魚類筋原繊維の加熱変性に対する糖および糖アルコールの保護効果の定量的考察

大泉 徹*・橋本浩二*・小倉潤子*・新井健一*

(1981 年 3 月 19 日受理)

Quantitative Aspect for Protective Effect of Sugar and Sugar Alcohol against Denaturation of Fish Myofibrils

Tooru OORIZUMI*, Koji HASHIMOTO*, Junko OGURA*,
and Ken-ichi ARAI*

The effects of sugar and sugar alcohol on the thermal stability of myofibrils (chub mackerel and sardine) have been studied in terms of the first order rate constant (k_D) for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase. The plots of the logarithm of k_D against the molar concentration (0-3 M) of sugar or sugar alcohol were linear for all sugars and sugar alcohols examined. The slope (denoted as E) of $\log k_D$ versus molarity of sugar or sugar alcohol was calculated using the following relation; $E=1/a (\log k_{Da}-\log k_{Do})$, where k_{Da} and k_{Do} are the first order rate constants for the inactivation of myofibrillar Ca-ATPase in the absence and presence of a M of sugar or sugar alcohol, respectively. Judged from these E values, the protective effect was found to become lower in the order of maltotriose, lactitol, sucrose, sorbitol=glucose=maltose, mannitol, mannose=fructose=xylitol, xylose, sorbitan, glycerol, sorbide. Furthermore, the temperature dependence of $\log k_D$ revealed that the protective effects of sugars and sugar alcohols were practically unchanged in the temperature range of 25-45°C at which the myofibrils were denatured.

シュクロースやソルビトールなどの糖類化合物が魚肉たんぱく質の変性を防止する事実は以前からよく知られており、その優れた実用例はスケトウタラ冷凍すり身の製造および貯蔵の場合に見られる。^{1,2)}

それ故、魚肉構造たんぱく質の主要成分であるアクトミオシンまたはミオシンを使って、その加熱^{3,4)}凍結^{5,6)}および乾燥^{7,8)}による変性に対する糖類化合物の保護作用をあきらかにしようとした研究が、従来いくつか行なわれてきた。しかし、糖の保護作用を定量的に数値として表す試みは未だなされていない。一方、最近になって魚類の筋原繊維の調製法⁹⁾やその生化学的性質¹⁰⁾に関する研究が行なわれた結果、筋原繊維標品はアクトミオシンよりもさらに筋肉に近い構造を保有し、魚肉構造たんぱく質の研究をする対象として適していることが示唆された。

著者らは、魚類の筋原繊維を使って、その Ca-ATPase を指標とし、先に、加熱変性について研究し報告したが、¹¹⁾本研究では加熱変性における各種糖類化合物の保護作用を検討した。まず、初めに筋原繊維の変性に対する糖の保護効果を定量的に表す方法を検討し、それによ

って各種の糖類化合物の保護効力を比較検討し、糖類化合物の構造と変性防止効果との関係を追究しようとした。

実験方法

筋原繊維懸濁液の調製 魚類の筋原繊維 (Mf と略す) は、すでに加藤らが報じた方法⁹⁾に従って、マイワシ, sardine *Sardinops melanosticta* およびマサバ, chub mackerel *Scomber japonicus* の新鮮な筋肉より調製し、0.16 M KCl-40 mM Tris-HCl, pH 7.5 溶液に懸濁させた。

糖類の共存下における筋原繊維の加熱変性 魚類 Mf の懸濁液に対して一定のモル濃度になるように糖類化合物を添加溶解した後、その 1.0 または 1.5 ml ずつを試験管に分取し、所定の温度に調節した恒温槽中に保持し、一定時間ごとに取り出して氷冷して、加熱変性を停止させた。

Mf Ca-ATPase 活性の測定法 Mf Ca-ATPase 活性 (Adenosinetriphosphatase, EC 3.6.1.3) は、0.1 M KCl, 5 mM CaCl₂, 25 mM Tris-maleate (pH 7.0) および 1 mM ATP の組成液で、25°C において反応させて遊離する無

* 北海道大学水産学部生物化学教室 (Laboratory of Biochemistry of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041).

