水晒しによって誘発される 40℃ 付近の戻りに対する 水溶性タンパク質画分の抑制効果

野村 明, 伊藤慶明, 豊田寛国, 小 畠 渥

(1994 年 8 月 26 日受付)

Inhibitory Effect of Sarcoplasmic Protein Fraction of Fish Meat upon *Modori*-phenomenon Induced at about 40°C by Washing Meat

Akira Nomura,*¹ Yoshiaki Itoh,*² Hirokuni Toyoda,*^{2,3} and Atsushi Obatake*²

For the sake of utilizing the washed meat from Type IV (the fish which exhibits a *modori* at around 40°C in the washed meat, not in the unwashed meat) fish, this meat was mixed with the unwashed meat and the washed meat from the fish Types I and II which have excellent gel-forming ability. Type I is the fish which does not exhibit a *modori* at all in the unwashed meat and the washed meat, and Type II is the fish which exhibits the *modori* at 60°C only in the unwashed meat.

The mixed meat pastes with the unwashed meat of these two types did not exhibit the *modori* at 40°C, while that with the washed meats exhibited it. However, the *modori* at 60°C was occurred in the mixture with the unwashed meat of Type II. The gel-forming ability at 80°C was improved in the mixed meat pastes.

Sarcoplasmic protein fraction of the meat of not only Type IV but also Type I inhibited the *modori* at 40°C as well as the myosin heavy chain (HC) degradation of the washed meat pastes from Type IV. The floating lipid on the wash water did not have the inhibitory effect.

Therefore it was suggested that an inhibiting factor against the *modori* at 40°C of the washed meat may be contained in the sarcoplasmic protein fraction of fish meats.

キーワード: 水晒し, 戻り, 水溶性タンパク質, かまぼこ, ミオシン重鎖

高知県で生産されるねり製品の原料には生鮮魚が多く使用される。中でもマエソは高級品に用いられ、その需要は多いものの漁獲量は年々減少傾向にある。そのため、混獲される雑魚の有効利用がこれまで以上に望まれている。既に、雑魚 19 種について温度-ゲル化曲線を求めてそれぞれのゲル化特性を明らかにしてきた。¹⁾ その中で、晒すと 40℃ 付近で戻りの発現するⅣ型魚が 7 種確認された。混獲される雑魚のうち、比較的漁獲量の多いものについてこれまで検討しただけなので、これら以外にⅣ型魚に属する魚種が存在している可能性もある。ねり製品工場では雑魚を利用する場合、かまぼこゲル形成能の優れているⅠおよびⅡ型魚以外はほとんどが分別されることなく採肉され、血液や脂質を除くために水晒しが行われる。そこで本研究ではこれらのⅣ型魚の混じった晒肉をねり製品工場で有効に利用するために、

高級品の原料として利用されているⅠまたはⅡ型魚の肉と混合した場合のゲル形成に及ぼす影響について検討した。また、この検討過程で、無晒肉を混合した場合、40℃ 付近での戻りが抑制されることがわかったので、魚肉の水溶性タンパク質画分の戻り抑制効果についても併せて検討した。

実験方法

供試魚 高知市御豊瀬漁港に水揚げされた魚 3 種 (Table 1) について、いずれも硬直初期のものを供試した。

これらの魚種の温度-ゲル化曲線を前報¹⁾の方法に従って調べたところ、ヒメコダイは無晒肉および晒肉共に戻りの発現しないⅠ型魚、アオメエソは無晒肉では 60℃ で戻りが発現するが、晒すと戻らなくなるⅡ型魚、

*¹ 高知県工業技術センター (Kochi Prefectural Industrial Technology Center, Nunoshida, Kochi 781-51, Japan).

*² 高知大学農学部栽培漁業学科 (Department of Aquaculture, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

*³ 現住所: 株式会社ミナ食品 (STAMINA FOODS INC., Nishinomiya, Hyogo 663, Japan).

