加熱により変質したスケトウダラすり身の坐りゲル形成能と ミオシン重鎖の交差結合能

沼倉 忠弘, 溝口 竜, 木村 郁夫, 豊田 恭平
藤田 孝夫, 関 伸夫, 新井 健一

(1988 年 2 月 15 日受付)

Changes in Gel Forming Ability and Cross-Linking Ability of Myosin Heavy Chain of Alaska Pollack Surimi Denatured by Heat Treatment

Tadahiro Numakura,*¹ Ryu Mizoguchi,*¹ Ikuo Kimura,*³ Kyohei Toyoda*³
Takao Fujita,*³ Nobuo Seki,*² and Ken-ichi Arai*²

Alaska pollack surimi having different Ca-ATPase activities and salt solubilities were reconstituted by mixing in various ratios of native and heated (at 100°C for 90 min) surimi, and chopped in a silent cutter with 3% salt, and then incubated at 10°C or 20°C to induce setting. Changes in gel strength and myosin heavy chain were investigated as a function of time for setting.

The native surimi showing high Ca-ATPase activity (280 $\mu\text{mol Pi/min} \cdot 10\text{ g surimi}$) as well as high salt solubility formed elastic gel and highly cross-linked myosin heavy chains on setting of the paste. On the other hand, the paste from wholly denatured surimi by heat treatment could form unelastic gel and showed no change in myosin heavy chain. The pastes from reconstituted surimi from the above two having lower Ca-ATPase activity than 100 $\mu\text{mol Pi/min} \cdot 10\text{ g surimi}$ hardly formed elastic gels nevertheless cross-linked myosin heavy chain was produced to some extent. In the cases, Ca-ATPase activity was above that level, formation of elastic gel was closely correlated with production of cross-linked myosin heavy chains.

These results suggested that formation of a gel by setting at both temperatures of 10°C and 20°C required for the production of some framework made up of cross-linked myosin heavy chains above the gelation limit.

スケトウダラの塩ずり肉(肉糊)を坐らせると、ゲル強度の増加が起こり、同時に肉糊中のミオシンは交差結合してその多量体を形成する。¹⁻³⁾ 一方、冷凍すり身のゲル形成能はすり身の Ca-ATPase 全活性と強く相関することが報じられている。⁴⁾ そこで著者らは、先に冷凍すり身のゲル形成能およびミオシン重鎖(HC)の交差結合能とすり身の Ca-ATPase 全活性の関係を検討し、活性の低下はゲル形成能とミオシン HC の交差結合能の低下をもたらすが、一方では形成されたかまぼこゲルの SDS-尿素混液に対する溶解性を高めるので、品質低下したすり身中のミオシン HC は相互に強い交差結合を形成し得なくなると推定した。²⁾ ただし、その実験で

はスケトウダラのすり身を 25°C で加温してその品質低下を試みたが、Ca-ATPase 全活性の減少が約 20% に達しない中に腐敗が起り、それ以上の検討が不可能であった。

本研究では、スケトウダラのすり身を高温加熱して Ca-ATPase を完全に失活させた後、これを未加熱のスケトウダラのすり身と種々の割合で混合して、Ca-ATPase 全活性の異なるすり身を調製し、塩ずり肉のゲル形成能およびミオシン重鎖の交差結合能との関係をさらに詳しく検討した。

*¹ 北海道大学水産学部水産食品製造実習工場 (Training Factory for Food Processing, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041, Japan).

*² 北海道大学水産学部生物化学教室 (Laboratory of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041, Japan).

*³ 日本水産株式会社中央研究所 (Central Research Laboratory, Nippon Suisan Co., Ltd., Hachioji, Tokyo 192, Japan).

