漁獲後輸送方法の違いが茹でズワイガニ *Chionoecetes opilio* 筋肉の品質に及ぼす影響

渋谷 緑,¹ 高橋 希元,¹ 中西 聖代,²
秋元 健夫,³ 岡崎恵美子,¹ 大迫 一史^{1*}

(2017 年 7 月 12 日受付, 2017 年 12 月 18 日受理, 2018 年 4 月 17 日 J-STAGE 早期公開)

¹東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科, ²宮崎県東臼杵農林振興局, ³(株)ニチレイフレッシュ

Influence of transportation systems on the quality of boiled snow crab *Chionoecetes opilio* meat after capture

MIDORI SHIBUYA,¹ KIGEN TAKAHASHI,¹ MASAYO NAKANISHI,²
TAKEO AKIMOTO,³ EMIKO OKAZAKI¹ AND KAZUFUMI OSAKO^{1*}

¹Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108–8477, ²Miyazaki Prefectural Higashiusuki Agricultural Community Development Bureau, Nobeoka, Miyazaki 882–0872, ³Nichirei Fresh Inc., Chuo, Tokyo 104–0045, Japan

The influence of different transportation systems—seawater circulation system (SCS) and icing storage (IC)—on the quality of boiled snow crab *Chionoecetes opilio* meat after capture was studied. The water-holding capacity of the crab meat transported by SCS was significantly higher than that of the crab meat transported by IC. Both the α -helix structure ratio in the protein secondary structure and pH of SCS crab meat were also higher than those of IC crab meat. Moreover, SCS crab meat contained low amounts of lactic acid and succinic acid, and showed high ATP content and ATP/total ratio compared to IC crab meat. These results suggest that SCS can transport the crabs in a good condition over a long time, as a result of the high water-holding capacity and high pH compared to crab meat transported in ice.

キーワード：海水循環システム, ズワイガニ, タンパク質二次構造, フーリエ変換赤外分光光度計, 保水性

我が国においてズワイガニ *Chionoecetes opilio* は、魚肉とは異なった特有の旨味を有することから、食用として広く好まれている。農林水産省の海面漁業生産統計調査¹⁾によれば、直近 10 年間の日本近海における本種漁獲量は山陰・北陸地域を中心に年間約 4 千から 6 千トンとなっている。一方でロシア、アメリカ、カナダなどから年間約 1 万 8 千トンから 2 万 5 千トンのズワイガニが輸入されていることが報告されており、²⁾ このことから国内で消費されるズワイガニの大部分は輸入品であることがうかがえる。

カナダ東部に位置するセントローレンス湾は世界有数のズワイガニの漁場であり、日本にも本湾で漁獲されたズワイガニが輸入されている。しかし本湾で漁獲された

ズワイガニを漁場から加工場まで輸送するには半日から 1 日かかることもあり、その際の輸送方法は海水循環システムを用いたものと、アイスボートで氷藏したものがあり、それらは漁業者により異なる。また日本において、近年は漁の長期化に伴い、漁獲後船上においてズワイガニの鮮度をいかに保持するかが問題となっており、船に設けた水槽に入れ活かしたまま陸揚げされる方法などが検討されている。³⁾ 加工業者によればこれら輸送方法の違いはズワイガニの品質に影響を及ぼすとされるが、これまでのところ科学的根拠が無い。

ズワイガニ筋肉の品質は鮮度と深い関係があることが篠野、平田⁴⁾の研究により指摘されている。篠野、平田は、即殺したズワイガニ歩脚筋肉について、一定時間ご

とに ATP 関連化合物を測定し, また同筋肉を -20°C で凍結, その後煮熟したものの品質を調べている。同論文では, 生歩脚筋肉の ATP が消失するあたりを境に, 加熱後の筋肉において肉せん維の弾力低下が認められたと報告している。ズワイガニはその自己消化の早さから, 通常市場に出回る際は, 煮熟したもののや, その冷凍品が多いため,⁵⁾ 生筋肉だけでなく, 煮熟後の筋肉について品質評価を行うことは重要であると考えられる。しかしこれまでの研究では, 即殺後の歩脚筋肉について品質の経時変化を検討したものが多く, 実際に使用されている輸送方法の違いが生きたズワイガニの品質に及ぼす影響を検討した事例は乏しい。

また水産物の品質評価には様々な指標があるが, 中でも筋肉の硬さや保水性は食味や食感に影響を及ぼす重要な要素である。^{6,7)} そこで本研究では, 漁場から加工場まで異なる方法で輸送された茹でズワイガニの筋肉を用い, 硬さ, 保水性, タンパク質分子量分布, タンパク質二次構造, pH, 有機酸含量および ATP 関連化合物含量を測定することで, 輸送方法の違いが茹でズワイガニの品質に及ぼす影響について検討した。さらに, *in vitro* での試験により pH を調整した生ズワイガニ歩脚筋肉の加熱前後のタンパク質二次構造及び保水性を確認した。

