塩漬によって起こる魚肉中の筋原線維タンパク質の変化

丹保 岳人, 山田 典彦, 北田 長義

(1991 年 9 月 7 日受付)

Change in Myofibrillar Protein of Fish Muscle Caused by Soaking in NaCl Solution

Takehito Tambo,* Norihiko Yamada,* and Nagayoshi Kitada*

Meat blocks of walleye pollack and horse mackerel were soaked in various concentrations of NaCl solution in a range between 1.0 and 3.0 M. During the soaking, the changes in NaCl concentration, myofibrillar Ca-ATPase activity, and subunit composition of myofibrillar protein of the meat were measured. The results obtained were as follows: (1) NaCl permeated quickly into the meat at an early stage of soaking and reached its maximum plateau. The maximum value increased as the NaCl concentration of the soaking medium increased. (2) By increasing the NaCl concentration of the soaking medium, the rate of inactivation of myofibrillar Ca-ATPase of the meat was increased. (3) When the NaCl concentration of the soaking medium was low, cross-linking reaction of myosin heavy chains in the meat proceeded rapidly at an early stage of the soaking, but its rate was suppressed in the following period. (4) Regardless of the NaCl concentrations of the soaking medium employed, the progress of the cross-linking reaction was dependent on the integrated value of salt concentration of the meat and the soaking time.

先に伊藤らは、スケトウダラ 筋肉を 3.0 M NaCl 溶液に塩漬するとき、肉中に塩が浸入して 0.8 M 以上になると、筋原線維 (MF) タンパク質中のミオシン 重鎖 (HC) が減少しそれに伴ってミオシン HC の多量体が形成される事実¹⁾を報告している。魚肉のミオシン HC の多量化反応は、練り製品の製造における塩ずり肉の坐りの過程でも起こることが既に知られており、²⁾ またこの反応と物性の発現との間には強い相関があることも示されている。³⁾ それゆえ、塩干品の製造過程におけるミオシン HC の多量化反応も、その製品の品質に大きく影響すると思われる。

本研究では、魚肉の塩干品の製造過程を管理し、製品の品質を調節するために必要な知見を得ることを目的とし、塩干品製造における第一の工程である塩漬の条件と筋肉タンパク質の変化の関係について検討した。すなわち、スケトウダラとマアジの筋肉を用いて、塩漬する際の塩溶液の濃度を変えた場合に魚肉タンパク質に起こる性状変化、特にミオシン HC の変化に及ぼす影響について検討を行った。

実験方法

試料 新鮮なスケトウダラ *Theragra chalcogramma* およびマアジ *Trachurus japonica* の背肉フィーレより、約 1×1×3 cm³ 程度のブロック状の肉片（以下本文中ではこれを単に魚肉と呼ぶ）を作り、以下の塩漬の実験に供した。

魚肉の塩漬方法 魚肉を直径 1.59 cm の透析チューブに詰め、3.0 M、1.7 M および 1.0 M の NaCl-20 mM Tris-maleate (pH 7.0) 溶液に対して 4°C で 24 時間まで種々の時間透析し、これを塩漬と見なした。⁴⁾ 塩漬後、魚肉を透析チューブから取り出し、表面に付着している水分を濾紙を用いてできるだけ除去し、以下の実験に供した。

塩漬肉中の塩濃度の測定 塩漬肉を細切し、その 2 g を精秤して、10 倍量の蒸留水を加えてホモジナイズした。そして、その懸濁液の 10 g を透析チューブに入れ、90 ml の蒸留水に対して 4°C で一晩透析し、その透析外液の比電導度 (mS/cm) を電導度計 (HORIBA COMPACT CONDUCTIVITY METER C-173, 株式会社堀場製作所) により測定した。なお、種々の濃度の NaCl

* 味の素株式会社食品総合研究所 (Food Research & Development Laboratories, AJINOMOTO Co., Inc., Suzuki, Kawasaki, Kanagawa 210, Japan).

