

高圧前処理によるワニエソ未利用部位からの エキス抽出効率の増進

谷口成紀^{1, †}, 中西湧耶², 岩野周平², 大久保誠¹, 前田俊道¹

High-pressure pretreatment promotes an efficient production of water soluble extracts from unutilized resources of *Saurida wanieso*

Shigenori Yaguchi¹, Yuya Nakanishi², Shuhei Iwano², Makoto Ohkubo¹ and
Toshimichi Maeda¹

Abstract : The fishing industry produces a vast amount of food processing residue. One way to reduce the amount of residue is to extract its desirable components. In the present study, we investigated the efficiency of high-pressure pre-treatment to increase the recovery rate of amino acids from the waste of lizardfish heads. Processing at a pressure of 100 MPa and temperature of 50-70°C significantly increased the total amount of amino acids in the extracts compared with processing at atmospheric pressure. Extraction methods using pressurized pre-treatment are effective ways to extract desirable components from the waste of lizardfish heads.

Key words : lizardfish, fish head, high-pressure treatment, hot water extraction, amino acid, inosinic acid

水産加工品の製造において、原料魚の35~85%が可食部として利用され¹⁾、それ以外の内臓、頭、骨、血液、すり身のさらし排水などの加工残滓・未利用部位の有効利用は重要な課題である²⁾。下関市は古くからエソを原料としたすり身製造が盛んな土地であり、その製造過程で多くの加工残滓が発生してきた。水産加工残滓は飼料用として回収されることも多いが、残滓を有効利用するべくエキスの抽出が様々な魚種において実施されている。魚類資源の減少や魚食の世界的な広がりに伴い資源確保の容易性が失われていくことから、水産加工残滓の利用効率の向上はより一層重要な問題となってきた。

水産未利用資源の有効利用としてのエキス利用において、これまでに、カニ殻とエビ殻を原料として熱水抽出エキスを調製し、食品素材としての利用の可能性を検討したところ、調味素材として十分に利用できるものになったと

いう報告や³⁾、スルメイカ肝臓を60 MPa、50°C、48時間の条件で自己消化させた分解エキスのグルタミン酸、アスパラギン酸等の遊離アミノ酸濃度は、市販の魚醤油と同等以上で呈味性に優れていたという報告がなされている⁴⁾。このように、魚介類の熱水抽出や加圧処理によるエキス抽出の効率化により、加工残滓・未利用部位の積極的な利用が図られてきている。

本研究では、ワニエソすり身製造過程で発生した未利用部位（頭部）の有効利用法の一つとしてエキス抽出に注目し、湯煎加熱によるエキス抽出を行う際の抽出効率を高める手法の一つとして、加圧処理や加熱処理を組み合わせた抽出前処理を試みた。いくつかの条件で前処理を行った場合の抽出液における遊離アミノ酸やイノシン酸の含量を調査して、ワニエソ未利用部位からのエキス抽出における前処理のエキス抽出促進効果を検討した。

¹ 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産大学校 食品科学科 (Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

² 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産大学校 食品科学科 学生 (Student, Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

[†] 別刷り請求先 (Corresponding author): yaguchi@fish-u.ac.jp

下関市内業者より2016年8月30日に購入したワニエソ (*Saurida wanieso*) 6尾 (10.2 kg) から切除した頭部をエキス抽出材料とした。切除した頭部から鰓を取り除き水道水で洗浄した後、直径4.8 mm穴プレートを装備した肉挽き器 (#22/83 GM-DX, 株式会社ニッポンキャリア工業製) により細断した。細断した頭部は抽出まで -50°C にて保管した。エキス抽出には細断した頭部50 gを用い、2倍量の蒸留水と共に三方シール袋 (NACF-SA2130, カウパック株式会社製) に入れ真空包装機 (TOSPACK V-280A, 株式会社TOSEI製) を用いて真空包装 (減圧度99.9%, シール時間4.9秒間) を行った。エキスの抽出は前処理と抽出処理に分けて行った。前処理として無加圧 (大気圧) 区・100 MPa加圧区の2区を設けた。100 MPa加圧区では高圧処理装置 (まるごとエキス TFS-2L, 株式会社東洋高圧製) を用いて100 MPaで1時間の加圧処理を行った。加圧処理中の温度条件は 30°C , 40°C , 50°C , 60°C , 70°C の5条件とした。大気圧区は大気圧条件下で恒温水槽を用いて加圧区と同様の温度帯で1時間加温した。前処理が終了した後、抽出処理として1時間の沸騰浴を行った。抽出処理した試料は氷中で直ちに冷却した後、遠心分離 ($3000\times G$, 4°C , 10分間) して上清を回収して、エキス抽出液とした。エキス抽出液1 mLと0.2%スルホサリチル酸二水和物溶液1 mLを混合し、遠心分離 ($9167\times G$, 4°C , 10分間) を行い、

