

生鮮スルメイカ保管中に起こる性状変化に関する研究Ⅲ —外套膜のATP含量が体色変化に及ぼす影響—

木下康宣, 吉岡武也, 今野久仁彦*

Quality Change of Fresh Squid upon Storage III — Effect of ATP Content in Squid Mantle on Skin Color during Storage —

Yasunori Kinoshita, Takeya Yoshioka and Kunihiko Konno

要 旨

生鮮イカの体色変化のメカニズムに関する知見を得る目的で、外套膜のATP含量が発色に及ぼす影響を検討した。表皮の赤黒さを示す発色率は、5℃の空気中および窒素包装中で外套膜を保管した場合、何れの条件でも時間経過に伴って増加した。しかし、発色率が最大値に達する時間は、空気保管時24時間だったのに対して、窒素包装して保管した場合6時間と早かった。この時の表皮のATP含量は、窒素包装して保管すると24時間で消失していたが、空気中で保管した際72時間に亘って即殺直後と同等のレベルを維持していた。これらの結果から、窒素包装中で見られた発色は、表皮のATPの消失と同調したものであるが、空気中で保管した時におこる発色は、ATP含量の減少によるものでないことが明らかとなった。

1. はじめに

生鮮水産物にとって、鮮度はその価値を左右する最も重要な品質要素の一つである。活きている時のスルメイカは、表皮にも透明感があって内臓が透けて見えるほどである。この時、表皮内に存在する色素胞は、物理的な刺激に対して活発に拡張・収縮運動を繰り返す。この運動性は、致死後もしばらく持続されていることが知られている¹⁻³⁾。このような状態にあるものは、生鮮イカの中で最も商品的価値が高い。一方、刺激に対する色素胞の運動性は、空気中で保管することによって時間と共に失われ、表皮に由来する体色（以下、体色と表現する）は、徐々に赤黒く変化していく（以下、発色と表現する）。体色はその後の時間経過に伴って白く変化するが、このようなイカの価値は高くない。このようなことから、イカの体色変化に対する産業界の関心は高く、発色制御という視点からの鮮度保持技術開発に興味を持たれてい

る。しかしながら、保管中に起こる発色のメカニズムは明らかでなく、制御する技術も開発されていない。

イカの体色は、色素胞の運動によって起こる拡張・収縮割合により決定される³⁻⁶⁾。発色するのは、色素胞の拡張割合が多くなるためである。筋肉の生理的な運動は、生体エネルギー成分であるATP（アデノシン三リン酸）を分解することで得られるエネルギーの消費を伴った反応である。魚介類一般で見られる死後硬直もまた、筋肉中のATP含量の低下に伴って起こることがわかっている⁷⁾。このことから、保管中のイカで見られる体色変化は、死後の色素胞組織でおこるエネルギーの低下に起因していると推察されている⁸⁾。しかしながら、イカ表皮の保管中におけるATP含量の変化を検討した例は見当たらない。

そこで、本研究では、死後のスルメイカの体色変化に関する知見を得る目的で、外套膜のATP含

* 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

量が発色に及ぼす影響を検討した。ここで発色に限って検討したのは、最終的に体色制御に着目したスルメイカの鮮度保持技術の開発につながるためである。

2. 実験方法

2.1 実験材料

函館近海で漁獲された、活きたスルメイカ *Todarodes pacificus* (292-374 g) を活魚車で実験室へ運び、断頭により即殺したものから得た外套膜を使用した。

2.2 保管方法

イカ外套膜を5°Cの空気中および窒素包装中で0-72時間保管した。

空気中で保管を行う場合は、イカ外套膜をプラスチックトレイにのせ、表皮とポリエチレン袋(低密度, 0.03×650×700mm)が接触して物理的な体色変化をおこさないよう注意しながら、過度に乾燥が進行しないようポリエチレン袋で覆って保管した。窒素包装中で保管する時は、試料をガスバリア性の高い包装資材(四国化工(株):活かすパック, 酸素透過度:40cc/m²・24h・atm (23°C, 75%RH), 0.15×200×320mm)に投入して真空包装した後、窒素ガス(99.9%)を2,500ml充填して保管した。

2.3 発色率の測定方法

保管前後の試料を色見本(Toyo 94 Color Finder1050, CF155, 東洋インキ)とともにバットに載せてデジタルカメラで静止画を記録し、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.)により二階調化した結果から、観察視野面積に対する黒色化された面積の割合を百分率として求め、発色率(%)として表した⁹⁾。結果は、6個体の平均値で示した。

2.4 ATP関連化合物の分析方法

既法¹⁰⁾に従い、高速液体クロマトグラフ(TOSOH, LC-8020)を用いて測定した。一定期間保管したものから試料を採取し、液体窒素で即時凍結した後、分析まで-80°Cで保管した。抽出は、凍った状態の試料に25倍量の冷10%過塩素酸

