

氏名(本籍)	くろ だ もと なか 黒田素央(埼玉県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博乙第1927号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Studies on the Novel Isopeptide, $\gamma$ -Glutamyl- $\beta$ -Alanyl-Histidine, in Meat Extracts (畜肉エキスに見出された新規ペプチド, $\gamma$ -グルタミル- $\beta$ -アラニル-ヒスチジンに関する研究)
主査	筑波大学教授 農学博士 小澤哲夫
副査	筑波大学教授 農学博士 松本宏
副査	筑波大学教授 農学博士 内山裕夫
副査	筑波大学教授 農学博士 木村俊範

### 論文の内容の要旨

多くの加工食品は加熱工程を経て製造される。この際食品中のタンパク質に各種の変化が起こる。特に本研究で課題とした蓄肉エキスにおいては、加熱を行うことにより、粘度が著しく低下し、肉様の呈風味が発現することが知られている。これは、エキス中のタンパク質成分の構造変化によるものと推測されている。しかし、蓄肉エキスの加熱における特性変化の原因となるタンパク質の構造変化についての研究はほとんどされていなかった。本研究では、上記の特性変化の原因を特定することを目的として、畜肉スープストックについて加熱を行い、タンパク質成分の変化についての種々の解析が行われた。

はじめに、牛肉スープストックの加熱に伴う一般成分および高分子画分中のアミノ酸組成の変化について検討が行われた。その結果、タンパク質中のヒスチジンおよび $\beta$ -アラニンの含量が増加することが発見された。 $\beta$ -アラニンはカルノシンやアンセリンの構成アミノ酸であり、タンパク質を構成するアミノ酸ではないことから、加熱に伴い、牛肉スープストックのタンパク質にカルノシンが結合したと推定された。高分子画分へのカルノシンの結合状態を明らかにするために、カルノシン結合物の単離と精製および構造解析を行い $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineと考えられるペプチドを得た。

次に、 $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineの生成機構を明らかにするために、カルノシンと各種アミノ酸との加熱を行い、ペプチドの生成について検討した。その結果、グルタミン酸をカルノシンと加熱した場合は $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineは生成せず、グルタミンとカルノシンを加熱した際に生成することが明らかになった。よって、 $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineはタンパク質中のグルタミン残基とカルノシンとのアミド交換反応によって生成すると推定された。さらに、食品製造、特に加熱工程における上記イソペプチドの挙動を調べるために、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた定量方法の構築を行った。すなわち、試料を酵素消化して固相抽出することにより $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineを含む画分を得、次いでフェニルイソチオシアネート(PITC)を用いてPTC-誘導体化した後HPLC分析を行う方法を確立した。この方法を用いることにより、各種蓄肉エキス高分子画分中の $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineを定量することが可能となった。牛肉スープストックの高分子画分について分析を行った結果、加熱に伴い $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineが増加することが解明された。

確立した分析方法を用いて、各種市販畜肉エキスについて調べた結果、すべてのエキス中に、 $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -

alanyl-histidineが含まれていた。このことは動物性食品の加熱製造中に、このイソペプチドが生成することを裏付けている。また、このイソペプチド含量の高い試料はより低い粘度を示す傾向が確認された。粘度低下は、高分子画分中に $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidine残基が生成すると水溶性コラーゲンの水素結合形成が阻害されることに基づくと推測した。このイソペプチド含量と高分子画分の肉様の呈風味（後味の伸び、厚み、広がり）、高分子画分の緩衝能との相関も認められた。これらの結果から、畜肉エキスの加熱に伴って高分子画分中に $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidine残基が形成され、高分子画分の緩衝能が増加することにより、肉様の呈風味が増加すると考えた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は畜肉エキスの加熱によるスープストックの物性や官能特性の変化に $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineの生成が関与していることを明らかにしたものである。最初に、著者は牛肉スープストックの加熱に伴う一般および高分子画分のアミノ酸組成の変化の分析結果から、牛肉スープストックのタンパク質にカルノシンが結合することを推定し、カルノシン結合物の追及を行い、 $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineを単離した。これは、新たな発見として評価できる。次いで、 $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineの生成機構を探求し、モデル反応から、このイソペプチドがタンパク質中のグルタミン残基とカルノシンとのアミド交換反応により生成することを明らかにした。食品製造における $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineの挙動を調べるためには定量法の確立が必要である。著者は試料の酵素消化および固相抽出を行って $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineを含む画分を得、これをPTC-誘導体化した後HPLC分析する方法を確立した。この方法を用いて、牛肉スープストックの加熱に伴って $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidineが増加すること、各種市販畜肉エキスにそれが含まれていることを明らかにした。さらに、畜肉スープストックの粘度低下、肉様の呈風味、高分子画分の緩衝能と $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidine含量との相関関係から、加熱に伴って高分子画分中に $\gamma$ -glutamyl- $\beta$ -alanyl-histidine残基が形成されると、水素結合形成の阻害により粘度の低下が起ること、高分子画分の緩衝能の増加が肉様の呈風味の増加に関与することを論じた。

以上のように、本研究により畜肉スープストック加熱による物性や官能特性の変化の要因の一つが明確に解明され科学的裏付けが行われた。このことは基礎と応用面から高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。