

# 魚貝類的化學組成與其死後變化

## The Chemical Composition in Fish and Shellfish and Their Post-mortem Changes

邱思魁

Tze-Kuei Chiou

國立臺灣海洋大學生命科學院食品科學系

Received 22 January 2018; revised 7 March 2018; accepted 12 March 2018; available online 20 March 2018

### 摘要

本文內容涵蓋兩項主題，第一部分：魚貝類的化學組成，重點包括主要的組成分、脂質、蛋白質、含氮萃取物成分、維生素和礦物質等五項。第二部分：魚類的死後變化，重點包括感官的變化、自家消化的變化、細菌的變化、脂質氧化和水解。其中，自家消化的變化項目又分為僵直後肌肉中能量的產生、自家消化和核苷酸分解作用、蛋白質分解酵素參與的自家消化的變化(分別討論組織蛋白酶、鈣蛋白酶、膠原蛋白酶等)、凍藏中自家消化的變化等重點。細菌的變化項目又包含：活魚的菌相、微生物的侵入、貯藏期間微生物菌群的變化和腐敗/特定的腐敗微生物、貯藏與腐敗過程中細菌生長所誘發的生化變化、氧化三甲胺的還原等重點。

**關鍵字：**魚貝類、化學組成、死後變化、自家消化、腐敗微生物。

### 一、前言

水產物資源在提供人類糧食的來源上，日漸重要。從水產利用的角度來觀看魚貝類的特性，可歸納出：(1)漁獲的不安定性、(2)魚種及成分組成的多樣性、(3)生理活性物質的存在、(4)血合肉

的存在、(5)容易腐敗變質、(6)有毒種類的出現、(7)造成或影響加工過程出問題之萃取物成分等(吳, 1998)。和陸上畜產品比較，水產品的種類多，棲息的水生環境又含括淡水、海水甚至半鹹水等，本質上環境的組成就有所不同之外，環境因素例如鹽度、水溫等的變化，對於生長棲息其中的水生生物也帶來莫大的影響。

---

\*通訊作者電子信箱：[chioutk@mail.ntou.edu.tw](mailto:chioutk@mail.ntou.edu.tw)

在海洋水產院校的(水產)食品相關科系，「水產化學」一直是重要的必修科目，透過認識這海洋水產特色的專業，始能十足地認識水產品的真面目，進而充分掌握水產物資源的研發與有效利用。在國內，有關的教科書或專書主要有吳等(1991)編著的「水產化學上下冊」(職校用)、吳等(1992)編著的「水產化學上下冊」(專校用)、吳與邱(1996)譯著的「水產食品學」、吳(1998)譯的「水產利用化學」等，這些書都是由國立編譯館出版，後來職專校專業教科用書都委由華香園出版社出版之外，另兩本專書已缺版無貨。聯合國糧農組織(FAO)出版的「Quality Changes in Fresh Fish」報告(Huss, 1995)，以介紹生鮮魚類的品質變化為主題，其內容豐富，討論的範圍層面廣且敘述又有深度，個人深感值得參考。由於篇幅，僅摘取和水產化學的最基本問題部分，加以編寫，最後以本文作完稿。

## 二、魚貝類的化學組成

### (一) 主要組成分

魚的化學組成(chemical composition)在種類間或個體間，會因年齡、雄雌、環境和季節而變動很大。魚和哺乳動物的主要組成分可分成相同的類別，以及舉例說明魚組成分的變動，如表 1 所示，其中亦與牛肉的組成一起比較。從表中的數據，可看到魚肉的組成分有相當大的正常變動範圍，所列的最大值與最小值屬極端而非常態。

魚化學組成的變動與餌料攝取、洄游和產卵所牽連的性轉變等密切關連。因自然或生理原因(譬如洄游和產卵)、或由於外界因素譬如食物不足，魚會有飢餓期間，通常，產卵期不論有無長時間洄游都需要較多的能量，以脂質型式貯藏能量的魚就依賴於此，進行長時間洄游的種類在到達特定的產卵場或河川之前，除脂質之外也會利用蛋白質提供能量。因而同時消耗脂質和蛋白質貯藏，導致魚的生物狀況(biological condition)變差，又大多數種類在產卵洄游期間通常不會消化太多的食物，因而透過飼養也不能夠提供能量。

表 1. 魚肉和牛肉的主要組成分(%)

組成分	魚肉			牛肉
	最低	正常變動值	最高	
蛋白質	6	16~21	28	20
脂質	0.1	0.2~25	67	3
碳水化合物		<0.5		1
灰分	0.4	1.2~1.5	1.5	1
水分	28	66~81	96	75

資料來源：Stansby, 1962; Love, 1970。

密集進食的期間，首先肌肉組織的蛋白質含量會提高至一定的程度，這取決於有多少量被消耗，例如產卵洄游中。其次，脂質含量會明顯地快速增加，產卵之後，回復攝食行為，常洄游尋找食物來源。攝食浮游生物的種類例如鯡魚(herring)會自然經歷另一次比產卵更加明顯的季節性變動，因為浮游生物的產量會受到季節和海洋中的各種物理因素等的影響。

脂質是變動最大的組成分，通常，有些魚種的變動會顯現特別的季節變化曲線，最低值位於產卵時間。圖 1 顯示北海(North Sea)產鯡魚(a)和鯖魚(b)的特別變動情形。

雖然大多數魚種其蛋白質部分的含量較穩定，鯡魚在長時間的產卵洄游(Ando *et al.*, 1985b; Ando and Hatano, 1986)，以及波羅的海鱈魚從 1 月至 6/7 月的產卵季節(Borresen, 1992)，都觀察到蛋白質減少之變動，後者例如圖 2 所示。

有些熱帶魚類的化學組成也會出現明顯的季節性變動。西非鱈魚(*Ethmalosa dorsalis*)在一整年間的脂質含量 2~7% (濕重)，最大值在 7 月(Watts, 1957)。巴西海岸捕撈的黃花魚(*Micropogon furnieri*)和 pescada-foguete (*Marodon ancylodon*)的脂質含量分別為 0.2~8.7% 及 0.1~5.4% (Ito and Watanabe, 1968)，同時這些種類的脂質含量也因魚體的大小而不同，較大型者比較小型者高約 1%。Watanabe (1971)

也探討尚比亞產淡水魚，發現包括中上層(pelagic)與底層(demersals)棲息的四種魚的脂質含量介於 0.1 至 5.0%。

區分寡脂(lean)與多脂(fatty)魚種的一種可行方法，即是寡脂魚僅將脂質貯藏於肝臟，但多脂魚將脂質貯藏分布於其它體組織的脂肪細胞(fat cells)。典型的寡脂魚是底棲性魚種，如鱈魚(cod)、綠青鱈(saithe)和無鬚鱈(hake)。多脂魚的種類包括棲息中上層水域的魚，如鯡(鯨)魚(herring)、鯖魚(mackerel)和小鯡魚(sprat)，有些種類的脂質只貯藏於體組織

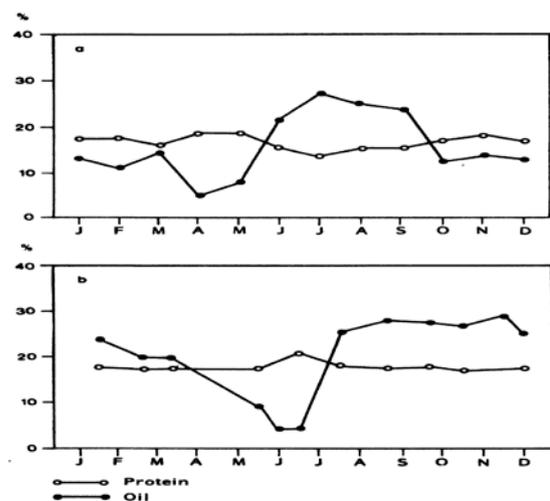


圖 1. (a)鯡魚(*Clupea harengus*)與(b)鯖魚(*Scomber scombrus*)肉化學組成的季節變動。每點代表 8 片魚肉的平均值。

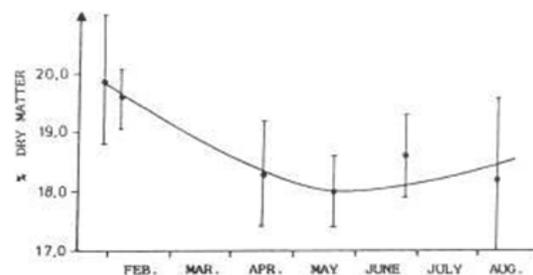


圖 2. 白令海產鱈魚肌肉乾物比率的變動。豎線代表平均值的標準誤差(Borresen, 1992)。

的限定部位，或者比典型的多脂魚含較低的貯藏量，因而稱半多脂(semi-fatty)魚種，例如梭魚(barracuda)、鰻魚(mullet)和鯊魚(shark)。

寡脂魚肉片的脂質含量低且變動小，相對的，多脂魚種肉片的脂質含量變動幅度大。油脂比率的變化也反映於水分的比率，由於油脂和水分兩者通常合計占肉片的 80% 左右，依據經驗法則，從肉片水分量的分析可估計油脂含量。實際上，「Torry Fish Fat Meter」之油脂分析儀器即應用此原理，水分含量才是真正測定的對象(Kent *et al.*, 1992)。

無論寡脂魚或多脂魚，實際的油脂含量對死後變化(post mortem)都有所影響。在生鮮(fresh)寡脂魚所發生的變化，

可從了解其蛋白質區分的生化學變化而預測，在多脂魚種則尚包含脂質的變化，此用意是可能由於脂質氧化而縮短貯藏時間，或者須採取特別的預防措施來防止。

各種魚類的水分、脂質和蛋白質含量的變動情形，如表 2 所示。

魚類肌肉中的碳水化合物含量很低，通常 < 0.5%。屬橫紋肌者大都如此，碳水化合物是以肝醣(glycogen)及作為核苷酸類的組成的一部分而存在，後者來自死後自家消化的變化(autolytic changes)所釋出的核糖(ribose)。

如上所述，不同魚種的化學組成因季節變化、洄游行為、性成熟、餵食週期等而變動，這些因素在開放海域與內

表 2. 各種魚類肌肉的化學組成

種類	學名	水分 (%)	脂質 (%)	蛋白質 (%)	熱量 (kJ/100 g)
藍鱈 Blue whiting <sup>a)</sup>	<i>Micromesistius poutassou</i>	79~80	1.9~3.0	13.8~15.9	314~388
鱈魚 Cod <sup>a)</sup>	<i>Gadus morhua</i>	78~83	0.1~0.9	15.0~19.0	295~332
鰻魚 Eel <sup>a)</sup>	<i>Anguilla anguilla</i>	60~71	8.0~31.0	14.4	
鯡魚 Herring <sup>a)</sup>	<i>Clupea harengus</i>	60~80	0.4~22.0	16.0~19.0	
鰈魚 Plaice <sup>a)</sup>	<i>Pleuronectes platessa</i>	81	1.1~3.6	15.7~17.8	332~452
鮭魚 Salmon <sup>a)</sup>	<i>Salmo salar</i>	67~77	0.3~14.0	21.5	
鱒魚 Trout <sup>a)</sup>	<i>Salmo trutta</i>	70~79	1.2~10.8	18.8~19.1	
鮪魚 Tuna <sup>a)</sup>	<i>Thunnus spp.</i>	71	4.1	25.2	581
挪威龍蝦 Norway lobster <sup>a)</sup>	<i>Nephrops norvegicus</i>	77	0.6~2.0	19.5	369
雷吉牙漢魚 Pejerrey <sup>b)</sup>	<i>Basilichthys bornariensis</i>	80	0.7~3.6	17.3~17.9	
鯉魚 Carp <sup>b)</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	81.6	2.1	16.0	
條紋鯪脂鯉 Sabalo <sup>c)</sup>	<i>Prochilodus platensis</i>	67.0	4.3	23.4	
淡水白鯧 Pacu <sup>c)</sup>	<i>Colossoma macropomum</i>	67.1	18.0	14.1	
大蓋具脂鯉 Tambaqui <sup>c)</sup>	<i>Colossoma brachypomum</i>	69.3	15.6	15.8	
虎紋鴨嘴鯰 Chincuiña <sup>c)</sup>	<i>Pseudoplatystoma tigrinum</i>	70.8	8.9	15.8	
巴西異鱗石首魚 Corvina <sup>c)</sup>	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	67.9	5.9	21.7	
巴格海鱈 Bagré <sup>c)</sup>	<i>Ageneiosus spp.</i>	79.0	3.7	14.8	

資料來源：<sup>a)</sup> Murray and Burt, 1969；<sup>b)</sup> Poulter and Nicolaidis, 1985a；<sup>c)</sup> Poulter and Nicolaidis, 1985b。

陸水域的野生、自由生存的魚種都可觀察到。水產養殖魚也會顯現化學組成上的變動，此情況下，由於有些因素是受控制的，故可預估其化學組成。在一定程度上，養殖魚的化學組成透過選擇的養殖條件就能夠設定，已知例如飼料組成、環境、魚體大小和遺傳特徵等因素，都會影響養殖魚類的組成和品質(Reinitz, *et al.*, 1979)。

影響化學組成之最大單一因素是飼料組成。養殖漁民希望盡可能以最少量的餌料使魚生長愈快，因為餌料是養殖最主要的成本項目。當餵食提供熱量的高脂質以及含有胺基酸組成均衡的高量蛋白質之飼料，此時養殖魚的潛在成長速率最高。

但是，相較於蛋白質，對於有多少的脂質能被代謝，在魚類的基礎代謝模式會設定一些限制，因為蛋白質比起脂質是更貴的飼料成分，很多實驗都探討盡可能將愈多的蛋白質改以脂質取代，可參考下列的文獻：Watanabe *et al.* (1979)、Watanabe (1982)、Wilson and Halver (1986)和 Watanabe *et al.* (1987)。

經常，不論脂質的含量，大多數魚種都會利用一些蛋白質來作為能源，當脂質含量超過能被代謝為能源之最大量時，剩出的部份仍貯藏於組織，這使得魚含有很高的油脂量。除了對整體品質有負面的影響，也使產量減少，因多餘的脂肪都貯藏在腹腔內的脂肪層中，當去除內臟與剖取魚肉片(filleting)時就被丟

棄。

在收穫前，降低養殖魚的油脂含量之常態作法是讓魚飢餓一段期間。一些研究都指出這可影響多脂魚和少脂魚的脂質含量(Reinitz, 1983; Johansson and Kiessling, 1991; Lie and Huse, 1992)。

## (二) 脂質

硬骨魚的脂質可分為兩大類：磷脂質(phospholipids)和三酸甘油酯(triglycerides)。磷脂質是構成細胞中細胞膜的整體結構，通常稱為結構脂質(structural lipids)。三酸甘油酯是將能量貯存於脂肪蓄積處之脂質，通常貯存於磷脂質膜和相當弱的膠原蛋白網狀結構所環繞的特定脂肪細胞(fat cells)，三酸甘油酯一般稱為貯藏油脂(depot fat)，少數魚種含蠟酯(wax esters)，是貯藏油脂的一部分。

典型的寡脂魚如鱈魚(cod)所含的脂質低於 1%，其中的磷脂質占約 90%(Ackman, 1980)，寡脂魚肌肉中的磷脂質區分由大約 69% 磷脂醯膽鹼(phosphatidyl choline)、19% 磷脂醯乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine)和 5% 磷脂醯絲胺酸(phosphatidyl serine)等組成，另還有其它微量的磷脂質類。

磷脂質存在於膜結構中，包括細胞外膜(outer cell membrane)、內質網(endoplasmic reticulum)和細胞內的小管系統(intracellular tubule systems)，以及粒線體(mitochondria)等胞器(organelles)的膜。除

了磷脂質，膜也含有膽固醇，貢獻膜的剛性(rigidity)。寡脂魚的肌肉中，膽固醇含量可達總脂質(total lipids)量的 6%，類似於哺乳動物肌肉。

前已說明，依照如何為能量而貯存脂質，魚的種類可分為寡脂魚或多脂魚，寡脂魚利用肝臟作為能量貯存場所，多脂魚將脂質貯存於遍佈全身的脂肪細胞。

多脂魚的脂質貯存所在的脂肪細胞，通常位於皮下組織(subcutaneous tissue)、腹部皮瓣肌(belly flap muscle)和主導鰭及尾部動作的肌肉，有些含特別高量油脂的魚種也會貯存在腹腔(belly cavity)，根據多元不飽和脂肪酸的含量，多數魚類的油脂在低溫下或多或少都是液體。

最後，油脂貯存通常都是遍佈於肌肉結構，脂肪細胞的濃度大抵在靠近肌隔(myocommata)、以及在普通肉(light/ordinary muscle)與血合肉(dark muscle)之間的區域為最高(Kiessling *et al.*, 1991)。即使是寡脂魚，血合肉在其肌肉細胞內包含一些三酸甘油酯，蓋因血合肉能夠直接代謝脂質為能量。普通肉細胞則依賴肝醣作為嫌氣性代謝(anaerobic metabolism)的能量來源。

在血合肉中，能量儲備最後被完全代謝為二氧化碳和水，相對的在普通肉則生成乳酸。普通肉中的能量調動(mobilization of energy)比在血合肉中快速很多，但乳酸的生成易產生疲勞，使肌

肉無法以最大的速率長時間運作。因此，血合肉是利用於持續性長時間的游泳活動，而普通肉利用在瞬間爆發性的能量，譬如要捕獲獵物或者逃避捕食者的追捕。

鯖魚(mackerel)和柳葉魚(capelin)油脂蓄積的季節性變動，如圖 3 所示，可看出不同組織內的脂質含量變動相當大，脂質儲藏通常是為了長時間產卵洄游和建構生殖腺時(Ando *et al.*, 1985a)。當脂質因這些目的而調動時，三酸甘油酯中不同的脂肪酸是否選擇性地被利用，仍不清楚，鮭魚明顯並無該情形，但鱈魚會選擇性利用 DHA (C22:6) (Takama *et al.*, 1985)。

持續性洄游時，磷脂質也可被動員一定的程度(Love, 1970)，儘管一般認為磷脂質比起三酸甘油酯，被保留更多。

在鯊魚等軟骨魚類(elasmobranchs)，相當量的脂質貯存於肝臟，包含二醯基-烷基-甘油酯類(diacyl-alkyl-glyceryl esters)

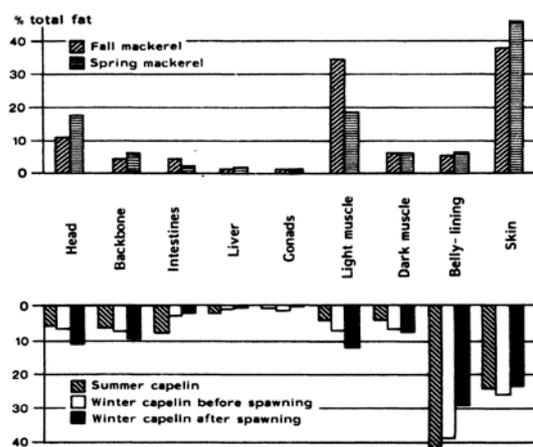


圖 3. 挪威產鯖魚(上圖)和柳葉魚(下圖)不同部位中總油脂的分佈(Lohne, 1976)。

或鯊烯(squalene)等油脂，有些鯊魚肝臟油至少 80% 脂質是不皂化物(unsaponifiable substance)，其中大多是鯊烯(squalene) (Buranudeen and Richards-Rajadurai, 1986)。

