魚 介 肉 の 膨 潤—I. 酸及びアルカリの影響

岡 田 稔・多田節子
(東海区水産研究所)

Swelling of Aquatic Animal Muscles—I. Influence of pH Minoru OKADA and Setsuko TADA

In order to obtain in a simple method knowledge of hydration of fish muscle which plays an important role in behavior of the muscle proteins, a series of research has to be carried out on swelling of muscle. In the present study, effect of pH on swelling of comminuted muscle is examined. Degree of swelling (S) is expressed by volume percentage of sedimentary muscle in a mixture of 1 part muscle and 3 parts water after centrifuged.

In case of horse mackerel muscle, on either side of an isoelectric zone (about 5.0~6.0), addition of HCl up to about pH 4.5, or of NaOH up to about pH 9.5 occasions very pronounced swelling. Further addition of acid or alkali causes slight peptization and the swelled muscle shows weak fluidity (Fig. 1).

KCl, added so as to 0.5 M solution, suppresses swelling of muscle caused by HCl below an apparent isoelectric point, pH 5.5 (pH for the minimum swelling), but above pH 5.5, it exerts an exactly opposite effect, namely, very marked increase in swelling is observed in presence of salt (Fig. 4).

From these facts it is deduced that swelling of muscle cannot be explained simply on basis of osmotic pressure alone, but it seems to have a close relation with hydration of muscle proteins, especially that of myosin. Because solubility of myosin rises on the alkaline side, while decreases on acid side of isoelectric point in presence of salt.⁽⁷⁾

According to the nature of anions or cations, different kinds of acids or bases vary in their effects upon the swelling. For instance, H_2SO_4 (Fig. 2) and $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (Fig. 3) which both interact with the proteins as a bivalent ion, do not cause so marked swelling as HCl or NaOH.

When compared the swelling of horse mackerel muscle with those of sardine, carp, and skip-jack, no appreciable differences are observed among the behaviors of their swelling. On the other hand, the muscle of squid behaves differently from the other fish muscles in the following ways: (1) its isoelectric point (pH 4.8) is lower than that of the others (pH 5.5), (2) marked swelling is observed between 5.5 and 8.5, (3) when pH stands outside of this range, considerable peptization of the proteins occurs to form a viscous solution (Fig. 5).

一種の親水性コロイドである肉蛋白の特性、加工処理中の変化を見てゆくには、親水性コロイドの安定にあずかっているといわれる電荷及び水和のなしている役割を考える必要がある様に思われる。先に著者等の一人¹⁾は魚肉の坐りには肉蛋白の水和が大きな役割を演じている事を推論し、又 Tarr²⁾は pH の調節、NaCl 添加により冷凍肉の drip が防止しうるのは此等処理により筋肉蛋白の水を結合する力が強められた為であることを明かにしている。この他の種々の現象に肉蛋白と水との相互作用——水和が重要な役割をなしている事は想像に難くない。我々は魚介肉蛋白の水和性を何か簡単な方法でみたいと思い、膨潤現象を取上げてみた。蛋白の様な高分子物質の膨潤は本質的には溶解の一段階であるといわれ一種の溶媒(水)と現象とみなされているから³⁾である。而して水和の中心としては先ず荷電基があげられている。蛋白分子中の荷電基の数に最も影響を及ぼすのは pH である。そこで本報では先ず魚介肉の膨潤に対する pH の影響を見た。

実 験

〔実験方法〕

血合肉を除去した精肉を肉挽にかけ約2倍量の水を加えて blender にかけ更に細切、均質にする。これに酸及びアルカリを加えて pH を調節する。添加液は常に肉 10g に対して 30cc になるようにした。pH を調節した試料を 50cc 容目盛附沈澱管に移し 5°C に 18 時間放置後、4000 r. p. m. 10 分間遠心分離して沈澱量を観測し、又試料の状態を観察する。

