凍結含浸処理した魚介類の軟化と筋肉タンパク質の変化

永井 崇裕,^{a*} 福馬 敬紘, 中津沙弥香, 柴田 賢哉, 坂本 宏司

(2010 年 11 月 12 日受付, 2011 年 1 月 4 日受理)

広島県立総合技術研究所食品工業技術センター

Softening of fish meat and changes of muscle protein by freeze-thaw enzyme infusion

TAKAHIRO NAGAI,^{a*} TAKAHIRO FUKUMA, SAYAKA NAKATSU,
KENYA SHIBATA AND KOJI SAKAMOTO*Food Technology Research Center, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, Minami, Hiroshima
732-0816, Japan*

We examined softening of cod and squid meat with freeze-thaw enzyme. Commercial protease for food processing was impregnated into the cod and squid meat under reduced pressure after freeze-thaw. Samples were removed from the enzyme solution and reacted at 10°C for 20 hours. The samples were heated at 95°C for 10 min before measuring the hardness. The hardness of cod and squid meat reached 5×10^4 N/m² or less and their original shape did not change. The cod and squid meat, into which enzyme was infused, became substantially soft depending upon heating from 40°C to 60°C. SDS-PAGE revealed that their muscle proteins were decomposed by heating. The amount of free amino acid of the softening cod meat increased compared with that before processing. In particular, remarkable increase was observed in proteinogenic amino acid. This technique could be useful for softening fish and squid meat for elder persons and those under nursing care.

キーワード：介護食，魚介類，タンパク質，凍結含浸法

我が国では、急速な高齢化社会の進展に伴い、要介護の生活を送る高齢者の割合が増加する傾向にある。¹⁾ 摂食・嚥下障害は、脳神経障害など様々な疾患でも発生するが、加齢も大きな要因の一つである。²⁾ そのため、摂食・嚥下障害を対象とした高齢者・介護用食品という市場が形成されている。¹⁾ しかし、市販されている介護用食品の多くが、流動食や刻み食、ゼリー食など安全性や機能性を重視したものが多く、QOL (quality of life) の視点で見ると発展途上である。食品は栄養的に優れているのは当然のことであるが、色、味、香りに加え形状も重要な構成要素である。食欲の低下が低栄養化の一因となっており、介護用食品には生体機能の維持のみならず、食事の楽しみを与える機能が求められている。^{3,4)}

凍結含浸法は、凍結した食材を解凍し食材に緩みを与えた後、酵素溶液中で減圧することで、短時間で食材内部まで酵素を導入させる技術である。⁴⁻⁶⁾ 内部に導入し

た酵素を一定条件で反応させることにより、食材本来の形状を保持したまま、極めて軟らかくすることができる。⁴⁾ 本法では、酵素反応により食材を軟化させるため、加熱調理と比較して栄養成分や香り成分の損失が少ないことが明らかにされている。⁵⁾ 本法を用いれば、これまでとは全く異なった特徴を持つ、高齢者・介護用食品に適した食品を製造することができる。⁴⁾

これまで、凍結含浸法によりペクチナーゼやヘミセルラーゼをタケノコやゴボウなどの植物素材に含浸させることで、介護食レベルにまで、本来の形状を保持したまま均一に軟化させる技術が開発されている。⁴⁻⁶⁾ これらの食品は、高齢者・介護用食品として一部の企業や介護施設において既に実用化されている。また、硬い表皮を持つ豆類においても本法による軟化技術が開発されている。⁷⁾ 一方、動物素材である畜肉においても、結合組織を選択的に分解し、酵素反応を制御することによって苦

* Tel : 81-82-251-7433. Fax : 81-82-251-6087. Email : t-nagai86032@pref.hiroshima.lg.jp

^a 現所属：広島県立総合技術研究所水産海洋技術センター (Fisheries and Marine Technology Center, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, Kure, Hiroshima 737-1207, Japan)