実験方法

加熱による品質の異なる冷凍すり身の調製 スケトウダラ (Alaska pollack *Theragra chalcogramma*) の冷凍すり身 (工船等級, 製造後 -25°C で約 6 カ月貯蔵) を, 前報²⁾と同様に凍結状態のまま約 $15 \times 15 \times 6 \text{ cm}^3$ のブロックに切断してナイロン袋に密封し, 100°C の沸騰水中で 90 分間加熱した後, 直ちに氷水中に投入して 50 分間冷却してから, -25°C で凍結貯蔵した。なお加熱中のすり身の中心温度は 78°C であった。以上のように加熱で変質したすり身と, 未加熱のすり身は, それぞれ凍結状態のままスピード・カッター (ナショナル MK-K3) で細切し, 種々の混合割合になるように両者を混合して, 品質の異なるすり身を調製した。

すり身の品質の判定 上記したすり身の品質は, 0.6 M KCl 溶液に対するタンパク質の溶解性と Ca-ATPase 全活性^{4,5)} ($\mu\text{mol Pi}/\text{min} \cdot 10 \text{ g}$ すり身) を測定して表わした。

坐りゲルの調製 すり身 4 kg に 3% NaCl を添加し, 小型サイレントカッター (株式会社柳屋鉄工所製) を用いて氷冷しながら約 20 分間撹潰し, 肉糊を調製した。すり上りの品温は $8 \sim 10^{\circ}\text{C}$ で pH は $6.9 \sim 7.0$ であった。これらの肉糊の約 120 g を塩化ビニリデンチューブ ($\phi 3 \times 18 \text{ cm}$) に充填し, 20°C で $0 \sim 30$ 時間, また 10°C で $0 \sim 276$ 時間坐りを行ないゲル化させた (これを坐りゲルとよぶ)。なお, 坐りが長時間に及ぶ場合 (特に 10°C の場合) は, 微生物の影響によると思われる著しい pH の低下とゲル形成の異常な変化が起るので, すり身に塩ずりの際 150 ppm のクロラムフェニコールを同時に添加して肉糊を調製した。なお図示はしないが, $100 \sim 200 \text{ ppm}$ のクロラムフェニコールを添加した肉糊は 10°C で 2 週間坐りをおこなっても pH の低下は起こらず, またゲル強度の増加 (10°C) にも影響を及ぼさないことを確めた。

ゲル強度の測定 坐りゲルは直径 3 cm , 厚さ 2.0 cm に切断し, レオメーター (山電製: レオナー RE 3305) を用いて押し込み強度 (g) と凹み (cm) を測定し, ゲル強度 ($\text{g} \cdot \text{cm}$) を算出した。ただし直径 7 mm の円柱プランジャーを用いて測定した。

SDS-尿素混液に対する坐りゲルの可溶化率の測定 磨砕した坐りゲル 0.4 g を精秤して, 7.5 ml の 2% SDS - 8 M 尿素- 2% 2-メルカプトエタノール- 20 mM Tris-HCl (pH 8.0) 溶液を加えて攪拌し, 100°C で 2 分間加熱後室温で約 20 時間攪拌溶解させた。可溶化した坐りゲルは 0.1% SDS - 5 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) に対して室温で一夜透析後, $10,000 \times \text{g}$ で 20 分間遠心分離して得た上清液中のタンパク質量を測定し, 塩ずり

直後の肉糊から溶解したタンパク質量を基準として可溶化率 (%) を求めた。なおタンパク質はビュレット法⁶⁾により比色定量した。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による坐りゲル中のミオシン HC の定量 可溶化した坐りゲルの溶液は $20,000 \times \text{g}$ で 30 分間遠心分離した後, 上清液を Weber と Osborn⁷⁾ の方法により 5% ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動に付し, 染色および脱色後, 分離したミオシン HC の量を, デンシトメーター (島津製作所 CS-910 型) を用いて 640 nm と 700 nm の吸光値の差から定量した。なお HC 含量は坐り前の肉糊中に含まれているミオシン HC の染色強度を基準とし, 坐りゲル中に含まれる HC の染色強度の相対値 (%) で表わした。ただし, 坐りゲルの SDS-尿素混液に対する溶解度が減少し, また, 泳動ゲル上に検知される染色強度の合計が減少したときは, 後で述べるような理由により, この成分を HC の多量体と見なして, その含量の補正をした。

