

# イカ肉の高度有効利用に関する研究

食品・環境科 主任研究員 玉屋 圭  
総合水産試験場 水産加工開発指導センター 主任研究員 桑原 浩一

イカ肉の未利用部分(脚、ひれ部分)の高度有効利用を目的として、酵素分解エキスの製造法確立を試みた。昨年度、至適 pH の異なる市販酵素 5 種から選定したアルカリプロテアーゼを用いて、酵素分解エキスを調製し、イカタンパク質の分解率を評価した。酵素濃度及び反応時間を検討した結果、0.5 wt%、5 時間で製造されたエキスが最も高い分解率を示した。さらに、アンジオテンシン 1 変換酵素阻害性を評価した結果、0.18 mg/ml と高い活性が得られた。

## 1. 緒言

蒲鉾や竹輪などのねり製品の製造には、主にスケトウダラなどの魚肉を原料とする冷凍すり身が使用されている。本県の総合水産試験場では、イカ肉のみを原料として、ねり製品を製造する技術(特許出願中;特願 2006-012568)を開発した。本研究では、イカすり身の練り製品を製品化することを目的として、冷凍イカすり身の製造技術並びに長期保存技術の開発を行う。また、イカすり身の有する健康機能性を、実験動物を用いて *in vivo* レベルで検証する。さらに工業技術センターでは、すり身加工時に排出される脚肉や鰭肉等の利用法として、これら素材を原料とした酵素分解エキスの製造法を検討し、調味料の開発を実施する。

## 2. 実験方法

### ① 試料調製

試験には市販の生スルメイカを用いた。イカ肉の処理法は以下のものである。胴肉を切り開いた後に、内臓を除去し、胴肉部と脚、ひれ部分を得た。これらを手洗した後に、水切りし、酵素分解に供した。

### ② 酵素分解法

イカ肉の酵素分解は松井らの方法<sup>1)</sup>に準じて実施した。イカ肉(胴肉部、脚、ひれ)重量に対して 10 倍量の脱イオン水を添加し、ホモジナイザーにより処理(3,500 rpm、3 分間)を行った。その後、pH (10.0) に調整して、アルカリプロテアーゼによる酵素分解に供した。

### ③ 酵素濃度の検討

イカ肉重量に対して 0.1、0.3、0.5、1%wt のプロテ

アーゼを添加した。1 分間攪拌した後に、本酵素の至適温度(50℃)で 5 時間インキュベートを行った。pH を 7.0 に調整し、98℃で 15 分間加熱処理を行い、酵素を失活させた。遠心処理(10,000 rpm、15 分間)を行い、得られた上清をろ過(No.5C)し、酵素分解液を得た。酵素分解エキスのエキス量及びホルモール窒素量を測定することにより、イカタンパク質の分解に適した酵素濃度を決定した。

なお、イカ肉エキスのホルモール窒素量はホルモール法<sup>2)</sup>により測定した。

### ④ 反応時間の検討

イカ肉に対して 0.5%wt のプロテアーゼを添加し、50℃で 3、5、10、15、24 時間インキュベートを行った。酵素を失活させた後、遠心処理、ろ過を行い、酵素分解液を得た。酵素分解エキスのエキス量及びホルモール窒素量を測定することにより、イカタンパク質の分解に適した反応時間を決定した。

### ⑤ 酵素分解エキスの ACE 阻害性の測定

イカ肉酵素分解エキスの ACE 阻害性の測定については、松井らの方法<sup>3)</sup>に従って行った。測定サンプル 50  $\mu$ l に対して、ACE (0.025 U/ml、ウサギ肺由来、シグマ製)100  $\mu$ l を添加し、37℃、5 分間プレインキュベートした。その後、ACE の疑似基質 Hip-His-Leu 12.5 mM 溶液を 100  $\mu$ l を加え、37℃で 60 分間反応を行った。0.5 M 塩酸 250  $\mu$ l を添加し、反応を終了させた後に、酢酸エチル 1.5 ml を添加し、ボルテックスで攪拌した。遠心処理(2,500 rpm、10 分間)に供し、上層部の酢酸エチル相 0.5 ml を試験管に分取した。酢酸エチルを真空遠心機により完全に除去した後に、1.0

M NaCl 溶液 1.0 ml を添加し、よく攪拌させた。生成した馬尿酸を溶解させた後、分光光度計を用いて 228 nm で吸光度を測定した。ACE 阻害活性はサンプル溶液の吸光度を AS、サンプルの代わりに水を加えた時の吸光度を AC、水にあらかじめ反応停止液 (0.5 M 塩酸) を加えて反応させた時の吸光度を AB として以下の式から ACE 阻害率を求めた。

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{(AC-AS)}{(AC-AB)} \times 100$$

なお、阻害率が 50% を示した時の酵素反応時のサンプル濃度を IC<sub>50</sub> 値と定義し、ACE 阻害活性の尺度とした。

### 3. 実験結果

#### ① 酵素濃度のイカ肉分解に及ぼす影響

酵素濃度を 0.1、0.3、0.5、1.0% に設定して、イカ肉酵素分解エキスを調製した。まず、水溶性エキスの生成量を確認したところ、酵素濃度が増加するほどエキス生成量は増大していた。しかしながら、その増大は 0.5% で一定 (18.6%) となり、1.0% では大きな増加は認められなかった。

表 1. 酵素濃度のエキス製造に及ぼす影響

酵素濃度 (%)	エキス化率 (%)
0	7.2
0.1	15.9
0.3	18.1
0.5	18.6
1.0	19.5

次に、酵素濃度のイカ肉タンパク質の分解に及ぼす影響を確認するために、エキスに含まれるアミノ態窒素 (ホルモール窒素) 量を測定した。その結果、酵素濃度が増加するに従って、ホルモール窒素量は増大していたが、0.5% で一定 (2.72%) に達していた。

