

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700803

研究課題名(和文)未利用資源カツオ「髄」の食品科学的価値の解明

研究課題名(英文)Study on the value of unused resource, marrow of Skipjack tuna, as food

研究代表者

島村 智子 (SHIMAMURA, Tomoko)

高知大学・教育研究部総合科学系・准教授

研究者番号：50350179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：カツオは魚体の40%が未利用部分であり、有効利用法の提案が求められている。本研究では、未利用資源の中骨と髄の食品価値を調べた。髄の遊離アミノ酸分析とアミノ酸組成分析の結果、タウリン含量が高いことが判明した。また髄にはコラーゲンが豊富に含まれていた。中骨・髄からのアミノ基含有化合物の溶出挙動を調べた結果、煮沸時間15分で最大となった。しかし、その抽出液中のうま味関連物質含量は低かった。中骨・髄抽出液の抗酸化活性、抗肥満活性、高血圧予防効果のin vitro試験を実施したが、顕著に高い活性は認められなかった。以上の結果、カツオ中骨・髄抽出液を食品素材として取扱うことは現時点では難しいと判断した。

研究成果の概要(英文)：Because a 40% of fish body of Skipjack tuna is now discarded, a method for effective utilizing is in great demanded. In this study, the value of the marrow and spine of Skipjack tuna as food was investigated. As a result of analyses of free amino acid content and amino acid composition, it was found that the marrow was rich in taurine, amino acid-related compound. The marrow was also rich in collagen. The elution and contents of substances containing amino groups in extract of the marrow and spine of Skipjack tuna reached a plateau by boiling for 15 min. However, the contents of umami-related products in the extract was very low. The several functionalities such as the antioxidative, anti-obesity, and anti-hypertensive activities were tested in vitro. Unfortunately, the noteworthy functionalities could not be recognized. Consequently, it was concluded that it is difficult to utilize the marrow and spine of Skipjack tuna as food material at present.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：カツオ 魚 未利用資源

## 1. 研究開始当初の背景

高知県のカツオ漁獲量は全国5位である一方、消費量は全国1位という特徴を持っている。従って、高知県はカツオの大消費地であると言えることから、地域自治体と共同し、「日戻りカツオの抗疲労物質含量の通年調査」や「カツオの眼精疲労回復効果の検証」などを実施してきた。これらはいずれも、カツオの魚肉中に含まれる成分を研究対象としたものであった。

カツオは魚肉が刺身や鰹節として供給される一方で、その魚体の40%は未利用のまま廃棄されている。眼窩脂肪(DHA源)、頭部(肥料化)、内臓(保存食に加工)の利活用方法が提案されてはいるが、まだ一部での取り組みに過ぎない状況であった。特に、中骨に関してはカルシウムパウダーとして極僅かな量が加工されているのみであり、中骨に含まれる「髄」の呈味性や健康増進効果に関する報告は存在せず、それらに注目した活用方法も確立されていない状況であった。

## 2. 研究の目的

日本で高い漁獲量を誇るカツオは生食用の他、鰹節等へ加工され保存食として活用されているが、未だ魚体の40%は未利用資源が占めており、その廃棄コストは取扱い業者の負担となっている。従って、未利用部分の有効利用法の提案と高付加価値化が強く望まれている。本研究では、その未利用部分に含まれるカツオの髄に着目した研究を進める。過去にカツオの髄に関する研究例はなく、その科学的特徴は不明である。しかし、カツオの中骨をダシの素として使用する、あるいは所謂アラ煮として中骨を煮込み、髄そのものを食するという食習慣がカツオの大消費地には存在する。カツオの髄のうま味や健康増進効果は伝承に過ぎず、科学的根拠が存在しないために産業利用が進んでいないが、本研究の成果により伝承に科学的知見を付与することが可能となり、未利用資源のカツオの髄を食品素材、或いは有用資源として産業的に利用する道が拓けるものと考えられる。

