

淡水産魚肉の練り製品原料適性および筋原繊維
タンパク質のゲル化特性に関する研究

1998年1月

長崎大学大学院
海洋生産科学研究科

常 江州

目 次

	頁
第 一 章 序 論	1
第 二 章 淡水産魚類の塩ずり肉の加熱ゲル化特性	7
2-1. 緒 言	7
2-2. 実験方法	7
2-2-1. 供試魚	7
2-2-2. 加熱ゲルの調製	8
2-2-3. ゲル形成能の測定	8
2-3. 結 果	8
2-3-1. 清水晒およびアルカリ塩水晒塩ずり肉のゲル形成能	8
2-3-2. 塩ずり肉糊の二段加熱ゲル形成能	10
2-4. 考 察	13
第 三 章 低温貯蔵中における淡水魚肉のゲル形成能の変化	17
3-1. 緒 言	17

3-2.	実験方法	17
3-2-1.	供試魚	18
3-2-2.	氷蔵	18
3-2-3.	硬直指数の測定	18
3-2-4.	K値の測定	18
3-2-5.	一般成分の測定	18
3-2-6.	加熱ゲルの調製	20
3-2-7.	加熱ゲルのゲル形成能の測定	20
3-3.	結 果	20
3-3-1.	供試魚の一般成分	20
3-3-2.	氷蔵中の魚体の硬直指数と鮮度の変化	20
3-3-3.	氷蔵中における加熱ゲルのゲル形成能の変化	22
3-4.	考 察	25
第 四 章	凍結貯蔵中における淡水魚肉すり身のかまぼこ原料適性	28
4-1.	緒 言	28
4-2.	実験方法	28
4-2-1.	供試魚	28
4-2-2.	すり身の調製と凍結貯蔵	29
4-2-3.	加熱ゲルの調製	29
4-2-4.	加熱ゲルのゲル形成能の測定	29

4-2-5.	筋原繊維Ca-ATPase全活性および溶解度	30
4-2-6.	冷凍すり身中の不凍水量	30
4-3.	結 果	31
4-3-1.	凍蔵中のすり身のゲル形成能	31
4-3-2.	凍蔵中のすり身の筋原繊維Ca-ATPase全活性	31
4-3-3.	凍蔵中のすり身の溶解度	34
4-3-4.	凍蔵中のすり身の不凍水量	34
4-3-5.	凍蔵中における冷凍すり身の筋原繊維Ca-ATPase全活性, 溶解度および不凍水量とゲル形成能との関連性	37
4-4.	考 察	37
第 五 章	塩すりコイ筋原繊維タンパク質の加熱ゲル形成に及ぼす加 熱温度およびトランスグルタミナーゼ製剤の影響	42
5-1.	緒 言	42
5-2.	実験方法	43
5-2-1.	供試魚	43
5-2-2.	筋原繊維, アクトミオシンおよびミオシンの調製	43
5-2-3.	脱水	45
5-2-4.	加熱ゲルの調製	46
5-2-5.	加熱ゲルの破断強度の測定	46
5-2-6.	加熱ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動	47

5-3.	結 果	47
5-3-1.	コイの塩ずりミオシンの加熱ゲル化特性とSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動	47
5-3-2.	コイおよびエソの筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加熱ゲル形成能	49
5-3-3.	コイの筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加熱ゲル形成能に及ぼすトランスグルタミナーゼ製剤添加の影響	52
5-3-4.	トランスグルタミナーゼ製剤の添加および無添加コイの筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシン加熱ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動	52
5-4.	考 察	55
第 六 章 塩ずりコイ筋原繊維タンパク質の加圧ゲル化の特徴およびトランスグルタミナーゼ製剤の効果		58
6-1.	緒 言	58
6-2.	実験方法	59
6-2-1.	供試魚	59
6-2-2.	水晒肉の加圧ゲルの調製	59
6-2-3.	筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲルの調製	59
6-2-4.	加圧ゲル物性の測定	61

6-2-5.	加圧ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動	61
6-3.	結 果	62
6-3-1.	水晒肉肉糊のゲル形成に及ぼす圧力の影響	62
6-3-2.	筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンのゲル形成に及ぼす圧力の影響	64
6-3-3.	コイの筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲル形成に及ぼすトランスグルタミナーゼ製剤添加の影響	64
6-3-4.	トランスグルタミナーゼ製剤無添加および添加コイ加圧ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動	67
6-4.	考 察	67
第 七 章	総合考察	71
謝 辞		76
参考文献		77

第一章 緒 論

近年、国際的な漁業規制による海外漁場の縮小、低魚類を中心とした漁業資源の減少など、年々厳しさを増している。その中でも特に200海里問題といった諸国の専管水域が世界的に定着したため、北洋魚種の確保は困難となってきており、練り製品の代表的な原料魚として、一般に冷凍すり身原料に広く用いられているスケトウダラはそれらの影響を大きく受けて漁獲高の減少が著しい。そのため、近年、練り製品の原料となる冷凍すり身さえも他国からの輸入が増加し、その価格は上昇傾向にあり、練り製品業界は非常に厳しい局面に立たされている。従って、新しい練り製品の原料の開発が重要な課題となっている。

中国では、淡水魚の生産は歴史的にも古く、その生産量は昔から世界最大であったといわれている。その主な理由は、長江（揚子江）の中下流域や珠江下流域などの広大な地帯に無数に存在する大きな河川・湖沼・地塘（天然池と人工池）およびクリークや、また近代多く建設されたダムなど、広大な淡水面があること（中国の淡水面積は国としては世界でも群を抜いて大きい）、古代から伝統的な淡水魚の養殖技術が発展していたことによる。中国が経済開放政策に大きく転換した1978年から約20年を経過した現在、中国の淡水魚生産は養殖業を中心として急成長して、1991年にはその生産量は約554万トンに達し、現在、年間600万トンを超えている。これは中国の海面総生産量に匹敵するものである。このうち85%強が栽培漁業によるものである。¹⁾ 淡水栽培漁業における栽培魚種の主なものはソウギョ (*Ctenopharyngodon idellus*) , アオウオ (*Mylopharyngodon piceus*) , コクレン (*Aristichthys nobilis*) , ハクレン (*Hypophthalmichthys molitrix*) , コイ (*Cyprinus carpio*) , フナ (*Carassius auratus*) であり、これらの魚種の生産量は栽培漁業の漁獲量の大部分を占めている。しかし、これらの淡水魚は、内水面の漁場近くの消費地で、主として鮮魚や加熱調理によって食用されるのみで、12億の巨大な人口に対する重要な動物タンパク源として十分に高度利用されているとはいえない。その原因は、利用加工の方法

がまだ整っていないからであろうと考えられる。大部分の淡水魚には、「刺のような骨が多過ぎる」、「肉質の冷凍耐性が劣る」、「死後自己分解が早い」、「どろ臭い」など幾つかの短所が認められる。従って、これらの魚種はあまり好まれず、鮮魚でもその傾向がみられる。²⁾ 今後淡水魚を利用していくためには、利用加工方法の開発が重要な課題となっている。その一つとして、魚肉練り製品化の動きがある。

練り製品は、魚肉に食塩を加えてすりつぶし、肉糊にしてから、これを加熱、凝固させて作る弾性ゲル食品であり、日本では“かまぼこ”の名で広く親しまれているが、中国では練り製品といえば、“魚丸（ユーワン）”がこれに相当する。日本では、海産魚の練り製品製造理論についての研究は世界的にも進んでおり、多くの研究成果が蓄積されている。

魚肉のタンパク質含量は16~22%程度であるが、大部分は20%以下である。魚肉を構成する主要タンパク質は水および希薄塩溶液に可溶性、いわゆる非ミオシン区タンパク質と、濃厚塩溶液に溶けるミオシン区タンパク質との2種類である。これらのうちミオシン区タンパク質は魚肉タンパクの約80%を占め、畜肉タンパク質と同様なアミノ酸によって構成されている。このタンパク質分子は繊維状であり、これが絡み合った網目構造を形成し、加熱すると弾力をもったゲルに変化する。³⁾ このような性質が水産練り製品の製造に利用され、結着性および弾力性の要因になっている。この性質は魚肉のゲル形成能に依存している。しかし、魚肉のゲル形成能は魚種によって異なる。志水ら⁴⁾ が各魚種のゲル形成能を比較するため、49魚種を用いて一定の条件で調製した肉糊の温度—ゲル強度曲線を求め、そのパターンは魚種によって極めて多様であったことを報告している。さらに、そのゲル化特性から、坐りにくく戻りにくいグループ（サメ類）、坐りにくく戻りやすいグループ（イワシ類を除く赤身魚の大部分を含む）、坐りやすく戻りやすいグループ（イワシと冷水性魚を含む）、坐りやすく戻りにくいグループ（トビウオ、カマス、トラギスを含む）の四つのグループに分類された。

一方、練り製品の品質を決める要因の一つに、原料魚の鮮度がある。魚類は漁獲後の鮮度低下が速い。そこで、これらの鮮度を保持する方法として、主に漁獲後に氷蔵や凍蔵が

行われている。一般に魚の鮮度低下に伴ってゲル形成能も低下するが、その低下の遅速は魚種によって異なることが知られている。低温貯蔵特性に関する研究は海産魚についての報告が多い。例えば、シログチは、エソ類とともに以西底曳網漁業で漁獲される良質なかまぼこ原料魚であり、エソ類の鮮魚肉のゲル形成能が短期間しか保持できない⁵⁻⁷⁾のに比べ、長期間しかも不可食状態となってもそれを保持している。⁸⁾また、死後硬直は魚の死後変化の過程で見られる最も顕著な現象であり、重要な鮮度指標でもある。畜肉の死後硬直とそれに関連した生化学的変化については、Bate-Smith and Bendall⁹⁾がウサギを用いた一連の研究によりその大要を明らかにした。すなわち、死後硬直は筋収縮のエネルギー源であるATPの消失によりアクチンとミオシンの結合が不可逆的となり、筋肉の伸張性が失われることにより起こる。伸張性が低下し始める硬直開始期は、ATPの再生量が減少して分解量を補填し得なくなった段階で、硬直の進行はATPの再生源であるクレアチンリン酸とグリコーゲンの量に依存する。魚類についてもソウダガツオ、¹⁰⁾サバ、^{11,12)}マダイ、^{11,12)}コイ¹²⁻¹⁴⁾ハマチ¹¹⁾でATPの消失と完全硬直に達する時点とが一致し、死後硬直の機構は畜肉と大差はないと考えられる。ATPは筋肉の主要タンパク質であるミオシンとアクチンの結合、解離に重要な役割を担っており、死後硬直過程で減少することから、魚肉の死後ミオシン区タンパク質に大きな変化の起こることが予想される。しかし、実際に水揚げ直後からそのゲル形成能の変化を追跡した報告は少ない。

練り製品の製造工程で、ゲル形成にとって重要な要件は坐りおよび戻り現象である。坐りとは、塩ずりした魚肉（肉糊）を一定の温度で保管すると徐々に塑性を失って、しなやかな弾性ゲルに変わる現象である。“戻り”または“火戻り”とは、魚肉練り製品製造中に、いったん形成されたかまぼこゲルが崩壊し、かまぼこ特有のしなやかさおよび弾力性を失う現象である。練り製品を製造する工程における肉糊の坐りの効果は、ゲル強度の増強や保水性の向上、さらに、製品の均一化などに貢献すると言われている。この肉糊の坐りにおける魚肉タンパク質の変化に関わる研究は多くなされている。丹羽ら¹⁵⁻¹⁷⁾は、坐りの温度帯である40℃でタンパク質分子間の疎水結合が異常に発達することが坐りの大き

な要因であると報告している。また、伊藤ら^{18,19)}は、コイの40°C加熱時の坐りにはタンパク質分子間のジスルフィド結合が関与していると報告している。近年、生化学的な研究手法の導入によりこの坐り現象に関わるタンパク質の挙動についてはかなり詳細に明らかになってきている。すなわちかまぼこゲルを強力なタンパク溶解剤であるSDS-尿素混液で溶解後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて、タンパク分子の大きさについて検討したところ、坐りに伴って起こる魚肉タンパク質、特にミオシン重鎖（HCと略す）の交差結合反応（多量化反応）が起こることである。²⁰⁻²²⁾ この坐りが起こったゲルをSDS尿素混液ではタンパク質内、あるいはタンパク質間の疎水結合、水素結合、静電結合などは切断されて各サブユニットに分離する。従って、この混液でゲルがサブユニットに分離しなくなったときは、その間に極めて強い結合状態、例えば、共有結合、またはミオシン分子が巨大な特異形状をしていることによる絡み合い結合などの生成が推定される。²³⁾ 最近、この研究は魚肉に内在するトランスグルタミナーゼに関する研究へと発展してきた。トランスグルタミナーゼ (protein-glutamine: amine γ -glutamyltransferase, EC 2.3.2.13; 以下TGase と略) は、タンパク質の翻訳後修飾酵素の一つであり、Ca²⁺ 依存性のアシル転移酵素である。基質としては、アシル供与体としてペプチド鎖中グルタミン残基の γ -カルボキシアミド基が、またアシル受容体としてアミン化合物の第1級アミノ基やペプチド鎖中リジン残基の ϵ -アミノ基がそれぞれ反応する。その結果、ペプチド鎖中グルタミン残基へのアミン化合物の共有結合的付加反応やペプチド鎖中（内）の ϵ - (γ -グルタミル) リジン-イソペプチド結合による架橋形成反応が進行する。アミン基質非存在下では、水がアシル受容体となり、反応性グルタミン残基はグルタミン酸残基へと脱アミド化される。TGase は動物の諸組織、血液細胞および血漿などに広く分布し、種々の分子形態をとっている。²⁴⁾ 魚肉では、魚肉ミオシンの架橋重合化挙動からみて、TGaseは魚肉すり身の坐り現象と深く関わりがあるとの報告もみられる。すなわち、関ら²⁵⁾は、スケトウダラ肉の30°C以下での坐りにはTGaseが触媒するミオシン分子間のイソペプチド結合による架橋が要因となっていると報告している。一方、塚正および志水ら^{26,27)}は、坐りやすい魚種お

よび坐りにくい魚種の坐り特性を支配している要因について検討し、坐りやすいマイワシでは肉中のカルシウム濃度、並びにTGase全活性が共に高く、さらに基質となるミオシンの熱安定性が低いというTGaseが働きやすい条件が揃っているためであり、一方、坐りにくいマサバでは固有のカルシウム濃度でTGaseの活性が低すぎるためであり、坐りにくい淡水魚コイではミオシンの熱安定性が高く、TGaseの作用を受けにくいことと肉中で測定したTGase全活性がマイワシやマサバに比べて著しく低いためである報告している。

1989年、味の素株式会社と天野製薬株式会社は、TGaseが微生物の培養液中に産出されることを見出し、²⁸⁾1993年4月にTGase製剤は食品の品質改良剤として味の素株式会社より発売された。そして、Sakamoto ら²⁹⁾は、この微生物由来のTGaseをすり身に添加した場合、調製した坐り加熱ゲルの破断強度が増加するとともに、ゲル中のミオシンHCの減少が促進され、 ϵ - (γ -Glu) Lys架橋の生成量が増加することを報告している。阿部³⁰⁻³²⁾はスケトウダラ冷凍すり身の肉糊にTGase製剤を添加することによりゲル形成能を強化できること、またTGaseの効果は冷凍すり身の品質（等級）の優劣によりやや影響を受けることなどを報告している。安永ら³³⁾は、TGase製剤はミオシン重鎖の多量化反応を著しく促進し、分子サイズの大きい多量体を大量に蓄積するが、これは25℃よりも40℃の予備加熱の方が顕著であることを報告している。

最近、食品に数百MPaの高圧処理を行うと、加熱処理とは異なるメカニズムで食品の特性あるいは物性に変化が起こることが明らかにされ、新しい食品処理方法として注目されるようになった。³⁴⁾高圧処理はタンパク質のゲル化、殺菌効果など加熱に代替し得る加工手段として期待される。水産練り製品加工の中で加熱処理に代わる高圧処理、または高圧-加熱併用処理の加工技術の応用が種々試みられており、多くの知見が得られている。³⁵⁻³⁹⁾すなわち、昌子らは、^{35,36)}スケトウダラすり身を塩ずりして高圧処理すると200MPa以上で弾力の大きいゲルが形成され、さらにそのゲルを低温（5℃）に保存すると、保存中に破断強度が上昇して、5日後には坐りを行かせたかまぼこに近い強固なゲルになること、また筋原繊維タンパク質のサブユニット組成にも変化が起こり、ミオシン重鎖の多量体化成

分の生成が進行することを報告している。さらに、高圧処理後直ちにそのゲルを高温で加熱すると破断強度は低下して加熱ゲルとほとんど変わらないものとなり、タンパク質のサブユニット組成の変化は生じないことを報告している。³⁷⁾さらに、加圧ゲルの弾力形成には、TGase活性によるミオシンHC多量体の生成よりも、加圧によるタンパク質の構造変化に伴う相互の弱い結合の寄与が大きいことを報告している。³⁸⁾また、上田ら³⁹⁾は、通常の加熱条件下では坐らないサケの肉糊を加圧処理するとゲル化が起こり、さらに加圧ゲルを加熱処理すると破断強度が上昇することを報告している。

以上のように、海産魚は練り製品原料としての多くの研究がなされ、多くの知見が蓄積されている。しかし、淡水産魚肉はゲル形成能が低いことから、日本ではかまぼこ原料としてほとんど利用されておらず、また、それについての研究も少ない。

そこで、本研究では、淡水産魚肉を練り製品原料として利用する目的で、淡水産魚肉の肉糊の熱ゲル化特性（第二章）、氷蔵耐性（第三章）、冷凍すり身化（第四章）、塩ずり筋原繊維タンパク質の加熱ゲル形成およびTGase製剤の効果（第五章）および塩ずり筋原繊維タンパク質の加圧ゲル化およびTGase製剤の効果（第六章）を調べた。

第二章 淡水産魚類の塩ずり肉の加熱ゲル化特性

2-1. 緒言

淡水産魚類の塩ずり肉は、海産魚類のそれに比較して加熱ゲル形成能が低く、日本では練り製品原料としてほとんど利用されていない。過去、淡水産魚類の練り製品原料への実用例については、一時期海産魚の漁獲が少ないころ、九州の筑後川流域でカムルチーのかまぼこ原料の代用がみられるが、淡水産魚類の練り製品に関する研究は少ない。^{4,40,41)}一方、現在中国における淡水産魚類の漁獲高は600万トンを超えているが、その利用は主として惣菜用であり、高度利用が望まれている。このことから、淡水魚の練り製品原料への利用については、詳細な魚肉のゲル化特性を把握することが必要であると考えられる。

本研究では、淡水産魚類の練り製品原料への有効利用を図るため、肉食性のニジマス、ナマズ、雑食性のコイ、ティラピア、ギンブナおよび草食性のソウギヨ⁴²⁾の6種類の淡水魚を選び、加熱ゲル形成特性を明らかにするとともにゲル形成能を増強させる有効な水晒方法について検討した。

2-2. 実験方法

2-2-1. 供試魚

コイ (Carp) *Cyprinus carpio*, ティラピア (Tilapia) *Tilapia mossambica* およびニジマス (Rainbow trout) *Salmo gairdneri* は長崎県内の養殖場で養殖されたものを、ナマズ (Catfish) *Silurus asotus*, ギンブナ (Silver crucian Carp) *Carassius auratus langsdorfii* およびソウギヨ (Grass carp) *Ctenopharyngodon idellus* は長崎県下の湖沼

に棲息していたものを入手した。

2-2-2. 加熱ゲルの調製

加熱ゲルの調製はFig.1に示す方法で行った。即ち、活魚を即殺して頭部と内臓を除いたのち、二枚におろし、冷水中で洗浄後、スタンプ式採肉機（採肉穴直径5mm）を用いて落し身を採取した。水晒は、落し身に対して5倍量の冷蒸留水で、3回洗浄する清水晒、および志水^{43,44)}によるアルカリ塩水晒の2方法で行った。過剰の水を除くため油圧式脱水機で加圧脱水後、水晒肉を低温室（約5℃）で肉挽機（穴直径3mm）にかけて挽肉とした。搗潰は挽肉に対して3%のNaClおよび含水率を81%に調整するための冷蒸留水を加え、低温室（約5℃）で30分間石川式攪拌搗潰機を用いて行った。得られた肉糊は折れ径50mmの塩化ビニリデンケーシングに充填し、30～90℃（10℃間隔）で20分間あるいは120分間加熱後、直ちに氷水中で約30分間急冷し、試料とした。二段加熱ゲルの調製は肉糊を50～70℃（10℃間隔）で20分間加熱後、90℃で20分間加熱して氷水中で急冷し、試料とした。試料は一夜低温室（約5℃）に放置後、室温に戻してからゲル形成能の測定に供した。

2-2-3. ゲル形成能の測定

試料のゲル形成能はゼリー強度（Jelly strength；以後J.S.と略）を測定した。すなわちレオテックス（サン科学製 SD-305型）を用いて、厚さ20mmの試験片に直径5mmの球面プランジャーを当て、試料台の上昇速度0.6mm/secで測定し、破断時の応力（g）とその凹み（cm）の積をJ.S.（g・cm）とした。なお、同一試料について6回測定し、その平均値を試料のJ.S.とした。