を加え、氷水中で磨砕することにより行った。抽出液は、4,000×gで10分間遠心分離を行い、ろ過した上清を5M KOHで中和した後、0.2 μmのメンブランフィルターを通して使用した。カラムにはTOSOH社製のODS-80TS (4.6 mm I.D. × 250 mm)を用い、溶出はA液〔0.1Mリン酸ニ水素ナトリウム(pH 4.1)〕とB液〔20%アセトニトリルを含む同溶液〕の2液を用いたリニアグラジェントにより行った。流速は1 ml/min, カラム温度は室温, 検出波長は254 nmとした。検出は、ATP, ADP(アデノシン二リン酸), AMP(アデニル酸)の3成分について行った。結果は何れも6個体の平均値で示した。

3. 結果

3.1 保管中の体色変化に及ぼす酸素の影響

5°Cの空気および窒素包装中で、致死直後のスルメイカ外套膜を保管した時の発色率の変化を測定した。結果をFig. 1に示す。空気中で保管した場合の発色率は、即殺直後54%であったものが88%まで徐々に増加し、24時間で最大となった。一方、窒素包装中で保管した場合は、保管直後の57%から77%まで急速に増加し、6時間で最大値に達した。このことから、窒素包装して保管した場合は、空気中に比べて早く発色がおこることが示された。なお、空気中の酸素濃度は、21%であり、窒素包装中で保管した場合は、保管期間を通して包装試料中の酸素濃度が0.1%未満であることを確認している。

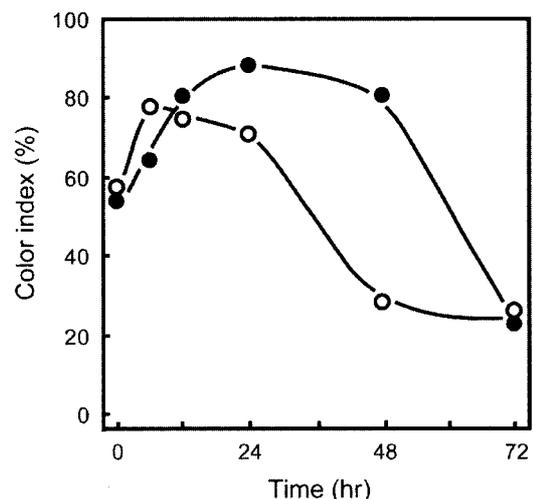


Fig. 1 Change in color index of squid skin stored in air (●) and N₂ (○). Squid mantle was stored at 5°C. Values represent the average of six samples.

3.2 空气中で外套膜を保管した時のATP関連化合物の変化

5°Cの空气中でイカ外套膜を保管した時の、筋肉中のATP関連化合物の変化をFig. 2に、表皮中のATP関連化合物の経時変化をFig. 3に示す。

即殺直後の筋肉のATP含量は6.2 $\mu\text{mol/g}$ であったが、24時間後には0.2 $\mu\text{mol/g}$ へと急速に低下した。ADPは、即殺直後1.8 $\mu\text{mol/g}$ あったが、時間経過に伴い徐々に減少した。AMPは、保管24時間で0.3 $\mu\text{mol/g}$ から5.4 $\mu\text{mol/g}$ へと急速に増加し、その後徐々に減少した。この時の筋肉中では、保

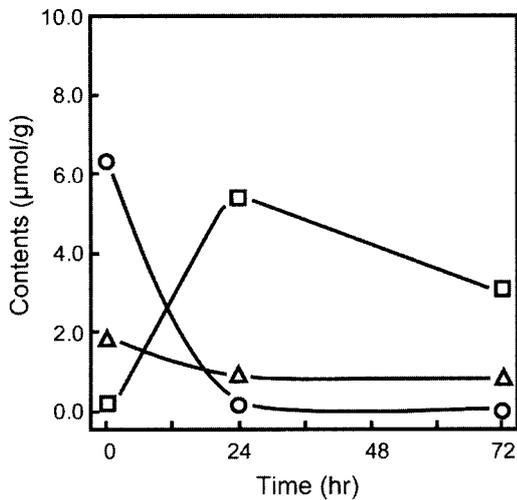


Fig. 2 Changes in content of ATP related compounds in squid muscle. Squid mantle was stored in air at 5°C. ATP (○), ADP (△) and AMP (□) were measured on HPLC. Values represent the average of six samples.

