

生鮮スルメイカ保管中に起こる性状変化に関する研究 I

—死後の体色変化とその制御技術に関する検討—

木下康宣, 吉岡武也, 今野久仁彦*

Quality Change of Fresh Squid upon Storage I

—Study on the Postmortem Change and the Control Requirement in Skin Colour—

Yasunori Kinoshita, Takeya Yoshioka
and Kunihiko Konno

要 旨

生鮮スルメイカの体色制御に関する知見を得る目的で、表皮の色合いに影響を与える種々の要因を検討した。

デジタルカメラやデジタルビデオカメラを用いて撮影して得た情報を二階調化することによって、体色や色素胞の拡張・収縮状態を評価したところ、致死後も一定期間は、興奮性神経伝達物質として知られるグルタミン酸 (L-Glu) に色素胞の拡張作用が、また抑制性神経伝達物質である γ -アミノ酪酸 (GABA) に収縮作用があることが確認され、保存中の体色変化には、神経興奮が関与している可能性が高いことが示唆された。また、これらの物質を用いることにより、生鮮スルメイカの体色を制御できる可能性があることが明らかとなった。

1. はじめに

水揚げ直後のスルメイカの体色は、表皮にも透明感があり他の魚同様見た目に綺麗だが、時間が経つにしたがって赤黒く変化し、わずか1日程度で最大に達した後、徐々に薄れて白濁してしまう(図1)。このため、体色は肉質同様、鮮度を評価する上で極めて重要な要素の一つであるとともに、流通上の価格に大きな影響を及ぼす要因でもある。生きている時のイカは、刺激や興奮によって、瞬時にかつ可逆的に体色を変化させる。このようなイカ類の体色は、色素胞が収縮・拡張することによって変化することが知られている¹⁾。イカの色素胞は、表皮の1層目と2層目の間、または2層目の内部に存在する色素粒を満たした柔軟な袋状の

構造をしており、その周りに付随している放射状筋繊維が収縮すると色素胞が引っ張られて薄い板状に広がり、弛緩すると色素胞が収縮するとさされている。このような変化は、視覚の刺激に基づいて、神経系が制御しているといわれている²⁾。一方、断頭により即殺したイカについても、しばらくの間は、表皮を指で突付くと明らかに色素胞が動く様子が観察される。このことは、個体として死に至ったイカでも、細胞活動が一定期間継続していることを示唆している。

死後空気中で保存した際のスルメイカは、生息時と異なり不可逆的に体色に変化し、一度白くなったものが赤黒く戻ることはない(ここでは、死後保存中に赤黒く体色を変化することを発色と表現

* 北海道大学大学院水産科学研究院海洋応用生命科学部門生物資源化学分野

する)。このような保存中におこる体色変化が、生息時のような可逆的な神経制御によっておこっているものなのか、あるいは死後変化のような不可逆的なものなのかは明らかにされていない。

本研究では、体色および体色を決定する色素胞の拡張・収縮の程度を評価する方法を検討し、続いて体色変化に与える種々の要因に関する試験を行った。

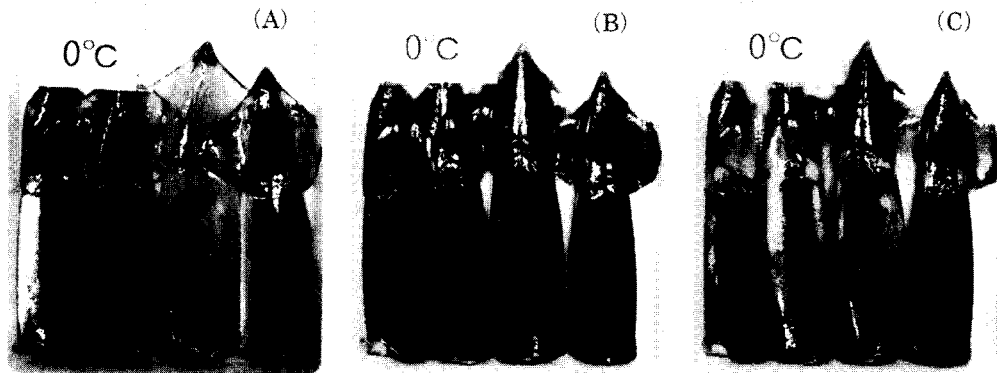


Fig. 1 Change in the appearance of the squid at 0°C. Storage times were (A)0hr, (B)24hr and (C)48hr.

