

魚肉のゲル形成に対する筋形質タンパク質の寄与^{*1}

森岡克司, 志水 寛

(1989年12月18日受付)

Contribution of Sarcoplasmic Proteins to Gel Formation
of Fish MeatKatsuji Morioka^{*2,3} and Yutaka Shimizu^{*2}

To investigate the effect of sarcoplasmic proteins (Sp-P) on the gel-formation of fish meat, the jelly strength of washed meat gel was compared with that of non-washed gel on the bases of both myofibril content and water content.

For the same water content, the strength of washed meat gel was 5 times higher than that of non-washed, while for the same myofibril content, the latter was 1.5 times higher than the former. This result indicated that Sp-P does not interfere with gel-formation of myofibrillar proteins, but positively contributes to it. This conclusion was confirmed from the fact that native Sp-P showed a stronger enhancing effect on the jelly strength of myofibril gel than did heat-denatured Sp-P.

魚類の落とし身を水晒しすると、出来上がったかまぼこのきめが細くなり、足も強くなることが知られている。水晒しは本来臭気成分、色素、脂肪、汚物を除くために行われるものであるが、同時に足を増強する効果も認められている。岡田²⁾はこの効果はゲル形成に関与しない脂肪およびその他の水溶性成分の除去によって足の主構成成分である筋原線維（以下 Mf と略す）タンパク質が濃縮されることと足の形成を阻害する筋形質タンパク質（以下 Sp-P と略す）が除かれることによると述べている。しかし、Sp-P の阻害効果を実際に証明した報告はなく、Sp-P のゲル形成におよぼす影響については不明な点が多い。

本研究では、無晒し肉ゲルと晒し肉のゲルの足の強さを同じ Mf タンパク質含量および同じ固形分含量の下で比較することにより魚肉のゲル形成に対する Sp-P の効果を検討した。その結果、新鮮なマサバでは Sp-P は Mf のゲル形成を阻害せず、むしろ増強することが明らかとなったので報告する。

実験方法

試料 マサバ *Scomber japonicus* は伊勢湾で漁獲された、採肉時の pH が 6.0 以上の死後硬直初期のもの、イ

トヨリダイ *Nemipterus bathybius* は京都市中央卸売市場で死後硬直後期のものを用いた。

筋形質タンパク質の調製 魚体から背部普通筋を採取し、4 mm 目の肉挽き機に通した後、その挽肉に 5 倍量の冷却したリン酸緩衝液 (I=0.05, pH=7.0) を加え、泡止めホモジナイザーで 3 分間磨砕し、その懸濁液を 12,000×g で 15 分間遠心分離して得られる上清を綿ろ過して集め Sp-P 溶液とした。

イトヨリダイ筋原線維の調製 イトヨリダイ背部普通肉に 5 倍量のホウ酸緩衝液 (0.09 M KCl, 5 mM EDTA, 0.039 M Borate buffer, pH=7.0) を加え、泡止めホモジナイザーで 5 分間磨砕して、5 mm 目のステンレスネットに通した後、遠心分離と洗浄を 4 回繰り返して得られた残渣を Mf とした。この Mf を水分 88% まで脱水濃縮した後、5% ショ糖を加えて -80°C で凍結保存しておき、随時解凍して実験に供した。全ての操作は 5°C の低温室で行った。

マサバ挽肉の水晒し実験 晒し肉および Mf の調製は Fig. 1 に示した方法に従って行った。アルカリ塩水晒しは、志水の方法³⁾に従い、1 回目は 4 倍量のアルカリ塩水 (0.15% NaCl+0.2% NaHCO₃)、2 回目以降は 4 倍量食塩水 (0.3% NaCl) で毎回 15 分間浸漬し、所定の重

*1 魚類筋形質タンパク質に関する原科学的研究—I.

*2 京都大学農学部水産学科 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University, Sakyo, Kyoto 606, Japan).

