

魚類筋原繊維の加熱ゲル形成に及ぼすアミノ酸の影響

野崎 征宣, 市川 寿, 田端 義明

Effect of Amino Acids on the Gel Formation of Fish Myofibrils by Heating

Yukinori NOZAKI, Hisashi ICHIKAWA, and Yoshiaki TABATA

The effect of amino acids on the gel formation of white croaker myofibrils by heating was investigated. Amino acids were classified into four groups by their effect on the gel formation: (1) amino acids exerting marked increased effect on gel formation such as Cys, (2) those exerting moderate increased effect such as Arg-free base and Trp, (3) those exerting slight effect such as Cit, His and Gly, (4) those exerting no effect such as Na-Asp and Ala.

These results suggested that the sulfhydryl groups and hydrophobic bonding of myofibrillar protein participated in gel formation of myofibrils by heating.

Key words: アミノ酸 amino acid; 筋原繊維 myofibril; ゲル形成 gel formation.

水産ねり製品の品質は、外観、味およびゲル強度（いわゆる“あし”）などの要因によって評価されるが、これらの要因のうち、特にゲル強度の良否が重要視される。従って、ねり製品の製造技術は、魚肉が潜在的に持っている特性を生かして、いかに強いゲル強度を持つものをつくるかが問題となってくる。しかし、魚種によってゲル形成能には差異があり、^{1,2)} 弱足魚、あるいは強足魚でも鮮度低下によるゲル形成能が低下したものについては、次善の策としてゲル形成補強剤が用いられ、これもゲル形成能を向上させるものとして重要な因子とされている。³⁾

アミノ酸は、ゲル形成補強剤の中で、スポンジ構造強化剤に類別されている。⁴⁾ 多種類のアミノ酸のゲル形成に及ぼす影響については、すでに三宅ら⁵⁾ が魚肉を用いて検討しており、特に塩基性アミノ酸にゲル形成能の増強効果を認めている。しかし、アミノ酸の添加濃度を細部にわたって検討されていないことなどから、アミノ酸の効果については、まだ十分な説明がなされているとは言えない。

本研究では、魚肉中の水溶性成分の影響を除くため筋原繊維（以下、本文中 Mf と略）を調製し、Mf レベルでの加熱ゲル形成に及ぼすアミノ酸の影響を

検討した。なお、Mf の調製にはシログチ筋肉を用いた。

実験方法

筋原繊維の調製 Mf の調製は、加藤ら⁶⁾ の方法に準じて行った。新鮮なシログチ (White croaker *Argyrosomus argentatus*) の筋肉を細切したのち、5倍量の 0.1M KCl-20mM Tris-maleate 緩衝液 (pH 7.0) で 3 回攪拌洗浄した。次に 3 倍量の同緩衝液を加え泡止め式ブレンダーでホモジナイズ (10,000rpm, 90 秒間) したのち、ナイロンネット (#16) を通過させて結合組織を除去した。次に、20% Triton X-100 溶液を終濃度が 1% になるように加え、30 分間放置後遠心分離 (750×g, 10 分間) した。沈澱に 5 倍容の同緩衝液を加えて攪拌後、再び遠心分離を行って沈澱を洗浄する操作を 4 回繰り返した。沈澱中の緩衝液由来 KCl をできるだけ除くため、これに 5 倍容の冷蒸留水を加えて攪拌したのち遠心分離 (5,000×g, 10 分間) を行い、上澄を除いた。さらに、過剰の水を除去するため遠心分離 (12,000×g, 20 分間) し、得られた沈澱を Mf 試料とした。これにより、Mf 試

料中の KCl 濃度は約 16mM 程度となり, 本実験の試料としては大きな影響がないものと考えられた。なお, これらの操作はすべて低温(約 5°C)下で行った。Mf 試料の一般成分は, 水分 87.1%, 粗タンパク質 12.4%, 粗脂肪 0.1%, 粗灰分 0.4% であった。