魚類脂質不同於哺乳動物脂質，主要的不同在於魚類脂質包括多至 40%長鏈脂肪酸(14~22 個碳原子)，且是高度不飽和化，哺乳動物脂質每一脂肪酸分子很少含有超過 2 個雙鍵者，而魚的貯藏油脂含有 5 或 6 個雙鍵的數種脂肪酸 (Stansby and Hall, 1967)。

含 4、5 或 6 個雙鍵的高度不飽和脂肪酸的比率，在淡水魚脂質(約 70%)略低於在海水魚脂質(約 88%) (Stansby and Hall, 1967)，但是，脂質的組成並非完全固定，仍隨攝食餌料和季節而變動。

在人類，營養素脂肪酸如亞麻酸(linoleic acid)和次亞麻酸(linolenic acid)由於體內無法合成而視為是必需的。在海水魚，這些脂肪酸只占總脂質的 2% 左右，和許多蔬菜油比較，比率是低的。但魚油含有其它的高度不飽和脂肪酸，如同亞麻酸和次亞麻酸，是預防皮膚病症所必需的。屬於次亞麻酸家族(第一個雙鍵位在第 3 位置，從末端甲基算起為 $\omega$ -3)的成員，對成長中小孩神經系統具有好處。這些脂肪酸之一的二十碳五烯酸(EPA; eicosapentaenoic acid; C20:5 $\omega$ 3)最近受到重視，丹麥科學家發現在一群格陵蘭愛斯基摩人的飲食中，此種脂肪酸含量高；英國和其它地區的調查也指出

血液中的 EPA 是非常強力的抗血栓因子(antithrombotic factor) (Simopoulos *et al.*, 1991)。

### (三) 蛋白質

魚類肌肉組織中的蛋白質，可分為下列三群：

1. 結構蛋白質(structural proteins)：肌動蛋白(actin)、肌凝蛋白(myosin)、原肌球蛋白(tropomyosin)和肌動凝蛋白(actomyosin)，構成總蛋白質含量的 70~80%，這些蛋白質可溶解於離子強度(ionic strength)相當高(0.5 M)的中性鹽溶液。
2. 肌漿蛋白質(sarcoplasmic proteins)：肌白蛋白(myoalbumin)、球蛋白(globulin)和酵素，可溶解於低離子強度(< 0.15 M)的中性鹽溶液，構成總蛋白質的 25~30%。
3. 結締組織蛋白質(connective tissue proteins)：膠原蛋白(collagen)，構成硬骨魚及軟骨魚的蛋白質各約 3%及 10%，在哺乳動物為 14%。

結構蛋白質建構收縮機構(contractile apparatus)以負責肌肉的運動。雖物理性質有些差異，胺基酸組成大抵類似於哺乳動物肌肉中對等的蛋白質。等電點(isoelectric point; pI)在 pH 4.5~5.5，在此對應的 pH 值範圍內，蛋白質的溶解度最低，如圖 4 所示。

魚類蛋白質的構形結構(conformational structure)受到物理環境的改變而易生變化。在圖 4，顯示肌原纖維蛋白質(myofibrillar proteins)溶解度特性在凍結乾燥後的改變，高鹽濃度或加熱的處理會導致變性(denaturation)，在此之後天然蛋白質(native protein)發生不可逆的改變。

當蛋白質在控制條件下變性，得到的性質可應用於加工上的目的。很好的範例為水產煉製品(surimi-based products)的製造，就是利用肌原纖維蛋白質的膠體形成能力(gel forming ability)，水洗及搗潰後的肌肉蛋白質加入鹽、穩定劑，並經一定條件的加熱與冷卻步驟之後，蛋白質就形成高彈性的膠體(Suzuki, 1981)。

肌漿蛋白質的大部分是參與細胞代謝的酵素，譬如從肝醣至 ATP 之厭氧性能量轉換(anaerobic energy conversion)。如果肌肉細胞內的胞器受損，該蛋白質區分也會含有原存在於內質網(endoplasmic reticulum)、粒線體

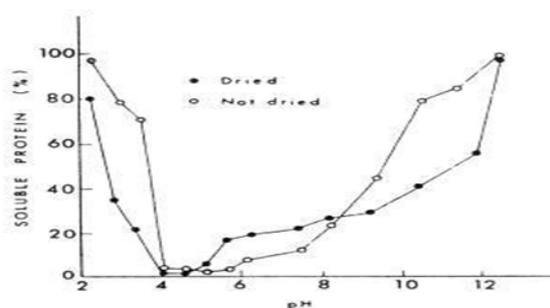


圖 4. 在 pH 2-12 範圍下凍結乾燥前後的肌原纖維蛋白質的溶解性(Spinelli et al., 1972)。

(mitochondria)和溶菌酶(lysosomes)等內部的代謝酵素。

當胞器破損而造成肌漿蛋白質區分組成的改變，被應用於辨識生鮮和冷凍魚的方法，前提是冷凍前的胞器都是完整的(Rehbein et al., 1978; Rehbein, 1979; Salfi et al., 1985)。但後來的研究指出，使用這方法要很小心，因魚冰藏期間有些酵素也會從胞器釋出(Rehbein, 1992)。

肌漿區分中的蛋白質非常適用於辨識不同的魚種，當採用等電點聚焦電泳(isoelectric focusing)的分離方法，所有不同的種類都顯示特徵的帶圖紋(band pattern)，此方法由 Lundstrom (1980)開發成功，許多實驗室也採用並應用於很多的魚種，這方面的文獻整理參照 Rehbein (1990)。

膠原蛋白的化學與物理性質，因組織如皮、浮鰾(swim bladder)和肌肉內的肌隔(myocommata)而不同，通常，膠原蛋白纖維形成微妙的網狀構造，不同的結締組織中其複雜性也不同，如同在哺乳動物的情形；但是，魚類膠原蛋白的熱穩定性更差，比起溫血脊椎動物的膠原蛋白，所含的交聯(cross-links)程度較少且更不穩定的。雖然魚類膠原蛋白中的羥脯胺酸(hydroxyproline)含量變動介於 4.7% 至 10% 之間，但一般而言魚類的羥脯胺酸含量低於哺乳類(Sato et al., 1989)。

各種魚類的體組織各含不同量的膠原蛋白，這導致一項理論即膠原蛋白的

分佈反映出魚種的游泳行為(Yoshinaka *et al.*, 1988)。又，魚類的不同含量與不同類型的膠原蛋白也影響魚類肌肉的質地性質 (Montero and Borderias, 1989) , Borresen (1976)開發一種方法，即分離圍繞在每一個別肌肉細胞的膠原蛋白網狀構造；鱈魚中這些的構造的結構和組成已深入探討(Almaas, 1982)。

魚類膠原蛋白的角色已有綜述 (Sikorski *et al.*, 1984) , Bremner (1992)發表更完整的綜述，發現自魚類的各種型式膠原蛋白的有關近期文獻，大多有列入。

魚類蛋白質含有全部的必需胺基酸 (essential amino acids) , 如同牛奶、蛋類及哺乳動物肉類蛋白質，生物價 (biological value) 很高 (表 3)。

穀類蛋白質通常其離胺酸(lysine)及/或含硫胺基酸(甲硫胺酸 methionine 與半胱胺酸 cysteine)的含量低，相對的，魚類蛋白質是這些胺基酸的優良來源。穀物為主食，若再補充魚，可顯著提升生物價。

除了提及的魚類蛋白質，自副產物 (特別是內臟)回收特定的蛋白質部分，這問題也受重視。其中一例為雄性魚的鹼性蛋白質 (basic protein) 或魚精蛋白 (protamines) , 分子量大致在 10000 kD 以下，等電點大於 10，極端的胺基酸組成例中，精胺酸比率可高達 65%。很早就知道鹼性蛋白質的存在，且並非所有魚類中都有(Kossel, 1928) , 最佳的來源為鮭科(salmonids)和鯡魚(herring) , 相對的，底棲魚類如鱈魚並不含魚精蛋白。

魚精蛋白的極偏鹼性的特性因有些原因而受注目。可吸附至大多數較低鹼性的其它蛋白質，因而具有促進其它食品蛋白質的功能性質之作用(Poole *et al.*, 1987; Phillips *et al.*, 1989) , 但是，蛋白質製備時要除去精巢中的脂質，問題仍大，使用在食品中的濃度，會有不良風味的問題。鹼性蛋白質另一受注目的特點為防止微生物生長之能力(Braekkan and Boge, 1964; Kamal *et al.*, 1986) , 有可能是這些鹼性蛋白質未來最有希望的應用。

表 3. 各種蛋白質中的必需胺基酸(%)

胺基酸	魚	牛奶	牛肉	蛋
離胺酸 Lysine	8.8	8.1	9.3	6.8
色胺酸 Tryptophan	1.0	1.6	1.1	1.9
組胺酸 Histidine	2.0	2.6	3.8	2.2
苯丙胺酸 Phenylalanine	3.9	5.3	4.5	5.4
白胺酸 Leucine	8.4	10.2	8.2	8.4
異白胺酸 Isoleucine	6.0	7.2	5.2	7.1
蘇胺酸 Threonine	4.6	4.4	4.2	5.5
甲硫胺酸-胱胺酸 Methionine-Cystine	4.0	4.3	2.9	3.3
纈胺酸 Valine	6.0	7.6	5.0	8.1

資料來源：Braekkan, 1976; Moustgard, 1957。

#### (四) 含氮萃取物成分

含氮萃取物成分 (N-containing extractives) 可定義為非蛋白質本質 (non-protein nature) 的水溶性、低分子量的含氮化合物，非蛋白態氮 (non-protein nitrogen) 區分構成硬骨魚類的 9~18% 總氮量 (total nitrogen)。

非蛋白態氮區分的主要組成分為：揮發性鹽基類 (volatile bases) 譬如氨 (ammonia) 及氧化三甲胺 (trimethylamine oxide; TMAO)、肌酸 (creatine)、游離胺基酸 (free amino acids)、核苷酸與其嘌呤鹽基類 (nucleotides and purine bases)、及在軟骨魚 (cartilaginous fish) 的尿素 (urea)。

表 4 中，列出各種魚類、禽肉與哺乳動物肉的非蛋白態氮區分中的一些組成分。

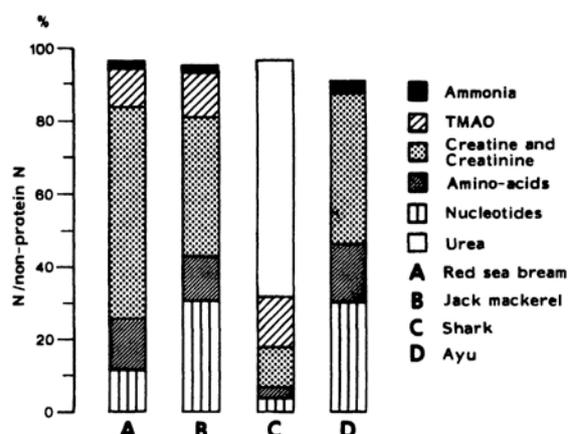


圖 5. 兩種硬骨魚(A: 嘉鱚; B: 日本竹筴魚)、一種軟骨魚(C: 鯊魚)和一種淡水魚(D: 香魚)肌肉中的非蛋白態氮分佈 (Konosu and Yamaguchi, 1982; Suyama et al., 1977)。

淡水魚與海水魚的非蛋白態氮區分中各種化合物的分佈樣式如圖 5 所示。須注意：組成不僅隨種類的不同，即使同一種類也因體型大小、季節、肌肉樣品等而變動。

表 4. 肌肉萃取物成分中的主要差異

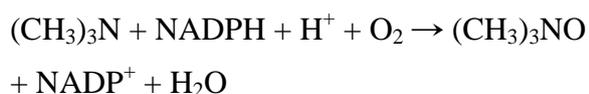
化合物 (mg/100 g 濕重) <sup>1</sup>	魚類 鱈魚	魚類 鮭魚	魚類 鯊魚類	甲殼類 龍蝦	禽類 腿肉	哺乳類 肌肉
1) 萃取物成分總量	1200	1200	3000	5500	1200	3500
2) 游離胺基酸總量：						
精胺酸 Arginine	<10	<10	<10	750	<20	<10
甘胺酸 Glycine	20	20	20	100~1000	<20	<10
麩胺酸 Glutamic acid	<10	<10	<10	270	55	36
組胺酸 Histidine	<1.0	86	<1.0	-	<10	<10
脯胺酸 Proline	<1.0	<1.0	<1.0	750	<10	<10
3) 肌酸 Creatine	400	400	300	0	-	550
4) 甜菜鹼 Betaine	0	0	150	100	-	-
5) 氧化三甲胺 Trimethylamine oxide	350	250	500~1000	100	0	0
6) 甲肌肽 Anserine	150	0	0	0	280	150
7) 肌肽 Carnosine	0	0	0	0	180	200
8) 尿素 Urea	0	0	2000	-	-	35

<sup>1</sup>表中的單位是指化合物的總分子量 (Shewan, 1974)。

氧化三甲胺構成海水魚非蛋白態氮區分中的一項特徵且是重要的部分，此成分在所有海水魚都存在，含量從肌肉組織(乾重)的 1% 至 5%，但淡水魚和陸生生物中幾乎不存在(Anderson and Fellers, 1952; Hebard *et al.*, 1982)。例外發現維多利亞湖產鱸魚(Nile perch)與吳郭魚(tilapia)，TMAO 量達 150~200 mg/100 g 肉(Gram *et al.*, 1989)。

雖然研究不少，TMAO 的來源與扮演的作用不明處仍多。Stroem *et al.* (1979)指出：TMAO 是透過某些動物性浮游生物中的生合成而形成，這些生物具有一種酵素三甲(基)胺單氧合酶(TMA mono-oxygenase; trimethylamine; TMA 三甲胺)可將 TMA 氧化成為 TMAO。TMA 普遍存在於海洋生物，如同許多其它甲基化胺類(methylated amines)如甲(基)胺(monomethylamine)和二 甲(基)胺(dimethylamine)，當攝食浮游生物的魚類(plankton-eating fish)捕食這些動物性浮游生物後，就獲取了 TMAO。Belinski (1964)、Agustsson and Stroem (1981)也指出：某些魚類能夠從 TMA 合成 TMAO，但這樣合成的重要性小。

TMA-氧化酶(TMA-oxidase)系統存在於細胞的微粒體(microsomes)，其活性取決於菸草鹼腺腺嘌呤二核苷酸磷酸鹽(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH)的存在：



令人費解的是，這單氧合酶(mono-oxygenase)卻發現廣泛存在於哺乳動物(認為作解毒劑功能)，大多數魚類的該酵生活性低或無法測出。Kawabata (1953)指出某些表層魚類(pelagic fishes)的血合肉中存在 TMAO 還原系統(TMAO-reducing system)。

肌肉組織中的 TMAO 含量取決於種類、季節、漁場等。通常，最高含量存在於軟骨魚和魷魚(75~250 mg N/100 g)；鱈魚的含量稍低(60~120 mg N/100 g)，而比目魚和表層魚類的含量最低；更廣泛的數據描述可參考 Hebard *et al.* (1982)的綜述。根據 Tokunaga (1970)，表層魚類如沙丁魚(sardines)、鮪魚(tuna)、鯖魚(mackerel)，以血合肉中的 TMAO 濃度最高，但底棲的白肉魚其普通肉中的含量更高。

在軟骨魚類，TMAO 似在滲透壓調節中扮演作用，有報告顯示，將小魷魚(small rays)移至淡水和海水(1:1)混合中，細胞內的 TMAO 濃度降低 50%。硬骨魚類中 TMAO 的作用更加不清楚。

關於 TMAO 的角色有幾種假設提出：

- TMAO 完全是一種廢棄的產物，TMA 的解毒化型式
- TMAO 是一種滲透壓調節物(osmoregulator)
- TMAO 作為一種抗凍結("anti-freeze")的功能

- TMAO 不具有意義的功能，魚餵食含 TMAO 的餌料，就蓄積肌肉

根據 [Stroem \(1984\)](#) 的報告，目前普遍認為 TMAO 的滲透壓調節作用。在 [Gram et al. \(1989\)](#) 發表以前，TMAO 都僅限於海洋物種中存在；也有報告推測 TMAO 連同高含量的牛磺酸可能有額外的作用，至少針對淡水魚([Anthoni et al., 1990](#))而言。

定量上，非蛋白態氮區分的主要組成分為肌酸(creatine)，在靜止態(resting)的魚，大部分肌酸都磷酸化(以肌酸磷酸 creatine phosphate 型式)，提供肌肉收縮所需的能量。非蛋白態氮區分含相當量的游離胺基酸，鯖魚(*Scomber scombrus*) 的普通肉中達 630 mg/100 g，在大西洋鱈魚(*Clupea harengus*) 為 350~420 mg/100 g，在毛鱗魚(*Mallotus villosus*) 為 310~370 mg/100 g。不同胺基酸的相對重要性因種類而異，大部分魚類中，牛磺酸、丙胺酸、甘胺酸與含咪唑(imidazole-containing)胺基酸等的含量大抵較高，含咪唑胺基酸之中，組胺酸(histidine)最受注目，因被微生物的脫羧基化之後就生成組織胺(histamine)。活動性強、帶血合

表 5. 魚的維生素含量

魚類	A (IU/g)	D (IU/g)	B <sub>1</sub> (thiamine) (μg)	B <sub>2</sub> (riboflavin) (μg)	Niacin (μg)	Pantothenic acid (μg)	B <sub>6</sub> (μg)
鱈魚肉片	0~50	0	0.7	0.8	20	1.7	1.7
鱈魚肉片	20~400	300~1000	0.4	3.0	40	10	4.5
鱈魚肝油	200~10.000	20~300	-	<sup>1)</sup> 3.4	<sup>1)</sup> 15	<sup>1)</sup> 4.3	-

<sup>1)</sup> 整個肝臟；資料來源：[Murray and Burt \(1969\)](#)。

肉魚種譬如鮪魚和鯖魚都含有高量的組胺酸。

魚死後核苷酸(nucleotides)與其裂解物的含量取決於魚的狀態，在後面章節介紹。

#### (五) 維生素和礦物質

維生素和礦物質的含量是種屬特異的(species-specific)，也會因季節而變動。通常，魚肉是維生素 B 的好來源，多脂魚也是維生素 A 與 D 的好來源。一些淡水魚如鯉魚含有的硫胺酶(thiaminase) 活性高，因而這些魚種的硫胺(thiamine; B<sub>1</sub>) 含量通常都低。至於礦物質，魚肉被認為是鈣和磷的很好來源，特別也是鐵、銅和硒。鹹水魚的碘含量高，[表 5](#) 和 [表 6](#) 分別列出一些維生素與礦物質的含量。由於這些組成分的自然變動，給準確的數字是有所困難。

除了多脂魚的魚肉含多量的維生素 A 與 D，以及譬如鱈魚(cod)與比目魚

表 6. 魚肌肉中的礦物質組成分

元素	平均值 (mg/100 g)	範圍(mg/100 g)
鈉	72	30~134
鉀	278	19~502
鈣	79	19~881
鎂	38	4.5~452
磷	190	68~550

