

# 魚貝類肌肉死後及貯藏中的變化

## Postmortem and Storage Changes in the Muscles of Fish and Shellfish

邱思魁

Tze-Kuei Chiou

國立臺灣海洋大學生命科學院食品科學系名譽教授

Received 03 December 2019; revised 27 April 2020; accepted 14 May 2020; available online 4 June 2020

### 摘要

本文介紹水產生物資源利用上的核心課題，包括兩項重點，一為魚貝類的肌肉構造與其主要的構成蛋白質，包括肌肉組織、肌肉微細構造及肌肉蛋白質。二為與其食品特性關連的魚貝類的死後變化，包括死後僵直(僵直的開端、冰溫收縮、解凍僵直、洗膾)、生化變化(活體中的醣代謝、死後的醣代謝及代謝相關化合物、磷酸原的作用、無脊椎動物的醣代謝特徵、脂質代謝、微生物的影響)、質地的變化(冷藏中肌肉的斷裂強度變化、死後僵直與硬度的關連)及組織的變化(肌原纖維的變化、內肌膜脆弱化和膠原蛋白崩解、膠原蛋白的變化、放血引起的組織變化)等。

**關鍵字：**魚貝類、肌肉構造、肌肉蛋白質、死後變化、質地變化、組織變化。

### 一、前言

「水產利用化學の基礎」(渡部, 2010)是目前可參考「水產化學」有關的最新日文專書，在水產相關的領域，日文的專業資料仍是值得參考的對象。就水產生物的有效利用，首先，充分瞭解生物資源的成分組成與其食品的特性等乃是必要的，該書內容採用教科書的格式撰寫，篇幅涵蓋

層面廣。在本文，擇要針對水產利用的核心課題，即該書第 2 章的內容加以編寫整理，期待可作為參考。

#### 1. 魚貝類肌肉的特徵與鮮度保持的重要性

水產物作為動物性蛋白質的重要來源，大多是來自於肌肉(muscle)。和哺乳類相比，魚類的骨骼肌(skeletal muscle)有些不同，首先哺乳類骨骼肌中即使有速肌(fast muscle)和慢肌(slow muscle)的存在，速肌纖維和慢肌纖維都是如馬賽克

---

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

(mosaic)般的交相混合，但是魚類的普通肉(ordinary muscle)中只有快肌纖維，血合肉(dark muscle)中只有慢肌纖維，兩種肌肉纖維的分布清晰可辨。其次，哺乳類從新生兒以後，肌肉的成長是靠肌細胞(muscle cell)體積的增大，而魚孵化後的成長，除肌細胞體積增大，肌纖維(muscle fiber)的數目也增加，又終其一生大型魚肌肉都一直成長，魚類骨骼肌的體節(metamere/somite)結構都維持不變。故認識可食部幾乎全是肌肉的性狀，對食品化學而言非常重要。

從中性鹽類溶解性的差異，肌肉蛋白質(muscle proteins)分類為水溶性、鹽溶性、不溶性等三種蛋白質區分。水溶性蛋白質稱為肌漿蛋白質(sarcoplasmic proteins)，含有大量與產生 ATP (adenosine triphosphate; 腺苷三磷酸)之能量代謝有關的酵素等蛋白質，鹽溶性蛋白質含有與肌肉收縮有關的肌原纖維蛋白質(myofibrillar proteins)，不溶性蛋白質包含肌膜/肌鞘(sarcolemma)、生肌節膜(myotome membrane)、腱(tendon)等結締組織的成分，稱為基質蛋白質(stroma proteins)，幾乎全是膠原蛋白(collagen)，其含量高低和生食魚貝肉的質地直接關連。

肌原纖維(myofibril)中的肌動蛋白(actin)與肌凝蛋白(myosin)在低離子強度的生理狀態下，顯現強大的交互作用，肌凝蛋白在鎂離子( $Mg^{2+}$ )的存在下，其 ATP 末端( $\gamma$  位置)的磷酸基水解，此時釋出的化

學能變換為讓細肌絲(thin filament)滑入粗肌絲(thick filament)之間的動能，而引起了肌肉收縮。肌原纖維中肌動蛋白所活化的肌凝蛋白  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性，被從肌漿(質)網(sarcoplasmic reticulum)釋出肌細胞內的微量鈣離子( $Ca^{2+}$ ;  $>10^{-6}$  M)而活化，故引起了肌肉收縮；若鈣離子不存在，肌凝蛋白  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性受到抑制，顯示對鈣離子的敏感性，調節了肌肉的收縮與鬆弛。

這肌肉收縮機制對於魚貝類死後僵直的進行、解凍僵直等，以及魚貝類死後的初期變化都影響甚大，死後肌肉中 ATP 的存在比率與魚貝類的高鮮度保持關係密切。在剛死後某段時間內肌肉中 ATP 仍保持一定的量，這和其它高能量磷酸化合物如肌酸磷酸(creatine phosphate)有關。在靜止(rest)狀態下瞬間致死魚體的肌肉也是，ATP 緩慢地分解為腺苷二磷酸(adenosine diphosphate; ADP)，ADP 從肌酸磷酸取得高能量的磷酸而再生為 ATP。然而，代謝能量的供應在死後立即停止，肌酸(creatine)無法再被生成為肌酸磷酸，故當肌酸磷酸與 ATP 大致下降至莫耳數相等時，ATP 量就開始減少，此時死後僵直也開始，在這同時，醱解的最終產物乳酸的蓄積也開始上升(圖 1)。從 ATP 生成 ADP 之後，繼續降解為腺苷 5'-磷酸(adenosine 5'-phosphate; AMP)、肌苷 5'-磷酸(inosine 5'-phosphate; IMP)、肌苷(inosine, HxR)、次黃嘌呤(hypoxanthine, Hx)等，其中由於 IMP 降解為 HxR 的反應

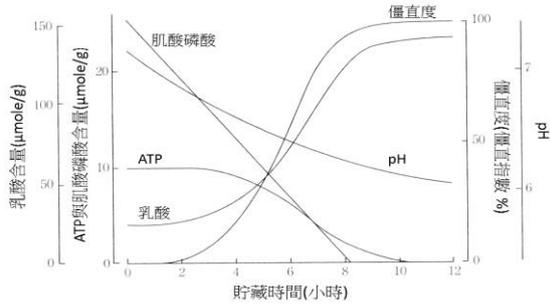


圖 1. 靜止狀態下沙丁魚瞬間致死後在冰藏期間普通肉的生化變化。

速率較慢，HxR 與 Hx 蓄積在所有 ATP 降解衍生物中所占的比率(K value)成為魚貝類常用的鮮度指標。

魚貝類是變溫動物，與哺乳類等陸上恆溫動物不同。和哺乳類體溫 35°C 前後比較，由於水圈環境的一般溫度較低，魚貝類所含的蛋白質即使在低溫下為了發揮其酵素活性等的功能，肌肉構造就柔軟。因此，魚貝類死後，若貯藏在和哺乳類一樣的溫度下，蛋白質極不穩定，脂質的氧化等各種化學反應也很快產生，這就是魚貝類的貯藏和流通比起畜肉及禽肉更為困難，必須保持於低溫的重要原因。

## 2. 魚類的能量代謝與水產食品的多樣性

在生物化學的範疇，生物體內的物質代謝乃是最基本的部分。以葡萄糖

(glucose)及肝醣(glycogen)、脂肪酸(fatty acids)等作為起始物質，在產生能量的反應途徑中，丙酮酸(pyruvic acid)及乙醯化的輔酵素 A (coenzyme A, CoA; acetyl CoA, 乙醯輔酶 A)成為關鍵物質(圖 2)。生物體內的氧氣充足時，丙酮酸進入粒線體(mitochondria)內的檸檬酸循環(citric acid cycle)進行氧化還原反應，其次經由氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)，比起不需氧氣的醣解(anaerobic glycolysis)，產生的高能量磷酸化合物 ATP 達數十倍，利用於生物體內的各種反應。另一方面，來自食物與在生物體內細胞分解的蛋白質，在溶酶體(lysosome)處被分解成為游離胺基酸(free amino acid)，然後變成酮酸(keto acid)衍生物進入檸檬酸循環。魚類和哺乳類同樣都有上述的能量生成機制，但在水生無脊椎動物可看到檸檬酸循環並未完全運作等特殊的代謝途徑，其中許多的功能仍未知，從生物演化的觀點，頗值得深思。

肌肉運動是利用以葡萄糖及肝醣為起始物質，經代謝而得 ATP，在此狀態下魚貝類要如何才取得 ATP 呢? 前述的葡

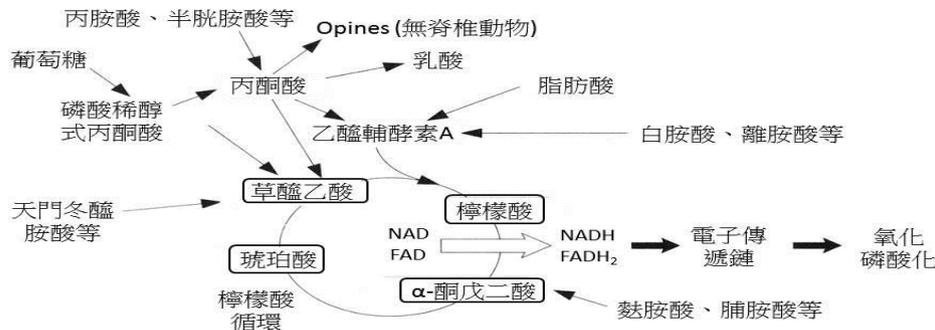


圖 2. 魚貝類的能量代謝概要。

萄糖及肝醣來自於植物光合作用產生的糖，還有脂肪酸的 $\beta$ -氧化( $\beta$ -oxidation)，以及先前也提及在魚貝類中含量豐富的游離胺基酸，也可算是合成 ATP 的能量催生原物質。另一方面，魚貝類死後，經由分解而釋出氮化合物，可轉而作為營養源被植物吸收利用，還有魚貝類在活存時呼吸放出的二氧化碳也可用於植物的光合作用。就像這般，數量可觀的物質循環在水生世界中運行著。

前述的代謝產物與水產食品的風味關係密切。游離胺基酸中麩胺酸 (glutamic acid) 的鈉鹽是自食品發現鮮味來源的代表性物質，最早從海帶鑑定得知，之後，並逐漸釐清各種胺基酸與核苷酸鹽類等如何貢獻於水產物的滋味。如前述之，魚貝類死後蓄積的核酸的一種 IMP，係賦予魚貝類特徵之代表性鮮味成分，最初從鱈柴魚的研究獲知。此外，胺基酸與核苷酸以外的成分，例如甜菜鹼類 (betaines)、有機酸 (organic acid)、鉀等無機離子等也都和滋味的形成有關。魚貝類不只作為食用，種類上也多樣性而各有其獨特的生態環境，是故，代謝產物也因種類的不同而差異很大，尤其在無脊椎動物，其開放性血管系統是為了滲透壓的調節，除游離胺基酸大量蓄積之外，還包含各種的低分子有機化合物，已知這些化合物對於滋味也影響重大。另外，肌肉以外的部位如內臟及軟骨等也常被食用，食品的型態更是形形色色，就是這些的要因讓水產食品能顯得既豐富且多采多姿。

