

なったと言える。円柱プランジャーでの測定は硬くなる硬化現象を、ピアノ線による剪断は食したときのもろい歯ごたえを示すものと思われる。豊原ら⁵⁶⁾、岡ら⁵⁷⁾は硬直現象と肉質の硬さの変化は異なると指摘しており、貝柱の硬化現象すなわち筋収縮と破断強度および官能的な歯ごたえは一致せず、むしろ筋肉レベルでは脆弱化していることが考えられる。畑江ら⁵⁸⁾は筋肉のほぐれやすさが物性に参与していると報告し、Andoら^{59,60)}は主にコラーゲンからなる細胞外マトリックスの強度が物性に参与していると報告しており、ともに組織構造の脆弱化について強調している。生鮮貝柱は、食した際に繊維感が強く感じられるが、硬化した貝柱では繊維感がなくなっており、脆弱化の要因は組織構造の物理的な損傷が大きく影響していた可能性もある。一方、フゲ⁶¹⁾では死後硬直後も破断強度の低下が認められず、また、冷蔵中のニジマス筋肉の軟化についてはV型コラーゲンの溶解性を要因とする報告⁶²⁾もある。硬化現象による歯ごたえの低下が細胞外マトリックス構造の脆弱化が要因であるとすれば、組織学的なアプローチとコラーゲン量の差や内因性の酵素の影響について検討する必要がある。

魚肉のATP分解の生化学的研究において、K値⁶³⁾が提唱されてから約半世紀が過ぎ、その間カラム法⁶⁴⁾に代わってより迅速なHPLCによる分析法^{27,65)}が確立され、さらには魚肉の鮮度判定にK値を使用したバイオセンサーの開発⁶⁶⁾なども行われた。鮮度指標として用いられているK値は、一般的には細菌の繁殖によるHxRやHxの増加で上昇しており低温ほど緩慢に上昇する⁶⁷⁾と考えられているが、イタヤガイ閉殻筋³¹⁾の貯蔵初期では-3℃および0℃区よりも5℃および10℃区の方が緩慢なことが報告されている。ホタテガイについても同様の傾向が認められ、Fig. 15, 19に示したように-3℃では0℃や5℃に比べてAMPよりもHxRの蓄積が著しく、さらに硬化した貝柱では顕著にHxRが増加していた。このため、HxRの急増は、細菌の繁殖によるものではなく、ATPの急激な減少が影響していると考えられる。貝柱の硬化は、ATPの分解に伴う激しい筋収縮が主因と思われるが、その際に貝柱が黒ずむことから細胞死を引き起こしていた可能性がある。pHが6.5以下になると硬化の発生頻度が高くなっており、この付近から貝柱筋肉の細胞死が顕著になり、その細胞死が呼吸によるATP生産を停止し、AMP以降の分解が加速された可能性が考えられる。

一般に魚類では漁獲時にすぐ死ぬものや、しばらく生きていたものなどがあり、漁獲時の状態やしめる方法などによってその後の品質低下が大きく異なることが知ら

れている⁶⁸⁻⁷⁰⁾。ホタテガイは殻付きの状態でも低温に保管すれば2~3日生きています。しかし、貝が弱った状態では貝柱のATPが減少している可能性があり、脱殻後の貝柱の細胞死が速まり、結果的に硬化の発生を速めると考えられる。生鮮貝柱を製造する際には、水揚げ当日または低温保管1日目までのホタテガイを使用することが望ましいと思われる。貯蔵温度によるK値の変化は、Kawashimaら⁵⁴⁾の報告と同様であり、Fig. 16に示したように低温ほど上昇が速かった。このため、一般的な鮮度指標としてのK値では、ホタテガイ貝柱に対しては適さない。また、他の貝類⁷¹⁾や甲殻類⁷²⁾でもK値が鮮度指標として適さないことが明らかとなっているが貝類の鮮度保持にはA.E.C.値^{*3)}が有用との報告⁷³⁻⁷⁵⁾もある。A.E.C.値については60%以下になると硬化の頻度が高くなる傾向が認められたが、30%でも硬化していない貝柱もあり、本研究ではバラツキが大きく指標として適していなかった。一方、pHやK値はFig. 21に示したように貝柱の硬化との関連があり、即ちK値が約20%以上、pHが約6.5以下になると貝柱に硬化が発生することが観察され、品質低下の指標として適していることが示唆された。また、Fig. 11に示したように、-3℃貯蔵の場合には硬化の発生が最も速いことから、生鮮貝柱の貯蔵温度としては不適切であることが明らかとなった。

