

クエン酸ナトリウムの多機能性を利用した スルメイカ外套膜筋肉の高度利用に関する研究

学位論文内容の要旨

長崎県では定置網で漁獲されるイカ同士の噛み合いによって傷が付き、鮮魚としての価値が低くなったスルメイカの高鮮度を利用した製品開発が求められている。その外観の影響を受けない利用として、ねり製品化がある。しかし、魚肉で確立されているねり製品製造方法をそのまま用いてスルメイカ筋肉から加熱ゲルを調製しようとしても、うまくいかないことが知られている。この原因は、魚肉には含まれないエンド型の金属プロテアーゼがスルメイカ肉に存在し、それが加熱中にミオシン分子を特異的に、分子中央付近（HMM/LMM）で分解するためであるといわれている。さらに、ねり製品製造では避けられない NaCl 添加による筋肉の溶解により、さらに分解が促進されることもしられている。このプロテアーゼは、キレート剤である EDTA などを加えることで、容易に阻害できる。しかし、EDTA はねり製品に添加することは許可されていない。そこで、本研究では、食品に使用可能な食品添加物の中から、金属キレート作用を期待できる数種の有機酸塩（クエン酸 Na、コハク酸 Na、酒石酸 Na、グルコン酸 Na）に着目し、スルメイカ肉の自己消化を抑制するかどうかを検討した。

第 1 章において、用いたすべての有機酸塩は程度の差はあるが、いずれもイカ肉の自己消化を抑制することを明らかにした。強さの順序はキレート作用の強さの順序と一致した。中でも、3 価のカルボン酸であるクエン酸 Na が、強く阻害した。また、クエン酸 Na はイカ肉に内在する比較的低温で活性が認められる金属プロテアーゼに加え、比較的高温（35℃）で活性が検出されるセリンプロテアーゼも同時に阻害することを見出した。この阻害機構は解明できなかった。

第 2 章において、いずれの有機酸塩も塩として作用し、筋肉タンパク質を溶解させることを見出した。特にクエン酸 Na の溶解作用は大きく、溶解に必要な濃

度は、NaCl よりも低く、自己消化の阻害に必要な濃度（0.1-0.25 M）で十分であった。また、クエン酸 Na はイカと同様に魚類筋原繊維も同じ濃度で溶解した。この現象には、3 価の酸の塩であるクエン酸 Na のイオン強度が、NaCl に比べ 5 倍大きいことが関与していると推察した。その溶解作用は NaCl との和として作用することも明らかにした。また、クエン酸 Na 添加で筋原繊維が溶解されても、自己消化は抑制されたままであった。さらに、NaCl で筋原繊維が溶解されてもスルメイカ肉の自己消化を抑制したので、筋肉タンパク質の状態によらずイカの自己消化を阻害できる優れた添加物であると判断した。

第 3 章では、クエン酸 Na が、スルメイカの自己消化を抑制すると同時に、筋原繊維を溶解することが知られたので、スルメイカから NaCl を添加しない肉糊を調製し、それを加熱して得られた加熱ゲルの物性、ゲル中のミオシン分解について検討した。通常の NaCl 肉糊では、加熱中にミオシンの分解が確認され、低い破断強度しか示さない加熱ゲルしか形成しなかった。一方、クエン酸 Na で肉糊を作ると、ミオシンの分解が抑制され、それに対応するように加熱ゲルの破断強度は大きく増大し、最大で約 680 gw を示し、その効果は NaCl 肉糊に EDTA を加えた場合よりも高かった。また、魚肉のねり製品製造では、ゲル物性を向上させる方法として、高温加熱の前に比較的低温で予備加熱する「坐り」と呼ばれる工程が導入されている。この予備加熱中に、魚肉に内在する Ca^{2+} を要求する TGase の作用により、ミオシンが架橋重合することがしなやかなゲルを形成させるために必須であるといわれている。しかし、クエン酸 Na 添加で自己消化の抑制されたイカ肉糊では、キレート作用のため内在性 TGase の活性が阻害され、ミオシンの架橋は認められなかった。そこで、食品添加物として認可されている Ca^{2+} 要求性を示さない放線菌由来の TGase (MTGase) を加えてミオシンの架橋反応を進行させ、その結果としての「坐り」効果を発現させようとした。最適条件を決定するため、クエン酸 Na によって調製したスルメイカ肉糊に種々濃度の MTGase を添加し、反応温度、反応時間を変えて予備加熱を行い、高温加熱後に最終的に得られた二段加熱ゲルのゲル物性、ミオシンの多量化反応を追跡した。その結果、1 unit/g という比較的少量の酵素を用い、比較的低温の 35℃で 2 時間反応させることが最適予備加熱条件であることが分かった。この「坐り」（二段加熱処理）により、スルメイカ肉加熱ゲルの物性はさらに向上した。これらの結果から、MTGase を導入することで、「坐り」工程を含むねり製品も生産することが可能となった。