資料來源：[Murray and Burt, 1969](#)。

(halibut)等種類的肝臟也含量豐富之外，魚類的維生素含量相似於哺乳動物。但須注意的是，魚肉的鈉含量相對地較低，適用於低鈉膳食。

在養殖魚類，維生素和礦物質的含量會反映出魚飼料中對應組成分的組成，雖然數據的解釋上須小心。為保護對於魚與人健康都重要的 n-3 高度不飽和脂肪酸，飼料中會添加維生素 E 作為抗氧化劑，報告指出在魚組織中的維生素 E 濃度相當於在飼料中的濃度(Waagboe *et al.*, 1991)。

### 三、魚類的死後變化 (Postmortem changes)

#### (一) 感官的變化

感官的變化(Sensory changes)是指感官上所感受得到的變化，譬如外觀(appearance)、氣味(odor)、質地(texture)和滋味(taste)。

##### 1. 生鮮魚(fresh fish)的變化

魚類貯藏過程中，首先引人注意的感官的變化是外觀和質地。魚類的特徵滋味通常在冰藏的前幾天期間仍舊保留。

最激烈的變化為死後僵直(rigor mortis)的發生。剛死去的魚肌肉仍處於鬆弛狀態，具有彈性的質地常持續數小時，之後肌肉才會收縮。當成為硬直之後，整個魚體變硬，魚即處於死後僵直的狀態，這狀況延續一天或以上，然後僵直解除。死後僵直的解除使肌肉再度

鬆弛並軟化，但彈性觸感已不如僵直之前。死後僵直的發生與消失的速率因魚種而異，溫度、處置方式、大小與魚的物理狀態等也有影響(表 7)。

溫度對僵直的影響並不一致。鱈魚為例，高溫下死後僵直發生快速且很強烈，必須避免這樣的情況，因死後緊縮強烈會導致肌肉的龜裂(gapping)，即弱化結締組織而使魚片破裂。

一般認為死後僵直的發生與時間是在高溫下較快速，但另特別觀察熱帶魚種，卻顯示溫度對於僵直發生的影響剛好相反，這些魚種在 0°C 比在 10°C 更快速發生僵直，且和在 0°C 的生化學變化有關連(Poulter *et al.*, 1982; Iwamoto *et al.*, 1987)。Abe and Okuma (1991)解釋：鯉魚(*Cyprinus carpio*)死後僵直的發生取決於原棲息的水域溫度和貯藏溫度，當兩者的溫度差大時從死亡至僵直發生之時間就短，反之溫度差小時發生的時間就長。

如果魚飢餓或者肝醣儲存已耗盡、或者魚類受緊迫，死後僵直於死後立即或很快地開始。用來迷昏與猝死魚的方法也影響僵直的發生，以低溫(將魚置冰水中使之失溫而死亡)使之昏迷與猝死僵直發生最快，而敲擊頭部而致死則可延遲至多達 18 小時(Azam *et al.*, 1990; Proctor *et al.*, 1992)。

當僵直前或僵直中切割魚片，死後僵直在加工技術上的意義就顯得很重要。僵直中的魚體是完全僵硬的，魚片

表 7. 不同魚種死後僵直的發生時間與期間

種類	狀態	溫度 (°C)	死亡至僵直發生時間(小時)	死亡至解僵時間(小時)	
鱈魚 ( <i>Gadus morhua</i> )	緊迫	0	2~8	20~65	
	緊迫	10~12	1	20~30	
	緊迫	30	0.5	1~2	
石斑 ( <i>Epinephelus malabaricus</i> )	無緊迫	0	14~15	72~96	
	無緊迫	2	2	18	
奧利亞吳郭魚( <i>Areochromis aureus</i> )	緊迫	0	1		
	無緊迫	0	6		
吳郭魚 ( <i>Tilapia mossambica</i> ) 小型 60g	無緊迫	0~2	2~9	26.5	
懷氏長尾鱈 ( <i>Macrourus whitson</i> )	緊迫	0	<1	35~55	
鯷魚( <i>Anchovy; Engraulis anchoita</i> )	緊迫	0	20~30	18	
鱒魚 ( <i>Pleuronectes platessa</i> )	緊迫	0	7~11	54~55	
黑鱈 ( <i>Pollachius virens</i> )	緊迫	0	18	110	
紅魚(Redfish; <i>Sebastes</i> spp. 平鮎屬)	緊迫	0	22	120	
	牙鮪 ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )		0	3	>72
			5	12	>72
			10	6	72
			15	6	48
		20	6	24	
鯉魚 ( <i>Cyprinus carpio</i> )		0	8		
		10	60		
		20	16		
	緊迫	0	1		
	無緊迫	0	6		

資料來源：Hwang *et al.*, 1991; Iwamoto *et al.*, 1987; Korhonen *et al.*, 1990; Nakayama *et al.*, 1992; Nazir and Magar, 1963; Partmann, 1965; Pawar and Magar, 1965; Stroud, 1969; Trucco *et al.*, 1982。

的採肉率會很差，且處理粗糙可能另引起龜裂。如果僵直前就切除骨架的魚片就能自行收縮，因而隨著僵直的發生魚片會變短，血合肉(dark muscle)收縮可達52%，而普通肉(white muscle)達原長度的15% (Buttkus, 1963)。如僵直之前就煮魚，質地變成很軟、有些糊狀般，反之如煮僵直中的魚，其質地硬但不乾澀，而僵直後的魚會變得緊實、多汁且有彈性。

凍結僵直前的全魚和魚片，如細心地在低溫下解凍，為使仍凍結的肌肉通過死後僵直的時間進程，也能得到好的產品。

在市場和卸貨地點，生鮮魚(raw fish)的感官品評乃評定外觀、質地和氣味。魚類的感官屬性(sensory attributes)列於表 8，多數的評分制是植基於融冰(melting ice)貯藏期間所發生的變化，必須記得特徵的變化會因貯藏方法而改

變。貯藏於不加冰塊的冷藏條件下，魚類外觀的變化不若冰藏魚那樣的複雜，但魚腐敗更快速，故也需要品評煮熟風味(cooked flavor)。因而，漁船卸貨後，瞭解魚的時間/溫度歷程是不可欠缺的。

魚僵直後的特徵感官變化，因種類與貯藏方法的不同而差別大。一般的說明載列在歐洲經濟共同體(EEC)提出的魚類品質評定指引中，如表 8。所建議的尺度從 0 至 3 號碼，3 為最佳的品質。西歐魚類技師協會也編寫氣味和風味有關的多種語言語彙，當作魚類鮮度的感官品評而尋找描述用語時幫助很大(Howgate et al., 1992)。

## 2. 食用品質(eating quality)的變化

如需要冷藏魚在貯藏中的品質標準，可進行煮熟魚的感官評定，針對煮熟魚介類的一些屬性列於表 8。魚類冰藏中，品質變差的特徵樣式，分為下列 4 個階段：

- A. 第一階段：魚很新鮮，帶有甜的、海藻般與好吃般的滋味，滋味中可能有非常弱的金屬般味道。鱈魚(cod)、黑線鱈(haddock)、牙鱈(whiting)和比目魚(flounder)在捕獲 2-3 天後甜味達最高。
- B. 第二階段：特徵氣味與滋味有些減弱，魚肉變為中性的(neutral)，但仍無不良氣味，質地也令人喜歡的。

- C. 第三階段：出現腐敗的跡象，依魚種與腐敗型式(好氧的 aerobic、厭氧的 anaerobic)的不同而產生一系列揮發性不愉快的氣味物質，揮發性化合物之一的三甲胺(trimethylamine; TMA)源自氧化三甲胺(trimethylamine oxide; TMAO)的細菌性還原，三甲胺具有非常特別的魚腥味(fishy smell)，在第三階段初期的不良風味可能略有酸味(sour)、果香(fruity)與微苦味(bitter)，尤其在多脂魚。至後期間，死甜般(sickly sweet)、類似白菜(cabbage-like)、氨味(ammoniacal)、硫味(sulphurous)與油燒(rancid)等氣味產生，質地變得軟而多水般的或者乾硬的。
- D. 第四階段：魚的特徵為已變壞的(spoiled)和腐敗的(putrid)。

號碼尺度(numbered scale)可用於煮熟魚的感官品評，如圖 6 所示。尺度從 0 至 10 編號，10 為絕對新鮮(absolute freshness)，8 為品質佳(good quality)，6 為中性無味的魚(a neutral tasteless fish)，拒絕的級別為 4，使用這種方式的尺度其圖形變成 S-型，顯示魚的品質在第一階段快速下降，在第二階段速率較緩，在第三與最後的階段當魚腐敗時速率又變快。

其它尺度也能夠適用而變更圖形的形狀，但重要的是要知道必需從感官分

表 8. 鮮度評級(Freshness ratings)：理事會法規(歐洲經濟共同體)第 103/76 OJ No. L20 (1976 年 1 月 28 日) (EEC, 1976)

標準(Criteria)				
標識(Marks)				
檢查部位	3	2	1	0
<b>外觀</b>				
皮	明亮、特有色彩、無褪色 水漾般透明黏液	有色彩但無光澤 黏液稍混濁	逐漸褪色與暗沉 黏液白濁	<sup>1</sup> 色澤暗沉 黏液混濁
眼	凸出(鼓起) 眼睛透明 瞳孔黑且明亮	稍下陷但仍凸出 眼睛稍不透明 瞳孔黑但暗沉	平坦 眼睛不透明 瞳孔不透明	中間凹陷 眼睛白濁 瞳孔白灰色
鰓	顏色明亮 無黏液	顏色略淡 有些清澈黏液	已變色 不透明黏液	<sup>1</sup> 偏黃 白濁黏液
肉(腹部)	帶藍色、透明、光滑、光亮 原有顏色	絲絨般、蠟質、暗沉 顏色稍改變	有些不透明	<sup>1</sup> 不透明
顏色(順沿脊椎)	本色的	略粉紅	粉紅	<sup>1</sup> 紅色
臟器	腎及其餘臟器應是亮紅、大動脈內部有血	腎及其餘臟器應是暗紅的；血液退色	腎及其餘臟器以及血液為但紅色	腎及其餘臟器以及血液為褐色
<b>狀態</b>				
肉	緊實有彈性 表面平滑	彈性略失	稍軟(鬆弛)、失彈性 表面蠟質般暗沉	變軟(鬆弛) 鱗片易脫落、體表皺縮、蒼白
脊椎	斷裂而不是分離	黏附	稍黏附	<sup>1</sup> 不黏附
腹膜	完全黏附於肉	黏附	稍黏附	<sup>1</sup> 不黏附
<b>嗅聞</b>				
鰓、皮、腹腔	海藻味	聞不出海藻味或任何不好的氣味	些微酸味	<sup>1</sup> 酸味

<sup>1</sup>或處於更加衰退的狀態。

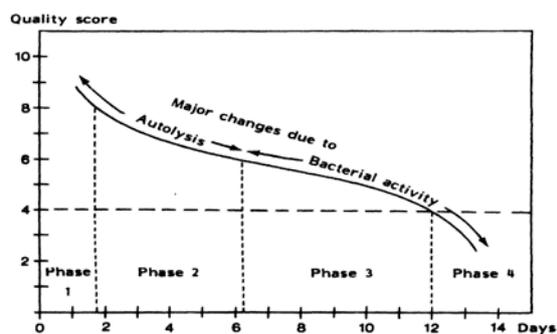


圖 6. 冰藏(0°C)鱈魚的食用品質變化(Huss, 1976)。

析取得怎樣類型的結果，以便提出正確的問題給感官評定者。

## (二) 自家消化的變化(Autolytic changes)

自家消化(autolysis)意指自行的消化，很早以前即瞭解魚類的腐敗至少有兩種型式：細菌性和酵素性。Uchiyama and Ehira (1974)指出鱈魚(cod)和黃鰭鮪(yellowtail tuna)的鮮度受酵素性的變化所

主導，較少關連於微生物的品質變化。在有些魚種(魷魚 squid、鯡魚 herring)，酵素性的變化優先主導冷藏魚的腐敗。在其它魚種，除了微生物介導的過程(microbially-mediated processes)，自家消化對整體品質的下降，貢獻程度不同。

### 1. 僵直後肌肉中能量的產生

剛死當時，由於心臟不再幫浦血液與透過腮的循環，氧氣供應至肌肉組織即中斷。因得不到氧氣作正常呼吸，從所消化的營養素轉化為能量的產生就大受限制。圖 7 說明大多數活硬骨魚(teleost fish; bony finfish)中肌肉產生能量的正常途徑，肝醣(儲藏的碳水化合物)或脂肪被組織內酵素氧化或者燃燒，經由一系列反應而最後產生二氧化碳、水和高能量的腺苷三磷酸(adenosine triphosphate; ATP)，這類型的呼吸包含二個階段：厭氧的(anaerobic)和好氧的(aerobic)階段，後者取決於一直有氧氣的存在，而氧氣僅能由循環系統取得，大多數甲殼類動物在水生環境的外界也能夠呼吸，即在有限時間內吸收大氣中的氧氣。

圖 7 也說明在厭氧的條件下，ATP 可透過其它兩種重要的途徑從肌酸磷酸(creatine phosphate)或從精胺酸磷酸(arginine phosphate)來合成，前者能量來源僅限於脊椎動物肌肉(硬骨魚類)，後者是一些無脊椎動物如頭足類(cephalopods)(鎖管 squid 與章魚 octopus)的特徵。在這兩情況下，當肌酸磷酸或精胺酸磷酸耗

盡時，ATP 的生成就停止；值得注意的是，頭足類動物的厭氧性代謝最終產物之章魚鹼(octopine)，並非酸性的(不同於乳酸)，因而在這些動物，僵直後 pH 的任何改變和從肝糖產生的乳酸都無關連。

對大多數硬骨魚類而言，一旦心臟停止跳動，醱解(glycolysis)是能量產生的唯一可能途徑，這效率更低的過程其最終產物以乳酸與丙酮酸為主，又經由醱解而產生 ATP，每莫耳葡萄糖的氧化僅產生 2 莫耳 ATP，相對於在活體動物的粒腺體中，如醱解的最終產物進行好氧性氧化，每莫耳葡萄糖產生 36 莫耳 ATP。因而死後，厭氧態肌肉無法維持正常的 ATP 濃度，且當細胞內的含量從 7~10  $\mu\text{moles/g}$  降至  $<1.0 \mu\text{moles/g}$ ，肌肉進入死後僵直。死後的醱解會導致乳酸的蓄積並降低肌肉的 pH。鱈魚(cod)的 pH 從 6.8 降為最終 pH 的 6.1~6.5，一些魚種的最後 pH 值更低：大型鯖魚(mackerel)的最終僵直 pH 可降至 5.8~6.0，鮪魚(tuna)和比目魚(halibut)更低至 5.4~5.6，但這樣低的 pH 值在海水硬骨魚類並不常見，這些 pH 值鮮少如僵直

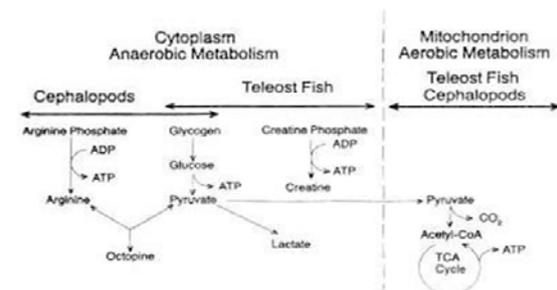


圖 7. 魚類肌肉中肝醣的好氧性與厭氧性裂解。

後哺乳動物肌肉所觀察到的那樣低，例如，牛肌肉在死後僵直中常降至 pH 5.1 附近，所產生的乳酸量和活組織中貯藏碳水化合物(肝醣)的含量有關，通常，相較於哺乳動物，魚類肌肉所含的肝糖量較低，因而死後產生的乳酸量遠不及哺乳動物，而且，魚類的營養狀態以及死亡前遭遇的緊迫與運動對於肝醣儲存量的影響巨大，因而最終影響至僵直後 pH。一般通則，充分休息與餵食的魚比疲勞魚含有更多的肝醣。[Chiba et al. \(1991\)](#)指出日本泥鰍(Japanese loach)捕抓前僅緊迫數分鐘，就導致 3 小時內 pH 降低 0.50 單位，在未掙扎組僅下降 0.10 單位，另也指出魚類放血(bleeding)會明顯減少僵直後乳酸的產生。

僵直後魚類肌肉 pH 的下降會影響肌肉的物理性質。當 pH 降低，肌肉蛋白質表面上的淨電荷(net charge)減少，導致蛋白質部分變性而損失一些保水性(water-holding capacity)。死後僵直狀態中的肌肉組織，煮後會失去水分，故特別不適合於包括加熱的後續加工，此乃熱變性會促進水分的流失。水分損失不利於魚類肌肉的質地，[Love \(1975\)](#)指出肌肉韌度(toughness)和 pH 之間呈負相關性，不能接受的韌度程度(及煮時的水分損失)發生在較低的 pH 值(圖 8)。

## 2. 自家消化和核苷酸分解作用

如前所述，當肌肉中的 ATP 濃度降至  $< 1.0 \mu\text{moles/g}$ ，死後僵直開始發生。

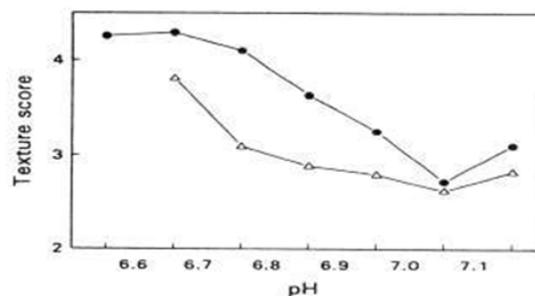


圖 8. 鱈魚肌肉質地與 pH 的相關性([Love, 1975](#))。黑心圓代表大西洋聖基爾達(St. Kilda)捕獲，三角代表戴維斯海峽 Fells Bank 捕獲。

在活的動物，不僅是肌肉收縮所需的高能量來源，ATP 也作為肌肉增塑劑(muscle plasticizer)。肌肉收縮本身受到鈣與存在每個肌肉細胞中的酵素 ATP-ase 的控制，當細胞內  $\text{Ca}^{2+}$  濃度為  $1 \mu\text{M}$ ， $\text{Ca}^{2+}$ -活化的 ATP-ase 降低了導致主要收縮蛋白質之間[肌動蛋白(actin)和肌球蛋白(myosin)]的交互作用之肌肉游離態 ATP 含量，最後使得肌肉縮短(shortening)，變得僵硬與無法伸展。死後僵直中的魚不能正常地切割魚片(filleted)或加工，因處理時魚體過於僵硬，且經常扭曲變形，不適合機械處理。

