クエン酸ナトリウムを利用したスルメイカ *Todarodes pacificus* 外套膜筋の乾燥中の褐変抑制

山下 捷 平,¹ 海藤としき,² 粕川 将,² 高橋 希 元,¹
岡崎恵美子,¹ 耿ショウテイ,³ 大迫 一 史^{1*}

(2019 年 4 月 12 日受付, 2019 年 8 月 16 日受理, 2019 年 10 月 25 日 J-STAGE 早期公開)

¹東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科, ²株式会社なとり, ³株式会社ケンコーマヨネーズ

Prevention of the browning of dried Japanese common squid *Todarodes pacificus* by immersion in sodium citrate solution before drying

SHOHEI YAMASHITA,¹ TOSHIKI KAIDO,² MASARU KASUKAWA,² KIGEN TAKAHASHI,¹
EMIKO OKAZAKI,¹ JIETING GENG³ AND KAZUFUMI OSAKO^{1*}

¹Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, ²General Foods laboratory, Natori Co., Ltd., Kita, Tokyo 114-0003, ³Research and Development Department, KENKO Mayonnaise Co., Ltd., Suginami, Tokyo 168-0072, Japan

To prevent Maillard browning of the Japanese common squid *Todarodes pacificus* during air-drying, the effect of treatment with a saturated sodium citrate (Na-citrate) solution was investigated. The degree of browning of dried squid meat immersed in the Na-citrate solution before drying (Na-citrate meat) was significantly lower than that of dried untreated meat and the dried meat immersed in ion exchanged water before drying. Results of SDS-PAGE analysis revealed that myosin heavy chain degradation of the Na-citrate meat was suppressed during drying compared to other dried samples. The total amount of free amino acids in the Na-citrate meat was lower than that in the other dried samples. These results suggest that Na-citrate prevents the generation of free amino acids, which are involved in the Maillard reaction, and results in a lower degree of brown discoloration of dried squid.

キーワード：SDS-PAGE, 乾燥, クエン酸ナトリウム, スルメイカ, メイラード反応, 遊離アミノ酸

我が国においてスルメイカ *Todarodes pacificus* は重要な水産資源であり, 平成 28 年ではイカ類の漁獲量 109,968 トンのうちスルメイカの漁獲量は 7 割近くを占める 70,197 トンである。¹⁾ この利用法の一つとして伝統的な乾製品である「するめ」があるが, これの国内生産量は, イカ類加工品の中で調味加工品, 塩辛に次ぐ 5,600 トンを占めており, 「するめ」は重要な加工品であるといえる。²⁾ また, その独特な香りと味によって多くの日本人に好まれており, 水分活性が低いため腐敗しにくく, 常温での長期保存が可能である³⁾ ことから非常に優れた食品であるといえる。また, その栄養価は高くアミノ酸スコアは 100 をこえ, 低脂肪, 高タンパク質

食品として高く評価されている。³⁾ さらに, その食感から満腹感が得られることでダイエット食品としての需要も高まってきている。³⁾ 以上のことより, スルメイカを利用した「するめ」は日本の水産加工業にとって重要な製品であるといえる。

一方で, スルメイカからつくられる「するめ」はケンサキイカやコウイカ等の他種のイカからつくられるものに比べて, 製造中および保存中の褐変が著しいため, 市場での商品価値が低いことが問題となっている。^{4,5)} そのため, スルメイカ乾製品の褐変を抑制することが商品価値の高いスルメイカ乾製品の開発につながると考えた。

Geng ら⁶⁾はスルメイカ肉のホモジネートを用いて,

スルメイカ乾製品の褐変にメイラード反応が関わっていることを明らかにした。メイラード反応はアミノカルボニル反応とも呼ばれ、還元糖などのカルボニル基を持つ化合物とアミノ酸やペプチド、タンパク質などアミノ基を持つ化合物が結合した後、複雑な反応経路を経てメラノイジンと呼ばれる褐色色素となる一連の反応の総称である。^{7,8)} この反応には温度、水分活性、pH、遊離アミノ酸量や還元糖量などが関与することが挙げられている。^{5,7,8)}

スルメイカは、タンパク質を分解するメタロプロテアーゼの活性が他のイカ類と比較して高く、このため、乾燥時の遊離アミノ酸の生成が他のイカ類より著しいことが、また、このことが他のイカ類よりも褐変しやすい原因であることが報告されている。⁶⁾ さらに、EDTA やクエン酸ナトリウム (クエン酸 Na) 等の金属キレート剤を添加することによってその金属キレート作用によりメタロプロテアーゼの活性を下げることで、結果としてスルメイカのメイラード反応を抑制できることが報告されている。^{9,10)} しかし、これまでの研究ではスルメイカ肉のホモジネートが用いられており、より実際の製造工程に近い切り身においては検討されていない。

そこで本研究では、加工現場における製造工程に近づけるためにホモジネートではなくスルメイカの切り身を使用して、食品添加物として認められており、なおかつ金属キレート作用を持つことが知られている¹¹⁾ クエン酸 Na を利用してスルメイカの乾燥中の褐変を抑制することを検討した。

