

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：34517

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650485

研究課題名(和文) 麻痺性貝毒含有二枚貝の嗜好性を高める除毒調理法の確立

研究課題名(英文) Establishment of cooking method to enhance palatability and reduce in toxicity of paralytic shellfish poison-containing bivalves

研究代表者

橋本 多美子 (HASHIMOTO, Tamiko)

武庫川女子大学・生活環境学部・准教授

研究者番号：60248325

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：一般調理による麻痺性貝毒含有二枚貝の除毒を試みた。その結果、毒化二枚貝の毒性は、磨砕物をpH7.2に調整し、30分間煮ることで規制値(4MU/g)以下となった。調理過程での遊離アミノ酸とATPおよび核酸関連化合物量はわずかに減少したが、食味への影響は少ないと考えられた。一方、pH7.2に調整し、毒化ムラサキガイと野菜ペーストの混合物を15分間煮た場合に除毒が認められ、大根ではきわめて高い効果を示した。以上の結果、毒化二枚貝はpH7.2に調整すること、除毒効果のある野菜と一緒に調理することで、嗜好性を損なうことなくPSPの除毒効果を発揮することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Attempts were made to reduce toxicity of paralytic shellfish poison(PSP)-containing bivalves by cooking. As the result, the toxicity of toxic bivalves decreased to under the quarantine limit(4MU/g) when the homogenates adjusted to pH7.2 were boiling for 30 minutes. The amounts of total free amino acids and ATP-related compounds by the cooking were slightly decrease, and influence on taste was considered to be small. On the other hand, the reduction in PSP toxicity was observed, when boiling for 15 minutes with vegetable and toxic mussels pastes adjusted to pH7.2, and it showed reduction more effectively in Japanese radish. These results suggested that the detoxification effect enhance when toxic bivalves adjusted pH7.2 was cooking for 15 minutes with vegetable, without impairing the palatability.

研究分野：複合領域

キーワード：麻痺性貝毒 除毒調理 二枚貝 野菜

1. 研究開始当初の背景

貝類は呈味成分やミネラルなどを豊富に含有しており、日本人の食生活に重要な役割を果たしてきた。しかしながら、瀬戸内海域では、度々有毒渦鞭毛藻の発生による二枚貝の毒化(麻痺性貝毒:以下PSPとする)が発生し、食品衛生上ならびに産業上深刻な問題となっている。有毒渦鞭毛藻が増殖して貝類が毒化すれば、プランクトンの消失により、規制値(4MU/g可食部)以下となるまで長期間貝類を出荷することができず、風評被害等により価格下落の原因となり、水産業に甚大な経済的被害を与えている。

これまでPSP被害軽減対策として、沿岸域を中心に有毒プランクトンの出現量の測定による二枚貝の毒化予察、そして有毒種の発生が警戒レベルに達すると養殖筏の移動による毒化軽減対策がとられている。

一方、PSPで毒化した貝類からの除毒を試みる研究が行われている。オートクレーブ加熱や缶詰加工による除毒の可能性、さらにPSPの減毒にポリフェノールが関わっているとの報告がある。しかし、食品の嗜好性に配慮した調理・加工品の開発には至っていない。そこで、二枚貝からの除毒とその有効利用を目的に、嗜好性を高める調理法の検討を行った。

2. 研究の目的

本研究は毒化二枚貝を無毒化し、未利用資源の有効利用法を検討するためにPSPの除毒調理法を確立することを目的とする。そこで、まず既知の除毒処理法を活用し、pHおよび加熱時間、調理法が除毒に与える影響について検討を行う。次いで、除毒調理した際の呈味成分(遊離アミノ酸、ATPおよび核酸関連成分)の分析を行い、嗜好面の適否を調べる。さらに、調理によりPSPの分解を促進する食品を検索するため、食品と毒化二枚貝の抽出液とを反応させ、除毒状況について検討する。これらより、嗜好性の高い除毒調理法の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1)試料

瀬戸内毎東部四国沿岸および大阪湾にて採取した毒化マガキおよび毒化ムラサキガイを試料とした。

(2)調理法別の除毒効果の検討

除毒調理法の検討には毒化マガキを使用し、むき身にしたものをホール状とした。ホール状試料は、0.01mol/L炭酸水素ナトリウム溶液中で浸漬(10分および30分)した。一方、ホモジナイズしたカキペースト試料は、炭酸水素ナトリウム溶液でpH7.2に調整した。調理法としては、一般的な調理法である「煮る」と「焼く」を用いた。「煮る」調理では、耐熱容器に入れたカキペースト試料を沸騰水浴中で5分、30分、60分間加熱した。「焼く」調理では、カキホール試料をオーブ