筋原繊維ゲルの調整 Mf に対して NaCl 3% およびアミノ酸 (和光純薬工業製特級, 23 種) を単独で 0.1~2.0% の範囲で添加し, 水分量が 85% になるように蒸留水を加えて調整後, 播潰機 (石川式 18 号) を用いて, 低温室 (約 5°C) で 10 分間播潰した。摺りあがった肉糊は塩化ビニリデンのケーシング (折れ径 5cm) に詰め, 40°C で 60 分間坐らせたのち, 90°C で 30 分間加熱後, 氷水中で急冷し試料とした。また, アミノ酸無添加のものも同様に処理して対照とした。これらを一夜低温室 (約 5°C) に放置した後, 室温にもどしてから, ゲル強度および pH の測定に供した。なお, 対照試験としてのアミノ酸無添加の試料は, 対照-Mf ゲル, 並びにアミノ酸が添加されている Mf ゲル, 例えば, Na-Asp を添加したものは Na-Asp-Mf ゲルのように略称した。

ゲルの強度および pH の測定 試料のゲル強度として, ジェリー強度 (Jelly strength, 以下 J. S. と略) を測定した。すなわち, Mf ゲルを厚さ 2cm に切断し, フッドチェッカー (サン科学製山本式) を用いて, 試料台の上昇速度 0.6mm/秒で破断時にプランジャー (直径 0.5cm, 球状) にかかる応力 (g) と凹み (cm) を室温で測定し, その積 (g · cm) を J. S. とした。

pH は, Mf ゲルに少量の珪藻土および蒸留水を加えて磨砕後, さらに蒸留水を加えて 20 倍容とし, ガラス電極 pH 計 (東洋科学産業製 PT-3D 型) を用いて測定した。⁷⁾

実験結果

アミノ酸 (23 種) を添加した Mf ゲルの対照-Mf ゲルに対する J. S. の相対値, 並びに Mf ゲルの pH をアミノ酸添加濃度に対してプロットし, 特徴的な変化が見られたアミノ酸 (15 種) について Fig. 1^{*1} に示した。なお, 対照-Mf ゲルの J. S. は 116 (g · cm) であった。

これらの結果をみると, 酸性アミノ酸を添加した Mf ゲル (Fig. 1-(1)) の J. S. は, アミノ酸の添加濃

度の増大に伴って徐々に低下した。それらの pH はほぼ 7.0 を示し, 変化がみられなかった。このように, 酸性アミノ酸はわずかであるがゲル形成能を低下させる効果がみられた。

塩基性アミノ酸を添加した Mf ゲルでは, Lys-HCl-Mf ゲル (Fig. 1-(2)), Arg-HCl-Mf ゲルおよび Orn-Mf ゲル (Fig. 1-(3)) の J. S. は, 添加濃度の増大に伴って徐々に低下し, それらの pH はほぼ 7.0 を示し, 変化がみられなかった。これに対し, Lys-free base-Mf ゲル (以下, Lys-fb-Mf ゲルと略, Fig. 1-(2)) の pH は添加濃度の増大に伴って徐々に上昇し, 2% 添加で約 9.0 となったが, その J. S. は 2% 添加まで変わらなかった。Arg-free base-Mf ゲル (以下, Arg-fb-Mf ゲルと略, Fig. 1-(3)) の J. S. は添加濃度 1% まで急激に高くなり, その後は漸減傾向を示した。その pH は添加濃度の増大に伴って徐々に上昇し, 2% 添加では 9.0 となった。以上のように, Lys と Arg の両者は, ゲル形成能にかなり影響を与えることが認められ, しかも HCl 塩であるか否かにより効果が逆になることがわかった。His-Mf ゲル (Fig. 1-(2)) の J. S. は, 0.2% 添加で, Cit-Mf ゲル (Fig. 1-(3)) の J. S. は, 0.1% 添加で, 対照-Mf ゲルに比べてわずかに高く, その濃度で最大値を示した。なお, 濃度の増大に伴う前者の pH には変化がみられなかったが, 後者の pH はわずかに上昇し, 2% 添加で 7.4 となった。

