigated. Killing procedures were as follows: instant killing by the amputation in spinal cord, struggled killing, killing on ice after electric anesthesia, nojime, ikijime (after the instant killing by the amputation in spinal cord, fish were bled immediately and exsanguinated for 10 min in ice cold water prior to storage in a refrigerator), ikijime with an exsanguination treatment in hypoxic ice cold water, gill cutting (after electric anesthesia, letting the fish bleed for 10 min in ice cold water), and so on. In the group of struggled killing, higher b^*/a^* value of the dark muscle and the K value of the dorsal ordinary muscle on days 1 and 3, and lower C^* value of the dark muscle at 3 and 7 days after the killing were shown in comparison with those of the instant killing group. In nojime group, these changes were almost similar with those in the struggled killing group. On day 1, K value in the ordinary muscle of the unbled fish anesthetized with electricity was higher than that of the instant killing fish. With regard to the dark muscle from bled fish (exsanguinated) in a hypoxic ice cold water, higher C^* value on days 1, 4 and 7 and lower b^*/a^* value on days 4 and 7 were found in comparison with those of the normal ikijime fish. The quality of the fish bled immediately and exsanguinated for 10 min in a hypoxic ice cold water after immobilization by electric anesthesia and others was extremely good.

The effects of dietary polyphenols on the quality of rainbow trout were also studied. In fish administered the apple polyphenol (420 mg/kg body weight/day) or the olive polyphenol (400 mg/kg body weight/day) for 4 weeks, significant higher C^* value and lower b^*/a^* value of the dark muscle were found at 3 days after the killing comparing to the control. Mean TBARS value of the dark muscle in cultured fish fed polyphenol-containing diets decreased to 75% of the control. Therefore, we propose the next best solution for effective for maintaining high quality and freshness of the fish in small-scale aquaculture facilities the follow: fish fed polyphenol containing diets are subjected to a combination of the inhibition of rampaging (rapid immobilization treatment) by electric anesthesia and others, and/or the blood-letting (exsanguination) treatment immediately and rapid cooling treatment with a hypoxic micro ice.

Key words : rainbow trout, quality, different killing procedures, Ikijime, ordinary (light) and dark muscle, Electric shock, Hypoxic ice storage, Exsanguination, Polyphenol-containing diet

1. はじめに

魚類は筋肉の含水率が高く、肉質も弱い。また、自己消化酵素の活性が高いことに加え、内臓や鰓等腐敗しやすい箇所が付いたまま流通する場合が多い⁽¹⁾。そのため、魚類の品質低下は獣鳥肉類に比べて著しく速い。ただし、食べることでできる魚の範疇においても、魚種の違いやその扱い方に

よって死後変化の速度や様相は均一ではないため、大学やその地を統べる水産行政に係る研究所や施設、水産物の養殖、加工や販売に携わっている企業等から、魚種毎に締め方や氷冷方法等を含めた魚の扱い方や品質・鮮度保持方法が提案されている⁽²⁻⁸⁾。

魚肉の品質を高く保つ方法として、1) 魚を優し

¹石巻専修大学理工学部生物科学科

²石巻専修大学共創研究センター特別研究員

締め方の違いがニジマスの品質に及ぼす影響

く取扱うこと^(3,8)に加え、2) 血抜き等即殺処理(活き締め・神経締め等)⁽³⁻⁵⁾、3) 電気や炭酸ガスを用いた麻酔下での取り扱い⁽⁹⁻¹¹⁾等が提示されている。これらは、取り上げ(水揚げ)や同関連操作時に生じる魚の暴れや高ストレス負荷状態を解消することで、筋肉組織内での急激な ATP 減少を防いだり、乳酸の産生等に伴う pH の低下を防いだりすること⁽¹²⁾を意図した手続きである。

加えて、冷却時間の短縮や静菌効果附与等による水産物の品質向上を目指した 4) 微細氷の利用⁽¹³⁻¹⁸⁾や水産物・食品の酸化を抑制する目的で 5) 嫌気水や嫌気氷の使用^(19,20)も試みられている。ただし、それぞれの使用に際しては課題も残る。

魚の冷却処理に微細氷を使用すると、通常の海水氷を使用した場合に比べ、水揚げ時の魚類の暴れの軽減につながるのみでなく、氷の微粒子が魚体を包み込むことにより急速冷却が可能であること、温度むら(魚体内部の温度分布における偏り)が生じにくく、安定的に低温を維持することができること、シャープな角の無いことから魚体への物理的損傷を減らすことができる等の益を付与し得ることが報告されている⁽¹³⁻¹⁸⁾。一方で、微細氷を用いた冷却処理が輸送中を通して長く用いられると、運搬時に嵩高くなるために輸送運賃が高くつくことに加えて、運搬時に揺られる(振動する)環境下に置かれると氷が研磨剤のように働いて被冷却物の表面にスレを発生させる可能性もある。また、微細氷の正の効果を十分に引き出すためには、人手があり、管理・運搬体制の調った環境が必要とされる等の付帯条件が付く。

冷却処理時における嫌気水・氷の使用は、赤身魚や血合肉に存在するミオグロビンのヘム鉄が保存中に自動酸化により褐色のメトミオグロビンに変化(メト化)するのを抑制することを期待したものである^(19,20)。しかし、嫌気雰囲気下での保存(水産物の品質保持を目的としたガス置換包装を含む)はそれに伴う食中毒細菌等の危険性、特に偏性嫌気性細菌の汚染リスクをも高める可能性もある^(21,22)ことから、同処理についても功罪両面の議論が必要である。

上述したような魚肉の品質向上を目指した手続き 1) ~ 4) がもたらす効果についてはほぼ衆目の一致するところである。しかしながら、実際の水

産業の担い手を取り巻く状況はかなり厳しく、これらの有効性が分かっているにもかかわらずには取り入れることの出来ない状況が生じている。すなわち、漁業従事者の高齢化が進むとともに、業界自身の人員確保能力の低下、水揚げ(取り上げ)やその後の取り扱いに係る作業の量や従事時間の増加、コスト削減要求の高まり等がその背景にある。加えて、鮮魚の取引の形態、方法や場所によっては費用対効果が低かったり、自動加工機器の導入に向けた大量処理を前提とした品質保持法の確立等が叫ばれていたりすること等もこれに拍車を掛ける要因となっている。