結果および考察

変質させた冷凍すり身の塩溶性タンパク質量と Ca-ATPase 全活性 100°C で 90 分間加熱処理したすり身と未処理のすり身を混合した割合および混合すり身中の塩溶性タンパク質量と Ca-ATPase 全活性の測定結果を Table 1 に示した。なお, (I) 欄には 20°C の坐りに供した 8 種, また (II) 欄には 10°C の坐りに供した 9 種類のすり身を示してある。これによると加熱処理をしない対照のすり身の 0.6 M KCl 溶液に対する塩溶性タンパク質量は, すり身 10 g 当り 1448 mg (I) および 1241 mg (II) であった。また Ca-ATPase 全活性は, たとえば 100 mM KCl 中で測定した活性値は, すり身 10 g 当り毎分 280 (I) および 278 (II) $\mu\text{mol Pi}$ 生成量であった。また 500 mM KCl 中で測定した値は, すり身 10 g 当り毎分 125 (I) および 121 (II) $\mu\text{mol Pi}$ 生成量であった。一方 100°C で 90 分間加熱処理したすり身の Ca-ATPase は完全に失活し, 塩溶性タンパク質量も $6 \sim 7\%$ まで減少した。これら 2 種のすり身 (非加熱すり身と加熱すり身) を種々の割合で混合して作ったすり身の塩溶性タンパク質量および Ca-ATPase 全活性を測定すると, その値は混合前のすり身の値から計算によって求めた理論値と良く一致し, 加熱したすり身の混合割合の増加に伴って減少する傾向を示した。その理論値は括弧内の数値で示した。

塩ずり肉の坐りに伴うゲル強度の経時変化 Table 1 に示した数種の品質の著しく異なるすり身から作った塩ずり肉を, 20°C または 10°C で坐せさせた場合のゲル強度の経時変化を Fig. 1 に示した。これによると, 20°C

Table 1. Preparation of various quality of frozen surimi on mixing with heat-treated frozen surimi

A block (15×15×6 cm³) of frozen surimi (SA grade) from Alaska pollack was thawed, heated at 100°C for 90 min, cooled, and kept frozen at -25°C. Intact frozen surimi and the heat-treated frozen surimi were mixed at varied weight ratios. The quality of mixed frozen surimi thus prepared was assessed by measuring the amount of salt-soluble protein and Ca-ATPase activity (at low and high KCl concentrations) of it (ref. 4). Numbers in parenthesis indicate the values calculated from those of intact (A) and heat-treated (B) frozen surimis. Surimi was submitted to setting at 20°C (I) or 10°C (II) as in Fig. 2

	Mixing ratio by weight (A) : (B)	Salt soluble protein (mg/10 g surimi)	Ca-ATPase total (μ mol Pi/min·10 g Assay at 100 mM KCl)	activity surimi) Assay at 500 mM KCl
I	100 : 0	1448	280	125
	80 : 20	1212 (1175)	228 (224)	97 (100)
	60 : 40	859 (902)	154 (168)	62 (75)
	40 : 60	596 (630)	105 (112)	43 (50)
	30 : 70	510 (493)	76 (84)	39 (38)
	20 : 80	281 (357)	42 (52)	23 (25)
	10 : 90	196 (220)	25 (28)	7 (13)
	0 : 100	84	0	0
II	100 : 0	1241	278	121
	80 : 20	1016 (1010)	217 (222)	90 (96)
	60 : 40	861 (778)	161 (167)	62 (73)
	50 : 50	738 (663)	125 (139)	45 (61)
	40 : 60	554 (546)	93 (111)	32 (48)
	30 : 70	475 (431)	75 (83)	23 (36)
	20 : 80	303 (315)	45 (56)	14 (24)
	10 : 90	223 (200)	23 (28)	9 (12)
	0 : 100	84	0	0

