

二魚種混合肉糊のゲル化に伴う筋原繊維タンパク質の 変化と牛血漿粉末の影響

加藤 登^{*1}・北上誠一^{*2}・及川 寛^{*3}・安永廣作^{*3}・矢野 豊^{*3}・小関聡美^{*2}・新井健一^{*2}

Changes in Myofibrillar Proteins during Gel Formation of Mixed Salt-ground Fish Meats and The Effect of Bovine Plasma Powder

Noboru KATO, Seiichi KITAKAMI, Hiroshi OIKAWA, Kosaku YASUNAGA,
Yutaka YANO, Satomi KOSEKI and Ken-ichi ARAI

Abstract

Frozen surimis of Pacific whiting (PW), walleye pollack (WP) and their mixture (PW+WP) with various weight ratios were ground with either 2.5 % NaCl or 2.5 % NaCl plus 3 % bovine plasma powder. The salt-ground meats were preheated at 30°C for up to 9 h and then subjected to subsequent heating at 90°C for 20 min to obtain the preheated and two-step heated gels. Changes in the subunit compositions of myofibrillar proteins in the gels were analyzed by using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis in connection with the preheating time. The results obtained were as follows.

(1) When the salt-ground meats were preheated at 30°C, myosin heavy chain (HC) in the gels from the mixture (WP+PW) decreased with the production of its polymer (HCn) and a small amount of the components migrating between HC and actin (X1). While the subsequent heating at 90°C for 20 min, drastically diminished HC and promoted the production of X1 as well as the components migration faster than actin (X2).

(2) When 3 % bovine plasma powder was premixed into the salt-ground meats, the changes of HC and HCn in the preheated gel from the mixture (WP+PW) were suppressed. Furthermore, bovine plasma was beneficial to preventing the drastic decrease of HC with a concomitant production of X1 and X2 caused by the heating at 90°C for 20 min.

A discussion was made on characteristic correlation between the heat-induced setting gelation profile of the salt-ground meat from the mixed frozen surimi with bovine plasma and the cross reaction among protein components in the mixture.

緒 言

複数の異なる魚類の筋肉またはすり身を混合してねり製品の原料として用いる場合は、今後いよいよ多くなると云われる(柴, 2003; 岡田, 1999)。しかし、これら混合肉糊の加熱によるゲル化特性に関してはこれまでに十分な情報が得られていないように思われる。このような背景から、著者らは先にパシフィック・ホワイティングとスケトウダラの冷凍すり身を用いて、混合肉糊の加熱によるゲル形成能について詳細に検討した(加藤ら, 2004)。パシフ

ィック・ホワイティングの冷凍すり身には、加熱ゲルの弾力補強剤として以前から牛血漿粉末が添加されてきたので、上述した混合肉糊の加熱ゲル形成に関する研究の中では混合肉糊に対して牛血漿粉末を加えてゲル形成能への影響を明らかにする試みも行った。なお牛血漿粉末は、パシフィック・ホワイティング冷凍すり身に混入する寄生虫由来のプロテアーゼによって加熱ゲル形成が阻害されるのを抑制するため有用であると報じられている(Chang-Lee *et al.*, 1989, 1990; Morrissey *et al.*, 1993)。

これまでの研究の成果から、パシフィック・ホワイティングから調製した肉糊は30~40°Cの予備加熱で良くゲル

2006年1月16日受理

*1 東海大学海洋学部水産学科 (Department of Fisheries, The School of Marine Science and Technology, Tokai University)

*2 全国すり身協会技術研究所 (National Surimi Manufacturers Association; Abashiri)

*3 独立行政法人総合水産研究センター中央研究所 (National Research Institute of Fisheries Science, Fisheries Research Agency)

化するが、続く 90℃ の高温加熱によりそのゲル物性が著しく低下することを示した。そこで、肉糊に対して 0.5～10% の牛血漿粉末を加えると、高温におけるゲル物性の低下は起こらなくなり、破断強度は添加量に比例した高いレベルの値に達するようになった（加藤ら, 2003）。またパシフィック・ホワイティングとスケトウダラの冷凍すり身を種々の割合で混合した肉糊の場合も、30℃ における予備加熱によって良くゲル化するが、続く高温での大きなゲル物性の劣化は依然として起こり、スケトウダラのすり身には牛血漿粉末のような劣化を抑制するような作用を示す成分が含まれていないことを知った（加藤ら, 2005; 北上ら, 2005）。これらの事実は、パシフィック・ホワイティングの肉糊から得た予備加熱ゲルの高温下でおこるゲル物性の著しい劣化の現象は、従来から報告されている混入するプロテアーゼの作用によるすり身タンパク質の分解（An, H *et al.*, 1994; Benjakul, S *et al.*, 1996; Chang-Lee, M. V, 1990; Chang-Lee, M. V *et al.*, 1989）だけでは、十分に説明できない。実際に、最近著者らは種々の割合で混合した上記の肉糊に牛血漿粉末をさらに加えると、混合肉糊が、30℃ の予備加熱においてより強くゲル化するだけでなく、これに続く高温加熱によってゲル物性は劣化しなくなり、さらに高いレベルへと増強されることを見出した（加藤ら, 2004）。この結果は、パシフィック・ホワイティングを多量に含むスケトウダラとの混合肉糊は、添加される少量の牛血漿タンパク質が参加することによっていわゆる坐りゲルを形成する能力を発揮するようになることを意味しており、肉糊のゲル形成にこれら三成分に起こる変性反応と成分間相互作用が複雑に影響を及ぼしていることを示唆している。

そこで本研究では、上記したゲル化条件下で起こる肉糊中の筋原繊維タンパク質に起こる変化を、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）法によって追跡し、肉糊のゲル物性の変化との関わりを明らかにすることを目的にした。

実験方法

試料：パシフィック・ホワイティング、Pacific whiting (*Merluccius productus*) の冷凍すり身は、(株)紀文食品から提供されたもので、特に寄生虫を含まない魚肉を使用し、8% スクロースと 0.3% 重合リン酸塩を含む製品である。水分量は 75.3%、タンパク質含量は 144mg/g 湿重量であった。スケトウダラ、walleye pollack (*Theragra chalcogramma*) の冷凍すり身は、市販の陸上二級品であって 5% スクロースと 0.2% 重合リン酸塩を含む製品である。水分量は 80.0% でタンパク質含量は 134mg/g 湿重量であった。

