凍結乾燥筋原繊維タンパク質の変性に及ぼす相対湿度の影響

松田 由美子

(1982 年 8 月 4 日受理)

Influence of Relative Humidity on the Protein Denaturation of
Lyophilized Carp Myofibrils during Storage

Yumiko MATSUDA*

The influence of relative humidity (RH) on the quality change of lyophilized carp myofibrils during storage was estimated. Carp myofibrils were ground with polyphosphates and sucrose. The mixtures were freeze-dried at 60 or 35°C, ground into powder, and stored in desiccators and over saturated salts slurries and other materials with constant relative humidities. Moisture sorption isotherms for lyophilized carp myofibrils were determined by drying those stored for ten days in desiccators. At suitable intervals, aliquots of the powders were taken out and examined as to the quality, using as indexes: solubility in 0.6 M KCl, relative viscosity and ATPase activity of 0.6 M KCl extractable protein, and the total ATPase activity.

The results for powders with RH 10 to 98% stored at room temperature of 15 to 18.8°C for 6 months indicated that the lower the humidity, the better was the quality retention of the powder. In RH 10 to 15% there was no significant difference in the effect of RH. A second experiment studied RH 0 to 20% the qualities of powders stored in the RH below 15% were acceptable for 1 year at 20°C. The last experiment was concerned with RH 0 to 20% at a high temperature of 35°C; here, storing in the RH below 10% gave the qualities which were acceptable for a storage period of 6.5 months. Thus it was shown that the lyophilized myofibrils were stable even in the moisture range of free from monolayer moisture.

先の実験結果¹⁾から魚粉のかまぼこ形成能力を保持する上で包装が重視されるべき要因と示唆された。包装は主に環境因子中の湿度と酸素との影響にかかわっている。

本報ではコイ筋原繊維の凍結乾燥による貯蔵に対し優れた保護効果を持つと先に²⁾明らかにしたスクロースとポリリン酸塩添加系の凍結乾燥粉末を用い、各相対湿度(RH)に貯蔵し、長期貯蔵安定性を計る上での最適RHを求めることを目的として実験を行った。

既に記載¹⁾したように環境湿度は残存水の存在状態を左右し、単分子層の水が存在する水分域に安全域があるという考えがなされている。本報ではまずRH[10~98%の広い湿度域について、室温で検討し、安全域が低RHにあることを認め、次いでRH 0~20%, 20°Cで、更に高温下での貯蔵を考えRH 0~20%, 35°Cで凍結乾燥コイ筋原繊維の安定域を検討した。

行った。試料にスクロース4%とポリリン酸塩(ピロリン酸ナトリウムとトリリン酸ナトリウムを等量混合したもの; PP) 0.16%添加混合後の筋原繊維の水分、粗脂肪、粗タンパク質、粗灰分はそれぞれ87.9, 0.4, 6.3, 1.1%であった。凍結および板温度60°Cでの凍結乾燥中の品温の変化をFig. 1に示す。乾燥には15時間を要した。

粉末はシャーレに薄く広げ、あらかじめ無機塩類のスラリーによってRHをTable 1のように10~98%の間で8段階に調整しておいたデシケータに入れ、15~18.8°Cの室温で貯蔵した。各RHに10日間貯蔵後の粉末中の水分量を常圧加熱乾燥法で測定し、Fig. 2に示すような収着等温線を得た。

Table 1には20°CにおけるRHを表示してある。³⁾貯蔵は15~18.8°Cで行い、Fig. 2には15°Cにおける収着等温線を示してある。温度によるRHの補正は式⁴⁾による計算も行われるが、中性塩類特有の吸着熱の特性もあって式で規定されるものではない。TAYLOR⁵⁾はRHの温度への依存が小さいので食品を貯蔵する温度範囲ではRHの補正は必要ではないと述べている。

実 験 I
方 法

コイ筋原繊維の調製および各種分析は前報²⁾と同様に

* 東京水産大学 (Tokyo University of Fisheries, Konan, Minato, Tokyo 108, Japan).

Fig. 1. Change in temperature during vacuum-freezing and subsequent lyophilization of myofibrils containing sucrose and PP.

Table 1. Saturated salt solutions for maintaining constant relative humidity at 20°C

Solid phase	Humidity
ZnCl ₂ · 1½ H ₂ O	10%
LiCl · H ₂ O	15%
CH ₃ COOK	20%
CaCl ₂ · 6H ₂ O	32.3%
Zn(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	42%
NaBr · 2H ₂ O	58%
(NH ₄) ₂ SO ₄	81%
CaSO ₄ · 2H ₂ O	98%

Fig. 2. Moisture sorption isotherm for lyophilized carp myofibrils containing sucrose and PP at 15°C.