2-3. 結果

2-3-1. 清水晒およびアルカリ塩水晒塩ずり肉のゲル形成能

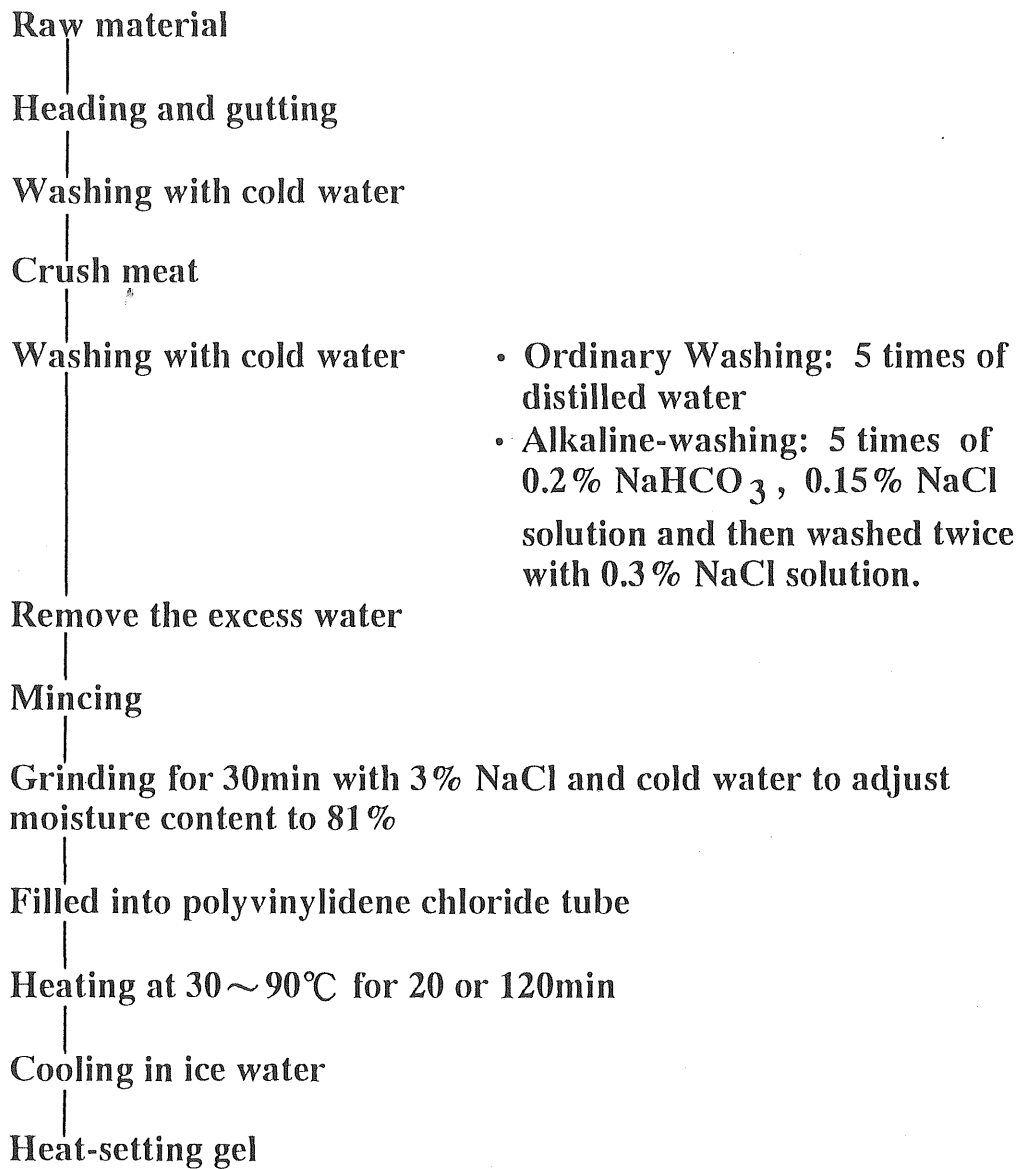


Fig.1. Preparation of heat-setting gel from fresh-water fish.

6種の淡水魚の清水晒およびアルカリ塩水晒塩ずり肉（肉糊）を種々の温度で20および120分間加熱した。得られた温度—ゲル化曲線をFig.2に示した。先ず、清水晒した肉糊についてみると、そのパターンは魚種によって異なった。いずれの肉糊も30および40℃加熱ではゲル化が弱く、肉糊に近い状態であった。50℃以上の加熱ではゲル化が大きく進行し、60～70℃の加熱ではゲル化が完了し、ゲル形成能が最大となった。これらの結果は、志水ら³⁾が行った3魚種（コイ、フナおよびティラピア）から得られた肉糊のゲル化パターンとほぼ同様であった。

次に、アルカリ塩水晒を行なった肉糊についてみると、Fig.2に示されるように魚種および水晒方法により、ゲル形成能が異なった。両者の効果を比較すると、アルカリ塩水晒によってゲル形成能が強められたものはティラピア（50℃加熱）およびギンブナ（60℃加熱）であり、そのゲル形成能は約1.3倍増強した。逆にアルカリ塩水晒によってゲル形成能が低下したものはコイ（60℃加熱）であり、清水晒肉のゲル形成能の0.7倍に低下した。また、アルカリ塩水晒の肉糊の温度—ゲル化パターンは清水晒のものと同様であり、アルカリ塩水晒を行ってもゲルの坐りと劣化（戻り）には影響がないことが明かとなった。

2-3-2. 塩ずり肉糊の二段加熱ゲル形成能

淡水魚の塩ずり肉の二段加熱ゲル化特性を調べるために、前述した6魚種から、坐りにくく、やや戻りやすいタイプのコイ、坐りにくく、戻りにくいタイプのニジマス、坐りにくく、戻りやすいタイプのギンブナの3魚種を選び実験に供した。得られた温度—J.S.グラフをFig.3に示した。同図に示されるように、総体的にみると3魚種のゲル化パターンはほぼ同様であった。50℃の加熱ものでは淡水産魚肉も海産魚肉と同様に二段加熱ゲルのJ.S.が一段加熱に比べてやや高かった。これは、淡水魚肉が50℃加熱では、若干坐りを起こす性質を示すものと考えられた。しかし、60℃および70℃加熱した二段ゲルのJ.S.は、一段加熱のものより逆に低かった。このことから60および70℃加熱で形成されるゲルは坐りゲルではなく、熱凝固ゲルであると考えられた。以上のように、一段加熱でJ.S.の最高値が得られるのは、淡水

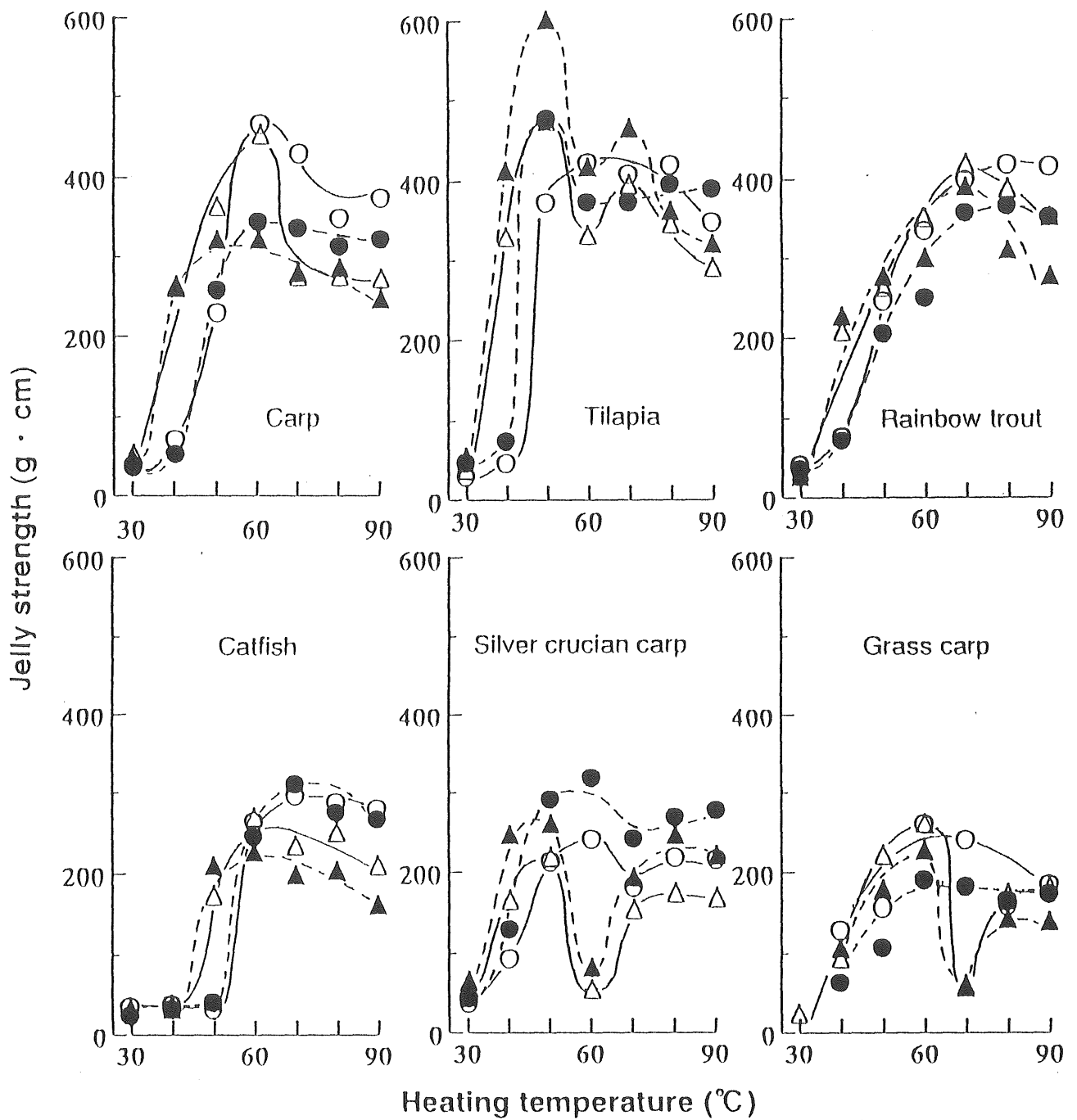


Fig.2. Temperature-gelation curves of meat paste prepared from the meat of fresh water fishes.

(○, ●); 20min heating, (△, ▲); 120min heating; open symbols and closed symbols are fresh water leaching, alkaline salt water leaching respectively.

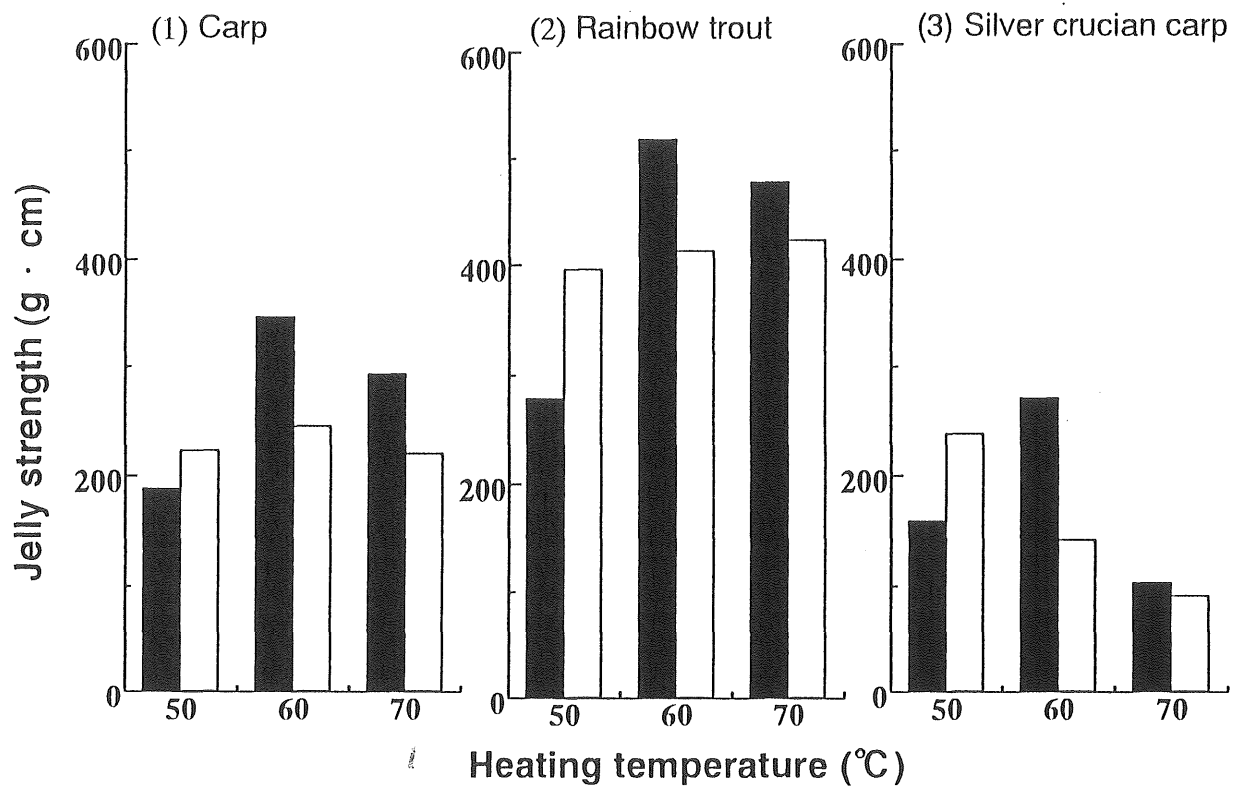


Fig.3. Gel-forming ability of meat paste prepared from the meat of fresh water fishes.

Open bars and closed bars indicate heated gel at various temperatures for 20 min, heated gel at 90°C for 20 min after heating various temperatures for 20 min respectively.

魚肉では50～70℃の温度帯であり、この加熱温度は海産魚肉の坐り温度帯である30～40℃に比べて高かった。

2-4. 考 察

上述の清水晒肉の肉糊のゲル形成能から、志水らの方法⁴⁾に従って求めた坐り指数および戻り指数をTable 1に示した。淡水産魚肉の坐り指数および戻り指数は、志水ら⁴⁾は破断強度で、著者らはJ.S.によって評価している。本実験結果を志水らの結果と比較したところ、若干の差異がみられたことから、坐りやすさについては、坐り指数40℃で<30を“極めて坐りにくい”、30℃で<25を“坐りにくい”、>25を“坐りやすい”、また戻りやすさについては、戻り指数<20を“戻りにくい”、20～70を“戻りやすい”、>70を“極めて戻りやすい”とみなして区分した。本実験の結果を坐りと戻りの難易によって分類すると、ニジマスおよびナマズは坐りにくく、戻りにくいタイプ、コイおよびティラピアは坐りにくく、やや戻りやすいタイプ、ソウギョおよびギンブナは坐りにくく、戻りやすいタイプに区分された。

一方、志水ら⁴⁾は、魚肉のゲル形成能の評価は、一定の条件下で調製した肉糊を60℃（戻りやすい魚の場合は50℃）および90℃の両温度で加熱して得られたゲルのゲル形成能、すなわち潜在ゲル形成能と見掛けのゲル形成能による表示法を提唱している。これについて、本実験に用いた6種の淡水魚のゲル形成能をみると、坐りにくく、戻りにくいタイプのニジマスとナマズを除いて、すべての魚種では60℃加熱のものが90℃加熱よりも高く、ニジマスとナマズでは逆に90℃加熱のものが高かった。また、60℃20分間加熱で得られた6魚種のゲルのJ.S.は、最も低いギンブナの 242g・cm から最も高いコイの 467g・cm を示した。本実験で用いた6魚種のゲル形成能は志水らの報告³⁾によるゲル形成能の低い魚種と同程度であることから、いずれも弱足魚種に属しているとみられる。

また、魚肉練り製品製造における水晒工程は、かまぼこの品質向上のために必須のものである。水晒は、従来からの清水晒に加え、赤身魚肉の品質向上に有効なアルカリ晒⁴⁵⁾および

Table 1. Setting and disintegrating properties of meat paste from various fresh water fishes

Species	Setting-index ¹		Disintegration-index ²
	30°C	40°C	
Carp	12	56	40 ⁵
Tilapia	10	78	22
Rainbow trout	8 ⁴	50 ⁴	19 ⁴
Catfish	11 ³	13 ³	9 ³
Crucian carp	24	69	77
Grass carp	10	36	76 ⁵

.1 {Jelly strength (30°C and 40°C,120min) / Jelly strength(60°C,20min)}×100

.2 {Jelly strength(1-Jelly strength(60°C,120min) / Jelly strength(60°C,20min)}×100

.3-5 Setting- and disintegration-index obtained by substituting Jelly strength(70°C,20min),

Jelly strength(80°C,20min) and Jelly strength(70°C,120min), respectively.

Meat paste was prepared from fish meat by using fresh water leaching.

アルカリ塩水晒^{43,44)}が開発され、さらに弱足魚のゲル形成能の増強のためのカルシウム晒^{46,47)}あるいは脱脂および脱臭を目的とした真空晒⁴⁸⁾などが開発されている。水晒の主要な効果は、ゲル形成の阻害作用を有する筋形質タンパク（ミオゲン）を除去すると同時に、アクトミオシンの質的向上を図ることにある。本研究では、淡水産魚肉のゲル形成能に及ぼす清水晒法とアルカリ塩水晒法の効果を検討した。実験結果に示されるように、本実験供試魚は、清水晒が有効なもの（4種）とアルカリ塩水晒が有効なもの（2種）に分別された。後者のアルカリ塩水晒法^{43,44)}は、海産赤身魚の水晒方法として開発され、イワシやサバなど赤身魚肉のゲル形成能の増強に有効であることが知られている。アルカリ塩水晒の効果は、酸性域にある赤身魚肉のpHをゲル形成能の高い中性域への移動とゲル形成阻害因子とされるミオゲン⁴⁹⁾の溶出にある。ミオゲンの清水晒による溶出性は、白身魚肉と赤身魚肉では異なり、後者のものが溶出しにくい。⁵⁰⁾すなわち赤身魚肉をイオン強度の低い溶液で水晒を行うと、ミオゲンが筋原繊維の表面に凝集不溶化するためである。⁵¹⁾その結果、清水晒を行った赤身魚肉のゲル形成能は低下する。本実験結果に示されるように、アルカリ塩水晒によるゲル形成能増強効果はティラピア（50℃加熱で最大）とギンブナ（60℃加熱で最大）に認められた。アルカリ塩水晒効果は、本2供試魚肉のpHが中性付近であったことから、pHの移動によるものではなく、ミオゲンの溶出によるものと推定された。以上のように、淡水産魚肉のゲル形成能に及ぼす水晒の効果には魚種によって差異がみられたが、今後、さらにタンパク質特性との関わりで検討することが課題であると考えられる。

また、淡水魚は海産魚の坐りの温度帯30～40℃におけるゲル化、すなわち坐りを起こさず、海産魚の戻りの温度帯50～70℃でゲル化が完了し、J.S.が最大となった。これは海産魚と大きく異なる点であった。

ゲル形成能の低い魚肉を用いたかまぼこ製造では、坐りを行う二段加熱が用いられている。これは、二段加熱のものが一段加熱（直蒸し）のものよりもJ.S.の高いゲルを形成するからである。しかし、淡水産魚肉肉糊の加熱ゲル形成には、直蒸しの有用性が認められた。すなわち淡水魚肉は上述のように坐りを起こさないため、二段加熱を行うと一段加熱のものより

J.S.が低下することから、最大のゲルを形成する加熱温度では、二段加熱は不適であることがわかった。

一般に、坐りは、肉糊が塑性を失って弾性に富んだゲルに変わる現象であり、肉に内在するTGaseによってミオシンHC間に ϵ -(γ -glutamyl)lysine 架橋（以下、 ϵ -(γ -Glu)Lys 架橋）が形成され、ネットワーク構造をとることが主な成因の一つであると考えられている^{26,52-55}。塚正らは²⁷、淡水魚コイ肉糊で ϵ -(γ -Glu)Lys 架橋による坐りが認められないのは、ミオシンの熱安定性が高く TGase の作用を受けにくいこと、肉中のTGase全活性が著しく低いことに起因していることを報告している。本実験に用いた淡水産魚肉肉糊はいずれも坐りを起こさなかったことから、コイ肉と同様の作用機構が推測される。

第三章 低温貯蔵中における淡水魚肉のゲル形成能の変化

3-1. 緒言

一般に、魚類は漁獲後の鮮度低下が速い。鮮度を保持する方法として、漁獲後に氷蔵や凍蔵が行われている。海産魚については低温貯蔵特性に関する研究は多いが、淡水魚については、志水らが即殺コイを1日氷蔵し、冷凍耐性について調べたもの⁴¹⁾しか見当たらない。一方、漁獲された魚類は死後に魚体の硬直が起こる。これは魚の死後変化の過程で見られる最も顕著な現象であり、重要な鮮度指標でもある。そのためこの現象が低温貯蔵温度との関係については数多くの研究⁵⁶⁻⁵⁸⁾がなされており、その硬直機構についてはATP関連化合物の消長との関係で詳細に説明されている。⁵⁸⁻⁶⁰⁾また、魚体の状態の変化（例えば手で持った時の垂れ下がり方）と魚肉の物性の変化（例えば指で押ししたり、歯で咬んだ時の感触）の間の関係についての研究^{61,62)}も報告されている。しかし、低温貯蔵特性と死後変化過程の硬直、解硬および軟化段階の魚肉のゲル形成能については、ほとんど研究されていない。

そこで、本章では前章に用いた6種類の淡水魚中の坐りにくく、やや戻りやすい性質を持つコイ、坐りにくく、戻りにくい性質を持つニジマスおよび坐りにくく、戻りやすい性質を持つギンブナの3魚種を用いて、魚肉の氷蔵および死後変化に伴うゲル形成能の変化について詳細に調べることを目的とし、この3魚種の死後変化を硬直指数とK値の測定から追跡し、塩ずり肉のゲル形成能を検討した。

3-2. 実験方法

3-2-1. 供試魚

供試魚は第二章で用いたコイ、ニジマスおよびギンブナ3魚種を延髄刺殺法によって即殺し、当日（即殺直後）、氷蔵状態下での硬直初期、硬直中、解硬初期および1～7日目の魚肉を用いた。

3-2-2. 氷蔵

氷蔵は、金属製の穴開きバットに即殺した供試魚を入れ、その上を氷で覆い、低温室（約5℃）に貯蔵した。

3-2-3. 硬直指数の測定

尾藤ら⁶²⁾および岩本ら⁵⁸⁾の方法に従い、いわゆる改良Cutting法で行った。硬直指数はFig.4に示すように体長の1/2のところで魚体を水平に支え、水平線から尾柄部までの鉛直距離（L）を測定し、次式に従い即殺時の値（L₀）との比で示した。

$$\text{硬直指数} = \frac{L_0 - L}{L_0} \times 100$$

供試魚は即殺後低温室に放置して、2時間ごとに測定を行った。

3-2-4. K値の測定

背部の普通肉を1～2g取り、10%TCA溶液5mlを加え乳鉢中でよくすり潰した。これをWhatman No.1濾紙で濾過し、濾液を10N KOHおよび1N KOHでpH7.0に調整したのち、鮮度測定器（オリエンタル電気製KV-101）を用いて測定した。

3-2-5. 一般成分の測定

水分含量は落し身を5g取り、赤外線水分計（ケット科学研究所製Kett-FD-1B型）を用いて測定した（120～130℃、約30min）。また、粗脂肪含量はソックスレー法、粗タンパク質

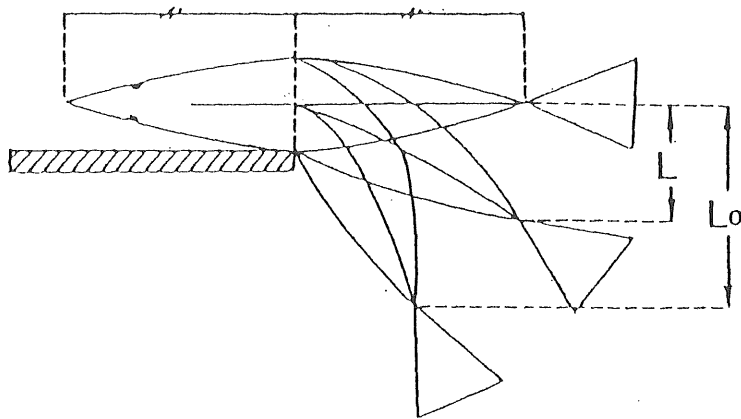


Fig. 4. Illustration of the measurement of the rigor index.

