報 文

タンパク質の溶解性からみた冷凍すり身加熱ゲルの 特徴と卵白添加の影響

國本弥衣¹, 奥村知生¹, 加藤 登^{1*}, 新井健一²

¹ 東海大学海洋学部水産学科

² 元・酪農学園大学酪農学部食品科学科

Characteristic Properties of Heated Gels Formed from Frozen Surimi in Terms of Protein Solubility in Various Solvents and Effect of Addition of Albumen Powder on Gel-formation

Mii Kunimoto¹, Tomoki Okumura¹, Noboru Kato^{1*} and Kenichi Arai²

¹ Department of Fisheries, The School of Marine Science and Technology, Tokai University,
3-20-1 Shimizu-ku, Orido, Shizuoka 424-8610

² Former: Department of Food Science, Faculty of Dairy Science, Rakuno Gakuen University,
583 Midorimachi Bunkyoudai, Hokkaido 069-8501

Salt (3% NaCl)-ground meats composed of frozen surimi of arabesque greenling (AG) or walleye pollack (WP), both with/without the addition of 3% albumen powder (Al) were heated at 90°C for 30 min, both with/without preheating at 25°C for different periods. The heated gels were solubilized in various solvents by stirring for 48 hours. Protein solubility was determined and discussed in relation to the rheological properties of the heated gels. (1) Large amounts of protein in the unset gels (directly heated gels from AG/WP and two-step heated gels from AG, both with/without Al) were solubilized in a solvent containing 0.6 M NaCl + 8.0 M urea + 2% mercaptoethanol. (2) The protein solubility of the set gels (two-step heated gel from WP, both with/without Al) in solvents containing 0.6 M NaCl + 1.5 M urea, 0.6 M NaCl + 8.0 M urea, and 0.6 M NaCl + 8.0 M urea + 2% mercaptoethanol decreased greatly and insoluble proteins accumulated in the gel structure with the progress of preheating. (3) The rate of protein solubility suggested that hydrophobic interaction was strongly related to the rheological properties of the unset gels (and S-S bonding was slightly associated with the addition of Al), whereas a more intensive bonding/interaction was predominantly involved in that of the set gels.

(Received Jun. 30, 2013; Accepted Oct. 8, 2013)

Keywords : Frozen surimi, Heated gel, Albumen powder, Rheological property, Protein solubility

キーワード : 冷凍すり身, 加熱ゲル, 卵白粉末, 物性, タンパク質溶解度

著者らは、これまでに坐りゲルを形成するスケトウダラと坐りゲルを形成しないホッケの冷凍すり身から調製される加熱ゲルについて、それぞれの物性上の特徴と、これらに卵白粉末を添加した時に認められる物性への影響を研究してきた。その結果として坐り加熱ゲルと非坐り加熱ゲルでは、その物性に対する卵白粉末による増強効果が異なり、前者では坐り加熱ゲル形成能が増強された。この場合は卵白添加によるタンパク質濃度の増加が加熱ゲルの破断強度と破断凹みの両値に極めて大きな増加をもたらすが、一方、後者では坐り加熱ゲル形成能を付与することもなく、物性値の増加は相対的に小さい上、破断強度の増加の比率が破断凹みのそれに比べて大きいのが特徴であることを知った¹⁾。また、加水して加熱ゲルのタンパク質濃度を変えて物

性値のタンパク質濃度への依存性を調べると、破断強度と破断凹みのタンパク質濃度依存性（すり身と卵白の加算濃度）は坐り加熱ゲルと非坐り加熱ゲルの間で明らかに異なる事実を見出した²⁾。さらに、卵白粉末による物性向上効果は、加熱ゲルの物性増強剤として著名な牛血漿粉末のそれと類似しており、おそらく同様の作用機構によってその効果を及ぼしている事を推察した³⁾。これらの事実は、坐り加熱ゲルと非坐り加熱ゲルの形成機構および加熱ゲルの構造が異なっている事を示唆するものである。

加熱ゲルの形成に関与しているタンパク質間の相互作用および結合については、これらを切断する作用を有する各種の化合物（塩、尿素、グアニジン塩酸、界面活性剤、メルカプトエタノールなど）および各種の条件（pH、温度、

¹ 〒424-8610 静岡県静岡市清水区折戸 3-20-1, ² 〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 583

