

学 位 論 文 題 名

スルメイカ肉糊の加熱ゲル形成に関する研究

学位論文内容の要旨

最近のスケトウダラすり身を主原料とするねり製品はその消費が漸減しており、新たな食感を有する新規製品の開発が要望されている。イカは魚肉と味、食感が異なり、タウリンなどの機能性成分を含むことからその利用が期待されているが、ねり製品原料としては未利用の資源である。その原因は弾力性のある加熱ゲル物性を有する製品を製造できないからである。ねり製品は採肉、水晒し、脱水、擂潰（肉糊製造）、坐り（低温加熱）、本加熱の工程で製造されている。本研究においては、イカ肉の味と香り、タウリンなどの機能成分を生かし、水溶性タンパク質の流失をなくして歩留まりの向上を図るために、水晒し工程を行わない方法を検討した。これは廃水処理の軽減にもなる。したがって、本研究ではイカ肉ねり製品製造の擂潰工程以降について、製造の障害となる諸原因を解明し、その対策を検討して製造技術を開発することを目的としている。本研究は以下に述べる5章からなる。第1章：イカ肉糊の内在性プロテアーゼとトランスグルタミナーゼ(TGase)によるタンパク質の分解と架橋形成；第2章：イカ肉糊の坐り-加熱ゲル形成の特徴；第3章：イカ肉糊の加熱ゲル形成における微生物トランスグルタミナーゼ(MTGase)によるゲル物性の強化；第4章：イカ肉糊中の Ca^{2+} で活性化されるプロテアーゼ；第5章：イカ肉糊の加熱ゲル形成に及ぼす凍結貯蔵の影響。

まず、第1章でこれまでの研究でイカ加熱ゲル形成の最大の障害と考えられ

ているプロテアーゼ分解について調べた。播潰した肉に NaCl を終濃度 0.5 M になるように添加して肉糊を調製し、肉糊の坐り中に起きるプロテアーゼ活性に及ぼす阻害剤と温度の影響を調べたところ、金属プロテアーゼであることがわかった。この酵素は 30℃で最も活性が高く、ミオシンを 130kDa と 90kDa の分解物に特異的に分解した。しかし、40℃以上で活性が著しく低下したことから、坐り温度を 40℃に決定することで、金属プロテアーゼの影響を排除できた。

坐りは内在性 TGase でミオシンを架橋重合させ、加熱ゲルの形成促進とゲル物性を強化させる方法である。イカ肉中には高濃度(10 mM) Ca^{2+} で活性化される TGase が存在していた。そこで、肉糊に Ca^{2+} を添加して 40℃で坐りをおこなった。この結果、TGase によってミオシンは架橋重合されたが、同時にミオシンの分解も起った。意外にもこの分解は金属プロテアーゼではなく、 Ca^{2+} 添加で活性化される別のプロテアーゼによることが分かった。

第2章：イカ肉糊の直接加熱法によるゲル形成過程を動的粘弾性の測定で調べたところ、貯蔵弾性率(G')は 27℃にピークを、45℃に谷を示した後、増大し 80℃到達時に約 1,700 Pa と低い値であった。この加熱過程の G' 値とその変化パターンは魚類肉糊の場合と似ていた。一方、損失弾性率(G'')は 45℃から 75℃まで徐々に増大した。この変化はイカに特徴的で、肉糊中のパラミオシンの加熱ゲル化を反映していることが推測された。これらの結果から、イカ肉糊の直接加熱ゲルは脆弱で、良好な加熱ゲルは形成できなかった。そこで、坐りを導入した2段加熱法を用いた。坐りは Ca^{2+} を肉糊に添加し、内在性 TGase を活性化させ、40℃でおこなった。その後、80℃まで加熱した。この結果は複雑で、 Ca^{2+} を添加すると、TGase とプロテアーゼが同時に活性化されるために、前者による坐り効果と後者のプロテアーゼによる戻り作用の拮抗により、複雑な加熱ゲ

ル物性を示すことが明らかになった。したがって、 Ca^{2+} 添加で坐りを導入する方法は安定な技術としては問題が残った。

一方、イカ肉に多量に含まれるトリメチルアミノオキシドからのホルムアルデヒド生成は 40°C 以上の高温加熱で約 $1\ \mu\text{mol/g}$ が生成したが、ゲル物性への影響は小さかった。