そこで本報告では、上記に記した魚の品質を高く保つ方法の中から、1) ~ 3) および 5) について、ニジマス(品質評価対象魚種として用い、それぞれの効果を調べるとともに、当該処理に係わる作業容易性について検討した。加えて、生産現場での餌の工夫(養殖餌の改良)によって取り上げ後の品質向上のための処理をわずかでも簡素化できれば、漁業者の負担を軽減できる可能性があるとの考えから、6) として、抗酸化物質の事前(養殖時)投与効果について検討した。すなわち、抗酸化効果を示すポリフェノール類を添加した餌の経口投与が不動化後の魚の品質にいかなる影響を及ぼすかを検討した。

2. 材料および方法

2-1 供試魚

本実験では、水温 14℃ に調整した淡水を満たした容量 2 トンの恒温式循環ろ過式水槽内に設置した容量 60 L のガラス製水槽内で流水飼育した、体長約 200 mm ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) を用いた。なお、飼育中は、特記のない限り、市販のマス用飼料を 1 日あたり体重の 2% の割合で給餌した。また、飼育水槽内の溶存酸素濃度は 7 mg/mL 以上に保った。

2-2 実験デザイン

1) 実験 1 締め方の違いが魚の品質に及ぼす影響：

水温 14℃ で飼育したニジマスを、(i) 取り上げ直後に延髄切断により不動化したもの(即殺群)、(ii) 苦悶死(水を敷き詰めたバットあるいは発泡

スチロール製容器内に魚を収容して 30 分間放置：苦悶死群）させたもの、あるいは、(iii) 電気麻酔による不動化（水から取り上げた魚をウレタンマット上に置き、頭部側を＋、尾部側を－として、直流 24 V、20～30 mA の条件下で 10 秒間通電処理：電気ショック群）したものを、それぞれビニール袋に入れ、底に氷を敷きつめ発泡スチロール箱内に置いて、蓋をして冷蔵保存した。保存箱内の温度は 0～2℃であった。

2) 実験 2 放血時の嫌気処理が魚の品質に及ぼす影響：

水温 14℃で飼育したニジマスを取り上げ後、速やかに 2℃以下の氷水に入れ沈静化・自然死させたもの（野締め群）、取り上げ後速やかに鰓、延髄、尾部血管を切断した後に約 5℃の氷水中で 10 分間放血させたもの（活き締め群）、同様の活き締め処理時の放血操作を、株式会社タンノ冷機工業株式会社製の発生装置を使用して発生させた窒素ナノ・マイクロバブルを用いて水中の溶存酸素濃度を 1 mg/L 以下に低下させた約 5℃の氷水中でおこなったもの（活き締め・嫌気処理群）の 3 つの群を準備した。上記処理後、それぞれ底に氷を敷きつめた発泡スチロール箱内にビニール袋に入れたニジマスを置いて、蓋をして冷蔵保存した。保存箱内の温度は 0～2℃であった。

なお、本実験については、嫌気処理に伴う嫌気性菌の事後繁殖が検討課題となっていたことから、活き締め処理群および活き締め・嫌気処理群における貯蔵 3 日後の消化管内細菌叢を常法により調べた。

3) 実験 3 電気麻酔後の放血と延髄切断処理が魚の品質に及ぼす影響

上述した電気麻酔により不動化した魚を、延髄のみを切断した後に 5～8℃の氷水中に移して 10 分間おいた電気ショック-即殺（延髄切断）群、鰓と尾部血管を切断した後に 5～8℃の氷水中に移して 10 分間放血させた電気ショック-鰓切断（放血）群、放血時に延髄切断処理を施した電気ショック-活き締め（延髄切断・放血）群の 3 種類の魚を、それぞれ、底に氷を敷きつめた発泡スチロール箱内にビニール袋に入れて、蓋をして冷蔵保存した。保存箱内の温度は 0～2℃であった。

なお、各群における氷水中での放血量の概算値

は、水中のヘモグロビン濃度をシアンメトヘモグロビン法⁽²³⁾により測定して、処理水量と掛け合わせた値を比較することにより求めた（電気ショック-即殺群の値を 1 として相対値を表示した）。

4) 実験 4 抗酸化物質の事前（養殖時）投与の影響に関する試験：

抗酸化作用を有するリンゴポリフェノールとオリーブ葉ポリフェノールの投与効果を調べた。リンゴポリフェノール群には粉末化したニジマス用市販飼料（フィードワン社製ニジマス用飼料）にリンゴポリフェノール含有物（Life Extension 社：プロシアニジンを中心としたポリフェノール 50% 含有粉末）の日間投与量が 840 mg/kg 体重となるように、オリーブ葉ポリフェノール群には上記市販飼料にオリーブ葉ポリフェノール（Nature's Way 社：オレウロペイン 12% 含有粉末）の日間投与量が 400 mg/kg 体重となるようにそれぞれ添加してソフトペレット化した餌を、1 日に体重の 2% 量投与しつつ、水温 14℃で 4 週間飼育した。対照群には、市販飼料粉末をソフトペレット化した餌を 1 日に体重の 2% 量投与したものを使用した。

取り上げた魚は、それぞれ頭部打撃により不動化し、ビニール袋に入れて、底に氷を敷きつめたスチロール箱内に置き、蓋をして冷蔵保存した。保存箱内の温度は 0～2℃であった。

2-3 品質の指標

取り上げ直後の魚（0 日後）、氷冷保存後 1 日後、3 あるいは 4 日後、7 日後に下記の品質に係る指標を測定した。

1) 色調（軀幹部背部白筋および赤筋の色）： 魚の軀幹部体表背部の白筋（普通肉）と赤筋を基準となる赤、緑、青（以下、R、G、B とする）の色紙とともにデジタルカメラで撮影した。その後、RGB 取得ソフト（RGB Get）を用いて、RGB 値を計測し、L* 値（明度）、a* 値（赤色）、b* 値（黄色）を求め、C* 値（彩度： $\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$ ）と b*/a* 値（以降は b/a 値と記載する：数字が小さいほど鮮やかな赤色で、数字が大きいほど褐色に近づいて行くことを示す）を算出した。