*連絡先 (Corresponding author), n-kato@scc.u-tokai.ac.jp

塩濃度など)が既に知られているので⁴⁾、これらを利用した研究が行われてきた。すなわち Pacific whiting のすり身から形成された加熱ゲルでは、グアニジン塩酸、ドデシル硫酸ナトリウム、メルカプトエタノールを添加した場合の物性上の変化が調べられた⁵⁾。また blue whiting から形成される高圧ゲルと加熱ゲルの比較では、NaCl、尿素、メルカプトエタノールを混合した各種溶媒に対するタンパク質の溶解性と加熱ゲルの諸性状との関係から、これらのゲル形成に関与しているタンパク質間の相互作用および結合のタイプとその寄与率が推察された⁶⁾。

坐り加熱ゲルは、非坐り加熱ゲルに比べて物性が高値に達し、弾力性に富んでおり、その構造が相違している。従来の研究によれば、光学顕微鏡や電子顕微鏡での観察結果から坐り加熱ゲル中のタンパク質の分散状態はより均一で網目構造は密である事が知られている⁷⁾。さらに加熱ゲル中のタンパク質間の相互作用および結合についてジスルフィド(SS)結合に焦点を置いた研究⁸⁾や水素結合、疎水性相互作用の関与に関する研究⁹⁾も行われてきた。特に坐り(低温加熱)過程と非坐り(高温加熱)過程で形成される相互作用や結合については、ミオシンを利用したモデル実験を介して詳細な研究も行われている¹⁰⁾。また、これらの成果を集約した論説もみられる⁴⁾¹¹⁾¹²⁾。しかし、両加熱ゲルの物性上の大きな差異を完全に説明できるほど、ゲル化機構に関わるタンパク質レベルでの知見が得られているわけではなく、今後の研究が期待されている。

本研究では、冷凍すり身加熱ゲルの品質をタンパク質化学的に評価するため、各種溶媒に対する加熱ゲル・タンパク質の溶解度を測定した。そして、坐り加熱ゲルと非坐り加熱ゲルおよび原料魚種による加熱ゲルの構造上の相違を知るため、各種のゲル形成に寄与している化学結合のタイプを推定する試みを行った。

実験方法

1. 試料

試料として市販のホッケ、(arabesque greenling, *Pleurogrammus azonus*)、およびスケトウダラ、(walleye pollack, *Theragra chalcogramma*)の陸上2級品の冷凍すり身を使用した。前者の水分とタンパク質含有量はそれぞれ76.7%と14.2%、後者のそれらは79.0%と13.8%であり、pHは7.16と7.44であった。

加熱ゲルに添加した乾燥卵白粉末(卵白粉末)はキューピー株式会社製(Kタイプ)で、水分とタンパク質含有量はそれぞれ6.4%と82.5%、またpHは7.49であった。

2. 加熱ゲルの調製

-50℃に保管した冷凍すり身を前日に-20℃の冷凍庫に移して解凍し、高速冷却式真空カッター(Stephan社製UM-5 Universal, ドイツ)で細切した後、すり身に対してNaClを3%(w/w)を加えて擂潰した。また、卵白粉末を

添加するときは、塩ずりの際に前報にならって¹²⁾3%(w/w)添加して肉糊を調製した。なお、擂り上がりの肉糊の温度は9℃以下となるようにした。調製した肉糊を直径48mmのポリ塩化ビニリデンチューブに充填し、25℃の恒温水槽中で8~15時間に渡って予備加熱し、経時的にその一部を取り出して90℃で30分間加熱し、直ちに氷水中で冷却した。これを二段加熱ゲルとし、予備加熱せずに直接90℃で30分間加熱したものを直加熱ゲルとした。

3. 加熱ゲルの物性測定

調製した加熱ゲルは、25℃の恒温水槽中に2時間以上保管した後に、直径30mm×高さ25mmの円柱状試験片としてレオメーター((株)サン科学社製RHEOTEX TYPE SD-700)を使用し、直径5mmの球形プランジャーにより進入速度6cm/minで破断時における応力と変形を破断強度(BS:g)、破断凹み(bs:cm)として測定した。また破断時におけるゲル剛性($G_s=BS/bs$; g/cm)を算出した。

