

トカゲエソの貯蔵中に生成するホルムアルデヒドが かまぼこの品質に及ぼす影響

平岡 芳信,^{1*} 菅 忠明,¹ 黒野 美夏,¹ 平野 和恵,^{1a}
松原 洋,^{1b} 橋本 照,^{1c} 岡 弘康,^{1c} 関 伸夫²

(2002年11月27日受付, 2003年4月22日受理)

¹愛媛県工業技術センター, ²北海道大学大学院水産科学研究科

Influence of formaldehyde formation during storage of
shortfin lizard fish on kamaboko quality

YOSHINOBU HIRAOKA,^{1*} TADAAKI KAN,¹ MIKA KURONO,¹ KAZUE HIRANO,^{1a}
HIROSHI MATSUBARA,^{1b} TERU HASHIMOTO,^{1c} HIROYASU OKA^{1c} AND NOBUO SEKI²

¹Industrial Research Center of Ehime Prefecture, Matsuyama, Ehime 791-1101, ²Graduate School of Fisheries
Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan

The freshness and kamaboko gel-forming ability of shortfin lizard fish *Saurida elongata* meat rapidly deteriorate during cold storage at 5°C. We found that fish meat stored in that manner contains a large quantity of trimethylamine-N-oxide (TMAO) above 25 mmol/kg. TMAO rapidly degrades into formaldehyde and dimethylamine. The amount of formaldehyde increased to high levels at which the kamaboko gel-forming ability was almost lost after 2-3 days' of storage. Shortfin lizard fish meat produced formaldehyde abundantly at the setting temperature of 30°C for 6 hours. Washing with water effectively removed TMAO from minced meat. Deterioration in gel-forming ability was reproduced by addition of formaldehyde to washed shortfin lizard fish meat. In contrast, white croaker *Argyrosomus argentatus* meat contained over 50 mmol/kg of TMAO, but it retained its gel-forming ability well during storage because of its lack of formaldehyde. Adding formaldehyde to washed white croaker meat and shortfin lizard fish meat decreased gel-forming ability.

キーワード：トカゲエソ, グチ, かまぼこ, トリメチルアミンオキシド, ホルムアルデヒド

生鮮魚介類及び加工魚介類におけるホルムアルデヒドやジメチルアミン (DMA) の存在については, 多数の報告がある。¹⁻¹²⁾ これらの研究は, 魚肉中のホルムアルデヒドや DMA 量を個々に調べたり,¹⁾ トリメチルアミン (TMA) とトリメチルアミンオキシド (TMAO) との相関について述べられたものである。¹⁻³⁾ 特に, タラ類は, ホルムアルデヒドを多量に生成する魚種として報告されている。生成されたホルムアルデヒドは, 筋肉タンパク質の溶出性の低下を促進させるといわれている。²⁾

愛媛県の瀬戸内海で水揚げされるトカゲエソは, ゲル

形成能が弱い等の理由で, 高級かまぼこの原料には用いられておらず, 増量剤としての利用にとどまっている。これまで岡ら¹³⁻¹⁷⁾はトカゲエソのゲル形成能について検討し, ピロリン酸塩晒し等がゲル形成能を向上させるのに有効であることを述べている。しかし, トカゲエソは, 貯蔵中のゲル形成能低下が速く, この原因として, ホルムアルデヒドによる魚肉タンパク質の変性が推定されているが, 確認されていない。ここでは, 貯蔵中にトカゲエソの筋肉中に生成されたホルムアルデヒドが, トカゲエソ肉のかまぼこゲル形成能に与える影響について検討し若干の知見を得たので報告する。

* Tel : 81-89-976-7612. Fax : 81-89-976-7313. Email : hiraoka@iri.pref.ehime.jp

^a 現所属：愛媛県庁今治地方局 (Imabari Regional Office of Ehime Prefecture, Imabari, Ehime 794-8502, Japan)

^b 現所属：愛媛県庁八幡浜地方局 (Yawatahama Regional Office of Ehime Prefecture, Yawatahama, Ehime 796-0048, Japan)

^c 現所属：自宅

実験方法

供試魚 トカゲエソ *Saurida elongata* は瀬戸内海（伊予灘）で4月～5月と10月～2月に漁獲されたもの（平均体長30.3 cm, 平均重量276 g, 供試魚数約1,000尾）で鮮度の良いもの（漁獲当日）を用いた。

シログチ *Argyrosomus argentatus* は瀬戸内海で10月～2月に漁獲されたもの（平均体長22.5 cm, 平均体重139 g, 供試魚数約200尾）で鮮度の良いもの（漁獲当日）を用いた。

供試魚の貯蔵方法 トカゲエソ及びシログチは、5°Cでラウンドで貯蔵を行った。

トリメチルアミノオキシド関連物質の定量 トカゲエソについて貯蔵温度と期間を変えて、それぞれから調製した挽肉中のTMAO関連物質の定量を行なった。試料液は、試料10 gを秤量して乳鉢にとり、4%過塩素酸40 mLを加えて十分にすりつぶし、室温に30分間静置後ろ過し調製した。次に、供試液または希釈液2 mLを試験管にとり、1%三塩化チタン溶液1 mLを加え混合し、80°Cで1.0～1.5分間加熱してTMAOをTMAに還元した。これを流水中で冷却後に下記の方法にしたがってTMAの測定を行ない、還元前から存在していたTMA量を差し引いてTMAOを算出した。

TMAの定量はピクレート法³⁾によった。すなわち、供試液2～5 mLを20 mL容共栓試験管にとり、10%ホルムアルデヒド溶液1 mLを加えて混合し、次いで脱水トルエン10 mLを加えた。さらに25%水酸化カリウム2 mLを加え30°Cに約10分間静置後、1分間激しく振とうした。室温に5分間以上静置した後、上層のトルエン層を無水ぼう硝0.5 gを入れた共栓試験管に傾斜して移し、数回振り混ぜ脱水した。この脱水トルエン溶液を予め別の乾燥試験管にとった0.02%ピクリン酸トルエン溶液5 mLと混合し、410 nmで吸光度を測定した。

ジメチルアミン（DMA）の定量は銅・ジチオカルバメート法³⁾によった。供試液（2 mL）を共栓試験管にとり、銅アンモニア試薬（酢酸アンモニウム25 gと硫酸銅0.2 gを蒸留水30 mLに溶かした溶液）1 mLを40%水酸化ナトリウム溶液25 mLと混合した。ついで5%二硫化炭素-ベンゼン液10 mLを加え、栓をして50°C湯浴中に2分間保持し、加熱後直ちに1分半激しく振とう抽出した。これに30%酢酸1 mLを加え、さらに30秒間振とうした後10分間室温におき、ベンゼン層が透明になってから傾斜して別の試験管に移し、無水ぼう硝約0.5 gを加えて脱水し、440 nmで吸光度を測定した。