ン(200 7分)で加熱した。カキペースト試料はアルミ容器に入れ、オープン(200 8分30秒、230 8分30秒)で加熱した。

各加熱試料に同量の0.1mol/L塩酸を加えて磨砕した後、沸騰水浴中で5分間加熱し、遠心分離(800×g、15分)にて得られた上清をSep-Pak(Waters,C18)で処理した。次いで限外濾過(12600×g、20分)を行い、分子量10,000以下の画分を粗抽出液とし、HPLCにて毒量を調べた。また、毒化マガキはマウス毒性試験に供して毒力を測定した。

(3)除毒調理条件の検討

毒化ムラサキガイをホモジナイズしてペースト状にし、pH未調整試料、pH7.0およびpH7.2に調整した試料の3区に分けた。ペースト試料は各3gを遠心管に入れ、沸騰水浴中で5分、10分、15分、20分、30分間加熱を行った。毒の抽出および分析は、除毒調理法の検討に記載した方法に準じて行った。

(4)一般調理への応用

ペースト状のカキ試料を用いて、ロールキャベツを調製した。すなわち、pH未調整のカキ試料とpH7.0およびpH7.2に調整したカキ試料をそれぞれ肉種の20%になるよう添加し、キャベツに包み、トマトを加えた煮汁中で20分煮込んだ。ロールキャベツは各条件で2個ずつ加熱調理し、煮る場所を鍋の中央と端の2区にわけた。調理後にロールキャベツと煮汁に分け、一般調理試料とした。毒の抽出および分析は、除毒調理法の検討に記載した方法に準じて行った。

(5)エキス成分の変化

毒化ムラサキガイに等量の10%過塩素酸を加えて磨砕後、遠心分離(12,600g×10min)を行い、上清を得た。この工程を計3回繰り返した。2回目以降の工程では5%過塩素酸を加えた。得られた上清をろ過した後、1mol/L水酸化カリウムにてpH6.5~6.8に調整し、メスフラスコにて25mlに定量した。さらに、得られた上清をウルトラフリー(ミリポア)にて限界ろ過(12,600g×30min)し、分子量10,000以下の画分を粗抽出液とした。これをATPおよび核酸関連成分(HPLC)、遊離アミノ酸(高速アミノ酸分析計)の分析に供した。

(6)除毒効果をもつ食材のスクリーニング

ロールキャベツに使用した食材を中心に7種の野菜と赤ワインをスクリーニングに使用した。野菜はミキサーを用いてペースト状に、毒化ムラサキガイはホモジナイズしてpH未調整試料およびpH7.2調整試料に区分した。遠心管に貝試料2g、蒸留水1ml、各食材2gを入れて30分間放置したのち、沸騰水浴中で15分間加熱した。毒の抽出および分析は、除毒調理法の検討に記載した方法に準じて行った。

4. 研究成果

(1) 毒化マガキの調理法別の除毒効果

毒化マガキの毒性試験の結果を表 1 に示す。生の毒化マガキの毒量は可食部 1g あたり 23.1MU (マウスユニット) であり、「ホール状焼く」試料、「ペースト状焼く」試料では加熱時間に関係なく、毒量を維持していた。しかし、「ペースト状煮る」試料では加熱 30 分で検出限界 (4MU/g) 以下まで減少し、除毒効果が示された。

また、これらの試料の毒組成を図 1 に示す。生マガキの毒組成は、C1,2 を主成分とし、GTX1~4、dcGTX2,3 で構成されていた。「ホール状焼く」で調理した場合、GTX1,4 の割合が減少するとともに GTX2,3 の割合が増加した。しかし、浸漬時間の違いによる差は認められなかった。「ペースト状焼く」および「ペースト状煮る」試料のうち、毒量の減少率の低い条件では、加熱調理により C1,2 の割合が減少するとともに、dcGTX2,3 が増加し、PSP 成分の変換が認められた。

以上より、PSP の除毒には、ペースト状がよく、さらに加熱 30 分の煮る操作で効果が高いことが示唆された。

表 1 毒化マガキの調理操作別マウス毒性値

調理操作	加熱条件 時間/温度	毒性値 (MU/g)
生マガキ	-	23.1
ホール状・焼く	0分	21.4
	10分	19.3
	30分	20.6
ペースト状・焼く	200	21.4
	230	23.8
ペースト状・煮る	0分	17.6
	5分	13.1
	30分	ND
	60分	ND

ND : not detected (不検出)

