

豚骨格筋筋原線維の低温貯蔵中の変化

鮫 島 邦 彦*・木 坂 徹*・山 本 克 博*
(肉製品製造学研究室)

Changes in Porcine Myofibrils during Low Temperature Storage

Kunihiko SAMEJIMA*, Tohru KISAKA* and Katsuhiko YAMAMOTO*
(April, 1977)

結 論

一般に動物の骨格筋を食肉として利用するには、その風味や柔らかさを発現するために、いわゆる熟成工程（冷蔵条件で一定期間保存する）を必要とするとされている。この低温熟成中の筋肉の物理、化学的な変化についての研究はすでに多くの研究者によって報告されている。死後ある一定期間を経過すると動物の骨格筋がなぜ柔らかさを増大するのかという疑問に対して、従来の研究報告が提出した解答を大別すると、(1)筋肉内に存在するタンパク質分解酵素により筋肉構造タンパク質が影響をうける。^{3,6,21,30}(2)死後のATPの減少にとまなう張力の発生により筋肉の高次構造が壊れ易くなる。^{5,9,33}(3)アクチン—ミオシン間の結合が弱くなる。^{12,15}(4)Z線を構成している物質の減少もしくは崩壊によりZ線の構造が消失してくる。^{7,8,13,31}などようになる。しかしこれらの結論が完全に解硬現象の全容を明らかにしたものとは断定出来ない。むしろこれらの原因が単独ではなく複合して、あるいはまだ知られていない要因などと共同して解硬現象に関与しているものと考えるのが妥当であろう。

一方、豚骨格筋の死後の硬直、解硬現象は牛のそれに比べて明確ではないとされているが、豚肉の品質および保存性は屠殺後の処理に影響されることは明らかである。特に最近の食肉流通機構は複雑になり、屠殺後ほとんどの動物は冷却後、凍結され、長期間凍結保存された後に消費されるようになった。一般に食肉は低温で処理されるほど解硬現象が遅れ、保存期間も延長出来ると考えられている。

山本ら^{35,36}は凍結保存した鶏胸筋の変化について報告しているが、このような基礎的データの蓄積は食肉の保存処理方法の適否や今後の改善のために必要なことと考える。

* Lab. of Meat Research, The College of Dairying, Ebetsu, Hokkaido, Japan.

本実験は山本らの実験を豚肉に対して行ったものであり、特に今回は4°Cもしくは-20°Cで保存された時に豚肉がどのような変化をするのかを、筋原線維のレベルで比較したものである。

実験材料および方法

試料の調整

生後約6ヶ月令のランドレース種の雌豚の3頭が用いられた。供試豚は屠殺、内臓除去後直ちに正中線に沿って2分割された。屠体より背最長筋を取り出し保存中の微生物の影響を除くために1 mM NaN_3 を含む0.1 M NaCl溶液で浸したガーゼで包み骨付の状態のまま乾燥しないようにポリエチレン袋に入れ冷蔵(4°C)、あるいは冷凍(-20°C)で保存し適宜取り出して前法³⁶⁾により筋原線維を調製して試料とした。なお冷凍保存したものは使用に際し一晩4°Cで解凍して試料の調製に使用した。

ATPase 活性の測定

筋原線維の Mg^{2+} -ATPase活性の測定はタンパク質濃度1 mg/ml, 50 mM NaCl, 20 mM Imidazole (pH7.0), 1 mM MgCl_2 , 1 mM ATPの反応混液中で行なった。測定温度は20°Cである。 Mg^{2+} -EGTA-ATPase活性は Mg^{2+} -ATPase活性測定と同条件下で1 mM EGTAを加えて測定した。EDTA-ATPase活性はタンパク質濃度1 mg/ml, 0.5 M KCl, 20 mM Imidazole (pH7.0), 10 mM EDTA, 1 mM ATPの反応混液を用いて測定された。遊離リン酸の定量はFiske-Subbarow¹¹⁾の方法で測定した。

SDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PGE)

SDS-PGEはWeber-Osbornの方法³²⁾にしたがって行なった。

超沈殿現象の測定

筋肉の収縮現象は試験管内でアクトミオシン系の Mg^{2+} -ATPによる凝集反応(超沈殿)としてとらえることが出来るので¹⁰⁾, Mg^{2+} -ATP存在でのアクトミオシン系の濁度の変化を測定すると系中の収縮タンパク質や調節タンパク質の変化は鋭敏に濁度変化に反映される。そこで超沈殿の測定は濁度法によって行なった。筋原線維を一度0.6 M KCl溶液に溶解した後に20 mM KCl, 20 mM Imidazole buffer (pH7.0), 1 mM MgCl_2 の条件下で最終濃度1 mMになるようにATPを添加し濁度の上昇を記録計を用いて660 nmで測定した。測定温度は20°Cである。