2.2 生鮮貝柱の硬化に与える洗浄の影響

ホタテガイ生鮮貝柱製品は、細菌汚染の少ないもの砂の混入がないもの、さらには貝柱の硬化が少ないものほど品質が良いとされ、価格も高いのが流通の現状である。このため、貝柱を衛生的に洗浄処理するとともに流通中の硬化の発生を抑制する技術の開発が急がれている。

オホーツク海におけるホタテガイの生産は大部分が地まき放流により行われているため、水揚げされたホタテガイ殻内には砂が混入している。このようなホタテガイから生鮮貝柱を製造する際に殺菌海水や殺菌水の使用による貝柱の洗浄は不可欠となっている。貝柱の洗浄は砂の除去と除菌を目的として行われるが、洗浄条件がその後の貯蔵中における貝柱の硬化に与える影響を検討する必要がある。近年、コイ⁷⁶⁾、クルマエビ⁷⁷⁾、カニ⁷⁸⁾、スズキ⁷⁹⁾において“あらい”に関する詳細な研究が行われたが、洗浄した後、貯蔵した場合の品質変化について調べた研究はほとんどない。

ここでは、実際の加工工程での洗浄を想定し、生鮮貝柱の適切な洗浄条件の把握や硬化発生との関係について検討した。

*3 Adenryate Energy Charge (%) = $0.5 \times (2 \times \text{ATP} + \text{ADP}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}) \times 100$