その上清を $0.45\ \mu\text{m}$ フィルター (DISMICK-13CP, 東洋濾紙株式会社製) および $0.20\ \mu\text{m}$ フィルター (Minisart RC 15, Sartorius Stedim Biotech製) でろ過して、アミノ酸分析および核酸関連物質分析の試料とした。アミノ酸分析は地方独立行政法人山口県産業技術センターのアミノ酸分析装置 (JLC500V, 日本電子株式会社製) を利用し当該センターの手法に従い行った (検出限界: 10 pmol/mL, 定量限界: 10 nmol/mL (ただしAsnのみ5 nmol/mL))。また、核酸関連物質分析は前田らの報告⁵⁾に従い高速液体クロマトグラフィー分析により行った。エキス抽出およびエキス成分分析 (アミノ酸分析と核酸関連物質分析) はそれぞれ2回行った。

ワニエソ未利用部位から各種前処理を行ってエキス抽出した抽出量は各処理区ともに85 mLであり、その中の遊離アミノ酸組成をTable 1に示した。20種類の必須アミノ酸と非必須アミノ酸について、ほとんどが全ての処理区から検出されたものの、ヒスチジン (His), システイン (Cys) およびプロリン (Pro) はいずれの処理区からも検出されず、トリプトファン (Trp) は大気圧 50°C 区と100 MPa加圧区の 50°C から 70°C の温度帯でのみ検出された。前処理を行わなかった無処理区 (control) と比較して、大気圧 70°C 区を除き、いずれの前処理を行った区においても検出された総アミノ酸含量は増加していた。大気圧区では 30°C

Table 1 Extracted amino acid concentrations (mg/mL) of each pre-extraction treatment

	control	Atmospheric pressure					100 MPa				
		30°C	40°C	50°C	60°C	70°C	30°C	40°C	50°C	60°C	70°C
Ile	0.016	0.029	0.034	0.024	0.020	0.016	0.028	0.031	0.056	0.059	0.063
Leu	0.029	0.053	0.066	0.055	0.043	0.029	0.054	0.066	0.132	0.149	0.149
Lys	0.051	0.075	0.099	0.058	0.056	0.043	0.093	0.107	0.159	0.191	0.206
Met	0.015	0.022	0.026	0.021	0.017	0.030	0.024	0.027	0.046	0.054	0.051
Phe	0.016	0.031	0.038	0.029	0.024	0.018	0.034	0.037	0.064	0.074	0.075
Thr	0.027	0.041	0.043	0.032	0.028	0.024	0.040	0.040	0.055	0.062	0.063
Trp	-	-	-	0.002	-	-	-	-	0.007	0.007	0.007
Val	0.021	0.038	0.045	0.031	0.026	0.020	0.037	0.043	0.067	0.073	0.078
Ala	0.090	0.136	0.141	0.143	0.105	0.088	0.135	0.123	0.206	0.226	0.212
Arg	0.028	0.056	0.095	0.103	0.059	0.041	0.064	0.112	0.284	0.311	0.311
Asn	0.004	0.007	0.014	0.009	0.004	0.004	0.008	0.015	0.030	0.029	0.031
Asp	0.008	0.022	0.026	0.013	0.011	0.011	0.015	0.018	0.029	0.027	0.021
Gln	0.011	0.023	0.017	0.011	0.016	0.012	0.012	0.020	0.026	0.024	0.022
Glu	0.073	0.097	0.088	0.057	0.073	0.068	0.087	0.071	0.090	0.093	0.122
Gly	0.060	0.057	0.077	0.078	0.063	0.047	0.056	0.070	0.133	0.141	0.129
Ser	0.030	0.049	0.052	0.043	0.035	0.028	0.043	0.046	0.071	0.079	0.083
Tyr	0.017	0.031	0.039	0.033	0.025	0.018	0.034	0.039	0.067	0.074	0.076
Total amino acid	0.492	0.765	0.898	0.738	0.602	0.495	0.761	0.863	1.518	1.669	1.696

