

水産物残滓（クロカンパチ・ソデイカ）の有効利用に関する研究

— 養殖クロカンパチの魚肉・副産物特性と工業的利用に関する研究（2） —

山城利枝子、比嘉賢一

1. はじめに

新しい水産資源として注目されているクロカンパチの魚肉特性を把握するため、これまで冷蔵保存中の鮮度変化について検討を行ってきた。

近頃ではクロカンパチも市場に出回るようになり、その需要も拡大しつつある。魚介類は鮮魚や加工原料としての需要の拡大とともに、頭部や骨などの残滓の処理法が問題となり、食品などへの有効利用が望まれている。

魚介類の加工残滓は頭部や骨に加え、加工成形の際に魚肉片も排出される。これら加工残滓にはまだ多くのタンパク質が残存しており、タンパク質を分解してエキシ化すればアミノ酸系の調味料や魚醤油などへの利用が可能となる。また、魚介類のエキシは、和風ダシや各種食品の風味付けなどとして利用されており、食品分野における用途はかなり広い。

そこで平成 11 年度は、水産物加工残滓の有効利用法として、残滓のタンパク質を酵素分解し、魚肉エキシ製造について検討を行った。今回はクロカンパチの他に、沖縄県の主要水産物の 1 つであるソデイカの酵素分解についても検討を行ったので併せて報告する。

2. 実験方法

2-1 原料処理

原料となる魚肉はクロカンパチ（和名：スギ）の肉と加工残滓（頭部、骨、皮等）およびソデイカ肉（加工残滓の魚肉片）を用いた。原料は、フードプロセッサーまたは微粉粉碎機（MKCA10-20J 増幸産業㈱）を用いてミンチ状にし、酵素分解用原料とした。各原料の一般成分組成を表 1 に示した。

表 1 酵素分解原料の一般成分組成

	%				mg/100g				
	水分	タンパク質(窒素量)	脂質	灰分	ナトリウム	カルシウム	カリウム	鉄	マグネシウム
クロカンパチ肉	72.5	19.8 (3.2)	7.6	1.3	67.1	3.5	474.6	0.3	21.9
クロカンパチ残滓	60.4	19.1 (3.1)	15.3	6.5	210.3	108.3	256.1	2.9	34.9
ソデイカ肉	85.7	13.9 (2.2)	1.0	0.7	78.5	1.9	172.4	0.2	23.2

2-2 酵素分解方法

酵素分解用原料に同量の水を加え攪拌後、pH を調整（1N 塩酸または 1N 水酸化ナトリウム溶液）し、酵素を原料の 0.2%（w/w または v/w）添加して所定時間（0.5、1、2、4 時間）分解を行った。分解終了後、酵素を熱失活（90℃）させた後、自然濾過（ろ紙 5A）または遠心分離（10000rpm、30 分）により不溶物を除去して魚肉エキシを得た。表 2 は試験に使用した酵素である。酵素分解は各酵素の至適温度及び至適 pH で行った。

表 2 使用酵素

酵素	至適温度	至適 pH	酵素タイプ	起源
酵素 A	50	4.5	エンド + エキソ	<i>Aspergillus Oryzae</i>
酵素 B	50	7	エンド	<i>Bacillus Subtilis</i>
酵素 C	50 ~ 60	8	エンド	<i>Bacillus Licheniformis</i>
酵素 D	50 ~ 55	5.5 ~ 6.5	エンド + エキソ	<i>Aspergillus Oryzae</i>
酵素 E	50	7 ~ 8	エンド	豚膵臓トリプシン

2-3 魚肉エキスの成分分析

2-3-1 窒素回収率

マクロケルダール法により窒素量を測定し、次式により窒素回収率を算出した。

$$\text{窒素回収率 (\%)} = (\text{酵素分解液中の窒素量} / \text{酵素分解原料中の窒素量}) \times 100$$

2-3-2 ペプチド量測定

魚肉エキスを限外ろ過（ウルトラフリー MC、分画分子量 5,000）で処理して分子量 5000 以下のペプチドを分画し、ウシ血清アルブミンを標準として Lowry-Folin 法¹⁾で測定した。

