魚肉すり身中の筋原繊維タンパク質の変性と 限界含水率との関係

進藤 穰, 上新 学, 御木 英昌

(1999年9月29日受付, 2000年2月16日受理)

Relationship between Critical Water Content and Denaturation of Myofibrillar Protein in Fish Surimi

Jo Shindo,* Manabu Ueshin,* and Hidemasa Miki*

Since equilibrium water content (W_e) was considered to decrease with the denaturation of fish muscle protein, critical water contents (W_c), which were obtained on the characteristic dehydration curve during dehydration with a low osmotic sheet, were measured to investigate the relationships between the denaturation of myofibrillar (Mf) protein and W_c in tilapia surimi during storage for 0, 2, 4, 6, 8, and 10 days at 0°C. An inflection point was obtained in the falling rate period of logarithmic dehydration curve for the surimi, and it was named the second critical water content (W_{c2}). The W_{c2} decreased with decreases in $MfCa^{2+}$ -ATPase total activity and Mf solubility during storage. Positive high correlations between W_{c2} and $MfCa^{2+}$ -ATPase total activity, and between W_{c2} and Mf solubility were obtained.

As a result, W_{c2} could be useful as an index for evaluating protein denaturation.

キーワード: すり身, 筋原繊維タンパク質, 限界含水率, 脱水, ATPase 活性, 溶解度

魚肉あるいは一部の水産加工食品には70~80%と多くの水が存在する。また、その存在状態は様々ではなく、自由水の他に結合力の異なる数種の水が存在することが多くの研究者によって認められている。^{1,2)}さらに、これらの水の存在状態は魚肉中のタンパク質の状態と密接に関係するので、水産食品の品質を左右するとされている。そのため、魚肉中の水の存在状態を知ることは、水産物の保蔵・加工を行なう上でたいへん重要な意味がある。

また、水産食品中の水の状態を測定する方法も種々検討されてきた。なかでも、赤羽ら^{3,4)}はかまぼこ中の水の存在状態を圧出法、吸出法により検討し、存在状態の異なる3種類の水を確認している。さらに、丹羽ら⁵⁾はかまぼこ中の水の状態を静電容量やIRスペクトルから検討し、温度上昇によって結合水が自由水へ移行することを認めている。

しかし、水の状態の測定に関しては測定方法が研究者によって様々であり、また結合水-自由水といった水の定義づけが各種各様であることから、魚肉中の水と水産食品の品質に関して統一の見解があるとは言えない。

一方、食品の乾燥(脱水)過程において、時間と被乾燥物の質量変化の関係を示す乾燥(脱水)特性曲線上に、蒸散して脱水される水の種類が自由水から結合水へ移行する点を表わす限界含水率^{6,7)}と称される変曲点が見い出されている。そこで、本研究では、魚肉の低温脱水過程に現れる限界含水率を手掛かりとして水の存在状態を調べ、それと魚肉タンパク質の変性度合との対応について検討した。

実験方法

試料魚 試料魚には鹿児島県指宿市で養殖されたティラピア *Oreochromis niloticus* を用いた。これを生きたまま実験室へ持ち帰り、水槽に入れておき、翌日即殺後、三枚に卸して、実験試料を調製した。

試料の調製 試料は、魚肉の部位差を均一にするため無塩すり身(以下、すり身と略す)とした。断頭即殺した試料魚をフィレーにして骨、皮、血合肉を除去後、1 cm×1 cm×1 cmの立方体状の魚肉に細断した。この魚肉に5倍量(重量比)の冷水(3°C)を加え、5分間攪拌して換水した。その操作を3回繰り返して水晒しを

* 鹿児島大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Shimoarata Kagoshima 890-0056, Japan).

Fig. 1. A schematic experimental apparatus for dehydration by the low osmotic sheet.

行なった。その後、水晒し肉を遠心脱水し、4 mm 目チヨッパーを通して挽肉とした。最終的に、水分量を加水により 82%, pH を 6.7~6.8 に 0.1 N NaOH で調整し、5 分間播漬してすり身を調製した。⁸⁾

貯蔵方法 調製した試料を限界含水率の測定用に 60 g, Ca^{2+} -ATPase 活性測定用に 30 g ずつ家庭用ラップで包み、さらにポリエチレン袋 (350 mm×270 mm×厚さ 0.02 mm) に入れたものを 6 個ずつ用意し、0°C (±0.5°C) に設定した電気恒温低温器 (K.K. 日本医化器械製作所, NK 式) 内で所定日数貯蔵した。

