

異種筋肉タンパク質の複合による新規食品素材の開発とその応用： 鶏肉と魚肉アクトミオシン混合溶液の加熱ゲル化特性に 及ぼす鶏卵白の影響

岩崎 智 仁¹⁾・角 間 育 弘¹⁾・鈴木 克 洋¹⁾・奥 村 円 香¹⁾
櫻 井 敬 太¹⁾・船 津 保 浩¹⁾・金 田 勇¹⁾・石 下 真 人¹⁾
山 本 克 博¹⁾・加 藤 登²⁾・北 上 誠 一³⁾・新 井 健 一³⁾

Development of novel food stuff from muscle proteins of different species and its application:
Effect of egg white protein on thermal gelation of mixture of chicken and fish actomyosins

Tomohito IWASAKI¹⁾, Ikuhiro KADOMA¹⁾, Katsuhiro SUZUKI¹⁾, Madoka OKUMURA¹⁾
Keita SAKURAI¹⁾, Yasuhiro FUNATSU¹⁾, Isamu KANEDA¹⁾, Makoto ISHIOROSHI¹⁾
Katsuhiro YAMAMOTO¹⁾, Noboru KATO²⁾, Seiichi KITAKAMI³⁾ and Kenichi ARAI³⁾
(Accepted 8 January 2010)

緒 論

採卵廃鶏はブロイラーに比べて肉質が劣り、さらに独特の臭みがある。そのために国内において有効利用の方法が少なく、一部がスープ具材などに利用されるのみで、多くは産業廃棄物として処理され、農林水産省の平成20年食鳥流通統計調査結果の報告によると、その量は平成20年度でおおよそ16万3千tにのぼる。一方、水産練り製品に利用されている魚は、鮮魚としては商業的価値が低いものが多く、漁獲された後に、水さらしを行いすり身として流通している。その中でもスケトウダラ (*Theragra chalcogramma*) は魚特有の「坐り」が生じやすく、良好なゲル物性を示すため良く利用されている。魚肉は、水さらし行程を経ることで、魚独特の臭みが低減し、さらに糖類のような冷凍変性防止剤を添加することで長期にわたり保存可能となる。しかし、近年、スケトウダラの漁獲量は年々低下傾向にあり、代替魚種の選定が求められている。ホッケ (*Pleurogrammus azonus*) は北海道において年間を通して比較的漁獲

量が多く、安定供給が可能な数少ない魚種の1つである。しかしながら、ホッケはスケトウダラと異なり坐りにくい魚種であるため^{1,2)}、ゲル形成能の改良が必要とされている。

これまでに、異なる魚種のすり身を混合することで、加熱後のゲルの物性が改善される研究例がある。先行の研究では、坐りにくい魚に坐りやすい魚を混合することで、ゲル物性の改善につながることから、坐りづらい魚種の有効利用を模索している^{3,4)}。しかし、魚とニワトリという異種間の筋肉タンパク質の混和による加熱ゲルの物性改善に関する研究例はほとんどない。そこで本研究では、変性温度域の異なる動物種 (ニワトリと寒帯魚) のアクトミオシンを混合し、ゲル構造形成に至る過程を制御することで加熱ゲル物性の改善が可能なかを検討した。これまでに、哺乳動物のウサギのミオシン頭部の変性温度域はATPase活性の失活から40℃付近であり⁵⁾、尾部の構造変化は55℃付近であると報じられていることから⁶⁾、ニワトリの骨格筋ミオシンも類似温度で各フラグメントが変性すると考えられる。魚類の筋

¹⁾ 酪農学園大学酪農学部食品科学科
Department of Food Science, Faculty of Dairy Science, Rakuno Gakuen University
北海道江別市文京台緑町 582
582, Bunkyo-daimidori-machi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²⁾ 東海大学海洋学部水産学科
Department of Fisheries, School of Marine Science and Technology, Tokai University
静岡県静岡市清水区折戸 3-20-1
3-20-1, Orito, Shimizu-ku, Shizuoka-shi, Shizuoka 424-8610, Japan

³⁾ 社団法人全国すり身協会
National Surimi Manufacturers Association
北海道網走市北7条東1丁目3-1
3-1, Kita 7, Higashi 1, Abashiri, Hokkaido 093-0057, Japan

肉タンパク質の変性温度域は、生息温度に依存していると報じられており、寒帯魚であれば変性温度域が低い⁷⁾。一方、卵白タンパク質では、65~75°Cが立体構造の相転移温度であると報告されている⁸⁾。本研究では、これらのタンパク質を混合して、得られる加熱ゲルの物性を調査することで、新規なゲル化食品製造のための基礎的データの取得を目的に実験を行った。

実験材料ならびに方法

1. 魚肉アクトミオシンの調製

市販のホッケ、静岡より空輸されたシログチ (*Pennahia argentatus*)、小樽および稚内で漁獲されたウロコメガレイ (*Acanthopsetta nadeshnyi*) ならびにイカナゴ (*Ammodytes perspnatus*) から採肉して挽肉にした後に、肉重量の4倍量の冷リン酸緩衝液 (3.38 mM NaH_2PO_4 , 15.5 mM Na_2HPO_4 , pH7.5) を加えてガラス棒で攪拌し、遠心分離後の沈殿部を回収した。この洗浄操作を3回繰り返した後に、挽肉重量の3倍量の0.45 M KCl , 3.38 mM KH_2PO_4 , 15.5 mM Na_2HPO_4 , pH7.5 を加えて、さらに pH を 7.5 に調整し、4°C の冷室で 24 時間放置した。その際、4, 12 時間後に再度 pH を調整した。遠心分離後の上清部をカーゼを通してメスシリンダーに回収し、10 倍量の冷水を加えて攪拌した後に 30 分以上静置した。サイフォンを利用して上清部を捨て、遠心分離後の沈殿部を回収した。回収後の沈殿部重量を測定後、4 M NaCl を加えて終濃度が 0.5 M となるように塩濃度を調整した後に、0.3 M NaCl に対して透析し、各魚種のアクトミオシン溶液とした。

2. ニワトリアクトミオシンの調製

と殺直後の廃鶏から胸筋を採肉し挽肉にした後に、肉重量の3倍量のWeber-Edsall溶液 (0.6 M NaCl , 0.04 M NaHCO_3 , 0.01 M Na_2CO_3) を加えてガラス棒で攪拌し、4°C で 24 時間放置した。その後、肉重量の3倍量の0.6 M NaCl を加えて遠心分離した。カーゼを通して上清部を回収し、3倍量の冷水を加えて攪拌した後に遠心分離して沈殿部を回収した。沈殿部重量と等重量の1.05 M NaCl を加えて塊がなくなるまでスターラーで攪拌して遠心分離後の上清部を回収した。この操作を再度行い、得られた上清部を0.3 M NaCl , 10 mM K phosphate , pH 7.0 に対して透析してニワトリアクトミオシンとした。