2-3-3 アミノ酸組成分析

魚肉エキス 0.5ml に 1% トリクロロ酢酸 1ml を加え、遠心分離（3500rpm、20 分）により除タンパクしたものを測定用試料とし、アミノ酸アナライザー（日立 L-800 日立製作所）で測定した。

2-4 魚肉エキスの ACE（アンジオテンシン I 変換酵素）阻害活性

ACE 阻害活性は、Chuman と Chan の方法²⁾に準じて測定した。基質として、Hippuryl L-histidyl L-leucine を用い 608mM 塩化ナトリウムを含むホウ酸緩衝液（pH8.3）に基質濃度が 7.6mM となるように溶解した。ACE（Sigma）はウサギ肺アセトンパウダー由来のものを用い、上記ホウ酸緩衝液に 67U/ml となるように溶解した。ACE 阻害活性は遊離した馬尿酸量を HPLC システムで測定し、コントロール（蒸留水）との生成比を求め ACE 活性（%）とした。また、魚肉エキスは蒸留水で 10 倍に希釈したものを測定用試料とした。

2-5 魚肉エキスの麴による発酵試験

2-5-1 製麴方法

麴用原料には小麦フスマ、米糠および白米（ジャポニカ米）を用い、種麴には醤油用麴（*Aspergillus Soyae* ビオック社製）を用いた。麴原料 100g に水を加え（原料重量に対して小麦フスマおよび米糠は約 15%、米は約 30%）、3 時間浸漬後、オートクレーブ（121 °C、10 分）で蒸煮した。放冷後、種麴を散布し恒温恒湿機（温度 37 °C、湿度 95%）で 48 時間培養した（途中 20 時間目と 25 時間目に攪拌をおこなった）。

2-5-2 発酵試験

発酵試験にはクロカンパチ残滓およびソデイカ肉の魚肉エキス（酵素 A で分解）を用い、上記

方法で製麴した醤油用麴および泡盛製造用に製麴された黒麴を使用した。発酵試験は、魚肉エキスに塩化ナトリウム（15%）と麴（15%）を加え、37℃で7日間の条件で行った。

2-6 官能評価

魚肉エキスの官能評価はシェッフエの一対比較の中屋変法³⁾により、また魚肉エキスの麴発酵後の官能評価は採点法³⁾で行った。

3. 結果および考察

3-1 魚肉エキスの窒素回収率

タンパク質が酵素分解によりどの程度エキス化されたかの指標として、魚肉エキスの窒素回収率を求めた。

図1にクロカンパチ肉を酵素分解したときの窒素回収率を示した。まず分解時間による窒素回収率の変化を見ると、窒素回収率は分解開始から30分後までに急激に増加し、2時間後にはほぼ一定になった。分解時間による窒素回収率の変化は、クロカンパチ残滓およびソデイカ肉でも同様であった。表3にはクロカンパチ残滓およびソデイカ肉を2時間酵素分解したときの窒素回収率を示した。

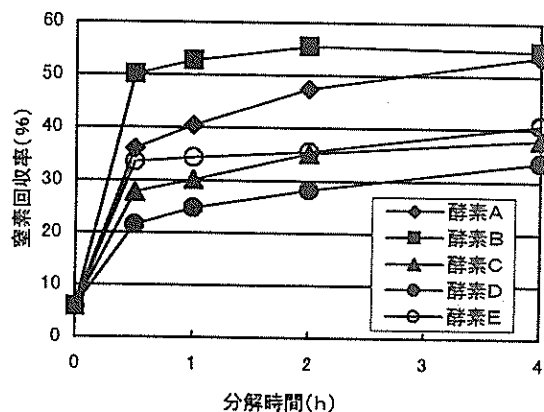


図1 クロカンパチ肉エキスの窒素回収率

次に酵素の種類による窒素回収率の違いを見ると、分解2時間における窒素回収率は酵素B及びAが高く、酵素Dが低い値であった。

窒素回収率の値から、酵素を原料の0.2%添加した時の分解時間は2時間程度で十分であると考えられる。

表3 魚肉エキスの窒素回収率 (%)