の場合 (Fig. 1, a) および 10°C の場合 (Fig. 1, b) のいずれも、非加熱すり身からの塩すり肉のゲル強度は坐りに伴い極めて速やかに増加し、20°C の坐りでは約 10 時間後に最大値の 2160 g·cm に達し、また 10°C の坐りでは 84~96 時間後に最大値の 890 g·cm に達した。これに対して加熱処理をしたすり身の混合割合が増加するのに伴って、坐りに伴って起るゲル強度の増加速度とその割合は減少する傾向を示した。すなわち非加熱のすり身の混合割合が 10% まで低下すると、ゲル強度は 20°C の坐りでは 30 時間後に 160 g·cm まで、また 10°C の坐りでは 276 時間後に 100 g·cm に達するのみで、非加熱すり身 (対照) の場合に比べ極めて低かった。なお加熱処理によって Ca-ATPase が完全に失活したすり身では、長時間の坐りをおこなってもゲル強度の増加は全く起らなかった (図示してない)。以上の結果から、すり身の Ca-ATPase 全活性が低下すると、塩すり肉の坐りによって起るゲル強度の増加速度とその割合の両方が低下する傾向が示されたが、これは坐り温度が 20°C と 10°C のいずれの場合も同じであった。

坐りゲルの SDS-尿素混液に対する溶解性とミオシン HC の変化 初めに、SDS-尿素混液に対する坐りゲルの

溶解性を Fig. 2 に示した。この結果によると、非加熱のすり身から調製した坐りゲルの溶解性は坐りに伴って顕著に減少し、SDS-尿素混液に対する不溶性の成分が増加する傾向を示した。一方加熱により品質が低下したすり身から作った坐りゲルは SDS-尿素混液には良く溶解した。さらに非加熱のすり身に対する混合割合を増加すると、坐りゲルの溶解性は増加する傾向を示した。それ故、溶解度が減少する場合には、これを考慮しながら、肉糊中の各種タンパク質成分量を補正する必要があると考えられる。

次に、SDS-尿素混液に溶解した坐りゲル中のタンパク質組成を分析するために、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供し、電気泳動図上の各タンパク質成分量をその染色強度から求め、供試したタンパク質量に対する相対値 (%) を算出した。なお、その値の算出に当たって次に述べるような補正を行った。すなわち、加熱しないすり身を塩すりした直後の肉糊は SDS-尿素混液に完全に溶解し、その上泳動ゲル上のタンパク質成分の染色強度の合計は塩すり前のすり身の値と変らなかった。また加熱したすり身から作った肉糊についても同じであった。しかし、非加熱のすり身およびその混合割合の多い

Fig. 1. Change in gel strength of salted paste from mixed frozen surimi during setting.

The intact frozen surimi was mixed with heat-treated frozen surimi as shown in Table 1. The mixed frozen surimi was chopped in 3% NaCl at 10°C or below. The salted paste was stuffed into polyvinylidene bags ($\phi 3 \times 18$ cm) and incubated at 20°C (a) or 10°C (b) to induce setting. Gel strength of the product was measured with a rheometer equipped with a $\phi 7$ mm plunger. The weight ratios of intact frozen surimi to heat-treated frozen surimi were 100:0 ($\circ$), 80:20 ($\bullet$), 60:40 (Δ), 50:50 ($\blacktriangle$), 40:60 (∇), 30:70 ($\blacktriangledown$), 20:80 ($\square$), and 10:90 ($\blacksquare$).

すり身の肉糊から得た坐りゲルは、SDS-尿素混液に対する溶解性が減少するだけでなく、泳動ゲル上のタンパク質成分の染色強度の合計も減少する傾向を示した。そこで、このような場合は、加熱しないすり身の塩すり直後の肉糊について得た泳動ゲル上のタンパク質成分の染色強度の合計値を基準 (100%) として、それぞれの肉糊を供試して得た泳動ゲル上の各タンパク質成分の示す染色強度の相対値 (%) を計算し、その含有量を表わす必要

Fig. 2. Change in the amount of soluble protein of salted paste from mixed frozen surimi into SDS-urea medium during setting.