溶液について比電導度を求め、両値の関係から作成した標準直線を用いて透析外液中の NaCl 濃度 (M) を求め、希釈倍率を乗じて塩漬肉中の塩濃度を求めた。

魚肉中の Mf Ca-ATPase 活性の測定 加藤ら⁴⁾の方法に準じて、細砕した塩漬肉 2 g を精秤し、10 ml の 0.1 M KCl-20 mM Tris-maleate (pH 7.5) を加え、充分に冷却しながら 1 分間ずつ 6 回ホモジナイズを繰り返し、 $6,000 \times g$ で 10 分間遠心分離して沈澱を集め、0.1 M KCl-20 mM Tris-maleate (pH 7.5) を加えて攪拌後、遠心分離をする操作を数回繰り返して洗浄した。得られた沈澱をガラス製ハンドホモジナイザーを用いて同上溶液に対して均質に懸濁させ、定量的に Mf 懸濁液とし、この懸濁液のタンパク質濃度はビウレット法⁵⁾により比色定量した。Ca-ATPase (EC 3.6.1.3) は、5 mM CaCl_2 , 0.1 M KCl, 25 mM Tris-maleate (pH 7.0), 1 mM ATP および $0.2 \sim 0.3 \text{ mg/ml}$ Mf の反応混液中で 25°C で反応させて、生成した無機リン酸を比色定量⁶⁾して、比活性 ($\mu \text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$) を求めた。

塩漬肉の SDS-尿素混液に対する可溶化と可溶化率の測定 沼倉らの採用した方法⁸⁾に従って、細砕した塩漬肉 0.4 g を精秤して、7.5 ml の 8-M 尿素 2% SDS-2% メルカプトエタノール (pH 8.0) 溶液を加えて攪拌し、 100°C で 2 分間加熱後さらに室温で 20 時間以上攪拌して可溶化させた。なお、この溶液中のタンパク質は、蒸留水で 10 倍に希釈した後に、その一定量に等量の 15% トリクロロ酢酸溶液を加えて室温に 30 分以上放置し、遠心分離 ($10,000 \times g$, 20 min) して沈澱させた。沈澱したタンパク質を風乾後 1 N NaOH に溶解し、ビウレット法⁵⁾により比色定量した。試料中に脂質含量の多い場合には、ビウレット試薬を加えた後に等量の石油エーテルを加え、遠心分離により脂質をエーテル層に移行させて除き、比色定量を行った。また、可溶化させた溶液を $10,000 \times g$, 20 分間遠心分離して得た上清液中のタンパク質も上記と同様の方法により定量して可溶化率を求めた。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) SDS-尿素混液に可溶化させた Mf タンパク質は、Weber と Osborn の方法⁷⁾により 5% ポリアクリルアミドゲルまたは 6 M 尿素を含む 1.8% ポリアクリルアミドゲル⁹⁾を用いた SDS-PAGE に供した。染色は Coomassie Brilliant Blue R により行い、脱色は 50% メタノール-7% 酢酸で 6~8 時間、続いて 7% 酢酸でゲルの背景が透明になるまで行った。

Mf タンパク質のサブユニット成分の定量 SDS-PAGE により分離したタンパク質の各サブユニット成分は、染色後 2 波長クロマトスキャナー (CS-910 型, 株式会社島津製作所) を用いて、640 nm と 700 nm の吸光

値の差として染色強度を測定した。なお、各サブユニット成分の含量は、供試した全てのタンパク質の示す染色強度の合計値を基準として各成分の染色強度の相対値 (%) で表した。なお、対照とした試料に比べて泳動ゲル上の全染色強度の回収率、および SDS-尿素混液に対する可溶化率が低下する場合にはこれらを補正して定量値を求めた。すなわち、前者の場合はポリアクリルアミドゲル中に泳動できないほどに高分子化したミオシン重鎖の多量体が生成、また後者の場合には SDS-尿素混液に溶解しないほどに高分子化したミオシン HC 多量体が生成したものと見なし、⁸⁾ その量を計算により求め、加算して合計値とした。なお対照試料は、塩漬する前の魚肉を用いた。