材料と方法

材料 2016 年 9 月に兵庫県沖で漁獲され、船内で凍結された状態のまま研究室に届いたスルメイカ (体重 241.15 ± 14.56 g, 外套膜長 17.02 ± 1.06 cm, 厚さ 3.99 ± 0.71 mm, $n=6$) 8 kg を 4°C で一晩解凍し、頭脚、内臓、鰭および表皮の第 2 層までを除去した外套膜を試料とした。試料は 500 g ずつランダムに小分けし、使用するまで -30°C 凍結庫 (MDF-U536, 三洋電機株式会社製) で凍結および保管した。なお、試料は処理及び凍結後半年以内に実験に供した。

試料の調製 実験には、凍結状態のスルメイカを 4°C の冷蔵庫で一晩解凍した無処理試料、解凍後イオン交換水 (IEW) に 40 分浸漬した試料 (コントロール) および後述の方法で飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料を用いた。

飽和クエン酸ナトリウム水溶液の調製 クエン酸三ナトリウム二水和物 (特級, 和光純薬工業株式会社製) を 100 mL の IEW に対して 80 g 入れ、スターラーを用いて攪拌 (室温, 400 rpm, 1 h) して完全に溶解したものを飽和クエン酸ナトリウム水溶液 (飽和クエン酸 Na

水溶液) とした。

飽和クエン酸 Na 水溶液への浸漬時間の検討 試料を 4°C の冷蔵庫中で一晩解凍したのち 3.5 cm 四方に切断した。切断後、200 mL の飽和クエン酸 Na 水溶液を入れたビーカー内に切断した試料を入れ、スターラーを用いて 200 rpm で攪拌しながら 10°C に設定したインキュベーター (KCL-2000, 東京理科機器株式会社製) 中で 10–60 分間の浸漬を行った。浸漬後、表面の水分を拭きとり、浸漬後試料とした。

浸漬後試料のクエン酸 Na 含量の測定 遠沈管内で浸漬後試料 0.5 g に対し 10 mL の IEW を加えポリトロンホモジナイザー (PT 10–35 GT, Kinematica 社製) を用いて 15,000 rpm で 1 分間ホモジナイズした。ホモジナイズ終了後、ホモジネート適量をソルトメーター (PAL-ES1, 株式会社アタゴ製) を用いて測定した。

スルメイカ切り身の乾燥 40 分間飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料を Geng らの方法⁶⁾ で乾燥させた。すなわち、温度 40°C 、湿度 60% RH に設定したインキュベーター中で 5.5 時間乾燥させ 5.5 時間乾燥試料とした。5.5 時間乾燥終了後、試料の水分を均一にするため庫外で室温にて 1 晩放置した (あんじょう)。あんじょう後、再び温度 40°C 、湿度 60% RH にて 5.5 時間の乾燥を行い 11 時間乾燥試料とした。その後、同様の条件で 48 時間の乾燥を行い、24 時間毎に 35 時間乾燥試料、59 時間乾燥試料とした。

pH および水分含量 乾燥後の試料は 3 g の試料と 20 mL の冷 IEW をポリトロンホモジナイザーを用いてホモジナイズし、ホモジネートの pH を pH メーター (F-72 型, 株式会社堀場製作所製) を用いて測定した。水分含量は 105°C の恒温槽で試料約 1 g を恒量とし、乾燥前後の重量から試料の水分含量を求めた。

水分活性 水分活性は水分活性測定器 (ms1-aw, Novasina 社製) を用いて測定した。

色調 カラーリーダー (CR-13, コニカミノルタ センシング株式会社製) を用い、CIE 表色系に基づいて各工程後の試料の表面の色調を測定した。

メイラード反応の進行度の検討 メイラード反応の進行度を Geng らの方法⁹⁾ で測定した。すなわち、乾燥前試料では 5 g の試料を、乾燥後の試料では 2 g の試料を遠沈管内に入れ、冷 IEW を 10 mL 加えた。その際、乾燥後試料についてはグラインダー (NR-01, 三庄インダストリー株式会社製) を用いて粉碎した試料を用いた。ポリトロンホモジナイザーでホモジナイズを行ったのち冷 20% トリクロロ酢酸を 10 mL 加え再度同様にホモジナイズした。ホモジネートを氷中で 15 分インキュベートしたのち、 4°C 、 $10,000 \times g$ で 15 分間遠心分離し、上清をろ紙 (5A, アドバンテック東洋株式会社製) でろ過した。上清は Morales らの方法¹²⁾ で褐変強度を、

Matiacevich らの方法¹³⁾で蛍光強度を測定した。褐変強度は 420 nm における吸光度を分光光度計 (V-630 BIO, 日本分光株式会社製) を用いて測定し、蛍光強度は励起波長 370 nm における蛍光波長 440 nm の蛍光強度を分光蛍光光度計 (FP-8600, 日本分光株式会社製) を用いて測定した。なお、測定した値は試料中の固形分 1 g 当たりの値に換算した。

