魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長

松永 明信, 大泉 徹, 山本 敦, 川崎 賢一, 水上 英一

(1990 年 6 月 6 日受付)

Degradation of Polyphosphates during Manufacturing Process
of Surimi-Based ProductsAkinobu Matsunaga,*¹ Tooru Ooizumi,*² Atsushi Yamamoto,*¹
Ken-ichi Kawasaki,*² and Eiichi Mizukami*¹

A method of high-performance liquid chromatography (HPLC) using post column reaction system has been established by us for the determination of polyphosphates (PP) in foods and PP contents in commercially available surimi-based products have also been examined.

In the present investigation, behavior of PP during the manufacturing process of surimi-based products was studied. Surimi was made from Alaska pollack muscle washed twice with a buffer solution (pH 7.5). Aliquots of salted meat paste, which was a mixture of surimi, NaCl and tripolyphosphate (P3), were incubated under various conditions. After incubation, aliquots were homogenized with ice-cold 6% trichloroacetic acid and centrifuged. The supernatants obtained were applied to HPLC for the determination of PP. It was found that P3 was enzymatically degraded to pyrophosphate (P2) and orthophosphate (P1) in the salted meat paste during grinding and setting processes, but P2 was seldom degraded to P1. Optimal temperature, NaCl concentration, and pH of tripolyphosphatase (P3ase) activity in the salted meat paste were around 27°C, 6.0%, and 6.0, respectively. P3ase was rapidly heat-inactivated at temperatures above 35°C. Although thermal degradation of P3 occurred during heating process, the degree of degradation was much smaller than that by P3ase during grinding and setting processes.

ポリリン酸塩 (PP) は金属封鎖, pH の緩衝, 分散乳
化, 結晶析出防止およびタンパク質の可溶化など多様な
作用を有し, 食品の品質改良を目的として広範な食品に
使用が認められている食品添加物である。¹⁾ 魚肉ねり製
品の製造においても, タンパク質の冷凍変性防止および
製品の足増強を目的として, PP はすり身の製造工程で
添加されている。PP の魚肉筋原繊維タンパク質に対す
る作用については, 近年精力的に研究が進められ, 多く
の知見が得られている。²⁻¹⁰⁾ しかしながら, 製造工程中
の PP 自身の挙動に関する報告はほとんどないのが現状
である。

著者らはポストカラム反応法を用いた高速液体クロマト
グラフィー (HPLC) を利用して食品中の PP の簡便かつ
迅速な分別定量法を開発し, 各種食品の含有量調査を
行なった。^{11,12)} すり身に添加される PP 製剤としてはトリ
ポリリン酸塩 (P3) とピロリン酸塩 (P2) の混合物が多
用されているが, 市販魚肉ねり製品 (かまぼこ, ちくわ)
の PP 含有量については, その大部分が P2 であること

を明らかにした。そこで本研究では, 魚肉ねり製品の製
造工程における PP の組成変化とその要因を明らかにす
るため, 実験的に肉糊を調製し, 塩ずり, 坐りおよび加
熱工程における PP の消長の検討を行なった。

実験方法

材料 スケトウダラ Alaska pollack は鮮魚を購入し
て用いた。魚肉ねり製品は市販品を, すり身用の PP 製
剤は 4 社の製品を, P3 は Sigma 社の製品 (純度 98%)
を, その他の試薬は原則として特級品を用いた。

すり身の調製 スケトウダラの筋肉を採取して細切し
た後, 3 倍量の 0.16 M KCl, 0.04 M Tris-HCl (pH 7.5)
溶液で 2 回洗浄した。得られた脱水肉に対して 5% のソ
ルビトールを加え, 5°C で 5 分間混合してすり身を調製
し, -20°C で保存した。

肉糊とポリリン酸塩の反応条件 解凍した 4 g のすり
身に, 特別な場合を除いて, 最終濃度 2.3% の食塩,
4 mM P3 および水を加えて攪拌して 5 g の肉糊を調製し

*¹ 富山県衛生研究所 (Toyama Institute of Health, Nakataikoyama, Kosugi, Toyama 939-03, Japan).*² 富山県食品研究所 (Toyama Food Research Institute, Yoshioka, Toyama 939, Japan).