顕微鏡観察

筋原線維の形態はOlympus Model EH型位相差顕微鏡により観察した。

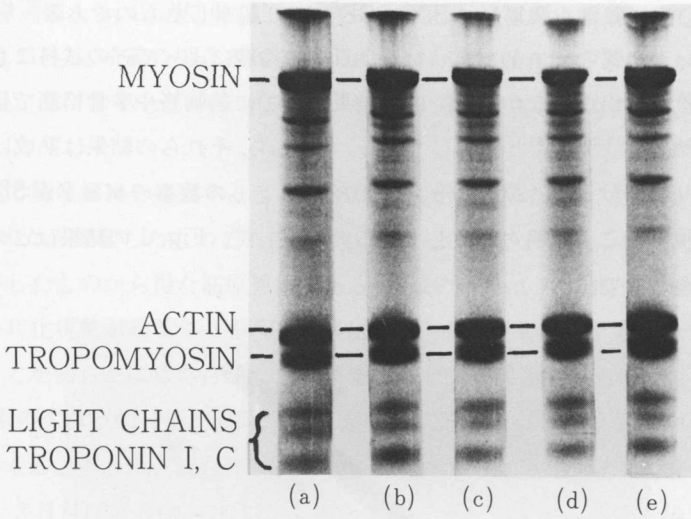


Fig. 1 SDS-PGE patterns of myofibrillar proteins prepared from porcine skeletal muscle stored at 4°C.

(a) 0 hr (b) 4 hrs (c) 24 hrs (d) 72 hrs (e) 168 hrs.

Samples of 50 μ g were applied to the 5% gels which were run at 8 mA per tube for 4.5 hr.

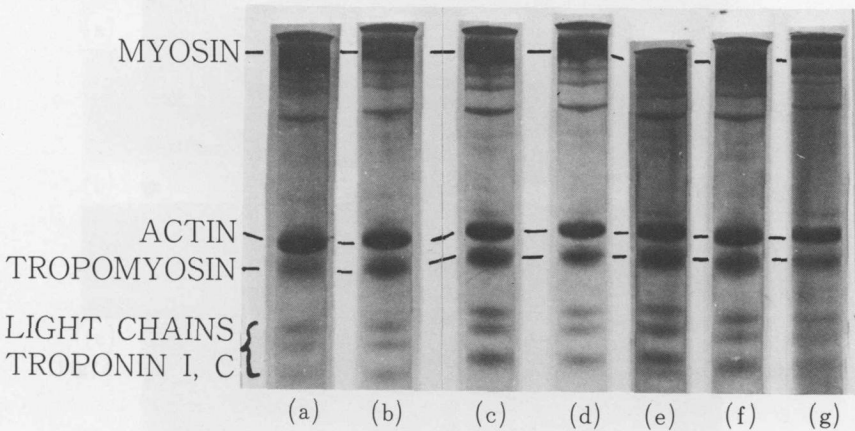


Fig. 2 SDS-PGE patterns of myofibrillar proteins prepared from porcine skeletal muscle stored at -20°C.

(a) 0, (b) 1, (c) 2, (d) 5, (e) 8, (f) 10 and (g) 12 weeks.

Samples of 50 μ g were applied to the 7.5% gels which were run at 8 mA per tube for 4.5 hr.

結 果

Fig. 1は豚の背最長筋を4°Cで7日間冷蔵し、死後、0、4、24、72、168時間後にそ

れぞれ取り出し筋原線維を調製して SDS-PGE により観察したものである。筋原線維を構成しているタンパク質のバンドパターンは7日間の冷蔵によってどの試料にも観察出来るような大きな差が見出されなかった。この結果はすでに鶏胸筋や牛骨格筋で見出されているいくつかの結果^{17,23,24,27,36}と矛盾している。すなわち、それらの結果は熟成につれてトロポミオシンより軽い分子量(27,000~30,000ダルトン)の数本のバンドが SDS-PGE ゲル上に明瞭に出現することを明らかにしているのに反して、Fig. 1の結果はこのようなバンドの出現がみられない。