3. タンパク質濃度の測定

いずれのアクトミオシン溶液のタンパク質濃度もビウレット法により測定した。すなわち、タンパク質溶液 1.0 ml にビウレット試薬 4.0 ml を加えて攪拌し、室温で 30 分間放置した後に、光路長 10 mm セルを用いて波長 550 nm での吸光度 (A_{550}) を測定し、吸光係数 0.069 を用いてタンパク質濃度を算出した。

4. ニワトリと魚のアクトミオシン混合試料の調製

それぞれのアクトミオシンを 0.3 M NaCl , 10 mM K phosphate , pH 7.0 にタンパク質濃度が 8.5 mg/ml となるように溶解させ、混合時の重量がいずれも等量となるように調製した。これに乾燥卵白 (キューピー社製, K-Type) を 0.2 および 0.5% (w/w) 添加した。

5. アクトミオシン溶液の粘弾性測定

各濃度に調整したアクトミオシン溶液の加熱処理に伴う貯蔵弾性率は、キャリオレオメータ (CSL100, TA Instruments) を用いて、測定開始温度を 10°C、終了温度を 80°C とし、2°C/min の昇温で測定した。

6. 加熱ゲルの粘度測定

タンパク質濃度 8.5 mg/ml のニワトリ、ホッケおよびシログチアクトミオシン混合溶液をサンプル管に 10 ml 入れ、90°C で 10 分間、40°C で 300 分間の加熱処理後に 90°C で 10 分間、50°C で 180 分間加熱後に 90°C で 10 分間処理した3種の試料を用いた。それぞれの試料を冷却後にデジタル粘度計 (ブルックフィールド社, DV-E 型) を用いて粘度を測定した。回転速度は 1000 rpm、治具は No. 63 を使用した。

7. SDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) によるタンパク質組成の分析

アクトミオシンの混合溶液 (2 mg/ml) を加熱処理した後に冷却し、その 200 μl を常法⁹⁾ を用いて電気泳動試料とした。この試料を 5% アクリルアミドゲルのスロットに 5 μl 添加し、50 V の定電圧で 1.5-2 時間通電した。泳動後のゲルは、常法⁹⁾ にて染色と脱色を行った。

8. 走査型電子顕微鏡 (SEM) によるゲル構造の観察

タンパク質濃度が 8.5 mg/ml の混合アクトミオ

シン溶液を加熱し、ゲルを形成させた後に、ゲルを壊さないように2.5%グルタルアルデヒド溶液に浸漬し、前固定を2-3時間行った。その後、2-3mm角に成形して再び2.5%グルタルアルデヒド溶液に浸漬して一晚固定処理を行った。蒸留水で10分間の洗浄を3回行った後に、50, 70, 90, 95, 100%エタノールで各々30分間の脱水操作を行った。脱水終了後、100%エタノールを満たしたゼラチンカプセル内に試料を入れ、気泡が入らないように密封し、液体窒素内に投入して凍結させた後に、切断した。切断後の試料をt-ブチルアルコールと100%エタノールの等量混合液にて浸漬して30分間振盪した。その後、100%t-ブチルアルコールに置換して、30分間の振盪を2回行った。次いで、試料が浸る程度のt-ブチルアルコールを入れ、-40℃で凍結させた。この試料を凍結乾燥機(日立, ES-2030)にて凍結乾燥させ、Pt-Pb蒸着処理した。得られた試料を走査型電子顕微鏡(日立, S-2460)により、加速電圧10kVで観察した。

9. 表面疎水性の測定

アクトミオシン混合溶液のタンパク質濃度を0.5mg/mlとし、90℃で10分間、40℃二段階加熱、50℃二段階加熱して冷却した。このアクトミオシン溶液を2.0ml取り、3.2mM ANS (8-anilino-1-naphthalenesulfonate) 20μlを加えて混合し、室温で10分間放置した後に、蛍光分光光度計(日立, F-2000)で励起波長380nm, 蛍光波長475nm, 光電子増倍管400で蛍光強度を測定し、この値を表面疎水性とした¹⁰⁾。

結 果

1. 加熱処理による各種アクトミオシン溶液の貯蔵弾性率の変化

イカナゴやウロコメガレイは、漁獲量がきわめて少なく個体の継続的な確保が難しい上に、アクトミオシンの安定性が低いために低温で保存しても、実験に供試可能な期間が短い。本研究においても、供試魚の安定確保が必ずしも十分ではなかったが、各アクトミオシン溶液の加熱に伴う貯蔵弾性率の変化を測定してFig. 1に示した。このとき、各試料のタンパク質濃度を一定とすることができなかったため、10℃での貯蔵弾性率(G'10)で各温度でのG'を除した相対値(G'/G'10)を求めて、これを比較した。その結果、ホッケ、イカナゴ、シログチアクトミオシンの貯蔵弾性率は35℃付近でピークを示し、シログチのアクトミオシンだけが、40℃以上の温度で著

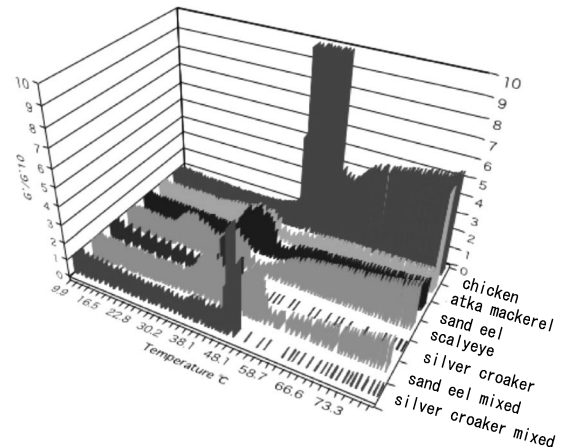


Fig. 1 Relative storage modulus (G'/G' 10) of several actomyosin solutions. Actomyosin in 0.3 M NaCl and 10 mM K phosphate (pH 7.0) was heated with a heating rate at 2°C/min. G'; storage modulus, G'10; storage modulus at 10°C. Protein concentration was 10-14 mg/ml. atka mackerel (*Pleurogrmmus azonus*), sand eel (*Ammodytes perspnatus*), scalyeye plaice (*Acanthopsetta nadeshnyi*), silver croaker (*Pennahia argentatus*)

しく弾性率の低下がみられた。ウロコメガレイのアクトミオシンは25と35℃に2つのピークを持つ貯蔵弾性率のプロファイルを示した。ニワトリのアクトミオシンの貯蔵弾性率は50℃付近に最大のピークを示し、その強度も魚類のアクトミオシンの場合と比較して、著しく高かった。イカナゴ、シログチのアクトミオシンに関しては、ホッケとニワトリのアクトミオシンと混合して貯蔵弾性率の測定に供することが可能であったため、Fig. 1に示した。重量比(w/w)で等量混合した2種類の混合アクトミオシンの弾性率プロファイルは、魚アクトミオシンの35℃とニワトリアクトミオシンの55℃の両方にピークがみられた。