ホルムアルデヒドの定量はアセチルアセトン法⁹⁾によった。すなわち、試料肉10 gを乳鉢でよくすりつぶし、

20%トリクロル酢酸10 mLを加え、10分間放置して遠心分離（1700×g, 15分）する。残渣は、再び同様に遠心分離（1700×g, 15分）して、全上澄み液を100 mLとした。その10 mLをとり水酸化ナトリウム溶液中で中和し20 mLに定容して検液とした。検液5 mLを共栓試験管にとり、アセチルアセトン溶液5 mLを加えて攪拌後、沸騰水中で10分間加熱後冷却し、425 nmで吸光度を測定した。この方法では遊離型のホルムアルデヒドしか定量できないので、遊離アミノ酸や筋肉タンパク質等と結合したホルムアルデヒド量は次のようにして求めた。TMAOは酵素（TMAOase；トリメチルアミノオキシド脱メチル化酵素）によってDMAとホルムアルデヒドが当モル生成されること³⁾を基にDMA量から生成したホルムアルデヒド量を計算し、遊離ホルムアルデヒドを差し引き、結合ホルムアルデヒド量を求めた。^{11,12)}

トカゲエソかまぼこの調製 トカゲエソの頭・内臓・生殖巣を除去して、スタンプ式魚肉採取機で採肉し、ミンチ皿NO.4を用いて挽肉とした。この挽肉について水晒しを行った。水晒しは無晒し肉に対して5倍量の水を加え攪拌し、20分間静置後、遠心分離（800×g, 15分）で脱水した。この操作を2回繰り返した後、5倍量の0.3%の食塩水で晒し、同様に遠心分離（800×g, 15分）を行い、脱水した。脱水肉に対し食塩2.5%、グルタミン酸ナトリウム0.5%、水10～15%を加え30分間らい潰して肉糊を作製し、ケーシング（100 g）を行い、40°C 20分坐り、90°C 20分加熱を行いかまぼことした。また、ホルムアルデヒドの添加試験は、脱水肉に対して所定の濃度のホルムアルデヒドを添加（5分間混合）し、上記方法と同様に肉糊を作製し、ケーシング詰めをしてから加熱してかまぼことした。魚肉及びかまぼこのタンパク質量は、ケルダール法によって測定した。

かまぼこのゲル強度は、RHEO METER（不動工業株式会社NRM 1002A, 5 mmφプランジャー）を用い、破断強度（gw）と凹み（mm）で表わした。

物性の測定 かまぼこの折曲げ試験は、5 mmの厚さのかまぼこ片を折曲げ、5段階評価した。評価基準は以下の通りである。5：4つ折にして亀裂を生じない。4：2つ折にして亀裂を生じない。3：2つ折にして徐々に亀裂が入る。2：2つ折にしてすぐに亀裂が入る。1：2つ折りで2片に分離する。

白度の測定 かまぼこの白度は、輪切りにした試験片を色差計（東京電色株式会社カラーエースTCA-A）で測定した。

ATPase活性の測定 筋原繊維の調製は、加藤らの方法によった。¹⁸⁾ すなわち、細切りした魚肉を約5 gとり、0.10 M KCl-0.04 M Tris-HCl buffer（pH 7.0）-1%

TritonX-100 溶液 40 mL と共に, よく冷却しながら 3 分間ホモジナイズする。750×g で 15 分間遠心分離して上澄み液を捨てる操作を 2 回繰り返す, 次に 0.10 M KCl-0.04 M Tris-HCl buffer (pH 7.0) 70 mL を加え攪拌してから 750×g で 7 分間遠心分離し, 上澄みが透明になるまで数回繰り返した。得られた沈殿は, 0.10 M KCl-0.04 M Tris-HCl buffer (pH 7.0) 液 60 mL に懸濁し, ガーゼを通過させて結合組織を除き, 筋原繊維の懸濁液を調製した。以上の操作はすべて氷冷しつつ行った。

筋原繊維の Ca²⁺-ATPase は, 5 mM CaCl₂, 0.10 M KCl, 1 mM ATP, 20 mM Tris-HCl (pH 7.0) の反応混液中で, Mg²⁺-ATPase は, 1 mM MgCl₂, 0.10 M KCl, 1 mM ATP, 20 mM Tris-HCl (pH 7.0) の反応混液中で, 25°C における生成無機リンをモリブデンブルー法で比色定量した。

結 果

トカゲエソの貯蔵中のゲル形成能の変化 トカゲエソの貯蔵中のゲル形成能の変化を調べた。トカゲエソを 5°C で貯蔵し, それから調製した挽肉を用い水晒しを行ってから, 肉糊のタンパク質濃度を 11%, 13% と 15% に調整し, 2 段加熱で作製したかまぼこの破断強度の変化を Fig. 1(a) に, 同様に凹みの変化を Fig. 1(b) に示した。

Fig. 1 より, トカゲエソのタンパク質濃度を 15% に調整して作製したかまぼこの破断強度および凹みは, 貯蔵 0 日目の 2 段加熱 (40°C 20 分—90°C 20 分) では, それぞれ約 886 gw, 15.8 mm, 5°C で貯蔵 6 日後には 399 gw, 9.4 mm, 貯蔵 10 日後には約 295 gw, 7.6 mm と低下した。同様に, タンパク質濃度を 13%, 11% に調整して作製したかまぼこの破断強度及び凹みも貯蔵期間の増加と共に低下した。タンパク質濃度を低下させるに従って破断強度は低下し, 凹みは増加した。よって, タンパク質濃度を低下させると柔軟性が増し, タンパク質濃度が高くなると硬くなる傾向があった。このように, かまぼこの弾力 (破断強度でおよそ 400 gw>) を形成する貯蔵期間は, タンパク質濃度を 11% に調整した場合は 2.5 日, タンパク質濃度を 13% に調整した場合は 3.5 日, タンパク質濃度を 15% に調整した場合は 4 日が限界であることがわかった。

一方, 図示していないが, 無晒しで魚肉タンパク質濃度を 13% に調整して作製したかまぼこの破断強度及び凹みは, 203 gw と 9.5 mm で, 貯蔵 0 日目でも水晒しを行った魚肉から作製したかまぼこと比べて弾力が低く, 魚肉に含まれているプロテアーゼ等の影響のため, かまぼことならなかった。このため, タンパク質濃度を 18% まで上げてかまぼこを作製したが, 同様にかまぼことならず, 貯蔵 0 日目でも無晒しではかまぼこの原

