

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。

有意差検定 有意差検定は2.1と同様に行った。

結 果

硬化発生率の変化 0℃貯蔵3日目における貝柱の硬

化発生状況をFig.31に示した。6月区では23%，9月区では60%，11月区では37%が硬化したが，4月区ではまだ硬化が発生していなかった。次に，硬化発生率の変化をFig.32に示した。硬化発生率は9月区で最も速く，次いで11月区，6月区，4月区の順であり，9月区および

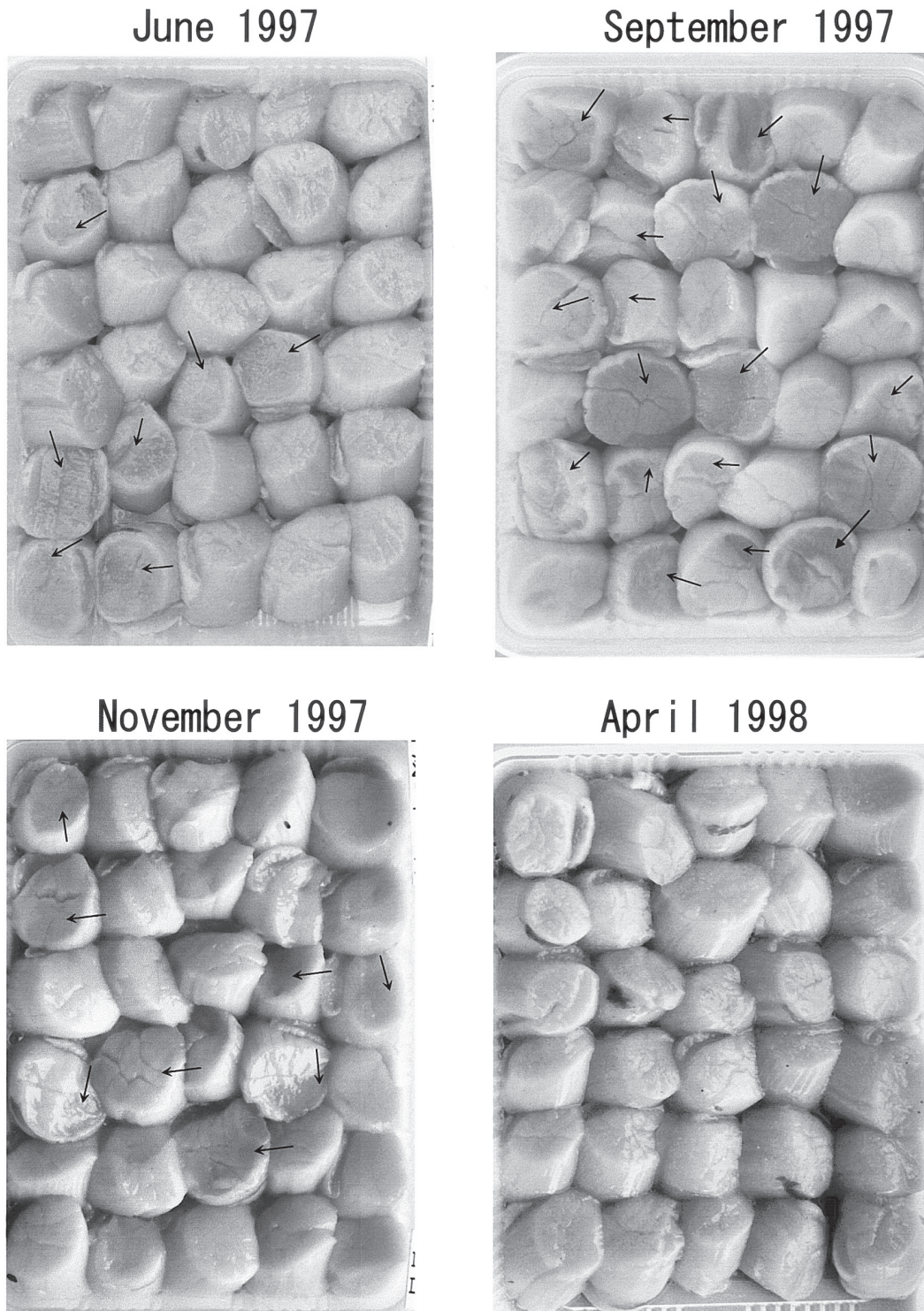


Fig.31 Scallop adductor muscle after 3 days at 0℃. Arrows indicate the rigor of adductor muscle.

