

魚類筋形質タンパク質のゲル形成特性

森岡克司, 倉島健司, 志水 寛

(1991年10月18日受付)

Heat-gelling Properties of Fish Sarcoplasmic Protein*1

Katsuji Morioka,*2,3 Kenji Kurashima,*2,4 and Yutaka Shimizu*2,5

Heat-gelling properties of sarcoplasmic protein (Sp-P) from Pacific mackerel were studied under different conditions of protein concentration, temperature, pH, and NaCl concentration. Species variation in the gelling capacity of Sp-P was also examined with 9 fish species, including Pacific mackerel. The results obtained were as follows.

(1) Gels which could be subjected to a puncture test were obtained at concentrations of 10% Sp-P or more. With an increase in concentrations the puncture strength of the gel increased progressively, while the breaking dent changed little in a range of concentration from 10 to 20%. (2) Gelation was observed at temperatures of 60°C or more. The strongest gel was obtained at 65°C. (3) NaCl had a favorable influence upon the gelation of Sp-P. Jelly strength increased progressively with an increase of NaCl concentration up to 2.5%. (4) Optimum region of pH for gelation was found to range from 7.5 to 9.0. (5) The jelly strength order of Sp-P gels from 9 fish species was as follows: skipjack, yellowfin tuna >> rainbow trout, red sea bream > Pacific mackerel, sardine > tilapia, crucian carp, carp.

魚肉のゲル形成能に魚種間の差異が存在することはよく知られている。¹⁾ この差異は筋肉の化学組成の違いによると考えられるが、それにもっとも関係の深い成分としてはゲル構造の構築要素である筋原線維タンパク質とともに、筋原線維タンパク質との間の熱凝固相互作用が知られている筋形質タンパク質²⁾ (以下、Sp-P と略する) を挙げる事ができる。この Sp-P はこれまでの魚肉のゲル形成を阻害する因子と考えられてきた。³⁾ しかし、最近、著者ら⁴⁾ は Sp-P の魚肉のゲル形成能への影響を調べ、Sp-P が魚肉のゲル形成に対して必ずしも阻害的に働かず、むしろ補強的に働くこと、その効果は Sp-P を 90°C、10 分間加熱することによって失われることを報告した。この Sp-P の魚肉ゲル形成に対する補強効果を明らかにする上で Sp-P 自身の凝集力やゲル形成特性を調べることは重要であると考えられる。

そこで本研究ではマサバ Sp-P のゲル形成に及ぼすタンパク質濃度、加熱温度、pH、NaCl 濃度の影響を調べ、

さらにマサバを含む 9 魚種について同一条件で調製した Sp-P ゲルのジェリー強度を比較した。その結果、Sp-P は筋原線維タンパク質とは異なり、引っ張りには弱いですが、押し込みには非常に強いゲルを形成すること、ならびにそのゲル形成能に魚種間差が存在することを見いだしたので報告する。

実験方法

供試魚 マサバ Pacific mackerel *Scomber japonicus* は伊勢湾で漁獲された、採肉前の pH が 6.0 以上の死後硬直初期のものを使用した。また、魚種間差を比較する場合はさらに以下の 8 魚種を使用した。

マイワシ sardine *Sardinops melanostictus*, キハダマダロ yellowfin tuna *Thunnus albacares*, カツオ skipjack *Katsuwonus pelamis*, マダイ red sea bream *Pagrus major*, ゲンゴロウブナ crucian carp *Carassius auratus*, コイ carp *Cyprinus carpio*, ニジマス rainbow trout

*1 魚類筋形質タンパク質の原料学的研究-II.

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

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

*4 現在、読売ランド (株) (Present address, Yomiuri Land Co., Ltd., Yanoguchi, Inashiro, Tokyo 206, Japan).

*5 現在、神戸学院女子短期大学 (Present address, Kobe-gakuin Women's Junior College, Hayashiyama, Nagata, Kobe 653, Japan).

Oncorhynchus mykiss, テラピア *tilapia* *Oreochromis niloticus*.

