

## Effects of Shrimp Head Protein Hydrolysate on the State of Water and Denaturation of Lizardfish Myofibrils

Yaowalux Ruttanapornvareesakul  
Graduate School of Science and Technology  
Nagasaki University, Japan

The worldwide production of shrimp has been estimated at 4.0 million metric tons per year and that of 49-60% was estimated as the waste, depending on the species and method of processing. According to this, it can be estimated that more than 1.9 million metric tons of shrimp wastes are disposed and discharged from shrimp processing. These abundant wastes have an appreciable potential for pollution and may pose a disposal problem. Therefore, finding alternative utilizes for these wastes has increased interesting as means to improve profitability in seafood industry. In general these wastes have been exploited for the preparation of fishmeal and silage because of their poor functional properties. However, shrimp waste, especially head part, contains many valuable components such as protein, lipid, and astaxanthin pigment which could be converted into more marketable, valuable and acceptable forms. An interesting alternative is hydrolyzing shrimp waste to obtain protein hydrolysates that containing proteins with desirable functional properties and uses it as a natural food additive for suppressive denaturation of fish myofibrillar protein.

**Chapter 1:** With the goal of utilization of shrimp processing waste, shrimp head protein hydrolysate (SHPH) was produced from 3 species of shrimp head waste namely Northern pink shrimp (*Pandalus eous*), Endeavour shrimp (*Metapenaeus endeavouri*) and black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by enzymatic hydrolysis using endo-type and exo-type protease at a level 0.1% (w/w). Protein content of shrimp head raw material was about 55-62%. After hydrolysis, all 3 types of SHPH contained high protein content (89.79-91.47%) followed by ash (4.72-5.20%), sugar (2.99-4.58%) and less of fat (0.01-0.02%) and NaCl (<0.01%), respectively. Moreover, all 3 types of SHPH were rich in amino acids that accounted for 71.5-83.82%. Hydrophilic amino acid were also wealthy in SHPH (58.2-60.8% of amino acid), particularly Glx and Asx were abundant in all 3 types of SHPH that accounted for 9.77-11.81% and 6.36-8.50%, respectively. These results indicated that the hydrolysate obtained from shrimp head could be used as a good source of protein and amino acid in food products. Molecular weight distributions of SHPH were measured by gel filtration chromatography on a Sephadex G-25 column, which molecular weight distributions pattern of all 3 types of SHPH was slightly different. These were below 12,000 and 300-1,400 was found to be the major peak.

**Chapter 2:** The suppressive effects of 5% SHPH on the state of water and denaturation of lizardfish myofibrils (*Saurida wanieso*) during dehydration were evaluated based on desorption

isotherm curves, Ca-ATPase activity and unfrozen water, comparing with the effect of Na-Glu. Moreover, optimum concentration of SHPH for suppressive dehydration-induced denaturation effects was also clarified. The addition of SHPH decreased water activity ( $A_w$ ), Ca-ATPase inactivation and increased monolayer sorbed water ( $M_1$ ), multilayer sorbed water ( $M_2$ ) and sorption surface area ( $S$ ). DSC analyses also revealed that the amount of unfrozen water increased after addition of SHPH. Although, these effects of SHPH were smaller than those of Na-Glu, but SHPH showed positive tendency on suppressive effects. Furthermore, 5-7.5% concentrations of SHPH exhibited an optimum effect on stabilization of bound water and suppressive dehydration-induced denaturation in lizardfish myofibrils, regardless of shrimp species.

**Chapter 3:** The cryoprotective effects of 5% SHPH on the state of water and denaturation of lizardfish myofibrils during frozen at  $-25^\circ\text{C}$  were investigated by determining the amount of unfrozen water and Ca-ATPase activity, comparing with the effect of Na-Glu. Deal with the same tests, the concentration dependent cryoprotective effects of SHPH were also investigated for clarify an optimum concentration of SHPH for suppressive freeze-induced denaturation effects. The amount of unfrozen water of myofibrils with SHPH was higher than those of the myofibrils without additive (control) throughout the frozen storage for 120 days. Ca-ATPase inactivation of myofibrils with SHPH decreased markedly compared to that of the control, although the effects of SHPH were less than that of Na-Glu. Close correlation between the amount of unfrozen water and Ca-ATPase activity was observed and the suppressive effects of SHPH were irrespective of shrimp species. These results suggested that SHPH could retard freeze-induced denaturation of fish myofibrils during frozen storage by stabilizing hydration water surrounding myofibrils. At concentrations 5-7.5% of SHPH exhibited optimum cryoprotective effect regardless of the species differences.

**Chapter 4:** Effects of 5% SHPH on gel forming ability and freeze-induced denaturation of lizardfish surimi during frozen storage at  $-25^\circ\text{C}$  was determined in terms of gel strength, whiteness, Ca-ATPase and the amount of unfrozen water. Their effects were compared with Na-Glu and surimi without additive as the control. The residual Ca-ATPase activity and gel strength of surimi with SHPH was higher than those of the control throughout 180 days of frozen storage, irrespective of shrimp species. Moreover, a close correlation between gel strength and Ca-ATPase activity was observed. The addition of SHPH increased the amount of unfrozen water higher than the control. On the other hand, SHPH decreased significantly in whiteness of kamaboko gel when compared to the control. Therefore, freeze-induced denaturation of lizardfish surimi could be lessened by the addition of SHPH led to stabilized gel strength and Ca-ATPase activity.

It could be considered that the interaction between myofibrillar protein of lizardfish and active components of SHPH such as hydrophilic amino acids and peptides could retard dehydration and freeze-induced denaturation of lizardfish. Consequently, SHPH could be used as a natural food additive in food industry to stabilize quality of myofibrillar protein during processing and storage.