機リン酸を FISKE-SUBBAROW 法の変法によって比色定量し,¹²⁾ 比活性 ($\mu\text{mol Pi/min}\cdot\text{mg}$ たんぱく質) を求めた。なお、糖類化合物は Ca-ATPase 活性を、見かけ上阻害するため、対照として同化合物を含み加熱しない Mf の Ca-ATPase 活性を測定して基準とした。

Mf Ca-ATPase の変性速度恒数の測定 糖類化合物の存在とは関係なく、Mf Ca-ATPase の失活を一次反応式に従って解析し、見かけの変性速度恒数 (k_D) を、次式によって計算した。 $k_D = (\ln C_0 - \ln C_t) \cdot 1/t$, ここで C_0 および C_t は加熱時間 (t 秒) 前後における Ca-ATPase 活性 (相対値で表わす) である。

たんぱく質濃度はビウレット法によって比色定量し、標準として牛血清アルブミンを用いた。¹³⁾

Mf の加熱変性に対する保護効果を検討した糖類化合物としては、糖アルコールの中からラクチトール、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、ソルビタン、ソルバイドおよびグリセロール、単糖類の中からグルコース、フラクトース、マンノースおよびキシロース、二糖類の中からシュクロースおよびマルトース、そして三糖類の中からマルトトリオースを使用した。なお、ソルビタンは 1,4-アンヒドログルシトールの、ソルバイドは 1,4,2,6 ジアンヒドログルシトールの別名である。それぞれソルビトール 1 分子中の 2 個および 4 個の OH 基が脱水縮合した糖アルコールである。

結 果

ソルビトールの保護効果 まず、イワシおよびサバの Mf Ca-ATPase の加熱変性に及ぼすソルビトールの影響を検討した。魚種固有の温度安定性を考慮し、加熱温度をイワシでは 40°C 、サバでは 35°C とした。それぞれの Mf 懸濁液に 0.5, 1.0, 1.5 および 2.0 M のソルビトールを添加して加熱による Ca-ATPase の失活を経時的に測定すると、Fig. 1 の結果となった。この結果によると、いずれの濃度のソルビトール共存下における失活も一次反応式に従って進行することを示した。そこで、これより Mf Ca-ATPase の変性速度恒数 (k_D) を算出し、 k_D とソルビトール濃度との関係を作図して Fig. 2 に示した。Fig. 1 と 2 に示した結果から明らかなように、イワシおよびサバの Mf はソルビトールの共存によって加熱に対して著しく安定化される。参考のために、同実験条件下の k_D を Table 1 に示す。

次に、Fig. 2 の実験結果を作図しなおして、ソルビトール濃度 (M) に対して k_D の対数値をプロットした。その結果を Fig. 3 としたが、ソルビトール濃度が 3 M に至るまで、両値の間に直線関係が成立つことを認めた。この直線の勾配 (E) は、ソルビトールが共存しないときの変性速度恒数を k_{D0} 、 a M のソルビトールが共存する

Fig. 1. Decrease in the myofibrillar Ca-ATPase activity of chub mackerel and sardine during heat treatment in the presence of various concentrations of sorbitol.

Heat treatment of myofibrils suspension (0.16 M KCl-40 mM Tris-HCl, pH 7.5) in the presence of various concentrations of sorbitol was conducted at the protein concentration of 2-3 mg/ml and at 35°C for chub mackerel (A) or at 40°C for sardine (B). Heat inactivation was stopped by cooling in ice-water and the loss of ATPase activity during heat treatment was measured. ATPase assay was carried out at 25°C in the reaction medium containing 0.1 M KCl, 5 mM CaCl_2 , 25 mM Tris-maleate (pH 7.0), 1 mM ATP, and 0.2-0.3 mg/ml of myofibrillar protein.

