

## PSPで毒化したマガキのレトルト加工による減毒

山口 泰永, 百崎 洋一, 高谷 智裕, 荒川 修, 野口 玉雄

## Reduction in Toxicity of PSP-infested Oysters during Retorting Process

Y. YAMAGUCHI, Y. MOMOSAKI, T. TAKATANI, O. ARAKAWA and T. NOGUCHI

Attempts were made to reduce toxicity of the oysters infested with PSP by retorting process. The homogenates of toxic oysters were directly, or after adjusting pH, packed into retorting pouches, and heated in an autoclave or in a boiling water bath. Mouse bioassay and high performance liquid chromatographic analysis of the homogenates before and after heating demonstrated that autoclaving could reduce toxicity more rapidly than boiling, and that the reduction occurred more effectively when pH was adjusted to 7.5 with NaOH. However, in case of pH 3.0, toxicity score was slightly decreased, or increased. This phenomenon would be mainly due to conversion of C1,2 with low toxicity into GTX2,3 with high toxicity.

When autoclaved adjusting the pH to 7.2 with 3 types of chemicals instead of NaOH, the homogenates of toxic oysters were also detoxified very effectively. Sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>) was the most effective among them, requiring the shortest heating time of 5 min to reduce toxicity to less than 4 MU/g. In case of the other chemicals (sodium and ammonium phosphate buffers), however, a small amount of decarbamoyl toxins remained even after 15 min of heating.

The authentic specimens of C1,2 and GTX2,3 were added to non-toxic oyster homogenates, and autoclaved similarly. The results showed that all of these components were decomposed more effectively when pH-adjusting chemicals, especially NaHCO<sub>3</sub> was used. Without the chemicals, or with ammonium phosphate buffer, C1,2 seemed to be converted not via GTX2,3 but directly into dcGTX2,3.

**Key words:** 麻痺性貝毒 Paralytic shellfish poison: PSP, マガキ Oyster, 減毒 Detoxification, レトルトパウチ Retorting pouch, オートクレーブ Autoclaving

**Abbreviations:** C: protogonyautoxin (PX), dcGTX: decarbamoylgonyautoxin, dcSTX: decarbamoylsaxitoxin  
GTX: gonyautoxin, STX: saxitoxin, PSP: paralytic shellfish poison

## 要 旨

麻痺性貝毒 (PSP) により毒化したマガキにつき、レトルト加工による解毒を試みた。有毒マガキのホモジネートを直接、もしくはpH調整後レトルトパウチ詰めし、オートクレーブまたは沸騰水浴中で加熱した。加熱前後のホモジネートにつき、マウスアッセイおよびHPLC分析を行ったところ、沸騰水浴中での加熱に比べ、オートクレーブ中で加熱した場合の方がより速く毒が減少すること、NaOHでpHを7.5に調整することにより、さらに効果的に減毒できることが明らかとなった。しかしながらpHを3.0に調整した場合、毒性値はわずかに減少するか、もしくは増加した。これは、主に低毒性のC1,2から高毒性のGTX2,3への成分変換が起こっているためと考えられた。

有毒マガキ可食部のホモジネートにつき、NaOHのかわりに3種の調整剤を用いてpHを7.2に調整後、オートクレーブで加熱したところ、極めて効果的に解毒された。炭酸水素ナトリウムの効果が最も高く、5分間の加熱で4 MU/g未満にまで減毒された。一方、他の調整剤 (リン酸ナトリウムおよび同アンモニウム緩衝液) を用いた場合、15分間加熱後も少量のデカルバモイル体が残存した。

C1,2およびGTX2,3標品を無毒マガキのホモジネートに添加し、同様にオートクレーブ加熱に付したところ、いずれの成分もpH調整剤、特に炭酸水素ナトリウムを使用することにより、より効果的に分解した。調整剤未使用、もしくはリン酸アンモニウム緩衝液を用いた場合、C1,2はGTX2,3を経ず、直接dcGTX2,3に変換することが示唆された。