2. 実験方法

2.1 実験材料

スルメイカは、生きたものを活魚車で実験室へ運び、断頭により即殺したものを使用した。

2.2 実験溶液

実験溶液は、後述するイカ等張液を基本とし、これにL-GluやGABAを溶解させたものまたはカルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)、カリウム(K)濃度の異なるものを調製して使用した。

イカ等張液の組成は、Floreyらの報告に従って、500mM 塩化ナトリウム、10mM 塩化カルシウム、12mM 塩化マグネシウム、10mM 塩化カリウム、10mM グルコース、10mM HEPES (pH 7.0) とした³⁾。Ca, Mg, Kの濃度を調整する際には、ナトリウム(Na)濃度を増減させて浸透圧が変わらないようにした。また、一部の試験では、人工海水(マリンアートハイ、千寿製薬株)を海水濃度換算値で34%になるよう蒸留水に溶解し、窒素(N²)、空気(Air)、酸素(O²)ガスを30分以上曝気したものを使用した。

2.3 発色率の測定方法

発色率の測定は、色見本(Toyo 94 Color Finder1050, CF155, 東洋インキ)とともに、実験材料から得た外套膜試料をバットに載せ、デジタルカメラで静止画情報を記録し、この情報をパーソナルコンピュータへ取り込んでPhotoshop

Ver7.0 (Adobe Systems, Inc.)により二階調化する方法で行った。結果は、観察視野面積に対する拡張色素胞面積の割合を百分率として求め、発色率(%)として表した⁴⁾。なお、測定試料の保存は5°Cで行い、結果は何れも6個体の平均値で示した。

2.4 拡張指数の測定方法

実験材料より、剥離した表皮および表皮がついたままの外套膜を得ておよそ3cm角の試料を調製し、これらを各種の試験液に浸漬して拡張指数を測定した。

色素胞の拡張作用を観察する場合は、試料の切り出しによって一部の色素胞の拡張がおこるため、採取した試験片をイカ等張液に20分間浸漬して色素胞活動を安静化させたものを試験に供した。また、色素胞の収縮作用を観察する場合は、L-Gluを含む試験溶液に20分間浸漬することによって色素胞を拡張させたものを使用した。

剥離した表皮の観察は、試料をシャーレ上に固定したゴム製の台座にピンで止め、十分量の実験溶液を満たした状態で行った。肉付きの表皮の場合は、試料をビーカーへ投入し、試料が十分浸漬するまで実験溶液を入れて観察した。観察は、CCDカメラを装着した実体顕微鏡で行い、得られた動画情報をデジタルビデオに記録した。観察視野はおよそ1cm×1cmで、観察倍率は10×2.5である。次に、この情報をパーソナルコンピュータへ

取り込み, Final Cut Express (Apple Computer, Inc.) を用いて1秒当たり10枚の静止画を作成した。その後, 画像をNIH Image 1.63 (National Institute of Health, US) により二階調化して色素胞と観察視野の面積を計測し, その百分率を色素胞の拡張指数 (%) として評価した。結果は, 試験液に浸漬してから0, 5, 10, 15, 20分経過した時点から, それぞれ30秒間の色素胞の動きを平均値として算出し, 代表的な1個体の数値で表示した。なお, 観察時の温度は, 特に断らない限り室温とした。

3. 結果

3.1 保存中のイカの体色変化

初めに, 致死後のスルメイカの外套膜を5°Cで保存した時の発色率を測定した結果を図2に示した。致死直後の発色率は, 50%程度であったが, 保存開始と共に上昇し, 24時間後には80%近くまで増加した。その後は, 一方的に減少を続け, 5日目には, ほぼ0%となった。