味やドリップを抑制し、品質を保持したまま軟化する技術が開発されている。⁴⁾しかし、魚介類について本法は未検討であり、軟化の可否も不明であった。魚介類は動物性タンパク質源として重要で、食材としての種類も多く、高齢者が摂食する機会も多い。そこで本研究では、マダラ *Gadus macrocephalus* とスルメイカ *Todarodes pacificus* を材料として、凍結含浸法による硬さ制御を試みた。また、魚介類の硬さの変化にはタンパク質の変化が関与していると推定されることから、筋肉タンパク質の変化についても検討した。

試料および方法

試料 実験には、市販の冷凍マダラ片身肉（約 600 g）および生のスルメイカ胴肉（外套長：約 20 cm）を用いた（以下、タラおよびイカと略す）。イカは -20°C の冷凍庫で一日以上冷凍してから供試した。タラおよびイカは室温で自然解凍し、タラは幅 1 cm の切り身に、イカは表皮を除去してから体軸に対し直角に幅 2 cm の短冊状に整形した。

酵素製剤には、食品加工用プロテアーゼ製剤であるパパイニン W-40 (400 U/mg)、プロメラニン F (800 U/mg) およびプロテアーゼ N「アマノ」G (150 U/mg)（いずれも天野エンザイム製）を用いた。これらの酵素製剤は精製水に溶解し、室温で用いた。

凍結含浸法による酵素導入および酵素反応 調製したタラおよびイカを試料が浸る十分量の酵素液に浸漬したまま、真空チャンパー（アズワン）に入れ、真空ポンプ（MINIVAC PO-52, ヤマト科学）を用いて約 3 kPa まで減圧した。減圧状態を 5 分間保持してから、急激に常圧に復帰させ酵素を含浸させた。含浸後の試料を酵素液から取り出し、 10°C （低温恒温機 IN600, ヤマト科学）で一定時間酵素反応させた。

軟化に及ぼす酵素製剤の種類、酵素濃度および反応時間の影響 最初に、0.5% (w/v) に調製したパパイニン W-40、プロメラニン F およびプロテアーゼ N「アマノ」G を用い、軟化効果の比較を行った。含浸後は 20 時間酵素反応させ、対照は無処理の材料を 10°C で 20 時間放置したものとした。次に、濃度を 0.1~1.0% に調製したパパイニン W-40 を用い、酵素濃度による軟化効果の比較を行った。濃度 0% は精製水のみとし、含浸後は 20 時間酵素反応させた。さらに、0.5% に調製したパパイニン W-40 を用い、イカを材料とし酵素反応時間による軟化程度の比較を 24 時間まで行った。いずれの実験でも、酵素反応後の試料は 95°C で 10 分間加熱し、酵素を失活させてから硬さを測定した。

硬さの測定 試料の硬さは、クリープメーター（Reoner II, 山電）を用いて測定した。厚生労働省で定められた旧高齢者用食品の表示許可基準の測定方法に準じ

て測定した。⁸⁾すなわち、樹脂製の円形プランジャー（直径 3 mm）を圧縮速度 10 mm/sec で、圧縮率 70% まで貫入させた時の最大破断応力 (N/m^2) を硬さとした。測定時の試料の温度は室温とし、各試料 6~8 点の測定を行った。試料の硬さは 2 群間では t 検定で、3 群間以上では一元配置分散分析および Tukey の方法と比較し（エクセル統計, SSRI), $p < 0.05$ を有意な差とみなした。