(○) none, (△) 0.5 M sorbitol, (□) 1.0 M sorbitol, (●) 1.5 M sorbitol, (▲) 2.0 M sorbitol, (■) 2.5 M sorbitol.

ときの変性速度恒数を k_{Da} とすれば、

$$E = 1/a (\log k_{D0} - \log k_{Da}) \quad (1)$$

として表わされ、これは 1 M のソルビトールの共存によって期待できる変性に対する保護効果を表すことになる。(1) 式を変形して

$$k_{Da} = k_{D0}/10^{aE} \quad (2)$$

が導かれる。したがって、ソルビトールが存在しないときの変性速度恒数 k_{D0} と E をあらかじめ求めておけば、仮に a M のソルビトールを添加したときの Mf の変性

Fig. 2. The apparent rate constant for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase as a function of concentration of sorbitol.

(A) Chub mackerel myofibrils were heated at 35°C (○) or at 40°C (●). (B) Sardine myofibrils were heated at 40°C (Δ) or at 45°C (▲). Other experimental conditions and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 1. The first order rate constant (k_D) for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase was calculated, using the relation, $k_D = (\ln C_0 - \ln C_t)/t$, where C_0 and C_t are the ATPase activities before and after t second of heat treatment.

速度は容易に知ることができる。Fig. 3 の結果から、 E はイワシ Mf を 40°C で加熱した場合は 1.04 M^{-1} , サバ Mf を 35°C で加熱した場合は 0.70 M^{-1} となった。この

Fig. 3. Logarithmic plot of the apparent rate constant for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase as a function of concentration of sorbitol.

The data shown in Figs. 2A and B were used to illustrate these figures. The same symbols used in Figs. 2A and B were used.

(A) Chub mackerel myofibrils were heated at 35°C (○) or at 40°C (●). (B) Sardine myofibrils were heated at 40°C (Δ) or at 45°C (▲).

Table 1. The apparent first order rate constant for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase in the presence of sorbitol.

The experimental conditions and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 1. The data shown in Figs. 2 and 3 were used to calculate the k_D values for myofibrillar Ca-ATPase

Myofibrils	$k_D \times 10^5 \text{ (s}^{-1}\text{)}$						Temperature (°C)
	Sorbitol (M)						
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	
Chub mackerel	111	51	23	11	7	—	35
	—	—	—	155	63	35	40
Sardine	139	41	7	2	1	—	40
	—	—	113	25	6	4	45

ような方法に基づいて、 $\log k_D$ と糖のモル濃度の関係直線の勾配 E から Mf の変性に対する糖類化合物の保護効果を定量的に表すことが可能である。

糖の添加量と保護効果との関係 Mf たんぱく質の変性に対する糖類化合物の保護効果を最大に発揮させるためには、Mf たんぱく質に対して糖類を適当な量比で加えることが必要であるか、もしくは、両者の量比とは関係なく溶媒中の糖濃度を適当に保持することが必要であるかを確かめるために、次のような実験を行なった。すなわち、サバ Mf 0.16 M KCl-40 mM Tris-HCl, pH 7.5 懸濁液を使用し、第一の試料 (A 系とよぶ) は、Mf たんぱく質濃度が 0.34 mg/ml の懸濁液 30 ml に対して終濃度が 0~2 M になるようにソルビトールを加えた系とした。第二の試料は (B 系とよぶ)、Mf たんぱく質が 5.5 mg/ml の懸濁液 2 ml に対して上と同じく終濃度が 0~2 M になるようにソルビトールを加えた系とした。したがって、B 系における Mf たんぱく質に対するソルビトールの量比は A 系の場合よりも高い。第三の試料は (C 系とよぶ)、A 系と同じたんぱく質濃度 0.43 mg/ml の 30 ml の懸濁液であるが、Mf たんぱく質とソルビトールの量比は B 系と同じように調整した系とした。この三種の系を 35°C で加熱変性させ、変性を停止した後 3,500 rpm で 15 分間遠心分離して Mf を沈殿させた。集めた Mf に 0.16 M KCl-40 mM Tris-HCl, pH 7.5 溶

Fig. 4. Relationship between the weight ratio of sorbitol to myofibrillar protein and the protective effect of sorbitol on inactivation of myofibrillar Ca-ATPase.