この変化は, 目視による観察結果と良く一致していたことから, 今回行った発色率の測定は, 客観性の高い評価方法であると判断した。なお, 拡張指数についても同様に, 目視による観察結果と測定値の推移が良く一致するものであることを確認している。

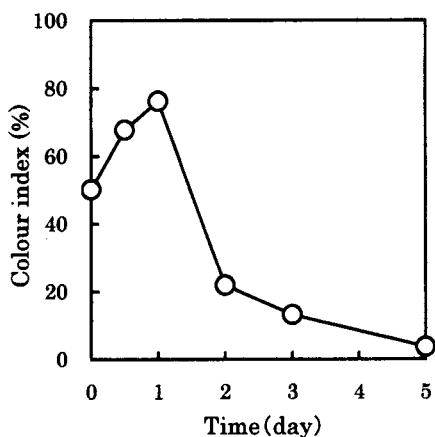


Fig.2 Change in the colour index of beheaded squid stored at 5°C.

3.2 海水に含まれるイオンの影響

産業的に死後のイカが接触する可能性が高いのは, 様々なイオンが溶解している海水である。そこで次に, 保存中に体色変化に与える要因を探るため, 各種の金属イオンが色素胞活動に与える影

響を検討した。検討したイオンは, Ca, K, Mgで, 天然海水に含まれる濃度 (Ca:10mM, Mg:12mM, K:10mM程度) を基準とした。

結果を図3に示した。いずれのイオンについても, 無添加の場合は, 拡張指数が比較的高かったが, CaとMgの場合は, 濃度が高いほど低下する傾向にあった (図3 (A), (B))。一方, Kについては, 10 mM以上の時著しく拡張指数が上昇し, 顕著に色素胞の拡張がおこなっていることが示された (図3 (C))。

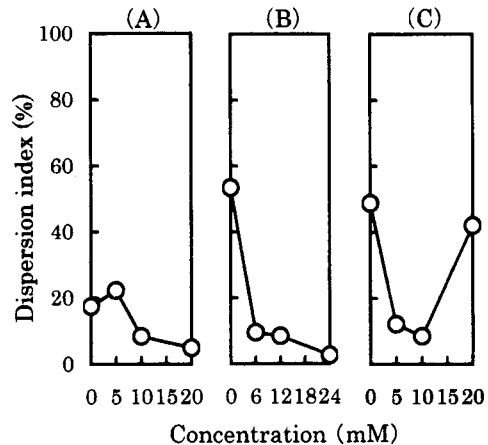


Fig.3 Effect of (A)Ca, (B)Mg and (C)K concentration in dispersion index of squid.

3.3 神経伝達物質の影響 (濃度依存性)

生息時の色素胞活動は, 神経刺激によって制御されているといわれている¹⁾。神経刺激を伝達するものには, アセチルコリン, ドーパミン, ノルアドレナリンなどの他, アミノ酸系のものが存在することも知られている。アミノ酸系の神経伝達物質では, L-Gluが興奮性を示すことや, GABAが抑制性を示すことなどが報告されており⁵⁾、イカを含む頭足類においても, L-Gluが神経伝達物質としての役割を担っていることがわかっている^{2), 6), 7)}。しかし, 神経伝達物質が死後の個体に対しても神経興奮を誘導し, 運動などの組織機能を発現させるかは, 確認されていない。また, 発色のような, 死後のイカの保存中におこる性状変化に, 神経支配が関与するかどうかといった知見は見当たらない。ここでは, 食品加工への応用の見地から, 神経伝達物質にアミノ酸系のL-GluとGABAを選択し, これらが死後のイカの色素胞活動にどのような影響を与えるかを検討した。

L-Gluの発色作用について検討した結果を図4 (A) に示した。濃度を50 mMまで変化させて浸漬

したところ、10 mMではほとんど効果が認められず、30mMで10分から20分にかけて緩やかに色素胞の拡張がおこった。更に濃度を上げた50mMの場合は顕著で、浸漬後5分で拡張指数が40%まで上昇し、それ以降20分までその値を維持する様子が示された。次に、GABAの収縮作用を見るために、50 mMのL-Gluを含む試験溶液に20分間浸漬して十分な発色を促した後、0~50mMのGABAを含む試験溶液に浸漬した時の結果を図4 (B) に示した。この場合、GABAを10mM以上含む時に拡張指数の低下がおこり、50 mMに浸漬すると瞬時に収縮することが認められた。