ROCKLAND⁸⁾ は温度の差異による RH の変動がほとんどないものと、大きく変動するものとに塩類溶液を分けている。Table 1 の中で前者に属するものは 20°C から 15°C への温度変化で RH 0~1% の増加、一つだけ後者に属する硝酸亜鉛は 3% の増加で、RH 41% の数値が与えられている。しかし、同氏の 20°C における値は Table 1 のものと同一ではない。この差異に関しては

LABUZA ら⁹⁾ が RH 測定法を比較し、同じ温度でも測定法により RH が相違すること、同じ測定法でも約 2% の実験誤差が生ずると述べており、温度による差よりも測定法による差あるいは測定誤差の方が大きいと考えられる。WILSON⁸⁾ は RH を一定に保てば常温では水分量の変化は温度によりほとんど変わらないと述べている。また WILSON ら⁹⁾ が記述しているように水分量の変化は RH 20%~60% では大きくなく、RH 約 42% を保持する硝酸亜鉛を用いた場合の温度による水分量の差異は小さいと思われる。

従って、温度による RH の補正は行わなかった。

結 果

可溶性窒素量 Fig. 3 に示すごとく、RH 98% 貯蔵では 1/4 カ月後には激減し、次いで RH 32.3% 以上では高湿なほど速かに低下した。RH 20% 以下の貯蔵では 1/2 カ月後まではほとんど変わらず、その後は 3 カ月後まで低下したが、再び上昇した。低湿なほど可溶性窒素量は高く保たれた。

なお、RH 98% 貯蔵では微が 2 週間後に発生し、1 カ月後には著しく繁殖した。それ以外では 6 カ月間微の発生は認められなかった。

粘度 Fig. 4 に示すごとく、RH 98% 貯蔵では 1/4 カ月後に RH 32.3% 以上では高湿なほど速かに低下した。一方、RH 20% 以下の貯蔵では 1/2 カ月後まではむしろ上昇し、その後は低下したが、RH 10, 15% では 1 カ月以降の低下は僅少であった。

ATPase 活性 Fig. 5 に示すごとく、乾燥直後に対照に比し低下したが、1/4 カ月貯蔵後に一旦いずれでも増

Fig. 3. Effect of relative humidity on the protein denaturation of lyophilized carp myofibrils containing sucrose and PP during storage at room temperature of 15-18.8°C. Denaturation was estimated by solubility in 0.6 M KCl.

Fig. 4. The same as in Fig. 3. Denaturation was estimated by relative viscosity of 0.6M KCl soluble protein.

Fig. 5. The same as in Fig. 3. Denaturation was estimated by ATPase activity of 0.6M KCl soluble protein.

大した。RH 58% 以上の貯蔵では 1 カ月後に、RH 32.3% 以上では 2 カ月後に活性を消失した。しかし、RH 32.3% をも含めて低湿貯蔵では 6 カ月後にも活性を示した。

Fig. 6. The same as in Fig. 3. Denaturation was estimated by total ATPase activity of myofibrillar protein.

全 ATPase 活性 Fig. 6 に示すごとく、RH 42% 以上の貯蔵では速かに低下し、それより低湿に貯蔵するほど安定性が高いことが示された。

考 察

凍結乾燥コイ筋原繊維の貯蔵安定性は RH 42% 以上で非常に低く、1/4~1/2 カ月で著しく低下した。RH が低いほど安定性は高かったが、RH 10, 15% 間では明らかな差異は認められなかった。

RH 42% でこのような変化が認められることから、夏の多湿期だけでなく冬期においても防湿に対する配慮の必要性が示唆された。

既に記述¹⁾したように、RH 0% では脂質の酸化によりタンパク質が間接的に悪化すること、単分子層の水が存在する水分域で安定であることが考えられるため、RH 10~98% について最適 RH を検討したところ、RH 10~15% が好ましいことが示された。しかし、最適 RH がより低いことも考えられるため、更に検討した。

実 験 II 方 法

実験 I と同様に行った。スクロース 5% と PP 0.2% とを添加後の筋原繊維の水分は 87.0% であった。板温度 35°C で凍結乾燥した。

RH 0~20% まで 5 段階に調整しておいたデシケータ中にパラフィン紙に包んだ粉末を保管し、20°C に貯蔵した。ただし、RH 0, 5% はそれぞれ五酸化リン、69.44% 硫酸溶液を用いた。粉末の取着等温線は Fig. 7 に示すごとくであった。

なお、硫酸溶液の RH は 25°C における RH を用いたが、WILSON⁸⁾は硫酸溶液の示す RH が温度によりほとんど変わらないことを、ROCKLAND⁹⁾も温度に対し鈍感であることを報告しているため、差異は小さいと考え、温度による RH の補正は行わなかった。

Fig. 7. Moisture sorption isotherm for lyophilized carp myofibrils containing sucrose and PP at 20°C.

