◇◇◇◇ 原著論文 ◇◇◇◇

ヨシキリザメ *Prionace glauca* 筋肉の酢じめかまぼこ原料適性

齋藤俊樹, 高橋希元, 岡崎恵美子, 大迫一史[†]

東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科

Study on Blue Shark *Prionace glauca* Meat as a Raw Material for Vinegar-cured Gel

Toshiki SAITO, Kigen TAKAHASHI, Emiko OKAZAKI, Kazufumi OSAKO[†]

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology,
Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan.

To utilize blue shark *Prionace glauca* meat, acid-induced gel (*i. e.* *Sujime* gel) property of the fish meat, which can be produced by soaking *suwari* gel in vinegar, was investigated and improved. Both *suwari* gel and acid-induced gel could not be obtained by the same method empirically applied to other fish meats, including Alaska pollack frozen surimi. The endogenous transglutaminase activity of the shark meat was extremely low, compared to that of fishes used for gel product. The endogenous protease activity, including acid-activated protease activity, was also low. By the addition of microbial transglutaminase (MTGase), the *suwari* gel was formed, and excellent acid-induced gel could be obtained by soaking *suwari* gel in acetic acid solution. The egg white, which is one of the essential additives to prepare acid-induced gel from Alaska pollack, had no effects on the acid-induced gel property from the shark meat. Those suggest that acid-induced gel from blue shark meat can be obtained by soaking MTGase-induced *suwari* gel in vinegar.

Keywords: Blue shark, Vinegar-cured gel, *Suwari* gel, Protease activity, Transglutaminase activity

1. 緒 言

日本では年間 29,042 トン (2012 年) のサメ類が漁獲されており, そのうち 7 割程度がヨシキリザメ *Prionace glauca* であると推定されている [i]. 本種のほとんどはマグロ延縄漁業による混獲種で, 水揚げは加工設備が整っている気仙沼を中心に行われ [i], そのヒレは中華料理等で使用されるフカヒレとして高価に取引されている. 一方, その筋肉部は水分が多く, 塩ずりをすると多量の空気を抱き込んで容積が増えやすいため, はんぺんの原料として用いられている [1]. しかし, 本種筋肉は鮮度が低下するとそれが含む多量の尿素が分解されアンモニア臭を発することから, 消費者のイメージも悪く, 利用はあまり進んでいない. また, その尿素やアンモニアを除去するために水晒しを行うと, 本種落とし身は採肉機の日から逸脱し晒し水とともに流出してしまうため, 通常の方法での水晒しは難

しいとされている. さらに, 2011 年の東日本大震災の際に水産加工施設を喪失したことや, 市場取引停止によって加工業者が原料を輸入冷凍すり身へ切り替えたこともあり, 本種筋肉の価格は低迷している [ii].

本種が多く水揚げされる宮城県は, 笹かまぼこを中心に多くの水産練り製品を生産しており, 東日本大震災以前の 2010 年にはその生産量は 50,115 トンで全国 1 位であった [iii]. そこで, 本種筋肉を練り製品原料としてさらに有効活用していくことが地場産業の活性化にも繋がると考え, 本研究ではその有効利用法のひとつとして酢じめかまぼこに着目した.

酢じめかまぼことは, 西日本の一部において製造販売されている水産加工品で, 通常はその上にしめ鯖が乗せられている. 一般的にかまぼことは, 魚肉に食塩, 調味料およびその他添加物を加えて搗り潰し (塩ずり), ズル状になった肉糊を加熱することで得られるゲル状の製品のことを示す. このとき, かまぼこ特有の食感を生み出すために, 低温下 (通常 40℃ 以下) で肉糊をゲル化させる「坐り」という工程が加熱前に行われることがある. 一方で酢じめかまぼことは, 塩ずりの際に卵白を添加し, 坐り工程を経て坐りゲルを形成させ,

(受付 2015 年 4 月 30 日, 受理 2015 年 6 月 13 日)

〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

[†] Fax: 81-(0)3-5463-0620, E-mail: osako@kaiyodai.ac.jp

それを加熱ではなく食酢に浸漬させることで得られるゲル状の製品のことを示す。[2]