結果と考察

塩漬に伴う魚肉中の塩濃度の経時変化 まず、スケトウダラおよびマアジの筋肉を 1.0 M, 1.7 M および 3.0 M の種々の NaCl (pH 7.0) 溶液に対して、 4°C で 24 時間まで塩漬した。その際の肉中の塩濃度の経時変化を Fig. 1 に示した。これによると、スケトウダラおよびマアジのいずれの場合でも、塩漬により、肉中の塩濃度は約 10 時間後までは急激に、それ以後は緩やかに増加する傾向を示し、24 時間後の塩濃度は、3.0 M NaCl に透析した場合は約 2.2 M に達した。1.7 M NaCl に塩漬した場合は、その増加速度は 3.0 M の場合よりも緩やかで、24 時間後の肉中の塩濃度も約 1.2 M と低かった。また、スケトウダラの魚肉を 1.0 M NaCl 溶液中に塩漬したときは、魚肉中の塩濃度の増加速度はさらに緩やかになり、24 時間後の塩濃度も約 0.75 M に留まった。ただし、塩漬による魚肉中への NaCl の侵入の速さはマアジの場合よりもスケトウダラの方がわずかに速い傾向にあるが、魚種による差は余り大きくないことが示された。また、24 時間後の魚肉中の塩濃度はいずれの塩濃度の溶液に塩漬した場合でも、塩漬外液の 70% に留まっていた。

塩漬に伴う魚肉中の Mf Ca-ATPase 活性の経時変化 種々の濃度の塩溶液に塩漬したとき、魚肉中の Mf タンパク質の変性を Ca-ATPase 活性を指標として検討し、結果を Fig. 2 に示した。これによると、スケトウダラおよびマアジ筋肉の Mf Ca-ATPase 活性は塩漬の初期の間は一次反応に従うような失活様式を示した。スケトウダラでは、その場合の変性速度定数 (k_d) は 1.0 M NaCl に塩漬したときに $0.37 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, 1.7 M NaCl に塩漬したときは $0.72 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, 3.0 M NaCl のときに $1.31 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ となり、浸漬液の塩濃度が高いほど大きい傾向が示された。また、マアジの場合も同様に、変性速度定数は 1.7 M NaCl に塩漬したときは $3.08 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, 3.0 M NaCl に塩漬したときは $12.08 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ となった。

Fig. 1. Increase in NaCl concentration of the meat during soaking in NaCl solution.

Blocks (1 cm×1 cm×3 cm) of walleye pollack (a) and horse mackerel (b) meat were stuffed into cellulose dialyzing tubes and soaked in 3.0, 1.7, and 1.0 M NaCl solutions containing 20 mM Tris-maleate (pH 7.0) at 4°C. During soaking, part of the meat was taken out and homogenized with water. The homogenate was dialyzed against deionized water for 24 h at 4°C. After dialysis, the conductivity (mS/cm) of the outer solution was measured and the NaCl concentration (M) of the meat was calculated in contrast with a standard solution.

(●) 3.0 M NaCl, (○) 1.7 M NaCl, (△) 1.0 M NaCl.

Fig. 2. Changes in myofibrillar Ca-ATPase activity of the meat during soaking in NaCl solution.

The meat of walleye pollack and horse mackerel was soaked in various concentrations of NaCl solution as in Fig. 1. Myofibrils (Mf) were prepared from the soaked meat quantitatively by Katoh's method (ref. 4). The Ca-ATPase activity of Mf was assayed at 25°C in a medium containing 5 mM CaCl_2 , 0.1 M KCl, 25 mM Tris-maleate (pH 7.0), 1 mM ATP, and 0.2–0.3 mg/ml of Mf protein.

(a) Walleye pollack, (b) horse mackerel.

(□) 3.0 M NaCl, (△) 1.7 M NaCl, (○) 1.0 M NaCl.

このことから、いずれの濃度の塩溶液に塩漬した場合も、同じ塩濃度における値を比べると、マアジの方が Mf Ca-ATPase 活性の変性速度は大きかった。しかし前述したように、同濃度の塩溶液に浸漬した場合の肉中への塩の侵入速度はいずれの魚肉でもほぼ同じである。それゆえ、Mf Ca-ATPase 活性の変性がマアジの方が速い傾向を示すのは、塩濃度の相違によるものではなく、マアジの筋肉中の pH が酸性に傾いているためであろうと推察している。実際に塩漬前のマアジの筋肉中の pH は 5.7 であった。

塩漬に伴う魚肉中の Mf タンパク質サブユニット成分の変化 種々の濃度の塩溶液に塩漬した際に起こる Mf タンパク質のサブユニット成分の変化について検討した。すなわち、塩漬中に経時的に取り出した魚肉の一部を SDS-尿素混液に溶解させ、SDS-PAGE に供して Mf タンパク質のサブユニット成分を分析した。スケトウダラ筋肉を塩漬した場合に得られた電気泳動図を Fig. 3 (a)~(f) に示した。

まず 5% ポリアクリルアミドゲルを支持体として用いた場合 (a, b, c) を見ると、いずれの濃度の塩溶液に塩漬した場合でも、Mf タンパク質中の主成分であるミオシンのサブユニットであるミオシン HC に相当する成分が経時的に減少し、それに伴いミオシン HC よりも移動度が小さくミオシン HC 多量体と判定される成分²⁾が

Fig. 3. Changes in the SDS-polyacrylamide gel electrophoretic pattern of the meat during soaking in NaCl solution.