結 果

可溶性窒素量 Fig. 8 に示すごとく、乾燥直後には対照に近似したが、その後は RH 20% 貯蔵でのみ速かに低下した。RH 0~15% では低下がいずれでも僅少で、1 年後にも高い値を示した。RH 0~15% 間での差異は認められなかった。

Fig. 8. Effect of relative humidity on the protein denaturation of lyophilized carp myofibrils containing sucrose and PP during storage at 20°C. Denaturation was estimated by solubility in 0.6 M KCl.

粘度 Fig. 9 に示すごとく、乾燥直後には対照に近似し、その後も僅かに低下したにすぎなかった。RH 20% ではやや低い傾向を示したが、貯蔵期間が長くなると他との差異は認められなかった。

Fig. 9. The same as in Fig. 8. Denaturation was estimated by relative viscosity of 0.6 M KCl soluble protein.

ATPase 活性 Fig. 10 に示すごとく、乾燥直後には対照に近似し、貯蔵初期には一旦いずれでも低下した。RH 0~20% 間での差異は明らかには認められず、いずれでも 1 年後にも活性が僅かに低下したにすぎなかった。

Fig. 10. The same as in Fig. 8. Denaturation was estimated by ATPase activity of 0.6 M KCl soluble protein.

全 ATPase 活性 Fig. 11 に示すごとく、RH 20% 貯蔵でのみ低かったが、RH 0~15% 間での差異は明らかには認められず、いずれでも 1 年後にもかなり高い全 ATPase 活性を示した。

Fig. 11. The same as in Fig. 8. Denaturation was estimated by total ATPase activity of myofibrillar protein.

考 察

凍結乾燥コイ筋原繊維の 20°C 貯蔵安定性は RH 20% でのみ低いのに対して、RH 0~15% では 1 年間かなり高く保持された。RH 0~15% 間では明らかな差異は認められなかった。

この粉末には乾物当たり約 3% の脂肪を含み、既に記述¹⁾したように、同じ系にある脂質の酸化生成物がタンパク質の変性に関与することは考えられるが、これについては次報で述べる。

実 験 III
方 法

実験 I と同様に行った。調製した筋原繊維の水分、粗脂肪、粗タンパク質、粗灰分はそれぞれ 90.5, 0.2, 8.2,

Fig. 12. Moisture sorption isotherm for carp lyophilized myofibrils containing sucrose and PP at 35°C.

1.0%であった。スクロース 5%と PP 0.2%とを添加混合し、板温度 35°C で凍結乾燥した。

粉末を実験Ⅱと同じく RH 0~20% に保管し、35°C に貯蔵した。粉末の着着等温線は Fig. 12 に示すごとくであった。

なお、ROCKLAND⁶⁾によると本実験で用いた無機塩類スラリーの 35°C での RH は 20°C での RH より 0~1% 小さいにすぎない。従って、温度による RH の補正は行わなかった。

結 果

可溶性窒素量 Fig. 13 に示すごとく、RH 20, 15% では貯蔵初期に急速な低下を示し、その後は 4½ カ月後まで低下は認められなかった。RH 0~10% 貯蔵では変動が認められるものの低下は僅少で、かつ、その間での差異は明らかには認められなかった。

Fig. 13. Effect of relative humidity on the protein denaturation of lyophilized carp myofibrils containing sucrose and PP during storage at 35°C. Denaturation was estimated by solubility in 0.6 M KCl.

粘度 Fig. 14 に示すごとく、RH 20% 貯蔵では明らかに低下し、その他でも貯蔵初期には高湿なほど低い傾向を示したが、期間が長くなると、RH 0~15% 間での差異は明らかには認められなかった。

Fig. 14. The same as in Fig. 13. Denaturation was estimated by relative viscosity of 0.6 M KCl soluble protein.

ATPase 活性 Fig. 15 に示すごとく、ATPase 活性に関しては貯蔵初期にはいずれでも変動が大きく認められたが、その間での差異は認められなかった。期間が長くなると、RH 20% 貯蔵でのみ他よりも低下した。

Fig. 15. The same as in Fig. 13. Denaturation was estimated by ATPase activity of 0.6 M KCl soluble protein.