牛血漿粉末は、太陽化学(株)から市販されている製品（フィッシュ・アップ B）で、タンパク質含量が 75.6%、

水分量が 10.8%、ほかにクエン酸ナトリウムなどを含んでいる。

加熱ゲルの調製：冷凍すり身はそれぞれ解凍した後、単独、または異なる量比で混合した後、2.5% NaCl または 2.5% NaCl と 3% 牛血漿粉末を加えてスピード・カッター（ナショナル製 MK-K74）により約 12 分間塩ずりを行い、肉糊を調製した。すり上がり後の温度は約 7℃ であった。この肉糊をプラスチック製円筒容器（直径 37mm、高さ 20mm）に充填し、30℃ の恒温水槽中にて、7～9 時間後まで予備加熱した。経時的にその一部をとり出してさらに 90℃ で 20 分間加熱した。調製された加熱ゲルはそれぞれ予備加熱ゲルおよび二段加熱ゲルと呼ぶ。なお牛血漿粉末を添加するときは解凍したすり身を塩ずりする前に、3.0% 添加して 1 分間播潰し混合させた。

加熱ゲルの物性測定とゲル剛性の計算：予備加熱ゲルは測定に至るまでに経時的に変化する可能性があるため、加熱後は全て氷水中で 30 分以上冷却した後、また二段加熱ゲルは調製後、室温に戻して、速やかにレオメーター（不動工業(株)製、NRM-2005J）により、直径 5mm の円柱状プランジャーを使用して物性を測定した。なお、物性としては、破断強度 (BS, cm) と破断凹み (bs, cm) を測定し、その結果から破断強度と破断凹みの比としてゲル剛性 ($(Gs \text{ g/cm}) = (BS)/(bs)$) を算出した。

SDS-PAGE 法による加熱ゲル中のタンパク質成分組成の分析：それぞれの加熱ゲル 0.4g をとり、2% SDS-8M 尿素-0.2% β -メルカプトエタノール混液 7.5ml を加えて常法（沼倉ら, 1987）に従って加熱攪拌して可溶化させ、タンパク質含量を測定した。続いて可溶化させたタンパク質（各 10 μ ）を、Weber と Osborn (1962) の方法に準じて 5% ポリアクリルアミドゲルを支持体として電気泳動に供した。またタンパク質成分の染色は Coomassie Brilliant Blue R250 により行い、泳動図型を撮影した。

SDS-PAGE に供したタンパク質のサブユニット成分組成は、沼倉の方法（沼倉ら, 1989）に準じて泳動ゲル上で移動度の小さい成分（分子サイズが大きいと推定される成分）から順に、ミオシン重鎖多量体 (HCn)、ミオシン重鎖 (HC)、未同定の X1、アクチンとトロポミオシンの混合 (A+TM)、未同定の X2 の 5 成分に分画した。また、これらの成分量は、2 波長クロマトスキャナー（CS910 型 (株)島津製作所）を用いて、640nm と 700nm の吸光度の差で染色強度を測定して求めた。各サブユニット成分の含量は、予備加熱前の肉糊を対照とし、泳動ゲル上の全染色強度を基にしてその成分の染色強度の相対値 (%) で表した。なお、対照試料中にも HCn に相当する成分が存在し、この成分はコネクチンその他の高分子成分に由来する可能性があるが、ここでは便宜上 HCn 成分として表した。また、対照とする試料に比べて、ゲル上の全染色強度が減少する場合、およびかまぼこの SDS-尿素混液に対する可溶化率が低下する場合は、それらの値を補正して各成分の含

量を求めた。すなわち、前者の場合は泳動ゲル中に侵入できないほどに多量化したミオシン HC 多量体 (HCn') が、また後者の場合には可溶化液に溶解しえないほど巨大化したミオシン HC 多量体 (HCn'') が生成したためとみなし、その量を加算して総含量とした。なお、本実験で供試した試料中に (HCn'') は含まれなかった。

結果および考察

加熱によって起こる混合肉糊中のタンパク質の変化：パシフィック・ホワイティングとスケトウダラの冷凍すり身を種々の割合で混合し、調製した混合肉糊について、30°Cでの予備加熱ゲルおよび二段加熱ゲル中のタンパク質の成分組成を SDS-PAGE 法で分析し、予備加熱に伴う泳動図

型の変化を Fig. 1 に示した。

Fig. 1 には、スケトウダラ (WP) とパシフィック・ホワイティング (PW) の割合が 100:0 (A), 75:25 (B), 50:50 (C), 25:75 (D), 0:100 (E) の混合肉糊の予備加熱ゲルと二段加熱ゲルの両図型を示した。

これによるとスケトウダラおよびパシフィック・ホワイティングのいずれの場合も、肉糊中の HC 成分は予備加熱に伴って減少し、その多量体に相当する成分 (主に HCn) と X1 成分が増加することが示された。ただしデンシトメトリーによる測定結果 (図示しない) によると、HC の含量 (%) はスケトウダラの方がパシフィック・ホワイティングのそれよりも数 % (2~4 %) 多いが、HCn 成分の増加量 (14% 前後) は両肉糊の間で差が無かった。また X1 成分の増加量はスケトウダラ肉糊からの方が約