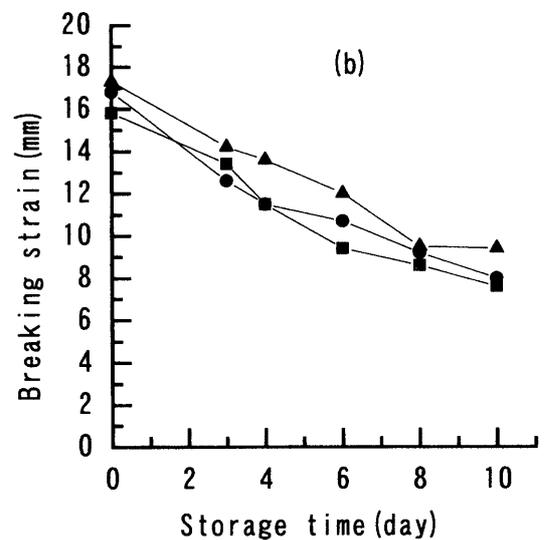
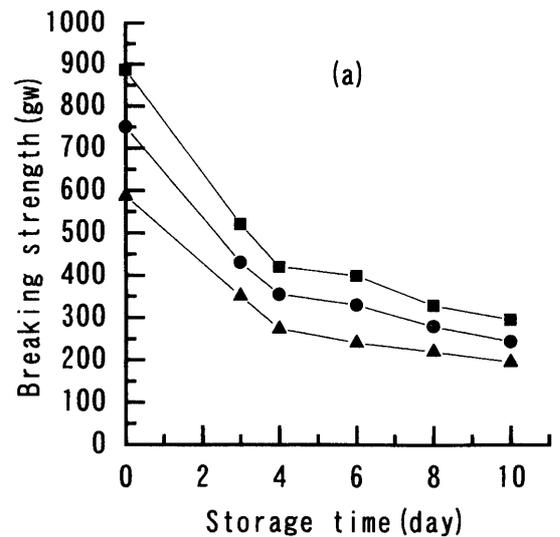


Fig. 1 Change in gel forming ability of lizard fish fillets during storage at 5°C. Kamaboko gels were prepared by a 2-step heating method (40°C for 20 min and 90°C for 20 min). Protein concentration: ■, 15%; ●, 13%; ▲, 11%.

料として利用できないことがわかった。

シログチの貯蔵中のゲル形成能の変化 次に, 比較のためにかまぼこ原料として優れているシログチを同様に貯蔵してゲル形成能の変化を調べた。シログチを 5°C で貯蔵して鮮度を低下させ, それから調製した挽肉を用い水晒しを行ってから, 肉糊のタンパク質濃度を 13% と 15% に調整し 2 段加熱 (40°C 20 分—90°C 20 分) して作製したかまぼこの破断強度の変化を Fig. 2(a) に, 凹みの変化を Fig. 2(b) に示した。シログチのタンパク質濃度を 15% に調整して作製したかまぼこの破断強度, 凹みは, 貯蔵 0 日目の 2 段加熱では, 約 1,400 gw, 19.0 mm であり, 貯蔵期間が長くなると破断強度及び凹みは

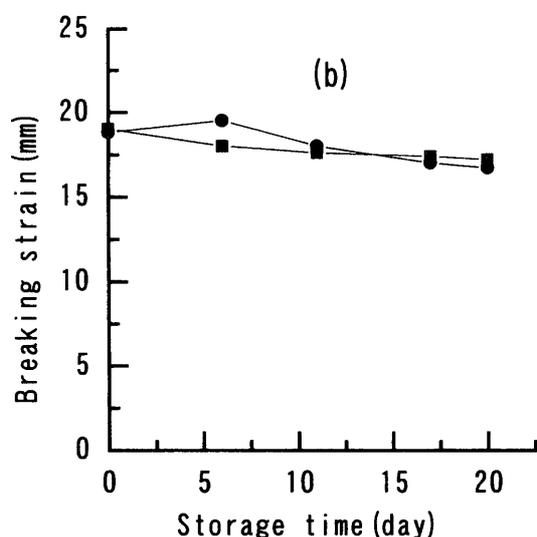
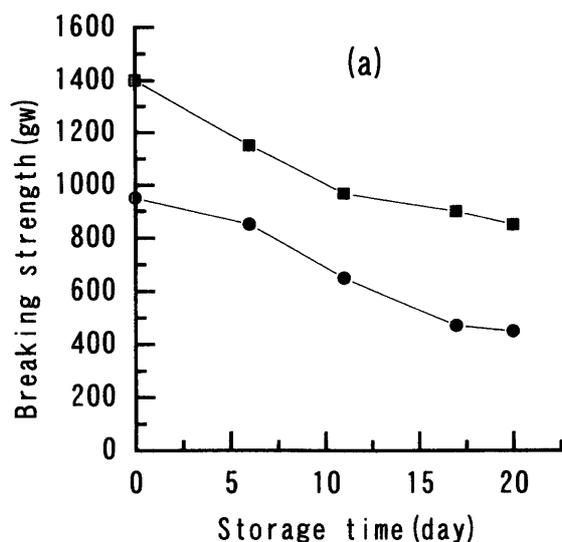


Fig. 2 Change in gel-formability of white croaker fillets during storage at 5°C. Protein concentration: ■, 15%; ●, 13%.

低下するものの、20日後になっても破断強度及び凹みは、850 gw, 17.3 mmを保ち、かまぼこゲルとして十分利用できる品質を保持していた。同様に、タンパク質濃度を13%に調整して作製したかまぼこの破断強度及び凹みも鮮度の低下に伴って低下したが、20日後もなおかまぼことしての価値のあるゲル形成能を有していた。トカゲエソとは異なり、シログチはゲル形成能に優れており、さらに貯蔵期間が相当長くなってもかまぼこゲル形成能はある程度維持されていることが再確認された。¹⁹⁾

トカゲエソの貯蔵中のTMAO関連物質の経時変化
トカゲエソでは、ホルムアルデヒドの生成が鮮度低下に影響している可能性が考えられたので、ホルムアルデヒドの生成について詳細に検討することとした。

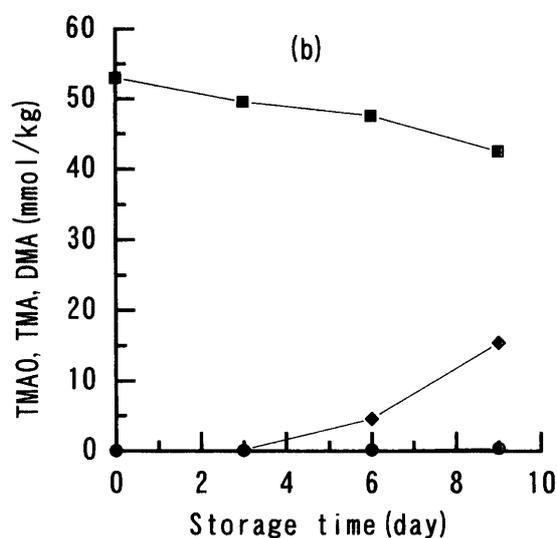
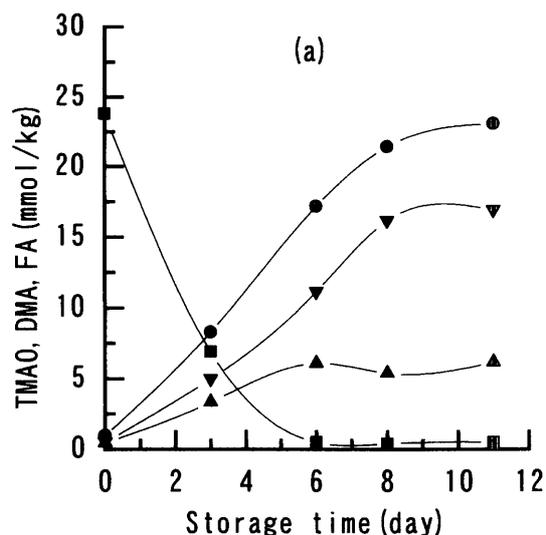


Fig. 3 Changes in TMAO and its degradative products in the muscle of lizard fish and white croaker during storage. The muscle was stored at 5°C. (a) lizard fish; (b) white croaker; ■, TMAO; ◆, TMA; ●, DMA; ▲, Free state formaldehyde (FA); ▼, bound FA.