L; The distance from the horizontal line to the base of the tail was measured at selected time intervals after death.

L_0 ; The value immediately after death.

含量はKjeldahl法，灰分含量は乾式灰化法（550℃）によって測定した。

3-2-6. 加熱ゲルの調製

第二章に示したものと同様の方法で調製した。なお，水晒は清水晒とし，肉糊は淡水産魚肉では最も良好なゲルを形成した温度60℃でそれぞれ20分間および120分間の加熱を行ってゲルを形成させた。

3-2-7. 加熱ゲルのゲル形成能の測定

形成させたゲルのゲル形成能は第二章と同様な方法でJ.S.を測定した。

3-3. 結果

3-3-1. 供試魚の一般成分

供試したコイ，ニジマスおよびギンブナの落し身の一般成分は，水分含量はそれぞれ74.3%，79.4%および81.3%，粗タンパク質含量はそれぞれ17.1%，17.6%および15.9%，灰分含量はそれぞれ1.1%，1.3%および0.9%，粗脂肪含量はそれぞれ7.0%，0.9%および1.8%であった。粗タンパク質含量と灰分含量は3魚種では大きな差がなく，粗脂肪含量と水分含量は3魚種間で差異がみられ，特に，コイの粗脂肪含量が多かった。

3-3-2. 氷蔵中の魚体の硬直指数と鮮度の変化

氷蔵中の硬直指数の変化をFig.5に示した。この結果をみると，コイ，ニジマスおよびギンブナの硬直指数の変化速度は異なり，コイおよびニジマスでは即殺してすぐ硬直が始まり，死後ほぼ10時間で硬直指数が100%に達し，その後は速やかに低下した。これに対して，ギンブナは大幅に遅く，44時間を経ってから硬直が始まり，72時間で90%程度に達した。また，ギンブナは144時間を経過しても，硬直指数は約60%を保持した。

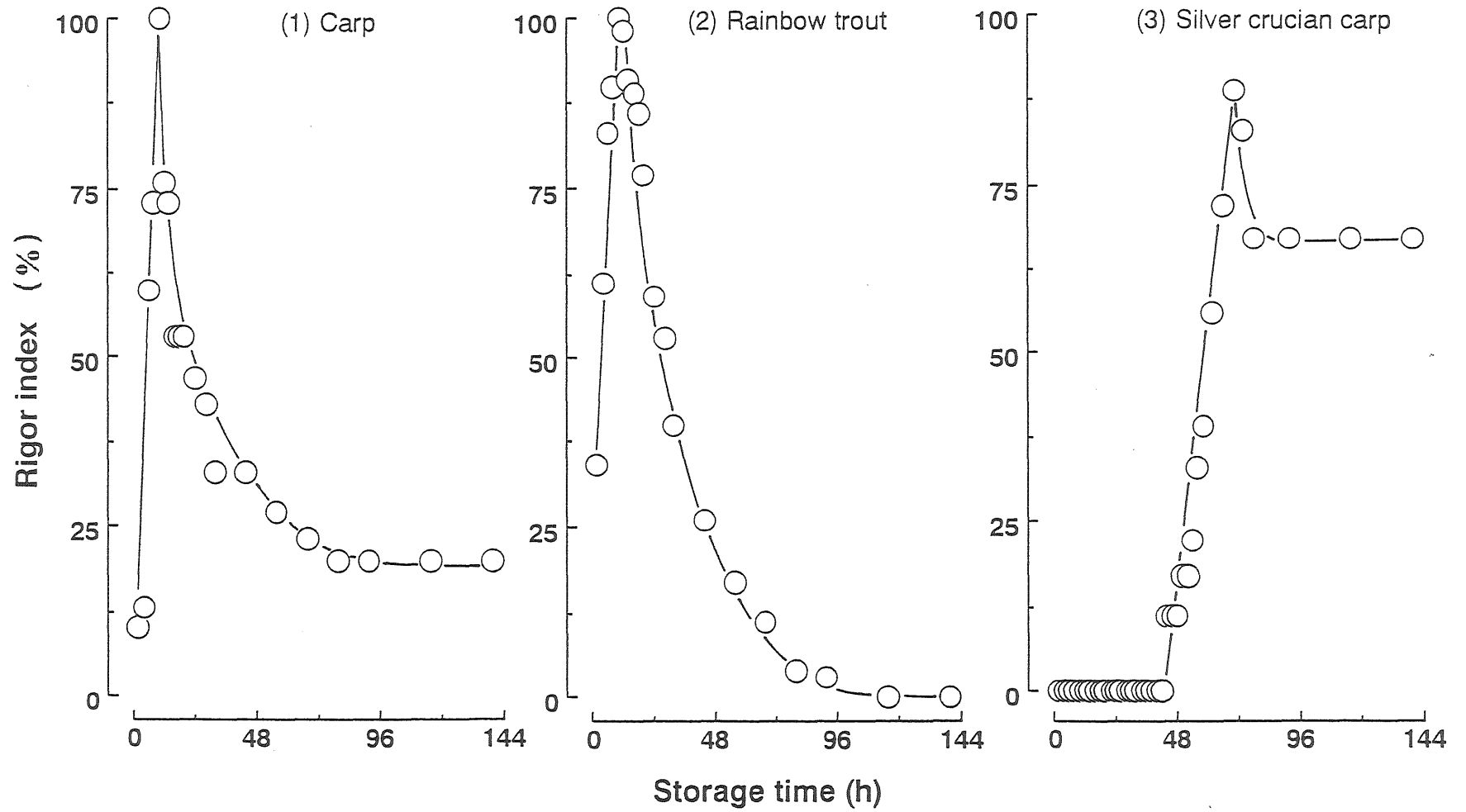


Fig. 5. Change in the rigor index of various fresh water fishes.

次に、鮮度指標として各魚種の当日（即殺直後）、氷蔵状態下での硬直初期、硬直中、解硬初期および1~7日間経過した肉のK値を測定し、その結果をFig.6に示した。なお、硬直初期、硬直中および解硬初期を硬直指数で判断する場合、硬直し始めた時、つまり即殺直後の硬直指数の測定値が増加し始めた時点（硬直初期）、硬直指数が最高値になった時点（硬直中）、硬直指数が最高値から低下し始めた時点（解硬初期）と見なして区分した。同図に示されるようにK値は即殺時にコイ0.4%、ニジマス0.2%、ギンブナ0.3%であった。その後はいずれも貯蔵期間の経過に伴い徐々に上昇し、3日目になるとコイ24%、ニジマス22.7%であった。ギンブナは氷蔵初期では、コイおよびニジマスと比べて極めて緩慢に上昇し、氷蔵3日間を経過しても、わずか4.4%であったが、氷蔵7日目ではコイおよびニジマスのほぼ1/2（28.2%）程度にまで上昇した。

3-3-3. 氷蔵中における加熱ゲルのゲル形成能の変化

氷蔵状態下での硬直初期、硬直中、解硬初期および1~7日目に取り出した魚体から肉糊を調製し、淡水産魚肉では最も良好なゲルを形成した温度60℃でそれぞれ20分間および120分間加熱を行って、調製したゲルのゲル強度（J.S.）をFig.7に示した。本結果に示されるように、コイJ.S.の変化は20分間加熱および120分間加熱双方とも同様の傾向を示し、J.S.の最も高いものは氷蔵1日目のものであり、20分間加熱のJ.S.は506（g・cm）、120分間加熱のJ.S.は362（g・cm）となった。J.S.が最も低くなったのは氷蔵5日目のものであり、20分間加熱のJ.S.は250（g・cm）、120分間加熱のJ.S.は130（g・cm）であった。

ニジマスのJ.S.は、氷蔵1日目にピークを示し、20分間加熱のJ.S.は528（g・cm）、120分間加熱のJ.S.は592（g・cm）を示した。その後の氷蔵ではJ.S.は急激に低下し、氷蔵3日目には20分間加熱のものが177（g・cm）、120分間加熱のものが202（g・cm）を示した。氷蔵7日目になると20分間加熱で55（g・cm）、120分間加熱で78（g・cm）にまで低下した。また、氷蔵7日目の肉から調製したゲルはいずれも崩れたような状態がみられた。

ギンブナのJ.S.の変化はコイおよびニジマスと異なり、20分間加熱では、氷蔵3日目まで

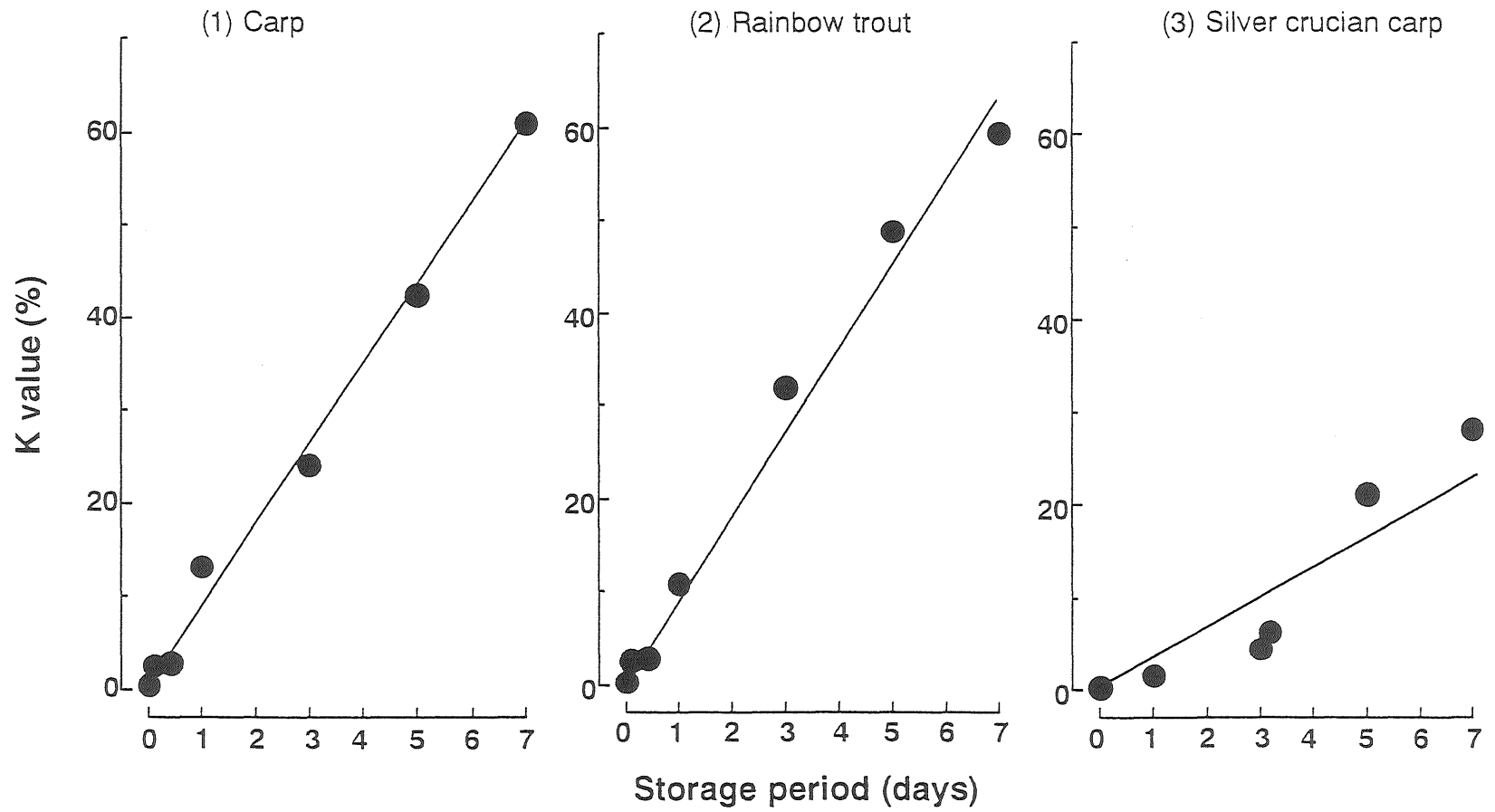


Fig. 6. Change in K value of various fresh water fishes meat during iced storage.

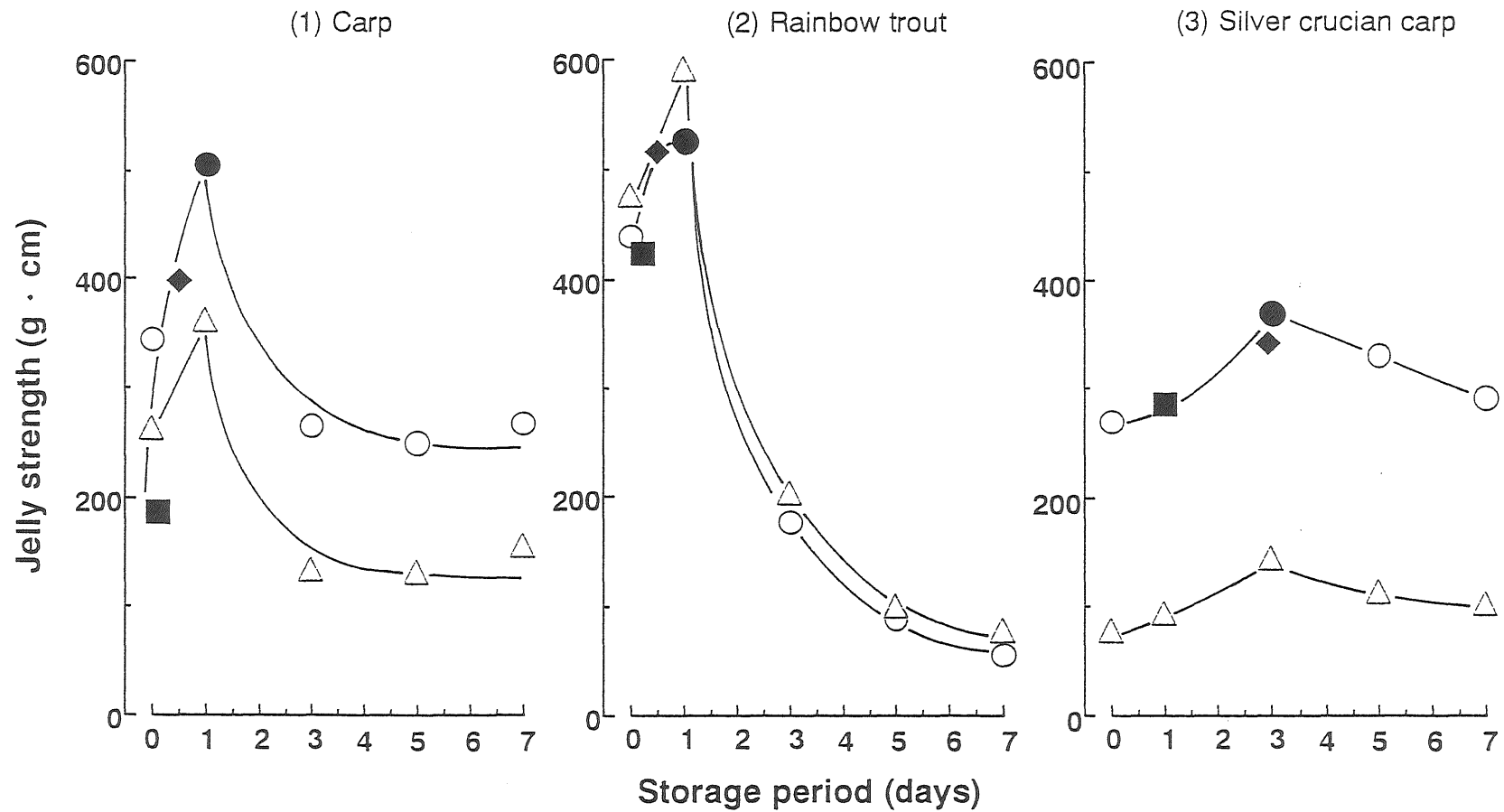


Fig. 7. Change in the jelly strength of kamaboko prepared from various fresh water fishes during iced storage. The kamaboko gels were prepared by heating at 60°C for various times.

Symbols: (○) 20min heating, (△) 120min heating, (■) Pre-rigor, (◆) Rigor, (●) Post-rigor.

