

加熱による魚肉の
品質特性変化に関する基礎研究

県立広島大学大学院
総合学術研究科
生命システム科学専攻

博士論文

令和4年3月
(2022年)

古田 歩

目 次

第1章 緒論	1
第2章 加熱条件が魚肉各部位のテクスチャーおよび呈味成分特性に 及ぼす影響	
第1節 緒言	11
第2節 実験方法	12
第1項 試料調製	12
第2項 テクスチャー解析およびサンプル厚測定	14
第3項 水分含量	14
第4項 NRCs	14
第5項 FAAs	15
第6項 EUC	16
第7項 TAV	16
第8項 統計解析	17
第3節 結果	17
第1項 テクスチャー解析およびサンプル厚測定	17
第2項 水分含量	18
第3項 NRCs	18
第4項 FAAs	18
第5項 EUC	19
第6項 TAV	19
第4節 考察	19
第5節 小括	23

第3章	加熱条件が魚肉各部位のタンパク質組成変化に及ぼす影響	
第1節	緒言	33
第2節	実験方法	34
第1項	試料調製	34
第2項	タンパク質組成変化	34
第3項	ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル 電気泳動	35
第4項	DSC	36
第5項	コラーゲン	36
第6項	統計解析	37
第3節	結果	37
第1項	タンパク質組成変化	37
第2項	SDS-PAGE	38
第3項	DSC	38
第4項	コラーゲン	39
第4節	考察	39
第5節	小括	42
第4章	総括	51
	謝辞	54
	参考文献	55

第 1 章 緒論

魚肉は、良質なタンパク質や n-3, n-6 系脂肪酸、ビタミン A, D, B 群、ミネラルを豊富に含む栄養素の重要な供給源である (Tidwell and Allan 2001; Reza et al. 2015; Abraha et al. 2018)。また、n-3 系脂肪酸は心疾患のリスクを低減させる (Venugopal and Shahidi 1996; Ruxton et al. 2004) ことから、積極的に摂取すべき食品といえる。しかしながら、食料需給表ⁱ⁾によると、食用魚介類の 1 人 1 年当たりの消費量 (純食料ベース) は 2001 年度をピークに減少傾向にあることから (Fig. 1-1)、日本の現状として、消費者の魚離れが進んでいることも事実である。

魚肉は、一般に生もしくは加熱加工ののちに消費される。加熱処理は、微生物的安全性を確保し、消費期限を延長でき、かつ望ましい官能特性を得られることから、最も重要な加工方法のひとつとして用いられている (Van Der Plancken et al. 2006; Kong et al. 2007b; Bains et al. 2014; Rosnes et al. 2011; Hassoun et al. 2020; Strzelczak et al. 2021)。したがって、魚をよりおいしく食べるための加熱加工条件を検討することは、消費拡大に向けた一つの知見を得るための基礎的研究として重要である。加えて、近年、消費者の食の簡便化や外部化志向の高まりによって、水産物消費における加工の重要性が増大していることから (Fagan and Gormley 2005)、日本の水産物輸出量は年々増加傾向にあるⁱⁱ⁾ (Fig. 1-2)。さらには、世界的にも魚肉を含む水産物消費が伸びており、輸出品としての魚肉加工品の価値も高まっていることから、より品質の良い加熱魚肉を調製するための条件を探索することは食品工業的にも重要である。

加熱の際は，食中毒予防の観点から食品中心部までの十分な加熱が必要であるが，魚肉タンパク質は熱安定性が低い（Ofstad et al. 1996）ために，加熱によって急激に変性する。その結果，加熱が過度であった場合は魚肉が硬化するため，嗜好性が著しく低下する（Rosnes et al. 2011; Wold 2016; Hassoun et al. 2020）。したがって，消費者に好まれる，やわらかいテクスチャーかつ多汁性を維持する高品質な加熱魚肉（Farmer et al. 2000; Skipnes et al. 2008）を調製するために適切な加熱を行うことは，食の安全性および嗜好性を保つうえで重要である。

一方で，この目的を達成する加熱処理条件を検討するためには，加熱による魚肉の品質特性，すなわちおいしさの決定要因として大きく寄与するテクスチャー，味などの因子をコントロールする必要がある（Poulter et al. 1985; Ishiwatari et al. 2013）。

魚体の皮下には，体側筋としていくつかの筋節が規則正しく並んだ筋肉束の集合体が存在する（小西 2019, Fig. 1-3）。体側筋を構成する筋節は，無数の筋線維で構成されており，筋線維には筋原線維とその間を満たす筋形質が含まれている（小西 2019; Clerjon and Damez 2007, Fig. 1-4）。魚肉のテクスチャーには，主に筋原線維を構成するタンパク質であるミオシン，アクチンおよび結合組織を構成するタンパク質であるコラーゲンが関与する（Palka and Daun 1999）。魚肉を加熱すると，上記タンパク質の変性・凝集が起こり（Palka and Daun 1999; Kong et al. 2007b），特有のテクスチャー変化を及ぼす（Nakayama et al. 1990; Hatae et al. 1984, 1990; Gao et al. 2016; Strzelczak et al. 2021）。このような，タンパク質の変性・凝集に伴うテクスチャー変化は，加熱条件によってその程度が異なる

と考えられ，その要因として，筋肉の種類と構造，タンパク質の組成や溶解度，熱特性，コラーゲンの量と性質の変化などが関与する（Qixing et al. 2014）。

さらに，加熱によるタンパク質の熱変性の結果，食品組織中に保持していた水分が，タンパク質の熱収縮による物理的圧迫を受けてドリップとして組織外に放出され（Tornberg 2005; Skipnes et al. 2008; Abraha et al. 2018），同時に水溶性の呈味成分も溶出される可能性がある。魚の呈味に寄与する呈味成分として，核酸関連物質（NRCs），遊離アミノ酸（FAAs），ペプチド，有機酸，有機塩基，無機イオン，糖などが知られる（村田ら 1995; Zhang et al. 2013; Yamaguchi et al. 2013）。中でも NRCs やペプチド，FAAs は魚の呈味に寄与する主成分として知られており（Shah et al. 2010a, 2010b），これまで，魚および水産食品の呈味成分が官能特性および味覚特性へ与える影響について検討した研究は数多くなされてきた（小俣 1964; 鴻巣 1973; 鴻巣ら 1988; 西塔と國崎 1998; Hayashi et al. 1981; Hayashi et al. 1990; Fuke and Konosu 1991; Shiau et al. 1996; Shirai et al. 1996, 1997; Kubota et al. 2002; Lwin and Fuke 2002; Kani et al. 2008）。加えて，これらの呈味成分の効果量は，加工処理方法，種類および呈味成分の相対含量や組み合わせによって大きく異なる（Sarower et al. 2012）。魚肉の主な呈味成分である NRCs の生成・分解経路を Fig. 1-5 に示す。すなわち，アデノシン 3 リン酸（ATP）は，アデノシン 2 リン酸（ADP），アデノシン 1 リン酸（AMP），イノシン酸（IMP），イノシン（HxR），ヒポキサンチン（Hx）へと生成・分解されるが，これは魚肉中の内在酵素（Gram and Huss 1996）によって起こることが知られる（内山と江平 1970; Hong

et al. 2017)。内在酵素による NRCs の生成・分解が加熱過程においても起こる可能性があり（富岡と遠藤 1994），加熱条件によってその程度が異なると考えられる。同様に，魚肉の主な呈味成分のひとつである FAAs についても，魚肉中の内在酵素によって，加熱過程でタンパク質やペプチドから FAAs に分解されるが（富岡と遠藤 1994），この変化の程度もまた，加熱条件によって異なり，結果として呈味へ影響する可能性がある。このように，加熱条件によって，テクスチャーや呈味成分がどのように，どの程度変化するのかを評価し，理解することは，最適加熱条件を検討するために重要である（Clerjon and Damez 2007; Wold 2016; Gao et al. 2016; Fan et al. 2020）。

一般に，普通肉と血合肉では品質特性が大きく異なると考えられること，さらには通常の加工において普通肉と血合肉を同時に加熱し，消費することを踏まえると，各部位の品質特性に関する知見を得たうえで，加熱した魚肉のおいしさについて議論し，その知見に基づいて最適加熱条件を設定する必要がある。しかしながら，これまでに見出されている知見のほとんどは，普通肉のみが研究対象となっており，加えて，加熱条件の違いによって魚肉の各部位にどのように品質特性へ影響を及ぼすのか，また，その因子や要因については，ほとんど明らかになっていない。

そこで本研究では，赤身魚に分類され，血合肉が大きく発達した魚種であるブリ（*Seriola quinqueradiata*）をモデルとして，以下について検討を行った。

1. 第 2 章では，魚肉の最適加熱条件を検討するための基礎的知見を得ることを目的として，加熱条件の違いが魚肉各部位のテクスチ

チャーおよび呈味成分特性に及ぼす影響について調べた。また、呈味成分の結果に基づき、呈味強度を算出し、評価を行った。

2. 第3章では、第2章で認められた加熱魚肉のテクスチャー変化における差異の要因について説明することを目的として、第2章で用いた加熱条件で加熱した魚肉各部位について、テクスチャー変化に大きく寄与すると考えられるタンパク質組成変化とタンパク質の変性割合について調べた。

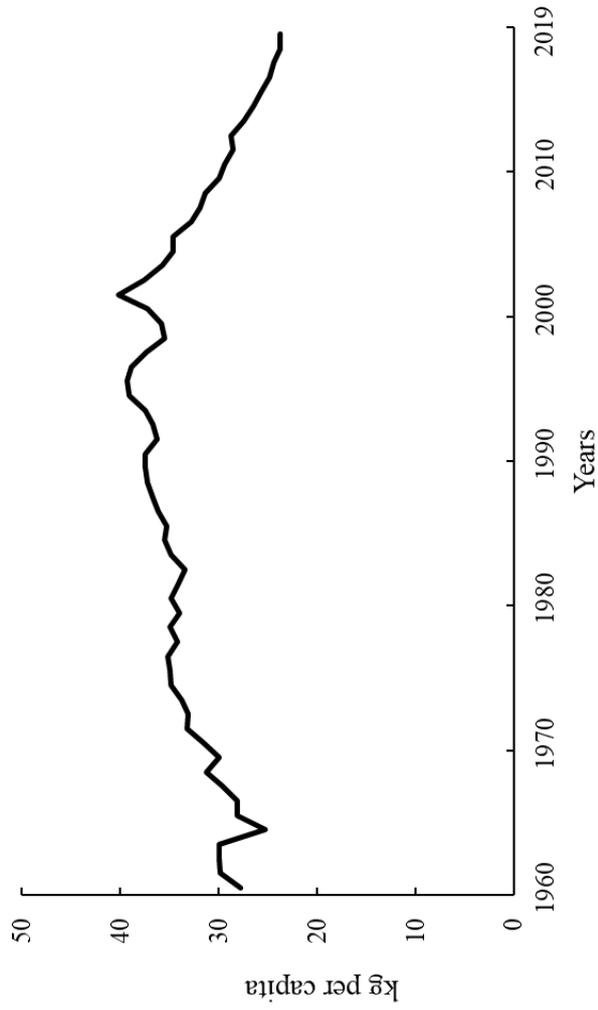


Fig.1-1 Trends in annual per capita consumption of fish and fishery products (Net food; 1960–2019; Food balance sheet ; The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries).

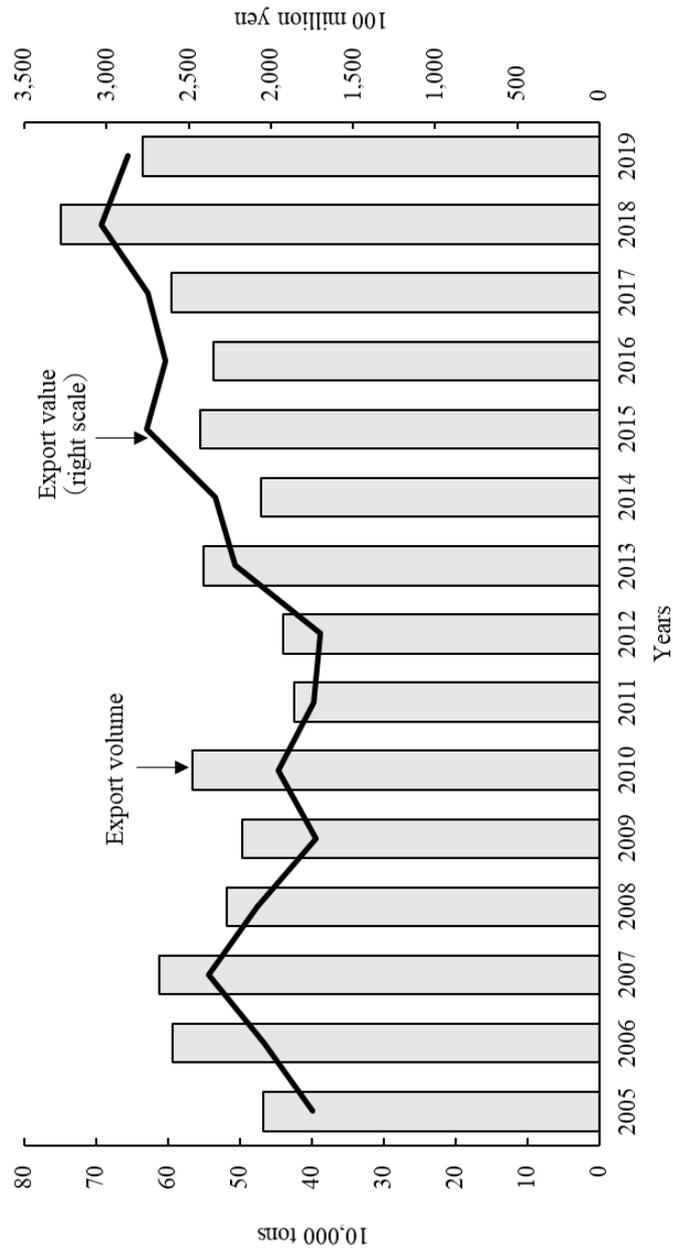


Fig.1-2 Trends in export volume and value of fish and fishery products (2005–2019; Trade statistics; The Ministry of Finance).

