ホタテガイ生鮮貝柱の硬化発現の季節変化

木村 稔,^{1*} 成田 正直,¹ 今村 琢磨,¹ 潮 秀樹,² 山中 英明²

(2000 年 6 月 26 日受付, 2000 年 10 月 30 日受理)

¹北海道立網走水産試験場紋別支場, ²東京水産大学

Seasonal Changes in the Rigor of Scallop Adductor Muscle

Minoru Kimura,^{1*} Masanao Narita,¹ Takuma Imamura,¹
Hideki Ushio,² Hideaki Yamanaka²¹Monbetsu Branch of Hokkaido Abashiri Fisheries Experiment Station, Hokkaido 094-0011, ²Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Tokyo 108-8477, Japan

Changes in the frequency of specimens in rigor, ATP related compounds, L-arginine and octopine were examined in the adductor muscle of the scallop *Patinopecten yessoensis* during storage at 0°C. The scallop was caught in June, September, November 1997 and April 1998 at Monbetsu. The scallop of September decreased in ATP concentration and pH, development of rigor, and increased in octopine, compared with the scallop of April. The development of rigor was different according to the seasons, affecting scallop quality. Sea water temperature was around harvesting areas 18.8°C in September 1997 and 4.4°C in April 1998. It is presumed that rigor of adductor muscle was induced by difference between sea water temperature of the habitat of scallop and storage temperature.

キーワード: ホタテガイ, 硬化, ATP 関連物質, pH, L-アルギニン, オクトピン, 季節変化

平成 10 年度の北海道におけるホタテガイ生産高は、数量で 39.8 万トン、金額で 564 億円となっており、数量金額ともに北海道魚種別生産高の第 1 位である。¹⁾ しかし、EU 向け輸出の禁止や、中国産ホタテガイの輸入増等により産地価格が低迷している現状にある。²⁾ このため、生鮮貝柱については、高品質化技術による付加価値向上、さらにその技術による遠距離地への消費拡大を図っていく必要がある。木村ら^{3,4)}は生鮮貝柱の流通上問題となっている硬化現象に着目し、貯蔵条件、洗浄条件によりその発生が異なることを明らかにした。さらに酸素ガス置換包装による生鮮貝柱の品質保持技術を開発した。⁵⁾ 一方、ホタテガイは、漁獲場所や時期によって貝柱の水分、たんぱく質およびグリコーゲン量の変動が大きく、⁶⁾ それ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。

ここでは、ホタテガイの水揚げ時期と低温貯蔵中の貝柱の硬化発生との関係について調べた。

試料および方法

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 40 m 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 116 mm, 9 月 116 mm, 11 月 109 mm, 4 月 106 mm) から、貝柱 (平均重量 6 月 19.4 g, 9 月 24.6 g, 11 月 21.6 g, 4 月 11.8 g) 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 °C の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、貯蔵中に貝柱表面が黒ずみ硬くなったものを硬化と判定し、その数から算出した。

pH の測定 各試料は横紋筋の中心部から平滑筋の反対側に向かって扇型にナイフで採取した。これに、10 倍量の蒸留水を加えて直ちにホモジナイズし、pH メーターで測定した。

ATP および関連化合物の定量 各試料は、pH と同

* Tel : +81-1582-3-3266, Fax : +81-1582-3-3352, E-mail : kimuram@fishexp.pref.hokkaido.jp

様の方法でサンプリングを行い、この採取した貝柱片 2.5 g に冷却した 6% 過塩素酸溶液 10 mL を加えてホモジナイズした後、遠心分離 (10,000 rpm, 10 分間) を行い、分離した上澄液を氷水で冷却しながら 10 M および 1 M KOH で中和し、生成した沈殿を遠心分離により除去後、25 mL に定容した。この分析試料液を前報³⁾と同様に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析し、ATP, ADP, AMP, HxR, Hx を定量した。

L-アルギニンおよびオクトピンの定量 分析試料液を Sato ら⁷⁾の方法に従って、L-アルギニンおよびオクトピンを HPLC (日立 L-6200) により定量した。分析条件は下記のとおりである。カラム: Kaseisorb LC ODS-300-5, 4.6×250 mm (東京化成工業), カラム温度: 20°C, 移動相: A 液 80% 0.25 M Tris-HCl (pH 9.5) + 20% アセトニトリルと B 液 80% アセトニトリル + 20% 水による 2 液グラジュエント, 流速: 0.8 mL/min, 検出波長: EX 325 nm EM 425 nm

グラジュエント条件

Time (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0.0	100	0
20.0	50	50
20.1	0	100
25.0	100	0
30.0	STOP	

