

学 位 論 文 題 名

淡水魚類筋肉の加熱ゲル形成に関する研究

学位論文内容の要旨

水産ねり製品は魚肉を食塩とともに搗潰して肉糊とし、それを加熱ゲル化させて製造される。原料魚種としてスケトウダラ、エソ、グチ、イトヨリダイ等のゲル形成能の強い魚が使用されている。しかし、多くの海産魚、全ての淡水魚、無脊椎動物肉はゲル形成能が弱い等の理由によって原料魚種としては未利用である。最近、中国における淡水魚類の生産量は著しく増大し、1,400万t(1997年)になっている。そこで、本研究では淡水魚からゲル物性の優れたねり製品を製造するための基礎原理を明らかにするために、淡水魚の代表としてコイを用い、アクトミオシンのゲル形成の特徴を検討した。さらに加熱ゲル形成時の坐りや戻りを調節することによって、弾力性に富む加熱ゲルを製造するための最適技術の開発を目的とした。そのために、本研究ではアクトミオシンのタンパク質濃度を実際のねり製品中の濃度である90 mg/gでおこなった。

第一章ではコイ・アクトミオシンの加熱ゲル形成能に及ぼす塩濃度、加熱速度の影響を調べた。アクトミオシン・ゾルを昇温加熱すると、動的粘弾性の変化で4つの特徴的な相転移が認められた：5-32、32-43、43-53、53-80℃である。貯蔵弾性率 (G') は32-43℃で急増する。この時に同時に損失弾性率 (G'') は低下し始めるので、この温度から加熱ゲル化が開始される。43-53℃で G' は急激に低下するが、これはプロテアーゼによらない非酵素的戻りの現象である。53-80℃で再び G' の増大と、 G'' の低下が起きることから加熱ゲルが形成される。しかし、ゲルの G' 値は非常に低く軟弱なゲルである。そこで、塩濃度 (0.1-

2.0 M NaCl)と昇温速度(0.5-5.0℃/min)を変えて最適条件を調べたが、いずれの条件の下でも脆弱なゲルしか形成できなかった。

第二章ではコイの直接加熱ゲルは非常に脆弱なことから、ゲル物性の強化策として坐りの導入を考えた。至適条件を知るために種々の温度と時間でアクトミオシン・ゲルを調製したところ、30℃で4時間の坐りが良いことがわかった。この条件での坐り加熱(2段加熱)により、ゲルの破断強度は多少高まることが示されたが、実用レベルの強度には遠く及ばなかった。また、コイのアクトミオシン・ゾルは坐り操作に対する応答が無いことが明らかになった。

そこで、微生物由来のトランスグルタミナーゼ(MTGase)の添加による坐りの導入について検討した。アクトミオシンにMTGaseを0~5 unit/g添加し、2段加熱でゲル化させた。SDS-PAGEでタンパク質組成変化を調べた結果、MTGase添加量に依存してミオシン重鎖が架橋重合された。形成されたゲルの動的粘弾性及び破断強度の測定結果からも坐りが導入され、5 unit/gのMTGase添加で2段加熱ゲルの破断強度は約500 gwと酵素無添加時の10倍の値となり、弾力性の強いゲルが形成できることがわかった。

第三章ではゲル形成に及ぼすpHの影響を検討した。アクトミオシン・ゾルのpHを5.5~7.0に調整して加熱ゲルを形成させたところ、pH6.0がpH7.0よりもG'値及び破断強度ともにわずかに高いゲルを形成したにすぎなかった。pH7.0で非常に弾力性のある強いゲルを形成することが知られているスケトウダラすり身とアクトミオシンを用いてpHの影響を調べたところ、内在性TGaseにより坐りが導入された場合に強いゲルが形成されたことから、ゲル形成の至適pHはTGaseの至適pHに強く影響されていることが明らかになった。スケトウダラの場合もTGaseが作用しない条件下ではpH6.0の方がpH7.0よりも少し強いゲルを形成したが、いずれも脆弱なゲルであった。コイの場合は