SDS-PAGE 分析およびタンパク質可溶化率の測定 試料重量に対して 40 倍量 (w/v) の 2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) を加え、ポリトロンホモジナイザーを用いてホモジナイズ (10,000 rpm) した。このホモジネートを沸騰水中で 2 分間加熱した後にシーソーシェイカー (BC-700, 株式会社バイオクラフト製) で一晩振盪し、タンパク質を溶解させた。その後ミニスピン (MiniSpin, Eppendorf 社製) にて 10,000 × g で 10 分間室温にて遠心分離し、上澄みを試料として用いた。電気泳動は Laemmli らの方法¹⁴⁾に従い、ゲルは市販のポリアクリルアミドゲル (e-PAGEL ゲル濃度 7.5%, アトー株式会社製) を、分子量マーカーには Page Ruler Unstained Protein Ladder (Thermo Scientific 社製) を使用した。また、ゲルの染色は 0.025% CBB R-250-30% メタノール-10% 酢酸溶液を用いて行い、脱色は 30% メタノール-10% 酢酸溶液を用いて行った。タンパク質可溶化率の測定は高橋らの方法¹⁵⁾で行った。上記の電気泳動前の遠心分離前後の SDS-PAGE 用試料のタンパク質濃度を Lowry 法¹⁶⁾によって測定し、得られたタンパク質濃度から以下の式を用いて 2% 2-メルカプトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液へのタンパク質の可溶化率を算出した。なお、同法は 2-メルカプトエタノールを含む試料の測定には適さないため、測定には遠心分離前後の溶液に対して 10 倍量 (v/v) の 2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) 溶液で、透析用セルロースチューブ (ヴィスキングチューブ, 分画分子量約 12,000-14,000, 株式会社メディカルサイエンス製) を用いて 3 時間、3 回、室温で透析したものを用いた。

$$\text{可溶化率 (\%)} = (A)/(B) \times 100$$

A = 遠心分離前の上清のタンパク質濃度 (mg/mL)

B = 遠心分離後の上清のタンパク質濃度 (mg/mL)

遊離アミノ酸分析 遊離アミノ酸の測定は Geng らの方法⁶⁾で行った。すなわち、乾燥前試料では 3 g の試料を、乾燥後の試料では 1.5 g の試料を遠沈管内に入れ、冷 IEW を 10 mL 加え、水中で 1 時間振盪しながら放置した。乾燥後試料についてはグラインダーを用いて粉碎した試料を用いた。その後、ポリトロンホモジナイザーでホモジナイズを行ったのち冷 10% トリクロロ酢酸を 10 mL 加え再度ホモジナイズし、遠沈管内のトリクロロ酢酸の濃度を 5% とした。ホモジネートを水中

で 15 分インキュベートしたのち、4°C、10,000 × g で 10 分間遠心分離し、上清をろ紙 (5A, アドバンテック東洋株式会社製) でろ過した。その後、沈殿物に冷 5% トリクロロ酢酸 10 mL を加え、スパーテルで攪拌したのち、遠心分離を行い、上清を 5A ろ紙を用いてろ過して先ほどのろ液と合わせた。この操作を 3 回繰り返した。その後、5% トリクロロ酢酸で 100 mL に定容した。定容した溶液を PP-シリンジフィルター (PP013045, Membrane Solutions 社製) を用いてろ過し、バイアル瓶に注入したものを遊離アミノ酸分析用試料とした。アミノ酸の分析は、アミノ酸分析システム (LC-20AD, 株式会社島津製作所製) を用い、カラムは Shim-pack Amino-Li (100 mm × 6.0 mm, 株式会社島津製作所製)、プレカラムは Shim-pack ISC-30/S0504 Li (50 mm × 4.0 mm, 株式会社島津製作所製) を用い、カラム温度は 39.0°C とした。蛍光検出器は RF-10AXL (励起波長 350 nm, 蛍光波長 450 nm, 株式会社島津製作所製) を用いた。

統計処理 得られた結果は、エクセル統計 2010 (株式会社社会情報サービス製) を用いて解析し、Tukey 法¹⁷⁾により有意差検定を行った ($p < 0.05$)。

結 果

飽和クエン酸 Na 水溶液への浸漬時間の検討 飽和クエン酸 Na 水溶液への浸漬時の試料中のクエン酸 Na 濃度の変化を Fig. 1 に、pH の変化を Fig. 2 に示した。クエン酸 Na 濃度は浸漬時間 40 分経過までは浸漬時間に依存して増加していき、40 分経過時点で $6.78 \pm 0.36\%$ になりその後は一定の値になった。pH は 10 分経過時点で 6.68 ± 0.01 まで上昇しその後は大きな変化は見られなかった。以上の結果より、これ以降の実験では飽和クエン酸 Na 水溶液への浸漬時間を 40 分とした試料を用いた。

水分含量および pH 乾燥前の水分含量は無処理の試料では $75.4 \pm 1.0\%$ 、コントロールとして IEW に浸漬した試料では $77.3 \pm 1.0\%$ 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では $68.2 \pm 1.0\%$ であった。59 時間乾燥終了後の無処理試料では $13.5 \pm 0.6\%$ 、コントロールでは $13.3 \pm 0.8\%$ 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では $12.5 \pm 0.6\%$ であり、処理法の違いによる有意差はなかった。(結果は図示しない)

pH は、乾燥前の無処理の試料では 6.42 ± 0.01 、コントロールでは 6.51 ± 0.05 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では 6.68 ± 0.01 でそれぞれ有意差はあったが大きな差異は見られなかった。59 時間乾燥終了後では無処理の試料で 6.05 ± 0.01 、コントロールで 6.17 ± 0.04 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では 6.48 ± 0.00 であり、試料ごとに有意差があり、また、すべ

Fig. 1 Changes in sodium citrate concentration of the squid meat during immersion in saturated sodium citrate solution. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different letters indicate statistical difference ($p<0.05$).