## 有毒マガキの減毒

麻痺性貝毒 (PSP) は主として有毒渦鞭毛藻が産生する神経毒であり、興奮伝導に関わるNa<sup>+</sup>チャンネルのイオン透過性を選択的に阻害する。日本国内ではPSPを産生する有毒渦鞭毛藻として *Alexandrium catenella*, *A. tamarense*, *Gymnodinium catenatum* 等が知られている。

九州沿岸では1998年1月、熊本県宮野河内湾で *G. catenatum* が大量に発生し、同海域のアサリ、マガキ、ヒオウギガイ等の二枚貝が毒化した<sup>1)</sup>。PSP産生プランクトンは一度発生した海域で繰り返し発生することが多く、以後同年7月、12月、1999年1~3月と小刻みに発生を繰り返して二枚貝の頻繁な毒化を招来し、同海域の水産業に大きな打撃を与えた。

PSPで毒化した二枚貝の有効利用に関連して、野口ら<sup>2)3)</sup>

は缶詰加工処理により有毒ホタテガイの解毒が可能であることを示した。これに基づき、北海道産有毒ホタテガイについて、指定工場での局在する内臓部を除去後、缶詰加工して販売することが許可されている。他方、宮澤ら<sup>4)</sup>は内臓部の除去が困難な毒化マガキについて、オイスターソースに加工することで食品として利用可能であると報告している。

本研究では、コストがかかり、応用範囲が狭い缶詰加工に代わる毒化二枚貝の解毒方法として、レトルトパウチ加工を取り上げ、九州産の有毒マガキを対象としてこの方法を適用し、加熱処理条件、pH調整剤の有効性等に検討を加えた。

### 試料および方法

#### 試料

有毒マガキ試料としては、1998年5月に広島県広島湾で採取されたもの、および同年12月に熊本県宮野河内湾で採取されたものを、無毒マガキ試料としては、同年11月に宮野河内湾で採取されたものを用いた。

#### 加熱処理

##### 異なるpHでの加熱処理

広島および熊本県産有毒マガキ中腸腺のホモジネートに1M水酸化ナトリウムまたは1M塩酸を加えてpHを7.5と3.0に調整したもの、および同ホモジネートでpH未調整のもの(pH 5.9)をレトルトパウチ詰めし、オートクレーブ中121°Cで5~15分間、もしくは沸騰水浴中で15~60分間加熱した。

##### 異なるpH調整剤を用いた加熱処理

熊本県産有毒マガキ可食部のホモジネートに1M炭酸水素ナトリウム、1Mリン酸ナトリウム緩衝液、もしくは50mMリン酸アンモニウム緩衝液を加えてpHを7.2に調整後、レトルトパウチ詰めし、オートクレーブ中121°Cで5~15分間加熱した。

##### 無毒マガキに添加したPSP標品の加熱処理

熊本県産無毒マガキ可食部のホモジネートにPSP標品(C1,2およびGTX2,3)を添加し、直接、もしくは1M炭酸水素ナトリウムまたは50mMリン酸アンモニウム緩衝液によりpHを7.2に調整後、と同様の加熱処理を行った。

#### 毒の抽出

異なるpHでの加熱処理の場合、加熱処理前後のホモジネートに等量の0.1M塩酸を加え、沸騰水浴中で5分間加熱後、遠心分離(5000×g, 20分間)に付し、得られた上清を試験液とした。一方、異なるpH調整剤を用いた加熱処理、ならびに無毒マガキに添加したPSP標品の加熱処理の場合、加熱処理前後のホモジネートに等量の水を加え、5分間の超音波処理後、同様に試験液を得た。これらの試験液につき、以下のマウス毒性試験により毒力を測定するとともに、固相抽出カラムSep-Pak C-18 (Plus) で処理後、限外濾過に付したうえで、HPLC-蛍光分析に供して毒組成を調べた。

#### マウス毒性試験

「食品衛生検査指針理化学編」中の「2. 麻痺性貝毒」<sup>5)</sup>に基づく公定法によった。すなわち、試験液を適宜希釈後、体重18~20gのddY系雄マウスに腹腔内投与し、その致死時