酵素反応後の加熱が硬さおよび筋肉タンパク質に及ぼす影響 タラおよびイカに 0.5% パパイニン W-40 を含浸させ、 10°C で 20 時間酵素反応させ試料として用いた。最初に、酵素反応後に加熱していない試料と 95°C で 5 分間加熱した試料の硬さを比較した。次に、非加熱の試料を用いたタラは $40\sim 70^{\circ}\text{C}$ で、イカは $45\sim 65^{\circ}\text{C}$ で 5 分間加熱し硬さを測定した。一方、同様に酵素反応させたタラおよびイカの筋肉のみを $40\sim 95^{\circ}\text{C}$ で 2 分間加熱し、直ちに氷冷した。氷冷後の試料に 9 倍量の精製水を加え、乳鉢と海砂を用いて氷冷下でホモジナイズした。ホモジネートは $5000\times g$, 10 分間 (4°C) 遠心分離し（KUBOTA6000, クボタ）、上清を回収した。上清を精製水で 5 倍に希釈してから遠心濾過デバイス（ナノセップデバイス $< 10\text{ K}$, ポール）を用い $10000\times g$, 30 分間 (4°C)（Centrifuge 5417 R, エッペンドルフ）の条件で 10 kDa 以下の分子量に分画した。分画した 10 kDa 以下のタンパク質量を、牛血清アルブミン（ナカライテスク）を標準タンパク質として Lowry 法⁹⁾で測定した。一方、非加熱の試料から作製したホモジネートを 30°C , 40°C , 50°C , 60°C , 70°C , 80°C および 95°C で 2 分間加熱し、氷冷後直ちに等量の SDS-変性緩衝液 (0.125 M Tris HCl pH 6.8, 10% 2-メルカプトエタノール, 4% SDS, 10% スクロース, 0.004% プロモフェノールブルー)（ナカライテスク）を加え、5 分間沸騰水中で処理し SDS-PAGE 用試料とした。SDS-PAGE は 10% 分離ゲルを用い、タンパク質は Coomassie brilliant blue (CBB)（ナカライテスク）で染色した。ゲルイメージ解析ソフト Quantity one（バイオラッド）を用い、染色したゲルからバンドの検出および分子量解析を行った。

遊離アミノ酸の分析 凍結含浸処理したタラおよび無処理のタラの遊離アミノ酸量の測定を行った。0.5% パパイニン W-40 を含浸し、 10°C で 20 時間反応させ筋肉部分のみとした試料を 95°C で 5 分間加熱し、9 倍量の精製水を添加しミキサーを用い 1 分間ホモジナイズした。 $5000\times g$, 10 分間 (4°C) で遠心分離後、上清を回収し終濃度 5% (w/v) となるようにトリクロロ酢酸（和光純薬）を混合し、 $5000\times g$, 15 分間 (4°C) 遠心分離し上清を回収した。上清は 0.02 N 塩酸で 2.5 倍に希釈し pH を調整後、 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ フィルターで濾過した。試料の

遊離アミノ酸量は, L-8800 型高速アミノ酸分析計 (日立) を用いて測定した。試料間の各遊離アミノ酸量を t 検定で比較し (エクセル統計), $p < 0.05$ を有意な差とした。

結 果

凍結含浸処理による試料の軟化 軟化に及ぼす酵素製剤の種類, 酵素濃度および反応時間の影響について検討し, 結果を Fig. 1~4 に示した。3 種類のプロテアーゼ製剤をそれぞれ含浸させ, 10°C で 20 時間反応させた後, 95°C で 10 分間加熱した試料の硬さは, いずれの試料も対照と比較すると有意に減少した ($p < 0.01$) (Fig. 1)。タラではいずれの酵素でも指で容易に押しつぶせる硬さである $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下の硬さとなり, イカではプロテアーゼ N「アマノ」G 以外の酵素で $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下になった。また, Fig. 2 にはパパイーン W-40 を含浸させた試料の外観を示したが, 試料の形状の変化は処理前と比較して小さかった。以降の実験は比較的水に溶解しやすく, 酵素溶液の調製が容易なパパイーン W-40 を用いた。

0.1~1.0% のパパイーン W-40 を含浸させ, 10°C で 20 時間反応させた試料の硬さを Fig. 3 に示した。いずれの試料も精製水を含浸した試料と比較すると硬さが有意