	酵素A	酵素B	酵素C	酵素D	酵素E
クロカンパチ残滓	51.8	62.4	52.3	34.9	45.4
ソデイカ肉	71.9	80.7	49.7	36.1	51.0

* 分解時間 2 時間

3-2 魚肉エキスのペプチド量

タンパク質の分解により生成するペプチドには旨味や甘みを呈するものがあり、さらに他の呈味成分と混在することにより味に深みを増す効果もあることが報告されている⁴⁾。そこで魚肉エキスの呈味に關与する成分の一つとして、ペプチド量を測定した。

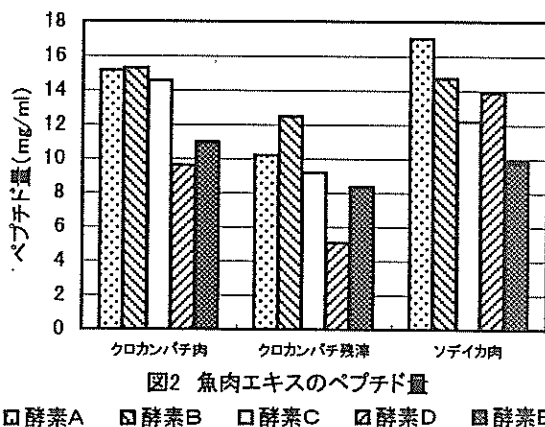


図2 魚肉エキスのペプチド量

□ 酵素A □ 酵素B □ 酵素C □ 酵素D □ 酵素E

図 2 に分解時間 2 時間の魚肉エキスのペプチド量を示した。原料や使用する酵素により、生成するペプチド量は異なっていた。

原料では、クロカンパチ肉及びソデイカ肉が生成するペプチド量が多く、クロカンパチ残滓で少なかった。また酵素では、酵素 A 及び酵素 B がペプチドの生成量が多かった。

3-3 魚肉エキスの遊離アミノ酸量および組成

遊離アミノ酸は魚肉エキスの主要な呈味成分であり、その生成量および組成は原料や使用する酵素により異なることが知られている。そこで使用酵素による魚肉エキスの遊離アミノ酸量とアミノ酸組成の比較検討を行った。

図 3 に魚肉エキスの遊離アミノ酸総量を示した。

魚肉エキスの遊離アミノ酸総量は、酵素を添加しない時の約 2～6 倍に増加していた。遊離アミノ酸を最も多く生成する酵素は酵素 A、次いで酵素 D であり、遊離アミノ酸の生成が少ない酵素は酵素 E であった。これは表 2 にあるように酵素 A と酵素 D には、タンパク質を末端から切断しアミノ酸を生成しやすいエキソ型の酵素が配合されているためである。

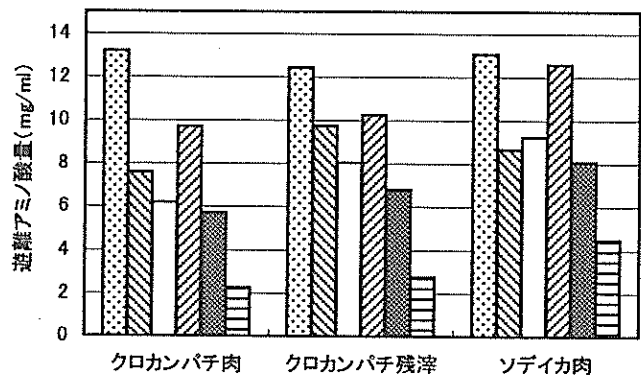


図3 魚肉エキスの遊離アミノ酸総量(分解2h)