MTGaseで坐りを導入したところ、酵素の至適pHに近い中性で弾力性のある強いゲルが形成された。

第四章においてはゲル形成に及ぼすプロテアーゼによる戻りの影響について検討した。コイのアクトミオシン・ゾル中に混入する筋原繊維結合型プロテアーゼは40℃で作用するものはE-64で、55℃付近で作用するものはアプロチニンで阻害されたことから、前者はシステインプロテアーゼ、後者はセリンプロテアーゼに属するものと推定された。MTGaseによる坐り導入時にプロテアーゼ阻害剤を共存させると、阻害剤の効果が認められ、ゲル物性を増強した。

第五章ではサケのねり製品化を検討した。サケもコイと同様に坐りを起さない魚種なので、MTGaseを添加して坐りの導入を図った。その結果は動的粘弾性の測定でも2段加熱ゲルの破断強度の測定でもゲルの物性は著しく高められた、SDS-PAGE分析によりミオシン重鎖は架橋重合されたことが示された。サケのアクトミオシン中のミオシン重鎖は30℃以下の加温で、プロテアーゼ（カテプシンL）によって強く分解され、E64添加によって著しく阻害された。しかし、30℃以上の加熱温度ではミオシン重鎖の分解はほとんど起きなかった。一方、非酵素的戻りはサケでは48℃で起きた。サケのアクトミオシン・ゾルの方がコイと比較して、アクトミオシン自体の粘弾性が高く加熱ゲルを形成しやすいこと；MTGaseの作用を受けやすく、少量の添加で坐りの効果が高いこと；筋原繊維結合型のプロテアーゼを含まないために、高温域での戻りがないことによりスケトウダラタイプのねり製品を製造しやすいと考えられる。プロテアーゼの関与する戻りはその阻害剤と加熱温度の選択により抑制できたので、次に非酵素的戻りの抑制方法を検討した。

第六章では非酵素的戻りを抑制してゲル物性を向上させることを目的にアクトミオシン・ゾルにアルコール及びピロリン酸Mg塩(PPi-Mg)を添加してその効果を調べた。エタノール、n-ブタノール

の添加は戻り温度を低下させたが、戻り自体を抑制する効果はなかった。しかし、ブタノールは加熱ゲル強度を著しく増強した。PPi-Mgはアクトミオシンをアクチンとミオシンに解離させ、加熱ゲル化パターンをアクトミオシン型からミオシン類似型に変え、結果的に非酵素的戻りは失われた。しかし、加熱ゲル強度はほとんど同じでPPi-Mgの効果はなかった。

第七章では水晒ししないコイ肉を原料に肉糊を調製し、アクトミオシン・ゾルの加熱ゲル形成能と比較したところ、直接加熱ゲルでは肉糊ゲルの方が高いゲル強度を示したが、それでも脆弱なゲルであった。肉糊中の内在性TGaseはほとんど作用しなかった。坐りをMTGaseで導入したところ、実用レベルのゲル物性を有する加熱ゲルが形成された。

本研究結果から、淡水魚の代表として選んだコイとシロサケから弾力性のある優れたゲル物性を有する加熱ゲルの製造技術が確立された。最も重要な点はTGaseによる坐りの導入が不可欠であることが明らかになった点である。プロテアーゼによる戻りの抑制はゲル物性の増強に必要であった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 関 伸 夫

副 査 教 授 猪 上 徳 雄

副 査 助 教 授 今 野 久 仁 彦

学 位 論 文 題 名

淡水魚類筋肉の加熱ゲル形成に関する研究

水産ねり製品は魚肉を食塩とともに搗潰して肉糊とし、それを加熱ゲル化させて製造されるが、多くの海産魚、全ての淡水魚、無脊椎動物肉はゲル形成能が弱い等の理由によって原料魚種としては未利用である。最近の中国における淡水魚類の生産量の飛躍的増大を背景に、本論文では淡水魚からゲル物性の優れたねり製品を製造するために、淡水魚の代表としてコイを用い、アクトミオシンのゲル形成の特徴を明らかにした。さらに加熱ゲル形成時の坐り(ゲル構造形成の促進)や戻り(ゲルの脆弱化)機構を解明し、それらを調節することによって、弾力性に富む加熱ゲル製造のための最適技術の開発に成功した。本研究によって得られた成果は以下のように要約される。