2. ニワトリ、ホッケ、シログチアクトミオシンの加熱による粘度変化

アクトミオシンは凝集しやすいが非常にゲル化しにくい。このため貯蔵弾性率の測定は金属製ブレードにタンパク質が結合しないなどの様々な問題があり、測定結果に疑問が生じる。そこで本実験では、アクトミオシンの凝集性に着目して、加熱処理したアクトミオシン溶液の粘度測定を行った。加熱処理方法は、坐りを伴うかまばこの製造を模した二段階の加熱法として、40℃で300分間処理した後に90℃で10分間、50℃で180分間処理した後に90℃で10

分間の処理, さらに直蒸しと同様の 90℃で 10 分間の加熱処理を用いた。なお, 前処理の加熱温度である 40, 50℃は, それぞれニワトリアクトミオシン中のミオシン頭部と尾部の立体構造の相転移温度にほぼ相当する。

ニワトリ・ホッケ混合アクトミオシンとニワトリ・ホッケ・グチ混合アクトミオシンのいずれにおいても, 卵白添加の有無に関わらず 90℃で 10 分間加熱しても粘性が低いままであった。一方で, 40, 50℃の二段階加熱試料では粘度の増加があり, 特に 50℃での二段階加熱試料では卵白濃度に依存して値が高くなった (Fig. 2)。

各々のアクトミオシンに卵白を添加した場合の粘性の測定結果を Fig. 3 に示す。ニワトリアクトミオシンは 50℃での二段階加熱の時に, 卵白濃度に依存して粘性が高くなった。一方, ホッケやグチアクトミオシンでは, 値は低いものの 40℃の二段階加熱試料で高い値を示した。いずれのアクトミオシンでも 90℃での加熱だけでは, 粘性の増加は認められなかった。ホッケとグチアクトミオシンの粘度が 50℃で低下した理由は, 魚肉タンパク質の著しい変性が生じたためと推察される。魚のすり身ゲルでは, 50–70℃でそのゲル構造が劣化すると考えられている。この現象は, 魚種によってその程度が異なり, 耐熱性のプロテアーゼによるミオシン分子の分解が原因^{11,12)}であるとか, 加熱によるミオシンの変性に伴う熱凝固説¹³⁾が有力視されている。本研究ではアクトミオシンを用いているが, 原因については不明である。なお, Fig. 2 の結果は加熱ゲルを目視で観察した結果とよく一致しており, 粘性が高い試料はゲルを形成した (結果は図示せず)。

以上の結果から, アクトミオシンの混合溶液は二段階の加熱を行うことで物性の改善につながる可能性が示唆された。

3. ゲル構造の観察

ニワトリと魚のアクトミオシン混合溶液の粘性は, 卵白を添加することで増加することから, 各アクトミオシンと卵白が凝集して, ゲル構造を補強していると推察されたため, 得られた加熱ゲルの構造を SEM で観察して, Fig. 4 と 5 に示した。ニワトリとホッケの混合アクトミオシンの二段階加熱ゲルの構造において, 初期の加熱温度の違いは不明瞭であり, 二段階の加熱処理では卵白添加濃度に依存してゲルを構成する網目構造が密になる傾向にあった。ニワトリ・ホッケ・グチの混合アクトミオシンでは, 40℃と 50℃で卵白を 0.2%添加すると細かな三次元

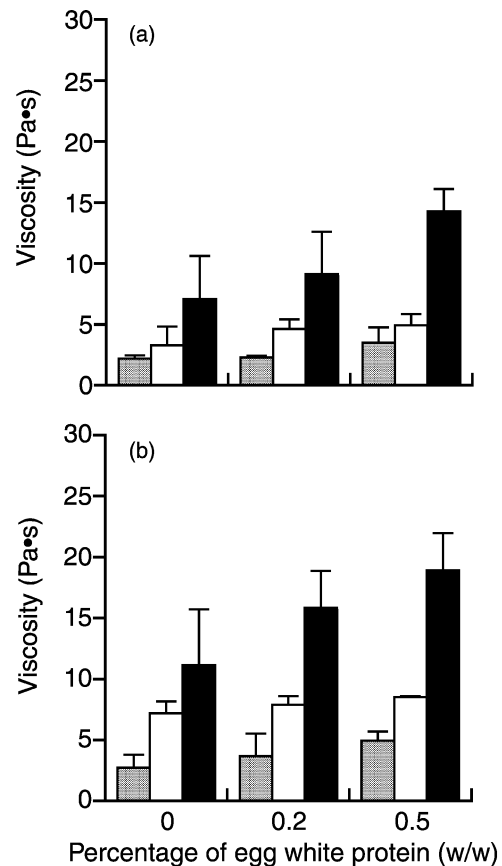


Fig. 2 Effect of high temperature incubation on viscosity of mixed actomyosin solution. Mixed actomyosin solution having chicken, atka mackerel and silver croaker actomyosin at 2.83 mg/ml each (a), and chicken and atka mackerel actomyosin at 4.25 mg/ml each (b) was suspended in 0.3 M NaCl and 10 mM K phosphate (pH 7.0). ■; heated at 90°C for 10 min. □; preheated at 40°C for 300 min, followed by heated at 90°C for 10 min. ▨; preheated at 50°C for 180 min, followed by heated at 90°C for 10 min. Results represented the mean \pm SD of 4-5 separate experiments. SD = standard deviation.

網目構造がみられたが, 0.5%の添加では, 網目を構成する繊維に粒子が多数付着した様子が観察された。また, このとき, 40℃よりも 50℃で処理した方が密な構造であった。

4. タンパク質凝集に関わる種々の結合様式について

タンパク質のゲル化現象は, 変性に伴って生じる個々のタンパク質間に形成される種々の結合によって起こる。従って, 形成される結合様式やその数量はゲルの物性を考慮する上で重要な情報である。そ