2) K 値： 一部の個体については、軀幹部背部よ

り切り出した白筋（普通肉）試料に 10% 過塩素酸を加え、氷冷下で均一化し、遠心上清に水酸化ナトリウムを加えて中和後、ろ紙でこし、蒸留水で定容して、測定まで -80°C で冷凍保存した。解凍後、試料を孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ のフィルターでろ過した後、HPLC を用いて ATP 関連化合物（ATP、ADP、AMP、IMP、HxR：イノシン、Hx：ヒポキサンチン）を定量し、全体に占める HxR と Hx の割合（K 値）を求めた。HPLC の分析条件等は以下の通りである：HITACHI LaChrom、カラム Mightsil RP18 GP 150-4.6（関東化学株式会社製）、移動相 A 液：30 mM N,N-ジエチルエタノールアミンを含む 20 mM リン酸、移動相 B 液：A 液とエチルアルコールを 9：1 になるように混合した液、流量 1 mL/分（A 液：B 液 = 75：25）、検出波長 260 nm。

3) 2-チオバルビツール酸反応性物質量（thiobarbituric acid reactive substances；TBARS 値、脂質の過酸化指標）：実験 3 の一部個体については、躯幹部背部より切り出した赤筋試料に 25 mM のトリス塩酸緩衝液を加え、ホモジナイズし、遠心上清を試料として、TBARS Assay Kit（Cayman Chemical 社製）を用いて測定した。

2-4 統計

各品質の指標は、経過時間毎に、分散分析を行い Tukey の HSD 検定あるいは Mann-Whitney の U 検定により統計処理を行い、 $p < 0.05$ を有意の限界として表示した。

3. 結果

苦悶死群では、取り上げ直後から数分間は頻繁に、その後は時折、魚は暴れていたが、野締め群では、氷冷水中への浸漬処理を行ったため、暴れている時間は苦悶死群に比べてかなり短く、目立った動き（痙攣を含む）が観察されたのは最初の 2～3 分で、その後はまれに突発的な遊泳がみられた程度で、それも数分以内に鎮静化した。電気ショック群では、10 秒間の通電処理中は魚の筋肉が激しく動いたり強縮状態が生じたりするものの、その後は水中に戻して 0.5～3 分は静止した状態にあった。なお、本実験における電気ショック群は、同処理により不動化した後、直ちに氷上に

静置したため、致死過程における激しい動きはほとんど観察されなかった。ただし、一部の個体には電気ショックを用いた電極設置場所となる体表部に体色暗化（暗色斑紋）が認められた。

電気ショック-即殺（延髄切断）群や電気ショック-活き締め（延髄切断・放血）群の魚は、処理後に水に戻すと一過性の長びいた鰓蓋運動（洗浄運動）が現われた以外は、たまに極めて微弱な鰓蓋運動がみられるのみであり、遊泳不能が完全平衡喪失の状態にあった。一方、電気ショック-鰓切断（放血）群の魚は、処理後に水に戻すと 2 分以内に鰓蓋運動が認められるようになり、その後 1 分程度でほとんどの個体が不規則かつ方向不定な遊泳運動を開始した。ただし、その動きは 2～3 分以内に停止した。

なお、電気ショック-延髄切断放血群と電気ショック-放血群は、放血量は同処理なしの電気ショック-延髄切断群に比べて、放血量がそれぞれ 1.7 ± 0.3 倍と 1.9 ± 1.4 倍（4 回の繰り返し試験の結果）と多かった。

Fig. 1 に取り扱い方の違いがニジマス躯幹部赤筋の C^* 値および b/a 値に及ぼす影響を示す。即殺（延髄切断）群、苦悶死群、電気ショック群ともに、貯蔵開始から時間の経過とともに C^* 値は徐々に低下する傾向を示した。一方、b/a 値は各群ともに貯蔵時間の延長とともに上昇する傾向を示した。また、苦悶死群では、即殺群と比べて、貯蔵開始から 3 日後と 7 日後に C^* 値の有意な低下と、同 1 日後と 3 日後に b/a 値の有意な上昇が認められた。電気ショック群と即殺群との間には有意な差は認められなかったものの、前者の変化は後者に比べてやや大きかった。

Fig. 2 に取扱い方の違いがニジマス躯幹部背部白筋の K 値に及ぼす影響を示す。貯蔵開始時（0 日後）の即殺群の K 値は約 5%、苦悶死群と電気ショック群の K 値は 7～8% 程度であったが、即殺群では 3 日後から、苦悶死群と電気ショック群では 1 日後から値は上昇し、7 日後には 50% 程度となった。なお、苦悶死群は貯蔵開始から 1 日後および 3 日後に、電気ショック群では 1 日後に、それぞれ、即殺群に比べて有意に高い値を示した。

Fig. 3 に野締め、活き締めおよび同嫌気処理併用がニジマス躯幹部赤筋の C^* 値および b/a 値に

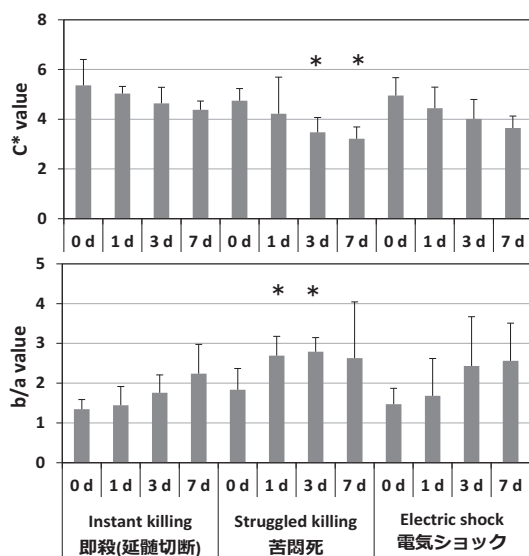


Fig. 1 Changes in C-value (C*) and b/a value of the dark muscle from the rainbow trout treated with three different procedures such as instant killing, struggled killing and instant killing after the electric shock. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=4. * ; Significant difference from the Instant killing group in the same period (p < 0.05).