まず、トカゲエソ肉中のTMAO量とその分解物を測定し、スケトウダラと同様の変化が起きることを確かめた。トカゲエソの落とし身を5°Cで11日間貯蔵した場合のTMAO関連化合物の経時変化をFig. 3(a)に示した。⁶⁾貯蔵に伴い肉中のTMAOは当初の23.8 mmol/kgから6日後には0.5 mmol/kgへと減少したが、一方、DMAは貯蔵0日目の1.0 mmol/kgから3日後に8.3 mmol/kg、6日後に17.2 mmol/kg、11日後に23.1 mmol/kgにまで増加した。また、図示していないが、TMAは当初の0から11日後には1.4 mmol/kgへと僅かに増加した。この結果はTMAOの分解がスケトウダ

ラと同じように, DMA とホルムアルデヒド経路であることを示唆している。しかし, 遊離型ホルムアルデヒドは, 0.5 mmol/kg から 6.2 mmol/kg (11 日後) と増加したが, その量は DMA 量の約 1/4 で, TMAO の分解量に見合うものではなかった。前述の徳永³⁾の報告のように TMAO が等モル量の DMA とホルムアルデヒドに分解されると仮定すれば, 遊離のアミノ酸や魚肉タンパク質と結合したホルムアルデヒド量は, 貯蔵中に 0.5 mmol/kg (0 日目) から 5.6 mmol/kg (3 日後), 11.2 mmol/kg (6 日後), 16.9 mmol/kg (11 日後) に増加したことになる。このことは, 岡によって確認されている。²⁰⁾

同様に, 0°C で貯蔵した場合も, 図示していないが遊離アミノ酸や魚肉タンパク質と結合したホルムアルデヒドの量は, 0.5 mmol/kg (0 日目) から 5.9 mmol/kg (3 日後), 14.1 mmol/kg (6 日後), 19.7 mmol/kg (11 日後) であると推定され, トカゲエソを 5°C で貯蔵するよりも, 0°C で貯蔵した方がタンパクと結合したホルムアルデヒドは僅かに多い傾向がみられた。

シログチの貯蔵中の TMAO 関連物質の経時変化 トカゲエソとの対比のために, シログチの落とし身を 5°C で 9 日間貯蔵した場合の TMAO 関連化合物の経時変化を Fig. 3(b) に示した。シログチ筋肉中にはトカゲエソよりも多量の TMAO (53 mmol/kg) が含まれており, 貯蔵中に徐々に減少した。しかし, 9 日間の貯蔵中に DMA は検出されず, 遊離型ホルムアルデヒドも検出されなかったため, ホルムアルデヒドも生成されていないと推定された。⁶⁾ このことも, 岡によって確認されている。²⁰⁾ 一方, TMA は徐々に増加し, 4 日以後は急激に増加した。

トカゲエソ及びシログチの水晒し肉の貯蔵中の TMAO 関連物質の経時変化 TMAO とその関連物質は水に易溶性であることから水晒しの効果を調べた (データは図示せず)。トカゲエソの魚肉中の TMAO 量は, 水晒しによって 23.8 mmol/kg から 0.08 mmol/kg に減少し, この水晒し肉を, 5°C で 11 日間貯蔵を行ってもその含量は, 0 日目の 0.08 mmol/kg とほとんど変わらなかった。また, DMA 量は貯蔵中にわずかな増加が見られた。遊離型ホルムアルデヒドも, 0 日目から 0.03 mmol/kg (11 日後) へと微増し, トカゲエソの落とし身を 5°C で貯蔵した時のような DMA や遊離のホルムアルデヒドの顕著な増加は見られなかった。これらの結果から, 水晒しで TMAO が効果的に除去され, 貯蔵中に DMA とホルムアルデヒドが生成しなくなることがわかった。一方, シログチ肉中の TMAO 量は, 水晒しによって 53.0 mmol/kg から 1.1 mmol/kg に減少し, 5°C で 11 日間貯蔵した後でも 0.7 mmol/kg とほとんど変わらなかった。

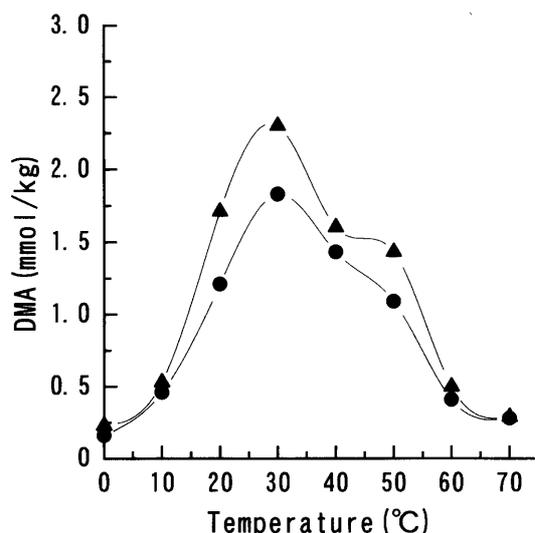


Fig. 4 Effect of temperature on the formation of DMA during the storage of lizard fish fillet. Storage time: ●, 4 h; ▲, 6 h.

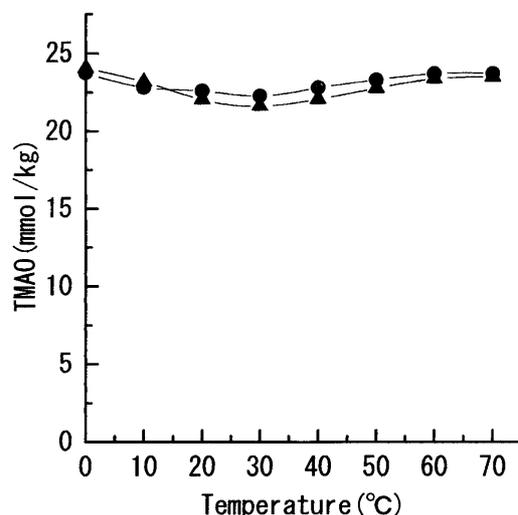


Fig. 5 Effect of temperature on a decrease in TMAO during the storage of lizard fish fillet. Storage time: ●, 4 h; ▲, 6 h.