に減少し ($p < 0.05$), 酵素濃度が高まるにつれて, より軟化する傾向であった。タラでは 0.1% 以上で, イカでは 0.5% 以上で $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下の硬さとなった。

0.5% のパパイーン W-40 を含浸させ, 10°C で一定時間反応させたイカの硬さを Fig. 4 に示した。時間が経過するにつれ徐々に軟化する傾向を示し, 反応 1 時間後には含浸直後の試料より硬さが有意に減少し ($p < 0.05$), 反応 24 時間後には $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下の硬さとなった。

凍結含浸処理した試料の加熱による変化 酵素反応後の加熱温度がタラおよびイカに及ぼす影響について検討した。Fig. 5 に示すように, 酵素反応後の非加熱の試料と比較すると, 95°C で 5 分間加熱した試料は大幅に軟らかくなった ($p < 0.01$)。また, より低温で加熱した場合, タラにおいては 40°C から 50°C の間で, イカにおいては 50°C から 60°C の間で急激に軟化した (Fig. 6)。加熱処理した試料の形状の変化は加熱前と比較して小さかった。

加熱した試料の 10 kDa 以下の水溶性タンパク質量を Fig. 7 に示した。タラおよびイカの対照試料においては, 10 kDa 以下の水溶性タンパク質量は少なく, 加熱による変化もほとんど見られなかった。一方, 含浸処理したタラでは 45°C 以上の加熱で, イカでは 50°C 以上の加

Fig. 1 Hardness of cod and squid meat processed with freeze-thaw enzyme infusion method. Reactions were carried out at 10°C for 20 hours. Different letters (a or b) indicate significant difference ($p < 0.01$). A: Papain W-40, B: Bromelain F, C: Protease N "amino" G. Mean $\pm$ SE ($n = 8$).

Fig. 2 Photographs of cod and squid meat processed with freeze-thaw enzyme infusion method. The hardness of the samples was $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ or less. Enzyme: Papain W-40.

Fig. 3 Effect of enzyme concentration on hardness of cod and squid meat processed with freeze-thaw enzyme infusion method. Reactions were carried out at 10°C for 20 hours. Different letters (a, b or c) indicate significant difference ($p < 0.05$). Enzyme: Papain W-40. Mean $\pm$ SE ($n = 8$).

Fig. 4 Changes in hardness of squid meat processed with freeze-thaw enzyme infusion method. Reaction temperature was 10°C. Different letters (a, b, c or d) indicate significant difference ($p < 0.05$). Enzyme: Papain W-40. Mean $\pm$ SE ($n = 8$).

Fig. 5 Effect of heating on hardness of cod and squid meat processed with freeze-thaw enzyme infusion method. Heating was carried out at 95°C for 5 min. Different letters (a or b) indicate significant difference ($p < 0.01$). Enzyme: Papain W-40. Mean $\pm$ SE ($n = 8$).

熱でタンパク質量は増加し、非加熱と比較して95°Cではタラで2倍に、イカで1.5倍に増加した。

加熱した試料のSDS-PAGEのCBB染色像をFig. 8

Fig. 6 Effect of heating temperature on hardness of cod and squid meat processed with freeze-thaw enzyme infusion method. Different letters (a, b, c or d) indicate significant difference ($p < 0.05$). Enzyme: Papain W-40. Mean $\pm$ SE ($n = 6$).

Fig. 7 Water-soluble protein concentrations (< 10 kDa) of cod and squid meat, which were heated at 40–95°C. < 10 kDa fractions were obtained by the ultrafiltration method from homogenized meat. ●: control, ○: processed with freeze-thaw enzyme infusion method.