□酵素A □酵素B □酵素C □酵素D □酵素E □酵素無

図 4 にはクロカンパチ肉エキスの主要なアミノ酸の生成量を示した。特に酵素 A では他の酵素よりも非常に多くのリジンが生成していた。酵素 A ではアルギニンやロイシンも多く、代表的な旨味物質であるグルタミン酸の生成量も 0.83mg/ml と他の酵素よりも多かった。また、酵素 D でもロイシンやリジンが多く生成していた。酵素 B、C、E はほとんどのアミノ酸の生成量が 0.05mg/ml と少なく、酵素 B と E ではグルタミン酸の生成量も 0.12mg/ml および 0.13mg/ml と低い値であった。

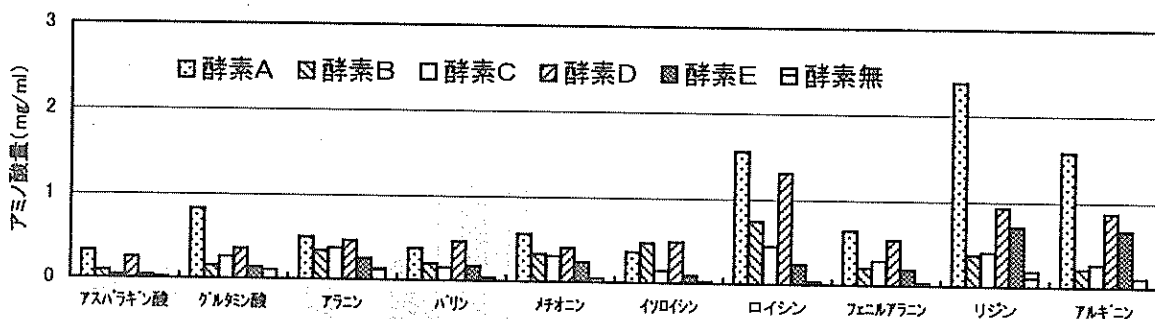


図4 クロカンパチ肉エキスの遊離アミノ酸組成(分解2h)

このように各アミノ酸の生成量は酵素の種類によって異なっており、エキソ型の酵素が配合されている酵素 A と酵素 D との間でも、アミノ酸の生成量には大きな差が見られた。また、今回結

果は掲載していないが、クロカンパチ残滓およびソデイカ肉の酵素分解液でも、アミノ酸の生成については同様な傾向がみられた。

3-4 酵素分解液の官能評価

ソデイカ肉エキスの官能評価を行い、使用酵素による酵素分解液の風味の違いを検討した。評価項目は総合評価、旨味、苦味、香り、色調の5項目とした。

図5に官能評価の結果を示した。総合評価では酵素Aと酵素Bの間には有意差があり、酵素Aがエキスとしてより好ましいと評価されたが、他の酵素間には有意な差は見られなかった。旨味は酵素Aが最も強く、酵素Bが弱かった。苦味は酵素Bが最も強く次いで酵素Cであり、酵素Dが苦味が弱かった。香りは酵素B、酵素Cおよび酵素Eの香りがやや良いグループと、酵素Aおよび酵素Dのやや悪いグループに分かれた。色調では酵素Bが他の酵素よりもかなり濃い茶色であると評価された。

一般にタンパク質の酵素分解により生成するペプチドは、旨味や甘み以外に苦味を発現することがよく知られている。官能評価において酵素Bで分解した魚肉エキスは苦味が強いと評価され、総合でも評価は良くなかったが、これは生成したペプチドの苦味による影響が大きいと考えられる。ペプチドの苦味については多くの研究がされており⁵⁾、苦味ペプチドをさらにアミノ酸や低分子のペプチドに分解すれば苦味の低減や除去は可能である。

3-5 酵素分解液の ACE 阻害活性

ACE (アンジオテンシン I 変換酵素) 阻害活性物質は、血圧上昇を抑制すると考えられており、高血圧症などに対応した食品素材として期待されている。近年、種々の食品に含まれるペプチドに ACE 阻害活性が報告され⁶⁾、魚介類ではイワシ筋肉分解物⁷⁾や鯉筋分解物⁸⁾などに ACE 阻害活性が見いだされている。そこで今回得られた魚肉エキスにもその効果が期待されることから、ACE 阻害活性について検討を行った。

