

論文の内容の要旨

水 圏 生 物 科 学 専 攻

平成 22 年度博士課程 進学

氏 名 山口 洋子

指導教員 潮 秀樹

論文題目 フグ類可食部の呈味性と有効利用に関する食品化学的研究

トラフグ *Takifugu rubripes* はフグ類の中でも最も美味とされ、わが国で水産上、最も重要な魚種の 1 つである。トラフグの筋肉の食味は独特の強いテクスチャーと繊細な味とされるが、一般的に養殖魚は天然魚より食味が劣るとされ、養殖魚の市場における評価は低い。しかしながら、これを裏付ける科学的な分析はほとんど行われていない。一方、皮膚は、湯がいた後のテクスチャーが好まれるほか、煮凝りの原料としても利用される。筋肉および皮膚のテクスチャーは、結合組織の主成分であるコラーゲンによって決定される。トラフグの皮膚は上述の通り、煮凝りなどの加工品にも利用されるが、その利用率は高くない。皮膚はコラーゲンに富み、その有効利用が望まれ、その機能性を明らかにすることは、トラフグ皮膚コラーゲンの高度利用へとつながる。

このような背景の下、本研究では、養殖トラフグの食味の改善を目指す研究の一環として、養殖トラフグ活魚の活け締め後の処理法の違いによる食味とエキス成分の差異、天然魚と養殖魚間における食味とエキス成分の違いを明らかにすることを試みた。また、フグ類の食味に影響を及ぼす因子を明らかにするため、食味の違いが明確であるとされる日本産および中国産輸入シロサバフグ *Lagocephalus spadiceus* の食味とエキス成分を比較した。さらに、コラーゲンのテクスチャーに及ぼす影響および加工食品における機能性の基礎的知見を得ることを目的とし、トラフグの皮膚および筋肉コラーゲンの生化学的性状を調べるとと

もに、皮膚コラーゲンのプロテアーゼ消化物から血圧降下作用を示すアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害ペプチドの精製およびアミノ酸配列の同定を試みた。成果の概要は以下の通りである。

1. フグ類の食味と呈味成分の比較

養殖トラフグ活魚を活け締め後、身欠きを調製し、この身欠きを氷水で2時間浸漬する試験区(氷水処理区)と、5時間2°Cで冷蔵する試験区(直接冷蔵区)を設定した。次いで両区ともクッキングペーパーで包み、真空パック後、2°Cで一晩冷蔵した。一方、天然魚および養殖魚の食味の比較においては、直接冷蔵区の標品のみを対象とした。官能検査は11-12名のパネルを用いて古川(1994)の対比較法で行った。テクスチャーの比較においては、直径3mmの円柱型プランジャーを用いて背側筋肉の破断強度および80%押し込み時の応力を測定した。エキス成分の分析では、厚さ2mmのトラフグ肉片に100倍量の冷エタノール、3倍量の10%過塩素酸(PCA)または10%トリクロロ酢酸(TCA)で抽出液を調製し、遊離アミノ酸、ATP関連化合物などを常法によって定量した。

養殖トラフグの氷水処理区の加工処理工程中におけるエキス成分の変化では、グルタミン酸、グリシンなどの遊離アミノ酸量および遊離アミノ酸総量がクッキングペーパー処理後で高かった。また、クレアチニンおよびグルコース量についてもクッキングペーパー処理後で高い値が得られた。クッキングペーパー処理によって筋肉中のエキス成分が濃縮された結果と思われる。しかしながら、旨味成分とされるイノシン酸(IMP)、ATP関連化合物総量、および酸味に寄与するL-乳酸量については、両区とも有意な変化はみられなかった。

次に、クッキングペーパー処理後の標品につき、氷水処理の効果を検討したところ、厚さ5mmのスライス肉の破断強度では、氷水処理区の方が直接冷蔵区より高く、即殺後の氷水処理が筋肉の破断強度に影響を及ぼしたものと推察された。しかしながら、厚さ2mmのスライス肉の破断強度、官能検査およびエキス成分では、両区の差はほとんどみられなかった。

次に、直接冷蔵区のトラフグの天然魚と養殖魚の食味を比較した。クッキングペーパー処理後の厚さ2mmのスライス肉を用いた官能検査では、後味、ほぐれやすさ、酸味および苦味が天然魚より養殖魚で強かったが、旨味では違いがみられなかった。同スライス肉の応力測定では、即殺直後およびクッキングペーパー処理直後ともに、天然魚と養殖魚の間に違いはみられなかったが、養殖魚ではクッキングペーパー処理後の応力は即殺直後より低下した。これらの結果から、養殖魚の方が死後変化の進行が速やかであるものと示唆された。エキス成分では、クッキングペーパー処理後で、バリン、ロイシンなどの苦味を呈する遊離アミノ量は天然魚の方が高く、官能検査の結果とは一致しなかった。一方、甘味を呈す

るグリシンおよびアラニン量は養殖魚の方が高かった。IMP および L-乳酸の量も養殖魚の方が高かった。前述のように、天然魚と養殖魚の間で官能検査では旨味に違いがみられなかったものの、酸味は養殖魚の方が強く、L-乳酸量の違いと一致した。L-乳酸量の違いからも養殖魚の方が天然魚より死後変化が早いものと推察された。しかしながら、天然魚と養殖魚の間の食味の差は総じて微妙であった。