## 3. 研究の方法

### (1) カツオ髄の遊離アミノ酸分析

地元企業から提供していただいたカツオの中骨を使用するまで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。解凍後に熱湯をかけ、さらにスポンジを使って肉の残渣などを取り除いた。中骨を折り、髄を取り出した。取り出した髄はそのまま遊離アミノ酸分析に供した。遊離アミノ酸の分析には全自動高速アミノ酸分析計を用い、ニンヒドリン法にて測定を行った。

### (2) カツオ髄のアミノ酸組成分析

カツオ髄を凍結乾燥した後、アミノ酸組成分析に供した。一般アミノ酸については酸加水分解、シスチンとシステインについては過ギ酸酸化法、トリプトファンについてはメル

カプトエタンスルホン酸加水分解法にて測定試料の前処理を行った。アミノ酸分析には全自動高速アミノ酸分析計を用い、ニンヒドリン法にて測定を行った。

### (3) 電気泳動

カツオの中骨から髄を採取すると、透明な液体と弾力のある球状の固形物が得られた。この液体と固形物を別個に凍結乾燥し、SDS-PAGEに供した。比較として型コラーゲン、型コラーゲンの標品も同時にSDS-PAGEに供した。

### (4) カツオ中骨・髄抽出液中のアミノ基含有化合物、及び核酸関連物質の定量

髄を含む中骨10gを沸騰水中に入れ、一定時間煮沸した。その後、中骨を取り除いて濾過後、最終的に10g/200mLになるように定容した。アミノ基含有化合物の定量はTNBS法にて行った。また核酸関連物質の定量は逆相HPLCにて行った。HPLC条件は下記の通りとした；カラム：Inertsil ODS-SP (4.6 mm i.d. × 150 mm)、溶離液：5 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 2.5)、流速：0.4 mL/min、検出：260 nm。

### (5) カツオ中骨・髄抽出液中の抗疲労物質の定量

髄を含む中骨10gを沸騰水中に入れ、30分間煮沸した。その後、中骨を取り除いて濾過後、最終的に10g/200mLになるように定容した。この抽出液を試料とし、抗疲労物質であるアンセリンとカルノシンの定量をHPLCにて行った。HPLC条件は下記の通りとした；カラム：Atlantis HILIC silica column (4.6 mm i.d. × 150 mm)、溶離液A：0.65 mM 酢酸アンモニウム (pH 5.5)：アセトニトリル=1:3、溶離液B：4.55 mM 酢酸アンモニウム (pH 5.5)：アセトニトリル=7:3、流速：1.4 mL/min、検出：214 nm。

### (6) 抗酸化活性測定

髄を含む中骨10gを沸騰水中に入れ、60分間煮沸した。その後、中骨を取り除いて濾過後、濃縮し、最終的に0.5 g/mL濃度の抽出液を調製した。この抽出液を抗酸化活性測定を試料とした。

### 6-1) DPPH ラジカル消去活性測定法

試験管に試料溶液200  $\mu\text{L}$  と0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) 800  $\mu\text{L}$  を添加して混合し、そこに0.2 mM DPPH 溶液1 mL を加え、直ちに試験管ミキサーで10秒間攪拌した。その後、室温暗所にて静置した。DPPH 溶液の添加から正確に30分後に517 nmの吸光度を測定した。試料溶液添加時の吸光度をAs、試料溶液の代わりに99.5%エタノールを添加した際の吸光度をAcとし、次の計算式から阻害率(%)を求めた。

$$\text{阻害率}(\%) = (\text{Ac} - \text{As}) / \text{Ac} \times 100$$

## 6-2) スーパーオキシドアニオン消去活性測定法

SOD Assay Kit-WST (同仁化学研究所製) を用いて評価した。具体的には、96 穴マイクロプレートに試料 20  $\mu$ L、WST working solution 200  $\mu$ L、Enzyme working solution 20  $\mu$ L を順次添加し、10 分間攪拌した。その後、450 nm の吸光度を測定し、各試料の阻害率 (%) を求めた。