4. 加熱ゲル・タンパク質の各種溶媒に対する溶解度の測定

加熱ゲルを細断し、約0.27gを精秤し、0.6M塩化ナトリウム(N)、1.5M~8.0M尿素(U)、および2%2-メルカプトエタノール(Me)を組み合わせで調製した4mlの混合溶媒を加え、室温で48時間攪拌して溶解させた。坐り加熱ゲルのタンパク質は、既に知られているように2%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)+8.0MU+2%Me溶媒中で24時間攪拌すると完全に溶解する。しかし、0.6MN+8.0MU+2%Me溶媒中への溶解性はやや低く、また予備加熱に伴って経時的に減少する傾向を示す。この溶解性の減少が、攪拌時間が短いことに起因しているのかどうかを確認するため、ここでは48時間攪拌混合を行った。なお、72時間攪拌しても結果は変わらなかった。混合溶媒の組成は0.6MN(S1)、0.6MN+1.5MU(S2)、0.6MN+8.0MU(S3)、および0.6MN+8.0MU+2%Me(S4)の4種類であるが、これら溶媒に対して加熱ゲルが溶解し難い場合があるため、本研究では新たに2%SDS+8.0MU+2%Me(S5)を追加して5種類の溶媒に対するタンパク質の溶解度を測定した。さらに、同様の方法で2.0M、7.0Mグアニジン塩酸(G)に対するタンパク質の溶解度も測定した。なお全ての溶媒には20mMTris-HCl緩衝液をそれぞれに加えpHを7.5に調整した。

タンパク質が溶解した試料溶液は、遠心分離(3500rpm, 20min)後に、上澄液の一定量を取り、水を加えて10倍(v/v)に希釈し、これに終濃度7.5%になるようトリクロロ酢酸を加えてタンパク質を沈殿させた。さらに、遠心分離(3500rpm, 20min)して集めた沈殿に少量の石油エーテルを加えて混合、遠心分離(3500rpm, 20min)し、脂質成分を溶解して除き、風乾後に1.0M水酸化ナトリウムに溶解し、ビウレット法によってタンパク質量を測定した。各溶媒に対するタンパク質の溶解度は、塩ずり直後の肉糊

について測定した総タンパク質量を基準として百分率 (%) で表した。測定は3回繰り返し、平均値を得た。

5. 各種溶媒に対する溶解度から加熱ゲル形成に寄与しているタンパク質間の相互作用および結合タイプの推定

5種類の溶媒に対するタンパク質の溶解度の測定結果を基にして、加熱ゲルの構造の形成に寄与している相互作用および結合タイプを推定した。すなわち、S1に溶解するタンパク質量は加熱ゲルの構造に寄与しているイオン結合が解離切断された結果であり、また、S2とS1への溶解度の差は構造中の水素結合が解離切断された結果、同様にしてS3とS2への溶解度の差は構造の形成に寄与している疎水性相互作用が解離切断された結果、またS4とS3への溶解度への差異は構造の形成に寄与しているS-S結合の解離切断された結果であることを示唆している⁴⁾⁶⁾。そこでTable 1に示した測定値から(S1)、(S2-S1)、(S3-S2)、および(S4-S3)量を算出し、それぞれが加熱ゲルの形成に関与している主な結合タイプがそれぞれ、イオン結合、水素結合、疎水性相互作用、およびS-S結合に依存していると推測した⁶⁾。なお、以上4種類の溶媒に対して溶解しないタンパク質量成分量に関しては計算によってその値(100-S4)を求め、不溶性タンパク質(I)量としたが、この成分は著者らが新しく採用したS5には完全に溶解するので、(S5-S4)と一致することを認めた。それゆえこの成分からなる加熱ゲルの構造は上記した4種のタイプの結合よりさらに強い結合によって形成されていることが明らかである。そこで、この成分量から推定されるタンパク質間の結合を、本論文ではより強い結合(more intensive bond)と表現した。

実験結果および考察

1. 卵白粉末の添加の有無の下で形成される加熱ゲルの各種溶媒に対する溶解度

ホッケとスケトウダラの直加熱ゲルと二段加熱ゲル、および3%卵白粉末を添加した加熱ゲルについて各種溶媒に対する溶解度を測定した結果をTable 1に、またその経時的な変化をFig. 1にそれぞれ示した。二段加熱ゲルの場合は予備加熱が8~15時間に渡って測定したが、これによると、加熱ゲル・タンパク質はすり身の原料魚種に関わりなく、直加熱ゲルか二段加熱ゲルに関わりなく、5種の溶媒の中、S5に対しては完全に溶解した。またS1~S4で比べると溶解度の低い方から $S1 < S2 < S3 < S4$ の順となり、S4に対してよく溶解することを示した。以上は、加熱ゲル全体に渡って共通していた。なお、直加熱ゲルの間で比べると、原料魚種に関わりなくS1への溶解度は10%強、S2へは20~30%、S3へは70%前後、そしてS4へのそれは80%強となり、それぞれが近似する値となった。卵白粉末を添加した直加熱ゲルの場合も僅かな差異はあるもの