この結果から、イカ肉タンパク質が酵素作用により分解され、アミノ酸やペプチドなどに低分子化されていることが示唆された。

表 2. 酵素濃度のイカ肉タンパク質の分解に及ぼす影響

酵素濃度 (%)	ホルモール窒素量 (乾燥粉末あたりの%)
0	2.28
0.1	2.57
0.3	2.60
0.5	2.72
1.0	2.60

また、イカ酵素分解エキスの高付加価値化を目的として、ACE 阻害活性測定を実施した。ACE は、肺や血管壁に存在する酵素であり、アンジオテンシン I を強力な昇圧ペプチドであるアンジオテンシン II に変換する反応を触媒する。従って、この ACE を特異的に阻害する物質が本酵素分解エキスに含まれているならば、高血圧発症を予防できる食品素材となりうるということが考えられる。

表 3. 酵素濃度の ACE 阻害性に及ぼす影響

酵素濃度 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
0	3.51
0.1	0.41
0.3	0.36
0.5	0.25
1.0	0.23

表 4 に示すように、酵素濃度の増加に伴って ACE 阻害性は増大する傾向にあり、特に 0.5% 濃度で活性は最大 (0.25 mg/ml) に達していた。

以上の結果から、イカタンパク質の分解程度、ACE 阻害性を考慮すると、本酵素分解エキスに用いる最適な酵素濃度は 0.5% と考えられた。

#### ② 反応時間のイカ肉分解に及ぼす影響

さらに、酵素分解を行う反応条件を決定するために、反応時間に関する検討を行った。時間は 3、5、10、15、20、24 時間に設定し、酵素濃度は上記の検討で決定した 0.5% で実施した。

表 4. 反応時間のエキス製造に及ぼす影響

反応時間 (h)	エキス化率 (%)
0	5.2
3	19.3
5	20.8
10	23.6
15	21.7
20	22.2
24	22.7

まず、反応時間のエキス化に及ぼす影響を検討した結果、時間延長に伴って増大する傾向にあり、10 時間 (23.6%) で最大に達していた。

表 5. 反応時間のイカ肉タンパク質分解に及ぼす影響

反応時間 (h)	ホルモール窒素量 (乾燥粉末あたりの%)
0	2.34
3	2.56
5	2.86
10	2.78
15	3.03
20	2.97
24	3.00

次いで、ホルモール窒素量を測定し、タンパク質の分解性を検討したところ、5時間ではほぼ一定の値(2.86%)に達しており、10時間以降は大きな増加は認められなかった。この結果から、5時間の時点でタンパク質が分解されて、呈味性及び機能性を有するアミノ酸やペプチドが生成されていることが示された。

表 6. 反応時間の ACE 阻害性に及ぼす影響

反応時間 (h)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
0	3.30
3	0.21
5	0.18
10	0.21
15	0.24
20	0.25
24	0.24

上記の検討と同様に、反応時間の ACE 阻害性に及ぼす影響を検討した。反応時間の進行と共に、阻害性は増していたが、5時間で最大(0.18 mg/ml)に達していた。

松井ら<sup>13)</sup>はイワシ筋肉をアルカリプロテアーゼによる分解に供し、酵素分解物が高い ACE 阻害性(0.26 mg-protein/ml)を有することを示している。さらに、分解物やそこに含まれるジペプチド Val-Tyr が *in vivo* で血圧低下作用を示すことが明らかにした<sup>9)</sup>。

従って、今回検討したイカエキスは、IC<sub>50</sub> が 0.18 と高活性値を有しており、生体レベルで血圧低下作用を示す可能性を示していた。

以上の検討により、イカ肉酵素分解の最適反応時間

は、タンパク質分解並びに ACE 阻害性を考慮して 5 時間であることが判明した。

従って、本酵素分解エキスの反応条件については、酵素濃度 0.5%、反応時間 5 時間を採用することとなった。

#### 4. 考 察

本研究の目的は、イカ肉を原料とした調味料を開発することである。呈味性を有するアミノ酸、ペプチドを豊富に含有するエキスを製造するために、食品工業用酵素を用いてイカタンパク質の分解を試みた。至適 pH が塩基性側にある市販酵素を用いた際の酵素分解条件(酵素濃度、反応時間)を水溶性エキスの製造量、エキス中の窒素量、ACE 阻害性を測定することにより検討した。その結果、酵素濃度としては 0.5%、反応時間は 5 時間が最適であることを確認した。今後は、本酵素分解エキスに含まれる遊離アミノ酸、低分子ペプチドの存在量を測定し、エキスの有用性を明らかにしていく。

本研究は長崎県試験研究機関連携プロジェクトとして、長崎県工業技術センター、長崎県総合水産試験場(中核機関)、水産総合研究センター中央水産研究所、長崎蒲鉾水産加工業協同組合が参画して平成 19 年度から 3 年間研究推進を行っている。

#### 参考文献

- 1) T. Matsui, H. Matsui, E. Seki, K. Osajima, M. Nakashima, Y. Osajima: Biosci. Biotech. BioChem., 57 (6), 922-925 (1993)
- 2) 財団法人日本醤油研究所編: しょうゆ試験法, 19-21 (1985)
- 3) H. Matsui, T. Matsui, E. Seki, K. Osajima, M. Nakashima, Y. Osajima: Biosci. Biotech. BioChem., 58 (12), 2244-2245 (1994)