塩酸グアニジンによるマイワシ全身落し身のゲル化^{*1}

加納 哲, 脇坂基司, 中山照雄, 丹羽栄二

(1987年8月17日受付)

Guanidine Hydrochloride Induced New Gel Formation
from Sardine Whole BodySatoshi Kanoh,^{*2} Motoji Wakisaka,^{*2} Teruo Nakayama,^{*2}
and Eiji Niwa^{*2}

Gel forming ability of sardine whole body induced by protein denaturant was examined. The paste was obtained by homogenizing the whole body of sardine and treated with different denaturant, such as guanidine hydrochloride (Gu-HCl) and its thiocyanate (Gu-SCN), respectively, and then gelled by dialysis against different solution at 4°C for 96 h.

When the paste was treated with Gu-HCl and dialyzed against distilled water, the resulting gel was strengthened with the increase in concentration to 8 M (moles/kg sardine), with treating time of 24 h, and with temperature of 70°C. The proximate composition of this gel was moisture 87.5%, crude protein 8.9%, crude fat 1.5%, and crude ash 0.5%. From the paste, 97.6-99.2% Gu-HCl was removed by dialysis.

近年、動物性脂肪の過剰摂取が原因の一つとされる循環器系成人病が増加傾向にあり、健康志向にそった食品として魚が見直されつつある。¹⁻⁵⁾しかし、魚介類に含まれる水溶性タンパク質、脂質、ビタミン、ミネラル等の栄養有効成分はその処理、加工工程中に内臓、血液、骨などとともに廃棄されることが多く、これらの成分が有効に利用されないのが現状である。

そこでこれら栄養成分をすべて含有した食品素材の開発を目指し、昭和59年、“魚介類有効栄養成分利用技術開発委託事業”が水産庁で発足した。

一方、著者らは先に、ブリ、マサバ、ビンナガなど各種の海産魚のミオシンを尿素で処理することによりゼラチンに匹敵するほどの均質なゲルが形成できることを報告した。⁶⁻⁸⁾これらの手法をもとに各種タンパク質変性剤によるマイワシ全身落し身のゲル化の可能性を探り、新しい食品素材の開発に資することを目的として以下の実験をおこなった。

試料および方法

試料 春から秋にかけ早朝に津魚市場から出荷された体長10~20 cmのマイワシ *Sardinops melanostictus* を市内小売店で購入して試料とした。これらのマイワシは前日伊勢湾で漁獲されたものである。

ゲル形成法の検討 マイワシを全魚体ごとあらびきし、この全身落し身に変性剤として NaOH、尿素、塩酸グアニジンまたはその誘導体を加え、乳鉢でホモジナイズした。このホモジネート 10 ml を透析用セロファンチューブ (和光, 20/32 inch) に入れ、4°C で 96 時間各種溶液に対して透析した。

物性測定 得られた直径 15 mm の円柱状ゲルを高さ 15 mm に切り測定試料とした。測定はレオメーター (不動工業製 NRM-2010J-CW 型) を用い、直径 7 mm の球状プランジャーを 6 cm/min の速度で試料ゲルに押し込んだ。

また、試料片が破断するときの荷重をジェリー強度とした。

その他の分析方法 塩酸グアニジン処理により形成されたゲルの一般成分は常法にしたがって分析した。またゲルからの塩酸グアニジンの除去率は、透析外液中の塩酸グアニジン量を Marston 法^{11,12)}による比色定量および micro-Kjeldahl 法により調べた。後者では塩酸グアニジンを添加したホモジネートと無添加のそれを透析し、外液中の N 量を比較した。

結果および考察

ゲル形成法の検討 タンパク質のハイドロゲルを形成

*1 水産庁魚介類有効栄養成分利用技術開発委託事業報告第7報。

*2 三重大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Mie University, Tsu 514, Japan)。

Table 1. Comparison of gel-forming ability of sardine paste treated with different denaturant followed by dialysis against different outer liquid

Denaturant* ¹	Outer liquid for dialysis	gel-forming ability* ²
Sodium hydroxide (pH 9-14)	66% Ethanol	—
Sodium hydroxide (pH 9-14) containing 5% Sodium chloride	Hydrochloric acid (pH1-3)	—
8 M Guanidine hydrochloride	Water	+
8 M Guanidine carbonate	Water	—
8 M Guanidine nitrate	Water	—
8 M Guanidine phosphate	Water	—
8 M Guanidine thiocyanate	Water	+
8 M Urea	Water	—
8 M Thiourea	Water	—
8 M <i>N</i> -Methylurea	Water	—

*¹ Sardine paste added with denaturant was allowed to stand at room temperature for 1 h and then gelled by dialysis against different solution at 4°C for 96 h.