Chub mackerel myofibrils were heated at 35°C and at the protein concentration of 0.35 mg/ml (○) or 5.5 mg/ml (Δ) in the absence and presence of sorbitol. Sorbitol concentration in both media was maintained the same during heat treatment in the range of 0–2.0 M. The other experimental conditions for heat treatment and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 1.

Fig. 5. Logarithmic plot of the apparent rate constants for inactivation of chub mackerel myofibrillar Ca-ATPase at 35°C as a function of concentration of sugar and sugar alcohol.

The experimental conditions for heat treatment of chub mackerel myofibrils at 35°C and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 1. The calculation of k_D was made using the relation shown in the legend of Fig. 2.

(A) $\log k_D$ vs M (molarity) of sorbitol (○), lactitol (□), or glycerol (Δ). (B) $\log k_D$ vs M of glucose (▲), mannose (□), fructose (●), or sorbitol (○). (C) $\log k_D$ vs M of sucrose (○), or maltose (Δ).

液を加えて十分に攪拌し、均質な懸濁として Mf Ca-ATPase を測定した。

以上の実験から Mf Ca-ATPase の変性速度恒数を求め、ソルビトールのモル濃度に対してプロットし、結果を Fig. 4 に示した。この実験では加熱時の Mf たんぱく質濃度は A 系に比べて B 系の方が約 16 倍高く、Mf たんぱく質に対するソルビトールの量比は A 系の方が逆に高いのであるが、この A, B 両系の Mf Ca-ATPase の変性速度は全く一致した。したがって、Mf の変性に対するソルビトールの保護効果は、Mf たんぱく質に対するソルビトールの添加量比によって影響される性質のものではなく、むしろ、Mf を懸濁している溶媒中の糖類のモル濃度によって著しく影響される性質のものであることが示唆された。なお、図中には示していないが、A 系と C 系の変性速度を比べると A よりも C が著しく大きかった。A, C 両系の Mf たんぱく質とソルビトールの量比は同じであるが、ソルビトールのモル濃度が異なるのであるから、この結果も上記の結論を支持している。このような理由から、本研究では糖類化合物の添加量を溶媒中のモル濃度で表しており、Mf の変性に及ぼす保護効果との関係を論じた。

各種糖類化合物の保護効果の比較 Mf の変性に対する

Table 2. The apparent first order rate constant for inactivation of chub mackerel myofibrillar Ca-ATPase in the presence of sugar and sugar alcohol at 35°C.

The experimental conditions and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 1. The data shown in Figs. 3 and 4 were used to calculate the k_D values for myofibrillar Ca-ATPase

Sugar	$k_D \times 10^3 (s^{-1})$		
	Concentration (M)		
	0	1.0	2.0
Maltotriose	—	9	—
Lactitol	—	9	—
Sucrose	—	17	2
Maltose	—	26	—
Sorbitol	—	22	5
Mannitol	—	32	—
Glucose	—	23	6
Mannose	—	37	16
Fructose	—	39	17
Xylitol	—	38	11
Xylose	—	44	25
Sorbitan	—	71	—
Glycerol	—	101	71
None	113	—	—

Table 3. The protective effect of sugar and sugar alcohol against inactivation of chub mackerel myofibrillar Ca-ATPase.

The experimental conditions and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 4. The data shown in Fig. 7 were quoted in this table

Sugar	Protective effect (E)
Maltotriose	1.07 (M^{-1})
Lactitol	1.04
Sucrose	0.77
Maltose	0.63
Sorbitol	0.70*
Mannitol	0.51
Glucose	0.67
Mannose	0.44
Fructose	0.46
Xylitol	0.46
Xylose	0.28
Sorbitan	0.18
Glycerol	0.08
Sorbide	0

* Standard deviation = 0.02 (six determinations).