の、S1~S4への溶解度とそのバランス(S1~S4の溶解度の相対比率)は無添加の場合とあまり変わらなかった。また不溶性のタンパク質成分(I)量も、原料魚種および卵白粉末の添加によって変化せず、10~20%であった。

次に二段加熱ゲルの間で比べると、まずホッケの加熱ゲル(A)のタンパク質は、初期にはS2、S3への溶解度が僅かに、また後期にはS4への溶解度が僅かに増加したが、全体的には8時間に渡って大きく変化せずに、直加熱ゲルの場合と近似したレベルの溶解度を示した。また卵白粉末を添加した二段加熱ゲル(B)のタンパク質は、S3への溶解度が低値であることを除けば予備加熱の8時間に渡って大きく変化せず、直加熱ゲルの場合と同じレベルの溶解度とバランスを示した。言い換えれば、ホッケの加熱ゲルのタンパク質の各種溶媒に対する溶解度は、予備加熱時間の影響を大きく受けないが、これは、ホッケのすり身は加熱条件の影響を受けることなく、常に非坐り加熱ゲルを形成する事実と関係があるようにみえる。

一方、スケトウダラの二段加熱ゲル(C)のタンパク質は、予備加熱の進行に伴って変化し、S2、S3、およびS4への溶解度が大きく低下し、それに対応するようにI成分が生成して、蓄積した。また、卵白粉末を添加した二段加熱ゲル(D)における各種溶媒に対するタンパク質の溶解度の変化も、無添加の加熱ゲルとほとんど同じであった。すなわち、予備加熱に伴ってS2、S3、およびS4への溶解度は低下し、それに伴ってI成分が増加し、蓄積する事実を示した。また、I成分の生成が最大値に達するのは、卵白粉末を添加した加熱ゲルでは予備加熱9~12時間後、また無添加の加熱ゲルではやや早く6~9時間後であるが、その量は卵白粉末を添加した加熱ゲルの方がやや多く、ほぼ70%の高値に達した。なお、このI成分は、8.0M尿素を含む溶媒であるS4には溶解しないが2%SDSを含む溶媒であるS5には完全に溶解した。

既報⁹⁾¹⁰⁾¹²⁾のように、SDSはタンパク質に極めて強い親和性を持ち、疎水性相互作用を切断し、難溶性タンパク質を可溶化するために利用されてきた。Table 1とFig. 1に示したように、I成分はホッケの加熱ゲルには10~20%のレベルに留まり増加しないが、一方、スケトウダラの加熱ゲルでは増加し蓄積するので、これはすり身原料である二種の魚類間の大きな相違である。またI成分の生成は加熱ゲル中のタンパク質間の極めて強い結合(または相互作用)に依存しているが、これは坐り加熱ゲルの高い物性値と関連しているように思われる。

尿素と同様に変性タンパク質を溶解させる有機化合物としてグアニジン塩酸(G)が知られている⁴⁾、そして低濃度域では水素結合を、また高濃度域では疎水性相互作用を切断するといわれている⁹⁾。本研究で、2.0M Gと7.0M Gに対する加熱ゲル・タンパク質の溶解度を測定したところ、2.0M Gには、S3に対する場合とほぼ同じレベルの溶解度

Table 1 Protein solubility of heated gel into five solvents as a function of preheating time of salt-ground meat from frozen surimi with and without addition of albumen powder