本研究では、ヨシキリザメ筋肉の酢じめかまぼこ原料としての適性を明らかにすることを目的とし、既存の研究 [3,4] より必須とされている坐り工程ならびに卵白添加について詳細な検討を行った。

2. 実 験

2.1 試料の調製

試料として太平洋沿岸で漁獲され、2013年6月に気仙沼港に水揚げ後、翌日に実験室に氷冷状態で搬入された未凍結のヨシキリザメを用いた。搬入後すぐにその皮、骨および血合肉を取り除き筋肉部のみを採取し、その落とし身をミートチョッパー (M-22A型, 目合直径3 mm, 南常鉄工株式会社製) を用いて細切した。凍結変性防止剤として、細切肉の重量に対し7.5%の細粒スクロース (特級, 和光純薬工業株式会社製) を添加し攪拌した後、再度ミートチョッパーを用いて細切したものを、ビニルパックに約500 gずつ充填した。これを、 -30°C のエアブラストで急速凍結したものを冷凍落とし身とし、使用時まで -30°C の冷凍庫で保存した。なお、凍結までの全工程は、試料温度を 10°C 以下に保って行った。

2.2 ヨシキリザメ筋肉を用いた酢じめゲルの調製

酢じめゲルの調製は、阿部らの方法 [3] を参考に行った。すなわち、冷凍落とし身を 4°C の冷蔵庫内に1晩放置し、解凍した落とし身に対してその重量の20%の冷蒸留水を加え、真空高速播潰攪拌機 (UMC-5, Stephan社製) を用いて90秒間播潰した。さらに、落とし身および蒸留水の合計量に対して3%の塩化ナトリウムを加えたものを90秒間播潰し、塩ずり肉を得た。これに対し、その重量の3%の乾燥卵白 (EW) (日本コロイド株式会社製) を加え、さらに90秒間播潰し肉糊を得た。この肉糊を、ステンレス製の円筒容器 (直径3.2 cm, 高さ3.0 cm) に速やかに充填し、これを 40°C で1時間加熱することにより坐りゲルを得た。また、坐りゲルとその重量の2.5倍量の5%酢酸溶液をポリエチレン袋に投入し、 15°C で20時間インキュベートすることにより酢じめゲルを得た。なお、充填までの全工程は、試料温度を 10°C 以下に保って行った。その後、直ちに氷水中で30分間冷却し、レオメーター (RE-3305-I型, 株式会社山電製) を用いて物性を測定した。このとき、直径5 mmの球形プランジャを用い、荷台上昇速度は1 mm/secで各試料について6点測定し、破断強度 (g), および破断凹み (cm) を算出した。また、ゲルのpHは、試料の中心部を10g切り出し、90 mLの蒸留水を加えホモジナイザ (POLYTRON PT10-35GT型, KINEMATICA

社製) を用いてホモジナイズ (10,000 rpm, 1分間) した後、pHメーター (F-72型, 株式会社堀場製作所製) を用いることで測定した。

2.3 内在性TGase (トランスグルタミナーゼ) 活性の測定

内在性TGase活性の測定は、Kishiらの方法 [5] を参考に行った。すなわち、試料をその重量の5倍量の5 mM EDTA-10 mM NaCl-3 mM DTT-50 mM Tris-HCl (pH 7.5) 溶液とホモジナイズ (10,000 rpm, 2分間) し、これを遠心分離 (4°C , $10,000\times g$, 30分間) した。得られた上清400 μL を、予備加熱した2 mLの1.2 mg/mL N,N-ジメチル化カゼイン-0.6 mM モノダンシルカダベリン-24 mM 2-メルカプトエタノール-12 mM CaCl_2 -60 mM Tris-HCl (pH 7.5) 溶液に加え、10, 20, 30, 40 および 50°C で30分間インキュベートした後、そこへ10%トリクロロ酢酸 (TCA) 溶液を4 mL 加え反応を停止した。これを遠心分離 ($20,000\times g$, 10分間) し、上清を捨てた後、沈殿物に8 mLのエタノール: ジエチルエーテル = 1:1の混合液を加え、ガラス棒を用いて攪拌した。攪拌後、再び遠心分離し、上清を捨て、この操作を3回繰り返した。得られた沈殿物を 105°C で乾燥させ、その乾燥物を4 mLの2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液に溶解した後、同溶液を用いて10 mLに定容した。この溶液の蛍光強度を、分光蛍光光度計 (FP-8600型, 日本分光株式会社製) を用い、励起波長350 nm, 測定波長480 nmの条件で測定した。TGase活性は、モノダンシルカダベリン (SIGMA社製) を2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液に直接溶解したものを検量線として用い、1分間あたりに1 nmolのモノダンシルカダベリンを1 mgのN,N-ジメチル化カゼインに取り込ませる活性を1 unitとして算出した。なお、結果の詳細は示していないが、本実験においては比較対象として、ヨシキリザメと同様に調製したマアジ冷凍落とし身、および市販品のスケトウダラ冷凍すり身 (AA級, Glacier Fish Company社製) を用いた。