Table 1. Body weight, length, GSI of fish and moisture content, pH of muscle used for the experiment

Species	Body length (cm) * ¹	Body weight (g) * ¹	Moisture (%)	pH	GSI* ²	Prepared date	Type
Princes small porgy (Himekodai)	①19.2±1.2	73.6±7.1	79.9	6.60	0.68	Oct.15	I
<i>Chelidoperca hirundinacea</i>	②16.7±0.6	49.6±6.6	79.2	6.68	0.32	Feb.26	
Bigeyed greeneye (Aomeeso)	15.7±0.4	32.7±2.3	74.6	6.79	0.34	Dec.16	II
<i>Chlorophthalmus albatrossis</i>							
Hilgendorf saucord (Yumekasago)	①22.0±0.9	167.0±25.8	77.8	6.38	0.13	Oct.15	IV-A
<i>Helicolenus hilgendorfi</i>	②26.1±0.8	270.3±22.8	76.4	6.44	0.27	Dec.16	
	③21.5±0.3	162.5±21.2	78.6	6.35	0.12	Feb.26	

*¹ Mean±S.D. (n=20~200). *² Gonad-Somatic Index (Mean value of 10 fish).

ユメカサゴは無晒肉では 60℃ 付近で、晒肉では 40℃ 付近でミオシン重鎖 (HC) の分解を伴った戻りが発現し、60℃ で戻りが抑制される IV-A 型魚であることが前報¹⁾と同様に確認できた。

無晒肉と晒肉の各塩すり身、かまぼこゲルの調製およびゲル強度の測定 前報¹⁾の方法に従った。なお、無晒肉と晒肉を混合する場合、その割合を 1:1 とした。

水溶性タンパク質画分 (Sp-p) およびこれを添加した塩すり身の調製 無晒肉に 6 倍量の冷水道水を加えて晒し、濾布で脱水して濾液を回収した。その濾液の上層に浮上した脂質を除去した後、その上清を 10,000×g で 20 分間遠心分離し、更に綿濾過して Sp-p を調製した。この Sp-p を透析膜 (ナカライテスク製、セルチューブ 8000) に充填し、Polyethylene Glycol (#20000) 中に埋没して脱水濃縮した。この濃縮 Sp-p のタンパク量を測定して元の無晒肉に相当する量を晒肉に添加した後、前報¹⁾の方法に従って塩すり身を調製した。

脂肪の回収およびこれを添加した塩すり身の調製 Sp-p の調製時の濾液に浮上してきた脂肪を回収した。この脂肪を冷蒸留水での洗浄と遠心分離 (10,000×g, 20 分間) を 3 回繰り返して夾雑物を除いた。無晒肉には粗脂肪が約 4% 含まれていたため、晒肉に対して回収した脂肪を 4% 添加した後、前報¹⁾の方法に従って塩すり身を調製した。

加熱ゲルの折り曲げ試験基準 厚さ 5 mm にスライスした試料片を二つ折りにした場合、異常のないものを A、ひびのはいるものを B、二つに分裂するものを C、泥状のものを D とした。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) 前報¹⁾の方法 (Laemmli *et al.*²⁾の変法) に従って同様に行った。

実験結果

IV 型魚晒肉と I、II 型魚無晒肉あるいは晒肉との混合 Fig. 1 に I 型魚の無晒肉または晒肉を IV 型魚の晒肉と混

合した時のゲル強度曲線と SDS-PAGE 像を示した。I 型魚の無晒肉を混合した場合には、IV 型魚の晒肉で発現する 40℃ 付近の戻りは認められなかった。また、混合肉のゲル強度曲線および SDS-PAGE 像は I 型魚無晒肉のものと類似しており、得られた加熱ゲルは IV 型魚晒肉単独のものよりゲル強度が強かった。それに対して、I 型魚の晒肉を混合した場合、ゲル強度曲線から 40℃ 付近での加熱ゲルの劣化が、また、SDS-PAGE 像からはミオシン重鎖 (HC) の分解が認められ、IV 型魚晒肉に起因すると思われる戻りが発現した。