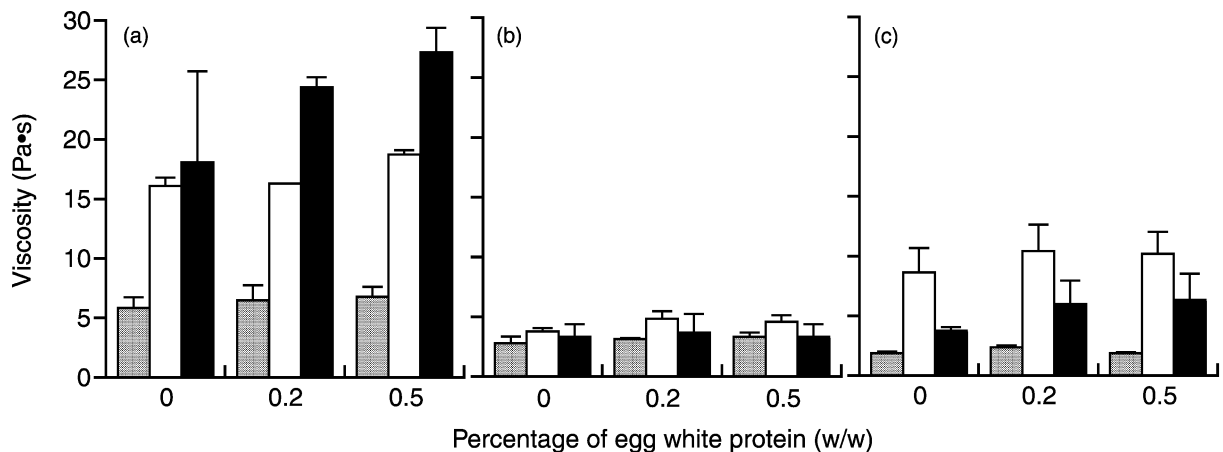


Fig. 3 Effect of high temperature incubation on viscosity of actomyosin solution. Actomyosin was suspended in 0.3 M NaCl and 10 mM K phosphate (pH 7.0) at 8.5 mg/ml. (a); chicken, (b); atka mackerel, (c); silver croaker actomyosin. ■; heated at 90°C for 10 min. □; preheated at 40°C for 300 min, followed by heated at 90°C for 10 min. ■; preheated at 50°C for 180 min, followed by heated at 90°C for 10 min. Results represented the mean \pm SD of 4-5 separate experiments. SD = standard deviation.

ここで、タンパク質の凝集体形成に関わるSS結合の有無について β -メルカプトエタノールを用いた還元処理および非還元処理の試料をSDS-PAGEに供し、Fig. 6と7に示した。ニワトリ・ホッケ混合アクトミオシン (Fig. 6)、およびニワトリ・ホッケ・グチ混合アクトミオシン (Fig. 7) のいずれにおいても、還元処理後の試料では、ミオシン重鎖バンドよりも鎖量の大きいバンドは検出されなかったのに対して、非還元処理試料ではミオシン重鎖よりも鎖量の大きい成分が検出され、加熱に伴うSS結合の形成が示唆された。

タンパク質の加熱変性に伴って生じるタンパク質間の重要な相互作用に疎水性相互作用がある。未変性のタンパク質表面は水溶液中では親水性のアミノ酸残基に覆われているが、変性に伴い徐々に疎水性アミノ酸残基が増加する。このためにタンパク質間で凝集が生じやすくなるとされている。本研究においても、加熱処理に伴う各アクトミオシンと混合アクトミオシン溶液の表面疎水性の変化を調べた。ニワトリ・ホッケ・グチ混合アクトミオシン溶液の表面疎水性は、40°Cの二段階加熱で高い値を示し、さらに卵白添加によっても値が高くなった。ニワトリ・ホッケアクトミオシンでは、加熱処理方法による違いはほとんどなく、卵白添加の影響が大きかった (Fig. 8)。

また、各々のアクトミオシンに卵白を添加して加熱処理した場合の表面疎水性の変化も調べたところ、いずれの試料においても40°Cでの二段階加熱時に疎水性が増加した (Fig. 9)。この表面疎水性の変

化は各試料の粘性の変化と一致しておらず、疎水性相互作用の混合アクトミオシゲルの粘性増大に及ぼす影響は少ないものと考えられた。

考 察

練り製品に利用されているホッケ (ローソクホッケ) は原料価が低く、付加価値向上が求められている魚種である。また、ウロコメガレイは、水分含量が高く独特な臭気を持つために、加工品として利用されづらい。このように付加価値が低い魚種にゲル化特性の高いニワトリやシログチを混合して、新規の食材を開発するための基礎的実験として本研究を行った。ただし、本研究ではウロコメガレイやイカナゴの漁獲量が少なかったために、漁獲量の多いホッケに注目し、さらに乾燥卵白の影響についても調査を行った。

これまでに坐りにくい魚種と坐りやすい魚種を混合して、得られるゲルの物性を改善する試みが行われていたが¹⁴⁾、いずれも魚肉タンパク質だけの混合では良好な結果は得られていない。しかし、魚以外のタンパク質である牛プラズマ粉末を添加することで、高いゲル物性を示すと報告されており¹⁵⁾、異種タンパク質の添加がゲルの物性改善に有効である可能性が示唆されている。

本研究で主に使用したニワトリ、ホッケならびにシログチは、それぞれ生息温度域が大きく異なる。生息温度域の違いは、筋原線維タンパク質の変性温度に影響することが明らかになっており¹⁶⁾、それぞれのアクトミオシンが各々の変性温度域で順次変性