図6に魚肉エキスの ACE 阻害活性を示

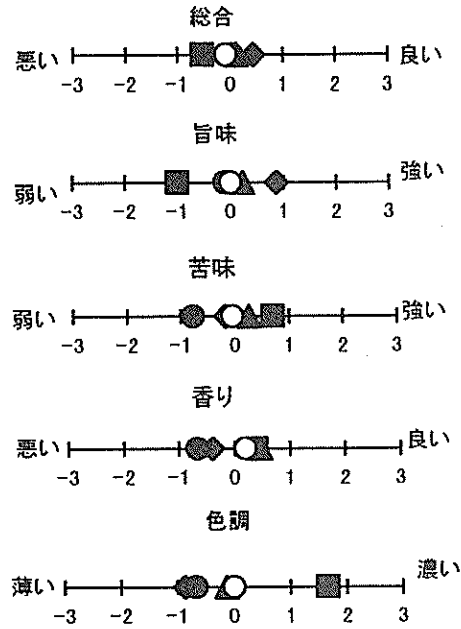


図5 魚肉エキスの官能評価

◆酵素A ■酵素B ▲酵素C ●酵素D ○酵素E

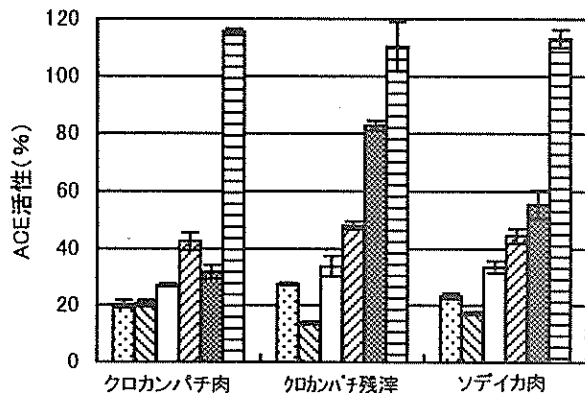


図6 魚肉エキスのACE阻害活性

□酵素A ■酵素B □酵素C
 ▨酵素D ▩酵素E □酵素無

した。値は蒸留水の ACE 活性を 100%として表したもので、値が低いほど ACE 阻害活性が強いことを示している。クロカンパチ肉、クロカンパチ残滓およびソデイカ肉ともに、酵素分解により ACE 阻害活性が強くなっているが、使用する酵素により活性の強さは異なっていた。酵素 B を使用した魚肉エキスが ACE 阻害活性が強く、その中でもクロカンパチ残滓エキスが 13.8%と最も ACE 阻害活性が強かった。

3-6 酵素分解液の発酵試験

魚介類はその生臭さのために敬遠される場合があり、魚肉エキスについても同様のことが考えられる。魚介類を原料とした調味料の風味改善に麴発酵が利用され、風味が良好な調味料が得られるとの報告がある⁹⁾。そこで、魚肉エキス液の風味改善と魚醤油などの調味料への利用の可能性を検討するために、魚肉エキスの発酵試験を行った。ソデイカ肉エキスの官能評価の結果から、旨味は強いが香りはあまり良くないと評価された、酵素 A による魚肉エキスを発酵試験に用いた。

表 4 は麴発酵後の魚肉エキスの pH である。醤油麴を用いた場合、発酵前と発酵後では pH はほとんど変化していなかった。また、黒麴では pH が 5.2 と醤油麴よりも低下しており、これは黒麴が生産するクエン酸によるものではないかと考えられる

表 4 麴発酵後の魚肉エキスの pH

	醤油麴			黒麴	発酵前
	小麦フスマ	米糠	米		
クロカンパチ残滓	5.6	5.6	5.4	—	5.5
ソデイカ肉	5.8	5.9	5.8	5.2	5.7

麴発酵後の魚肉エキスの風味の変化を調べるため、魚臭、麴臭、醤油香、旨味の 4 項目について、発酵前の魚肉エキスとの比較による官能評価を行った。

表 5 魚肉エキスの麴発酵後の官能評価

	クロカンパチ残滓			ソデイカ肉			
	醤油麴			醤油麴			黒麴
	小麦フスマ	米糠	米	小麦フスマ	米糠	米	
魚臭	1.3*	1.7	1.7	1.3*	1.7*	2.0	2.0
麴臭	4.0	4.0	4.0	4.0	3.3	3.7	4.3
醤油香	4.7*	4.3	3.3	4.3*	4.0*	4.0*	3.7
旨味	4.3*	3.7	3.3	4.0	4.0	3.0	3.0