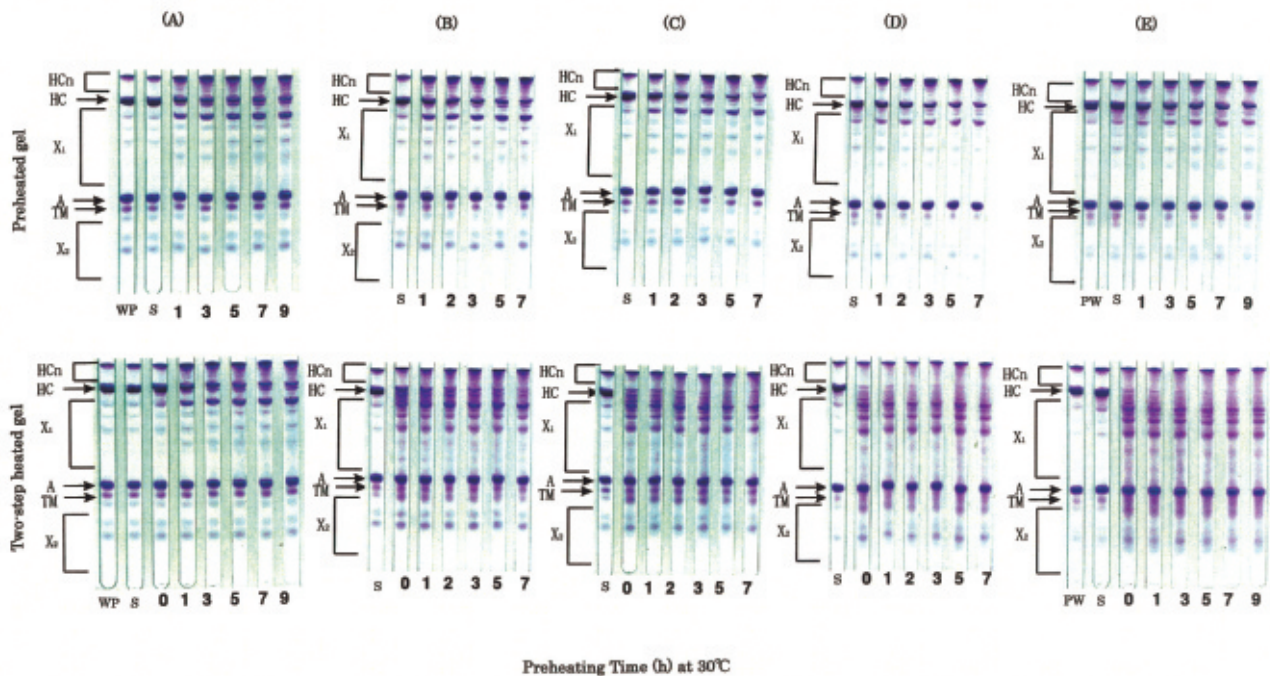


Fig. 1 Change in SDS-polyacrylamide gel electrophoretic patterns of preheated and two-step heated gels from two fish species frozen surimis and their mixture as a function of preheating at 30°C.

Pacific whiting (PW) and walleye pollack (WP) frozen surimis, and their mixtures were ground with 2.5 % NaCl. The salt-ground meat was preheated at 30°C for several hours (to obtain the preheated gel), and subsequently heated at 90°C for 20 min. (to obtain two-step heated gel).

The heated gels were solubilized into SDS-urea-mercaptoethanol (pH 8.0) mixture, and the soluble protein (each 5 μ g) was analyzed by SDS-PAGE using 5 % polyacrylamide gel rod in the same manner as that of previous paper. The protein bands were stained with Coomassie Brilliant Blue R.

WP : Frozen surimi of Walleye pollack.

PW : Frozen surimi of Pacific whiting.

S : Salt-ground meat just after preparation.

The mixing weight ratio of WP:PW are: (A)100:0, (B)75:25, (C)50:50, (D)25:75, (E)0:100.

The components analyzed:

HCn : Cross-linked myosin heavy chain, migrating into 5 % polyacrylamide gel

HC : Myosin heavy chain

X1 : Components migrating between HC and Actin

A : Actin

X2 : Components migrating faster than tropomyosin

20%なのに、パシフィック・ホワイティングの肉糊では僅か1~2%であって、極めて少なかった。また、混合肉糊中のHCの減少量およびHCnとX1成分の増加量は両肉糊単独で起こる変化量の算術平均に近似する値であった。さらに、予備加熱ゲルと二段加熱ゲル中のタンパク質成分組成を比べると、スケトウダラの場合はほとんど同じで、見かけ上差が認められなかったが、一方パシフィック・ホワイティングの場合は顕著な差異があり、HCの速やかな消失、それに伴う僅かなHCn成分の増加とX1およびX2成分の大幅な増加（それぞれ25%および15%の増加）が起った。これらは既報の結果（加藤ら、2003）とよく一致していた。また混合肉糊ではパシフィック・ホワイティングの割合が多くなるほど、同様な変化が速やかに起こる傾向があることが示された。

SDS-PAGE図型上で検知されるX1成分については、まだ同定していないが、複数の成分から成り、既に報じられている150kおよび70kダルトンの成分（今野ら、2000）で、HCからの限定分解生成物であるかも知れない。既にプロテアーゼの存在については、いくつかの報告（正木ら、1993; Toyohara, H. *et al.*, 1993）があるのでその基質特異性など、その機能特性についてより詳細な検討が必要

である。

加熱による混合肉糊中のタンパク質成分に起こる変化と牛血漿粉末の添加の影響：Fig. 1と同じ2種の魚類のすり身を種々の割合で混合し、3%の牛血漿粉末をさらに加えて塩ずりし、肉糊を調製した。通常パシフィック・ホワイティング冷凍すり身中のプロテアーゼ活性を抑制するには、1.0%の牛血漿粉末の添加で充分であると云われている。それゆえ、3%に及ぶ過剰量の牛血漿粉末中のタンパク質は、それ自体がゲル化して加熱ゲルの物性に影響を及ぼすと考えられた。（加藤ら、2003）30°Cで加熱した予備加熱ゲルおよび二段加熱ゲル中のタンパク質成分組成をSDS-PAGEで分析した。電気泳動図型をFig. 2に、またデンシトメトリーによって成分組成を算出した結果をFig. 3 (A, B) に示した。

Fig. 2によると、スケトウダラとパシフィック・ホワイティングそれぞれ単独の肉糊、およびそれらの混合肉糊中のHC量は、いずれの場合も予備加熱に伴って、Fig. 1の場合と同様に減少するが、減少の度合は、牛血漿粉末の添加によって抑制され、小さくなった。また同時にX1成分の増加も抑制され、いずれの場合も増加しなくなった。さらにHCn成分の増加は、スケトウダラ単独の場合を例外