徐々に上昇する傾向がみられ、氷蔵3日目で即殺直後の約1.4倍 (371(g・cm)) にまで上昇した。その後のJ.S.は貯蔵期間の経過に伴い徐々に低下し、氷蔵7日目で氷蔵当日のものと同レベル (293(g・cm)) にまで低下した。120分間加熱のJ.S.の変化は20分間加熱とほぼ同様の傾向を示したが、いずれもゲル形成能が低いことが認められた。

これらのJ.S.値の変化を氷蔵中の各魚種の硬直指数を経時的に測定した結果と比較すると、コイではJ.S.は死後から解硬初期まで急激に上昇する傾向がみられ、解硬初期の20分間加熱のJ.S.が506 (g・cm) で、即殺時の約1.5倍にまで上昇した。また、解硬初期は氷蔵1日目であることが分かった。

また、ニジマスでも解硬初期では死後変化により試料のJ.S.が増加し、20分間加熱のJ.S.が528 (g・cm) を示し、即殺時の約1.2倍となった。また、解硬初期はコイのと同じ氷蔵1日目であることが分かった。

ギンブナのJ.S.は死後変化により解硬初期まで徐々に増加し、解硬初期で20分間加熱のJ.S.が371 (g・cm) を示し、即殺時の約1.4倍にまで増加した。解硬初期は氷蔵3日目であることが分かった。

3-4. 考察

氷蔵中の各魚種のK値の変化は魚種によってそれぞれ異なり、コイ、ニジマスでは速く、ギンブナでは氷蔵初期に極めて緩慢であった。さらに、3魚種の氷蔵中におけるK値の変化を比較するために、富岡と遠藤の方法⁶³⁾により、K値変化速度 (%/day) を算出したところ、コイは8.7%/day、ニジマスは8.5%/day、ギンブナは4.0%/dayを示した。3魚種のK値変化速度を比較すると、コイおよびニジマスの鮮度低下はほぼ同程度で、ギンブナのそれと比べて速く、約ギンブナの2倍であった。この結果は富岡と遠藤⁶³⁾の算出したものとほぼ一致している。このようにK値変化の遅速は淡水産魚類でも認められた。このことは内山⁶⁴⁾がすでに指摘していることと一致している。

硬直指数の変化から各魚種の死後硬直の進行速度について検討してみると、コイとニジマスは死後硬直の進行が極めて速く、死後2時間に硬直が始まり、10時間を経て完全に硬直した。その後は速やかに解硬して、82時間（ニジマスは118時間）を経過して解硬完了した。それらの結果とギンブナの死後硬直の進行を比べると、ギンブナの死後硬直の進行は極めて緩慢で、44時間を経過してから硬直が始まり、72時間経過後も硬直指数は90%程度を示した。その後の解硬は144時間を経過しても硬直指数60%を保持した。尾藤ら⁶²⁾は多種類の海産魚類について死後の硬直指数の変化を検討し、魚種により硬直、解硬のパターンに違いのあることを報告している。本実験で用いた淡水魚でも魚種による硬直、解硬のパターンの違いが認められた。特に、尾藤ら⁶²⁾の報告のように、ギンブナも解硬の不明瞭な魚種に属するものと考えられる。

次に、氷蔵中の各魚種のゲル形成能の変化を氷蔵日数—ゲル化曲線からみると、3魚種の20分間および120分間加熱の本来の持つゲル形成能は、氷蔵期間の経過に関わらず同じパターンを示した。氷蔵1日目では3魚種のゲル形成能はいずれも増加し、コイは約1.5倍、ニジマスは1.2倍、ギンブナは1.1倍に増加し、氷蔵3日目ではコイおよびニジマスでは顕著なゲル形成能の低下が認められた。しかし、ギンブナでは全く異なり、ゲル形成能はさらに増加する傾向がみられ、J.S.が371 (g・cm) で即殺直後の約1.4倍に増加した。また、氷蔵7日目では低下する傾向が認められた。コイ、ニジマスでは氷蔵1日目、ギンブナでは氷蔵3日目にそれぞれのゲル形成能が最大となり、これらはいずれも解硬初期のものであった。また、氷蔵7日目ではコイのK値は61%程度にまで低下し、食用に用いられなくなった。ニジマスではゲル形成能がさらに低下し、J.S.が78 (g・cm) を示し、ゲルが崩れるほどの状態であった。また、K値も59.4%程度にまで低下し、コイと同様食用には適さなかった。ギンブナではゲル形成能が低下する傾向がみられた。しかし、即殺直後のものと比べてゲル形成能の劣化は全くみられず、むしろゲル形成能の増加がやや認められた。また、そのK値は28.2%であった。従って、3種類の淡水魚肉のゲル形成能からみた有効氷蔵期間は、海産魚のエソ⁵⁻⁷⁾の約1週間と比べてコイおよびニジマスは極めて短く1日間、ギンブナは

さらに長く7日間以上であると推測でき、ねり製品原料の面からみた氷蔵耐性はコイおよびニジマスは極めて低く、ギンブナはコイおよびニジマスより比較的高いと考えられる。一方、これらの結果から淡水魚の各魚種の適切な氷蔵期間を把握し、ゲル形成能がある程度まで増加できることが考えられる。すなわちコイやニジマスなどは氷蔵1日目、ギンブナなどは氷蔵3日目のものを用いて、調製したかまぼこは氷蔵当日のものを用いた場合よりいいかまぼこが得られると考えられる。

かまぼこの足は、ミオシンが作ると考えられている。その理由はかまぼこを作る際、ミオシンとアクチンを分離する操作が加えられると、ミオシンの持つ保水機能がよみがえり、加熱しても離水が生じなくなり、遊離のミオシンが多くなるほど、魚肉の保水性が増えるばかりでなく、弾力の強いゲルを作るからである。ATPは筋肉の主要タンパク質であるミオシンとアクチンの結合と解離に重要な役割を演ずることが知られている。死後の魚体の筋肉中においては、生化学的変化も起こる。特に死直後においては、エネルギー代謝関連物質の量的変動が起こる。⁵⁴⁾すなわち、死後硬直は筋収縮のエネルギー源であるATPの消失によりアクチンとミオシンの結合が不可逆的となり、筋肉の伸張性が失われることにより起こる。伸張性が低下し始める硬直開始期は、ATPの再生量が減少して分解量を補填し得なくなった段階で、硬直の進行はATPの再生源であるクレアチンリン酸とグリコーゲンの量に依存する。魚種についてもソウダガツオ、¹⁰⁾サバ、^{11,12)}マダイ、^{11,12)}コイ、¹²⁻¹⁴⁾ハマチ⁶⁵⁾でATPの消失と完全硬直に達する時点とが一致することが報告されている。これらのことから、本実験では死後変化段階に魚肉ゲル形成能が最も高いものはいずれも解硬初期のものであり、K値は5%~10%であった。つまり、魚類は死後、体内ATPが消失した直後に最大ゲル強度になると考えられる。さらに、ゲル形成はATPが分解して産出したADP、AMP、IMP、イノシン、ヒポキサンチンなどの物質に関与するのかもしれない。この問題は重要であり、今後さらに検討を続ける必要がある。

第四章 凍結貯蔵中における淡水魚肉 すり身のかまぼこ原料適性

4-1. 緒 言

先に、日本産の数種の淡水魚を用いて、加熱ゲル化特性、有効な水晒方法などについて比較検討した結果、淡水魚水晒肉のゲル形成能は海産練り製品原料魚のエソやシログチのゲル形成能より低い、イワシやサバのそれと同レベルであったことから、淡水産魚は練り製品原料としての適性を有することを報告した。しかし、大部分の淡水魚は凍結貯蔵中変性が速く起こり、冷凍耐性が弱いため、淡水魚の練り製品原料としての利用には冷凍耐性の改善が極めて重要であると考えられる。一方、糖類や重合リン酸塩などの変性抑制物質が魚肉タンパク質の冷凍変性を防止する事実は以前からよく知られており、その優れた実用例はスケトウダラ冷凍すり身の製造および貯蔵にみられる⁶⁶⁾が、淡水産魚類の冷凍すり身化に関する研究は少ない。⁴¹⁾

そこで、本章では淡水産魚類のかまぼこ原料としての有効利用を図るため、試料にコイ、ニジマスおよびギンブナを用いてすり身を調製し、凍結貯蔵中におけるかまぼこ原料適性を比較検討した。

4-2. 実験方法

4-2-1. 供試魚

供試魚は、第二章で三つに分けられたグループからそれぞれコイ、ニジマスおよびギンブナを選び、材料として用いた。

4-2-2. すり身の調製と凍結貯蔵

活魚を即殺して頭部と内臓を除いたのち、二枚におろし、冷水中で洗浄後、スタンプ式採肉機（採肉穴直径5mm）を用いて落し身を採取した。落し身に対して5倍量の冷蒸留水で、3回水晒を行った。過剰の水を除くため油圧式脱水機で加圧脱水後、水晒肉を低温室（約5℃）で肉挽機（穴直径3mm）にかけて挽肉とした。挽肉に対して4%ショ糖、4%ソルビトールおよび0.2%重合リン酸塩を添加後、低温室（約5℃）で10分間擂潰し、添加すり身を調製した。対照として、無添加のものを同様に調製した。これらを小分け（180g）にして、ポリエチレン製袋に入れて密封し、-80℃の冷凍庫で急速凍結し、すり身中心部が-25℃に到達後、-25℃の冷凍庫に移して貯蔵した。なお、貯蔵日数は、凍結直後からの日数で示した。

4-2-3. 加熱ゲルの調製

凍結貯蔵中の冷凍すり身を一定期間毎に取り出し、細切して室温で約30分間解凍した。解凍すり身に対して3%NaClと、水分含量を、無添加のものは81%、変性抑制物質を添加したものは78%になるように冷蒸留水を加え、低温室（約5℃）で20分間擂潰した。得られた肉糊は折れ径50mmの塩化ビニリデンケーシングに充填し、60℃で20分間加熱後、直ちに氷水中で約30分間急冷し試料とした。なお、本報のかまぼこ調製における加熱は、淡水魚では最も良好なかまぼこゲルを形成する温度帯である60℃（第二章）で行った。試料は一夜低温室（約5℃）に放置後、室温に戻してからゲル形成能の測定に供した。なお、凍蔵前の変性抑制物質無添加および添加すり身のかまぼこの水分含量を同一にすると、後者のゲル形成能が低くなる傾向がみられたことから、ゲル形成能をほぼ同一レベルにするため、前者の水分含量を81%、後者のそれを78%に調整した。

4-2-4. 加熱ゲルのゲル形成能の測定

凍結貯蔵中のすり身のゲル形成能は第二章と同様な方法でジェリー強度（Jelly

strength; 以後J.S.と略)を測定した。

4-2-5. 筋原繊維 Ca-ATPase全活性および溶解度

筋原繊維 (Myofibrils; 以後Mfと略) Ca-ATPase全活性は凍結貯蔵中のすり身4gを用いて加藤らの方法⁶⁷⁾で調製したMfについてMfCa-ATPase比活性を測定し, Mfタンパク質量を乗じて求めた。⁶⁸⁾MfCa-ATPase比活性は, 終濃度100mM KCl, 5mM CaCl₂, 25mMTris-maleate緩衝液 (pH 7.0), 1mM ATP, Mf0.2~0.4mgの存在下で25°Cで反応させたのち, 終濃度が5%となるようにトリクロロ酢酸を加えて反応を停止させ, 遊離する無機リン酸量を比色定量⁶⁹⁾して求めた。Mfの溶解度は, 関らの方法⁷⁰⁾に準じて次のように行った。Mf懸濁液 (10 mg/ml) に3M KCl-20mM Tris-maleate緩衝液 (pH 7.0) を終濃度が0.6M KClとなるように加え, 水中に24時間放置後, 遠心分離 (10,000×g, 20分間) し, 上清のタンパク質量を求め, 遠心分離前のタンパク質量に対する百分率で表した。Mfタンパク質量の測定は牛血清アルブミン (フラクシオンV) を標準としてビュレット法⁷¹⁾で行った。なお, 用いた牛血清アルブミンの純度はKjeldahl法によって補正した。

4-2-6. 冷凍すり身中の不凍水量

不凍水量の測定は, 示差走査熱分析装置 (セイコー電子工業製DSC-120 型) を用いて, 若松ら⁷²⁾の方法に準じて次のように行った。凍結貯蔵中のすり身5gを経時的に取り出し, その中から試料約20mgをアルミニウム製密封試料容器に詰めて精秤したのち, スタート温度-40°C, 最終温度25°C, 昇温速度1.0°C/minとして融解熱量を測定した。本法により蒸留水の融解熱量を測定した結果, 本実験法では蒸留水約25mgまで融解熱量と純水量との間には直線関係が認められ, 直線の傾きから融解熱量を求めたところ80.1cal/gH₂Oであり, 既報⁷²⁾の81.1cal/gH₂Oと近似した。試料の水分含量は常圧加熱乾燥法 (105°C) で測定した。融解熱量を試料中の自由水によるものとみなして, 試料中の水分含量から減じて求めた値を不凍水量とし, 試料の乾物重量 (以下DMと略) に対する試料中の水の重量 (gH₂O)

を試料の不凍水量 (gH₂O/gDM) として表示した。

4-3. 結果

4-3-1. 凍蔵中のすり身のゲル形成能

コイ、ニジマスおよびギンブナのすり身を180日間凍結貯蔵し、経時的に取り出して、かまぼこを調製した。それらのJ.S.を測定した結果をFig.8に示した。これらの結果を総合的にみると、コイ、ニジマスおよびギンブナ冷凍変性抑制剤無添加すり身の凍結前のJ.S.はそれぞれ334, 448および284 (g・cm)であったが、凍蔵15日目までにそれぞれ凍結前の68, 46および47%に急激に低下した。その後、凍蔵期間の経過とともに緩慢に低下し、凍蔵180日目におけるコイ、ニジマスおよびギンブナのJ.S.はそれぞれ144, 132および88 (g・cm)で、凍結前のそれらの43, 29および31%であった。これに対して、コイ、ニジマスおよびギンブナの冷凍変性抑制剤添加すり身の凍結前のJ.S.はそれぞれ268, 323および244 (g・cm)であったが、凍蔵期間の経過とともに緩慢に低下した。凍蔵180日目のJ.S.はそれぞれ230, 223および117 (g・cm)で、凍結前のそれらの86, 69および48%であった。

以上のように、3魚種のいずれのすり身も、冷凍変性抑制剤の添加により変性が抑制され、無添加すり身に比べてゲル形成能が高かった。また、その程度は、コイ>ニジマス>ギンブナの順に高く、魚種により相違した。

4-3-2. 凍蔵中のすり身の筋原繊維 Ca-ATPase全活性

凍蔵中のMf Ca-ATPase全活性を経時的に測定し、凍結前のそれらに対する相対値 (%)をFig.9に示した。コイ、ニジマスおよびギンブナ変性抑制剤無添加すり身のMf Ca-ATPase全活性は凍蔵期間の経過に伴って低下し、凍蔵180日目ではそれぞれ凍結前のそれらの52, 9 および36%であった。これに対して変性抑制剤添加すり身のMf Ca-ATPase全活性は、凍蔵期間の経過とともに低下するが、その程度は無添加すり身に比べて高く、凍蔵180日目の

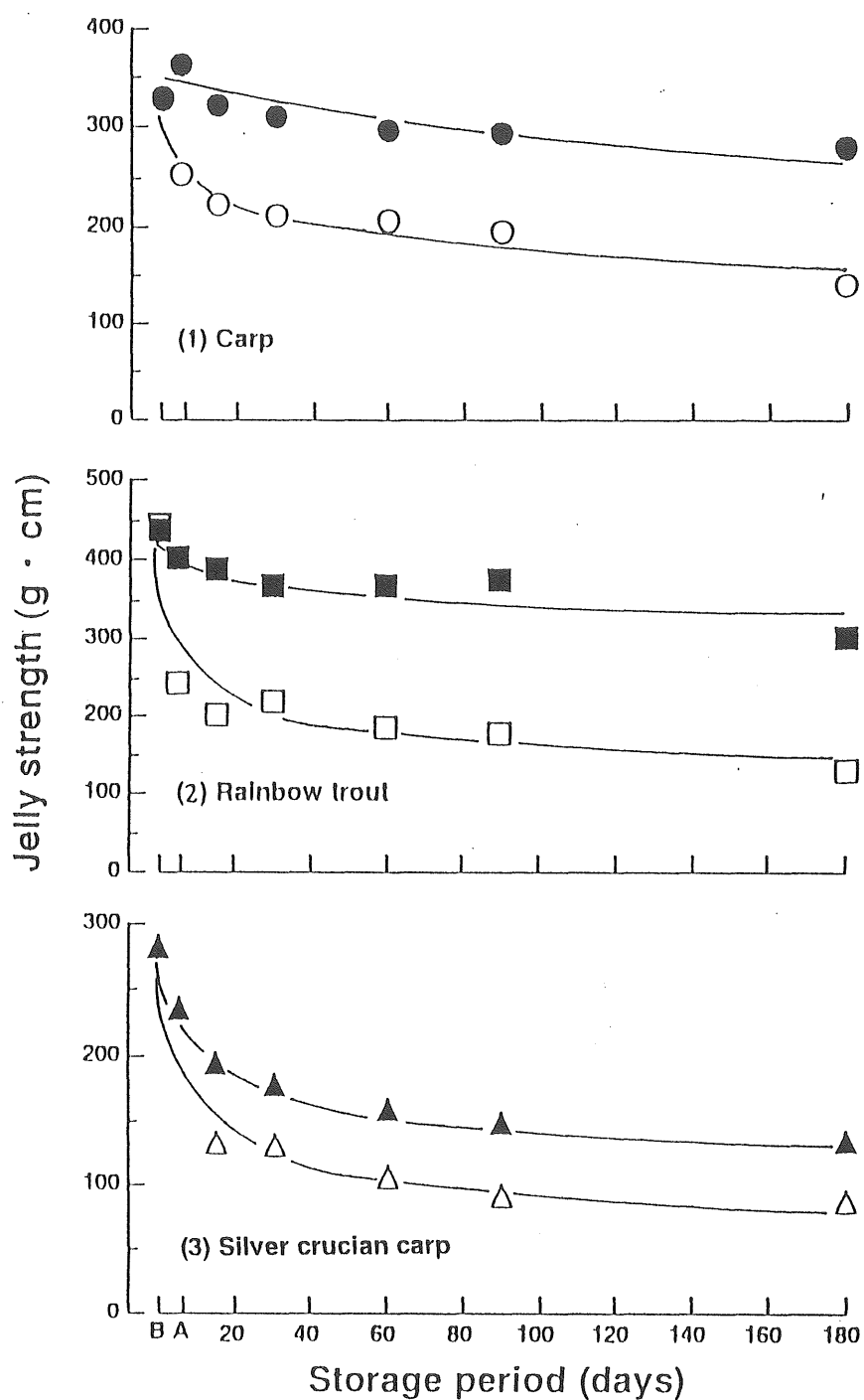


Fig. 8. Change in the jelly strength of kamaboko prepared from the surimi of carp, rainbow trout, and silver crucian carp during frozen storage at -25°C .

The open and closed symbols indicate the surimi without and with additives (4% of sucrose, 4% of sorbitol and 0.2% of sodium polyphosphate) respectively.

The letters A and B in the figure show frozen and unfrozen surimi respectively

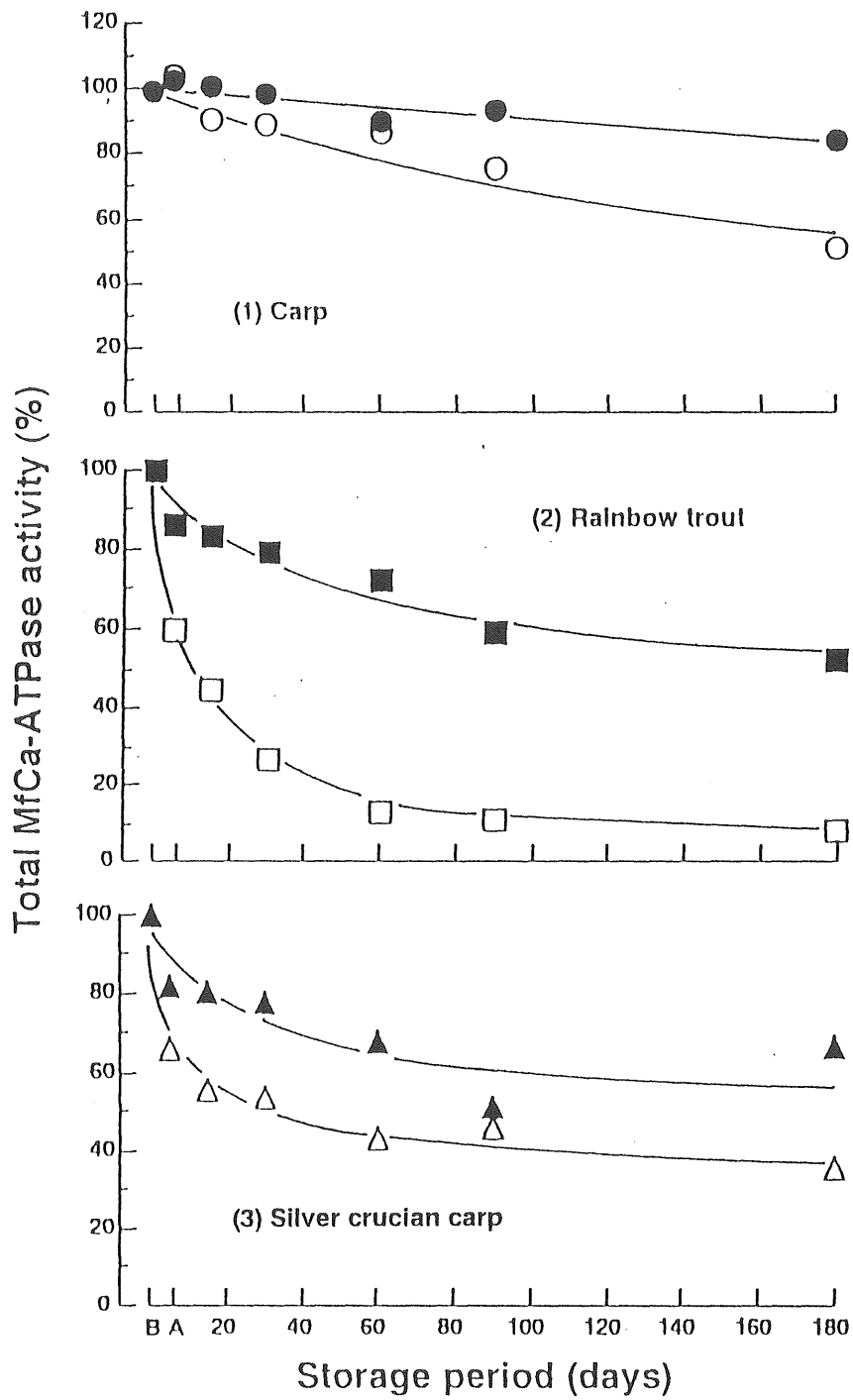


Fig. 9. Change in the total myofibrillar Ca-ATPase activity of the surimi from carp, rainbow trout and silver crucian carp during frozen storage at -25°C .

Symbols and letters A and B are the same as in Fig. 8.