から50℃の温度帯においてアミノ酸含量が多かったのにくらべ、60℃から70℃の温度帯ではアミノ酸含量は少なくなっていた (Fig. 1)。一方で、100 MPa加圧区では処理温度の上昇に伴い総アミノ酸含量は増加していた。その増加量は50℃以上で大きくなり60℃から70℃の温度帯で顕著であった。このことから、ワニエソ未利用部位からのエキス抽出前処理として100 MPaの加圧処理を50℃から70℃の温度帯で1時間行うことで、沸騰浴によるアミノ酸抽出効率が大きく増加することが明らかとなった。

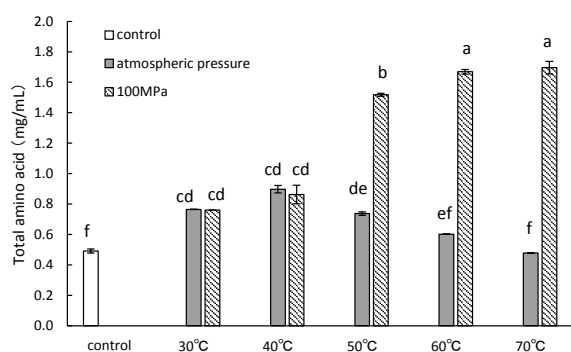


Fig. 1 Total amino acid concentrations in each extract from different pre-extraction treatments. Different letters indicate significant difference among pre-extraction treatments at $P < 0.05$ (Tukey's test).

エキスの呈味性について、抽出されたアミノ酸の中でグルタミン酸 (Glu) 含量に着目してみると、その抽出液中の含量は総アミノ酸含量との間に有意な強い正の相関がみられ ($r = 0.723, P < 0.05$), 抽出液中のアミノ酸含量の総量に伴って推移することが明らかとなった。各前処理区の中でGlu含量が多かったのは100 MPa加圧70℃区であり (0.122 mg/mL), 無処理区 (0.073 mg/mL) とくらべて1.67倍となっていた (Fig. 2)。小木曾ら⁹⁾によると、Gluのうま

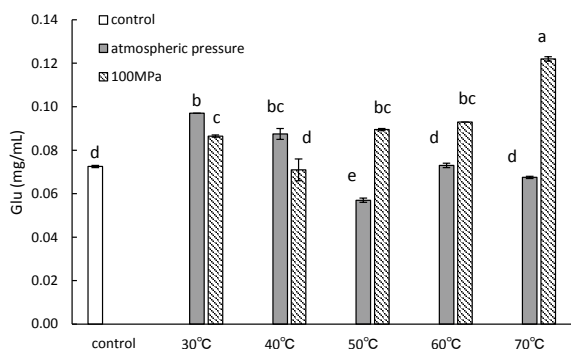


Fig. 2 Glutamic acid (Glu) concentrations in each extract from different pre-extraction treatments. Different letters indicate significant difference among pre-extraction treatments at $P < 0.05$ (Tukey's test).

味に関する閾値は0.03 mg/mLと報告されており、本研究で得られたワニエソ未利用部位のエキス抽出液は、いずれの前処理区でもこの値を上回っていたことから、本研究で前処理を行い得られたエキス抽出液は十分なうま味を有すると考えられた。

核酸関連物質中のイノシン酸 (IMP) はGluと並んで水産物のうま味成分として知られている。それぞれの前処理を行ったエキス抽出液中のIMP含量を測定し、Fig. 3に示した。IMP含量は無処理区 (417 nmol/mL) と比較して、100 MPa加圧30℃区 (440 nmol/mL) を除くほとんどの前処理区で減少しており、加圧処理の有無にかかわらず70℃区で無処理区に比べて有意に減少していた。富岡ら⁷⁾によると獣鳥肉および魚肉の加熱によるIMPの減少は、ほとんどの場合、急速加熱に比べ緩慢加熱において顕著であったとされており、本研究における70℃1時間の前処理では、加圧処理の有無にかかわらずIMPの減少を促進してしまったものと考えられた。