試料魚は, キハダマグロ (漁獲後 2 日経過) を除き死後 24 時間以内の水蔵魚を用いた。

筋形質タンパク質の調製 魚体から背部普通肉を採取し, 4 mm の肉挽き機にかけた後, その挽肉に 5 倍量のリン酸緩衝液 (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 20 分間遠心分離して得られた上清を綿ろ過して集め, Sp-P 溶液とした。

加熱ゲルの調製およびジェリー強度の測定 Sp-P 溶液を透析チューブに入れ, ポリエチレングリコール (#20,000) を用いて所定の水分量まで濃縮した後, 抽出に用いたリン酸緩衝液に対して 5°C で一晩透析した。翌日水分含量を再調整後, 濃縮物を直径 1.5 cm, 高さ 1.5 cm, 厚さ 0.1 cm の円筒形ガラスリングに詰め, 80°C 10 分間加熱してゲル化させた。加熱が終了したゲルは, 直ちに氷水中で冷却した。得られたゲルは室温に戻した後, 押し込み試験に供した。押し込み試験は, 山電レオナー RE-3305 を用い, 直径 3 mm の円柱状プランジャーを 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。なお, ジェリー強度は各ゲル 3 検体の平均値を示した。

加熱凝固率の測定 Sp-P 溶液 10 ml を試験管に分取しラップで密封した後, 90°C で 15 分間加熱した。氷水中で冷却後, 12,000×g で 20 分間遠心分離を行い, 得られた上清中のタンパク質を定量し, 熱凝固したタンパク質量を求め, 加熱前の Sp-P 溶液のタンパク質量に対する比の百分率を加熱凝固率 (%) とした。

タンパク質の定量 タンパク質の定量は, 牛血清アルブミンを標準タンパク質として Lowry⁹⁾ の方法にしたかった。

結果および考察

タンパク質濃度とゲル形成能 Sp-P のゲル形成に及ぼすタンパク質濃度の影響について調べた。Sp-P 溶液は, タンパク質濃度が 10% を越えるあたりから押し込み強度測定が可能なゲルを形成した。Fig. 1 に示したようにゲルの破断強度はタンパク質濃度と共に増加した。一方, 破断凹みはタンパク質濃度 10 から 20% まではほとんど変化しなかったが, それ以上のタンパク質濃度では逆に減少傾向を示した。この Sp-P ゲルが押し込み試験で破断する様子を Fig. 2 に示した。Sp-P ゲルは押し込みに対しては非常に強い抵抗を示した。さらに Sp-P ゲルの特徴を明らかにするために同一条件 (タンパク質濃度 15%, NaCl 濃度 2.5%, 加熱温度 80°C, 加熱時

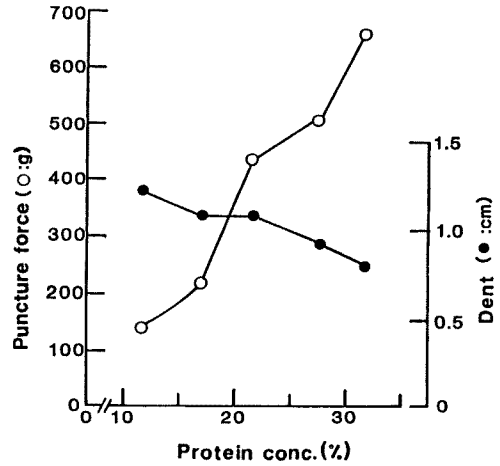


Fig. 1. Relation of protein concentration to puncture force and maximum dent of Pacific mackerel sarcoplasmic protein (Sp-P) gel.

The white muscle of Pacific mackerel was homogenized with 5 volumes of phosphate buffer (I=0.05, pH 7.0) by a non-bubbling homogenizer, and centrifuged at 12,000×g for 15 min. The supernatant was used as Sp-P solution after filtrating through absorbent cotton. Concentration of the Sp-P solution was adjusted to a fixed level by dehydrating with polyethylene glycol (#20,000). To make Sp-P gel, Sp-P solution was poured into a glass cylinder (1.5 cm in diameter, 1.5 cm in height, 0.1 cm in thickness), wrapped with polyvinylidene chloride films, and then heated in a water bath at 80°C for 10 min. Gels produced were immediately cooled in ice water to stop any further action of heat, and brought to room temperature, whereupon they were put to a puncture test. The puncture test was performed by using a Rheoner RE-3305 (Yamaden Co., Ltd., Tokyo) equipped with a 3 mm diameter cylindrical plunger. The speed of the stage on which the test piece was placed was set at 1 mm/s. From the force-deformation curve recorded, puncture force (g) and maximum dent (cm) were calculated. The product of puncture force and maximum dent was expressed as "jelly strength".

