

# 高水圧の食品加工への応用

## — 筋肉タンパク質の変化の視点から —

山本 克博 岩崎 智仁

Katsuhiro Yamamoto Tomohito Iwasaki

酪農学園大学酪農学部食品科学科  
北海道江別市文京台緑町582

Department of Food Science, Faculty of Dairy Science, Rakuno Gakuen University  
582, Bunkyo-daimeidori-machi, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-8501, Japan

### Summary

Hydrostatic pressure affects muscle proteins in a number of ways. For example, myosin filaments form gels on pressure application which are rather more viscoelastic than those caused by heat treatment. Pressure-treatment thus has potential for production of novel foods, differing from examples due to thermal-processing. Globular proteins, which consist of mixtures of  $\alpha$ -helix and

$\beta$ -sheets, are susceptible to pressure, while fibrous proteins, which are mainly composed of  $\alpha$ -helix, are not as sensitive because of fewer cavities in their molecules. The distinctive effects of heat and pressure on proteins also can result in differences in the level of denaturation, so that the rheological properties of foods can be modified.

### 1. はじめに

食品への高静水圧の利用に関するアイディアは古くからあり、今から100年以上も前の1899年に米国のB.H. Hiteが“The effect of pressure in the preservation of milk”という論文<sup>1)</sup>に牛乳の殺菌に高静水圧が効果を示すことを報告した。彼の研究グループはさらに研究を進めて、1914年に野菜や果実の保蔵に加圧処理が有効であることも明らかにした<sup>2)</sup>。また、同年には、P. W. Bridgmanが卵白に圧力をかけると凝固するという論文を発表している<sup>3)</sup>。彼は人工ダイヤモンド合成の理論的基礎を築き、1946年にノーベル物理学賞を受賞した物理学者である。その後、1970年代から80年代にかけて、オーストラリアのMacfarlaneらの研究グループが、高静水圧と加熱とを組み合わせることによる食肉（牛肉や羊肉）の軟化の研究を精力的に行った<sup>4)</sup>。オーストラリアでは牛肉や羊肉は重要な輸出品であり、牛肉や羊肉は豚肉と違って屠畜後の死後硬直が顕著に起こり、硬さは肉の価値を下げてしまうことになるので、肉の軟化処理方法の一つとして加圧処理の効果が期待された。

このように欧米では、食品分野での高水圧の応用に関して長い研究の歴史があったものの、加圧による食品加工が実際に商業的に用いられるまでには至らなかった。この理由は、圧力処理では加熱処理とは違って連続的な処理が困難であり、圧力容器も高価で処理量も限定され、加熱に対抗するにはコスト面や処理量に難点があるためである。

一方、1980年代には我が国では京大の林力丸教授が中心となって、高水圧を食品加工や殺菌に利用しようとする研究が活発化し、1990年には株式会社明治屋から加圧製法によるジャムやフルーツソースなどが市販された。それに続いて数社から加圧を利用した食品が開発され流通するようになった。最近ではカキ殻の開殻やカタクチイワシの自己消化を促進させてエキスを製造することにも加圧が利用され、高水圧の応用の範囲の広がりを見ている<sup>5)</sup>。

これまでに我が国で開発された加圧食品は主に果実や農産物を原料としたものが主体であるが、畜肉や魚肉、卵、あるいは大豆などタンパク質を主成分とした食品素材では、加圧によるタンパク質の凝固（ゲル形成）が特に興味の対象となる。ソーセージやかまぼこ、あるいは

豆腐などはタンパク質のゲル化に由来した食品であるが、Bridgmanが卵白で示したように、種々のタンパク質は加圧によってもゲルを形成することが知られている。興味深いことに、卵白を含めて、加圧によって形成されたゲルの物性は加熱によって形成されたゲルとは異なっており（一般に、加圧によるゲルの方がしなやかである）、このことは加圧によるタンパク質の変性が、加熱の場合とは異なることを示唆している。本稿では著者らが扱っている筋肉タンパク質を例に、加圧によるタンパク質の変化について紹介する。