Fig. 2 Changes in pH of the squid meat during immersion in saturated sodium citrate solution. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different letters indicate statistical difference ($p<0.05$).

での試料で乾燥前よりも pH が低下していた（結果は図示しない）。

水分活性 水分活性は、いずれの試料においても乾燥前の試料では 1.0 ± 0.0 となっており、59 時間乾燥後では 0.6 ± 0.0 であった（結果は図示しない）。

色調 試料表面の色調の測定結果を、Fig. 3(a)–(c)に示した。いずれの試料においても、乾燥が進むにつれて L^* 値は徐々に低下した。 a^* 値には徐々に上昇する傾向が見られ、 b^* 値には一定の傾向は見られなかった。11 時間乾燥終了時点ではいずれの試料においても L^* 値および b^* 値に有意差はなく、 a^* 値においてのみ無処理試料とクエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料の間に有意差が確認された。35 時間乾燥終了後では飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料において L^* 値および b^* 値が有意に高く、 a^* 値ではコントロールとの間に有意差はなかった。59 時間乾燥終了後では飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では他の試料と比較して L^* 値が高かったが、 a^* 値においては他試料と有意差がなく、 b^* 値においてもコントロールとの間に有意差がなかった。以上よ

Fig. 3 Changes in L^* , a^* , b^* values of the squid meat during air-drying: (a) L^* value, (b) a^* value, (c) b^* value. Untreated meat, untreated squid meat; Control, squid meat immersed in IEW; Na-citrate meat, squid meat immersed in saturated sodium citrate solution. Bars represent standard deviation ($n=6$). Different letters indicate statistical difference ($p<0.05$).

り、飽和クエン酸 Na 水溶液への浸漬によって 35 時間乾燥以後の L^* 値の低下が抑制されていたことが顕著であった。また、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では官能的にも乾燥中の褐変は抑制されていた。

メイラード反応の進行度 メイラード反応の進行度は褐変強度 (Fig. 4) と蛍光強度 (Fig. 5) から評価した。褐変強度の測定はメラノイジンを測定する目的で、蛍光強度の測定はメラノイジンの前駆物質を測定する目的で行った。乾燥前の褐変強度は無処理の試料で 0.025 ± 0.001 、コントロールで 0.024 ± 0.001 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で 0.020 ± 0.002 であり、処理法の違いによる有意な差はなかった。59 時間乾燥後の褐変強度は無処理の試料で 0.16 ± 0.01 、コントロールで 0.16 ± 0.01 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で 0.06 ± 0.00 であり、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬

Fig. 4 Changes in browning intensity of the squid meat during air-drying. Untreated meat, untreated squid meat; Control, squid meat immersed in IEW; Na-citrate meat, squid meat immersed in saturated sodium citrate solution. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different letters indicate statistical difference ($p<0.05$).

Fig. 5 Changes in fluorescence intensity of the squid meat during air-drying. Untreated meat, untreated squid meat; Control, squid meat immersed in IEW; Na-citrate meat, squid meat immersed in saturated sodium citrate solution. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different letters indicate statistical difference ($p<0.05$).

した試料で褐変強度が有意に低かった。乾燥前の蛍光強度は無処理の試料で 69.7 ± 2.1 、コントロールで 64.3 ± 2.4 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で 54.9 ± 2.1 であり、処理法の違いによる有意な差はなかった。59 時間乾燥後の蛍光強度は無処理の試料で 1130.6 ± 7.6 、コントロールで 1116.1 ± 7.6 、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で 579.2 ± 20.5 であり、乾燥後の飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では無処理の試料やコントロールと比較して蛍光強度の値が有意に低い値であった。

SDS-PAGE 分析 乾燥前の試料および各乾燥終了後の試料の SDS-PAGE の結果を Fig. 6 に示した。全ての試料において 5.5 時間乾燥が終了した時点で 200 kDa 付近に存在する MHC の分解が確認されたが、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では MHC の分解が抑制されていた。また、11 時間乾燥以降は全ての試料において MHC の明確な分解は見られなかった。なお、2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl-2% β -メルカプトエタノール (pH 8.8) 溶液に対する各試料の可溶化率はすべて 90% 以上であり、試料間に明らかな違いはなかった (結果は図示しない)。

遊離アミノ酸 試料の遊離アミノ酸分析の結果を Table 1 に示した。遊離アミノ酸分析の結果、乾燥前の遊離アミノ酸総量は、無処理試料で 3597.1 ± 129.6 mg/100 g、コントロールとして IEW に浸漬した試料で 2345.1 ± 108.1 mg/100 g、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で 1907.2 ± 209.9 mg/100 g であり、IEW および飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した時点で有意に減少した。乾燥を行った試料では、11 時間乾燥の時点で増加し、その後は一定となる傾向が見られ、59 時間乾燥後の試料では無処理試料において 4706.9 ± 163.8 mg/100 g、コントロールで 4360.7 ± 193.1 mg/100 g、飽和

Fig. 6 SDS-PAGE patterns of squid meat during air-drying. Untreated meat, untreated squid meat; Control, squid meat immersed in IEW; Na-citrate meat, squid meat immersed in saturated sodium citrate solution; M, protein molecular weight marker; BD, before drying; 5.5 h, after 5.5 h of drying; 11 h, after 11 h of drying; 35 h, after 35 h of drying; 59 h, after 59 h of drying.