11月区では5日目、6月区では6日目に100%に達した。しかし、4月区の硬化発生率は貯蔵7日目でも33%であった。このように水揚げ時期によって、貯蔵中における

貝柱の硬化発生が大きく異なる結果となった。また、官能検査では、全ての試験区において貯蔵7日目でも異臭は感じられず初期腐敗と判定されなかった。

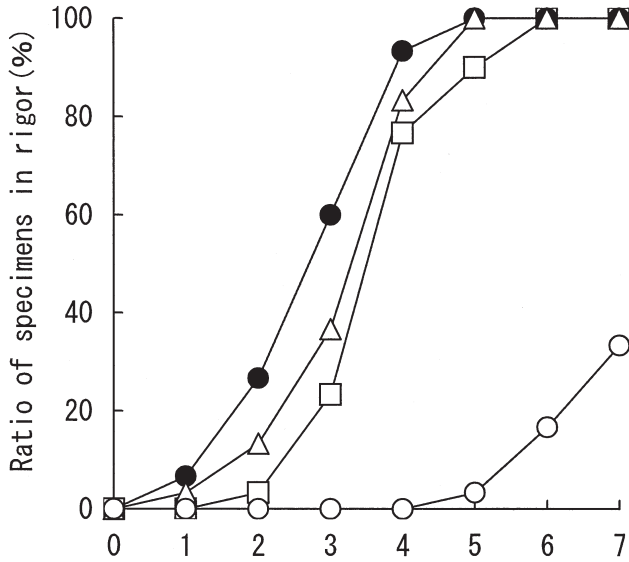


Fig.32 Changes in ratio of specimens in rigor during storage at 0 °C.

□ : June 1997, ● : September 1997,
△ : November 1997, ○ : April 1998.

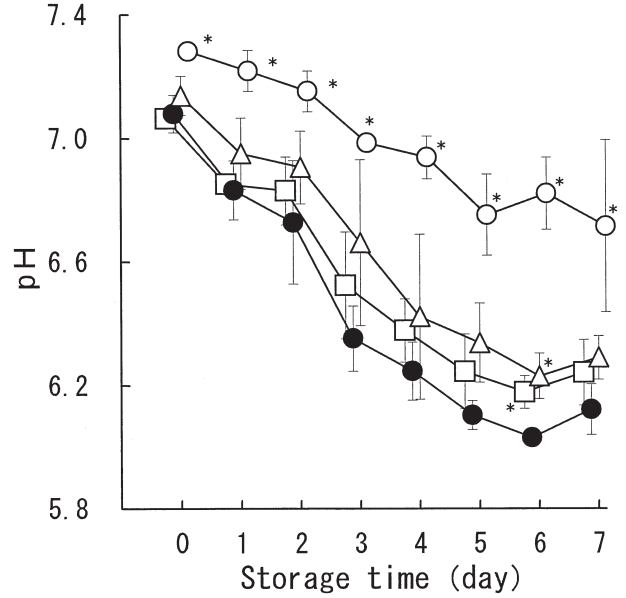


Fig.33 Changes in pH values during storage at 0 °C.

Each value represents the mean ± S.D. of five samples. □, ●, △, ○ : The symbols are the same as shown in Fig.32. *Significantly different from September at the same day, $p < 0.01$.