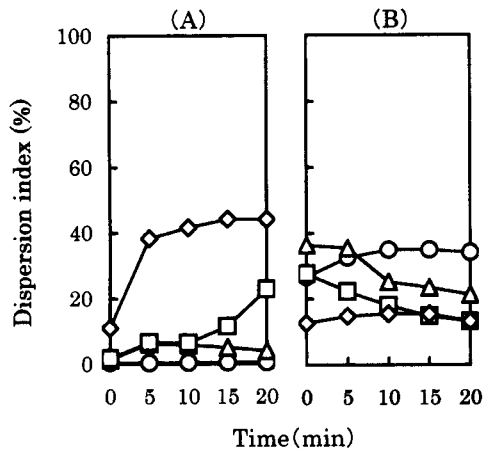


Fig.4 Effect of L-Glu(A) and GABA(B) in dispersion index of squid. (○)0mM, (△)10mM, (□)30mM, (◇)50mM.

3.4 神経伝達物質の影響 (可逆性)

50mMのGABAあるいはL-Gluを含む試験溶液に試験試料を浸漬し、20分毎に試験溶液を入れ替えて色素胞の挙動を観察した。その結果、GABAへの浸漬で収縮した色素胞は、L-Gluに浸漬することによって速やかに拡張することがわかった。その後、GABAに再浸漬するとまた収縮したことから、この反応は可逆的なものであることが確認された。なお、この反応は、少なくとも3反復継続することが示されたが、発色のレベルは次第に低下した(図5)。

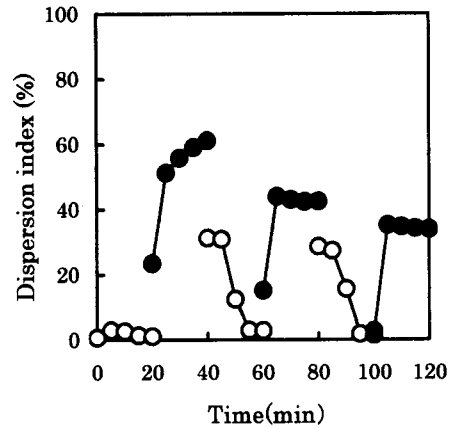


Fig.5 Reversibility of expansile reaction of squid chromatophores when treated with neurotransmitters. (○)50mM GABA, (●)50mM L-Glu.

3.5 神経伝達物質の影響 (持続性)

次に、10mMのL-GluあるいはGABAを加えた人工海水に外套膜全体を浸漬し、5°Cで24時間保存した時の発色率の変化を観察した。L-Gluに浸漬した場合は、比較的速やかに発色率の増加がおこるが長時間の保存で次第に低下すること、更にGABAに浸漬した場合は、速やかに発色率が低下するが次第に上昇を始め、12時間後には両者とも初期レベルの値に収束することがわかった(図6)。

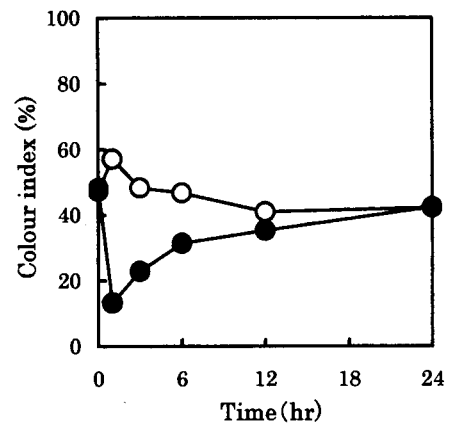


Fig.6 Stability of the allochroous effect in squid when treated with neurotransmitters. (○)10mM L-Glu, (●)10mM GABA.