Table 1 Effect of immersion in sodium citrate solution on free amino acids composition of air-dried Japanese common squid mantle meat (mg/100 g dry basis)

	Untreated meat				Control				Na-citrate meat			
	Before drying	11 h drying	35 h drying	59 h drying	Before drying	11 h drying	35 h drying	59 h drying	Before drying	11 h drying	35 h drying	59 h drying
O-Phosphoserine	0.5±0.3	4.8±0.2	19.3±8.7	18.9±1.9	1.1±0.7	3.1±0.5	11.1±4.9	12.9±4.0	0.6±0.5	7.3±3.0	7.6±4.9	6.6±2.1
Taurine	524.7±5.1	753.1±51.7	969.6±96.1	1137.6±49.2	339.7±14.2	1276.9±29.6	775.0±60.1	794.5±61.5	408.9±73.8	446.7±83.8	583.8±13.4	703.2±31.1
O-Phosphoethanolamine	0.6±0.3	8.5±0.7	8.8±0.5	0.0±0.0	0.2±0.1	13.6±1.1	14.5±1.8	9.7±0.8	0.1±0.0	4.0±1.4	3.1±0.5	2.7±1.0
Aspartic acid	5.0±1.2	10.3±1.1	13.4±3.2	0.2±0.1	5.2±0.6	32.2±1.2	10.0±4.4	11.5±0.9	12.7±1.7	3.3±1.3	4.2±0.8	4.7±0.8
Hydroxyproline	46.8±16.4	0.4±0.3	0.3±0.2	74.2±14.8	50.7±21.7	1.5±1.5	1.3±1.6	0.2±0.3	1.5±1.5	0.5±0.3	0.1±0.1	0.9±0.9
Threonine	22.7±5.2	42.8±3.8	42.1±3.4	54.1±3.3	15.9±6.6	36.5±3.6	45.5±4.8	43.1±4.0	24.0±2.9	21.5±4.0	23.9±0.7	25.8±1.5
Serine	13.7±1.7	39.8±3.7	35.8±1.4	33.7±3.4	10.9±6.2	50.8±3.0	53.3±15.1	53.1±5.3	13.2±2.9	19.3±3.4	18.3±1.0	24.0±2.9
Asparagine	2.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1	0.2±0.2	2.0±1.0	0.6±0.5	0.5±0.4	0.4±0.2	0.3±0.1	0.2±0.2	0.4±0.2	0.4±0.4
Glutamic acid	16.0±14.7	84.6±8.2	85.7±7.6	70.0±7.5	2.8±2.3	183.9±7.9	202.8±73.8	193.9±20.1	13.0±3.9	47.1±9.9	44.7±3.2	56.1±14.8
Glutamine	8.4±4.7	6.8±0.6	2.6±1.2	0.2±0.1	2.5±1.9	3.6±2.1	2.0±1.4	1.1±0.7	5.8±0.3	0.3±0.3	0.1±0.1	1.4±0.1
Sarcosine	150.5±102.4	95.0±73.1	17.4±15.6	29.9±47.4	64.3±39.5	11.6±9.3	52.9±36.5	19.0±9.0	16.8±6.9	11.2±4.9	7.4±2.3	16.4±24.1
2-Aminoadipic acid	2.3±1.0	0.1±0.1	0.1±0.2	0.9±0.6	2.4±0.4	1.0±0.7	0.8±0.5	0.5±0.5	0.4±0.2	0.2±0.2	0.1±0.0	0.6±0.3
Proline	1230.4±43.4	1389.5±105.1	1030.1±106.4	939.1±25.0	759.4±51.1	177.3±48.0	342.4±458.4	604.6±91.0	396.7±26.6	826.5±155.5	578.3±24.2	762.1±32.1
Glycine	105.9±0.8	124.8±10.8	100.4±7.1	100.5±6.8	66.1±2.0	134.4±6.2	74.4±13.1	70.3±6.8	40.1±4.3	69.2±12.4	48.8±2.5	57.6±3.0
Alanine	15.4±1.8	91.8±10.9	70.7±4.8	35.6±0.6	9.4±1.3	302.8±10.8	323.9±152.6	325.1±43.4	20.8±4.9	40.7±9.3	36.7±2.4	70.4±8.3
Citrulline	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
2-Aminobutyric acid	1.5±1.1	6.0±1.2	2.9±1.9	0.9±1.1	1.2±0.7	0.2±0.4	14.2±9.4	7.3±7.2	0.5±0.7	2.7±0.9	0.7±0.3	1.0±0.8
Valine	21.4±8.1	53.9±4.9	45.4±2.0	32.3±5.8	12.6±11.4	46.6±14.0	37.2±14.1	40.7±19.6	14.9±1.5	27.5±5.0	23.5±1.1	25.6±5.4
Cysteine	159.5±7.5	144.7±13.9	139.9±4.3	189.2±6.9	121.1±6.8	265.4±22.9	248.8±19.7	226.4±7.9	75.9±5.8	90.4±15.4	86.4±20.4	173.5±8.8
Methionine	19.2±14.0	31.2±5.4	43.9±6.9	53.5±12.0	2.9±2.4	38.6±13.1	25.8±10.9	19.9±2.2	16.2±2.7	17.2±3.8	14.9±5.9	23.4±10.8