トカゲエソ肉の DMA 生成に及ぼす温度と時間の影響 トカゲエソフィレー貯蔵中のホルムアルデヒドの生成に及ぼす温度と時間の影響を知るために, 当モル量生成するとされる DMA 量を測定して Fig. 4 に示した。トカゲエソの DMA の生成量は, 6 時間までは約 30°C で最大生成量 (約 2.3 mmol/kg) を示すことがわかった。

次に, フィレー中の TMAO の変化を Fig. 5 に示した。貯蔵温度 30°C で最大減少量を示し, DMA 生成の最適反応温度と一致していた。フィレー中の DMA の生成量と TMAO の低下量が 30°C で最大となり, 高温下ではほとんど生成しないことから, TMAO の分解は

トリメチルアミノオキシド脱メチル酵素による酵素分解である可能性が高いと思われる。しかし、TMAOの減少速度とDMAの生成速度は完全には一致していない。この原因は不明であるが、フィレーそのものを用いたので反応系が不均一で複雑なことも要因と考えられる。木村ら²¹⁾によるとTMAOは非酵素的にもDMAとホルムアルデヒドに分解されることが報告されているが、この反応は凍結による溶質の濃縮が原因であることから、ここでは非酵素的DMAの生成の可能性は小さいと推定される。

しかし、長時間貯蔵ではこの傾向は異なり、DMA量はFig. 6に示すように30°Cでは6時間以後には減少に転じ31時間後には検出されなくなった。一方、低温下でのDMAの生成速度は遅いが、6日目にはDMAの蓄積量は14 mmol/kgに達した。20~30°CでのDMAの蓄積量が短時間で低下した原因としては、TMAOase活性維持にFe²⁺や還元剤を必要とすることから、²²⁾これらの成分の消失が考えられる。さらに、微生物の増殖によりTMAOがTMAへ分解されるようになるためと推定される。しかし、この温度域における短時間でのDMAの急激な増大は坐り工程におけるホルムアルデヒドの生成によってゲル形成能が低下する可能性を示唆している。

ホルムアルデヒドがトカゲエソかまぼこの品質に及ぼす影響 前節までの結果から、トカゲエソでは貯蔵中にホルムアルデヒド量が0°C貯蔵でも3日後に4.5 mmol/kg、5°Cでは8.3 mmol/kgを超える (Fig. 3, Fig. 6)。しかし、水晒しすることによってTMAOを除去した魚肉を5°Cで5日間貯蔵した後、作製したタンパク質濃

度が15%のかまぼこの破断強度と凹みは、850 gw、18.0 mmで、弾力は十分保持されていた。

そこで、トカゲエソの肉糊にホルムアルデヒドを添加してかまぼこゲルの形成に及ぼす影響を調べた。

貯蔵0日目のトカゲエソから調製した挽肉を水晒し、TMAO関連化合物を除去した。その後、ホルムアルデヒドを添加して塩ずりし、かまぼこを作製しゲル強度を測定した結果をFig. 7に示した。ホルムアルデヒドの添加量の増加に伴い、破断強度と凹みは低下し、ホルム

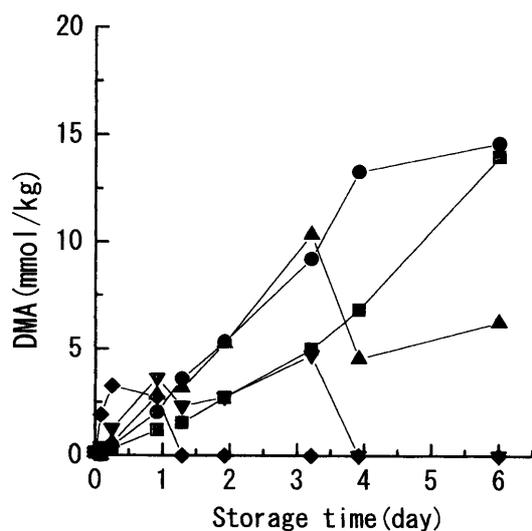


Fig. 6 Changes in DMA in the lizard fish fillet during storage at various temperatures. ■, 0°C; ●, 5°C; ▲, 10°C; ▼, 20°C; ◆, 30°C.

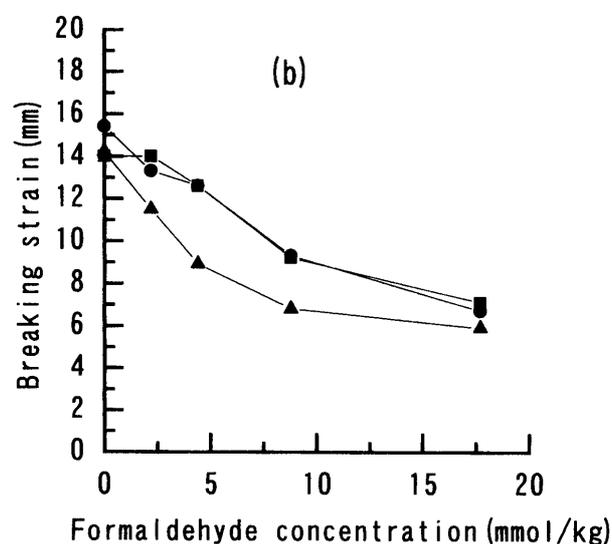
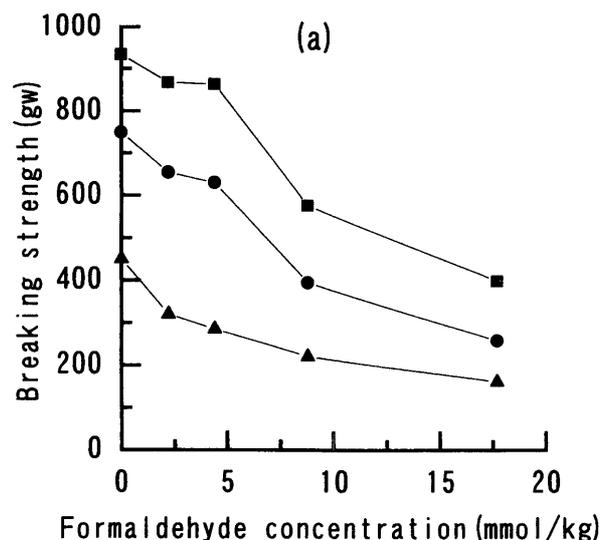


Fig. 7 Effect of formaldehyde added to the washed meat on the gel properties. Formaldehyde-added meat of lizard fish, previously washed and salted, was heated by a 2-step heating method (40°C for 20 min and 90°C for 20 min). The salted meat contained 2.5% NaCl and formaldehyde at pH 6.8. (a) Breaking strength of the gel; (b) breaking strain. Protein concentration of salted meat: ■, 15%; ●, 13%; ▲, 11%.