IV 型魚晒肉に I 型魚の無晒肉および晒肉を混合したすり身を 40℃ で加熱した後、80℃ で加熱して二段加熱を行い、足形成に及ぼす 40℃ 加熱の影響について検討した (Table 2)。無晒肉を混合した場合には 40℃ の加熱時間に応じて二段加熱ゲルの強度は強くなったが、晒肉を混合した場合にはそれに比べて弱くなった。

II 型魚の無晒肉または晒肉を IV 型魚の晒肉と混合した場合のゲル強度曲線と SDS-PAGE 像を Fig. 1 に示した。無晒肉を混合した場合には 60℃ での戻りが誘発されたが、40℃ 付近での戻りは発現しなかった。一方、晒肉を混合すると 60℃ 付近での戻りは発現しなかったが、40℃ 付近では HC の分解を伴った加熱ゲルの劣化が認められ、戻りが誘発された。

以上の結果、IV 型魚の晒肉に I または II 型魚の無晒肉を混合した場合には、IV 型魚の晒肉単独の場合に発現する 40℃ 付近の戻りが抑制されたことから、I、II 型魚共に水晒しによって除去される成分がこの戻りを抑制しているものと考えられた。

さらに、混合肉のゲルの強さを 80℃ 20 分加熱ゲルの折り曲げ評点およびゲル強度で比較した。足の弱い IV 型魚晒肉にそれが強い I または II 型魚肉を混合した場合、折り曲げ評点は、IV 型魚晒肉では C であったものが、混合することによって弾力は増強され、その評点は A となり、IV 型魚晒肉単独では得られない足のある加熱ゲルとなった。この効果は II 型魚肉と混合した場合も同様

Fig. 1. The gelation curves and SDS-PAGE patterns of heated gels of the mixture in which the washed meat of Type IV fish was mixed with the unwashed meat and the washed meats of Type I or Type II fish.

In Type I (①), neither the unwashed nor the washed meat causes *modori*.

In Type II, the unwashed meat causes *modori* at 60°C, but the washed meat doesn't.

In Type IV (①, ②), the unwashed meat causes *modori* at 60°C, and the washed meat causes new *modori* at about 40°C.

The mixed meat is that wherein the washed meat prepared from Type IV fish by the procedure as shown in the previous paper¹⁾ is mixed with the same amount of the unwashed or the washed meat from Type I or II fish.

The heat-induced gels were prepared from the fish meat by the procedure as shown in the previous paper¹⁾.

Gel strength was evaluated by a tensile test at room temperature and expressed as the product of tensile strength (g/cm²) and breaking extension ($\Delta l/l_0$).

0.5 g of each gel was solubilized with 10 ml of 8 M Urea-2% SDS-10% 2-mercaptoethanol-0.05 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) using a hand homogenizer. 10 μ l of the resulting solution was applied onto the 5% polyacrylamide gels. SDS-PAGE was performed according to the method of Laemmli²⁾.

—: heated for 20 min.

---: heated for 2 h.

IV-W: the washed meat prepared from Type IV fish meat.

IV-W+I-U: the washed meat from Type IV fish mixed with the unwashed meat from Type I fish.

IV-W+I-W: the washed one from Type IV fish mixed with the washed one from Type I fish.

Table 2. Gel strengths (g/cm²) of two-step heated* meat pastes in which the washed meat from Type IV fish was mixed with the unwashed or the washed meat from Type I fish

Heating time at 40°C	Unwashed meat	Washed meat
20 min	864	885
120 min	1,057	540

* heated at 80°C for 20 min after heating at 40°C.