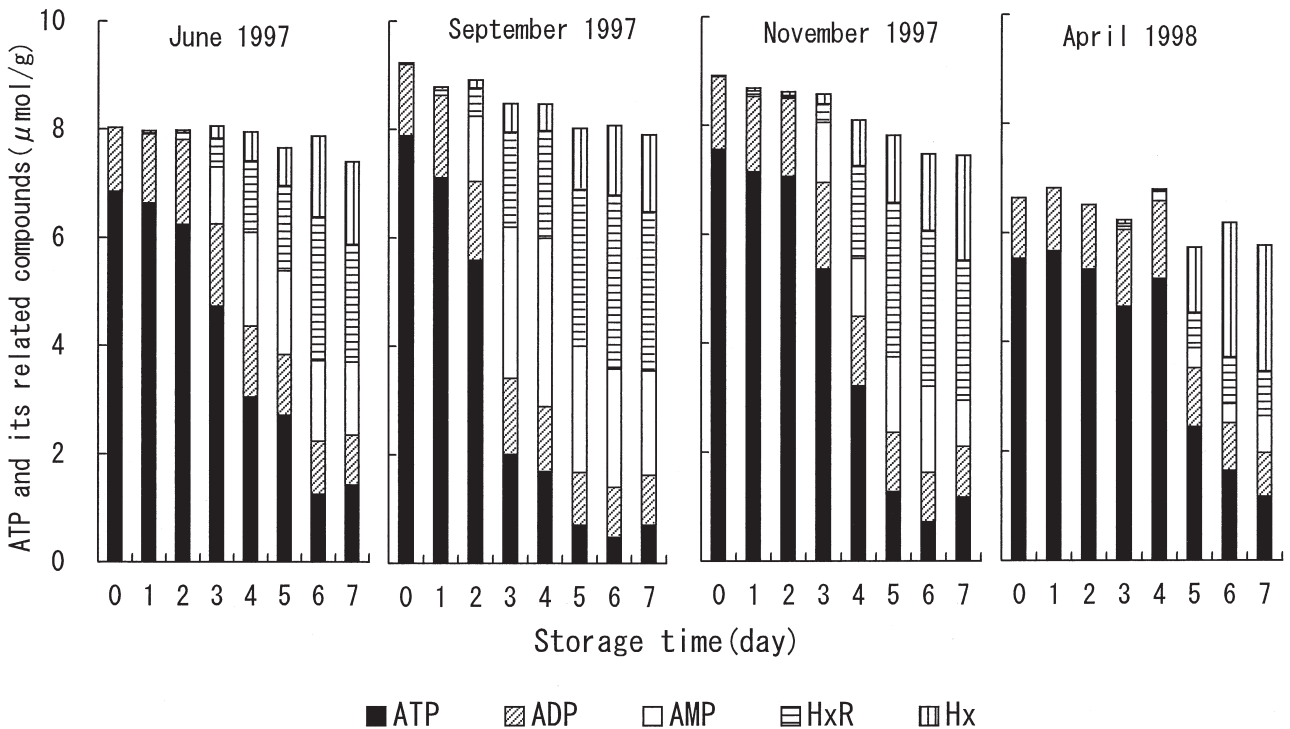


Fig.34 Changes in content of ATP and its related compounds during storage at 0 °C.

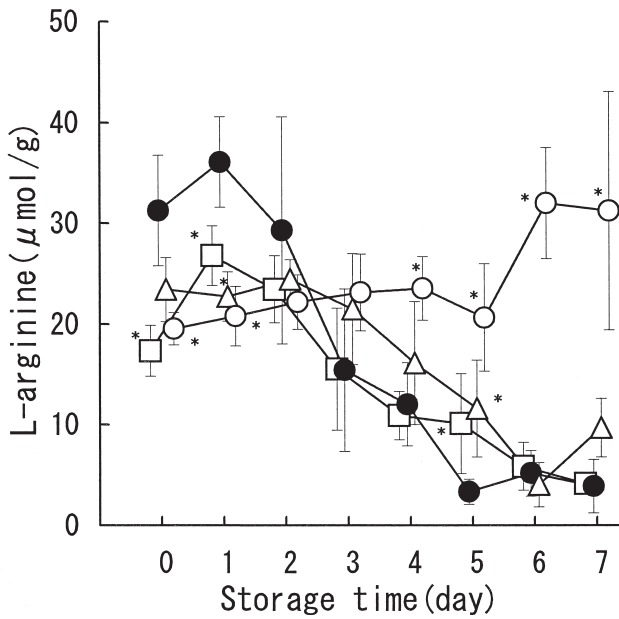


Fig. 35 Changes in content of L-arginine during storage at 0 °C. Each value represents the mean \pm S.D. of five samples. □, ●, △, ○: the symbols are the same as shown in Fig. 32. *Significantly different from September at the same day, $p < 0.01$.