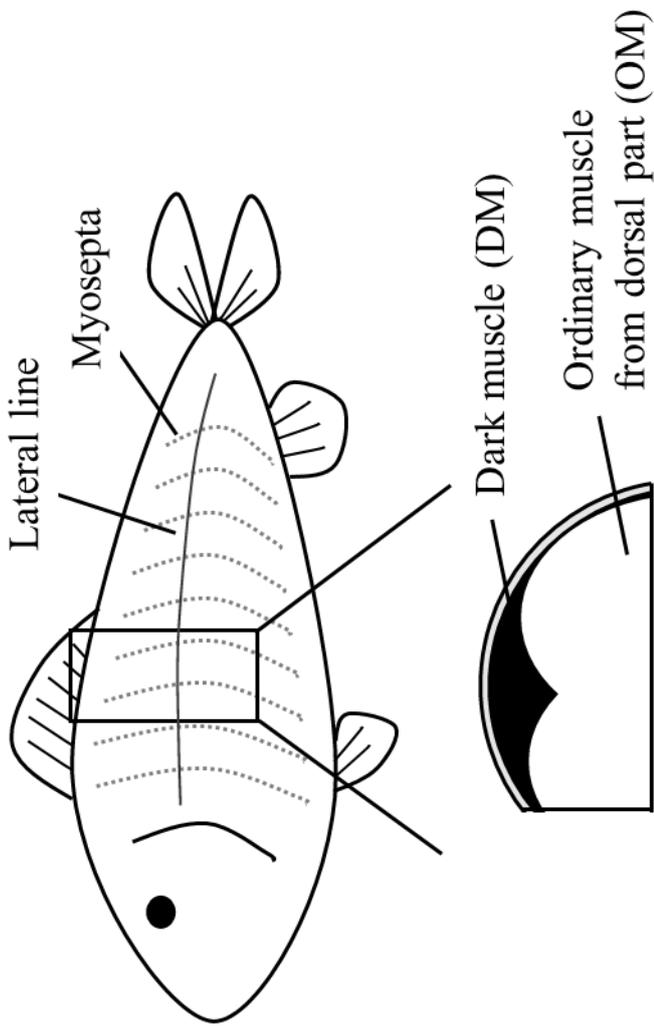


Fig.1-3 Skeletal musculature of fish.

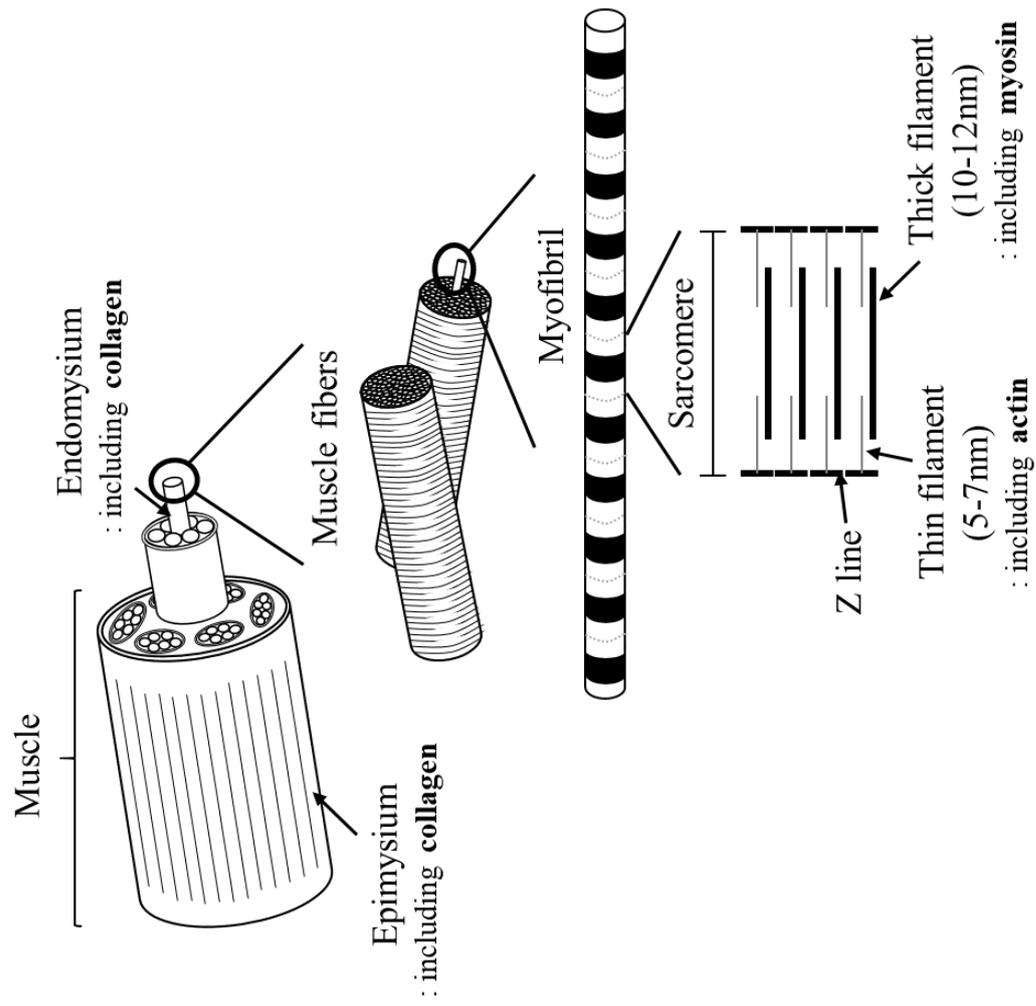


Fig.1-4 Structural organization of skeletal muscle (Clerjon and Damez 2007).

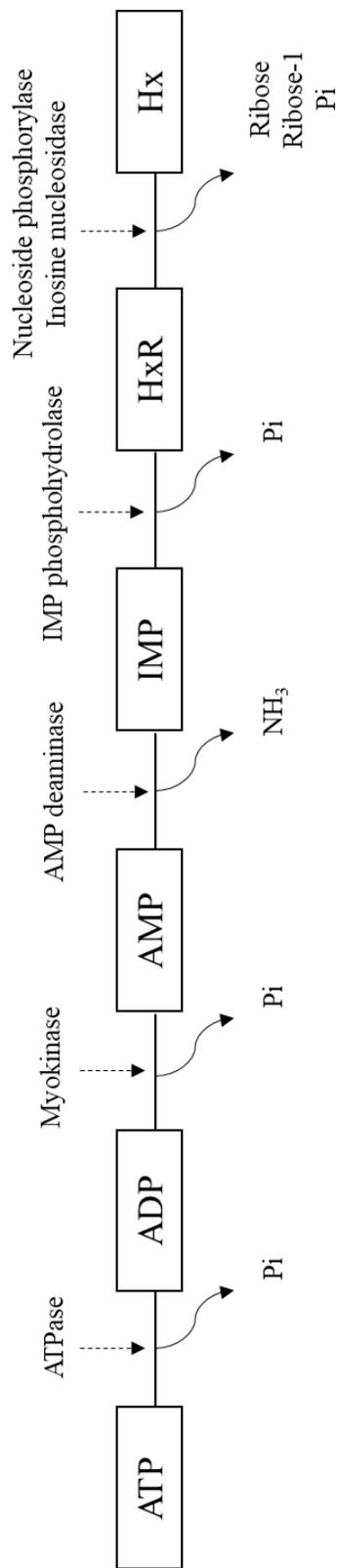


Fig.1-5 ATP metabolism in fish muscle (modified from Hong et al. 2017).

第 2 章 加熱条件が魚肉各部位のテクスチャーおよび呈味成分特性に及ぼす影響

第 1 節 緒言

魚肉を加熱すると、熱によりタンパク質の変性・凝集が起こり (Palka and Daun 1999; Kong et al. 2007b) , 特有のテクスチャー変化を及ぼす (Nakayama et al. 1990; Hatae et al. 1984, 1990; Gao et al. 2016; Strzelczak et al. 2021) 。これらのテクスチャー変化は、加熱条件によってその程度が異なると考えられる。

水産物に含まれる呈味成分の種類はきわめて多いが、魚介類の呈味成分の主要なものは NRCs, FAAs から構成される (村田ら 1995; Kani et al. 2007) 。IMP はうま味物質として知られている一方で、Hx は苦味物質として知られる (Feng et al. 2016; Kubota et al. 2002) 。さらに FAAs は、甘味、苦味、うま味など、それぞれが特徴的な味を持つ (Xu et al. 2016) 。

Equivalent umami concentration (EUC) は、グルタミン酸ナトリウム (MSG) 様のうま味を呈する NRCs および FAAs [アスパラギン酸 (Asp) およびグルタミン酸 (Glu)] によって得られるうま味を、MSG 当量に換算して表す指標であり、食品のうま味を評価するうえで非常に有用である (Yamaguchi et al. 1971; Chen and Zhang 2007) 。Taste-active value (TAV) は、食品中の各呈味成分の濃度とそれに対応する呈味閾値との比として算出され、当該成分が食品の味に及ぼす影響を評価するために広く用いられている (Chen and Zhang, 2007; Schlichtherle-Cerny et al. 1998; Meyer et al. 2016; Gao et al.

2019; Liu et al. 2019; Zhanga et al. 2019; Bi et al. 2021; Chen et al. 2021)。したがって、NRCs および FAAs と同様に、EUC および TAV を算出し、比較検討することは、これらの成分が呈味へ及ぼす影響について評価し、理解するうえで重要である。

これまで、魚種 (Hatae et al. 1984) や加熱温度 (Xu et al. 2016)、加熱方法 (Zhang et al. 2018) の違いがテクスチャーおよび呈味成分の変化に及ぼす影響について研究が行われてきた。しかしながら、魚肉の各部位に対してどのような加熱条件が適しているのかは不明であり、これを検討するためには、さまざまな加熱条件によって、魚肉各部位のテクスチャーや呈味成分にどのような変化が起こるのかを明らかにする必要がある。

そこで本章では、魚肉の最適加熱条件を検討するための基礎的知見を得ることを目的として、テンシプレッサー™ と Ultra performance liquid chromatography systems (UPLC) を用いて、加熱条件の違いが魚肉各部位のテクスチャー (かたさ、付着性、凝集性および弾力性) および呈味成分 (NRCs および FAAs) 特性に及ぼす影響について検討した。さらに、呈味強度の指標として EUC および TAV も求め、これらのパラメータ変化と加熱条件との関係を調べた。なお、本研究での加熱条件は、食の嗜好性だけでなく、安全性も維持できる条件として、食品衛生学的観点に基づいて設定した。

第 2 節 実験方法

第 1 項 試料調製

活け締めにした養殖ブリを広島市内の小売店から購入した ($n =$

3)。平均体重は 3.2 ± 0.52 kg であった。氷冷して 8h 以内に研究室へ持ち帰り，直ちにフィレにした。皮を取り除き，冷 1% 食塩水で表面を洗った後，体側線に対して垂直方向に正確に 2 cm 厚に切った (94.4 ± 9.8 mm \times 34.3 ± 4.4 mm)。本研究では，背部普通肉 (OM) および血合肉 (DM) を用いて実験を行った (Fig. 1-3)。切身は，ブラストチラー / フリーザー (iRiNOXAL-5M, FMI, 大阪) を用いて -80°C で急速凍結し，加熱処理まで -80°C で保管した。切身はランダムに 4 つのグループに分け，加熱処理前に氷水で 1h 以内に解凍し，加熱まで 4°C で保管した。加熱はスチームコンベクションオーブン (ACO-060GS, AIHO, 愛知) を用い，スチームモード，蒸気量 100% で蒸し加熱とした。加熱条件は以下の通りとした：(1) 中心温度 85°C 到達後 90 秒間温度保持 [ノロウイルスの感染性を失活させる条件ⁱⁱⁱ⁾； 85°C (High-temperature / short-time heating: HTST)]，(2) 中心温度 75°C 到達後 60 秒間温度保持 [腸管出血性大腸菌 O - 157 をはじめとする食中毒菌を死滅させる条件^{iv)}； 75°C (HTST)]，(3) 庫内設定温度を 63°C とし，30 分間加熱 [低温長時間殺菌の条件^{v)}，^{vi)}； 63°C (Low-temperature / long-time pasteurization: LTLT)]。加熱中の試料温度は，切身の中心部に挿入したテープ型温度計 (AP-320, 安立計器, 東京) によりモニタリングした。試料の中心温度が各条件の温度に達するまでの時間はそれぞれ (1) 約 11 分，(2) 約 10 分 10 秒，(3) 約 13 分であった。加熱終了後，直ちに 20×20 mm に切ったものを食品用ラップフィルムで被覆し，加熱後 2h 以内にテクスチャー解析およびサンプル厚の測定を行ったあと，その後の分析まで -80°C で保存した。テクスチャー解析，サンプル厚，水分含量，NRCs および FAAs の測定は，すべて同一試料にて行

った。本研究では，異なる魚体を用いた独立した試験を3回行った ($n = 3$)。

第2項 テクスチャー解析およびサンプル厚測定

テクスチャー解析およびサンプル厚の測定はテンシプレッサー™ (MY BOYII, タケトモ電機, 東京) を用いた。品温は $30 \pm 2^\circ\text{C}$ とし, プランジャーは円筒形 (直径 5 mm × 長さ 15 mm) を用いた。圧縮速度 1 mm / s, 圧縮率 75% で, 2回運動を繰り返した。各試料について, かたさ, 付着性, 凝集性, 弾力性 (Friedman et al. 1963, Fig. 2-1) およびサンプル厚を測定した。試料は筋線維に沿った方向にプランジャーが移動するようセットした。

第3項 水分含量

約 2 g の試料を約 2 g の乾燥海砂と混合し, 105°C , 24h 恒量まで乾燥させたのち, 重量測定した。水分含量 (%) は, 試料の乾燥前重量に対する加熱後重量の比として算出した。

第4項 NRCs

NRCs の抽出は, 中島ら (1961) の方法を一部変更して行った。すなわち, 試料に 1.6 倍量の冷 10% 過塩素酸を加え, 24,000 rpm, 2 分間ホモジナイズ後, 4°C , $13,000 \times g$, 5 分間遠心分離し, 上清を得た。次に, 沈殿物に 1.6 倍量の冷 5% 過塩素酸を加え, 上記同様にホモジナイズ, 遠心分離し, 得られた上清を合わせた。その後, 10 N KOH および 1 N KOH で中和し, 再度遠心分離して得た上清を, 蒸留水で定容後, さらに蒸留水で 10 倍希釈し, $0.22\mu\text{m}$ メ

ンブレンフィルターでろ過した。NRCs の分離および分析は，UPLC システム / TUV 検出器（ACQUITY Ultra Performance LC™, Waters, MA, USA）を用いた。注入量は 1.0 μL，カラムは Kinetex Evo C18 column（50 × 2.1 mm I.D., 1.7-μm particle size, 100 Å pore size, Phenomenex Inc., CA, USA）を使用した。カラム温度は 40°C，移動相は 100 mmol / L リン酸および 150 mmol / L トリエチルアミン溶液とし，流量は 0.90 mL / min，測定波長は 260nm とした。検出された NRCs（ATP，ADP，AMP，IMP，HxR および Hx）の同定は，各標準物質の保持時間との比較により行い，定量は各標準物質のピーク面積との比較により行った。

第 5 項 FAAs

試料に 2 倍量の冷 10% 5-スルホサルチル酸を加え，24,000 rpm，2 分間ホモジナイズした。その後，4°C，13,000 × g，5 分間遠心分離し，上清を得た。沈殿物に 2 倍量の冷 5% 5-スルホサルチル酸を加え，上記と同様にホモジナイズ，遠心分離し，得られた上清を合わせた後，蒸留水で 25 mL に定容した。この試料溶液を 10 N NaOH および 1 N NaOH で約 pH4 に中和後，再度定容した。この試料溶液について AccQ-Tag Derivatization Kit（Waters）を用いて誘導体化を行った。FAAs の分離・分析は，UPLC Amino Acid Analysis Solution（Waters）のマニュアルに準じて行った。検出された FAAs の同定は，アミノ酸標準品 H，B および AN-II（富士フイルム和光純薬，大阪）中の各 FAAs の保持時間との比較により行い，グルタミン（Gln）およびアスパラギン（Asn）の同定は，各標準物質の保持時間との比較により行った。定量は濃度既知の各 FAAs のピーク面積との比