Mf Ca-ATPase全活性はそれぞれ凍結前のそれらの85, 53および67%であった。

4-3-3. 凍蔵中のすり身の溶解度

凍蔵を180日間行い、凍蔵中におけるコイ、ニジマスおよびギンブナのMfタンパク質の溶解度を測定した結果をFig.10に示した。コイ、ニジマスおよびギンブナ変性抑制剤無添加すり身ではいずれも凍蔵期間の経過とともに低下した。凍蔵180日目の溶解度はそれぞれ30, 23および65%で、凍結前のそれらの33, 37および68%であった。これに対して、添加すり身ではコイおよびギンブナではわずかに低下したが、ニジマスでは大きく低下した。凍蔵180日目の溶解度はそれぞれ87, 39および92%で、凍結前のそれら94, 59および94%であり、無添加すり身のそれに比べて高かった。

4-3-4. 凍蔵中のすり身の不凍水量

凍蔵中の変性抑制物質無添加および添加すり身中の不凍水量を経時的に測定し、凍蔵日数に対してプロットしてFig.11に示した。変性抑制物質の添加により、すり身中の不凍水量（コイは0.642gH₂O/gDM, ニジマスは0.732gH₂O/gDM, ギンブナは0.729gH₂O/gDM）は無添加すり身（コイは0.622gH₂O/gDM, ニジマスは0.643gH₂O/gDM, ギンブナは0.688gH₂O/gDM）に比べて若干増加した。コイ、ニジマスおよびギンブナの変性抑制物質無添加すり身中の不凍水量は凍蔵期間の経過とともに減少し、凍蔵180日目の不凍水量はそれぞれ凍結前のそれらの32, 47および44%であった。これに対して変性抑制物質添加すり身では、凍蔵中緩慢に減少し、凍蔵180日目の不凍水量はそれぞれ凍結前のそれらの57, 69および69%であり、添加すり身中の不凍水量はいずれも無添加のそれより多かった。以上のように、変性抑制物質中シヨ糖およびソルビトールはすり身中の水を束縛し、不凍水を多くする効果を有することが認められた。なお、重合リン酸塩はすり身中に0.2%添加されているが、予備実験の結果、本添加量では不凍水増加効果がみられなかった。

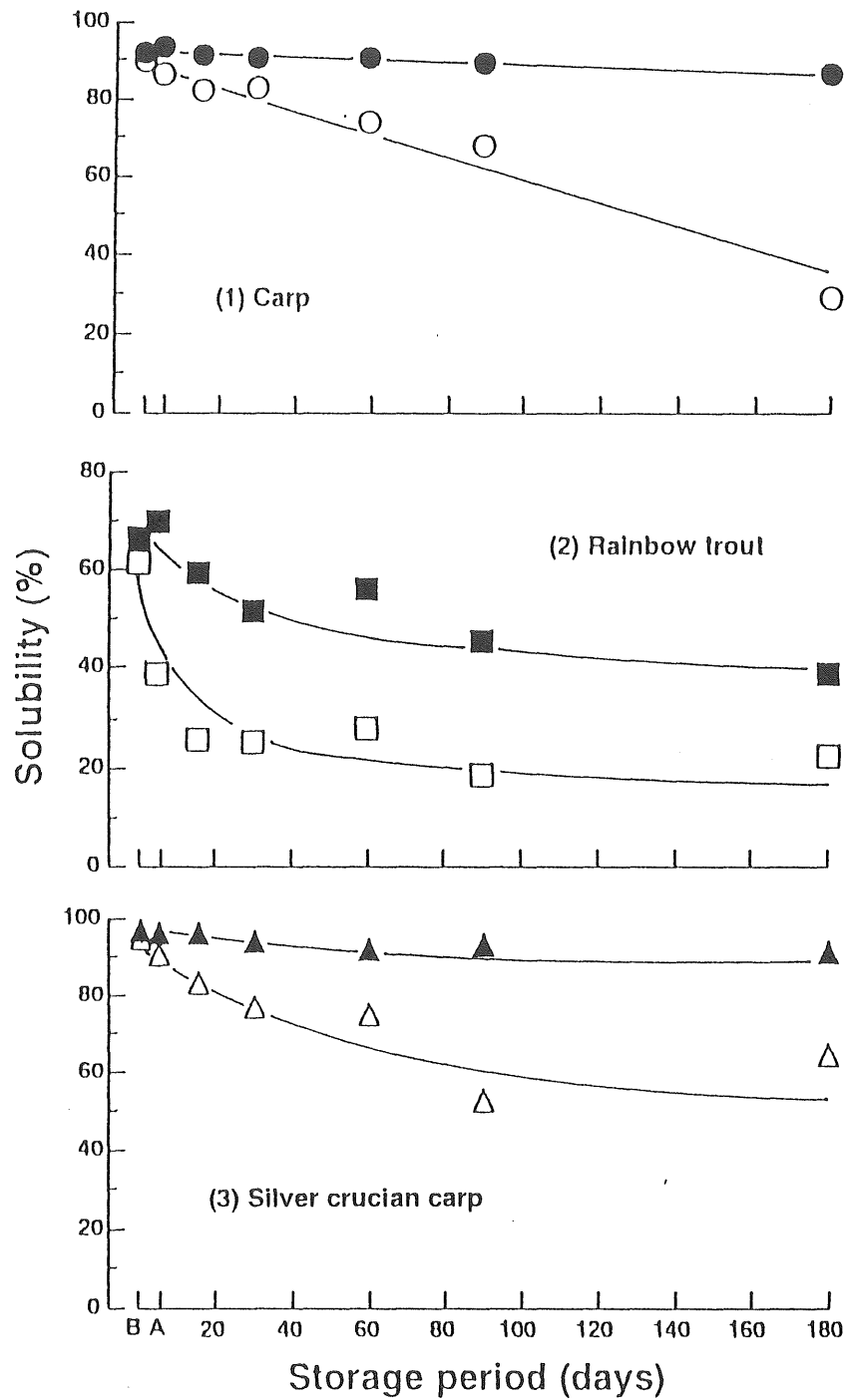


Fig. 10. Change in the solubility of protein of the surimi from carp, rainbow trout and silver crucian carp during frozen storage at -25°C . Symbols and letters A and B are the same as in Fig.8.

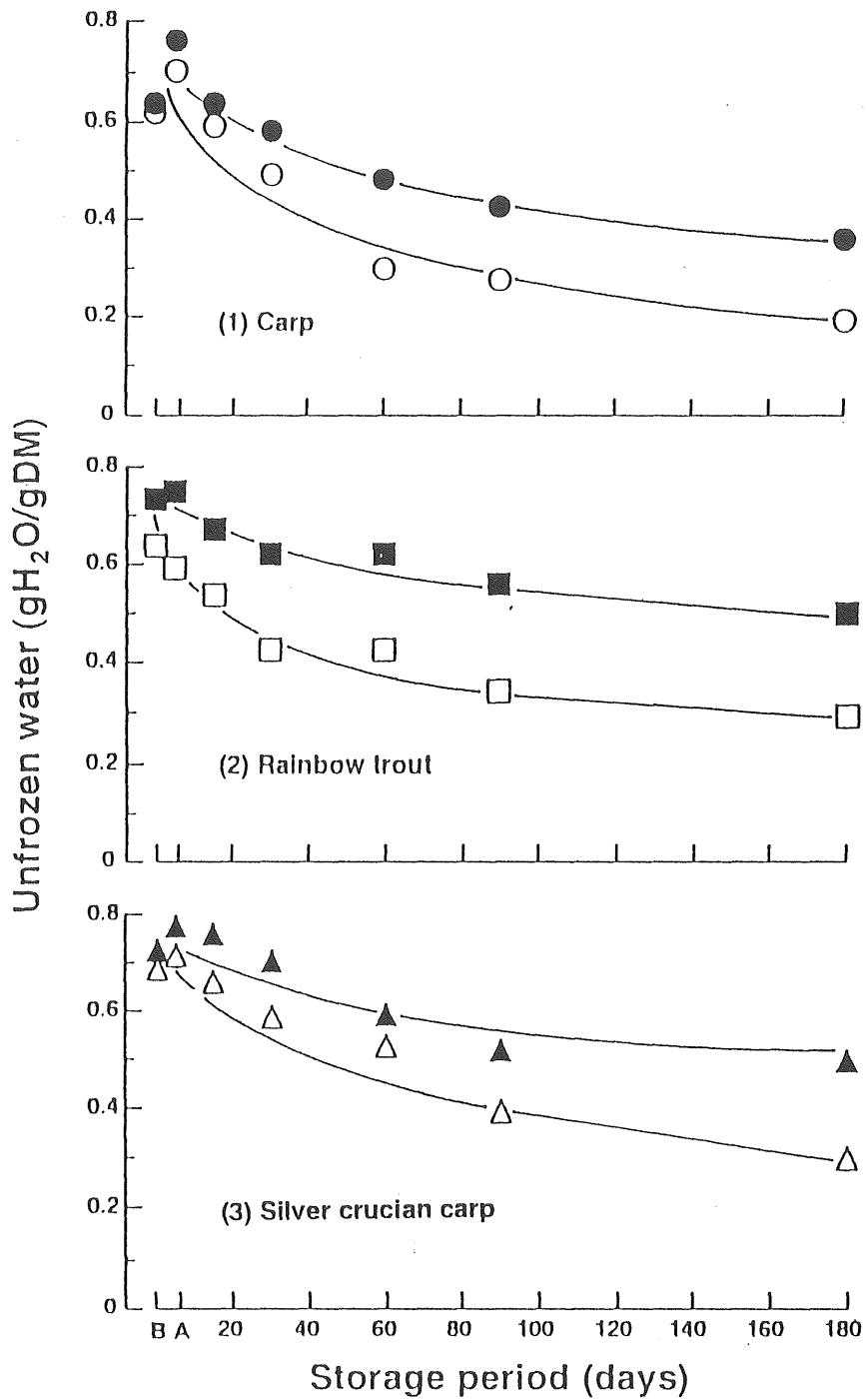


Fig. 11. Change in the amount of unfrozen water of the surimi from carp, rainbow trout and silver crucian carp during frozen storage at -25°C . Symbols and letters A and B are the same as in Fig.8.

4-3-5. 凍蔵中における冷凍すり身の筋原繊維Ca-ATPase全活性，溶解度および不凍水量とゲル形成能との関連性

以上のようにコイ，ニジマスおよびギンブナすり身の凍結貯蔵中のMf Ca-ATPase活性，溶解度および不凍水量の変化は，いずれの魚種の変性抑制物質無添加および添加すり身についても，それらから調製したかまぼこのゲル形成能の変化と対応しているようにみえた。このことを確かめるため凍結貯蔵中のすり身のゲル形成能（J.S.）とMf Ca-ATPase全活性，溶解度および不凍水量との関係をFig.12および13に示した。図に示されるように変性抑制物質の有無により，すり身のゲル形成能，Mf Ca-ATPase全活性，溶解度および不凍水量の違いはあるが，ゲル形成能とMf Ca-ATPase全活性，溶解度および不凍水量の間には高い相関関係が認められ，これらの間には密接な関係があることを示している。

4-4. 考 察

淡水魚の練り製品原料としての有効利用を目的として，コイ，ニジマスおよびギンブナからすり身を調製し，凍結貯蔵中におけるゲル形成能の変化をタンパク質の変性との関わりで検討した。実験結果に示されるように，3魚種の冷凍変性抑制剤無添加すり身のゲル形成能からみた冷凍耐性は魚種によって異なった。魚肉の冷凍耐性に関する研究は，かまぼこ形成能とタンパク質溶解度で比較した8魚種⁷³⁾，スポンジ化で比較した6魚種⁷⁴⁾，Ca-ATPase活性と溶解度でスケトウダラと比較した深海魚6種⁷⁵⁾，無晒すり身と晒すり身の耐凍性で比較した7魚種⁴¹⁾がみられる。本実験で用いたコイ水晒肉の冷凍耐性は，マサバ⁴¹⁾やマアジ⁴¹⁾より小さく，スケトウダラ⁴¹⁾より大きい，エソ⁵⁷⁾およびカラガシラ⁷⁶⁾などと同程度であった。

一方，従来から冷凍すり身の変性抑制物質として糖類，重合リン酸塩などが用いられている。^{66,77,78)}本研究でも，変性抑制物質としてショ糖（4%），ソルビトール（4%）および重合リン酸塩（0.2%）を用いてすり身を調製し，凍蔵中のゲル形成能を調べた。本実

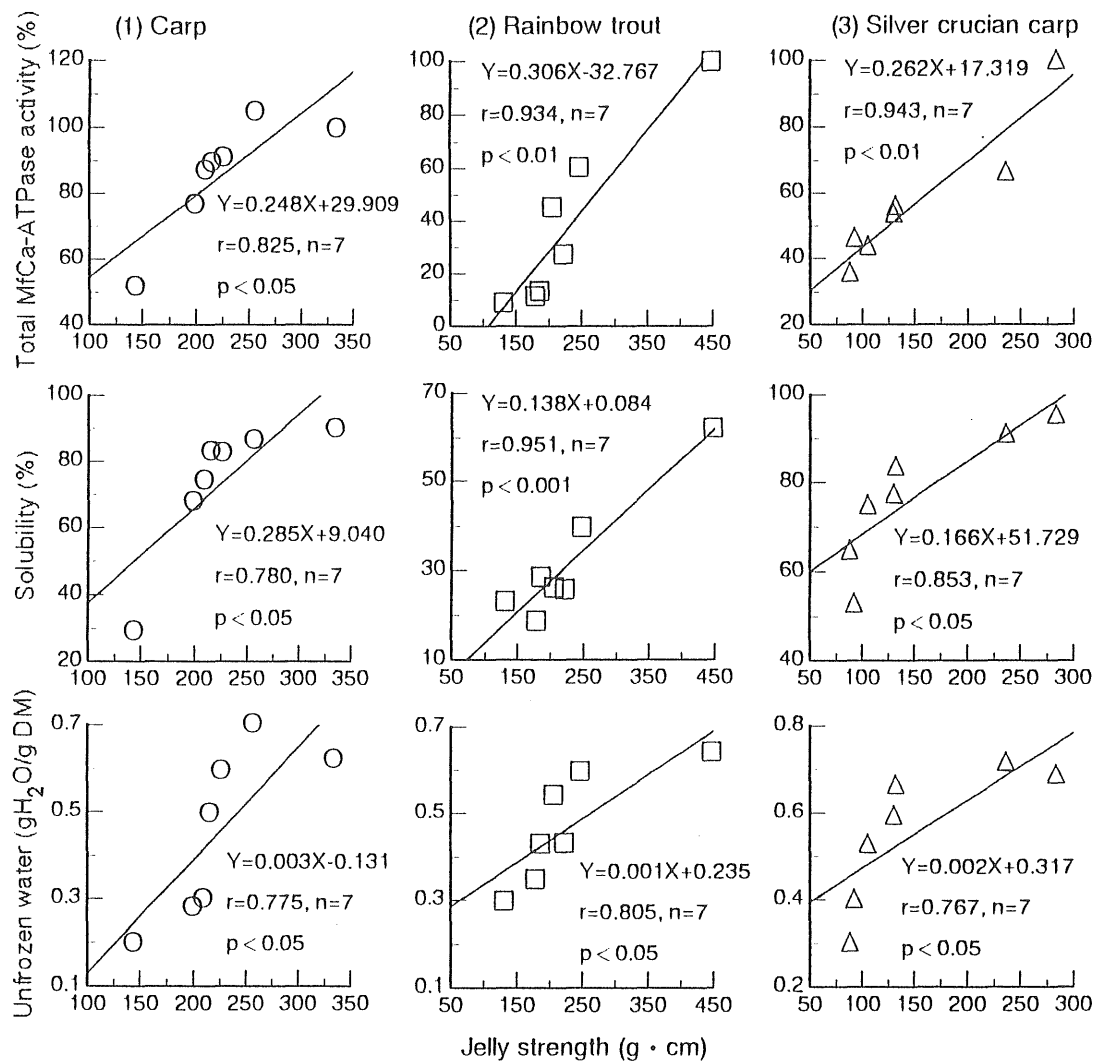


Fig. 12. Relationship between the total myofibrillar Ca-ATPase activity, solubility, and amount of unfrozen water of surimi in the absence of additives and the jelly strength of kamaboko from the same materials.

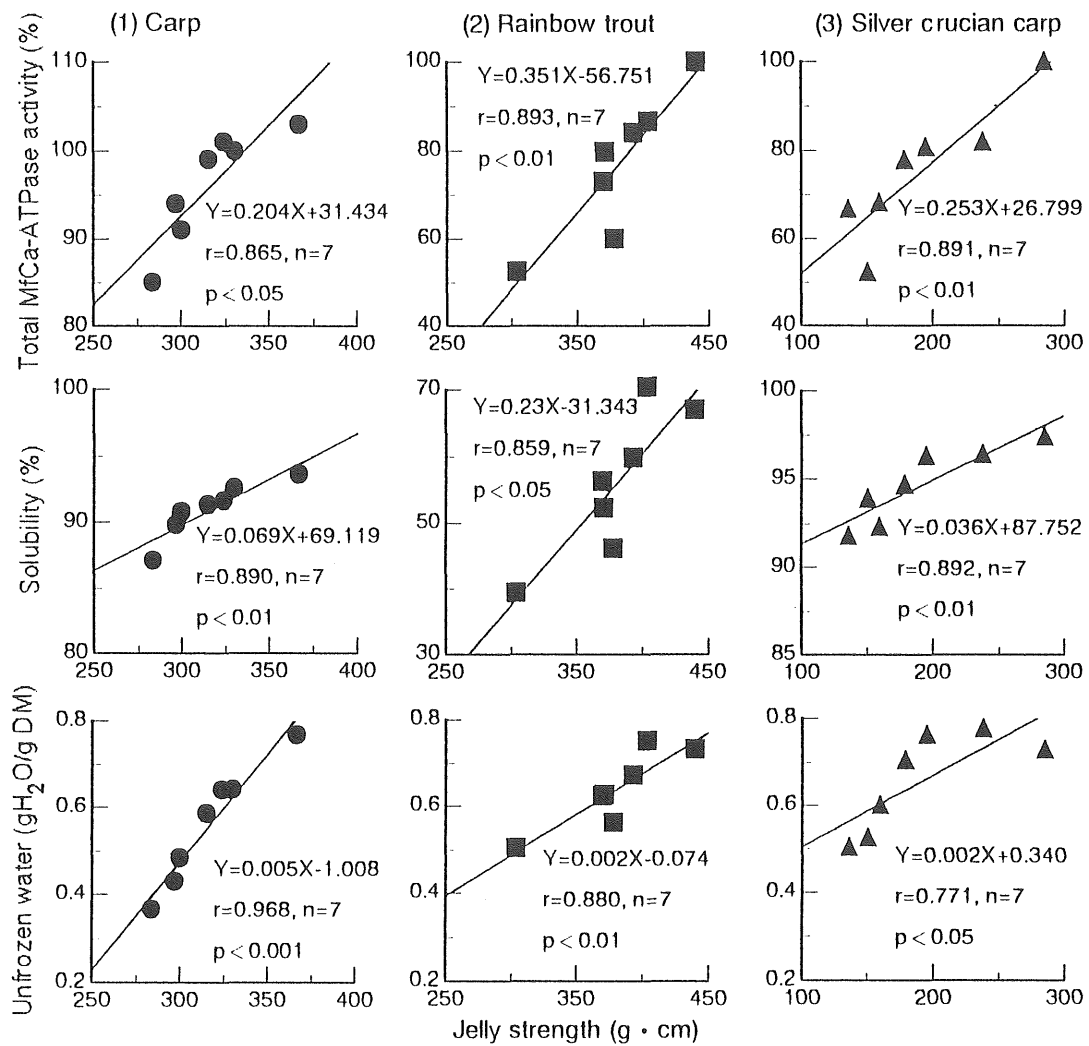


Fig. 13. Relationship between the total myofibrillar Ca-ATPase activity, solubility, and amount of unfrozen water of surimi in the presence of additives and the jelly strength of kamaboko from the same materials.

験結果に示されるように、凍蔵中における3魚種のすり身のゲル形成能の劣化は変性抑制物質の添加により抑制されており、しかも凍蔵180日目における添加すり身のゲル形成能は、無添加すり身のそれより高かった。また3魚種水晒肉に対する変性抑制物質の効果をみると、コイおよびニジマス水晒肉では効果は大きい、ギンブナ水晒肉では小さかった。以上のように、変性抑制物質を添加した冷凍すり身の冷凍耐性は魚種により異なり、特にギンブナでは低かった。この点については十分説明することができないが、本魚種については添加物の種類、量などの検討が課題である。また、コイ、ニジマスおよびギンブナはいわゆる「弱足魚種」^{4,79)}であることから、実際面の練り製品原料としての利用には適用範囲も限定されるが、高級かまぼこへの利用については、ゲル形成能の高い魚肉、例えばエソ⁵⁷⁾やグチ⁸⁾などとの混合活用あるいはトランスグルタミナーゼ製剤添加によるゲル形成能の増強⁸⁰⁾が望ましいと考えられる。

本研究では、凍蔵中におけるすり身中のタンパク質の変性をMf Ca-ATPase全活性と溶解度を指標にして測定した。前者については、川島ら⁸¹⁾が、冷凍すり身の品質を量的、質的に評価するため、アクトミオシンCa-ATPase全活性として表現する方法を提唱し、全活性とスケトウダラ冷凍すり身から調製したかまぼこのゲル形成能との間に高い相関を得ている。また、加藤ら⁸²⁾はスケトウダラ冷凍すり身、福田ら⁸³⁾はマサバ落とし身ブロック凍結肉、野崎ら⁷⁶⁾はカナガシラ急速凍結および緩慢凍結貯蔵肉にMf Ca-ATPase全活性とゲル形成能との間に同様に高い相関を認めている。他方、後者についてもゲル形成能との間に高い相関を認める報告^{41,76)}がある。本実験結果 (Fig.12,13) に示されるように、冷凍すり身のゲル形成能とMfCa-ATPase全活性との間には高い相関が認められた。さらに、ゲル形成能と溶解性との間にも高い相関が認められた。このことから、淡水産魚肉冷凍すり身においても、Mf Ca-ATPase全活性および溶解度は、凍蔵中における冷凍すり身の変性指標としての適用性を有することが示唆される。