## 二、肌肉的構造與主要構成蛋白質

### (一) 肌肉組織

組織學上，脊椎動物的肌肉分為橫紋肌 (striated muscle) 和平滑肌 (smooth muscle)，橫紋肌包含骨骼肌和心肌 (cardiac muscle)，而魚類骨骼肌可再分為普通肉和血合肉，生理學上，這兩者分別相當於高等脊椎動物哺乳類及鳥類的速肌和慢肌。骨骼肌雖都是由肌纖維 (muscle fiber) 構成，肌纖維分為快肌型和慢肌型乃根據收縮速度而來。從發生學的觀點，少數特例除外，骨骼肌都是由中胚層 (mesoderm) 的生肌節 (myotome) 演化而來，基本上都具有體節的構造，如圖 3 所示。從脊椎骨端開始的垂直間隔 (vertical septum) 將魚體分隔為左右兩部分，並由水平間隔 (horizontal septum) 二分為背部 (dorsal part) 和腹部 (ventral/abdominal part)。前後排列的生肌節彼此間透過肌隔 (myoseptum) 之結締組織 (connective tissue) 連結。

魚類和哺乳類的骨骼肌有些不同。首先，哺乳類的骨骼肌不論速肌和慢肌，都

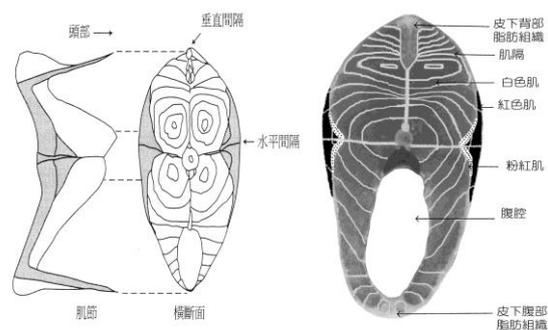


圖 3. 魚類的肌肉構造。左圖：白腹鯖，灰色部分表示血合肉，白色部分為普通肉。右圖：鱒魚 (Listrat et al., 2016)。

是速肌纖維與慢肌纖維如馬賽克般模樣交相混合，而魚類普通肉中幾乎只有速肌纖維、血合肉中只有慢肌纖維，肌肉組織內兩種肌纖維的分布清晰分明(圖 3)。其次，哺乳類自新生兒以後的肌肉成長，僅依靠肌細胞體積的增大(稱為肥大 hypertrophy)，而魚類孵化後肌肉的成長，和細胞體積的增大以及肌纖維數目的增多(稱為增殖/增生(hyperplasia)都有關連。大型魚終其一生中肌細胞都持續地成長，魚類骨骼肌的生體節構造也都保存下來，這些也不同于哺乳類。

血合肉是魚類特有的肌肉組織，因含有如血液般的暗紅色調而命名。血液中屬於原血紅素蛋白(heme proteins)的血紅素(hemoglobin)和此色調雖有關，但血合肉中的血紅素含量少，幾乎全來自肌肉色素蛋白質中的肌紅素(myoglobin)。血紅素和肌紅素都是由稱為卟啉(porphyrin)的化合物與鐵離子結合形成的原血紅素/血基質(heme)，然後再與球蛋白(globin)的蛋白質部分共同構成。血紅素輸送血液中的氧氣，肌紅素則貯存肌肉中的氧氣，除此之外，肌肉中也含有與原血紅素蛋白類似，但僅局部存在於粒腺體中的細胞色素(cytochrome)。

血合肉包括兩種類型，其一為側線下方普通肉表層的血合肉，在沙丁魚(sardine)、鯖魚(mackerel)等沿岸洄游型魚類中都可看到(圖 4)，而鮪魚(tuna)、鰹魚(bonito)等外洋洄游型魚類除表層血合肉之外，真(或深部)血合肉(true or deep dark

muscle)也非常發達。慢肌纖維的收縮速率低，適合於長時間的運動，故血合肉利用於持續不斷的游泳運動，另外，速肌的收縮速率快，分布在進行瞬間激烈運動的普通肉中。在魚類，血合肉的分布是一項特徵，乃為維持魚體的平衡及在水中都不斷游動，適合恆常運動的器官所必要的，尤其外洋洄游型魚類含有二種類型的血合肉，可知魚類特有的游泳運動與血合肉的形成密切關連。

水產無脊椎動物也有橫紋肌和平滑肌，除此之外，在線形動物、環形動物、軟體動物等尚有稱為斜紋肌(obliquely striated muscle)的肌肉組織，斜紋肌可視為Z板(Z-disk)不發達的一種橫紋肌型態。

## (二)肌肉的微細構造

骨骼肌是由直徑 10~100  $\mu\text{m}$  的肌纖維或肌細胞多數集合形成，肌纖維被稱為肌膜的袋狀肌漿[質]膜(sarcoplasm membrane)包圍，肌纖維與肌膜連接，屬於多核細胞(圖 5)。普通肉的肌纖維直徑通常大於血合肉的肌纖維，但也會看到與肌肉成長有關的直徑較小的肌纖維。

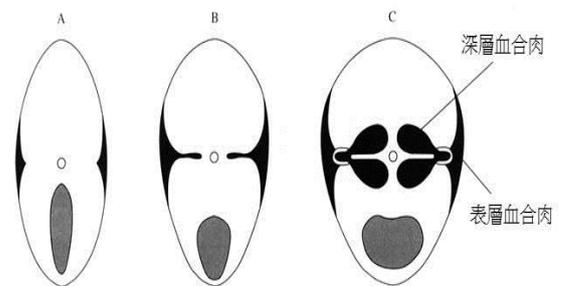


圖 4. 魚類的血合肉分布。A：三線磯鱸、B：白腹鯖、C：圓花鰹，黑色部分為血合肉，灰色部分表示內臟(落合, 1976)。

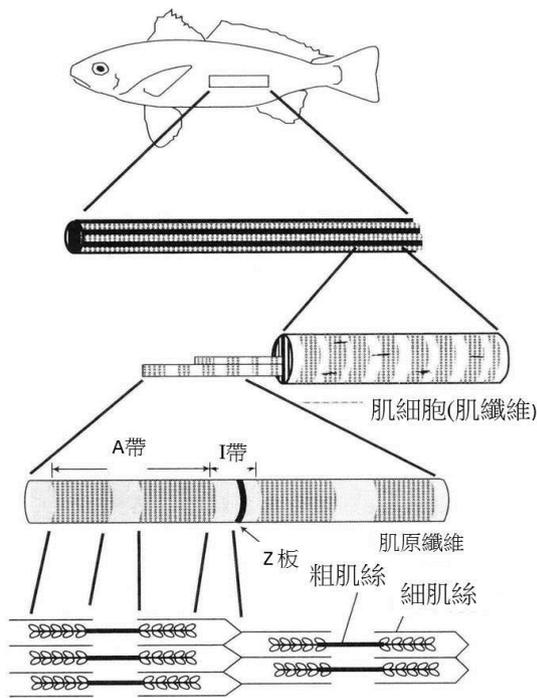


圖 5. 魚類肌肉組織與其微細構造。

肌纖維的內部構造如圖 6 所示，直徑約 1  $\mu\text{m}$  的肌原纖維沿著肌纖維的長軸方向排列。肌膜去除後的肌纖維，在光學顯微鏡下很容易就可觀察橫紋構造，此時見到的明帶、暗帶都具有複屈折性 (birefringence)，明帶尤其明顯。因此，明

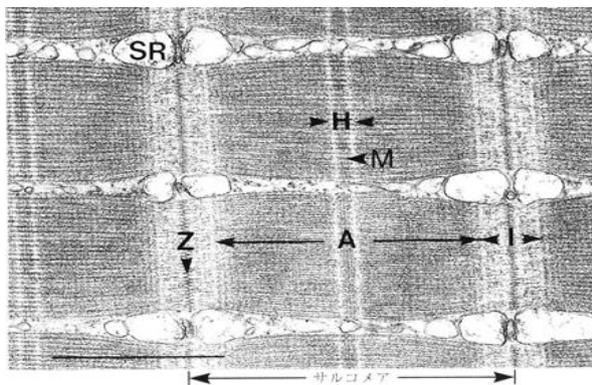


圖 6. 鯉魚普通肉的肌細胞電子顯微鏡圖。(A：A 帶，I：I 帶，H：H 線，M：M 線，Z：Z 板，SR：肌漿網；標線長度 1  $\mu\text{m}$ 。)

帶稱為單折光帶 (isotropic bands; I 帶)，暗帶稱為重折光帶 (anisotropic bands; A 帶)，明及暗兩帶的中央都有密度高的部分，分別稱為 Z 板與 M 線 (M line) (圖 6)，魷魚的(外)套膜肌 (mantle muscle) 等看到的斜紋肌，Z 板不太發達。兩相鄰的 Z 板之間稱為肌小節 (sarcomere)，處於靜止狀態下的肌纖維，長度約 2.5  $\mu\text{m}$ 。

在 A 帶和 I 帶存在的蛋白質纖維，分別為直徑約 15 nm 的粗肌絲和 5~7 nm 的細肌絲 (圖 5)。細肌絲從 Z 板延伸跨越 I 帶全部，伸入粗肌絲之間。肌肉收縮即是細肌絲在上下兩粗肌絲之間滑動而產生，M 線為保持粗肌絲的立體配列的結構。

肌原纖維的四周是網狀構造的肌漿網，由縱小管 (longitudinal tube) 和終池 (terminal cisterna) 組成 (圖 7)，另有橫小管 (transverse tube; T 小管) 傳導來自終池所鄰接神經系統的興奮刺激，T 小管的兩側配置肌漿網的終池，此構造稱為三合體 (triad)，T 小管中有鈣離子通道 (channels)，構成其中一部分的二氫吡啶受體 (dihydropyridine receptor; DHPR) 與終池的蘭諾定受體 (ryanodine receptor; RyR) 相連接，從神經系統傳來的興奮刺激到達 T 小管後，T 小管的鈣離子通道釋出的鈣離子，可能讓 DHPR 及 RyR 發生交互作用，肌漿網內蓄積的鈣離子就從終池流入肌細胞內，使肌細胞內的鈣離子濃度增高，因而引起了肌肉收縮 (圖 8)。這系列的反應稱為興奮收縮耦聯 (excitation-contraction

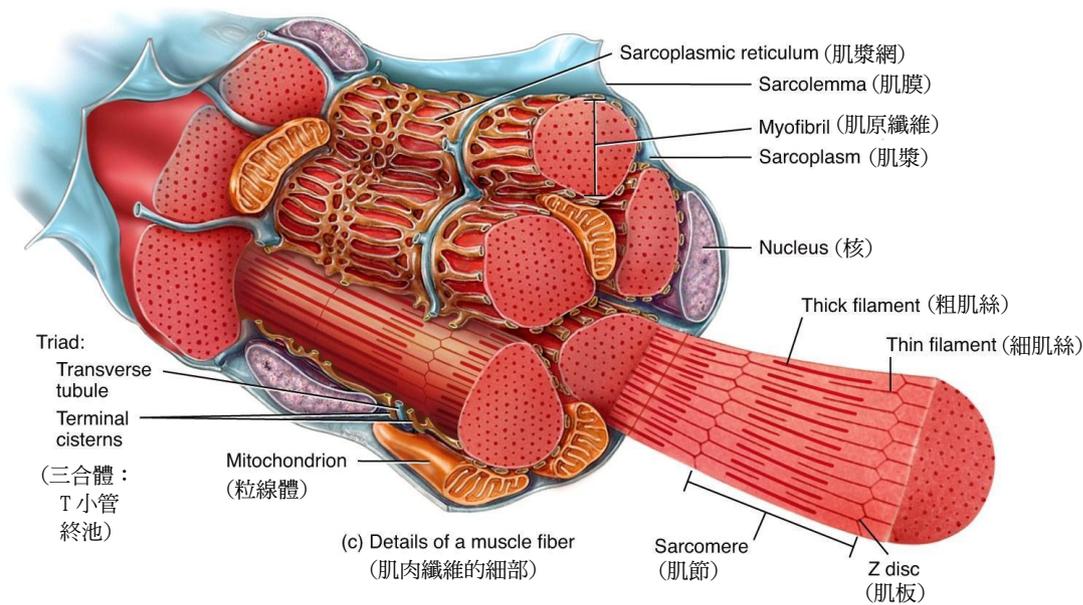


圖 7. 魚類肌肉纖維的細部(修改自 Texas Woman's University, 2018)。

coupling)，流入肌細胞內的鈣離子當神經刺激一旦停止，肌漿網膜上存在的肌漿/內質網鈣 ATP 酶 (sarco/endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase; SERCA)，因 ATP 依存性而作用提供能量，再輸送鈣離子返回終池，讓肌肉鬆弛。肌漿網內有與鈣結合的蛋白質存在，與回收的鈣離子結合而