2.4 加熱がタンパク質の性状に及ぼす影響の検討

冷凍落とし身に、その重量の7倍量の3.31% NaCl-50 mM リン酸緩衝液 (pH 6.8) 加えホモジナイズ (11,000 rpm, 2分間) し、これを遠心分離 (4°C , $13,000\times g$, 30分間) した。得られた上清を30, 40, 50, 60, 70, 80 および 90°C で60分間加熱した後、上清の2倍量の2% 2-メルカプトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液を加え反応を止め、SDS-PAGE (ポリアクリルアミドゲル電気泳動) に供した。また、同様にインキュベートしたホモジネートについて、それと等量の10% TCA 溶液を加え反応を止め、遠

心分離 (4℃, 8,500×g, 15 分間) した後, Lowry 法を用いて上清に含まれる遊離ペプチド量を測定した。

2.5 酢じめがタンパク質の性状に及ぼす影響の検討

冷凍落とし身に, その5倍量の4.35% NaCl水溶液を加えホモジナイズ (10,000 rpm, 3 分間) し, ホモジネートを調製した。得られたホモジネートに酢酸 (特級, 国産化学株式会社製) を加え, そのpHを2.5, 3.0, 4.0, 5.0 および6.0に調整した。これを, 15℃で20時間インキュベートした後, ホモジネートの10倍量の2% 2-メルカプトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液を加え反応を止め, SDS-PAGE に供した。このとき, ホモジネートのpHが低いことにより溶液のpHが8.8から大きく変化するため, この溶液にTris (特級, 和光純薬工業株式会社製) 粉末を直接投入し, そのpHを8.8に調整した。また, 同様にインキュベートしたホモジネートについて, それと等量の10% TCA 溶液を加え反応を止め, 遠心分離 (4℃, 8,500×g, 15 分間) した後, Lowry 法を用いて上清に含まれる遊離ペプチド量を測定した。

2.6 MTGase (微生物由来 TGase) および卵白を添加した酢じめゲルの調製

先述した方法と同様に調製した塩ずり肉に対し, 0 (無添加) ないしは1%のMTGase (アクティバTG-K 比活性 100 unit/g, 味の素株式会社製), および, 0 (無添加) ないしは3%のEWを加えたものを90秒間擂潰した。調製した肉糊を, ステンレス製円筒容器に速やかに充填し, これを40℃で1時間加熱することで坐りゲルを得た。また, 坐りゲルとその重量の2.5倍量の5%酢酸溶液をポリエチレン袋に投入し, 15℃で20時間インキュベートすることで酢じめゲルを得た。なお, 充填までの全工程は, 試料温度を10℃以下に保って行った。その後, 先述した方法にしたがってゲルの物性およびpHの測定を行った。

2.7 MTGase の添加が酢じめゲル形成に及ぼす影響の検討

先述した方法と同様に調製した塩ずり肉に対し, 0 (無添加), 1, 2, 3, 4 および5%のMTGaseを加えたものを90秒間擂潰した後, 得られた肉糊をステンレス製円筒容器に充填し, ステンレス製円筒容器に速やかに充填し, これを40℃で1時間加熱することで坐りゲルを得た。また, 坐りゲルとその重量の2.5倍量の5%酢酸溶液をポリエチレン袋に投入し, 15℃で20時間インキュベートすることで酢じめゲルを得た。なお, 充填までの全工程は, 試料温度を10℃以下に保って行った。その後, 先述した方法にしたがってゲルの物性およびpHの測定を行った。