The intact surimi and heat-treated frozen surimi were mixed, chopped with NaCl, and incubated to induce setting at 20°C (a) or 10°C (b) as in Fig. 1. The product (0.4 g) was solubilized with 7.5 ml of 2% SDS-8 M urea-2% mercaptoethanol-20 mM Tris-HCl (pH 8.0) at 100°C for 2 min, followed by stirring for 24 h at room temperature. After centrifugation at $10,000 \times g$ for 20 min, the amount of soluble protein in the supernatant was determined as relative value (%), taking the amount of protein in each paste before setting as 100%. Symbols used were the same as in Fig. 1. except that $\times$ showed the heat-treated surimi only.

があると考えられる。

まず坐りゲルの SDS-尿素混液に対する溶解度を (S)% とし、また泳動ゲル上のミオシン HC に相当する成分の染色強度を (a) とし、その他の成分を含めた泳動ゲル上の全染色強度の合計を (b) とすれば、この坐りゲル中のミオシン HC 含量 (%) は $a/b \times S(\%) \cdots (1)$ となる。次に供試したタンパク質量が一定でも、泳動ゲル上の染色強度の合計が坐りをおこなう前の対照値に比べて減少する場合には、SDS-尿素混液に溶解したタンパク質成

分の中にポリアクリルアミドゲル中に泳動されないほどの大きさのなんらかのタンパク質成分が含まれている(ただしそのサイズは不溶化した成分ほど大きくない)と推定される。そこで、加熱しないすり身から作った塩ずり直後の肉糊を溶解して供試した泳動ゲル上の染色強度の合計(対照)を基準とし、これを(c)とする。また坐りゲルを溶解して供試した泳動ゲル上の染色強度の合計を(d)とすると、この坐りゲル中に含まれる正確なミオシン HC 含量(%)は、(1)式に続けて $a/b \times S \times d/c$ (%) ……(2)とした。同じ計算法によって、坐りゲル中のアクチン(Ac)(トロポミオシンを含む)およびミオシン HC より分子量が大きく、HC 多量体と推定される(>HC)¹⁻³⁾の定量値も補正した。

仮に上記した方法によって補正をしない定量値を用いて坐りに伴う各種タンパク質成分の変化を示すと Fig. 3a のようになるが、これは 10°C で肉糊を坐らせたときの一例である。これによると、坐り時間の経過に伴ってミオシン HC が減少して >HC が増加し、さらに Ac も経時的に急激に増加する傾向が示された。これは HC (20 万ダルトン) がなんらかの原因でプロテオリシスを受けて、Ac (4.3 万ダルトン) と同じサイズの分子断片を

生じた結果であるようにも推定されるが、その他の分子断片が認められないことから、その可能性は極めて少ないものと考えられる。一方、上記した計算法に従って 10°C において塩ずり肉を坐らせたときの実験結果を Fig. 3b に示した。それによると、HC が減少して >HC が増加する点は同じであるが、Ac 量は坐り過程に全く変化しない結果を示した。これは SDS-尿素混液に対する溶解度と泳動ゲル上の全染色強度が坐り過程でほとんど減少しない条件下で認められた各種タンパク質成分の経時変化と極めて類似するものである。^{1,2)} 本実験の場合も、加熱したすり身の場合や、それに非加熱すり身を混合した場合など、塩ずり身の SDS-尿素混液に対する溶解度(S)と泳動ゲル上の全染色強度(d/c)がほとんど減少しないような条件下の坐り過程においては、ミオシン HC の減少とミオシン HC 多量体の増加は起こるものの、Ac 量には変化が認められなかった(図示しない)。なお Fig. 3a と b の結果は 20°C における坐りの

Fig. 3. Change in the content of protein components in salted paste from intact frozen surimi during setting.

The intact frozen surimi was chopped with NaCl and incubated at 10°C as in Fig. 1. The product (0.4 g) was solubilized as in Fig. 2. The supernatant (35 µg) was applied to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis using 5% polyacrylamide gel. The protein on the gel rod was stained with Coomassie Brilliant Blue R. (a) The content of myosin heavy chain (○), cross-linked myosin heavy chain (●), and actin (△), were estimated by the quantitative densitometry and expressed as relative intensity (%), taking the sum of absorbance on the gel rod as 100%.