材料と方法

材料 2015 年 5 月にカナダセントローレンス湾で水揚げし, 加工場まで海水循環システム(循環海水温度 $2-4^{\circ}\text{C}$, 循環海水量毎分約 760–1140 L)を装備した漁船中で輸送したズワイガニ(海水循環区)およびアイスポートで氷蔵にして輸送したズワイガニ(氷蔵区)を用いた。試料重量は, 海水循環区 $752.0 \pm 27.6 \text{ g}$ および氷蔵区 $775.3 \pm 13.2 \text{ g}$ であり ($n=4$), 氷蔵区のズワイガニを漁獲してから煮熟するまでの時間は 2–4 時間であった。加工場に到着した際, 氷蔵区の外観は海水循環区のそれと比較して疲弊していたが, いずれの方法により輸送されたものも生きていこと(呼吸確認ができること, また, 手足に動きがあることを判断基準とした。)を確認した。試料は生きたまま海水で 38 分間煮熟後, 10 分間, 0°C の流水水中で冷却した。試料を -18°C のエアースラストで凍結した後, 凍結状態のまま研究室に運搬し, 実験に用いるまで -30°C の冷凍庫で保管した。実験には主要な可食部である第一, 二, 三步脚長節の筋肉を, 4°C の冷蔵庫で 1 晩解凍し, 完全解凍したものをを用いた。

また, 生ズワイガニ試料として同時期にカナダセントローレンス湾で水揚げし, 加工場まで海水循環システム(循環海水温度 $2-4^{\circ}\text{C}$, 循環海水量毎分約 760–1140 L)を装備した漁船中で輸送したズワイガニを用いた。試料

重量は $717.2 \pm 19.3 \text{ g}$ ($n=4$) で, 同様に加工場に到着した際に生きていことを確認した後, エアースラストで凍結した。凍結状態のまま研究室に運搬し, 実験に用いるまで冷凍庫で保管した。実験には主要な可食部である第一, 二, 三步脚長節の筋肉を用いた。

物性測定 野口らの方法⁸⁾に準じて行った。解凍後の歩脚から殻と腱を除去し, 筋肉のみを取り出し, それらの筋線維をほぐし内径 40 mm, 高さ 15 mm のステンレス製円筒で成型した。その後, クリーブメーター(RE2–33005B, 株式会社山電製)を用いて直径 16 mm の円柱プランジャー(圧縮速度 0.5 mm/sec , 歪率 67%)により硬さ(最大荷重)の測定を行った。

圧搾ドリップ測定 Songsaeng *et al.* の方法⁹⁾に準じて行った。上述の実験と同様に 4°C の冷蔵庫で 1 晩解凍した歩脚から殻と腱を除去し, 取り出した棒状の筋肉を長さ 20 mm にカットした後, 上下からろ紙(No. 4A, 東洋濾紙株式会社製)で挟み 5 kg/cm^2 で 2 分間圧搾し, 以下の式により圧搾ドリップ(%)を算出した。

$$\begin{aligned} & \text{圧搾ドリップ}(\%) \\ &= \frac{\text{圧搾前の試料の重量}(\text{g}) - \text{圧搾後の試料の重量}(\text{g})}{\text{圧搾前の試料の重量}(\text{g})} \\ & \times 100 \end{aligned}$$

水分含量測定 Takahashi *et al.* の方法¹⁰⁾により常圧加熱乾燥法で測定した。すなわち試料を約 1 g 精秤し, 105°C の恒温槽内で 24 時間加熱して恒量とした。その後デシケーター内で放冷し, 加熱前後の重量差から水分含量を算出した。

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE) 試料の調製は Takahashi *et al.* の方法¹¹⁾に準じて行った。筋肉 1.0 g に, 可溶化液(2% SDS–8 M 尿素–20 mM Tris–HCl–2%メルカプトエタノール, pH 8.8)を 40 mL 加え, ポリトロンホモジナイザー(PT 10–35 GT 型, Kinematica 社製)を用いて懸濁した。沸騰水中で 2 分間加熱後, シーソーシェイカー(BC–700 型, BIO CRAFT 社製)を用い一晩振盪し, タンパク質を溶解させた。その後 $10,000 \times \text{g}$ で 10 分間遠心分離し, 上澄みを試料として用いた。電気泳動は Laemmli の方法¹²⁾に準じて, 5–20% のグラジエントポリアクリルアミドゲル(e-PAGEL, E-T10L, アトー株式会社製)を用いて行った。分子量マーカーは Page Ruler Unstained Protein Ladder (Thermo Scientific 社製)を使用し, ゲルの染色は 0.025% Coomassie brilliant blue R-250 (Merck 社製)–5% メタノール–10% 酢酸溶液で行い, 脱色は 30% メタノール–10% 酢酸溶液を用いた。

フーリエ変換赤外分光光度計(FTIR)によるタンパク質二次構造分析 Hernandez-Martinez *et al.*¹³⁾ および Le *et al.*¹⁴⁾ の方法を参考に FTIR によるタンパク質二次構造分析を行った。解凍した筋肉をホモジナイザーによ

り均一化したものを、試料として用いた。スペクトルの測定には Nicolet 6700 FT-IR spectrometer (Thermo Scientific 社製) を使用した。なおスペクトルの測定条件は、スキャン回数 128 回、分解能 4 cm^{-1} 、測定範囲 $4000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ とした。得られた結果についてフィッティング解析を行い、アミド I バンド全面積に対する個々のバンド面積の割合から、各タンパク質二次構造の比率を求めた。また、本実験においてボルテックスやホモジナイザーによる処理がタンパク質の二次構造に影響を与えないことを、念のため確認した。

pH 測定 異なる個体 ($n=4$) の筋肉それぞれに対して重量の 9 倍量 (w/v) のイオン交換水を加え、10,000 rpm で 1 分間ホモジナイズした後、pH メーター (F-72 型、株式会社堀場製作所製) を用いて pH 測定した。