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 40 m) 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) で粉碎後、105°C 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、この粉碎試料 2 g に 30% KOH 4 mL を入れ、沸騰水中にて液化分解した。放冷後、エタノール 20 mL を加え混和し、5000 rpm で 15 分間遠心分離した。上澄みを捨て、沈殿物に蒸留水 10 mL を加え溶解後、飽和 KCl 1 滴とエタノール 15 mL を加えて混和し、5000 rpm で 15 分間遠心分離した。この操作を 2 回繰り返して、上澄みを捨て沈殿物を 100 mL に定容した。適宜希釈した液を、アンスロン-硫酸法⁸⁾によってグリコーゲンの加水分解と発色を同時に行った。620 nm にて吸光値を求め、検量線からグルコース量を算出し、これに 0.9 を乗じてグリコーゲン量とした。

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) により測定した。

有意差検定 実験区内および実験区間の有意差検定は Mann-Whitney の *U* 検定により行った。

結 果

硬化発生率の変化 0°C 貯蔵中の貝柱の硬化発生状況を Fig. 1 に示した。貯蔵 3 日目においては、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。硬化の発生は 9 月区 (●) で最も速く、次いで 11 月区 (△), 6 月区 (□), 4 月区 (○) の順であった (Fig. 2)。9 月区 (●) および 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。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。

pH および ATP 関連化合物の変化 pH は 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 (Fig. 3)。ATP 関連化合物量は 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, 6.4 μmol/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

Fig. 1. Scallop adductor muscle during storage at 0°C. A, after one day; B, after 3 days. Arrows indicate the rigor of adductor muscle.

Fig. 2. Changes in frequency of specimens in rigor during storage at 0°C. □, June 1997; ●, September 1997; △, November 1997; ○, April 1998.

Fig. 3. Changes in pH values during storage at 0°C. □, ●, △, ○: The symbols are the same as shown in Fig. 2. *Significantly different from September at the same day, $p < 0.01$.

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 とイノシンの蓄積が多かったが、4 月区では ATP の減少に伴い AMP やイノシンの蓄積は少なく、ヒポキサンチンが顕著に増加した (Fig. 4)。

L-アルギニンとオクトピンの変化 L-アルギニンは 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。貯蔵中に L-アルギニンは、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 (Fig. 5)。オクトピンは 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 (Fig. 6)。

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 (○) は 1997 年 3 月の 79% から夏季に向かって減少し 7 から 10 月までは 75~76% で推移し、それ以降は 1998 年 3 月まで増加した。グリコーゲン (●) は水分と逆の傾向を示し、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。それ以降は、減少し 1998 年 1 月に 0.1% と最も低くなった

(Fig. 7)。海水温度は、1997 年 3 月で -1.2°C の最低値から 6 月以降上昇し、9 月中旬には 18.8°C 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°C 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°C であった (Fig. 8)。

考 察

貯蔵中の貝柱硬化発生状況は、時期によって異なっていたが (Fig. 1)、この要因の 1 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。¹⁾ 紋別海域水深 40 m 層の海水温度は、Fig. 8 に示したように春から夏にかけて上昇し、秋から冬にかけて低下する。⁹⁾ 低水温域に棲息する魚類の筋小胞体は、 Ca^{2+} 取り込み能や Ca^{2+} ATPase 活性が高く、¹⁰⁾ 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。¹¹⁾ 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 $0, 5^{\circ}\text{C}$ と少ない場合では硬直指数は 100% に達せず 50~60% にとどまることが報告されている。¹²⁾ ホタテガイ棲息海水温度は、4 月では 9 月より約 15°C も低く、貯蔵温度との差は 4 月が 4.4°C に対し、9 月が 18.8°C であった (Fig. 8)。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。

オホーツク海において 4~5 月は、春の植物プランク

Fig. 4. Changes in content of ATP and its related compounds during storage at 0°C. A, June 1997; B, September 1997; C, November 1997; D, April 1998.

Fig. 5. Changes in content of L-arginine during storage at 0°C. □, ●, △, ○: The symbols are the same as shown in Fig. 2. *Significantly different from September at the same day, $p < 0.01$.

Fig. 6. Changes in content of octopine during storage at 0°C. □, ●, △, ○: The symbols are the same as shown in Fig. 2. *Significantly different from September at the same day, $p < 0.01$.