僵直的解除仍是未完全瞭解的過程，但總是導致肌肉組織在隨後軟化(鬆弛)，且被認為和自然存在的一種或更多種肌肉酵素有關，即消化分解死後僵直複合物(rigor mortis complex)的某些組成分。僵直解除過程中，肌肉的軟化和自家消化的變化是平行發生，這些的變化之中，最早被確認之一的是 ATP 相關化合物的降解，圖 9 表示 ATP 降解而依序生成腺苷二磷酸(adenosine diphosphate; ADP)、腺苷單磷酸(adenosine

monophosphate; AMP)、肌苷單磷酸(inosine monophosphate; IMP)、肌苷(inosine; Ino)與次黃嘌呤(hypoxanthine; Hx)。在大多數魚類, ATP 分解代謝物的降解都以同樣的方式進行, 惟每個單獨反應(從一分解物至另一分解物)的速率因魚種的不同而變動很大, 然其進展程度常和訓練型分析員所測得感知的腐敗程度(perceived level of spoilage)一致。Saito *et al.* (1959)最早觀察到此一模式, 並根據這些的自家消化變化, 針對魚類鮮度建立下列的公式:

$$K\% = \frac{[\text{Ino}] + [\text{Hx}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}] + [\text{IMP}] + [\text{Ino}] + [\text{Hx}]} \times 100$$

其中, [ATP]、[ADP]、[AMP]、[IMP]、[Ino]和[Hx]分別表示冰藏過程中在不同時間測得的魚肉中這些化合物的相對濃度值。

這 K 或“鮮度”指標, 最初是根據肌肉死後僵直貯藏過程中發生的自家消化變化, 而提出一個相對的鮮度評級, 因此, K 值愈高代表鮮度等級愈低。但不幸的, 一些魚種如大西洋鱈魚(Atlantic

cod)在訓練型評審員所測得的貯藏期限之前, 就已出現最大的 K 值, 因而認為 K 值對所有海洋魚類並不全是可信賴的鮮度指標。而且, 核苷酸分解物的降解只有和鮮度的感知變化(perceived changes in freshness)一致, 不一定與鮮度劣敗(freshness deterioration)的起因有關連, 因為只有次黃嘌呤被認為對變壞的魚(spoiled fish)所感覺的苦的不良風味有直接的影響(Hughes and Jones, 1966)。一般認為腺苷單磷酸(IMP)負責貢獻生鮮魚的風味, 而腺苷單磷酸僅高品質的水產品中存在, 自家消化過程中除 ATP 的降解當然關連於死後僵直, 但並無一種核苷酸分解物被認為與質地的感知變化有關連。

Surette *et al.* (1988)分析比較滅菌和無滅菌鱈魚的 ATP 分解代謝物, 鱈魚組織的滅菌和無滅菌樣品中, IMP 的生成與分解速率都相同(圖 10a 與圖 10b), 顯示經由肌苷(inosine)的 ATP 降解之異化代謝途徑(catabolic pathway)完全來自於自家

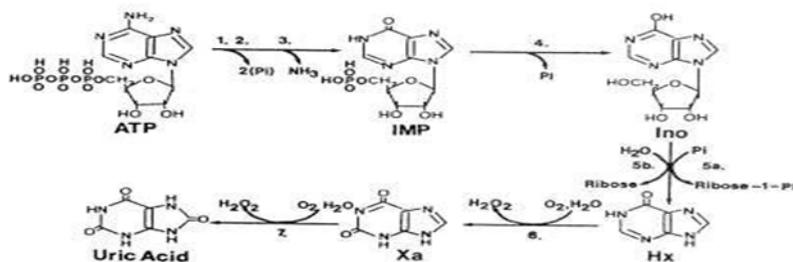


圖 9. 僵直後魚肉中腺苷三磷酸(ATP)的降解。酵素包括: 1 為腺苷三磷酸酶(ATP-ase); 2 為肌激酶(myokinase); 3 為腺苷單磷酸脫氨酶(AMP deaminase); 4 為肌苷單磷酸磷酸水解酶(IMP phosphohydrolase); 5a 為核苷磷酸酶(nucleoside phosphorylase); 5b 為肌苷核苷酶(inosine nucleosidase); 6、7 為黃嘌呤氧化酶(xanthine oxidase)。(Gill, 1992)。

消化酵素。無滅菌樣品的肌苷轉化成次黃嘌呤快約 2 天，表明細菌性的核苷磷酸酶(圖 9 中酵素 5a)在冷藏鱈魚僵直後的次黃嘌呤產生扮演重要的角色。值得注意的是，剛宰殺的鱈魚也無法回收取得核苷磷酸酶(Surette *et al.*, 1988)，後來 Surette *et al.* (1990) 從腐敗的鱈魚片 (spoiled cod fillet) 分離出變形桿菌(*Proteus bacterium*)，並取得核苷磷酸酶。如前述，不同魚種的核苷酸降解樣式變動很大，在圖 11，顯示不同類型魚之間的次黃嘌呤變動，很清楚的，次黃嘌呤測定並不適用於旗魚 (swordfish) 和紅魚 (redfish) 等魚種。

毋庸置疑，物理處理會加速冷藏魚的自家消化變化。Surette *et al.* (1988) 指出核苷酸分解為代謝物的降解速率，在滅菌魚片比在無滅菌去腮的全魚更快，這或許無需懷疑，因為許多的自家消化酵素是被分隔存在於離散的膜結合組包 (membrane-bound packages) 中，當受到物理性傷害就破裂，導致酵素與基質充分混合。冰塊或其它魚所造成魚體的破損，嚴重影響食用率與魚片切割產率，即使魚體的微生物含量不高，這突顯自家消化過程的重要性。嚴禁冰藏魚貯放盒中的深度超過 30 公分，也要確認貯存盒不可上下堆疊過密，如果自家消化要以最低程度進行。輸送魚貨與從漁船卸魚貨也須設計，以期避免損傷魚體組織。

一些快速測定個別或全部核苷酸分

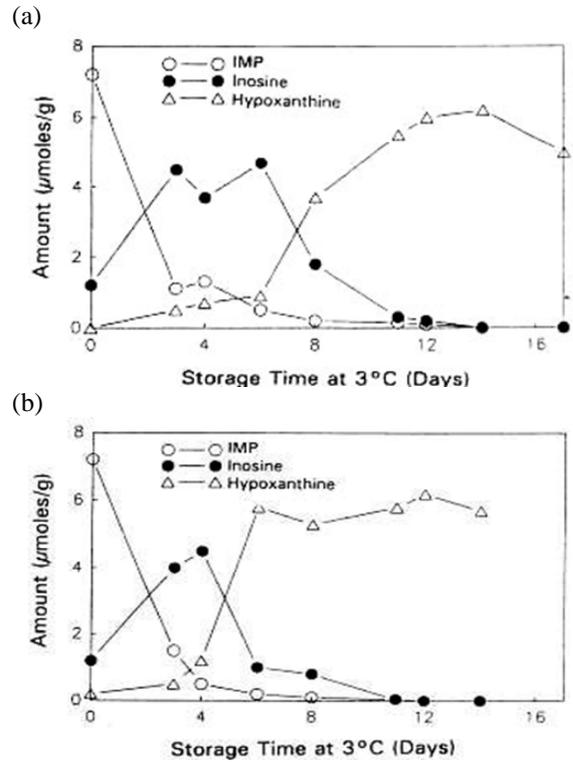


圖 10. (a)滅菌鱈魚肉片於貯藏 3°C 的肌苷酸 (IMP)、肌苷 (inosine) 和次黃嘌呤 (hypoxanthine) 變化(Gill, 1990)；(b)無滅菌鱈魚肉片於貯藏 3°C 的肌苷酸 (IMP)、肌苷 (inosine) 和次黃嘌呤 (hypoxanthine) (Gill, 1990)。

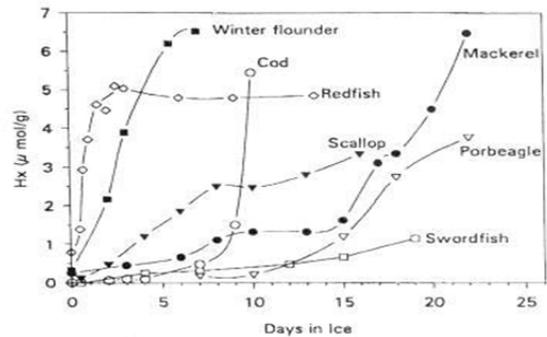


圖 11. 一些魚種於冰藏期間次黃嘌呤 (hypoxanthine) 蓄積速率的差異(Fraser *et al.*, 1967)。

解物並包括鮮度指標的方法已開發出來，可參考綜述文獻(Gill, 1990; 1992)。

### 3. 蛋白質分解酵素參與的自家消化的變化

從魚類肌肉已分離出多種的蛋白酶(protases)，這些蛋白質水解方式的分解(protolytic breakdown)其作用往往關連魚肉組織的過度軟化，或許自家消化方式的蛋白質水解(autolytic proteolysis)最引人注目的例子之一，為表層魚種(多脂魚)如鯡魚(herring)與柳葉魚(capelin)發生腹部破裂，這樣的組織軟化最主要發生在夏季月份，當表層魚大量進食特別是包含橈角類(copepods)和磷蝦(euphausiids)等“紅色餌料 red feed”，蛋白質的自家消化所產生的低分子量肽和游離胺基酸，不僅降低表層魚的商業接受度，且在大宗儲存的柳葉魚，自家消化會透過提供更好的成長環境而加速腐敗微生物的生長(Aksnes and Brekken, 1988)。在柳葉魚，自家消化所導致的細菌性腐敗，也促使胺基酸的脫羧基(decarboxylation)而產生生物胺(biogenic amines)，並顯著降低營養價值，這是特別重要的，因自家消化與細菌生長嚴重降低用於製造魚粉之表層魚的商業價值。

同樣在使用大宗儲存的鯡魚製作魚粉，也發現含有羧基肽酶 A 與 B(carboxypeptidases A and B)、胰凝乳蛋白酶(chymotrypsin)和胰蛋白酶(trypsin)等活性；初期實驗顯示添加馬鈴薯萃取物可抑制蛋白質水解，不僅減緩蛋白質水解及微生物成長，也保存魚粉的營養價值(Aksnes, 1989)。後來，Botta *et al.* (1992)發現比起生物因素譬如魚體大小、腮中的紅色餌料數量或卵含量，鯡魚的內臟

腔(腹部破裂)的自家消化和物理處理的關連性更高。特別對鯡魚的凍結/解凍，在 15°C 的解凍時間與冰藏時間對腹部破裂之影響遠大於生物因素。

### (1) 組織蛋白酶

雖然魚組織中已發現數種蛋白質分解酵素(protolytic enzymes)，最常被提的可能就是組織蛋白酶(cathepsins)。組織蛋白酶屬酸性蛋白酶，通常存在於溶菌體(lysosomes)，在活的組織中，認為溶菌體蛋白酶是負責受傷部位處的蛋白質分解，因而組織蛋白酶在活的組織的大多數部位都是無活性的，當僵直後肌肉受到物理損傷或被凍結與解凍，酵素就被釋出進入細胞液中。

在魚類組織中的自家消化的降解，認為組織蛋白酶 D 與 L 扮演主要的作用，由於其餘多數的組織蛋白酶其活性的 pH 範圍較窄且很低，而無生理上的意義。Reddi *et al.* (1972)指出來自冬季比目魚(flounder)的一種被認為組織蛋白酶 D 的酵素，在 pH 3~8 範圍具有活性，最大活性靠近 pH 4.0，雖然並未使用合成基質或特定抑制劑來確認其酵素種類。然而，在 ATP 存在下該酵素的活性變很低，表明此酵素只在僵直後的魚類肌肉才有活性，且此酵素活性受到鹽的強力抑制(圖 12)，和 5%氯化鈉一起培養 25 小時後幾乎無活性，因而該酵素在鹽藏魚產品中不太可能表現出活性。

組織蛋白酶 L 已知和鮭魚在產卵洄

游期間的肌肉軟化有關，該酵素比起組織蛋白酶 D 可能對魚類肌肉的自家消化貢獻更大，因在中性 pH 的活性更大，而且可消化肌原纖維蛋白質(actomyosin 肌動球蛋白)及結締組織兩者。Yamashita and Konogaya (1990)證實鮭魚產卵期間，是組織蛋白酶 L 甚於其它組織蛋白酶造成肉質的軟化；將純化的肌原纖維(myofibrils)以組織蛋白酶 L 處理後再膠體電泳，結果顯示電白質帶的樣式與產卵中鮭魚肌肉蛋白質的樣式幾乎相同，甚且，組織蛋白酶 L 的自家消化活性和儀器測得的肌肉物性(破斷強度 breaking strength)之間的相關性很高，在生鮮與冷凍/解凍組織其線性相關性分別達  $r = 0.86$  及  $-0.95$ 。有趣的是在所有舉例，以測定組織蛋白酶 L 活性代表自家消化能力(autolytic ability)時，在冷凍/解凍組織所測得的數值都高於生鮮組織。凍結與解凍常會打破細胞膜，而使自家消化的膜結合型酵素可和其天然的基質反應，作者並繼續探討這酵素與其天然存在的抑制劑(Yamashita and Konogawa, 1992)。組

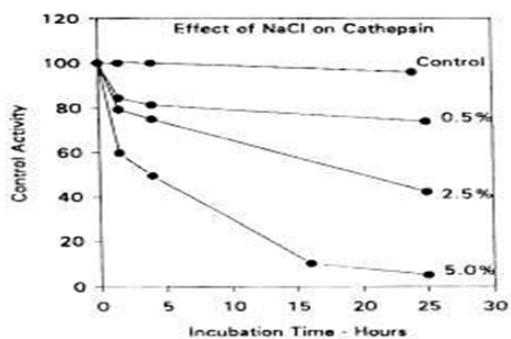


圖 12. 氯化鈉對組織蛋白酶活性的影響(Reddi *et al.*, 1972)。

織蛋白酶 L 也和比目魚(flounder)的膠狀樣(jelly-like)軟化(Toyohara *et al.*, 1993b)、粘孢子蟲(Myxosporidia)寄生大西洋鱈魚(Pacific hake)肌肉的不可控制的軟化(Toyohara *et al.*, 1993a)等有關。這樣被感染魚的組織商業價值低，但目前仍不清楚到底是寄生蟲或宿主分泌蛋白質分解酵素讓肌肉進行自家消化。

除了有害質地，組織蛋白酶可誘導發酵魚產品進行所要的自家消化的變化，例如在鹽醃製日本魷(Japanese squid)與鯽魚(Crucian carp)的發酵過程中，組織蛋白酶被認為是負責主要的質地變化(Makinodan *et al.*, 1991; 1993)。

## (2) 鈣蛋白酶

細胞內蛋白酶的第二群稱為鈣蛋白酶(calpains)或鈣活化因子(calcium activated factor; CAF)，近年來也瞭解和魚類肌肉的自家消化有關連，存在於肉類、魚類和甲殼類。已瞭解近一個世紀，紅肉(red meat)的死後熟成(post mortem aging)導致肉質的嫩化(tenderization)。已知鈣蛋白酶是主要負責肉類的死後自家消化，透過消化肌原纖維(myofibril)的 Z-線蛋白質，雖然韌性(toughness)鮮少是未冷凍魚肉的問題，透過自家消化的軟化卻是限制商業價值的一項嚴重課題。鈣蛋白酶屬於細胞內的內切胜肽酶(intracellular endopeptidases)，需要半胱胺酸(cysteine)與鈣； $\mu$ -鈣蛋白酶需要  $5\sim 50 \mu\text{M Ca}^{2+}$ ，而  $m$ -鈣蛋白酶需要

150~1000  $\mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$ ，多數鈣蛋白酶在生理 pH 下都具活性，這合理懷疑它們在冷藏過程中的魚肉軟化的重要性。

研究顯示在甲殼類肌肉中，鈣蛋白酶與脫殼誘導的(molt-induced)肌肉質地變化有關，即進行肌原纖維蛋白質的非特異的一般性消化。但是，已知脊椎動物肌肉鈣蛋白酶是高專一性的，主要消化肌鈣蛋白-T (tropinin-T)、結蛋白(desmin)、肌聯蛋白(titin)與伴肌動蛋白(nebulin)，不會攻擊脊椎動物的肌動蛋白(actin)與肌球蛋白(myosin) (Koochmarai, 1992)。相反的，魚類鈣蛋白酶消化肌球蛋白(尤其是肌球蛋白重鏈 myosin heavy chain)，形成分子量約 150000 Da (Dalton; 道爾頓)的初始片段 (Muramoto *et al.*, 1989)。同作者也提及較之哺乳動物鈣蛋白酶，魚類鈣蛋白酶在低溫下的活性更高，斷裂速率會因種類而異，對熱穩定性最低的肌球蛋白之活性最高。因而比起熱帶水域的魚種，順應較低環境溫度的魚種更容易進行鈣蛋白酶的自家消化，雖然包括鯉魚(carp) (Toyohara *et al.*, 1985)、吳郭魚(tilapia)與蝦(shrimp) (Wang *et al.*, 1993)、以及鮪魚(tuna)、黃花魚(croaker)、嘉鱻(seabream)與鱒魚(trout) (Muramoto *et al.*, 1989)等一些魚種都鑑定出鈣蛋白酶，但鈣蛋白酶活性和質地的儀器測定之間的「因果」關係鮮少被提及。

### (3) 膠原蛋白酶(Collagenases)

在這點，所有提到的死後自家消化的變化都牽涉於肌肉細胞本身之內的變化，但硬骨魚的肌肉被稱為肌隔(myocommata)之結締組織所分隔，而分成「肉片 flakes」或肌節(myotomes)的肌肉細胞塊(blocks of muscle cells)，每個肌肉細胞或纖維被結締組織包圍，結締組織藉著細膠原蛋白纖維(thin collagenous fibrils)連接細胞尾端的肌隔。冷藏期間，這些纖維變質 (Bremner and Hallett, 1985)，後來研究又指出，當冷藏鱒魚(trout)肌肉的 V 型膠原蛋白被溶化，質地儀器測定值即下降，推測是由於自家消化的膠原蛋白酶的酵素作用(Sato *et al.*, 1991)。當冰藏長時間或高溫下的短時間貯藏，大抵是這些酵素引起肌節的裂開(gapping)或崩解。大西洋鱈(Atlantic cod)若貯存溫度升至 17°C，就不可避免地裂開，推測是結締組織的降解和由於高溫僵直而使肌肉快速縮短之緣故。

冷藏大蝦(prawn)由於組織的軟化(softening)而貯藏壽命較短，也是由於膠原蛋白酶酵素的的存在(Nip *et al.*, 1985)，大蝦的膠原蛋白酶酵素存在頭胸部(hepatopancreas) (消化器官)。

### 4. 凍藏中自家消化的變化

氧化三甲胺(trimethylamine oxide; TMAO)在許多海洋硬骨魚(teleost fish)是作為一種滲透壓調節化合物，通常受到微生物的作用而降解成為三甲胺(trimethylamine; TMA)，但有些魚種的肌