従来、凍蔵中におけるタンパク質の変性に対する糖、糖アルコール、アミノ酸などの変性抑制物質の作用機構については、タンパク質周囲の水が液体から固体に変化するという

物理的現象を伴うことから、水の状態から説明されているが、実際に水の状態を調べた研究は少ない。⁸⁴⁾一方、食品中の凍結点以下の水の状態は、1950年代より熱分析法、⁸⁵⁻⁸⁸⁾誘電分散法、^{89,90)}核磁気共鳴法⁹¹⁻⁹⁴⁾などの機器分析により解明されており、水の状態の説明にはそれぞれの機器の特性がみられる。本研究では熱分析(示差走査熱量計)で測定される未凍結水を不凍水とし、⁷²⁾変性抑制物質である糖、糖アルコールの作用機構を不凍水量から調べることにした。本実験結果(Fig.11)に示されるように、無添加すり身中の不凍水量は凍蔵期間の経過に伴って大きく減少したが、添加すり身中のそれは無添加すり身より多く、しかも緩慢に減少した。また、凍蔵中の添加および無添加すり身の不凍水量とゲル形成能の間には高い相関が認められた(Fig.12,13)ことから、凍蔵期間を通して添加すり身中の変性抑制物質が不凍水量を多く保持していることがゲル形成能、Mf Ca-ATPase 全活性や溶解度の低下を抑制していると考えられる。これは、主としてすり身中に添加されたシヨ糖やソルビトールの魚肉Mfタンパク質に対する作用によるものであり、このことを従来からの報告に基づいて考察するとMfタンパク質周囲の水和水の構造化(非晶出化)が関係するものと考えられる。⁸⁴⁾すなわち、Mfタンパク質周囲の水は凍結により完全な秩序構造をとること(一種の非水状態と同様な状態)により、疎水結合が破壊され、同時に氷晶と極性基周辺の水和水との相互作用により、水和層の破壊が起こる。⁸⁴⁾しかるにシヨ糖やソルビトールを添加することにより、Mfタンパク質周囲の水和水の非晶出化の抑制、つまり一定量の未凍結水を保持することによるものであり、しかも未凍結水を多くする作用の強いシヨ糖やソルビトールはMfタンパク質に対する変性抑制効果が大きいものと推定される。

第五章 塩ずりコイ筋原繊維タンパク質の加熱ゲル形成に及ぼす加熱温度およびトランスグルタミナーゼ製剤の影響

5-1. 緒言

第二章で日本産の数種の淡水魚を用いて、加熱ゲル化特性、有効な水晒方法などについて検討した結果、淡水魚の水晒肉は海産魚肉のそれと比較し、ゲル形成能が総体的に低く、坐りがほとんど起こらないことを報告した。

魚肉の塩ずり後のゾルを加熱すると、弾力に富んだゲルを形成する。この独特のテクスチャーは、「足」と呼ばれ、練り製品の品質を決める重要な要素となっている。⁹⁵⁾近年、生化学的手法を用いた研究の結果、「足」は、肉糊中の主要なタンパク質であるミオシンが重合体を形成することによって生じると考えられるようになった。²⁰⁾練り製品の加工工程で、足形成にとって重要な要件は坐りおよび戻り現象である。坐りにはゲル化機構の異なる二つの種類、すなわちミオシン重鎖（以下ミオシンHCと略）間の共有結合による架橋で起こる坐り^{19,26,27,52)}（共有結合型）と非共有結合による架橋で起こる坐り¹⁷⁾（非共有結合型）がある。前者では肉に内在するTGaseによるミオシンHC間の架橋、^{26,27,52-55)}あるいはミオシンHC間のSS結合¹⁹⁾による架橋により、ネットワーク構造が形成されと考えられている。後者は疎水結合¹⁷⁾などによるゲル化反応と考えられている。コイ肉のゲル形成に関しては次のような報告がある。すなわち、塚正と志水²⁷⁾は、コイ肉では坐りが起こらないことを認めており、その原因として、コイのミオシンの熱安定性が高くTGaseの作用を受けにくいこと、肉中のTGase全活性が著しく低いことで、ミオシン重鎖間に架橋反応が起こらないことを挙げている。一方、伊藤ら、^{19,96)}来住ら^{97,98)}はコイのミオシン、

アクトミオシンのゲル形成にSH基が関与していると報告している。しかし、塚正と志水²⁷⁾はコイ肉のゲル形成に関する研究を筋原繊維レベルで行っており、淡水魚ミオシンの当該研究はまだ不十分である。また、来住ら^{97,98)}はコイミオシンのゲル化を多水分系で行っており、かまぼこと同じ水分含量レベルでは、異なる結果も得られることが考えられる。

そこで本報では、コイミオシンをかまぼこ用魚肉素材と同じ水分含量に調製して、塩ずりミオシンの加熱ゲル形成特性を明らかにするとともに、海産魚エソ肉のそれと比較検討した。さらに、コイ肉のゲル形成に及ぼすTGase製剤の添加効果も調べた。

5-2. 実験方法

5-2-1. 供試魚

第二章で用いたコイおよび長崎市茂木港に水揚げされた長崎県橘湾産のワニエソ (Lizard fish) *Saurida wanieso*の鮮魚を供試魚として用いた。

5-2-2. 筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの調製

筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの調製は即殺したコイおよびエソの背部普通筋を用い，高土らの方法⁹⁹⁾を改変した市川ら¹⁰⁰⁾の方法に従い，Fig.14に示す手順で行った。すなわち，コイおよびエソの背筋を素早く切り取り，肉に対して7倍容量の19mM Na-Phosphate緩衝液 (pH7.5) を加え，60秒間ホモジナイズし，遠心分離 (500×g, 10min) して肉漿タンパク質を上澄として除いた。沈澱 (一部を筋原繊維とした) に対し，3倍容量の5mM ATPおよび1mM MgCl₂を含んだ0.45M KCl, 67mM Na-Phosphate緩衝液 (pH6.4) を添加し，静かに攪拌しながら正確に10分経過後に，遠心分離 (6,000×g, 15min) し，上澄を2~3層のガーゼで濾過した。濾液を14倍容量の冷脱イオン水中にゆっくりと注ぎ，これを5°Cの低温室中に約10分間放置して，低部に沈澱が生じるのを待ち，沈澱したタンパク質を遠心分離 (6,000×g, 10min) して集めた。この容量を測り，3M KCl, 0.25M Tris-HCl (pH7.0)

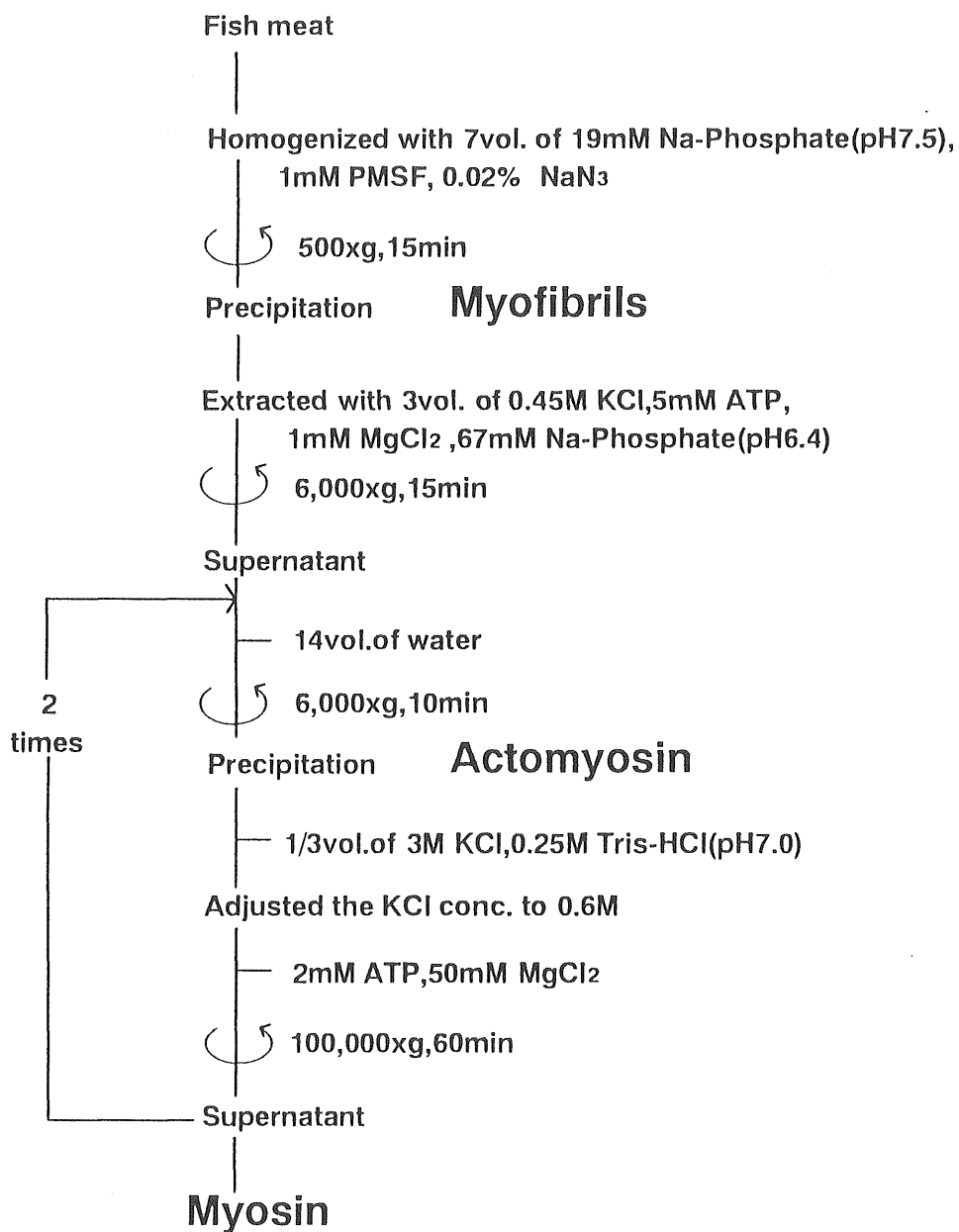


Fig. 14. Preparation of myosin from carp and lizardfish.

を加えて沈澱を溶解し、KCl濃度が0.6Mになるように冷脱イオン水を加えた。これに2mM ATPおよび50mM MgCl₂を加えた後、超遠心分離（100,000×g, 60min）して沈澱を除いた。さらに、同様の希釈沈澱、超遠心分離操作を2度繰り返したものをミオシンとした。得られたミオシン試料を、後述する10%ポリアクリルアミド電気泳動で調べたところ、コイおよびエソのミオシン含量は約80%と高純度であった。一方、アクトミオシンの調製は以下のように行った。筋原繊維の一部に対し、3倍容量の5mM ATPおよび1mM MgCl₂を含んだ0.45M KCl, 67mM Na-Phosphate緩衝液（pH6.4）を添加し、時々攪拌しながら約10時間経過後に、遠心分離（6,000×g, 15min）し、上澄を2~3層のガーゼで濾過した。濾液を14倍容量の冷脱イオン水中にゆっくりと注ぎ、これを5℃の低温室中に約10分間放置して、低部に沈澱が生じるのを待ち、沈澱したタンパク質を遠心分離（6,000×g, 10min）して集めて、アクトミオシンとした。

5-2-3. 脱水

かまぼこと同様の水分含量を持ったミオシンおよびアクトミオシングルを得るための脱水は、市川ら¹⁰⁰⁾が報告した超遠心脱水法によって行った。すなわち、コイ肉およびエソ肉から調製したミオシン溶液、アクトミオシン溶液を透析チューブに入れ、19倍量の5mM 2-mercaptoethanol および 1mM NaHCO₃を含む冷脱イオン水に対し6時間透析し、KCl濃度を30mMとし、ミオシン、アクトミオシンを沈澱させた。ミオシン、アクトミオシンおよび筋原繊維の沈澱を超遠心分離機（日立工機製CP100α）を用いて遠心分離（216,000×g, 60min）し、上澄を除くことにより脱水を行った。これまでもポリエチレングリコールを用いてミオシンを脱水し、加熱ゲルの調製を試みた報告¹⁰¹⁾があるが、ポリエチレングリコールで長時間脱水すると、ミオシンのCa-ATPase活性の低下が起こる。水分含量をかまぼこと同程度の80%まで低下させることは不可能とされてきた。本法により、ミオシン、アクトミオシンおよび筋原繊維の水分含量は80%以下のものを得ることができた。また、それらを常法^{67,70)}によりミオシンの超遠心分離前のCa-ATPase (0.66 μ mol Pi/min mg

Myosin) および溶解度 (92.2%) と、超遠心分離後のCa-ATPase活性 ($0.65 \mu\text{mol Pi}/\text{min mg Myosin}$) および溶解度 (92.2%) , を調べたところ、遠心前後におけるそれらの変化はほとんどなかった。

5-2-4. 加熱ゲルの調製

脱水したコイおよびエソのミオシン、アクトミオシンおよび筋原繊維のタンパク質含量はビュレット法⁷¹⁾により測定したところ、いずれも約20%であり、カルシウム含量はICP発光分析法により測定したところ、いずれも5.4mg/100g以下であった。これらの脱水した試料に対して、3%のNaClを添加し、さらに水分含量を81%に調整するための冷脱イオン水を加え、低温室(約5°C)で20分間播潰した。また、コイ肉から得た脱水試料の一部についてはTGase製剤(味の素製アクティバTG-K)を0.3%添加した。播潰後、肉糊の脱気を行い、アルミ製容器(内径12.5mm, 高さ10mm)に充填し、ラップで包み、45°C, 60°Cおよび75°Cで20分間加熱処理後、直ちに氷水中で約20分間急冷し、試料とした。また、コイの脱水したミオシンの一部については30~90°Cで5~120分間加熱処理後、氷水中で急冷し、試料とした。試料は一夜低温室(約5°C)に放置後、室温に戻してからゲル強度の測定に供した。使用したTGase製剤のメーカー規格はTGase1%, 乳酸カルシウム75%, およびデキストリン他24%となっている。それゆえ、肉糊に対してTGase3%加えると、乳酸カルシウムとしては0.225%, デキストリンとしては0.072%を添加したことになる。このレベルの乳酸カルシウムおよびデキストリンの添加は、加熱に伴う肉糊のゲル強度の経時変化に対して大きな影響を及ぼさないと考えられる^{30,31,33)}。なお、本製剤の酵素活性は100units/gである。

5-2-5. 加熱ゲルの破断強度の測定

ミオシン、アクトミオシンおよび筋原繊維の加熱ゲルのゲル形成能の測定はレオメータ(不動工業製NRM-2010J-CW型)を用い、直径2mmの押し込み試験用平面プランジャーで、

押し込み速度2mm/minで測定し、破断時の応力 (g) をプランジャーの面積 (cm²) で除したものを破断強度として表した。なお、同一試料ゲルについて5回測定し、その平均値を試料の破断強度とした。

5-2-6. 加熱ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

PorzioとPearsonの方法¹⁰²⁾に従って行った。ミオシン、アクトミオシンおよび筋原繊維の加熱ゲル0.1gに対し、2% SDS, 10mM Tris-HCl (pH6.8), 50mM 2-mercaptoethanol, 10% glycerolおよび0.02% bromophenolblueの組成の溶液1mlを加えてホモジナイズし、電気泳動用試料とした。それをSDS存在下の10%のポリアクリルアミドゲル電気泳動 (以下、SDS-PAGEと略) に供し、タンパク質組成を検討した。染色は、Coomassie Brilliant Blue R-250によって行った。染色された各タンパク質成分のバンドは、デンストメーター (島津製作所製二波長フライングスポットスキャナーCS-900型) を用い、380nmと580nmの吸光度差として測定し、各成分の含量を泳動ゲル中の全成分の染色強度に対する成分の染色強度比として求め、百分率で表した。

5-3. 結果

5-3-1. コイの塩ずりミオシンの加熱ゲル化特性とSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

塩ずりしたコイミオシンの加熱ゲル化特性を調べるために、調製した塩ずりコイミオシンを30~90℃ (15℃間隔) で5~120分間加熱した。得られたミオシン加熱ゲルの破断強度をFig.15に示した。塩ずりしたコイミオシンを30℃で120分間加熱しても、ゲル化は起こらず測定できなかった。コイ塩ずりミオシンは45℃以上では加熱5分後いずれもゲル化して、破断強度14,000g/cm²以上を示した。また、45℃では加熱時間の経過とともに破断強度が速やかに上昇し、120分間加熱で他の加熱ゲルより高い最高破断強度 (28,000g/cm²) を示した。60および75℃では、5分加熱で破断強度21,000g/cm²を示したのち、加熱時間の経過

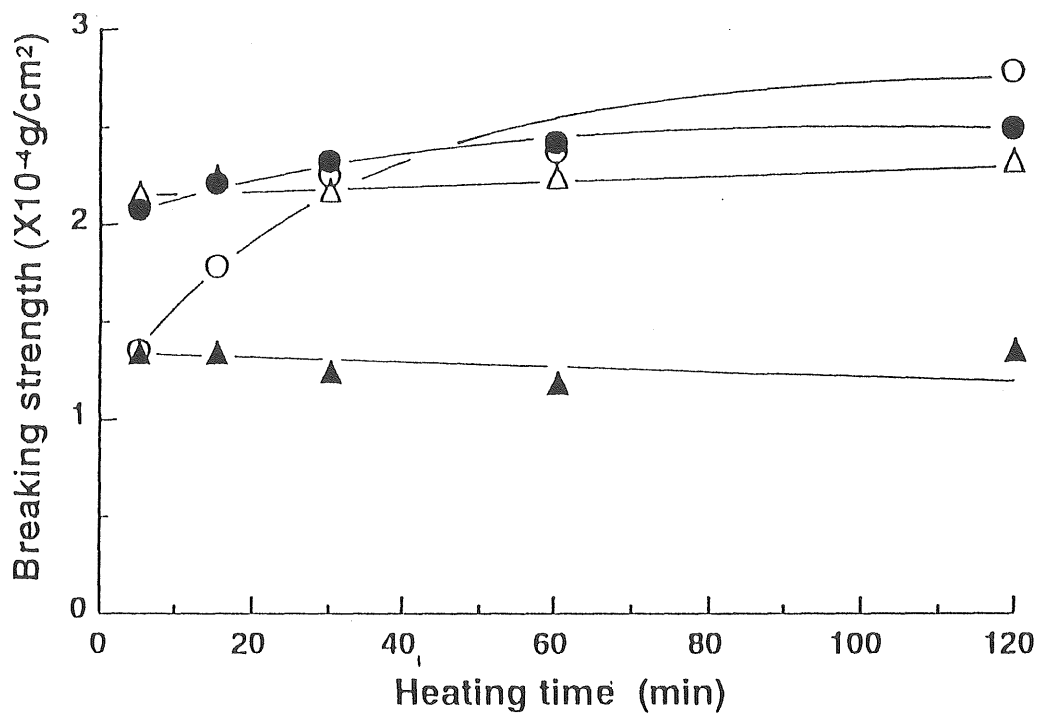


Fig. 15. Effect of heating time at various temperatures on the gel formation (breaking strength) of salt-ground myosin from carp meat.

○, 45°C; △, 60°C; ●, 75°C; ▲, 90°C.

に伴って若干破断強度が上昇した。一方、90℃では、5分加熱で45℃と同レベルの破断強度を示したのち、加熱時間の経過とともに低下した。

一方、各ゲルのSDS-PAGE (Fig.16) をみると、30℃、45℃、60℃および75℃の30分間および120分間加熱ゲルに対応するパターンは、加熱前のそれ (K) と比較して、ほとんど変化はみられなかった。90℃の30分間および120分間加熱ゲルに対応するパターンでは、ミオシンHCに相当する成分量が加熱前のそれと比較して減少した。同時にミオシンHCよりも移動度の大きい低分子に相当する成分 (X_1) の生成がみられた。

5-3-2. コイおよびエソの筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの加熱ゲル形成能

コイ筋肉とエソ筋肉のゲル化特性を比較検討するため、両魚種の筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンを塩ずりし、45℃、60℃および75℃で20分間加熱処理を行った。得られたゲルの破断強度をFig.17に示した。筋原繊維ゲルをみると (Fig.17-A) , コイでは60℃加熱ゲルの破断強度が最も高く、45℃加熱ゲルでは非常に低かった。エソでは、いずれもコイの破断強度より高く、45℃加熱では約7倍、60℃および75℃加熱では約2倍高かった。アクトミオシンの加熱ゲルをみると (Fig.17-B) , コイでは75℃加熱ゲルの破断強度が最も高く、次いで60℃、45℃加熱ゲルの順に高かった。特に、コイの75℃加熱ゲルの破断強度はエソのいずれのゲルよりも高い値を示した。また、同一温度におけるコイとエソの加熱ゲルを比較すると、45℃および75℃加熱では、前者の加熱ゲルが後者より高く、60℃加熱ゲルは両者とも同じレベルであった。ミオシンの加熱ゲルをみると (Fig.17-C) , コイではいずれの加熱温度でもエソより高く、45℃加熱では約10倍、60℃および75℃加熱ゲルの破断強度は約2倍になった。魚肉タンパク質の違いによる加熱ゲル強度をみると、コイでは、いずれの加熱温度でもミオシゲル>アクトミオシゲル>筋原繊維ゲルの順であった。これに対し、エソでは、45℃加熱では、筋原繊維ゲル>アクトミオシゲル>ミオシゲルの順であったが、60℃と75℃加熱では、ミオシゲル>筋原繊維ゲル>アクトミオシゲルの順であった。

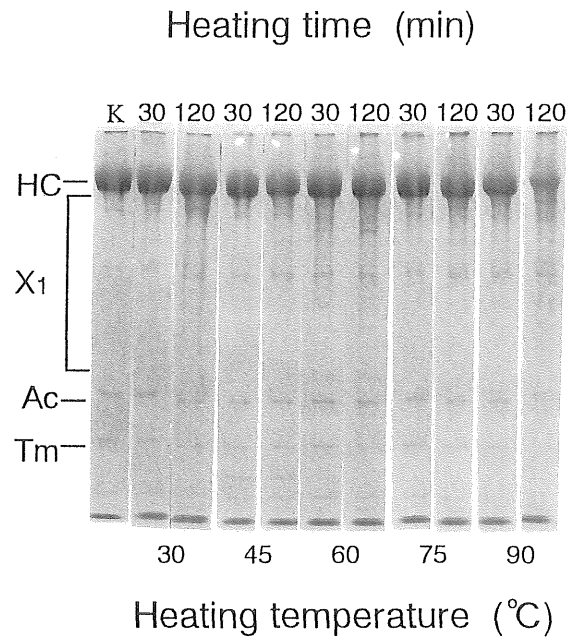


Fig. 16. SDS-polyacrylamide gel (%) electrophoretic patterns of heating gel of salt-ground myosin from carp meat.