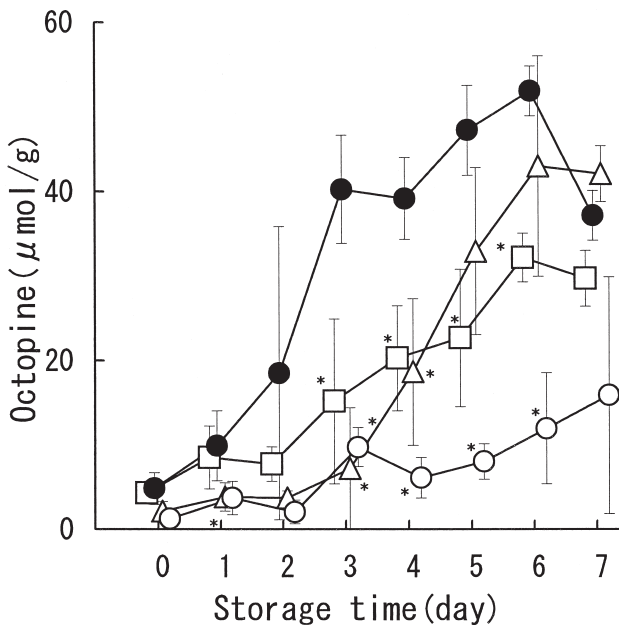


Fig. 36 Changes in content of octopine during storage at 0 °C. Each value represents the mean \pm S.D. of five samples. □, ●, △, ○: the symbols are the same as shown in Fig. 32. *Significantly different from September at the same day, $p < 0.01$.

pHおよびATP関連化合物の変化 pHはFig. 33に示したように0日目において4月区で7.3を示し、他の区より0.2ほど高い値であった。貯蔵中のpHの変化では、9月区で最も速く低下し6日目で6.0となったが、4月区では低下が遅く7日目においても6.7であった。6月区と11月区のpHは、貯蔵中の値に差がなく、6日目で6.2まで低下した。9月区と4月区を比較した場合、pHの差は貯蔵中に広がり、貯蔵6日目で0.7と最大となった。ATP関連化合物量はFig. 34に示したように0日目の6月区、9月区、11月区、4月区でそれぞれ8.0, 9.2, 8.9, 6.6 $\mu\text{mol/g}$ と4月区で最も低く、9月区で最も高かった。0日目のATP関連化合物量に対するATPの割合は、各月とも85%前後となっており、極めて鮮度の良い状態のホタテガイであった。貯蔵中のATPの減少は9月区では最も速く、4月区では最も緩慢であった。4月区では、貯蔵4日目においてもATPの割合は約75%と有意に高く、他の月と異なっていた。さらに、9月区ではATPの急激な減少によりAMPとHxRの蓄積が多かったが、4月区ではATPの減少に伴うAMPやHxRの蓄積は少なく、Hxが顕著に増加した。

L-アルギニンとオクトピンの変化 L-アルギニン量はFig. 35に示したように0日目において6月区、9月区、11月区、4月区それぞれ17, 31, 23, 20 $\mu\text{mol/g}$ の値で、9月区が他の月区に比べて10 $\mu\text{mol/g}$ 程度高い値であった。貯蔵中のL-アルギニン量は、9月区、11月区、6月区の順に減少したが、4月区では逆に増加する傾向を示した。実際、貯蔵6日目のL-アルギニンは4月区で約30 $\mu\text{mol/g}$ と高い値を示したが、他の月では約5 $\mu\text{mol/g}$ と4月に比べて約1/6の値であった。また、9月区との比較において、6月区では0, 1, 5日目、11月区では1, 5日目、4月区では0, 1, 4, 5, 6, 7日目でそれぞれ有意差が認められた。オクトピン量はFig. 36に示したように9月区で最も急激に、4月区で最も緩慢に増加した。オクトピンは6月区、9月区、11月区の6日目でそれぞれ32, 52, 43 $\mu\text{mol/g}$ 、4月区では7日目に16 $\mu\text{mol/g}$ と最も高い値を示した。9月区と4月区を比較した場合、pHと同様にオクトピン蓄積量の差も貯蔵中徐々に広がり、貯蔵6日目で40 $\mu\text{mol/g}$ と最大となった。9月区との比較において、6月区では3から6日目まで、11月区では1, 3, 4日目、4月区では3から6日目まで有意に低い値であった。

水分、グリコーゲンおよび海水温度の季節変化 貝柱の水分量およびグリコーゲン量の変化をFig. 37に示した。水分量は1997年3月の79%から夏季に向かって減少し7月から10月までは75~76%で推移し、それ以降は1998年3