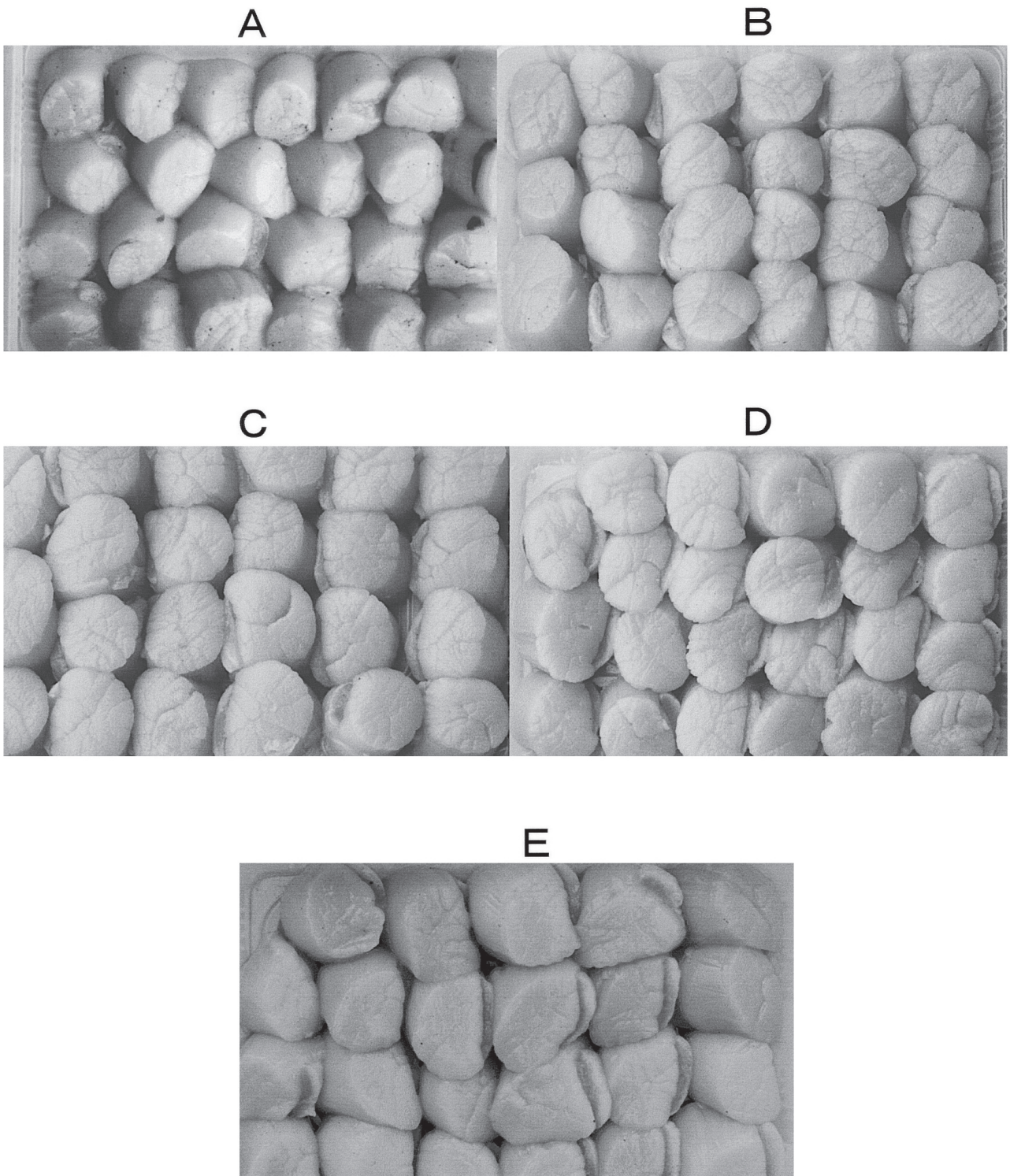


Fig. 22 Effects of different washing methods of adductor muscle after washing.
A: without washing, B: 5 min washing in distilled water, C: 10min washing in distilled water,
D: 20min washing in distilled water, E: 20min washing in artificial sea water.

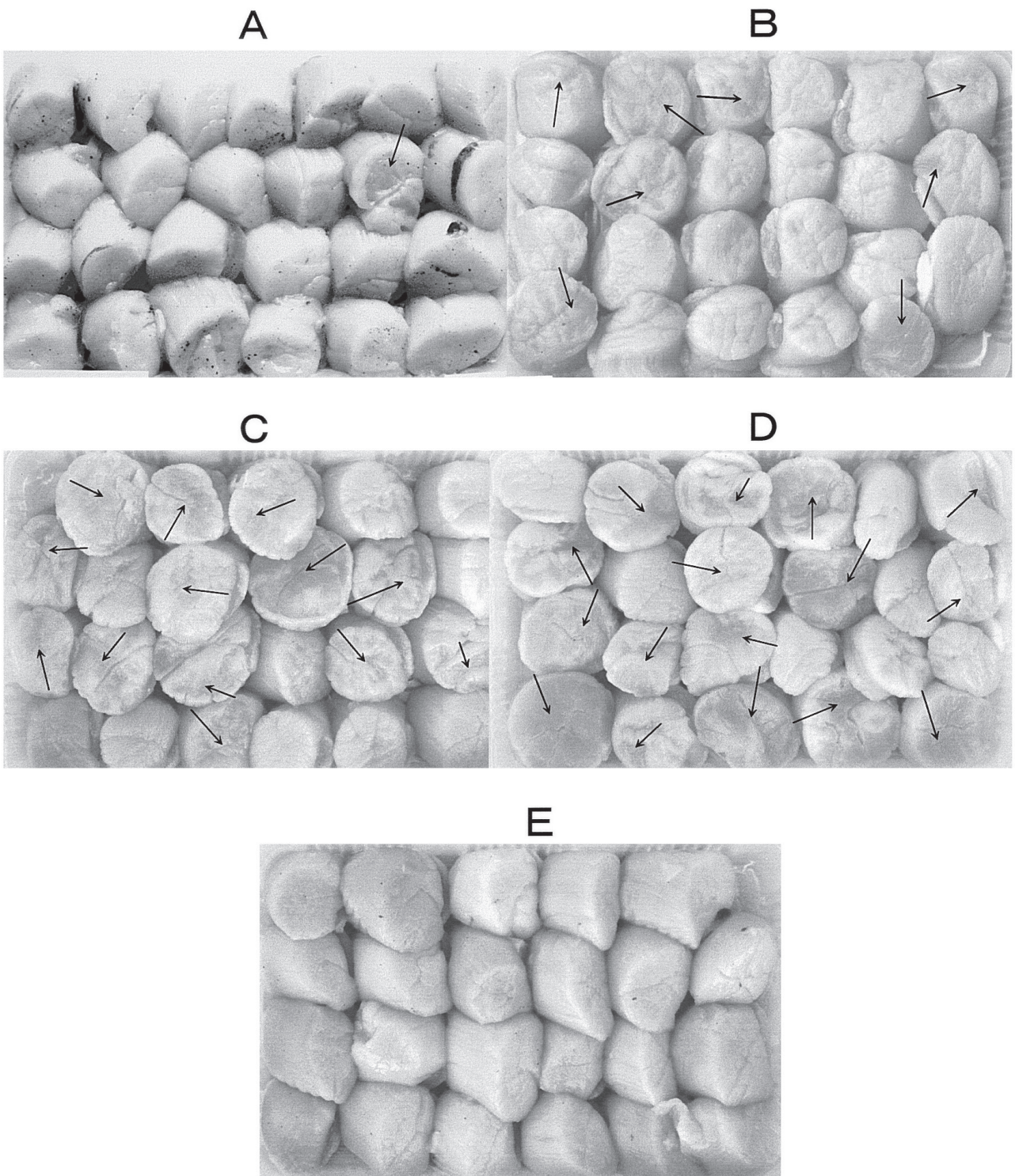


Fig. 23 Effects of different washing methods on the rigor of adductor muscle after one day at 0 °C. Arrows indicate the rigor of adductor muscle. A,B,C,D,E: same procedures as shown in Fig. 22.