るソルビトールの保護効果を測定した方法にならって、サバ Mf Ca-ATPase の変性に及ぼす各種糖類化合物の影響を比較検討し、結果を Fig. 5 に示した。図中 (A) は糖アルコール、(B) は単糖類、(C) は二糖類の場合について、そのモル濃度と 35°C における k_D の対数値との関係を示しているが、いずれの糖類化合物においても、 $\log k_D$ とモル濃度の間には直線関係が成立した。参考のために、0.5~3.0 M の糖類化合物の存在下で求めた k_D を抜萃して、Table 2 に示した。

また、Fig. 5 の結果から、Mf の変性に対する各種糖類化合物の保護効果を E として求め、Table 3 に示した。これによって、供試した糖類化合物の間で効果の強い方から並べると、マルトトリオース>ラクチトール>シュクロース>グルコース=マルトース=ソルビトール>マンニトール>マンノース=フラクトース=キシリトール>キシロース>ソルビタン>グリセロール>ソルバイドの順序になった。なお、ここに示した E の値は、測定を 2 回以上くりかえした平均値であるが、ソルビトールの場合は 6 回以上くりかえしたところ、標準偏差は 0.02 であった。

加熱温度と糖類化合物の保護効果の関係 すでに著者らは、魚類の Mf Ca-ATPase の温度に対する安定性は、魚種ごとに異なり、しかも、それは魚類の棲息している環境水温と強い相関性を示すことを明らかにしている。^{*} それ故、相対的にやや不安定なサバの Mf は 35°C (ま

* 橋本昭彦・小林章良・新井健一：昭和 55 年度日本水産学会春季大会 講演要旨集 p. 192.

Fig. 6. Temperature dependence of the apparent rate constant for inactivation of chub mackerel myofibrillar Ca-ATPase in the presence of sugar and sugar alcohol.

The experimental conditions for heat treatment and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 1. The calculation of k_D was made using the relation shown in the legend of Fig. 2.

(A) $\log k_D$ in the absence of sugar (○) or in the presence of 1 M sorbitol (Δ) and 2 M sorbitol (▲). (B) $\log k_D$ in the absence of sugar (○) or in the presence of 5 M glycerol (●), 1 M sorbitol (□), and 1 M lactitol (▽).

たは 40°C), イワシの Mf は 40°C (または 45°C) の加熱温度を選んで, 上記の実験を行なった。そこで次に, 加熱温度を 25°C から 45°C までの間で変えて検討し, その結果を Fig. 6 に示した。すなわち, Fig. 6 は, ARRHENIUS 式にならって, 縦軸に変性速度恒数の対数値 ($\log k_D$) をとり, 横軸には加熱温度 (絶対温度) の逆数値 ($1/T$) をとって作図した結果である。また, Fig. 6 (A) には 1 M および 2 M のソルビトールが共存したときの

サバ Mf の変性の結果を示し, また, Fig. 6 (B) には 5 M グリセロール, 1 M シュクロースおよび 1 M ラクトールが共存したときの変性の結果を示した。さらに, 対照のために糖を全く含まないサバ Mf を加熱変性した結果をも示した。これらの結果から, 先ず糖類化合物共存下においても Mf Ca-ATPase の $\log k_D$ と $1/T$ の間には直線関係が成立つことを知った。さらに, 糖類化合物の存在下では Mf は加熱に対して極めて安定となるため, 上記の関係直線は, 糖類化合物を含まないときに比べて, 高温側へほぼ平行に移していることを認めた。したがって, 変性に対する糖類化合物の保護効果 (E) は, Mf の加熱温度 (25°C~45°C の間) には関係なく, ほぼ一定であることを示した。

考 察

従来, 魚肉たんぱく質の変性に対する糖類化合物の保護効果に関して, その効果を定量的に表す方法について研究した例はほとんど見ることが出来ない。本研究の結果は, それが可能であることを示した。