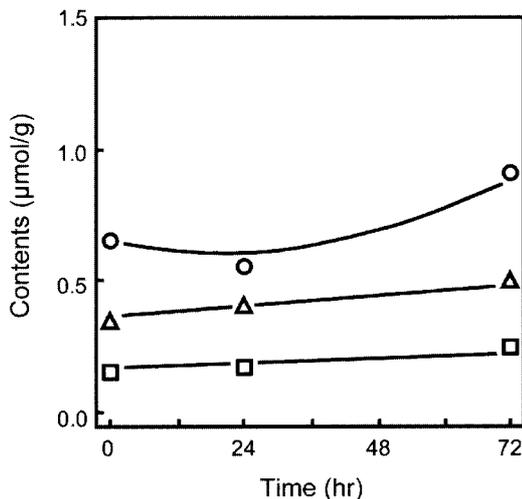


Fig. 3 Changes in content of ATP related compounds in squid skin. Squid mantle was stored in air at 5°C. The same symbols were used as in Fig. 2. Values represent the average of six samples.

管24時間でATPが著しく低下し、AMPの蓄積がおこなっていることが示された。

一方、表皮のATP含量は、即殺直後0.6 $\mu\text{mol/g}$ であり筋肉に比べると低かったが、72時間経過しても0.9 $\mu\text{mol/g}$ と高い値を維持しており、保管中に減少することはなかった。ADPおよびAMPも、保管中それぞれ0.3-0.5 $\mu\text{mol/g}$, 0.2-0.3 $\mu\text{mol/g}$ で推移し、保管期間を通して大きな変化が認められなかった。このことから、空气中で保管した場合、筋肉中のATP含量は24時間で消失するが、表皮中では72時間に亘って即殺直後と同等のレベルが維持されていることが示された。

3.3 窒素包装中で外套膜を保管した時のATP関連化合物の変化

5°Cの窒素包装中でイカ外套膜を保管した時の表皮のATP関連化合物の変化をFig. 4に示す。

表皮のATP含量は、保管開始時から急速に減少し、24時間で0.6 $\mu\text{mol/g}$ から0.1 $\mu\text{mol/g}$ へ低下した。ADPは、保管中緩慢に減少し、72時間で0.5 $\mu\text{mol/g}$ から0.1 $\mu\text{mol/g}$ へと低下した。AMPは、24時間で0.1 $\mu\text{mol/g}$ から0.5 $\mu\text{mol/g}$ へと増加したが、それ以降大きな変化がなかった。窒素中で保管した際の外套膜の表皮では、空気保管時と異なり、ATPが24時間で著しく低下することが示された。なお、この時の筋肉中では、空気保管時と同

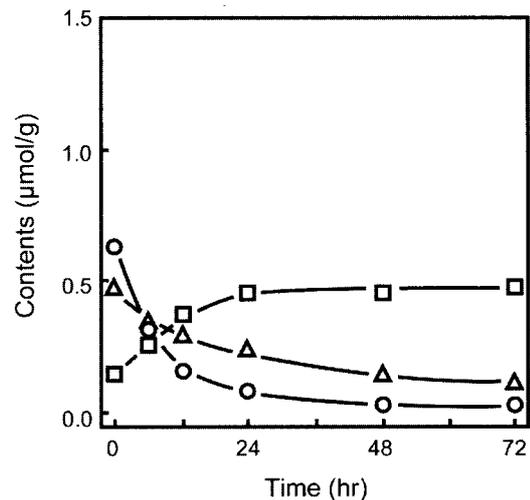


Fig. 4 Changes in content of ATP related compounds in squid skin. Squid mantle was stored in N_2 at 5°C. The same symbols were used as in Fig. 2. Values represent the average of six samples.

様、保管開始からATP含量が減少して24時間後に消失し、変わってADPやAMPの蓄積が起きていることを確認している。

4. 考 察

初めに、酸素濃度が発色に及ぼす影響を検討するため、空気中および窒素包装中でイカ外套膜を保管した時の発色率の変化を測定した。その結果、窒素包装中で保管した場合は、空気中に比べて早く発色がおこることがわかった (Fig. 1)。実験は複数回行ったが、結果は何れも同じ傾向を示した。