較により行った。加えて，甘味を示す FAAs；アラニン（Ala），グリシン（Gly），セリン（Ser），トレオニン（Thr），苦味を示す FAAs；アルギニン（Arg），ヒスチジン（His），チロシン（Tyr），ロイシン（Leu），イソロイシン（Ile），メチオニン（Met），バリン（Val），およびうま味を示す FAAs；Asp, Glu の総和をそれぞれ算出した（Xu et al. 2016）。

第 6 項 EUC

EUC は，以下の式により算出した（1）（Yamaguchi et al. 1971）：

$$Y = \sum a_i b_i + 1218 (\sum a_i b_i) (\sum a_j b_j) \quad (1)$$

Y は試料の EUC（g MSG / 100 g）， a_i はうま味を示す各 FAAs（Asp, Glu）の濃度（g / 100 g）， b_i はうま味を示す各 FAAs を MSG 当量に換算する相対うま味濃度（Asp；0.077，Glu；1）， a_j はうま味を示す各 NRCs（IMP, AMP）の濃度（g / 100 g）， b_j はうま味を示す各 NRCs を IMP 当量に換算する相対うま味濃度（IMP；1，AMP；0.18），1218 は相乗係数（g / 100 g）を示す。

第 7 項 TAV

TAV は以下の式により算出した（2）：

TAV = 各成分の試料中濃度（mg / 100 g） / 当該成分の呈味閾値（mg

/ 100 ml)

(2)

呈味閾値は，Kani et al. (2007) の値を用いた。また，TAVが1以上を示す成分を，試料における呈味活性成分として定義した (Chen and Zhang 2007; Liu et al. 2013)。

第 8 項 統計解析

テクスチャー解析，水分含量，NRCs，FFAsの結果は，平均値について一元配置分散分析を行った後，Tukeyの多重比較検定を行った。統計解析には，IBM SPSS Statistics 23 (IBM，東京)を用い，有意水準を5%とした。

第 3 節 結果

第 1 項 テクスチャー解析およびサンプル厚測定

各条件で加熱したOMおよびDMのテクスチャーおよびサンプル厚の変化を Fig. 2-2 に示す。OMでは，かたさにおいて有意差は認められなかったものの，85°Cおよび75°C (1,437 および 1,403 gw / cm²) に対して 63°C (961 gw / cm²) でやわらかい傾向を示した。サンプル厚は，75°C および 63°C (16.6 および 17.6 mm) に対して 85°C (14.8 mm) で有意な収縮が認められた ($P < 0.05$)。DMでは，85°C および 75°C (913 および 855 gw / cm²) に対して 63°C (580 gw / cm²) で有意にやわらかかった ($P < 0.05$)。また，サンプル厚は 63°C (18.7 mm) に対して 85°C および 75°C (16.2 および 16.8 mm) で有意な収縮が認められた ($P < 0.05$)。

第 2 項 水分含量

各条件で加熱した OM および DM の水分含量変化を Table 2-1 に示す。OM および DM のいずれも，DM の 75°C を除き，加熱条件間で有意な変化は認められなかった。

第 3 項 NRCs

各条件で加熱した OM および DM における NRCs の変化を Table 2-2 に示す。IMP 含量は，OM において，加熱および加熱条件間で有意差は認められなかったものの，生試料よりも加熱試料で高値傾向を示した。OM の HxR 含量は，生試料よりも加熱試料で有意に高く ($P < 0.05$)，63°C は他の加熱条件よりも高かった ($P < 0.05$)。OM の Hx 含量は，生試料と比較して 63°C で有意に高かった ($P < 0.05$)。一方，DM の IMP 含量は，生試料と比較して 63°C で有意に低く ($P < 0.05$)，DM の HxR 含量は，加熱試料で有意に高かった ($P < 0.05$)。DM の Hx 含量は，85°C および生試料と比較して 63°C で有意に高かった ($P < 0.05$)。

第 4 項 FAAs

各条件で加熱した OM および DM における FAAs の変化を Table 2-3 に示す。OM で最も含量の多い FAAs は His であった。OM においては，加熱および加熱条件間で，FAAs に有意な変化は認められなかった。DM においては，タウリン (Tau) が最も含量が多い FAAs であり，DM の Asp と Tyr は，生試料および 85°C と比較して 63°C で有意に高かった ($P < 0.05$)。続いて，魚肉各部位の FAAs の結果

に基づき，甘味，苦味，およびうま味を示す FAAs の総和についても算出したものの，加熱および加熱条件間いずれにおいても有意差は認められなかった。

第 5 項 EUC

各条件で加熱した OM および DM における EUC の変化を Table 2-4 に示す。OM の EUC は，生試料と比較して加熱試料で高く，加熱条件間では 63°C で最も高かった。一方で，DM の EUC は生試料と比較して加熱試料で低くなり，加熱条件間では 63°C で最も低かった。

第 6 項 TAV

NRCs および FAAs の結果に基づき，各条件で加熱した OM および DM の TAV を算出した結果を Table 2-5 に示す。NRCs では，OM における IMP の TAV は，生試料で最も低かった。一方で，DM における IMP の TAV は，生試料で最も高く，加熱条件間では，63°C で最も低かった。FAAs では，OM および DM ともに，His のみが 1 以上の TAV を示した。EUC についても TAV を計算するため，MSG の呈味閾値 30mg / 100 ml (Zheng et al. 2015) を用いて算出した結果，OM および DM ともに，85°C および 75°C ではほぼ同等であったものの，63°C においては，他の加熱条件と比較して OM は高く，DM では低かった。

第 4 節 考察

ブリ肉の OM および DM は，63°C で加熱した場合，筋収縮がほぼ

起こらず、HTSTよりもやわらかくなる傾向が示された (Fig. 2-2)。筋肉タンパク質は、筋原線維タンパク質(アクチンやミオシンなど)、筋形質タンパク質(ミオグロビンなど)、および結合組織タンパク質(コラーゲンなど)の3グループに大別され、これらの筋肉タンパク質は、それぞれ異なる熱安定性を持つ。加熱温度が筋肉タンパク質の変性温度を超えると変性・凝集し、その結果、筋収縮が起こる (Tornberg 2005; Bell et al. 2001)。したがって、LTLTはこれらの筋肉タンパク質の変性・凝集を最小限に抑えることができる条件であったため、よりやわらかいテクスチャーと筋収縮の抑制をもたらしたと考えられた。しかしながら、そのテクスチャー変化の要因については不明なままであり、さらなる検討が必要である。

上述のように、結合組織および筋線維は、加熱温度が筋肉タンパク質の変性温度付近である 60°C を超えると縦方向に協調して収縮し、さらに加熱温度が上昇すると収縮度合が大きくなり、その結果、物理的圧迫により水分損失が増加する (Tornberg 2005)。Martínez-Alvarez et al. (2009) は、エビ加熱における水分損失が、高温加熱により、主に筋肉タンパク質の水分保持能が低下するため起こると示唆している。本研究では、OM および DM いずれも、加熱により著しく筋収縮が起こっていた (Fig. 2-2) もの、DM の 75°C を除いて、水分含量の変化は認められなかった (Table 2-1)。したがって、本研究では、筋肉タンパク質の変性および筋収縮はすべての加熱条件で起こっていたものの、水分保持能には影響を及ぼさないことが示された。

魚肉中の ATP は、一連の酵素群 (e.g., ATPase EC 3.6.1.3, myokinase EC 2.7.4.3, AMP deaminase EC 3.5.4.4, 5'-nucleotidase EC

3.1.3.31, phosphomonoesterase EC 3.1.3.1, 3.1.3.2, および nucleoside phosphorylase EC 2.4.2.1) により, ADP, AMP, および IMP を介して HxR と Hx に分解される(内山と江平 1970; Hong et al. 2017)。加えて, この ATP の生成・分解過程は, 魚肉の品質と密接に関係する(Uchiyama and Ehira 1974)。生のブリ肉を加熱すると, ATP は急速に IMP に分解される(村田ら 1995)ものの, NRCs の生成・分解に関与するすべての酵素は加熱中に失活するため, IMP は加熱後の魚肉に蓄積されたままとなる(Davidek et al. 1972; 村田ら 1995)。本研究では, OM の IMP 含量は, 加熱による有意な変化は認められなかったものの, 加熱試料の IMP 含量は高値傾向が認められた(Table 2-2)。この結果は, 上述の報告(Davidek et al. 1972; 村田ら 1995)を支持するものであった。一方で, DM の IMP 含量は LTLT 後に有意に減少しており, かつ生試料で最も含量が高かった。さらに, DM の HxR 含量は, 加熱後に有意に増加し, Hx 含量は, LTLT で有意に増加した。一般に, HxR と Hx は, 死後の保存中, OM よりも DM で速やかに蓄積する(齋藤ら 1959)。加えて, 魚肉中の IMP 分解速度は, 5'-ヌクレオチダーゼや IMP 分解酵素の活性に依存する(富岡と遠藤 1984)。したがって, DM の加熱試料における HxR および Hx の蓄積は, 加熱処理中に, 高い酵素活性を有する IMP および HxR 分解酵素によって生じたものと推察された。OM の HxR 含量は, HTST と比較して LTLT で増加した。加熱条件間では, OM の Hx 含量が LTLT のみ生試料より高く, DM の Hx 含量は 85°C よりも LTLT で高かった。これらの結果は, HTST と比較して, LTLT においては NRCs の生成・分解に関与する酵素の失活が比較的遅いことによるものと考えられた。一方で, DM の HxR 含量について, 加熱

条件間では有意差が認められなかったことは、HxRがHTSTよりもLTLTで多く生成されるものの、同時に急速な分解も起こっていたためと推察された。

OMのFAAsおよびアンモニア量は、加熱および加熱条件の影響を受けなかった（Table 2-3）。DMでは、AspおよびTyr含量が、生試料と比較してLTLTで有意に増加した。OMのFAAs量は、氷蔵中はほとんど変化しないものの、DMでは、FAAsの生成に関与するペプチダーゼなどの内在酵素の活性がOMよりも高いため、大幅に増加する（Sakaguchi et al. 1982）。したがって、本研究での加熱条件下における魚肉中のFAAsの変化挙動は、氷蔵中と同様の傾向を示しているものと考えられた。加えて、DMのFAAs量がHTSTで変化しなかったことは、HTSTによって酵素が急速に失活したことを示唆しているものと考えられる。

NRCsおよびFAAsの結果に基づいて、EUCおよびTAVを算出した（Tables 2-4および2-5）。IMPはうま味、Hisは味の厚みをもたらすとされ（Kubota et al. 2002）、本研究では、これらの物質が1以上のTAVを示した。OMおよびDMにおけるEUCから算出したTAVは、DMの63°Cを除いて、エツの加熱肉よりも著しく高いことから（Zheng et al. 2015）、ブリ肉の呈味強度は非常に強いと推察された。また、加熱条件間では、OMはLTLT、DMはHTSTにより、比較的呈味強度の高い加熱魚肉を調製できる可能性が示唆された。これらの結果は、加熱条件の違いによるNRCsおよびFAAsの変化の差異が、ブリ肉の呈味強度に寄与する可能性を示唆している。

本研究の結果は、加熱条件が、魚肉各部位のテクスチャー変化に影響を及ぼすこと、および魚肉中の呈味成分の量と呈味強度に影響

を与えることを示唆した。本研究では，魚肉のスライスを 20 mm 厚としているものの，スライスの厚さによって最適加熱条件が異なる可能性がある。さらに，OM と DM は，一般に同時に加熱，消費されることから，魚肉における DM の存在比は，その呈味とテクスチャーに影響を与える可能性がある。したがって，嗜好性の高い加熱魚肉を調製する条件を設定するためには，これらの因子についても考慮する必要がある。

第 5 節 小括

1. 魚肉の最適加熱条件を検討するための基礎的知見を得ることを目的として，加熱条件の違いが魚肉各部位（OM および DM）のテクスチャーおよび呈味成分特性に及ぼす影響について検討した。
2. OM および DM のかたさおよびサンプル厚は，加熱条件による影響を受け，LTLT ではやわらかい傾向にあり，筋収縮が抑えられることが示された。
3. OM の IMP 含量は，有意差は認められなかったものの，加熱により増加傾向を示した。DM の IMP 含量は，生試料と比較して LTLT で低かった。OM および DM の Hx 含量は，生試料と比較して LTLT で有意に高かった。
4. OM および DM いずれも，IMP および His の TAV は 1 以上であり，これらが主にブリ肉の呈味に寄与している物質であると推察された。加熱試料においては，IMP および EUC から算出した TAV が，生試料と比較して OM で増加傾向，DM で減少傾向を示した。さらに，加熱条件間においては，EUC から算出した TAV が，HTST

と比較して LTLT では OM で高く， DM で低かった。

5. 以上の結果より，加熱条件はテクスチャーや呈味強度に影響を及ぼしており，特に LTLT によって各部位ともやわらかいテクスチャーになる傾向が示されたものの，呈味強度は OM で高く， DM で低いことが示された。

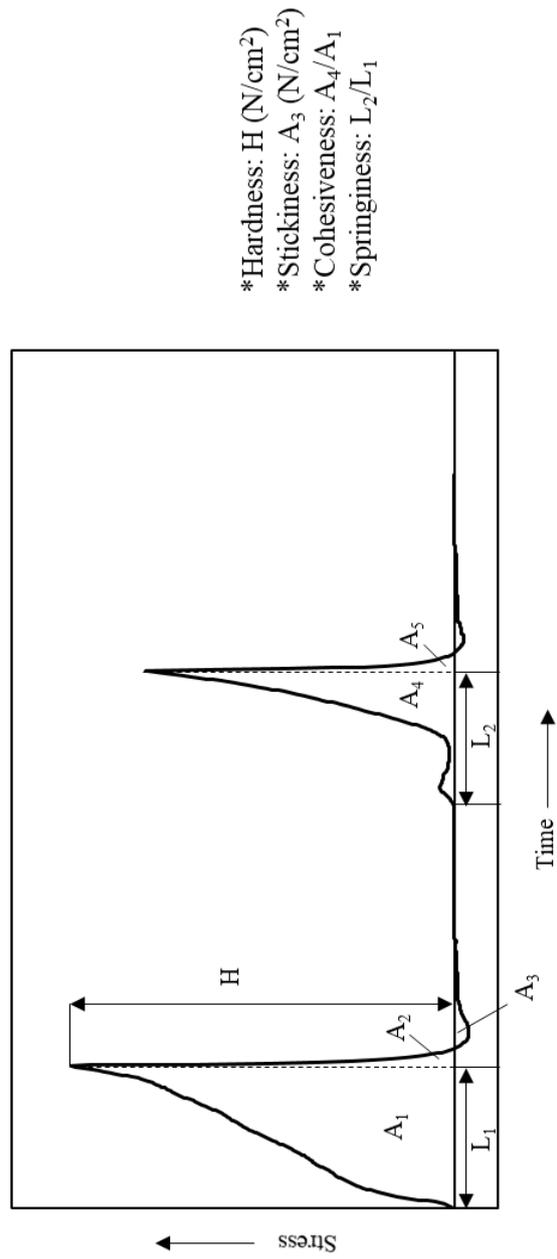


Fig.2-1 Representative Texture Profile Analysis (TPA) curve of heated fish meat and the definition of each TPA characteristic.