2.8 SDS-PAGE 用酢じめゲルの調製

上記の方法より得られた物性測定用の円柱型ゲルでは, 浸漬溶液が中心部まで浸透するまでに時間がかかるため, 表面と内部で浸漬時間に差が生じてしまうことが想定された。そこで, それぞれの実験で調製した肉糊を用い, 阿部らの方法 [3] に準じてSDS-PAGE用のモデルゲルを調製した。すなわち, 擂潰後の肉糊をポリエチレン袋に投入し, 10 cm×2.0 cm×0.2 cmに成形したものを, 40℃で1時間加熱することで坐りゲルを得た。また, 坐りゲルの重量に対し2.5倍量の5%酢酸溶液をポリエチレン袋に投入し, 15℃で20時間インキュベートすることで酢じめゲルを得た。得られた坐りおよび酢じめゲルの中心部を切り出し, その重量に対して40倍量の2% 2-メルカプトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液を加えた。なお, 酢じめゲルの場合は, pHが低いことにより溶液のpHが8.8から大きく変化するため, この溶液にTris粉末を直接投入し, そのpHを8.8に調整した。

2.9 SDS-PAGE

それぞれの実験において調製したSDS-PAGE用試料を, 沸騰水中で2分間加熱した後, 振とう機 (SEESAW SHAKER BC-700 型, BIO CRAFT 社製) を用いて1晩振とうしタンパク質を溶解させた。これを遠心分離 (10,000×g, 20 min) した後, 上清とその等量の0.01% BPB-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) を混合し, Laemmli の方法 [6] に準じて電気泳動に供した。なお, 電気泳動には市販のポリアクリルアミドゲル (PAGEL ゲル濃度 5-20%, アトー株式会社製), および分子量マーカーとしてPage Ruler Unstained Protein Ladder (Thermo Scientific 社製) を用いた。また, ゲルの染色には0.025% CBB R-250-30% メタノール-10%酢酸溶液を, 脱色には30%メタノール-10%酢酸溶液を用いた。

2.10 可溶化率の測定

上記のSDS-PAGE用試料の調製と同様にして, ゲルもしくはホモジネートのタンパク質を2% 2-メルカプトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液に溶解させた後, 遠心分離 (10,000×g, 20 分間) を行い, 遠心分離前後の上清タンパク質濃度 (mg/mL) を測定し, 以下の式を用いて可溶化率を算出した。このとき, タンパク質濃度の測定にはLowry法を用いた。なお, 同法は2-メルカプトエタノールを含む試料の測定には適さないため, 調製した試料を2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液で透析した後, 測定を行った。

$$\text{可溶化率 (\%)} = C_A / C_B \times 100$$

C_A : 遠心分離後の上清のタンパク質濃度, mg/mL

C_B : 遠心分離前の上清のタンパク質濃度, mg/mL

3. 結果および考察

3.1 ヨシキリザメ筋肉の酢じめゲル形成能

結果は図示しないが, 3%のEWを添加した肉糊を40℃で1時間加熱(坐り)したものの, およびそれを15℃で20時間酢酸溶液に浸漬(酢じめ)したものは, いずれもゲルを形成しなかった. このとき, 坐りゲルのpHは6.1であり, 透明感のあるピンク色を有していたが, 5%酢酸溶液に浸漬することでゲルのpHは4.5に低下し, 中心部まで白色となっていることが確認された.

阿部ら[3]はスケトウダラ冷凍すり身を用い, 坐り時間が酢じめかまぼこの物性に及ぼす影響について検討しており, その酢じめかまぼこの製造には坐りの導入が必須であることを明らかにしている. また, Techaratanakraiら[4]も, スルメイカを用いた実験で同様の結果を示している. このことから, 本種筋肉についても, それを原料とする酢じめかまぼこの調製には坐りゲルの調製が必須である可能性が明らかとなった.