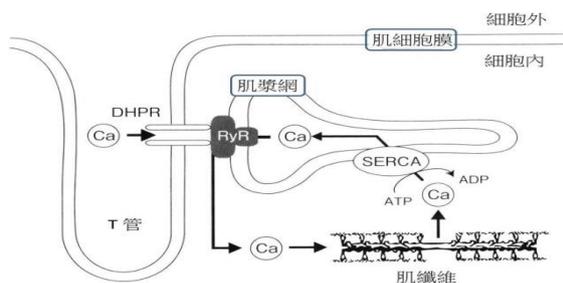


圖 8. 與興奮收縮關連的二氫吡啶受體和蘭諾定受體的交互作用而引起鈣離子流入肌細胞內、以及肌漿網鈣離子 ATPase 引起鈣離子的回收 (DHPR：二氫吡啶受體，RyR：蘭諾定受體，SERCA (sarco/endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase)：肌漿/內質網  $Ca^{2+}$ -ATPase)。

保持高濃度的鈣離子。

### (三)肌肉蛋白質

根據溶解性，肌肉蛋白質可分為水溶性、鹽溶性、不溶性等蛋白質區分(圖 9)。水溶性蛋白質也稱為肌漿蛋白質，可溶於離子強度 0.05 以下的溶液，鹽溶性蛋白質包含構成肌原纖維的肌原纖維蛋白質，大致可完全溶解於離子強度 0.5 以上的中性鹽溶液，不溶性蛋白質來自肌膜、生肌節膜、腱等結締組織，即使鹽溶液也不溶的蛋白質，稱為基質蛋白質。

魚類普通肉的蛋白質中，肌漿和肌原纖維的蛋白質分別占 20~50% 及 50~70%，基質蛋白質量較低 < 10%，但鯊魚、魷魚類的含量較高些。

#### 1. 肌原纖維蛋白質

肌原纖維中細肌絲的主要成分肌動

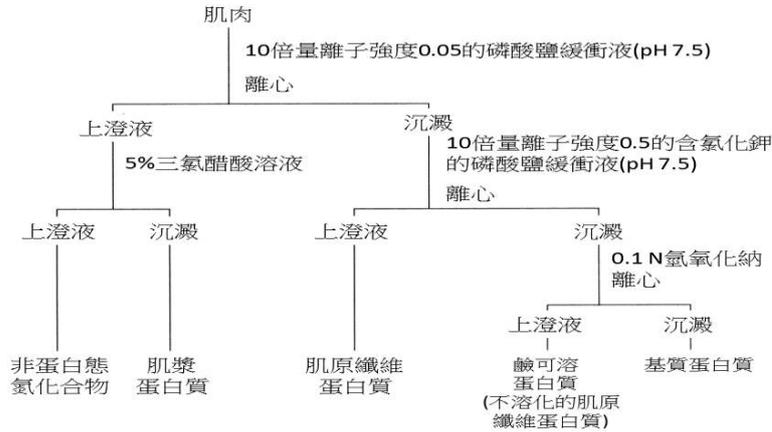


圖 9. 根據肌肉蛋白質的溶解性的畫分法。

蛋白，與幾乎占粗肌絲全部的肌凝蛋白，兩者在生理條件的低離子強度下，顯現很強的交互作用，在中性鹽溶液中結合也很強，因而形成分子量 90 萬以上稱為肌動凝蛋白(actomyosin)的高分子複合物。大致在  $10^{-3}$  M 鈣離子濃度，ATP 末端的磷酸酯基進行水解反應時，肌凝蛋白作為催化劑(即 ATPase)。在生理上的低離子強度下，肌凝蛋白成為肌絲的狀態時，鎂離子的存在會活化肌動蛋白所引起 ATP 的分解，一分子 ATP 的分解相當於產生 7.3 kcal 能量，這反應途徑如圖 10。此處 ADP 為腺苷二磷酸，Pi 為無機磷酸。釋出的能量供使細肌絲滑入粗肌絲之間而引起肌肉收縮。

(1)肌凝蛋白。肌凝蛋白占肌原纖維蛋

白質的 40~50%，長度可達 150 nm，分子量約 50 萬的巨大分子，由分子量約 20 萬的重鏈(heavy chain)二條和約 2 萬的輕鏈(light chain)四條等次單元(subunit)形成的四級構造蛋白質(圖 11)，而魚類肌肉僅有三條輕鏈。肌凝蛋白以蛋白酶進行限度的水解，產生球狀部分的次片段-1 (subfragment-1)和纖維狀的尾部桿(rod)，尾部桿依蛋白酶水解條件的不同，又分為次片段-2 (subfragment-2)和輕分枝肌凝蛋白/輕裂肌球蛋白(L-meromyosin)，合併次片段-1 和-2 兩者的構造稱為重分枝肌凝蛋白(H-meromyosin)。

在骨骼肌的肌凝蛋白，其重鏈頭部上的輕鏈有 3 種，其中的 2 條在鹼性溶液中會解離，故稱為鹼性輕鏈(分子量大小依序

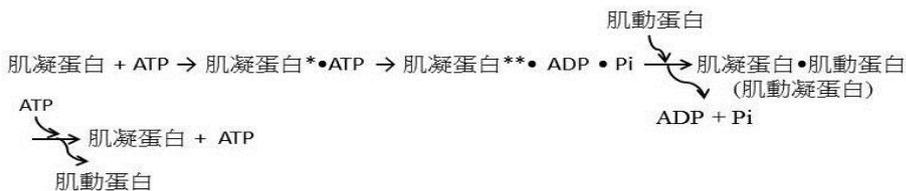


圖 10. 肌凝蛋白轉變成肌凝蛋白·肌動蛋白的路徑。

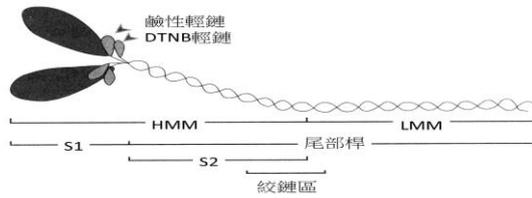


圖 11. 肌凝蛋白的構造示意圖。DTNB：5',5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)、HMM：重分枝肌凝蛋白、LMM：輕分枝肌凝蛋白、S1：次片段-1、S2：次片段-2。

A1、A2)，另外 2 條是相同的次單元，在 5',5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) (5',5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid; DTNB)的存在下會解離之故，稱為 DTNB 輕鏈，所有的輕鏈都座落於次片段-1 上，與次片段-2 的 C 末端側附近的螺旋部分結合，由於 A1 及 A2 是肌凝蛋白的 ATPase 作用所必須的，因此也稱為必需輕鏈 (essential light chain)。DTNB 輕鏈和鈣離子結合，構成胺基酸中的絲胺酸 (serine) 被磷酸化，在平滑肌的肌凝蛋白中也存在同類的輕鏈，稱為調節輕鏈 (regulatory light chain)。

肌凝蛋白有三項重要性質：(1) ATPase 作用，(2) 與肌動蛋白結合，(3) 在生理條件下形成肌絲，(1) 和 (2) 是次片段-1 的重鏈具有的功能。在魚類的速肌纖維中所發現的重鏈種類雖說有限，但已知還是存在許多種類，任何一種都由不同的遺傳基因編碼。在成魚的速肌，由不同的重鏈組成的速肌纖維都呈現馬賽克狀的分布，有部分和肌肉成長密切相關。另外，也發現只在發育 (development) 階段及一定棲息溫度下才出現的不同的重鏈，與肌肉形成及溫度

適應等有關。(3) 是尾部桿的功能。

形成尾部桿的肌絲是雙極性，其長度與在肌原纖維所看到的粗肌絲一致 (圖 12)，此外，在 A 帶所見的 M 線其位置在雙極性肌絲的中央部，尾部桿是二條  $\alpha$  螺旋 ( $\alpha$ -helix) 纏繞形成的線圈 (coil) 狀立體構造 (圖 13)。在一級構造中，帶正電荷及負電荷的胺基酸和疏水性胺基酸以每 7 個殘基為週期規律分布，根據這樣的週期性，形成 28 個胺基酸為一組的反復序列，疏水性胺基酸位於双重圈狀的內側，透過疏水基的交互作用而穩定双重圈狀的構造，另帶電荷胺基酸位於双重線圈狀的表面，各  $\alpha$  螺旋都有連結的位置，透過靜電的交互作用而穩定双重線圈，親水性胺基酸則位於双重線圈構造的外側。

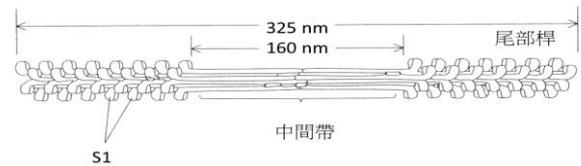


圖 12. 粗肌絲 (肌凝蛋白) 的構造示意圖。

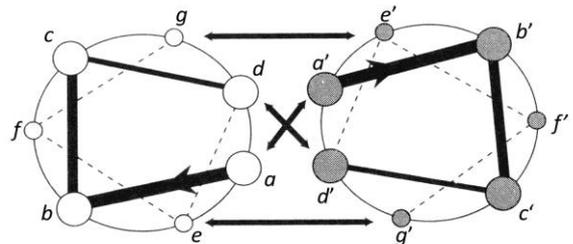


圖 13. 肌凝蛋白尾部桿的  $\alpha$  螺旋二股線圈狀構造的安定化機制。註：a、b、c、d、e、f、g 標示胺基酸殘基的重複構造，a 與 a'、g 與 g' 之間疏水性交互作用，e 與 g'、g 與 e' 之間靜電吸引力結合，基本上在 b、c、f 處配置親水性胺基酸殘基。

肌凝蛋白 ATPase 在鈣離子濃度為 mM 階層 (order)，即顯現活性 ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase)。在低離子強度和肌凝蛋白形成肌絲的狀態，肌動蛋白共存下，鎂離子引起活化所產生的活性，生理上是重要的，而肌動蛋白活化的肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性，先前已介紹。在哺乳類及鳥類平滑肌的肌凝蛋白，磷酸化的調節輕鏈，會使尾部桿其形成肌絲的能力變高，當與肌動蛋白結合，肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性即被活化。

在包含魚類等的脊椎動物，細肌絲中存在的肌鈣蛋白(後述)與從肌漿網釋出的鈣離子結合，使得肌動蛋白和肌凝蛋白之間能夠發生交互作用，肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 就具有了活性。肌動蛋白所活化的肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性，因鈣離子濃度而改變，故稱為鈣敏感性。另一方面，在二枚貝的閉殼肌與魷魚的外套膜肌(斜紋肌)，當輕鏈上結合鈣離子，肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性即被肌動蛋白所活化。從肌凝蛋白此端也存在鈣離子控制系統，這點類似於高等脊椎動物平滑肌的肌凝蛋白。