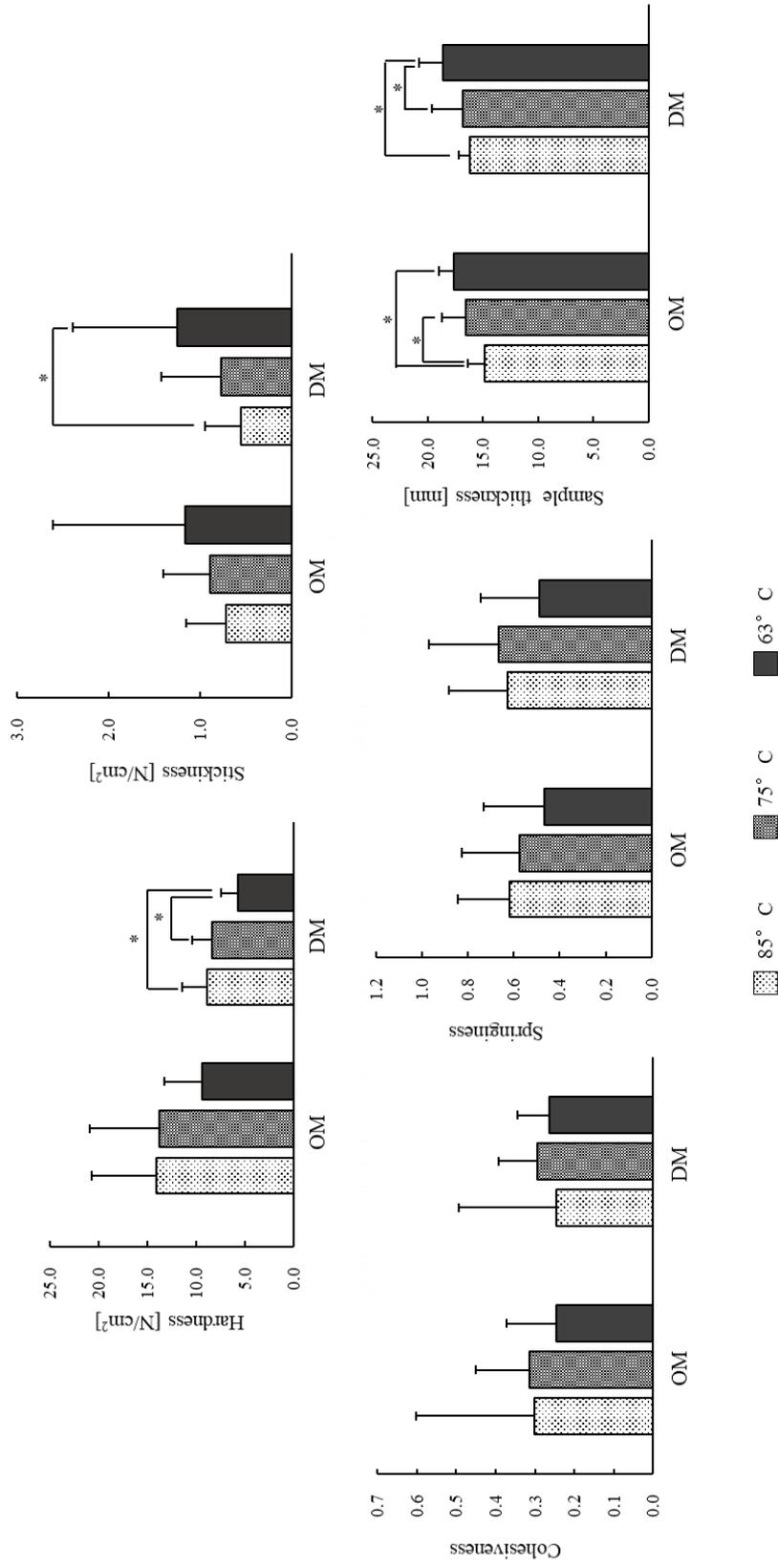


Fig.2-2 Changes in the textural properties and thickness of yellowtail fish meat after different heat treatments.

OM; ordinary muscle from dorsal part, DM; dark muscle

Error bars represent standard deviation for sample triplicates ($n = 3$).

Asterisks indicate significant differences between samples ($P < 0.05$).

Table 2-1 Moisture content of OM and DM after heating under different conditions (%).

	85 °C	75 °C	63 °C	Unheated
OM	61.8 ± 1.5	63.6 ± 1.1	62.9 ± 2.0	63.2 ± 3.3
DM	61.6 ± 2.6 ab	58.4 ± 1.9 b	64.7 ± 3.7 a	65.4 ± 3.5 a

OM; ordinary muscle, DM; dark muscle

The values indicate means ± standard deviation of triplicate determinations ($n = 3$).

Different small letters indicate a significant difference ($P < 0.05$).

Table 2-2 Nucleotide-related compounds of OM and DM after heating under different conditions ($\mu\text{mol/g}$ fish meat).

NRCs	OM					DM										
	85 °C		75 °C		63 °C		85 °C		75 °C		63 °C		Unheated			
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
ATP	0.10 ± 0.08		0.11 ± 0.04		0.02 ± 0.02		2.23 ± 1.79		0.11 ± 0.01	ab	0.05 ± 0.01	bc	0.01 ± 0.01	c	0.15 ± 0.05	a
ADP	0.16 ± 0.01		0.15 ± 0.03		0.09 ± 0.03		0.57 ± 0.37		0.17 ± 0.01	a	0.15 ± 0.02	a	0.07 ± 0.01	b	0.16 ± 0.04	a
AMP	0.72 ± 0.08		0.79 ± 0.12		0.80 ± 0.16		0.84 ± 0.18		0.46 ± 0.08		0.51 ± 0.06		0.58 ± 0.03		0.57 ± 0.19	
IMP	8.52 ± 0.32		8.75 ± 0.66		8.51 ± 0.68		5.27 ± 2.51		1.83 ± 1.03	ab	1.58 ± 0.46	ab	0.90 ± 0.16	b	3.78 ± 1.33	a
HxR	0.96 ± 0.11	b	1.09 ± 0.02	b	1.73 ± 0.17	a	0.54 ± 0.07	c	5.34 ± 1.12	a	5.33 ± 0.43	a	5.02 ± 0.36	a	2.79 ± 1.10	b
Hx	0.19 ± 0.03	ab	0.26 ± 0.11	ab	0.35 ± 0.07	a	0.16 ± 0.03	b	0.36 ± 0.03	b	0.59 ± 0.27	ab	1.27 ± 0.52	a	0.47 ± 0.15	b
Total	10.63 ± 0.41	ab	11.16 ± 0.79	a	11.50 ± 0.45	a	9.60 ± 0.46	b	8.27 ± 0.29		8.20 ± 0.52		7.84 ± 0.65		7.92 ± 0.52	

OM; ordinary muscle from dorsal part, DM; dark muscle

The values indicate means ± standard deviation of triplicate determinations ($n = 3$).

Different small letters indicate a significant difference ($P < 0.05$).

NRCs, Nucleotide-related compounds

Total indicates the total amount of nucleotide-related compounds.

Table 2-3 Free amino acid composition of OM and DM after heating under different conditions (mg/100 g fish meat).

	OM				Unheated
	85 °C	75 °C	63 °C	Unheated	
Ser	7.1 ± 3.1	7.5 ± 2.6	11.8 ± 6.8	7.4 ± 1.5	
Asn	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.2	
Gln	8.7 ± 3.5	9.8 ± 2.8	14.4 ± 6.8	14.5 ± 4.4	
Arg	4.6 ± 3.1	8.5 ± 4.0	7.9 ± 3.0	7.7 ± 1.8	
Gly	10.4 ± 6.4	10.7 ± 5.6	16.3 ± 11.1	11.1 ± 3.7	
Asp	1.3 ± 0.5	1.5 ± 0.3	3.5 ± 2.8	1.6 ± 0.4	
Glu	13.1 ± 0.4	12.5 ± 1.3	16.9 ± 4.6	15.4 ± 7.7	
Thr	7.2 ± 4.8	7.5 ± 4.7	9.2 ± 6.1	6.6 ± 3.0	
Ala	23.9 ± 12.6	25.8 ± 11.5	25.3 ± 26.4	24.4 ± 6.3	
Pro	3.5 ± 2.0	3.6 ± 2.1	5.0 ± 3.0	3.1 ± 1.5	
Cys	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	
Lys	30.5 ± 18.3	32.5 ± 18.6	35.4 ± 19.2	33.4 ± 6.4	
Tyr	3.6 ± 1.8	3.9 ± 2.0	3.9 ± 2.0	3.1 ± 1.1	
Met	3.6 ± 3.6	3.5 ± 3.3	2.5 ± 1.8	2.9 ± 2.1	
Val	4.8 ± 2.2	5.1 ± 2.1	7.5 ± 4.0	4.7 ± 0.8	
Ile	4.5 ± 1.7	4.7 ± 1.5	6.9 ± 3.3	4.1 ± 0.7	
Leu	6.1 ± 2.6	6.3 ± 2.6	4.7 ± 3.2	5.7 ± 1.1	
His	956.1 ± 125.8	1044.0 ± 92.7	1229.1 ± 155.1	1036.6 ± 235.8	
Tau	28.8 ± 9.0	27.3 ± 2.4	36.7 ± 13.8	59.2 ± 37.7	
3-Met-His	3.5 ± 1.1	3.7 ± 1.3	5.0 ± 1.9	4.4 ± 2.8	
β-Ala	2.1 ± 0.3	2.1 ± 0.4	3.1 ± 0.7	2.2 ± 0.5	
4-Aminobutyric acid	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.0	
Cystathionine	1.0 ± 0.3	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.6	1.1 ± 0.2	
Orn	6.0 ± 1.5	6.3 ± 2.5	10.2 ± 5.6	9.0 ± 5.3	
Anserine	13.3 ± 1.9	10.0 ± 6.3	13.0 ± 1.8	7.4 ± 2.1	
NH ₃	13.3 ± 1.9	15.2 ± 5.7	15.3 ± 3.2	11.0 ± 3.3	
Sweetness	48.5 ± 26.7	51.5 ± 24.3	62.6 ± 49.1	49.5 ± 13.8	
Bitterness	983.2 ± 135.8	1075.8 ± 105.7	1262.6 ± 156.8	1064.9 ± 230.6	
Umami	14.4 ± 0.2	14.0 ± 1.0	20.4 ± 7.2	17.0 ± 7.5	
Total	1144.3 ± 189.1	1238.4 ± 143.6	1469.6 ± 239.4	1266.1 ± 275.1	

Table 2-3 Continued

	DM			Unheated
	85 °C	75 °C	63 °C	
Ser	3.7 ± 0.3	6.6 ± 2.4	5.2 ± 0.7	4.0 ± 0.8
Asn	1.7 ± 1.7	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.3
Gln	5.8 ± 1.2	8.5 ± 1.9	7.5 ± 0.9	8.1 ± 1.5
Arg	0.4 ± 0.7	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.8	1.0 ± 1.0
Gly	9.0 ± 2.1	11.7 ± 4.4	8.3 ± 1.9	8.1 ± 1.7
Asp	1.2 ± 0.3	1.8 ± 0.4	2.3 ± 0.6	1.0 ± 0.4
Glu	18.6 ± 6.6	23.6 ± 6.4	19.9 ± 5.6	22.8 ± 7.6
Thr	3.9 ± 1.1	5.6 ± 2.3	5.3 ± 0.9	4.0 ± 1.2
Ala	43.1 ± 4.4	54.5 ± 10.8	46.3 ± 3.6	43.6 ± 2.1
Pro	2.0 ± 0.3	3.4 ± 1.3	2.3 ± 0.3	2.2 ± 0.4
Cys	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
Lys	8.0 ± 3.7	10.8 ± 5.1	10.4 ± 3.7	8.9 ± 3.4
Tyr	2.0 ± 0.4	2.6 ± 0.6	3.1 ± 0.4	1.8 ± 0.2
Met	3.1 ± 1.6	1.2 ± 1.1	4.9 ± 2.1	3.3 ± 1.4
Val	4.1 ± 1.0	7.0 ± 3.1	5.7 ± 0.9	4.0 ± 0.7
Ile	3.5 ± 1.4	6.7 ± 2.8	4.7 ± 1.2	3.4 ± 0.9
Leu	5.9 ± 1.8	4.0 ± 1.7	8.5 ± 1.4	5.1 ± 0.7
His	61.7 ± 25.4	111.1 ± 16.6	78.9 ± 17.0	61.9 ± 36.4
Tau	861.0 ± 62.8	1061.3 ± 129.9	903.8 ± 102.2	983.8 ± 25.2
3-Met-His	0.7 ± 0.4	1.1 ± 0.5	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.4
β -Ala	2.0 ± 0.6	2.9 ± 0.7	2.0 ± 0.6	2.0 ± 0.6
4-Aminobutyric acid	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.4	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2
Cystathionine	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.0
Orn	1.4 ± 0.2	2.7 ± 0.8	3.1 ± 0.9	1.7 ± 0.3
Anserine	6.3 ± 2.0	8.8 ± 5.2	8.6 ± 6.6	16.5 ± 4.3
NH ₃	8.7 ± 2.7	13.5 ± 3.1	11.2 ± 2.0	7.8 ± 0.3
Sweetness	59.8 ± 7.1	78.5 ± 18.9	65.0 ± 4.5	59.8 ± 3.5
Bitterness	80.7 ± 29.7	133.5 ± 21.7	106.7 ± 20.2	80.5 ± 37.4
Umami	19.7 ± 6.9	25.5 ± 6.6	22.2 ± 6.1	23.8 ± 7.3
Total	1050.0 ± 44.1	1338.3 ± 174.3	1133.9 ± 79.3	1189.5 ± 20.8

Sweetness: Ala + Gly + Ser + Thr

Bitterness: Arg + His + Tyr + Leu + Ile + Met + Val

Umami: Asp + Glu

OM: ordinary muscle from dorsal part, DM: dark muscle

The values indicate means ± standard deviation of triplicate determinations ($n = 3$).

Different small letters indicate a significant difference ($P < 0.05$).

Total indicates the total amount of free amino acids + anserine.

Table 2-4 Equivalent umami concentration of OM and DM after heating under different conditions (g/100 g fish meat).

	85 °C	75 °C	63 °C	Unheated
OM	4.5	4.4	5.7	3.3
DM	1.4	1.5	0.8	3.4

OM; ordinary muscle from dorsal part, DM; dark muscle

Table 2-5 Taste-active values of nucleotide-related compounds, free amino acids, and equivalent umami concentration of OM and DM after heating under different conditions.