surimi	Time of preheating	solvent					
	(h)	(S1)	(S2)	(S3)	(S4)	(S5)	I = (100 - S4)
AG	0	12.4	19.5	67.0	82.3	102	17.7
	1	14.5	25.9	76.1	78.4	103	21.6
	2	5.4	19.8	65.7	77.3	100	22.7
	4	15.8	17.8	54.6	92.9	102	7.1
	6	14.7	19.3	69.1	89.7	102	10.3
	8	3.0	19.3	69.3	87.4	103	12.6
AG + 3% Al	0	2.3	13.3	52.3	89.2	101	10.8
	1	4.2	13.3	41.8	91.2	101	8.8
	2	9.7	14.0	41.8	87.1	100	12.9
	4	2.7	15.3	50.6	82.9	100	17.1
	6	9.9	17.6	55.6	84.7	98	15.3
	8	1.5	15.7	52.2	87.0	98	13.0
WP	0	13.5	30.3	70.6	83.0	100	17.0
	3	8.6	21.5	34.1	44.9	102	55.1
	6	16.2	19.1	28.6	49.2	100	51.8
	9	13.2	20.5	32.3	43.0	100	57.0
	12	14.5	18.3	36.5	38.9	99	61.1
	15	12.1	19.6	44.2	54.5	98	45.5
WP + 3% Al	0	9.1	20.9	60.3	79.7	102	20.3
	3	12.3	13.0	24.7	54.7	102	45.3
	6	9.1	15.3	25.5	36.2	103	63.8
	9	9.2	13.2	20.9	27.8	101	72.2
	12	8.2	14.6	22.4	31.7	102	68.3
	15	12.4	13.2	23.3	32.7	104	67.3

The NaCl (3%)-ground meat with and without addition of 3% albumen powder from frozen surimi was heated at 90°C for 30 min with and without through the preheating at 25°C for several hours. The heated gel was minced and solubilized in five solvents by continuous stirring at room temperature for 48 hrs. The soluble protein in the solvent was precipitated on addition of a final concentration of 7.5% TCA. The protein was dissolved in 1 M NaOH and determined quantitatively by a biuret method.

Protein solubility (%) = (soluble protein in solvent / total protein in salt-ground meat) × 100
The content (%) of insoluble (I) protein in the heated gel was calculated by subtracting S4 from 100.

All determination was performed in triplicate and average value was obtained.

Solvent :

S1, 0.6 M NaCl; S2, 0.6 M NaCl + 1.5 M urea; S3, 0.6 M NaCl + 8.0 M urea; S4, 0.6 M NaCl + 8.0 M urea + 2% mercaptoethanol; S5, 2.0% SDS + 8.0 M urea + 2% mercaptoethanol; I, Insoluble protein

Frozen surimi :

AG, arabesque greenling; WP, walleye pollack

Additive :

Al, albumen powder

を示すこと、また 7.0 M G には S5 に対する場合と同様にほぼ完全に溶解することを知った。また 2.0 M G への溶解度と予備加熱時間との関係は、ホッケおよびスケトウダラの場合共に、Table 1 および Fig. 1 に示した結果と同様であった（すなわち、前者ではその影響はほとんどなく、後

者では経時的な変化が大きい）。なお結果の詳細はここには図示しない。

2. 卵白粉末の添加の有無の下で形成される加熱ゲル・タンパク質間の結合

形成された加熱ゲルのタンパク質間結合のタイプを、す

Fig. 1 Changes in protein solubility of heated gels in five solvents as a function of the preheating time of salt-ground meat from frozen surimi with and without addition of albumen powder

The data shown in Table 1 was employed in this figure.

The composition of the solvents and symbols (S1-S5) used were the same as in Table 1.

Solvents:

S1, ($\square$); S2, ($\diamond$); S3, ($\triangle$); S4, ($\circ$); S5, ($\times$); I, ($\bullet$)

Frozen surimi:

(A, B), AG; (C, D), WP

Additive:

(A, C), none; (B, D), 3% albumen powder

り身原料の魚種の間、直加熱ゲルと二段加熱ゲルの間、および卵白粉末の添加の有無の間で比較した。すなわち、Table 1 に示したタンパク質の各種溶媒に対する溶解度から、S1, (S2-S1), (S3-S2), および (S4-S3) 量を求め、結果を Table 2 に示した。これらの値は、それぞれイオン結合、水素結合、疎水性相互作用、S-S 結合が加熱ゲルの構造に寄与している割合を表わすと見なして利用されてきた⁶⁾。これに従って Table 2 の結果を見ると、まず直加熱ゲルでは、ホッケかスケトウダラかを問わず、加熱ゲルの構造におけるイオン結合、水素結合、および S-S 結合の関与は比較的小さく、疎水性相互作用の寄与が極めて大きいことが推測される。また、3% 卵白粉末を加えると、ホッケ

の加熱ゲルでは、疎水性相互作用の関与がやや小さくなり、S-S 結合の寄与率が大きくなる事が示唆された。一方、スケトウダラの場合は、卵白粉末の添加による影響は比較的小さかった。