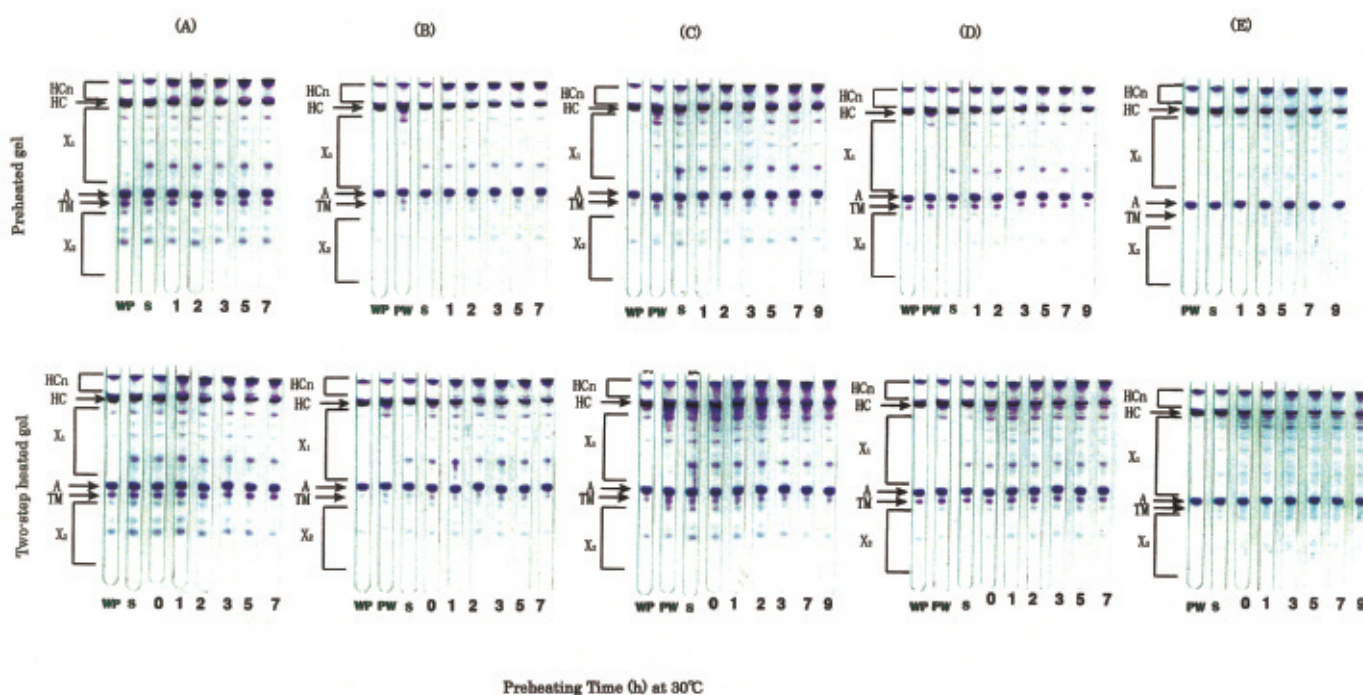


Fig. 2 Change in SDS-polyacrylamide gel electrophoretic patterns of preheated and two-step heated gels from two fish species frozen surimis and their mixture with further addition of bovine plasma powder as a function of preheating at 30°C.

The preparation of the salt-ground meats from two fish-species and their mixture was made as in the legend of Fig. 1, except that 3% bovine plasma powder was premixed with the salt-ground meat.

The SDS-PAGE of the heated gels was carried out also in the same manner as in the legend of Fig. 1.

The same abbreviations for the mixtures of frozen surimis and the subunit components of myofibrillar proteins in the heated gels were used as in Fig. 1.