実験方法

試料 1996年9月に北海道網走支庁管内紋別漁場で水揚げされた地まき放流ホタテガイ（平均殻高118.2mm）から、貝柱（平均重量23.6g）を採取し試験に供した。貝柱の洗浄は条件を一定にするため、貝柱各50個をその重量に対して5倍量の15℃とした蒸留水および人工海水（テトラマリンソルト、テトラベルケ社製、1000ml中Na⁺ 9.48g, Ma²⁺1.01g, K⁺0.38g, Ca²⁺0.33g, pH8.3）で5, 10および20分間洗浄した。その後、貝柱をポリエチレン容器に入れ、0℃に調整したインキュベーターに貯蔵した。なお、対照として無洗浄の貝柱を同様に貯蔵した。

硬化発生率の測定 各洗浄条件で調製した貝柱25個について、2.1と同様に算出した。

破断強度の測定 各洗浄条件毎に毎日5個ずつ取り出し、2.1と同様に測定した。

pHの測定 2.1と同様に測定した。

筋繊維の長さ及び収縮率の測定 貝柱を水平な板の上に置き、ノギスにより筋繊維の長さを測定し、貯蔵後の長さの変化から収縮率を求めた。

有意差検定 有意差検定は2.1と同様に行った。

結果

貝柱の硬化発生率と物性等に及ぼす洗浄の影響

Fig. 22に洗浄直後の貝柱の状態を示した。洗浄直後の貝柱は、人工海水洗浄区では外観上貝柱表面にはほとんど変化が見られなかったが、蒸留水洗浄区では貝柱表面にしわが多く観察された。また、対照の無洗浄の貝柱には漁獲時に混入した砂の付着が認められた。図示はしていないが、洗浄による貝柱の重量は、人工海水洗浄ではほとんど変化がなかったが、蒸留水による場合では、5分間洗浄で約4%、10分間洗浄で約6%、20分間洗浄で約9%増加した。

貯蔵1日後の各試験区での硬化の発生状況をFig. 23に示した。貯蔵0日目と比較して、対照区および人工海水洗浄区では外観的に変化は認められなかった。一方、蒸留水洗浄区では5分間洗浄で貝柱表面のしわの溝が深くなり、一部の貝柱は硬化していた。10分および20分間洗浄では5分に比べて貝柱表面積が大きくなる特徴を示し、5~7割の貝柱が硬化していることが観察された。

貯蔵中の各試験区での硬化発生率をFig. 24に示した。硬化発生率は、蒸留水洗浄区では貯蔵2日目で100%、

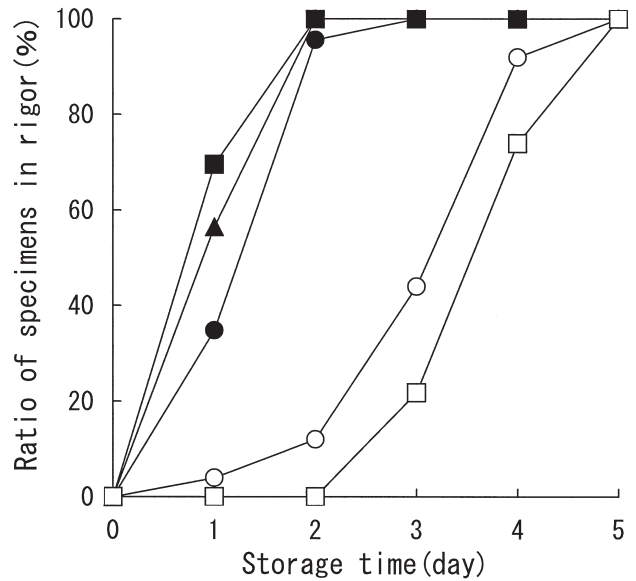


Fig.24 Changes in the ratio of specimens in during storage at 0℃. ○ : without washing, ● : 5 min washing in distilled water, ▲ : 10min washing in distilled water, ■ : 20min washing in distilled water, □ : 20min washing in artificial sea water.