Isoleucine	7.7±1.4	32.3±3.0	28.9±3.7	21.2±1.9	5.0±4.8	29.2±2.1	29.0±10.2	23.4±2.7	12.2±2.2	14.3±3.0	12.2±2.0	17.2±5.2
Cystathionine	28.0±28.4	0.1±0.0	0.3±0.2	0.7±0.4	4.8±1.9	53.0±8.6	48.4±12.6	145.4±45.3	0.5±0.4	0.2±0.1	0.3±0.2	67.9±7.5
Leucine	724.3±29.8	1004.1±99.1	878.4±30.8	1253.2±69.9	508.7±24.8	593.2±83.5	845.0±502.3	1301.0±94.6	480.9±40.1	564.4±104.4	524.1±13.0	1047.5±57.2
Tyrosine	7.9±1.1	10.9±4.5	13.7±2.9	50.9±11.1	9.6±6.4	47.0±3.7	32.9±13.6	21.5±6.3	12.2±1.7	2.7±4.0	0.2±0.1	19.2±10.0
Phenylalanine	25.0±4.6	39.1±4.0	43.3±9.2	61.3±9.9	19.5±11.1	45.9±4.5	30.6±2.9	32.8±4.4	20.6±0.7	17.6±3.6	20.1±3.7	23.5±0.9
B-Alanine	3.1±0.5	2.3±0.1	2.0±0.5	3.0±0.7	1.3±0.9	2.3±0.5	1.0±0.2	0.6±0.5	1.2±0.1	1.0±0.2	0.9±0.3	0.7±0.5
3-Aminoisobutyric acid	1.1±0.6	0.1±0.0	1.0±0.4	0.2±0.2	0.8±0.5	0.2±0.1	0.5±0.3	0.1±0.1	0.5±0.3	0.1±0.0	0.2±0.3	0.5±0.3
4-Aminobutyric acid	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.1±0.1	1.9±0.2	0.3±0.3	0.2±0.1	0.3±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1
Tryptophan	14.6±15.5	1.4±0.1	0.7±0.5	1.3±0.7	13.0±5.8	0.4±0.5	2.6±2.8	0.6±0.6	2.0±0.2	0.9±1.0	0.2±0.2	2.4±3.7
Histidine	173.5±8.2	145.0±13.3	136.8±15.3	199.8±16.4	130.0±9.8	191.6±9.4	141.9±5.3	123.9±5.9	66.6±6.2	81.0±14.6	92.1±4.1	101.3±5.9
3-Methyl-histidine	3.0±1.8	4.2±1.4	2.8±1.9	0.2±0.2	0.8±0.6	2.7±1.3	3.3±0.5	2.4±0.5	0.2±0.2	2.2±0.6	4.7±0.6	2.6±1.5
1-Methyl-histidine	0.4±0.4	1.3±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.9±0.3	0.0±0.0	0.3±0.1	0.0±0.0	0.6±0.2	1.0±0.1	0.1±0.1	0.3±0.3
Carnosine	0.3±0.2	1.2±0.5	0.2±0.2	1.4±1.1	1.0±0.4	0.3±0.2	0.4±0.2	0.2±0.2	0.2±0.1	0.6±0.2	0.2±0.1	0.2±0.1
Anserine	4.3±1.3	0.5±0.3	0.2±0.2	1.4±1.5	4.7±1.3	0.7±0.4	0.5±0.4	0.7±0.2	0.0±0.0	0.5±0.3	0.3±0.3	0.8±0.5
Hydroxylysine	3.6±2.1	2.3±1.2	0.4±0.3	0.8±0.5	3.5±5.4	1.7±0.4	2.0±0.7	4.4±6.3	0.2±0.2	0.9±0.6	0.3±0.3	1.1±0.5
Ornithine	12.1±2.5	24.7±3.3	24.0±5.2	16.3±4.4	12.5±2.6	1.8±0.9	2.9±1.1	3.5±1.6	7.2±2.4	10.8±3.7	9.7±3.0	3.0±1.0
Lysine	34.7±4.0	86.7±8.4	88.6±15.9	64.1±8.7	9.4±6.8	62.1±6.0	67.7±10.8	65.7±8.9	29.9±4.2	33.8±9.9	52.8±3.8	43.7±12.0
Ammonia ethanol amine	0.8±0.3	3.7±0.2	2.1±1.1	0.3±0.6	0.1±0.1	2.1±1.3	1.2±0.5	0.9±0.9	0.8±0.2	0.8±0.3	0.5±0.3	0.3±0.3
Arginine	206.0±22.2	382.1±37.7	444.2±34.8	259.3±11.1	148.7±11.2	145.5±5.1	230.8±14.9	199.3±19.4	208.4±47.8	312.1±62.9	345.7±17.4	185.9±12.6
Basic amino acid	414.2±34.4	613.7±59.4	669.6±66.0	523.3±36.2	288.0±27.7	399.3±20.5	440.4±31.0	388.8±34.2	304.9±58.2	426.9±87.4	490.6±25.2	330.9±30.5
Total	3597.1±129.6	4630.1±382.3	4296.3±122.2	4706.9±163.8	2345.1±108.1	3762.2±88.1	3677.7±577.4	4360.7±193.1	1907.2±209.9	2680.8±506.3	2547.7±66.3	3474.7±192.3

Data are shown as mean ± standard deviation ($n = 4$).