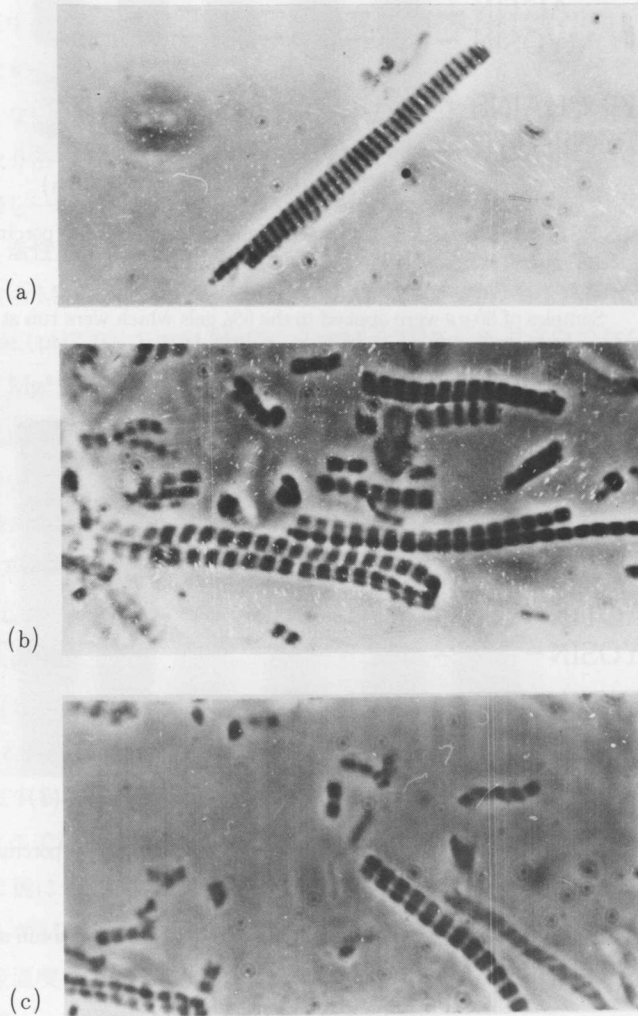


Fig. 3 Morphological changes of the myofibrils prepared from porcine skeletal muscle stored at 4°C.

(a) 4 hrs postmortem (b) 72 hrs postmortem (c) 168 hrs postmortem.

-20°Cで1週間から、12週間保存した肉から調製した筋原線維のSDS-PGEパターンがFig. 2に示してある。冷蔵の場合と同様にFig. 2から冷凍保存による変化がほとんど判定出来なかった。図には示していないが-20°Cで26週間保存したものでも同様の結果であった。

光学顕微鏡で筋原線維を観察するとFig. 3と4に示す通りである。Fig. 3は冷蔵4, 72, 168時間のものから調製したものである。Fig. 4は-20°Cで2, 3, 4, 13, 17, 26週間それぞれ保存したものから得た筋原線維である。冷蔵の場合は72時間でZ線が消失し筋節が弛緩して小片化現象が起きているのが観察出来る。168時間冷蔵するとさらに小片化が進んでいることが明らかに認められた。凍結条件下では4週間するとすでに筋原線維が弛緩し13週のものでは特にH帯が明瞭に観察出来、17週目のものではZ線が消失し小片化現象が起きてくることが示された(Fig. 4)。先に報告したように³⁶⁾鶏の場合は冷蔵1日ですでに50%、3日目には80%~90%が小片化することと比較すると豚の場合は鶏よりもゆっくりと小片化現象が起きているように観察された。

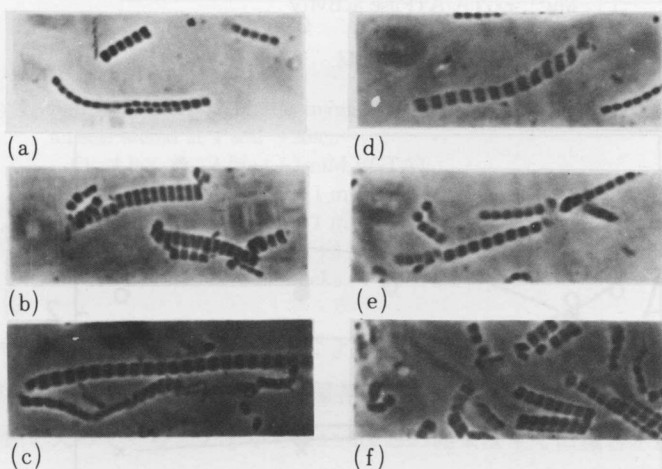


Fig. 4 Morphological changes of the myofibrils prepared from porcine skeletal muscle stored at -20°C.