Table 1. Contents of pyrophosphate (P2) and tripolyphosphate (P3) in polyphosphate compounds for frozen surimi additive and surimi-based products

Sample		P2 mmol/kg	P3 mmol/kg	P2/P3 molar ratio
Polyphosphate compound	1	2020	1200	1.68
	2	2280	1100	2.07
	3	2100	1000	2.10
	4	2310	994	2.32
Chikuwa	1	4.08	0.39	10.5
Kamaboko	1 (steamed)	5.56	0.41	13.6
	2 (steamed)	5.05	0.31	16.3
	3 (steamed)	4.17	0.16	26.1
	4 (broiled)	3.91	0.13	30.1
	5 (steamed)	4.50	0.14	32.1
Naruto		2.61	nd	—
Chikuwa	2	1.02	nd	—

nd; not detectable.

A commercially available surimi-based product was homogenized with ice-cold 6% trichloroacetic acid. After centrifugation at 3,000 rpm for 5 min the supernatant obtained was filtered through a 0.45 μ m pore size membrane. The filtrate was applied to HPLC for the determinations of P2 and P3. (ref. 12)

た。この肉糊を一定温度の恒温水槽中に保持し、一定時間後に氷冷した 6% トリクロロ酢酸 (TCA) を加えて反応を停止させ、速やかに PP の抽出、定量操作を行なった。

ポリリン酸塩の抽出および定量 細片化した市販ねり製品あるいは反応直後の肉糊に 20~30 ml の氷冷した 6% TCA を加え、ウルトラタラックスで充分粉碎混合し、更に 6% TCA を加えて 50 ml にした。これを 3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、得られた上清を 0.45 μ m のフィルターでろ過して試験溶液を調製した。P2 および P3 は著者らの開発したポストカラム反応 HPLC により、¹²⁾ オルトリン酸塩 (P1) は Fiske-Subbarow 法に準じて測定した。¹⁸⁾

実験結果

ポリリン酸塩製剤と市販魚肉ねり製品のポリリン酸塩含有量の比較 すり身に添加される PP 製剤およびねり製品の PP 含有量を測定して Table 1 に示した。製剤からは P2 と P3 が検出され、縮合度 4 以上の PP は検出されなかった。P2 と P3 の混合割合 (P2/P3, モル比) は 1.68~2.32 (平均 2.04, 重量比に換算すると 1.47) であった。一方ねり製品についての P2 と P3 のモル比は 10.5~32.1 であり、P3 が検出されないものもあった。このように製剤と最終製品中の PP のモル比に著しい差異がみられた。これは製造工程において、何らかの要因により P3 が分解することによるものと推定される。そこで次に魚肉ねり製品の製造工程中の塩ずりおよび坐りの条件における PP の変化について検討した。

肉糊中でのポリリン酸塩の分解 スケトウダラのすり身から調製した肉糊 (pH 7.5, 2.3% 食塩および 4 mm

P3 含有) を一定時間 20°C に加温し、P3 の分解を経時的に調べて Fig. 1 に示した。時間の経過に伴って肉糊中の P3 は分解し、約 40 分間で半減し、2 時間で 1/10 程度に減少した。P3 の減少に対応して、同じモル数だけ P2 と P1 が増加した。この結果は 1 分子の P3 が分解して P2 と P1 がそれぞれ 1 分子生成することを示している。またいずれの反応時間においても P2 と P3 の和がほぼ一定であることから、生成した P2 から P1 へは分解しないことが明らかになった。

次に肉糊中での P3 の分解に及ぼす反応温度の影響を調べるため、0~35°C で 30 分間反応させて P3 の分解量と P2 の生成量を測定して Fig. 2 に示した。なお後述するが、35°C 以上の温度ではこの反応活性は速やかに消失した。そこで P3 無添加の肉糊を 50°C で 30 分間加熱した後、P3 を添加して測定したものをブランク値とした。0°C においても P3 から P2 への分解は進み、温度の上昇に伴い分解量は著しく増加した。この反応の見かけの至適温度は約 27°C であり、これ以上の温度では分解量は急激に減少した。この結果は製造工程の坐りおよび塩ずりの温度帯、20°C 前後および 5°C 前後で P3 は P2 に容易に分解することを示唆している。なおいずれの温度においても P2 と P3 の和がほぼ一定であり、P2 から P1 へは分解しないことが示された。

続いて、肉糊中の食塩濃度と P3 の分解反応の関係について検討した。すり身に所定の濃度になるように食塩と 4 mm P3 を加えて肉糊を調製し、20°C で 10 分間反応させ、P3 の分解量と P2 の生成量を測定し、Fig. 3 に示した。食塩無添加の場合でも P3 の分解は進むが、食塩濃度の増加に伴って分解量は増加し、約 6% 食塩で最大となり、それ以上の濃度では減少した。このことから

Fig. 1. Time course of the degradation of P3 in the salted meat paste.

