イトヨリダイの肉糊のゲル形成能とミオシン重鎖の交差結合能

李 南 赫, 関 伸 夫, 加 藤 登
中 川 則 和, 照 井 正 三 郎, 新 井 健 一

(1989 年 9 月 29 日受付)

Gel Forming Ability and Cross-linking Ability of Myosin Heavy Chain in Salted Meat Paste from Threadfin Bream

Nam-hyouck Lee,*¹ Nobuo Seki,*¹ Noboru Kato,*² Norikazu Nakagawa,*²
Shozaburo Terui,*² and Ken-ichi Arai*¹

In this study, changes in breaking strength of the salted meat paste from surimi of threadfin bream and in myosin heavy chain in it were investigated in connection with the temperatures (10–60°C) for setting. The water holding ability of Kamaboko prepared from the salted paste through setting, followed by heating at 90°C, was also examined.

The most suitable temperature for the increase in breaking strength of the salted paste, along with formation of cross-linked myosin heavy chain in it, were 20–30°C. The Kamaboko prepared through setting under the suitable temperature exhibited high water holding ability. On the contrary, with the rise of temperatures over 40°C, remarkable decreases in breaking strength and the formation of cross-linked myosin heavy chain were noticed. In addition, at setting temperature over 40°C, the Kamaboko made from the salted paste released a water drip together with some soluble proteins. The protein in the water drip amounted to approximately 10% relative to myofibrillar protein content in the salted paste.

従来、魚肉ねり製品の原料肉として主に利用されているのはスケトウダラであるが、その理由は漁獲量が多く、経験的に良いかまぼこゲルを形成することが知られているからである。しかしながら、最近日本におけるスケトウダラの漁獲量はますます減少する一方であり、それに代わる原料魚の1つとして注目をあびるようになったのがイトヨリダイである。一方、いまだ経験的にしか知られていなかったスケトウダラ塩ずり肉のゲル化反応は、最近に至り沼倉ら¹⁻³⁾の一連の研究により、魚肉の筋原線維(Mfと略す)タンパク質のミオシン重鎖(HCと略す)の交差結合反応(多量化反応)とよく相関する事実が示された。しかし、塩ずり肉(肉糊)のゲル化の分子機構についてはまだ十分に明らかにされている訳ではない。

本研究では、イトヨリダイの冷凍すりみを用い、塩ずり身の坐り過程において形成されたゲルの弾性とミオシンHCの交差結合反応との関係を詳細に検討し、スケトウダラの塩ずり身の場合との相違について考察した。また形成されたゲルの保水性と離水液中に可溶化してくる

タンパク質成分の変化を検討し、イトヨリダイ冷凍すり身から得られるかまぼこゲルの特徴を明らかにしようとした。

実 験 方 法

試料 イトヨリダイ (Threadfin bream, *Nemipterus virgatus*) 冷凍すり身 (株式会社 紀文製, 製造後 -40°C で約 1 年間貯蔵) を用いた。すり身の添加物は砂糖 5%、重合リン酸塩 0.2% であり、タンパク質量はビウレット法⁴⁾ による測定値として 177 mg/g (すり身湿重量) であった。

かまぼこゲルの調製 冷凍すり身を完全に解凍しないうちに細切し、タンパク質濃度を 130 mg/g となるように水と 2.5% の NaCl (終濃度) を添加してスピードカッター (ナショナル MK-K7) を用い、5 分間、4°C でらいかいし、塩ずり身 (肉糊と略す) を調製した。この肉糊の気泡を抜いた後にプラスチック製円筒型容器 (直径 3.7 cm × 高さ 2 cm) 中に充填し、キャップで密封し、10°C から 60°C の範囲の種々の一定温度で加温し坐り

*¹ 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).

*² 株式会社紀文 (Kibun Co., Ltd, Ginza, Chuo, Tokyo 104, Japan).