Taste attribute	Taste threshold (mg/100 ml)	TAV							
		OM			DM				
		85 °C	75 °C	63 °C	Unheated	85 °C	75 °C	63 °C	Unheated
NRCs									
AMP	50	0.49	0.54	0.54	0.57	0.31	0.35	0.39	0.39
IMP	25	12.96	13.31	12.95	8.02	2.78	2.40	1.37	5.75
FAAs									
Asp	100	0.01	0.02	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01
Thr	260	0.03	0.03	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02
Ser	150	0.05	0.05	0.08	0.05	0.03	0.04	0.04	0.03
Glu	30	0.44	0.43	0.57	0.54	0.63	0.79	0.67	0.76
Gly	130	0.08	0.08	0.13	0.09	0.07	0.09	0.07	0.06
Ala	60	0.40	0.44	0.42	0.43	0.74	0.91	0.79	0.73
Val	40	0.12	0.13	0.19	0.13	0.11	0.18	0.15	0.10
Met	30	0.12	0.12	0.08	0.10	0.11	0.04	0.17	0.11
Ile	90	0.05	0.05	0.08	0.05	0.04	0.08	0.05	0.04
Leu	380	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01
Lys	50	0.61	0.66	0.71	0.71	0.17	0.22	0.21	0.18
His	20	47.94	53.58	61.59	54.48	3.16	5.57	4.03	3.11
Arg	50	0.09	0.17	0.16	0.16	0.01	0.02	0.02	0.02
Pro	300	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
EUC	30	149.36	147.22	191.01	108.73	45.63	50.01	25.47	112.46

Taste threshold values of NRCs and FAAs in water are taken from Zheng et al. (2015).

OM: ordinary muscle from dorsal part, DM, dark muscle

第 3 章 加熱条件が魚肉各部位のタンパク質組成変化に及ぼす影響

第 1 節 緒言

魚肉の加熱中，筋肉タンパク質であるミオシン，アクチン，コラーゲンなどの熱変性により，筋繊維の収縮とともにテクスチャー変化が起こる（Wattanachant et al. 2005; Barbera and Tassone 2006; Ishiwatari et al. 2013; Ovissipoura et al. 2013）。このようなタンパク質の変性は，魚肉のテクスチャーおよび多汁性に影響を及ぼし，結果として，魚肉や水産加工製品の品質に大きく寄与すると考えられる。

これまで，加熱温度や時間，方法などさまざまな加熱条件が魚肉のテクスチャー変化へ及ぼす影響に関する研究がなされてきた（Kano et al. 1988; Qixing et al. 2014; Llave et al. 2018）。しかしながら，に食品衛生学的観点に基づいて設定した加熱条件が，魚肉のテクスチャー特性に及ぼす影響についての知見は乏しかったことから，第 2 章において，ブリの OM および DM をモデルとして，加熱条件が魚肉のテクスチャー特性に及ぼす影響について検討した。その結果，加熱条件は OM および DM のかたさとサンプル厚に影響を及ぼし，特に LTLT では，HTST と比較してよりやわらかく，筋収縮が抑えられる傾向が示唆された。しかしながら，これらのテクスチャー変化の差異の要因については明らかになっていない。

そこで本章では，加熱条件が魚肉各部位のテクスチャー変化がどのような機構により起こったのかを明らかにすることを目的として，魚肉各部位のタンパク質組成変化およびタンパク質の変性度合

に及ぼす影響を調べた。また、示差走査熱量測定（DSC）により魚肉タンパク質の熱物性について評価するとともに、OM および DM のコラーゲン可溶化度についても調べた。

第 2 節 実験方法

第 1 項 試料調製

試料は、第 2 章第 2 節第 1 項と同一のものを使用した。

第 2 項 タンパク質組成変化

タンパク質の分画は、Hashimoto et al. (1979) および Qixing et al. (2014) の方法により行った。分画方法を Fig. 3-1 に示す。試料に 10 倍量の溶液 A [15.6 mM Na₂HPO₄, 3.5 mM KH₂PO₄ (pH7.5)] を加えてホモジナイズし、5,000 × g, 15 分間遠心分離した。この抽出を 2 回繰り返した。この上清を合わせ、冷 50% トリクロロ酢酸 (TCA) を終濃度 10% となるよう加えた。その後、5,000 × g, 15 分間遠心分離し、得られた沈殿物を水溶性画分 (WSF)、上清を非タンパク態窒素画分 (NPNF) とした。WSF 抽出後に得られた沈殿物には、10 倍量の溶液 B [0.45 M KCl, 15.6 mM Na₂HPO₄, 3.5 mM KH₂PO₄ (pH7.5)] を加えてホモジナイズし、5,000 × g, 15 分間遠心分離した。この抽出を 2 回繰り返した。この上清を合わせたものを塩溶性画分 (SSF) とした。SSF 抽出後に得られた沈殿物に対して 10 倍量の 0.1 M NaOH を加え、2h 連続攪拌後、5,000 × g, 15 分間遠心分離し、得られた上清をアルカリ可溶性画分 (ASF)、残渣をアルカリ不溶性画分 (AIF) として用いた。各画分の窒素量について、

全自動元素分析装置（Vario Max CN, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Germany）を用い、デュマ法により測定した（Shea and Watts 1939）。結果は、タンパク質組成比（%）として、すべての画分の窒素量の総量に対する各画分の窒素量の比により示した。

第 3 項 ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）は、Laemmli（1970）の方法により、10% アクリルアミドゲル（e-PAGEL, ATTO, 東京）を用いて行った。総タンパク質画分（total protein fraction ; TF）は、沼倉ら（1985）の方法を一部変更して行った。すなわち、試料を細切後、溶液 C [8 M 尿素, 2% SDS, 2% 2-メルカプトエタノール, 20 mM Tris-HCl buffer (pH8.8)] を加えて 100°C, 10 分間加温し, 20h 連続攪拌した。その後, 12,100 × g, 30 分間遠心分離し, 上清を得た。BCA 法によりタンパク質量を測定した後, 得られた上清をタンパク質量 5.0μg に調整し, 試料として用いた。WSF および SSF は, 第 3 章第 2 節第 2 項により得られた試料溶液を用いた。SSF は冷 50% TCA を終濃度 10% になるよう加えた後, 10,000 × g, 5 分間遠心分離し, 上清を除去した。WSF および SSF ともに, 得られた沈殿物はアセトンで洗浄し, TCA を除去したあと, 溶液 D [8 M 尿素, 4% SDS, 5% 2-メルカプトエタノール, 25 mM Tris-HCl buffer (pH6.8)] で再溶解し, タンパク質量 5.0 μg に調整した。TF, WSF および SSF の試料溶液に, 等倍量の SDS-PAGE sample buffer [4% SDS, 10% 2-メルカプトエタノール, 20% グリセリン, 0.005% ブロモフェノールブルー, 0.125 M

Tris-HCl buffer (pH6.8)]を加えて、95°C、5 分間加温し、ゲルの各レーンにアプライした。分子量マーカーとして、ワイドビュー™ プレステインたん白質サイズマーカーⅢ（富士フイルム和光純薬、大阪）を用いた。電気泳動後、クマシーブリリアントブルーにより染色した。

第 4 項 DSC

示差走査熱量計（DSC-60Plus, 島津, 京都）を用いて、熱物性の測定を行った。リファレンスには蒸留水を用いた。キャリアガスは N₂, 流量は 30 mL / min とした。試料をアルミパンに正確に 15.0 mg 計量し、シーラーで密閉した。温度範囲は 20°C から 80°C までとし、昇温速度 5°C min⁻¹ で測定した。得られたデータは TA-60WS (島津) により解析した。それぞれのピーク温度 (T_{max}) を記録し、変性エンタルピー (ΔH) は、サーモグラムとベースラインとで囲まれた領域から求めた。

第 5 項 コラーゲン

OM および DM の可溶性コラーゲンは、Qixing et al. (2014) の方法を一部変更して抽出した。すなわち、各試料に 4 倍量の溶液 E [32.8 mM NaCl, 1.5 mM KCl, 0.5 mM CaCl₂] を加えてホモジナイズし、50°C、15 分間加温した。その後、2,300 × g, 30 分間遠心分離を行い、上清を得た。沈殿に溶液 E を加えて再懸濁させ、遠心分離し、上清を合わせた（可溶性コラーゲン画分）。総コラーゲン画分は、魚肉をそのまま用いた。各画分の試料に、終濃度 6M となるよう HCl を加えた後、130°C、3h 加水分解し、濾過、濃縮乾固させた。蒸留

水により任意の濃度で再溶解させた後，ヒドロキシプロリン量を Woessner (1961) の方法により測定し，コラーゲン換算係数 9.75 (錢谷と山北，1956) を乗じてコラーゲン量として示した。コラーゲン可溶化率 (%) は，総コラーゲン量に対する可溶性コラーゲン量の比として算出した。

第 6 項 統計解析

タンパク質組成変化，コラーゲンの結果は，平均値について一元配置分散分析を行った後，Tukey の多重比較検定を行った。統計解析には，IBM SPSS Statistics 23 (IBM，東京) を用い，有意水準を 5 % とした。

第 3 節 結果

第 1 項 タンパク質組成変化

タンパク質の溶解度に基づく，OM および DM のタンパク質組成変化を Fig. 3-2 に示す。NPNF 比は，OM，DM いずれも試料間で有意差はなかった。一方で，WSF および SSF 比は，生試料と比較して加熱試料で有意に低かった ($P < 0.05$)。ASF 比は，生試料に対して加熱試料で，OM では高く，DM では 63°C を除いて低かった ($P < 0.05$)。AIF 比は，OM および DM いずれも生試料と比較して加熱試料で有意に高かった ($P < 0.05$)。加熱条件間では，OM で，有意差はないものの，他の加熱条件と比較して 63°C で ASF 比は高く，AIF 比は低かった。DM では，75°C および 85°C の AIF 比が，63°C と比較して有意に高かった ($P < 0.05$)。

第 2 項 SDS-PAGE

各加熱条件で加熱した OM および DM の SDS-PAGE バンドパターンを Figs. 3-3 および 3-4 に示す。OM および DM いずれも、TF のバンドパターンおよびバンド強度に大きな変化は認められなかった。これは、本研究での加熱条件による処理によって、タンパク質分解が起こっていないことを示している。対照的に、OM の WSF および SSF のバンドパターンは、加熱により著しく変化した。WSF における約 33 kDa のバンド、SSF における 180~245 kDa および約 48 kDa のバンドの強度は、63°C と比較して 85°C および 75°C で低かった。これらのバンドについて、前者（約 33 kDa）はトロポミオシン（Daifuku et al. 2011）、後者の 2 つのバンド（180~245kDa および約 48kDa）は、それぞれミオシンとアクチン（Liang et al. 2012）と推定した。一方で、DM の WSF および SSF のバンド強度は、生試料においては、OM よりも DM の方が低く、さらには、加熱試料においては WSF、SSF いずれもバンドがほとんど消失していた。

第 3 項 DSC

各条件で加熱した OM および DM の DSC サーモグラムを Fig. 3-5 に示す。生試料で観察された最初のピーク（ピーク 1）と 3 番目のピーク（ピーク 3）の 2 つの主要ピークについて、前者は主にミオシンとその関連タンパク質、後者はアクチンと推定した（Akahane et al. 1985; Schubring 1999）。小さいピーク（2 番目のピーク; ピーク 2）は、筋形質タンパク質および/またはコラーゲンに関連したピークと推定された（Hastings et al. 1985; Howell 1991）。続いて、 T_{max} およ

び ΔH の値を Table 3-1 に示す。生試料の T_{max} は，OM のピーク 1；45.8°C，ピーク 2；60.7°C，ピーク 3；71.6°C，および DM ではそれぞれ 49.5，60.1，および 71.0°C において観察された。これらのピークは，OM および DM いずれも，85°C および 75°C では観察されなかったものの，63°C では非常に小さなピーク（ピーク 3）が，それぞれ T_{max} 74.5 および 72.7°C で検出された。

第 4 項 コラーゲン

各条件で加熱した OM および DM のコラーゲン量を Table 3-2 に示す。OM は，可溶性コラーゲン量においては有意差が認められなかったものの，コラーゲン可溶化率は，生試料と比較して 63°C で有意に高かった ($P < 0.05$)。DM は，有意差は認められなかったものの，生試料と比較して 63°C で，可溶性コラーゲン量およびコラーゲン可溶化率が高値傾向であった。

第 4 節 考察

魚肉に含まれる筋肉タンパク質において，ミオグロビンなどの筋形質タンパクは水溶性画分，主にミオシンとアクチンからなる筋原線維タンパク質は，塩溶性画分に分画される。これらのタンパク質のほとんどは，加熱中に急速に変性し，タンパク質の溶解度に著しい変化をもたらす。加熱処理の結果，変性したタンパク質は，アルカリ可溶性またはアルカリ不溶性画分に分画される。加熱による筋原線維タンパク質およびコラーゲンの変性・凝集は，肉のかたさに影響を及ぼす (Niamnuy et al. 2007)。

本研究では、OMのASF比およびAIF比は、加熱後に大幅に増加しており、特にLTLTでは有意差はなかったものの、他の加熱条件よりも高いASF比および低いAIF比を示した（Fig. 3-2）。加えて、DMの加熱試料のAIF比は、加熱条件間において、HTSTと比較してLTLTで有意に低かった。さらに、DMのLTLTでは、ASF比の有意な低下は認められなかった。これらの結果は、DMのタンパク質溶解度の変化およびタンパク質変性の程度が他の加熱条件よりもLTLTで低いことを示唆しており、このことが、LTLT処理後の魚肉においてやわらかいテクスチャーをもたらした可能性があるかと推察された。

加えて、SDS-PAGEによって、加熱中のタンパク質の変性・凝集による、タンパク質溶解度の変化を評価した（Figs. 3-3および3-4）。WSFの一部のタンパク質、およびOMのSSFのバンド強度がLTLTよりもHTSTで低かったことは、より高温での加熱処理がこれらのタンパク質変性をより進行させ（Qixing et al. 2014）、同時にタンパク質溶解度も変化させたことを示唆している。特に、OMのSSFにおいて、アクチンと推定した約48 kDaのバンド強度がHTSTよりもLTLTで高かったことは、LTLTでは、アクチンが変性・凝集することによる溶解度の低下が起こりにくかったことを示唆している。OMのWSFにおいて観察された約33 kDaのバンドは、比較的熱安定性の高いタンパク質であるトロポミオシンと推定された（Woods 1969）。トロポミオシンは、トロポニンやアクチンなどと結合し、細いフィラメントとして存在する（Godiksen et al. 2009）。本研究において、約33 kDa付近および約48 kDa付近のバンドは、LTLTと比較してHTSTでバンド強度が低下していた（Fig. 3-3）ことから、

トロポミオシンおよびアクチンの溶解度の変化は、加熱条件の違いを反映していると考えられた。しかしながら、Samejima et al.(1982)は、トロポミオシンは肉のテクスチャーに影響を及ぼさないと結論づけていることから、魚肉の加熱によるトロポミオシンの構造変化は、第2章で認められた加熱条件によるテクスチャー変化の差異には関与していないものと推察された。一方で、DMにおいては、WSFおよびSSFの生試料で観察されたタンパク質バンドが、加熱後に消失していたことから(Fig. 3-4)、加熱条件の違いによるDMのタンパク質組成変化を比較し、検討することは困難だった。

DSCにおいて、63°Cでは、OMおよびDMいずれもわずかなピークが観察され、加熱後もアクチンの未変性部分が残存していることが示された(Fig. 3-5およびTable 3-1)。ミオシン変性が肉の弾性率に及ぼす影響は小さいものの、アクチン変性の影響は著しく大きい(Ishiwatari et al. 2013)。すなわち、アクチンの熱変性が起こる温度よりも高い温度で魚肉を加熱すると、筋線維が収縮し、肉がよりかたくなる(Dunajski 1979; Tornberg 2005)。このことは、アクチンの変性度合が筋原線維タンパク質の構造全体に影響を与えることを意味する。言い換えれば、アクチンの未変性部分が多いほど、やわらかい(石渡ら 2013)。したがって、アクチン変性度合の差異が、第2章において認められた、LTLTによる加熱魚肉が他の加熱条件よりもやわらかく、筋収縮が抑えられていた要因のひとつとして説明できる可能性が示唆された。

OMおよびDMのコラーゲン可溶化は、LTLTで増加傾向が認められた(Table 3-2)。コラーゲンは、60°C以上の加熱温度によって本来の構造を失い、可溶化し始める(Dunajski 1979; Kanoh et al.