Surimi was made from Alaska pollack muscle washed twice with three parts of 0.04 M Tris-HCl (pH 7.5) containing 0.16 M KCl.

Five g aliquots of salted meat paste (pH 7.5), which was a mixture of 4 g of surimi, NaCl (final 2.3%), and P3 (final 4 mM), were incubated at 20°C for 0-4 h.

After incubation P1-P3 were extracted with ice-cold 6% TCA as described in Table 1. P1 and PP were determined by the modified method of Fiske-Subbarow (ref. 13) and HPLC, respectively.

(★) P1, (●) P2, (▲) P3, (■) P2+P3.

塩ずりや坐り工程における肉糊の食塩濃度 (2~3%) のみならず、生理的条件 (食塩無添加) でも P3 の分解が進行することが推定される。なおすり身に添加するソルビトールについても検討したが、P3 の分解反応には影響を及ぼさなかった。

更に肉糊中での P3 の分解に及ぼす pH の影響を検討した。0.16 M KCl 溶液で 2 回洗浄して調製した 3 g のすり身に、各種 pH の 0.1 M Tris-HCl あるいは 0.1 M Tris-酢酸溶液 (最終濃度)、2.3% 食塩および 4 mM P3 を加えて 5 g の肉糊を調製し、20°C で 10 分間反応させて P3 の分解を測定し、その結果を Fig. 4 に示した。この反応のみかけの至適 pH は約 6 であり、酸性領域では急激に分解量は減少したが中性および弱アルカリ性領域での減少傾向は緩やかであった。塩ずりおよび坐り工程の肉糊の pH は中性 (約 pH 7) であり、両工程で P3 の

Fig. 2. Effect of temperature on the degradation of P3 in the salted meat paste.

Five g aliquots of salted meat paste (pH 7.5) containing 2.3% NaCl and 4 mM P3 were incubated at 0-35°C for 30 min.

After incubation PP were determined as described in Fig. 1.

As control, after heating of salted meat paste without P3 at 50°C for 30 min, P3 was added to the paste and the degradation was examined.

(●) P2, (▲) P3, (■) P2+P3. Control; (○) P2, (Δ) P3.

分解が進むことが推定される。なおいずれの pH においても P2 と P3 の和がほぼ一定であり、P2 から P1 へは分解しないことが確かめられた。肉糊中での P3 の分解反応に及ぼす温度、食塩濃度および pH の影響について検討した以上の結果は、P3 を P2 と P1 に分解する因子が肉糊中に存在することを示唆している。

トリポリリン酸塩の分解反応活性の熱安定性 肉糊 (pH 7.5, 2.9% 食塩含有) をあらかじめ 10~50°C で 30 分間加熱した後、P3 を加えて 20°C で 30 分間反応させ、P3 分解反応活性の熱安定性を検討した。加熱処理した肉糊の残存活性は、未加熱のものの分解活性を 100% として算出し、Fig. 5 に示した。20°C 以下の温度で処理した場合には活性の減少はみられないが、25°C 以上の処理では活性は著しく低下し、35°C 以上では速やかに消失した。この結果は、肉糊中の P3 を分解する因子は、熱にたいして不安定な酵素であることを強く示唆するも

Fig. 3. Effect of NaCl concentration on the degradation of P3 in the salted meat paste.

Five g aliquots of salted meat paste (pH 7.5) containing various concentrations of NaCl and 4 mm P3 were incubated at 20°C for 10 min. PP were determined as described in Fig. 1.

Control was examined as described in Fig. 2.

(●) P2, (▲) P3, (■) P2+P3. Control; (○) P2, (△) P3.