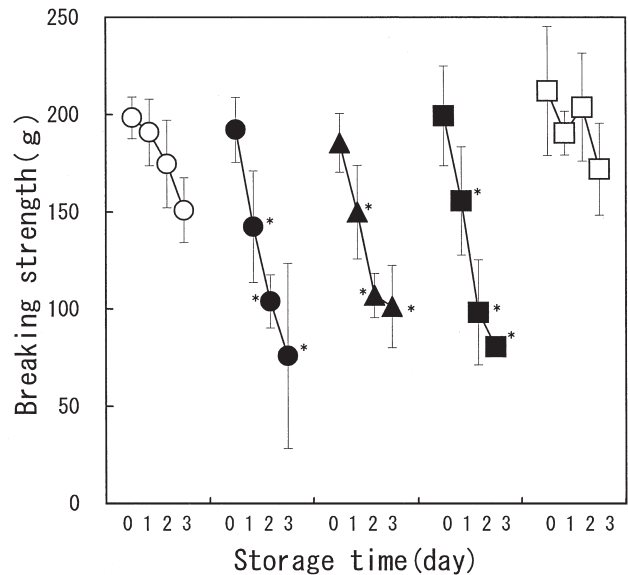


Fig.25 Changes in breaking strength during storage at 0℃. Each value represents the mean±S.D. of five samples. ○, ●, ▲, ■, □ : same procedures as shown in Fig. 24. *Significantly different from data without washing at the same day, p<0.05.

対照区および人工海水洗浄区では5日目まで100%に達した。なお、蒸留水で洗浄した貝柱の貯蔵1日目では、洗浄時間が長いほど硬化発生率は高かった。

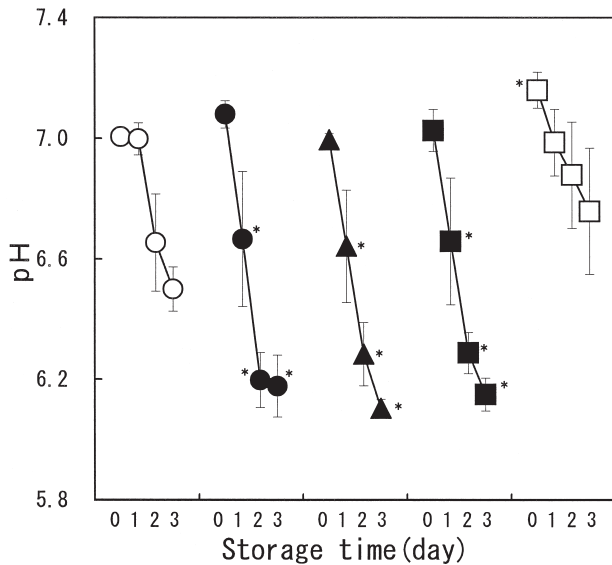


Fig. 26 Changes in pH values during storage at 0 °C. Each value represents the mean ± S.D. of five samples. ○, ●, ▲, ■, □ : same procedures as shown in Fig. 24. *Significantly different from data without washing at the same day, $p < 0.05$.

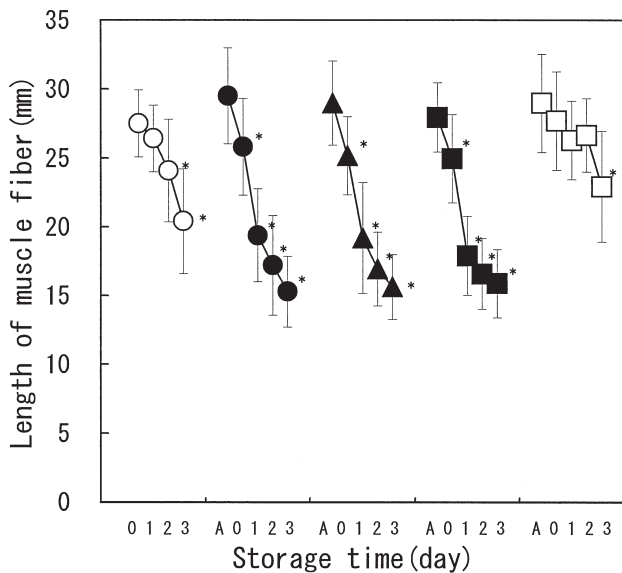


Fig. 27 Changes in the length of muscle fiber during storage at 0 °C. A means before washing. Each value represents the mean ± S.D. of five samples. ○, ●, ▲, ■, □ : same procedures as shown in Fig. 24. *Significantly different from data 0 day or before washing, $p < 0.05$.