(2)肌動蛋白。肌動蛋白是細肌絲的主要構成蛋白質(圖 14)，占肌原纖維蛋白質的 20% 左右。肌動蛋白為球狀分子，即球狀(globular)肌動蛋白(G-actin; G-肌動蛋白)，分子量 4.2 萬，單一多肽鏈組成，每 1 莫耳 G-肌動蛋白和 1 莫耳 ATP 及鈣離子結合，在生理的鹽濃度下，聚合形成雙重螺旋的(double-helical)纖維狀

(fibrillary)肌動蛋白(F-actin; F-肌動蛋白)，如前述，F-肌動蛋白和肌凝蛋白結合，就可活化肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性。

(3)原肌凝蛋白(tropomyosin)。原肌凝蛋白由二條次單元構成，分子量約 7 萬，和肌凝蛋白的尾部桿同樣幾乎全是  $\alpha$  螺旋、雙重線圈狀的纖維狀蛋白質。原肌凝蛋白連同肌鈣蛋白一起與 F-肌動蛋白結合而形成細肌絲(圖 14)，並使肌動蛋白所活化的肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性具有鈣離子敏感性。高等脊椎動物中的原肌凝蛋白包括  $\alpha$  及  $\beta$  兩種次單元，但在魚類為  $\alpha\alpha$  型，鮪魚的  $\alpha$  型有 2 種同功型(isoform)存在。

(4)肌鈣蛋白(troponin)。肌原纖維中肌動蛋白所活化的肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性，受到從肌漿網釋出的微量鈣離子( $>10^{-6}$  M)的活化而引起肌肉收縮，另一方面，當鈣離子不存在，肌凝蛋白  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性被抑制，顯示對鈣離子的敏感性。這樣肌肉的收縮受鈣離子所控制，而發揮這重要作用的蛋白質即是肌鈣蛋白，分子量約 7 萬的球狀蛋白質，和原肌凝蛋白強力結合，並以每隔 40 nm 方式存在細肌絲上(圖 14)，細肌絲上的肌動蛋白、原肌凝蛋白、肌鈣蛋白的莫耳比為 7 : 1 : 1。

肌鈣蛋白有 3 個次單元，以莫耳比 1 : 1 : 1 結合形成四級構造的蛋白質。各次單

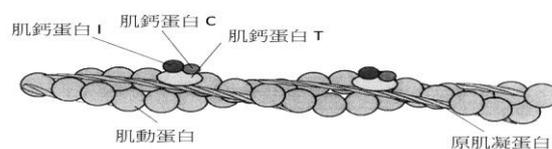


圖 14. 細肌絲的示意圖。

元分擔的作用：(1)肌鈣蛋白 I (troponin I) 阻礙肌凝蛋白和肌動蛋白的交互作用，(2)肌鈣蛋白 T (troponin T)與原肌凝蛋白結合，(3)肌鈣蛋白 C (troponin C)與鈣離子結合，這些作用分別的功能如圖 15 所示。神經刺激引起肌漿網釋出鈣離子，與肌鈣蛋白 C 結合，導致肌鈣蛋白 I 的構造變化，透過與肌鈣蛋白 T 結合之原肌凝蛋白的介入，傳遞至細肌絲的全部區域，因而解除了受肌鈣蛋白 I 所抑制的肌凝蛋白和肌動蛋白的交互作用，肌肉即產生收縮(圖 16)。由於這功能，肌凝蛋白和肌動蛋白也稱為收縮蛋白質(contractive proteins)，肌鈣蛋白、原肌凝蛋白等也稱為調節蛋白質(regulatory proteins)。

魷魚及二枚貝等軟體動物的肌肉的肌凝蛋白與鈣結合而顯示鈣敏感性(肌凝蛋白控制)，但也存在肌鈣蛋白·原肌凝蛋白系統(肌動蛋白所控制)，鈣離子對肌肉收縮的控制是有些複雜。

(5)副肌凝蛋白(paramyosin)。副肌凝蛋白是無脊椎動物特有的肌原纖維蛋白質，在二枚貝，分子量 20~22 萬，由二條  $\alpha$  螺旋

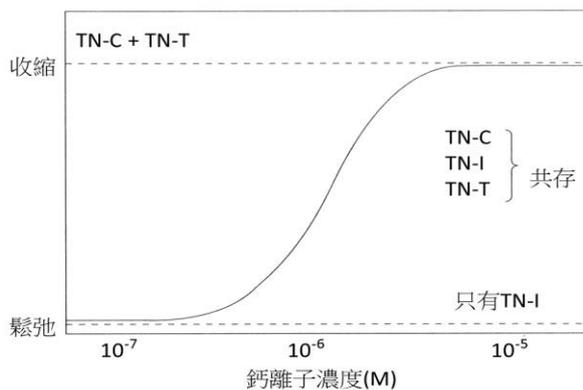


圖 15. 肌鈣蛋白引起的肌動蛋白和肌凝蛋白的交互作用機制。來源：修改自大槻(1986)。

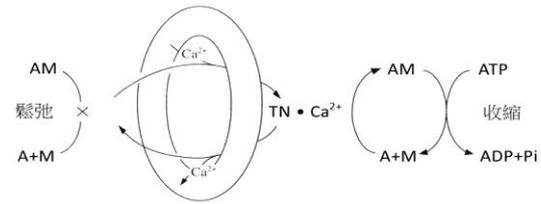


圖 16. 肌動蛋白和肌凝蛋白的交互作用以及肌鈣蛋白、原肌凝蛋白引起的控制。AM：肌動凝蛋白、A：肌動蛋白、M：肌凝蛋白、TN：肌鈣蛋白、SR：肌漿網。

100%的相同次單元形成双重線圈狀分子構造。二枚貝閉殼肌中的副肌凝蛋白含量特別多，在扇貝平滑肌的閉殼肌，可達肌原纖維蛋白質的 50% 以上。

(6) 彈性蛋白質。肌聯蛋白(connectin/titin)存在於肌原纖維中，分子量約 300 萬的細胞內彈性蛋白質。在魚類，占肌原纖維蛋白質的 13%，肌聯蛋白為纖維狀，從骨骼肌的 Z 板至粗肌絲的 M 線為止，與肌肉的張力產生及往骨骼傳達有關。Twitchin 屬於肌聯蛋白家族中來自無脊椎動物的蛋白質，二枚貝的閉殼肌能維持低能量且長時間的收縮，當受到神經刺激而從肌細胞內釋出環狀腺苷 3',5'-單磷酸(cyclic adenosine 3,5'-monophosphate; cAMP)，Twitchin 被磷酸化而使閉殼肌鬆弛。

(7)其它蛋白質。哺乳類骨骼肌除了肌原纖維蛋白質之外，粗肌絲中也有 C 蛋白質、以及在 Z 板有  $\alpha$ -輔肌動蛋白(actinin)及 Z 蛋白質等微量存在。另外，細肌絲中也有  $\beta$  及  $\gamma$  輔肌動蛋白存在，而魚類及無脊椎動物的肌肉中這些的蛋白質是否存在，除了  $\alpha$ -輔肌動蛋白，其它幾乎都不清楚。

## 2. 肌漿蛋白質

肌漿蛋白質是肌肉內為了產生高能量磷酸化合物 ATP 之醱解系統，以及與氧化還原反應關連的水溶性蛋白質等，這些蛋白質存在於肌隔與肌纖維之間、或者肌纖維之間及肌原纖維之間，此外，也包含肌紅素和細胞核(nucleus)、粒線體、內質網(endoplasmic reticulum)等胞器中存在的蛋白質。

(1) 醱解酵素(glycolytic enzymes)。從肝醱及葡萄糖開始的嫌氣性代謝，肝醱受到肝醱磷酸酶(phosphorylase)的作用生成葡萄糖-1-磷酸(glucose-1-phosphate)，葡萄糖 1 莫耳最後生成 2 莫耳乳酸和 3 莫耳 ATP。另一方面，細胞若處於好氣條件下，醱解所生成的丙酮酸進入粒線體中的檸檬酸循環(citric acid cycle)，亦即是三羧酸循環(tricarboxylic acid/TCA cycle)，產生的  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  及  $\text{FAD}/\text{FADH}$  的氧化還原電位，通過包含細胞色素類的電子傳遞系統，葡萄糖 1 莫耳經由丙酮酸的 TCA 循環可產生接近 40 莫耳 ATP。魚類普通肉是要用於激烈運動，故而嫌氣性代謝所需的醱解酵素含量豐富，其中催化 2-磷酸甘油酸(2-phosphoglycerate)→2-磷酸烯醇丙酮酸(2-phosphoenolpyruvate)反應之烯醇酶(enolase)、催化果糖-1,6-二磷酸(fructose 1,6-diphosphate)→二羥基丙酮磷酸(dihydroxyacetone phosphate)反應之醛醇縮酶(aldolase)、以及甘油醛 3-磷酸(glyceraldehyde 3-phosphate)→1,3-二磷甘油酯(1,3-diphosphoglycerate)反應之甘油醛

3-磷酸去氫酶(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)，和後述的肌酸激酶(creatine kinase)等，共同占魚類普通肉肌漿蛋白質的一半以上(表 1)。

(2) 肌酸激酶。肌酸激酶是魚類肌肉中含量多的蛋白質(表 1)。在好氣條件下，粒線體所合成的 ATP 暫時以肌酸磷酸型式蓄積肌肉中，當肌肉收縮而 ATP 水解為 ADP 時，肌酸磷酸的磷酸基就移轉給 ADP 而再生 ATP，催化該反應的即是肌酸激酶：肌酸磷酸+ADP→肌酸+ATP。

肌酸激酶在有如粒線體中 ATP 很充分存在時，也會催化逆反應，這般進行高能量磷酸的接受與給予之肌酸的作用，稱為梭(shuttle)功能。

(3) 小清蛋白(parvalbumin)。魚類的肌漿蛋白質中富含小清蛋白，在鯉魚可達肌肉濕重的 0.7%，含有 4 種組成分，分子量只有 1.1~1.2 萬。小清蛋白為酸性蛋白質，結合 2 個鈣原子，生理作用仍不清楚。

(4) 其它蛋白質。血合肉中也存在多量的肌紅素，還有血紅素、細胞色素類等其隱鈣素(calsequestrin)，與肌漿網所回收的它原血紅素蛋白。肌漿網中含多量的鈣離子結合而有蓄積鈣離子。另外，天門冬胺

表 1. 魚類普通肉中主要肌漿蛋白質的比率

蛋白質	魚種		
	嘉鱖	白腹鯖	鯉魚
稀醇酶	12	13	9
肌酸激酶	13	14	20
醛縮酶	14	19	12
甘油醛 3-磷酸去氫酶	14	12	11

註：占全部肌漿蛋白質的比率(%)。來源：修改自中川(1989)。

酸聚合物構成的蛋白質 aspolin，在魚類肌肉中含量特別多，與肌漿網蓄積鈣有關。蛋白酶大多為分泌型，與細胞小器官溶酶體中存在的蛋白質的代謝密切相關。

### 3. 基質蛋白質

骨骼肌是由許多的肌纖維組成，肌纖維的四周被肌膜/肌鞘的結締組織包圍，又在魚類終生都保留源自中胚葉(mesoblast)的生肌節，生肌節膜因而很發達。除此之外，魚類肌肉內也有結締組織所形成的微血管及神經，以及在尾部有許多的腱。這些包含於結締組織的肉基質蛋白質(細胞外基質蛋白質 extracellular matrix proteins)，通常不溶於中性鹽類與鹼性溶液，化學穩定性高。肌肉內的基質蛋白質幾乎全是膠原蛋白。