1988)。さらに加熱を続けると、コラーゲンが溶解してゼラチン化し(Tornberg 2005),その結果,よりやわらかい加熱魚肉となる(Hatae et al. 1996)。さらに,コラーゲンの可溶化は,加熱肉のテクスチャーに影響を与える(Eilert and Mandigo 1993)。一方,Kanoh et al. (1988)およびKong et al. (2007a)は,コラーゲンは加熱処理中に可溶化されるものの,この現象は筋原線維タンパク質の著しい変性によってマスキングされている可能性があるとして報告している。したがって,コラーゲンの可溶化は,テクスチャー変化の差異の主要因ではないものの,LTLTによる加熱魚肉のやわらかいテクスチャーに寄与した可能性があるとして推察された。

第5節 小括

1. 第2章において認められた,加熱条件による魚肉各部位のテクスチャー変化の差異の要因について明らかにすることを目的として,魚肉各部位のタンパク質組成変化およびタンパク質の変性度合に及ぼす影響について検討した。
2. タンパク質組成の結果から,加熱条件は,魚肉各部位においてタンパク質の変性・凝集の程度に影響を及ぼしており,その変性度合はLTLTほど低い傾向であることが明らかとなった。
3. SDS-PAGE, DSCの結果から,アクチン変性度合は,他の加熱条件と比較してLTLTで低いことが示唆された。
4. コラーゲンの可溶化は,HTSTと比較してLTLTで進む傾向が示された。
5. 以上の結果より,アクチンおよびコラーゲンの変性度合の差異

が，第 2 章で認められた，テクスチャー変化の差異の要因のひとつである可能性が示唆された。

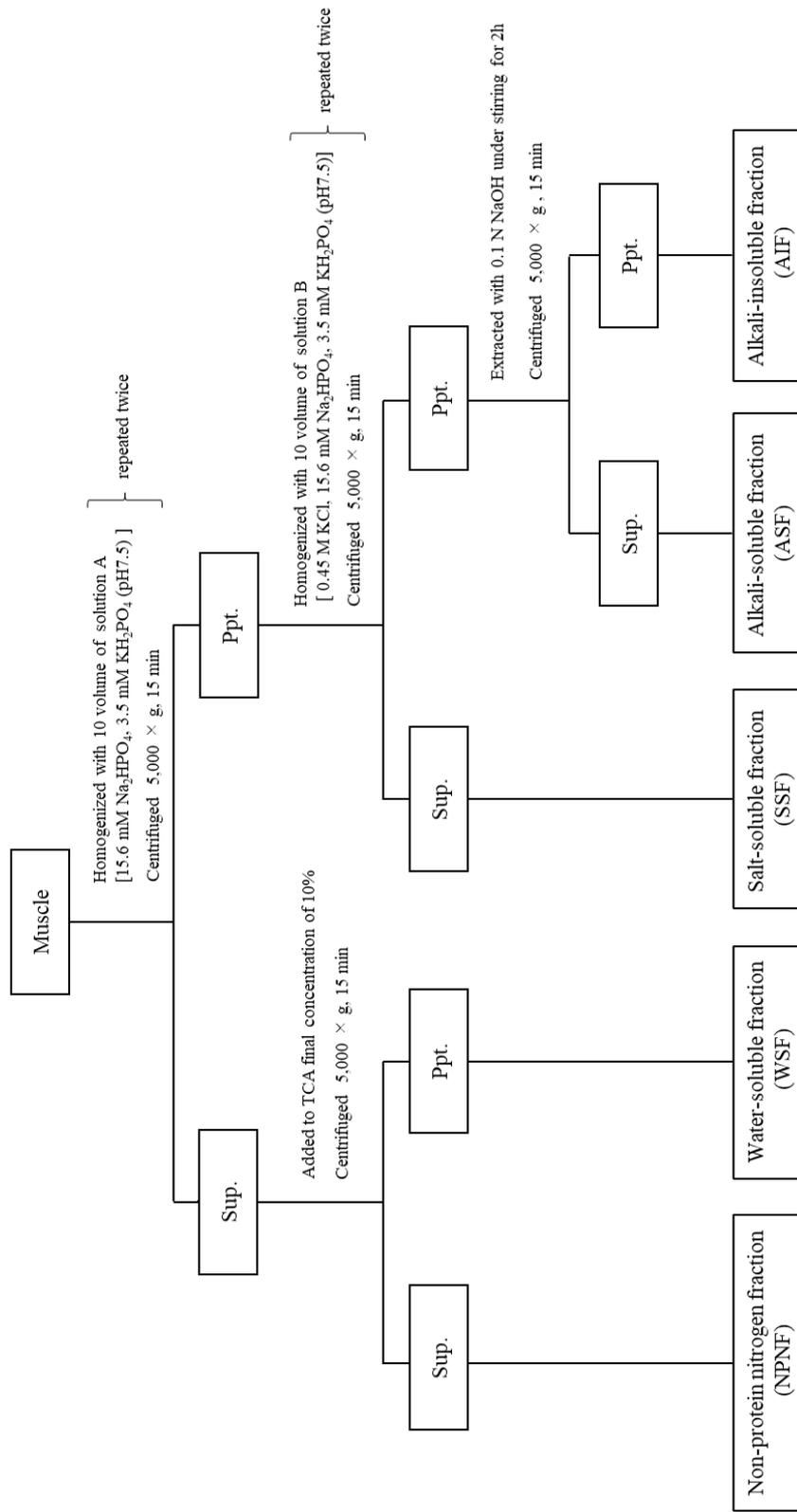


Fig.3-1 Fractionation procedure of muscle proteins.

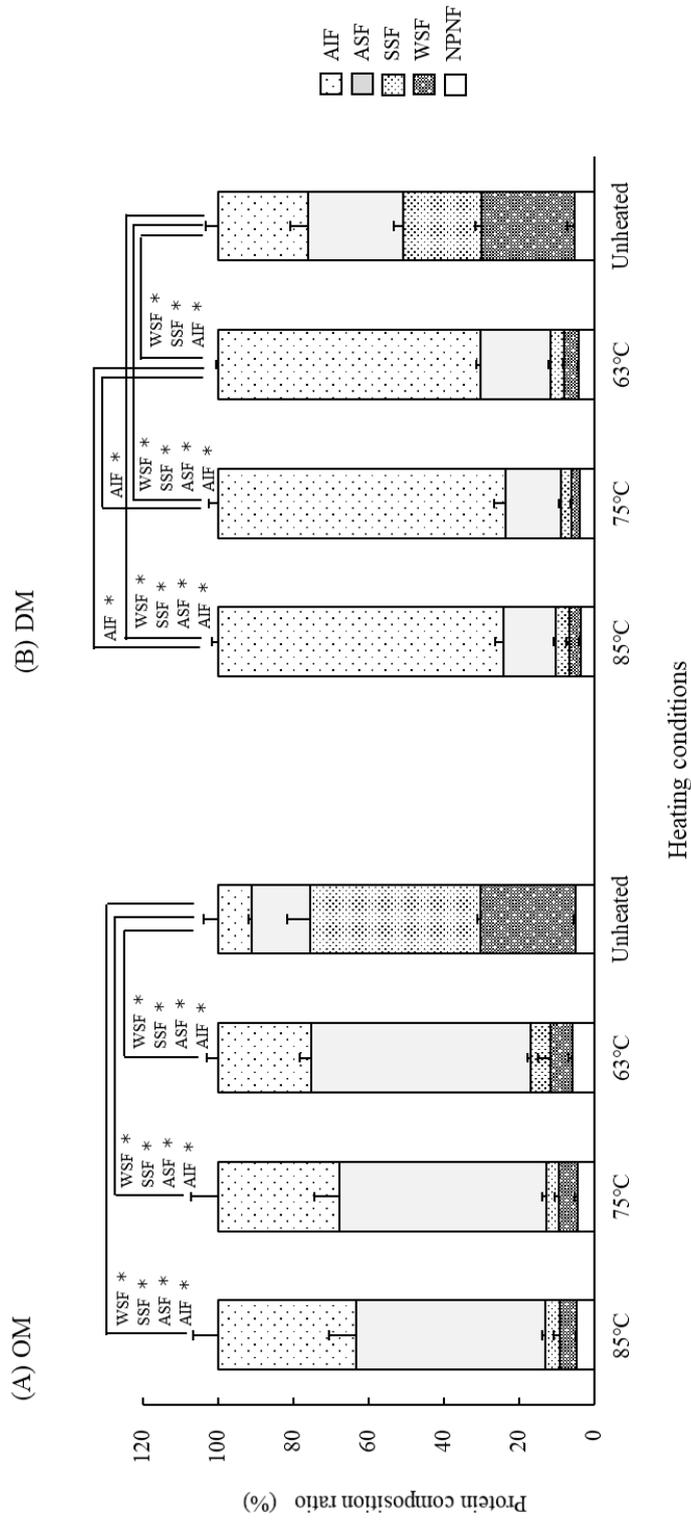


Fig.3-2 Changes of protein composition of OM and DM after heating under different conditions.

(A)OM; ordinary muscle from dorsal part, (B)DM; dark muscle
 Protein composition ratio (%): the nitrogen content of each fraction / the sum of nitrogen content of all fractions $\times 100$.
 Error bars represent standard deviation for sample triplicates ($n = 3$).
 Asterisks indicate significant differences between samples ($P < 0.05$).

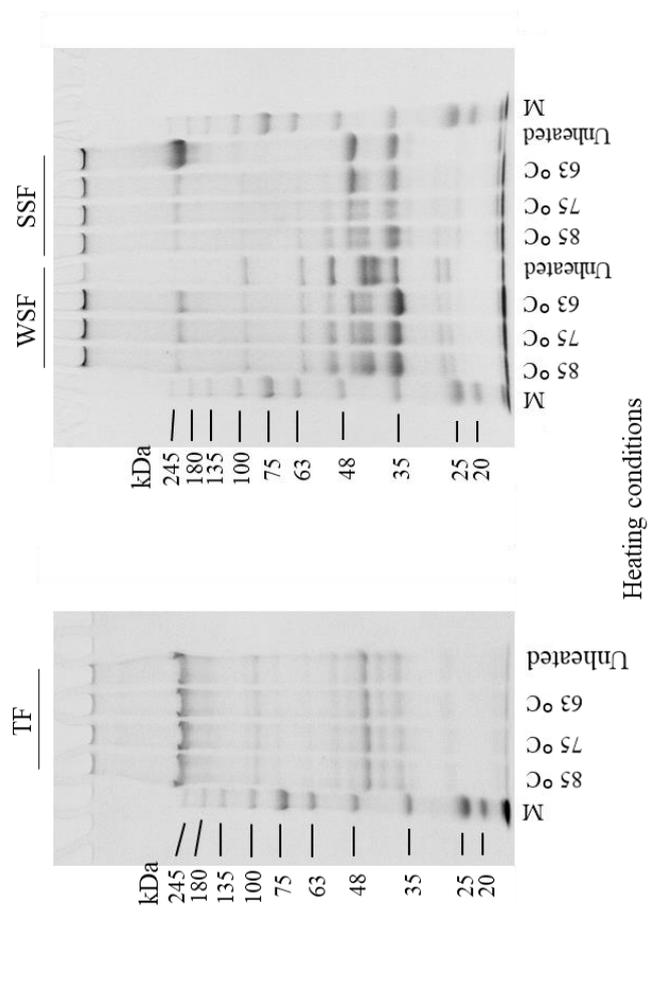


Fig.3-3 SDS-PAGE patterns of each fraction in OM after heating under different conditions.

OM; ordinary muscle from dorsal part.

TF; total protein fraction, WSF; water-soluble fraction, SSF; salt-soluble fraction.

M; protein molecular weight marker.

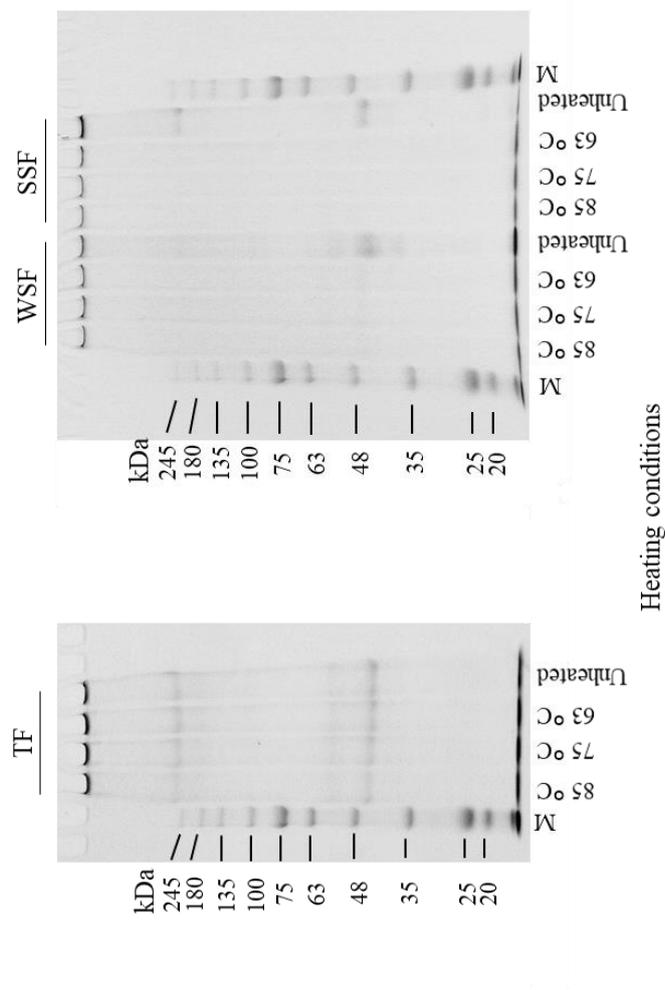


Fig.3-4 SDS-PAGE patterns of each fraction in DM after heating under different conditions.

DM; dark muscle.

TF; total protein fraction, WSF; water-soluble fraction, SSF; salt-soluble fraction.

M; protein molecular weight marker.