第4章では、イカ肉からのねり製品製造を手軽にするため、冷凍すり身のような貯蔵性の高い中間素材がイカ肉から生産できるかの検討を行った。そのため、イカ筋肉の貯蔵性に対するクエン酸 Na の効果を、イカ肉ミオシンの変性に対するクエン酸 Na の抑制作用から検討した。また、クエン酸 Na をスルメイカばかりでなく魚肉にも応用することを想定し、魚類ミオシンの変性に及ぼす影響も検討した。スルメイカ肉の筋原繊維、ミオシンは魚類と異なり、 Ca^{2+} により安定化を受ける特徴があり、クエン酸 Na を加えることにより、 Ca^{2+} による安定化を失わせることが予想された。まず、そのような性質を示さない魚類（コイ）筋原繊維を用いて検討した。その結果、クエン酸 Na はこれまで報告された化合物の中で最も大きな抑制作用を有するとされるグルタミン酸 Na に匹敵する強い変性抑制作用を示し、ソルビトールよりも強く熱変性を抑制することを見出した。強い変性抑制作用はイカに対しても同様に認められ、 Ca^{2+} による安定化が失われても、強い安定化作用が認められた。第2章の結果から、強い塩として作用するクエン酸 Na は、NaCl や KCl のように筋原繊維中のアクチンを選択的に変性させることも考えられた。しかし、5 M NaCl に相当するイオン強度を示す 1 M クエン酸 Na を添加しても、アクチンの変性は全く検出されなかった。さらに、驚いたことに、クエン酸 Na は、高濃度の NaCl によるアクチン変性を完全に阻止することを見出した。ソルビトールはアクチンの塩変性を全く抑制しなかったので、クエン酸 Na 固有の優れた変性抑制作用であることが分かった。また、無機イオンである硫酸イオンはミオシンの熱変性を強く抑制するが、凍結変性を全く抑制しないことが知られている。しかし、クエン酸 Na は強い塩として作用を有しながら、ソルビトールよりも強く凍結変性を抑制し、グルタミン酸 Na と同等の強い凍結変性抑制作用を示すことを明らかにした。

以上の結果から、クエン酸 Na はスルメイカねり製品製造にかかわる複数の優れた機能を有する化合物であると結論された。これまで懸案であったイカ肉の自己消化の問題を完全に解決したばかりではなく、自己消化という問題を抱えていない魚肉の場合も、筋原繊維の溶解、変性抑制作用という機能を使用することで、新たな加工品の開発が可能になると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 今 野 久仁彦

副 査 教 授 川 合 祐 史

副 査 教 授 佐 伯 宏 樹

学 位 論 文 題 名

クエン酸ナトリウムの多機能性を利用した スルメイカ外套膜筋肉の高度利用に関する研究

長崎県では定置網で漁獲されるイカ同士の噛み合いによって傷が付き、鮮魚としての価値が低くなったスルメイカの高鮮度を利用した製品開発が求められている。その外観の影響を受けない利用として、ねり製品化がある。しかし、イカ筋肉にはエンド型の金属プロテアーゼが存在し、それが加熱中にミオシン分子を分解するため物性の高い熱ゲル化物が生成されない。このプロテアーゼは、EDTA で容易に阻害できるが、ねり製品に添加することは許可されていない。そこで、本研究では、幅広い食品に使用可能な食品添加物の中から、金属キレート作用を有する有機酸塩に着目し、数種の有機酸塩（クエン酸 Na, グルコン酸 Na, コハク酸 Na, 酒石酸 Na）が、スルメイカ肉の自己消化を抑制するかどうかを検討した。

