水産動物肉に関する研究—XXXII 魚肉アクトミオシンの固有粘度

上田 侃 男・志 水 寛・清 水 亘*

(1962 年 6 月 22 日受理)

STUDIES ON MUSCLE OF AQUATIC ANIMALS—XXXII THE INTRINSIC VISCOSITY OF FISH-ACTOMYOSIN

Tadao UEDA, Yutaka SHIMIZU and Wataru SIMIDU*

The intrinsic viscosity of actomyosin fraction purified by repeating the dissolution with a moderate concentration of NaCl solution (0.6M NaCl + M/30 Na_2HPO_4 + M/30 KH_2PO_4 , pH 6.8) and the precipitation by dilution with water was determined. The fraction was proved by the salting-out analysis to be consisted of a practically single component precipitable between 28~34% of saturated ammonium sulphate (Fig. 1).

The values of intrinsic viscosity for eight species of fish came within a narrow range, 2.0~2.5, with the exception of a spotted halibut, having the lower value (1.8) (Fig. 2).

When the fishes were frozen and stored, those values were lowered with the time of storage, and the lowering rate was found to differ from species to species (Fig. 3).

著者ら¹⁾は魚の肉質や足形成能が魚種や鮮度によつて異なる原因の一つとして、ミオシン区蛋白の種特異性を仮定し、まずその蛋白組成、とくにミオシンとアクチンの組成を調べるための研究を進めてきたが、それらを分離して完全に抽出することは非常に困難であることが明らかにされた。

本研究では、中性塩溶液の長時間抽出によつて、ほとんどアクトミオシンのみからなるとされるミオシンBを精製し、その固有粘度が魚種や鮮度によつてどのように異なるかをしらべた。

実 験 方 法

(a) 試 料

この実験で用いた魚は下記の8種類である。

ムシガレイ (Shotted halibut) *Eopsetta grigorjewi* (HERZENSTEIN).

マ ダ イ (Bream) *Chrysophrys major* TEMMINCK et SCHLEGEL.

ハ マ チ (Yellow-tail) *Seriola quinqueradiata* TEMMINCK and SCHLEGEL.

マ エ ソ (True lizard fish) *Saurida undosquamis* (RICHARDSON).

ホ シ ザ メ (Star-spotted shark) *Mustelus manago* BLEEKER.

コ ノ シ ロ (Gizzard shad) *Konosirus punctatus* (TEMMINCK and SCHLEGEL).

シ ロ グ チ (White croaker) *Argyrosomus argentatus* (HOULTUYN).

ウ グ イ (Fat minnow) *Tribolodon hakonensis hakonensis* (GUNTHER).

これらは舞鶴近海で漁獲され、3~6 時間以内に氷詰めにして実験室へ運んだ死後硬直中、または硬直前のものである。試料の一部はただちに採肉、抽出を行なつたが、残部は魚体のままハイゼックス・フィルムに密封して凍結貯蔵し、(-15°C)、2 週間および4 週間後に実験に供した。

* 京都大学農学部 (Lab. Fish. Chem., Tac., Agr., Kyoto Unive.)

(b) ミオシン B 溶液の調製

魚のうろこ、骨、皮および赤身肉を除いた背肉 10 g を蒸留水 20 ml とともに 1 分間ブレンダーにかけて得られた肉糊に 100 ml の塩溶液 (0.6 M NaCl+1/30 M KH_2PO_4 +1/30 M Na_2HPO_4 , pH 6.8) を加え、氷水中で 5 時間抽出し、遠心分離 (3500 r.p.m., 20 min) を行なつた。その上澄液をイオン強度 0.2 になる

Fig. 1. Salting-out curve of myosin B (lizard fish muscle) prepared for measurement of the viscosity.

C: % of saturated ammonium sulphate solution.

まで蒸留水で希釈し、5 時間氷水中で放置したのち、遠心分離して沈澱を集め、これをふたたび上記の塩溶液 100 ml に溶解した。この操作をさらにもう一度くりかえし、得られたアクトミオシン沈澱に対して最終塩濃度および pH が 0.6 M NaCl+1/30 M KH_2PO_4 +1/30 M Na_2HPO_4 , pH 6.0 になるように塩溶液を加え、三たびその沈澱を溶解させ、1 時間放置後遠心分離 (3500 r.p.m., 25 min.) して上澄液を粘度測定に供した。このようにして調製した試料溶液の硫酸飽和濃度 8~60% における塩析分析図形の一例 (エソ) を Fig. 1 に示した。硫酸濃度 28~34% 飽和にするどいアクトミオシンのピークが現われるのみで、他の濃度域には顕著な山はなく、この方法で得たミオシン B がほとんどアクトミオシンのみからなることが知られる。

る。

(c) 粘度測定

試料溶液の安定性

固有粘度を求めるための一連の粘度測定を行なうには、かなりの時間を要するので、

Table 1. Change of relative viscosity of myosin B at 10°C.
Protein concentration:
212 mg/100 ml.