(1) 膠原蛋白。膠原蛋白是生物體中一種重要的構造蛋白質，除了肌肉之外，真皮、骨、鱗、鰓等也含有多量的膠原蛋白，共占全部魚體蛋白質的 15~45%。

魚類肌肉中的膠原蛋白是由以 67 nm 為單位，重複構成的纖維，纖維上可觀察到條紋狀模樣。在一級構造中，包含甘胺酸(glycine)的三殘基組(triplet) Gly-X-Y 重複出現，X 及 Y 位置大多分別是脯胺酸(proline)及羥脯胺酸(hydroxyl proline)，因此膠原蛋白的全部胺基酸之中，約三分之一為甘胺酸，其次是屬於亞胺酸(imino acid)的羥脯胺酸含量也相當多，這對於膠原蛋白的螺旋構造(helical structure)的形成，具有重要的作用(後述)。

一分子的膠原蛋白是由 3 股稱為  $\alpha$  鏈

(分子量 10 萬)的多肽鏈(polypeptide chain)所形成右旋三重螺旋構造的蛋白質(圖 17)，由於主鏈的原子之間不能形成氫鍵結合，且內部的間隙空間也無法納入大的側鏈，因而由甘胺酸占住這些內部的位。一股肽鏈由於左旋的螺旋每一周轉要有約 3 個殘基，因此在一級構造中每隔 2 個殘基就一定要配置一個甘胺酸，這即是前述之三殘基組。三重螺旋的膠原蛋白分子長度可達到 300 nm (圖 17B)。

由不同基因編碼的膠原蛋白分子類型達 20 種以上，膠原蛋白 I 型為纖維狀，廣泛分布於真皮、骨、鰓、肌肉等，占全部膠原蛋白的 80~90%，魚類的膠原蛋白 I 型易溶於中性鹽類及稀酸溶液中，乃因分子之間的架橋少的緣故。硬骨魚的膠原蛋白 I 型一般由三股不同的  $\alpha$  鏈組成，分別以  $\alpha 1(I)$ 、 $\alpha 2(I)$ 、 $\alpha 3(I)$  表示之。除此之外，魚類的軟骨及脊椎還有 II 型及 XI 型、肌肉中還有膠原蛋白 V 型存在。

(2) 其它蛋白質。彈性蛋白(elastin)存在於血管及真皮等各種結締組織，是構成彈性纖維的一種基質蛋白質，在魚類肌肉中含量很少。

## 三、死後僵直

### 1. 死後僵直的開端

動物剛死後的肌肉組織，從神經支配運動等的觀點，在個體層次上大致已屆死亡，但另從細胞層次上，生命活動仍暫時維持著，肌肉尚保有柔軟之物性，這乃是肌細胞內的鈣離子濃度低，肌肉仍處於鬆

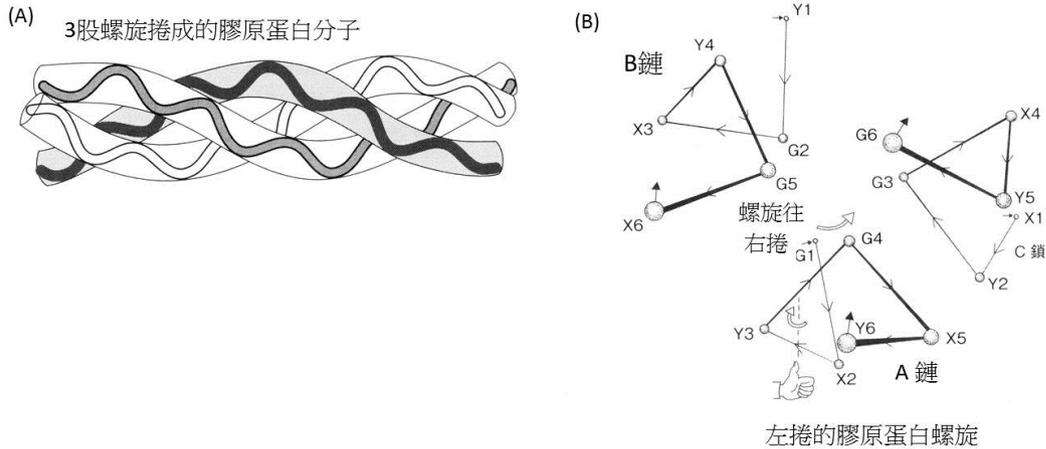


圖 17. 膠原蛋白分子的螺旋構造(A)和橫切面的構造(B)。來源：修改自 閔口(1998)及 Anthony *et al.* (1984)。

弛狀態，肌凝蛋白和肌動蛋白的結合緩慢，使之仍能自由伸縮。在此狀態，肌細胞內高能量磷酸化合物之肌酸磷酸含量仍十分高，肌細胞內的 ATP 也保持在一定的濃度，在維持細胞的生命活動之際，生體膜離子幫浦及肌原纖維的 ATPase 水解 ATP 所產生的 ADP，透過肌酸磷酸而再生為 ATP，當肌酸磷酸含量若減少時，ATP 濃度也隨之降低。這伴隨而來的是肌凝蛋白和肌動蛋白之間的結合變強大，伸縮性受到限制(形成肌凝蛋白和肌動蛋白的僵直複合物(圖 18)，此即是死後僵直(rigor mortis)。牛在死後 24 小時左右進入僵直狀態，持續約 10 日，在魚類則因種類、宰殺前的生理條件、貯藏條件等的不同而差異很大，僵直的發生從死後數分鐘至數十小時，持續時間從數小時至 1 日左右，和家畜的相差甚大。一般，洄游魚類又比底棲魚類、以及漁獲時掙扎死亡又比無掙扎瞬間致死更快發生死後僵直。

在畜肉，死後僵直導致於肌肉變硬，之後因自家消化等因素而軟化(解僵)。魚

類死後僵直的開始時間及持續時間，都比畜肉短，死後僵直與肌凝蛋白及肌動蛋白的形成僵直複合物是同步的，畜肉的軟化也不會延遲太久才發生，軟化現象在稍後詳細介紹。

死後僵直的進展會受到各種因素的影響。死後因任何原因而發生肌肉收縮的話，肌原纖維(肌動凝蛋白)  $Mg^{2+}$ -ATPase 所引起 ATP 的水解就變得很明顯。在脊椎動物的骨骼肌，從肌細胞內的肌漿網釋出鈣離子，肌鈣蛋白和原肌凝蛋白組成的調節蛋白質介入，解除了對肌凝蛋白和肌動蛋白交互作用的抑制，ATP 作為能源而讓細肌絲滑入粗肌絲之間，引起肌肉的收縮，故任何機會使得鈣離子從細胞外流入

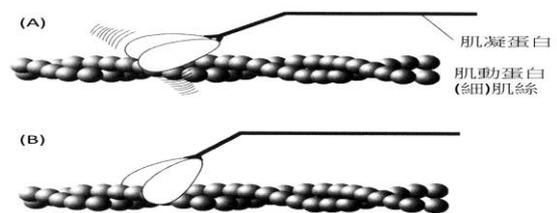


圖 18. 僵直複合物的形成。ATP 存在下，肌凝蛋白與肌動蛋白解離(A)，ATP 不存在時，肌凝蛋白就不能與肌動蛋白解離(B)。

細胞內，都會發生同樣的收縮現象。肌漿網作為肌細胞內的鈣離子貯藏庫，其鈣離子的回收也是由 ATP 提供能源，死後肌細胞內的 ATP 濃度降低，造成肌細胞內鈣離子濃度的上升，更加速肌原纖維所引起 ATP 的水解。

## 2.冰溫(冷卻)收縮

以碎冰等急速冷卻瞬間致死的魚類肌肉，肌原纖維所引起的 ATP 水解係因酵素反應的緣故，降溫時 ATP 的水解速率變慢，但即使如此，由於肌漿網回收鈣離子的能力也下降，致使肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性被活化，結果冰溫收縮反而促進了 ATP 的水解(圖 19)。圖 20 顯示比目魚貯藏  $0^{\circ}C$  及  $10^{\circ}C$  時，死後僵直的進展與肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性的比較，在  $10^{\circ}C$  貯藏，比起  $0^{\circ}C$  貯藏的 ATP 減少更快速，死後僵直也更早發生。這是由於  $0^{\circ}C$  貯藏使細胞內鈣離子濃度迅速上升，肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性被活化而使得 ATP 減少更快速。如上述，肌肉收縮和其它的水解途徑而致使 ATP 消失的話，就進入死後僵直狀態，肌肉失去柔軟性。由於已死後僵直的魚體不易彎曲，就覺得魚體有堅硬之印象。在失去柔軟性的狀態，魚體肌肉很容易因受力而變形，這顯得有些脆弱，因此，魚體若是不當敲打，破壞肌肉組織較弱的部分，造成魚體割裂等的問題。另剝殼後扇貝貝柱若也急速冰溫處理，促進了 ATP 水解，也會引起貝柱收縮之僵化現象。

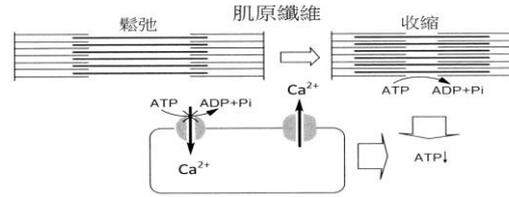


圖 19. 冰溫收縮。魚類肌肉急速冷卻時，肌漿網的鈣離子幫浦不再作動的同時，鈣離子也釋出，其結果肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 被活化，ATP 濃度降低。

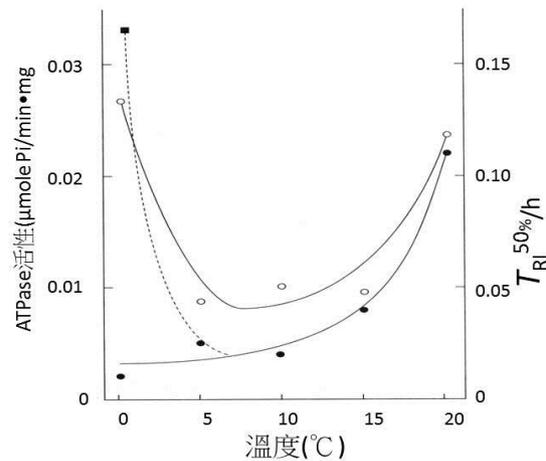


圖 20. 各種溫度貯藏下比目魚的肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性(●)及達 50% 僵直度的時間倒數( $T_{RI}^{50\%}$ ) (○)的關係(Watabe *et al.* 1989)。RI：僵直指數，●：鈣離子不存在，■：鈣離子存在。

## 3.解凍僵直

剛死後的魚類肌肉若立即急速凍結，肌肉細胞內在 ATP 直接被保留下來的狀態，就讓細胞內產生冰晶，很容易發生凍結損傷。之後解凍時，大量的鈣離子從細胞外及肌漿網流入細胞內，很快就引起激烈的肌肉收縮現象，這同時也促進 ATP 的消耗，更加速進入僵直狀態，這樣的現象稱為解凍僵直。隨著肌肉蛋白質的凍結變性，保水力降低且激烈收縮之故，使細胞質外流，產生大量汁液(drip)。有些魚種

為了防止解凍僵直，會採用緩慢凍結，讓 ATP 逐漸減少的技法。

#### 4.洗膾

剛死後的魚類肌肉若浸冷水(日文:洗い/洗魚/洗膾 arai)，肌肉會收縮(註：中國自古就食用(魚)膾，膾為細切的生肉，加入蔥等調味而生食)，這現象認為是由於前述的，經過一些時間後肌肉即回復鬆弛。