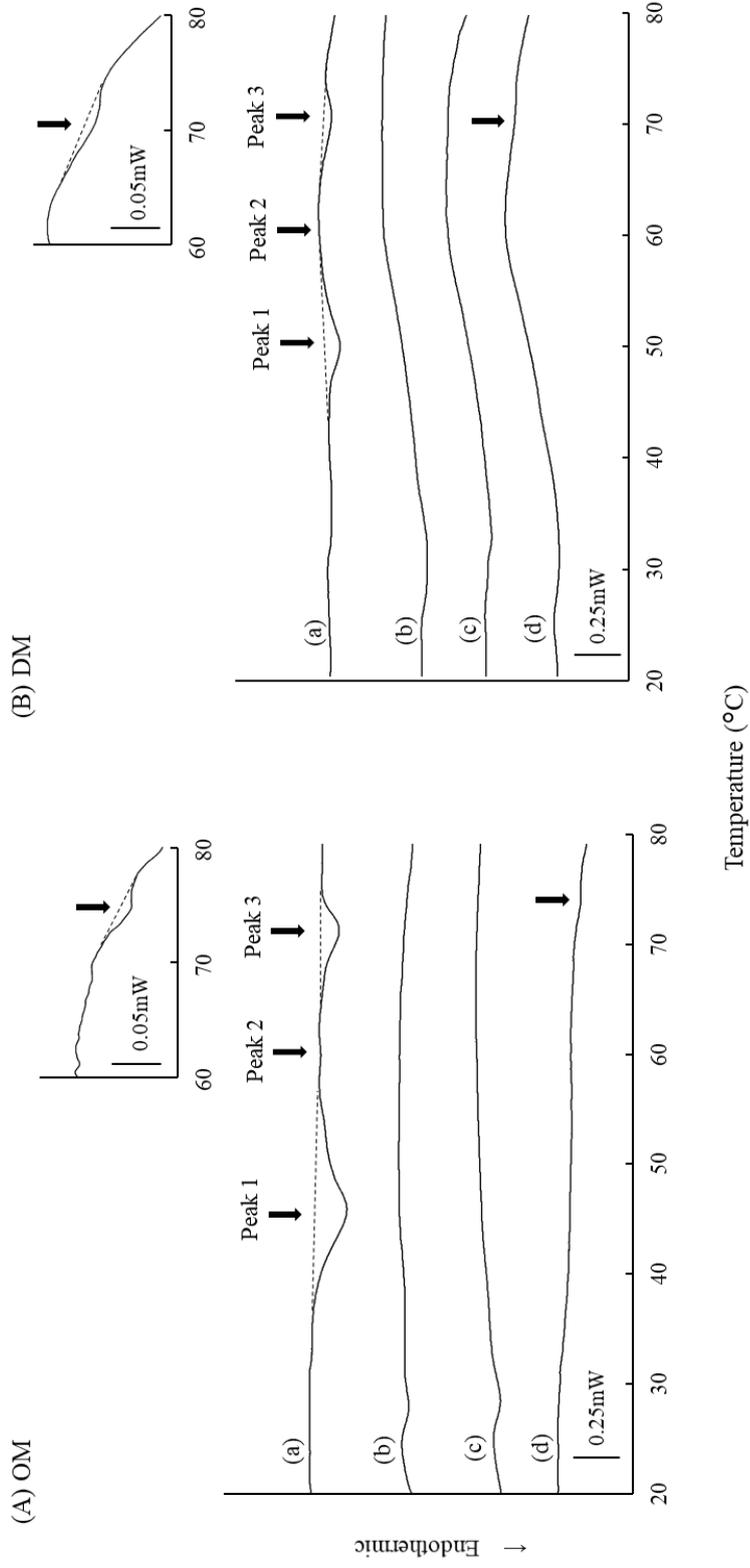


Fig.3-5 DSC thermograms of OM and DM after heating under different conditions.

(A)OM; ordinary muscle from dorsal part, (B)DM; dark muscle.
 Heating conditions: (a) Unheated; (b) 85 °C; (c) 75 °C; (d) 63 °C.
 Insert presents the magnified thermogram of (d) from 60 to 80°C .

Table 3-1 The maximum peak temperature (T_{\max}) and the denaturation enthalpy change (ΔH) of OM and DM after heating under different conditions.

Muscle types	OM						DM		
	85 ° C	75 ° C	63 ° C	Unheated	85 ° C	75 ° C	63 ° C	Unheated	
Heating conditions									
T_{\max} (° C)									
peak 1	-	-	-	45.8 ± 0.4	-	-	-	49.5 ± 0.4	
peak 2	-	-	-	60.7 ± 0.3	-	-	-	60.1 ± 0.0	
peak 3	-	-	74.5 ± 0.3	71.6 ± 0.3	-	-	72.7 ± 0.5	71.0 ± 0.2	
ΔH (J/g)									
peak 1	-	-	-	1.37 ± 0.22	-	-	-	0.28 ± 0.06	
peak 2	-	-	-	0.02 ± 0.01	-	-	-	0.01 ± 0.00	
peak 3	-	-	0.02 ± 0.01	0.39 ± 0.02	-	-	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.01	

OM; ordinary muscle from dorsal part, DM; dark muscle.

The values indicate means ± standard deviation of triplicate determinations ($n = 3$).

Table 3-2 Collagen contents of OM and DM after heating under different conditions.

Muscle types	OM				DM			
	85 ° C	75 ° C	63 ° C	Unheated	85 ° C	75 ° C	63 ° C	Unheated
Heating conditions								
Soluble collagen (mg/fish meat g)	1.56 ± 0.55	1.53 ± 0.41	2.18 ± 0.24	1.05 ± 0.64	1.24 ± 0.23	1.49 ± 0.28	1.65 ± 0.19	0.93 ± 0.35
Total collagen (mg/fish meat g)	4.52 ± 0.51	3.88 ± 1.31	4.00 ± 0.39	5.63 ± 0.32	4.22 ± 0.67	4.71 ± 1.11	4.61 ± 1.32	5.90 ± 0.80
Collagen solubility (%)	34.2 ± 9.5	40.0 ± 2.6	54.6 ± 6.6	18.7 ± 11.4	30.3 ± 9.9	31.9 ± 4.7	37.7 ± 10.7	16.4 ± 7.9

OM; ordinary muscle from dorsal part, DM; dark muscle

The values indicate means ± standard deviation of triplicate determinations ($n = 3$).

Collagen solubility (%): soluble collagen amount / total collagen amount × 100.

Different small letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

第 4 章 総括

魚肉の加熱は、微生物的安全性を確保し、消費期限を延長でき、かつ望ましい官能特性を得られることから、加工において最も重要な方法のひとつである。したがって、魚をよりおいしく食べるための加熱加工方法を検討することは、消費拡大に向けた一つの知見を得るための基礎的研究として重要である。一方で、普通肉と血合肉では品質特性が大きく異なると考えられ、かつ、通常の加工において普通肉と血合肉を同時に加熱し、消費することを踏まえると、各部位の品質特性に関する知見を得たうえで、その変化を評価し、理解したうえで、最適加熱条件を設定する必要があると考えられる。本研究は、加熱条件が普通肉と血合肉のテクスチャーおよび呈味成分特性に及ぼす影響とその要因の解明を行い、加熱による魚肉各部位の品質特性変化の一端を明らかにした研究である。

第 2 章では、魚肉の最適加熱条件を検討するための基礎的知見を得ることを目的として、加熱条件の違いが魚肉各部位（OM および DM）のテクスチャーおよび呈味成分特性に及ぼす影響について検討した。結果から、OM および DM のかたさおよびサンプル厚は、加熱条件により影響を受けており、特に LTLT では、HTST と比較してやわらかい傾向を示し、筋収縮が抑えられることが明らかとなった。さらに、LTLT の EUC から算出した TAV は、HTST と比較して OM で高く、DM で低かった。以上の結果から、加熱条件はテクスチャーや呈味強度に影響を及ぼしており、特に LTLT によって各部位ともやわらかいテクスチャーになる傾向が示されたものの、呈味強度は OM で高く、DM で低いことが示された。

第3章では、第2章において認められた、加熱条件による魚肉各部位のテクスチャー変化における差異の要因について明らかにすることを目的として、魚肉各部位のタンパク質組成およびタンパク質の変性度合に及ぼす影響について検討した。タンパク質組成の結果から、加熱条件は、魚肉各部位においてタンパク質の変性・凝集の程度に影響を及ぼしており、その変性度合はLTLTほど低い傾向にあることが明らかとなった。SDS-PAGE、DSCの結果から、LTLTによる加熱魚肉では、アクチン変性度合がHTSTよりも低いことが示唆された。加えて、コラーゲンの可溶化は、LTLTにおいてHTSTよりも進む傾向が示唆された。以上の結果から、アクチンおよびコラーゲンの変性度合の差異が、LTLTによる加熱魚肉がよりやわらかく、筋収縮が抑えられていた要因である可能性が示唆された。

以上述べたとおり、本研究において、魚肉の加熱条件の違いにより変化するテクスチャーおよび呈味成分特性の知見を得ることで、品質特性変化の一端が明らかとなった。しかしながら、ヒトが実際に食した際の評価については不明であることから、今後、官能評価を行い、その結果に基づいて“消費者が受容する範囲、好ましいと考える範囲”について明らかにする必要がある。また、呈味成分、特に核酸関連物質の変化は、魚肉中の内在酵素の関与によると考えられたものの、これらの内在酵素が熱処理中にどのように失活するのか、どの程度熱耐性をもつのかについても、今後検討する必要がある。さらには、魚肉のテクスチャー変化について、加熱中のタンパク質の構造変化が、どのように組織構造の変化をもたらし、テクスチャーの差異に寄与していたのか、その詳細については組織構造

の観察によって検証することも必要である。このように，加熱魚肉の最適加熱条件設定を行うためには，さらに多くの知見を得る必要がある。しかしながら，本研究で得られた知見が，魚肉加熱時の品質制御のための基礎的知見としてだけでなく，水産資源の利用・加工へ応用されることを期待する。

謝辞

本研究の実施と論文の執筆にあたり，終始懇切なるご指導とご校閲を賜りました県立広島大学 地域創生学部 谷本昌太教授に心から感謝申し上げます。

本学位論文の審査にあたり，有益なご助言とご指導を賜りました県立広島大学 地域創生学部 北台靖彦教授 並びに生物資源科学部 馬淵良太准教授，吉野智之准教授に心より感謝申し上げます。

実験遂行にあたり，ご指導を賜りました広島県立総合技術研究所 水産海洋技術センター 川口修博士，県立広島大学 地域創生学部 石橋ちなみ助教に心より御礼申し上げます。

また，実験遂行にあたり，ご協力いただきました県立広島大学食品学研究室の皆様，同研究室卒業生の皆様に深く感謝いたします。

そして，学位取得に際し，多大なるご理解とご配慮を賜りました山形県立米沢栄養大学の皆様，県立広島大学の皆様に深く感謝申し上げます。

最後に，いつも温かく見守ってくれた家族に心から感謝いたします。

参考文献

- 石渡奈緒美，福岡美香，為後彰宏，酒井昇（2013）真空調理法に基づく畜肉加熱処理時のタンパク質変性分布および微生物挙動の予測．日本食品工学会誌 **14**:19-28
- 内山均，江平重男（1970）核酸関連化合物からみた魚類鮮度化学研究の現状．日本水産学会誌 **36**:977-992
- 鴻巣章二（1973）魚貝類の味．日本食品工業学会誌 **9**: 432-439
- 鴻巣章二，渡辺勝子，郡山剛，白井隆明，山口勝己（1988）ホタテガイのエキス成分とオミッショントテストによる呈味有効成分の同定．日本食品工業学会誌 **35**:252-257
- 小西洋太郎（2019）栄養科学イラストレイテッド 食品学Ⅱ．栢野新市，水品義之，小西洋太郎編．羊土社，東京，p.93
- 小俣靖（1964）ウニのエキス成分に関する研究-IV．日本水産学会誌 **30**:749-756
- 斎藤恒行，新井健一，矢島敏克（1959）水産動物筋肉中の有機磷酸化合物に関する研究-VII．日本水産学会誌 **25**:573-575
- 西塔正孝，國崎直道（1998）天然および養殖トラフグ筋肉の一般成分，脂肪酸組成，遊離アミノ酸，無機質および筋肉硬度について．日本水産学会誌 **64**:116-120
- 銭谷武平，山北博（1956）ハイドロオキシプロリンの定量法と魚皮・魚鱗中の含有量について．長崎大学水産学部研究報告 **4**:73-76
- 富岡和子，遠藤金次（1984）各種魚肉のK値変化速度とイノシン酸分解酵素活性．日本水産学会誌 **50**:889-892
- 富岡和子，遠藤金次（1994）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

- 中島宣郎，市川恒平，鎌田政喜，藤田栄一郎（1961）5'-リボヌクレオチドの食品化学的研究(第2報)．日本農芸化学会誌 **35**:803-808
- 沼倉忠弘，関伸夫，木村郁夫，豊田恭平，藤田孝夫，高間浩蔵，新井健一（1985）坐りによる肉糊のゲル形成とミオシンの交差結合反応．日本水産学会誌 **51**:1559-1565
- 村田道代，安藤正史，坂口守彦（1995）魚肉の鮮度とおいしさ．日本食品科学工学会誌 **42**:462-468
- Abraha B, Admassu H, Mahmud A, Tsighe N, Shui XW,1 Fang Y（2018）Effect of processing methods on nutritional and physico-chemical composition of fish: a review. *MOJ Food Process. Technol.* **6**:376-382
- Akahane T, Chihara S, Niki TP, Sano T, Tsuchiya T, Noguchi SF, Ookami H, Matsumoto JJ（1985）Differential scanning calorimetric studies on thermal behaviors of myofibrillar proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi* **51**:1841-1846
- Bains K, Uppal V, Kaur H(2014) Optimization of germination time and heat treatments for enhanced availability of minerals from leguminous sprouts. *J. Food Sci. Technol.* **51**:1016-1020
- Barbera S, Tassone S（2006）Meat cooking shrinkage: Measurement of a new meat quality parameter. *Meat Sci.* **73**:467-474
- Bell JW, Farkas BE, Hale SA, Lanier TC（2001）Effect of thermal treatment on moisture transport during steam cooking of Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) . *J. Food Sci.* **66**:307-313
- Bi S, Chen L, Sun K, Wen Y, Xue O, Xue C, Li Z, Sun C, Wei Z, Liu H（2021）Investigating influence of aquaculture seawater with

- different salinities on non-volatile taste-active compounds in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Food Meas. Charact.* **15**:2078-2087
- Chen DW, Zhang M (2007) Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab. *Food Chem.* **104**:1200-1205
- Chen L, Zeng W, Rong Y, Lou B (2021) Characterisation of taste-active compositions, umami attributes and aroma compounds in Chinese shrimp. *Int. J. Food Sci. Technol.* **56**:6311-6321
- Clerjon S, Damez JL (2007) Microwave sensing for meat and fish structure evaluation. *Meas. Sci. Technol.* **18**:1038-1045
- Davidek J, Velíšek J, Janíček G (1972) Stability of inosinic acid, inosine and hypoxanthine in aqueous solutions. *J. Food Sci.* **37**:789-790
- Daifuku M, Yaguchi Y, Nishi K, Okamoto T, Nakano H, Nishimoto S, Nishikawa S, Yamashita H, Takimoto S, Sugahara T (2011) Immunostimulation effects of yellowtail heart extracts in vitro and in vivo. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **75**:638-645
- Dunajski E (1979) Texture of fish muscle. *J Tex Stud* **10**:301-318
- Eilert SJ, Mandigo RW (1993) Procedure for soluble collagen in thermally processed meat products. *J. Food Sci.* **58**:948-949
- Fagan JD, Gormley TR (2005) Effect of sous vide cooking, with freezing, on selected quality parameters of seven fish species in a range of sauces. *Eur. Food Res. Technol.* **220**:299-304
- Fan H, Fan D, Huang J, Zhao J, Yan B, Ma S, Zhou W, Zhang H (2020) Cooking evaluation of crayfish (*Procambarus clarkia*) subjected to