(b) Replotting of (a) using corrected value: Since both the insoluble component in SDS-urea medium and unpermeated component into polyacrylamide gel rod were huge cross-linked myosin heavy chain, it should be corrected the content of each component by the following equation;

$$\text{corrected content (\%)} = a/b \times S \times d/c$$

- a: Absorbance of each component on gel rod given from setting product.
- b: Sum of absorbance of all components on gel rod giving from setting product.
- s: Solubility (%) of the product in SDS-urea containing medium (cited in Fig. 2).
- c: Sum of absorbance of all components on gel rod given from product before setting.
- d: Sum of absorbance all components on gel rod given from product after setting.

場合でも同じように認められた。これらの事実より, 上記した SDS-ゲル電気泳動法による坐りゲル中の各種タンパク質成分の分析と定量値の補正法は, おそらくより妥当であると判断した。そこで以下の実験では, Fig. 3 b で採用した方法によって各種成分の定量値の補正を行うことにした。なお, 坐り過程中には, Ac 量は変化しないがミオシン HC が減少して >HC が増加するが, その増加にやや遅れて泳動ゲル中に移動出来ない大きなサイズの成分が増加し, さらに遅れて坐りゲルの SDS-尿素混液中に溶解しない程のより巨大なサイズの成分が増加する傾向を示すので, ミオシン HC は >HC となった後, より大きなサイズの >HC となり, さらに巨大化してやがては不溶化した >HC 成分になったものと推定される。

20°C と 10°C の坐り過程で起る塩ずり肉中のミオシン HC の経時変化を Fig. 4 に示した。これによると, 20°C (Fig. 4 a) および 10°C (Fig. 4 b) で坐りをおこなうと, 非加熱すり身から作った塩ずり肉では, 坐りが進行するに伴ってミオシン HC は急速に減少するが, 一方加熱すり身の混合割合が増加するに伴い ミオシン HC の減少速度と度合は, 多少の例外はあるものの, いずれも減少し, ミオシン HC の交差結合能が低下することを示した。また, 加熱したすり身のミオシン HC は交差結合能を失っているが, これに非加熱すり身を混合すると, 混合肉糊中のミオシン HC は両者から算出される平均値以上に減少し, ミオシン HC の多量体を形成することを示した。すなわち, 非加熱すり身から作った塩ずり身ではミオシン HC は坐りに伴って著しく減少し, 一方, 加熱したすり身から作った場合は全く減少が起らないが, 混合肉糊中のミオシン HC の減少は両肉糊の平均値とはならず, 僅かではあるがそれ以上の速度で減少し, 減少量も平均値以上の値になった。云いかえると, 未変性のミオシンの HC は変性したミオシンの HC との間にも交差結合が起こり多量体を形成する可能性がある。以上に述べた結果は, 加熱によって変質したすり身を用いた塩ずり肉中では, 非加熱のすり身の場合とは異なり, そのゲル形成においてミオシン HC 間に強い結合が形成され難くなることを示している。なお, これは坐り温度が 10°C および 20°C のいずれの場合でも同じであったが, 10°C における坐りゲルの溶解性が 20°C の坐りゲルのそれより全体に 15% 前後高いことを考慮すると, 生成するミオシン HC 間の結合がやや弱い, またはその数が少ないことが推定される。

塩ずり肉のゲル形成能とミオシン HC の交差結合能との関係 Fig. 1 および 4 に示した塩ずり肉の坐りに伴うゲル強度の増加曲線と, ミオシン HC の減少曲線から, 西本らの方法⁸⁾ にならってゲル強度の増加速度 (v_2)

Fig. 4. Change in the content of myosin heavy chain in salted paste from mixed frozen surimi during setting.