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| (a) 2 weeks postmortem | (b) 3 weeks postmortem |
| (c) 4 weeks postmortem | (d) 13 weeks postmortem |
| (e) 17 weeks postmortem | (f) 26 weeks postmortem. |

Fig. 5は4°Cで貯蔵中の豚肉から調製した筋原線維のATPase活性の変化を表わしている。Mg²⁺-ATPase活性とMg²⁺EGTA-ATPase活性は冷蔵後72時間は大きな変化が見られないが、それ以後冷蔵時間の経過につれて上昇した。しかしながら、Ca²⁺-感受性は冷蔵時間につれて減少傾向を示した。EDTA-ATPase活性は168時間の冷蔵中にほとんど変化がなかった。

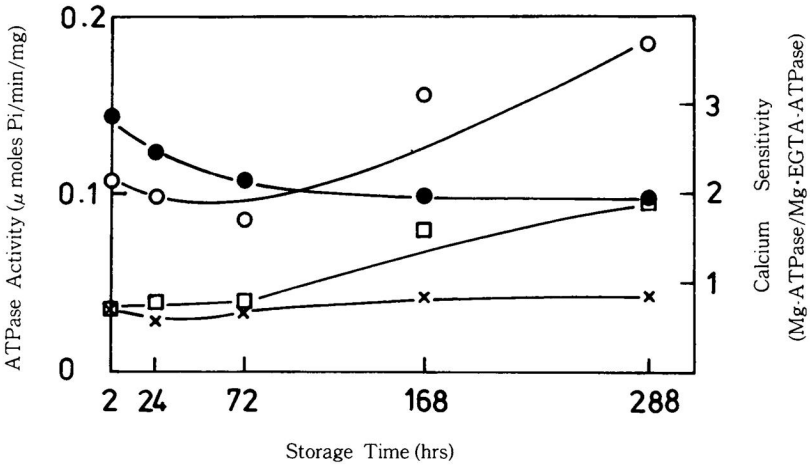


Fig. 5 Changes in myofibrillar ATPase activity prepared from porcine skeletal muscle stored at 4°C.

- : Mg²⁺-ATPase activity
- : Mg²⁺, EGTA-ATPase activity
- × : EDTA-ATPase activity
- : Calcium sensitivity

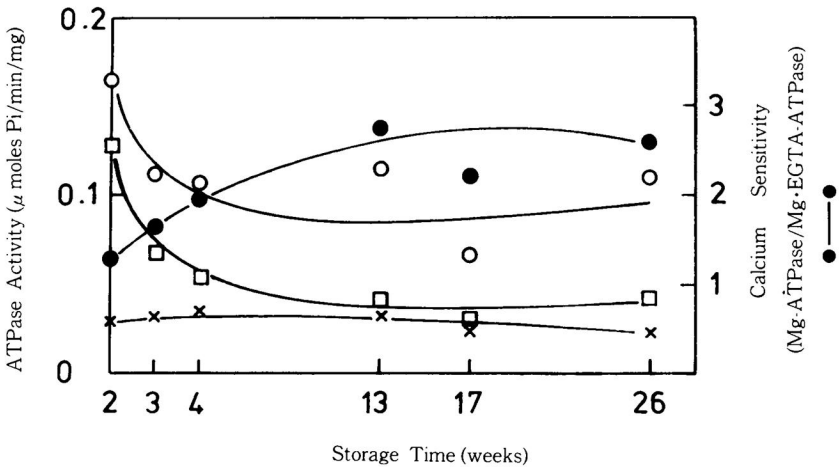


Fig. 6 Changes in myofibrillar ATPase activity prepared from porcine skeletal muscle stored at -20°C.

Symbols are the same as in Fig. 5.

Fig. 6は-20°Cで保存した肉から精製した筋原線維のATPase活性の変化とCa²⁺感受性の変化を示している。EDTA-ATPase活性は冷蔵の場合と同様に6ヶ月間の貯蔵中にはほとんど変化を示さなかったが、Mg²⁺-ATPase活性およびMg²⁺EGTA-ATPase活性は貯

蔵後2週間から約4~5週目にかけて次第に減少しその後6ヶ月迄はほとんど変化がなかった。冷凍貯蔵中の Ca^{2+} -感受性の変化は2週から4~5週目にかけて次第に上昇した後6ヶ月目まで変化がなかった。

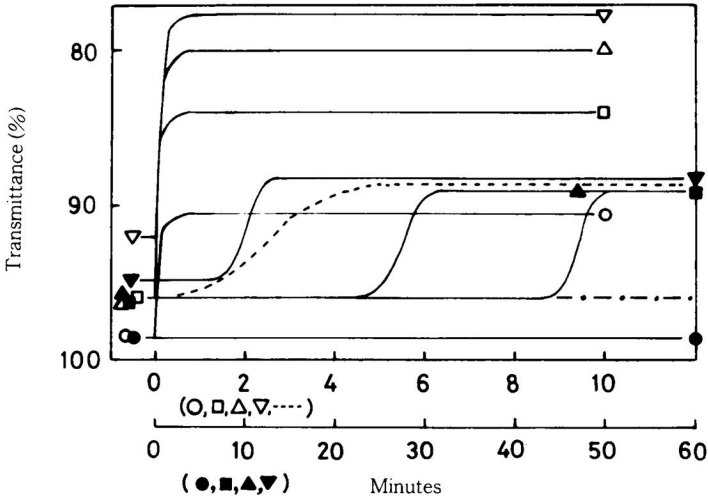


Fig. 7 Superprecipitation of the myofibrils prepared from porcine skeletal muscle stored at 4 and -20°C .