*3 現在、高知大学栽培漁業学科 (Department of Culture Fisheries, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

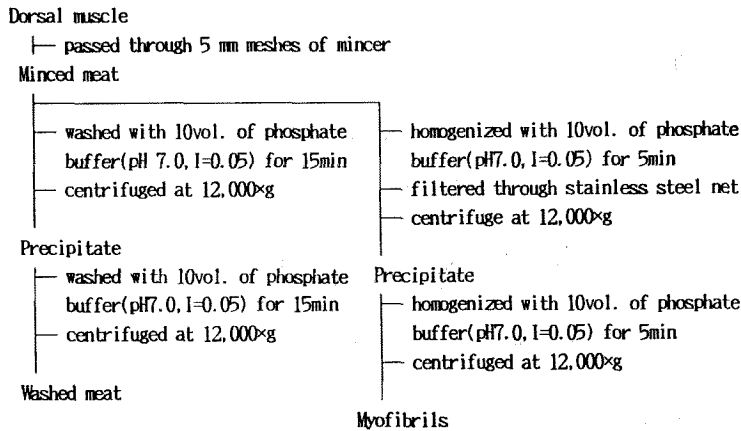


Fig. 1. Preparation procedures of minced meat, washed meat, and myofibrils.

量になるまで脱水して晒し肉とした。

加熱ゲルの調製 所定の水分, 所定の pH になるように挽肉に水と 1N NaOH 溶液を加え, その全量に対し 2.5% の食塩を添加し, 乳鉢で練って肉糊とした。添加実験を行う場合, Sp-P 溶液は透析チューブに入れポリエチレングリコール粉末 (M.W. 20,000) 中で所定の水分含量まで濃縮し, 濃縮後無機成分や非タンパク成分の影響を避けるため一晩緩衝液で透析した後使用した。この濃縮 Sp-P 溶液を同一水分含量の Mf タンパク質 3 に対して 1 添加し, よく混ぜてから 2.5% の食塩を加えて播潰し, 肉糊とした。すり上がった肉糊はガラスリング (直径 1.3 cm × 高さ 1.5 cm) に詰め, 調理用ラップで包んで密封し, 80°C の恒温槽の中で 10 分間加熱してゲル化させた。この場合, 加熱時間を 20 分, 30 分と延ばしてもそれ以上のゲル強度の上昇は認められなかった。加熱が終了したゲルは直ちに氷水中で急冷してから 5°C で保存し, 翌日室温に戻して強度試験に供した。

ゲルの強度試験 ゲルの強度の測定は, 押し込み試験と官能検査によった。押し込み試験は, 山電レオナー RE-3305 を用い, 直径 3 mm の円柱プランジャーを 1 mm/sec の速さでゲルに押し込んで破断させ, 破断強度 (g) と破断凹み (cm) を測定し, その積をジェリー強度 (g·cm) とした。官能検査は熟練パネラーによる噛み切り試験³⁾ と折り曲げ試験³⁾ によった。

成分の定量 水分は常圧乾燥法, 粗脂肪は Bligh-Dyer の方法⁴⁾, エキス窒素は Sp-P 溶液を 5% トリクロル酢酸で除タンパク後マイクロケルダール法によって定量した。Sp-P の定量は, 牛血清アルブミンを標準として Lowry らの方法⁵⁾ に従って行った。Mf タンパク質量はマイクロケルダール法によって全窒素を定量後, ケキス窒素および Sp-P を差し引いて求めた。

実験結果

水晒しのゲル形成におよぼす影響 かまぼこを製造する場合, 水晒しを行うと, その弾力が増加する。これは, Mf タンパク質濃度が増加すること, および足形成阻害因子である Sp-P が除去されることによると考えられている。¹⁾ この事実を確かめるためにマサバの無晒し肉, 晒し肉および同じ無晒し肉から調製した Mf から同一水分含量および同一 Mf タンパク質含量のゲルを造り, その強度を比較した。なお, ゲル強度 S と肉糊の Mf タンパク質含量 C との間には, $S = kC^n$ の関係が成り立つことが知られているので,⁶⁾ ここでは Mf 含量の異なる 3 点のゲルを調製し, それぞれ固形分含量および Mf タンパク質含量の対数に対して各ゲルのジェリー強度の対数をプロットして求められる直線によってゲル形成能を比較した。