生ズワイガニ筋肉を用いた pH 調整筋肉の調製 Jirawat and Bung-orn の方法¹⁵⁾ に準じて、pH 調整筋肉の調製を行った。風袋重量 (a) を測定した後、生ズワイガニ筋肉 2.0 g を遠沈管に入れ、筋肉および遠沈管の合計重量 (b) を測定した。5.0 mL のイオン交換水を加え、15,000 rpm で 2 分間ホモジナイズした後、0.1 M の塩酸および水酸化ナトリウムで遠沈管内の溶液の pH を 6.0、7.0 および 8.0 にし、これを pH 調整筋肉とした。このとき、加えた塩酸および水酸化ナトリウムが直ちに試料溶液中にいきわたるよう、ボルテックスミキサー (デルタミキサー Se-04 型、タイテック株式会社製) で試料溶液を 2 分間攪拌させながら pH 調整を行った。遠沈管内の溶液の重量が生ズワイガニ筋肉重量の 10 倍量 (w/w) になるようにイオン交換水を加えた後、4°C の冷蔵庫内に設けたシーソーシェイカー (BC-700 型、BIO CRAFT 社製) で 24 時間振盪させた。

pH 調整筋肉の加熱 Marie-Laure *et al.* の方法¹⁶⁾ に準じて、pH 調整筋肉の加熱を行った。24 時間振盪させた試料溶液の pH を 0.1 M の塩酸および水酸化ナトリウムを加え pH 7.0 に揃え、加熱が均等に行われるよう遠沈管内の溶液量をイオン交換水を用いて一定にした。沸騰水中で 30 分間加熱した後、流水中で冷却した。

pH 調整筋肉の保水性測定 Diniz and Martin の方法¹⁷⁾ に準じて行った。すなわち、24 時間振盪または加熱後の溶液の入った遠沈管を、 $6,000\times g$ で 10 分間遠心分離し、ろ紙 (No. 5A, 東洋濾紙株式会社製) を用いて上清を除去した。このとき、ろ紙に付着した固形物質はスパーテルを用いて遠沈管内に回収した。沈殿物を含む遠沈管の重量 (c) を測定し、以下の式により、pH 調整筋肉の保水性を求めた。保水性は筋肉 1 g 当たりが保持した水の量 (g water/g sample) として表した。

$$\text{保水性 (g water/g sample)} = \frac{c(\text{g}) - b(\text{g})}{b(\text{g}) - a(\text{g})}$$

筋肉抽出液の調製 江平らの方法^{18,19)} に準じて行っ

た。すなわち試料約 5 g に 10% 冷過塩素酸 15 mL を加えてホモジナイズし、4°C、 $7,500\times g$ で 10 分間遠心分離し上清を回収した。その後沈殿物に 5% 冷過塩素酸 8.5 mL を加え、スパーテルで攪拌し再び遠心分離を行った後、上清を回収し先のろ液と合わせた。この操作を 2 回繰り返して、10 M KOH を用いて pH 6.4 に調整した後、ろ紙 (No. 5A, 東洋濾紙株式会社製) で沈殿物を除去し、50 mL にメスアップした。

有機酸含量測定 南、寺山の方法²⁰⁾ で行った。筋肉抽出液をシリンジフィルター (孔径 $0.45\text{ }\mu\text{m}$, Sartorius 社製) でろ過し、高速液体クロマトグラフィー (LC-VP, 株式会社島津製作所製) により有機酸含量の測定を行った。この際、カラムは Shim-pack SPR-H ($7.8\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, 株式会社島津製作所製)、ガードカラムは Shim-pack SPR-H (G) ($7.8\text{ mm}\times 50\text{ mm}$, 株式会社島津製作所製) を用い、カラム温度は 40°C、流速は 0.6 mL/min とした。移動相には 4 mM *p*-トルエンスルホン酸水溶液を使用し、反応液には 0.08 mM EDTA および 16 mM Bis-Tris 含有 4 mM *p*-トルエンスルホン酸水溶液を使用した。

ATP 関連化合物含量測定 Maeda *et al.* の方法²¹⁾ に準じて行った。筋肉抽出液をシリンジフィルター (孔径 $0.45\text{ }\mu\text{m}$, Sartorius 社製) でろ過し、高速液体クロマトグラフィー (LC-10AD, 株式会社島津製作所製) により ATP 関連化合物含量の測定を行った。カラムはシリカ C18M 4D ($4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}$, 昭和電工株式会社製) を用い、カラム温度は 35°C、流速は 0.8 mL/min とした。移動相は 0.13 M トリメチルアミン- 0.13 M リン酸溶液 (pH 6.8) とアセトニトリルの混液を用いた。HPLC の結果から ATP 関連化合物含量及び ATP 関連化合物中の ATP 組成比 (%) を求めた。

統計解析 得られた結果は、エクセル統計 2012 (株式会社社会情報サービス製) を用いて解析し、Tukey 法²²⁾ により有意差検定を行った ($p<0.05$)。

結 果

物性 物性の結果を Table 1 に示した。クリープメーターで筋肉の硬さ (最大荷重) を測定したところ、海水循環区が $11.5\pm 0.3\text{ N}$ 、氷蔵区が $11.3\pm 0.5\text{ N}$ であり、海水循環区、氷蔵区間に有意差は見られなかった。なお海水循環区、氷蔵区いずれにおいても筋肉の硬さに第一、二、三步脚長節の部位間における有意差はみられなかった (結果は図示しない)。

圧搾ドリップおよび水分含量 筋肉の圧搾ドリップ (%) および水分含量 (%) の結果を Table 1 に示した。圧搾ドリップ (%) は海水循環区では $20.6\pm 0.4\%$ 、氷蔵区では $28.7\pm 1.1\%$ と氷蔵区が海水循環区より有意に高かった。一方、筋肉の水分含量 (%) は、海水循環区

Table 1 Hardness, expressible drip, moisture content and pH of boiled SCS^{*1} meat and boiled IC^{*2} meat^{*3,4}

	Boiled SCS ^{*1} meat	Boiled IC ^{*2} meat
Hardness (N)	11.5 ± 0.3	11.3 ± 0.5
Expressible drip (%)	20.6 ± 0.4 ^{*5}	28.7 ± 1.1 ^{*5}
Moisture content (%)	80.5 ± 0.7	80.8 ± 0.3
pH	8.0 ± 0.0 ^{*5}	7.8 ± 0.0 ^{*5}

^{*1} Crab transported by seawater circulation system.