間からマウスユニット(MU)を算出した。ここで、1MUとは体重20gのマウスを15分で死に至らしめる毒量をいう。

#### 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)-蛍光分析

既報の方法<sup>6)</sup>に準じ、カラムにLiChroCART Superspher RP-18(e)を、移動相に2mMヘプタンスルホン酸を含む10mMリン酸アンモニウム緩衝液(pH 7.3)(GTX群分析用)および2mMヘプタンスルホン酸を含む4%アセトニトリル-30mMリン酸アンモニウム緩衝液(pH7.3)(STX群分析用)を用いて各成分を分離後、アルカリ性下、過よう素酸で酸化し、励起波長336nm、蛍光波長392nmで測定した。低毒性成分[C1,2(PX1,2)およびGTX5,6]については、酸加水分解により対応する高毒性成分に変換したうえで定量した<sup>7)</sup>。

### 結果および考察

#### 有毒マガキ試料の毒力および毒組成

熊本県産マガキの毒力は、可食部が31.7MU/g、中腸腺が90.0MU/g、広島県のものでは、可食部が6.1MU/g、中腸腺が9.6MU/gであった(Table 1)。熊本県産マガキの毒は、75%近くを低毒性成分(C1,2およびGTX5,6)が占めていたのに対し、広島県産では低毒性成分がC1,2のみで、かつその割合が比較的低く、GTX2,3, STX, dcGTX2,3といった高毒性成分が60%以上を占めていた(Fig. 1)。

Table 1. Toxicity of the oysters collected from Kumamoto and Hiroshima Prefs.

Place of collection	Toxicity (MU/g)	
	Edible part	Digestive gland
Kumamoto	31.7±4.1	90.0±4.1
Hiroshima	6.1±0.5	9.6±1.3

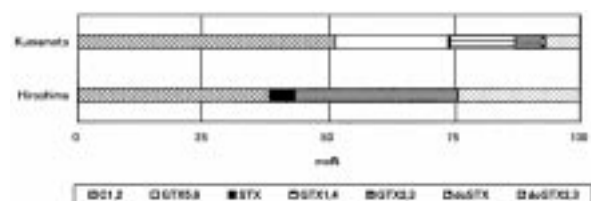


Fig. 1 Toxin compositions of the oysters collected from Kumamoto and Hiroshima Prefs.

#### 異なるpHでの加熱処理による減毒

オートクレーブおよび沸騰水浴中で加熱処理したマガキの毒力の変化をそれぞれFig. 2および3に示す。両加熱処理における毒力推移のパターンは互いに類似したものであったが、前者の方がより短時間で効果が現れるという点で有利であった。

両加熱処理に際し、試料のpHを7.5に調整すると、熊本および広島県産のいずれにおいても、その時点(加熱時間0分)で既に毒力の顕著な減少が見られ、その後の加熱によってさらに毒力が漸減し、最終的にpH未調整の場合よりはるかに効率よく減毒された(Fig. 2および3)。pHを3.0に調整した場

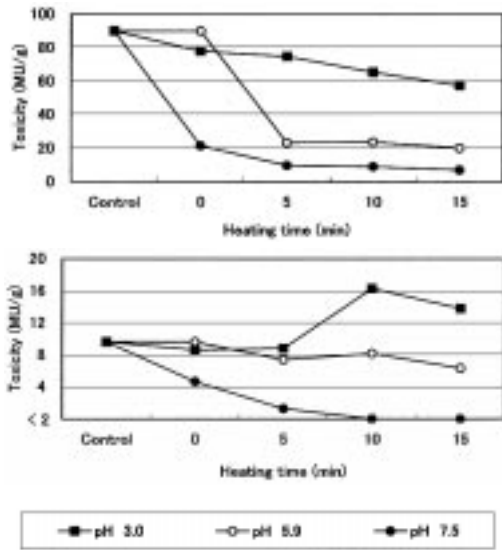


Fig. 2 Change in toxicity of the oysters collected from Kumamoto (upper) and Hiroshima (lower) Prefs. by autoclaving.