魚肉の坐りゲル形成には, それが含まれるTGaseが寄与しており, これがミオシンの多量化反応を触媒することでゲル化が起こるとされている[7]. その活性は魚種によって異なっていることが知られており[8], この活性が低い魚種にあっては坐りゲルを形成し難い. 先述したスルメイカの場合, それが有するトランスグルタミナーゼ活性が低いことから, 坐りゲルの調製には微生物由来のトランスグルタミナーゼ(MTGase)が必須であった[4]. 一方, スルメイカは内在性プロテアーゼの活性が非常に高いことから, その抑制が坐りゲルの形成に重要であるとも報告されている[4]. これらのことから, 本種筋肉の酢じめゲル形成に必須となりうる坐りを導入するために, それが坐らない原因を検討する必要があると考え, 本種筋肉の内在性トランスグルタミナーゼ活性および内在性プロテアーゼ活性の検討を行った.

3.2 内在性TGase活性の測定

10から50℃における, ヨシキリザメ筋肉の内在性TGase活性を, Fig. 1に示す. 実験の結果, ヨシキリザメ筋肉中のTGase活性は0.30–1.08 unit/g meatであった. 一方, 結果は図示しないがマアジ筋肉中のTGase活性は0.98–2.60 unit/g meatであり, スケトウダラ筋肉中では0.23–2.45 unit/g meatであった. ヨシキリザメ筋肉中のTGase活性は, これら2魚種のそれと比較し, 低い傾向にあった. また, ヨシキリザメ筋肉中のTGase活性は40℃で最大値を示したが, これら他魚種の最大値と比較して有意に低い値を示した. こ

Fig. 1 Endogenous transglutaminase activity of blue shark meat at 10, 20, 30, 40 and 50°C.

Error bars mean standard deviation ($n=4$). Different letters indicate significant difference ($P<0.05$).

このことから, 本種筋肉が坐りゲルを形成しない要因はその内在性TGase活性の低さにあることが示唆された. 一方, TGaseの活性化にはカルシウムイオン濃度が影響することが知られており[7,8], 塚正らは通常では坐りにくいマサバ筋肉に塩化カルシウムを添加することで, 速やかに坐りが生じたことを報告している[9]. これらのことから本種筋肉中の同イオン含量が少なく, それがTGaseの低い活性の要因となった可能性も想定された. そこで Benjakul ら[10]の研究を参考に, 坐りを誘導するのに十分量と考えられた20mmol/kg塩化カルシウムを添加して肉糊を調製し, TGase活性が最大となる40℃で加熱したところ, 本種筋肉は坐りゲルを形成しなかった(結果図示せず). したがって, 本種筋肉が坐りゲルを形成しない要因はカルシウムイオンの少なさによるものではないことが示唆された.

3.3 加熱がタンパク質の性状に及ぼす影響

次に, ヨシキリザメ筋肉が坐らない原因として, 筋肉中の内在性プロテアーゼの影響が考えられたため, これを確認する目的で, 30から90℃で60分間加熱した本種筋肉ホモジネートについて, そのSDS-PAGEパターンを, Fig. 2に示す. その結果, 40℃で加熱したホモジネートについて, 未加熱のものと比較し, 85および150 kDa付近のバンドが観察された. これらのバンドは, 200 kDa付近にみられるミオシン重鎖(MHC)由来の分解物であると考えられた. このことから, 40℃において本種筋肉の内在性プロテアーゼが若干働き, そのミオシン重鎖を分解した可能性が考えられたものの, MHCのバンドが大きく減少するまでは至っておらず, 他の加熱温度ではMHCを含めたタンパク質の分子量分布に明瞭な差はみられなかった. また, 結果は示さないが, プロテアーゼによるタンパク質の分解度合いの指標として用いられる上清中の遊離ペプチド量について, 全てのホモジネートにおいてごく微量

Fig. 2 Effects of heating temperature on the protein patterns of blue shark meat.

M, molecular weight marker; R, raw meat.

であり、Lowry 法の検出下限値を下回っていた。これらのことから、本種筋肉の内在性プロテアーゼ活性は低いことが示唆され、本種筋肉が坐りゲルを形成しない要因は、それが有するプロテアーゼによるものではないと考えられた。

3.4 酢じめがタンパク質の性状に及ぼす影響

酢酸を用いて pH を 2.5 から 6.0 に調整し、15℃で 20 時間インキュベートしたホモジネートについて、その SDS-PAGE パターンを Fig. 3 に示す。これより、いずれの pH においても、全てのバンドに変化はみられな

Fig. 3 Effects of pH on the protein patterns of blue shark meat.