変性に対して保護効果を示した糖類化合物の分子構造の中に共通して存在し, たんぱく質の変性を保護するように作用すると推定される官能基として, OH 基が予想される¹⁴⁾。そこで, 本文中で述べた変性に対する保護効果 (E) に対して糖類化合物 1 分子中の OH 基数をプロットし, 結果を Fig. 7 に示した。この図から明らかに, OH 基数が多いマルトトリオースやラクチトールは明らかに保護効果が強く, 一方, OH 基数の少ないグリセロールやソルビタンは極めて弱い効果を示した。したがって, 糖類化合物による魚肉たんぱく質の変性防止機構には, OH 基が何らかの役割を演じていることが強く示唆される。しかし, 変性に対する糖の保護効果 (変性防止効果) が単に分子中の OH 基数で定められるのではなく, 糖の立体構造, 特に OH 基の配向 (向き) にも関係していることは, 同じ OH 基数を有しながら, 異なる保護効果を示すシュクロースとマルトースの場合, およびグルコースとフラクトースの場合や, さらに, OH 基数が異なるにもかかわらずほぼ同じ効果を示すソルビトールとグルコースの場合などが認められることから明らかである。

魚類 Mf の変性において明らかになった各種糖類化合物の保護効果の強さの順位は, 先に, BACK らが全く別種のたんぱく質 (ovalbumin および lysozyme など) の変性に対して熱力学的に決定した糖類化合物の保護効果の強さの順位¹³⁾ と非常によく一致しているものであった。この事実は, たんぱく質の変性に対する糖類化合物の保護効果は, それが溶媒の性質に大きな影響を与えた結果であることを強く示唆している。

Fig. 7. Relationship between the numbers of OH groups of sugars and of sugar alcohols and their protective effects against inactivation of myofibrillar Ca-ATPase.

The experimental conditions for heat treatment of chub mackerel myofibrils and the method for ATPase assay were the same as in Fig. 4. The protective effect of sugar and sugar alcohol was defined by the relation, $E = 1/a(\log k_{D0} - \log k_{Da})$, where k_{D0} and k_{Da} are the first order rate constants for the inactivation of myofibrillar Ca-ATPase in the absence and presence of a M sugar or sugar alcohol.

Fig. 4 に示した実験結果は、Mf の変性に対するソルビトールの保護効果は、本実験条件下では、見かけ上 Mf たんぱく質との量比とは無関係であり、溶媒中の糖のモル濃度によって強く影響される性質のものであることを示した。すなわち、Mf たんぱく質に直接結合する糖だけが変性に対する保護作用に関与するのではなく、Mf の周囲の溶媒相に溶解し、その性質に影響を与えている糖が関与している可能性が大きいことを示唆している。たんぱく質の変性に対する糖の保護作用の機構については、すでに同じように推論している研究報告がかなり多く見られる。^{7,14-16} 一方、糖の保護作用はたんぱく質分子表面の水和水の一部と置換されることによって現われるという推論もあるが¹⁷、Mf たんぱく質とソルビトールが強く結合するかどうかは未だ明らかでない。

以上の問題を明らかにするために、著者らはすでに、一つの試みとして次に述べるような実験を行ない報告した^{*1}。すなわち、高低 2 種の濃度のソルビトール溶液を等容量ずつ一定濃度の Mf 懸濁液に添加し、低温で一晩放置した後、遠心分離して集めた上澄液中に含まれるソルビトール量をガスクロマトグラフィーによって定量した。この場合 Mf たんぱく質：ソルビトールの量比は 1:1 および 20:1 であるが、いずれも添加ソルビトールの 98% が上澄に見いだされた。したがって、両者の間に強い結合が起こったようには考えにくい。