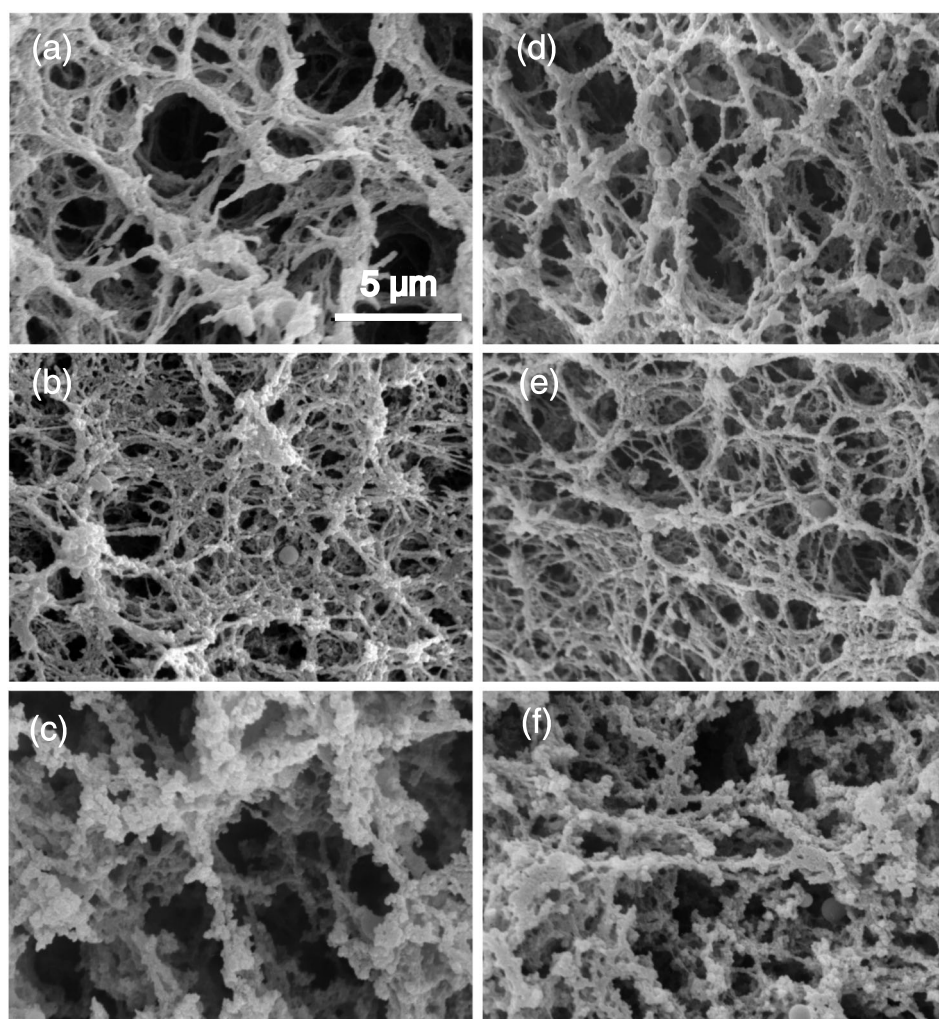


Fig. 4 Scanning electron micrographs of heat-induced mixed (chicken and atka mackerel) actomyosin gels. Actomyosin solutions were heated at 40°C for 300 min, then 90°C for 10 min (a-c), 50°C for 180 min, then 90°C for 10 min (d-f). (a, d); without egg white protein, (b, e); with 0.2% (w/w), (c, f); with 0.5% (w/w). Actomyosin conditions were the same as those in Fig. 2.

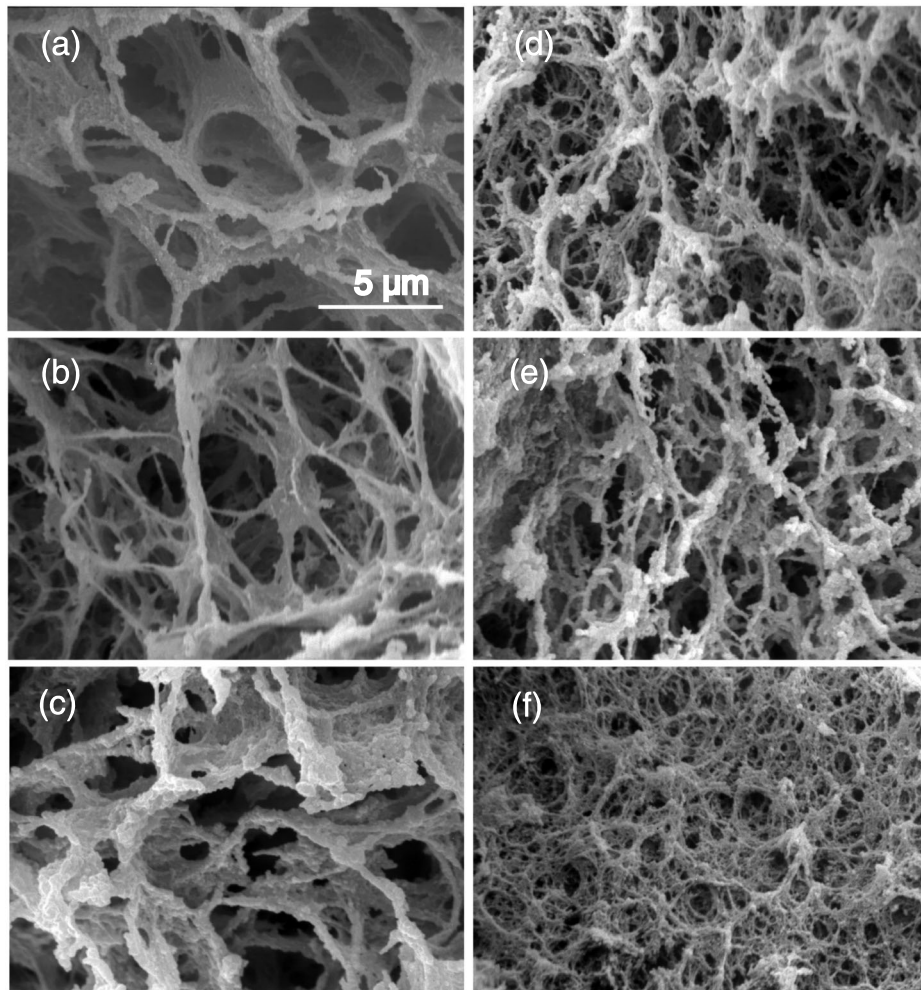


Fig. 5 Scanning electron micrographs of heat-induced mixed (chicken, atka mackerel and silver croaker) actomyosin gels. Actomyosin solutions were heated at 40°C for 300 min, then 90°C for 10 min (a-c), 50°C for 180 min, then 90°C for 10 min (d-f). (a, d); without egg white protein, (b, e); with 0.2% (w/w), (c, f); with 0.5% (w/w). Actomyosin conditions were the same as those in Fig. 2.