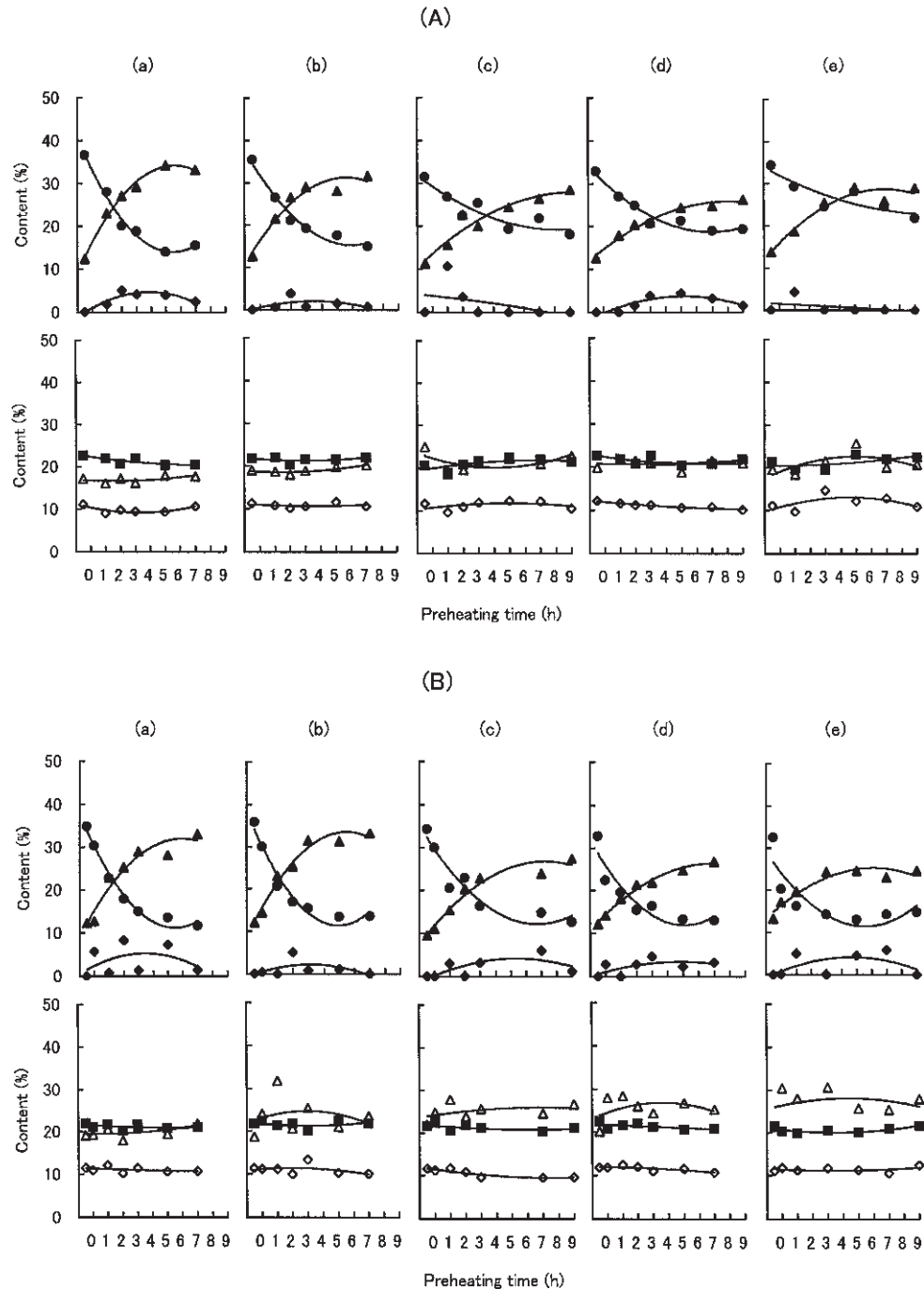


Fig. 3 Change in subunit compositions of myofibrillar proteins in heated gels from two fish-species frozen surimis and their mixtures with addition of bovine plasma powder as a function of preheating at 30°C.

From the data shown in Fig.1 and 2, the content of each protein component on the electrophoretic patterns was determined by measuring the difference of absorbance at 640 nm and 700 nm with a densitometer, and expressed as relative content (%), on the basis of total protein content in the salt-ground meat according to the method of Numakura *et al.*

The mixing ratio of WP:PW are ; (a) 100:0, (b) 75:25, (c) 50:50, (d) 25:75, (e) 0:100.

(A) Preheated gel with 3 % plasma powder

(B) Two-step heated gel with 3 % plasma powder

(●), Myosin heavy chain (HC)

(▲), Cross-linked HC (HCn)

(◆), Cross-linked HC with larger molecular size (HCn')

(△), Components migrating between HC and actin (X1)

(■), Actin + Tropomyosin (A+TM)

(◇), Components migrating faster than actin (X2)

として、牛血漿粉末の添加前と余り変わらないことが示された。デンストメトリーによって求めた Fig. 3(A) によると、スケトウダラ単独の肉糊の場合は、HCn の増加量は 20% に達したが、パシフィック・ホワイティング単独の場合は 15% であった。また混合肉糊の場合は、両肉糊単独での値の算術平均に近似する値になった。それゆえ、30°C では、スケトウダラの肉糊中では、牛血漿粉末によって X1 成分の生成が抑制された結果、HCn 成分が増加したように見える。一方パシフィック・ホワイティングの肉糊中では、大きな影響がなく、HC の減少に伴う HCn と X1 成分のさらなる増加は僅か 1~2% であった。

次いで予備加熱ゲルと二段加熱ゲル中のタンパク質成分を SDS-PAGE 図型で比べると、一見両者は良く類似しており、変化が無いようにも見える。しかしデンストメトリーで分析した結果 (Fig. 3 B) によると、スケトウダラ単独の二段加熱ゲルでは、僅かに HC の減少が進行して HCn が増加したが、パシフィック・ホワイティング単独の二段加熱ゲルでは、HC の減少が急激に起こり、X1 成分が増加した。また混合肉糊からの二段加熱ゲルでは、これまでと同様に、両魚類二段加熱ゲル中で起こる成分組成変化の算術平均に近い値となった。すなわち、スケトウダラに対するパシフィック・ホワイティングの混合割合が多いほど、二段加熱ゲル中の HC の減少に伴う X1 成分の増加が多くなる傾向があった。しかし X1 成分の増加量は、スケトウダラ単独の加熱ゲルで約 2%, パシフィック・ホワイティング単独の加熱ゲルで約 6%, 混合肉糊の加熱ゲルでその中位の値であり、大きな差ではなかった。

これらの結果から、予備加熱ゲルを本加熱 (90°C, 20 分) するとき HC が大きく減少して X1 成分 (および X2 成分) に変化するの、パシフィック・ホワイティングの加熱ゲルの特徴であり、スケトウダラの加熱ゲルでは同じ変化が起こらなかった。両者の混合肉糊では、パシフィック・ホワイティング肉糊の割合が多いほど、上記の変化は速やかに起こり、牛血漿粉末を 3% 添加しても抑制することが出来なかった。一方スケトウダラの肉糊では、予備加熱 (30°C, 約 7 時間) するとき HC の一部は X1 成分に変化した (これは原料とした冷凍すり身が陸上 2 級品であることに起因するかも知れない) が、この変化は 3% 牛血漿粉末によってほぼ完全に抑制された。X1 成分の増加を引き起こす加熱条件が全く異なるので、仮にプロテアーゼが関与するとすれば基質となる筋原繊維タンパク質が、異魚種起源の相同タンパク質であることを考えると、それらが作用基質として大きく異なる原因を究明する必要がある。

加熱に伴うゲル物性の変化と肉糊のタンパク質に起こる変化の関係: 混合肉糊の 30°C における予備加熱ゲルおよび二段加熱ゲルの物性値とそれに及ぼす牛血漿粉末の影響を調べた結果は、前報 (加藤ら, 2004) において詳細に報じた。その結果から重要な結果を抜粋して、Fig. 4 (A と

B) に示す。Fig. 4(A) は、肉糊の予備加熱に伴って起こる二段加熱ゲルの破断強度の経時的な変化を表している。また Fig. 4(B) は、(A) の実験結果を基にして二段加熱ゲルの破断強度とゲル剛性との関係を示したものである。図中の矢印はその加熱ゲルの最大値である。なお予備加熱に伴って二段加熱ゲルの両物性値が経時的に増加するときは両値の間に直線関係が成り立ち、これはいわゆる坐りゲルが形成されたことを意味している。また関係直線が同じ図中で右方に位置する加熱ゲルは、破断試験に供するとき、変形に際して破壊され易い性状のものであることを示す (北上ら, 2002)。