肉也存在一種酵素能將 TMAO 降解為二甲胺 (dimethylamine; DMA) 和 甲 醛 (formaldehyde)：



注意甲醛和 DMA 兩者的生成量是等莫耳的關係當然是重要，但在商業上的意義更大。甲醛誘導肌肉蛋白質的交聯 (cross-linking)，使得肌肉變硬且很快失去保水力 (water-holding capacity)。擔負這甲醛誘導的韌化 (toughening) 之酵素稱為氧化三甲胺酶 (TMAO-ase) 或氧化三甲胺脫甲基酶 (TMAO demethylase)，最常見於鱈科魚類 (gadoid fishes) (鱈魚家族 cod family)，至今報導的大多數氧化三甲胺脫甲基酶都屬膜結合型 (membrane-bound)，當組織膜被凍結或人工使用界面劑的溶化而破壞時，變得最具活性。血合 (紅色) 肉中的活性大於白色肉，其它的組織如腎、脾和膽囊中的酵素量特別多，因而如從鱈科魚類製造魚漿並予凍藏時，要避免肉質的韌化，就得完全去除腎等器官組織。機械去骨之前，要確定腎移除有否通常是有困難，因為這特別的器官沿著整個骨架而黏附。氧化三甲胺酶已分離自狗鱈 (hake) 肌肉的粒腺體區分 (microsomal fraction) (Parkin and Hultin, 1986) 和腎組織的溶菌體膜 (lysosomal membrane) (Gill *et al.*, 1992)，並顯示冷凍狗鱈肌肉的韌化和甲醛的生成量有關，凍藏溫度高則甲醛的生成速率愈大 (Gill *et al.*, 1979)。另外，甲醛誘

導的韌化也受到凍結前的不當處理漁獲與凍藏期間的溫度跳動而促進，防止自家消化產生甲醛的最實際做法，是將魚凍藏  $-30^{\circ}\text{C}$  以下且避免溫度變動，以及避免不當處理或魚體凍結前受到擠壓等。自家消化的變化對生鮮與冷凍魚食用性的影響，彙整於表 9。通常，影響自家消化之最重要單一因素是肌肉細胞的物理性破壞，在此處並不討論鹼性蛋白酶所關連煮熟煉製品的軟化問題，Kinoshida *et al.* (1990) 曾探討熱活化型 (heat-activated) 鹼性蛋白酶 (alkaline proteases) 和魚漿產品的軟化之關聯。

### (三) 細菌的變化 (Bacteriological changes)

#### 1. 活魚的菌相

活魚與剛捕獲魚的外表全部 (皮與腮) 和腸道都有微生物存在，但總數量變動很大。Liston (1980) 指出正常範圍是  $10^2$ - $10^7$  cfu (菌落形成單位)/ $\text{cm}^2$  皮膚表面，在腮與腸道兩者含  $10^3$  至  $10^9$  cfu/g (Shewan, 1962)。

剛捕獲魚的菌群取決於捕獲地方的環境而非魚種 (Shewan, 1977)。在很冷、清淨的水域捕獲魚的菌量較少，溫暖水域捕獲者較多，若菌量非常高而達到  $10^7$  cfu/ $\text{cm}^2$ ，這常是來自汙染水域的魚。魚體表面存在許多不同的細菌種類，在溫帶水域魚的細菌根據其生長溫度範圍，分類為耐冷菌 (psychrotrophs) 或嗜冷菌 (psychrophiles)。耐冷菌能夠在  $0^{\circ}\text{C}$  成長，但  $25^{\circ}\text{C}$  左右最適合，嗜冷菌其最高

表 9、冷藏魚中自家消化的變化整理

酵素	基質	遭遇的變化	預防/抑制
醣解酵素 (glycolytic enzymes)	肝醣	乳酸產生，組織 pH 降低，肌肉的保水力降低； 溫度高時，硬直會造成龜裂(gaping)	實際上盡可能將魚在 0°C 附近的溫度通過硬直期； 須避免硬直前的緊迫
自家消化酵素(autolytic enzymes)，涉及核苷酸的降解)	ATP ADP AMP IMP	新鮮魚風味消失，次黃嘌呤的苦味逐漸產生(後期階段)	同上 處置不當或擠壓會加速裂解
組織蛋白酶 (cathepsins)	蛋白質 胜肽	組織軟化而無法或不易加工處理	在貯藏期間與卸貨時處置粗暴
胰蛋白酶(trypsin)、胰凝乳蛋白酶(chymotrypsin)、羧基肽酶(carboxypeptidases)	蛋白質 胜肽	中上層魚內臟腔的自家消化(腹部破裂)	凍結/解凍或長時間冷藏會加重
鈣蛋白酶(calpain)	肌原纖維蛋白質	軟化、甲殼類之脫殼誘導的軟化	移除鈣可避免酵素活化？
膠原蛋白酶(collagenases)	結締組織	肉片龜裂(gaping) 軟化	結締組織降解和冷藏時間及溫度有關
氧化三甲胺脫甲基酶 (TMAO demethylase)	氧化三甲胺 (TMAO)	鱈科魚類的甲醛誘導的韌化 (toughening)	魚貯藏溫度 ≤ -30°C 物理性損傷與冷凍/解凍 促進甲醛誘導的韌化

成長溫度 20°C 附近，最適溫度為 15°C (Morita, 1975)。在較溫暖的水域，可分離出高數量的嗜中溫菌(mesophiles)，在溫帶水域魚類的細菌相以耐冷性、革蘭氏陰性的桿狀細菌(rodshaped bacteria)為主，包括假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、莫拉菌屬(*Moraxella*)、不動桿菌屬(*Acinetobacter*)、希瓦氏菌屬(*Shewanella*)和黃桿菌屬(*Flavobacterium*)。弧菌科(Vibrionaceae)成員的弧菌屬(*Vibrio*)與發光桿菌屬(*Photobacterium*)、氣單胞菌科(*Aeromonadaceae*) (氣單胞菌屬 *Aeromonas* spp.)也是常見的水生細菌和典型的魚類的菌群(表 10)。革蘭氏陽性菌如桿菌屬(*Bacillus*)、微球菌屬(*Micrococcus*)、梭菌屬(*Clostridium*)、乳

酸桿菌屬(*Lactobacillus*)和棒狀桿菌(Coryneforms)也可能以不同比率存在，但通常菌相仍是革蘭氏陰性菌為主。Shewan (1977)結論：革蘭氏陽性桿菌屬與微球菌屬是熱帶水域魚類的優勢菌，但此結論受到質疑。後來的研究指出：熱帶魚種和溫帶種類的菌相很類似(Acuff *et al.*, 1984; Gram *et al.*, 1990; Lima dos Santos 1978; Surendran *et al.*, 1989)。印度學者的研究指出，剛捕獲魚的菌相包含假單胞菌屬、不動桿菌屬、莫拉菌屬和弧菌屬，這和 Liston (1980)的結論相同，熱帶魚種的菌相常含較多的革蘭氏陰性與腸道細菌(enteric bacteria)，但其餘的則相似於溫帶魚種的菌相。

表 10. 乾淨無汙染水域捕獲魚類的細菌相

革蘭氏陰性	革蘭氏陽性	注釋
假單胞菌屬 <i>Pseudomonas</i>	桿菌屬 <i>Bacillus</i>	
莫拉菌屬 <i>Moraxella</i>	梭菌屬 <i>Clostridium</i>	
不動桿菌屬 <i>Acinetobacter</i>	微球菌屬 <i>Micrococcus</i>	
腐敗希瓦氏菌 <i>Shewanella putrefaciens</i>	乳酸桿菌屬 <i>Lactobacillus</i>	
黃桿菌屬 <i>Flavobacterium</i>	棒狀桿菌屬 <i>Coryneforms</i>	
噬細胞菌屬 <i>Cytophaga</i>		
弧菌屬 <i>Vibrio</i>		弧菌屬與發光菌屬是海洋水域中常見的細菌；氣單孢菌屬是淡水中常見的細菌
發光桿菌屬 <i>Photobacterium</i>		
氣單孢菌屬 <i>Aeromonas</i>		

氣單孢菌屬(*Aeromonas* spp.)為淡水魚的典型細菌，海洋水域的典型細菌是成長需要鈉的一些細菌，包括弧菌屬、發光桿菌屬和希瓦氏菌屬，但是腐敗希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)的特性雖也是鈉需求型，其菌株從淡水環境也分離出(DiChristina and DeLong, 1993; Gram *et al.*, 1990; Spanggaard *et al.*, 1993)。雖熱帶海域也可分離出腐敗希瓦氏菌，對淡水魚的腐敗，其重要性低(Lima dos Santos, 1978; Gram, 1990)。

汙染水域中可發現高數量的腸道細菌科(*Enterobacteriaceae*)，這些生物在清淨的溫帶水域很快消失，但有報告指出大腸桿菌(*Escherichia coli*)和沙門氏菌(*Salmonella*)能夠在熱帶水域存活很長的時間，一旦導入後幾乎變為土生種(Fujioka *et al.*, 1988)。

腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*)的分類相當混淆。最初和無色桿菌屬群(*Achromobacter* group)有關，後來列在舒旺假單孢菌屬群 IV (*Shewan Pseudomonas* group IV)。根據鳥嘌呤(guanine)+胞嘧啶

(cytosine)比率(GC%)，又被轉入交替單孢菌屬(*Alteromonas*)，但基於 5SRNA 同源性，又再分類成為一個新屬，即希瓦氏菌屬 (*Shewanella*) (MacDonnell and Colwell, 1985)。新近又建議弧菌科(*Vibrionaceae*)家族的一員氣單孢菌屬轉入氣單孢菌科(*Aeromonadaceae*)的家族(Colwell *et al.*, 1986)。

日本學者的研究，顯示魚腸胃道中含有很高量的微生物，比周圍水域高出甚多，這表明腸胃道存在著對微生物有利的生態區位(niche)。Larsen *et al.* (1978) 報告鱈魚(cod)的腸道中，含高達  $10^7$  cfu/g 的類似弧菌(vibrio-like)的微生物，Westerdahl *et al.* (1991)也從大菱魷(turbot)的腸道分離出高量的類似弧菌的微生物。從魚表面分離得到的磷光發光菌(*P. phosphoreum*)也能從一些魚種的腸道中分離出高菌量(Dalgaard, 1993)，相反的，一些研究者相信腸胃道的菌群只是環境和食物攝食的一種反映。

## 2. 微生物的侵入

健康的活魚或剛捕獲的魚其肌肉是無菌的，此乃魚的免疫系統防止細菌在肌肉中生長(圖 13a)。魚一旦死亡，免疫系統立即崩解，細菌因而得以自由增殖；在皮膚表面，很大程度上細菌定殖在鱗片袋(scale pockets)，貯存期間透過肌肉纖維之間的移動而侵入肌肉。Murray and Shewan (1979)發現冰藏過程中，僅數量很有限的細菌侵入肉中。Ruskol and Bendsen (1992)指出當皮膚表面的微生物數量增加超過  $10^6$  cfu/g (圖 13b)，在肉中的細菌可用顯微鏡檢測出，冰藏與室溫貯藏者都可看到，特定的腐敗細菌(例如腐敗希瓦氏菌 *S. putrefaciens*) 與非腐敗型細菌的侵入樣式並無差異。

由於只是限量的微生物實際侵入肉中，微生物的生長主要仍在表面，腐敗(spoilage)可能在大程度上細菌的酵素已擴散進入肉中，以及營養素也擴散至外面而引起的後果。

魚類的腐敗速率差異很大，認為歸咎於魚體表面的性質的差異。魚表皮的質地各有不同，比起鱈魚(plaice)等一些比目魚(flatfish)具有強韌的真皮(dermis)與表皮(epidermis)，牙鱈(whiting; *Merlangius merlangus*)及鱈魚(*Gadus morhua*)的外皮很脆弱，因而腐敗快速。甚且這些比目魚具有厚的黏液層，也含抗菌性組成分如抗體、補體(complement)與溶菌酵素(bacteriolytic enzymes)等(Murray and Fletcher, 1976; Hjelmland *et al.*, 1983)。

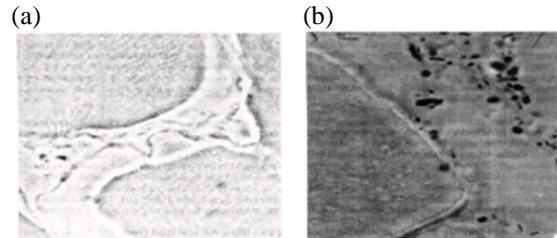


圖 13. (a)剛捕獲鱈魚、(b)冰藏 12 天的鱈魚魚片的組織切片圖。切片圖經 Giemsa-染色 (Ruskol and Bendsen, 1992)。

### 3. 貯藏及腐敗期間微生物菌群的變化/特定的腐敗微生物

從溫帶水域所捕獲之魚體上的細菌，幾乎在魚死亡後就立即進入對數成長期，魚冰藏時也是如此，可能菌群已適應冰冷的溫度。在冰藏期間，細菌成長倍增的時間大約 1 天，2~3 週後可達  $10^8 \sim 10^9$  cfu/g 肉或  $\text{cm}^2$  皮膚；在室溫貯藏時，24 小時後達到略低些的菌量  $10^7 \sim 10^8$  cfu/g。熱帶水域捕獲的魚如予冰藏，細菌在開始對數成長之前，通常會經過 1~2 週的延滯期。腐敗時，熱帶水域魚種的細菌量類似於溫帶水域魚種(Gram, 1990; Gram *et al.*, 1990)。

冰藏魚如果貯藏在厭氧條件下或充填二氧化碳的環境，與好氧環境下貯藏的魚比較，常態的嗜冷菌(psychrotrophic bacteria)譬如腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*)和假單孢菌屬(*Pseudomonas*)的數量通常低甚多( $10^6 \sim 10^7$  cfu/g)，但魚腐敗時，嗜冷特質的細菌譬如磷光發光菌(*P. phosphoreum*)達到  $10^7 \sim 10^8$  cfu/g (Dalgaard *et al.*, 1993)。

貯藏期間的菌群組成也變化相當大。好氧下冰藏時，1~2 週後的菌相幾乎全由假單孢菌屬(*Pseudomonas* spp.)與腐敗希瓦氏菌組成，這是由於在冷藏溫度下世代時間比較短(Morita, 1975; Devaraju and Setty, 1985)，不論熱帶與溫帶水域魚類都是如此。室溫(25°C)下，達腐敗時的菌相主要是嗜溫性弧菌科(mesophilic *Vibrionaceae*)占優勢，尤其污染水域捕獲的魚類是腸桿菌科(*Enterobacteriaceae*)。

腐敗菌相(spoilage flora)和腐敗細菌(spoilage bacteria)兩項用語應明確區別。腐敗菌相僅描述當腐敗時的魚體上所存在的細菌，而腐敗細菌是指產生與腐敗有關的不良氣味與不良風味之特定菌群。存在於腐敗魚(spoiled fish)之細菌有一大部分都無關於腐敗(圖 14)，每種魚類產品有其自己特定的腐敗細菌，且相較於總菌數，其數量與貯藏壽命(shelf life)有關。在圖 15，顯示冰藏鱈魚(cod)的剩餘貯藏壽命可從電導度偵測時間(conductometric detection time) (在 TMAO 培養汁中)預估，電導度偵測時間和硫化氫產生菌的數目成反比的關係。

確定從腐敗魚分離的細菌之中是哪些細菌引起腐敗，並不是件簡單的工作，這需要感官的、微生物的與化學的等多方面的研究。首先，定量地探討貯藏期間的感官、微生物和化學變化，包括和腐敗有關的一種指定化合物含量的測定(化學性腐敗指標 chemical spoilage indicator)，其次，從感官拒絕(sensory

rejection)的時間點之樣品分離細菌，以滅菌魚肉為基質，利用純粹和混合培養篩選腐敗潛在性(spoilage potential)，例如產生典型腐敗產品的感官(不良氣味)與化學變化之能力，最後，選出菌落去評估其腐敗活性(spoilage activity)，譬如生長速率及不良氣味產生，定性與定量上都相似於在腐敗魚的測定結果(Dalgaard, 1993)。

後面的步驟特別重要，因有些細菌產生和腐敗有關的化學成分，但生成量不高，因而不算是特定的腐敗細菌(specific spoilage bacteria)。在好氧下的貯藏，引起腐敗需要特定的腐敗細菌菌量達  $10^8 \sim 10^9$  cfu/g，包裝魚的腐敗卻在低甚

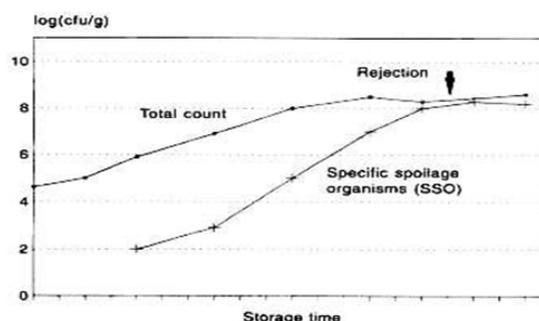


圖 14. 貯藏中的總菌數和特定腐敗細菌的變化(改自 Dalgaard, 1993)。

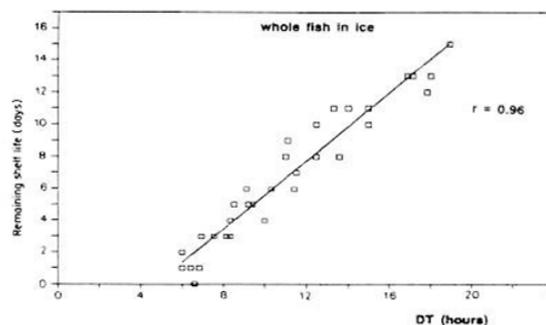


圖 15. 冰藏鱈魚的剩餘貯藏壽命與在 TMAO 培養汁中偵測時間的比較 (Jorgensen et al. 1988)。

多的菌量，即磷光發光菌 (*P. phosphoreum*)  $10^7$  cfu/g，菌量較少的原因可能是菌體很大(5  $\mu$ m)因而產量更大，例如每個細胞的三甲胺產量 (Dalgaard, 1993)。

評定腐敗潛力與活性，可利用一些魚肉基質，例如滅菌的生魚肉汁(sterile raw fish juice) (Lerke *et al.*, 1963)、熱滅菌的魚肉汁(Castell and Greenough, 1957; Gram *et al.*, 1987; Dalgaard, 1993)、或滅菌的肉塊(Herbert *et al.*, 1971)。後者最為複雜，但結果最接近於產品的狀態，如要選擇一種魚肉汁，重點在於腐敗細菌在模式系統中的生長速率能和在產品的生長速率相同。

當要篩選腐敗菌相中的可能腐敗細菌，也可採用細菌產生硫化氫及/或還原TMAO之能力等定性試驗。培養基中TMAO還原為TMA可視為氧化還原指示劑改變了顏色，而硫化氫生成可採用為此目地所建立之硫化亞鐵的黑色沉澱來證實(Gram *et al.*, 1987)。

腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*)已知是海水溫帶水域魚類在好氣條件冰藏中的特定腐敗細菌，若產品採用真空包裝，磷光發光菌(*P. phosphoreum*)就參與腐敗，在充填二氧化碳包裝魚變成特定的腐敗細菌。來自海洋水域的冰藏熱帶魚類的腐敗菌相幾乎都由假單胞菌屬和腐敗希瓦氏菌組成，有些假單胞菌屬是冰藏熱帶淡水魚類的特定腐敗菌(Lima dos Santos, 1978; Gram *et al.*, 1990)，也是連

同腐敗希瓦氏菌是海洋熱帶魚種在冰藏中的腐敗菌(Gillespie and MacRae, 1975; Gram, 1990)。

在室溫下，親水性產氣單胞菌(motile aeromonads)是厭氧下貯藏淡水魚的特定腐敗菌(Gorzyka and Pek Poh Len, 1985; Gram *et al.*, 1990)，Barile *et al.* (1985)指出室溫貯藏鯖魚的菌相中，有一大的比率是腐敗希瓦氏菌組成，顯示該細菌參與腐敗的產生。表 11 整理一些生鮮魚產品在冰藏與室溫貯藏中的特定腐敗細菌。