- : 4 hrs, ● : 4 hrs (+1 mM EGTA),
- : 24 hrs, ■ : 24 hrs (+1 mM EGTA)
- △ : 72 hrs, ▲ : 72 hrs (+1 mM EGTA)
- ▽ : 168 hrs, ▼ : 168 hrs (+1 mM EGTA)
- : 17 weeks, : 17 weeks (+1mM EGTA)

冷蔵および冷凍保存が筋原線維の ATP によって受ける濁度変化におよぼす影響を Fig. 7 に示した。結果は冷蔵条件下で7日間の保存中に筋原線維中のアクトミオシン系は徐々に Ca^{2+} -感受性を失ってくることを示している。この結果はすでに報告されているいくつかの結果^{1,2,34)}とよく一致する。冷凍条件下で17週間保存されたものでは Mg^{2+} -ATPによる濁度の上昇が冷蔵保存のものに比べて遅くミオシンのATPase活性が何らかの変化をうけていることが考えられる。しかしながら、EGTA・Mg・ATP存在下で濁度は変化せず、Ca感受性が保持されていることが判った。このことから、 -20°C 保存下では少なくとも17週間位はトロポニン分子の変化はほとんどないものと考えられる。

考 察

低温熟成した鶏筋肉から精製した筋原線維の構造タンパク質の変化がHayら¹⁷⁾によって見出された。その変化はSDS-PGEゲル上でトロポミオシンとミオシンのライトチェー

ンやトロポニン I および C 成分の間に分子量約 30,000 のバンドが出現することであった。その後山本ら^{35,36)}によって凍結保存中の鶏筋肉からも同様に 27,000, 30,000 成分が保存期間が長くなるにつれて出現することが示された。また Penny²³⁾ および Samejima と Wolfe²⁷⁾ もこの変化を確認している。しかしながら, Fig. 1 および 2 の結果は鶏^{17,27,36)} や牛²³⁾ での結果と異って 27,000~30,000 成分の出現を示していない。一方, Penny²⁴⁾ は最近の研究において Large White 種の豚を用いて分子量 30,000 成分の起源と考えられているトロポニン-T 成分の熟成中の変化を観察している。このような一見矛盾する実験事実が何故認められるかということの説明するのは困難であるが, その理由として動物の種類, 品種, 筋肉の採取部位, および屠殺や保存条件によって生ずる死後の筋肉の生化学的な変化 (pH の変化など) などによって筋肉中に含まれるタンパク質分解酵素やその阻害物質の分布や働きに差が生じる結果前述したような矛盾が生じるものと考えられる。この推論は CAF (Calcium Activated Sarcoplasmic Factor) を使用して実験した Olson ら²²⁾ の最近の研究によっても支持されるであろう。

さらに注目すべきことは, この実験条件下で SDS-PGE ゲル上でトロポニン分子に何の変化もなかったということである。しかしこのみかけ上の現象は以下の事実から否定的に考えなければならないであろう。すなわち ATPase 活性の測定結果 (Fig. 5) や濁度測定の結果 (Fig. 7) から冷蔵条件下では明らかに Ca^{2+} -感受性が失われている。このことは, 調節タンパク質中, 特にトロポニン分子の変化を明らかに示唆するものである。また冷蔵条件下で 12 日間保存した豚筋肉から調製したアクトミオシンの SDS-PGE ゲルパターンはトロポニン-T 成分にわずかな変化が起ることを示している (未発表のデータ)。トロポニンは筋原線維の thin filament 中でアクチンやトロポミオシンと結合し, 特にトロポニン-T 成分によってトロポニンとトロポミオシンが結合している。^{19,25)} このような事実から, 前述したトロポニン-T 成分の死後筋肉中での変化は熟成中の筋肉でアクチン-ミオシン間の相互関係に間接的に影響をおよぼすかもしれない。