に示した。なお、95°Cの泳動像は80°Cと同じであったため図中では省略した。無処理のタラ筋肉では30～95°Cで加熱しても泳動像に変化は見られなかった。一方、含浸処理したタラ筋肉においては、加熱していない状態(UH)でミオシン重鎖やアクチンなどの多くのバンドが酵素分解により消失していた。含浸処理により38 kDa、31 kDaおよび29 kDaの3本のバンドが出現したが、30°Cから40°Cの加熱で31 kDaおよび29 kDaのバンドが、40°Cから50°Cの加熱で38 kDaのバンドが検出されなくなった(Fig. 8)。イカにおいても、タラと同様に、無処理の筋肉では30～95°Cで加熱しても泳動像に変化は見られなかった。一方、含浸処理したイカにおいては、加熱していない状態(UH)でミオシン重鎖、パラミオシンおよびアクチンなどの多くのバンドに変化が見られた。含浸処理したイカに見られた53 kDaから130 kDaのバンドは60°Cの加熱で、46 kDaのバンドは70°Cの加熱で検出されなくなった(Fig. 8)。

遊離アミノ酸量の変化 含浸処理したタラ肉および対照のタラ肉の遊離アミノ酸量をTable 1に示した。含浸

Fig. 8 Changes in the SDS-PAGE pattern of cod and squid meat, which were heated at 30–80°C respectively or unheated. A: control, B: processed with freeze-thaw enzyme infusion method, UH: unheated, 30–80: heated at 30–80°C, MHC: myosin heavy chain, PM: paramyosin, AC: actin, M: markers, *1: 38 kDa, *2: 31 kDa, *3: 29 kDa, *4: 130 kDa, *5: 53 kDa, *6: 46 kDa.

処理によってリジン以外のタンパク質構成アミノ酸が有意に増加し ($p < 0.05$), タンパク質構成アミノ酸全体では対照と比較して 2.2 倍に増加した。一方, 非タンパク質構成アミノ酸の増加は全体では 1.1 倍に増加したが, 一部のアミノ酸は減少し, タウリンは対照の 0.8 倍になった ($p < 0.05$)。

考 察

最初に, プロテアーゼ製剤 3 種類を用いてタラおよびイカの軟化効果を比較した。供試したプロメライン F やパパイン W-40 は植物由来のシステインプロテアーゼで畜肉の軟化に広く用いられており, プロテアーゼ N「アマノ」G は *Bacillus subtilis* 由来の金属プロテアーゼで食品製造時にタンパク質の分解に用いられている。タラではいずれの酵素でもほぼ同様に軟化し, イカではプロメライン F およびパパイン W-40 の軟化効果がプロテアーゼ N「アマノ」G よりやや高かった。植物素材に関しては同じ酵素製剤でも素材により軟化効果が大きく異なることが明らかになっているが,⁶⁾ 魚介類ではプロテアーゼ製剤の種類が異なっても効果の差は少なかった。酵素溶液の調製が比較的容易なパパイン W-40

を用いて軟化に適した酵素濃度を検討した結果, 元々肉質の軟らかいタラでは 0.1% 以上で, 肉質の硬いイカでは 0.5% 以上で $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下の硬さにすることが可能であった。イカを用いて酵素反応時間を検討した結果, 10°C で 24 時間反応させることで $5 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下となった。酵素濃度が高くなると酵素失活や殺菌工程において, 形状が崩れやすくなる傾向がある。実用的には, 酵素濃度はできるだけ低くし, 酵素失活後の硬さの変化も考慮する必要がある。なお, 供試した酵素製剤の至適反応温度は 50°C 以上であるが, 魚介類の場合, 加熱していない生の素材を用いることから酵素反応温度は 10°C とした。タラやイカを凍結含浸処理することで, そしゃく困難者用食品レベルの硬さの目安である $5.0 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下¹⁾の硬さにまで, 形状の変化を抑えて軟化できることが明らかになった。また, 組織の崩壊が全体的に見られたことから, 凍結含浸法により組織中心部まで酵素が含まれたと考えられた。植物組織では, 氷結晶の生成による食材組織の緩みが酵素の減圧含浸効率を大幅に高めることが明らかにされている。⁵⁾ また, 急速凍結よりも緩慢凍結した場合において含浸効率が高いことも示されている。⁵⁾ タラやイカにおいても, 組織の軟