## 2. 筋肉タンパク質ミオシンの加熱と加圧でのゲル形成

ミオシンは筋線維に含まれる筋原線維の太いフィラメントの主要構成タンパク質で、筋原線維タンパク質全重量の50%近くを占め、食品科学的な観点からは、加熱によるゲルの形成が結着性の発現という点から重要となる。ミオシン分子は、ATPase活性ならびにアクチン結合能をもつ2つの球状の頭部（S1）とそれに連なる1本の細長い尾部（rod）をもった極めて特徴的な形態を有している。頭部は $\alpha$ ヘリックスや $\beta$ シートを含んでいるが、尾部はほぼ100%ヘリックスから成っており、尾部同士の自己集合により太いフィラメントの軸が形成され、頭部が軸表面から突起し、細いフィラメントとの相互作用によって筋肉の収縮・弛緩が生じる。骨格筋のミオシン分子は6本のポリペプチド鎖から構成され、2本の重鎖は頭部から尾部の末端にまでわたり、4本の軽鎖は頭部と尾部の接合部付近に局在している。

生理的なイオン強度とpH条件下ではミオシンはフィラメントを形成しているが、塩濃度を0.3 M以上に上昇させると尾部間の解離が起こって、モノマーとして分散するようになる。高塩濃度でミオシン分子が分散した状態にある溶液を加熱すると、40℃付近から分子内ならびに分子間での頭部同士の会合による凝集体が形成され<sup>6)</sup>、さらに温度を高めると凝集体の外側にある尾部の変性が生じて、尾部間相互作用による凝集体間での連結によってゲルの形成に至る。このため、高塩濃度下で形成されるゲルの構造は、凝集体の粒子が連結したaggregated type<sup>7)</sup>と称される網目構造を呈する。加圧の場合は、頭部同士が会合して、その外側に尾部が放射状に広がった形態をもつ凝集体が形成される（図1）ものの、少なく

とも500 MPaまでの加圧ではゲルを形成することはない。このような形態の変化に付随する生化学的な変化としては、濁度の上昇、ATPase活性の低下、表面疎水性の増加などが挙げられる。ミオシンがモノマー状態で存在する高塩濃度下では、加熱の場合にはゲル化が生じるのに対して、加圧ではゲル化に至らないことが大きな相違点である。加圧の場合にミオシンモノマーがゲル化しない原因は、加圧での尾部の変性が加熱の場合よりも小さいために凝集体の外側を取り巻く尾部間での連結が生じないためである。後述するように、単離した尾部を加圧しても凝集体を形成することはなかった。

一方、低塩濃度下でのフィラメントの状態では、加熱と加圧のいずれの場合もゲル化する。加圧の場合は、おおよそ200 MPa以上の圧力でゲル化が生じ、その構造は細い線維の網目から構成されている（図2）<sup>8)</sup>。このゲルの網目構造は加熱によるゲルの場合と極めて類似しており、このような細い繊維状の網目から構成されるゲルをstrand typeゲル<sup>7)</sup>と呼んでいる。ゲルの構造から見て加

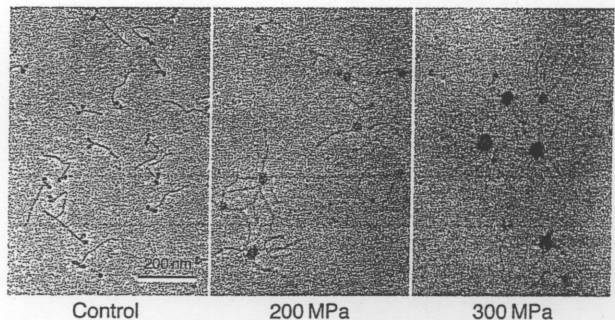


図1. 加圧によるミオシン分子の形態変化  
ミオシンを0.5 M KCl、10mM phosphate (pH 6.0) に溶解させて所定の圧力で10分間加圧した後に、白金でロータリーシャドウイングした試料を透過型電子顕微鏡で観察した。