まず Fig. 4(A) を見ると、① スケトウダラの肉糊はゲルを形成し、二段加熱ゲルの物性値 (破断強度とゲル剛性) は予備加熱に伴って増加し、いわゆる坐りゲルを形成するが、② パシフィック・ホワイティングの場合はゲルを形成せずに、泥状 (または粘土状) に留まる。また ③ 両者を等量混合した肉糊もゲルを形成せずに泥状のままであった。SDS-PAGE の分析結果 (Fig. 3) によると、スケトウダラの場合は、HC の減少に伴って HCn 成分の増加が起こり、この変化はゲル物性の増加と見かけ上良く対応していた。次にこれらに牛血漿粉末を加えてみると、④ スケトウダラの場合は牛血漿粉末により二段加熱ゲルの物性は全体に強化され、極めて強い坐りゲルを形成するようになる。因みに坐りゲルの破断強度の最大値は、牛血漿粉末の添加により 820g から 2280g に上昇したが、このとき同じ加熱ゲル中では X1 成分の増加が起こらなくなり、多量の HCn 成分が出現し、その増加量は 21% に及んだ。さらに、少量ではあるが HCn 成分よりも大きな分子サイズの多量体に相当する HCn' 成分の増加も認められた。一方 ⑤ パシフィック・ホワイティングの場合は、同じ牛血漿粉末の添加により二段加熱ゲルの物性はある程度高値にはなるが、予備加熱に伴う経時的な増加が同時に起こらず、いわゆる坐りゲルを形成し得なかった。この二段加熱ゲル中では X1 成分は増加しないが HCn 成分の増加も顕著ではなく、僅か 11% にとどまっていた。この事実、HCn 成分の生成量がある水準以上の値に達しないと坐りが誘導されないことを示唆している。また ⑥ 混合肉糊の場合は、それだけでは全くゲルを形成しないのに、僅か 3% の牛血漿粉末の添加によって坐りゲルを形成すること。つまり予備加熱に伴ってゲル物性が経時的に増加するようになった。この等量混合肉の場合は、破断強度の最大値は 1500g となったが、この加熱ゲル中では X1 成分の増加が抑制され、HCn 成分の増加量は 18% に達している。

なお、前報 (加藤ら, 2004) で既に示したように、混合肉糊中のパシフィック・ホワイティングの占める割合が増えると、予備加熱に伴う二段加熱ゲルのゲル物性の経時的な増加は起こりにくくなり、破断強度の最大値は比例的に減少する。それゆえ、坐りゲルを形成する能力が著しく劣るパシフィック・ホワイティングの肉糊に、その能力を付

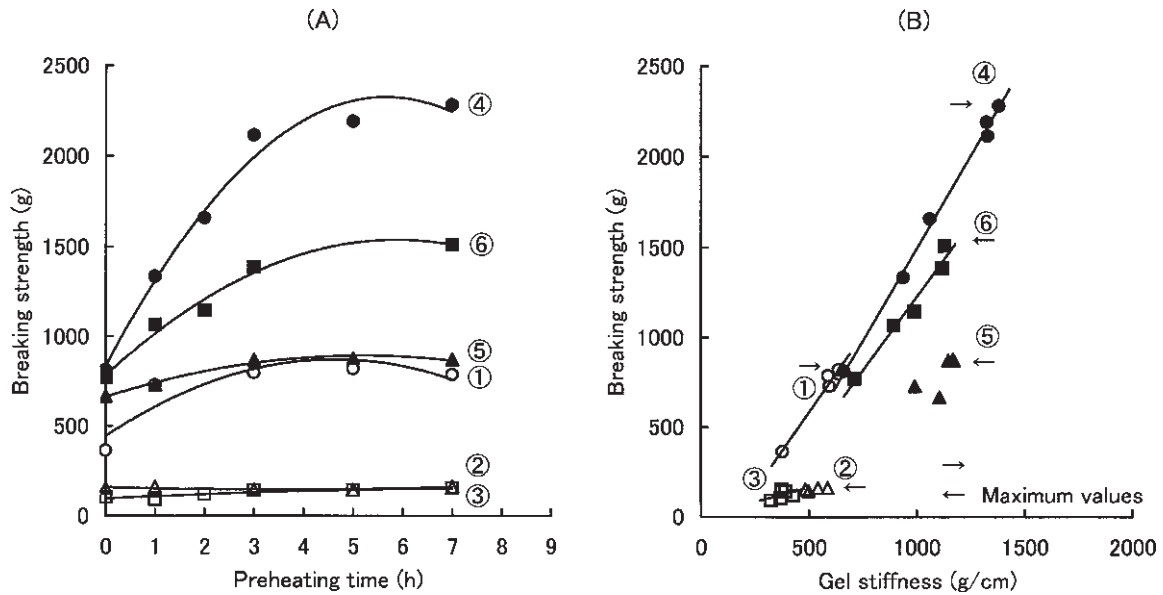


Fig. 4 Change in breaking strength and gel stiffness of two-step heated gels formed two fish-species frozen surimis and their mixture with and without addition of bovine plasma powder as a function of preheating at 30°C.

The same two-step heated gels used for the SDS-polyacrylamide gel electrophoretic analysis were applied for the measurement of breaking strength (BS) and breaking strain (bs) with reometer. Gel stiffness was calculated as (BS/bs).

Materials for the salt-ground meat:

- ① Walleye pollack frozen surimi (WP)
- ② Pacific whiting frozen surimi (PW)
- ③ Mixture of WP and PW in an equal weight (WP:PW=1:1)
- ④ WP+3% plasma powder
- ⑤ PW+3% plasma powder
- ⑥ (WP:PW=1:1)+3% plasma powder

(A) Preheating time-dependent change in BS.

(B) Breaking strength vs Gel stiffness.