M, molecular weight marker; R, raw meat.

かった。また、全ての条件において、インキュベート後の上清に含まれる遊離ペプチド量はごく微量であり、Lowry 法の検出下限値を下回っていた。

阿部ら [11] は、スケトウダラすり身を用いて酢じめゲルを調製したところ、プロテアーゼインヒビターとして卵白を添加しない場合、酢じめ工程においてゲルが崩壊することを報告しており、これにはすり身中の酸性プロテアーゼが関与したとしている。一方、本結果より、本種筋肉中の内在性プロテアーゼは酸性条件下においても活性が低いということが明らかとなり、本種筋肉を用いて酢じめゲルを調製する際、スケトウダラのそれとは異なり、酸性プロテアーゼ阻害剤としての卵白の添加は不要であることが示唆された。

3.5 MTGase および卵白の添加が酢じめゲル形成に及ぼす影響

添加物の異なる 4 種 (“Control”, “1% MTGase”, “3% EW” および “1% MTGase+3% EW”) の坐りゲルならびに酢じめゲルについて、その物性値を Fig. 4 に、SDS-PAGE パターンを Fig. 5 に示す。また、結果は図示しないが、いずれの条件においても坐りゲルの pH は 6.2、酢じめゲルの pH は 4.3 であった。

Fig. 4 に示すように、MTGase を添加した “1% MTGase” および “1% MTGase+3% EW” は、坐りならびに酢じめゲルを形成し、それらの破断強度は坐りゲルで 235 および 213 g、酢じめゲルで 268 および 275 g となり、酢酸溶液に浸漬することによりゲルの物性が有意に上昇した。一方で、MTGase を添加しない肉糊 (“Control” および “3% EW”) からは、坐りゲルおよび酢じめゲルともに得られなかった。酢酸溶液に浸漬することによりその破断強度が上昇したことについて、Riebroys らは、カワメンタイおよびタイセイヨウダラのアクトミオシンを酸性下でインキュベートしたところ、それらの表面疎水性が上昇したことを報告しており [12]、本研究においては、坐りゲルを酸性溶液に浸漬することにより疎水性相互作用が強まり、ゲルの破断強度が上昇した可能性が考えられた。また Toyohara らは、魚肉を酢じめした際の肉の硬化には、その水溶性タンパク質の酸凝固が寄与していると報告している [13]。本研究では無晒し肉を原料として用いたため、その中に含まれる水溶性タンパク質が酢酸により凝固し、ゲルの物性向上に寄与した可能性も考えられた。

破断凹みは、“1% MTGase” においては酢じめをすることにより低下 (1.03 cm から 0.91 cm) したものの、“1% MTGase+3% EW” においては酢じめの影響は見られなかった (0.93 cm から 0.94 cm)。また、EW の添加による物性の向上効果はみられなかった。なお、MTGase 無添加ではいずれのゲルも形成せず、破断強度および破断凹みの測定は困難であった。これらの結果より、

Fig. 4 Effects of microbial transglutaminase (MTGase) and EW on the physical properties of *suwari* gel and acid-induced gel from blue shark meat.

Control means the sample without MTGase and EW. Error bars mean standard deviation ($n=6$). Different letters indicate significant difference ($P<0.05$).

本種筋肉を用いた酢じめゲルの形成には MTGase の添加が必須であるということが示唆された。

Fig. 5 の SDS-PAGE パターンより, MTGase 添加区については, 150 から 200 kDa のバンドの減少が確認された。これは, MTGase の添加により坐り工程におけるミオシンの重合反応が促進し, 高分子化したためであると考えられた。一方で, MTGase 無添加区については, 原料肉と比較して SDS-PAGE パターンに差がなく, EW の添加による違いも観察されなかった。また, いずれの条件においても, 酢じめ工程が SDS-PAGE パターンに及ぼす影響は観察されなかった。これら試料の 2% 2-メルカプトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液への可溶化率は, MTGase 無添加区ではおおむね 100% であったが, 1% MTGase 添加区では坐りゲルで 90.2%, 酢じめゲルでは 91.8%

Fig. 5 Effects of microbial transglutaminase (MTGase) and egg white on the protein patterns of *suwari* gel and acid-induced gel from blue shark meat.