間: 押し込み試験用ゲル 10 分間; 引っ張り試験用ゲル 20 分間) で調製した Sp-P ゲル, 卵製アルブミンゲルおよび前報⁴⁾と同様にして調製した筋原線維タンパク質ゲルを押し込み試験および引っ張り試験に供してその破断パターンを比較検討した。Fig. 3 に示したように押し込み試験において Sp-P ゲルは筋原線維タンパク質ゲルに

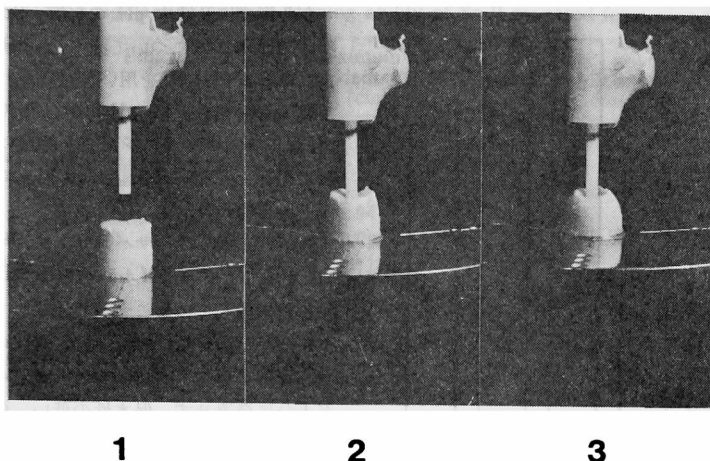


Fig. 2. Plunging pattern of Pacific mackerel Sp-P gel in the puncture test. Preparation procedure of the gel was the same as described in Fig. 1.

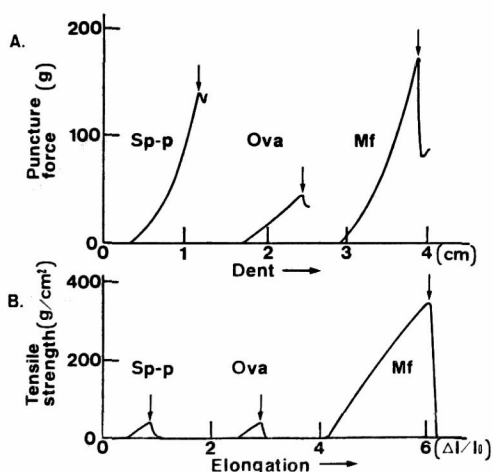


Fig. 3. Load-deformation curves of Pacific mackerel Sp-P gel, ovalbumin (Ova) gel, and threadfin bream myofibrillar protein (Mf) gel obtained by a puncture test (A) and a tensile test (B). Arrows in the figure represent the breaking point of each gel. Gels (15% protein) were prepared on conditions of 2.5% NaCl and pH 7.5. Puncture test was performed by the method as described in Fig. 1. Tensile test was carried out by the Shimizu method,¹⁾ using a ring-shaped test piece.

匹敵するジェリー強度を示し、卵製アルブミンよりも強いゲルを形成した。しかし、ゲルを引っ張り試験に供した場合、筋原線維タンパク質ゲルは押し込み試験同様に高いゲル強度を示したが、Sp-Pゲルおよび卵製アルブミンゲルは引っ張りに対しては非常に脆く、筋原線維タ

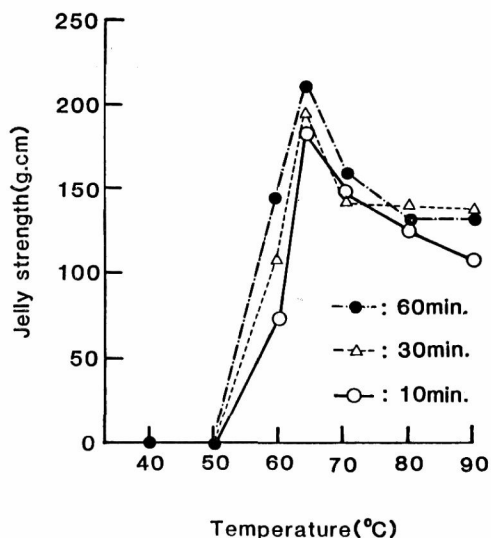


Fig. 4. Effect of heating temperature and heating time on jelly strength of Sp-P gels prepared from Pacific mackerel. Preparation procedure of the gel was the same as described in Fig. 1.