及ぼす影響を示す。野締め群における C* 値は貯蔵開始時 (0 日後) の値が 4 前後と余り高くなく、貯蔵 4 日後までの変化は緩慢で、4 から 7 日後に掛けて有意な低下を示した。一方、同群の b/a 値は 4 日後以降に値は大きく (平均値は 1.4 倍) 上昇したが、個体差が大きく、開始時とそれらの値の間には統計的な有意差は認められなかった。試験群間比較では、野締め群に比べて、活き締め群は貯蔵開始時 (0 日後) の C* 値が高く、4 日後の b/a 値は低かった。また、活き締め窒素処理併用群は、野締め群と比較して、貯蔵開始から 4 日後と 7 日後の C* 値が有意に低く、逆に b/a 値は有意に低かった。活き締め群と活き締め窒素処理併用群間の比較では、赤筋の b/a 値については貯蔵開始から 7 日後にわずかに低く維持される傾向がみられたものの、統計的な差は認められなかった。一方、C* 値では、貯蔵開始から 7 日後では、窒素処理併用群は活き締め群より有意に高値となった。

活き締め群および活き締め・窒素処理併用群の貯蔵開始から 3 日目の消化管内における好気性 (通性嫌気性を含む) と偏性嫌気性細菌数は、それ

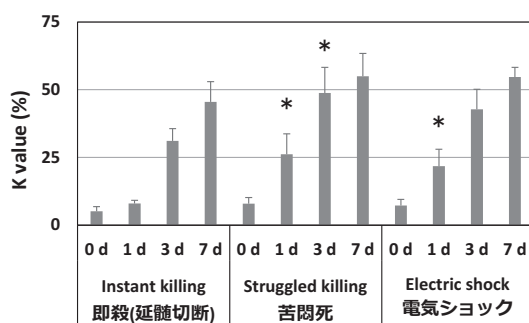


Fig. 2 Changes in K value of the dorsal light (ordinary) muscle from the rainbow trout treated with three different procedures such as instant killing, struggled killing and instant killing after the electric shock. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=3. * ; Significant difference from the Instant Killing in the same period (p < 0.05).

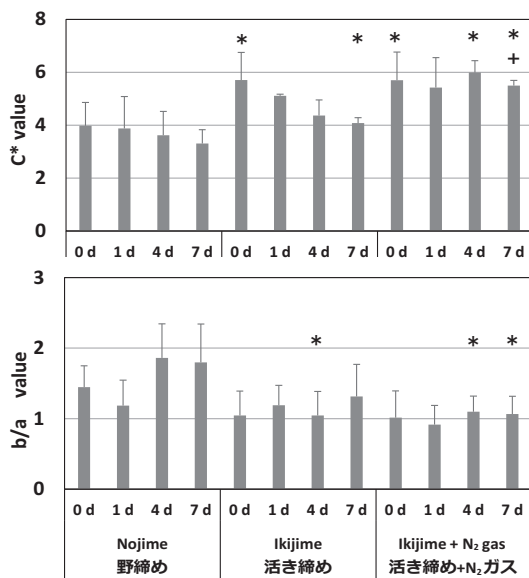


Fig. 3 Changes in C-value (C*) and b/a value of the dark muscle from the rainbow trout treated with three different procedures such as nojime, ikijime and ikijime in anaerobic water. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=4. * ; Significant difference from the Nojime group (p < 0.05). + ; Significant difference from the Ikijime group (p < 0.05).

ぞれ、 3.6×10^7 CFU/g 消化管内容物と 7.9×10^8 CFU/g 消化管内容物、および、 6.1×10^7 CFU/g 消化管内容物と 2.2×10^9 CFU/g 消化管内容物であり (ともに n=3)、両群ともに偏性嫌気性細菌が通性嫌気性を含む好気性細菌数に比べて多かつ

たものの、両群の細菌数の間には有意な差は認められなかった。

Fig. 4 に生き締め群と窒素処理併用群の消化管内細菌の組成（好気培養および嫌気培養結果）を示す。好気培養（好気性細菌と通性嫌気性細菌を検出）では、全体の約 40% は *Aeromonas* 属細菌、15% 程度を *Vibrio* 属細菌が占めたほか、*Pseudomonas* 属、*Flavobacteriia* 属、*Acinetobacter* 属、Enterobacteriaceae（腸内細菌科）細菌がそれぞれ 4~8% 程度の菌叢を形成した。一方、嫌気培養（偏性嫌気性細菌を検出）では、全体の 70% 程度を *Bacteroides* 属細菌が、20% 程度を *Clostridium* 属細菌が占めた。なお、この消化管内細菌叢には、生き締め群でも生き締め・嫌気処理併用群でもほとんど差は認められなかった。

Fig. 5 に電気ショック-即殺（延髄切断・放血処理なし）群、電気ショック-生き締め（延髄切断・放血）群、および、電気ショック-鰓切断（放血）群のニジマス躯幹部背部赤筋の貯蔵に伴う C^* 値および b/a 値の経時変化を示す。電気ショック-即殺群、電気ショック-生き締め群、電気ショック-鰓切断群ともに、貯蔵開始から時間の経過とともに C^* 値は徐々に低下する傾向を示した。電気ショック-即殺群で貯蔵開始から 3 日後と 7 日後の値が、他群に比べて、大きく低下する傾向を示したが、その時点でも 3 群間に有意な差は認められなかった。一方、 b/a 値は各群ともに貯蔵時間の延長とともに上昇する傾向を示した。ただし、電気ショック-生き締め群の変化は他の群に比べると小さく、貯蔵開始から 3 日後では、他の 2 群に比べて有意に低い値が認められた。

Fig. 6 に電気ショック-即殺群、電気ショック-生き締め群、および、電気ショック-鰓切断群のニジマス躯幹部背部白筋の貯蔵に伴う K 値の経時変化を示す。貯蔵開始時（0 日後）の電気ショック-即殺群や電気ショック-生き締め群の K 値は約 4.5~5.0%、電気ショック-鰓切断群の K 値は 6% 程度であったが、電気ショック-鰓切断群では 1 日後から値は上昇し、他の 2 群に比べて有意に高い値を示した。また、3 日後では電気ショック-生き締め群に比べて、他の 2 群の値は有意に高くなった。7 日後では電気ショック-生き締め群の値は他の 2 群に比べてわずかに低い程度となり、

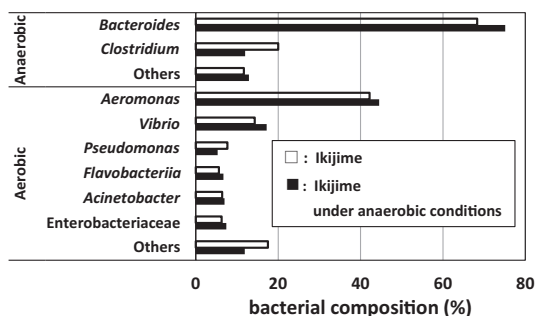


Fig. 4 Bacterial composition on day 3 in the digestive tract of rainbow trout treated by two different approaches, common Ikijime and Ikijime under anaerobic conditions, Data are shown as mean, n=3.