Untreated meat, untreated squid meat; Control, squid meat immersed in IEW; Na-citrate meat, squid meat immersed in saturated sodium citrate solution

11 h drying, squid meat after 11 h of drying; 35 h drying, squid meat after 35 h of drying; 59 h drying, squid meat after 59 h of drying

“Basic amino acids” indicates histidine, lysine and arginine.

クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で 3474.7 ± 192.3 mg/100 g であり、無処理の試料やコントロールと比較して飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で遊離アミノ酸総量が有意に低かった。さらに、塩基性アミノ酸であるリジン、ヒスチジン、アルギニンの量は、いずれの試料においても 35 時間乾燥までは増加し、その後 59 時間乾燥終了時点で減少した。また 59 時間乾燥後の塩基性遊離アミノ酸量は、無処理の試料において 523.3 ± 36.2 mg/100 g、コントロールにおいて 388.8 ± 34.2 mg/100 g、飽和クエン酸 Na 水溶液への浸漬を行った試料において 330.9 ± 30.5 mg/100 g であり、無処理の試料やコントロールと比較して飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では塩基性遊離アミノ酸量が有意に低かった。

考 察

乾燥中の pH および色調変化 乾燥前後の試料の pH の変化を検討したところ、乾燥後の試料では pH が低下した。スルメイカはグリコーゲンを含むことが知られ、¹⁸⁾ 解糖反応によって有機酸が産生されたため pH が低下したと考えられた。¹⁹⁾ しかし、いずれの試料においても pH は 6-7 の範囲であり、今回の実験においてメイラード反応に対する pH の影響は少なかったと考えられた。乾燥前のスルメイカ切り身を飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬することで乾燥中の L^* 値の低下を有意に抑制することができた。しかし、乾燥時間と b^* 値の変化との関係に明確な傾向は見られなかった。褐変の評価指標としての L^* 値、 a^* 値、 b^* 値は、褐変が進むにつれて L^* 値は徐々に低下し、 a^* 値および b^* 値は上昇することが知られている。⁶⁾ しかし、本実験では b^* 値は明確な傾向を示さなかった。これは、褐変の進行につれて試料表面の色調が黒色 ($L^*=0, a^*=0, b^*=0$) に近づいてしまったためであると考えられた。次に、メラノイジンおよびその前駆物質を測定し、その双方からメイラード反応の進行度を評価した。その結果、いずれの乾燥段階においても飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では低いメイラード反応の進行度を示し、メラノイジンおよびその前駆物質の生成を抑制できたことが示唆された。

遊離アミノ酸分析および SDS-PAGE メイラード反応が抑制された原因を明らかにするために試料中の遊離アミノ酸の分析および SDS-PAGE によるタンパク質の分子量分布の検討を行った。遊離アミノ酸分析の結果より、飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料では無処理の試料およびコントロールと比較して乾燥後の遊離アミノ酸総量が有意に少なかった。メイラード反応では遊離アミノ酸等が持つアミノ基と還元糖等が持つカルボキシル基が反応し、複雑な経路を経てメラノイジンと呼ばれる褐色色素となる。そのため、試料中の遊離アミノ酸量

はメイラード反応に深くかかわることが知られている。²⁰⁾ 特に、塩基性遊離アミノ酸はメイラード反応性が高いことが知られている。^{21,22)} これは、スルメイカの場合においても同様の傾向が報告されており、タンパク質の分解に伴う塩基性遊離アミノ酸の生成が褐変の原因であることが示唆されている。^{6,9)} 本実験においても 59 時間乾燥後の塩基性遊離アミノ酸量は、無処理の試料やコントロールと比較して飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料で低かった。このことから、メイラード反応の抑制は遊離アミノ酸、特に塩基性遊離アミノ酸の生成が抑制されたことに起因することが考えられた。

次に SDS-PAGE によるタンパク質の分子量分布の検討を行った。SDS-PAGE では飽和クエン酸 Na 水溶液に浸漬した試料において他の試料より多くの MHC が残存していることが観察され、乾燥中の MHC の分解がクエン酸 Na によって抑制されていることが示唆された。また、MHC の分解が抑制されたことで、それに起因する塩基性遊離アミノ酸を含む遊離アミノ酸の生成が抑制されたことが考えられた。