貝柱の破断強度の変化をFig. 25に示した。破断強度は、0日目に約200gであり、貯蔵中全ての試験区で低下する傾向が認められ、特に蒸留水洗浄区は対照区および人工海水洗浄区に比べて著しく低下した。また、対照区と比較した場合、人工海水洗浄区の差は認められなかったが、蒸留水洗浄区では洗浄時間に関係なく貯蔵1日目以降有意に低い値を示した。

貝柱のpHの変化をFig. 26に示した。pHは0日目に約7.0であり、貯蔵中全ての試験区で低下し、その傾向は破断強度とはほぼ同様であった。貯蔵中、蒸留水洗浄区は対照区および人工海水洗浄区に比べてpHの低下が著しく、貯蔵3日目で約pH6.2まで低下した。また、対照区と比較した場合、蒸留水洗浄区では洗浄時間に関係なく貯蔵1日目以降有意に低い値を示した。人工海水洗浄区では0日目に対照区と差が認められたが、これは人工海水のpHの影響を受けたと思われる。

貝柱の筋繊維長の変化をFig. 27に示した。筋繊維の長さは、対照区では0日目と比較した場合2日目以降に、人工海水洗浄区では洗浄前と比較した場合3日目で有意に短くなった。一方、蒸留水洗浄区では洗浄前と比較して、筋繊維の長さが洗浄直後から有意に短くなり、貯蔵1日目で急激に収縮した。貯蔵3日目では洗浄前に約30mmあった筋繊維の長さが、約半分近くまで短くなった。このように貯蔵中に筋繊維が収縮するため、その割合を求め、これをFig. 28に示した。筋繊維の収縮率は、1日目で0~15%、2日目で0~40%とバラツキが大きくなり、5日目で18~52%となった。また、貯蔵中の収縮率

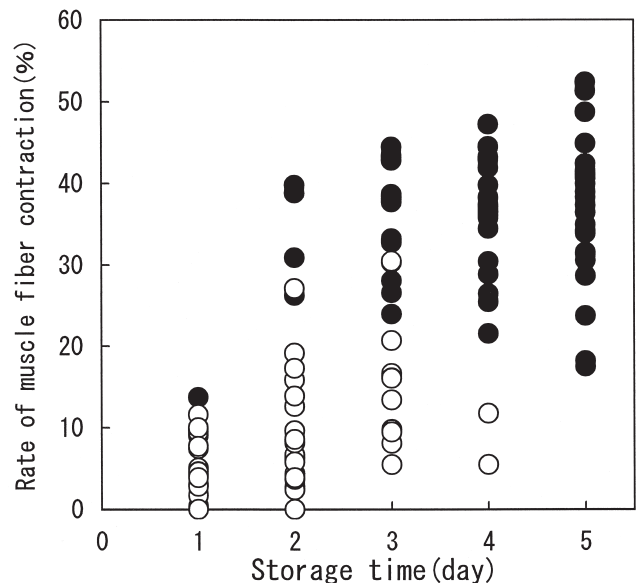


Fig. 28 Changes in the rate of muscle fiber contraction. ○ : pre-rigor, ● : rigor.

が25%を越えた場合、硬化の発生頻度が高くなった。

貝柱のATP関連化合物およびK値の変化をFig. 29, 30に示した。対照区において、ATPは1日目にはほとんど変化がなかったが、2日目以降減少し、3日目でその割合が約40%となった。一方、蒸留水洗浄区では10分および20

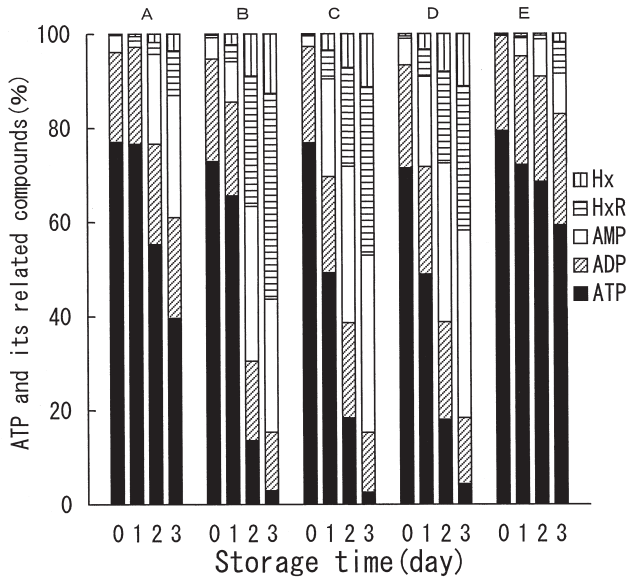


Fig.29 Changes in percentage distribution of ATP and its related compounds during storage at 0 °C. A, B, C, D, E: same procedures as shown in Fig. 22.