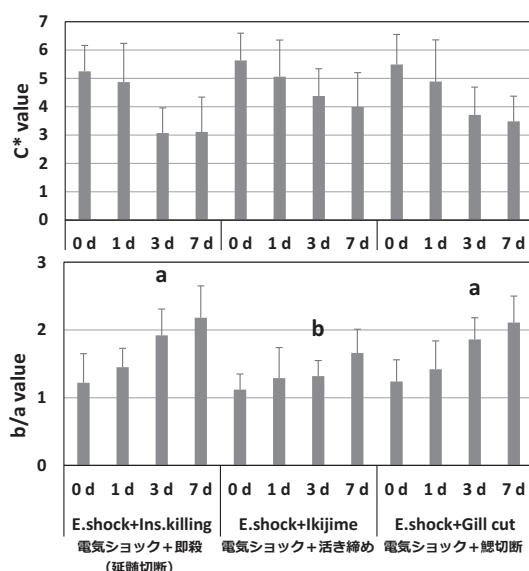


Fig. 5 Changes in C^* value and b/a value of the dark muscle from the rainbow trout treated with three different procedures such as instant killing, Ikijime and gill cutting after the electric shock. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=4. The different superscript (a,b) in the same period indicates a significant difference ($p < 0.05$).

3 群間に有意な差は認められなかった。

Fig. 7 に抗酸化物質の事前（養殖時）投与がニジマス赤筋の C^* 値および b/a 値に及ぼす影響を示す。対照群では、貯蔵時間の経過に伴って、特に 3 日以降に C^* 値は低下し、 b/a 値は上昇する傾向を示したものの、個体差が大きく実験期間内に有意な変化は認められなかった。リンゴポリフェノール投与群やオリーブポリフェノール投与群

は、対照群と比べると、有意ではないものの貯蔵開始時の C 値は高く、b/a 値は低くなる傾向を示した。また、両群ともに貯蔵開始から 3 日後の C 値は有意に高く、逆に b/a 値は有意に低かった。なお、貯蔵開始から 7 日後でも、実験群間で有意差こそみられなかったが、リンゴポリフェノール投与群やオリーブポリフェノール投与群の平均 C 値は、それぞれ、対照群の 1.6 倍および 1.7 倍と高く、平均 b/a 値もオリーブポリフェノール群は対照群の 60% 程度と低かった。

一方、ニジマス躯幹部背部白筋の C 値（彩度）および b/a 値において、各種実験群内で貯蔵時間にともなった一定かつ顕著な変動は認められず、また、各試験群間に統計的な有意差もみられなかった。

Fig. 8 に抗酸化物質の事前投与が貯蔵開始時におけるニジマス躯幹部背部赤筋の脂質過酸化指標に及ぼす影響を示す。貯蔵開始時の筋肉 TBARS の平均値は、対照群で約 1.0 $\mu\text{M/g}$ 湿重量、リンゴポリフェノール投与群およびオリーブポリフェノール投与群では 0.75 $\mu\text{M/g}$ 湿重量程度あったが、各群間に統計的な有意差は認められなかった。

4. 考察

致死の過程で魚が暴れると筋肉内の ATP 消費量が増大し、それに伴って筋肉の硬直や K 値の上昇が進む⁽²⁴⁾。また致死過程や貯蔵状態によって、赤筋（血合肉）に含まれるミオグロビンのメト化が亢進することで同部の色が鮮赤色から暗赤色や褐色へと変化する（褐変現象がみられる）場合がある。具体的には、組織の pH 低下（pH が 0.3~0.4 低下するとメト化の速度は 2 倍になる）^(7,25) や不十分な冷蔵や冷凍処理^(26,27) によって赤筋等に含まれるミオグロビンのメト化は促進される。本研究でも、即殺群と比べて、苦悶死群では貯蔵開始から 1 日後と 3 日後に躯幹部体側部白筋の K 値に有意に高い値がみられたほか、赤筋では彩度の低下（3 日後と 7 日後）や b/a 値の上昇（1 日後と 3 日後）が認められた。また、野締め群では赤筋の色調変化は貯蔵開始から 4 日後以降とやや遅れるものの、貯蔵時間の延長に伴って苦悶死群に類似した傾向がみられた（白肉 K 値の測定データ）。本研究での野締めの定義が「魚を

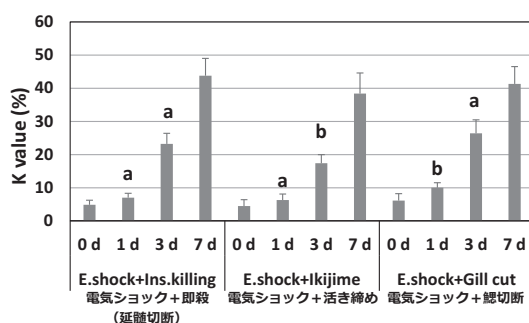


Fig. 6 Changes in K value of the dorsal light (ordinary) muscle from the rainbow trout treated with three different procedures such as instant killing, Ikijime and gill cutting after the electric shock. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=4. The different superscript (a,b) in the same period indicates a significant difference ($p < 0.05$).