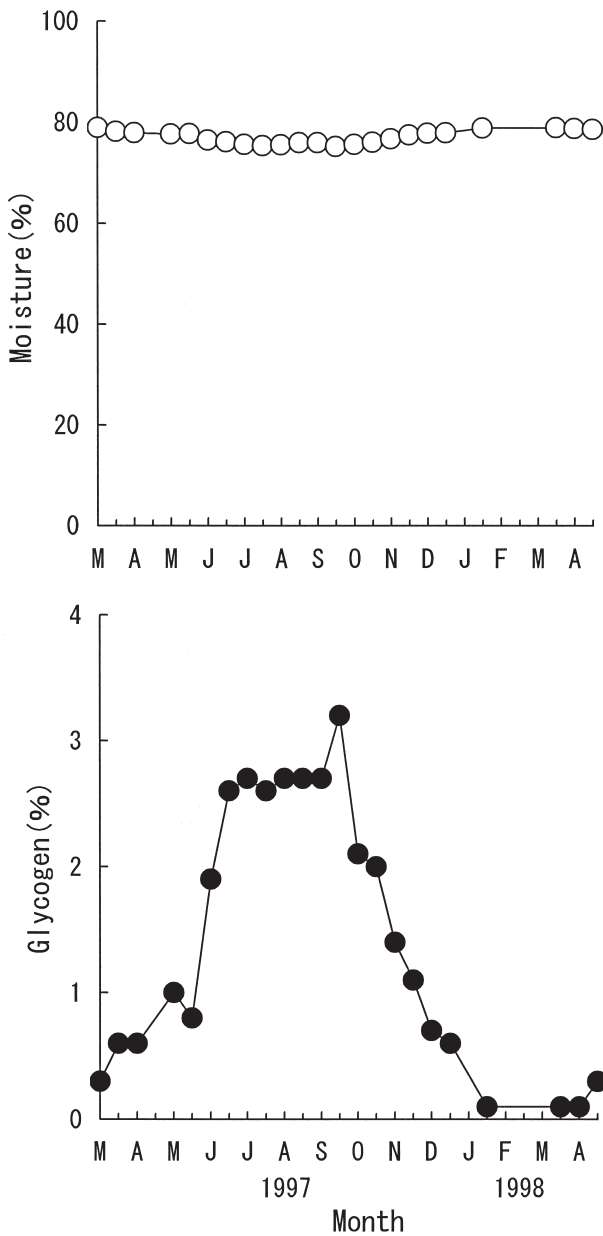


Fig.37 Seasonal changes of moisture and glycogen content between March 1997 and April 1998 in Monbetsu.

月まで増加した。グリコーゲン量は水分量と逆の傾向を示し、1997年3月の0.3%から夏季に向かって増加し9月で3.2%と最大になった。それ以降のグリコーゲン量は減少し、1998年1月に0.1%と最も低くなった。水深40mの海水温度はFig.38に示したように、1997年3月で-1.2℃の最低値から6月以降上昇し、9月中旬には18.8℃と最大値を示した。それ以降の海水温度は1998年1月の0.1℃まで低下した。貯蔵試験を行った際の海水温度は、6月、9月、11月、4月でそれぞれ8.2、18.8、10.3、4.4℃であった。

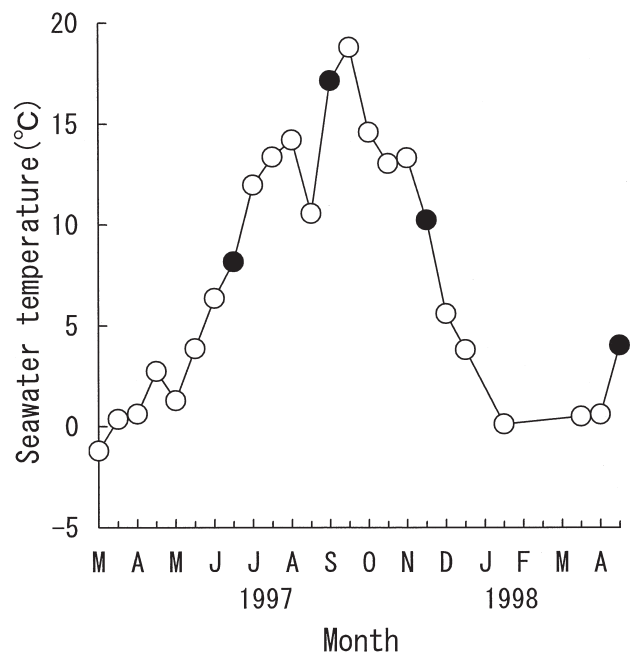


Fig.38 Seasonal changes of seawater temperatures from March 1997 to April 1998 in Monbetsu. ● : Symbol indicates the month of storage test.