なお、糖類化合物を添加すると Mf Ca-ATPase の

$\log k_D$ と $1/T$ の関係直線が高温度側へほぼ平行に移動するという現象は、糖類の共存によって Mf たんぱく質は高い耐熱性を獲得したことを意味している。別な表現すれば、糖の保護作用は Mf たんぱく質の温度安定性を全体的に高く改善することにあるといえる。すなわち、 $\log k_D$ と $1/T$ の関係を熱帯産と寒帯産の魚類の Mf の間で比べると、両者の関係は、まさに糖が共存するときと、共存しないときの Mf の $\log k_D$ と $1/T$ の相互関係に良く似ており、熱帯産の魚類 Mf の直線は寒帯産の魚類 Mf のそれより高温側に位置していた。

糖類の保護効果を E で表わすと、Mf の加熱変性を少なくとも 25°C-45°C の間のどんな温度で行なっても、その数値はほとんど変わらず、再現性も高かった。したがって、さらに多くの糖類化合物の間で比較検討を続けている。また本研究では、主に、マイワシとマサバ背筋の Mf について検討したが、著者らは他にウサギ骨格筋やマグロ、コイ、ホッケ、イトヒキダラなど魚類背筋の Mf についても同様な実験結果を得ている。しかし、糖類化合物の保護効果は温度安定性が優れているウサギ Mf の変性に対しては効果的に作用するが、反対に安定性が劣っているホッケやイトヒキダラ Mf の変性に対しては、わずかながら弱い効果を示すような傾向があった。^{*2} なお、Mf の安定性に影響する要因と糖類化合物の保護作用の関係の詳細は、次報においてのべる。

^{*1} 橋本浩二・新井健一・立野芳明・竹村元宏：昭和 53 年度日本水産学会春季大会講演要旨集 p. 163.

^{*2} 大泉 徹・小倉潤子・新井健一：昭和 54 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集 p. 163.

本研究の一部は文部省科学研究補助金によって行われた。ここに記して謝意を表する。

また、本研究に用いた糖類化合物の中、マルトトリオース、ラクチトール、マルトース、ソルビトール、キシリトール、ソルビタンおよびソルバイドは、東和化成工業(株)より御分与を受けたものである。併記して感謝致します。

文 献

- 1) 野口 敏: *New Food Industry*, **13**, 56-60 (1971).
- 2) 志水 寛: 魚肉ねり製品(岡田 稔・横関源延・衣巻豊輔編) 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp. 62-76.
- 3) 新井健一・福田道代: *日水誌*, **39**, 625-631, (1973).
- 4) 新井健一・川村美代子・林千恵子: *日水誌*, **39**, 1077-1085 (1973).
- 5) S. NOGUCHI, K. OOSAWA, and J. J. MATSUMOTO: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish*, **44**, 77-82 (1976).
- 6) 新井健一・高士令二: *日水誌*, **39**, 533-541 (1973).
- 7) 中野 広・秋場 稔・安井 勉: *日本食品工業学会誌*, **26**, 514-522 (1979).
- 8) 松田由美子: *日水誌*, **45**, 737-743 (1977).
- 9) 加藤 登・内山 均・塚本志朗・新井健一: *日水誌*, **43**, 857-867 (1977).
- 10) 阪本正博・新井健一: *日水誌*, **45**, 1575-1584 (1979).
- 11) 橋本昭彦・新井健一: *日水誌*, **44**, 1389-1393 (1978).
- 12) 高橋泰常: 生化学の領域における光電比色法, 各論 2, (関根隆光編集) 南江堂, 東京, 1962, pp. 13-14.
- 13) A. G. GORNALL, C. T. BARDWILL, and M. M. DAVID: *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-765 (1949).
- 14) 上平 恒: *化学総説*, **11**, 191-206 (1976).
- 15) J. F. BACK, D. OKENFULL, and M. B. SMITH: *Biochem.*, **18**, 5191-5196 (1979).
- 16) T. YASUI, J. MORITA, and K. TAKAHASHI: *J. Biochem.*, **60**, 303-316 (1966).
- 17) 花房尚史: *低温科学*, **32**, 1-8 (1975).
- 18) 橋本昭彦・新井健一: *日水誌*, **45**, 1453-1460 (1979).