Time of storage (Minute)	η_r
0	1.59
30	1.60
60	1.61
90	1.58

測定中に試料の粘性的性質が変化しないことを確かめておく必要がある。そのため、試料溶液を 10°C に放置し、その粘度を 30 分ごとに測定したが、Table 1 に示したように、90 分までではほとんど変化が認められなかつた。右田ら²⁾もコイのアクトミオシン溶液を 20°C で 60 分放置して、その粘度に変化がなかつたことを報告している。著者らが一つの試料の固有粘度を求めるための数回の粘度測定に要する時間は約 70 分であつたが、この間に粘度の変化のおそれはまずないものと考えられる。

粘度計 アクトミオシン溶液はいちじるしい非ニュートン性を示すために、その粘度は濃度だけでなく流速によつても異なるので、右田らが行なつたように、固有粘度は濃度 c および速度

勾配 β を零に外挿したときの値をとるべきである。

本実験では、魚種および鮮度の相異を比較するのが目的であるから、速度勾配を一定にし、 c 濃度 (g 蛋白/100 ml) と η_{sp}/c の関係を求め、 c を零に外挿したときの値を固有粘度とした。粘度計は蒸留水で 120 秒の流出時間を持つ Ubelohde 型粘度計を用いた。

測定法 変性を避けるため、測定温度はなるべく低い方が好ましいが、四季を通じて調節可能な 10°C

を測定温度とした。室温が 10°C 以上の場合は二重恒温槽を用い、外槽に氷を入れて冷却し、内槽において温度を $10^{\circ}\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ に調節した。Flowtime は2回測定し、その平均値を測定値としたが、個々の測定値のずれは ± 0.2 秒以内であった。

結果および考察

1. 新鮮な魚肉から抽出したアクトミオシンの固有粘度。新鮮な8種の魚肉から得たアクトミオシン溶液について粘度を測定し、 η_{sp}/c と c の関係を Fig. 2 にあらし、その図から得た固有粘度を魚種別に求めて Table 2 に示した。それによると、上述の方法で抽出精製したアクトミオシンの固有粘度の大きさは、ムシガレイが少し低い値を示しているのを除けば、魚種によつて大差なく、だいたい 2.2 近辺である。この値は CONNELL³⁾ が示した Cod 肉アクトミオシンの値や、PORTZEHL⁴⁾ らの値、その他⁵⁻⁶⁾ より低いが、SEAGRAN⁷⁾ が Yellow-striped rockfish 肉アクトミオシンについて得た値よりは大きく、右田ら²⁾ がコイ肉アクトミオシンから得た値の一部にはば一致している。アクトミオシンの固有粘度の値が測定者によつて

Fig. 2. Relation between concentration of myosin B and η_{sp}/c for several kinds of fish.
 C : g. protein in 100 ml.
 Solvent: 0.6 M NaCl + M/30 KH_2PO_4 + M/30 Na_2HCO_4 (ultimate pH 6.8)
 Temp. 10°C .

がうということは、議論を進めていくうえに非常に不便であるが、おのおのの抽出条件および精製過程、測定方法（主として速度勾配、測定温度）などが異なっていることに起因していると考えられるので、やむをえないであろう。

Table 2 の結果から考えると、0.6 M NaCl (pH 6.8) で抽出されるアクトミオシンはほぼ同対称比を示しているように思われる。ここにあげた8種の魚肉は種類によつて肉質が相当異なっているにもかかわらず（たとえばウグイとイシモチ）、ほぼひとしい固有粘度を示している。ただムシガレイだけが1.8というやや低い値を示していることは、その弱いカマボコ形成能* を考え合わせると興味ある事実である。

Table 2. Values of intrinsic viscosity of myosin B from various species of fish.

Species	Ionic strength	Extractor	pH	Temperature °C	$[\eta]$	Investigator
Cod	0.5	KCl	7.5	0	3	CONNELL (3)
Yellow-striped rockfish	0.5	"	7.3	0.2	1.7	SEAGRAN (7)
—	0.4~1.46	—	6.8~7.8	—	1~4	PORTZEHL et al. (4)
Carp	0.6	KCl	7~4	20	2.2	MIGITA et al. (2)
Cod	0.8	"	7.4	5	2.5	DINGLE (5)
Shotted halibut	0.6	NaCl	6.8	0.3	2~3.7	Present authors
Bream	0.6	"	6.8	10	1.8	"
Yellow-tail	0.6	"	6.8	10	2.2	"
True lizard fish	0.6	"	6.8	10	2.1	"
Star-spotted shark	0.6	"	6.8	10	2.5	"
Gizzard shad	0.6	"	6.8	10	2.0	"
White croaker	0.6	"	6.8	10	2.2	"
Fat minnow	0.6	"	6.8	10	2.2	"
					2.3	"