を行った (以上の操作で得たゲルを“坐りゲル”と呼ぶ)。また坐りゲルをさらに 90°C で 20 分間加熱した (これを“坐り-加熱ゲル”と呼ぶ)。

かまぼこゲルの物性の測定 坐りおよび坐り-加熱ゲルの物性は、レオメーター (レオナー RE-3305, 山電株式会社製) を使用して、直径 5 mm の円柱型プランジャーで破断強度を測定した。

SDS-尿素混液による坐りゲルの可溶化および可溶化率の測定³⁾ 細砕した坐りゲル 0.4 g を精秤し、7.5 ml の 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 100°C で 2 分間加熱した後、室温で 20 時間攪拌しながら可溶化させた。可溶化率は上記の溶液を 10,000×g, 20 分間遠心分離後、上清中のタンパク質量を測定し、塩ずり直後の魚肉について測定したタンパク質量に対する相対値 (%) を求めて可溶化率とした。なおタンパク質量はビウレット法⁴⁾により定量した。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) による坐りゲル中の Mf タンパク質サブユニット組成の定量 Weber と Osborn の方法⁵⁾ により、5% ポリアクリルアミドゲルを用いた SDS-PAGE を行い、Coomassie Brilliant Blue R によって染色した。脱色は 50% メタノール-7% 酢酸で 6~8 時間、つづいて 7% 酢酸でゲルの背景が透明化するまで行った。泳動ゲル上の各 Mf タンパク質のサブユニット成分は、デンストメーター (島津製作所製 CS-910 型) を用いて、640 nm と 700 nm の吸光値の差として測定し、基本的にはゲル rod 上に検知される各成分の示す全染色強度の合計値に対する相対染色強度の百分率 (%) で表した。なお沼倉ら⁷⁾ は、先に泳動ゲル上の全染色強度の回収率が減少する場合があることを見出しており、これは SDS-尿素混液に可溶化したミオシン HC 多量体の中でもより分子サイズの大きい成分 (これを (HC)n' と表した) が泳動ゲル中に侵入出来ないために起こったものと推測し、その量を計算で求めた。そしてこの値を加えた全染色強度に対して泳動ゲル上の各成分の含量を求めている。本実験の場合も、その方法にならって結果を解析したが、その成分の実体については後で考察する。さらに、沼倉らは坐りゲルが SDS-尿素混液に不溶化する場合、それらの成分をミオシン HC 多量体の特に巨大化した成分であると見なし、各成分の含量を補正しているが、本実験条件下ではこの成分の生成は認められなかった。

かまぼこゲルの保水力および離水液中のタンパク質量の測定 坐りおよび坐り-加熱ゲルの保水力の測定は、直径 3.5 cm×高さ 10 cm の遠心管に塩ずり肉 (2.5% NaCl, タンパク質濃度 60 mg/g) 20 g を充填してサララップで蓋をし、20°C から 60°C の間の種々の一定温

度で加温して坐りゲルを、またさらに 90°C で 20 分間加熱して坐り-加熱ゲルを調製し、約 30 分間氷水で冷却した後、そのまま 10,000×g で 30 分間遠心分離し、供試した全試料の重量に対する沈殿の重量比を百分率 (%) で表し、便宜的に保水力とした。すなわち、保水力は次式で表される。

$$\text{保水力} = (B/A) \times 100 (\%)$$

$$B = A - C$$

A; 全供試料重量

B; 沈殿物の重量

C; 上清 (離水液) の重量

Fig. 1. Changes in breaking strength of gels formed by setting and setting-heating from salted meat paste of threadfin bream.

Surimi of threadfin bream (130 mg/g) was chopped with 2.5% NaCl in a chilled silent cutter for 5 min at 4°C or below. The salted meat paste was then stuffed into plastic vessel with a cover and incubated at various temperatures to prepare setting gel. It was subsequently heated at 90°C for 20 min to prepare setting-heating gel. After cooling the gels with ice-water for 30 min, breaking strength of the gel was measured with a rheometer equipped with a ϕ 5 mm plunger and was evaluated as load value (g) at the breaking point.

(a), (b); setting gels.

(c), (d); setting-heating gels.

Temperatures for setting were (○) 10, (△) 20, (□) 30, (●) 40, (▲) 50, and (■) 60°C, respectively.

Fig. 2(A). Changes in subunit composition of myofibrillar protein in setting gel at 10, 20, and 30°C from threadfin bream.