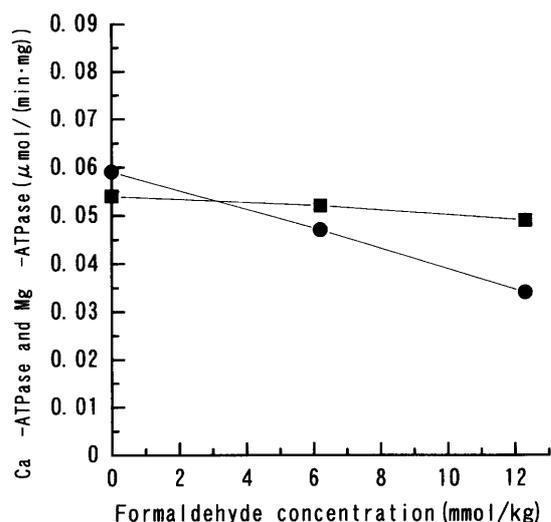


Fig. 8 Effects of formaldehyde on ATPase activity of salted meat paste. Formaldehyde was added to the salted meat paste and then ATPase activity of the paste was measured in 40 mM Tris-HCl (pH 7.5) and 1 mM-ATP with 0.5 M KCl and 5 mM CaCl₂ for Ca²⁺-ATPase (■), or 25 mM KCl, 2 mM MgCl₂ and 0.1 mM CaCl₂ for Mg²⁺-ATPase (●) at 25°C.

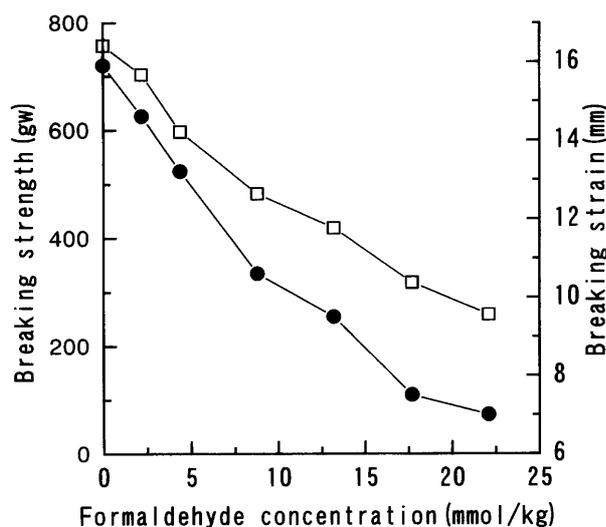


Fig. 9 Effect of formaldehyde added to the washed meat on the gel properties. Formaldehyde-added meat of white croaker, which was previously washed and salted, was heated by a 2-step heating method (40°C for 20 min and 90°C for 20 min). The salted meat contained 83.5% moisture, 2.5% NaCl, and formaldehyde at pH 6.8. □, Breaking strength; ●, breaking strain.

アルデヒドを1.0 mmol/kg添加することによって、タンパク質濃度が15%, 13%, 11%のかまぼこの破断強度は、それぞれ約30 gw, 28 gw, 16 gw低下し、凹みもそれぞれ0.4 mm, 0.5 mm, 0.4 mm低下して脆いゲルとなった。折り曲げテストでも5から1に低下し、かまぼ

こととしての価値がなくなった。

ホルムアルデヒドを添加した水晒し肉のCa²⁺-ATPase活性とMg²⁺-ATPase活性を測定し、その結果をFig. 8に示した。Ca²⁺-ATPase活性はホルムアルデヒドの添加濃度に関わらずほぼ一定の値を示し、Mg²⁺-ATPase活性は徐々に低下した。コイの筋原繊維にホルムアルデヒドを添加するとCa²⁺-ATPaseの活性が一過性に上昇するが、²⁵⁾これはミオシン頭部のSH基(SH₁)とホルムアルデヒドの反応によることが推測されている。しかし、トカゲエソの水晒し肉ではこのような変化がないことから、すでにSH基が酸化されているか、遮蔽されていることが推定される。

ホルムアルデヒドがシログチかまぼこのゲル形成能に与える影響 次に、ホルムアルデヒドを生成しないシログチの水晒し肉にホルムアルデヒドを添加してかまぼこゲル形成能に及ぼす影響を検討した。鮮度の良いシログチから調製した挽肉の水晒しを行うことによってTMAO関連化合物を除去した後、ホルムアルデヒドを添加してかまぼこを作製しゲル強度を測定した結果をFig. 9に示した。

シログチにホルムアルデヒドを添加してかまぼこを作製した場合もトカゲエソにホルムアルデヒドを添加してかまぼこを作製した場合と同様に、ホルムアルデヒドの添加濃度の増大と共に、ゲルの破断強度と凹みが低下し、ホルムアルデヒドがゲル形成能に大きな影響を与えていることが分かった。

以上の結果から、トカゲエソ肉糊のゲル形成能が低下し、脆いかまぼこゲルとなる原因としてホルムアルデヒドの生成が大きな要因であることが推定された。ホルムアルデヒドを添加した肉糊から作製されたかまぼこは脆く、離水するという特徴をもっており、鮮度の悪いトカゲエソかまぼこに良く似ていた。

考 察

トカゲエソのゲル形成能について検討した。トカゲエソ肉を5°Cで4日間貯蔵してもミオシンHC重鎖の分解物(図示していない)は検出できないことや、タンパク質分解酵素が含まれる未晒し肉の肉糊を、活性の高い60°Cで加熱しても、酵素失活が起こる90°C加熱で加熱してもゲル物性(破断強度)に違いがないことなどから、タンパク質分解酵素が未晒し肉や貯蔵肉のゲル形成低下の主要因とは考えられなかった。そこで、貯蔵中にトカゲエソの筋肉中に生成されたホルムアルデヒドが、トカゲエソ肉のかまぼこゲル形成能に与える影響について検討した。

エソやタラ類は、肉中でTMAOからホルムアルデヒドを生成することでよく知られている。魚肉中には、TMAOの分解経路が2つ考えられている。まず1つは、

TMAO からトリメチルアミノキシド還元酵素によって TMA に、さらにトリメチルアミン脱メチル酵素によって DMA に分解され、さらにジメチルアミンモノオキシゲナーゼによってメチルアミンへと分解する経路である。この経路は魚肉中の酵素ではなく微生物由来の酵素による反応と考えられている。^{6,7)} 2つ目は、魚肉中のトリメチルアミノキシド脱メチル酵素によって TMAO から DMA とホルムアルデヒドに分解する経路である。^{2,8)}

トカゲエソの肉中に起こる TMAO の分解経路を明らかにするために、トカゲエソを 5°C で貯蔵し TMAO の関連化合物の変化を測定した結果、トカゲエソの肉中で起こる反応は、主としてトリメチルアミノキシド脱メチル酵素による DMA とホルムアルデヒドの生成であることが示された (Fig. 3(a))。一方、シログチを 5°C で貯蔵し TMAO の関連化合物を測定した結果、TMAO が分解することによって TMA が生成され、生成量は 9 日後に 14.4 mmol/kg に増加した。しかし、DMA は 0.7 mmol/kg しか生成されなかった。このことから、シログチの魚肉で起こる反応は、主として微生物のトリメチルアミノキシド還元酵素の作用であることが示唆された (Fig. 3(b))。このように、魚種によって TMA の分解経路が異なり、トカゲエソでは DMA とホルムアルデヒドが生成した。トカゲエソの貯蔵中のホルムアルデヒドの生成量は極めて大きく、5°C で 2 日後には 3 mmol/kg を超えた (Fig. 3)、また、坐りを考慮した 30°C では 2 時間 30 分ほどで 1 mmol/kg に達した (Fig. 4) ことから、鮮度の良いうちに水晒しをして基質となる TMAO を除去しない限り、生成したホルムアルデヒドによってタンパク質の変性が起こり、ゲル形成能の低下の原因となることが推定される。