のである。そこでこの P3 分解酵素を P3ase と仮称する。

肉糊の加熱工程におけるポリリン酸塩の分解 肉糊 (pH 7.5, 2.3% 食塩含有) に P3 を加えた直後のもの、20°C で 30 分間反応させたもの、更に 90°C で 30 分間加熱したものについて PP を測定して Table 2 に示した。Fig. 2 および Fig. 5 に示したように、P3ase は 35°C 以上では急速に変性失活するから、加熱工程における P3 の減少の大部分は非酵素的な熱分解によるものと推定される。この熱分解量 0.36 mmol/kg は、20°C における酵素分解による量 1.54 mmol/kg に比較して少ない。また坐り工程の時間が 30 分より長い場合には、酵素的に P3 の大半が P2 に分解されるから、熱分解量の割合はさらに少なくなると考えられる。したがってねり製品の製造工程においては、加熱による P3 の熱分解量は塩ずりおよび坐りによる酵素的分解量に比較して極めて少ないと推定される。

Fig. 4. Effect of pH on the degradation of P3 in the salted meat paste.

Surimi was made from muscle washed twice with three parts of 0.16 M KCl.

Five g aliquots of salted meat paste, which was a mixture of 3 g of surimi, 2.3% NaCl, 0.1 M Tris-acetate (pH 5.5-7.1) or 0.1 M Tris-HCl (pH 7.7-8.7), and 4 mm P3, were incubated at 20°C for 10 min. PP were determined as described in Fig. 1.

Control was examined as described in Fig. 2.

(●) P2, (▲) P3, (■) P2+P3. Control; (○) P2, (△) P3.

考 察

すり身に添加される PP 製剤および市販魚肉ねり製品中の PP 含有量を調べたところ、製剤の P2 と P3 のモル比 (P2/P3) はほぼ 2 であり、ねり製品のモル比は 10~30 程度であった。このように製剤と最終製品中の PP のモル比が著しく異なるのは、製造工程において何らかの要因により PP が分解することによるものと考えられる。そこでスケトウダラのすり身および肉糊を調製し、塩ずり、坐りおよび加熱工程における PP の分解を検討した。その結果、塩ずりおよび坐り工程で 1 分子の P3 はそれぞれ 1 分子の P2 と P1 に酵素的に分解されること、添加された P3 の大部分が P2 に分解されることおよび生成された P2 は分解されずに残留することが明らかになった。市販魚肉ねり製品中の P2 と P3 のモル比が一定でないのは、製品の塩ずりおよび坐りの条件が異なることに起因することは容易に想像される。本研究ではす

Fig. 5. Heat stability of the degradative activity for P3 in the salted meat paste.

Four g aliquots of salted meat paste (pH 7.5) containing 2.9% NaCl were heated at 10–50°C for 30 min, then 1 ml of 20 mM P3 was added to the paste.

Mixture was incubated at 20°C for 30 min. PP were determined as described in Fig. 1. Residual activity was estimated as the percentage to that of the salted meat paste without heating.

Table 2. Degradation of polyphosphates in the salted meat paste during setting and heating processes

Treatment	(mmol/kg)			
	P1	P2	P3	P2+P3
Without setting	4.30	0.11	3.82	3.93
Setting	5.97	1.73	2.28	4.01
Setting and heating	6.51	2.00	1.92	3.92

Salted meat paste (pH 7.5) containing 2.3% NaCl and 4 mM P3 was incubated at 20°C for 0 min (without setting) or 30 min (setting), followed by heating at 90°C for 30 min (setting and heating). P1, P2, and P3 contents were determined as described in Fig. 1.

り身に PP と食塩を同時に添加したが、実際には PP 製剤はすり身の調製時に添加されている。すり身の調製中 (PP の混合)、冷凍保存中および解凍中にも P3 は分解すると考えられる。しかしながらすり身の調製あるいは保存中は、温度が極めて低いこと、また食塩が添加されていないため、P3 の分解量は少ないと推定される。また青木と國崎は、ねり製品製造の加熱工程における PP の熱分解が最終製品の含有量に影響を及ぼすと推定している。¹⁴⁾ しかしながら本研究では、加熱工程においても P3 は熱分解されるが、その分解量は塩ずりおよび坐り工程