另一方面，剛死後的魚類肌肉若用溫度較高 40°C 的溫水淋洗數秒，肌肉也會激烈收縮(高溫洗膾)，然後冷水降溫再食用，這樣的收縮會持續，即使經過一段時間及溫度也上升，肌肉都不會變成鬆弛，此乃是原肌凝蛋白·肌鈣蛋白調節蛋白質的不可逆部分變性，使得調節蛋白質介入對肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性的控制，因部分被解除而發生了肌肉收縮，ATP 的急速減少也認為是其中原因之一(圖 21)。另外，加熱處理引起肌漿網的鈣離子幫浦和鈣離子通道的功能部分喪失，使細胞內的鈣離子濃度上升，由於仍保留部分的鈣離子敏感性，肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性因而被

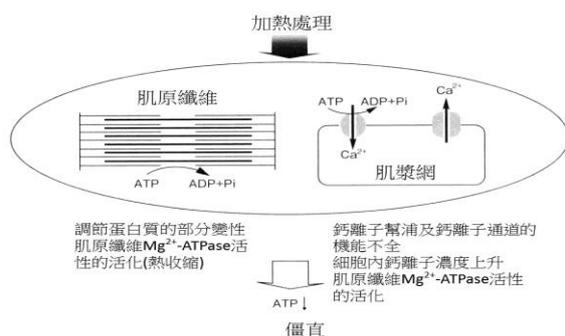


圖 21. 高溫浸洗的機制。

活化，這可能也是造成肌肉收縮的原因之一。

#### 四、生化變化

##### 1.活體中的醣代謝

魚類肌肉中貯藏的多醣和其它脊椎動物同樣都是肝醣，肝醣的異化途徑(catabolic pathways)也大致相同。活存時的肌肉，肝醣利用無機磷酸而轉變成葡萄糖-1-磷酸及之後的葡萄糖-6-磷酸(glucose-6-phosphate) (圖 22)，這樣的轉換使細胞內的葡萄糖濃度下降，防止因為濃度梯度而引起葡萄糖攝入能力的降低。經後，會消耗 1 分子的 ATP 而變成果糖-1,6-二磷酸(fructose-1,6-biphosphate)，此一分子果糖-1,6-二磷酸分解成為二分子的丙醣磷酸(triose phosphate)，並繼續磷酸化產生丙醣二磷酸(triose diphosphate)，由此提供磷酸給 ADP 而變成 ATP，而且從丙醣二磷酸所產生的磷酸稀醇式丙酮酸(phosphoenol pyruvate)再轉變成丙酮酸時，ATP 也被合成，從一分子葡萄糖相當於產生二分子丙醣，結果從葡萄糖至丙酮酸的醣解產生了二分子的 ATP。

醣解所產生的丙酮酸經由乙醯輔酶 A，進入檸檬酸循環(圖 23)而被氧化，在此過程，氧化型菸鹼醯胺腺嘌呤二磷酸(nicotinamide adenine diphosphate;  $NAD^+$ )及氧化型黃素腺嘌呤二磷酸(Flavin adenine diphosphate; FAD)被還原而成為還原型  $NADH$  及  $FADH_2$ 。檸檬酸循環中生成的還原型  $NADH$  及  $FADH_2$  除了將電

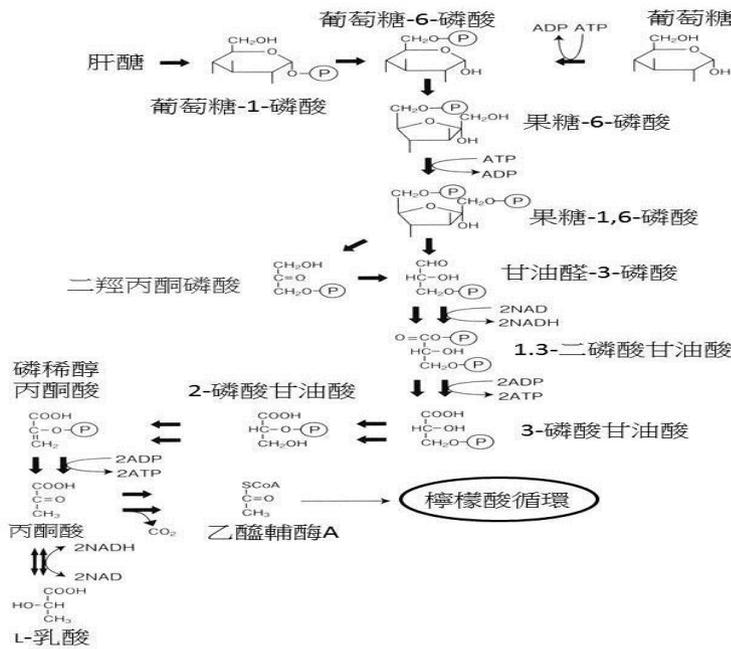


圖 22. 醣解途徑中的葡萄糖代謝。

子傳遞鏈中的構成分子予以還原，也從粒線體內釋出氫離子，由此產生的粒線體內及內膜外側之間的氫離子濃度及電位梯度成為驅動力，ATP 合成酵素 (F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase) 作用而產生 ATP (氧化磷酸化)。

## 2. 死後的醣代謝及代謝相關化合物

魚死後，肌細胞仍利用 ATP 來維持生命活動，但隨著細胞內氧氣濃度的下降，

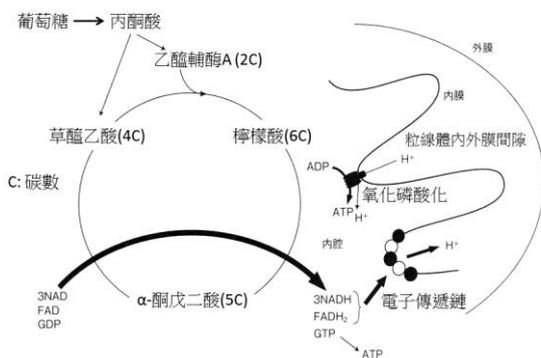


圖 23. 檸檬酸循環、電子傳遞鏈和氧化磷酸化。

電子傳遞鏈中的反應及氧化磷酸化會中止，NAD<sup>+</sup>就無法生成。NAD<sup>+</sup>乃進行醣解所必要的，而為了補償，就由 NADH 將丙酮酸還原來提供 NAD<sup>+</sup>，結果是產生 L-乳酸 (圖 24)。乳酸的生成(破壞了氧化還原平衡)及 ATP 的水解等因素，使得細胞內的氫離子濃度上升，隨著死後時間的增長而使 pH 值降低。另外，靜止狀態的魚貝類肌肉中，ATP 的濃度至少達數 μmole/g，死後為取得生物體能量而迅速分解，生成

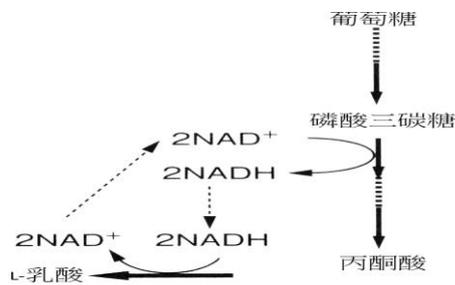


圖 24. 從葡萄糖至乳酸的生成。

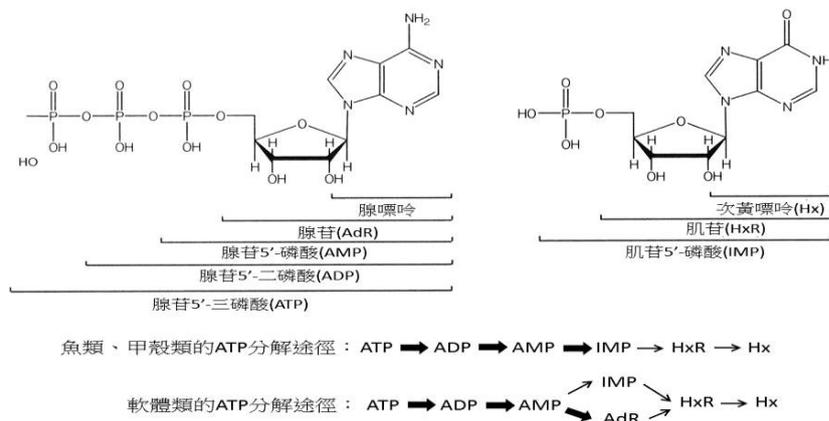


圖 25. ATP 關連化合物和魚貝類的 ATP 分解途徑(AdR: adenosine 腺苷; HxR: inosine 肌苷; Hx: hypoxanthine 次黃嘌呤; 腺嘌呤 adenine)。

ADP、AMP、IMP、肌苷、次黃嘌呤等(圖 25)。在魚類或甲殼類的肌肉，由於 AMP 脫胺酶(deaminase)活性高的緣故，AMP 很快轉變成為 IMP，另一方面，若是 5'-核苷酸酶(5'-nucleotidase)活性低時，IMP 就蓄積下來(圖 25)。在軟體類動物的肌肉，5'-核苷酸酶活性的作用主要經由 AMP、腺苷(adenosine)、肌苷、次黃嘌呤等途徑，核苷酸酶活性也不高，死後就容易蓄積 AMP。

### 3. 磷酸原/磷肌酸(phosphagen)的作用

胍基化合物(guanidino compounds)的肌酸及精胺酸(arginine)受到肌酸激酶或精胺酸酶(argininase)的作用，與來自 ATP 的高能量磷酸結合，前者以肌酸磷酸型式蓄積於魚類肌肉，後者則以精胺酸磷酸(arginine phosphate)蓄積於無脊椎動物肌肉。在活體狀態，由粒線體合成的 ATP 被細胞內含量多的 ATPase 分解，肌酸磷酸和精胺酸磷酸即是抵禦這樣的分解。ADP 運送至肌原纖維後，主要存在於細胞質及

粒線體中的肌酸激酶或精胺酸酶催化逆反應，將 ADP 回復為 ATP，讓肌原纖維  $Mg^{2+}$ -ATPase 能再被利用稱為梭(shuttle)功能，如圖 26。活存時的肌肉中，肌酸磷酸和精胺酸磷酸的濃度為 10 幾  $\mu\text{mole/g}$ ，死後為了維持細胞活動 ATP 被消耗而減少，但在一定時間內仍能減緩 ATP 的消耗。在此情況，肌酸磷酸或精胺酸磷酸變成了 ATP 的緩衝系統(磷酸原功能)。在環形動物中發現具有磷酸原功能的物質，包括胍基乙酸磷酸(glycocyanine phosphate)、脘基牛磺酸磷酸(taucyanine phosphate)等。

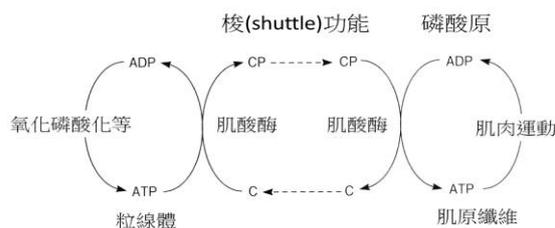
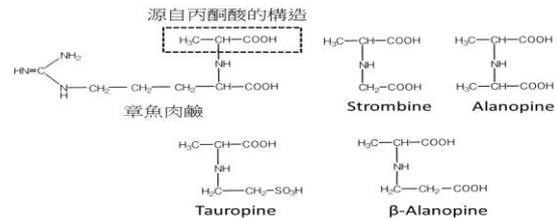