中性アミノ酸を添加した Mf ゲルでは, Gly-Mf ゲルおよび Thr-Mf ゲル (Fig. 1-(4)) の J. S. は, 0.1% 添加で最大値を示し, 対照-Mf ゲルに比べてそれぞれ約 1.35 倍および約 1.13 倍とわずかに高かった。また, Phe-Mf ゲル (Fig. 1-(5)) の J. S. は, 0.2% 添加で対照-Mf ゲルの約 1.15 倍となり, 最大値を示した。これらのアミノ酸では, 添加濃度の増大に伴う pH の変化はみられなかった。Cys-Mf ゲル (Fig. 1-(5)) の J. S. は, 0.1% 添加で対照-Mf ゲルの約 2 倍となり, 1.5% 添加で対照-Mf ゲルと同程度となった。なお, 濃度の増大に伴う pH の変化はほとんどみられなかった。また, Trp-Mf ゲル (Fig. 1-(5)) の J. S. は, 0.1% 添加で対照-Mf ゲルの約 1.4 倍と高くなり, その後わずかに上昇した。添加濃度の増大に伴う pH の変化はほとんどみられなかった。他の中性アミノ酸を添加した Mf ゲル (9 種) の J. S. はいずれも添加濃度の増大に伴って徐々に低下し, pH にも変化はみられ

* 1 図に示さなかったアミノ酸 (8 種) : Ser, Val, Leu, Ile, Tyr, Pro, Hyp, Met.