における酵素による分解量に比較して極めて少ないことを明らかにした。

筋原繊維タンパク質中のミオシンが P3 分解活性を有することは既に報告されている。^{15,16)} また岩見らは、魚肉のアクトミオシンと P3 を共存させると P1 が経時的に生成することを報告している。^{6,7)} これらのことから、塩ずりおよび坐りの条件下で P3 の分解を担う酵素 (P3ase) はミオシン ATPase であると推定される。また P3ase の変性温度がアクトミオシンや筋原繊維の ATPase の変性温度と近似することも¹⁷⁾ 上記推定を支持するものである。

Neraal と Hamm は、^{18–20)} 牛肉ホモジネート中の PP 分解活性について検討し、P3ase の最適 pH および食塩濃度はそれぞれ 5.7 付近および 4% であると報告している。彼らの結果は、本研究で見出されたスケトウダラ肉糊中の P3ase の性質と類似していた。また彼らは、P3 の分解により生成した P2 は、ピロホスファターゼ (P2ase) によって P1 に分解されることも明らかにした。しかしながら、スケトウダラ肉糊中で生成した P2 は、更に分解されることがなく、そのまま残留することが分かった。この原因は、スケトウダラ筋肉を水晒ししてすり身を製造するため、水溶性酵素である P2ase は筋肉中から流失し、肉糊中に P2ase が存在しないためと考えられる。市販ねり製品中に P2 が多く残留するのは、このことに起因すると推論される。

岩見らは、すり身に添加された PP 製剤は、塩ずりおよび坐り工程において速やかにその大部分が P2 に変化すると推論しており、^{6,7)} また P3 ではなく P2 が筋原繊維タンパク質と作用し、アクトミオシンのアクチンとミオシンへの解離や変性等に影響を及ぼし、最終的にはミオシン重鎖の多量体化を制御すると報告している。^{5,8,10)} 製造工程における PP 自身の変化を検討した本研究の結果は、これらのことを支持するものである。

文 献

- 食品添加物 公定書解説書 (石館守三, 谷村顕雄監修), 第五版, 広川書店, 東京, 1987, pp. D-883-D-897.
- 新井健一: 水産ねり製品技術研究会誌, **14**, 97–104 (1988).
- 八木 浩, 阪本正博, 若目田篤, 新井健一: 日水誌, **51**, 667–675 (1985).
- 八木 浩, 若目田篤, 新井健一: 日水誌, **51**, 1899–1905 (1985).
- 八木 浩, 新井健一: 日水誌, **52**, 1573–1580 (1986).
- 岩見史郎, 八木 浩, 新井健一: 日水誌, **53**, 2055–2060 (1987).
- 岩見史郎, 新井健一: 日水誌, **54**, 2009–2017 (1988).

- 8) 岩見史郎, 新井健一: 日水誌, **54**, 2019-2027 (1988).
- 9) 熊沢義之, 大崎良孝, 岩見史郎, 松本行司, 新井健一: 日水誌, **56**, 105-113 (1990).
- 10) 松川雅仁, 岩見史郎, 新井健一: 日水誌, **56**, 287-295 (1990).
- 11) 松永明信, 山本 敦, 水上英一, 早川和一, 宮崎元一: 衛生化学, **34**, 70-74 (1988).
- 12) 松永明信, 山本 敦, 水上英一, 川崎賢一, 大泉 徹: 日食工誌, **37**, 20-25 (1990).
- 13) 高橋泰常: 生化学の領域における光電比色法(関根隆光編), 南江堂, 東京, 1962; pp. 13-14.
- 14) 青木隆子, 國崎直道: 日水誌, **55**, 2167-2171 (1989).
- 15) N. Azuma, M. Ikehara, E. Ohtsuka, and Y. Tonomura: *Biochim. Biophys. Acta*, **60**, 104-111 (1962).
- 16) T. E. Friess and F. M. Morales: *Arch. Biochem. Biophys.*, **56**, 326-333 (1955).
- 17) 橋本昭彦, 小林章良, 新井健一: 日水誌, **48**, 671-684 (1982).
- 18) R. Neraal and R. Hamm: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **163**, 18-20 (1977).
- 19) R. Neraal and R. Hamm: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **163**, 123-125 (1977).
- 20) R. Neraal and R. Hamm: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **163**, 213-215 (1977).