Fig. 2 に示したように同一水分含量 (固形分含量約 13%) で比較すると晒し肉のゲルと Mf タンパク質のゲルはいずれも無晒し肉のゲルに比べて約 5 倍強くなっているが, 同一 Mf タンパク質含量 (約 10%) で比較すると, 逆に無晒し肉のゲルのほうが約 1.5 倍強くなっていた。このことから, Sp-P は, Mf タンパク質のゲル形成を阻害せず, 逆に補強することが示唆された。

この結果を別の方法で確かめるために, マサバのアルカリ塩水晒し肉について一般成分組成とゲル強度の関係を検討した。Table 1 に無晒し肉の一般成分組成およびゲル形成能を示した。脂肪は 1 回目の水晒しによってその半量が除去されたが, 2 回目以降はそれ以上除去されなかった。Mf タンパク質含量は無晒し肉と晒し肉の間でほとんど差がなかった。このことは, SDS 電気泳動上のミオシン重鎖およびアクチンの染色強度からも確かめられた。(結果は図示しない)

ゲルの強度を同一水分含量で比較すると 3 回目晒し

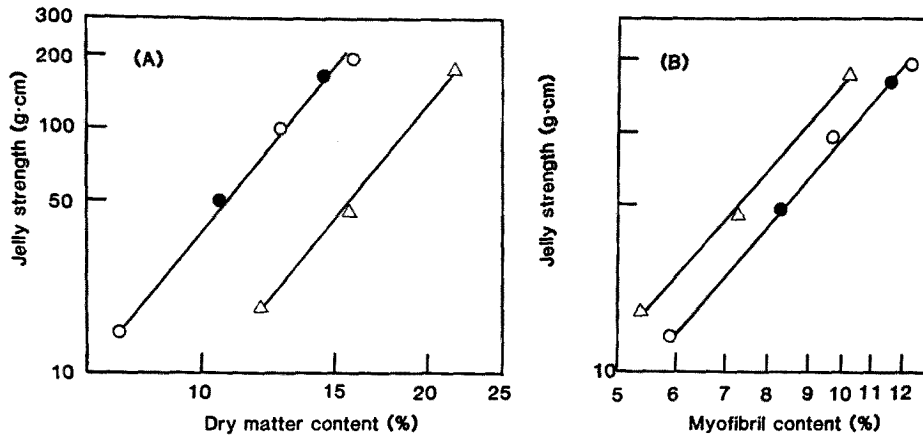


Fig. 2. Relationship of jelly strength to dry matter content (A) and myofibril content (B) in non-washed meat gel (Δ), washed meat gel (\circ), and myofibril gel (\bullet) prepared from Pacific mackerel.

Minced meat, washed meat and myofibrils were prepared by the procedures shown in Fig. 1. After adding necessary amounts of 1N NaOH and cold water to bring their pH and water content up to the prescribed values, they were ground with 2.5% NaCl in a mortar and pestle for 10 min at 5°C.

The meat sol obtained was then stuffed in a glass ring (diameter: 1.3 cm; height: 1.5 cm), wrapped with a polyvinylidene chloride film, and then heated in a water bath at 80°C for 10 min. Immediately after heating, the gels were cooled in ice water and then brought to room temperature for testing.

Table 1. Changes in proximate composition and gel-forming ability of Pacific mackerel meat by alkaline saline leaching

Times of washing	Moisture (%)	Lipid (%)	Myofibrillar* proteins (%)	Puncture force (g)	Puncture dent (cm)	Jelly strength (g·cm)
0	72.1	10.7	9.1	166	0.48	79.9
	86.4	5.2	4.4	19	0.38	7.0
1	83.3	5.0	9.1	60	0.45	26.9
2	85.3	4.0	9.1	42	0.44	18.6
3	86.4	3.9	9.0	38	0.43	16.1

* Myofibrillar proteins(%)=Total proteins(%)—Sarcoplasmic proteins(%).