^{*2} Crab transported in ice.

^{*3} Data are shown as mean ± standard deviation.

^{*4} $n = 4$.

^{*5} Significant differences in expressible drip and pH ($p < 0.05$) were observed between boiled SCS meat and boiled IC meat.

が $80.5 \pm 0.7\%$ 、氷蔵区が $80.8 \pm 0.3\%$ であり、海水循環区、氷蔵区間に有意差がみられなかった。なお、海水循環区、氷蔵区いずれにおいても筋肉の圧搾ドリップ (%) および水分含量 (%) に第一、二、三歩脚長節の部位間における有意差はみられなかった (結果は図示しない)。

以上の結果から、海水循環システムを用いた試料の歩脚筋肉は、アイスポートを用いて氷蔵で輸送したそれと比較し、高い保水性を持つことが明らかとなった。

タンパク質分子量分布 SDS-PAGE によるタンパク質分子量分布の結果を Fig. 1 に示した。氷蔵区では第一歩脚長節において 70 kDa 付近にバンドが見られ、若干ではあるがタンパク質の低分子化が示唆された。また 40 kDa 以下のバンドの移動度も氷蔵区の他の部位および海水循環区とは異なっていた。一方、氷蔵区の他の部位および海水循環区ではタンパク質の低分子化は確認されなかった。

筋肉の硬さおよび保水性の結果において第一、二、三歩脚間に有意差は見られず、また SDS-PAGE によるタンパク質分子量分布との関連性も確認できなかったため、以降の実験ではこれらの歩脚を混合して用いた。

フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) による筋肉タンパク質二次構造の確認 Figure 2 に 1700–1600 cm^{-1} における筋肉タンパク質の赤外吸収スペクトルの二次微分波形を示した。本実験結果から、タンパク質の α ヘリックス構造を示すとされる 1655 cm^{-1} 付近およびタンパク質の β シート構造を示すとされる 1621 および 1695 cm^{-1} 付近にピークが確認できた。一方で、一般にランダム構造が 1665 cm^{-1} および 1641 cm^{-1} 付近のピークにより反映されるが、²³⁾ 本研究ではこれらの明瞭なピークは観察されなかった。

Table 2 にタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比および β シート組成比を示した。タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比は海水循環区が $21.2 \pm 3.7\%$ 、氷蔵区が $16.8 \pm 2.4\%$ と海水循環区が有意に高く、

Fig. 1 SDS-PAGE pattern of boiled SCS^{*1} meat and boiled IC^{*2} meat. ^{*1}Crab transported by seawater circulation system. ^{*2}Crab transported in ice. M, molecular weight marker; 1, 1st ambulatory leg meat; 2, 2nd ambulatory leg meat; 3, 3rd ambulatory leg meat.

Fig. 2 Second derivative of the FTIR spectra of protein from boiled SCS^{*1} meat and boiled IC^{*2} meat. ^{*1}Crab transported by seawater circulation system. ^{*2}Crab transported in ice.

一方で β シート組成比は海水循環区が $65.3 \pm 2.2\%$ 、氷蔵区が $68.5 \pm 2.5\%$ と氷蔵区が有意に高かった。

pH pH の結果を Table 1 に示した。pH は海水循環区が 8.0 ± 0.0 、氷蔵区が 7.8 ± 0.0 と海水循環区が氷蔵区よりも有意に高かった。

pH 調整筋肉のフーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) によるタンパク質二次構造の確認 Figure 3 に 1700–1600 cm^{-1} における pH 調整筋肉のタンパク質の赤外吸収スペクトルの二次微分波形を示した。また、Table 3 に pH 調整筋肉のタンパク質二次構造中の α ヘリックス

Table 2 Ratio (%) of α -helix and β -sheet structures in the protein secondary structure from boiled SCS^{*1} meat and boiled IC^{*2} meat^{*3,4}

Structure	Boiled SCS ^{*1} meat	Boiled IC ^{*2} meat
α -Helix	21.2 $\pm$ 3.7 ^{*5}	16.8 $\pm$ 2.4 ^{*5}
β -Sheet	65.3 $\pm$ 2.2 ^{*5}	68.5 $\pm$ 2.5 ^{*5}

^{*1} Crab transported by seawater circulation system.

^{*2} Crab transported in ice.

^{*3} Data are shown as mean $\pm$ standard deviation.

^{*4} $n=8$.

^{*5} Significant differences in the ratio of α -helix and β -sheet structures ($p<0.05$) were observed between boiled SCS meat and boiled IC meat.