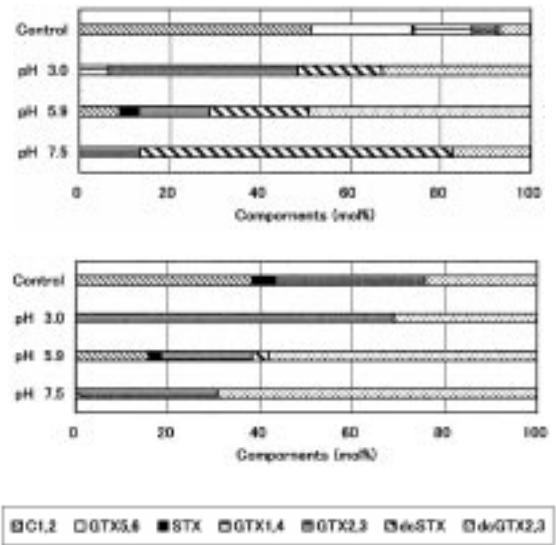


Fig. 4 Toxin compositions of the oysters collected from Kumamoto (upper) and Hiroshima (lower) Prefs. before (Control) and after 15 min-autoclaving at various pH (3.0, 5.9 and 7.5).

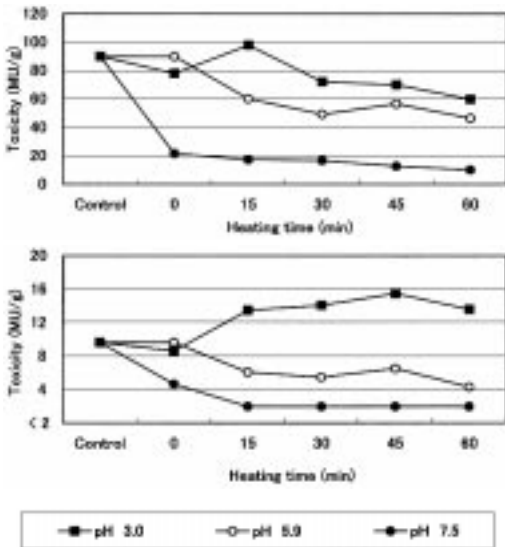


Fig. 3 Change in toxicity of the oysters collected from Kumamoto (upper) and Hiroshima (lower) Prefs. by boiling.

合、加熱前の毒力の減少はわずかで、熊本県産のオートクレープ加熱を除き、加熱処理により一時的もしくは連続的な毒力の上昇が認められた。

加熱処理後の毒組成を見ると、熊本および広島県産のいずれも、低毒性成分が大半ないし全て消失し、代わって前者ではGTX2,3、dcSTXおよびdcGTX2,3の、後者ではGTX2,3とdcGTX2,3の占める割合が顕著に増加していた (Fig. 4)。pH 3.0では特にGTX2,3の割合が高く、加熱処理による毒力の上昇は、主に低毒性のC1,2から高毒性のGTX2,3への変換に起因しているものと推察された。

異なるpH調整剤を用いた加熱処理による減毒

より安全な3種のpH調整剤を用いてpHを弱アルカリに調整後、オートクレープ加熱処理を行ったところ、いずれも水酸化ナトリウムと同様の効果を示し、有毒マガキホモジネート