与するには、スケトウダラの肉糊と牛血漿粉末を同時に混合することが、必要かつ充分な条件であることが明らかである。牛血漿粉末の添加適量についてはまだ詳細に検討していないが、ホッケとスケトウダラの混合肉糊について同様な研究をした場合は、添加適量は1%であって、3%よりも良い結果となった(鈴木ら, 2004)。それゆえ供試する原料魚種によって肉糊のゲル形成能が異なるために添加する適量が相違している可能性がある。

パシフィック・ホワイティングおよびこれを混合して調製した二段加熱ゲルでは、HCが消失して多量のX1(およびX2)成分を生成するが、牛血漿粉末の添加は、これらの変化をほとんど阻止した。それゆえ、これは坐りゲルを形成させるための直接原因であるかのように見える。しかしながら、パシフィック・ホワイティング単独の肉糊に牛血漿粉末を加えるとき、同じようにX1成分の生成が抑制されるにもかかわらず、坐りゲルは形成されない。したがって、牛血漿粉末の添加効果を単なるプロテアーゼ活性の阻害作用に帰するわけにゆかない。一方、スケトウダラ肉糊では予備加熱にともない多量のHCn成分の増加が起

こり、これは、混在する活性の強いトランスグルタミナーゼが作用した結果であると考えられている。しかしながらパシフィック・ホワイティングの肉糊を混合するとき、予備加熱中にその中のHCが同じ酵素によって多量化されることはなく、HCn成分は増加しなかった。それゆえ、スケトウダラの冷凍すり身中に存在するトランスグルタミナーゼは、同じスケトウダラ起源のミオシン分子に対してのみ特別に強く働く、極めて基質特異性の高いものであるか、または作用基質であるミオシンの同上酵素に対する感受性が魚種によって大きく異なり、スケトウダラのミオシンのみが選択的に反応する特異な構造をしているか、いずれかの可能性を仮定しなければならない。これは、シロザケとスケトウダラの冷凍すり身を混合した肉糊のゲル形成においても見られた同じ現象である(西本ら, 1988)が、未だ明らかでない。

それ単独ではゲル形成能が著しく劣るパシフィック・ホワイティングのような冷凍すり身をゲル化食品としてより有効に利用するに際して、本研究の成果が役立つと思われるが、2種の魚類の冷凍すり身と牛血漿粉末に由来するタ

ンパク質間で起こるゲル形成の反応機構について強い興味もたれる。これらの中、スケトウダラのすり身タンパク質については、肉糊のゲル化に際してミオシン重鎖間に共有結合性の特に強い結合を形成するので、これが三次元の網目構造上では強固な架橋点になっている可能性が考えられる。網目構造の架橋結合には、鎖状分子の絡み合い、van der Waals, 水素結合などの二次結合によるものが含まれる(西成, 1978)とされるが、SDS-PAGE法による分析ではそれらの存在は検知出来ない。実際に塩ずり直後にNaClに抽出されるタンパク質成分をSephacrose Cl-4Bを支持体にしてゲル濾過すると得られるタンパク質分画は既にHC多量体、X1及びX2の他にアクチンなどからなる巨大な分子の凝集体であることが報じられている(船津ら, 1994; 新井, 2002)。しかし予備加熱ゲルを引き続き本加熱するとき、ゲル物性(特に破断強度)は著しく増強されるのに、HCn成分はほとんど増加しないので、二段加熱ゲルの物性値に対する寄与の割合は上記した検知出来ない非共有結性の結合力が極めて大きいと云える(北上ら, 2002, 2005)。パシフィック・ホワイティングの予備加熱ゲルの物性は一旦、増加するものの、続く本加熱によって激減する。またこのときミオシンの部分分解物と推定される成分が多量に生成するので、これがゲル物性の劣化と関連づけられている。しかし、小さい分子サイズからなる他の食品タンパク質(血漿タンパク質や卵白タンパク質など)もゲルの形成能を保有している(ジャン-クラウドシェフテルら, 1988; 北上ら, 2005)。またミオシン分子の分解産物である150 kDaの成分の架橋重合体の存在やゲル物性との関わりについて紹介がある(今野ら, 2000; 今野ら, 2003)。ゲル物性値への寄与の割合については、なお検討する余地がある。これまでに、加熱ゲルの網目構造の安定化にはタンパク質分子間のSS結合、疎水性相互作用(疎水結合)、水素結合などが寄与しているとされている(丹羽, 1990; 岡田, 1999)が、この中、疎水結合は60°Cまでは強められ、水素結合は昇温につれて弱められることが知られている。それゆえ、本加熱では水素結合が崩壊してゲル物性値の急激な劣化を招く可能性が当然考えられる。また、パシフィック・ホワイティングのすり身タンパク質はスケトウダラのそれと相同なタンパク質でありながら、スケトウダラすり身に対して僅か1/3量の混合により、本加熱による大きな物性劣化を引き起こす原因を担っており、網目構造と積極的な相互作用(丹羽, 1981)をしているかどうか今後検討する余地が残されている。なお牛血漿タンパク質の役割は、効果が認められる添加量が僅かに1~3%である事実を考慮すると、おそらく補強剤(丹羽, 1990)として働いていると考えられる。通常は粉末状で添加されるので肉糊中のタンパク質濃度を上昇させる結果として加熱ゲルの物性を増強させる可能性もありうる。しかし、混合肉糊が坐りゲルを形成するようになり、物性値(破断強度とゲル剛性)が著しく高いレベルに達す

るようになるので、単なるタンパク質濃度の上昇に基づく結果として説明出来ず、網目構造の周りに積極的に熱結着してその効果をもたらしていると推定される(丹羽, 1990)。なおSDS-PAGE図(Fig. 2)上では、X1成分を含む画分中に、明瞭なバンド(分子量6万前後)として検知出来るので、ミオシンを主体とする網目構造との相互作用は共有結合性の強い結合を介しているとは考えられないが、充填剤として加熱ゲル中の水を束縛し、タンパク質の網目構造の相対濃度を上げる効果がある(丹羽, 1990)と云われている。