トンの増殖期¹³⁾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°C に至るまでは、温度が高いほど多く、¹⁴⁾ 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。¹⁵⁾ 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. 7) が高く、呼吸量の増加に伴って ATP 関連化合物量 (Fig. 4) 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も考えられる。

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なのはである。一方、脱殻した貝柱を酸素ガス置換した場合、貯蔵中の硬化発生が含

Fig. 7. Seasonal changes of moisture and glycogen content between March 1997 and April 1998 in Monbetsu. ○, moisture; ●, glycogen.

Fig. 8. Seasonal changes of seawater temperature between March 1997 and April 1998 in Monbetsu. ●, Symbol indicates the month test.

気包装区に比べて遅くなる。⁵⁾ 脱殻した貝柱でもしばらくの間は筋細胞が好氣的代謝を維持しており酸素を必要とする。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、呼吸量が減り代謝系を維持することが困難になると考えられる。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す可能性がある。

ホタテガイ貝柱のフォスファゲ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。9月のアルギニンは貯蔵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¹⁶⁾によって急激に減少したと考えられる。実際、Fig. 6に示すように、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¹⁷⁾は、アルギニンの減少に伴って増加した。9月の貝柱では、0°C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日目までアルギニンの増加はわずか (Fig. 5) であり、アルギニンリン酸の分解はアルギニンの増加した貯蔵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. 1, 2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。従って、滅菌低温海水による蓄養および酸素ガス置換包装⁵⁾を組み合わせた流通システムの開発が非常に有望である。

謝 辞

本研究の実施にあたり、ホタテガイ入手にご協力いただいた紋別漁業協同組合に厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は中小企業庁の特定中小企業集積活性化支援事業により行われたものである。ここに記して感謝する。

文 献

- 1) 北海道水産林務部. 平成10年度北海道水産現勢. 北海道, 札幌, 1999; 1-432.
- 2) 北海道水産林務部. 水産物の消費・流通動向. 北海道水産業のすがた 99, 北海道, 札幌, 1999; 38-41.
- 3) 木村 稔, 成田正直, 野俣 洋, 金子博実, 山中英明. ホタテガイ貝柱の硬化に与える貯蔵温度の影響. 日水誌 1997; **63**: 621-626.
- 4) 木村 稔, 成田正直, 野俣 洋, 潮 秀樹, 山中英明. ホタテガイ貝柱の硬化に与える洗浄の影響. 日水誌 1999; **65**: 103-107.
- 5) 木村 稔, 成田正直, 今村琢磨, 潮 秀樹, 山中英明. ガス置換包装によるホタテガイ生鮮貝柱の高品質保持. 日水誌 2000; **66**: 475-480.
- 6) 木村 稔, 成田正直, 今村琢磨, 福士曉彦, 高橋玄夫. 水産加工に関する調査研究. 平成10年度網走水産試験

- 場事業報告書, 北海道, 網走市, 1999; 135-142.
- 7) Sato M, Takeuchi M, Kanno E, Nagahisa E, Sato Y. Determination of octopine by pre-column fluorescence derivatization using benzoin. *Biochem Intern.* 1991; **23**: 1035-1039.
- 8) 福井作蔵. 「生物化学実験法 1 還元糖の定量法」学会出版センター, 東京, 1969; 47-53.
- 9) 西浜雄二. 「オホーツクのホタテ漁業」北海道大学図書刊行会, 札幌, 1994; 1-218.
- 10) Mcardle HJ, Jhonston IA. Evolutionary temperature adaptation of fish sarcoplasmic reticulum. *J. Comp. Physiol. B.* 1980; **135**: 157-164.
- 11) Watabe S, Hwang G-C, Ushio H, Hashimoto K. Changes in rigor-mortis progress of carp induced by temperature acclimation. *Agric. Biol. Chem.* 1990; **54**: 219-221.
- 12) Abe H, Okuma E. Rigor-mortis progress of carp acclimated to different water temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 2095-2100.
- 13) 西浜雄二, 蔵田 護, 多田匡秀. サロマ湖・能取湖・網走沖におけるクロロフィル量の季節変化. 水産海洋研究 1989; **53**: 52-54.
- 14) 蔵田 護, 干川 裕, 西浜雄二. サロマ湖における垂下養成ホタテガイの摂餌量. 北水試研報 1991; **37**: 37-57.
- 15) 蔵田 護. オホーツク海における放流ホタテガイの呼吸量. 北水試研報 1996; **49**: 7-13.
- 16) 佐藤 実. 軟体動物の嫌氣的解糖とオビン類. 化学と生物 1990; **28**: 82-90.
- 17) Kawashima K, Yamanaka H. Effects of storage temperatures on the post-mortem biochemical changes in scallop adductor muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1992; **58**: 2175-2180.