#### 4. 貯藏與腐敗過程中細菌生長所誘發的生化變化

比較自然腐敗中的魚(naturally spoiling fish)和滅菌的魚(sterile fish)的化學成分變化，可看出大多數的揮發性化合物是細菌所產生的(Shewan, 1962)，如圖 16 所示。這些化合物包括三甲胺(trimethylamine)、揮發性硫化合物(volatile sulphur compounds)、醛類(aldehydes)、酮類(ketones)、酯類(esters)、次黃嘌呤(hypoxanthine)以及其它低分子量化合物。

產生這些揮發物的基質包括碳水化合物(例如乳酸和核糖)、核苷酸(例如肌苷單磷酸 inosine monophosphate 和肌苷 inosine)和其它非含氮的分子，而胺基酸是生成硫化物(sulphides)與氨(ammonia)之特別重要的基質。

比起從厭氧發酵(anaerobic

表 11. 生鮮白肉魚(鱈魚)的主導微生物菌群和特定腐敗細菌(Huss, 1994)

貯藏溫度	包裝環境	主導菌相	特定腐敗微生物(SSO)	文獻
0°C	好氣	革蘭氏陰性嗜冷非發酵型桿菌 (假單胞菌屬、腐敗希瓦氏菌、莫拉菌屬、不動桿菌屬)	腐敗希瓦氏菌 假單胞菌屬 <sup>3</sup>	2,3,4,9
0°C	真空	革蘭氏陰性桿菌；嗜冷性或具好冷特性 (腐敗希瓦氏菌、發光菌屬)	腐敗希瓦氏菌 磷光發光菌 ( <i>P. phosphoreum</i> )	1,9
0°C	MAP <sup>1</sup>	革蘭氏陰性發酵型桿菌，具好冷特性 (發光菌屬) 革蘭氏陰性非發酵型嗜冷桿菌 (1-10% 菌群；假單胞菌屬、腐敗希瓦氏菌) 革蘭氏陽性桿菌 (LAB <sup>2</sup> )	磷光發光菌	1,7
5°C	好氣	革蘭氏陰性嗜冷性桿菌 (弧菌科、腐敗希瓦氏菌)	氣單胞菌屬 腐敗希瓦氏菌	10
5°C	真空	革蘭氏陰性嗜冷性桿菌 (弧菌科、腐敗希瓦氏菌)	氣單胞菌屬 腐敗希瓦氏菌	10
5°C	MAP	革蘭氏陰性嗜冷性桿菌 (弧菌科)	氣單胞菌屬	6
20-30°C	好氣	革蘭氏陰性中溫發酵型桿菌 (弧菌科、腸道細菌科)	親水性氣單胞菌屬 ( <i>A. hydrophila</i> )	2,4,5,8

1. 調氣包裝(modified Atmosphere Packaging, MAP; 含 CO<sub>2</sub>)。

2. LAB：乳酸菌。

3. 熱帶水域或淡水捕獲魚類傾向是假單胞菌(*Pseudomonas* spp.)主導的腐敗。

4. 文獻：1) Barile *et al.* (1985); 2) Dalgaard *et al.* (1993); 3) Donald and Gibson (1992); 4) Gorczyca and Pek Poh Len (1985); 5) Gram *et al.* (1987); 6) Gram *et al.* (1990); 7) Gram and Dalgaard (私人通信); 8) Jorgensen and Huss (1989); 9) Lima dos Santos (1978); 10) van Spreekens (1977)。

fermentation)，微生物從需氧氧化(aerobic oxidation)取得更多的能量，1 莫耳葡萄糖(或其它六羰糖)經由克式循環(Kreb's cycle)的完全氧化，產生 6 莫耳二氧化碳和 36 莫耳 ATP (adenosine triphosphate; 腺苷三磷酸)；反之，1 莫耳葡萄糖的發酵

只產生 2 莫耳 ATP 和 2 莫耳乳酸。魚體上最初的有氧生長(aerobic growth)是由以碳水化合物作為基質，還有以氧作為最終的電子接受體，且同時產生二氧化碳和水之細菌所主導。

### 5. 氧化三甲胺(TMAO)的還原

氧消耗細菌 (oxygen-consuming bacteria)的生長導致魚體上厭氧或微需氧的生態區位(niches)的形成，但這樣並不一定有利於厭氧細菌的生長。魚體上存在的有些細菌能利用其它分子當作電子接受體而進行呼吸(有 ATP 優點)，一般而言，魚體上特定的腐敗細菌中有許多在厭氧呼吸時，都能利用 TMAO 作為電

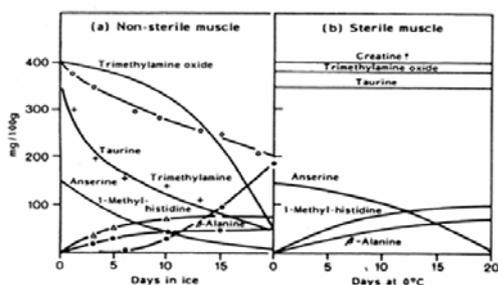


圖 16. 腐敗中(a)和自家消化中鱈魚肌肉的(b)含氮萃取物成分的變化(Shewan, 1962)。

子接受體，所還原的三甲胺(TMA)，是腐敗中的魚的主要組成分之一，具有典型的魚腥味(fishy odour)。感官品評團所拒絕的生鮮魚，所含的 TMA 量因魚種而異，但大抵厭氧下貯藏的魚為 10~15 mg TMA-N/100 g，而包裝的鱈魚在 30 mg TMA-N/100 g (Dalgaard *et al.*, 1993)。

TMAO 的還原主要和海洋環境中典型的細菌屬(交替單胞菌屬 *Alteromonas*、發光桿菌屬 *Photobacterium*、弧菌屬 *Vibrio* 及腐敗希瓦氏菌 *S. putrefaciens*)有關，但氣單胞菌屬(*Aeromonas*)與腸道菌科(*Enterobacteriaceae*)也有關連。TMAO 的還原在發酵性、兼性厭氧細菌如大腸桿菌(*E. coli*) (Sakaguchi *et al.*, 1980)和變形桿菌(*Proteus spp.*) (Stenberg *et al.*, 1982)，以及在非發酵性腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*) (Easter *et al.*, 1983; Ringo *et al.*, 1984)等都有探討。有氧生長時，腐敗希瓦氏菌利用克式循環產生電子，之後導入呼吸鏈。Ringo *et al.* (1984)指出腐敗希瓦氏菌在厭氧呼吸時也利用整個克式循環(圖 17)，然而後來的研究顯示，腐敗希瓦氏菌在厭氧呼吸時，只利用部分的克式循環(圖 18)，以及電子的產生來自其它的代謝途徑，即絲胺酸途徑(serine pathway) (Scott and Neilson, 1994)。於 TMAO-依存性的厭氧呼吸時，腐敗希瓦氏菌能利用各種碳源作為基質，包括甲酸鹽及乳酸鹽；於有氧呼吸所利用的醋酸鹽及琥珀酸鹽等化合物，若當 TMAO 是最終的電子接受者，就無法被利用

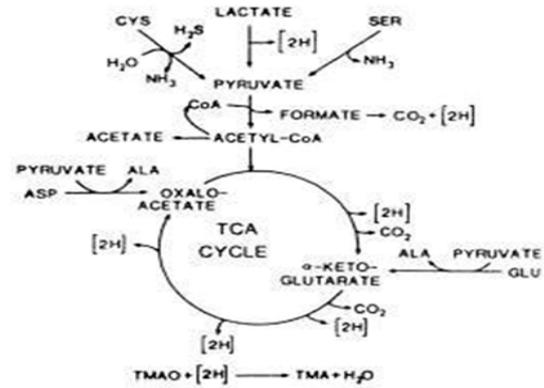


圖 17. 腐敗希瓦氏菌(以前稱之氣單胞桿菌屬)的厭氧性還原氧化三甲胺(Ringo *et al.*, 1984)。

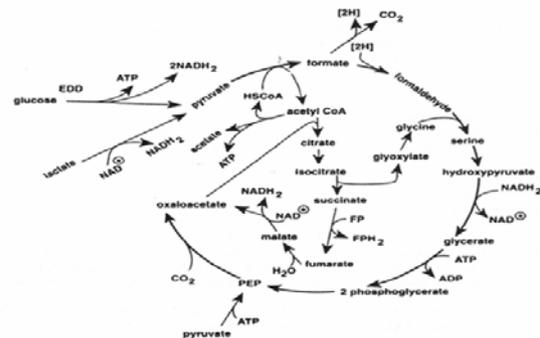


圖 18. 腐敗希瓦氏菌厭氧生活期間的碳路徑(Scott and Neilson, 1994)。

(DiChristina and DeLong, 1994)。與此相反的，醋酸鹽是厭氧性 TMAO 的還原產物(Ringoe *et al.*, 1984; Scott and Neilson, 1994)。

與此不同的，當變形桿菌屬(*Proteus spp.*)將 TMAO 還原時，糖類及乳酸鹽是產生電子之主要基質(Kjosbakken and Larsen, 1974)，這還原並伴隨主要產物之醋酸鹽的產生(Kjosbakken and Larsen, 1974)。

如前述，TMAO 是海水魚的常見組成成分，但有些熱帶淡水魚也含高量的 TMAO (Anthoni *et al.*, 1990)。然而，這些魚腐敗時，TMA 未必一定是特徵的組成

分，因為腐敗是假單胞菌屬(*Pseudomonas* spp.)引起的(Gram *et al.*, 1990)。

在許多魚種，TMA 的生成和次黃嘌呤(hypoxanthine)的產生是平行的。如前述，次黃嘌呤(hypoxanthine)是核苷酸的自家消化方式的分解 (autolytic decomposition) 而生成，但細菌也可生成，細菌性生成的速率大於自家消化方式。Jorgensen *et al.* (1988) 與 Dalgaard (1993) 指出包裝的鱈魚於冰藏期間，TMA 和次黃嘌呤含量之間呈線性相關(圖 19)。有一些的腐敗細菌從腺苷(inosine)或腺苷單磷酸(inosine monophosphate)分解產生次黃嘌呤，包括假單胞菌(*Pseudomonas* spp.) (Surette *et al.*, 1988)、腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*) (van Spreekens, 1977; Jorgensen and Huss, 1989; Gram, 1989) 和磷光發光菌 (*P. phosphoreum*) (van Spreekens, 1977)。

在鱈魚(cod)與其它鱈魚科(gadoid)魚類，TMA 構成總揮發性鹼類(total volatile bases; TVB)的大部分，一直到腐敗；TVB 也稱為總揮發性氮(total volatile nitrogen; TVN)或揮發性鹽基態氮(volatile basic nitrogen; VBN)。在腐敗魚(spooled fish)，TMAO 的供應耗盡，TMA 量達到最大值，而 TVB 量因為氨與其它揮發性胺類的生成而仍上升。在冰藏第一週內由於自家消化之故，氨也會微量生成。在不含 TMAO 的一些魚類或並非 TMAO 還原的菌相所造成的腐敗，貯藏期間的

TVB 上升緩慢，這很可能來自胺基酸的脫胺作用(deamination)。

揮發性硫化物是魚腐敗中常見的組成分，屬特定腐敗細菌的大部分細菌都會產生一種或數種揮發性硫化物。腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*)和一些弧菌科(*Vibrionaceae*)從含硫胺基酸 L-半胱胺酸(L-cysteine)產生硫化氫(Stenstroem and Molin, 1990; Gram *et al.*, 1987)，反之，假單胞菌屬(*Pseudomonas*)與磷光發光菌(*P. phosphoreum*)都不產生大量的硫化氫。因此，硫化氫是好氣下腐敗中的冰藏鱈魚(spoiling iced cod)的常見成分，但腐敗中的充填二氧化碳包裝魚(spoiling CO<sub>2</sub> packed fish)並不產生(Dalgaard *et al.*, 1993)。

甲基硫醇(methylmercaptan; CH<sub>3</sub>SH)和二甲基硫化物(dimethylsulphide; (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S)兩者是從其它含硫胺基酸之甲硫胺酸(methionine)所生成。也是含硫胺基酸的牛磺酸(taurine) 在魚肌肉中多以游離胺基酸形式，其存在濃度很高，貯藏期間魚肉的牛磺酸含量會減少(圖 16)，但這

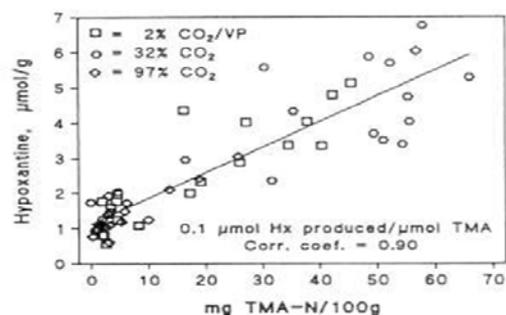


圖 19. 包裝鱈魚冰藏期間三甲胺和次黃嘌呤含量之間的線性相關(Dalgaard *et al.*, 1993)。

是由於滲出(leakage)而非微生物作用(Herbert and Shewan, 1975)。比較自然腐敗中的(naturally-spoiling)鱈魚與已滅菌之魚肉(sterile muscle)中形成的化合物可得知，如圖 20 所示。

揮發性含硫化合物非常難聞，可偵測至 ppb (十億分之一)程度，因此即使最小量也明顯影響於品質。Ringo *et al.* (1984)指出半胱氨酸(cysteine)在克式循環中作為基質，電子被轉移至 TMAO，在某程度上，硫化氫與 TMA 的形成為連結的反應(圖 17)。

不同於冰藏與室溫貯藏分別受到硫化氫及 TMA 產生菌之腐敗希瓦氏菌(*S. putrefaciens*)與弧菌科(*Vibrionaceae*)的作用，假單胞菌屬(*Pseudomonas* spp.)引起的腐敗特徵就欠缺這些的化合物(Gram *et al.*, 1989; Gram *et al.*, 1990)。冰藏魚受假單胞菌屬的腐敗，典型的氣味為水果味(fruity)、腐敗的(rotten)及硫化物(sulphydryl)般的氣味與風味，假單胞菌屬產生一些揮發性醛類(aldehydes)、酮類(ketones)、酯類(esters)及硫化物(sulphides) (Edwards *et al.*, 1987; Miller *et al.*, 1973a; 1973b)，但那些化合物貢獻於

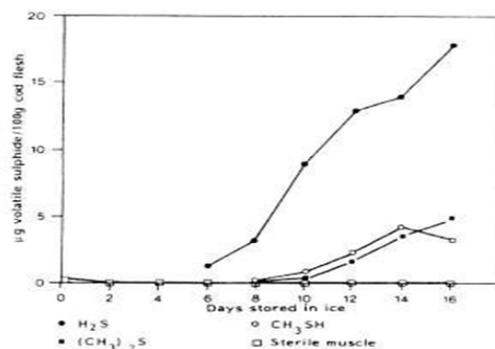


圖 20. 自然腐敗鱈魚和殺菌肌肉塊中甲基硫醇和二甲基硫化物的產生(Herbert and Shewan, 1976)。

典型的不良氣味仍不清楚(表 12)，莓實假單胞菌(*Pseudomonas fragi*)產生水果味般的不良氣味(off-odours)，是來自單胺基單羧基胺基酸(monoaminomonocarboxylic amino acids)。

如前述，即使 TMA 達最高量後，TVB 仍繼續升高，此時後者的增高是由於蛋白質水解(proteolysis)，有些游離胺基酸開始被利用。Lerke *et al.* (1967)將魚肉汁(fish juice)分為蛋白質區分和非蛋白質(non-protein)區分，每區分和全魚肉汁中都培養腐敗細菌，魚肉汁非蛋白質區分的腐敗情形如同全肉汁組，魚肉汁蛋白質區分僅有微弱的不良氣味。雖然有些作者將蛋白質水解細菌(proteolytic bacteria)的數目作為腐敗指標(indicators of

表 12. 新鮮魚在好氣或包裝下冰藏或室溫貯藏時常見的腐敗化合物

特定的腐敗生物	典型的腐敗化合物
腐敗希瓦氏菌 <i>Shewanella putrefaciens</i>	三甲胺、硫化氫、甲基硫醇、二甲基硫化物、次黃嘌呤
磷光發光菌 <i>Photobacterium phosphoreum</i>	三甲胺、次黃嘌呤
假單胞桿菌屬 <i>Pseudomonas</i> spp.	酮類、醛類、酯類、硫化氫以外的硫化物
弧菌科 <i>Vibrionaceae</i>	三甲胺、硫化氫
嫌氣性腐敗菌(anaerobic spoilers)	氨、醋酸、丁酸及丙酸

表 13. 魚類腐敗過程中產生的不良氣味/不良風味化合物與其基質

基質	細菌作用產生的化合物
氧化三甲胺	三甲胺
半胱胺酸	硫化氫
甲硫胺酸	甲基硫醇、二甲基硫化物
碳水化合物和乳酸	醋酸、二氧化碳、水
肌苷、肌苷酸	次黃嘌呤
胺基酸(甘胺酸、絲胺酸、白胺酸)	酯類、酮類、醛類
胺基酸、尿素	氨

spoilage)，但須結論：在新鮮魚的腐敗中，蛋白質區分的轉移並非重要的。魚類腐敗過程中，細菌通常生成的一些化合物連同所利用的基質，列於表 13。

鯡魚(herring)和鯖魚(mackerel)在厭氧下貯藏期間，TMA 生成的同時氨也生成 (Haaland and Njaa, 1988)。魚經厭氧下貯藏長時間，由於胺基酸進一步的降解而產生多量的氨，以及低級脂肪酸如醋酸、丁酸與丙酸等蓄積。氨生產力高者發現是絕對厭氧菌(obligate anaerobes)，屬於擬桿菌科種類(Bacteroidaceae genus)家族的梭桿菌屬 (*Fusobacterium*) (Kjosbakken and Larsen, 1974; Storroe *et al.*, 1975; 1977)，這些微生物只生長在腐敗魚萃取物(spoiled fish extract)中，蛋白質水解活性低或無，依靠已水解的蛋白質。

新鮮多脂魚(fatty fish)冰藏時，脂質區分的變化幾乎全由化學作用引起，例如氧化，微生物攻擊脂質區分對腐敗樣式貢獻少。輕度保藏魚貯藏時，細菌造成的脂質水解也構成部分的腐敗變化特徵。

#### (四) 脂質氧化和水解(Lipid oxidation and hydrolysis)

對於品質的劣敗，下列魚脂質中的兩種反應是重要的：

- 氧化(oxidation)
- 水解(hydrolysis)

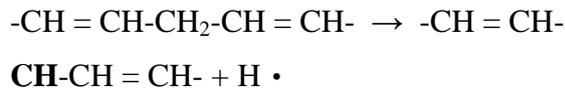
它們產生一些物質，有的具有不愉快的或油耗的(rancid)滋味與氣味，有些也貢獻於質地的改變，即透過共價結合至魚類肌肉蛋白質。這不同的反應有非酵素性的 (nonenzymatic) 或微生物的 (microbial) 酵素，或來自魚本身的細胞內 (intracellular) 或消化(digestive) 酵素等所催化，因此，這些反應的相對重要性取決於魚種和貯藏溫度。