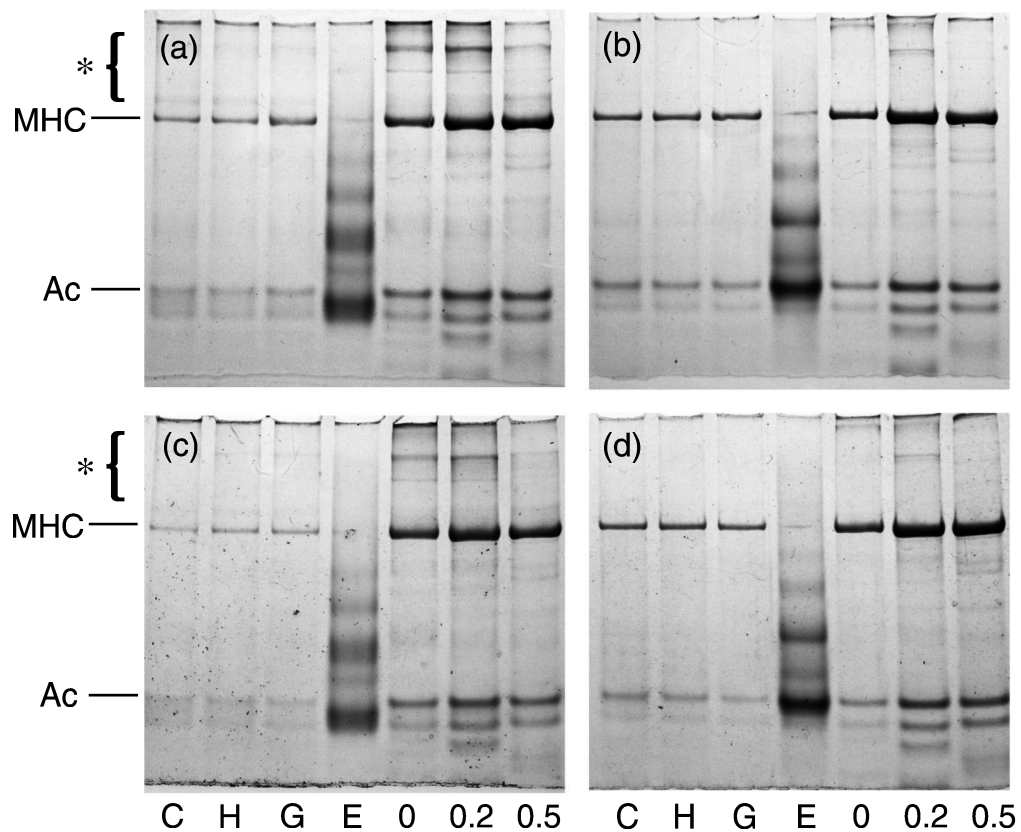


Fig. 6 Changes in SDS-PAGE pattern of protein components in mixed actomyosin solution after heating. Mixed actomyosin from chicken (0.25 mg/ml) and atka mackerel actomyosin (0.25 mg/ml) was heated at 40°C for 300 min and then 90°C for 10 min (a, b), at 50°C for 180 min and then 90°C for 10 min (c, d). SDS-PAGE samples were prepared without (a, c) or with 2-mercaptoethanol (b, d). Each 10 μ l of sample solution was applied at 5% polyacrylamide gel for SDS-PAGE. C; Chicken actomyosin, H; atka mackerel, G; silver croaker, E; Egg white protein. C-E; unheated protein samples. MHC and Ac show myosin heavy chain and actin, respectively. 0, 0.2, 0.5 indicates containing percentage of egg white protein (w/w) in mixed actomyosin solution. An asterisk indicates a protein aggregates.

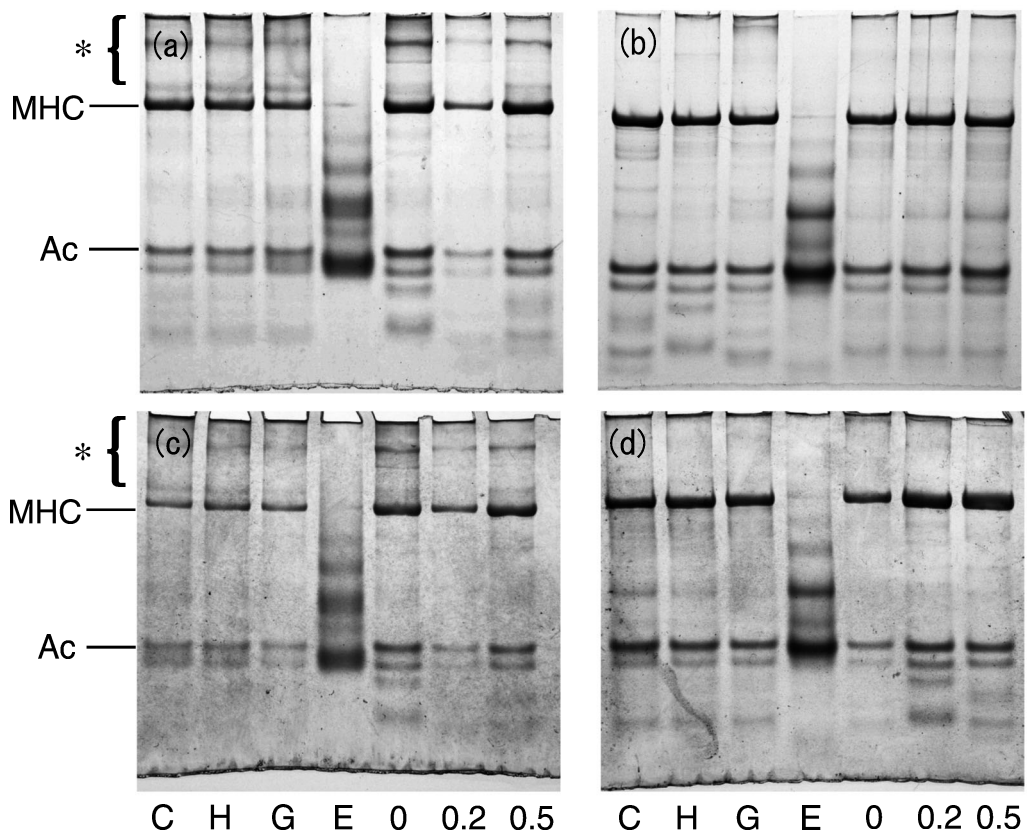


Fig. 7 Changes in SDS-PAGE pattern of protein components in mixed actomyosin solution after heating. Mixed actomyosin from chicken, atka mackerel and silver croaker actomyosin (0.17 mg/ml each) was heated at 40°C for 300 min and then 90°C for 10 min (a, b), at 50°C for 180 min and then 90°C for 10 min (c, d). SDS-PAGE samples were prepared without (a, c) or with 2-mercaptoethanol (b, d). Each 10 μ l of sample solution was applied at 5% polyacrylamide gel for SDS-PAGE. Symbols were the same as those in Fig. 6.

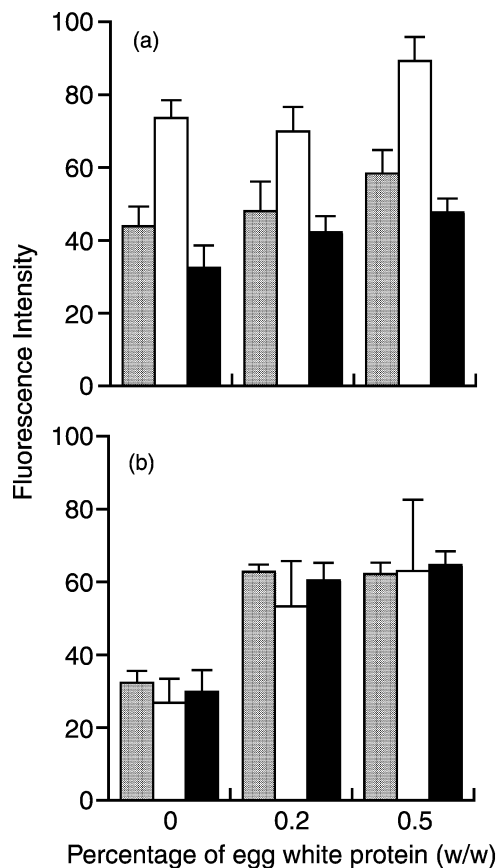


Fig. 8 Changes in hydrophobicity of mixed actomyosin with egg white protein after heating. Mixed actomyosin solutions having each actomyosin at 0.17 mg/ml (a) and 0.25 mg/ml (b) were suspended in 0.3 M NaCl and 10 mM K phosphate (pH 7.0). (a); Mixed actomyosin from chicken, atka mackerel and silver croaker (b); from chicken and atka mackerel. ■; heated at 90°C for 10 min. □; heated at 40°C for 300 min and then 90°C for 10 min. ●; heated at 50°C for 180 min and then 90°C for 10 min. Results represented the mean \pm SD of 3 separate experiments. SD = standard deviation.