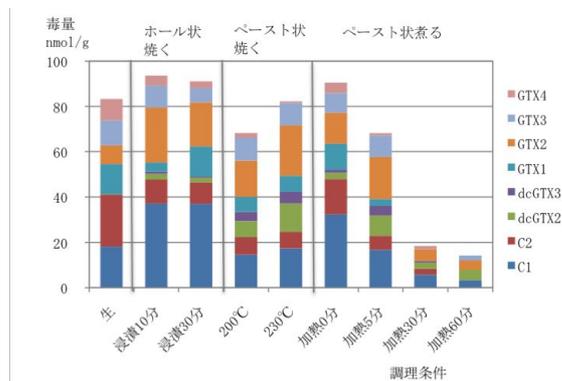


図 1 HPLC 分析による毒化マガキの調理操作別 PSP 量

(2) 加熱時間と pH がムラサキイガイペーストに含まれる PSP の除毒に与える影響

毒化ムラサキイガイペーストの pH と 100 加熱時間の違いによる PSP 量の変化を図 2 に示す。pH 未調整での加熱 0 分の総毒量は、

256.7nmol/g で、加熱により緩やかな減少がみられたが、加熱 30 分でも毒の減少率は 20% 程度にとどまった (図 2A)。毒組成はいずれも GTX1~4、dcGTX2,3、C1,2 で構成されていた。加熱 0 分では GTX1,4 で 46%、C1 で 24% と主成分となっており、加熱 10 分以上で dcGTX2 および GTX2 の割合が増加した。

pH7.0 に調整したムラサキイガイペーストの加熱 0 分の総毒量は 269.4nmol/g で、加熱時間に応じて漸減した (図 2B)。加熱 30 分の毒量は 13.7nmol/g と低値を示し、95% が除毒された。毒組成は、加熱により dcGTX2 と GTX2 の含有割合が増加した。

pH7.2 に調整したムラサキイガイペーストの加熱 0 分の総毒量は 233.1nmol/g で、加熱 10 分までに急激に減少し、21% まで低下した (図 2C)。その後も減少傾向を示し、加熱 30 分には 98% が減少し、4.7nmol/g と低値を示した。毒組成に関しては加熱 0 分では C1 が 35%、GTX1 が 22% で半数以上を占めていた。加熱 30 分には dcGTX が 74% と主成分となり、C1,2 は消失した。

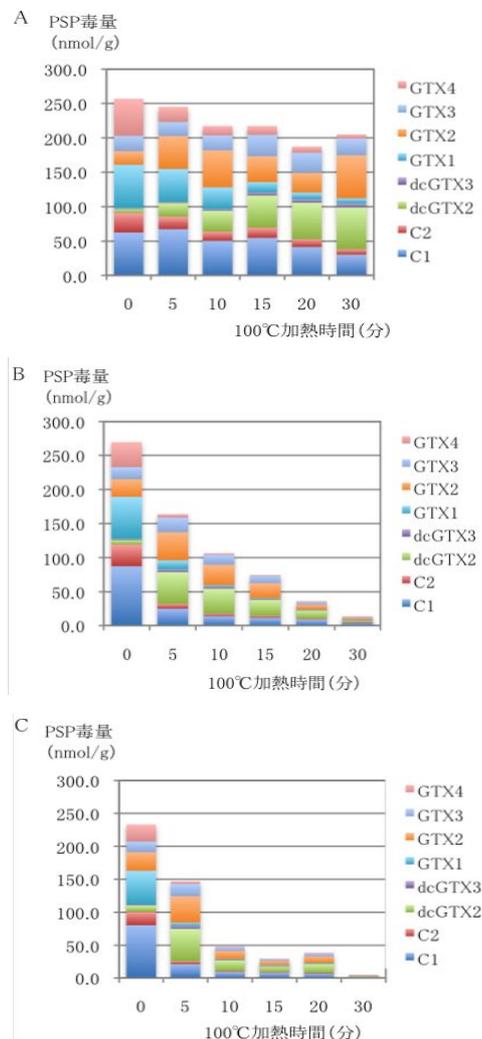


図 2 加熱時間および pH が毒化ムラサキイガイの除毒に与える影響

A : pH 未調整試料, B : pH7.0 調整試料
C : pH7.2 調整試料

他方、PSP 毒量を毒性値に換算すると、pH 未調整の加熱 0 分の毒性値は 316MU/g と高く、加熱 20 分には 55% 低下した 140MU/g となった。pH7.0 調整の加熱 0 分の毒性値は 282MU/g となり、pH 調整により若干の毒性値が低下した。さらに、加熱 10 分で 73%、加熱 30 分では 98% 低下し、加熱による除毒が確認された。しかし、除毒率は高いものの毒性値は規制値を少し超えていた。pH7.2 調整の加熱 0 分の毒性値は 235MU/g で、加熱 5 分で 50% まで低下し、加熱 30 分には規制値を下回った。一般に PSP 毒化二枚貝を加熱調理しても毒性は下がらないと言われている。しかし、今回の加熱調理では PSP 成分の変換が起こり、毒性値の低下が認められた。