當然多脂魚特別容易發生脂質的降解 (degradation)，引起嚴重的品質問題，即使貯藏 0°C 以下的溫度。

##### 1. 氧化

魚類脂質之中，存在大量的多元不飽和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids)，透過自催化機制(autocatalytic mechanism) 而容易氧化(圖 21)。此過程的起始是透過含一個雙鍵以上的大多數脂肪酸醯基鏈

(acyl chains) 中的戊二烯 (pentadiene) 結構，從其中央的碳移除一個氫原子：



和原生分子不相同，脂質自由基 ( $\text{L}\cdot$ ) 很快與大氣中的氧反應，變成過氧自由基 (peroxy radical;  $\text{LOO}\cdot$ )，並從其它醯基鏈奪取一個氫而形成一個氫過氧化物 (hydroperoxide) 和一個新生的自由基 ( $\text{L}\cdot$ )。這連鎖反應繼續一直到透過和另一個自由基或者和一個抗氧化物 (AH) 反應，生成反應性大為降低的自由基 ( $\text{A}\cdot$ )。連鎖期間所產生相當大量的氫過氧化物是無味的，因而或許不意外，廣泛採用的過氧化物價 (peroxide value) 通常和感官性質的相關性低。

被重金屬離子催化時，氫過氧化物迅速裂解為碳鏈較短的二級自氧化產物，二級產物大多是醛類 (aldehydes)、酮類 (ketones)、醇類 (alcohols)、短鏈羧酸類 (small carboxylic acids) 和烷類 (alkanes) 等，引起廣雜的各種氣味，在某些情況

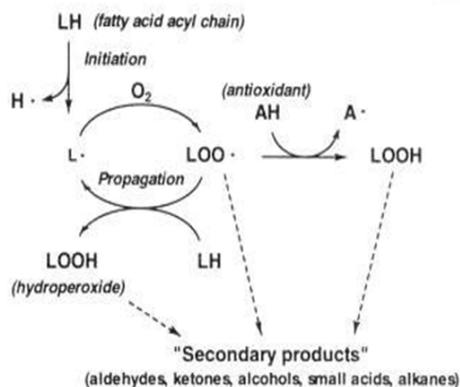


圖 21. 多元不飽和脂質的自氧化 (autoxidation)。

也使顏色變黃。有些醛類以硫代巴比妥酸反應物質 (thiobarbituric acid-reactive substances) 而測定。

在脂質自氧化的第一階段：起始過程，金屬離子扮演極重要的角色，即催化活性氧 (reactive oxygen species) 的形成，如羥基自由基 (hydroxyl radical;  $\text{OH}\cdot$ )。此自由基立即與其生成處附近的脂質或其它分子反應，這高反應性可解釋游離脂肪酸比起對應的結合態分子更易氧化，是由於水相中鐵的數量很可能高於細胞膜和脂質液滴表面結合的量。

脂肪酸氫過氧化物也因酵素作用的方式而形成，透過存在於各種魚類組織中含量不同的脂氧合酶 (lipoxygenase) 催化。在鰓和許多魚類的皮膚中的活性較高，該酵素不穩定，很可能只對新鮮魚的脂質氧化是重要的，烹調或冷凍/解凍相當有效地破壞該酵素的活性。

面臨脂質氧化產物，活細胞具有一些的保護機制。存在的一種酵素即穀胱甘肽過氧化物酶 (glutathione peroxidase) 能將細胞膜中的氫過氧化物還原為對應的羥基化合物 (hydroxyl compounds)，這反應需要還原型穀胱甘肽 (reduced glutathione) 的供應，因而當細胞耗盡該物質時，中止死後變化。細胞膜也含有被認為最重要的天然抗氧化物即酚類化合物的  $\alpha$ -生育醇 ( $\alpha$ -tocopherol; 維生素 E)，生育醇可提供一個氫原子給自由基  $\text{L}\cdot$  或  $\text{LOO}\cdot$ ，如同圖 21 中的分子 AH。一般認為生成的生育酚自由基和位於脂質/水

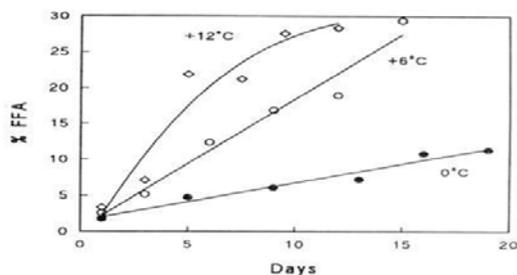


圖 22. 不同溫度貯藏中鮭魚的游離脂肪酸生成 (Danish Ministry of Fisheries, 1971)。

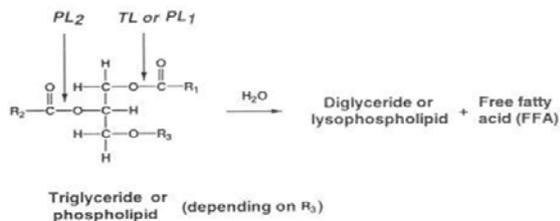


圖 23. 三酸甘油酯及磷脂質的首要水解反應。酵素：PL1 及 PL2 為磷脂酶 A<sub>1</sub> 及 A<sub>2</sub>；TL 為三酸甘油酯解脂酶。

界面的抗壞血酸(維生素 C)反應而使生育酚分子再生。其它的化合物例如類胡蘿蔔素(carotenoids)也可當作抗氧化物，木煙(wood smoke)包含酚類(phenols)，當煙燻時可滲入魚體表面，因而提供一些防止脂質氧化的保護。

## 2. 水解

貯藏時，會生成相當量的游離脂肪酸(free amino acids; FAA) (圖 22)。比起去鰓後的魚，在未去鰓的魚這現象更加明顯，很可能是因為消化酵素的介入。貯藏脂質中的三酸甘油酯(triglycerides)被來自消化道或某些微生物分泌的三酸甘油酯解脂酶(triglyceride lipase)所斷裂(圖 23 中的 TL)，細胞解酯酶也扮演小的作用。

寡脂魚如大西洋鱈(Atlantic cod)即使貯藏低溫下，游離脂肪酸也生成。引起

的酵素是細胞磷脂酶 (cellular phospholipases)，尤其磷脂酶 A<sub>2</sub> (phospholipase A<sub>2</sub>，圖 22 中的 PL2)，儘管這些酵素的活性和游離胺基酸生成速率之間的相關尚未完全確定，結合至磷脂質之脂肪酸若位於甘油的 2 號碳上，大部分為多元不飽和脂肪酸型式，其水解因而也常造成更多的氧化，甚且脂肪酸本身也會引起一種“肥皂般(soapy)”的不良風味。

## 四、參考文獻

- 吳清熊、陳明傳、陳豐原、陳麗瑞、劉炎山編著 (1991) 海事職校水產化學(上下冊)，國立編譯館。
- 吳清熊、周照仁、蔡憲華編著 (1992) 海事專校水產化學(上下冊)，國立編譯館。
- 吳清熊、邱思魁譯著 (1996) 水產食品學，國立編譯館。
- 吳清熊譯 (1998) 水產利用化學，國立編譯館。
- Abe, H., E. Okuma (1991) Rigor mortis progress of carp acclimated to different water temperatures, *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 2095-2100.
- Ackman, R.G. (1980) Fish lipids. Part 1. In: *Advances in fish science and technology*, edited by Connell, J.J., Fishing News (Books) Ltd., Farnham, Surrey, 86-103.
- Acuff, G., A.L. Izat, G. Finne (1984) Microbial flora on pond-reared tilapia (*Tilapia aurea*) held on ice. *J. Food Prot.* 47: 778-780.

- Agustsson, I., A.R. Stroem (1981) Biosynthesis and turnover of trimethylamine oxide in the teleost cod, *Gadus morhua*. J. Biol. Chem. 256: 8045-8049.
- Aksnes, A. (1989) Effect of proteinase inhibitors from potato on the quality of stored herring. J. Sci. Food Agric. 49: 225-234.
- Aksnes, A., B. Brekken (1988) Tissue degradation, amino acid liberation and bacterial decomposition of bulk stored capelin. J. Sci. Food Agric. 45: 53-60.
- Almaas, K.A. (1982) Muskelcellehylstret hos torsk: Ultrastruktur og biokjemi. Ph.D. Thesis, University of Trondheim. (In Norwegian).
- Anderson, D.W. Jr., C.R. Fellers (1952) The occurrence of trimethylamine and trimethylamine oxide in fresh water fishes. Food Res. 17: 472-474.
- Ando, S., M. Hatano (1986) Biochemical characteristics of chum salmon muscle during spawning migration. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 52: 1229-1235.
- Ando, S., M. Hatano, K. Zama (1985a) A consumption of muscle lipid during spawning migration of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 51: 1817-1824.
- Ando, S., M. Hatano, K. Zama (1985b) Deterioration of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) muscle during spawning migration - I. Changes in proximate composition of chum salmon muscle during spawning migration. Comp. Biochem. Physiol. 80B: 303-307.
- Anthoni, U., T. Borresen, C. Christophersen, L. Gram, P.H. Nielsen (1990) Is trimethylamine oxide a reliable indicator for the marine origin of fishes. Comp. Biochem. Physiol. 97B: 569-571.
- Azam, K., I.M. Mackie, J. Smith (1990) Effect of stunning methods on the time of onset, duration and resolution of rigor in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as measured by visual observation and analysis for lactic acid, nucleotide-degradation products and glycogen. In: Chilling and freezing of new fish products. Sci. Tech. Froid. 1990-3. Proceedings of the meeting of Commission C2 I.I.F.-I.I.R. Aberdeen. 351-358.
- Barile, L.E., M.H. Estrada, A.D., Milla, A. Reilly, A. Villadsen (1985) Spoilage patterns of mackerel (*Rastrelliger faughni* Matsui). 2. Mesophilic versus psychrophilic fish spoilage of tropical fish. ASEAN Food J. 1: 121-126.
- Belinske, E. (1964) Biosynthesis of trimethylammonium compounds in aquatic animals. 4. Precursors of trimethylamine oxide and betaine in marine teleosts. J. Fish. Res. Board Can. 21: 765-771.
- Borresen, T. (1976) Isolering og karakterisering av cellehylsteret i muskelceller hos torsk. Ph.D. Thesis, University of Trondheim, (in Norwegian).
- Borresen, T. (1992) Quality aspects of wild and reared fish. In: Quality Assurance in the Fish Industry, edited by Huss, H.H., Jacobsen, M.

- and Liston, J., Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, August 1991. Elsevier, Amsterdam, 1-17.
- Botta, J.R., K.M. Kennedy, J.W. Liceniuk, J. Legrow (1992) Importance of redfeed level, fish size and roe content to the quality of roe capelin. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27: 93-98.
- Braekkan, O.R. (1976) Den emaeringstriessige betydning av fisk. *Fiskets Gang* 35: 1976.
- Braekkan, O.R., G. Boge (1964) Growth inhibitory effect of extracts from milt (testis) of different fishes and pure protamines on microorganisms. *Fiskeridir. Skr.* IV: 1-22.
- Bremner, H.A. (1992) Fish flesh structure and the role of collagen - its postmortem aspects and implications for fish processing. In: *Quality Assurance in the Fish Industry*. Edited by Huss, H.H., Jacobsen, M. and Liston, J. Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, August 1991, Elsevier, Amsterdam, 39-62.
- Bremner, H.A., I.C. Hallett (1985) Muscle fiber-connective tissue junctions in the blue grenadier (*Macruronus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. *J. Food Sci.* 50: 975-980.
- Buranudeen, F., P.N. Richards-Rajadurai (1986) Squalene. *INFOFISH Marketing Digest* 1: 42-43.
- Buttkus, H.J. (1963) Red and white muscle of fish in relation to rigor mortis. *J. Fish. Res. Board Can.* 20: 45-58.
- Castell, C.H., M.F. Greenough (1957) The action of *Pseudomonas* on fish muscle. 1. Organisms responsible for odours produced during incipient spoilage of chilled fish muscle. *J. Fish Res. Board Can.* 14: 617-625.
- Chiba, A., M. Hamaguchi, M. Kosaka, T. Tokuno, T. Asai, S. Chichibu (1991) Quality evaluation of fish meat by "phosphorus-nuclear magnetic resonance. *J. Food Sci.* 56: 660-664.
- Colwell, R.R., M.T. MacDonell, J. De Ley (1986) Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam. nov. *Int. J. System. Bacteriol.* 36: 473-477.
- Dalgaard, P. (1993) Evaluation and prediction of microbial fish spoilage. Ph.D. Thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.
- Dalgaard, P., L. Gram, H.H. Huss (1993) Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *Int. J. Food Microbiol.* 19: 283-294.
- Danish Ministry of Fisheries (1971) Technological Laboratory. Annual Report of Danish Ministry of Fisheries. Technical University, Lyngby, Denmark.
- Devaraju, A.N., T.M.R. Setty (1985) Comparative study of fish bacteria from tropical and cold/temperate marine waters. In: *Spoilage of tropical fish and product development*, edited by Reilly, A., *FAO Fish. Rep.* (317) Suppl., 97-107.

- DiChristina, T.J., E.F. DeLong (1993) Design and application of rRNA-targeted oligonucleotide probes for the dissimilatory iron- and manganese-reducing bacterium *Shewanella putrefaciens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4152-4160.
- DiChristina, T.J., E.F. DeLong (1994) Isolation of anaerobic respiratory mutants of *Shewanella putrefaciens* and genetic analysis of mutants deficient in anaerobic growth on  $Fe^{3+}$ . *J. Bacteriol.* 176: 1464-1474.
- Donald, B., D.M. Gibson (1992) Spoilage of MAP salmon steaks stored at 5°C EEC report on the FAR project UP-2-545. Torry Research Station, Aberdeen.
- Easter, M.C., D.M. Gibson, F.B. Ward (1983) The induction and location of trimethylamine N-oxide reductase in *Alteromonas sp.* NCMB 400. *J. Gen. Microbiol.* 129: 3689-3696.
- Edwards, R.A., R.H. Dainty, C.M. Hibbard (1987) Volatile compounds produced by meat pseudomonads and related reference strains during growth on been stored in air at chill temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* 62: 403-412.
- EEC (1976) Council Regulation No. 103/76 freshness ratings. *Off. J. Eur. Communities* No. L20.
- Fraser, D.I., J.R. Dingle, J.A. Hines, S.C. Nowlan, W.J. Dyer (1967) Nucleotide degradation, monitored by thin-layer chromatography and associated post mortem changes in relaxed cod muscle. *J. Fish. Res. Board Can.* 24: 1837-1841.
- Fujioka, R.S., K. Tenno, S. Kansako (1988) Naturally occurring fecal coliforms and fecal streptococci in Hawaii's freshwater streams. *Toxic Assess.* 3: 613-630.
- Gill, T.A. (1990) Objective analysis of seafood quality. *Food Rev. Int.* 6: 681-714.
- Gill, T.A. (1992) Biochemical and chemical indices of seafood quality. In: *Quality Assurance in the Fish Industry*, edited by Huss, H.H., M. Jacobsen, J. Liston, Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, August 1991. Elsevier, Amsterdam, 377-388.
- Gill, T.A., J. Conway, J. Evrovski (1992) Changes in fish muscle proteins at high and low temperature. In: *Advances in Seafood Biochemistry: Composition and Quality*, edited by G.J. Flick, R.E. Martin, Technomic Publishing, Lancaster, Pennsylvania, 213-231.
- Gill, T.A., R.A. Keith, B. Smith Lall (1979) Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in myofibrillar proteins. *J. Food. Sci.* 44: 661-667.
- Gillespie, N.C., J.C. MacRae (1975) The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage. *J. Appl. Bacteriol.*, 39: 91-100.
- Gorzyka, E. and Pek Poh Len (1985) Mesophilic spoilage of bay trout (*Arripis trutta*), bream (*Acanthopagrus butchri*) and mullet

- (*Aldrichettaforsteri*). In: Spoilage of tropical fish and product development, edited by Reilly, A., FAO Fish. Rep. (317) Suppl., 123-132.
- Gram, L. (1989) Identification, characterization and inhibition of bacteria isolated from tropical fish. Ph.D. Thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University.
- Gram, L. (1990) Spoilage of three Senegalese fish species stored in ice and at ambient temperature. Paper presented at SEAFOOD 2000 in Halifax, Canada. 12-16 May 1990.
- Gram, L., J. Oundo, J. Bon (1989) Storage life of Nile perch (*Lates niloticus*) dependent on storage temperature and initial bacterial load. Trop. Sci. 29: 221-236.
- Gram, L., G. Trolle, H.H. Huss (1987) Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. Int. J. Food Microbiol. 4: 65-72.
- Gram, L., C. Wedell-Neergaard, H.H. Huss (1990) The bacteriology of spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). Int. J. Food Microbiol. 10: 303-316.
- Haaland, H., L.R. Njaa (1988) Ammonia (NH<sub>3</sub>) and total volatile nitrogen (TVN) in preserved and unpreserved stored whole fish. J. Sci. Food Agric. 44: 335-342.
- Hebard, C.E., G.J. Flick, R.E. Martin (1982) Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In: Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, edited by R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard, AVI, Westport, CT, USA, 149-304.
- Herbert, R.A., S. Margaret, D.M. Gibson, J.M. Shewan (1971) Bacteria active in the spoilage of certain sea foods. J. Appl. Microbiol., 34: 41-50.
- Herbert, R.A., J.M. Shewan (1975) Precursors of the volatile sulphides in spoiling North Sea cod (*Gadus morhua*). J. Sci. Food Agric. 26: 1195-1202.
- Herbert, R.A., J.M. Shewan (1976) Roles played by bacterial and autolytic enzymes in the production of volatile sulphides in spoiling North Sea cod (*Gadus morhua*). J. Sci. Food Agric., 27: 89-94.
- Hjelmland, K., M. Christie, J. Raa (1983) Skin mucus protease from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and its biological significance. J. Fish Biol. 23: 13-22.
- Howgate, P., A. Johnston, A.D.J. Whittle (1992) Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products, Tommy Research Station, Aberdeen.
- Hughes, R.B., N.R. Jones (1966) Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of the freshness of the raw material, with a comment on flavour relations. J. Sci. Food Agric. 17: 434-436.