全 ATPase 活性 Fig. 16 に示すごとく、RH 20% 貯蔵では低下が大きく、RH 15% では次いで低下したが、RH 0~10% 間での差異は認められなかった。

考 察

凍結乾燥コイ筋原繊維の 20°C 貯蔵では RH 0~15% で安定性が高かったのに対し、35°C では RH 0~10% で安定性が高く、本実験からも安全域は低湿にあることが示された。とくに RH 0% でも単分子層の水が存在している時とほぼ同一の安定性を示すことは次報の酸化による変性と勘案して、スクロースの OH 基が水の OH 基と同様に保護作用を示すとも考えられ興味深い。

Fig. 16. The same as in Fig. 13. Denaturation was estimated by total ATPase activity of myofibrillar protein.

含水量と高温貯蔵耐性に関しては凍結乾燥生牛肉は2%以下の含水量では高温貯蔵耐性があること^{10,11)}一方、魚肉では低水分では変性は緩慢であるが高温貯蔵耐性は小さいことが報告されている。¹²⁾ 本実験の結果からはスクロースを添加してある凍結乾燥筋原繊維は低湿では高温貯蔵耐性があることが示された。

既に考察²⁾したように凍結乾燥直後にはタンパク質のひだ形成構造は保持されるが、貯蔵中に単分子層の水以外の易動度の高い水の媒介により極性基が水素結合で飽和され、また必要に応じて結合が切断され、あるいは新たな相手との結合が生じ、タンパク質のひだ形成構造は変化すると考えられる。テトラグリシン塩酸構造の変化が10ヶのペプチド残基当り約1ヶの水分子の存在で進行するというCHIRGADZEら¹³⁾の報告から、この変化は僅少の水が存在すると起こり得ることが考えられる。同氏ら¹³⁾は酸化とのかかわりあいについては触れておらず、構造の変化は湿度が高いほど速いと記載している。本実験結果から単分子の水が存在していない水分域でもタンパク質は安定であり、かつ、高温貯蔵耐性が増すと結論された。

要 約

1. スクロースとPPとを添加した凍結乾燥コイ筋原繊維を各RHに貯蔵し、RHの影響を検討した。

2. 可溶性窒素量、粘度、ATPase活性、全ATPase活性で判定したタンパク質の安定性はRH 10~98%、15~18.8°Cの室温貯蔵では低湿なほど高く、RH 10~15%では差異が認められなかった。

3. 20°C貯蔵ではRH 0~15%で安定性が高く、その間の差異は認められなかった。

4. 35°C貯蔵ではRH 0~10%で安定性が高く、それよりRHが高くなると安定性は低下した。低湿では高温貯蔵耐性が増すことが示された。

5. このように単分子層の水が存在していない水分域でも安定であることが示された。

本研究の遂行に当り終始ご懇篤なるご指導を賜った東京水産大学教授田中和夫博士に深く感謝いたします。また本実験には東京水産大学学生崎野華悦、広瀬敏光、石渡好司、崔立東、リー・ラム、戸田裕治、長沢武人の七君の協力を得たことを記し、厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 松田由美子: 日水誌, **45**, 517-521 (1979).
- 2) 松田由美子: 日水誌, **45**, 573-579 (1979).
- 3) N. A. LANGE (ed.): Handbook of Chemistry, 10th ed. McGraw-Hill, New York, 1961, pp. 1420-1423.
- 4) H. A. IGLESIAS and J. CHIRIFE: *J. Fd. Technol.*, **11**, 109-116 (1976).
- 5) A. A. TAYLOR: *Food Technol.*, **15**, 536-540 (1961).
- 6) L. B. ROCKLAND: *Anal. Chem.*, **32**, 1375-1376 (1960).
- 7) T. P. LABUZA, K. ACOTT, S. R. TATINI, R. Y. LEE, J. FLINK, and W. McCALL: *J. Food. Sci.*, **41**, 910-917 (1976).
- 8) R. E. WILSON: *J. Ind. Eng. Chem.*, **13**, 326-331 (1921).
- 9) R. E. WILSON and T. FUWA: *J. Ind. Eng. Chem.*, **14**, 913-918 (1922).
- 10) L. W. REGIER and A. L. TAPPEL: *Food Res.*, **21**, 640-649 (1956).
- 11) L. J. N. COLE: *J. Food Sci.*, **27**, 139-143 (1962).
- 12) 黒木証吉・木村 進: 農産技研誌, **8**, 302-306 (1961).
- 13) Y. N. CHIRGADZE and A. M. OVSEPYAN: *Biopolymers*, **11**, 2179-2186 (1972).