K, salt-ground myosin (no heated); HC, myosin heavy chain; X1, new polymer smaller than HC; Ac, actin; Tm, tropomyosin.

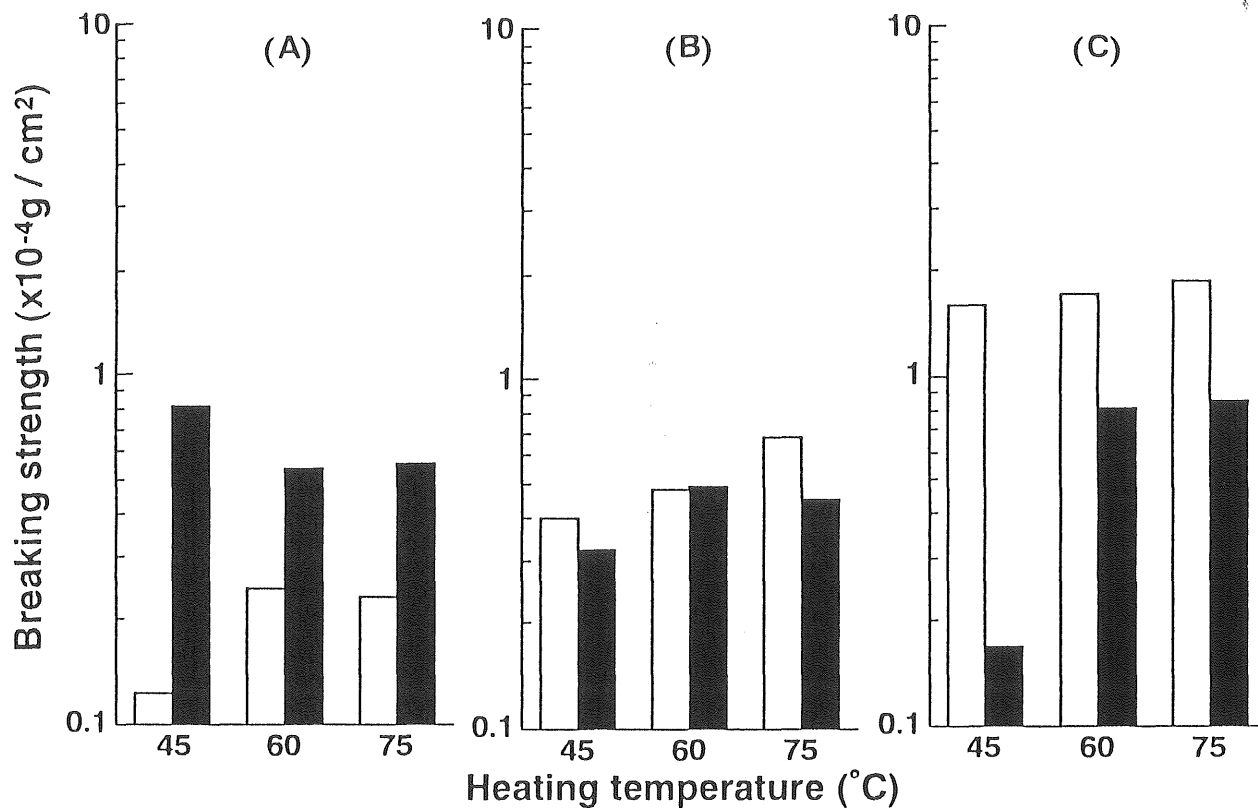


Fig. 17. Change in the gel-forming ability(breaking strength) of salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin from carp meat by heating at various temperatures for 20 minutes.

The open bars and closed bars represent carp and lizard fish respectively.

A, myofibrils; B, actomyosin; C, myosin.

5-3-3. コイの筋原線維，アクトミオシンおよびミオシンの加熱ゲル形成能に及ぼすトランスグルタミナーゼ製剤添加の影響

コイの筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンに0.3%のTGase製剤を添加して塩ずりし，45℃，60℃および75℃で20分間加熱処理を行った。得られた破断強度をFig.18に示した。これによると，45℃加熱では，TGase製剤を添加した筋原繊維ゲル（Fig.18-A），アクトミオシゲル（Fig.18-B）およびミオシゲル（Fig.18-C）の破断強度はいずれも，無添加のものに比べて高く，それぞれ約8倍，約6倍および約4倍となった。加熱温度の上昇とともにTGase製剤添加ゲルの破断強度は低下し，75℃加熱ゲルでは，無添加のものと同レベルとなった。TGase製剤の作用は，高温域で失活することがわかった。

5-3-4. トランスグルタミナーゼ製剤の添加および無添加コイの筋原線維，アクトミオシンおよびミオシン加熱ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

各タンパク質より得たTGase製剤添加および無添加加熱ゲルをSDS-PAGE分析した結果をFig.20に示した。同図にみられるように，TGase製剤無添加のコイの塩ずりした筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシン（Fig.19-A,C,E）の60℃および75℃加熱ゲルのSDS-PAGEパターンは，加熱前のもの（K）に比べていずれも変化がみられなかった。これに対して，筋原繊維の45℃加熱ゲルでは，ミオシンHCが減少し，同時にミオシンHCよりも移動度の大きい低分子量に相当する成分（X₂）の生成がみられた。これと同様な現象がアクトミオシンの45℃加熱ゲルでもみられたが，その形成した低分子量に相当する成分（X₂）量が筋原繊維のものに比べて，少ないことが分かった。しかし，ミオシンの45℃加熱ゲルでは，ミオシンHCの減少も，その低分子成分の生成も認められなかった。

一方，コイのTGase製剤添加加熱ゲルのSDS-PAGEパターン（Fig.19-B,D,F）の変化をみると，45℃および60℃加熱では，筋原繊維ゲル，アクトミオシゲルおよびミオシゲルのいずれもミオシンHCが消失し，75℃加熱では，ミオシンHCが減少した。

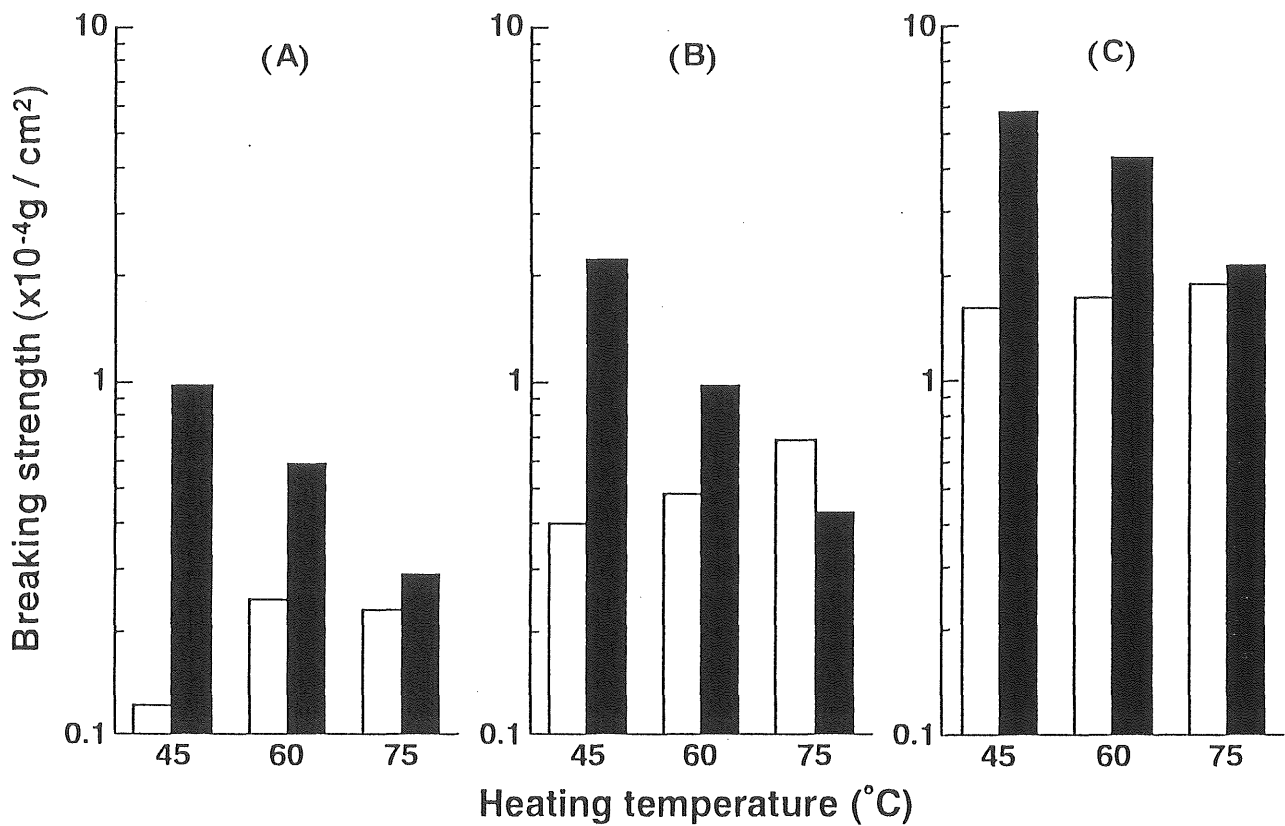


Fig. 18. Effects of transglutaminase and heating temperature on the gel formation (breaking strength) of salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin from carp meat.

The salt-ground pastes are heated for 20 minutes. The open bars and closed bars represent the gel without additive and with 0.3% additive containing transglutaminase respectively.

A, myofibrils; B, actomyosin; C, myosin.

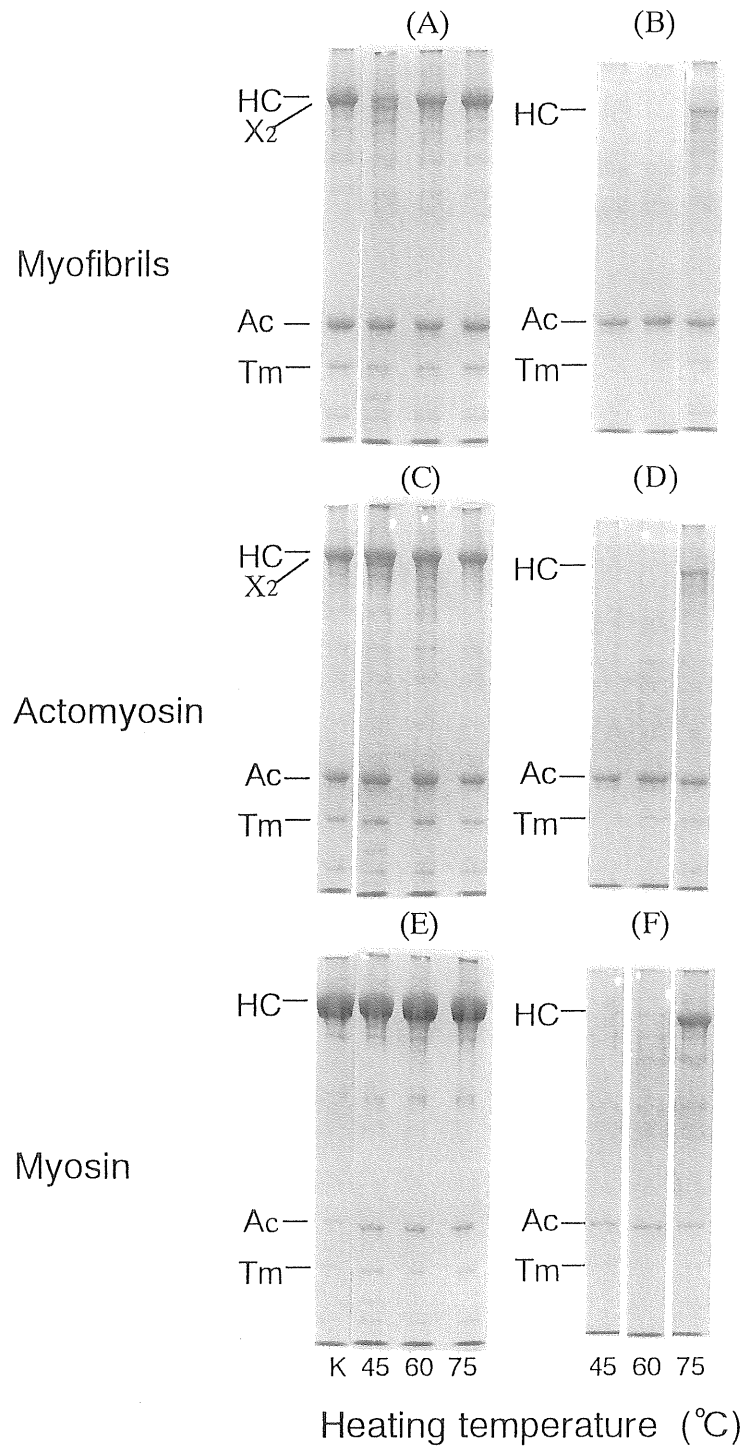


Fig. 19. SDS-polyacrylamide gel (%) electrophoretic patterns of heating gel with transglutaminase of salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin from carp meat.

The salt-ground pastes are heated for 20 minutes.

A,C,E, without additive; B, D, F, with additive containing transglutaminase. K, salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin (no heated); HC, myosin heavy chain; X2, new polymer smaller than HC; Ac, actin; Tm, tropomyosin.

5-4. 考 察

本研究では、コイ肉のゲル化特性を詳細に調べるため高純度のミオシン（約80%）を調製し、さらにかまぼこと同様の水分含量（81%）を持ったミオシングルを調製することにより検討した。すでに第二章ではコイ水晒肉では30℃、40℃加熱で坐りが起こらず、60℃加熱でゲル化が起こる結果を得ており、これは塚正と志水の報告²⁷⁾と一致している。しかし、本実験結果（Fig.15）にみられるように、塩ずりミオシンでは、45℃では加熱5分後にすでに高いゲル強度を示しており、これは魚肉の肉糊の坐りに対応するものと考えられる。このように、コイ水晒肉では坐りが起こらないが、ミオシン単独では起こり、強固なゲルを形成する。SDS-PAGEパターン（Fig.16）から、45℃加熱ミオシングルのミオシンHC量はほとんど変化が認められなかった。このことからミオシンHC間に多量化反応^{20,103-105)}がほとんど起こっていないと考えられる。コイ塩ずりミオシンの加熱によるゲル形成については、平石ら¹⁰⁶⁾は、20～60℃温度域では最初はミオシン分子の“ほどけ”が始まり、そのためにミオシン分子内部にあった疎水性アミノ酸残基が分子表面に露出し、その結果ミオシン分子間に疎水結合が形成し凝集することを報告している。これらの結果から、ミオシンの45℃での強いゲル形成は主にミオシンHC間に疎水結合^{17,106)}などが形成され、ネットワーク構造を取ることに起因していると推測される。したがって、コイ水晒肉の肉糊で坐りが起こらないのは、内在するTGaseによるミオシンHC間の架橋反応の形成が小さいこと以外に、ミオシンの加熱ゲル形成を阻害する何らかの原因で、ミオシンHC間に疎水結合^{17,106)}などによるゲル化反応が起こらないことを示唆している。また、塩ずりミオシンの90℃加熱（Fig.15）では、ゲル強度の若干の低下が認められた。一方、SDS-PAGEパターン（Fig.16）にみられるように、ミオシンHC量が減少したと同時にミオシンHCより低分子の新しい成分（ X_1 ）の生成が認められ、これがゲル強度の低下の原因であると推測される。

以上のことを確かめるため、コイとエソの筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの

加熱ゲル強度 (Fig.17) を比較検討した。コイ筋原繊維は、45℃加熱でのゲル強度は非常に低く、60℃および75℃では増強しており、コイの肉糊が坐り難い性質を示している。これに比べてエソ筋原繊維では、45℃加熱によるゲル強度が最も高く、いわゆる坐り現象がみられた。さらにアクトミオシンからミオシンへとタンパク質の単離精製が進むに伴って、それらの塩ずりしたものはゲル強度が増強した。コイ塩ずりアクトミオシンおよびミオシンでは、45℃加熱のゲル強度は、60℃および75℃加熱のものより低かったが、エソ肉のそれに比べて高かった。一方、加熱ゲルのSDS-PAGEパターン (Fig.19-A,C,E) から、コイの塩ずり筋原繊維およびアクトミオシンの45℃加熱ゲルではミオシンHC量が減少すると同時にミオシンHCよりも移動度の大きい低分子量に相当する成分 (X₂) が認められた。またコイの塩ずりミオシンの加熱ゲルでは、ミオシンHC量の大きな変化が認められなかった。コイの塩ずり肉糊の加熱 (30~50℃) によるゲル強度の低い原因については、西本ら¹⁰⁷⁾はミオシンHC交差重合体の形成が起こらず低分子化すること、さらにこの原因について村元ら¹⁰⁸⁾は加熱によるミオシンの変性 (構造変化) に対する各種のプロテアーゼ作用によるペプチド断片化としている。

本実験結果は、コイ肉の水晒肉レベル、いわゆる筋原繊維レベルでは上述のように各種プロテアーゼの影響^{108,109)}あるいはTGaseの不活性化などの影響²⁷⁾が考えられ、ゲル強度が低い結果となったものと推定される。コイ肉のアクトミオシンおよびミオシンへの精製はこれらの因子を除くことにより、エソ肉のそれらより高いゲル強度が得られたことを示しており、このゲル化は主にミオシンHC間の疎水結合^{17,106)}などに起因していると考えられる。

コイの筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンに対するTGase製剤の添加効果 (Fig. 18) を検討してみると、45℃加熱では、いずれも無添加のものより非常に高いゲル強度を示し、強いゲル化が起こることが分かった。また、75℃で添加効果が低いことは、高温加熱による酵素 (TGase) の失活によるものと考えられる。

TGase製剤の魚肉に対する効果については、安永ら³³⁾はスケトウダラ冷凍すり身、田中

ら¹¹⁰⁾はコイミオシンで検討を行い、いずれも肉糊中のミオシンHCの多量化によるゲル強度の増強を認めている。また、塚正と志水²⁷⁾はコイ、イワシおよびサバを用いて、TGase製剤による坐りの誘発要因を調べている。本実験のSDS-PAGEのパターン (Fig.19-B,D,F) によると、45℃および60℃加熱ゲルでは、ミオシンHCに相当するバンドが消失し、75℃加熱ゲルでは、ミオシンHCに相当する成分のわずかな減少が認められた。一方、ミオシンHCより移動度の大きい成分 (アクチンやトロポミオシンなど) の量には変化が認められなかった。このことから、TGase製剤を添加して塩ずりした筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの加熱ゲルでは、TGaseの酵素反応によって、ミオシンHCが架橋高分子化し、多量体が形成されたと推測される。また、本実験結果が示すように (Fig.19-A,B,C,D) , コイ筋原繊維およびアクトミオシンの45℃加熱ゲルでは、ミオシンHCより低分子 (X_2) の存在を認めたが、これはTGase製剤添加により消失した。この場合、筋原繊維やアクトミオシン中に混在するプロテアーゼ¹⁰⁹⁾の作用と、TGase作用が同時に進行した¹¹¹⁾と考えられるが、前者の作用より、後者の作用が大きかったことを示している。阿部³⁰⁾はスケトウダラ冷凍すり身の肉糊の60℃加熱で、TGase製剤が火戻りを抑制するような作用を有することを認めているが、本実験結果はこれと符合するように思われる。

第六章 塩ずりコイ筋原繊維タンパク質の加圧ゲル化の特徴およびトランスグルタミナーゼ製剤の効果

6-1. 緒言

先に、淡水産魚類の練り製品原料への利用を目的として、淡水産魚肉のゲル化特性を海産魚肉のそれと比較検討した結果、ゲル形成能が低く坐りがほとんど起こらないこと（第二章）、また、コイミオシンのゲル形成能は強足魚のエソのそれより高いこと、コイ水晒肉はTGase製剤添加により、エソ水晒肉レベルまで改善できること（第五章）を報告した。

一方、近年、加圧処理の食品加工への利用に関する研究が多方面で精力的に進められている。¹¹²⁾魚肉練り製品分野においても、昌子らはスケトウダラすり身の塩ずり肉を低温下で加圧処理するとゲル化し、そのゲルの破断強度は加熱によって調製されたかまぼこゲルよりも低く、凹みはわずかに大きいこと、¹¹³⁾また、加圧ゲルは加圧後の保蔵温度あるいは加熱による影響を受けること、^{36,37)}さらに、加圧ゲルの弾力形成には、TGaseによるミオシンHC多量体の生成よりは、加圧によるタンパク質の構造変化に伴う相互の弱い結合の寄与が大きいこと³⁸⁾を報告している。また、上田ら³⁹⁾は、通常の加熱条件下では坐らないサケの肉糊を加圧処理するとゲル化が起こり、さらに加圧ゲルを加熱すると破断強度が上昇する加圧-加熱併用効果を報告している。

そこで、本研究では、ゲル形成能の低い淡水産魚肉の特性を改善することを目的として、コイを用いて、塩ずり筋原繊維タンパク質のゲル形成に及ぼす加圧処理効果を海産魚肉（ワニエソ）と比較検討するとともに、TGase製剤の添加効果も調べた。