4. 考 察

生鮮スルメイカは、保存中にダイナミックに体色が変化する(図1, 2)。このため、極めて鮮度が良いために、まだ赤黒く体色が変化していないものが、あたかも鮮度が落ちて白濁したもののよう誤解されたり、肉質が良いにも係わらず、保管・流通環境の影響で体色がまだらになってしま

い、商品価値が低下するものもある。このように、スルメイカの体色に対する関心は、産業的にも高いが、死後の体色変化のメカニズムに係わる知見は、十分に得られていない。

今回、スルメイカの表皮の色素胞活動に対する金属イオンの影響を検討したところ、生息環境である海水中の濃度以上のKが存在する溶液に浸漬することによって、色素胞の拡張が促進されることが示された(図3 (C))。一般に、哺乳類では、KがNaと拮抗しつつ相補的な働きをして神経機能を正常に保っているといわれており、神経生理学の分野では、化学的刺激を与える際の物質としてKが多様されている⁸⁾。また、斉藤、武野は、漁獲直後の発色をおこしていないイカを、Kを含む溶液へ接触させることによって赤澄色化させる技術を開発している⁹⁾。これらのことから、今回認められた結果は、軟体類であるイカにおいても、Kが剥皮した表皮に存在する神経の興奮を誘導することによって、色素胞の運動機能発現をもたらしたものと考えられた。

次に、死後の体色変化に与える神経支配の影響を探るため、L-GluとGABAが死後のイカの色素胞活動に及ぼす作用特性を検討した。その結果、L-GluやGABAによって色素胞の拡張や収縮が誘導されること(図4)、その作用が可逆的な反応であること(図5)、持続性に欠けること(図6)がわかった。一般に、神経伝達物質の作用は、勿論可逆的な生体反応であることに加えて、濃度依存的で¹⁰⁾、持続性に乏しい¹¹⁾という特性を有すると考えられている。このことから、今回認められた、L-GluやGABAによる色素胞の拡張・収縮現象は、神経伝達物質としての作用によっておこっていることが推察されるとともに、死後の体色変化の少なくとも一部に神経支配の影響があることを予想させるものである。これについては今後、神経伝達物質受容体の拮抗剤などを用いた詳細な検討が必要と考えている。

また同時に、今回の結果から、神経活動が継続している間は、L-GluやGABAを用いることによって、体色を制御できる可能性があることが示唆された。特に、GABAが拡張した色素胞を収縮させるように作用することが確認できたことから、保存中に見られる発色を抑制できる可能性があることが明らかとなった。

謝 辞

研究の遂行にあたり適切なご助言をいただいた、北海道大学関伸夫名誉教授、桜井泰憲教授に深くお礼申し上げます。

この研究の一部は、文部科学省「都市エリア産学官連携促進事業」の一環として、北海道大学大学院水産科学研究院、参画水産関連企業と取り組んだ共同研究の成果である。

参考文献

- 1) 奈須敬二, 奥谷喬司, 小倉通男共編著, イカ—その生物から消費まで—(成山堂書店), (1991), P33~67
- 2) 奈須敬二, 奥谷喬司, 小倉通男共編著, イカ—その生物から消費まで—(成山堂書店), (1991), P251~294
- 3) Ernst Florey, Françoise Dubas, Roger T. Hanlon: Comp. Biochem. Physiol., Vol. 82 C, No. 2 (1985), P259~268
- 4) 吉岡武也: 学位論文(北海道大学), (2003), P6~7
- 5) 新生化学実験講座11-神経生化学-(東京化学同人), (1990), P319~321
- 6) P. L. R. Andrews, J. B. Messenger and E. M. Tansey: Proc. R. Soc. Lond., B213(1981), P93~99
- 7) J. B. Messenger, C. J. Cornwell and C. M. Reed: The Journal of Experimental Biology 200(1997), P3043-3054
- 8) 小野富男: 生化学第76巻, 第12号(2004), P1560~1565
- 9) 斉藤博子, 武野潔: 特開平5-123099
- 10) Ernst Florey: Comp. Biochem. Physiol., Vol. 18 (1966), P305-324
- 11) 小野寺加代子, 竹内昭: 蛋白質 核酸 酵素, Vol. 35, No. 4 (1990), P734~742