Fig. 3 Second derivative of the FTIR spectra of protein from pH adjusted (R) raw snow crab meat and (B) boiled snow crab meat.**Table 3** Ratio (%) of α -helix and β -sheet structures in the protein secondary structure from pH adjusted raw snow crab meat and boiled snow crab meat^{*1-4}

	Structure	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0
Raw	α -helix	10.4 $\pm$ 0.8 b	12.2 $\pm$ 1.6 ab	13.8 $\pm$ 2.7 a
	β -sheet	51.0 $\pm$ 1.4 A	44.4 $\pm$ 2.1 B	33.9 $\pm$ 2.4 C
Boiled	α -helix	9.8 $\pm$ 1.7 b'	16.6 $\pm$ 2.5 a'	14.8 $\pm$ 0.6 a'
	β -sheet	65.0 $\pm$ 1.1 A'	51.7 $\pm$ 1.2 C'	56.4 $\pm$ 0.6 B'

^{*1} pH of raw snow crab meat was adjusted with 0.1 M of hydrochloric acid and 0.1 M of sodium hydroxide.

^{*2} Data are shown as mean $\pm$ standard deviation.

^{*3} $n=8$.

^{*4} Different letters in the same line indicate statistical differences ($p<0.05$).

組成比および β シート組成比を示した。加熱前の pH 調整筋肉のタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比は、pH 6.0 で 10.4 $\pm$ 0.8%，pH 7.0 で 12.2 $\pm$ 1.6%，pH 8.0 で 13.8 $\pm$ 2.7% であり、pH が 6.0 のとき有意に低かった。一方で、 β シート組成比は pH 6.0 で 51.0 $\pm$ 1.4%，pH 7.0 で 44.4 $\pm$ 2.1%，pH 8.0 で 33.9 $\pm$ 2.4% であ

Table 4 Water-holding capacity of the pH adjusted raw snow crab meat and boiled snow crab meat^{*1-5} (g water/g sample)

	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0
Raw	-0.06 $\pm$ 0.14 b	-0.14 $\pm$ 0.04 b	0.42 $\pm$ 0.08 a
Boiled	0.02 $\pm$ 0.02 B	0.10 $\pm$ 0.03 A	0.15 $\pm$ 0.02 A

^{*1} pH of raw snow crab meat was adjusted with 0.1 M of hydrochloric acid and 0.1 M of sodium hydroxide.

^{*2} Water-holding capacity is expressed as grams of water retained for each gram of meat.

^{*3} Data are shown as mean $\pm$ standard deviation.

^{*4} $n=4$.

^{*5} Different letters in the same line indicate statistical differences ($p<0.05$).

り、pH が 6.0 から 8.0 に上がるにつれて有意に低くなった。

また、加熱後の pH 調整筋肉のタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比は、加熱前の pH がそれぞれ 6.0, 7.0, 8.0 で 9.8 $\pm$ 1.7%，16.6 $\pm$ 2.5%，14.8 $\pm$ 0.6% であり、pH が 6.0 のとき有意に低かった。一方、 β シート組成比は加熱前の pH がそれぞれ 6.0, 7.0, 8.0 で 65.0 $\pm$ 1.1%，51.7 $\pm$ 1.2%，56.4 $\pm$ 0.6% であり、pH が 7.0 のとき有意に低かった。

pH 調整筋肉の保水性 pH 調整筋肉の保水性を Table 4 に示した。加熱前の pH 調整筋肉の保水性は、pH 6.0 で -0.06 $\pm$ 0.14 (g water/g sample)，pH 7.0 で -0.14 $\pm$ 0.04，pH 8.0 で 0.42 $\pm$ 0.08 (g water/g sample) であり、pH が 8.0 のとき有意に高かった。また、加熱後の pH 調整筋肉の保水性は、加熱前の pH がそれぞれ 6.0, 7.0, 8.0 で 0.02 $\pm$ 0.02，0.10 $\pm$ 0.03，0.15 $\pm$ 0.02 (g water/g sample) であり、pH が 6.0 のとき有意に低かった。

有機酸含量および ATP 関連化合物含量 筋肉中の有機酸含量の結果を Table 5 に示した。乳酸含量（海水循環区 16.6 $\pm$ 0.9 mg/100 g，氷蔵区 71.7 $\pm$ 3.1 mg/100 g）およびコハク酸含量（海水循環区 2.6 $\pm$ 0.2 mg/100 g，氷蔵区 13.0 $\pm$ 0.3 mg/100 g）は、どちらも氷蔵区が海水循環区に比べて有意に高かった。一方、リンゴ酸含量（海水循環区 1.1 $\pm$ 0.1 mg/100 g，氷蔵区 1.1 $\pm$ 0.2 mg/100 g），酢酸含量（海水循環区 1.7 $\pm$ 0.0 mg/100 g，氷蔵区 1.9 $\pm$ 0.2 mg/100 g），プロピオン酸含量（海水循環区 4.8 $\pm$ 1.4 mg/100 g，氷蔵区 3.6 $\pm$ 0.5 mg/100 g）は、海水循環区と氷蔵区の間には有意差は見られなかった。

試料中の ATP 関連化合物含量 (mg/100 g) および ATP 関連化合物中の ATP 組成比 (%) を Table 6 に示した。ATP 含量（海水循環区 6.7 $\pm$ 1.6 mg/100 g，氷蔵区 3.3 $\pm$ 0.4 mg/100 g）および ATP 関連化合物中の ATP 組成比 (%)（海水循環区 6.2 $\pm$ 1.2%，氷蔵区 2.3 $\pm$ 0.3%）は海水循環区が氷蔵区に比べて有意に高かった。

Table 5 Organic acid contents in boiled SCS^{*1} meat and boiled IC^{*2} meat^{*3,4} (mg/100 g)

Organic acid	Boiled SCS ^{*1} meat	Boiled IC ^{*2} meat
Lactic acid	16.6 ± 0.9 ^{*5}	71.7 ± 3.1 ^{*5}
Succinic acid	2.6 ± 0.2 ^{*5}	13.0 ± 0.3 ^{*5}
Malic acid	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.2
Acetic acid	1.7 ± 0.0	1.9 ± 0.2
Propionic acid	4.8 ± 1.4	3.6 ± 0.5

^{*1} Crab transported by seawater circulation system.