試料の全容量が T 、沈澱容量が P の場合

$$S = \frac{P}{T} \times 100$$

即ち沈澱の容量%, S を以て膨潤度とした。尚 pH の測定には硝子-カロメル電極 pH meter を用いた。

〔実験1〕 アジ肉の膨潤曲線

アジ肉を用い酸として HCl、塩基として NaOH を用いて pH の影響をみた。(Fig.1)

アジ肉の pH は 6.0 附近でありこれをそのまま膨潤させると分離液はやや濁っているが酸の添加とともに膨潤度は次第に減少し pH 5.4~5.8 では膨潤は最低となり肉は固く沈澱し、無色透明な上澄液とはつきり分れる。更に添加酸量が増えると pH 5.0 以下から肉の膨潤度は急激に上昇し pH 4.5 附近では完全に膨潤し、白色の柔い gel が形成される。pH が更に低くなると肉は流動性を帯びて来る。

又アルカリ側に於ても pH の上昇と共に膨潤度は漸次上昇し液

の濁度も増してくる。pH 9.3 附近で完全に膨潤し gel を形成する。更に pH が高くなると肉は流動性を帯び 11 以上では完全な sol 状態となる。9.3~10.0 の間に膨潤曲線に谷が現われるが此の場合 9.3 以下の場合と異り肉と液との境界は判きりせず沈澱した肉も粘稠性を帯び且つ流動性があり溶けかかっていると

Fig.1 Influence of pH on swelling of comminuted horse mackerel muscle. S (degree of swelling) shows volume percentage of sedimentary muscle in the mixture of 1 part muscle and 3 parts water after centrifuged.

いう感がある。一般に酸性側では肉の色調は白色であるのに対し、アルカリ側では肉色～黄褐色である。

〔実験2〕 酸及び塩基の種類の影響

実験1では pH の調節に HCl, NaOH を用いたが酸として HNO_3 , H_2SO_4 , H_3PO_4 , CH_3COOH , 酒石酸, 酢酸及びピクエン酸を用い, 塩基として KOH 及び $\text{Ba}(\text{OH})_2$ を使用し実験1と同様アジ肉を用いて膨潤曲線を求めた (Fig. 2, 3).

Fig. 2 Influence of acids on swelling of comminuted horse mackerel muscle.
× without acid; ○ HNO_3 ; ● H_2SO_4 ;
● H_3PO_4 ; ● acetic acid

Fig. 3 Influence of alkali on swelling of comminuted horse mackerel muscle.
× without alkali; ○ KOH; ● $\text{Ba}(\text{OH})_2$

いづれの酸の場合でも $\text{pH} > 5.0$ では肉は固く沈澱液は清澄であるが, HNO_3 , H_3PO_4 , CH_3COOH その他の有機酸は細かい性状では違っている所もあるがいずれも HCl の場合と略同様な膨潤曲線を与えるが, H_2SO_4 のみは他の酸とは異なり $\text{pH} 4.5$ 以下でも完全膨潤を起さない。

一方アルカリ側では KOH は NaOH と殆んど同様な効果を示すが $\text{Ba}(\text{OH})_2$ の場合には著しくその様相を異にし, pH の上昇と共に徐々に膨潤性を増加せしめるが, NaOH 等で完全膨潤のみられた 9.5 でも $S=60$ で分離液は殆んど透明である。9.5 以上では一度谷をつくり 11 附近で 100% 膨潤となる。9.5 以上では分離液は白濁, 粘稠で液と沈澱との境界ははつきりしない。NaOH, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ いづれの場合にも $\text{pH} 9.5$ の左右では肉の膨潤状態が違っているのは興味がある。尙最小膨潤度を示す pH を肉の等電点とみなすならばアジ肉の等電点は 5.6 附近 (5.0~6.0) となる。

〔実験3〕 pH による膨潤に対する塩の影響

NaOH, HCl によつて種々の pH に調整したアジ肉に KCl を加えて pH による膨潤に対する塩の影響をみた (Fig. 4)。KCl は試料中の水分に完全にとけたと考えた場合 0.5 M 濃度になる様に加えた。