Fig. 7 の結果は、鮮度の良いトカゲエソではタンパク質濃度 11%、13% 及び 15% においてそれぞれホルムアルデヒド濃度が 5, 8 及び 17 mmol/kg 以上でかまぼこの破断強度が 400 gw に到達できないことを示している。しかし、5°C で貯蔵したエソ肉では、Fig. 1 と 3 の結果から、破断強度から見たかまぼこの価値が失われるのは肉中のホルムアルデヒド濃度がそれぞれ 4, 6 及び 8 mmol/kg 以上のときであることがわかり、Fig. 7 の結果に比べ、少量のホルムアルデヒドでかまぼこゲル形成能が失われることになる。この相違については両実験のホルムアルデヒドとタンパク質との反応時間が異なることによるものと考えられる。すなわち、Fig. 7 ではホルムアルデヒドを添加してから加熱まで約 1 時間 (らい漬に 30 分、ケーシングに 10 分、坐りに 20 分) であった。一方、Fig. 1 と 3 においては、ホルムアルデヒド (貯蔵中に生成) とタンパク質との反応時間は、それぞれ 2.5 日、3.5 日と 4 日であった。ホルムアルデヒドと

タンパク質との反応は最初は可逆的であり、時間とともに不可逆的に結合し、タンパク質を変性させることが知られている。^{23,24)} したがって、反応時間が短い Fig. 7 ではタンパク質濃度が高いかまぼこほどゲル形成能の低下に多量のホルムアルデヒドが必要であったと推測される。Abe らは²⁵⁾ スケトウダラ肉糊に 1 mmol/kg のホルムアルデヒドを添加すると、添加直後に加熱したゲルは高いゲル物性を示すが、添加後肉糊を 0°C で 8 時間放置してから加熱するとゲル形成能がないことを報告している。さらに、Ca²⁺-ATPase 活性はホルムアルデヒド添加後の時間経過とともに増大することを述べている。したがって、Fig. 8 で Mg²⁺-ATPase 活性が徐々に低下することから、ホルムアルデヒドによる変性が進んでいるものと推定されるが、Ca²⁺-ATPase 活性はホルムアルデヒド活性の指標には向かないと思われる。つまり、ホルムアルデヒドは、ミオシン分子の双頭サブフラグメント-1 の ATPase 活性を保持しながら変性することが推定される。

以上の結果から、トカゲエソ肉糊のかまぼこゲル形成能を低下させないためには、漁獲後できる限り早くホルムアルデヒド生成の原因となる TMAO を水晒して除去することが有効であると結論される。

謝 辞

本研究は水産庁の補助事業である「平成 5 年～9 年水産加工新原料開発事業」の一環として行われたものであり、本事業の関係各位に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 徳永俊夫. 魚類血合い肉中のトリメチルアミノキシドならびにその分解—II 貯蔵中における DMA, TMA の生成. 日水誌 1970; **36**: 510-515.
- 2) 徳永俊夫. 冷凍スケトウダラの品質におよぼすトリメチルアミノキシド分解物の影響. 日水誌 1974; **40**: 167-174.
- 3) 徳永俊夫. 海産魚類におけるトリメチルアミノキシド関連物質に関する生化学的, 食品学的研究. 東海区水研報告 1980; **101**, 9.
- 4) Yasui A, Lim PY. Changes in Chemical and physical properties of lizard fish meat during ice and frozen storage. *Nippon Syokuhin Kogyo Gakkaishi*. 1987; **34**: 54-60.
- 5) Sakaguchi M, Kawai A. The participation of cytochromes in the reduction of trimethylamin N-oxide by *Escherichia coli*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1978; **44**: 511-516.
- 6) Colby J, Zatman L. Trimethylamine metabolism in obligate and facultative methylotrophs. *Biochem. J.* 1973; **132**: 101-112.
- 7) J. B. M. Meiberg, W. Harder. Aerobic and anaerobic metabolism of trimethylamine, dimethylamine and methylamine in *Hyphomicrobium X*. *J. Gen. Microbiol.* 1978; **106**: 265-276.
- 8) C. H. Castell, B. Smith, W. J. Dyer. Effects of formaldehyde on salt extractable proteins of gadoid muscle. *J. Fish.*

- Res. Bd. Can.* 1973; **30**: 1205-1213.
- 9) Kimura M, Seki N, Kimura I. Occurrence and some properties of trimethylamine-N-oxide demethylase in myofibrillar fraction from walleye pollack muscle. *Fish. Sci.* 2000; **66**: 725-729.
 - 10) 衛生試験法注解, 日本薬学会編, 東京, 1990; 108-110.
 - 11) 平岡芳信, 菅 忠明, 平野和恵, 黒野美夏, 橋本 照, 岡 弘康. トカゲエソ及びタチウオの冷凍すり身の開発. 平成6年度水産加工新原料開発事業報告書, 水産庁魚政部水産流通課, 東京. 1994; 110-120.
 - 12) 平岡芳信, 菅 忠明, 黒野美夏, 松原 洋, 岡 弘康. トカゲエソ及びタチウオの冷凍すり身の開発. 平成7年度水産加工新原料開発事業報告書, 水産庁魚政部水産流通課, 東京. 1995; 135-143.
 - 13) 岡 弘康, 西川清文. 水産ねり製品の原料魚と品質に関する研究(第4報)トカゲエソ, マエソ, ワニエソのかまぼこ形成能. 愛媛工技研究報告 1984; **22**: 25-32.
 - 14) 岡 弘康, 安田 傑, 西川清文. 水産ねり製品の原料魚と品質に関する研究(第7報)ピロリン酸塩晒しによる弾力の増強効果. 愛媛工技研究報告 1985; **23**: 83-88.
 - 15) 岡 弘康, 安田 傑, 西川清文. 水産ねり製品の原料魚と品質に関する研究(第8報)ピロリン酸塩晒しによるトカゲエソ肉の蛋白溶出性とかまぼこ形成性. 愛媛工技研究報告 1985; **23**: 89-95.
 - 16) 岡 弘康, 大野一仁, 二宮順一郎. 水産ねり製品の原料魚と品質に関する研究(第11報)ピロリン酸塩晒しによるトカゲエソの冷凍すり身. 愛媛工技研究報告 1988; **26**: 31-37.
 - 17) 平岡芳信, 菅 忠明, 平野和恵, 黒野美夏, 橋本 照, 岡 弘康. 水産練り製品の原料魚と品質に関する研究(第14報)トカゲエソの鮮度とゲル形成能. 愛媛工試研究報告 1993; **32**: 35-44.
 - 18) 加藤 登, 内山 均, 塚本志朗, 新井健一. 魚類筋原織ATPaseの生化学的研究. 日水誌 1977; **43**: 857-867.
 - 19) 岡田 稔. かまぼこの科学, 東京, 2000; 99-114.
 - 20) 岡 弘康. エソのかまぼこ原料特性について. *New Food Industry.* 2000; **42**: 9-16.
 - 21) 木村メイコ, 関 伸夫, 木村郁夫. 0°C以下の温度におけるトリメチルアミン-N-オキシドの酵素のおよび非酵素の分解. 日水誌 2002; **68**: 85-91.
 - 22) Kimura M, Seki N, Kimura I, Purification and characterization of trimethyl N-oxide demethylase from walleye pollack muscle. *Fish. Sci.* 2000; **66**: 967-973.
 - 23) Galembeck F, Ryan DS, Whitaker JR, Feeney RE. Reaction of proteins with formaldehyde in the presence and absence of sodium borohydride. *J. Agric. Food Chem.* 1977; **25**: 238-245.
 - 24) Tome D, Kozlowaki A, Mabon F. Carbon-13 NMR study on the combination of formaldehyde with bovine serum albumin. *J. Agric. Food Chem.* 1985; **33**: 449-455.
 - 25) Abe E, Hayakawa K, Kimura M, Kimura I, Seki N. Preventive effects of amino acids and glutathione on the formaldehyde induced denaturation of myofibrillar proteins. *Fish. Sci.* 2003; **69**: 605-614.