スルメイカは高いメタロプロテアーゼ活性を持ち、また、スルメイカの持つメタロプロテアーゼ活性により MHC が特異的に分解されることが知られている。²³⁾ 本研究で MHC の分解が抑制されていたのは、クエン酸 Na の金属キレート作用によってスルメイカの持つ高いメタロプロテアーゼの活性を低下させたためであると考えられた。また、MHC の分解に起因する塩基性遊離アミノ酸を含む遊離アミノ酸の生成が抑制されたことで還元糖等との反応によるメラノイジンの生成が抑制され、結果としてメイラード反応の抑制につながったと考えられた。

一方で Geng らのスルメイカのホモジネートを用いて行った実験では僅か 0.5% のクエン酸 Na の添加で本研究よりも高い褐変抑制効果を示している。¹⁰⁾ これはホモジネートの場合、試料に均一にクエン酸 Na が行き亘るのに対し、切り身への浸漬においてはクエン酸 Na が部分的に局在していることが想定された。また、無処理の試料において本実験より著しい褐変が報告されている。これは、Geng らの用いた試料で遊離アミノ酸総量が本実験で用いた試料と比較しておおよそ 5 倍程度含まれていたことに起因すると考えられ、用いたスルメイカの季節や産地、漁獲後の処理およびホモジナイズする工程が影響したものと考えられた。

文 献

- 1) 農林水産省 海面漁業生産統計調査。(平成 28 年)。農林水産省、東京、2017。
- 2) 農林水産省 平成 28 年水産加工統計調査。農林水産省、東京、2017。
- 3) 奥積昌世、藤井建夫。「イカの栄養・機能成分」全国いか

- 加工業協同組合, 東京. 2000; 4-23.
- 4) Omura Y, Okazaki E, Yamashita Y, Yamazawa M, Watabe S. The influence of ribose on browning of dried and seasoned squid products. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2004; **70**: 187-193 (in Japanese with English abstract).
 - 5) 柞木田善治, 福田 裕. イカ褐変におよぼす pH, 金属イオン, 糖類の影響. 青森県水産物加工研究所昭和 57 年度試験研究報告 1982; 104-108.
 - 6) Geng JT, Kaido T, Kasukawa M, Zhong C, Sun LC, Okazaki E, Osako K. Mechanism study of high browning degree of mantle muscle meat from Japanese common squid *Todarodes pacificus* during air-drying. *Food Chem.* 2015; **176**: 158-166.
 - 7) Omura Y, Okazaki E, Yamashita Y, Yamazawa M, Watabe S. The influence of ribose on browning of dried and seasoned squid products. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2008; **74**: 66-74 (in Japanese with English abstract).
 - 8) 本間清一. メラノイジンに関する食品化学的研究. 日本栄養・食糧学会誌 2005; **58**: 85-98.
 - 9) Geng JT, Kaido T, Kasukawa M, Takahashi K, Okazaki E, Osako K. The influence of proteases on the browning of dried squid products processed by air-drying. *Food Research International* 2017; **97**: 231-239.
 - 10) Geng JT, Kaido T, Kasukawa M, Takahashi K, Okazaki E, Osako K. The effect of organic salts on the browning of dried squid products processed by air-drying. *Food Chem.* 2018; **269**: 212-219.
 - 11) Kuwahara K, Osako K, Konno K. Improved gel formation of Japanese common squid muscle as a result of suppression of autolysis by some organic salt. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2004; **70**: 922-927 (in Japanese with English abstract).
 - 12) Morales FJ, Jiménez-Pérez S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chem.* 2001; **71**: 119-125.
 - 13) Matiacevich SB, Buera MP. A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction. *Food Chem.* 2006; **95**: 423-430.
 - 14) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; **227**: 680-685.
 - 15) Takahashi K, Amemiya H, Tanaka M, Klomklao S, Okazaki E, Osako K. Influence of endogenous protease on heat-induced gelation properties of pink shrimp *Pandalus meat*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2014; **80**: 979-988 (in Japanese with English abstract).
 - 16) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; **193**: 265-275.
 - 17) 広津千尋. 多重比較法と多重決定方式. 「統計学の基礎Ⅱ」(甘利俊一, 竹内 啓, 竹村彰通, 伊庭幸人 編). 岩波書店, 東京. 2003; 55-112.
 - 18) 須山三千三, 鴻巣章二, 浜部基次, 奥田行雄. 「イカの利用」恒星社厚生閣, 東京. 1980; 52-53.
 - 19) 新井健一, 奥積昌世, 小泉千秋, 鴻巣章二, 清水 寛, 須山三千三, 西元諄一, 野田宏行, 森 光國, 山口勝巳. 鮮度判定法. 「水産食品学」(須山三千三, 鴻巣章二編) 恒星社厚生閣, 東京. 1987; 136-137.
 - 20) Tarr H. The Maillard Reaction in Fish Products. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 1950; **8**: 74-81.
 - 21) Kwak E, Lim S. The effect of sugar, amino acid, metal ion, and NaCl on model Maillard reaction under pH control. *Amino Acids*. 2004; **27**: 85-90.
 - 22) 並木満男. アミノカルボニル反応の栄養生理的影響「食品の加工と栄養科学」(日本農芸化学会編). 朝倉書店, 東京. 1987; 4-12.
 - 23) Ehara T, Tamiya T, Tsuchiya T. Investigation of myosin heavy chain-degrading proteinase in squid muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1994; **60**: 527-528 (in Japanese with English abstract).