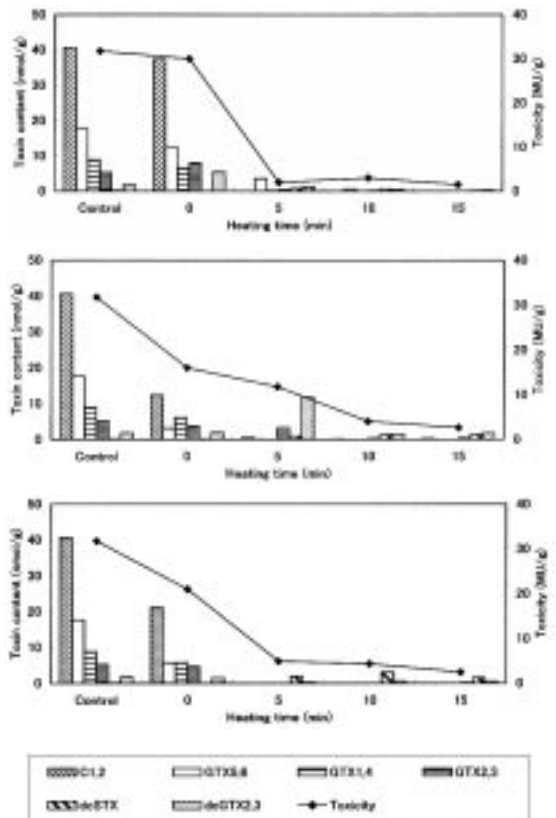


Fig. 5 Change in toxicity and toxin compositions of oysters by autoclaving using sodium bicarbonate (upper), sodium phosphate buffer (middle), and ammonium phosphate buffer (lower) as pH-adjusting chemicals.

は極めて効率よく減毒された (Fig. 5)。特に炭酸水素ナトリウムの効果が高く、5分間の加熱で毒力は4 MU/g未満にまで減少した。リン酸ナトリウムとリン酸アンモニウムの両緩衝

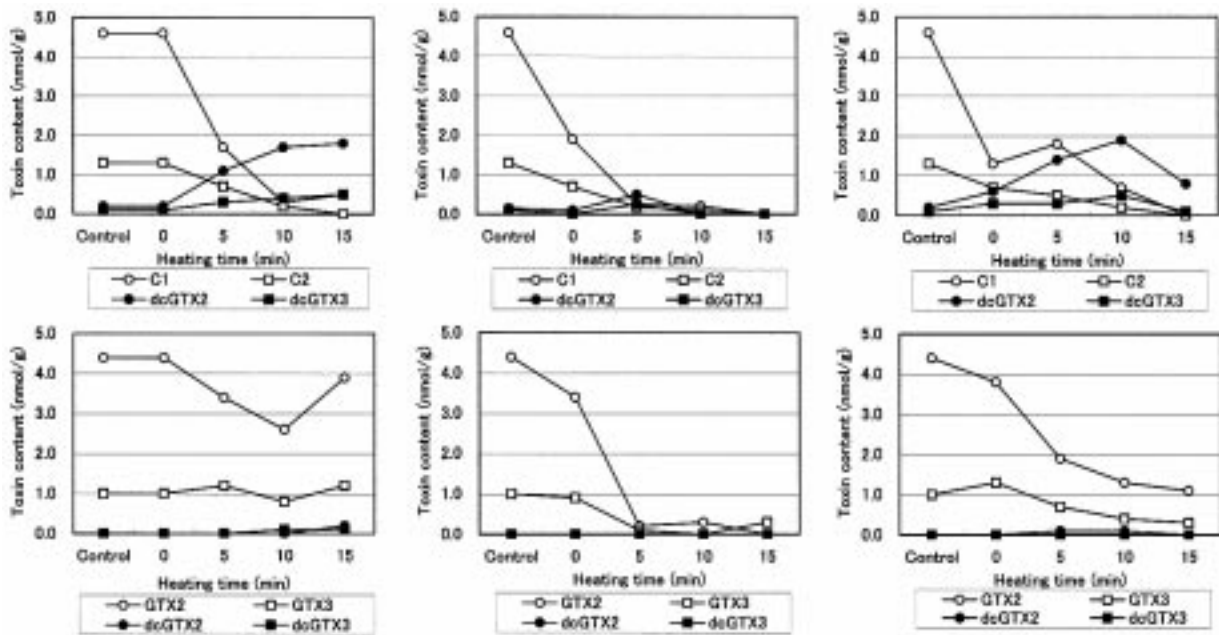


Fig. 6 Change in PSP components added to the homogenate of non-toxic oysters by autoclaving without pH-adjusting chemicals (left), or with pH being adjusted with sodium bicarbonate (center), or with ammonium phosphate buffer (right).