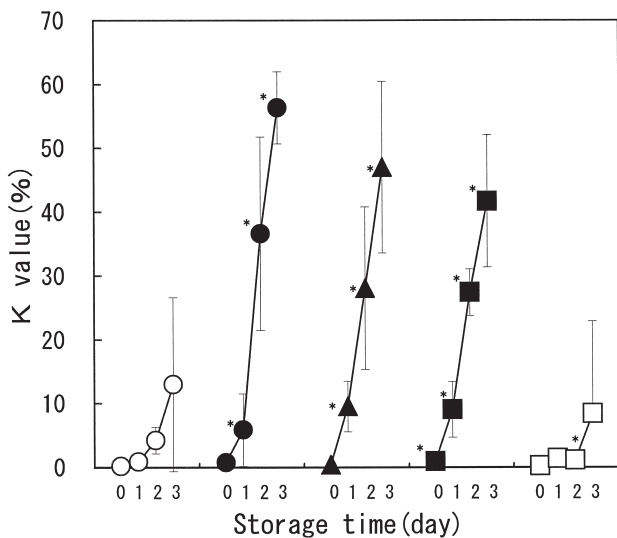


Fig.30 Changes in K values during storage at 0 °C. Each value represents the mean±S.D. of five samples. ○, ●, ▲, ■, □ : same procedures as shown in Fig. 24. *Significantly different from data without washing at the same day, p<0.05.

分間洗浄で貯蔵1日目からATPの減少が大きく、2日目には5分間洗浄においてもATPが急激に減少し、それに伴ってAMPやHxRの著しい上昇が認められた。また、人工海水洗浄区では3日目でもATPの割合が50%以上あり、ATPの減少が最も緩慢であった。K値は、対照および人工海水洗浄区では貯蔵中緩慢に上昇し3日目それぞれ15%、10%と低い値であった。一方、蒸留水洗浄区のK値は、1日目で約10%、2日目には30~40%まで急激に上昇した。対照区と比較した場合、人工海水洗浄区では貯蔵2日目に有意に低い値を示し、逆に蒸留水5分間および20分間洗浄では洗浄直後、10分間洗浄では貯蔵1日目以降有意に高い値を示した。生鮮貝柱の洗浄工程で5分間程度の短時間でも蒸留水により貝柱の洗浄を行うことは、貯蔵中のpHやATPの急激な減少、K値の上昇が認められ、さらに硬化の発生による品質低下が速まる結果となった。

考 察

本研究で注目したホタテガイ貝柱の洗浄処理はあらいの処理と同様の効果を示す可能性がある。野口ら⁸⁰⁻⁸⁴⁾はあらいについての一連の研究のなかで、あらい処理による筋肉の硬直は筋肉中のATPの急激な流出が原因であると述べている。しかし、ホタテガイの場合、Fig. 23, 29に示したように蒸留水洗浄直後ではなく貯蔵中にATPの急激な減少が起こり、それに伴い硬化の発生が認められた。このことから、硬化発生は野口らのあらいの要因とされるATP流出によるものではないと考えられる。また、あらいの場合、筋肉の吸水によって筋肉1g当たりのATP量が減少したことも考えられるため、ATPの流出よりも細胞内に侵入した水の影響のほうが大きいと考えられる。0 °Cまたは49 °Cで処理したコイあらいの研究⁸⁵⁾では、対照に比べて両処理区でATPおよびクレアチンリン酸の減少が認められた。49 °C処理でのあらいは、Ca²⁺非存在下での筋原線維Ma²⁺-ATPase活性の高まりが要因としている。高温処理によるあらいについては、筋小胞体からCa²⁺の漏れが加速される報告⁸⁶⁾や筋肉の熱拘縮を要因とする報告⁸⁷⁾がある。本試験においては洗浄温度を15 °Cとしており、これらの影響はないと考えられる。一方、ホタテガイ貝柱を水浸漬処理した場合には、細胞内への水の浸入がありイオンバランスが崩れること等により、特異的な生化学的反応が起きたものと推定される。細胞を低浸透圧処理した場合、Ca²⁺はリアノジン受容体等を介してではなく、受動的リーク経路を通して直接漏出する⁸⁸⁾ことが報告されている。現時点では推測でしかないが、蒸留水で洗浄したホタテガイ貝柱では、上記し

たように細胞内への水の侵入によって筋小胞体等からの Ca^{2+} が多量に漏出したことが硬化発生の一要因であるとも考えられる。さらに低温貯蔵によって筋小胞体への Ca^{2+} 取り込み能低下が起り、結果的に貯蔵中に硬化の発生が速まった可能性が高い。