The intact surimi and heat-treated frozen surimi were mixed, chopped with NaCl, and incubated at 20°C (a) or 10°C (b) to induce setting as in Fig. 1. The solubilization with SDS-urea medium and the quantitative determination of myosin heavy chain were made as in Figs. 1 and 2. Symbols used were the same as in Figs. 1 and 2.

と増加量 (e_2), およびミオシン HC の減少速度 (v_1) と減少量 (e_1) を計算で求め, 肉糊 (塩ずり肉) のゲル形成能を ($v_2 \times e_2$), ミオシン HC の交差結合能を ($v_1 \times e_1$) とし表わし, これらの値とすり身の Ca-ATPase 全活性値との関係をそれぞれ Fig. 5 (a~d) に示した。なお v_2 はゲル強度が最大値の 1/2 に達するまでに要した時間の逆数値 (h^{-1}) で表わし, e_2 は非加熱すり身から作った坐りゲルの最大ゲル強度から坐り前の値を差引いた値を対照とした百分率で表わしたものである。

この結果によると, 塩ずり肉中のミオシン HC の交差結合能は坐り温度が 20°C (a) および 10°C (b) のいずれの場合も, Ca-ATPase 全活性値が約 $100 \mu\text{mol Pi/min} \cdot 10 \text{ g}$ すり身に達するまでは, その増加に伴って大きく増加するが, それ以上になると増加がやや緩やかに

Fig. 5. Relation between Ca-ATPase total activity of mixed frozen surimi and cross-linking ability of myosin heavy chain of salted paste from the same surimi.

The Ca-ATPase total activity of mixed frozen surimi was quoted from the data in Table 1.

From the data shown in Fig. 4, cross-linking ability of myosin heavy chain in salted paste was calculated as $v_1 \times e_1$, where v_1 and e_1 are the rate and the extent of decrease in myosin heavy chain during setting.⁸⁾ The v_1 was defined as the reciprocal values of time (h) required for half maximum decrease in myosin heavy chain and e_1 was the difference content of myosin heavy chain (%) before and after setting.

From the data shown in Fig. 1, gel forming ability of salted paste was calculated as $v_2 \times e_2$, where v_2 and e_2 are the rate and extent of increase in gel strength during setting; the v_2 was defined as the reciprocal values of time (h) required for half maximum increase in gel strength and e_2 was the difference between the values of gel strength (g·cm) before and after setting.

(a, b) $v_1 \times e_1$ versus Ca-ATPase total activity, (c, d) $v_2 \times e_2$ versus Ca-ATPase total activity, (a, c) setting at 20°C, (b, d) setting at 10°C.

なる傾向を示した。また、Ca-ATPase 全活性値がこの値を越えるようになると、このすり身から作った塩ずり肉が形成する坐りゲルは SDS-尿素混液に対して溶解しにくくなることは先の Fig. 2 に示したとおりである。したがってこのような坐りゲル中には巨大なミオシン HC 多量体が形成されていると推定されるので、おそらく、それが坐りゲルのゲル強度の緩やかな増加に対応していると考えられる。一方、塩ずり肉のゲル形成能は原料素材であるすり身の Ca-ATPase 全活性との間にほぼ比例的な関係があることが示された。

次に、上記したこれらの結果を基にしてミオシン HC の交差結合能とゲル形成能の関係を Fig. 6 に示した。これによると、塩ずり肉中におけるミオシン HC の交差結合能とゲル形成能の間には単純な比例関係が認められず、10°C および 20°C のいずれの場合も、両者の間には 2 段階の依存性が成立することが見出された。すなわち、肉糊中で起こるミオシン HC の交差結合反応の初期の段階では肉糊のゲル強度はほとんど増加しないが、一方ミオシン HC 間の交差結合反応がある程度進行した後期の段階では、その増加はゲル強度の増加と強く関連しており、明らかに 2 つの段階に区別される。なお ($v_1 \times e_1$) と ($v_2 \times e_2$) との間に強い相関関係が認められる後期の段階では坐りゲルの SDS-尿素溶液に対する溶解性の大きな減少がしばしば起る。したがってこの段階で形成されるミオシン HC の多量体のサイズは、その前の段階で形成されるミオシン HC 多量体のサイズより大きく、巨大化したものと推定される。云いかえれば、交差結合が進行しない段階におけるミオシン多量体の形成するいわゆる網状構造⁹⁻¹³⁾は十分に発達していないため、ゲル強度の増加に寄与し得ないものと推定される。