## (7) アンジオテンシン 変換酵素 (ACE) 阻害活性測定

髄を含む中骨 10 g を沸騰水中に入れ、30 分間煮沸した。その後、中骨を取り除いて濾過後、最終的に 10 g/200 mL 濃度の抽出液を調製した。この抽出液を ACE 阻害活性測定の試料とした。

測定は ACE Kit-WST (同仁化学研究所製) を用いて行った。すなわち、96 穴マイクロプレートに試料 20  $\mu$ L、基質溶液 20  $\mu$ L、酵素溶液 20  $\mu$ L を加えて攪拌後、37 で 60 分間反応させた。その後、指示薬 200  $\mu$ L を加えて攪拌し、さらに室温で 10 分間反応させた後、450 nm の吸光度を測定した。その結果をもとに各試料の阻害率 (%) を算出した。

## 4. 研究成果

### (1) カツオ髄の遊離アミノ酸分析

分析結果を表 1 に示した。また比較として過去に報告された鰹節エキスの遊離アミノ酸のデータも併せて示した。鰹節エキスと比較した場合、タウリンのみカツオ髄の方が高い値を示していたことから、タウリン含量の高さがカツオ髄の特徴である可能性があると考えられた。

表 1 カツオ髄と鰹節エキスの遊離アミノ酸含量

アミノ酸	カツオ髄 遊離アミノ酸	濃度 (mg/100 g)	
		鰹節エキス 遊離アミノ酸 <sup>※1</sup>	鰹節エキス <sup>※2</sup>
ホスホセリン	P-Ser	0.9	-
タウリン	Tau	75.5	-
スレオニン	Thr	2.1	38.0
セリン	Ser	1.5	34.3
グルタミン酸	Glu	12.9	36.7
グルタミン	Gln	2.0	-
グリシン	Gly	6.0	94.9
アラニン	Ala	9.7	80.9
$\alpha$ -アミノ酪酸	a-ABA	1.4	-
バリン	Val	21.4	55.3
メチオニン	Met	22.7	28.7
シスタチオニン	Cysta	7.2	-
イソロイシン	Ile	11.4	33.2
ロイシン	Leu	20.3	42.8
チロシン	Tyr	4.3	31.7
フェニルアラニン	Phe	7.6	24.2
アンモニア	NH <sub>3</sub>	11.1	-
ヒスチジン	Hls	7.8	5955
リジン	Lys	1.1	75.4
アルギニン	Arg	-	12.1
アスパラギン酸	Asp	-	22.2
プロリン	Pro	-	42.2
トリプトファン	Trp	-	4.4
オルニチン	Orn	-	-
$\beta$ -アラニン	$\beta$ -Ala	-	-
$\Pi$ -メチルヒスチジン	$\Pi$ -MeHis	-	-
アンセリン	Ans	-	1250
カルノシン	Car	-	107

※1 「かつお節」和田著, p. 72, 幸書房 (2006).

※2 福家ら, 食科工, 36, 67-70 (1989).

## (2) カツオ髄のアミノ酸組成分析

測定結果を表 2 に示した。アミノ酸組成分析結果においても、カツオ髄は高いタウリン含量を示す傾向にあった。

表 2 カツオ髄のアミノ酸組成分析結果

アミノ酸	濃度 mmol/g	アミノ酸	濃度 mmol/g		
タウリン	Tau	7.62	イソロイシン	Ile	3.05
アスパラギン酸	Asp	4.05	ロイシン	Leu	5.25
スレオニン	Thr	2.57	チロシン	Tyr	1.41
セリン	Ser	3.33	フェニルアラニン	Phe	1.65
グルタミン酸	Glu	9.34	アンモニア	NH <sub>3</sub>	19.59
グリシン	Gly	4.83	オルニチン	Orn	0.11
アラニン	Ala	5.09	ヒスチジン	Hls	1.47
$\alpha$ -アミノ酪酸	a-ABA	0.26	リジン	Lys	3.42
バリン	Val	4.20	アルギニン	Arg	2.35
メチオニン	Met	2.40	プロリン	Pro	1.20
シスタチオニン	Cysta	0.53			