Control means no additives. M; marker. R; raw meat. E; egg white. S; suwari gel. A; acid-induced gel.

となった。また 1% MTG および 3% 卵白添加区の可溶化率は, 坐りゲル 88.2% および酢じめゲル 91.7% となり, MTG 添加により可溶化率が低下する傾向を示した。可溶化液に含まれている SDS および尿素はゲル中の非共有結合を, 2-メルカプトエタノールはジスルフィド結合を破壊することが知られているため, 可溶化率の低下は MTGase の働きによって生じた非ジスルフィドの共有結合 [7] によると考えられた。

3.6 MTGase の添加量が酢じめゲル形成に及ぼす影響

MTGase を 1 から 5% 添加した坐りゲルならびに酢じめゲルについて, それらの物性値を Fig. 6 に示す。坐りゲルの破断強度は, MTGase の添加量が 3% 以下の場合はその添加量の増加とともに上昇し (235 から 339 g), それ以上の場合には低下した (339 から 278 g)。Asagami らも [14], 同様の結果を報告しており, 詳細な機序については不明であるが, 過度の MTGase 添加は坐りゲルの形成に悪影響であることが示唆された。また酢じめゲルの破断強度は, 坐りゲルのそれと同様の傾向を示し, MTGase を 3% 添加した際に最大 (378 g) となった。破断凹みについても破断強度と同様の傾向を示し, 坐りならびに酢じめゲルにおいて MTGase の添加量が増加するにしたがって減少した (坐りゲル, 1.03 cm から 0.88 cm; 酢じめゲル, 0.91 cm から 0.80 cm)。

これらの結果より, 酢じめゲルの物性は, その調製に

Fig. 6 Effects of microbial transglutaminase (MTGase) on the physical properties of *suwari* gel and acid-induced gel from blue shark meat.

Error bars mean standard deviation ($n=6$). Different letters indicate significant difference ($P<0.05$). ○, *suwari* gel; □, acid-induced gel.

用いられる坐りゲルの物性に影響されることが示された。また、本種筋肉に対し3%のMTGaseを添加した酢じめゲルの物性（破断強度、378 g；破断凹み、0.84 cm）は、スケトウダラのそれ（505 g, 1.3 cm）[3]やスルメイカのそれ（約120 g, 約0.7 cm）[4]と比較して遜色ない値を示し、本種筋肉の酢じめかまぼこ原料としての適性は十分に高いということが明らかとなった。

4. 結 論

低利用資源であるヨシキリザメの筋肉部について、その酢じめかまぼこ原料としての適性を明らかにすることを目的とし、その製造に必須とされている坐りならびに卵白添加の工程について検討を行った。本種筋肉の内在性TGase活性は他魚種と比較して低い傾向にあり、本種筋肉が坐りゲルを形成しない要因はその低いTGase活性にあることが示唆された。また、本種筋肉のホモジネートを30～90℃、pH 6.8の条件でインキュベートした結果、本種筋肉の内在性プロテアーゼ活性

は低いということが示唆された。加えて、15℃、pH 2.5–6.0の条件でインキュベートした際にもタンパク分解はみられなかったため、本種筋肉がもつ内在性酸性プロテアーゼの活性も低いということが示された。本種筋肉に微生物由来TGase (MTGase) を添加し播潰した試料は坐りならびに酢じめゲルを形成し、それらの破断強度は3%のMTGaseを添加した際に最大となり、スケトウダラ [3] やスルメイカ [4] を原料とする酢じめゲルと比較して遜色のない値を示した。一方で、MTGase 無添加試料は両ゲルを形成しなかった。また、卵白添加がゲルの物性に及ぼす影響は確認されなかった。これらの結果より、本種筋肉は酢じめかまぼこの原料として十分に利用可能であり、またその製造にはMTGaseの添加による坐りの導入が必要であることが示された。