- (○); myosin heavy chain, (HC).
 (△); components between HC and actin, (HC > X₁ > A).
 (▽); actin + tropomyosin, (A + TM).
 (□); faster component than tropomyosin, (TM > X₂).
 (□); cross-linked myosin heavy chain, ((HC)n).
 (permeable into 5% polyacrylamide gel rod.)
 (●); cross-linked myosin heavy chain supposed to have larger molecular size, ((HC)n').
 (impermeable into 5% polyacrylamide gel.)

The preparation of setting gel was conducted as in Fig. 1(a).

また遠心分離により沈殿から分離した上清液（離水液とよぶ）中のタンパク質量はビウレット法で測定し、以下の式により算出した。

$$\text{離水液中のタンパク質量} = (b/a) \times 100 (\%)$$

a; 供試全試料中のタンパク質量

b; 分離した上清液中のタンパク質量

結果および考察

坐りおよび坐り-加熱ゲルの破断強度の経時変化 肉糊を 10°C~60°C の間の温度で加温し、経時的に坐りおよび坐り-加熱ゲルを調製し、その破断強度を測定し、

Fig. 2(B). Changes in subunit composition of myofibrillar protein in setting gel at 40, 50, and 60°C from threadfin bream.

Symbols are the same as in Fig. 2(A).

The preparation of setting gel was conducted as in Fig. 1(b).

その結果を Fig. 1 (a), (b) および (c), (d) に示した。これによると、まず坐りゲルの破断強度 (Fig. 1 (a) および (b)) は、10°C の場合は 24 時間までほとんど増加せず、また 20°C では僅かに増加するだけであるが、30°C では著しく急速に増加して高い値を示すようになった。すなわち 24 時間後には最大値の 600 g に達している。しかし 40°C 以上になると初期に一旦増加した後減少する傾向を示すようになり、温度がさらに高くなると、初期の増加は速く起こるものの、その増加の度合は小さくなり、これに続く減少も速く起こるようになった。

次に、坐り-加熱ゲルの破断強度 (Fig. 1 (c) と (d)) は、坐りゲルに比べればいずれもかなり高い値に達するが、その経時変化の温度依存性は坐りゲルの場合と良く似た傾向を保っていた。すなわち、30°C で 24 時間坐らせたゲルを 90°C で加熱すると、破断強度は坐りゲルと比較して約 2 倍に相当する 1,200 g に達した。

坐りゲル中の Mf タンパク質サブユニット組成の経時変化と破断強度の関係 Fig. 1 の場合と同様にして調製した坐りゲルの SDS-尿素混液に対する可溶化率は、いずれの条件において得られた坐りゲルも 100% であった。

そこで完全に SDS-尿素混液に溶けた坐りゲル中の Mf タンパク質のサブユニット成分を、5% ポリアクリ

ルアミドゲルを用いた SDS-PAGE 法により定量分析し、各サブユニット成分の坐りに伴う経時変化を坐り温度との関係で Fig. 2 (A) と (B) に示した。まず Fig. 2 (A) に示した 10°C から 30°C までの場合をみると、10°C では、ミオシン HC が極めて僅かに減少しそれに伴って移動度からみてミオシン HC が交差結合して生成したと考えられる多量体¹⁾成分 (以下 (HC)n と略す) が僅かに増加した。なおミオシン HC とアクチン (A) の間の移動度をもつ成分 ($HC > X_1 > A$)、アクチンとトロポミオシンに相当する成分 ($A + TM$)、およびアクチンよりも移動度の大きい成分 ($TM > X_2$) なども検出されるが、これらの成分には変化が認められなかった。20°C および 30°C においては、ミオシン HC の経時的な減少が明らかに起こるようになり、しかもその減少速度と度合も温度の上昇に伴って大きくなる傾向を示した。それに伴って (HC)n が著しく増加するが、続いてさらに大きなサイズのミオシン HC 多量体と推定した成分 (HC)n' が生成してくるようになった。この条件下では、ミオシン HC の減少をひき起こす成分は (HC)n' に相当することが、その減少の速さと割合から推定される。なおこの場合は ($HC > X_1 > A$)、($A + TM$)、および ($TM > X_2$) などの成分はほとんど変化しないが、これは上の推定を支持するものである。