(3) 除毒調理によるエキス成分の変化

ATP および核酸関連成分

生のムラサキガイに含有する核酸関連成分は、イノシン酸 (IMP)、グアニル酸 (GMP)、アデノシン-1リン酸 (AMP)、アデノシン-2リン酸 (ADP)、アデノシン-3リン酸 (ATP) の順に多かった。

生試料には 1.74mg/100g の核酸関連成分が含まれており、pH 未調整の加熱調理後の試料では加熱の影響はなく、生の含有量をほぼ維持していた。pH7.0 および pH7.2 に調整した試料では生試料より 20% ほど低値を示した。pH7.0 試料では加熱の影響はなく、pH7.2 試料においては加熱により総量が 10~30% 減少した。

遊離アミノ酸

生のムラサキガイに含まる遊離アミノ酸は、タウリン、グルタミン酸、アラニン、グリシン、アスパラギン酸が主要なアミノ酸で、これらで総量の 68% を占めていた。pH や加熱時間の影響はなく、いずれも遊離アミノ酸組成に大きな変動はみられなかった。

遊離アミノ酸の総量は、生試料で 954.0mg/100g 含有しており、pH 未調整では加熱時間による大きな増減はみられず、30 分の加熱でも生試料の 96% を維持していた。pH7.0 の加熱 0 分では、生試料の 87% の遊離アミノ酸を含有しており、加熱による減少率は 10% であった。pH7.2 の加熱 0 分では 97% を含有しており、加熱による影響は少なかった。貝類の呈味成分であるグルタミン酸などの遊離アミノ酸量は、pH 未調整試料と pH 調整試料の両方で差異はなかった。

(4) 一般調理による除毒効果

毒化マガキを添加したロールキャベツの pH 条件別の PSP 量を表 2 に示す。pH 未調整のロールキャベツの総毒量は、添加量と変動がなかった。しかし、ロールキャベツ 2 個のうち、端で加熱した試料と中央で加熱した試料の両方で毒量に差がみられた。毒組成は、端で加熱した試料では高毒性成分である GTX1 が約 60% と主成分となっており、中央

で加熱した試料では C1,2 の低毒性成分が約 90% を占めており、PSP 組成割合の違いが毒量に影響していた。

pH7.0 および pH7.2 に調整した毒化マガキペーストを添加したロールキャベツの毒量は、いずれも煮る場所の影響はみられず、調理後に添加量の 1/4 程度に減少した。毒組成は両試料とも C1,2 が全体の約 80% を占め、その他 GTX2、GTX4、dcGTX3 で構成されていた。

一方、煮汁中へは pH 調整の有無に関係なく、添加量の 6~8% 分の毒量が溶出した。煮汁中の PSP は低毒性の C1,2 のみであった。

以上より、pH7.0 や pH7.2 に調整して煮ることでロールキャベツ中の毒量は減少した。煮汁中への PSP の溶出もみられたが、ロールキャベツ中で減少した毒量がすべて煮汁へ溶出したとは考えにくく、温和にアルカリ処理することで PSP の分解が起こったと推察された。

表 2 毒化マガキを添加したロールキャベツの除毒調理後の PSP 量

pH 条件	添加量	ロールキャベツ		煮汁 nmol	合計 nmol
	nmol/ 2 個	端	中央		
未調整	126.5	78.6	41.6	8.8	129.0
pH7.0	126.5	17.3	16.6	8.2	42.1
pH7.2	126.5	13.4	17.0	10.2	40.6

(5) 除毒効果のある食材のスクリーニング

除毒効果のある食材のスクリーニング結果を図 3 および図 4 に示す。pH 未調整ではキャベツ、大根、ショウガ、レンコンのそれぞれとムラサキガイとの混合磨砕物試料で毒量が低値を示し、除毒効果が認められた。キャベツと大根においては毒量が 23% ほど減少した。

一方、pH7.2 では 8 種すべての食材で毒量の減少が認められた。除毒割合は、大根で 97%、レンコンで 84%、長芋で 81% と高い減少率を示した。毒組成に関しては、野菜の添加で GTX2 と dcGTX2 の割合が増加した。