冷蔵した肉から調製した筋原線維の Mg^{2+} -ATPase 活性は 3 日目以後に上昇傾向を示した (Fig. 5)。 Mg^{2+} -ATPase 活性はアクチン-ミオシン間の相互作用を反映していると考えられており, 最近のいくつかの報告は熟成につれてアクトミオシン^{1,12,18,20)} や筋原線維¹⁶⁾ の Mg^{2+} -ATPase 活性が上昇することを報告している。これに反してそれらの Mg^{2+} -ATPase 活性は死後何の変化もしないことを報告している研究者達もいる。^{27,34)} この違いはアクトミオシンに関してはおそらく, 動物の死後筋肉中のアクチン-ミオシン相互作用の変化により, 抽出されるアクトミオシンを構成しているアクチンとミオシンの割合が違ってくること¹⁶⁾ によって生ずるものと思われる。しかし筋原線維については適当な

説明を現在与えることはできない。また熟成によって筋原線維のZ線は崩壊し^{8,13,31)}Z線の主要構成成分と考えられている α -アクチニンが抽出され易くなり^{6,14,29)}、その結果 α -アクチニンがアクチオシンの Mg^{2+} -ATPase 活性を活性化する^{2,29)}と考えられた。この理由によって Fig. 5 に示されたように約 72 時間保存後から Mg^{2+} -ATPase 活性が増大の傾向を示したものと推察される。

一方、凍結肉から調製された筋原線維の ATPase 活性の変化は冷蔵肉のそれと大きな違いを示した (Fig. 6)。筋原線維の小片化現象は -20°C 保存のものは 4°C のものに比べて非常にゆっくりと進行する (Fig. 3 と 4 および文献 36) が、いずれの場合も小片化現象にともなう Z 線の消失が観察される。したがって、 -20°C 保存の筋肉から精製された筋原線維でも Z 線の崩壊にともなう α -アクチニンが抽出され、その結果、筋原線維の Mg^{2+} -ATPase 活性を活性化することが期待されるはずである。しかし -20°C で 26 週間迄の保存では Mg^{2+} -ATPase 活性は活性化されなかった。これは、 -20°C で保存した場合 26 週間位では小片化現象が鶏の場合 (80~90%)³⁶⁾ や 4°C 貯蔵の場合のように進んでいないために α -アクチニンが筋原線維の Mg^{2+} -ATPase を活性化するのに必要な程抽出されていないものと考えられる。この仮定が正しいかどうか更に検討の必要があり、同時に -20°C で保存した場合の Ca^{2+} 感受性が 2 週から 4~5 週目にかけて上昇すること (Fig. 6) も今後の課題として残された。

これ等の疑問にもかかわらず、 -20°C で 17 週間保存した筋肉から調製した筋原線維は Mg^{2+} -ATPase 活性が Control よりも低い値を示し (Fig. 6)、その結果に一致して ATP による濁度変化が Control のそれに比べて遅く発現するようになった (Fig. 7)。すなわちアクチン-ミオシン間の結合に凍結保存によって何らかの変化があることが認められるが、 Ca^{2+} 感受性 (Fig. 5, 6 および 7) から考察するとこの条件下では調節系のタンパク質に大きな変化は観察されなかった。

最後に、EDTA-ATPase 活性の測定結果は冷蔵および冷凍条件下でほとんど変化のないことを示している (Fig. 5 と 6)。EDTA-ATPase 活性の変化は筋原線維性タンパク質の変性を知るのに適当な手法であることが Yasui ら³⁷⁾ によって報告されている。すなわち EDTA-ATPase 活性はミオシンの活性部位もしくは近傍にある SH 基 (SH_1 および SH_2)^{4,26,28)} の状態を反映しているものと考えられている³⁷⁾。したがって、本実験条件下ではミオシン頭部の SH 基にはほとんど変化がなかったと結論できる。

要 約

豚の背最長筋筋原線維の性質が冷蔵 (4°C) および冷凍 (-20°C) 条件下で SDS-PAGE パ

ターン、光学顕微鏡観察、ATPase 活性の測定や超沈殿法などによって比較検討された。4°C で 72 時間保存された筋肉から得た筋原線維は Z 線の消失にともない小片化現象を起すことが観察された。一方、-20°C の貯蔵条件では 17 週目位から同様な現象がみられた。

SDS-PGE の結果は本実験条件下で筋原線維構成成分の顕著な変化を示さなかった。しかしながら、冷蔵保存の筋原線維の Mg^{2+} -ATPase 活性は冷凍条件下のそれと異っていた。すなわち、冷蔵条件では保存 3 日目頃から Mg^{2+} -ATPase 活性が増大したが、冷凍条件のものでは 2~5 週にかけて活性が減少しその後変化を示さなかった。また Ca^{2+} -感受性も 4°C 保存のものは徐々に減少するのに反して -20°C 保存のものでは 5 週目にかけて上昇しその後変化がなかった。超沈殿現象も ATPase 活性の結果と一致していた。すなわち、冷蔵条件下では調節系のタンパク質の変化が明瞭であったが冷凍条件下ではその変化が明らかではなかった。