The meat prepared from walleye pollack was soaked in different concentrations of NaCl solution as in Fig. 1. During soaking, a part of the meat was taken out and minced. To 0.4 g of the mince, 7.5 ml of 2% SDS-8 M urea-2% 2-mercaptoethanol-20 mM Tris-HCl (pH 8.0) was added. Then the mixture was boiled at 100°C for 2 min, followed by continuous stirring for 20 h at room temperature. It was then centrifuged at $10,000\times g$ for 20 min and its protein concentration was determined by the biuret method. The supernatant containing 20–30 μg of protein was applied to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis using 5% (a, b, and c) or 1.8% (d, e, and f) gels with 6 M urea. The protein components on the gels were stained with Coomassie Brilliant Blue R.

(a, d) 3.0 M NaCl, (b, e) 1.7 M NaCl, (c, f) 1.0 M NaCl.

HC: myosin heavy chain.

A: actin.

生成シゲルの上端部に検出されてくることが示された。そして、いずれの場合も塩漬 24 時間後にはミオシン HC はごく僅かとなった。

次に、ミオシン HC よりも分子サイズの大きな成分を詳しく見るために、1.8% ポリアクリルアミドゲルを支持体として用いて SDS-PAGE を行った (d, e, f)。これによると、いずれの塩濃度で塩漬した場合もミオシン HC 多量体に相当する成分が経時的に増加してくることが示されている。これらの結果は、伊藤らの報告¹⁾によく似ており、また練り製品の製造における塩ざり肉 (肉糊) の坐りの場合とも極めてよく類似している。²⁾

そこで次に、Fig. 3, (a), (b), (c) に示した泳動ゲル上の各成分をデンストメトリーにより定量した。また、マアジの筋肉についても同様にして定量を行った。そして、各成分の含量を供試した試料中の全タンパク質量に対する割合 (%) で表し、塩漬時間に対してプロットした結果を Fig. 4 に示した。なお、魚肉中のアクチンおよびトロポミオシンに相当する成分は塩漬液の塩濃度に関わりなく変化がみられなかったので図示しなかった。

Fig. 4, (a), (b) および (c) にはスケトウダラの魚肉を種々の濃度の塩溶液で塩漬した場合の結果を示したが、これによると、いずれの塩濃度の場合でも塩漬の初期にミオシン HC が速やかに減少し、それに伴って HC 多量体 (HCn と表す) の増加が起こること、しかし塩漬初期 (2~3 時間まで) における HC の減少速度と (HCn) の増加速度は、塩濃度の低い場合、すなわち 1.0 M NaCl に塩漬した場合 (a) の方がむしろ速いが、その後にかかる変化の速度はむしろ緩慢となる傾向が示された。また浸漬液が 1.7 M NaCl のとき (b) は初期の 5~6 時間の変化は最も速やかに起こるが、その後はやや減速した。浸漬液が 3.0 M NaCl の場合はミオシン HC の塩漬初期における減少速度は、1.7 M NaCl の場合よりも小さいがその後も減速しないのが特徴であった。また、1.7 M および 3.0 M NaCl に塩漬した場合は、塩漬約 10 時間以後には、泳動ゲル中に侵入できない大きさの HC 多量体 (HCn' と表す) が生成してくる事実が見いだされたが、これは塩濃度の高い方が大きく起こり、またミオシン HC の減少ともよく対応することが示された。

Fig. 4. Changes in content of protein subunit components of the meat during soaking in NaCl solution.

During soaking as in Fig. 1, a part of the meat was taken out and treated as in Fig. 3. Mf protein components were estimated by quantitative densitometry using electrophoretic gels shown in Fig. 3 (a, b, and c). The content of each component was expressed as a relative intensity (%) against that of the total components applied to electrophoretic analysis.

Walleye pollack: (a) 1.0 M, (b) 1.7 M, (c) 3.0 M NaCl solutions.

Horse mackerel: (d) 1.7 M, (e) 3.0 M NaCl solutions.