第3章では Ca^{2+} 濃度の影響を受けない微生物由来の TGase(MTGase)を用いて Ca^{2+} 無添加で 40°C 坐りを含む2段加熱法で加熱ゲルを形成させた。この結果、G'値の高い加熱ゲルが形成された。また、加熱ゲルの破壊試験の結果からも MTGase はイカ肉糊の坐り導入に非常に有効で、弾力性の強いゲルが得られることが確認された。MTGase の至適添加量と坐り温度をしらべたところ、 $7\ \text{unit/g}$ 以上の添加でゲルの破断強度と凹みが最大となった。坐り温度は 40°C が至適であり、 50°C ではゲル物性が多少低下した。なお、安価なゲル物性の強化剤として用いられているでん粉の添加はゲルの固さを増強する効果はあったが、凹みを低下させることから MTGase の方が優れていた。

第4章: イカ肉加熱ゲル形成の障害となる Ca^{2+} で活性化されるプロテアーゼの抽出と部分精製をおこなった。本酵素活性はイカ外套膜筋肉の水溶性画分に抽出された。これを DE52 セルロースクロマトグラフィーと Shephacryl S300 によるゲル濾過により部分精製したところ、反応至適温度が 30°C にあるプロテアーゼ 1 と 15°C にあるプロテアーゼ 2 が得られた。 Ca^{2+} 濃度依存性から、プロテアーゼ 2 は m-カルパイン様であるが、カゼイン分解活性が高かった。一方、プロテアーゼ 1 は活性化に高濃度(10mM)の Ca^{2+} が必要であり、カゼイン分解よりもイカ肉タンパク質の分解活性が非常に高かったことなどから、 Ca^{2+} 添加肉糊の戻りを誘発する原因プロテアーゼであると結論した。プロテアーゼ 1 は高濃

度 Ca^{2+} の要求性から、細胞内酵素ではなく、細胞外または体液中の酵素であると推定された。

第5章では冷凍貯蔵したイカ肉を利用するために、加熱ゲル形成に及ぼす凍結貯蔵の影響を調べた。真空包装したイカ肉を -20°C で6ヶ月まで貯蔵したところ、貯蔵期間が長くなるにつれて、肉糊の粘弾性が低下し、加熱ゲル形成能が低下した。MTGase を用いた2段加熱ゲルの破断強度は6ヶ月貯蔵のイカ肉から調製したものでは約20%低下した。凍結貯蔵中のゲル形成能の低下はSDS-PAGEによる筋肉タンパク質のパターンが変化しなかったことから、筋肉タンパク質の変性の影響と考えられた。

本研究の結果に基づくと、イカ肉を無晒しでねり製品原料として利用するには、未凍結あるいは凍結期間の短いものを使用し、肉糊のタンパク質濃度を100mg/gと高くする。加熱はMTGase (7 unit/g) を用いて 40°C 坐りを入れた2段加熱法で製造する方法が優れている。内在性TGaseの利用は Ca^{2+} の添加が必要で、同時に Ca^{2+} で活性化されるプロテアーゼ1による戻りが起るので困難であるが、このプロテアーゼ活性の抑制技術が開発されれば可能となる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 関 伸 夫

副 査 教 授 尾 島 孝 男

副 査 助 教 授 埜 澤 尚 範

学 位 論 文 題 名

スルメイカ肉糊の加熱ゲル形成に関する研究

最近のねり製品はスケトウダラなどの冷凍すり身を主原料として製造されているが、その消費は漸減しており、新たな食感を有する新規製品の開発が要望されている。イカは魚肉と味、食感が異なり、タウリンなどの機能性成分を含んでいることからその利用が期待されているが、ねり製品製造中に強い戻りを起こし、坐りも弱いなど粘弾性の強い加熱ゲルが形成できないことから、ねり製品原料としては未利用の資源である。そこで、本研究ではイカ肉ねり製品製造の障害となる諸原因を解明し、その対策を検討して、製造技術を開発することを目的としている。また、イカ肉の風味、機能性成分などの特徴を生かすために、魚肉すり身製造の常法である水晒し工程を行わずに搗潰した肉から肉糊を調製した。肉糊の加熱は直接加熱と坐りを導入した2段加熱法で行なわれた。本研究は以下に述べる5章からなる。