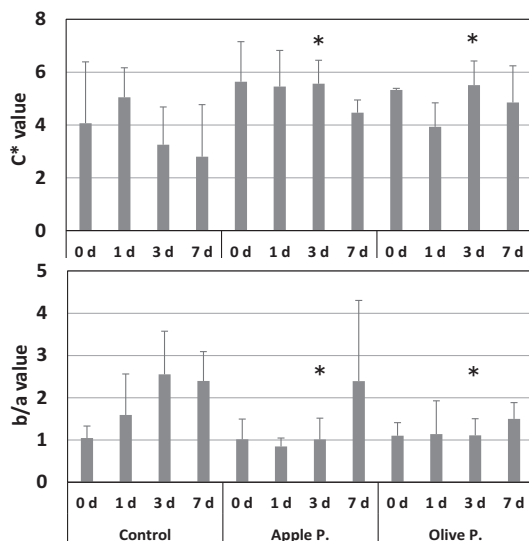


Fig. 7 Changes in C-value (C*) and b/a value of the dark muscle from the rainbow trout fed with an apple polyphenol- and an olive polyphenol-containing supplements for 4 weeks. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=4. * ; Significant difference from the control ($p < 0.05$).

取り上げた後は速やかに氷水に入れ自然死させたもの」であるため、当該群で魚が暴れている時間は苦悶死群に比べてかなり短かったにも拘らずにこのような変化が生じていることには留意すべきであろう。

電気ショック群でも、貯蔵開始から 1 日後のみであったが、筋肉の K 値は即殺群に比べて有意に高くなった。また、赤筋の彩度や b/a 値につい

締め方の違いがニジマスの品質に及ぼす影響

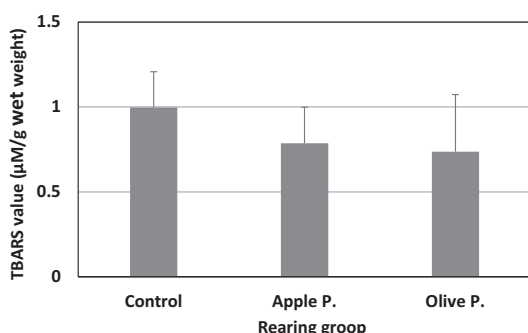


Fig. 8 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value of the dark muscle from the rainbow trout fed with the apple polyphenol- and the olive polyphenol-containing supplements for 4 weeks. Data are given as mean $\pm$ S.D., n=3.

ては、即殺群との間に有意な差はなかったが、その変化は即殺群に比べてやや大きかった。通電処理に伴って筋肉の収縮が起こると同組織の ATP 含有量の減少や pH 低下が生じ、その結果として電気ショック群でも上記の変化が生じたものと考えられる。加えて、電気ショック用の電極設置部の体表部に暗色斑紋が認められる個体もあった。すなわち、電気ショック処理は、品質の保持への効果は通常の活き締め処理には劣るものの、短期間内に大量の魚を扱う場合には有効であることが示唆された。

一方、活き締め・窒素処理併用群は、活き締め群に比べても、赤筋の彩度や b/a 値（鮮やかな赤指標）が長期間良好に維持されていた。本データは活き締めに伴う放血処理を嫌気あるいは脱気処理された氷冷中で行うことで、魚の鮮度が向上し、貯蔵に伴う品質劣化の抑制に極めて有効であることを示唆する。なお、嫌気処理は偏性嫌気性細菌の増加を促し、品質の劣化や食の安全を脅かす可能性があるとの指摘^(21,22)については、貯蔵から 3 日後のみの調査ではあるが、魚の消化管内細菌の数や組成に嫌気処理の影響は認められなかったことから、少なくとも嫌気状態での保持が長期に亘るものでなければ上記指摘は無視できると考える。

ところで、電気ショック-活き締め（延髄切断・放血）群は、電気ショック-即殺群や電気ショック-鰓切断群に比べ、貯蔵に伴う赤筋の b/a 値の上昇速度が緩やかで、貯蔵 3 日後の当該値は有意

に低かった。また、白筋の K 値についても同時期の値は有意に低かった。すなわち、当該群は電気ショック（麻酔）操作によって取り上げ初期の暴れがほとんどなく、また延髄切断によって氷水中での放血時にも魚にあまり動きがみられなかったことで、貯蔵開始時点の筋肉内 ATP が高く維持されていた（鮮度が高い）ことに加え、鰓切断による放血量も多かったために体内残留血液の腐敗に伴う魚肉の品質低下が抑えられたものと考えられた。

以上のことは、優しく取り上げた、あるいは、電気ショックや二酸化炭素等を用いた麻酔処理により極めて短期間の内に不動化した魚を対象に、その運動を延髄切断により停止させた（通常の活き締め）後、早々に氷冷水中、できれば窒素曝気等によって調整した嫌気的水中で脱血処理を行うことが、魚の鮮度・品質の向上に極めて有効であることを示唆する。ただし、活き締めに至る一連の措置に加えて窒素曝気や微細水処理等を施すことになるため、これまで以上に業務の効率化とともに、受注率や商品単価の見直しを含めた売り上げ向上戦略が重要になる。

しかし上記の品質保持操作は、小規模経営の水産養殖施設が単独で抱え得る範疇を超えることも予想できるため、養殖槽からポンプ等を用いて水とともに移送した魚を電気ショック（麻酔）により不動化後、直ちに延髄および鰓の切断を行う活き締め支援装置の導入、および、その後の嫌気環境下での放血処理に適した施設づくり等には、競争力強化連携支援等の公的な経済支援策とともに地域の連帯や地域協力体制等の育成・強化がより重要になると考える。

一方で、出来るだけ人手、コスト、時間を掛けずに施工可能な一つの方法として、生産現場での餌の工夫（養殖餌の改良）によって取り上げ後の品質向上に要求される処理をわずかでも簡素化することができれば、漁業者の負担を軽減できる可能性がある。そこで、抗酸化物質の事前（養殖時）投与が取り上げ後の品質に及ぼす影響について検討した。