次いで、二段加熱ゲルについて見ると、ホッケの加熱ゲルの場合は、予備加熱時間が初期の間は疎水性相互作用の関与がやや小さくなり、S-S 結合のそれがやや大きくなるものの、直加熱ゲルの場合と大きな差はみられなかった。一方、スケトウダラでは、予備加熱時間に伴って4種の結合タイプの寄与率はいずれも減少する傾向を示し、それに代わってより強力なタンパク質間の結合(または相互作用)が形成されることが、I 成分が生成、蓄積する事実から推

Table 2 Possible binding types involved in heated gel protein formed from frozen surimi with and without addition of albumen powder

surimi	Time of preheating (h)	Types of binding force				
		Ionic bond (S1)	Hydrogen bond (S2-S1)	Hydrophobic interaction (S3-S2) (%)	Disulfide bond (S4-S3)	More intensive bond I= (100-S4)
AG	0	12.4	7.1	47.5	15.3	17.7
	1	14.5	11.4	50.2	2.3	21.6
	2	5.4	14.4	45.9	11.6	22.7
	4	15.8	2.0	36.7	38.3	7.1
	6	14.7	4.6	49.8	20.6	10.3
	8	3.0	16.3	50.0	18.1	12.6
AG + 3% AI	0	2.3	11.0	39.0	36.9	10.8
	1	4.2	9.1	28.5	49.4	8.8
	2	9.7	4.3	27.8	45.3	12.9
	4	2.7	12.6	35.3	32.3	17.1
	6	9.9	7.7	38.0	29.1	15.3
	8	1.5	14.2	36.5	34.8	13.0
WP	0	13.5	16.8	40.3	12.4	17.0
	3	8.6	12.9	12.6	10.8	55.1
	6	16.2	2.9	9.5	19.6	51.8
	9	13.2	7.3	11.8	10.7	57.0
	12	14.5	3.8	18.2	2.4	61.1
	15	12.1	7.5	24.6	10.3	45.5
WP + 3% AI	0	9.1	11.8	39.4	19.4	20.3
	3	12.3	0.7	11.7	30.0	45.3
	6	9.1	6.2	10.2	10.7	63.8
	9	9.2	4.0	7.7	6.9	72.2
	12	8.2	6.4	7.8	9.3	68.3
	15	12.4	0.8	10.1	9.4	67.3

AI ; Albumen powder

The data shown in Table 1 were used to assume the possible major types of interaction /bond in protein structure of the heated gel.

定されるに至った。

スケトウダラの二段加熱ゲル（坐り加熱ゲル）のタンパク質間に見出されたこの強い結合力の実体については未だに確定していない。これまでに報じられたいくつかの知見，すなわち，2%SDS+8.0M U+2%Meを媒体とするSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動分析によると，坐り加熱ゲル中には共有結合した二量体～十量体と推定されるミオシン重鎖の多量体が検出され，またより巨大な多量体の生成も予測されること¹³⁾，坐り加熱ゲルのプロテオリシス生成物の中に ϵ - γ （グルタミル-リジン）に相当する成分の存在が確認されること¹⁴⁾，また生成したI成分は8.0M Uに不溶ではあるが，2%SDSに易溶であるという特徴的な溶解性を示すことなどの諸事実を考慮すると，坐り加熱ゲル・タンパク質間には，より広範囲にわたる疎水性領域に生ずる強い相互作用や絡み合い⁹⁾ およびグルタミン酸とリジン側鎖間のイソペプチド結合などが協調して作用していると考えられる。

Table 2 に示した加熱ゲル形成に対する S-S 結合の寄与

率は S4 と S3 へのタンパク質の溶解度の差を基にして推測した結果である。いずれの溶媒にも 0.6M N と 8.0M U が含まれているので，加熱ゲル中のイオン結合，水素結合，および疎水性相互作用が全て切断されており，S-S 結合が加熱ゲル・タンパク質間のどのような構造部位に存在しているかは，明らかにできない。そこで 2%Me の単独溶媒への溶解度を測定した。その結果，ここには図示しないが，予備加熱が 0～15 時間にわたる 5 種の加熱ゲルの溶解度は，ホッケでは 7.9%～13.1%，卵白粉末を添加すると 31.5～36.3%，またスケトウダラでは 11.2～15.5%，卵白添加後は 8.2～9.4% となり，僅かな差異はあるものの，Table 2 の結果とほぼ同じレベルの値となった。したがって，形成される S-S 結合は加熱ゲルの構造の表面に近い易反応性の部位にあると推定される。

3. 加熱ゲル・タンパク質の各種溶媒に対する溶解度とゲル物性との関係

各種溶媒に対するタンパク質の溶解度を検討した加熱ゲルについて，そのゲル物性値を測定し，両者の関連性につ

Fig. 2 Changes in rheological properties of heated gels as a function of preheating time of salt-ground meat formed from frozen surimi with and without addition of albumen powder

Preparation of the heated gels was conducted as in Table 1. The breaking strength (BS, g) and breaking strain (bs, cm) were measured with a rheometer by using a spherical plunger of $\phi 5$ mm. The gel stiffness (Gs) was calculated as BS/bs, g/cm.