次に 40°C から 60°C の場合 (Fig. 2 (B)) であるが、この場合も加温に伴ってミオシン HC は経時的に低下するが、その速度は低温側 (30°C 以下) の場合よりもかなり大きくなった。また温度の上昇に伴い減少速度はさらに大きくなり、ミオシン HC はほとんど消失するに至る。ミオシン HC の減少に対応して (HC)n と ($HC > X_1 > A$) 成分が増加してくるが、(HC)n は一旦増加した後減少する傾向を示し、これに対応して先に (HC)n' と推定した成分が増加した。すなわち (HC)n は 40°C では 1 時間後、50°C では 30 分後、60°C ではただちに減少し始めるが、それと同時に (HC)n' の増加が起こることが示されている。それゆえミオシン HC は初めに (HC)n となった後、(HC)n' を形成するようにも思えるが、(HC)n の減少量よりも生成する (HC)n' 量の方がかなり多いので、(HC)n' の原材料には (HC)n の他に HC も含まれているものと考えられる。なおミオシン HC と A との間に泳動される成分 ($HC > X_1 > A$) の生成は、HC の減少と同時に始まり (HC)n の生成と同じ速さ (40°C の場合) か、またはより急激な場合 (50°C の場合) が認められるので、これも HC から直接生成している可能性が大きい。それゆえ、40°C 以上の坐りでは、2 つの異なる反応経路で HC が変化してゆく可能性が考えられ、泳動ゲル中に侵入しない成分を、30°C 以下の坐りの場合のように (HC)n' と仮定して良いかどうか疑問が

残る。なお上記した 2 種 (30°C 以下と 40°C 以上での (HC)n') の生成物の実体は未だ不明であるが、40°C 以上の高温においては Mf タンパク質の熱変性反応が強く起こり、それが影響していることも充分に考えられる。実際に、(HC)n' の生成の速度と度合は、10°C から 30°C までの坐りでは、温度の上昇に伴っていずれも大きくなるが、40°C で一旦それらが小さくなり次いで 40°C 以上の温度で再び大きくなる傾向を示しており、30°C 以下と 40°C 以上で HC に起こる変化の反応機構が相違していることを強く示唆している。また TM より移動度の大きい成分 ($TM > X_2$) も温度の上昇に伴って僅かに多くなった。

なお、30°C 以下の坐りと 40°C 以上の坐りの場合とを比べると明らかな相違があり、それが 40°C 以上における坐りおよび坐り-加熱ゲルの破断強度が低く、かつ一旦増加してから減少する傾向を示す事実と関連している可能性が考えられる。すなわち、特に 30°C の坐りにおいてはミオシン HC の減少に伴って (HC)n が増加し、高い値 (30% 以上) を保ったままで (HC)n' も増加し始め、最高で 30% 以上の値に達する。一方、40°C 以上の坐りにおいてはミオシン HC の減少は速く大きく起こるものの、それに伴って一旦生成した (HC)n はまもなく減少を始め、それに呼応するように (HC)n' と見なした成分が増加を始める。そこでミオシン HC 多量体の合計を仮に (HC)n + (HC)n' で表すと、30°C では約 60~65%、40°C 以上では 30~40% となり、40°C 以上の坐りではむしろ減少した。また 40°C 以上では、ミオシン HC の減少に伴ってこれよりも移動度の大きいので、分子量が小さいと思われる成分 ($HC > X_1 > A$) が増加する (最高ではほぼ 20% 程度) 傾向を示すのが特徴であった。したがってこれらの成分の変化がおそらく坐りおよび坐り-加熱ゲルの物性と関連しており、30°C では高い破断強度を保持し、40°C 以上では余り高い値にならず、またその値を維持しにくい原因になっているように見なすことができる。しかしながら、SDS-PAGE 図上に認められる成分は、いずれも各 Mf タンパク質のサブユニット (または分子開裂をした場合はその分子断片) に相当するものであり、形成された坐りゲルや坐り-加熱ゲルを構成しているタンパク質の実体を示すわけではない。また SDS-PAGE 図上の移動度がタンパク質の分子量と必ずしも比例しない場合もあり、たとえば大きな構造変化に起因して変化することもありうるので、上記した 40°C 以上における坐りにおいてゲル中の Mf タンパク質に起こる反応を、現時点で説明することは出来ない。

Fig. 3. Changes in water holding capacity of gel formed by setting at various temperatures from salted meat paste of threadfin bream.