*² +: Gel was formed, -: not formed.

するには、第1の過程としてタンパク質分子の高次構造を変化して水を抱きこませ、第2の過程としてこれを凝固させることが必要である。¹³⁾

本実験では、Table 1に示すように、第1の過程として、アルカリ、尿素およびグアニジン塩などの変性剤を作用させ、第2の過程は変性剤を透析除去することにより行った。その結果、終濃度各8 M (肉糊1 kgに添加した変性剤のモル数)の塩酸グアニジンおよびチオシアン酸グアニジン処理によりそれぞれジェリー強度211 gおよび410 gを示す良好なゲルが得られた。そこで塩酸グアニジン処理によるゲル化につき、さらに詳細な検討を加えた。なお、グアニジン塩の種類によってゲル形成能に差が見られるのはグアニジウムイオンの対となるアニオンの影響が現われたものと思われる。

ゲル形成能に及ぼす塩酸グアニジン処理条件の影響

マイワシ全身落し身に終濃度が0~10 Mになるように各量の塩酸グアニジンを添加し、室温に約1時間放置後、水に対して透析して得られたゲルにつき、その処理影響をジェリー強度を指標に調べた。Fig. 1に示すように、塩酸グアニジン濃度が5 Mまではほとんどゲルが形成されなかった。しかし、それ以上の濃度ではゲルが形成され、8 Mで最大値211 gのジェリー強度を示した。また、Fig. 2に示すように8 M塩酸グアニジン処理によって得られたゲルは緻密で光沢のあるものであった。したがって以後の試験は8 Mで行った。

次にゲル形成能に及ぼす塩酸グアニジンの処理時間の影響を調べた。先と同様にマイワシ全身落し身に終濃度

Fig. 1. Influence of Gu-HCl concentration on the gel-forming ability of sardine paste. Sardine paste added with each concentration of Gu-HCl was allowed to stand for 1 h at room temperature, and then gelled by dialysis against distilled water at 4°C for 96 h. The values are given with the standard deviation of 9 determinations.

Fig. 2. The gel induced by 8 M Gu-HCl.

8 Mになるように塩酸グアニジンを添加し、室温で24時間まで処理を行った。その結果、Fig. 3に示すようにジェリー強度は、処理時間2時間までは急激に増大し、その後はほとんど変わらなかった。

さらに、ゲル形成能に及ぼす塩酸グアニジンによる処理温度の影響を調べた。すなわち、マイワシ全身落し身に終濃度8 Mの塩酸グアニジンを添加し、0~90°Cまで10°C間隔で2時間加熱処理を行った。その結果、Fig. 4

Fig. 3. Influence of incubation time with Gu-HCl on the gel-forming ability of sardine paste. Sardine paste added with 8 M Gu-HCl was allowed to stand at room temperature for different time and gelled as shown in Fig. 1. The values are given with the standard deviation of 3 determinations.

Fig. 4. Influence of incubation temperature with Gu-HCl on the gel-forming ability of sardine paste. The sardine paste added with 8 M Gu-HCl was treated for 2 h at different temperature in an water bath and gelled as shown in Fig. 1. The values are given with the standard deviation of 9 determinations.

に示すように、処理温度とともにジェリー強度は増大し、70°C で最大値 495 g に達した。しかし 処理温度 90°C でジェリー強度は 70°C の時の値の 62% にまで低下した。

以上の結果より処理濃度 8 M, 70~80°C で 24 時間、塩酸グアニジン処理を行うことにより良好なゲルが得られることが示された。なお以下の実験では特に断わらない限り 8 M, 室温で約 1 時間処理後、水に対して透析して得られたゲルにつき調べることとした。

ゲル形成に及ぼす内臓、頭部および骨の影響 次に内臓、頭部および骨がゲル形成に及ぼす影響を調べた。先ず、魚体を筋肉と内臓、頭部および骨に 2 分しそれぞれのホモジネートを再び 10% 間隔で混合し、それらから調製したゲルのジェリー強度を測定した。Fig. 5 に示すように、筋肉のみのときはジェリー強度約 600 g を示したが、内臓、頭部および骨の添加に伴いジェリー強度は

Fig. 5. Influence of the amount of internal organs, head and bone contained within the sardine paste on the gel-forming ability. A fillet was separated from the sardine whole body. This fillet and separated others (internal organs, head and bone) was homogenized respectively and mixed each other at a 10% interval. The mixture was stand for 1 h at room temperature after the addition of 8 M Gu-HCl and gelled as shown in Fig. 1. The values are given with the standard deviation of 9 determinations.