第1章ではイカ肉糊の戻りと坐りに強く関わっている内在性酵素の影響について検討した。肉糊の加熱ゲル形成中にプロテアーゼによるミオシンの分解が検出された。このプロテアーゼ活性に及ぼす阻害剤の影響から金属プロテアーゼであり、30℃で最も活性が高くミオシンが特異的に分解された。しかし、40℃以上では活性は著しく低下したことから、坐り温度を40℃に決定することで、金属プロテアーゼの影響を排除できた。次に、坐りは内在性トランスグルタミナーゼ (TGase) でミオシンを架橋重合させ、ゲル物性を強化させる方法である。イカ肉中には高濃度 Ca^{2+} で活性化されるTGaseが存在していた。そこで、肉糊に10mM Ca^{2+} を添加して40℃で坐りをおこなった。この結果は複雑で、TGaseによってミオシンは架橋重合されると同時に Ca^{2+} 添加で活性化される別のプロテアーゼによる分解も起きることが分かった。第2章：イカ肉糊の坐り-加熱ゲル形成過程を動的粘弾性の測定で追跡したところ、貯蔵弾性率 (G') は27℃にピークを、45℃に谷を示した後、増大し80℃到達時に約

1700 Paであった。この過程は魚類肉糊の場合と似ていた。一方、損失弾性率(G'')は45℃から75℃まで徐々に増大した。この変化はイカに特徴的で、肉糊中のパラミオシンの加熱ゲル化を反映していた。次に加熱ゲル物性を強化するために坐りを導入した2段加熱法を用いたが、 Ca^{2+} 添加でTGaseとプロテアーゼが同時に活性化され、前者による坐り効果と後者の戻り作用の拮抗により、複雑な加熱ゲル物性を示すことが明らかになった。第3章では Ca^{2+} 濃度の影響を受けない微生物由来のTGase (MTGase)を用いて Ca^{2+} 無添加で40℃坐りをおこなうと、 G' 値の高い2段加熱ゲルが形成された。さらに、加熱ゲルの破壊試験の結果も弾力性の高いゲルが形成されることが示された。MTGaseは7 unit/g以上の添加でゲル物性が最大となった。坐り温度は40℃が至適であることが分かった。なお、安価なゲル物性の強化剤であるでん粉の添加はゲルの固さを増強する効果はあったが、凹みを低下させることからMTGaseの方が優れていた。第4章:イカ肉加熱ゲル形成の障害となる Ca^{2+} で活性化されるプロテアーゼの抽出と部分精製をおこなった。本酵素活性はイカ外套膜筋肉の水溶性画分に抽出され、反応至適温度が30℃にあるプロテアーゼ1と15℃にあるプロテアーゼ2が得られた。 Ca^{2+} 濃度依存性から、プロテアーゼ2はm-カルパイン様プロテアーゼであった。一方、プロテアーゼ1は活性化に高濃度(10mM)の Ca^{2+} が必要であり、カゼイン分解よりもイカ肉タンパク質の分解活性が非常に高かったことなどから、 Ca^{2+} 添加肉糊の戻りを誘発する原因プロテアーゼであると結論した。第5章では冷凍貯蔵したイカ肉を利用するために、加熱ゲル形成に及ぼす凍結貯蔵の影響を6ヶ月間にわたって調べた。貯蔵期間が長くなるにつれて、加熱ゲル形成能が低下することが分かった。

本研究の結果に基づいて、イカ肉を無晒しでねり製品原料として利用するには未凍結あるいは凍結期間の短いものを使用し、肉糊のタンパク質濃度を100mg/gと高くする。坐りにおける内在性TGaseの利用は Ca^{2+} の添加が必要で、同時に活性化されるプロテアーゼ1による戻りが起るので困難であるが、MTGaseを用いて40℃坐りを入れた2段加熱法で製造する方法が優れていることを提唱し、新たな製造方法の確立に至った。よって審査員一同は、本論文が博士(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。