ンパク質ゲルの約 40 分の 1 の強度しか示さなかった。以上の結果から、Sp-Pゲルは押し込みおよび引っ張りに対して強い抵抗を示した筋原線維タンパク質ゲルとは異なり、押し込みに対しては非常に強いが引っ張りに対しては弱い特徴を持つ特異な物性のゲルを形成することが明かとなった。

ゲル形成に及ぼす加熱温度および加熱時間の影響
Sp-P 溶液 (水分 85%) を加熱温度 40, 50, 60, 65, 70, 80 および 90°C, また加熱時間 10, 30, および 60 分

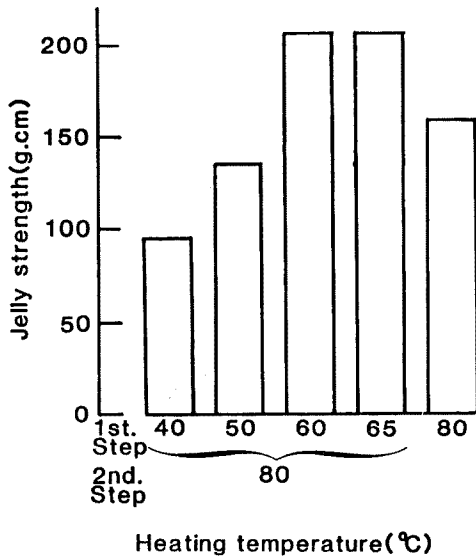


Fig. 5. Effect of pre-heating on jelly strength of Pacific mackerel Sp-P gels. Gels were prepared by the same procedure as described in Fig. 1.

加熱して得られたゲルのジェリー強度を Fig. 4 に示した。Sp-P の凝固は 40°C から始まったが、ゲル化には到らなかった。Sp-P のゲル化は 60°C から始まり 65°C でジェリー強度は最大となった。また、70°C 以上の領域では温度を上げてジェリー強度にほとんど変化はみられなかった。マサバ Sp-P 溶液は 70°C で凝固がほぼ完了するため、²⁾ それ以上温度を上げてジェリー強度に差が認められなかったものと考えられる。次に Sp-P のジェリー強度に及ぼす加熱履歴の影響について調べた。Fig. 5 には最初に 40, 50, 60, および 65°C で 10 分間加熱し、続いて 80°C で 10 分間再加熱して得られたゲルのジェリー強度の結果を示した。対照として 80°C 10 分間加熱ゲルのジェリー強度を示した。40~80°C 加熱ゲルおよび 50~80°C 加熱ゲルのジェリー強度は対照と比べて低く、60~80°C 加熱ゲルおよび 65~80°C 加熱ゲルのジェリー強度は対照と比べて高くなった。先に著者ら⁴⁾ は Sp-P の熱凝固特性について調べ、Sp-P は成分によって凝固する温度帯が異なっていることを報告した。40, 50°C であらかじめ加熱したゲルでは、この温度帯で凝固する一部の成分がまだ凝固しない成分とは独立して凝固してしまったためその後の全体での構造形成が十分に行われず、そのためジェリー強度が低下したと考えられる。

ゲル形成に及ぼす pH の影響 Sp-P のゲル形成に及ぼす pH の影響について調べた。pH の調整は 1 N HCl または 1 N NaOH を用いて行った。Fig. 6 に示したようにジェリー強度は pH 7 から 9 の間で最大となり、pH 6 以下ではゲルのジェリー強度は非常に低くなり、離水が激しく起こった。pH 9 以上でもジェリー強度の低下が認められた。

西岡, 志水⁵⁾ はマサバ, マアジ, ニベの Sp-P は pH 5.2 を中心とする pH 4.5 から 6.5 の領域で等電点沈殿すると報告していることから、この pH 領域での Sp-P ゲルのジェリー強度の低下は、正味の電荷が少なくタンパク質分子の脱水凝集が容易に起こったためゲルの構造が十分に発達せず、保水性の低い、弱いゲルになったことによると考えられる。また、pH 9 以上でのゲルのジェリー強度の低下は pH の上昇にともないタンパク質の持つ負の電荷が多くなり、これが静電的反発力となって、タンパク質分子間の結合力を弱めたためであると推察された。