肉のゲル強度は、無晒し肉の約 2 倍に増強されたが、同一 Mf 含量で比較すると 1 回目晒し肉のゲル強度は無晒し肉の約 1/3, 2 回目晒し肉は約 1/4, 3 回目晒し肉は約 1/5 に低下していた。

筋形質タンパク質の補強効果 マサバより調製した Sp-P をイトヨリダイ Mf に添加してゲルを作り、その強度の変化について検討した。この場合イトヨリダイ Mf を用いたのは、マサバ Mf は戻りを起こす可能性が考えられるので、その影響を避けるために洗浄で戻り活性を完全に除去できることが確かめられているイトヨリダイ Mf⁷⁾を使った。

Fig. 3 は、Sp-P 添加並びに無添加の Mf ゲルの強度

の対数を固形分含量および Mf 含量の対数に対してプロットして比較した結果である。前述の水晒し実験の場合と同様、同一水分含量で比較すると Sp-P 添加ゲルより Mf ゲルのほうが強くなり、同一 Mf 含量で比較すると逆に Sp-P 添加ゲルのほうが強くなった。つまり、Sp-P は Mf タンパク質ほどのゲル形成能を持たないが、Mf タンパク質のゲル形成を阻害せずに、むしろ高めていることが再確認できた。

次に、Sp-P を凝固させたときこの補強効果がどう変化するかを検討した。志水および西岡⁸⁾はアクトミオンと Sp-P が熱凝固の際相互に干渉しあい、またこの相互作用はあらかじめ Sp-P を熱凝固させると失われるこ

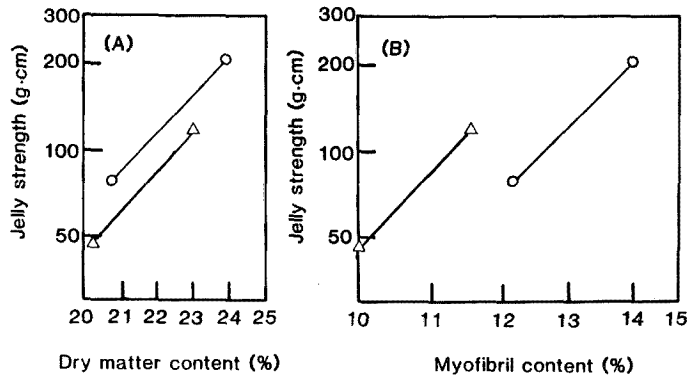


Fig 3. Effect of Pacific mackerel sarcoplasmic proteins (Sp-P) on the jelly strength of threadfin-bream myofibril (Mf) gel.

Sp-P was extracted from the white muscle in the dorsal part of Pacific mackerel with 5 vol. of phosphate buffer ($I=0.05$, pH 7.0).

Myofibrils were prepared from threadfin-bream by homogenizing its dorsal muscle with 5 volumes of buffer (0.09 M KCl, 5 mM EDTA, 0.039 M borate buffer, pH 7.0), washing with the same buffer solution four times, dehydrating to 85% water content, and adding 10% sucrose.

○ and △ represent control (Mf) gels and Sp-P added gel (mixing ratio of Sp-P to Mf, 1:3 in nitrogen basis), respectively. Each gel was prepared from control myofibril (76.2% moisture, 10.0% sucrose) by adding water or Sp-P solution.

(A) Jelly strength (g·cm) versus dry matter content (%)

(B) Jelly strength (g·cm) versus Mf content (%)

Dry matter content and Mf content in the figure were the values estimated before adding 2.5% NaCl.

Table 2. Effect of native and heat-coagulated sarcoplasmic proteins on gel-formation of threadfin-bream myofibrils

Additives	Puncture force (g)	Puncture dent (cm)	Jelly strength (g·cm)	Sensory score
Control* ¹	55.2	0.44	24.3	4-A
+Sp-P* ²	67.2	0.56	37.6	6-A
+DSp-P* ³	39.6	0.43	17.0	4-A

Sp-P was prepared from Pacific mackerel by homogenizing its dorsal muscle with 5 volumes of phosphate buffer ($I=0.05$, pH 7.0) and concentrating the extract obtained to 85% water content. Myofibrils were prepared from threadfin-bream by homogenizing its dorsal muscle with 5 volumes of buffer (0.09 M KCl, 5 mM EDTA, 0.039 M borate buffer, pH 0.7), washing with the same buffer solution four times, dehydrating to 88% water content, and adding 5% sucrose.

*¹ Water was added to myofibril (84% moisture, 5% sucrose) instead of Sp-P.

*² Native sarcoplasmic proteins added gel (Mf: Sp-P-3:1).