Table 1 Free amino acid composition of cod meat of control and processing with freeze-thaw enzyme infusion method

Amino acid	Control	Freeze-thaw enzyme infusion method
Phospho serine	1.2±0.0	10.2±0.5 ^a
Taurine	96.4±4.0	80.1±2.7 ^b
Aspartic acid	0.8±0.1	15.7±0.4 ^a
Threonine	25.0±1.2	29.9±0.5 ^a
Serine	7.8±0.7	19.3±0.4 ^a
Glutamic acid	12.4±0.6	21.2±0.5 ^a
Glutamine	1.3±0.1	6.0±0.2 ^a
α-amino adipic acid	0.3±0.3	7.2±0.5 ^a
Glycine	24.3±2.0	37.2±0.6 ^a
Alanine	27.1±1.5	38.3±0.4 ^a
Citrulline	ND	4.9±0.2 ^a
α-amino-n-butyric acid	3.7±0.2	6.7±0.2 ^a
Valine	5.7±0.2	13.7±0.3 ^a
Cystine	ND	5.0±0.2 ^a
Methionine	2.7±0.1	27.4±0.6 ^a
Cystathionine	13.4±0.3	14.4±0.5
Isoleucine	3.5±0.0	16.1±0.4 ^a
Leucine	6.9±0.2	51.4±1.5 ^a
Tyrosine	3.3±0.2	21.0±0.6 ^a
Phenylalanine	4.3±0.7	16.7±0.4 ^a
β-Alanine	50.7±2.4	15.4±0.3 ^b
β-Amino iso butyric acid	ND	8.6±0.5 ^a
γ-Amino-n-butyric acid	0.2±0.1	5.1±0.2 ^a
Tryptophan	ND	14.4±2.5 ^a
Ethanol amine	1.7±0.1	2.1±0.8
Ammonia	9.9±0.1	14.2±0.7 ^a
Hydroxylysine	2.1±1.0	7.7±0.8 ^a
Ornithine	3.8±0.2	2.6±0.1 ^a
Lysine	63.0±3.4	70.5±1.3
1-Methylhistidine	5.0±0.3	2.1±0.1 ^b
Histidine	1.4±0.1	5.5±0.3 ^a
Anserine	123.2±5.6	167.5±6.0 ^a
Arginine	12.6±0.7	38.3±1.1 ^a
Hydroxy proline	7.7±0.7	5.8±0.4
Proline	14.0±1.0	23.4±0.2 ^a
Total	535.4±13.9	825.4±9.3 ^a
Proteinogenic	216.1±10.4	471.0±6.6 ^a
Non-proteinogenic	319.3±7.9	354.4±6.9 ^a

(mg/100 g) ND: not detected, a: significantly higher than control, b: significantly lower than control ($P<0.05$), Mean ± SE ($n=4$)

化程度から、酵素が中心部まで含浸される機構は植物素材と同じ可能性がある。本研究では、マダラおよびスルメイカを材料として用いたが、その他にも多くの魚類（アジ、イワシ、サケ、アユ）や軟体動物（タコ、カキ、アサリ、ホタテガイ）においても、ほぼ同じ条件で $5.0 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ 以下にまで形状を保持したまま軟化可能であった（結果は図示しない）。