していくことで規則正しい網目構造をもつゲルの形成を促進するのではないかとの推量があった。

加熱処理後のアクトミオシン混合溶液の粘性は増加するが、50°Cでの二段階加熱時に最も高い粘性を示した (Fig. 2a, b)。しかしながら、いずれの混合試料においても、単独での粘性に比べて低い値を示しており、特にシログチとホッケの両方を混合したゲルが最も低い粘性値を示した (Fig. 2b)。このことは、魚のアクトミオシンの含有量が高くなることで、物性が低下することを示唆している。したがって、坐りやすい魚種であるシログチや加熱ゲル物性の高

いニワトリアクトミオシンを添加しても、その効果が現れないことが明らかとなり、先行研究の報告¹⁴⁾と良く一致した結果となった。一方、乾燥卵白の添加により、粘性は増加する傾向にあったことから、卵白によるゲル構造の補強効果が発現したと考えられた。卵白添加後のゲル構造は、いずれの試料においても卵白濃度に依存して、ゲルを構成する繊維表面に粒子状の構造物を呈していた (Figs. 4, 5)。ニワトリ・ホッケ混合アクトミオシンの二段階加熱試料は、添加した卵白濃度が増加するに伴い、その内部構造は粗雑になった (Fig. 4)。ニワトリ・ホッケ・グチ混合アクトミオシンでは、いずれの加熱温度の二段階加熱においても、0.2%の卵白添加で密な網目構造を形成し、0.5%の添加では粗雑な構造を呈した (Fig. 5)。一般に、タンパク質ゲルの硬さは、ゲル構造と高い相関があるとされており、ゲル構造が密であるほど硬いゲルとされている¹⁷⁾。図には示していないが、ニワトリとホッケアクトミオシンの量比を変えた場合は、ニワトリアクトミオシン量が多くなると、そのゲル構造が密になり、貯蔵弾性率も増加する。したがって、アクトミオシンの加熱ゲルは、密な構造を呈しているゲルの方が硬いゲルであると解釈できる。しかし、卵白を添加することでアクトミオシンの構造は粗雑になるにも関わらず、高い粘性値を示す場合があり、ゲル構造とゲルの硬さの関係は必ずしも一致しない結果となった。我々はゲルを構成するタンパク質変性物の物性もゲルの物性に大きく影響することを報告¹⁸⁾しており、卵白が変性して、ゲル構造構成繊維に付着することで繊維自体が硬くなりゲルの粘性が増加した可能性が考えられた。

上記のように、タンパク質の変性に伴う凝集体形成とその物性、さらに、その後生じるゲル構造がゲルの物性に大きく影響するが、その形成には共有結合やいくつかの非共有結合が関わっている。これら結合の量的な違いがゲルの物性に影響し、かまばこではSS結合の量が多いと伸びの少ない硬いゲルになることが明らかになっている¹⁹⁾。本研究では、混合アクトミオシンのいずれにおいても、非還元試料でミオシン重鎖バンドよりも鎖量の大きなバンドが観察されていることから、SS結合が、ゲル形成に寄与していることは明らかである (Figs. 5, 6)。一方、主要な非共有結合の一つである疎水性相互作用の寄与については複雑である。一般に、変性に伴ってタンパク質表面の疎水性度が増加すれば、タンパク質間の疎水性相互作用が高まりタンパク質の凝集体が形成されて物性に寄与すると考えられるが、本

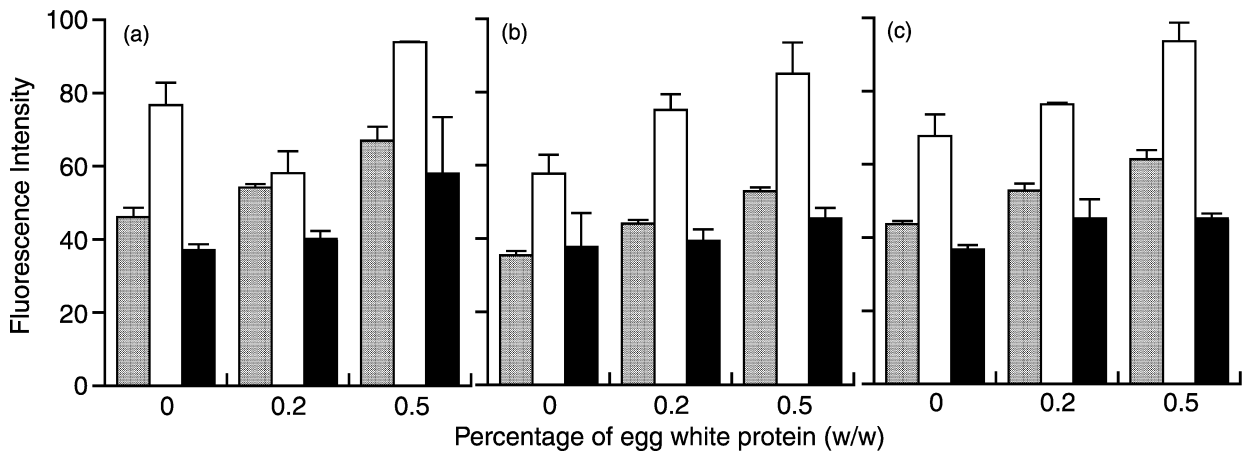


Fig. 9 Changes in hydrophobicity of actomyosin with egg white protein after heating. Actomyosin was suspended in 0.3 M NaCl and 10 mM K phosphate (pH 7.0) at 0.5 mg/ml. (a); chicken, (b); atka mackerel, (c); silver croaker. ■; heated at 90°C for 10 min. □; heated at 40°C for 300 min and then 90°C for 10 min. ■; heated at 50°C for 180 min and then 90°C for 10 min. Results represented the mean ± SD of 3 separate experiments. SD = standard deviation.

実験においては表面疎水性の増加とゲルの粘性変化が一致していなかった。ゲルの粘性は、40°Cの二段階加熱に比べて50°Cの二段階加熱時の方が、いずれの混合試料においても高い値を示したが (Fig. 2)、表面疎水性は40°Cの時に最も高い値を示すか、あるいは加熱温度による差異がなかった (Fig. 8)。また、加熱温度に関係なく添加した卵白濃度に依存して表面疎水性は増加する傾向にあった。したがって疎水性相互作用の寄与については、以下のように推察した。すなわち、個々のアクトミオシン自体は40°Cで加熱することでタンパク質分子表面の疎水性度が高くなり、分子間の相互作用が高まることでより細かい網目構造を持つゲルを形成する。しかし、個々の線維の強度が低いために、粘度も低い。一方、50°Cでは、表面疎水性のミオシン尾部の立体構造が変化してより強固な線維の形成に寄与する²⁰⁾ことで、アクトミオシゲルのネットワーク構造の強度が増加して粘性が高くなる。卵白に関しては、高温の90°Cの加熱処理で疎水性が増加して異種タンパク質間で相互作用すると考えられた。一方、Fig. 1に示したように混合アクトミオシン溶液の貯蔵弾性率プロファイルは、魚とニワトリアクトミオシンの貯蔵弾性率のピーク温度がそれぞれ検出されている。また、データは示していないが、一定濃度の個々のアクトミオシン溶液の表面疎水性の平均値と混合アクトミオシン溶液の表面疎水性の平均値がほぼ一致していた。これら一連の結果から、異種アクトミオシンを混合して加熱しても、単独のアクトミオシンの場合と同程度のタンパク質間相互作用は生じず、それぞれ同