謝 辞

本研究の終りに臨み、本論文の御校閲を賜った北海道大学農学部安井 勉教授に深謝する。また本研究は昭和 51 年度北海道科学研究費によって一部補助されたものである。

文 献

1. Arakawa, N., D.E.Goll and J.Temple, 1970 Molecular properties of postmortem muscle. 8. Effect of postmortem storage on α -actinin and the tropomyosin-troponin complex. *J.Food Sci.* **35** : 703-711.
2. Arakawa, N., D.E.Goll and J.Temple, 1970 Molecular properties of postmortem muscle. 9. Effect of temperature and pH on tropomyosin-troponin and purified α -actinin from rabbit muscle. *J.Food Sci.* **35** : 712-716.
3. Arakawa, N., S.Fujiki, C.Inagaki and M.Fujimaki, 1976 A catheptic protease active in ultimate pH of muscle. *Agr. Biol. Chem.* **40** : 1265-1267.
4. Bailin, G. and M.Barany, 1972 Thiolysis of dinitrophenylated myosin with restoration of adenosine triphosphatase activity. *J.Biol. Chem.* **247** : 7815-7821.
5. Bendal, J.R., 1973 Postmortem changes in muscle, in "The structure and function of muscle" (G.H.Bourne, ed.) pp. 244-309, Academic Press, New York and London.
6. Busch, W.A., M.H.Stromer, D.E.Goll and A.Suzuki, 1972 Ca^{2+} -specific removal of Z lines from rabbit skeletal muscle. *J.Cell Biol.* **52** : 367-381.
7. Davey, C.L. and K.V.Gilbert, 1969 Studies in meat tenderness. 7. Changes in the fine structure of meat during aging. *J.Food Sci.* **34** : 67-74.
8. Davey, C.L. and M.R.Dickson, 1970 Studies in meat tenderness. 8. Ultra-structural changes in meat during aging. *J.Food Sci.* **35** : 56-60.
9. Davies, R.E., 1963 A molecular theory of muscle contraction : Calcium-dependent contractions with hydrogen bond formation plus ATP-dependent extensions of part of the myosin-actin cross-bridges. *Nature* **199** : 1068-1074.
10. Ebashi, S., 1961 Calcium binding activity of vesicular relaxing factor. *J.Biochem.* **50** : 236-244.
11. Fiske, C.H. and Y.Subbarow, 1925 The colorimetric determination of phosphorus. *J.Biol. Chem.* **66** : 375-400.
12. Fujimaki, M., N.Arakawa, A. Okitani and O.Takagi, 1965 The changes of "myosin B" (actomyosin) during storage of rabbit muscle. 2. The dissociation of "myosin B" into myosin A and actin, and its interaction with ATP. *J.Food Sci.* **30** : 937-943.
13. Fukazawa, T. and T.Yasui, 1967 The changes in zigzag configuration of the Z-line of myofibrils. *Biochim. Biophys. Acta* **140** : 534-537.
14. Fukazawa, T., H.Nakai, S.Ohki and T.Yasui, 1970 Some properties of myofibrillar proteins obtained from low ionic strength extracts of washed myofibrils from pre- and post-rigor chicken pectoral muscle. *J.Food Sci.* **35** : 464-468.
15. Goll, D.E., N.Arakawa, M.H.Stromer, W.A.Busch and R.M.Robson, 1970 Chemistry of muscle proteins as a Food, in "Physiology and biochemistry of muscle as a food" (E.J.Briskey *et al.*, ed). 755-800, Univ. of Wisconsin Press.
16. Goll, D.E., M.H.Stromer, D.G.Olson, W.R.Dayton, A.Suzuki and R.M.Robson, 1974 The role of myofibrillar proteins in meat tenderness. Meat industry research conference. Chicago, 75-97.
17. Hay, J.D., R.W.Currie and F.H.Wolfe, 1973 Polyacrylamide disk gel electrophoresis of fresh and aged chicken muscle proteins in sodium dodecyl sulfate. *J.Food Sci.* **38** : 987-990.
18. Herring, H.K., R.G.Cassens, G.G.Suess, V.H.Brungardt and E.J.Briskey, 1967 Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscle. *J.Food Sci.* **32** : 317-323.
19. Hitchcock, S.E., 1975 Regulation of muscle contraction: Binding of troponin and its components to actin and tropomyosin. *Eur.J.Biochem.* **52** : 255-263.