すり身の Ca-ATPase 全活性がそのゲル形成能に強く関わっていることは、先の研究で報じたが、²⁾ 本研究の結果もそれを支持するものであった。すなわち 10°C と 20°C における塩ずり肉の坐りに伴うゲル強度の経時的増加の速度はかなり異っており、ゲル強度が最大値に達する時間は 10°C では約 84~276 時間後であるが、20°C では約 10~30 時間後であった (Fig. 2)。しかしこのようなゲル形成速度の著しい相違にもかかわらず、いずれの場合にもすり身の Ca-ATPase 活性を担うミオシンの質と量がゲル形成に影響を及ぼすことを確認させるものである (Fig. 5 c, d)。

先に西本らは、⁸⁾ 水を加えて筋原繊維タンパク質濃度を変えた塩ずり身を 25°C で坐らせ、ミオシン HC の交差結合能 ($v_1 \times e_1$) とゲル形成能 ($v_2 \times e_2$) の関係を検討している。その結果によると、すり身中の筋原繊維タンパク質濃度は約 170 mg/ml であるがこれを 56 mg/ml まで稀釈 (32.9%) すると、塩ずり身中のミオシン HC の交

Fig. 6. Relation between cross-linking ability of myosin heavy chain and gel-forming ability of the salted paste from mixed frozen surimi.

Using the data shown in Fig. 5, the cross-linking ability of myosin heavy chain in salted paste was plotted against the gel-forming ability of the same paste.

(a) Setting at 20°C, (b) Setting at 10°C.

差結合は僅かに起こるが、破断強度の増加は全く起らなくなる事実を報じている。一方、本実験では、すり身の筋原繊維 Ca-ATPase 全活性が $100 \mu\text{mol Pi/min} \cdot 10 \text{ g}$ すり身まで減少したときにゲル形成能が激減する事実を認めたが、その稀釈率は 35.7% に相当し、水による稀釈の場合よりやや高い値となった。この原因は加熱で変質させたすり身中のミオシン HC がゲル化に僅かに寄与するためであろうと思われる。

文 献

- 1) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 日水誌, **51**, 1559-1565 (1985).
- 2) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 日水誌, **53**, 633-639 (1987).
- 3) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 日水誌, **53**, 2045-2049 (1987).
- 4) 川島孝省, 新井健一, 斉藤恒行: 日水誌, **39**,

207-214 (1972).

- 5) G. Gomori: *J. Lab. Clin. Med.*, **27**, 955-960 (1942).
- 6) A. G. Gonall, C. J. Bandwill, and M. M. David: *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-766 (1949).
- 7) K. Weber and M. Osborn: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406-4412 (1969).
- 8) 西本真一郎, 橋本昭彦, 関 伸夫, 木村郁夫, 藤田孝夫, 新井健一: 日水誌, **53**, 2011-2020 (1987).
- 9) 岡田 稔: 新版魚肉ねり製品 (岡田 稔, 衣巻豊輔, 横関源延編), 恒星社厚生閣, 東京, 1981, pp. 189-190.
- 10) T. Fukazawa, Y. Hahimoto, and T. Yasui: *J. Food Sci.*, **26**, 550-555 (1961).
- 11) M. Ishioroshi, K. Samejima, and T. Yasui: *J. Food Sci.*, **44**, 1280-1284 (1979).
- 12) K. Samejima, M. Ishioroshi, and T. Yasui: *J. Food Sci.*, **46**, 1412-1418 (1981).
- 13) M. Ishioroshi, K. Samejima, Y. Arie, and T. Yasui: *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 2185-2194 (1980).