限界含水率の測定 脱水装置の概要を Fig. 1 に示す。⁹⁾ 発泡塩化ビニール板 (70 mm×70 mm×厚さ 5 mm) の中心に直径 54 mm の穴をくり貫き、この穴に約 12 g の試料が詰められるようにしたサンプルケースを数個用意した。これらに試料を充填した後、両側の試料露出面を半透膜 (セロハン紙) で覆い、さらにその外側を低浸透圧脱水シート (昭和電工 K.K. 41 型, ポリアクリル酸系高分子吸収剤: 商品名ピチットシート) で覆った。低温脱水シートが密着するように塩化ビニール板で軽く (4.83 g/cm²) 押さえ、低温下で脱水を行なった。この低温脱水の処理は 0°C (±0.5°C) の低温恒温庫内で行ない、所定時間毎にサンプルケースを順に取り出して秤量し、試料の質量を測定した。

水分含量の測定 水分含量の測定は、常圧加熱乾燥法¹⁰⁾で行なった。

筋原繊維の調製 筋原繊維 (以下本文中では Mf と略す) タンパク質の調製は加藤ら¹¹⁾の方法に従って試料 5 g を採取して行ない、100 mM KCl-20 mM Tris-maleate (pH 7.0) に懸濁した。また、タンパク質量の測定はビューレット法¹²⁾によって比色定量し、全タンパク質量 (mg/5 g surimi) を求めた。

MfCa²⁺-ATPase 全活性の測定 Mf タンパク質の Ca^{2+} -ATPase 活性の測定は、5 mM CaCl_2 , 100 mM KCl, 20 mM Tris-maleate (pH 7.0), および 1 mM ATP の混液中で 25°C で反応させ、¹³⁾ 生成する無機リン酸を比色定量し、全活性 ($\mu\text{mol Pi/min} \cdot 5\text{ g surimi}$) を求めた。¹⁴⁾ また、Mf タンパク質の終濃度は 0.3 mg/ml で行なった。

溶解度の測定 Mf タンパク質の溶解度の測定は Sung *et al.*¹⁵⁾の方法に従って行ない、タンパク質濃度の測定は上述のビューレット法により求めた。

結果および考察

すり身の限界含水率 低温脱水シートによるティラピアすり身の脱水特性曲線を食品の乾燥特性曲線の描き方と同様の手法でプロットして Fig. 2 に示した。ここで、縦軸は各時間における試料の質量 (W) から、脱水によって平衡に達したときの質量 (W_e) を差し引いた ($W-W_e$) 値で、この値は脱水によって除去される自由水分またはそれに近い水分の質量を示す。試料の脱水特性曲線から判るように、質量は時間の経過とともに緩やかに減少し、脱水開始後 74 時間目に平衡に達した。恒率乾燥期間は、脱水 (乾燥) 速度がある期間一定であるが、Fig. 2 では脱水速度が一定の恒率乾燥期間と思われる部分が存在しなかった。ティラピアすり身の脱水過程では、石炭、ゼラチンゲルなどの均質物質の乾燥の場合と同様に恒率乾燥期間を欠き、減率乾燥期間だけが存在した。¹⁶⁾ さらに恒率乾燥期間を欠く場合には、第二段減率乾燥期間が存在するように思われたので、従来の方法に従って¹⁷⁾ $W-W_e$ を対数に変換し、経時的にプロットした。この結果、Fig. 3 に示すように 28 時間目に一つの変曲点を持つ 2 本の直線が得られ、脱水開始から 28

Fig. 2. Characteristic dehydration curve of tilapia surimi during dehydration by the low osmotic sheet at 0°C.

W, sample weight; We, equilibrium weight.

Fig. 3. Logarithmic characteristic dehydration curve of tilapia surimi during dehydration by the low osmotic sheet at 0°C.

W, sample weight; We, equilibrium weight.

時間までが第一段減率乾燥期間, また 28 時間から脱水終了の 74 時間までが第二段減率乾燥期間に相当すると思われた。また, 第一段減率乾燥期間と第二段減率乾燥期間の境界にあたる変曲点における含水率は特に定義された名称がないため, ここではこの含水率を第二限界含

Table 1. Change in the second critical water content of tilapia surimi during storage at 0°C

Storage period (day)	2nd critical water content (% W.B.)
0	64.77
2	62.53
4	59.57
6	56.00
8	54.65
10	54.49