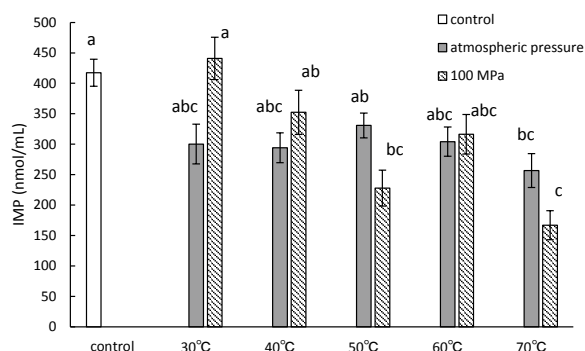


Fig. 3 Inosinic acid (IMP) concentrations in each extract from different pre-extraction treatments. Different letters indicate significant difference among pre-extraction treatments at $P < 0.05$ (Tukey's test).

本研究の結果、ワニエソ未利用部位からの湯煎加熱によるエキス抽出において、100 MPa加圧を伴う前処理は50℃から70℃の温度帯で、アミノ酸抽出効率を有意に増加させることが明らかとなり、うま味成分であるGluの抽出については70℃での前処理が最も有効であった。これまでの研究で、マダイの筋肉に100 MPaの加圧処理を施した後に加熱処理を行うことによって得られるエキスは、加熱処理のみによって得られるエキスよりも高い呈味性を示すという福家の報告⁹⁾があり、異なる魚種においてもエキス抽出の前処理としての加圧処理はエキスの抽出効率を向上させることが確認された。このような加圧前処理による遊離アミノ酸含量の増加は、ワニエソ未利用部位に存在するプロテ

アーゼの働きによるタンパク質分解が起こった結果ではないかと考えられる。加圧条件下で、特定のプロテアーゼは200 MPa (50℃)⁹⁾や400 MPa (25℃)¹⁰⁾という条件で活性が低下するという報告があり、また、カタクチワシの自己消化に係わるプロテアーゼ(最適温度が40~55℃)^{11, 12)}に関しては、加圧条件下での自己消化の最適温度が50℃であったという報告¹³⁾があることから、本研究で行った100 MPaという加圧条件下でもプロテアーゼは活性を保ち、その最適温度は大気圧下と大きく異ならないと考えられる。また、ワニエソの同属種であるマエソのプロテアーゼの一種は最適温度が55~65℃であると報告されている¹⁴⁾。これらのことから、本研究の100 MPa加圧区の50℃と60℃の温度帯でみられた遊離アミノ酸含量の増加においては、最適温度に近い処理条件によりワニエソ未利用部位に存在するプロテアーゼ活性が高く保たれたことが影響しているものと考えられた。今後、改めて加圧前処理中のプロテアーゼ活性の変化を調査し、ワニエソ未利用部位のエキス抽出における加圧前処理によるアミノ酸抽出効率の増加に関するメカニズムを明らかにしたい。

一方で、本研究で行った前処理により、別のうま味成分であるIMPは減少しており、加圧処理を伴うエキス抽出の前処理はアミノ酸関連のうま味成分の抽出には有効であるが、核酸関連物質のうま味成分の抽出には必ずしも効果的では無いことが明らかとなった。しかしながら、呈味性アミノ酸と核酸関連物質の相乗効果でうま味を強く感じることは以前から知られており¹⁵⁾、その効果は水と区別できない濃度のGluとIMPを混合してもはっきりとうま味を感じることができるほどであるとされている¹⁶⁾。このような相乗効果とうま味を感じるGluとIMPの濃度の閾値については、山口らにより詳細に報告されており¹⁷⁻¹⁹⁾、本研究において最も低いIMP濃度を示した100 MPa加圧70℃区におけるGlu (3.87×10^{-3} mol/L)とIMP (0.17×10^{-3} mol/L)は閾値を超えるのには十分な濃度であった。したがって、本研究の各種前処理を行って得られたエキス抽出液は呈味性アミノ酸と核酸関連物質の相乗効果により十分なうま味を感じられるものと考えられる。今後、エキス抽出液の官能評価を行い、100 MPa加圧前処理を伴うエキス抽出のうま味への効果を明らかにしたい。また、富岡ら²⁰⁾は、加熱によるIMPの分解は、エキス抽出前に添加したスクロース濃度にほぼ比例して抑制できることを示しており、抽出前処理の際に、スクロースを添加することでIMPの減少を抑制できる可能性があると考えられた。小玉ら²¹⁾は、ちりめんじゃ