^{*2} Crab transported in ice.

^{*3} Data are shown as mean ± standard deviation.

^{*4} $n = 4$.

^{*5} Significant differences in the amounts of lactic acid and succinic acid ($p < 0.05$) were observed between boiled SCS meat and boiled IC meat.

Table 6 ATP related compounds in boiled SCS^{*1} meat and boiled IC^{*2} meat^{*3,4} (mg/100 g)

ATP related compounds	Boiled SCS ^{*1} meat	Boiled IC ^{*2} meat
ATP	6.7 ± 1.6 (6.2 ± 1.2 ^{*5})* ⁶	3.3 ± 0.4 (2.3 ± 0.3 ^{*5})* ⁶
ADP	29.0 ± 2.1	26.5 ± 1.9
AMP	63.8 ± 3.0 ^{*6}	92.8 ± 1.2 ^{*6}
IMP	1.3 ± 0.1 ^{*6}	2.5 ± 0.6 ^{*6}
Adenosine	6.6 ± 0.7 ^{*6}	11.4 ± 0.8 ^{*6}
Inosine	1.1 ± 0.0 ^{*6}	2.4 ± 0.1 ^{*6}
Hypoxanthine	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Total	108.6 ± 6.9 ^{*6}	143.6 ± 5.7 ^{*6}

^{*1} Crab transported by seawater circulation system.

^{*2} Crab transported in ice.

^{*3} Data are shown as mean ± standard deviation.

^{*4} $n = 4$.

^{*5} ATP/total ratio in boiled SCS meat and boiled IC meat (%). Significant differences were observed between them ($p < 0.05$).

^{*6} Significant differences were observed in the amounts of ATP, AMP, IMP, adenosine, inosine and total ($p < 0.05$) between boiled SCS meat and boiled IC meat.

考 察

筋肉の硬さにおいては、海水循環区、氷蔵区間に有意差は見られなかったが、圧搾ドリップおよび水分含量の結果から、漁場から加工場まで海水循環システム中で輸送された試料は、氷蔵で輸送された試料と比較して筋肉の保水性が高いことが示された。保水性の高低は、食品の呈味性に影響を及ぼすことが知られていることから、⁶⁾ 漁獲後輸送方法の違いが茹でズワイガニ筋肉の品質に影響を及ぼすことが示唆された。

また、タンパク質分子量分布では、氷蔵区の第一歩脚長節において 70 kDa 付近にバンドが見られタンパク質の低分子化が示唆されたとともに、40 kDa 以下のバンドの移動度も氷蔵区の他の部位および海水循環区とは異

なっていた。しかし、筋肉の保水性においては氷蔵区の第一、二、三歩脚長節間において有意差がみられなかったため、タンパク質分子量分布と筋肉の保水性の間に明らかな関連は確認できなかった。

筋肉の保水性に差が生じた原因を明らかにするために、FTIR により筋肉タンパク質の二次構造を検討した。その結果、タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比は海水循環区が氷蔵区よりも有意に高く、一方で β シート組成比は氷蔵区が海水循環区よりも有意に高かった。水産物に関する知見は見当たらないものの、畜肉については加熱後の筋肉タンパク質二次構造と保水性に関する研究が行われており、Zhiyun *et al.*²³⁾ は加熱後の豚肉では、タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比が高いほど筋肉の保水性は高くなり、 β シート組成比が高いほど筋肉の保水性は低くなると報告している。また Liu *et al.*²⁴⁾ も生鮮ブタ肉から調製したミオシンを用いて加熱ゲルを調製したところ、同様の傾向がみられたことを報告している。この理由としては、 α ヘリックス構造の持つ水合力が、 β シート構造の持つそれよりも強いためであると考えられている。^{24,25)} また、タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比および β シート組成比は、タンパク質の構造変化 (unfolding) を反映することも知られている。^{26,27)} したがって、本研究においても海水循環区と氷蔵区間でタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比および β シート組成比に違いが生じたことが、筋肉の保水性に影響をおよぼしたことが考えられた。

次に筋肉の pH を比較したところ、海水循環区が氷蔵区よりも有意に高かった。筋肉の pH とタンパク質二次構造および保水性の関係を確認するため、*in vitro* での試験により、生ズワイガニ筋肉の pH を 6.0–8.0 に調整し、加熱前後の筋肉タンパク質二次構造及び保水性を確認した。加熱前の pH 調整筋肉において、タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比は pH が 6.0 のとき有意に低く、 β シート組成比は pH が 6.0 から 8.0 に上がるにつれて有意に低くなった。一方加熱後の pH 調整筋肉では、加熱時の pH が 7.0 と同じであったにも関わらず、タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比は加熱前の pH が 6.0 のとき有意に低く、 β シート組成比は加熱前の pH が 7.0 のとき有意に低かった。Liu *et al.*²⁴⁾ は、生鮮ブタ肉ミオシンを用い加熱ゲルを調製した際に、試料の pH を 5.5–9.0 に変化させると、pH 7.0 でタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比が最大であったこと、また pH がアルカリおよび酸性側に遠ざかるにつれて α ヘリックス組成比が減少し β シート組成比が増加し、特に酸性側でその傾向が顕著であったことを報告している。本結果から、加熱前後のズワイガニ筋肉においてもタンパク質二次構造中の α ヘリックス組