The preparation of setting gel was conducted as in Fig. 1.

The water holding capacity (WHC) of the setting gel was expressed in the following relation:

$$WHC = (B/A) \times 100$$

A; total weight of gel.

B; weight of gel after centrifugation at $10,000 \times g$ for 30 min.

Temperatures for the setting were (○) 20, (△) 30, (□) 40, (◇) 50, and (▽) 60°C, respectively.

以上の結果は、先に沼倉*が報告したスケトウダラ肉糊のゲル形成能と肉糊中で起こるミオシン HC の多量化反応が良く対応しているという事実を良く支持するものであるが、しかし以下のような相違点も認められる。すなわち、スケトウダラについて、その坐り過程における Mf タンパク質の変化を検討した沼倉らの結果によれば、同じく 40°C 以上の高温で起こる坐りゲルの破断強度の減少は、 $(HC > X_1 > A)$ 成分の生成量と関わりがなく、ミオシン HC の減少とそれに伴うミオシン HC 多量体の生成量の方が強い相関性を示す。また、イトヨリダイの肉糊において見出された上記の変化はスケトウダラの場合とは若干異なる温度で最大のゲル強度とミオシン HC の交差結合反応をひき起こす (スケトウダラでは 20~25°C、イトヨリダイでは 30°C) こと、またスケトウダラの肉糊では高温側 (40°C 以上) でミオシン HC の多量化が起こりにくくなり、見かけ上ミオシン HC の減少が起こらなくなるなどの特徴があった。なお坐り-加熱ゲル中のミオシン重鎖の変化は、ここに図示しないが、坐りゲル中のそれと大きな相違が認められていない。

坐りおよび坐り-加熱ゲルの保水力の経時変化 始め

Fig. 4. Changes in water holding capacity of gel formed by setting at various temperatures, followed by heating of salted meat paste from threadfin bream.

The preparation of setting-heating gel was conducted as in Fig. 1.

The measurement of WHC of the setting-heating gel was made as in Fig. 3.

Symbols were the same as in Fig. 3.

に、肉糊を 20~60°C の間の温度で坐らせて調製した坐りゲルの保水力を測り、その経時変化を Fig. 3 に示した。この結果によると、20 および 30°C の場合は、加熱が 24 時間後に至るまで坐りゲルの保水力はほぼ 100% を保っているが、40°C 以上になると保水力は経時的に減少するようになり、また温度の上昇に伴ってその減少も速く、大きくなる傾向を示した。すなわち、60°C では 2 時間後に保水力は最少の約 60% まで低下した。ただし、それ以上は減少しなかった。

次に坐り-加熱ゲルの保水力を測定し、その結果を Fig. 4 に示した。これによると、坐りを行わず (坐り 0 時間) 肉糊を直ちに 90°C で加熱すると約 80% まで保水力は低下するが、20 および 30°C で加熱して坐りを行うと、90°C で加熱したときに認められる保水力の低下が起こらなくなり、見かけは経時的に保水力が増加するようになる。すなわち、20°C のときは経時的にその保水力が増加し、12 時間後には最大の約 95% に達した。また、30°C では僅か 3 時間後に最大の保水力を保つようになったが、しかし坐りがより長時間 (12~24 時間) に及ぶと、保水力はやや減少してふたたび 85% に低下し、90°C 加熱の際に起こる保水力の低下が避けられなくなった。この結果は破断強度 (Fig. 1) およびミオシン HC の多量化反応の経時変化 (Fig. 2) と対比してみると一見矛盾しているようにも思われるが、別に検討した結果によると、この条件下では坐り-加熱ゲルの破断強度は増加傾向を示すものの、凹みは 15 mm から 12 mm に

* 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: 平成元年度日本水産学会秋季大会講演要旨集 p. 254.