20. Jones, J.M., 1972 Studies on chicken actomyosin. 1. Effect of storage on muscle enzymic and physico-chemical properties. *J.Sci.Fd.Agr.* **23** : 1009-1019.
21. Okitani, A., Y.Ohtsuka, M.Sugitani and M.Fujimaki, 1974 Some properties of neutral proteolytic system in rabbit skeletal muscle. *Agr.Biol. Chem.* **38** : 573-579.
22. Olson, D.G., F.C.Parrish Jr, W.R.Dayton and D.E.Goll, 1977 Effect of postmortem storage and calcium activated factor on the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J.Food Sci.* **42** : 117-124.
23. Penny, I.F., 1974 The action of a muscle proteinase on the myofibrillar proteins of bovine muscle. *J. Sci Fd. Agr.* **25** : 1273-1284.
24. Penny, I.F., 1976 The effect of conditioning on the myofibrillar proteins of pork muscle. *J.Sci Fd. Agr.* **27** : 1147-1155.
25. Potter, J.D. and J.Gergely, 1974 Troponin, tropomyosin, and actin interactions in the Ca^{2+} regulation of muscle contraction. *Biochemistry* **13** : 2697-2703.
26. Reisler, E., M.Burke and W.F.Harrington, 1974 Cooperative role of two sulfhydryl groups in myosin adenosine triphosphatase. *Biochemistry* **13** : 2014-2022.
27. Samejima, K. and F.H.Wolfe, 1976 Degradation of myofibrillar protein components during post-mortem aging of chicken muscle. *J.Food Sci.* **41** : 250-254.
28. Sekine, T. and W.W.Kielly, 1964 The enzymic properties of N-ethylmaleimide modified myosin. *Biochim. Biophys. Acta* **81** : 336-345.
29. Suzuki, A., D.E.Goll, M.H.Stromer, I.Singh and J.Temple, 1973 α -actinin from red and white porcine muscle. *Biochim. Biophys. Acta* **295** : 188-207.
30. Suzuki, A., Y.Nonami and D.E.Goll, 1975 Proteins released from myofibrils by CASF (Ca^{2+} -activated sarcoplasmic factor) and trypsin. *Agr. Biol. Chem.* **39** : 1461-1467.
31. Takahashi, K., T.Fukazawa and T.Yasui, 1967 Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. *J.Food Sci.* **32** : 409-413.
32. Weber, K. and M.Osborn, 1969 The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J.Biol. Chem.* **244** : 4406-4412.
33. White, D.C.S., 1970 Rigor contraction and the effect of various phosphate compounds on glycerinated insect flight muscle. *J.Physiol.* **208** : 583-605.
34. Wolfe F.H. and K.Samejima, 1976 Further studies of post-mortem aging effects on chicken actomyosin. *J.Food Sci.* **41** : 244-249.
35. 山本克博, 細川敏治, 鯨島邦彦, 1974 凍結貯蔵が鶏胸筋筋原線維に及ぼす影響. *酪農大紀要* **5** : 111-118
36. Yamamoto, K., K.Samejima and T.Yasui, 1977 A comparative study of the changes in hen pectoral muscle during storage at 4°C and -20°C. *J.Food Sci.* (in press).
37. Yasui, T., T.Sumita and S.Tsunogae, 1975 Stability of myofibrillar EDTA-ATPase in rabbit psoas fiber bundles. *J.Agric. Food Chem.* **23** : 1163-1168.

Summary

Properties of myofibrils prepared from porcine back muscle during unfrozen (4°C) and frozen (−20°C) storage, were compared by means of SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PGE), observations on phase contrast microscopy, measurement of ATPase activity and turbidimetric tests for superprecipitation. Myofibrillar fragmentation was found to occur with concomitant degradation of Z-lines after 72 hrs of storage at 4°C. A similar phenomenon was observed in the frozen muscle samples after 17 weeks of storage.

The results of SDS-PGE demonstrated that the myofibrils prepared from the muscle stored either unfrozen or frozen underwent no change in their band patterns during the entire storage period. However, the changes in Mg²⁺-modified ATPase activity of myofibrils prepared from unfrozen muscle samples indicated an apparent incongruity with that of the frozen muscle myofibrils, i.e., Mg²⁺-modified ATPase activities of myofibrils increased from the 3rd day of storage at 4°C, but that of the myofibrils obtained from the muscle stored frozen decreased by the 5th week. Ca²⁺-sensitivity of myofibrils decreased with the time of storage at 4°C. In contrast, Ca²⁺-sensitivity of myofibrils prepared from frozen muscle increased by the 5th week. The results of the experiments on the superprecipitation coincided with the results obtained from the measurements of ATPase activity. It was confirmed that unfrozen storage of pork muscle gave rise to changes in the regulatory proteins, but similar changes were not seen in the muscle samples stored frozen at −20°C.

On the basis of these results, changes in the properties of pork muscle during low temperature storage were discussed.