赤筋（血合肉）の褐変現象はミオグロビンの酸化と関連しているため、これまでもミオグロビンの酸化抑制を意図して抗酸化作用を有する物質

を添加した飼料の開発が行われており、ユズ果汁⁽²⁸⁾、オリーブ葉粉末⁽²⁹⁾、 γ -オリザノール⁽³⁰⁾等を添加した飼料の投与により血合肉のメト化が抑制されることが報告されている。そこで、本研究では抗酸化作用を有する物質としてリンゴポリフェノールとオリーブ葉ポリフェノールを添加した餌で4週間飼育した魚の冷蔵貯蔵に伴う鮮度変化を赤筋の彩度(C*値)とb/a値、および、筋肉の抗酸化活性を指標として調べた。本試験では、取り上げ直後に頭部打撃により不動化した魚を冷蔵保存したものを対照試料として用いたが、両ポリフェノール投与群では、赤筋の彩度低下が抑制(不使用時に比べて、貯蔵開始から3日後においても有意な高値が維持)されるとともに、b/a値の上昇が抑えられて(同時期に有意な差がみられて)おり、これらのポリフェノールの事前投与、すなわち、抗酸化作用を有する物質を添加した飼料での飼育が、その後の食品としての魚の品質保持に有効であることが分かった。

なお、赤筋における脂質過酸化指標値については実験群間に統計的な有意差はみられなかったものの、リンゴあるいはオリーブ葉ポリフェノールを経口投与した群の平均値は同物質を投与すること無く飼育した対照群の75%程度と低かったことから、経口投与した抗酸化物質が赤筋ではミオグロビンのメト化の進行抑制に関係していた可能性が示唆された。ただし、ミオグロビンのメト化には、抗酸化物質やメトミオグロビン還元酵素等の還元因子の量や活性に加え、pHの変化やミオグロビンの構造安定性等も関与することが報告されている⁽³¹⁾ことから、今後、これらの関連性を詳細に検討することで、抗酸化物質の投与が魚肉の品質保持に及ぼす影響を赤筋の褐変機序と絡めて検討する必要があるだろう。

以上の結果をまとめると、養殖魚の品質保持には、1) 取り上げ直後に延髄切断や電気や二酸化炭素を用いた麻酔処理等により魚を暴れさせることなく、嫌気的環境下の氷冷水中で放血処理を行うことが極めて有効であること、2) 抗酸化効果を有する物質を投与しての飼育は正の影響を与えること、3) 前述の品質向上に係る一連の処理の実施が困難である場合は、抗酸化物質の事前投与と取り上げ操作に伴う暴れの阻止(迅速な不動化処置)

の組み合わせや、放血処理と嫌气的微細氷等を用いた急速冷却処理が有効と考えられることが分かった。

謝辞

本研究の一部は平成30年度石巻専修大学研究助成(個別研究)「電気および二酸化炭素による海産魚の沈静化法の検討」の電気麻酔に係わる成果に基づくことをここに記するとともに、本研究の遂行に際してご尽力・ご支援を頂いた漁業や関連企業の方々、そして協力を頂いた学生諸氏に感謝の意を表します。

引用文献

- 1) H. Yamanaka, "Relation between post mortem biochemical changes and quality in the muscle of fish and shellfish", Nippon Suisan Gakkaishi, 68(1), 5-14 (2002) (in Japanese)
- 2) A. Yamane, "Development of Controlled Freezing-Point Storage of Foods", Nippon Shokuhin Gogyo Gakkaishi, 29(12), pp.736~743 (1982) (in Japanese)
- 3) S. Mochizuki and S. Sato, "Effects of various killing procedures on post-mortem changes in the muscle of chub mackerel and round scad", Nippon Suisan Gakkaishi, 62(3), pp.453-457 (1996) (in Japanese)
- 4) M. Terayama, "Studies on improvement in quality of spindle-shape fish by instant killing and bleeding", Nippon Suisan Gakkaishi, 70(5), pp.678-681 (2004) (in Japanese)
- 5) Hokkaido Suisan-Rinnmu-bu, Seisensuisannbutsu Sendohoji Manual (Gaiyouban), pp.1-30 (2007)
<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/ske/grp/sendho-jimanyuaru.pdf> (in Japanese)
- 6) K. Usui, T. Fushikuro and T. Funayama, "Study of improvement in quality of spotted mackerel (*Scamber australasicus*) by instant killing and bleeding", Bull. Kanagawa Pref. Fish. Technol. Center, 6, pp.55-61 (2013) (in Japanese)
- 7) K. Morioka, K. Ohnishi and Y. Itoh, "Comparison of discoloration of dark muscle between cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* and amberjack *Seriola dumerili* during chilled storage", Nippon Suisan Gakkaishi, 79(6), pp.1009-1016 (2013) (in Japanese)
- 8) S. Noguchi and Y. Kumai, "Effects of different kill-