Rheological properties:

(A, D), BS; (B, E), bs; (C, F), Gs

Frozen surimi:

(A, B, C), AG; (D, E, F), WP

Additive:

(○), none; (●), 3% albumen powder

いて検討した。

ホッケおよびスケトウダラの肉糊を 25℃で 8 時間および 15 時間に渡って予備加熱した後、二段加熱ゲルを調製して BS と bs を測定し、結果を Fig. 2 に示した。すなわち、ホッケの加熱ゲルについては、BS と予備加熱時間の関係 (A)、bs と予備加熱時間の関係 (B)、および BS と Gs (BS/bs) の関係 (C) を示したが、これによると、予備加熱時間に伴って BS は殆ど変わらず、bs は僅かに減少した。また 3% 卵白粉末を添加すると両物性値は全体に高値となるが予備加熱に伴う経時的な変化の傾向は変わらなかった。BS と GS の関係をプロットすると、卵白粉末を添加した方が高値となるが、全てのプロットは図中の 1 カ所に集

中した。これは非坐り加熱ゲルの特徴である。一方、スケトウダラの加熱ゲルについて、BS と予備加熱時間の関係 (D)、bs と予備加熱時間の関係 (E)、および BS と Gs の関係 (F) を示したが、これによると、BS と bs はいずれも予備加熱に伴って増加する傾向を示した。また、卵白粉末を添加すると加熱ゲルの両物性値は全般に高値となるが、予備加熱に伴う経時的な増加の様式 (初期に大きく増加し、数時間後に最大値に達する) は卵白添加の有無に関わらず、ほとんど同じであった。BS と Gs の関係は直線となり、両値の間に強い正の相関が認められるが、これは卵白粉末を添加しても同じであり、坐り加熱ゲルの形成に際して見られる特徴として既に知られている^{1)~3)}。なお、物性上の特徴

をBS vs Gsの関係直線で比べると、予備加熱温度域が5~30℃の間ではいずれも合致することが知られている¹⁵⁾。それゆえ、この特徴は予備加熱温度に関係なく、全ての坐り加熱ゲルに共通している。

ホッケの場合は、予備加熱が8時間に渡って、物性値は僅かに減少するものの大きな変化ではなく、また、加熱ゲル・タンパク質の各種溶媒に対する溶解度には大きな変化が認められないので、物性と溶解性は良く関連しているように思われる。すなわち、加熱ゲル形成にはタンパク質間の疎水性相互作用が大きく関与しているが、これは高温域下でもたらされる影響であり、予備加熱（低温域）では起こりにくいためであると考えられる。一方、スケトウダラの加熱ゲルでは、15時間にわたる予備加熱によってその物性値は大きく増加するが、これに対応するかのようにならぬ溶媒に対するタンパク質の溶解度も大きく変化し、疎水性相互作用を切断する8.0 M Uに溶解しないタンパク質成分が生成蓄積する。したがって、I成分を形成するより強い結合力と坐り加熱ゲルの高い物性値とは特に関連しているように思われる。さらに、3% 卵白粉末を添加すると、ホッケ加熱ゲルではタンパク質間のS-S結合の関与が強まることが推定され、スケトウダラ加熱ゲルではI成分として検知されるより強い結合の関与が大きくなる事が推測される。ただし、坐り加熱ゲルの物性値と各種溶媒へのタンパク質の溶解度との関連性は無添加の加熱ゲルの場合と基本的に同じで大きく変わらなかった。

要 約

ホッケ（AG）とスケトウダラ（WP）の冷凍すり身から3% 卵白粉末の添加の有無の下で直加熱ゲル（90℃、30分）と二段加熱ゲル（25℃、数時間後、90℃、30分）を調製した。調製した加熱ゲルを細切し、0.6 M NaCl（N）、1.5~8.0 M 尿素（U）、および2% 2-メルカプトエタノール（Me）からなる混合溶媒中で攪拌、溶解させ、タンパク質の溶解度（%）を測定し、レオメーターで測定した物性との関係を検討した。