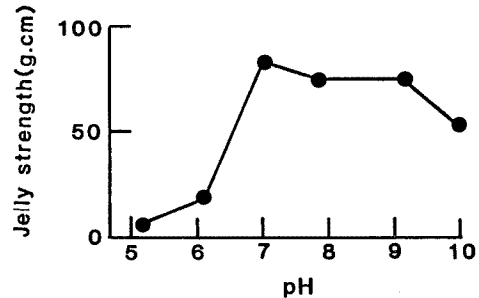


Fig. 6. Effect of pH on jelly strength of Pacific mackerel Sp-P gels. Preparation procedure of the gel was the same as described in Fig. 1.

ゲル形成に及ぼす NaCl の影響 Sp-P 溶液に 0 から 10% の NaCl を加えた時の加熱ゲルのジェリー強度の変化を Fig. 7 に示した。NaCl の添加とともにゲルのジェリー強度は上昇し、2.5% 添加で最大強度が得られ、無添加ゲルの約 1.8 倍 (177 g·cm) になった。この NaCl 添加によるゲル補強効果は、タンパク質の表面電荷におけるアニオンの選択的吸着⁶⁾ により、実効電荷が増すことで保水性が増大するために起こると考えられる。一方、NaCl 濃度が 5% 以上になると逆にジェリー強度は低下した。これは多量の塩イオンによって逆に水分子が奪われ、保水性が低下し、ゲルが脆くなったためであると考えられる。

Sp-P のゲル形成能の魚種間差 カツオ, キハダマダ

⁴⁾ 森岡克司, 志水 寛: アクトミオシンのゲル強度に及ぼす各種タンパク質の影響, 昭和 63 年日本水産学会秋季大会講演要旨集, 1985, p. 171.

Table 1. Heat coagulability and gel-forming ability of Sp-P prepared from nine fish species

Fish Species	Puncture force F (g)	Maximum dent d (cm)	Jelly strength F·d (g·cm)	Heat coagulability at 90°C (%)
Skipjack	264	1.00	264	98.0
Yellowfin tuna	219	1.10	241	96.7
Pacific mackerel	135	1.06	143	95.7
Sardine	106	0.94	100	94.2
Red sea bream	172	1.00	172	96.2
Rainbow trout	193	1.12	217	93.0
Carp	62	0.62	38	76.4
Crucian carp	61	0.67	41	66.6
Tilapia	51	0.96	49	78.0

Preparation method of gels was the same as described in Fig. 1.

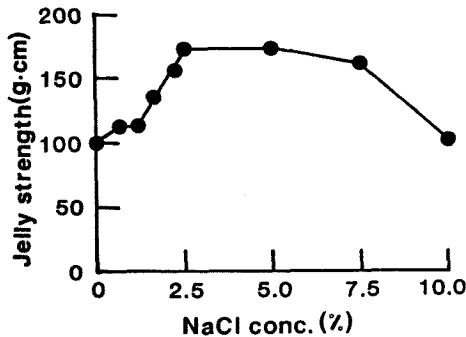


Fig. 7. Effect of NaCl concentration on jelly strength of Pacific mackerel Sp-P gels. Preparation procedure of the gel was the same as described in Fig. 1.

ロ、マサバ、マイワシ、マダイ、ニジマス、コイ、テラピアおよびゲンゴロウブナ Sp-P ゲル (水分 85%, NaCl 2.5% 添加) のジェリー強度および Sp-P の熱凝固率を Table 1 に示した。

Sp-P ゲルのジェリー強度は魚種によって異なっており、カツオ、キハダマグロ Sp-P のジェリー強度が最も高く、次いでニジマス、マダイ、マサバ、マイワシ、テラピア、ゲンゴロウブナ、コイの順であった。また、Sp-P ゲルはその官能的特徴によって、ジェリー強度が高く密で堅いゲルを作るキハダマグロ、カツオ、ニジマス、マダイ (グループ H) と、ジェリー強度が低くて柔らかく離水の多いゲルを作るテラピア、ゲンゴロウブナ、コイ (グループ L) と、ジェリー強度がその中間で弾力性の高いゲルを作るマサバ、マイワシ (グループ M) の 3 種類のグループに分けることができた。Sp-P の熱凝固率と Sp-P ゲルのジェリー強度の関係を見ると、ジェリー強度の高いグループ H では凝固率が高く、ジェリー強度の低いグループ L では凝固率が低かった。しかしグループ M の場合、凝固率は高くグループ H と変わ