こ製造時に生じる煮汁エキスにカツオ、コンブ、シイタケ等の天然エキス、および、醤油、みりんなどの調味料を組み合わせることで呈味性の向上が図られ、調味料の原料として活用できることを報告している。そのため、本研究の100 MPa加圧前処理を行ったエキス抽出液においても、調味料の原料として活用できる方法を検討していきたい。

引用文献

- 1) 金田尚志：魚についての基礎知識。調理科学, **1**, 45-48 (1968)
- 2) 田中宗彦：魚肉タンパク質を用いた生分解性・可食性フィルム。高分子, **55**, 507 (2006)
- 3) 任恵峰, 劉徳広, 王亜軍, 遠藤英明, 渡辺悦生, 林哲仁：水産加工廃棄物を原料とした熱水抽出エキス調製の試み。日本水産学会誌, **63**, 985-991 (1997)
- 4) 重田有仁, 青山康司, 岡崎尚, 松井利郎, 難波憲二：静水圧による微生物制御を利用したイカ肝臓の食塩無添加自己消化分解エキスの製造。日本食品科学工学会誌, **55**, 117-120 (2008)
- 5) Maeda T, Yuki A, Sakurai H, Watanabe K, Itoh N, Inui E, Seike K, Mizukami Y, Fukuda Y, Harada K: Alcohol brine freezing of Japanese horse mackerel (*Trachurus japonicus*) for raw consumption. *Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers*, **24**, 323-330 (2007)
- 6) 小木曾静香, 小関誠, 青井暢之：含水食品, 特許第47383号 (2008)
- 7) 富岡和子, 遠藤金次：獣鳥肉・魚肉のエキス成分に及ぼす加熱速度の影響。日本家政学会誌, **45**, 595-601 (1994)
- 8) 福家真也：超高压利用による魚介類の呈味向上に関する研究。平成9-10年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書(研究課題番号09660220) (1994)
- 9) Taniguchi Y, Suzuki K: Pressure inactivation of α -chymotrypsin. *J Phys Chem*, **87**, 5185-5193 (1983)
- 10) Ohmori T, Shigehisa T, Taji S, Hayashi R: Biochemical effects of high hydrostatic pressure on the lysosome and proteases involved in it. *Biosci Biotech Biochem*, **56**, 1285-1288 (1992)
- 11) Murakami K, Noda M: Purification and characterization of three alkaline proteinases from the pyloric caeca.

- Biochim Biophys Acta*, **658**, 17-26 (1981)
- 12) Noda M, Murakami K: Purification and characterization of two acid proteinases from the stomach. *Biochim Biophys Acta*, **658**, 27-34 (1981)
- 13) Okazaki T, Shigeta Y, Aoyama Y, Namba K: Autolysis of unsalted fish protein under pressurization. *Fish Sci*, **69**, 1257-1262 (2003)
- 14) 大久保誠：魚筋肉の筋原線維結合型及び筋形質画分の新規なセリンプロテアーゼの研究。博士論文，長崎大学。 (2003)
- 15) Kawai M, Okiyama A, Yoichi U: Taste enhancements between various amino acids and IMP. *Chem Senses*, **27**, 739-745 (2002)
- 16) 河合美佐子：味を決めるアミノ酸。生物工学会誌，**89**， 679-682 (2011)
- 17) Yamaguchi S: The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate. *J Food Sci*, **32**, 473-478 (1967)
- 18) Yamaguchi S, Yoshikawa T, Ikeda S, Ninomiya T: Measurement of the relative taste intensity of some L- α -amino acids and 5'-nucleotides. *J Food Sci*, **36**, 846-849 (1971)
- 19) 山口静子：味の研究における官能検査の役割と有効性。日本食品工業学会誌， **38**， 90-96 (1991)
- 20) 富岡和子， 梁喜雅， 遠藤金次：加熱調理過程における獣鳥肉および魚肉中のイノシン酸の分解。日本家政学会誌， **44**， 11-16 (1993)
- 21) 小玉誠， 日高照利， 河野幹雄：ちりめん煮汁調味液を利用した加工食品の開発。宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告， **47**， 97-101 (2003)