謝 辞

本研究は、東北マリンサイエンス拠点形成事業の援助を受けた。

引 用 文 献

- 1) M. Okada; "Science of kamaboko gel (Kamaboko no kagaku)", Seibunsha, Tokyo, Japan, 2012, p.47.
- 2) S. Abe; "Vinegar-cured gel (Sujime kamaboko)". Food and Packaging, **52**, 566–571 (2011).
- 3) S. Abe, W. Weng, M. Tanaka, K. Limpisophon, K. Osako; "Effect of egg white and setting on the gelation of vinegar-cured kamaboko" (in Japanese). Nippon Suisan Gakkaishi, **75**, 695–700 (2009).
- 4) B. Techaratanakrai, M. Nishida, Y. Igarashi, M. Watanabe, E. Okazaki, K. Osako; Effect of setting conditions on mechanical properties of acid-induced kamaboko gel from squid *Todarodes Pacificus* mantle muscle meat. Fish Sci., **77**, 439–446 (2011).
- 5) H. Kishi, H. Nozawa, N. Seki; Reactivity of muscle transglutaminase on carp myofibrils and myosin B. Nippon Suisan Gakkaishi, **57**, 1203–1210 (1991).
- 6) U.K. Laemmli; Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, **15**, 680–685 (1970).
- 7) N. Seki, H. Uno, N. Lee, I. Kimura, K. Toyoda, T. Fujita, K. Arai; "Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi, and its reaction with myosin B" (in Japanese). Nippon Suisan Gakkaishi, **56**, 125–132 (1990).
- 8) H. Araki, N. Seki; Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosins. Nippon Suisan Gakkaishi, **59**, 711–716 (1993).

- 9) Y. Tsukamasa, Y. Shimizu; Setting property of sardine and pacific mackerel meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1105-1112 (1990).
- 10) S. Benjakul, W. Visessanguan, S. Pechart; Suwari gel properties as affected by transglutaminase activator and inhibitors. *Food chem.*, **85**, 91-99 (2004).
- 11) S. Abe, H. Amemiya, M. Tanaka, K. Limpisophon, A. Handa, K. Osako; "Effect of egg white on the gelation of acetic acid-induced gel prepared from Alaska pollack surimi" (in Japanese). *Nippon Suisan Gakkaishi*, **77**, 230-236 (2011).
- 12) S. Riebrooy, S. Benjakul, W. Visessanguan, U. Erikson, T. Rustad; Acid-induced gelation of natural actomyosin from Atlantic cod (*Gadus morhua*) and burbot (*Lota lota*). *Food Hydrocolloids*, **23**, 26-39 (2009).
- 13) M. Toyohara, M. Murata, M. Ando, S. Kubota, M. Sakaguchi, H. Toyohara; Texture changes associated with insolubilization of sarcoplasmic proteins during salt-vinegar curing of fish. *J. Food Sci.*, **64**, 804-807 (1999).
- 14) T. Asagami, M. Ogiwara, A. Wakameda, S.F. Noguchi; Effect of microbial transglutaminase on the quality of frozen surimi made from various king of fish species. *Fisheries Sci.*, **61**, 267-272 (1995).

引用 U R L

- i) http://kokushi.job.affrc.go.jp/H25/H25_37.html (Nov. 27,

2014)

- ii) http://www.sof.or.jp/jp/news/301-350/308_3.php (Nov. 27, 2014)

- iii) http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/suisan_ryutu/suisan_kakou/index.html#r (Nov. 27, 2014)

要 旨

低利用資源であるヨシキリザメの筋肉部について、その酢じめかまぼこ原料としての適性を明らかにすることを目的とし、その製造に必須とされる工程について検討を行った。本種筋肉から調製したホモジネートをインキュベート (30-90℃, pH 6.8 および 15℃, pH 2.5-6.0) した結果、いずれの条件においてもミオシン重鎖の大きな分解はみられず、本種筋肉の内在性プロテアーゼ活性は、低いということが示唆された。また、本種筋肉が坐りゲルを形成しない原因は、その内在性トランスグルタミナーゼ (TGase) 活性の低さにあることが示された。本種筋肉に微生物由来 TGase (MTGase) を添加した試料は坐りならびに酢じめゲルを形成し、それらの破断強度は MTGase を 3% 添加した際に最大値を示した。一方、MTGase 無添加試料は両ゲルを形成しなかった。これらの結果より、本種筋肉を原料とする酢じめかまぼこの製造には、MTGase の添加による坐りの導入が必須であることが明らかとなった。