硬化した貝柱は肉眼で黒ずみが観察された。詳細については不明であるが、これはFig. 25に示した破断強度の低下から予想されるように、細胞内の組織構造の激しい変化や細胞死によって光の乱反射が通常と異なったためとも思われる。破断強度は前節の結果より蒸留水洗浄した貝柱の貯蔵中の低下が著しく、100 gを下回る値を示した。筋肉への水の浸入が、貯蔵中の硬化発生を速めるだけではなく、物性にも影響していたと考えられる。

本研究においては、海水とほぼ同じ塩分濃度の人工海水を使用した。海水よりも高い塩分濃度に調整した各塩類で貝柱を洗浄しこれを0℃に貯蔵した場合、NaClや MgCl_2 溶液による洗浄では、ATPの減少が無洗浄に比べて遅延した⁸⁹⁾。また、即殺前の活魚に高張生理食塩水を投与すると、即殺後の低温貯蔵中に非投与区よりATPの減少が遅延することが報告されている⁹⁰⁾。さらに、この報告では、高張生理食塩水投与により筋肉中の解糖系の反応を促進させATPの再生能力が高まったためと考察している。貝柱の場合、この様な洗浄においては、蒸留水洗浄の場合とは逆に貝柱中の水分が脱水されることから、細胞内の水分が細胞外へ出過ぎないように筋肉を弛緩させる方向に進むことが予想される。このため、高塩濃度洗浄は、ATPの再生能力を高めることよりも、筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能を活発化し筋原線維内の Ca^{2+} 濃度が低くなり、ATPの減少を抑制するものと考えられる。生鮮貝柱への高塩濃度洗浄による品質保持に関する試験は今後の課題である。

以上の結果から、貝柱の真水による洗浄は貯蔵中の硬化の発生が速まるため不適切であり、殺菌海水や殺菌食塩水による洗浄が望ましいことが明らかとなった。現在、貝柱製品の製造に使用する海水や地下水については、紫外線、オゾンおよび塩素を使用し殺菌を行っている。塩素による殺菌は、最も簡単であり多くの工場で使用されているため、貝柱の最終洗浄工程で水道水を使用し臭いを除去する工場が多くあり、これが硬化発生による品質劣化を速めている。また、紫外線はそれが当たらない部分の殺菌が不十分となる場合があり、オゾンは長靴などゴム製品の劣化を速めるなど、人体への影響も懸念される。このため、今後は、濾過滅菌海水による洗浄効率やホタテガイの蓄養による砂の除去効率について検討する必要がある。

2.3 生鮮貝柱の硬化発現の季節変化

前章で述べたように、ホタテガイは、漁獲場所や時期によって貝柱の水分、タンパク質およびグリコーゲン量の変動が大きく異なる。しかし、貝柱成分の変化に対応する加工技術や流通技術はまだ確立されていない現状にある。ホタテガイの水揚げ時期と貝柱貯蔵中の品質変化を明らかにし、生鮮貝柱流通に適した時期を把握する必要がある。この節では、ホタテガイの水揚げ時期と低温貯蔵中における貝柱の生化学的変化や硬化発生との関係について検討した。

実験方法

試料 1997年(B海区)6,9,11月および1998年(C海区)4月に北海道網走支庁管内紋別漁場(水深40m定点)で水揚げされた地まき放流4年ホタテガイ(平均殻高6月116mm,9月116mm,11月109mm,4月106mm)から、貝柱(平均重量6月19.4g,9月24.6g,11月21.6g,4月11.8g)を採取し試験に供した。供試貝柱60個体をスチロール樹脂容器に入れ、0℃に調整したインキュベーターに貯蔵し、以下の各測定項目について経時的に調べた。

硬化発生率の測定 貝柱30個について、2.1と同様に算出した。

pHの測定 2.1と同様に測定した。

ATP関連化合物の測定 各試料は2.1と同様にサンプリングを行い、前章と同様に測定した。

L-アルギニンとオクトピンの定量 前章と同様に測定した。

水分とグリコーゲンの定量 1997年3月から1998年4月まで月2回紋別沖定点(水深40m)のホタテガイを使用した。このホタテガイから貝柱を取り出し、平滑筋を取り除いた貝柱10個体をサンプルミル(ナイフテック社製)で磨砕後、105℃乾燥機に入れ恒量になった時点で水分量を算出した。また、グリコーゲンは、この磨砕試料を用い前章と同様に分析した。

海水温度測定 海水温度は、グリコーゲン測定用ホタテガイのサンプリング時に、メモリー式STD(アレック社製)により水深40m地点を測定した。