そこで、トラフグの食味に関する聞き取り調査を行った。その結果、トラフグの食味を評価する上で弾力、硬さ、旨味、味の深み、先味および持続性が重要であり、生食より加熱肉および煮汁の方が食味の差が明らかであるという意見が得られた。これらの結果を参考に、食味の違いが明確とされる日本産(国産魚)および中国産輸入シロサバフグ(輸入魚)の加熱肉および煮汁を調製した。すなわち、シロサバフグの冷凍身欠きを半解凍後、1 cm 角の背側筋肉を同量の沸騰水で3分間加熱し、加熱肉および煮汁を調製した。これら試料を対象に、トラフグの場合と同様の方法を用いて官能検査を行うとともに、10% PCA または 10% TCA で調製した抽出液を用いてエキス成分を分析し、食味に影響を及ぼす因子を明らかにするための知見を得ることとした。

シロサバフグの煮汁においては輸入魚で苦味が強かった。メチオニン、チロシンなどの苦味に寄与する遊離アミノ酸量は、輸入魚の方が高く、官能検査の結果と良く一致した。旨味は国産魚の方が強く、高濃度に含まれる旨味を呈するアンセリンの量と相関した。しかしながら、IMP 量は国産魚と輸入魚の間に違いはみられなかった。また、L-乳酸量および酸味は国産魚と輸入魚の間に違いは認められなかった。一方、加熱肉においてはL-乳酸量は国産魚の方が高かったが、酸味は国産魚と輸入魚の間に差はみられなかった。加熱肉および煮汁ともに輸入魚の方が鼻孔からの魚の臭いが強かった。魚の臭いを呈するトリメチルアミン(TMA)の量は輸入魚の方が高く、これが輸入魚の鼻孔からの魚の臭いの強さの原因であることが示唆された。また、アミン類は鮮度低下の進行に伴って増加することから、輸入魚の方で鮮度低下が速やかに進行したものと考えられた。

2. トラフグ・コラーゲンの生化学的性状と機能性

養殖トラフグの腹側白色皮膚、背側黒色皮膚および背側普通筋を 0.1 N NaOH で処理後、0.5 M 酢酸および酵素:基質=1:20 の重量比のペプシンを用いて酸可溶性コラーゲン(ASC)およびペプシン可溶性コラーゲン(PSC)を精製した。

精製トラフグ・コラーゲンの SDS-PAGE パターンではいずれも 130 kDa 付近に $\alpha 1$ および $\alpha 2$ のバンドがみられ、主な分子種は I 型と推定された。アミノ酸組成では、いずれのコラーゲンもグリシンが全体のおよそ 3 割を占め、続いてアラニンとプロリンがおよそ 1 割を占めた。コラーゲンに特徴的なヒドロキシプロリンおよびヒドロキシリシンも多かった。いずれのトラフグ・コラーゲンも I 型コラ

ーゲンと類似したアミノ酸組成を示し、これらの結果からも精製されたトラフグ・コラーゲンの主な分子種は I 型であることが示唆された。ペプチドマップでは、黒色皮膚、白色皮膚および背側普通筋から調製したコラーゲンの違いを問わず、V8 プロテアーゼによって生じた 30 kDa 付近の主要成分の SDS-PAGE 易動度は、ASC の方が PSC よりやや小さかった。一方、リシルエンドペプチダーゼによるペプチドマップでは、30 kDa 付近のバンドは ASC で 1 本であったのに対して、PSC では 2 本であった。0.05 M 酢酸中、タンパク質濃度 0.7 mg/ml、5-80°C、昇温速度 60°C/h の条件で示差走査熱量分析を行ったところ、温度安定性の指標となる転移温度は、ASC および PSC とともに背側普通筋から調製したコラーゲンは 31.9-32.0°C と、白色皮膚および黒色皮膚のものよりおよそ 1°C 高かった。0.5 M 酢酸中のトラフグ・コラーゲンは、ASC および PSC とともに 4% NaCl 以上で急激な溶解度の低下がみられた。NaCl 非存在下では、いずれのコラーゲンの溶解度も中性からアルカリ性で低下した。

次に、背側白色皮膚の PSC をプロテアーゼで消化し、ACE 阻害ペプチドの精製およびアミノ酸配列の同定を検討した。加熱変性後のコラーゲンに酵素:基質=1:100 の重量比でアルカラゼ、サーモリシン、 α -キモトリプシン、コラゲナーゼおよびトリプシンを加え、各々の至適温度で 2-24 時間消化したところ、コラゲナーゼ 10 時間消化物の ACE 阻害活性が最も高かった。その消化物を限外ろ過膜で 5-10 kDa、3-5 kDa および <3 kDa の分子サイズに分画したところ、<3 kDa 画分の ACE 阻害活性が最も高かった。得られた <3 kDa 画分を逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)に供し、ACE 阻害活性の最も強い画分について、さらに RP-HPLC を繰り返して精製を行った。ACE 阻害活性が最も強い画分からは Gly-Phe-Ala-Gly-Thr 、 Gly-Phe-Ala-Gly-Ile 、 Gly-Phe-Leu-Gly-Thr および Gly-Phe-Leu-Gly-Ile の 4 つのペプチドが得られた。

以上、本研究により、養殖トラフグ活魚につきクッキングペーパー処理を行った際にエキス成分が濃縮され、食味が強まる可能性が示された。また、天然魚に比べて養殖魚の方が、死後変化の進行が速やかであるものと推定された。シロサバフグの国産魚および輸入魚の食味の比較では、TMA 量が食味に影響を及ぼすことから、鮮度管理が重要であるものと考えられた。トラフグ・コラーゲンの温度安定性については、背側普通筋の方が皮膚より高く、生化学的性状がやや異なった。トラフグ皮膚コラーゲンのコラゲナーゼ消化物から高い ACE 阻害活性を示す 4 つのペプチドを得ることができた。これらの成果は、フグ類の食味の一端を説明し、コラーゲンの高度利用に貢献するもので、食品化学分野に資するところが大きいと考えられる。