減少する傾向にあり, 形成されたかまぼこゲルに質的な変化が生じていることがわかった。

なお 40°C 以上で加温するときは, 坐り-加熱ゲルの保水力は坐りゲルの場合と非常によく似た経時変化(減少)を示し, 温度の高い場合の方が, 保水力は速やかに大きく減少した。すなわち, 40°C で加温した坐り-加熱ゲルの保水力はこの場合 60% 前後まで減少し, 坐りゲルに比べて約 10% 少なかったが, これは 50°C および 60°C の場合も同じで坐り-加熱ゲルの方が約 10% 低値であった。これは, おそらく, 30°C 以下の場合と違って, 40°C 以上で得られた坐りゲルは, さらに 90°C で加熱するとき起こる保水力の減少を抑制する能力を失っていることを示している。これはおそらく坐りの効用の一端を反映しているものと推定される。

以上の結果は, Fig. 1 および 2 に示した破断強度や Mf タンパク質サブユニットの変化と強い関連があるように考えられる。すなわち, 低温域 (20~30°C) の坐り過程においては, 肉糊中のミオシン HC の多量化反応は坐り温度に依存してゆっくりと進行し, 多量のミオシン HC 多量体を形成するが, このような坐りゲルは破断強度が高いばかりではなく, 保水力も大きい。また 90°C で加熱しても保水力は低下せず, 離水しにくい構造体を形成したことを示している。ただし 10°C の坐り過程では, ミオシン HC の多量化反応は余りにも遅いため高い破断強度のかまぼこゲルを形成しない。言い換えれば, 肉糊を至適な条件 (温度と時間) で坐らせると, ミオシン重鎖間に多量化反応が起こり, おそらくその三次構造がいわゆる網状構造として, かまぼこゲルの物性 (破断強度, 保水力など) の向上に強く影響を及ぼすと考えられる。また 90°C の加熱は上記した坐り反応をその時点で停止させ, 網状構造の維持に役立つものと考えられる。

一方, 高温域 (40°C 以上) での坐りではミオシン HC は急激に減少するものの, 生成するミオシン多量体の量が少なく, またその分子サイズの組成も異なる可能性がある。そのうえ, 本体は不明であるがミオシン HC より移動度の大きい成分がこの温度域でのみ増加する。この場合は破断強度が余り増加しないうちに減少する傾向を示すが, 保水力も減少し易いような構造体を形成していると考えられる。

それゆえ肉糊を 30°C 以下の低温域と 40°C 以上の高温域で坐らせたときは, 形成される坐りゲル (坐り-加熱ゲルも同じ) の本体であるミオシン HC 多量体から成るタンパク質の網目構造が相互に異なり, 特に高温域で形成されたものは粗く, 脆弱な構造体であろうと推定される。このような相違を生ずる理由はまだ不明であるが, スケトウダラと比較してイトヨリダイの Mf タ

ンパク質の変性速度の温度依存性のちがいを反映している可能性が考えられる。

坐りおよび坐り-加熱ゲルから得られる離水液中のタンパク質量と組成 肉糊を 40°C 以上の高温域で加温すると, 坐りゲルの保水力が低下するが, その際に離水する液中にタンパク質が可溶化する。そこでその量と組成を SDS-PAGE 法により調べ, その結果をそれぞれ Fig. 5 と Fig. 6 に示した。

先ず肉糊を 20~60°C の温度で坐らせたとき, 離水液中のタンパク質量を測定し, 供試した肉糊中の全タンパク質量に対する割合 (%) を求めた (Fig. 5)。それによると, 20°C と 30°C では 24 時間後に至るまで全くタンパク質量は増加しないが, 40°C 以上では経時的にその量が増加し, かつその度合も大きくなる傾向を示した。その量は 60°C で 6 時間後に約 12% の最大値に達した。

次に, 10% ポリアクリルアミドゲルを用いて SDS-PAGE 法により離水液中のタンパク質サブユニット組成を検討し, 結果を Fig. 6 に示した。これによると, 40°C における坐りゲルから得られる離水液中のタンパ

Fig. 5. Changes in protein content of fluid isolated by centrifugation from gel formed by setting of meat paste from threadfin bream.

The preparation of setting gel was conducted as in Fig. 1.