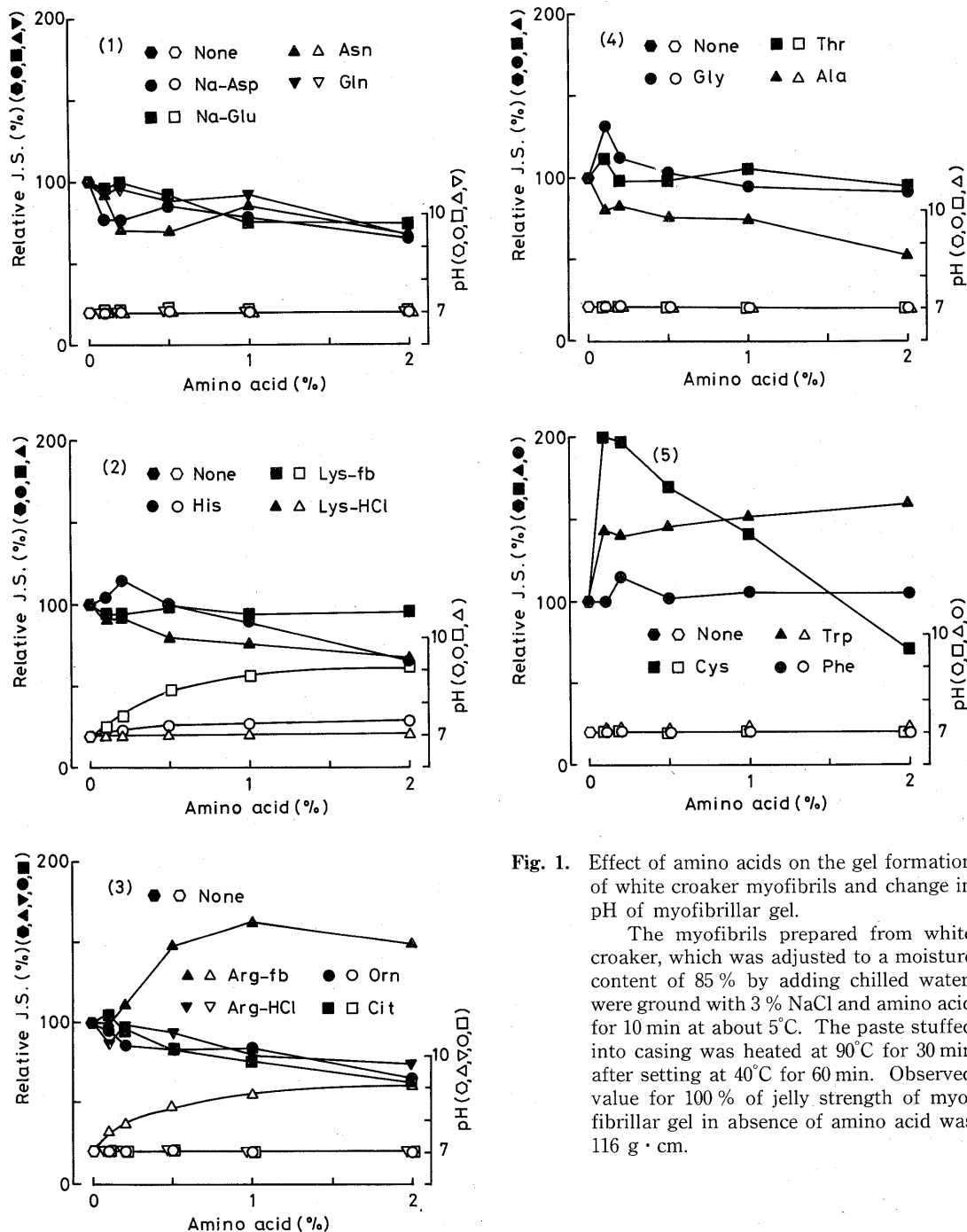


Fig. 1. Effect of amino acids on the gel formation of white croaker myofibrils and change in pH of myofibrillar gel.

The myofibrils prepared from white croaker, which was adjusted to a moisture content of 85% by adding chilled water, were ground with 3% NaCl and amino acid for 10 min at about 5°C. The paste stuffed into casing was heated at 90°C for 30 min after setting at 40°C for 60 min. Observed value for 100% of jelly strength of myofibrillar gel in absence of amino acid was 116 g · cm.

なかった。

以上のように、Mfのゲル形成に対し、特に増強効果が大きかったアミノ酸はCysであり、次いでArg-fbおよびTrp、わずかに増強効果がみられたものはCit, His, Gly, Thr, Pheであった。他のアミノ酸(15種)では、その効果がないかあるいは逆にゲル形

成能を低下させるものもみられた。

考 察

Mfにアミノ酸(23種)を添加しMfのゲル形成能を調べた結果、アミノ酸の種類によりその効果に相

違のあることが認められた。本実験で用いたアミノ酸の中で特に大きな増強効果が認められたのは Cys であり、ゲル形成能の増強と S-S 結合によるタンパク質分子間の架橋との間に関連性があることが示唆された。魚肉タンパク質のゲル形成に及ぼす-SH および S-S 結合の役割については、それらの役割を肯定するあるいは否定する報告がみられ、十分に明らかにされているとは言えない。すなわち、岡田ら⁸⁾、田端ら⁹⁾は、ゲル形成時の-SH の酸化によるタンパク質分子間の S-S 結合に関して、丹羽ら¹⁰⁾は坐りにおける S-S 結合の形成に関しては否定的であり、さらに、三宅ら⁵⁾は Cys にはゲル形成能の増強効果がなかったことを報告している。一方、伊藤ら¹¹⁻¹⁵⁾は魚肉中の 2 つの Cys 残基間の酸化および分子内の S-S 結合が分子間 S-S 結合へと変わってゲル形成能が高められるとし、猪上ら^{*2}は S-S 結合が坐りの段階よりも本加熱の段階で多量に生成され、ゲル形成能が高められるとし、肯定的である。また、伊藤ら¹¹⁾はスケトウダラ冷凍すり身に Cys を添加したかまぼこのゲル形成能を調べ、スケトウダラ冷凍すり身 1g 当り 8 μ mol (約 0.1% に相当) の添加でゲル形成能が最大値を示すことを報告している。本実験における Mf レベルでの結果は、この伊藤ら¹¹⁾の結果とほぼ一致していた。また、実験結果には示していないが、Cys と同じ含硫アミノ酸の Met 添加ゲルの J. S. は、添加濃度の増大に伴って低下し、2% 添加で対照-Mf ゲルに比べて約 30% 低下した。このことから、Met は化学構造中 Cys より炭素鎖が長く、しかも水素に代ってメチル基が配位しており、このようなことが Mf のゲル形成能増強効果の低減につながったのかもしれない。