圖 26. 肌酸磷酸的梭功能與磷酸原功能(CP: phosphocreatine 肌酸磷酸; C: creatine 肌酸)。

#### 4.無脊椎動物醣代謝的特徵

無脊椎動物也同樣以肝醣蓄積多醣，在活存時透過與魚類大致相同的醣代謝，將肝醣轉換為 ATP 等生物體能量物質。二枚貝等在活存時，常遇到退潮而直接暴露大氣之低氧狀態，故演化至不需氧的醣解系統，亦即氧氣不足時，魚類醣解作用引起的氧化還原平衡受到破壞，因此將丙酮酸還原為 L-乳酸，確保足夠的  $NAD^+$  量。除此之外，在無脊椎動物尤其二枚貝，尚有 opines 的生成、以及部分的檸檬酸循環進行逆反應等方式(圖 27)，這些形成了無脊椎動物死後的醣解代謝產物的多樣性，亦即最終產物除了 L-乳酸，還有 opines 及檸檬酸循環的中間產物等的蓄積。章魚(肉)鹼(octopine)是發現自頭足類的一種 opine，係精胺酸和丙酮酸經由章魚鹼脫氫酶(dehydrogenase)的作用而生成，在此處  $NADH$  (輔酶)轉變為  $NAD^+$ ，這與前述魚類在醣解的最後階段，丙酮酸還原為 L-乳酸之際  $NADH$  變換為  $NAD^+$  的反應與功能是相同的。因此，在頭足類的醣解最終產物是章魚鹼蓄積而非 D-乳酸，另可能蓄積的其它 opines，還有 strombine、alanopine、tauropine (別名紅藻

酸 rhodoic acid)、 $\beta$ -alanopine 等，分別是丙酮酸結合甘胺酸(glycine)、L-丙胺酸(L-alanine)、牛磺酸(taurine)、 $\beta$ -丙胺酸( $\beta$ -alanine)而形成。此外，真牡蠣等的乳酸酸脫氫酶活性幾乎不存在，死後的醣解最終產物也並非乳酸，而是丙胺酸、琥珀酸(succinic acid)、丙酸(propionate)及 alanopine 等。



#### 5.脂質代謝

三酸甘油酯(三醯基甘油: triacylglycerols, triglycerides)及磷脂質(phospholipids)等脂質成分如果失去了細胞功能，會受到脂酶(lipase)及磷脂酶(phospholipase)的作用而水解產生游離脂肪酸，但反應的速率較慢。之後進行自家消化與腐敗，魚肉中的蛋白質等被分解，游離胺基酸及代謝物質等蓄積。通常這些變化都是在貯藏溫度高時加速發生，洄游魚類比底棲魚類進行更快速，但具體原因如何，有關的研究例仍少。這些不僅因種類而差異大，死後變化的影響原因也多的緣故。

#### 6.微生物的影響

活魚的肌肉及血液是無菌的，在體表、鰓、消化道等接觸外界的部分則附著許多的細菌混合。海產魚的體表上檢出假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、交替單胞菌屬

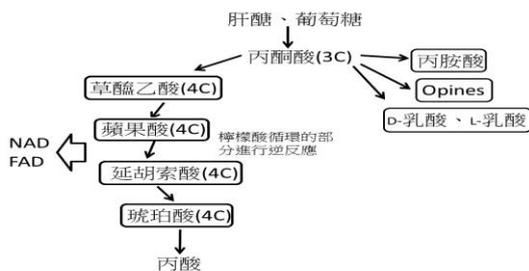
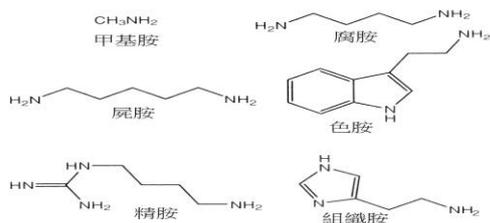


圖 27. 無脊椎動物醣解的最終產物。

(*Alteromonas*)、弧菌屬(*Vibrio*)、微球菌屬(*Micrococcus*)、葡萄球菌屬(*Staphylococcus*)等，弧菌屬為腸道內的優勢菌。魚死後，各部位組織也隨著解僵的進展而逐漸變得脆弱，被來自體表、鰓、消化道內的細菌浸潤，開始繁殖並進行腐敗作用。首先，游離胺基酸、糖、有機酸等被分解，胺基酸發生去羧基(decarboxylation)或去胺基(deamination)反應，生成胺類、氨、有機酸、醇、醛等，去羧基反應除了甲基胺(methylamine)等一級胺類之外，也產生胍戊胺(agmatine)、屍胺(cadaverine)、腐胺(putrescine)、組織胺(histamine)、色胺(tryptamine)等二級胺類(多胺類 polyamines)，組胺酸已知是游離組胺酸含量豐富的鯖魚等紅肉魚所引起過敏性中毒的主要原因物質，多胺類大多有不愉快的臭味，也影響腐敗臭。



氧化三甲胺(trimethylamine oxide; TMAO)是水生生物用來調節滲透壓的溶質之一，侵入死後魚肉的微生物分泌的還原酵素，將 TMAO 還原為帶有魚特有腥臭及腐敗臭之三甲胺(trimethylamine; TMA)，在血合肉中也可以透過內源性酵素的作用而生成。另一方面，鱈魚類貯藏中會受到內源性脫甲基酵素的作用，將 TMAO 分解為二甲胺(dimethylamine;

DMA)及甲醛(formaldehyde)，DMA 在硝酸鹽的存在下會生成致癌性亞硝胺(nitrosamine)，一定濃度以上的甲醛也顯示對人體的毒性，食品衛生上也要注意。

## 五、質地的變化

近年來物流技術的發達，讓新鮮魚貝類更容易銷往遠處，消費者對於魚貝類鮮度的意識也愈高漲，要求越新鮮好品質的魚貝類產品。但是魚類可食部位肌肉的質地在死後很短的時間內即發生變化，例如將「活締」(源自於日文「活け締め ikejime」)。活締處理分三步驟：先以尖銳鋼棒插入魚眼後方的腦部，使之瞬間腦死，其次打開魚鰓後下刀切斷心臟旁邊的動脈進行放血，再將魚浸入冰水，最後從插入魚頭的洞，再以細鋼條沿著脊椎切斷神經。鮪魚等捕獲後立即活締處理，這已成為生魚片利用的全世界標準)剛處理完的魚就直接生魚片食用，這樣的肌肉彈性強且咀嚼有些韌性，但貯藏後的魚肉其強彈性與硬度很快消失，即發生了軟化。針對肌肉軟化的原因，有關的研究不少，但魚種特異性等的問題，軟化現象的機制仍瞭解有限。

### 1. 冷藏中肌肉的斷裂強度的變化

檢視瞬間致死魚類其肌肉斷裂強度(breaking strength)隨貯藏時間的變化，變化的樣式會因魚種不同而差異大。在探討的魚種中，變化速率最快的是沙丁魚，於 4°C 貯藏下死後 6 小時就大致全都軟化(圖

28) (豐原和安藤, 1991), 像這魚種, 消費者是不容易吃到肉質緊實的口感, 而且沙丁魚這些紅肉魚都傾向於軟化速率較快, 鰺魚(yellowtail)、真鯖、黃帶擬鰹(crevalle jack)等瞬間致死後 1 日以內軟化。另一方面, 像嘉鱻(sea bream)及牙鰾/比目魚(Japanese flounder)這樣的白肉魚貯藏於 4°C, 死後 3 日軟化仍緩慢進展中(圖 28), 但也有例外, 例如虎河魴是完全不會軟化的魚種, 亦即魚種不同而軟化的速率與樣式差異很大。

魚貝類以外的水產物, 如魷魚的質地變化, 基本上和紅肉魚的軟化速率一樣快速, 但其質地測得的數值範圍都遠大於魚類, 反映魷魚的肌肉構造屬於偏硬之特性。

## 2. 死後僵直和硬度的關連

為瞭解死後僵直對於肌肉硬度的影響, 同時測定比較 13 種魚類的死後僵直指標的僵直指數(rigor index)和肌肉硬度, 即使死後僵直仍進行中, 肌肉也持續地軟化(圖 29) (豐原和安藤, 1991), 亦即肌肉硬度的變化不一定與死後僵直的進展相關。

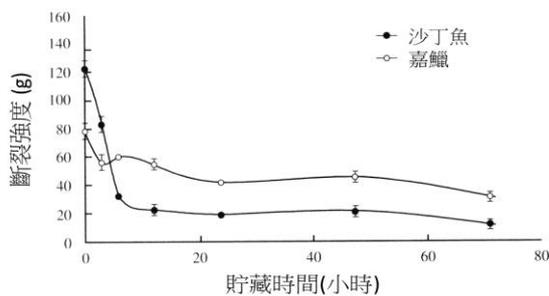


圖 28. 冷藏(4°C)中沙丁魚及嘉鱻肌肉的質地變化。來源：修改自豐原和安藤(1991)。

像這樣魚體的僵直程度和肌肉硬度不一致, 乃是來自不同的物理因素所引起。死後僵直是由於失去肌細胞的伸縮性造成, 魚肉的硬度則受到占肌肉的大部分之肌細胞、以及將肌細胞之間連結的結締組織等的影響, 因而肌肉硬度來自這兩者的強度總和, 與只反映肌細胞影響的死後僵直就一定會不一致。

然而也有例外, 魚體在 ATP 仍大量存在的極新鮮狀態就急速凍結, 之後的解凍作業會造成 ATP 的急速水解, 使魚體發生異常的僵直, 亦即解凍僵直(thaw rigor)。同樣很新鮮的魚肉切成薄片, 肉片放入冰水等低溫處理, 肌肉會收縮非常明顯, 這種操作稱為洗臉。在解凍僵直或者洗臉後, 肌肉的斷裂強度都很大(Hatae *et al.*, 1991)。另一方面, 畜肉發生解凍僵直時, 和魚肉不同的是畜肉太過於堅韌而不適合直接販售。在這些範例, 死後僵直很明顯地影響肌肉的硬度, 亦即如同解凍僵直或洗臉, 肌肉極端收縮時, 就顯現出僵直對肌肉硬度的影響。

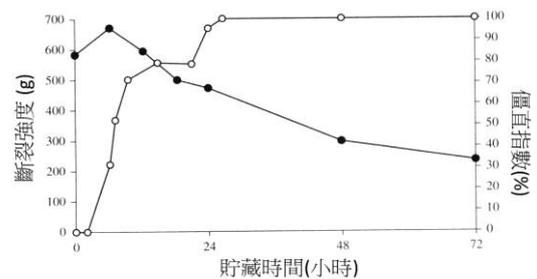


圖 29. 冷藏(4°C)中鰺魚的僵直指數(○)與肌肉質地(●)間的關係。註：斷裂強度採用直徑 8 mm 的探頭測定。來源：修改自豐原和安藤(1991)。

## 六、組織的變化

肌肉組織大略分為肌細胞和結締組織，魚死後由於血液流動停止而欠缺氧氣等，成為組織構造變化的導因。

### 1. 肌原纖維的變化

肌肉的大部分是肌細胞組成。在肌細胞之中即是肌原纖維，肌原纖維是由粗肌絲、細肌絲、Z 板、M 線等構造元件組成，又 Z 板及 M 線之間是由肌聯蛋白·肌絲連接。這些構造元件中，Z 板的物理強度在冷藏期間會下降，這是最早來自雞肉的研究，採用斷片化比率來評定肌原纖維的強度，亦即肌肉和一定量的緩衝溶液在一定條件下，以組織攪拌機攪碎後的懸濁液再利用顯微鏡觀察，量測肌原纖維的長度，並計算斷片化比率( $F_4\%$ ) = (肌小節 4 以下的斷片數/全部斷片數) × 100。