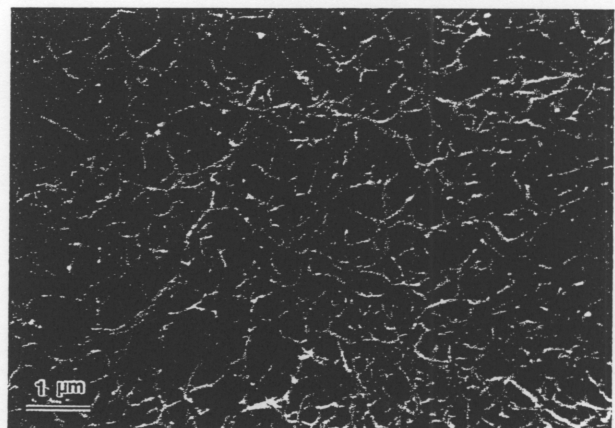


図2. 加圧によって形成されたミオシンフィラメントゲルの内部構造  
0.1 M KCl、20 mM phosphate (pH 6.0) に5 mg/mlの濃度でミオシンフィラメントを懸濁させ、280 MPaで30分間の加圧処理を行って形成させたゲルを走査型電子顕微鏡で観察した。

熱ゲルと加圧ゲルは識別が困難なほど類似しているが、加圧によって形成されたミオシンフィラメントのゲルは加熱によるものと比べて、透明感があり、しなやかさをもっていて、加熱によるゲルとは物性的に異なっていることが大きな特徴である。このような物性の違いもミオシン尾部の変性の程度に起因するものと考えられる。ミオシンフィラメントからのゲル形成は次のように説明できる。加熱と加圧のいずれも、フィラメントの表面から突起しているミオシン頭部を介したフィラメント間での側面的な会合によってフィラメントの束 (strand) ができると同時に交差するstrand間での会合によって全体的な網目構造が形成される<sup>9,10)</sup>。この時、加圧ではゲルの網目を作っているミオシンフィラメントの軸を形成している尾部の変性が加熱に比べて圧倒的に小さく、殆ど未変性の状態にあるためにタンパク質の柔軟性が保持され、これによってゲル全体がしなやかさを示すことになると考えられる。なお、ゲル化の際に、加圧と加熱処理のいずれの場合もミオシン軽鎖の一部が解離する<sup>9)</sup>が、このことは、ミオシン軽鎖はゲルの網目の形成には必須ではなく、ゲルの骨格はミオシン重鎖によって形成されることを示している。

### 3. ミオシンサブフラグメントの変化

上述したように、ミオシン分子は頭部と尾部とでは構造的に大きな違いがあり、加圧と加熱とでは変性の様子が異なることが推測されたが、それを実証するために、頭部と尾部について各々への加圧の影響を調べた。

ミオシン分子はプロテアーゼによって球状頭部であるS1と棒状尾部のrodとに容易に切断できる。それらを単離して各々を加圧すると、S1は凝集体を形成し (図3)、圧力の増加に伴ってサイズが大きくなったが、一方、rodでは加圧しても棒状の形態に変化はみられず、凝集体を形成することなく単分子として分散した状態で観察された。S1のような球状のタンパク質には内部に空隙があり<sup>11)</sup>、それが加圧によって潰され、分子全体としては疎水性アミノ酸残基が表面に露出して、疎水的相互作用により分子間での会合が起こるものと考えられる。ミオシンの加圧による凝集体では尾部が外側に放射状に配置しているために、それが凝集体形成へのモノマーの付加を妨害して、ある程度の大きさ (モノマー数十個程度)

で凝集体形成が終わってしまう<sup>12)</sup>が、S1ではミオシンとは違って尾部がないために雪だるま式にS1が凝集体形成を引き起こし、極めて大きな凝集体が形成される。

一方、rodやrodの末端側2/3程度の長さのLMM (light meromyosin) では、加圧後のこれら個々のサブフラグメントを電子顕微鏡で観察しても顕著な変化は認められない。ミオシンフィラメントの軸では個々のミオシン分子が43nmずつずれて配列しており、rodのフィラメントやLMMのパラクリスタルではこのようなずれを反映した周期構造が観察される。しかし、加圧したrodの塩濃度を下げてフィラメントを形成させた場合には規則的な周期構造は観察されなくなり、また、加圧処理したrodのフィラメントは無加圧のものに比べて長くなる傾向があった (図4)。このような結果から、個々のrodでは電子顕微鏡レベルでの形態の変化は検出できないものの、自己集合能は保持され、微小な構造変化によるrodの表面荷電の変化が起こってrod間でのside-by-sideの会合に影響を及ぼしているのではないかと推測される。