等電点及び之よりアルカリ性側では KCl が存在すると肉の膨潤度は著しく増大し $\text{pH} 7.0$ という低 pH でも 100% 膨潤を示す。之に対し等電点より酸性側では 100% 膨潤を起すべく $\text{pH} (< 4.5)$ でも塩の存在する時は固い沈澱, 透明な上澄液を与えて等電点 (塩の存在しない場合) の肉と同様な性状を与える。又 100% 膨潤している肉に塩を加えると肉は即座に凝固沈澱を起す。即ち等電点より酸性では塩の存在は

肉の膨潤を阻害する。

〔実験 4〕 魚種による pH 膨潤曲線

以上の実験はアジ肉を用いて行つたが、イワシ、カツオ、コイ、スルメイカを使用してこれ等の肉の pH による膨潤の状態を観察した。その結果は Fig. 5 に示す通りである。イワシ、カツオ、コイ肉はアジ肉とよく似た膨潤曲線を与え沈澱状態、又最小膨潤点から判断した等電点も 5.5 附近 (5.0~6.0) にある。所が軟体動物であるスルメイカ肉ではその様相を全く異にする。即ち膨潤曲線から判断される等電点は pH 4.8 附近 (4.5~5.3) であり、又アルカリ性側の膨潤は比較的低い pH から著しく起り膨潤曲線は魚肉が上に凹型であるのに対して凸型になっている。又完全膨潤状態でもイカでは流動性に富み完全な膨潤点から更に酸及びアルカリ度が強くなると粘稠な sol というよりもサラサラした完全な溶液の様な感じになる。

考 察

蛋白の膨潤現象は古くから多くの人によつて研究され、魚肉の膨潤については最近では TARR²⁾ 及び野口⁴⁾ 氏等の研究がある。pH による蛋白の膨潤曲線は DONNAN の膜平衡を用いて屢々説明されており、野口氏等もイカ肉、鯉肉の肉片を用いて酸膨潤を研究し LOEB⁵⁾ 等の提唱する

DONNAN 効果によつて説明している。即ち氏は等電蛋白に酸を加えると所謂 DONNAN の膜平衡が生じ滲透圧が等電点のそれより高くなるので肉の膨潤度が増加すると言っている。アルカリ膨潤も同様に説明しうる筈である。しかし DONNAN 効果では肉蛋白の膨潤を説明し得ない事を TARR は指摘している。即ち氏は Halibut の細切肉を用いての pH による膨潤で、NaCl は酸膨潤を低下させるのに対してアルカリ膨潤を促進する事を明かにし、DONNAN 効果を打消し膨潤を低下せしめるべき NaCl 添加が逆に膨潤を促進するアルカリ側の行動は単に滲透圧では説明出来ないと述べている。我々が実験 3 でみたアジ肉の pH による膨潤に対する KCl の影響は TARR の結果と全く同じである。DONNAN 効果は電解質濃度が低い場合にのみ現われ電解質濃度が高くなれば消失する事が知られている。⁵⁾ 実験 3 にみられた様に DONNAN 効果を打消すのに充分な量の KCl を加えると等電点の酸性側では完全な膨潤を起している肉が凝固し、膨潤度が低くなるのは一応 DONNAN 効果が消失し、滲透圧が減じた為と説明出来るが、逆に KCl が膨潤を促進しているアルカリ側の影響はこれでは説明出来ない。即ち我々は TARR と同様、少くとも細切肉を用いての膨潤現象は単なる滲透圧現象では説明出来ないと思う。

一般に高分子物質例えば蛋白の膨潤といわれるものは本質的には溶解過程とみなされている³⁾。REAY⁶⁾ は

Fig. 4 Influence of pH and KCl on swelling of comminuted horse mackerel muscle.
○ without KCl; ● with KCl.

Fig. 5 Influence of pH on swelling of comminuted muscles of ● sardine, ○ carp, ◐ skipjack, and ◑ squid.