(1) 非坐り加熱ゲル（AGとWPの直加熱ゲルとAGの二段加熱ゲル）のタンパク質の大部分が0.6 M N+8.0 M U+2% Me 溶媒に溶解した、これは卵白粉末の添加によっても変わらなかった。

(2) 坐り加熱ゲル（WPの二段加熱ゲル）のタンパク質は、各種混合溶媒への溶解度が予備加熱の進行に伴って激減し、不溶性のタンパク質成分が蓄積した。この変化は卵白粉末の添加によってやや強まった。

(3) 各種の溶媒へのタンパク質の溶解度の比較結果から

非坐り加熱ゲルの形成には疎水性相互作用が、また卵白を加えるとS-S結合が僅かに関与し、一方、坐り加熱ゲルの形成にはより強力な結合（または相互作用）が関与していると推定した。

文 献

- 1) 鈴木 潤, 藤井陽介, 北上誠一, 新井健一, 小関聡美, 加藤登, ホッケとスケトウダラ及び混合肉糊から調製した加熱ゲルの品質に対する乾燥卵白の添加効果, 東海大紀要海洋学部, **6**, 27-35 (2008).
 - 2) 加藤 登, 藤井洋介, 國本弥衣, 北上誠一, 新井健一, 三種の魚類冷凍すり身に卵白粉末を添加した加熱ゲルの物性値とタンパク質濃度との関係, 日本食品科学工学会誌, **57**, 414-419 (2010).
 - 3) 加藤 登, 鈴木康宏, 國本弥衣, 北上誠一, 村上由里子, 新井健一, 三種の魚肉すり身製加熱ゲルの物性に及ぼす豚血漿と卵白粉末の添加効果の比較, 日本食品科学工学会誌, **56**, 21-37 (2010).
 - 4) ジャン-クラウド シェフテル, ジャン-ルイ クック, ドゥニ-ロリアン, タンパク質構造に関わる相互作用, 「食品タンパク質ハンドブック」, 第1版 (NTS, 東京) pp. 26-45 (1988).
 - 5) Park, J.W., Yongsawatoigul, J. and Lin, T.M., Rheological behavior and potential cross-linking of Pacific whiting surimi gel. *J. Food Chem.*, **59**, 773-776 (1994).
 - 6) Perez-Mateos, M., Lourenço, H., Montero, P. and Borderias, A.J., Rheological and biochemical characteristics of high-pressure and heat-induced gel from blue whiting muscle proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 44-49 (1997).
 - 7) 牧之段保夫, 中川孝之, 安藤正史, 松野 智, 坐りによる減塩かまぼこの足の補強とかまぼこ組織の電子顕微鏡観察, 日本水産学会誌, **62**, 654-658 (1996).
 - 8) 伊藤慶明, 魚肉の加熱ゲル形成におけるS-S結合の役割に関する研究, 日本水産学会誌, **66**, 380-383 (2003).
 - 9) 丹羽栄二, かまぼこの足とその補強, 食品加工技術, **10**, 88-94 (1990).
 - 10) Niwa, E. In "Chemistry of surimi gelation, [Surimi Technology]," eds. Lanier, T.C., and Lee.C.M. (Marcel Dekker, Inc., NY), pp. 389-427 (1999).
 - 11) 岡田 稔, かまぼこの足の科学, 「かまぼこの科学」, (成山堂書店, 東京), pp. 52-55 (1999).
 - 12) Lanier, T.C. In "Surimi gelation chemistry [Surimi and Surimi Seafood]," ed. Park, J. W. (Marcel Dekker, Inc., NY), pp. 239-266 (2000).
 - 13) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一, 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**, 1559-1560 (1985).
 - 14) Kimura, I., Sugimoto, M., Toyoda, K., Seki, M., Arai, K. and Fujita, T., A study on the cross-linking reaction in kamaboko, suwari gel. 日本水産学会誌, **57**, 1389-1396 (1991).
 - 15) 北上誠一, 村上由里子, 小関聡美, 阿部洋一, 安永廣作, 新井健一, スケトウダラ塩すり身のゲル形成能とその加熱温度依存性, 日本水産学会, **70**, 354-364 (2004).
- (平成25年6月30日受付, 平成25年10月8日受理)