一種のアクトミオシンと相互作用する割合が高いために、混合による相乗的なゲルの網目構造の形成が生じていないと考えられた。卵白は、相互作用する相手方のタンパク質を選ばず、一定の割合で異種タンパク質とも相互作用することから、卵白を添加することでニワトリと魚アクトミオシン混合溶液の加熱ゲル物性を改善できる可能性が考えられた。

謝 辞

本研究は2008年度酪農学園大学・酪農学園大学短期大学部共同研究の助成、および平成19年度財団法人旗影会研究助成を受けて実施されたものである。本研究を実施するにあたり、ご協力を頂いた北海道立中央水産試験場加工利用部加工開発科長 菅原玲氏、北海道立稚内水産試験場資源管理部長 前田圭司氏に深く謝意を表します。また、本研究で使用した乾燥卵白はキューピー(株)にご分与いただいたものであり、ここに深謝いたします。

参考文献

- 1) 岡田稔, 1999. かまぼこの科学. pp.264. 成山堂書. 東京.
- 2) 山澤正勝, 関伸夫, 福田裕, 2003. かまぼこ. pp.377. 恒星社厚生閣. 東京.
- 3) 鈴木潤, 藤井陽介, 北上誠一, 新井健一, 小関聡美, 加藤登. 2008. ホッケとスケトウダラおよび混合肉糊から調製した加熱ゲルの品質に対する乾燥卵白の添加効果. 東海大学紀要海洋学部「海——自然と文化」, 6(2):27-35.

- 4) 加藤登, 2005. 卵白構成成分中の魚肉タンパク質のゲル化を促進する引き金成分の探求とそのゲル化誘引物質を用いた坐りゲル化促進加工方法の開発及びゲル化機構解明の研究. 財団法人旗影会. 平成17年度助成研究報告書.
- 5) 安井勉, 石下真人, 鮫島邦彦, 1981. 食肉加工特性の決定因子 ミオシンの熱ゲル化反応をめぐって. 化学と生物. 19: 337-344.
- 6) Samejima, K., Ishioroshi, M., and Yasui, T. 1983. Scanning calorimetric studies on thermal denaturation of myosin and its subfragments. *Agric. Biol. Chem.*, 10: 2373-2380.
- 7) 橋本昭彦, 小林章良, 新井健一. 1982. 魚類筋原線維 Ca-ATPase 活性の温度安定性と環境適応. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48(5): 671-684.
- 8) Donovan, J. W., Mapes, C. J., Davis, J. G., and Garibaldi, J. A. 1975. A differential scanning calorimetric study of the stability of egg white to heat denaturation. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 73-83.
- 9) Yamamoto, K. 1988. Characterization of H-protein, a component of skeletal muscle myofibrils. *J. Biol. Chem.*, 259: 7163-7168.
- 10) Wicker, L. and Knop, J. A. 1988. The binding of 8-anilino-1-naphthalene sulfonate (ANS) to fish myosin and the effect of salts on the thermal transitions of fish myosin-ANS complex. *Arch. Biochem. Biophys.*, 266: 452-461.
- 11) Toyohara, H., Kinoshita, M., and Shimizu, Y. 1990. Proteolytic degradation of theadfin bream meat gel. *J. Food Sci.*, 55: 259-260.
- 12) 牧之段保夫, 山本正男, 清水 亘. 1963. 水産動物肉に関する研究—XXXIX 魚筋肉プロテアーゼについて. *日水誌*, 29: 776-780.
- 13) 志水 寛, 吉本晴樹, 清水 亘. 1962. かまぼこの足について—XII “もどり”の現象. *日水誌*, 28: 610-615.
- 14) 西本真一郎, 橋本昭彦, 関伸夫, 新井健一. 1988. 二種の魚の混合肉糊の坐りとミオシン重鎖の交差結合. *日水誌*, 54: 1227-1235.
- 15) 小関聡美, 藤井陽介, 加藤登, 安永こう作, 北上誠一, 新井健一. 2006. スケトウダラとバシフィック・ホワイトティングの混合肉糊から調製した坐りを伴った加熱ゲルと坐りを伴わない加熱ゲルの品質に対する牛血漿粉末の効果. *東海大学紀要海洋学部「海——自然と文化」*, 4: 21-29.
- 16) 新井健一. 2002. 水産動物筋肉タンパク質の変性と制御. *日水誌*, 68(2): 137-143.
- 17) Ndi, E. E., Swanson, B. G., Barbosacanas, G. V., and Luedecke, L. O. 1996. Rheology and microstructure of beta-lactoglobulin sodium polypectate gels. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 86-92.
- 18) Iwasaki, T., Washio, M., Yamamoto, K., and Nakamura, K. 2005. Rheological and morphological comparison of thermal and hydrostatic pressure-induced filamentous myosin gels. *J. Food Sci.*, 70: E432-E436.
- 19) 伊藤慶明. 2000. 魚肉の加熱ゲル形成におけるSS結合の役割に関する研究. *日水誌*, 66(3): 380-383.
- 20) 岩崎智仁, 山本克博, 中村邦男. 2008. 原子間力顕微鏡を用いたミオシン変性体の形態観察と物性解析. 第15回生物関連高圧研究会20周年記念シンポジウム抄録集, Vol. 2, 161-170.

Abstract

The effect of egg white protein on heat-induced gelation of mixed actomyosin from chicken and several fishes was studied. Mixed actomyosin was heated at 40 °C for 300 min followed by heating at 90 °C for 10 min, 50 °C for 180 min and finally at 90 °C for 10 min, or 90 °C for 10 min. For each heat treatment, the samples were used for measurement of viscosity, surface hydrophobicity, SDS-PAGE analysis, and observation of gel structure. The viscosity of mixed actomyosin from chicken and atka mackerel (*Pleurogrammus azonus*) after heating increased in the presence of egg white protein, whereas that of mixed actomyosin from chicken, atka mackerel and silver croaker (*Pennahia argentatus*) was decreased. Disulfide bonds were formed in heat-induced aggregates of actomyosin regardless of the presence or absence of egg white protein. However, with increasing temperature the change in hydrophobicity did not correspond to that in viscosity. This finding suggests that hydrophobicity makes only a small contribution to the rheological properties of mixed actomyosin. The heat-induced gel showed an increasingly coarse structure as the proportion of

chicken actomyosin decreased. Mixed actomyosin formed a fine network structure, in which the particles adhered to the surface of the strands forming gel structure, as the amount of egg white protein increased.

In conclusion, the strength of heat induced mixed actomyosin gel decreased on addition of fish actomyosin to chicken actomyosin solution. However, it is possible to improve the rheological properties of mixed actomyosin by adding egg white protein, because it interacts with several actomyosins.