*³ Heat-coagulated sarcoplasmic proteins added gel (Mf: Sp-P-3:1).

とを報告している。もし、このアクトミオシンと Sp-P の間に認められる相互作用がゲル形成に対して補強的に働いているならば、未変性 Sp-P を添加したゲルは熱変性させた Sp-P を加えたゲルより強くなるはずである。この事実を確かめるためにイトヨリダイ Mf (84% 水分, 5% ショ糖) に未加熱 Sp-P および 90°C 10 分間加熱した Sp-P を添加してその強度を比較した。また、Sp-P と同量の水を加えたものをコントロールゲルとした。結果は、Table 2 に示したように、未加熱 Sp-P を加えたゲ

ルの強度は 90°C 10 分間加熱した Sp-P 添加ゲルの約 2 倍の強度になった。このことから、Sp-P は Mf タンパク質のゲル形成に対して補強的に働くことが明らかである。

考 察

かまぼこ製造において水晒しは現在足の改良の目的でほとんど必須の工程のように行われている。岡田¹⁾は水晒しの際の足増強効果は主として Sp-P が除去されるこ

とによると報告している。しかし、今回の我々の実験では、従来からいわれているように同一水分含量で比較すると無晒し肉より Mf 含量の高い晒し肉のほうが強くなったが、同一 Mf 含量で比較すると逆に無晒し肉のほうが強くなった。このことから、水晒しの足増強効果は主にゲル構造の主構成成分である Mf タンパク質の濃縮効果であると考えられる。しかし、Sp-P と Mf タンパク質とが無関係にゲル化しているということではない。両者の間には強い熱凝固相互作用が存在するが、それはゲル形成を阻害するのではなくむしろ補強的に働くことが示唆された。これは添加実験で Sp-P を加熱変性させると、その補強効果が失われることから確かめられた。しかし、橋本ら⁹⁾は、スケトウダラすり身にマサバの未変性と加熱変性 Sp-P を添加して強度を比較し、後者のほうが強度が強くなったと報告している。我々の結果との相違は、加熱方法の違いによるのかもしれない。橋本らは、かまぼこゲルの調製に 35°C で予備加熱してから 90°C で本加熱を行っているが、我々は予備加熱せずに 80°C で直接加熱ゲル化させた。Sp-P の熱凝固は 40°C 付近から始まるので、橋本らの場合、予備加熱の際 Sp-P の熱変性に先だつて Mf タンパク質間の網目構造が形成されるため、Sp-P が Mf のゲル形成にあまり寄与できなかったが、我々の場合は、Mf タンパク質と Sp-P の熱ゲル化反応がほぼ同時に行われるために、両タンパク質間に熱凝固相互作用の結果生ずる Sp-P の効果に差ができた可能性が考えられる。しかし、詳細については不明であり、加熱履歴の影響については今後の課題であ

る。

また、同程度のジェリー強度（無晒し肉ゲル 176 g·cm, 晒し肉ゲル 182 g·cm）を示した無晒し肉ゲルの食感を比較したところ、前者のほうが粘りがあり優れているという評価を得た。このことは、Sp-P はかまぼこゲルの足の質にとってむしろ好ましい効果を与えることを示唆するものである。今後、Sp-P のかまぼこゲルの物性におよぼす影響については特に足の質の面からさらに検討していく必要があると思われる。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金（研究課題番号 62304023）の援助によって行われた。

文 献

- 1) 岡田 稔: 日水誌, **30**, 255-261 (1964).
- 2) 志水 寛: 特許公報, 昭 40-21224 (1965).
- 3) 志水 寛, 町田 律, 竹並誠一: 日水誌, **47**, 95-104 (1981).
- 4) E. G. Bligh and W. J. Dyer: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- 5) O. H. Lowery, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 6) 平野 弘: 日化, **68**, 1081-1084 (1942).
- 7) H. Toyohara, M. Kinoshita, and Y. Shimizu: *J. Food. Sci.*, **55**, 259-260 (1990).
- 8) 志水 寛, 西岡不二男: 日水誌, **40**, 231-234 (1974).
- 9) 橋本昭彦, 加藤 登, 野崎 恒, 新井健一: 日水誌, **51**, 425-432 (1985).