多量の 0.05 N~0.005 N の HCl, 及び 0.1 N~0.005 N の NaOH を用いれば筋肉中の可溶性蛋白が完全に抽出されることを見ているがこの抽出条件は 100% の膨潤のみられた条件, 即ち $\text{pH} < 4.5$ 及び > 9.5 と合致している様に思われる。本実験では肉全部を用いているので種々の蛋白 (myosin, myogen, collagen etc.) の他, その分解産物, エキス分, 無機塩を含んでいる複雑な系で何がこの膨潤現象に関係しているかは各成分を単離して研究する必要がある事は論をまたない。併し肉蛋白の主要成分である myosin は等電点が 5.4 で水に不溶であるが塩の存在によつて可溶性となり, 又酸及びアルカリにとける。又塩とアルカリが共存する場合には附加的に偽いて溶解度をますが塩と酸とが共存する場合には逆に拮抗的に偽いて溶解度が減ずる事を Edsall が報告している⁷⁾。本実験の膨潤曲線は此の myosin の溶解現象——水和現象とよく合致して居り我々の観察している肉の膨潤現象は肉蛋白特に myosin の溶解——水和に起因するところの大なることを示すものと言えよう。唯我々の実験では溶媒の量が肉に対して限られた量 (3:1) であるために完全な溶液とはならず gel 又は濃厚な sol 状態となつたものであらう。

次に実験 2 に於て, H_2SO_4 のみが他の酸とくらべて著しく膨潤曲線を異にし, 又 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ も他のアルカリと様相を異にしている事を認めた。一定量の肉 (10g) の水懸濁液に N/10 の酸又は塩基を添加し滴定曲線を求めてみると (Fig 6, 7) H_2SO_4 は HCl, HNO_3 と同一の曲線を示しこれらの所謂強酸と蛋白との結合は当量関係にある。従つて H_2SO_4 は蛋白との結合に 2 塩基性酸として働く。これに対し蓚酸及び磷酸等の多塩基性酸は肉を同じ pH にするのに HCl 等強酸の 2 及び 3 倍を要し恰も 1 塩基性酸の如く行動し

Fig. 6 Titration curve of horse mackerel muscle, $\times$ without alkali, $\circ$ HCl; $\bullet$ HNO_3 , $\bullet$ H_2SO_4 , $\square$ oxalic acid, $\triangle$ H_3PO_4

Fig. 7 Titration curve of horse mackerel muscle, $\times$ without alkali; $\circ$ KOH; $\bullet$ $\text{Ba}(\text{OH})_2$

蛋白とは当量関係ではなくむしろ分子関係で反応する。この事は古くから知られている事で (例えば Hitchcock の edestine での実験⁸⁾) 蛋白と結合して塩をつくりうる酸はその解離恒数が蛋白の $-\text{COOH}$ の解離恒数より大なるもの即ち $\text{pK} < 4$ の酸のみに限られているという結果と一致する。即ち H_2SO_4 は $\text{pK}_2 =$

1.90 であるので二塩基性酸として付き、 H_3PO_4 は $\text{pK}_1=2.12$, $\text{pK}_2=7.21$, $\text{pK}_3=12.30$ なる故 1 塩基性酸として付くのであろう。同様な事は電離恒数の著しく異なる塩基の場合にも見られる筈であるが、 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ は滴定曲線からも判る様に蛋白と当量関係で結合し二酸性塩基として付く。以上の事から H_2SO_4 , $\text{Ba}(\text{OH})_2$ のみが肉の膨潤に対して異常現象を示すのは此等の酸イオン、塩基イオンが2価イオンとして蛋白と反応するため、イオンのコロイド粒子の凝結能力はイオンの電荷が大きくなると異常に増大するという SCHULZE-HARDY の法則から考えるとイオンの荷電の影響が大きく現われて膨潤を低下するためと解釈されよう。

又アルカリ側で膨潤曲線に pH 9.5 以上の所に谷が現われ、9.5 の両側で肉の性状を異にする事を認めたが蛋白の塩基性アミノ酸残基の解離状態と関係がある様にも思われるが何とも言えない。