第 1 章において、用いたすべての有機酸塩は程度の差はあるが、いずれもイカ肉の自己消化を抑制することを明らかにした。強さの順序はキレート作用の強さの順序と一致した。中でも、3 価のカルボン酸であるクエン酸 Na が、強く阻害した。その理由はこれらのキレート作用であることを確認した。また、イカ肉に内在する比較的低温で活性が認められる金属プロテアーゼに加え、比較的高温（35℃）で活性が検出されるセリンプロテアーゼもクエン酸 Na は同時に抑制することを見出した。このプロテアーゼは EDTA により阻害されなかった。この阻害機構は解明できなかった。

第 2 章において、いずれの有機酸塩も筋肉タンパク質を溶解させることを見出した。特に溶解に必要なクエン酸 Na 濃度は、NaCl よりも低く、自己消化の阻害に必要な濃度（0.1-0.25 M）で十分であった。また、イカと同様に魚肉筋原繊維も同じ濃度で溶解した。この理由として、3 価の酸の塩であるクエン酸 Na のイオン強度が、NaCl に比べ 5 倍大きいであろうと推察した。その溶解作用は NaCl との和として作用することも明らかにした。また、クエン酸 Na は自らの強い溶解作用あるいは NaCl などの添加により、筋原繊維が溶解した状態においても自己消化を抑制した。すなわち、クエン酸 Na は筋原繊維の状態に関わらず、スルメイカ肉の自己消化を抑制できる優れた添加物であると判断した。

第3章では、スルメイカからNaClを添加しない肉糊を調製し、それを加熱して得られた加熱ゲルの物性、ゲル中のミオシン分解について検討した。クエン酸Naで肉糊を作ると、ミオシンの分解が抑制され、得られた加熱ゲルの破断強度は著しく増大した。しかし、 Ca^{2+} を除いているので、ゲル物性を向上させる方法として、魚肉のねり製品製造で用いられている「坐り」効果は認められなかった。これを克服するため、 Ca^{2+} 要求性を示さない放線菌由来のTGase (MTGase)を加えたところ「坐り」効果が発現された。

第4章では、冷凍すり身のような中間素材がクエン酸Naを用いて製造することができるか検討した。すなわち、イカミオシンの変性に対するクエン酸Naの抑制作用を変性抑制作用がよく知られている糖類、アミノ酸と比較した。また、クエン酸Naをスルメイカばかりでなく魚肉にも応用することを想定し、魚類ミオシンの変性に及ぼす影響も検討した。スルメイカの筋原繊維、ミオシンは魚類のそれらと異なり、 Ca^{2+} により安定化を受ける特徴があり、クエン酸Naを加えることは Ca^{2+} による安定化も失わせることが予想された。先に、そのような性質を示さない魚類筋原繊維で検討したところ、クエン酸Naはソルビトールよりも強く熱変性を抑制し、これまで報告された化合物の中で最も大きな抑制作用を有するとされるグルタミン酸Naに匹敵する強い変性抑制作用を示すことを実証した。また、第2章の結果から、強い塩として作用するクエン酸Naは、NaClやKClのように筋原繊維中のアクチンを選択的に変性させることも考えられた。しかし、5 M NaClに相当するイオン強度を示す1 M クエン酸Naを添加しても、アクチンの変性は全く検出されなかった。さらに、クエン酸Naは、高濃度のNaClによるアクチン変性を完全に阻止することを見出した。一方、ソルビトールはアクチンの塩変性を全く抑制しなかったので、クエン酸Na固有の優れた変性抑制作用であった。強い塩として作用するクエン酸Naではあるが、加熱変性ばかりでなく凍結変性も抑制し、その作用はソルビトールよりも強く、グルタミン酸Naと同等であった。

以上の結果を総合すると、クエン酸Naはスルメイカねり製品製造にかかわる複数の優れた機能を有する化合物であると結論された。これを使用することで、自己消化の問題があるイカばかりではなく、自己消化を抑制する必要のない魚肉の場合も、筋原繊維の溶解、変性抑制作用という作用を利用することで、新たな、加工品の開発が可能となると考えられた。これらの研究成果は、すり身の国際的評価指標に関して重要な知見を与えるものである。それゆえ、審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格があるものと判定した。