参考文献

- An H., Weerasinghe V., Seymour T. A. and Morrissey M. T. (1994): Cathepsin Degradation of Pacific Whiting Surimi Proteins. *J. Food Sci.*, **59**(5), 1013-1018.
- Benjakul S., Seymour T. A., Morrissey M. T. and An H. (1996): Proteinase in Pacific Whiting Surimi Wash Water: Identification and Characterization. *J. Food Sci.*, **67**(6), 1165-1170.
- Chang-Lee M. V., Pacheco-Aquilar R., Crawford D. L., and Lampila L. E. (1989): Proteolytic Activity of Surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and Heat-set Gel Texture. *J. Food Sci.*, **54**, 1116-1125.
- Chang-Lee M. V., Lampila L. E., Crawford D. L. (1990): Yield and Composition of Surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and Effect of Various Protein Additives on Gel Strength. *J. Food Sci.*, **55**, 83-86.
- ジャン-クラウド シェフテル, ジャン-ルイ クック, ドウニ-ロリアン (1988): 主要食品タンパク質各論(卵タンパク質, 血漿タンパク質), 食品タンパク質ハンドブック(北畠 直子訳), N.T.N, 東京, pp.131-243.
- 新井健一 (2002): 水産動物筋肉タンパク質の変性と制御(総説), 日水誌, **68**, 137-143.
- 加藤 登, 及川 寛, 安永廣作, 矢野 豊, 阿部洋一, 新井健一 (2003): Pacific Whiting 冷凍すり身のゲル化特性と牛血漿粉末添加の影響, 東海大紀要, **56**, 49-61.
- 加藤 登, 及川 寛, 安永廣作, 矢野 豊, 北上誠一, 新井健一 (2004): Pacific Whiting とスケトウダラの混合肉糊のゲル化特性と牛血漿粉末の影響, 東海大紀要, **57**, 45-53.
- 北上誠一, 阿部洋一, 新井健一 (2002): 冷凍すり身の品質を評価する新しいアプローチ. *New Food Ind.*, **44**(5), 9-16.
- 北上誠一, 村上由里子, 安永廣作, 加藤 登, 新井健一 (2005): スケトウダラ冷凍すり身タンパク質のゲル形成能とその濃度依存性, 日水誌, **71**, 957-964.
- 今野久仁彦, 今村浩二 (2000): スケトウダラ肉糊の加熱中に生成する150及び70kDa成分の同定とその存在状態. 日水誌, **66**, 869-875.
- 今野久仁彦 (2003): 魚肉タンパク質の熱変性とゲル形成, かまぼこの科学と技術, (山澤ら編), 恒星社厚生閣, 東京, 32-51.

- 船津保浩, 加藤 登, 新井健一 (1996): 坐りに伴うスケトウダラ肉糊中の塩溶性タンパク質の凝集体形成, 日水誌, **62**, 112-122.
- 正木武治, 下向正志, 宮内芳郎, 小野修二, 土屋哲朗, 松田智明, 赤澤治夫, 副島正美 (1993): タイヘイヨウヘイクのゼリー化原因プロテアーゼの単離とその特性. 日水誌, **59**(4), 683-690.
- Morrissey M. T., Wu J. W., Lin D. and An H. (1993): Protease Inhibitor Effects on Measurements and Autolysis of Pacific Whiting Surimi. *J. Food Sci.*, **58**, 83-86.
- 西本真一郎, 橋本昭彦, 関 伸夫, 新井健一 (1988): 二種の魚の混合肉糊の坐りとミオシン重鎖の交差結合. 日水誌, **54**(7), 1227-1235.
- 西成勝好 (1978): ゲルのレオロジー, 食品の物性 (松本幸雄編), (株)食品資材研究会, 東京, pp.41-74.
- 丹羽栄二 (1990): かまぼこの足とその補強, 食品加工技術, **10**(1), 88-94.
- 丹羽栄二 (1981): かまぼこゲルとたん白の分子間結合, 水産ねり製品技術研究会誌, **7**(6), 241-251.
- 沼倉忠弘, 溝口 竜, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一 (1989): 加熱により変質したスケトウダラすり身の坐りゲル形成能とミオシン重鎖の交差結合. 日水誌, **55**, 1083-1090.
- 岡田 稔 (1999): 主な原料魚, かまぼこの科学 (岡田 稔著), 成山堂書店, 東京, pp.99-116.
- 岡田 稔 (1999): 主な原料魚, かまぼこの科学 (岡田 稔著), 成山堂書店, 東京, pp.51-52.
- 柴 真 (2003): 水産ねり製品の原料, 水産ねり製品入門 (柴 真著), 日本食糧新聞社, 東京, pp.44-54.
- 鈴木 潤, 北上誠一, 村上由里子, 安永廣作, 加藤 登 (2004): ホッケとスケトウダラ混合肉糊のゲル形成能と牛血漿粉末による加熱ゲルの品質改良. 中央水研, 資源利用研究会要旨集, pp.78-79.
- Toyohara H., Kinoshita M., Kimura L., Sakabuchi M. (1993): Cathepsin L-like Protease in Pacific Hake Muscle Infected by Myxosporidian Parasites. 日水誌, **59**(6), 1101.
- Weber K. and Osborn M. (1962): The Reliability of Molecular Weight Determination by Dodecyl Sulfate-polyacrylamide Gel Electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406-4412.

要 約

スケトウダラ (WP) とパシフィック・ホワイティング (PW) の混合肉糊を用いて, 加熱ゲル中の筋原繊維タンパク質に起こる変化を SDS-PAGE によって追跡し, 肉糊のゲル物性の変化との関わりを検討した. ① WP の二段加熱ゲルの物性値は予備加熱に伴って増加し, 坐りゲルを形成した. ② PW はゲルを形成しなかった. ③ 両者を等量混合した肉糊もゲルを形成しなかった. SDS-PAGE の分析によると, WP の場合は, ミオシン重鎖 (HC) の減少に伴ってミオシン多量体 (HCn) の増加が起こった. 一方 PW の場合は, HC が激減して HC の分解生成物と思われる X1 及び X2 成分が増加した. 牛血漿粉末を加えると, ④ WP の二段加熱ゲルはより強い坐りゲルを形成した. このとき (X1) と (X2) 成分の増加が起これなくなり, 多量の HCn が出現した. ⑤ PW の二段加熱ゲルの物性はやや高値にはなるが, 坐りゲルを形成しなかった. このとき, X1 は増加しないが HCn の増加も顕著ではなかった. また ⑥ 混合肉糊の場合は, 3% の牛血漿粉末の添加によって坐りゲルを形成するようになり, このとき X1 の増加が抑制され, HCn の増加がおこっていた.

PW を多量に含む WP との混合肉糊は, 少量の牛血漿タンパク質の参加によって坐りゲルを形成するので, これら三タンパク質成分に起こる変性反応と成分間相互作用が影響を及ぼしていることが示唆される.