考 察

貯蔵中の貝柱硬化発生状況は、Fig.31,32に示したとおり漁獲時期によって異なっていたが、この要因の一つとして海水温度の影響を考慮する必要がある。オホーツクにおけるホタテガイの水揚げ時期は、地域によって若干異なるが4月から12月まで行われ、6月から10月までの間が最盛期となる⁹¹⁾。紋別海域水深40m層の海水温度は、Fig.38に示したように3月から9月まで上昇し、9月から1月にかけて低下する。即ち水揚げが最盛期となる6月から10月は水温が高い時期であり、この時期生鮮貝柱の硬化による品質劣化のクレームも多くなる。低水温域に棲息する魚類の筋小胞体は、Ca²⁺取り込み能やCa²⁺-ATPase活性が高く⁹²⁾、コイでは高温よりも低温馴致したほうが死後硬直時間が遅延する^{93,94)}。ホタテガイ棲息海水温度 (Fig.38) は、4月では9月より約15℃も低く、貯蔵温度との差は4月が4.4℃に対し、9月が18.8℃であった。このため、棲息海水温度と貯蔵温度の差が硬化発生に大きく影響していたと考えられる。また、馴致温度と貯蔵温度の差によるコイの死後硬直の進行では、温度差が大きいほど最大硬直に達する時間が短くなり、逆に温度差が0.5℃と少ない場合には硬直指数は100%に達せず50~60%にとどまる⁹⁵⁾ことが報告されて

いる。4月のホタテガイでは、Fig. 32に示したとおり貯蔵7日目においても硬化発生率が30%程度であり、他の月とは著しく異なっていた。これは、硬化現象がATPの急激な減少によって顕著に現れるためであり、4月の場合貯蔵5日目以降にATPは減少したが、硬化が発現するには筋肉1g当たりのATPの減少速度が充分でなかったと考えられる。畜肉においては古くから死後の筋収縮に関する研究が行われ、ウシでは死後の筋肉収縮率は0℃貯蔵で最大、14~19℃で最低となることが報告されており^{96,97)}、このような低温貯蔵での急激な筋収縮は主にミトコンドリアに富む遅筋で認められる。この現象は冷却収縮(cold shortening)と呼ばれており、ミトコンドリアのCa²⁺貯蔵能の低下が原因である^{98,99)}とされている。一方、マダイやヒラメなどの魚類筋肉を氷冷した場合、筋収縮を経て死後硬直が速やかに進行する。この原因は主に筋小胞体のCa²⁺取り込み能の低下が原因であると考えられている⁵³⁾。ホタテガイ筋肉においてミトコンドリア含量は低いことから、今回のホタテガイ硬化機構には後者の筋小胞体の関与が強いものと考えられるが、詳細については不明であり、今後の検討が重要と思われる。

オホーツク海において4~5月は、植物プランクトンのブルーミング¹⁰⁰⁾に当たり、ホタテガイの餌料環境が良くなる。さらに、ホタテガイの濾過水量は水温が18℃に至るまでは、温度が高いほど多く¹⁰¹⁾、ホタテガイの呼吸量も産卵期を除いて濾過水量と同様の傾向がある³⁰⁾。従って、9月のホタテガイでは他の月区に比べて濾過水量が増えて摂餌量も多くなり貝柱のグリコーゲン量(Fig. 37)が高く、前章で述べたように呼吸量やタンパク質量の増加に伴ってATP関連化合物量(Fig. 34)も高くなったと考えられる。実際、同じ4年貝でも4月と9月の貝柱では重量で2倍以上、グリコーゲン量で10倍以上の差があった。このため、貝柱サイズやグリコーゲン量が硬化に影響を与えた可能性があり、餌環境が異なりホタテガイの成長に差が生じれば、地域によってあるいは同地域でも水揚げ年によって硬化の発生状況が異なると予想される。前述したとおり、9月のホタテガイでは摂餌量の増加によって代謝活動が活発になっており、その活動を維持するための酸素も多く必要はらずである。一方、脱殻した貝柱では接触反応があり、しばらくの間は筋細胞自体は生きている。このとき、貝柱の筋細胞は酸素呼吸による好氣的代謝とグリコーゲン分解による嫌氣的代謝を同時に行っていると考えられる。このため、海水温度が高く酸素を多く必要とする貝柱を低温環境においた場合、呼吸によるATPの合成だけでは間に合わず、代謝を維持するためにグリコーゲンの嫌氣的分解が加速される。しかし、ATPの合成が代謝維持に必要なエネル