液の場合、添加しただけ（加熱時間0分）で水酸化ナトリウム同様毒力の顕著な減少が見られたが、その後の加熱による減毒は比較的緩やかであった。いずれも15分間の加熱により毒力は4MU/g未満となった。毒組成の変化を見ると、いずれのpH調整剤の場合もC1,2は加熱5分ですべてもしくは完全に消失し、リン酸ナトリウム緩衝液ではdcGTX2,3, リン酸アンモニウム緩衝液ではdcSTX主体のデカルバモイル体が残存する傾向が見られた。

無毒マガキに添加したPSP標品の加熱処理による変化

無毒マガキに毒標品を添加して行った加熱処理実験においても、有毒マガキの場合とほぼ同様の結果が得られた。すなわち、C1,2およびGTX2,3のいずれを添加した場合も、pH調整剤未使用に比べ、pH調整剤を用いた方がより効率よく減毒された（Fig. 6）。特に炭酸水素ナトリウムの効果が高く、C1,2, GTX2,3ともに加熱5分でほとんど消失した。pH調整剤未使用およびリン酸アンモニウム緩衝液でpHを調整した場合、加熱処理により、C1,2の減少に伴ってdcGTX2,3が出現・増加したが、GTX2,3が減少してもdcGTX2,3はほとんど検出されず、本処理条件下ではC1,2はGTX2,3を経ず、直接dcGTX2,3に変換していることが示唆された。

以上、レトルトパウチ加工は有毒マガキの解毒に極めて効果的であることが示された。加熱処理の際、オートクレーブを用いると、沸騰水浴中での加熱に比べ、短時間での減毒が可能であった。さらに、pHを弱アルカリに調整することにより、未調整の場合に比べてはるかに効率良く減毒されることが明らかになった。野口ら<sup>2)3)</sup>の缶詰加工処理では1次加熱（沸騰水浴中で3～20分間）、2次加熱（70℃の熱水中で20分間）、加熱殺菌（110℃で80分間、または122℃で22分間）と、2度の水晒しを挿み3度にわたる加熱処理が施されている。本研

究の場合、5～15分間の加熱処理1回で、このように煩雑な缶詰加工処理、あるいは長時間を要するオイスターソースへの加工処理<sup>4)</sup>に匹敵する減毒が可能であった。pH調整剤としては炭酸水素ナトリウムが最も効果的であったが、本剤は食品添加物として幅広く用いられており、実用上の問題も少ない。

一方、本処理により解毒した場合、低毒性成分がデカルバモイル体に変換して若干残存する傾向が見られた。今後、これらの成分に有効な解毒法を試みるとともに、解毒に有効で、しかも食品としての風味や食感をより良く保つことができる処理条件について検討する予定である。

#### 参考文献

- 1) T.Takatani, O.Arakawa, T.Noguchi: Recent PSP infestation to bivalves due to toxic dinoflagellate in coasts of Kyusyu, Japan. *The East China Sea*, 2, 165～176 (1999).
- 2) 野口玉雄, 上田要一, 尾上義夫, 河野迪子, 小山絹江, 橋本周久, 妹尾芳郎, 三島 進: PSPにより毒化したホタテガイの缶詰製造中における毒性値の変化. *日水誌*, 46, 1273～1277 (1980).
- 3) 野口玉雄, 上田要一, 尾上義夫, 河野迪子, 小山絹江, 橋本周久, 妹尾芳郎, 三島 進: PSPにより著しく毒化したホタテガイの缶詰製造および貯蔵中における毒性値の変化. *日水誌*, 46, 1339～1344 (1980).
- 4) 宮澤啓輔, 浅川 学, 野口玉雄: 麻痺性貝毒により毒化したカキの缶詰, 乾製品及びオイスターソース製造中における毒性の変化. *食衛誌*, 36, 35～41 (1995).
- 5) 厚生省生活衛生局監修: 2. 麻痺性貝毒. *食品衛生検査指針*

- 理化学編, 日本食品衛生協会, 300 ~ 305 (1991) .
- 6) O.Arakawa, T.Noguchi, Y.Onoue: Paralytic shellfish toxin profiles of xanthid crabs *Zosimus aeneus* and *Atergatis floridus* collected on reefs of Ishigaki Island. Fisheries Science, 61, 659 ~ 662 (1995) .
- 7) Y.Nagashima, Y.Sato, T.Noguchi, Y.Fuchi, Y.Hayashi, K.Hashimoto: Paralytic shellfish poison in the "hiougi" scallop *Chlamys nobilis*. Marine Biology, 98, 234 ~ 246 (1988) .