The setting gel was centrifuged at $10,000 \times g$ for 30 min and collected the supernatant. The protein concentration of the supernatant and the precipitate was measured by the biuret method.

$$\text{Isolated protein (\%)} = (D/C) \times 100$$

$$D = (c \times d), C = (a \times b + c \times d).$$

a; weight of precipitate (g).

b; protein concentration in precipitate (mg/g).

c; weight of supernatant (g).

d; protein concentration in supernatant (mg/g).

Temperatures for the setting were (○) 20, (△) 30, (□) 40, (◇) 50, and (▽) 60°C, respectively.

Fig. 6. SDS-polyacrylamide gel electrophoretic pattern of proteins isolated by centrifugation from gel formed by setting of meat paste from threadfin bream.

Position of myosin heavy chain, actin, and tropomyosin are indicated as HC, A, and TM, respectively. con(control), myofibrillar proteins of the surimi.

The samples were electrophoresed in 10% polyacrylamide gel on a slab gel apparatus.

Fig. 7. Changes in protein content of fluid isolated by centrifugation from gel formed by setting, followed by heating of salted meat paste from threadfin bream.

The preparation of setting-heating gel was conducted as in Fig. 1.

The setting-heating gel was centrifuged and the isolated protein (%) was determined as in Fig. 5.

Temperatures for the setting were (○) 20, (△) 30, (□) 40, (◇) 50, and (▽) 60°C, respectively.

ク質量は5%以下にすぎないが、その主成分はトロポミオシンに相当する成分で他にアクチンに相当する成分も認められる。また50°Cおよび60°Cにおける坐りゲル

Fig. 8. SDS-polyacrylamide gel electrophoretic pattern of proteins isolated by centrifugation from heated gel at 90°C for 20 min after setting.

HC, myosin heavy chain; A, actin; TM, tropomyosin; con(control), myofibrillar proteins of the surimi.

The samples were electrophoresed in 10% polyacrylamide gel on a slab gel apparatus.

からはそれぞれ7.5および12%のタンパク質が離水液中に溶出したが、その主成分はトロポミオシン相当の成分でアクチン相当の成分は認められなくなった。ただし、60°Cの場合は経時的にトロポミオシン相当の成分もやや減少し、その移動度から推定してより分子量が小さい成分が増加する傾向が認められた。

次に、20~60°Cで坐りを行った後、90°Cで加熱した坐り-加熱ゲルについて離水液中のタンパク質量を測定した結果をFig. 7、またタンパク質のサブユニット組成を検討しFig. 8に示した。それによると、いずれの場合も、坐りゲルについて得られた結果と全体的によく似た結果となった。ただし塩ずり肉をただちに90°Cで加熱した場合や低温坐り、すなわち20°Cで短時間、または30°Cで長時間(24h)加熱した坐りゲルを90°Cで加熱するときは、離水液の容量が多くなる割にその中に溶出するタンパク質の量は少ないことが知られた。この結果は、相対的に多量のタンパク質を含む離水液を生成する場合と相違しており、低温と高温で形成されるゲルの構造が異なることを示唆する証拠の一つであると考えられる。すなわち、加塩、加熱に伴ってミオシンHCに起こる多量化反応は、先にも触れたように、温度に依存してその速度と様式が異なる可能性が強く、生成したミオシンHC多量体の分子サイズや形およびその組成が異なる

ると予想されるが、現在のところこのような巨大なタンパク質に関する研究法が開発されていない。しかし、形成された坐りおよび坐り-加熱ゲルは一定の重力（遠心力）の場において離水する性質があり、この離水液中に可溶化してくるタンパク質からみると、肉糊がある特定の温度（おそらく魚種により異なる）を越えると、形成されたゲルの本体であるミオシン HC 多量体の構造に不可逆的变化（すなわち一種の崩壊）が起こる可能性が強く考えられる。これはスケトウダラの冷凍すり身を用いた沼倉らの研究結果（p. 13 脚注）と本質的に似ている。

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**, 2060-2065 (1987).
- 4) A. G. Gornall, C. J. Bardwill, and M. M. David: *J. Biol. Chem.*, **177**, 4406-4412 (1949).
- 5) 西本真一郎, 橋本昭彦, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: 日水誌, **53**, 2011-2020 (1987).
- 6) K. Weber and M. Osborn: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406-4412 (1969).
- 7) 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: 日水誌, **55**, 1083-1090 (1989).