## (3) カツオ髄に含まれるタンパク質の同定

カツオの中骨から髄を採取すると、透明な液体と弾力のある球状の固形物が得られた。それぞれを凍結乾燥して SDS-PAGE に供したところ、液体試料と固形分試料の泳動パターンは同じであった。またこれらの泳動パターンは型コラーゲンの泳動パターンと同じであった。このことから、カツオ髄にはコラーゲンが豊富に含まれているものと推察された。

## (4) カツオ中骨・髄抽出液中のアミノ基含有化合物、及び核酸関連物質の定量

測定の結果、煮沸時間約 15 分でアミノ酸などアミノ基含有化合物の溶出量は最大となった。そこで、この抽出液中の核酸関連物質、すなわちうま味関連物質の含有量を調べたが一樣に低い値となった。このことから、カツオ中骨・髄抽出液中そのものをダシとして使用することは難しいと判断した。

## (5) カツオ中骨・髄抽出液中の抗疲労物質の定量

カツオ等の回遊魚はアンセリン、カルノシンなどの抗疲労物質を多く含むことが知られている。その多くは筋肉中に蓄積されているが、今回、カツオ中骨・髄抽出液中の抗疲労物質の定量も行った。その結果、抽出液中のカルノシン含量は 12 mg/100 g、アンセリン含量は 47 mg/100 g であった。鰹節エキス中のカルノシン含量は 107 mg/100 g、アンセリン含量は 1250 mg/100 g との報告がなされている。従って、カツオ中骨・髄抽出液中には抗疲労物質が含まれているものの、その含量は高くないことが判明した。

## (6) カツオ中骨・髄抽出液の抗酸化活性

DPPH ラジカル消去活性の測定の結果、抽出液の阻害率は 21% であった。また、スーパーオキシドアニオン消去活性測定の結果、抽出液の阻害率は 65% であった。この結果より、

抽出液中には、スーパーオキシドアニオンの消去活性を有する物質が存在することが判明したが、抗酸化活性そのものは他の食品素材と比較して顕著に高いと判断されるものではなかった。

(7) カツオ中骨・髄抽出液の ACE 阻害活性

ACE 阻害活性測定の結果、抽出液の阻害率は 50%であった。ACE 阻害物質の特徴を把握するために限外ろ過を行い、各画分 (10 kDa 以上、10~3 kDa、3 kDa 以下) の ACE 阻害活性を測定したところ、3 kDa 以下の比較的分子量の物質が ACE の阻害に関与していることが明らかとなった。しかし、その ACE 阻害活性そのものは他の食品素材と比較して顕著に高いと判断されるものではなかった。

その他、カツオ中骨・髄抽出液のリパーゼ阻害活性についても測定を行ったが、高い活性は認められなかった。以上の結果より、カツオ中骨・髄抽出液そのものを食品素材として取り扱うことは現時点では難しいと判断した。今後は、髄由来のコラーゲン分解物やタウリンの機能性に着目した研究を行うことで、新たな食品の用途を見出せる可能性があるものと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

島村智子、柏木丈弘、受田浩之、藤本浩之、高知県黒潮町の日戻りカツオに関する調査-抗疲労物質含量とその効果について-、日本カツオ学会第 1 回カツオセミナー、2012/5/12、高知

〔図書〕(計 1 件)

島村智子、受田浩之、柏木丈弘、藤本浩之、高知県黒潮町の日戻りカツオに関する調査-抗疲労物質含量とその効果について-、New Food Industry、食品資材研究会、2013、25 - 30

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島村 智子 (SHIMAMURA, Tomoko)

高知大学・教育研究部総合科学系・准教授

研究者番号：50350179