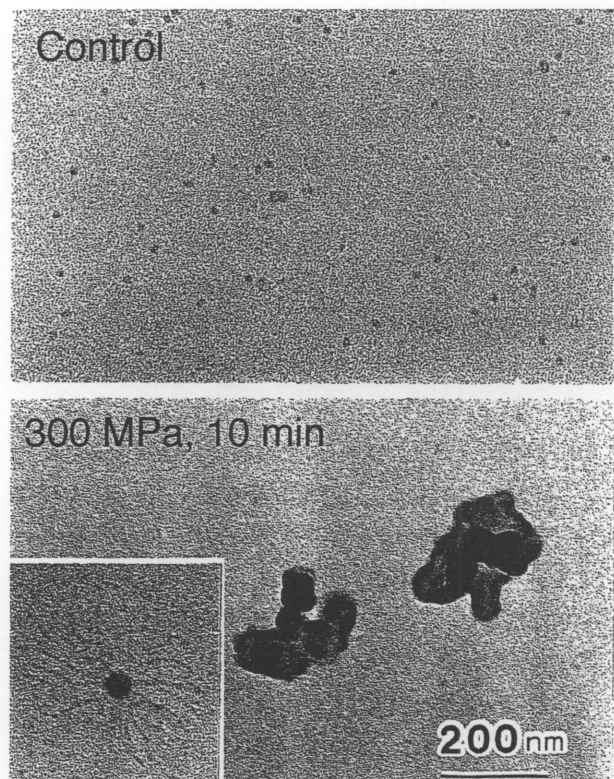


図3. S1の加圧凝集体

S1を0.5 M KCl、10mM phosphate (pH 7.0) に溶解させて所定の圧力で10分間保持した後、ロータリーシャドウイングし検鏡した。左下部は同倍率での加圧ミオシン凝集体。

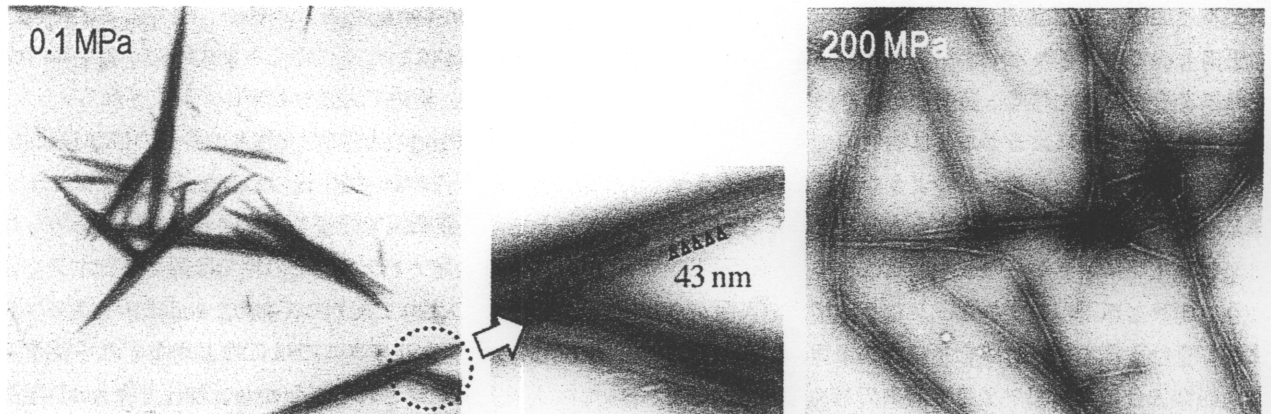


図4. Rodフィラメントのネガティブ染色像  
Rodを0.5 M KCl、10mM phosphate (pH 6.0) に溶解させて加圧した後、0.1 M KClに対して透析し、形成されたフィラメントを2%酢酸ウランでネガティブ染色した。