Table 3. Appropriateness of the mixture as a material of *surimi*-based product when the washed meat from Type IV fish was mixed with the unwashed or the washed meat from Type I or II fish

Type	Meat	Modori appearance	Appropriateness of mixing
I	unwashed	no appearance	usefull
	washed	at about 40°C	moderately useful
II	unwashed	at about 60°C	moderately useful
	washed	at about 40°C	moderately useful

であった。また、Ⅳ型魚晒肉のゲル強度は150 g/cm²前後であり、Ⅰ型魚の無晒肉および晒肉のそれは1000–1100 g/cm²であったが、Ⅰ型魚の両肉それぞれをⅣ型魚の晒肉と1対1で混合すると、700–800 g/cm²となった。このことから、Table 3に示したようにⅣ型魚晒肉を用いる場合にはかまぼこゲル形成能⁴⁴が強く、また40℃で戻りの発現しないⅠ型魚の無晒肉と混合することが最も有効であり、それ以外のⅠまたはⅡ型魚肉との混合も加熱工程に配慮することによって有効であることが明らかとなった。Ⅲ型魚は無晒肉と晒肉共にかまぼこゲル形成能が弱く、Ⅳ型魚との混合による足増強効果は期待できないので、混合実験は行わなかった。

Ⅳ型魚晒肉に対するⅠ型、Ⅵ型魚Sp-pの添加効果次に、Ⅳ型魚晒肉で認められる40℃付近での戻りに対して無晒肉による抑制効果を確認するためにⅠ型魚およびⅣ型魚のSp-pをⅣ型魚晒肉に添加してその効果を調べた。

Fig. 2にⅣ型魚の晒肉にⅠ型魚のSp-pを添加した時のゲル強度曲線とSDS-PAGE像を示した。Ⅳ型魚晒肉単独では40–50℃にかけてHCの分解を伴った戻りが誘発されたのに対して、その肉にⅠ型魚のSp-pを添加した加熱ゲルではHC分解は抑制され、ゲル強度曲線もⅣ型魚無晒肉と類似しており、戻りが認められなかった。このことからⅠ型魚のSp-pにはⅣ型魚晒肉で発現する40℃付近の戻りを抑制する効果のあることが明らかとなった。

Fig. 3にⅣ型魚晒肉に同魚のSp-pまたは浮上脂質を添加した時のゲル強度曲線とSDS-PAGE像を示した。Sp-pを添加した加熱ゲルではⅠ型魚のSp-pを添加した場合と同様に40℃付近の戻りは抑制され、HCの分解も起こらなかった。脂質を添加した場合には戻りおよびHCの分解は抑制されなかった。

以上のことから、水晒しによって除去される、脂質以外の成分にⅣ型魚晒肉で発現する40℃付近の戻りを抑制する効果のあることが認められた。

考 察

Ⅳ型魚の晒肉にⅠ型魚の晒肉を混合した場合の40℃付近での戻りはⅣ型魚晒肉に起因すると考えられる。一方、Ⅰ型魚無晒肉を混合した場合は40℃での戻りが発現しなかったことから、この無晒肉中には40℃での戻りを抑制する因子、すなわち、ミオシン重鎖を分解するプロテアーゼの作用を抑える因子が含まれており、それは水溶性成分であると推察した (Fig. 1)。また、Table 2の結果から、無晒肉と混合する場合には弾力増強のための40℃付近での坐りを取り入れた加熱方法に問題はないが、晒肉と混合する場合にはその温度帯での加熱は弾力の低下を招く³⁾ので、40℃付近での坐り工程を取り入れない加熱法が良いと考えられた。

Ⅱ型魚の魚晒肉を混合した場合にはⅠ型魚の場合と同様に40℃で戻りが生じず、晒肉では戻りが生じたことから、Ⅱ型魚の無晒肉中にも40℃での戻りを抑制する因子が含まれていると考えられる。一方、60℃での戻りについては無晒肉を混合した場合、発現したが、晒肉を混合した場合には生じなかったことから、この戻りはⅡ型魚の無晒肉に起因していると考えられる。これらの

IV-W+II-U: the washed one from Type IV fish mixed with the unwashed one from Type II fish.

IV-W+II-W: the washed one from Type IV fish mixed with the washed one from Type II fish.