水率 (W_{c2}) と呼ぶことにした。

貯蔵におけるすり身の W_{c2} の変化 ティラピアすり身を 0°C で 2, 4, 6, 8, 10 日間貯蔵し, それぞれの試料の W_{c2} を湿量基準含水率 (% W.B.) として求めて Table 1 に示した。ティラピアすり身の W_{c2} は経時的に低下した。これは, 試料中の束縛度の強い水が減少し, 束縛度の弱い水が増加したことを示唆する。魚肉または魚肉ねり製品では, その品質の劣化に伴いドリップの流出や遊離水の増加などの現象が起こることが知られている。これらの現象は魚肉タンパク質の変性や魚肉の保水力の低下に起因し, 結合水域の水の減少による相対的な自由水域の水の増加により発生するといわれている。¹⁾ 本実験の結果もこれらと同様の理由により W_{c2} が変化したのであろう。

すり身中の水の存在状態の変化 ティラピアすり身中の水を 3 区分に分類し, 脱水開始から前述の変曲点まで脱水され, 第一段減率乾燥期間に相当する水の区分を Id, 変曲点から脱水平衡点まで脱水され, 第二段減率乾燥期間に相当する水の区分を IId, さらに脱水されなかった水の区分を IIId とした。これらの区分の水分量を乾量基準含水率 (% D.B.) として求め, 各試料における水の存在状態を Fig. 4 に示した。脱水され易い束縛度の弱い水が Id, 脱水されにくい束縛度の強い水が IId, まったく脱水されない束縛度の非常に強い水が IIId であると考えた。最も束縛度の強い IIId の水は貯蔵日数 4 日まで減少したが, 6 日目から 10 日目まではほとんど減少しなかった。また, IIId の水分が 0 日から 10 日目までに減少した量は 10.14% D.B. となった。脱水されにくい IId の水も貯蔵日数とともに減少し, 0 日から 10 日目までの減少量は 61.50% D.B. となった。これらと逆に, 脱水され易い Id の水は貯蔵日数の経過とともに増加する傾向を示した。以上の結果より, 貯蔵日数の経過とともにティラピア魚肉すり身中では, IIId の水と IId の水が減少し, 減少した水は Id へと移行するよう

Fig. 4. Changes in contents of water classified by the dehydration periods in tilapia surimi during storage at 0°C.

Id, the section of first falling rate period; IId, the section of second falling rate period; IIId, the section of undehydration period.

dの減少量が大いことから、IIdの方がすり身の貯蔵の影響を強く受けるように思われた。さらに、赤羽ら¹⁸⁾の結果と合わせて考えると、水分量調整のために添加した水も束縛度の弱いIdの水として存在し、試料表面に局所的な自由水が存在しないことを意味すると思われた。このことが、Fig. 2の低温脱水特性曲線上に恒率乾燥に相当する期間が存在しない理由とも考えられた。

Mf タンパク質の変性状態 Table 2に0°C (±0.5°C) 貯蔵中のすり身から調製したMfタンパク質のCa²⁺-ATPase全活性と溶解度の相対値を示す。Ca²⁺-ATPase全活性は貯蔵日数の経過とともに低下し、貯蔵10日目において100%から60%近くまで低下した。溶解度もCa²⁺-ATPase全活性と同様に、初日を100%とした場合、貯蔵10日目では、その65%近くまでに低下した。鈴木¹⁹⁾はコイ活魚の筋肉を2°C前後でシリカゲルで脱水すると、残存水分が20%, W.B.になるまでタンパク質の溶解度が変わらないと報告している。本実験でも、IIIdの水が全水分量の約17%, W.B.になった貯蔵2日目において、Mfタンパク質溶解度の急激な低下が示された。

Wc₂の変化とMfタンパク質変性との関連性 Fig. 5, 6に各試料のWc₂とCa²⁺-ATPase全活性および溶解度の関係を示す。貯蔵日数の経過によるWc₂の低下とともに、Ca²⁺-ATPase全活性、溶解度は減少した。

Table 2. Changes in MfCa²⁺-ATPase total activity and Mf solubility in tilapia surimi during storage at 0°C

Storage period (day)	Relative Ca ²⁺ -ATPase total activity (%)	Relative solubility (%)
0	100.0* ¹	100.0* ²
2	96.4	77.8
4	76.9	77.0
6	73.5	73.7
8	65.1	66.1
10	61.7	64.5

*¹ 166.7 (μmol Pi/min·5 g surimi) was taken as 100%.

*² 29.5(%) was taken as 100%.

Fig. 5. Relationship between the relative Mf Ca²⁺-ATPase total activity and the second critical water content of in tilapia surimi.