成比や β シート組成比は、pHの違いに影響をうけること、また酸性側であるpH 6.0に調整した筋肉で、タンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比の減少と β シート組成比の増加が顕著であったことが確認された。さらに加熱時のpHを7.0に揃えたことから、加熱前に生じたタンパク質二次構造の違いは加熱後のタンパク質二次構造にも影響を及ぼすことが示唆された。既に海水で煮熟した試料(海水循環区および氷蔵区)においては、いずれの試料のpHもアルカリ性であり、またpHが高かった海水循環区の筋肉(pH 8.0 ± 0.0)の方が氷蔵区の筋肉(pH 7.8 ± 0.0)よりもタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比が高く、 β シート組成比が低いという、これまでの研究と異なる結果になった。²⁴⁾ 本結果については、生ズワイガニ筋肉のpHは 7.0 ± 0.1 であったこと(結果は図示しない)、また海水のpHは8.2–8.4付近であることから、²⁸⁾ 海水循環区および氷蔵区の筋肉はともに海水による煮熟中にpHが上昇したことが考えられた。次に、*in vitro*での試験により保水性を確認したところ、加熱前にpHを調整した筋肉ではpH 8.0のとき保水性が有意に高く、加熱後のpH調整筋肉では、加熱前の筋肉のpHが6.0のとき有意に低かった。これにより加熱前後の筋肉において高い保水性を持つ筋肉は、高い α ヘリックス組成比と低い β シート組成比を持つことが明らかとなり、pHは生ズワイガニ筋肉のタンパク質二次構造中の α ヘリックス組成比および β シート組成比に影響を及ぼし、その結果、加熱前後の筋肉の保水性に差が現れることが示唆された。また、Bito²⁹⁾はカツオ *Katsuwonus pelamis* 筋肉を使用した実験で、筋肉のpHが高いほど圧搾ドリップが少ない傾向にあると述べている。Liu *et al.*³⁰⁾もハクレン *Hypophthalmichthys molitrix* から調製したミオシンを用いて加熱ゲルを調製したところゲルのpHが5.5から8.0に高くなるにつれ保水性が高くなったことを報告している。同論文ではその理由として、等電点以上のpHでは、pHが高くなるにつれてタンパク質の電荷が増加し静電的反発力を強め、その結果ミオシンが膨潤するためと述べている。したがって本研究においても、上記の二次構造の違いとは別に筋肉のpHの差が保水性に影響したものと考えられた。

筋肉のpHに差が生じた原因を明らかにするために、筋肉中の有機酸含量の測定を行ったところ、乳酸およびコハク酸の含量が氷蔵区において海水循環区よりも有意に高かった。一般に魚介類では漁獲時に苦悶状態に陥ると、好氣的解糖から嫌氣的解糖へ切り替わり、筋肉中において乳酸をはじめとした有機酸含量が増加し、pHが低下すると考えられている。³¹⁾ また筋肉中のATP関連化合物含量を測定したところ、ATP含量(mg/100 g)およびATP関連化合物中のATP組成比(%)のい

れにおいても海水循環区では氷蔵区より有意に高かった。筋肉中のATP含量も苦悶状態では減少が著しいことが報告されている。³²⁾ したがって本研究の結果は、氷蔵区のズワイガニは2–4時間の輸送中に苦悶状態に陥ったため筋肉中の嫌氣的解糖が進み、筋肉中に乳酸をはじめとした有機酸含量が増加し、筋肉のpHが低下したことを示唆した。また、海水循環システムで輸送されたズワイガニ生筋肉のpHが 7.0 ± 0.1 であったことから、氷蔵区の煮熟前の筋肉pHは7.0よりも酸性側であったことが示唆された。

本研究の結果から、漁獲後の輸送方法の違いが茹でズワイガニ筋肉の品質に影響を及ぼすことが明らかとなった。

文 献

- 1) 海面漁業生産統計調査(平成28年)．農林水産省，東京．2017.
- 2) 財務省貿易統計(平成28年)，品別国別表．財務省，東京．2017.
- 3) 宮川正美．ズワイガニおよびベニズワイガニの呈味成分に関する研究．鳥取大学教育学部研究報告，鳥取大学，鳥取．1994; **43**: 29–46.
- 4) Sasano Y, Hirata F. Studies on freezing storage of tanner crabs: relation between the quality of meat and the nucleotide content. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1973; **39**: 951–954 (in Japanese with English abstract).
- 5) Matsumoto M, Yamanaka H. Post-mortem biochemical changes in the muscle of tanner crab during storage. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1992; **58**: 915–920 (in Japanese with English abstract).
- 6) Sasaki T, Matsukawa M, Ooizumi T. Thermal inactivation mode of myofibrillar Ca-ATPase of kuruma prawn *Marusupeneaus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2015; **81**: 836–842 (in Japanese with English abstract).
- 7) Ando M. A study on the mechanism of post-mortem tenderization of fish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1996; **62**: 555–558 (in Japanese).
- 8) 野口 誠，小谷幸敏，秋田幸一，景山拓一．凍結貯蔵温度とカニ肉の品質．鳥取県食品加工研究所研究報告，鳥取県食品加工研究所，境港．1991; **31**: 84–88.
- 9) Songsaeng S, Sophanodora P, Kaewsritthong J, Ohshima T. Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant. *Food Chem.* 2010; **123**: 286–290.
- 10) Takahashi K, Amemiya H, Tanaka M, Klomklao S, Okazaki E, Osako K. Influence of endogenous protease on heat-induced gelation properties of pink shrimp *Pandalus eous* meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2014; **80**: 979–988 (in Japanese with English abstract).
- 11) Takahashi K, Kurose K, Okazaki E, Osako K. Effect of various protease inhibitors on heat-induced myofibrillar protein degradation and gel-forming ability of red tilefish (*Branchiostegus japonicus*) meat. *LWT-Food Sci. Technol.* 2016; **68**: 717–723.
- 12) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; **15**: 680–685.
- 13) Hernandez-Martinez M, Gallardo-Velazquez T, Osorio-