らなかったが、ジェリー強度には差が認められた。以上の結果から、Sp-P の熱凝固率はゲルのジェリー強度に影響を与える要因の 1 つであり、熱凝固率の明らかに低い魚種ではジェリー強度も低くなると考えられる。

魚肉のゲル形成能に魚種間差が存在することはよく知られているが、¹⁾ Sp-P 自身のゲル形成能にも魚種間差があることが明らかになった。今回の実験においては各魚肉肉糊の 80°C 加熱ゲル形成能については検討していないので、Sp-P のゲル形成能と魚肉肉糊のそれとの関係について詳細は不明である。しかし、Sp-P が加熱時に筋原線維タンパク質に凝集すること^{2,4)} から考えて、Sp-P 自身のゲル形成能が魚肉のゲル形成能の魚種間の差に影響する可能性が示唆される。この点については現在さらに検討中である。

また、一般に魚肉を加熱凝固させたとき、赤身の魚の肉は堅くなるが白身の魚の肉は堅くならず筋線維がばらばらになりやすいのは、熱凝固する際強い接着力を示す Sp-P の含量が赤身の魚に多く、白身の魚に少ないためであると考えられている^{7,8)} が、加熱したとき堅くなるカツオ、キハダマグロの Sp-P のゲルが他のゲルに比べて異常に強いゲルを形成したことから、Sp-P の含量の差ばかりでなく、それ自身のゲルの物性も加熱魚肉のテクスチャーに影響していることが示唆され、興味深い。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (課題番号 62304023) によって行われた。ここに記して感謝の意を表する。

要 約

マサバ Sp-P ゲルの特性を調べ、以下のことを明らかにした。

(1) ゲルの破断強度はタンパク質濃度とともに増加した。一方、破断回数はタンパク質濃度 10% から 20% まではほとんど変化しなかったが、それ以上のタンパク質濃度では逆に減少傾向を示した。(2) Sp-P の凝固開始温

度は 40°C であったが, ゲル化は 60°C から始まった。65°C でゼリー強度は最大となり, それ以上温度を上げてほとんど変化しなかった。(3) 食塩はゲル形成に影響し, 2.5% で最大ゼリー強度が得られたが, 5% 以上になると逆に低下した。(4) ゲル形成の至適 pH は 7.0 から 9.0 であった。(5) Sp-P ゲルの強度は魚種によって異なっていた。供試 9 魚種では, カツオ, キハダマダコ ≫ ニジマス, マダイ > マサバ, マイワシ > テラピア, ゲンゴロウブナ, コイの順であった。テラピア, ゲンゴロウブナ, コイが低いのはそれらの Sp-P の熱凝固率が低いためであると考えられた。

文 献

- 1) 志水 寛, 町田 律, 竹並誠一: 魚肉肉糊のゲル形成特性に見

- られる魚種特異性. 日水誌, **47**, 95-104 (1981).
 2) 志水 寛, 西岡不二男: マアジ・アクトミオシンと筋形質たん白の熱凝固の際の相互作用. 日水誌, **40**, 231-234 (1974).
 3) 岡田 稔: かまぼこの足に対する水廻りの影響. 日水誌, **30**, 255-261 (1964).
 4) 森岡克司, 志水 寛: 魚肉のゲル形成に対する筋形質タンパク質の寄与. 日水誌, **56**, 929-933 (1990).
 5) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
 6) 西岡不二男, 志水 寛: 魚肉筋形質タンパク質の凝固特性. 日水誌, **45**, 1557-1561 (1979).
 7) 高橋豊雄: 煮熟魚介類についての諸現象. ニューフード・インダストリー, **2**, 38-48 (1960).
 8) K. Hatae, F. Yoshimatsu, and J. J. Matsumoto: Role of muscle fibers in contributing firmness of cooked fish. *J. Food Sci.*, **55**, 693-696 (1990).