塩基性アミノ酸では、Arg-fb, Cit および His にゲル形成能の増強効果が認められ、中でも Arg-fb の効果は大きかった。また、Arg と Lys では、HCl 塩であるか否かによりゲル形成能に逆の影響を及ぼすことが認められた。すなわち、Arg についてみると、Arg-HCl-Mf ゲルは濃度の増大に伴ってゲル形成能が低下したが、その pH はほとんど変化しなかった。これに対し、Arg-fb-Mf ゲルの J. S. は、対照-Mf ゲルのそれに比べて約 1.5 倍と高く、その pH は添加濃度の増大に伴って上昇し、2% 添加で pH9.0 と高い値を示した。従来

から、かまぼこのゲル形成能の至適 pH は 6.5~7.0 とされており、¹⁶⁾ 本実験結果は著しく高い pH でもなおかつ高いゲル形成能を発現している特異な例だといえる。このことから、Arg-fb のゲル形成能の増強効果は、pH の変動の影響のみでは考えられない。Arg-fb のように、ゲル形成能への増強効果が発揮されれば、pH にはそれほど影響されないことが示された。また、Lys では、Lys-fb と Lys-HCl のゲル形成能への増強効果は認められないが、両者を比べると前者のゲル形成能が高かった。三宅ら¹⁴⁾も塩基性アミノ酸のゲル形成能の増強効果を認めており、本実験結果でも同様の傾向が示された。塩基性アミノ酸のゲル形成能への増強効果については、アルキレンジアミンの塩結合によると推察する報告¹⁷⁾がある。

中性アミノ酸の中で Trp は比較的大きな増強効果(対照-Mf ゲルの約 1.5 倍)を示したのに対し、Gly, Thr および Phe の効果は小さかった。また、芳香環を含む化学構造 (Phe など) は、ゲル形成能を阻害しないと考えられる。一方、Ala など他の中性アミノ酸 (9 種) あるいは Na-Asp などの酸性アミノ酸 (4 種) には、ゲル形成能の増強効果は認められなかった。このことについては、化学構造からは十分に説明することができないが、上述のゲル形成能の増強効果のないアミノ酸の多くは、水和力が強く Mf 中の水を構造化する度合いの大きいものである^{18), *3, *4}ことから、以下のように考えられた。すなわち、ゲルの網状構造をつくる成因の一つに疎水結合の関与が考えられているが、これは魚肉塩すり身を加熱して温度が上昇することによって、魚肉中の水の水素結合が不安定となり、タンパク質の疎水性水和が起りにくくなる。その結果、疎水性残基が露出し、水自体が安定化しようとすることから、疎水性残基間に疎水結合ができてくる。¹⁹⁾しかし、シュクロースのように水和性の高いものが含まれると、シュクロースとの水素結合のため水が構造化し、疎水性残基の露出は抑制され、²⁰⁾分子間の疎水結合はできにくくなり、ゲル形成能が低下するとされる。²¹⁾従って、Na-Asp など水和性の高いアミノ酸は、シュクロースと同じような効果によりゲル形成能が低下するという現象が表れたものと考えられる。

*2 猪上徳雄, 辻井文雄, 秋場 稔 (1982): 昭和 57 年日本水産学会秋季大会講演要旨集, 164 頁, 講演番号 728.

*3 野崎征宣, 田端義明, 秋場 稔 (1982): 昭和 57 年日本水産学会秋季大会講演要旨集, 167 頁, 講演番号 733.

*4 野崎征宣, 田端義明, 秋場 稔 (1984): 昭和 59 年日本水産学会秋季大会講演要旨集, 139 頁, 講演番号 618.