ギー量に追いつかず、ATPの減少に伴って硬化が発現する。逆に、4月のホタテガイでは、代謝を維持するための酸素量も少ないため、脱殻後の貝柱でも呼吸による僅かな酸素量で何日か生きられると予想される。脱殻貝柱の酸素要求量の季節差が貯蔵中の硬化発生の程度に影響を及ぼしたと考えられる。

ホタテガイ貝柱のフォスファージェンであるアルギニンリン酸は、その分解によってアルギニンを生じる。アルギニンリン酸は無脊椎動物の筋肉に多く含まれ、ATPの高エネルギーリン酸を貯蔵しており、脊椎動物ではクレアチンリン酸に相当する物質である¹⁰²⁾。9月のL-アルギニン量は貯蔵1日目でアルギニンリン酸の分解によって増加し、その後は解糖系から生じたピルビン酸との生合成¹⁰³⁾によって急激に減少したと考えられる。実際、Fig. 36に示したように、ホタテガイ貝柱の解糖系最終生成物の1つであるオクトピン⁵⁴⁾量は、L-アルギニン量の減少に伴って増加した。9月の貝柱では、0℃に貯蔵された場合、呼吸量の低下によって酸素不足となり、貯蔵初期からアルギニンリン酸の分解や、解糖作用によって代謝活動を維持するためのATPを供給していたと考えられる。一方、4月では貯蔵5日目までL-アルギニン量の増加はわずか(Fig. 35)であり、アルギニンリン酸の分解はL-アルギニン量の増加した貯蔵6日目に始まったと考えられる。このため、4月の貝柱では、貯蔵5日目までは代謝活動に必要なほとんどのATPを呼吸によって供給していた可能性が高い。以上のことから、サイズが大きくグリコーゲン量の多い夏季の貝柱でも、ホタテガイを低温馴致することによって貝柱の酸素要求量を変化させ硬化を抑制できる可能性はある。

Fig. 31, 32の結果から、海水温度が低い時期のホタテガイから貝柱を加工流通することによって、硬化による品質低下を抑制できることが明らかとなった。しかし、オホーツクにおけるホタテガイの水揚げは海水温度の高い夏季に集中しており、この時期の生鮮貝柱について高品質を長く保持させる技術開発が必要である。本研究で示したようにホタテガイは季節の変化に馴化しているため、低温海水中における馴化によって硬化を防ぐことができる可能性が高い。今後は、低温馴致による硬化防止法の検討、前節でも述べたようにホタテガイの砂の除去率および除菌効果などを把握し、高品質な生鮮貝柱の製造技術を確立していく必要がある。