## 4. $\alpha$ アクチニンの変化

筋原線維のZ線は個々の筋節の仕切りとなっている構造であり、屠畜後の筋肉ではZ線の脆弱化が生じる。これによって筋肉組織が咀嚼という物理的な力に対して抵抗力が減少し、食肉の柔らかさを感じさせることになる。

Z線はタンパク質や脂質から構成される複雑な構造であるが、主要タンパク質は $\alpha$ アクチニンである。筋肉の加圧処理によってZ線の構造が変化することが知られている<sup>13)</sup>が、著者らが免疫電子顕微鏡法で観察したところ、加圧によって筋原線維のZ線への抗 $\alpha$ アクチニン抗体の結合が低下することが確かめられた<sup>14)</sup>。単離した $\alpha$ アクチニンはモノマー同士が逆向きに配列したホモダイマーとして存在し、全体として垂鈴状の形状を呈しており<sup>15)</sup>、棒状部分はトリプルヘリックスからなり<sup>16)</sup>、一方、ホモダイマー両端のEFハンドモチーフの領域は $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ シートとが混在している<sup>17)</sup>。加圧後の $\alpha$ アクチニンダイマーの大部分はダイマーのままの状態にあったが、一部は垂鈴の両端の膨らみの部分で会合体を形成した(図5)。会合体は、4量体、6量体、あるいは8量体であり、これ以上の大きな会合体の形成は認められなかった。 $\alpha$ アクチニンの加圧によって、濁度の上昇や表面疎水性の増加、さらにはアクトミオシンATPase活性への活性化効果の減少などの生化学的変化も生じた。このような $\alpha$ アクチニンに起こる変化は、形成される凝集体の形態は異なるものの、ミオシンの加圧時の変化と類似しており、タンパク質が $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ シートを含む球状で内部に空隙があるような構造の場合は、加圧によって空隙が潰されて表面に疎水性残基が露出し、疎水性相

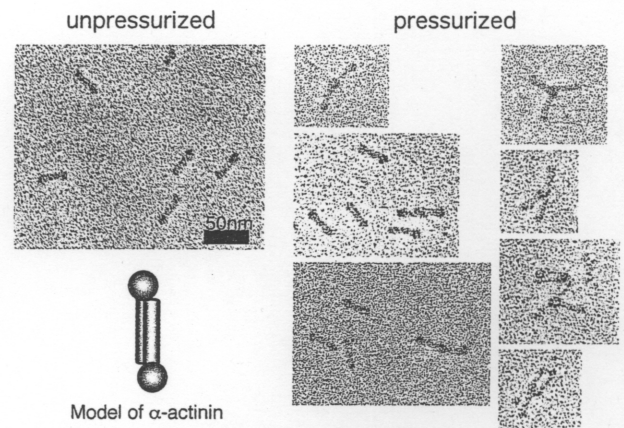


図5. 加圧による $\alpha$ アクチニン分子の形態変化  
 $\alpha$ アクチニンを0.2 M NaCl、20 mM Bis-Tris (pH 6.0) に溶解させて300 MPaで10分間加圧し、白金によるロータリーシャドウイングを行った。

相互作用による会合が生じることが考えられる。加圧による筋原線維Z線からの $\alpha$ アクチニンの解離は、 $\alpha$ アクチニンの主として球状構造部分の変化によるZ線内での規則的配列の乱れが原因となっているのであろう。このような加圧によるZ線の構造変化が肉の物性の変化の原因の一つとなっていることが推察される。

## 5. おわりに

本稿では著者らが扱っている筋肉タンパク質の加圧による変化について紹介したが、食品タンパク質の加圧によって、加熱で形成されるゲルとは異なる特性をもつこれまでにない新奇なゲルを作り出すことが可能である。また、ゲルのように均一な組織構造をもつものばかりでなく、食肉のように複雑な組織をもつ食品にも加圧によ