次に、発色に及ぼす外套膜中のATP含量の影響を探るため、空気中で保管した外套膜の筋肉および表皮におけるATP関連化合物の変化を追跡した。その結果、空気保管時の筋肉では、保管24時間でATPが消失していることがわかった (Fig. 2)。また、データは示していないが、窒素包装して保管した外套膜の筋肉でも、同様の傾向にあることを確認した。これらの保管条件では、発色率が最大に至る時間が異なっていたにも係わらず、筋肉中のATP含量の変化が一致していた。我々は、スルメイカを0℃で保管した場合、24時間で発色がおこるが、厚みの変化は12時間で最大に達することから、保管中におこる筋肉の収縮と発色には、直接の関係がないことを報告している¹⁰⁾。今回の結果から、発色には、筋肉中のATP含量そのものの影響がないことも明らかとなった。一方、窒素包装して外套膜を保管した場合の表皮では、発色の進行と同調して、ATP含量が減少していることがわかった (Fig. 1, 4)。先に述べたとおり、筋肉の生理的な運動は、ATPの分解によって得られるエネルギーの消費を伴う反応である。よって、色素胞の運動もエネルギーを利用した反応であると考えられる。このことから、窒素包装時に見られた発色は、魚肉の死後硬直と同様、ATP含量の減少が色素胞の拡張を招いたものと考えられた。また、発色に至る時間が空気保管時に比べて早かったのは、窒素包装という低酸素環境下で急速に表皮のATP含量の減少がおこったためと推察された。一方、空気中で保管した場合には、表皮のATP含量が高く維持されているにも係わらず、発色がおこった (Fig. 1, 3)。この場合の発色は、ATPの消失以外の要因によって引き起こされていること

が明らかとなった。活着している時のイカ色素胞の運動は、神経刺激により制御されている¹¹⁻¹²⁾。発色がおこった時点のATP含量は、即殺直後と変わっていない。この結果は、生息時に有している表皮組織の機能の一部が死後も保存されていることを示している。このことから、空気中で保管した際に認められた発色は、致死あるいは保管環境などの条件の何かが刺激要因となっていることを示唆していると考えられた。また、表皮中のATP含量が致死後72時間も即殺直後と同等のレベルに保持されていたのは、表皮のATP生産活動がイカの死後も酸素共存下で継続されていることを示していると考えられた。これらの結果から、空気中で保管した際におこる発色は、筋肉同様、表皮中のATP含量とも直接関係していないことが明らかとなった。なお、即殺直後の表皮のATPは、筋肉の値に比べると15%程度と少なかった (Fig. 2-4) が、スルメイカの表皮は、組織学的特性の異なる4層で構成されており、その主成分は、生理的な運動を行う組織とは異なる結合組織であることから、即殺直後の筋肉と表皮間で認められたATP含量の差異は、組織を構成する成分の違いに起因していると考えられた。

以上の結果から、空気中で保管した際におこるイカの発色は、魚肉の死後硬直で見られるような現象と異なり、外套膜中のATP含量の低下に直接関係しないことが明らかとなった。現時点では、これらの変化が何に起因するのか明らかでない。今後更に検討を進め、生鮮スルメイカ保管中の発色制御技術開発へつなげたいと考えている。

謝 辞

研究の遂行にあたり適切なお言葉をいただいた、北海道大学関伸夫名誉教授、桜井泰憲教授および旭川医科大学加藤早苗助教に深くお礼申し上げます。また、各種分析および結果の取りまとめにご協力いただいた、研究補助員の野上智代さんに感謝いたします。

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す。ここに記して感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 潮秀樹. マダイおよびイカ類色素胞と体色制御法「水産物の品質・鮮度とその高度保持技術」(中添純一・山中秀明編) 恒星社厚生閣, 東京. 2004; 102-112.
- 2) Flory E. Nervous control and spontaneous activity of the chromatophores of a cephalopod, *Loligo opalescens*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1966; 18: 305-324.
- 3) Messenger JB. Cephalopod chromatophores: neurobiology and natural history. *Biol. Rev.* 2001; 76: 473-528.
- 4) 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, 東京. 1991; 33-67.
- 5) Cloney RA, Florey E. Ultrastructure of cephalopod chromatophore organs. *Z. Zellforsch Mikrosk Anat.* 1968; 89: 250-280.
- 6) Florey E. Ultrastructure and function of cephalopod chromatophores. *Am. Zoologist.* 1969; 9: 429-442.
- 7) 「水産食品学 (第5印)」(須山三千三・鴻巣章二編) 恒星社厚生閣, 東京. 1996; 95-98.
- 8) Okada T, Ushio H, Ohshima T. Skin color changes of squids *Todarodes pacificus* and *Loligo bleekeri* during chilled storage. *J Food Sci.* 2004; 69: S414-417.
- 9) 吉岡武也. スルメイカ品質の新評価法と保持技術に関する研究. 学位論文 (北海道大学) 2003; 6-7.
- 10) Yoshioka T, Kinoshita Y, Yoshino H, Park S, Konno K, Seki N. Change in translucency of squid mantle muscle upon storage. *Fish Sci.*, 2003; 69: 408-413.
- 11) Andrews PLR, Messenger JB, Tansey EM. Color changes in cephalopods after neurotransmitter injection into the cephalic aorta. *Proc. R. Soc. Lond.B.*, 1981; B213: 93-99.
- 12) Messenger JB, Cornwell CJ, Reed CM. L-Glutamate and serotonin are endogenous in squid chromatophore nerves. *The Journal of Experimental Biology.* 1997; 200: 3043-3054.