凍結含浸処理した植物素材においては、酵素反応後に十分に軟らかく酵素失活の加熱前後で硬さに変化は見られない。⁶⁾ 一方、タラやイカにおいては、酵素反応後に 95℃ で酵素失活すると失活前と比較して大幅に軟化した。この原因を明らかにするために、酵素反応後の加熱温度と硬さの関係および筋肉タンパク質の変化を検討した。酵素反応後のタラでは 40℃ から 50℃ の加熱で大幅に軟化し、イカでは 50℃ から 60℃ の加熱で大幅に軟化した。次に、加熱した筋肉タンパク質を電気泳動に供し、バンドパターンの変化を検討した。酵素反応後には多くのタンパク質が分解していることが明らかになり、特にタラにおいてはバンドの種類が大幅に減少していた。また、加熱温度が高まるにつれて多くのバンドが消失し、大幅な軟化と一部のバンドの消失が一致した。一方、試料中の 10 kDa 以下のタンパク質が加熱により増加したことから、電気泳動像で消失したタンパク質は低分子化したものと考えられた。したがって、低温で酵素分解を受けたタンパク質が加熱処理によりさらに低分子化し、試料が急激に軟化するものと考えられた。このタンパク質の低分子化には、試料に含浸されたプロテアーゼの活性が加熱によって高まることが関与していると推定された。

魚肉の硬さの変化に関しては、貯蔵中の筋肉の軟化機構や、各種の調理に伴う軟化機構が研究されている。¹⁰⁻¹²⁾ 貯蔵中の軟化機構が詳細に検討された結果、魚の死後のコラーゲン繊維の崩壊が結合組織の強度を低下させ、軟化の原因となることが示されている。¹³⁾ また、酢漬けた魚肉においては、筋肉に含まれる酸性プロテアーゼが pH の変化で活性化し、筋肉タンパク質を分解することで軟化することが示されている。¹⁴⁾ 本研究では、無処理の試料も電気泳動に供し、筋肉タンパク質の変化を調べたが、内因性プロテアーゼの影響と考えられる変化は見られなかった。また、魚肉のみそ漬けにおいても、みそに含まれるプロテアーゼによりミオシン重鎖が分解し軟化することが示されている。¹⁵⁾ 本研究のように、高濃度のプロテアーゼを魚肉に含浸させタンパク質の変化をとらえた研究は見当たらないことから、酵素反応によるタンパク質の低分子化と軟化の関係についてはさらに詳細な検討を行う必要がある。

スルメイカにおいては加熱温度が 60℃ に近づくにつれ軟らかくなり、60℃ 以上では温度の上昇で逆に硬くなり、60℃ を境界として硬さが大きく変化することが明らかにされている。¹⁶⁾ この原因として、常温から 60℃ までの変化と 60℃ 以上の変化ではタンパク質の熱変性機構に違いがあるためと考えられている。¹⁶⁾ また、真空調理したスルメイカにおいて、80℃ よりも 60℃ で加熱したイカの方が軟らかくなる原因として、60℃ では 80℃ よりもアクトミオシンからアクチンが離脱し可溶

化しやすいからであることが示されている。¹⁷⁾ タラとイカが急激に軟化する温度域が異なる原因として、これらの60℃付近でのイカのタンパク質の熱変性機構が関与している可能性もある。

含浸処理した試料の成分的な変化を明らかにするために、遊離アミノ酸量の変化をタラについて検討した。タンパク質構成アミノ酸については大幅な増加が確認され、アクチンやミオシンの主成分であるバリニン、ロイシンおよびイソロイシンの増加が確認された。遊離アミノ酸は吸収されやすいことから、消化吸収機能の衰えた高齢者にとっても利用しやすいと考えられる。また、遊離アミノ酸は魚介類のエキス成分として重要で、呈味に大きく関与することから、^{10,11)} 凍結含浸処理に用いる酵素製剤の選択や反応条件の工夫により呈味の向上も期待される。一方、非タンパク質構成アミノ酸であるタウリンの減少が見られたが、含浸処理時の酵素液中への流出、または酵素失活時における離水の影響が考えられた。未糊化デンプンを酵素と同時に試料に含浸することで加熱時の離水を抑制する技術が開発されていることから、¹⁸⁾ 魚介類の離水を抑制する方法の検討も必要である。