る特性の改変が期待できる。加圧処理では、特にヘリックスを主体とする繊維状の構造が加熱とは違って、構造変化を起こしづらいために変性の程度が小さく、このことが従来とは異なった特性をもつタンパク質性食品の開発の可能性を与えることになる。食品科学の観点からのタンパク質の圧力変性については、まだ十分な研究がなされているとは言えず、これからの進展が期待される。

## 引用文献

- 1) B. H. Hite, The effect of pressure in the preservation of milk, *West Virginia University Agricultural Experiment Station Bulletin*, **58**, 1-35(1899).
- 2) B. H. Hite, N. J. Giddings and C. E. Weakley, Jr., The effect of pressure on certain microorganisms encountered in the preservation of fruits and vegetables, *West Virginia University Agricultural Experiment Station Bulletin*, **146**, 1-67(1914).
- 3) P. W. Bridgman, The coagulation of albumen by pressure, *J. Biol. Chem.*, **19**, 511-512(1914).
- 4) J. J. Macfarlane, High pressure technology and meat quality, "Development in meat science - 3", R. Lawrie ed., Elsevier, London, 1985, pp. 155-184.
- 5) 岡崎尚, 高圧を利用した水産食品の加工技術, 日本食品科学工学会第53回大会講演集, p. 27(2006).
- 6) K. Yamamoto, Electron microscopy of thermal aggregation of myosin, *J. Biochem.*, **108**, 896-898(1990).
- 7) A-M. Hermansson, O. Harbitz and M. Langton, Formation of two types of gels from bovine myosin, *J. Sci. Food Agric.*, **37**, 69-84(1986).
- 8) K. Yamamoto, T. Miura and T. Yasui, *Food Structure*, **9**, 269-277(1990).
- 9) T. Iwasaki, M. Washio, K. Yamamoto and K. Nakamura, Rheological and morphological comparison of thermal and hydrostatic pressure-induced filamentous myosin gels, *J. Food Sci.*, **70**, E432-E436(2005).
- 10) T. Iwasaki, M. Washio and K. Yamamoto, Atomic force microscopy of thermally treated myosin filaments, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4589-4592(2005).
- 11) I. Rayment, W. R. Rypniewski, K. Schmidbase, R. Smith, D. R. Tomchick, M. M. Benning, D. A. Winkelmann, G. Wesenberg and H. M. Holden, *Science*, **261**, 50-58(1993).
- 12) K. Yamamoto, S. Hayashi and T. Yasui, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 383-389(1993).
- 13) A. Suzuki, M. Watanabe, K. Iwamura, Y. Ikeuchi and M. Saito, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 3085-3091(1990).
- 14) T. Iwasaki, K. Noshiroya, N. Saitoh, K. Okano and K. Yamamoto, Studies of the effect of hydrostatic pressure pretreatment on thermal gelation of chicken myofibrils and pork meat patty, *Food Chem.*, **95**, 474-483(2006).
- 15) I. Papa, C. Astier, O. Kwiatek, F. Raynaud, C. Bonnal, M.C. Lebart, C. Roustan and Y. Benyamin, *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **20**, 187-197(1999).
- 16) J. Ylanne, K. Scheffzek, P. Young and M. Saraste, *Structure*, **9**, 597-604(2001).
- 17) R. A. Atkinson, C. Joseph, G. Kelly, F. W. Muskett, T. A. Frenkiel, D. Nietlispach and A. Pastore, *Nature Str. Biol.*, **8**, 853-857(2001).

## PROFILE

### 山本 克博

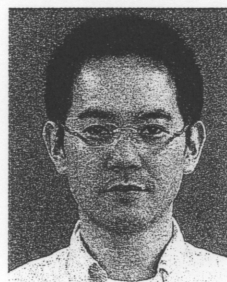
酪農学園大学酪農学部食品科学科  
教授  
農学博士



1973年北海道大学農学研究科修士課程修了、同年酪農学園大学に勤務、1979~81年ニューヨーク州立大学Stony Brook校研究員、1981年酪農学園大学に復職、現在に至る。

### 岩崎 智仁

酪農学園大学酪農学部食品科学科  
講師  
農学修士



1998年酪農学園大学酪農学研究科修士課程修了、同年同大学に勤務、現在に至る。