- ing methods on the freshness of the flathead flounder *Hippoglossoides dubius*", Bull. Kyoto Inst. Ocean. Fish. Sci., 41, pp.5-8 (2019) (in Japanese)
- 9) Y. Yokoyama, F. Kawai and M. Kanamori, "Effect of cold-CO₂ anaesthesia on postmortem levels of ATP-related compounds, pH, and glycogen in carp muscle", Nippon Suisan Gakkaishi, 59 (12), pp.2047-2052 (1993)
- 10) N.J. Bernier and D.J. Randall, "Carbon dioxide anaesthesia in rainbow trout: effects of hypercapnic level and stress on induction and recovery from anaesthetic treatment", J. Fish Biol., 52, pp.621-637 (1998)
- 11) H. Nikaido, H. Obana, S. Masuma, T. Takebe, K. Ide, N. Tezuka and K. Namba, "Electrical anesthesia in marine fish", Report of National Center for stock Enhancement, Fisheries Research Agency, 3, pp.9-11 (2005) (in Japanese)
- 12) A. Okamoto, "Studies on preservation of fish freshness - Effects of killing methods, storage temperatures and rearing conditions -", Bull. Nagasaki Pref. Inst. Fish., 34, pp.1-44 (2008) (in Japanese)
- 13) T. Nonaka, "Syabetto-jo-kaisui ice wo mochiita Kibinago no sendo hoji", Nagasakiken suisanshikenjo Kenkyuhoukoku, 26, 25-27 (2000) (in Japanese)
- 14) M. Narita, "Syabetto kisui ice niyoru sendohoji ni tsuite", Hokusuisshi dayori, 74, 15-17 (2007) (in Japanese)
- 15) Y. Hukuma, K. Hukuma, M. Mishima and A. Yamane, "Studies on enhanced quality of blue-fin tuna (*Thunnus thynnus*) by slurry ice", Hyo-on Kagaku, 12, 12-18 (2009) (in Japanese)
- 16) Hokkaido Bureau of Economy, Trade and Industry "Data trucking seigyo ni yoru gyokakubutsu kousendohojiyou onsite gata kaisui ice seizouki no kaihatsu", Heisei 24 nendo senryakuteki kibangijutsu koudoka shien jigyo kenkyuseika houkokusyo, 1-32 (2012) (in Japanese)
- 17) T. Wada, "Brand hiyaku wo suisinsuru jitsuyou gijutsu kyouka jigyou - Mekkin syabetto ice wo motiita shirasunado kogatagyo no kachi koujo -", Tokushimaken nourin suisan sougou gijutsu shien center Heisei 24 nendo suisan kenkyusho jigyou houkokusyo, 42-43 (2013) (in Japanese)
- 18) I. Kakuta, K. Takase, N. Shibuya, M. Sakurai and M. Abe, "Better Quality Japanese Horse Mackerel Using Nano-ice Treatment", Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn., 70(4), pp.261-266 (2016) (in Japanese)
- 19) T. Wakayama (Showa Freezing Plant Co., Ltd), "Nitrogen gas-filled ice, and nitrogen gas-filled ice making device and method", No. P2005-345694, JP 4079968 B2 2008.4.23, (2008) (in Japanese)
<http://www.showareitou.jp/images/227p.pdf> (in Japanese)
- 20) R. Hosomi, Y. Hukuma, T. Sakagami, Y. Matsudo, M. Yoshida and K. Hukunaga, "Hypoxic Gel Ice Storage Extends the Shelf Life of Fresh Fish More Than Block Ice Storage", J. Hyo-On Research, 18, pp.1-6 (2017) (in Japanese)
- 21) J. Hoshino, "Influence of Packaging for Groth of Microorganisms", Jpn. J. Food Microbiol., 12 (2), pp.97-104 (1995) (in Japanese)
- 22) B. Kimura and T. Fujii, "Effect of CO₂ on Microbial Growth", Jpn. J. Food Microbiol., 13(1), pp.1-8 (1996) (in Japanese)
- 23) W.H. Crosby and D.N. Houchin, "Preparing standard solutions of Cyanmethemoglobin", Blood, 12 (12), pp.1132-1136 (1957)
- 24) A.Okamoto, "Studies on preservation of fish freshness - Effects of killing methods, storage temperature and rearing conditions -", Bull. Nagasaki Pref. Inst. Fish., 34, pp.1-44 (2008) (in Japanese)
- 25) F. Matsuura, K. Hashimoto, S. Kikawada and K. Yamaguchi, "Studies on the autoxidation velocity of fish myoglobin", Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 28 (2), pp.210-216 (1962) (in Japanese)
- 26) K. Inohara, S. Kurogi, Y. Onoue, M. Hamada, S. Tamotsu and I. Kimura, "Suppressive effect of ATP contained in muscle on the browning of amberjack *Seriola dumerili* dark muscle during frozen storage", Nippon Suisan Gakkaishi, 80 (6), pp.965-972 (2014) (in Japanese)
- 27) N. Nakazawa, T. Maeda, H. Fukushima, R. Wada, R. Tanka and E. Okazaki, "Effect of cooling conditions on the ATP content and pH of chub mackerel *Scomber japonicus* meat", Trans. of the JSRAE, Advanced Publication, published online on March 15,

2019.

- 28) H. Fukada, T. Hashiguchi, T. Kashiwagi, A. Seno, F. Takakuwa, K. Morioka, M. Sawamura and T. Masumoto, "Effects of yuzu juice-supplemented diets on prevention of dark muscle discoloration during storage in yellowtail *Seriola quinqueradiata* and detection of yuzu flavor components in fish meat", Nippon suisan gakkaiishi, 76 (4), pp.678-685 (2010) (in Japanese)
- 29) K. Oyama, M. Tochino, Y. Ueta, H. Takemori and T. Tada, "Effects of a Diet Supplemented with Powdered Olive *Olea europaea* Leaf on Prevention of Dark Muscle Discoloration in Cultured Yellowtail *Seriola quinqueradiata*", Aquaculture Sci., 58 (2), pp.279-287 (2010) (in Japanese)
- 30) R. Nagasaka, A. Kazama, H. Ushio, H. Sakamoto and K. Sakamoto, "Effects of γ -oryzanol supplementation to diet including astaxanthin on discoloration of yellowtail flesh", Nippon suisan gakkaiishi, 77 (6), pp.1101-1103 (2011) (in Japanese)
- 31) K. Shikama, A. Matsuoka and Y. Sugawara, "The molecular mechanism of autoxidation for myoglobin and hemoglobin", Biophysics, 41 (2), pp.74-79 (2001) (in Japanese)

和文要旨

延髄切断による即殺、苦悶死、氷冷水中での野締めと活き締め、電気麻酔、活き締めと嫌気氷冷水中での放血処理、および、それらの組み合わせがニジマスの品質に及ぼす影響を、赤筋（血合肉）の彩度や b/a 値（鮮やかな赤指標）、白筋（普通筋）の K 値を指標として検討した。また、抗酸化作用を有する成分を混合した飼料の投与が養殖魚の品質に及ぼす影響を赤筋の彩度や b/a 値および脂質酸化指標としての TBARS 値の変化から調べた。その結果、やさしく取り上げた、あるいは、電気麻酔等を用いて短期間の内に不動化した魚を対象に、活き締め処理を施し、その際の放血過程を窒素曝気等を行った嫌気環境にある氷冷水中で行うことで、魚の鮮度が向上し、貯蔵に伴う品質劣化の抑制に極めて有効であることが分かった。また、小規模の養殖施設向けに、次善の策についても言及した。たとえば、事前に抗酸化処理を施した（ポリフェノール等の抗酸化物質を含む餌で飼育した）魚を対象に、電気麻酔等による取り上げ操作に伴う暴れの阻止（迅速な不動化処置）を組み合わせたり、放血処理と嫌氣的微細氷等を用いた急速冷却処理を行ったりすることにより、致死過程や保存初期に生じる品質の劣化を極力抑制し、高品質の魚を流通させることができると考える。

キーワード： ニジマス、品質、締め方の違い、活き締め、白筋（普通筋）と赤筋、電気ショック（麻酔）、窒素水、放血処理、ポリフェノール含有餌、