(●): Myosin heavy chain (HC).

(○): Cross-linked myosin heavy chain (HCn).

(△): Cross-linked myosin heavy chain, too large to enter into gel rod (HCn').

Fig. 4, (d), (e) にはマアジの魚肉を塩漬した場合の結果を示したが、この結果はスケトウダラの場合と似た傾向である。ただし、塩濃度が異なってもミオシン HC の減少の様式には余り差がなく、また 3.0 M NaCl (e) 溶液に塩漬した場合の方が 1.7 M NaCl (d) 溶液中に塩漬した場合よりもミオシン HC 多量体の生成が若干速く進行し、(HCn') の生成が早く起こった。しかし、スケトウダラの場合に比べて HC の減少と (HCn) の生成の割合は極めて少なかった。

なお、Fig. 4 はミオシン HC とその多量体の量を塩漬時間に対してプロットしているが、浸漬液の塩濃度が異なれば魚肉中への塩の侵入の様式が異なるので、次に、

筋肉中のミオシン HC の多量化はその時の塩濃度に依存するかどうかを知るため、塩漬により魚肉中に侵入した塩濃度を Fig. 1 の結果から読み取り、魚肉中の NaCl 濃度の関数として上記した各成分量をプロットし、Fig. 5 に示した。これによると、まずスケトウダラの場合 (Fig. 5, (a)), (HCn) 成分の生成は 3.0 M や 1.7 M に塩漬する場合よりも、むしろ 1.0 M NaCl 溶液に塩漬した方が、魚肉中の塩濃度が低いうちに速やかに起こることを示しており、ミオシン HC の多量化は単に魚肉中の塩濃度だけでは規定されないことが示唆された。また、さらに分子サイズの大きい多量体成分 (HCn') についても同様な傾向がみられる。

Fig. 5. NaCl concentration and formation of cross-linked myosin heavy chain of the meats by soaking in various concentrations of NaCl solution.

The content of the cross-linked myosin heavy chain (Fig. 4) was plotted against the NaCl concentration of the meat.

(a) Walleye pollack, (b) horse mackerel.

(HCn): Cross-linked myosin heavy chain, formed by soaking in 1.0 (□), 1.7 (○), and 3.0 (●) M NaCl solutions.

(HCn'): Cross-linked myosin heavy chain, too large to enter into gel rod, formed by soaking in 1.7 (△) and 3.0 (▲) M NaCl solutions.

たとえば 3.0 M NaCl 溶液に塩漬した場合には魚肉中の塩濃度が約 1.9 M 付近からそれが生成してくるのに対し, 1.7 M NaCl 溶液に塩漬した場合は約 1.0 M 付近になったときに生成されることを示した。すなわち, 同じ塩濃度に至るまでの時間が緩やかな方がミオシン HC の多量体が多く生成されることを示している。マアジの場合 (Fig. 5 (b)) も傾向的には同様であり, 3.0 M NaCl 溶液に塩漬した場合よりも 1.7 M NaCl 溶液に塩漬した場合の方が, 魚肉中の塩濃度が低いうちに HC 多量体の生成が起こる事実が示された。ただしその増加は, スケトウダラに比べて, 極めて緩慢でその量も少なかった。

Fig. 4 および Fig. 5 に示された結果から, 塩漬処理中に起こるミオシン HC の多量化反応は, 魚肉の塩漬時間あるいは侵入した塩の濃度だけに依存するのではな

Fig. 6. Content of cross-linked myosin heavy chain and integrated value of NaCl concentration (m) of the meat and soaking period (h) in NaCl solution.

The contents of the cross-linked myosin heavy chain formed by soaking in 1.0 (□), 1.7 (○), and 3.0 M (●) NaCl solutions are cited from Figs. 4 and 5. By integrating the increasing curve of the NaCl concentration of the meat induced by soaking in NaCl solution (Fig. 1), NaCl concentration (m) of meat $\times$ soaking time in NaCl was obtained.

(a) Walleye pollack.

(b) Horse mackerel.