- Huss, H. (1976) Konsumfisk - biologi, teknologi, kvalitet og holdbarhed. Dansk Get. Tidsskr. 59: 165-175.
- Huss, H. (1994) Assurance of Seafood Quality. FAO Fisheries Technical Paper No. 334. FAO. Rome.
- Huss, H. (1995) Quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Hwang, G.-C., H. Ushio, S. Watabe, M. Iwamoto, K. Hashimoto (1991) The effect of thermal acclimation on rigor mortis progress of carp stored at different temperatures. Nippon Suisan Gakkaishi 57: 541-548.
- Ito, Y., K. Watanabe (1968) Variations in chemical composition in fillet of corvina and 'pescada-foguete'. *Contrib. Inst. Oceanogr. Univ. Sao Paolo (Ser. Technol.)* 5: 1-6.
- Iwamoto, M., H. Yamanaka, S. Watabe, K. Hashimoto (1987) Effect of storage temperature on rigor-mortis and ATP degradation in plaice (*Paralichthys olivaceus*) muscle. *J. Food Sci.* 52: 1514-1517.
- Johansson, L., A. Kiessling (1991) Effects of starvation on rainbow trout. *Acta Agric. Scand.* 41: 207-216.
- Jorgensen, B.R., D.M. Gibson, H.H. Huss (1988) Microbiological quality and shelf life prediction of chilled fish. *Int. J. Food Microbiol.* 6: 295-307.
- Jorgensen, B.R., H.H. Huss (1989) Growth and activity of *Shewanella putrefaciens* isolated from spoiling fish. *Int. J. Food Microbiol.* 9: 51-62.
- Kamal, M., T. Motohiro, T. Itakura (1986) Inhibitory effect of salmine sulfate on the growth of molds. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52: 1061-1064.
- Kawabata, T. (1953) Studies on the trimethylamine oxide-reductase. 1. Reduction of trimethylamine oxide in the dark muscle of pelagic migrating fish under aseptic conditions. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 19: 505-512.
- Kent, M., L. Alexander, R.H. Christie (1992) Seasonal variation in the calibration of a microwave fat: water content meter for fish flesh. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27: 137-143.
- Kiessling, A., T. Aasgaard, T. Storebakken, L. Johansson, K.-H. Kiessling (1991) Changes in the structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age. III. Chemical composition. *Aquaculture* 93, 373-387.
- Kinoshita, M., H. Toyohara, Y. Shinuzu (1990) Diverse distribution of four distinct types of modori (gel degradation) inducing proteinases among fish species. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 1485-92.
- Kjosbakken, J., H. Larsen (1974) Bacterial decomposition of fish stored in bulk. Isolation

- of anaerobic ammoniaproducing bacteria. Institute of Technical Bio-Chemistry, NTH, University of Trondheim. (In Norwegian).
- Konosu, S., K. Yamaguchi (1982) The flavor components in fish and shellfish. In: Chemistry and biochemistry of marine food products, edited by R.E. Martin *et al.*, AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, 367-404.
- Koohmaraie, M. (1992) The role of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases in post mortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie* 74: 239-245.
- Korhonen, R.W., T.C. Lanier, F. Giesbrecht (1990) An evaluation of simple methods for following rigor development in fish. *J. Food Sci.* 55: 346-348.
- Kossel, A. (1928) Protamines and histones. Longmans, Green & Co., London.
- Larsen, J.L., N.C. Jensen, N.O. Christensen (1978) Water pollution and the ulcer-syndrome in the cod (*Gadus morhua*). *Vet. Sci. Commun.* 2: 207-216.
- Lerke, P., R. Adams, L. Farber (1963) Bacteriology of spoilage of fish muscle. 1. Sterile press juice as a suitable experimental medium. *Appl. Microbiol.* 11: 458-462.
- Lerke, P., L. Farber, R. Adams (1967) Bacteriology and spoilage of fish muscle. 4. Role of protein. *Appl. Microbiol.* 15: 770-776.
- Lie, Oe., I. Huse (1992) The effect of starvation on the composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fiskeridir. Skr. Ser. Ernaering* 5: 11-16.
- Lima dos Santos, C.A.M. (1978) Bacteriological spoilage of iced Amazonian freshwater catfish (*Brachyplatistoma vaillanti valenciennes*). Master's Thesis, Loughborough University of Technology.
- Liston, J. (1980) Microbiology in fishery science. In: *Advances in fishery science and technology*, edited by Connell, J.J., Fishing News Books Ltd., Farnham, England, 138-157.
- Lohne, P. (1976) Fettfraskilling - ny kunnskap kan aapne for flere prosessmuligheter. *Inf. SSF (Nor. Oil Mea Ind. Res. Inst.)*, Bergen, Norge, 3, 9-14.
- Love, R.M. (1970) *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press, London.
- Love, R.M. (1975) Variability of Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the northeast Atlantic: a review of seasonal and environmental influences on various attributes of fish. *J. Fish. Res. Board Canada* 32: 2333-2342.
- Lundstrom, R.C. (1980) Fish species identification by thin layer polyacrylamide gel isoelectric focusing: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63: 69-73.
- MacDonnell, M.T., R.R. Colwell (1985) Phylogeny of the Vibrionaceae and recommendation for two new genera, *Listonella* and *Shewanella*. *Syst. Appl. Microbiol.* 6: 171-182.
- Makinodan, Y., T. Nakagawa, M. Hujita (1991) Participation of muscle cathepsin D in rising of funazushi (fermented seafood made of

- Crucian carp). *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 1911-1916.
- Makinodan, Y., T.Nakagawa, M. Hujita (1993) Effect of cathepsins on textural change during ripening of ika-shiokara (salted squid preserves). *Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 1625-29.
- Miller III, A., R.A. Scanlan, J.S. Lee, L.M. Libbey (1973a) Identification of volatile compounds produced in sterile fish muscle (*Sebastes melanops*) by *Pseudomonas fragi*. *Appl. Microbiol.* 25: 952-955.
- Miller III, A., R.A. Scanlan, J.S. Lee, L.M. Libbey (1973b) Identification of volatile compounds produced in sterile fish muscle (*Sebastes melanops*) by *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* and an *Achromobacter* species. *Appl. Microbiol.* 26: 18-21.
- Montero, P., J. Borderias (1989) Distribution and hardness of muscle connective tissue in hake (*Merluccius merluccius* L.) and trout (*Salmo irideus* Gibb). *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 189: 530-533.
- Morita, R.Y. (1975) Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 39: 144-167.
- Moustgard, J. (1957) *Laerebog i Husdvrenes Fysiologi og Ernæringsfysiologi*, A/S C.Fr. Mortensen, Copenhagen. (In Danish).
- Muramoto, M., Y. Yamamoto, N. Seki (1989) Comparison of calpain of various fish myosins in relation to their thermal stabilities. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 55: 917-923.
- Murray J. and J.R. Burt (1969) The composition of fish. *Torry Advis. Note* 38, Torry Research Station, Aberdeen.
- Murray, C.K., T.C. Fletcher (1976) The immunohistochemical location of lysozyme in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) tissues. *J. Fish Biol.* 9: 329-334.
- Murray, C.K., J.M. Shewan (1979) The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychrotrophs. In: *Cold tolerant microbes in spoilage and the environment*, edited by Russell, A.D., R. Fuller, Academic Press, 117-136.
- Nakayama, T., D.-J. Liu, A. Ooi (1992) Tension change of stressed and unstressed carp muscles in isometric rigor contraction and resolution. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 1517-1522.
- Nazir, D.J., N.G. Magar (1963) Biochemical changes in fish muscle during rigor mortis. *J. Food Sci.* 28: 1-7.
- Nip, W.K., C.Y. Lan, J.H. May (1985) Partial characterization of a collagenolytic enzyme fraction from the hepatopancreas of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Food Sci.* 50: 1187-1188.
- Parkin, K.L., H.O. Hultin (1986) Partial purification of trimethylamine-N-oxide (TMAO) demethylase from crude fish muscle microsomes by detergents. *J. Food Biochem.* 100: 87-97.

- Partmarm, W. (1965) Some experiences concerning superchilling of fish. Bull. Int. Inst. Reftig. 45: 191-200.
- Pawar, S.S., N.G. Magar (1965) Biochemical changes in catfish, tilapia and mrigal fish during rigor mortis. J. Food Sci., 30: 121-125.
- Phillips, L.G., S.T. Yang, W. Schulman, J.E. Kinsella (1989) Effect of lysozyme, clupeine, and sucrose on the foaming properties of whey protein isolate and  $\beta$ -lactoglobulin. J. Food Sci. 54: 743-747.
- Poole, S., S.I. West, J.C. Fry (1987) Effects of basic proteins on the denaturation and heat-gelation of acidic proteins. Food Hydrocolloids 1: 301-316.
- Poulter, R.G., C.A. Curran, B. Rowlands, J.G. Disney (1982) Comparison of the biochemistry and bacteriology of tropical and temperate water fish during preservation and processing. Paper presented at the Symposium on Harvest and Post- Harvest Technology of Fish, Cochin, India, Trop. Dev. and Res. Inst., London.
- Poulter, N.H., L. Nicolaidis (1985a) Studies of the iced storage characteristics and composition of a variety of Bolivian freshwater fish. 1. Altiplano fish. J. Food Technol. 20: 437-449.
- Poulter, N.H., L. Nicolaidis (1985b) Studies of the iced storage characteristics and composition of a variety of Bolivian freshwater fish. 2. Parana and Amazon Basins fish. J. Food Technol. 20: 451-465.
- Proctor, M.R.M., I.A. Ryan, J.V. McLoughlin (1992) The effects of stunning and slaughter methods on changes in skeletal muscle and quality of farmed fish. Proceedings from TNO, the Netherlands, International Conference Upgrading and Utilization of Fishery Products.
- Reddi, P.K., M.M. Constantanides, H.A. Dymaza (1972) Catheptic activity of fish muscle. J. Food Sci. 37: 643-48.
- Rehbein, H. (1979) Development of an enzymatic method to differentiate fresh and sea-frozen and thawed fish fillets. Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 169: 263-265.
- Rehbein, H. (1990) Electrophoretic techniques for species identification of fishery products. Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 191: 1-10.
- Rehbein, H. (1992) Physical and biochemical methods for the differentiation between fresh and frozen-thawed fish or fish fillets. Ital. J. Food Sci. IV: 75-86.
- Rehbein, H., G. Kress, W. Schreiber (1978) An enzymatic method for differentiating thawed and fresh fish fillets. J. Sci. Food Agric. 29: 1076-1082.
- Reinitz, G.L. (1983) Relative effect of age, diet, and feeding rate on the body composition of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture 35: 19-27.
- Reinitz, G.L., L.E. Orme and F.N. Hitzel (1979) Variations of body composition and growth among strains of rainbow trout (*Salmo*

- gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc. 108: 204-207.
- Ringoe, E., E. Stenberg, A.R. Stroem (1984) Amino-acid and lactate catabolism in trimethylamine oxide respiration of *Alteromonas putrefaciens*. Appl. Environ. Microbiol. 47: 1084-1089.
- Ruskol, D. and P. Bendsen (1992) Invasion of *S. putrefaciens* during spoilage of fish. M.Sc. Thesis, Technological Laboratory and the Technical University, Denmark.
- Saito, T., K. Arai, M. Matsuyoshi (1959) A new method for estimating the freshness of fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 24: 749-50.
- Sakaguchi, M., K. Kan and A. Kawai (1980) Induced synthesis of membrane-bound c-type cytochromes and trimethylamine oxide reductase in *Escherichia coli*. In: Advanced in Fish science and technology, edited by Connell, J.J., Fishing News Books, Farnham, England, 472-476.
- Salfi, V., F. Fucetola, G. Pannunzio (1985) A micromethod for the differentiation of fresh from frozen fish muscle. J. Sci. Food Agric. 36: 811-814.
- Sato, K., R. Yoshinaka, M. Sato (1989) Hydroxyproline content in the acid-soluble collagen from muscle of several fishes. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 55: 1467.
- Sato, K., C. Ohashi, K. Ohtsuki, M. Kawabata (1991) Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. J. Agric. Food Chem. 39: 1222-1225.
- Scott, J.H., K.H. Nealson (1994) A biochemical study of the intermediary carbon metabolism of *Shewanella putrefaciens*. J. Bacteriol. 176: 3408-3411.
- Shewan, J.M. (1962) The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: Recent advances in food science, edited by Hawthorn, J., J. Muil Leitch, 1: 167-193.
- Shewan, J.M. (1974) The biodeterioration of certain proteinaceous foodstuffs at chill temperatures. In: Industrial Aspects of Biochemistry, edited by Spencer, B., Federation of European Biochemical Societies.
- Shewan, J.M. (1977) The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In: Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish., Tropical Products Institute, London, 51-66.
- Sikorski, Z.E., D.N. Scott, D.H. Buisson (1984) The role of collagen in the quality and processing of fish. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 20: 301-343.
- Simopoulos, A.P., R.R. Kifer, R.E. Martin, S.W. Barlow (1991) Health Effects of  $\omega$ 3 polyunsaturatedfatly acids in seafoods. Karger, Basel.
- Spanggaard, B., F. Joergensen, L. Gram, H.H. Huss (1993) Antibiotic resistance against

- oxytetracycline and oxolinic acid of bacteria isolated from three freshwater fish farms and an unpolluted stream in Denmark. *Aquaculture* 115: 195-207.
- Spinelli, J., B. Koury and R. Miller (1972) Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. Isolation and properties of myofibrillar and sarcoplasmic fish protein. *J. Food Sci.* 37: 599.
- Stansby, M.E. (1962) Proximate composition of fish. In: *Fish in nutrition*, edited by Heen, E., R. Jreuzer, Fishing News Books Ltd., London, 55-60.
- Stansby, M.E., A.S. Hall (1967) Chemical composition of commercially important fish of the USA. *Fish. Ind. Res.* 3: 29- 34.
- Stenberg, E., O.B. Styr-void, A.R. Stroem (1982) Trimethylamine oxide respiration in *Proteus* sp. strain NTCH 153: electron transfer-dependent phosphorylation and L-serine transport. *J. Bacteriol.* 149: 22-28.
- Stenstroem, I.-M., G. Molin (1990) Classification of the spoilage flora of fish, with special reference to *Shewanella putrefaciens*. *J. Appl. Bact.* 68: 601-618.
- Storroe, I, N. Dyrset, H. Larsen (1975) Bacterial decomposition offish stored in bulk. 2. Enumeration and characterization of anaerobic ammonia-producing bacteria. Inst. Technical Biochemistry, NTH, University of Trondheim. (In Norwegian).
- Storroe I., N. Dyrset, H. Larsen (1977) Bacterial decomposition offish stored in bulk. 3. Physiology of anaerobic ammonia- producing bacteria. Inst. Technical Biochemistry, NTH, University of Trondheim. (In Norwegian).
- Stroem, A.R. (1984) Mikrobiologiske og biokemiskeforhold ved lagring affisk. Lecture notes, Tromsoe Univ., Tromsoe.
- Stroem, A.R., J.A. Olafsen, H. Larsen (1979) Trimethylamine oxide: a terminal electron acceptor in anaerobic respiration of bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 112: 315-20.
- Stroud, G.D. (1969) Rigor in fish: the effect on quality. Torry Advis. Note 36, Torry Research Station, Aberdeen.
- Surendran, P.K., J. Joseph, A.V. Shenoy, P.A. Perigreen, K.M. Iyer, K. Gopakumar (1989) Studies on spoilage of commercially important tropical fishes under iced storage. *Fish. Res.* 7: 1-9.
- Surette, M.E., T.A. Gill, P.J. Leblanc (1988) Biochemical basis of post-mortern nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *J. Agric. Food Chem.* 36: 19-22.
- Surette, M.E., T.A. Gill, S. MacLean (1990) Purification and characterization of purine nucleoside phosphoylase from *Proteus vulgaris*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1435-1439.

- Suyarna, M., T. Hirano, N. Okada and T. Shibuya (1977) Quality of wild and cultured ayu, 1. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43: 535-40.
- Suzuki, T. (1981) Fish and Krill Protein: Processing Technology. Applied Science Publ., Ltd., London, 62-147.
- Takama, K., R.M. Love, G.L. Smith (1985) Selectivity in mobilisation of stored fatty acids by maturing cod, *Gadus morhua*. L. Comp. Biochem. Physiol. 80B: 713-718.
- Tokunaga, T. (1970) Trimethylamine oxide and its decomposition in the bloody muscle of fish. 1. TMAO, TMA and DMA contents in ordinary and bloody muscles. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 36: 502-509.
- Toyohara, H., Y. Makinodan, K. Tanaka, S. Ikeda (1985) Purification and properties of carp muscle calpain II (high  $Ca^{2+}$ -requiring form of calpain). Comp. Biochem. Physiol. 81B: 573-578.
- Toyohara, H., M. Kinoshita, I. Kimura, M. Satake, M. Sakaguchi (1993a) Cathepsin L-like protease in Pacific hake muscle infected by myxosporidian parasites. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 59: 1101-1107.
- Toyohara, H., M. Kinoshita, M. Ando, M. Yamashita, S. Konogaya, M. Sakaguchi (1993b) Elevated activity of cathepsin L-like protease in the jellied meat of Japanese flounder. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 59: 1909-1914.
- Trucco, R.E., H.M. Lupin, D.H. Gianini, M. Grupkin, R.L. Beori, C.A. Barassi (1982) Study on the evolution of rigor mortis in batches of fish. Lebensm. -Wiss. & Technol. 15: 77-79.
- Uchiyama, H., S. Ehira (1974) Relation between freshness and acid-soluble nucleotides in aseptic cod and yellowtail muscles during ice storage. Bull. Tokai Reg. Fish. Lab. 78: 23-31.
- van Spreekens, K.J.A. (1977) Characterization of some fish and shrimp spoiling bacteria. Antonie Leeuwenhoek 43: 283-303.
- Waagboe, R., K. Sandnes, A. Sandvin, Oe. Lie (1991) Feeding three levels of n-3 polyunsaturated fatty acids at two levels of vitamin E to Atlantic salmon (*Salmo salar*). Growth and chemical composition. Fiskeridir. Skr., Ser. Ernaering IV: 51-63.
- Wang, J.-H., W.-C. Ma, J.-C. Su, C.-S. Chen, S.-T. Jiang (1993) Comparison of the properties of incalpain from tilapia and grass shrimp muscles. J. Agric. Food Chem. 41: 1379-1384.
- Watanabe, K.O. (1971) Physical characteristics and chemical composition of fresh bream, mud sucker, tiger fish and barb from Lake Kariba. Fish. Res. Bull. 5: 153-173.
- Watanabe, T. (1982) Lipid nutrition in fish. Comp. Biochem. Physiol. 73B: 3-15
- Watanabe, T., T. Takeuchi and C. Ogino (1979) Study on the sparing effect of lipids on dietary protein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In:

- Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, World Symp. 1: 113-125,
- Watanabe, T., T. Takeuchi, S. Satoh, T. Ida, M. Yaguchi (1987) Development of low protein-high energy diets for practical carp culture with special reference to reduction of total nitrogen excretion. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 53: 1413-1423.
- Watts, J.C.D. (1957) The chemical composition of West African fish. 2. The West African shad (*Ethmalosa dorsalis*) from the Sierra Leone river estuary. Bull. Inst. Fondam. Afr. Noire (A Sci. Nat.), 19: 539-547.
- Westerdahl, A., J. Christer Olsson, S. Kjelleberg, P.L. Conway (1991) Isolation and characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) - associated bacteria with inhibitory effect against *Vibrio anguillarum*. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2223-2228.
- Wilson, R.P., J.E. Halver (1986) Protein and amino acid requirements of fishes. Ann. Rev. Nutr. 6: 225-244.
- Yamashita, M., S. Konagaya (1990) Participation of cathepsin L into extensive softening of the muscle of chum salmon caught during spawning migration. Nippon Suisan Gakkaishi 56: 1271-77.
- Yamashita, M., S. Konagaya (1992) An enzyme-inhibitor complex of cathepsin L in the white muscle of chum salmon (*Onchorynchus keta*) in spawning migration. Comp. Biochem. Physiol. 103B: 1005-1010.
- Yoshinaka, R., K. Sato, H. Anbe, M. Sato and Y. Shimizu (1988) Distribution of collagen in body muscle of fishes with different swimming modes. Comp. Biochem. Physiol, 89B: 147-151.