よび飼育に用いたワムシ、アルテミア、天然コペポータ、冷凍天然コペポータ、配合飼料のタウリン含量および天然稚魚におけるタウリン含量との違いを調べた。その結果、人工種苗生産過程におけるブリ仔稚魚のタウリン含量は、餌・飼料中のタウリン含量の影響を受けること、特に開口時まで多くの遊離アミノ酸が減少するのに対して、タウリンは開口後のワムシ給餌期に大きく減少すること、また人工種苗生産稚魚は天然稚魚に比べて、タウリン含量が著しく少ないことが明らかとなった。

日水誌, 69(5), 757-762 (2003)

ヒラメ網膜 S 電位のスペクトル相対感度と応答潜時

Dusit THANAPATAY, 袋谷賢吉 (富山大学)

ヒラメの明順応網膜における 1 相性および 2 相性 S 電位応答のスペクトル相対感度特性を測定し、緑錐体および青錐体のスペクトル吸収特性並びに感度特性と比較した。また、S 電位の応答潜時を調べた結果、1 相性および 2 相性 S 電位の過分極応答の潜時に比べ、2 相性 S 電位の脱分極応答の潜時の方が長かった。さらに、網膜組織を調べ、ヒラメの錐体モザイクは正方形で付加錐体がないことが分かった。以上の結果を基に、ヒラメの錐体視物質および錐体と水平細胞の神経回路について考察した。

日水誌, 69(5), 763-769 (2003)

東京湾海底におけるごみの組成・分布とその年代分析

栗山雄司, 東海 正, 田島健治, 兼廣春之 (東水大)

東京湾南西部を中心とした海域に堆積するごみを 1995～2000 年にかけて小型底曳網により調査した。6 年間の調査で計 26,940 個 (1,691 kg) のごみが回収され、そのほとんどが買い物袋、包装袋などのプラスチック製品および飲料缶などの生活用品であった。調査の結果、底曳網により回収されるごみの量は、年々減少する傾向がみられ、1995 年の 338 個/km² から 2000 年の 185 個/km² へと半減していた。ごみの減少は底曳網による海底清掃などの効果によるものと考えられた。回収した飲料缶の製造年組成を調べ、Virtual Population Analysis によって海中における飲料缶の残存率をアルミ缶およびスチール缶についてそれぞれ 0.47 および 0.38 と推定した。

日水誌, 69(5), 770-781 (2003)

フグ卵巣ぬか漬けの微生物によるフグ毒分解の検討

小林武志, 木村 凡, 藤井建夫 (東水大)

石川県特産のフグ卵巣ぬか漬けでは、有毒卵巣がぬか漬け後に食用となるので、その減毒への微生物関与の可能性を検討した。ぬか漬け製造中の桶の液汁を採取し、これにフグ毒を添加して貯蔵を行い、その毒性を測定すると共に、ぬか漬けの微生物 185 株をフグ毒培地に各々接種し、培養後の培地の毒性を測定した。また、フグ毒培地にぬか漬けを直接接種、培養して、毒性変化を調べ、毒分解活性を有する微生物を増菌して分離しようと試みた。しかし、一連の実験では、微生物関与と考えられる明確な毒性低下を確認できなかった。

日水誌, 69(5), 782-786 (2003)

破断試験法で評価した市販かまぼこの部位による物性の違い

塚正泰之, 萩原智和, 安藤正史, 牧之段保夫 (近大院農), 川合哲夫 (大阪府大院農)

市販かまぼこの部位による物性の違いを破断試験で測定した。直径 0.3 cm のプランジャーを用いて 0.7 cm 間隔で測定した場合、周りの測定痕が物性値にほとんど影響しないことを確認した。かまぼこの部位による物性の違いを 7 種類の市販かまぼこで測定した結果、全てのかまぼこでスライス面の上下方向で、多くの物性値に有意差が認められ、左右方向、スライス片間では、数種のかまぼこに特徴的な差が認められた。かまぼこ間の物性の違いを主成分分析で比較した結果、第 1 主成分は破断時の物性、第 2 主成分は噛み始めの物性を示した。

日水誌, 69(5), 787-695 (2003)

トカゲエソの貯蔵中に生成するホルムアルデヒドがかまぼこの品質に及ぼす影響

平岡芳信, 菅 忠明, 黒野美夏, 平野和恵, 松原 洋, 橋本 照, 岡 弘康 (愛媛工技セ), 関 伸夫 (北大院水)

トカゲエソとグチのトリメチルアミンオキシド (TMAO) 関連化合物の変化について調べた。トカゲエソ肉中には TMAO が約 25 mmol/kg, グチ肉中には 53 mmol/kg と多量に含まれていた。トカゲエソの場合は、氷蔵中に分解されて、ホルムアルデヒドを生成したが、グチの場合はホルムアルデヒドを生成しなかった。しかし、トカゲエソ肉もグチ肉も、ホルムアルデヒドを添加するとゲル形成能が失われた。

日水誌, 69(5), 796-804 (2003)

瀬戸内海中央部における流れ藻随伴幼稚魚の出現種の変化により確認されたタケノコメバルからクロソイへの魚種交替(短報)

榎野元秀, 山本昌幸, 山賀賢一, 藤原宗弘 (香川水試)

1997-98 年の流れ藻随伴幼稚魚の調査ではクロソイが 5, 6 月の優占種となったが、タケノコメバルの採集は無かった。1962-63 年にはクロソイは採集されず、6 月はタケノコメバルが優占していた。このことは、二つの調査が実施される間に二種の増減が起こったことを示した。また、それぞれ二種の前後に随伴する魚種やその出現順は同様であり、二種の大きさ、食性も類似していた。したがって、これら二種の間には 1960 年代から 1990 年代にかけて魚種交替が生じたこと、かつ二種の生態には共通点が多いことが明らかとなった。

日水誌, 69(5), 805-807 (2003)