HC (gothic type): myosin heavy chain, A (gothic type): actin.

A: unheated meat paste, B: heated gel at 30°C for 20 min, C: 30°C 2 h, D: 40°C 20 min, E: 40°C 2 h, F: 50°C 20 min, G: 50°C 2 h, H: 60°C 20 min, I: 60°C 2 h, J: 70°C 20 min, K: 70°C 2 h, L: 80°C 20 min, M: 80°C 2 h, N: 90°C 20 min, O: 90°C 2 h.

⁴⁴ ここでは、かまぼことしてのゲルの形成する強さを示すために80℃でのゲル強度をかまぼこゲル形成能と表し、低温でのゲル形成能と区別した。

Fig. 2. The gelation curves and SDS-PAGE patterns of the washed meat from Type IV fish to which the sarcoplasmic protein fraction from Type I fish was added.

The fish used was for Type IV was Yumekasago ③, and the Type I fish was Himekodai ②.

Sarcoplasmic protein fraction and floating lipid were recovered from the wash water in preparing the washed meat from Type I fish. After removing floating lipid from wash water, the solution was packed into dialytic film, and concentrated in polyethyleneglycol (#20000). The resulting solution was used as sarcoplasmic protein fraction. The amount of sarcoplasmic protein fraction corresponding to that in the unwashed meat Type I fish was added to the washed meat Type IV. The heated gels of the washed meat added with the sarcoplasmic protein fraction were prepared according to the procedure as shown in the previous paper¹⁾.

IV-W: the washed meat prepared from Type IV fish.

IV-W + I-Sp-p: the washed meat from Type IV added to the sarcoplasmic protein fraction from Type I.

UH: unheated meat paste.

ことからⅡ型魚の無晒肉と混合する場合には、その弾力を増強させるために40℃付近で坐りを取り入れ、その後60℃での戻りを避けるために速やかに80℃以上の高温で加熱する必要があると考えられる。一方、晒肉を混合するとⅠ型魚晒肉添加の場合と同様40℃付近でHCの分解を伴った戻りが誘発されるので、この温度付近での加熱は避けなければならない。

ⅠまたはⅡ型魚の無晒肉を混合した場合の30-40℃の加熱ゲルのSDS-PAGE像ではHCおよびアクリルアミドゲル上端部に見られるバンドはかなり薄くなっていた。この原因はこれらの加熱ゲルが8M尿素-2%SDS溶液に完全に溶解しなかったことも考えられる。この現象はⅠおよびⅡ型魚の無晒肉単独の加熱ゲルでも認められた。これは既に報告されている⁴⁻⁸⁾ HCの多量化作用を持つトランスグルタミナーゼ (TGase) によることも推測される。このことからTGaseがHCあるいはその分解物を多量化することによって、40℃での戻りを抑制している可能性がある。しかし、Ⅰ型魚の晒肉でも

HCの多量化現象が認められる¹⁾にもかかわらず、これをⅡ型魚晒肉に混合しても40℃付近でHCの分解が誘発されたこと、また、Ⅱ型魚の無晒肉ではHCの多量化が特に認められないにもかかわらず、HCの分解が抑制されていることの二点から、TGaseによるHCの多量化が40℃での戻りを全面的に抑制したとは考えにくく、晒廃液中にTGaseとは異なる戻り抑制因子が存在するものと推察した。先に著者らは40℃付近の戻りに伴うHCの分解が数種プロテアーゼインヒビターによって抑制されることからHCの分解がプロテアーゼによることを報告した⁹⁾。本実験のSp-p中の戻り抑制因子もHCの分解を抑制することから、この因子はプロテアーゼインヒビターであると推測した。Toyohara *et al.* は50℃でのHC分解を抑制するプロテアーゼインヒビターが筋形質タンパク質画分中に存在することを報告している。¹⁰⁾ HCの分解温度が著者らの場合と異なるので、同一のインヒビターではないかもしれないが、筋形質タンパク質画分にプロテアーゼインヒビターが存在す