- Revilla G, Almaraz-Abarca N, Castaneda-Perez E. Application of MIR-FTIR spectroscopy and chemometrics to the rapid prediction of fish fillet quality. *CyTA-J. Food* 2014; **12**: 369–377.
- 14) Le T, Maki H, Takahashi K, Okazaki E, Osako K. Properties of gelatin film from horse mackerel (*Trachurus japonicus*) scale. *J. Food Sci.* 2015; **80**: 734–741.
- 15) Jirawat Y, Bung-orn H. Structural changes and functional properties of threadfin bream sarcoplasmic proteins subjected to pH-shifting treatments and lyophilization. *J. Food Sci.* 2010; **75**: 251–257.
- 16) Marie-Laure B, Laurent A, Claude F, Jean-Dominique D, Philippe G, Didier R, Veronique S. Cooking temperature is a key determinant of *in vitro* meat protein digestion rate: investigation of underlying mechanisms. *J. Agric. Food Chem.* 2012; **60**: 2569–2576.
- 17) Diniz F. M, Martin AM. Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. *LWT-Food Sci. Technol.* 1997; **30**: 266–272.
- 18) 江平重男. 酵素法による魚類筋肉 NAD および ATP の定量条件に関する吟味. 東海区水産研究所研究報告, 水産庁東海区水産研究所, 東京. 1983; **109**: 57–76.
- 19) Ehira S, Uchiyama H, Uda F, Matsumiya H. A rapid method for determination of the acid-soluble nucleotides in fish muscle by concave gradient elution. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1970; **36**: 491–496.
- 20) 南 隆之, 寺山誠人. 沿岸漁獲物鮮度保持試験—イカ類の鮮度保持判定法の開発—. 宮崎県水産試験場事業報告書, 宮崎県水産試験場, 宮崎. 2004; 68–70.
- 21) Maeda T, Yuki A, Sakurai H, Watanabe K, Itoh N, Inui E, Seike K, Mizukami Y, Fukuda Y, Harada K. Alcohol brine freezing of Japanese horse mackerel (*Trachurus japonicus*) for raw consumption. *Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers* 2007; **24**: 323–330.
- 22) 広津千尋. 「多重比較法と多重決定方式. 統計学の基礎Ⅱ」(甘利俊一, 竹内 啓, 竹村彰通, 伊庭幸人編) 岩波書店, 東京. 2003.
- 23) Zhiyun W, Hanne Christine B, Ulrike B, Ragni O, Achim K. Myowater dynamics and protein secondary structural changes as affected by heating rate in three pork qualities: A combined FT-IR microspectroscopic and ¹H NMR relaxometry study. *J. Agric. Food Chem.* 2007; **55**: 3990–3997.
- 24) Liu R, Zhao SM, Xiong SB, Xie BJ, Qin LH. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values. *Meat Sci.* 2008; **80**: 632–639.
- 25) Siu-Mei C, Ching-Yung M. Structural characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) using circular dichroism and Raman spectroscopy. *Food Chem.* 2007; **102**: 150–160.
- 26) Liu R, Zhao SM, Xiong SB, Xie BJ, Liu HM. Studies on fish and pork paste gelation by dynamic rheology and circular dichroism. *J. Food Sci.* 2007; **72**: 399–403.
- 27) Yongsawatdigul J, Park JW. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin. *Food Chem.* 2003; **83**: 409–416.
- 28) 丸山俊朗, 鈴木祥広, 河添 智, 土手 裕, 増田純雄. 凝集剤とタンパク質を併用した空気分散型-泡沫分離法による海産赤潮プランクトンの直接回収. 水環境学会誌 1998; **21**: 310–317.
- 29) Bito M. Effect of pH on the water-holding properties of frozen skipjack meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1978; **44**: 163–169 (in Japanese with English abstract).
- 30) Liu R, Zhao SM, Liu YM, Yang H, Xiong SB, Xie BJ, Qin LH. Effect of pH on the gel properties and secondary structure of fish myosin. *Food Chem.* 2010; **121**: 196–202.
- 31) 宮崎里帆, 山口蓮寿実, 黄 耿琳, 平坂勝也, 竹下哲史, 谷山茂人, 橋 勝康. 強制運動とその後の遊泳回復がマアジのヤケ肉発生に及ぼす影響. 水産増殖 2015; **63**: 99–104.
- 32) Amano K, Bito M, Kawabata T. Handling effect upon biochemical change in the fish muscle immediately after catch—I. Difference of glycolysis in the frigate mackerel killed by various methods. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1953; **19**: 487–498 (in Japanese with English abstract).