## エソ筋原繊維タンパク質の水の状態と変性に及ぼすエビ頭部タンパク質加水分解物の影響に関する研究

長崎大学大学院生産科学研究科  
ルタナポーンバレサクル ヤオアラックス

エビは世界中において、一年でおよそ 400 万トンが製品加工されており、その 49~60%が品質などの原因で廃棄されていることが推察される。また、製造加工中に生じるおよそ 190 万トンのエビ残滓は、環境に対して悪影響を及ぼす可能性があり、その処理が問題になっている。このことから、これら残滓の有効利用は水産業での収益性を改善する興味深い手段として注目されてきたが、機能性は低く、魚粉か餌としての利用に留まっていた。しかしながら、エビ残滓、特に頭部はタンパク質、脂質、および市場でも価値があるアスタキサンチンなどの多くの価値ある成分を含んでいる。したがって本研究では、望ましい機能特性を備えたタンパク質を含む、新しい天然物由来食品添加物として、廃棄されたエビ頭部加水分解物を調製し、魚類筋原繊維タンパク質の水の状態と変性に及ぼす影響について研究を行った。

**第一章:** エビ加工残滓の機能性食品素材への有効利用を目的として、3種のエビすなわち甘エビ(*Pandalus eous*)、エンデバーエビ(*Metapenaeus endeavouri*)、ブラックタイガーエビ(*Penaeus monodon*)の頭部加工残滓から、0.1%の Endo 型と Exo 型プロテアーゼを用いてエビ頭部タンパク質加水分解物(SHPH)を調製した。SHPHの主要成分はペプチドであり、粗タンパク換算で 89.79-91.47%であり他の成分として灰分(4.72-5.20%)、糖分(2.99-4.58%)が含まれていた。また、粗脂肪(0.01-0.02%)および塩(0.01%以下)は少なかった。さらに、SHPHのアミノ酸含量は、71.5-83.82%であり、特にグルタミン酸、アスパラギン酸が多かった。これらの結果から、エビ廃棄物の高度有効利用として酵素分解によるエビ頭部酵素分解物(SHPH)の調製が可能であることが分かった。SHPHの分子量分布はSephadexG-25を用いたゲルろ過によって測定したところ、12000以下のペプチドから構成されており、特に300-1400に大きいピークが見られた。

**第二章:** 3種のエビから調製した SHPH をエソ筋原繊維(Mf)に乾重量で5%添加し、脱水過程における Mf の水の状態と変性に及ぼす SHPH とグルタミン酸ナトリウム(Na-Glu)との効果を、脱水収着等温線と Ca-ATPase 活性の比較によって評価した。また、SHPH の添加濃度(2.5~10%)の影響についても検討した

した。SHPH 添加 Mf は無添加 Mf (対照) に比べて水分活性が低下し、単分子および多分子収着水量が多く、高い Ca-ATPase 活性を示した。DSC による不凍水量を測定した結果、添加 SHPH の不凍水量は高い値を示した。SHPH の効果は Na-Glu より小さかったが、SHPH は、Mf 周囲の水和水を安定化し、脱水過程中的 Mf の変性を抑制する機能を有することが示唆された。また、SHPH 5%添加で最も効果が大きく、SHPH の種類による差異は認められなかった。

**第三章:** 3種のエビから調製した SHPH をエソ筋原繊維に5%添加し、凍蔵(-25)に伴う筋原繊維の冷凍変性と水の状態に及ぼす SHPH の影響を、不凍水量と Ca-ATPase 活性を測定して、グルタミン酸ナトリウムと比較検討した。また、SHPH の添加濃度(2.5~10%)の影響について調べた。SHPH 添加筋原繊維の不凍水量は、凍蔵120日間を通して、対照より高かった。SHPH 添加筋原繊維の Ca-ATPase 活性の低下は対照より小さかったが、SHPH の効果はグルタミン酸ナトリウムより低かった。エビの種による SHPH の冷凍変性抑制効果の相違は見られなかった。不凍水量と Ca-ATPase 活性の間には、高い相関が認められた。これらのことから、SHPH は筋原繊維周囲の水和水を安定化することにより、凍蔵中における筋原繊維の冷凍変性を抑制していることが示唆された。また、SHPH の濃度効果を見ると、5~7.5%添加で最も大きい効果が認められたが、一方3種のエビ間での違いは見られなかった。

**第四章:** 凍結貯蔵中(-25)におけるエソすり身のゲル化特性および変性に及ぼすエビ頭部酵素分解物の影響を検討するため、ゲル形成能、白色度、Ca-ATPase 活性および不凍水量を測定して、グルタミン酸ナトリウムおよび無添加すり身(対照)と比較した。凍蔵120日間を通して、SHPH 添加すり身のゲル形成能と Ca-ATPase 活性は、エビの種類に関係なく、無添加より高く、ゲル形成能と Ca-ATPase 活性の間には、高い相関が認められた。また、SHPH 添加すり身の不凍水量は無添加より高かった。一方 SHPH 添加すり身の白色度は無添加より低かった。このことから、SHPH が冷凍エソすり身に対して、ゲル形成能と Ca-ATPase 活性安定させ、冷凍変性抑制効果を有することが分かった。

エソの変性抑制には、SHPH の親水性アミノ酸とペプチドが筋原繊維タンパク質の分子間内に入り込み、脱水変性抑制効果および冷凍変性抑制効果を有することが推察された。以上のことから、SHPH は保存中の筋原繊維タンパクの品質を安定させるための天然物由来添加物として使用できることが示唆された。