両者の相関性を検討したところ、Wc₂とCa²⁺-ATPase全活性との間にr=0.94、またWc₂と溶解度との間にr=0.88の高い相関性が認められた。脱水に伴うアコヤガイのMfCa²⁺-ATPase活性の変化は毛管凝縮域および多分子吸着層域の水分量変化と高い相関関係を示すこと、²⁰⁾ また前述のように残存水分が20%, W.B.になるまでの脱水操作がコイ活魚肉の溶解度を著しく低下させないことが報告されている。¹⁹⁾ 本研究では、脱水操作によるMfタンパク質の変性状態を調べることが目的ではない。しかし、0°C貯蔵中のすり身において、Wc₂とCa²⁺-ATPase活性ならびにWc₂と溶解度との関連性

Fig. 6. Relationship between the relative Mf solubility and the second critical water content in tilapia surimi.

が認められたことから、タンパク質の変性により脱水されにくいⅡd域から脱水され易いⅠd域へと水の状態が移行すると想像される。すなわち、 Wc_2 の上昇が魚肉タンパク質の水和力の低下によると思われるので、 Wc_2 を指標として魚肉タンパク質の変性度合を知ることが可能である。

文 献

- 鈴木たね子：水産食品中の水一核磁気共鳴 (NMR) による測定, 「食品の水一水分活性と水の挙動」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 1973, pp. 25-37.
- 高木一郎：かまぼこ中の水の状態, 「食品の水一水分活性と水の挙動」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 1973, pp. 95-100.
- Y. Akahane and Y. Shimizu: Classification of the existing state of water in kamaboko by expressing, absorbing, and thermogravimetric methods. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1237-1241 (1988).
- 赤羽義章, 志水 寛：塩ずりおよび加熱によるすり身の保水性の変化. 日水誌, **55**, 1821-1826 (1989).
- E. Niwa, E. Chen, S. Kanoh, and T. Nakayama: Effect of temperature on the state of water within kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1975-1979 (1988).
- 林 弘道：食品乾燥の基礎, 「乾燥食品辞典」, 朝倉出版, 東京, 1984, pp. 19-20.
- J. Brennan, J. Butters, N. Cowell, and E. Lilly: 乾燥, 「食品工学」(土橋 豊監訳), 建帛社, 東京, 1981, pp. 19-20.
- 志水 寛：魚肉すり身ゲル形成能の魚種特異性. 日水誌, **40**, 175-179 (1974).
- 御木英昌, 勢戸史紀, 西本素三, 西元諄一：生鮮魚に及ぼすチルド温度帯における低温脱水の影響. 日本冷凍協会論文集, **10**, 377-382 (1993).
- 小原哲二郎：水分の定量, 「食品分析ハンドブック」(小原哲二郎, 岩尾裕之, 鈴木隆雄編), 建帛社, 東京, 1969, pp. 17-32.
- 加藤 登, 内山 均, 塚本志朗, 新井健一：魚類筋原繊維 ATPase の生化学的研究. 日水誌, **43**, 857-867 (1977).
- A. G. Gornall, C. J. Bardawill, and M. M. David: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-765 (1949).
- 新井健一：水産生物化学・食品学実験書(斎藤恒行, 内山 均, 梅本 滋, 河端俊治編), 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp. 189-198.
- 加藤 登, 野崎 恒, 小松一宮, 新井健一：スケトウダラ冷凍すり身の一品質判定法. 日水誌, **45**, 1027-1032 (1979).
- S. Sung, T. Ito, and T. Fukazawa: Relationship between contractility and some biochemical properties of myofibrils prepared from normal and PSE porcine muscle. *J. Food. Sci.*, **41**, 102-107 (1976).
- 千葉英雄, 橋爪 斌, 板倉辰六郎, 満田久輝：食品工学実験所(京都大学農学部食品工学教室編), 下巻, 養賢堂, 東京, 1970, pp. 617-622.
- J. Brennan, J. Butters, N. Cowell, and A. Lilly: 最新食品工学(藤井 達訳), 食品資材研究会, 東京, 1971, pp. 176-185.
- 赤羽義章, 藤野正之, 志水 寛：包装かまぼこからの水の遊離. 日水誌, **54**, 823-828 (1988).
- 鈴木たね子：脱水を伴う魚肉たん白の変性. 日食工誌, **18**, 167-171 (1971).
- Darmanto, 市川 寿, 岩本三憲, 阿部尚幸, 西村慎吾, 後藤信治, 野崎征宜：脱水に伴う魚類筋原繊維の水の状態および変性に及ぼすアコヤガイ内酵素分解物の添加効果. 日水誌, **63**, 378-385 (1997).