本研究を遂行するにあたり、御指導を頂いた北海道大学水産学部信濃晴雄教授、新井健一教授、猪上徳雄助教授、木村 昇助手、元教授故秋場 稔博士に謝意を表します。

文 献

- 1) 志水 寛, 町田 律, 竹並誠一 (1981): 魚肉肉糊のゲル形成特性に見られる魚種特異性, 日水誌, **47**, 95-104.
- 2) 志水 寛 (1984): かまぼこ形成能, 志水 寛編, 魚肉ねり製品, 9-24 頁, 東京, 恒星社厚生閣.
- 3) 山本常治 (1984): 副原料・添加物, 志水 寛編, 魚肉ねり製品, 74-84 頁, 東京, 恒星社厚生閣.
- 4) 岡田 稔 (1965): 強力補強剤(その1), ニューフードインダストリー, 7-(9), 1-6.
- 5) 三宅正人, 川上 謙 (1966): ねり製品(および魚肉ソーセージ)に関する研究-VIII, 日水誌, **32**, 446-449.
- 6) 加藤 登, 内山 均, 塚本志郎, 新井健一(1977): 魚類筋原繊維 ATPase の生化学的研究, 日水誌, **43**, 857-867.
- 7) 田端義明, 金津良一 (1975): 市販かまぼこのカード・メータによる破断応力について, 日水誌, **41**, 233-241.
- 8) 岡田 稔, 中山正夫 (1961): 水産ねり製品の足に対する酸化剤の増強効果, 日水誌, **27**, 203-208.
- 9) 田端義明, 野崎征宣, 金津良一 (1976): 酸化剤, SH 試薬のかまぼこの“あし”形成能に与える影響, 長崎大学水産学部研究報告, No. 41, 29-33.
- 10) 丹羽栄二, 三宅正人 (1971): 魚肉たん白質の性状に関する研究-II, 日水誌, **37**, 884-890.
- 11) 伊藤慶明, 吉中禮二, 池田静徳 (1979): かまぼこの足形成に及ぼすシステインおよびシスチンの影響, 日水誌, **45**, 341-345.
- 12) 伊藤慶明, 吉中禮二, 池田静徳 (1979): かまぼこの足形成に及ぼす無機還元剤の影響, 日水誌, **45**, 455-458.
- 13) 伊藤慶明, 吉中禮二, 池田静徳 (1979): コイアクトミオシンの加熱ゲル形成に及ぼす SH 試薬の影響, 日水誌, **45**, 1023-1025.
- 14) 伊藤慶明, 吉中禮二, 池田静徳 (1980): コイアクトミオシンの加熱ゲル形成におけるタンパク質の高分子化, 日水誌, **46**, 617-620.
- 15) 伊藤慶明, 吉中禮二, 池田静徳 (1980): コイアクトミオシンの加熱ゲル形成における SS 結合によるタンパク質の高分子化, 日水誌, **46**, 621-624.
- 16) 志水 寛, 清水 亘, 池内常郎 (1954): かまぼこの足について-II, 日水誌, **20**, 209-212.
- 17) 丹羽栄二 (1973): 魚肉たんぱくゲル中の水の挙動, 日本水産学会編, 食品の水, 83-94頁, 東京, 恒星社厚生閣.
- 18) Kuntz, I.D. and Kauzmann W. (1974): Hydration of proteins and polypeptides, in Anfinsen C.B., Edsall J.T. and Richards F.M. [eds.], *Advances in Protein Chemistry*, **28**, pp. 239-345, New York, Academic Press.
- 19) 丹羽栄二 (1984): 坐り, 志水 寛編, 魚肉ねり製品, 25-35 頁, 東京, 恒星社厚生閣.
- 20) Back J. F., Oakenfull D. and Smith M. B. (1979): Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols, *Biochemistry*, **18**, 5191-5196.
- 21) 丹羽栄二 (1984): 魚肉タンパク質-III(魚肉すり身の坐り), 山内文雄編, 食品タンパク質の科学, 209-219 頁, 東京, 食品資材研究会.