実験4に於て軟体動物であるイカ肉は普通魚肉とくらべて膨潤現象が著しく異つてゐる事を認めた。イカ肉の等電点が魚肉にくらべて酸性側にづれている事は野口氏⁹⁾も認められて居り、唯実験方法の相違の爲か我々の値とは異つてゐる。等電点が酸性にずれている事はアミノ酸組成即ち塩基性アミノ酸と酸性アミノ酸の割合が魚肉と異つてゐる為とも考えられるが既往文献によれば塩基性アミノ酸含量には差が認められず、又松本氏¹⁰⁾の酸性アミノ酸含量の測定でもイカとアジの間には差が認められない。従つてこれは単なるアミノ酸組成では説明出来ない様に思われる。此の実験は全肉を用いてゐるので蛋白のみならず、灰分、エキス分等の影響も大きく現われる事も考えられ又蛋白分子の空間的配列迄も考える必要もあるとも思われるが此の解明は今後の研究にまきたい。

又イカ肉のアルカリ性側の膨潤曲線が上に凸な事、完全膨潤点以上では溶液状態になる事はイカ肉が溶解しやすいことを示唆するものとみられるが、此の原因については肉蛋白の組成、肉蛋白自体の性質が違つてゐるからとも考えられ又イカ肉は魚肉とは全く異つた肉組織をもち、水溶液が流動度屈折を示すなど特異性を示すイカ肉の特性¹⁰⁾と何か関係があるとも想像されるが解明には各成分を単離して研究する必要がある。

以上我々のみた膨潤現象は肉蛋白特に myosin の水和性に密接な関係があると推察され、逆に肉の水和性をみてゆく一つの手段として膨潤現象を用いる事が出来る様に思われる。

摘 要

1. 魚介肉の水懸濁液を用いて酸及びアルカリの肉の膨潤に対する影響をみた。
2. アジ肉では pH 5.0~6.0 附近で膨潤は最小となり更に pH が低くなると急激に膨潤性をまし 4.5 附近では完全に膨潤する。アルカリ性側では pH の上昇と共に次第に膨潤性をまし pH 9.5 附近で完全に膨潤する。最小膨潤点を肉の等電点と考えればアジ肉では 5.6 附近になる。
3. pH 調節に用いる酸、塩基の種類によつて膨潤に対する影響が異り、蛋白と結合するのに 1 塩基性酸及び 1 酸性塩基として付くものは同様な効果を示すが、2 価の酸及び塩基として付く H_2SO_4 , $\text{Ba}(\text{OH})_2$ は 1 価のもの程大きな膨潤促進効果を示さない。
4. KCl を添加すると等電点及びそれよりアルカリ性側では肉の膨潤が促進されるが、酸性側では却つて阻害される。
5. 以上より膨潤現象は単なる滲透圧現象では説明出来ず、肉蛋白特に myosin の水和性と密接な関係のある事を明かにした。
6. 魚肉では魚種による膨潤曲線には大きな差異は認められないが、軟体動物であるスルメイカ肉は普通の魚肉と著しく異り、最小膨潤点は酸性側にづれ (イカ肉:4.8 附近, 魚肉:5.5 附近) 又アルカリ性側で膨潤しやすい。

終りに本研究に際し御指導を賜った右田正男先生、実験に御助力下さったお茶の水女子大学生高橋由子氏に深謝の意を表す。

文 献

1. 右田, 岡田: 日水誌 **18** 117, 159 (1952).
2. H. L. A. TARR: *J. Fish. Res. Bd. Can.* **5** 411 (1942).
3. 例えば水島: 物理化学 **4** 1021 (1949) 共立出版
4. 野口等: 日水誌 **16** (12) 25 (1951).
5. J. LOAB: *Proteins and theory of colloidal behavior*: (1924) Mc Grow Hill
6. G. A. REAY: *Rep. of the Food invest. Bd.* **1935** 65
7. J. T. EDSALL: *Adv. in protein chem.* **3** 426 (1947).
8. HITCHCOCK: *J. gen. physiol.* **4** 733 (1922).
9. 松本等: 日本水産学会大会講演 (函館) 1952 年 9 月
10. 右田: 日水誌 **18** 558 (1953).