第2章の要約

第2章においては、貯蔵温度や洗浄方法による貝柱の硬化発現をレオロジーおよび生化学的な角度から検討し、同時に品質指標の検索も行った。また、ホタテガイの棲

息環境の変化と季節的な貝柱硬化発生との関係についても調べた。

2.1では、生鮮貝柱を冷蔵5℃、氷蔵0℃、パーソナルフリージング-3℃の温度帯で貯蔵し、経時的に硬化発生率、ATP関連物質および破断強度の変化について調べた。貝柱の初期腐敗は5℃で4日目に発生したが、-3℃と0℃は7日目においても発生しなかった。一方、貝柱の硬化に関しては、貯蔵温度が低いほど速く発生した。即ち、硬化発生率は0、5℃では6日目、-3℃では4日目に100%となった。-3℃貯蔵ではpHの低下やATPの減少、それに伴うK値の上昇が最も速かった。硬化した貝柱は通常の貝柱と比較して、破断強度やpHが低くK値は高い値であった。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、K値やpHは貝柱の品質低下の指標として適していることが明らかとなった。また、硬化した貝柱は通常の貝柱に比べ官能検査でも歯ごたえが劣っていると判定された。以上の結果から、-3℃貯蔵は硬化の発生が最も速く、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では、人工海水および蒸留水を使用し、洗浄時間を5~20分とし、各洗浄区で洗浄した貝柱を0℃に貯蔵し、硬化発生率、破断強度、筋繊維の収縮率およびATP関連化合物の変化を調べた。蒸留水で洗浄した直後の貝

柱は、吸水によって表面にしわが多く観察され、収縮により筋繊維が若干短くなり、重量増加も認められたが、硬化は観察されず、成分および破断強度に変化はなかった。洗浄後に0℃貯蔵した際の硬化発生率は蒸留水洗浄では2日目、無洗浄および人工海水洗浄では5日目に100%となった。また、貝柱は収縮率が約25%を超えると硬化の発生が観察された。蒸留水洗浄は無洗浄や人工海水洗浄に比べて貯蔵中に破断強度、ATPおよびpHは急激に低下し、K値は著しく上昇した。以上の結果から、ホタテガイ貝柱の蒸留水による洗浄は短時間であっても不適切であり、海水による洗浄が望ましいことが明らかとなった。

2.3では、水揚げ時期による品質変化、即ち1997年6月、9月、11月及び1998年4月に水揚げされたホタテガイの貝柱について、0℃貯蔵中の硬化発生率、ATP関連物質、L-アルギニン及びオクトピン量の変化を調べた。9月のホタテガイでは、4月のものに比べてATPとpHの低下、硬化の発現、オクトピン量の蓄積が著しく速かった。ホタテガイ貝柱は水揚げする時期によって、硬化による品質低下が異なることが明らかとなった。以上の結果から、海水温度が低い時期のホタテガイから貝柱を加工流通することによって、硬化による品質低下を抑制できることが明らかとなった。

第3章 ホタテガイ生鮮貝柱の高品質保持

第2章において生鮮貝柱の硬化発生要因について検討し、-3℃から5℃の間では、貯蔵温度が低いほど硬化発生による品質劣化が速いことを明らかにした。一方、5℃貯蔵では-3℃や0℃に比較して貝柱の硬化発生は遅延するが腐敗しやすいことから、生鮮貝柱の高品質保持技術を実用化するためには、細菌の増殖も抑制する技術開発が必要である。本章では、ガス置換包装および抗菌シートを用い、生鮮貝柱のシェルフライフの延長を図るとともに硬化を抑制する高品質保持技術開発を行った。

3.1 ガス置換包装による高品質保持技術

生鮮魚介類のシェルフライフを延長する手段の1つとしてパーソナルフリージングや氷温貯蔵などの研究¹⁰⁴⁾が行われてきた。また、ここ数十年、生鮮魚介類やフィレーを対象としたガス置換包装による貯蔵技術の研究が行われ、品質保持に関する研究成果が数多く報告¹⁰⁵⁻¹⁰⁹⁾されている。本節では生鮮貝柱のガス置換包装において注入するガス組成と5℃貯蔵中の貝柱の品質変化との関係について検討した。

3.1.1 炭酸ガスおよび窒素ガスの影響

実験方法

試料 1996年9月に北海道網走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111mm)から、貝柱(平均重量21.9g)を採取し3.3%の食塩水で洗浄後、水切りを行い試験に供した。供試貝柱を5個および25個ずつスチロール樹脂容器にのせ、旭化成キューパックに入れ真空包装機を用い脱気後、貝柱約100gおよび500gに対してそれぞれ約200mlおよび1000mlの炭酸ガス、窒素ガスをそれぞれ封入した(以下CO₂区、N₂区)。また、含気包装したものを含気区試料とした(以下含気区)。これら3区分の試料を5℃で貯蔵し、以下の各項目について経時的に調べた。

硬化発生率の測定 各試験区で貯蔵中の25個体について、第2章の2.1と同様に算出した。

破断強度の測定 各試験区から経時毎に5個ずつ取り出し、第2章の2.1と同様に測定した。

pHの測定 第2章の2.1と同様に測定した。