- microwave and conduction heating: A visualized strategy to understand the heat-induced quality changes of food. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **62**:102368
- Farmer L, McConnell JM, Kilpatrick D (2000) Sensory characteristics of farmed and wild Atlantic salmon. *Aquaculture* **187**:105-125
- Feng X, Moon SH, Lee HY, Ahn DU (2016) Effect of irradiation on the degradation of nucleotides in turkey meat. *LWT* **73**:88-94
- Friedman HH, Whitney JE, Szczesniak AS (1963) The texturometer - A new instrument for objective texture measurement. *J. Food Sci.* **28**:390-396
- Fuke S, Konosu S (1991) Taste-active components in some foods: A review of Japanese research. *Physiol. Behav.* **49**:863-868
- Gao R, Feng X, Li W, Yuan L, Ge J, Lu D, Chen B, Yu G (2016) Changes in properties of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) protein during thermal denaturation. *Food Sci. Biotechnol.* **25**:21-26
- Gao X, Zhang J, Liu E, Yang M, Chen S, Hu F, Ma H, Liu Z, Yu X (2019) Enhancing the taste of raw soy sauce using low intensity ultrasound treatment during moromi fermentation. *Food Chem.* **298**:124928
- Godiksen H, Morzel M, Hyldig G, Jessen F (2009) Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) . *Food Chem.* **113**:889-896
- Gram L, Huss HH (1996) Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.* **33**:121-137

- Hashimoto K, Watabe S, Kono M, Shiro K (1979) Muscle protein composition of sardine and mackerel. *Nippon Suisan Gakkaishi* **45**:1435-1441
- Hassoun A, Heia K, Lindberg S, Nilsen H (2020) Spectroscopic techniques for monitoring thermal treatments in fish and other seafood: A review of recent developments and applications. *Foods* **9**:767
- Hastings RJ, Rodger GW, Park R, Matthews AD, Anderson EM (1985) Differential scanning calorimetry of fish muscle: The effect of processing and species variation. *J. Food Sci.* **50**:503-506
- Hatae K, Yoshimatsu F, Matsumoto JJ (1984) Discriminative characterization of different texture profiles of various cooked fish muscles. *J. Food Sci.* **49**:721-726
- Hatae K, Yoshimatsu F, Matsumoto JJ (1990) Role of muscle fibers in contributing firmness of cooked fish. *J. Food Sci.* **55**: 693-696
- Hatae K, Nakai H, Tanaka C, Shimada A, Watabe S (1996) Taste and texture of abalone meat after extended cooking. *Fish. Sci.* **62**:643-647
- Hayashi T, Yamaguchi K, Konosu S (1981) Sensory analysis of taste-active components in the extract of boiled snow crab meat. *J. Food Sci.* **46**:479-483
- Hayashi T, Kohata H, Watanabe E, Toyama K (1990) Sensory study of flavour compounds in extracts of salted salmon eggs (ikura). *J. Sci. Food Agric.* **50**:343-356
- Hong H, Regenstein JM, Luo Y (2017) The importance of ATP-related

- compounds for the freshness and flavor of post-mortem fish and shellfish muscle: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutri.* **57**:1787-1798
- Howell BK, Matthews AD, Donnelly AP (1991) Thermal stability of fish myofibrils: a differential scanning calorimetric study. *Int. J. Food Sci. Technol.* **26**:283-295
- Ishiwatari N, Fukuoka M, Sakai N (2013) Effect of protein denaturation degree on texture and water state of cooked meat. *J. Food Eng.* **117**:361-369
- Kani Y, Yoshikawa N, Okada S, Abe H (2007) Comparison of extractive components in muscle and liver of three Loliginidae squids with those of one Ommastrephidae species. *Fish. Sci.* **73**:940-949
- Kani Y, Yoshikawa N, Okada S, Abe H (2008) Taste-active components in the mantle muscle of the oval squid *Sepioteuthis lessoniana* and their effects on squid taste. *Food Res. Int.* **41**:371-379
- Kanoh S, Polo JMA, Kariya Y, Kaneko T, Watabe S, Hashimoto K (1988) Heat-induced textural and histological changes of ordinary and dark muscles of yellowfin tuna. *J. Food Sci.* **53**:673-678
- Kong F, Tang J, Rasco B, Crapo C, Smiley S (2007a) Quality changes of salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) muscle during thermal processing. *J. Food Sci.* **72**:S103-111
- Kong F, Tang J, Rasco B, Crapo C (2007b) Kinetics of salmon quality changes during thermal processing. *J. Food Eng.* **83**:510-520
- Kubota S, Ito K, Niizeki N, Song XA, Okimoto K, Ando M, Murata M, Sakaguchi M (2002) Organic taste-active components in the

- hot-water extract of yellowtail muscle. *Food Sci. Technol. Res.* **8**:45-49
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**:680-685
- Liang X, Yoshida A, Osatomi K, Wang Y, Cao MJ, Hara K (2012) Degradation of myofibrils in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* burnt meat: effects of a myofibril-bound EDTA-sensitive protease. *Fish. Sci.* **78**:147-153
- Liu TT, Xia N, Wang QZ, Chen DW (2019) Identification of the non-volatile taste-active components in crab sauce. *Foods* **8**:324
- Liu Y, Zhang C, Chen S (2013) Comparison of active non-volatile taste components in the viscera and adductor muscles of oyster (*Ostrea rivularis Gould*). *Food Sci. Technol. Res.* **19**:417-424
- Llave Y, Shibata-Ishiwatari N, Watanabe M, Fukuoka M, Hamada-Sato N, Sakai N (2018) Analysis of the effects of thermal protein denaturation on the quality attributes of sous-vide cooked tuna. *J. Food Process. Preserv.* **42**:e13347
- Lwin KS, Fuke S (2002) Role of proteins in the taste of red sea bream extract. *Fish. Sci.* **68**:1398-1401
- Martínez-Alvarez O, López - Caballero ME, Gómez - Guillén MC, Montero P (2009) The effect of several cooking treatments on subsequent chilled storage of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with different melanosis-inhibiting formulas. *LWT* **42**:1335-1344
- Meyer S, Dunkel A, Hofmann T (2016) Sensomics-Assisted Elucidation

- of the Tasant Code of Cooked Crustaceans and Taste Reconstruction Experiments. *J. Agric. Food Chem.* **64**:1164-1175
- Nakayama T, Kimata T, Ooi A (1990) Texture of raw and cooked fish muscles investigated by sensory and instrumental evaluations. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **37**:988-996
- Niamnuy C, Devahastin S, Soponronnarit S (2007) Quality changes of shrimp during boiling in salt solution. *J. Food Sci.* **72**:S289-297
- Ofstad R, Kidman S, Hermansson AM (1996) Ultramicroscopical structures and liquid loss in heated cod (*Gadus morhua* L) and salmon (*Salmo salar*) muscle. *J. Sci. Food Agric.* **72**:337-347
- Ovissipoura M, Rasco B, Tangb J, Sablani SS (2013) Kinetics of quality changes in whole blue mussel (*Mytilus edulis*) during pasteurization. *Food Res. Int.* **53**:141-148
- Palka K, Daun H (1999) Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine *M. semitendinosus* during heating. *Meat Sci.* **51**:237-243
- Poulter RG, Ledward DA, Godber S, Hall G, Rowlands B (1985) Heat stability of fish muscle protein. *J. Food Technol.* **20**:203-217
- Qixing J, Zhengran M, Shuoshuo W, Yanshun X, Fengyu T, Xueqin X, Peipei Y, Wenshui X (2014) Effect of temperature on protein compositional changes of big head carp (*Aristichthys nobilis*) muscle and exudates. *Food Sci. Technol. Res.* **20**:655-661
- Reza SA, Karmaker S, Hasan M, Roy S, Hoque R, Rahman N (2015) Effect of traditional fish processing methods on the proximate and microbiological characteristics of *Laubuka dadiburjori* during

- storage at room temperature. *J. Fish Aquat. Sci.* **10**:232–243
- Rosnes JT, Skåra T, Skipnes D (2011) Recent Advances in Minimal Heat Processing of Fish: Effects on Microbiological Activity and Safety. *Food Bioproc. Tech.* **4**:833-848
- Ruxton CHS, Reed SC, Simpson MJA, Millington KJ (2004) The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. *J. Hum. Nutr. Diet.* **17**:449-459
- Sakaguchi M, Murata M, Kawai A (1982) Changes in free amino acids and creatine contents in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) muscle during ice storage. *J. Food Sci.* **47**:1662-1666
- Samejima K, Ishioroshi M, Yasui T (1982) Heat induced gelling properties of actomyosin: effect of tropomyosin and troponin. *Agric. Biol. Chem.* **46**:535-540
- Sarower MG, Farah AM, Biswas B, Abe H (2012) Taste producing components in fish and fisheries products: A review. *Int. J. Food Ferment. Technol.* **2**:113-121
- Schlichtherle-Cerny H, Grosch W (1998) Evaluation of taste compounds of stewed beef juice. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* **207**:369-376
- Schubring R (1999) DSC studies on deep frozen fishery products. *Thermochim Acta* **337**:89-95
- Shah AKMA, Ishihara T, Ogasawara M, Kurihara H, Baba N, Takahashi K (2010a) Mechanism involved in the formation of characteristic taste and flavor during the production of dried herring (*clupea pallasii*) fillet. *Food Sci. Technol. Res.* **16**:201-208

- Shah AKMA, Ogasawara M, Egi M, Kurihara H, Takahashi K (2010b) Identification and sensory evaluation of flavor enhancers in Japanese traditional dried herring (*Clupea pallasii*) fillet. *Food Chem.* **122**:249-253
- Shea F, Watts CE (1939) Dumas method for organic nitrogen. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **11**:333-334
- Shiau CY, Pong YJ, Chiou TK, Chai T (1996) Free amino acids and nucleotide-related compounds in milkfish (*Chanos chanos*) muscles and viscera. *J. Agric. Food Chem.* **44**:2650-2653
- Shirai T, Hirakawa Y, Koshikawa Y, Toraishi H, Terayama M, Suzuki T (1996) Taste components of Japanese spiny and shovel-nosed lobsters. *Fish. Sci.* **62**:283-287
- Shirai T, Kikuchi N, Matsuo S, Uchida S, Inada H, Suzuki T, Hirano T (1997) Taste components of boreo pacific gonate squid *Gonatopsis borealis*. *Fish. Sci.* **63**:772-778
- Skipnes D, Van der Plancken I, Van Loey A, Hendrickx ME (2008) Kinetics of heat denaturation of proteins from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) . *J. Food Eng.* **85**:51-58
- Strzelczak A, Balejko J, Szymczak M, Witczak A (2021) Effect of protein denaturation temperature on rheological properties of baltic herring (*Clupea harengus membras*) muscle tissue. *Foods* **10**:829
- Tidwell JH and Allan GL (2001) Fish as food: Aquaculture's contribution. Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *EMBO Rep.* **21**:958-963
- Tornberg E (2005) Effects of heat on meat proteins-Implications on

- structure and quality of meat products. *Meat Sci.* **70**:493-508
- Uchiyama H, Ehira S (1974) Relation between freshness and acid-soluble nucleotides in aseptic cod and yellowtail muscles during ice storage. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* **78**:23-31
- Van der Plancken I, Van Loey A, Hendrickx ME (2006) Effect of heat-treatment on the physico-chemical properties of egg white proteins: A kinetic study. *J. Food Eng.* **75**:316-326
- Venugopal V, Shahidi F (1996) Structure and composition of fish muscle. *Food Rev. Int.* **12**:175-197
- Wattanachant S, Benjakul S, Ledward DA (2005) Effect of heat treatment on changes in texture, structure and properties of Thai indigenous chicken muscle. *Food Chem.* **93**:337-348
- Woessner JF (1961) The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch. Biochem. Biophys.* **93**:440-447
- Wold JP (2016) On-line and non-destructive measurement of core temperature in heat treated fish cakes by NIR hyperspectral imaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **33**:431-437
- Woods EF (1969) Studies on the denaturation of tropomyosin and light meromyosin. *Int. J. Protein Res.* **1**:29-43
- Xu Y, Chen Y, Cao Y, Huang Y, Zhang C, Xia W, Jiang Q (2016) Effect of steam cooking on textural properties and taste compounds of shrimp (*Metapenaeus ensis*). *Food Sci. Technol. Res.* **22**:75-81
- Yamaguchi H, Nakaya M, Kaneko G, Yoneda C, Mochizuki T, Fukami K, Ushio H, Watabe S (2013) Comparison in taste and extractive

- components of boiled dorsal muscle and broth from half-smooth golden puffer *Lagocephalus spadiceus* caught in Japan with those of the same fish imported. *Fish. Sci.* **79**:327-334
- Yamaguchi S, Yoshikawa T, Ikeda S, Ninomiya T (1971) Measurement of the relative taste intensity of some 1- α -amino acids and 5'-nucleotides. *J. Food Sci.* **36**:846-849
- Zhang J, Yao Y, Ye X, Fang Z, Chen J, Wu D, Liu D, Hu Y (2013) Effect of cooking temperatures on protein hydrolysates and sensory quality in crucian carp (*Carassius auratus*) soup. *J. Food Sci. Technol.* **50**:542-548
- Zhang R, Qiu W, Zhang M, Row KH, Cheng Y, Jin Y (2018) Effects of different heating methods on the contents of nucleotides and related compounds in minced Pacific white shrimp and Antarctic krill. *LWT* **87**:142-150
- Zhang N, Wang W, Li B, Liu Y (2019) Non-volatile taste active compounds and umami evaluation in two aquacultured pufferfish (*Takifugu obscurus* and *Takifugu rubripes*). *Food Biosci.* **32**:100468
- Zheng JY, Tao NP, Gong J, Gu SQ, Xu CH (2015) Comparison of non-volatile taste-active compounds between the cooked meats of pre- and post-spawning Yangtze *Coilia ectenes*. *Fish. Sci.* **81**:559-568

URL サイト:

i) 農林水産省:食料需給表. <https://www.maff.go.jp/j/zyukyu/fbs/>

(Mar. 8, 2022)

ii) 財務省:貿易統計. <https://www.customs.go.jp/toukei/info/> (Mar. 8, 2022)

iii) FAO/WHO:

https://www.fao.org/input/download/standards/13215/CXG_079e.pdf
f (Mar. 8, 2022)

iv) 東京都保健福祉局:

<https://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/shokuhin/eng/rensai/guide11.html> (Mar. 8, 2022)

v) 厚生労働省:食品衛生法施行規則.

<http://www.japaneselawtranslation.go.jp/law/detail/?ft=2&re=01&dn=1&yo=%E9%A3%9F%E5%93%81%E8%A1%9B%E7%94%9F%E6%B3%95%E6%96%BD%E8%A1%8C&x=0&y=0&ia=03&ja=04&ph=&ky=&page=1> (Mar. 8, 2022)

vi) FDA: <https://www.fda.gov/media/80390/download> (Mar. 8, 2022)