魚類肌肉在冷藏期間也同樣會顯現肌原纖維的脆弱化，Z 板逐漸地斷裂(橘等, 1993；圖 30)，還有構成 Z 板的  $\alpha$ -輔肌動蛋白也分解。以強化肌原纖維為目的而採用流水式水槽來強制魚類不斷地游動(運動飼養)，這樣運動飼養的魚在貯藏期間的斷片化比率上升速率，比起非強制運動飼養魚明顯更慢，亦即運動可提高肌原纖維的強度。另外，比較養殖嘉鱻和天然嘉鱻的斷片化比率，前者的上升速率比後者快，被認為是養殖嘉鱻肉質脆弱的原因之一(橘和槌本, 1990；圖 31)。

在肌原纖維中，彈性蛋白質的  $\alpha$ -肌聯蛋白(分子量 280 萬)和  $\beta$ -肌聯蛋白(分子量

210 萬)將 Z 板和 M 線連結，讓肌原纖維可以連續地伸縮。從哺乳類至魚類的肌肉，都發現在貯藏中  $\alpha$ -肌聯蛋白分子變小成為  $\beta$ -肌聯蛋白，但與肌肉軟化是否關連仍需再探討。

### 2. 內肌膜的脆弱化和膠原蛋白的崩解

結締組織的功能是將肌細胞連結在一起，因此結締組織的數量和肌肉硬度之間的相關性高。從組織學角度檢討結締組織對於軟化現象的關連，常用的方法是製作石蠟切片後再以光學顯微鏡觀察，即使在死後經 4°C 冷藏 3 日的肌肉，都看不出

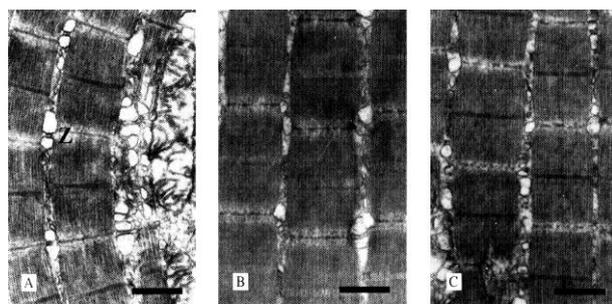


圖 30. 養殖嘉鱻的肌原纖維構造變化。(A：瞬間致死時，B：冰藏 1 日後，C：冰藏 3 日後，標線長度 1  $\mu\text{m}$ ，Z：Z 板。)

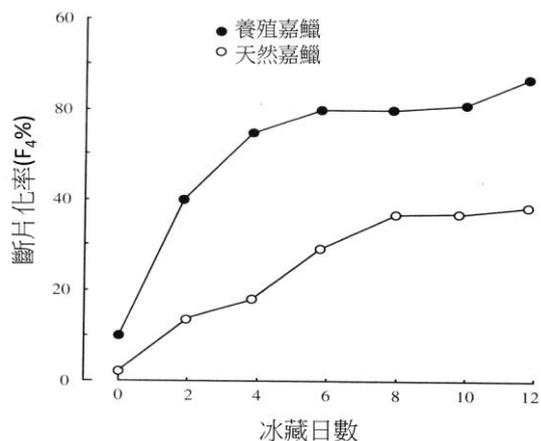


圖 31. 冰藏中肌原纖維斷片化比率的變化。來源：橘和槌本(1990)。

結締組織構造的變化(圖 32)，但若肌肉切成每邊 1 公分的肉塊，上面加重 100 g 並持續 10 秒促其變形之後，同樣地再觀察肌肉的構造，此時會看到肌細胞分離、肌細胞之間的間隙已無法辨識，由此結果，推知連結肌細胞的結締組織之中，特別是內肌/肌內膜(endomysium)的物理強度在冷藏中下降。會發生軟化的其它魚種也都看到同樣的結果，但另一方面，不會軟化的虎河豚卻看不出肌內膜的脆弱化。當進一步採用穿透式電子顯微鏡觀察內肌膜的微細構造，則隨著軟化的進展，可觀察到膠原蛋白纖維的斷片化或消失(圖 33)，然而同樣是結締組織，構成生肌節膜的膠原蛋白纖維，構造仍未見改變，不會軟化的虎河豚其內肌膜的膠原蛋白纖維也無任何的變化。

在冷藏鱈魚肉片也觀察到，和前述虹鱈同樣的發生膠原蛋白纖維的構造變化，綜合這些的結果，可知在冷藏期間特定的膠原蛋白纖維崩壞，使得內肌膜變脆弱，最終連帶成為肌肉軟化的導因。

### 3. 膠原蛋白的變化

組織學上所認定膠原蛋白纖維的崩壞，另從生物化學的角度檢討。膠原蛋白分子的種類多達 20 種以上，魚類肌肉的膠原蛋白包含 I 型及 V 型，I 型占全部膠原蛋白量的 97%，V 型僅占 2~3%。然而這少量存在的 V 型膠原蛋白的溶解性若增高，報告指出這與虹鱈等 7 種魚類的肌肉軟化有關。膠原蛋白分子之間的架橋，致使它難以溶解，溶解性的升高意謂 V 型

膠原蛋白分子之間的共價鍵結合斷裂。另在不會軟化的虎河豚肌肉，無論 I 型或 V 型膠原蛋白的溶解性都未變化，順便一提的是，虎河豚的內肌膜膠原蛋白纖維是比其它魚種更粗些。此外，將 I 型及 V 型膠原蛋白混合而以人工方式形成的纖維，若 I 型膠原蛋白的量多，所形成的纖維就較粗。從這些結果，虎河豚的內肌膜膠原蛋白纖維中，不會變化的 I 型膠原蛋白的比

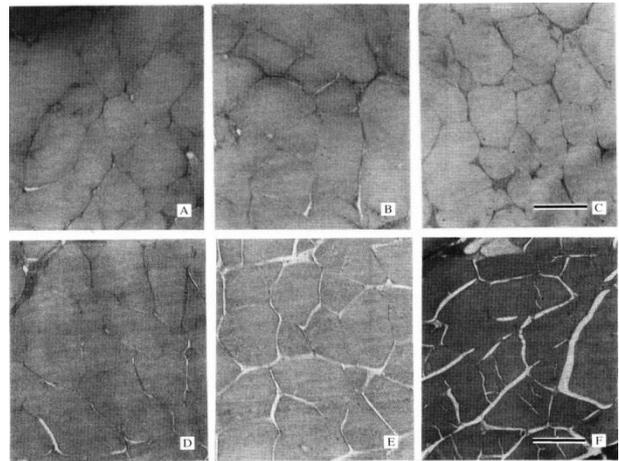


圖 32. 鱈魚冷藏期間肌原纖維的變化。(A、D：瞬間致死時，B、E：冷藏 1 日後，C、F：冷藏 3 日後，標線長度 100  $\mu\text{m}$ ；A、B、C：採通常方法的組織，D、E、F：負重(100  $\text{g}/\text{cm}^2$ 、10 秒)後的組織。)

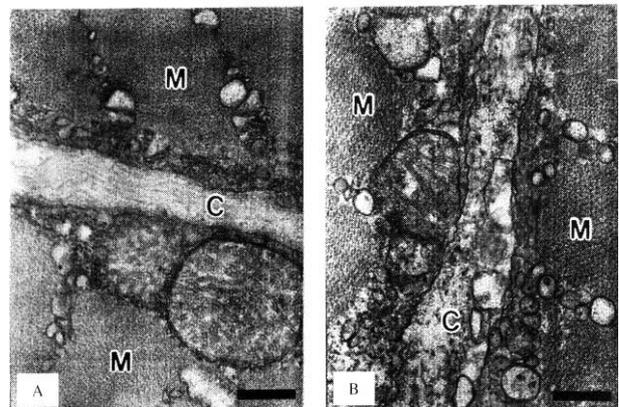


圖 33. 鱈魚冷藏期間膠原蛋白纖維的構造變化。(A：瞬間致死時，B：冷藏 1 日後，標線長度 100 nm，M：肌細胞，C：膠原蛋白纖維 (Ando *et al.*, 1992)。)

率高，有可能就是不發生軟化的原因，但也有報告指出 I 型膠原蛋白也變化。

#### 4. 放血引起的組織變化

在瞬間致死魚之際，通常都會一併放血，一般經驗也得知放血會使魚肉鮮度保持較久些的效果。針對 6 種代表性養殖魚調查放血的效果，在洄游魚的軟化會延遲發生，內肌膜膠原蛋白纖維的崩解也較慢出現，但在白肉魚並未有延緩肌肉軟化的效果。從洄游魚所見的效果，認為是血液中分解膠原蛋白的蛋白酶活性因放血而明顯變少，膠原蛋白的分解因而延緩所致 (Sato *et al.*, 2002)。因此，放血不僅讓血液流出，也具有延緩軟化進行之效果。

### 七、參考文獻

大槻磐男 (1986) トロポニン三成分の構造と働き。現代化學 188: 45-48。

中川孝之 (1989) 解糖系酵素。水産動物筋肉タンパク質の比較生化学，新井健一編，恆星社厚生閣，東京，101-103。

渡部終五 (2010) 水産利用化学の基礎。恆星社厚生閣，東京。

落合 明 (1976) 生態。白身の魚と赤身の魚，日本水産學會編，恆星社厚生閣，東京，9-22。

豊原治彦、安藤正史 (1991) 筋肉の物性變化。魚類の死後硬直，山中英明編，恆星社厚生閣，東京，42-49。

関口清俊 (1998) タンパク質はからだをつくる。タンパク質ものがたり，蛋白質研究獎勵會編，化學同人，東京，100-114。

橘 勝康、三嶋敏雄、槌本六良 (1993) 養殖マダイと天然マダイの冰藏中における普通筋の微

細構造と細胞化学的  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性の變化。日水誌 59: 721-727。

橘 勝康、槌本六良 (1990) マダイ。養殖魚の價格と品質，平山和次編，恆星社厚生閣，東京，48-54。

Ando, M., H. Toyohara, M. Sakaguchi (1992) Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue. Nippon Suisan Gakkaishi 58: 567-570.

Anthony, R.R., J.E. Michael (1984) From cells to atoms: An illustrated introduction molecular biology. Blackwell Scientific publications, London.

Hatae, K., S. Watabe, Y. Okajima, M. Shirai, A. Shimada, H. Yamanaka (1991) Differences in the ultrastructure of carp muscle slices due to varying "Arai" treatment: an electron microscope observation. Agricultural and Biological Chemistry 55: 1593-1600.

Listrat, A., B. Lebret, I. Louveau, T. Astruc, M. Bonnet, L. Lefaucheur, B. Picard, J. Bugeon (2016) How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. The Scientific World Journal 2016: 1-14.

Sato, K., S. Uratsuji, M. Sato, S. Mochizuki, Y. Shigemura, M. Ando, Y. Nakamura, K. Ohtsuki (2002) Effect of slaughter method on degradation of intermuscular type V collagen during a short-term chilled storage of chub mackerel *Scomber japonicus*. Journal of Food Biochemistry 26: 415-428.

Texas Woman's University (2018) Muscles Review. <https://www.studyblue.com/notes/n/muscles-review/deck/5557597>

Watabe, S., H. Ushio, M. Iwamoto, H. Yamanaka, K. Hashimoto (1989) Temperature-dependency of rigor-mortis of fish muscle, myofibrillar  $Mg^{2+}$ -ATPase activity and  $Ca^{2+}$  uptake by sarcoplasmic reticulum, Journal of Food Science 54: 1107-1110.