$\Sigma \text{HCn} = \text{HCn} + \text{HCn}'$

く, 魚肉中の塩濃度とタンパク質との接触 (反応) 時間の双方によって律速されるのではないかと推察した。そこでミオシン HC の多量体の生成量を, 魚肉中の塩濃度と魚肉タンパク質の接触時間との積算値 (魚肉の塩濃度とタンパク質との反応時間の相乗値) に対してプロットした。

その結果を Fig. 6 に示したが, これによるとスケトウダラ筋肉 (a) では, $\Sigma \text{HCn} (= \text{HCn} + \text{HCn}')$ の生成の速度および生成量は魚肉中の塩濃度と魚肉がその塩濃度に保管された時間の積算値に強く依存しており, 塩漬に用いた溶液の NaCl 濃度に関係が無いことが示されている。また, マアジの場合 (b) は, 反応の進行が遅く, ミオシン HC 多量体の生成量もスケトウダラの場合の約 1/2 程度に留まったが, 傾向としてはよく似た結果を示した。

先に伊藤らは, 高塩濃度下におけるスケトウダラ筋肉中の Mf Ca-ATPase が低下し, ミオシン HC が多量化

反応を起こす事実を報告している。¹⁾ 本研究では、近年需要が高まっている塩分量の少ない乾製品を製造する際の状況を推定し、低塩濃度下において起こる魚肉タンパク質の性状変化を明らかにするために検討を行った。その結果魚肉中への塩の侵入速度と度合には魚種による差異は認められなかったが、Mf Ca-ATPase 活性の変性速度はマアジの方が明かに速いことを認めた。一方塩漬に伴うミオシン HC の多量化反応は、マアジの筋肉の場合も、スケトウダラの場合と同様に起こったが、しかしその速度は極めて緩慢であり、生成量もスケトウダラの場合に比べて約 1/2 程度に過ぎなかった。これらの相違の生ずる原因は、魚種差によるものか、あるいは実験に用いたマアジの鮮度が劣り、筋肉の pH が 5.7 まで低下したことによる Mf タンパク質の変性に起因しているのか、未だ明らかでない。

塩漬の極めて初期における魚肉タンパク質の性状変化は、Mf Ca-ATPase を指標として比べてみると、その失活は塩濃度が高い場合の方が速やかに起こるのに対し、ミオシン HC の変化を指標とするときは、より低い塩濃度溶液に浸漬した方が見かけ上むしろ速やかで、特にミオシン HC の多量化反応が速く起こった。これは、魚肉中に侵入する塩の濃度とそのときに起こるミオシン HC とその多量体の変化との関係を調べた Fig. 5 によく示されている。

しかし、魚肉を浸漬する液の塩濃度の高低には関わりなく、ミオシン HC の減少およびその多量体の生成量は、魚肉中の塩濃度とこの塩とタンパク質とが接触している時間との積算値に強く依存して決定されることが示された。すなわち、塩とタンパク質の接触（反応）時間（塩濃度×反応時間）が塩漬処理における魚肉中のミオ

シン HC の多量化反応を実質上律速している。それゆえ本研究の成果は、塩干品の品質として大切な保水性²⁾ やその物性に影響を及ぼすと考えられるミオシン HC の多量化反応を、魚肉の塩漬処理過程で意図的に調節できる可能性を示唆するものである。ただしこれらを完全に制御するには塩濃度だけでなく、その他の塩漬条件として、たとえば塩漬中の温度や pH 等についてもさらに検討を加える必要があると思われる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、御指導を賜った北海道大学水産学部教授新井健一博士に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 伊藤 剛, 北田長義, 山田典彦, 関 伸夫, 新井健一: スケトウダラ筋肉の塩漬に起こる筋原線維タンパク質の生化学的变化. 日本誌, 56, 687-693 (1990).
- 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: 坐りによる肉糊のゲル形成能とミオシンの交差結合反応. 日本誌, 51, 1559-1565 (1985).
- 3) 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: 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. 日本誌, 55, 1083-1091 (1989).
- 4) 加藤 登, 内山 均, 塚本志郎, 新井健一: 魚類筋原線維 ATPase の生化学的研究. 日本誌, 43, 857-867 (1977).
- 5) A. G. Gornall, C. T. Bardawill, and M. M. David: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177, 751-766 (1949).
- 6) C. H. Fiske and Y. Subbarow: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400 (1925).
- 7) K. Weber and M. Osborn: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel Electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244, 4406-4412 (1969).
- 8) 李 南韓, 関 伸夫, 加藤 登, 中川則和, 照井正三郎, 新井健一: イトヨリダイの肉糊形成能とミオシン重鎖の交差結合能. 日本誌, 56, 329-336 (1990).