評価は (1:非常に弱い 2:やや弱い 3:差がない 4:やや強い 5:非常に強い) の 5 段階
表中の数値はパネラー 3 人の平均値

*は 5%危険率で発酵前と発酵後に有意差有り

表 5 に麴発酵後の官能評価の結果を示した。麴発酵により、魚肉エキスの不快臭ともなる魚臭が低減されるとともに、醤油香が付加される傾向が見られ、特に小麦フスマを原料とした醤油麴による発酵でその効果が大きかった。また、麴発酵に伴い麴臭の発生がわずかに感じられたが、分散分析の結果発酵 7 日間では有意差は認められなかった。

今回の試験結果から、麴発酵により魚肉エキスの魚臭の低減及び風味の改善は十分に可能であると考えられる。

4. おわりに

水産物の加工残滓の有効利用法として、クロカンパチ及びソデイカを原料に酵素分解による魚肉エキスの製造について検討を行ったところ、以下のような結果が得られた。

- ①魚肉エキスを製造するには、酵素を原料の0.2%添加した場合、分解は2時間で十分であった。また、分解の程度の指標となる窒素回収率は、酵素A及び酵素Bで分解した魚肉エキスで高い値であった。
- ②魚肉エキスのペプチド量は酵素A及び酵素Bで分解したものに多かった。また、遊離アミノ酸総量は酵素A及び酵素Dで分解したものに多く、生成したアミノ酸の割合は酵素により異なっていた。
- ③魚肉エキスの官能評価の結果、旨味の強い魚肉エキスは酵素Aで分解したものであり、苦味が強いエキスは酵素Bで分解したものであった。また、総合評価では酵素Aと酵素Bの間には有意差があり、酵素Aで分解したものが魚肉エキスとしてより好ましいと評価されたが、他の酵素間には有意差はみられなかった。
- ④クロカンパチやソデイカを酵素分解して得られた魚肉エキスにはACE阻害活性があり、特にクロカンパチ残滓を酵素Bで分解した魚肉エキスのACE阻害活性が強かった。
- ⑤魚肉エキスを醤油用麴で発酵させると、魚臭が低減できると同時に醤油香が付加され、魚肉エキスの風味を改善することが可能であった。

謝辞

本研究を行うに当たり、クロカンパチ及びソデイカを提供して下さいました沖縄県漁業協同組合連合会、酵素を提供して下さいました天野製薬(株)及びノボルディスクバイオインダストリー(株)に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 京都大学農学部食品工学教室編：食品工学実験書上巻 (株)養賢堂版
- 2) Cusman, D. W., Cheung, H. S., Sabo, E.F and Ondetti, M. A.: *Biochemistry*, 16, p5484 (1977)
- 3) 佐藤信：統計的官能検査法 (株)日科技連出版社
- 4) 渡辺毅彦：月刊フードケミカル 4, p41 (1999)
- 5) 井澤登：日本食品科学工学会誌 Vol.46, No.8, p501 (1999)
- 6) A. Okamoto, H. Hanagata, E. Matumoto, Y. Kawamura, Y. Koizumi, F. Yanagida : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59(6), p1147 (1995)
- 7) 松田秀喜、長岡俊徳、森田日出男、箆島克裕、箆島豊：日本食品科学工学会誌 Vol.39, No.8, p678 (1992)
- 8) 長谷昌康：食品と開発 Vol.27, No.12, p43 (1992)
- 9) 三宅義章：日本食品科学工学会誌 Vol.29, No.6, p366 (1982)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

TEL (098)929-0111

FAX (098)929-0115

URL : <http://www.pref.okinawa.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。