本研究において、凍結含浸法を魚介類に応用することで、極めて軟らかい物性を持った魚介類の加工品を製造できることが示された。凍結含浸法では、凍結減圧操作という食品工場で通常使用される製造装置を転用することから比較的低コストで製造することができる。⁴⁾ また、真空包装機での製造も可能であることから、介護施設においては真空包装材を用いての少量生産が可能である。¹⁹⁾ 一方、加熱工程を大幅に省略するためにエネルギーの節約が可能である。⁴⁾ さらに、本法を応用して栄養成分や機能性成分を付加増強する技術、造影剤を含浸させて消化器官造影検査食を製造する技術が開発されている。⁴⁾ 今後は魚介類においても、本法を用いて硬さ制御のみならず、新たな機能性を付加した食品の開発が期待される。

文 献

- 藤崎 享. ユニバーサルデザインフード (UDF) について. 食品工業 2009; **52**: 27-34.
- 大越ひろ. 介護食の現状と課題. 食品工業 2009; **52**: 20-26.
- 金野正吉. ユニバーサルデザインフードを中心とした食品の開発について. 食品工業 2009; **52**: 35-40.
- 坂本宏司, 柴田賢哉, 石原理子, 中津沙弥香. 硬さ制御技術 (凍結含浸法) を用いた高齢者・介護用食品の開発. 食科工 2008; **55**: 522-528.
- 坂本宏司, 石原理子, 柴田賢哉, 井上敦彦. 凍結減圧酵素含浸による植物組織の軟化および単細胞化. 食科工 2004; **51**: 395-400.
- Sakamoto K, Shibata K, Ishihara M. Decreased hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006; **70**: 1564-1570.
- 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司. 凍結含浸法を用いた白花生の硬さ制御技術の開発. 食科工 2006; **53**: 566-571.
- えん下困難者用食品たる表示の許可基準. 健康増進法 (平成 14 年法律第 103 号) の規定に基づく特別用途食品 (健康増進法施行規則, 平成 15 年厚生労働省令第 86 号) 第 11 条第 3 号. 2003.
- Lowry O, Rosebrough N, Farr A, Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; **193**: 265-275.
- 村田道代, 安藤正史, 坂口守彦. 魚肉の鮮度とおいしさ. 食科工 1995; **42**: 462-468.
- 坂口守彦, 佐藤健司. 魚介類のおいしさの秘密. 化学と生物 1998; **36**: 504-509.
- 下村道子. 魚の調理に関する研究. 家政誌. 1997; **48**: 753-762.
- Ando M, Toyohara H, Sakaguchi M. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 1992; **58**: 567-570.
- 下村道子, 松本重一郎. しめさば処理における魚肉の物性とタンパク質の変化. 日水誌 1985; **51**: 583-591.
- 下村道子, 松本重一郎. サワラ肉のみそ漬け処理によるタンパク質の変化. 日水誌 1987; **53**: 627-632.
- 内藤文子, 高橋節子, 佐藤之紀, 野口 駿, 内藤 博, 田中直義. 真空調理法がスルメイカの物性および食味特性におよぼす影響. 家政誌 1996; **47**: 153-159.
- 沖谷明紘, 大根田弥生, 久保友人, 石井剛志, 鈴木理世子, 栗田隆之, 砂田泰志, 山下幸恵, 右田光史郎, 松石昌典, 畑江敬子. 真空調理スルメイカ筋肉の軟化機構. 食科工 2008; **55**: 170-176.
- 中津沙弥香, 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司. 凍結含浸法を用いた食材の硬さ制御及び離水防止技術の開発. 日摂食嚥下リハ会誌 2007; **11**: 24-32.
- 中津沙弥香, 柴田賢哉, 石原理子, 坂本宏司. 真空包装機を用いた凍結減圧酵素含浸法による形状保持軟化食品の作製. 日摂食嚥下リハ会誌 2009; **13**: 120-127.