Table 2. Influence of outer liquid for dialysis on gel-forming ability of sardine paste*

Outer liquid for dialysis	Jelly strength (g)
Water	211
Ethanol	715
0.1 M Citrate buffer (pH 3.0)	157
0.1 M Citrate buffer (pH 4.0)	279
0.1 M Citrate buffer (pH 5.0)	357
3% Magnesium chloride	136
3% Calcium chloride	127
3% Sodium chloride	136
Commercially produced kamaboko	643
Commercially produced fish sausage	458

* The sardine paste obtained by the treatment with 8 M Gu-HCl at room temperature for 1 h was dialyzed to gel against different outer liquid at 4°C for 96 h.

低下し、添加量が 60% 以上ではゲルが形成されなくなることが示された。

ゲル形成能に及ぼす各種透析外液の影響 次に塩酸グアニジンで処理後種々の溶液に対し透析してゲル形成能を水の場合のそれと比較した。透析外液として、エタノール, pH 3~5 のクエン酸塩緩衝液, 3% Mg, Ca, Na などの塩溶液を用いた。Table 2 に示すように、水に対して透析して得られたゲルは、対照として比べた市販の魚肉ソーセージの 1/2, カマボコの 1/3 のジェリー強度を示した。またエタノールに対して透析するとジェリー強度 700 g 以上のかかなり硬い、緻密なゲルが形成された。また pH 3~5 の各 0.1 M クエン酸塩緩衝液では pH の低下につれてジェリー強度は下がったが、ここで得られたゲルは滑らかで弾力に富むという特徴があった。しかし、Mg, Ca, Na などの塩溶液の場合にはいずれもゲル形成能は低かった。

塩酸グアニジン処理ゲルの一般組成, ゲルからの体成分の流亡および塩酸グアニジンの除去率 水に対して透析して得られたゲルの一般成分は水分 87.5%, 粗タンパク質 8.9%, 粗脂肪 1.5%, 粗灰分 0.5% を示した。市販のカマボコと比較してタンパク質が若干低くその分水分の多いゲルであった。透析による体成分の流亡については特に検討しなかったが、塩酸グアニジン無添加のものを同じ条件で透析した場合、体内中のエキス N 量とほぼ同程度 (400~500 Nmg/100 g) の N 量の流亡が認められた。またこのゲルからの塩酸グアニジンの除去率を

Marston び micro-Kjeldahl 法により調べた結果、それぞれ、99.2% および 97.6% でほとんど、除去されていることが示された。

以上、マイワシ全身落し身を 8 M 塩酸グアニジンで処理後、これを透析除去することにより均一なゲルを得ることができた。グアニジン塩自体はカブラ、キノコ、動物筋肉などの食品中に常成分として含まれるが、上のように大量を人為的に混入した場合、心理的な拒絶反応をひき起こす可能性は大きい。さらに除去率を増加するとともに、量産へ向けての工夫が必要である。

本研究は昭和 59 年、水産庁で発足した“魚介類有効栄養成分利用技術開発委託事業”の一環で、研究費の一部はその委託事業費によった。

文 献

- 1) J. Dyerberg, H. O. Bang, E. Stoffersen, S. Moncada, and J. R. Vane: *Lancet* II, 117-119 (1978).
- 2) J. Dyerberg and H. O. Bang: *Lancet* II, 433-435 (1979).
- 3) W. Siess, P. Roth, B. Scherer, I. Kurzmann, B. Bohlig, and P. C. Weber: *Lancet* I, 441-444 (1980).
- 4) T. A. B. Sanders, D. J. Naismith, A. P. Haines, and M. Vickers: *Lancet* I, 1189 (1980).
- 5) 秦 和彦, 三ヶ尻昭博, 藤田孝夫: 調理科学, **16**, 155-160 (1983).
- 6) E. Niwa, K. Sato, and I. Hamada: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **48**, 629-631 (1982).
- 7) E. Niwa, S. Watanabe, and I. Hamada: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **48**, 833-836 (1982).
- 8) 丹羽栄二, 佐藤万人, 浜田 巖: 日農化, **56**, 1037-1042 (1982).
- 9) K. Ishino and S. Kudo: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1347-1352 (1977).
- 10) 伊勢村寿三: タンパク 質化学 3 高次構造 (安藤鋭郎, 今堀和友, 伊勢村寿三, 早石修編), 共立出版, 東京, 1973, pp. 521-550.
- 11) H. R. Marston: *Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci.*, **1**, 99-103 (1924).
- 12) H. R. Marston: *Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci.*, **2**, 57-59 (1925).
- 13) 山内文男: 食品タンパク質の科学-化学性質と食品特性 (山内文男編) 食品資材研究会, 東京, 1984, pp. 8-26.