



Title	かまぼこの火戻り現象に及ぼす緑豆由来プロテアーゼインヒビターによる抑制効果に関する研究
Author(s)	宮崎, 貴美子
Citation	(2019-03-20)
Issue Date	2019-03-20
URL	http://hdl.handle.net/10069/38970
Right	

This document is downloaded at: 2019-09-23T07:42:07Z

かまぼこの火戻り現象に及ぼす

緑豆由来プロテアーゼインヒビターによる抑制効果に関する研究

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

宮崎 貴美子

かまぼこ製造時の加熱処理中に温度管理を怠ると“火戻り”と呼ばれる品質劣化現象が発生することがある。かまぼこの戻りやすさには季節変動があり、西日本で高級かまぼこの原料魚として用いられるワニエソ (*Saurida wanieso*) では、夏季、特に産卵直後である7月期にかまぼこの足が弱くなり、火戻りが生じやすいとされている。かまぼこのゲル形成性を担っているのは魚肉タンパク質の大部分を占める筋原線維 (Mf) タンパク質で、それ自体の特性や加熱によって起こる構造変化が製品の品質を左右すると考えられる。火戻りの発生には 50~70°C付近で働く数種のプロテアーゼの関与が有力視されており、この温度帯での加熱によりゲルの組織構造が崩壊することの報告がある。また、ミオシン重鎖 (MHC)、アクチン、 α -アクチニン、トロポミオシン等の Mf を構成する重要なタンパク質が分解するとの知見もある。つまり、ゲルの組織構造の崩壊には、これらタンパク質の分解に伴う微細構造の変化が影響していると考えられるが、その詳細は不明である。一方、火戻り発現時のゲル劣化はプロテアーゼインヒビター (PI) によって抑制されるとの知見もあり、特にセリン PI やシステイン PI 添加による効果が報告されている。しかし、これら PI を実際のかまぼこの製造現場で、食品添加物として利用するには問題がある (第1章)。

そこで本研究では、火戻り発生温度での加熱に伴う Mf 微細構造の変化を形態学的に明らかにするとともに、かまぼこ製造時における PI の添加、特に食品添加物として利用可能な緑豆トリプシンインヒビター (MBTI) の添加による火戻り抑制効果について検討した。

まず、第2章にて、かまぼこの火戻り発生温度での加熱に伴う Mf の微細構造の変化および Mf 懸濁液への PI 添加の影響を検討した。試料魚には長崎近海で漁獲された夏季のワニエソを、PI にはセリン PI の MBTI とシステイン PI の E-64 を用いた。試料魚から調製した Mf 懸濁液に PI を添加せずに 40°C または 50°C で 30 分間、Mf 懸濁液に MBTI または E-64 を添加して 50°C で 30 分間加熱した。SDS-PAGE とイムノブロッティングにて、PI 無添加の 50°C 加熱の Mf では MHC やトロポミオシン、アクチンより低分子域にみられる幾つかのバンドが PI 無添加の 40°C 加熱の Mf より若干淡くなった。さらに、Mf の透過型電子顕微鏡観察にて、PI 無添加の 40°C 加熱ではフィラメントの横紋構造が明瞭に認められたが、50°C 加熱ではその構造が不明瞭で、特に明帯フィラメントの構造崩壊が著しかった。一方、Mf 懸濁液に MBTI や E-64 を添加して 50°C 加熱すると、電気泳動的には PI 無添加の 50°C 加熱

と比較して MHC やトロポミオシンの分解が幾分抑制された。また、形態学的にも PI 無添加の加熱と比較して明帯の電子密度が高い傾向にあり、MBTI においては一部に Mf のフィラメント構造が維持されていた。以上より、ワニエソ Mf の火戻り発生温度での加熱に伴う微細構造の崩壊には明帯を構成するトロポミオシンが深く関与していることが明らかとなった。また、PI、特に MBTI の添加により 50°C での加熱に伴うタンパク質の分解や構造崩壊が幾分抑制可能であろうと考えられた。

前章の結果を踏まえ、第 3 章では、実験的にかまぼこを作製し、PI 添加が火戻り現象に及ぼす影響を検討した。試料魚には前章と同様に長崎県産の夏季のワニエソを、PI には MBTI と E-64 を用いた。試料魚の落とし身を水晒し、脱水し、空ずり、塩ずり後に PI 無添加または PI 添加の冷純水を加え、本ずりを行い、すり身を調製した。かまぼこの作製は二段加熱法を用い、PI 無添加のすり身では、一段目の加熱を 40°C で 30 または 120 分間、二段目の加熱を 90°C で 30 分間行った（以下、常法かまぼこ）。同様に、PI 無添加のすり身から火戻りかまぼこ（一段目の加熱：60°C で 30、60、90、120 分間、二段目の加熱：90°C で 30 分間）を、PI 添加のすり身から MBTI かまぼこ（一段目と二段目の加熱は火戻りかまぼこ同条件、添加終濃度 56 μM ）、E-64 かまぼこ（一段目の加熱：60°C で 30 または 120 分間、二段目の加熱：90°C で 30 分間、添加終濃度 10 μM ）を作製した。破断応力では、MBTI かまぼこは一段目の加熱時間の延長に伴い低下したが、火戻り、E-64 添加かまぼこより高値を示した。光学顕微鏡観察では、一段目の加熱を 120 分間行った常法かまぼこは組織全体のエオジンに対する染色性が均一であったが、同条件の火戻りかまぼこはタンパク質の消失によるエオジン非染色性の空胞が目立つ粗な構造であった。また、同条件の MBTI 添加かまぼこはエオジンに対する染色性が常法かまぼこ同様に火戻りかまぼこの中間で、E-64 添加かまぼこは MBTI 添加かまぼこより空胞が若干多かった。透過型電子顕微鏡像では、一段目の加熱を 120 分間行った常法かまぼこは電子密度が異なる微細な粒子で構成された比較的均一な構造を呈したが、同条件の火戻りかまぼこは電子密度が高い凝集粒子と白く抜けた空胞からなる極めて粗な構造を呈した。また、同条件の MBTI 添加かまぼこは常法かまぼこに非常に近い構造を呈していたが、E-64 添加かまぼこは火戻りかまぼこで認められた凝集構造と空胞が観察された。以上より、ワニエソかまぼこ作製時における MBTI の添加は、火戻り抑制に効果的であろうと考えられた。

最後に、第 4 章にて、本研究の結果を総合的に取り纏めるとともに総合考察を行った。そのなかで、かまぼこの火戻り発生温度での加熱に伴う微細構造の崩壊には明帯のフィラメントを構成する調節タンパク質であるトロポミオシンが深く関与していることが考察された。さらに、かまぼこ作製時における MBTI の添加は火戻り抑制に効果的であろうと考えられたことから、将来、天然物由来の火戻り抑制の食品添加物として MBTI の利用が期待される。