2. 冷凍貯蔵魚から抽出したアクトミオシンの粘度。 前記のごとくハイゼックス・チューブに密封して凍結した魚体を2週間、4週間後にとりだし、鮮魚に対して行なつたと同じ方法で抽出、精製したアクトミオシンの固有粘度を求めた。その値と貯蔵期間の関係は Fig. 3 のようである。

冷凍貯蔵中の鮮度の低下にともなつて、アクトミオシンの固有粘度は全般的に低下する傾向がある。これは SEAGRAN⁷⁾ がさきに示した実験結果と一致している。

鮮度の低下によつてアクトミオシン自身の粘度の減少はどうして起こるのであろうか。アクトミオシンの高い粘性は、主としてその分子の大きな非対称度によって由来していると考えられるから、その粘度が減少するためには、まず第一に非対称度が減少しなければならない。アクトミオシンの長い分子が非対称度を減ずる場合には分子の side to side の集合や、糸状の分子が丸まつた形になることが想像されるが、そのいずれに属するかを明らかにするには、粘度測定の結果だけでは不十分であり、別に分子量や、分子のひろがりの様子を知る必要があるので本実験の結果からは決定的な考察を行なうことはできない。

しかしながら、その粘度低下の速さは魚種によつてかなり相違しているようである。すなわち、ホシザメ、コノシロ、マダイなどは4週間の冷凍貯蔵によつても、ほとんどそのアクトミオシンの固有粘度に変化を生じないのに対して、ムシガレイ、イシモチ、エソでは同じ冷凍期間中に固有粘度の値が鮮魚のときの約1/2にまで減少している。このような差異の原因については明らかでないが、DYER⁹⁾ が冷凍中のミオシン区の溶出量の変化について指摘しているように、筋肉中の油脂含量の差異が一応考えられる。後者のグループは前者のグループに比べてはるかに油脂含量の少ない魚種からなっている。

いづつ、粘度測定と並行して行なつたかまぼこのゲル強度測定試験の成績⁸⁾ から、これらの試料の足形

* 清水・志水⁶⁾ は本実験で用いた魚肉から作つた8種類のカマボコのゲル強度を比較して、ムシガレイが他の魚種にくらべてゲル形成能がいちじるしく低いことをみている。

成能喪失の速度を比較してみると、ムシガレイがもつとも速く、マエソ、インモチ、ウグイがそれにつき、ホシザメ、コノシロ、ブリでは非常に変化が遅い。これを上述のアクトミオシン粘度の低下と対比してみると、足を落ししやすい種類のものでは粘度の低下も急速で、足を落しにくいものでは粘度変化も遅いといえる。アクトミオシン分子の非対称度の大きさが魚肉の足形成能力を左右する一つの要因であることを暗示しているようである。

Fig. 3. Changes in the intrinsic viscosity of myosin B of several kinds of fish during storage at -15°C .

要 約

8種類の魚肉から抽出精製した、主としてアクトミオシンから成ると思われるミオシンBの固有粘度を測定してつぎの結果を得た。

(1) 新鮮な魚肉から抽出した場合、その固有粘度の値はやや低いムシガレイ (1.8) を除けば、2.0~2.5の範囲にあり、魚種間に大差が認められなかった。

(2) また、その値は一般に魚の凍結貯蔵中に低下するが、その速度は魚種によつてかなり異なる。すなわち、ムシガレイ、インモチ、エソでは非常に速やかに低下するにもかかわらず、ホシザメ、コノシロ、マダイでは緩慢であつた。

(3) この凍結貯蔵に伴う粘度低下は、足形成能の低下の一つの要因であろうと推察した。

文 献

- 1) 上田侃男・志水 寛・清水 亘: 本誌, 27, 150 (1961).
- 2) 右田正男・鈴木たね子: 本誌, 25, 127 (1959).
- 3) CONNELL, J.J.: *Biochem. J.*, 58, 360 (1954).
- 4) PORTZEHL, H. SCHRAUM, G. WEBER, H.H.: *Z. Naturforsch.*, 56, 61 (1950).
- 5) DINGLE, J.R.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 15, 135 (1958).
- 6) MOMMAERTS, W.F.H.M.: *Arkiv. Kemi. Mineral. Geol.*, 19A, No. 17, 19 (1954).
- 7) SEAGRAN, H.L.: *Food Res.*, 21, 505 (1956).
- 8) 清水 亘・志水 寛: 日本水産学会年会, 1961年4月講演.
- 9) DYER: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 13, 169 (1956).