1. コイ・アクトミオシンの加熱ゲル形成能に及ぼす塩濃度、加熱速度の影響を調べたが、いずれの場合も脆弱なゲルしか形成されなかった。アクトミオシン・ゾルを昇温加熱すると、動的粘弾性の変化で4つの特徴的な相転移が認められたが、53℃で非酵素的戻りが強く起きること、40℃以上でプロテアーゼによる戻りが起きること、坐り処理に対する反応が無いことなどが、ゲル形成が弱い原因であることを明確にした。

2. コイの直接加熱ゲルは非常に脆弱なことから、ゲル物性の強化策として坐りの導入を考えた。至適条件を知るために種々の温度と時間でアクトミオシン・ゲルを調製したところ、30℃で4時間の坐りが良いことがわかった。この条件での坐り加熱(2段加熱)により、ゲルの破断強度は多少高まったが、実用レベルの強度には遠く及ばなかった。そこで、トランスグルタミナーゼ(TGase)の添加による坐りの導入効果を検討した。TGaseを0~5 unit/g添加し、2段加熱でゲル化させたところミオシン重鎖が架橋重合され、弾力性の強いゲルが形成できることがわかった。

3. ゲル形成に及ぼすpHの影響を検討したところ、pH6.0がpH7.0よりもわずかに高いゲルを形成したにすぎなかった。pH7.0で非常に弾力性のある強いゲルを形成するスケトウダラすり身をもちいてpHの影響を調べたところ、内在性TGaseに

より坐りが導入された場合に強いゲルが形成されたことから、ゲル形成の至適pHはTGase活性の至適pHに強く影響されていることを明らかにした。コイの場合もTGaseの至適pHに近い中性で弾力性のある強いゲルが形成された。

4. プロテアーゼによる戻りの影響とその抑制法を検討した。アクトミオシン・ゾル中に混入する筋原繊維結合型プロテアーゼは40℃で作用するものはE-64で、55℃付近で作用するものはアプロチニンで阻害されたことから、前者はシステインプロテアーゼ、後者はセリンプロテアーゼに属するものと推定された。TGaseによる坐り導入時にこれらのプロテアーゼ阻害剤を共存させると、ゲル物性が増強された。

5. サケもコイと同様にゲル形成能の弱い魚種なので、TGaseを添加して坐りの導入およびプロテアーゼ（カテプシンL）阻害剤添加で戻りを抑制することによりスケトウダラタイプのねり製品が製造できた。

6. 非酵素的戻りを抑制してゲル物性を向上させることを目的にアクトミオシン・ゾルにアルコール及びピロリン酸Mg塩(PPi-Mg)を添加してその効果を調べたが、戻り自体を抑制する効果はなかった。しかし、ブタノールは加熱ゲル強度を著しく増強した。PPi-Mgはアクトミオシンをアクチンとミオシンに解離させ、加熱ゲル化パターンをアクトミオシン型からミオシン類似型に変え、結果的に非酵素的戻りは失われた。しかし、加熱ゲル強度の増大効果はなかった。

7. コイ肉を原料に肉糊を調製し、アクトミオシン・ゾルの加熱ゲル形成能と比較したところ、肉糊中の内在性TGaseはほとんど作用しなかったので、外部から微生物由来のTGaseを添加して坐りを導入したところ、実用レベルのゲル物性を有する加熱ゲルが形成された。

本研究結果から、淡水魚の代表として選んだコイとシロサケから弾力性のある優れたゲル物性を有する加熱ゲルの形成機構が解明され、それらのねり製品製造技術が確立された。

したがって、審査員一同は本論文の審査結果に基づき博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。