食材の中で、247MU/g の高い毒性のムラサキガイを規制値以下まで除毒できたのは、pH7.2 の条件下における大根であった(表 3)。

また、8 種の食材の pH と毒量の相関を求めたところ、pH 未調整では二つの変数の間には中程度の負の相関関係 ($r = -0.554$) が認められた。pH が中性よりの食材と反応させた方が除毒効果も高い傾向を示した。

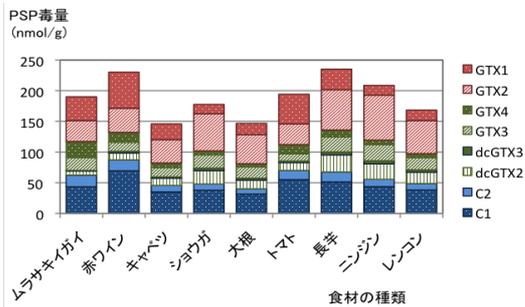


図3 pH未調整の毒化ムラサキイガイと共に除毒調理した各種食材のPSP含量

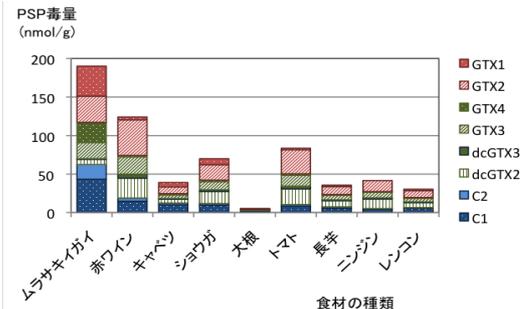


図4 pH7.2に調整した毒化ムラサキイガイと共に除毒調理した各種食材のPSP含量

表3 毒化ムラサキイガイと共に除毒調理(加熱15分)した後の各食材の毒性値

	赤 ワ イ ン	キ ヤ ベ ツ	シ ヨ ウ ガ	大 根	ト マ ト	長 芋	ニ ン ジ ン	レ ン コ ン
pH未調整	245	145	152	137	207	220	177	147
pH7.2	105	36	66	ND	71	30	32	25

単位：MU/可食部g

(6)まとめ

以上の結果より、高い毒性を示す二枚貝においても、pHを7.2に調整した後、煮る操作を行うことでPSPの除毒効果が高いことが示唆された。温和なアルカリ処理により、高毒性成分より低毒性成分への変換が起こり、さらに分解が進んだことでPSPの除毒につながったと推察された。また、除毒調理を行った際のエキス成分含量は若干減少する傾向もみられたが、食味に影響を与えるほどではないと考えられた。

一方、食品添加によるPSPの除毒効果は大根で大きかった。このように野菜と一緒に除毒調理をすることで247MU/gもの高い毒性のムラサキイガイから安全な状態までPSPを除毒することが可能であった。特に、大根の場合はpH未調整試料においても23%の毒量の減少がみられ、pH7.2に調整した試料では規制値以下となり、除毒効果が認められた。こ

のことからも、野菜にはPSPの除毒効果を示す食品成分が存在する可能性も考えられる。今後は食材の種類を増やし、除毒調理条件の検討を行い、除毒効果をもつ食品成分を調べる必要があると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 4件)

西尾幸郎・江戸梢・橋本多美子・山本圭吾, 2014年大阪湾で毒化した二枚貝のPSP組成, 2015.3.29, 日本水産学会平成26年度春季大会, 東京海洋大学(東京都・港区)

橋本多美子・畑中映理子・江戸梢・相良剛史・西尾幸郎, 加熱調理による麻痺性貝毒含有カキの除毒とエキス成分の変化, 2014.11.29, 日本食生活学会第49回大会, ITビジネスプラザ武蔵(石川県・金沢市)

江戸梢・西尾幸郎・橋本多美子・吉田恵・相良剛史, 大阪湾に発生した有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* による食用二枚貝の毒化について, 2014.11.29, 日本食生活学会第49回大会, ITビジネスプラザ武蔵(石川県・金沢市)

橋本多美子・相良剛史・西尾幸郎, PSPで毒化したカキの加熱調理操作における除毒効果, 2013.6.1, 日本食生活学会第46回大会, 淑徳大学(千葉県・千葉市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋本 多美子 (HASHIMOTO, Tamiko)

武庫川女子大学・生活環境学部・准教授

研究者番号：60248325

(2)研究分担者

江戸 梢 (EDO, Kozue)

四国大学短期大学部・助教

研究者番号：40551015

相良 剛史 (SAGARA, Takefumi)

尚綱大学短期大学部・講師

研究者番号：60353132