6-2. 実験方法

6-2-1. 供試魚

第五章で用いたコイおよびワニエソ鮮魚を供試魚とした。

6-2-2. 水晒肉の加圧ゲルの調製

即殺したコイおよび新鮮なエソの頭部と内臓を除いたのち、二枚におろし、冷水中で洗浄後、スタンプ式採肉機（採肉穴直径5mm）を用いて落とし身を採取した。その落とし身に対して5倍量の冷蒸留水で3回水晒を行った。過剰の水を除くため油圧式脱水機で脱水後、水晒肉を低温室（約 5℃）で肉挽機（穴直径3mm）にかけて挽肉とした。擂潰は挽肉に対して3%のNaClおよび含水率を81%に調整するための冷脱イオン水を加え、低温室（約 5℃）で30分間石川式攪拌擂潰機を用いて行った。得られた肉糊は折れ径50mmの塩化ビニリデンケーシングに充填したのち、蒸留水を充填した食品加圧試験装置（三菱重工製Frescal MFP-7000型）の処理室に入れ、100~700MPaの圧力で5~60分間加圧した（以下、これを加圧ゲルと呼ぶ）。得られた加圧ゲルは室温に戻して直ちにゲル物性の測定に供した。なお、温度制御は圧力容器の周囲に取り付けられたジャケットに5℃の冷媒を循環させることによつて行った。一方、加圧ゲルの比較対照として、加熱ゲルを調製した。すなわち、同様な方法によつて調製したビニリデンケーシング充填肉糊を40℃および90℃の恒温槽中で5~60分間加熱後氷水中で急冷し、試料（以下、加熱ゲルと呼ぶ）とした。加熱ゲルは一夜低温室（約5℃）に放置後、室温に戻してからゲル形成能の測定に供した。

6-2-3. 筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲルの調製

即殺したコイおよびエソの背部普通筋を用いて、前章で報告した方法に従い筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンを調製した。調製後の筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシン試料を、後述する10%のSDS-PAGEで調べたタンパク質組成をTable 2に示した。コイ

Table 2. Protein compositions of myofibrils, actomyosin, myosin from carp and lizard fish

Content (%)	Carp			Lizard fish		
	Myofibrils	Actomyosin	Myosin	Myofibrils	Actomyosin	Myosin
Myosin	50	51	86	45	44	85
Actin	20	21	4	21	22	3
Tropomyosin	6	5	2	13	16	2
Others	24	23	8	21	18	10

およびエソのミオシン含量はいずれも総タンパク質成分に対して約80%と高純度であった。これらに対して終濃度3%になるようにNaClを添加して、さらに水分含量を81%に調整するための冷脱イオン水を加え、低温室（約5℃）で20分間播潰した。また、これらの一部については前章で用いたTGase製剤を終濃度で0.3%添加し同様に行った。播潰したこれらの肉糊は真空ポンプを接続したデシケータ中で（真空度は37.5mmHg）2分間脱気を行い、アルミ製の容器（内径12.5mm，高さ10mm）に充填し、ラップで包み、水晒肉糊と同様に加圧処理（300～600MPaで30分間）を行った。

6-2-4. 加圧ゲル物性の測定

調製した水晒肉糊の加圧ゲルおよび加熱ゲルはレオテックス（サン科学製SD-305型）を用いて押し込み試験を行った。すなわち厚さ20mmの試験片に直径5mmの球面プランジャーを当て、試料台の上昇速度0.6mm/secで測定し、破断した時の応力を破断強度（g），破断までのプランジャーの進入距離を破断凹み（mm）とした。なお、同一試料について6回測定し、そのそれぞれの平均値を試料の破断強度と破断凹みとした。

筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲルの破断強度の測定はレオメーター（不動工業製NRM-2010J-CW型）を用い、直径2mmの押し込み試験用平面プランジャーで、押し込み速度2mm/minで測定し、破断時の応力（g）をプランジャーの面積（cm²）で除したものを破断強度（g/cm²）として表した。なお、同一試料ゲルについて5回測定し、その平均値を試料の破断強度とした。

6-2-5. 加圧ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

PorzioとPearsonの方法¹⁰²⁾に従って行った。筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲル0.1gに対し，2%SDS，10mM Tris-HCl（pH6.8），50mM 2-mercaptoethanol，10% glycerol および0.02% bromophenolblue の組成の溶液1mlを加えてホモジナイズし，電気泳動用試料とした。それを10%のSDS-PAGEに供し，タンパク質組成を検討した。染色は，

Coomassie Brilliant Blue R-250によって行った。染色された各タンパク質成分のバンドは、デンストメーター（島津製作所製二波長フライングスポットスキャナー CS-900型）を用い、380nmと580nmの吸光度差として測定し、各成分の含量を泳動ゲル中の全成分の染色強度に対する成分の染色強度比として求め、百分率で表した。

6-3. 結果

6-3-1. 水晒肉肉糊のゲル形成に及ぼす圧力の影響

コイおよびエソの水晒肉肉糊を5℃で100~700MPaで5~60分間加圧した場合と、常圧で40また90℃で5~60分間加熱して得られたそれぞれのゲルの破断強度および破断凹みをFig. 20に示した。コイ水晒肉肉糊（Fig.20-A）は、100MPaで加圧したものは、ゲル化がほとんど起こらずゲル物性の測定ができなかった。200, 300と400MPaで加圧したものは、加圧時間の経過に伴って破断強度がわずかに上昇した。500と600MPaで加圧したものでは破断強度の変化がほとんどみられなかった。700MPaで加圧したものは、加圧時間の経過に伴って破断強度がわずかに低下した。破断凹みは200MPaで加圧したものでは加圧時間の経過に伴って上昇する傾向を示し、300と400MPaで加圧したものではそれぞれ30分間および10分間加圧でピークを示した。500MPa以上で加圧したものは、加圧時間の経過に伴って破断凹みが低下した。一方、エソ肉糊（Fig.20-B）は、100および200MPaで加圧したものは加圧時間の経過に伴って加圧ゲルの破断強度が増加するが、300と400MPaの加圧ゲルの破断強度は、前者では45分間、後者では20分間の加圧で最大値869gおよび748gを示した。500MPa以上の加圧では、加圧ゲルの破断強度は加圧時間の経過とともに低下した。300MPa以上のすべての加圧条件下で得たゲルの破断強度の最大値は、加熱ゲルの最大値である40℃30分間加熱したもの（684g）よりも高かった。エソ加圧ゲルでは最も大きい破断凹みを示したのは200MPaで60分間と300MPaで30分間加圧したものであり、それぞれ15.3と15.1mmであった。これらも加熱ゲルの最も大きい破断凹み14.5mm（40℃30分間加熱）より大きかった。

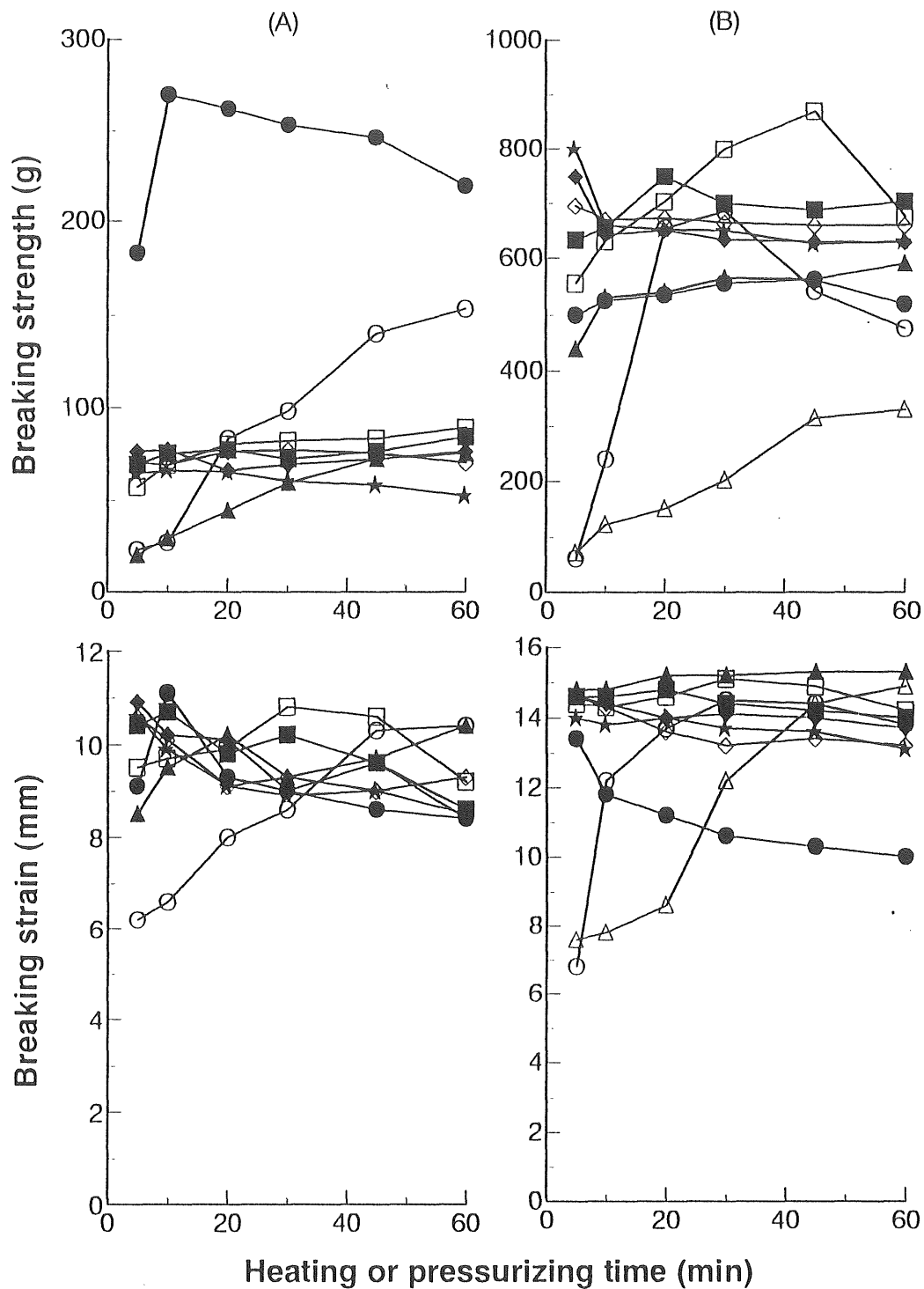


Fig. 20. Changes in breaking strength and breaking strain of high pressure- and heat-induced gels of salt-ground washed meat from carp and lizard fish.

The high pressure- and heat-induced gels of the salt-ground washed meat were conducted under 100 (△), 200 (▲), 300 (□), 400 (■), 500 (◇), 600 (◆), 700 (★) MPa and 40°C (○), 90°C (●) respectively. A, carp; B, lizard fish.

また、コイの加圧ゲルで最も高い破断凹みを示したものは600MPaで30分間加圧したものであるが、この破断凹み（10.9mm）は、コイの加熱ゲルのそれ（11.1mm）とほぼ同様であるが、コイの加圧ゲルの最も高い破断強度（89g）は90℃加熱ゲルのものおよび40℃で30分間以上加熱ゲルのものより低く、しかもエソ肉糊の同じ加圧条件のものに比べると、約1/8と低かった。

6-3-2. 筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンのゲル形成に及ぼす圧力の影響

前述のように、コイ水晒肉肉糊の加圧による形成したゲルの破断強度および破断凹みはエソのそれらに比べて非常に低かった。この理由を調べるため、コイ肉から筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンを調製して加圧処理（300、400および600MPa）を行い、エソ肉のそれと比較検討した。その結果をFig.21に示した。Fig.21によると、コイ筋原繊維ゾルの加圧ゲルの破断強度は圧力の増加に伴って低下するが、アクトミオシンおよびミオシンゾルのそれは上昇した。また、エソ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンゾルの加圧ゲルの破断強度は圧力の増加に伴っていずれもわずかに上昇したが、これら3者間の破断強度には大きな差異が認められず、この点コイと異なった。すなわち、コイの筋原繊維とアクトミオシン加圧ゲルの破断強度はエソのそれらより非常に低かったが、コイミオシンの加圧ゲルの破断強度はエソのいずれの加圧ゲルよりも若干高かった。

6-3-3. コイの筋原繊維，アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲル形成に及ぼすトランスグルタミナーゼ製剤添加の影響

コイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンゾルにTGase製剤を0.3%添加し、加圧ゲル形成に及ぼす影響を検討した。その結果をFig.22に示した。TGase製剤添加筋原繊維およびミオシンの加圧ゲルの破断強度は圧力の増強に伴って若干上昇したが、アクトミオシンの加圧ゲルでは400MPaでピークを示した。また、TGase製剤を添加したものの破断強度はいずれの加圧条件下でも、無添加のものに比べて大きく増大し、筋原繊維では約9倍、アクト

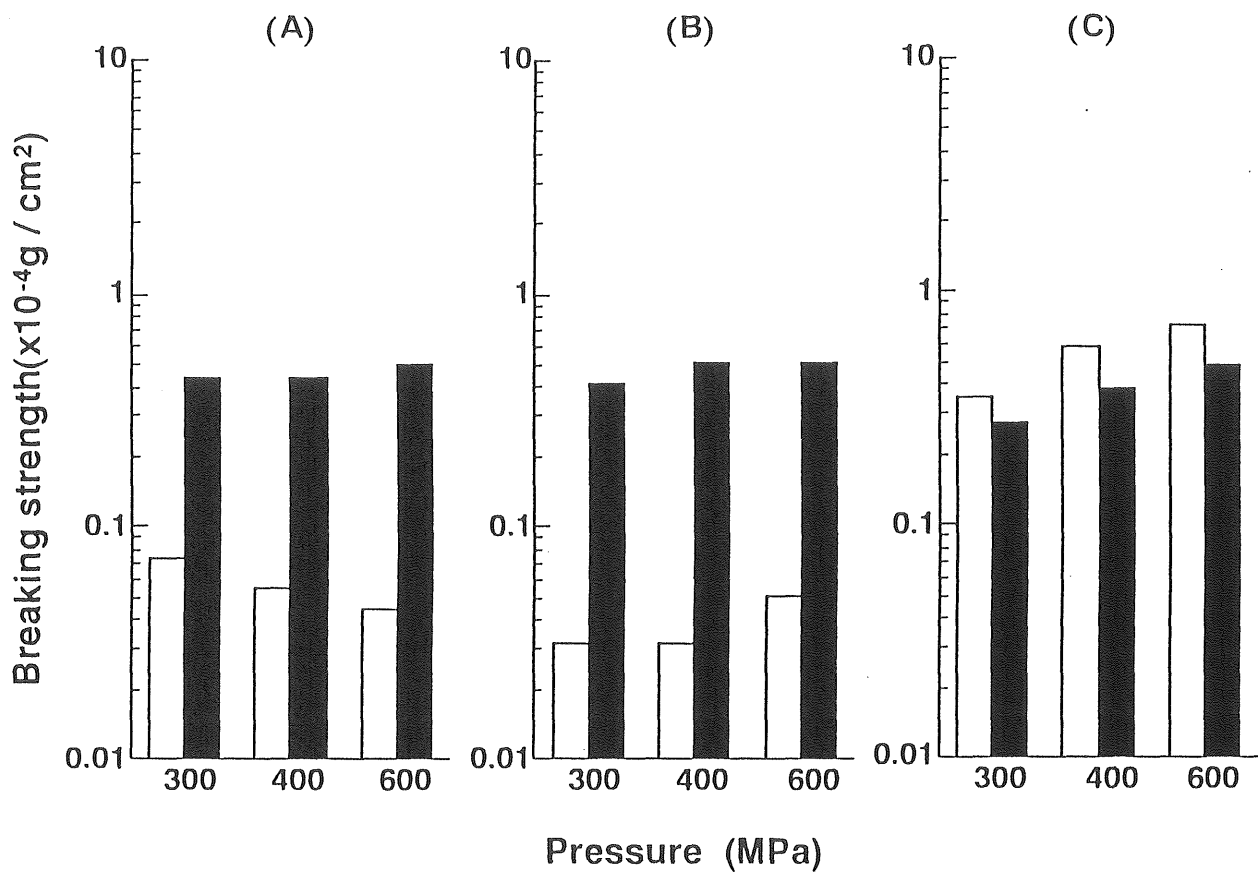


Fig. 21. Breaking strength of high pressure-induced gel of salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin from carp and lizard fish.

The high pressure-induced gel was prepared by conducting under various pressures for 30 min. The open and the closed bars represent the high pressure-induced gel from carp and lizard fish respectively.

A, myofibrils; B, actomyosin; C, myosin.

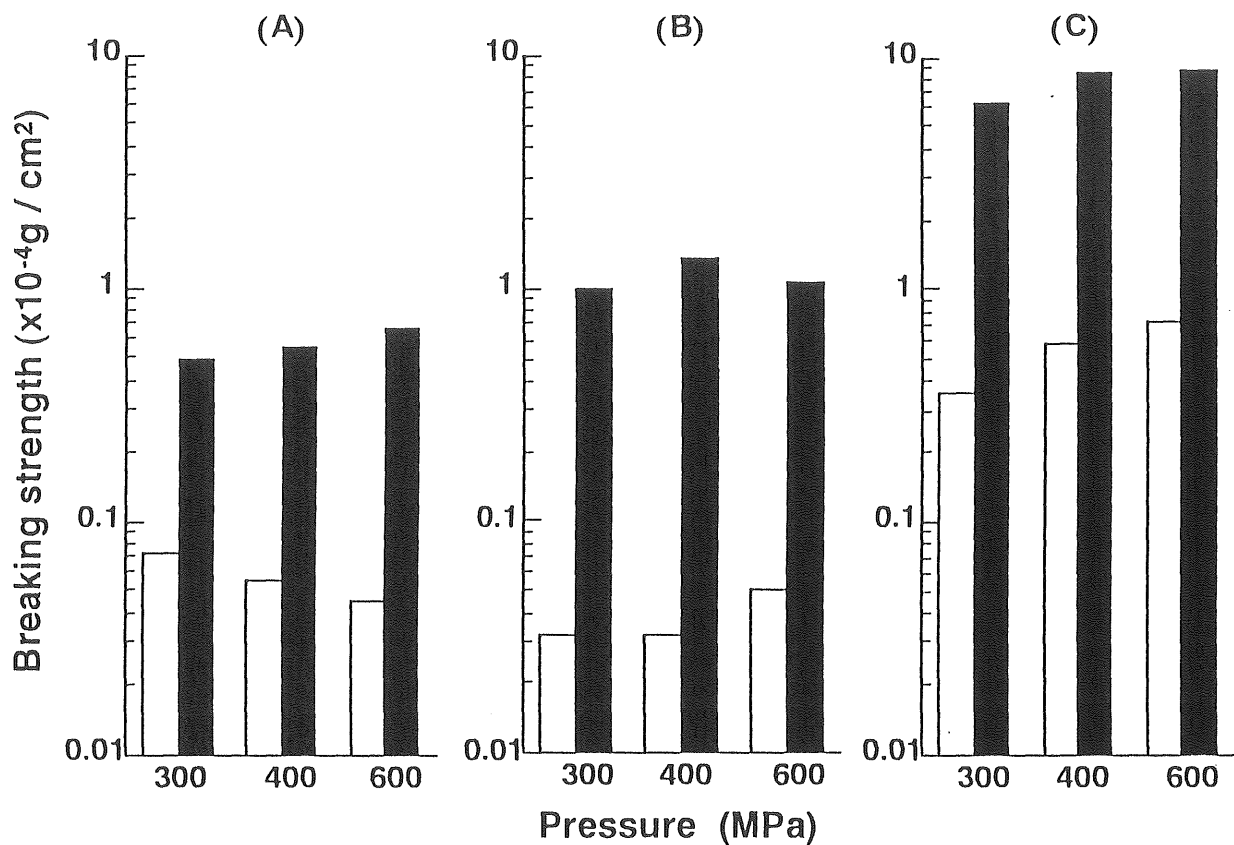


Fig. 22. Effect of food additive containing transglutaminase on the gel-forming ability of salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin from carp by pressurizing.

The high pressure-induced gel was prepared by conducting under various pressures for 30 min. The open and the closed bars represent the gel without and with 0.3% additive containing transglutaminase respectively.

A, myofibrils; B, actomyosin; C, myosin.

ミオシンでは約27倍、ミオシンでは約12倍の非常に高い値を示した。特に600MPaで加圧したTGase製剤添加ミオシンの破断強度は、約88,000g/cm²に達した。

6-3-4. トランスグルタミナーゼ製剤無添加および添加コイ加圧ゲルのSDS-ポリアクリル アミドゲル電気泳動

コイの筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンより得たTGase製剤無添加および添加加圧ゲルをSDS-PAGEに展開した結果をFig.23に示した。同図にみられるように、TGase製剤無添加の筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲル (Fig.23-A,C,E) のタンパク質サブユニット組成は、いずれも加圧処理前のものとほぼ同様であり、ミオシンHCの多量化反応は認められなかった。

TGase製剤添加加圧ゲルのSDS-PAGEパターン (Fig.23-B,D,F) をみると、筋原繊維の加圧ゲルでは、いずれもミオシンHCに相当する成分が消失していた。また、アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲルでも明らかに減少していた。また、筋原繊維およびアクトミオシンのすべての加圧ゲルでは、アクチンに相当する成分が減少したが、新しい低分子成分の生成は認められなかった。TGase製剤添加コイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの肉糊は加圧処理により、ミオシンHCの多量化反応が起こっていることが強く示唆された。

6-4. 考 察

コイ肉糊の加熱ゲルのゲル強度は非常に低く (第二章), エソのそれは非常に高い^{4,40,56)}ことから、前者は弱足魚、後者は強足魚種に分類されている。⁷⁹⁾エソ水晒肉肉糊は300MPa以上の加圧処理で、高い破断強度を有するゲルを形成し、それは40°Cおよび90°C加熱による加熱ゲルよりも高かった。しかし、コイ水晒肉肉糊は700MPaまでのいずれの圧力でも、また、加圧処理時間を長くしてもゲル形成が弱かった。その加圧ゲルの破断強度は加熱ゲルのそれよりもさらに低く、また、エソ加圧ゲルに比べて非常に低かった。

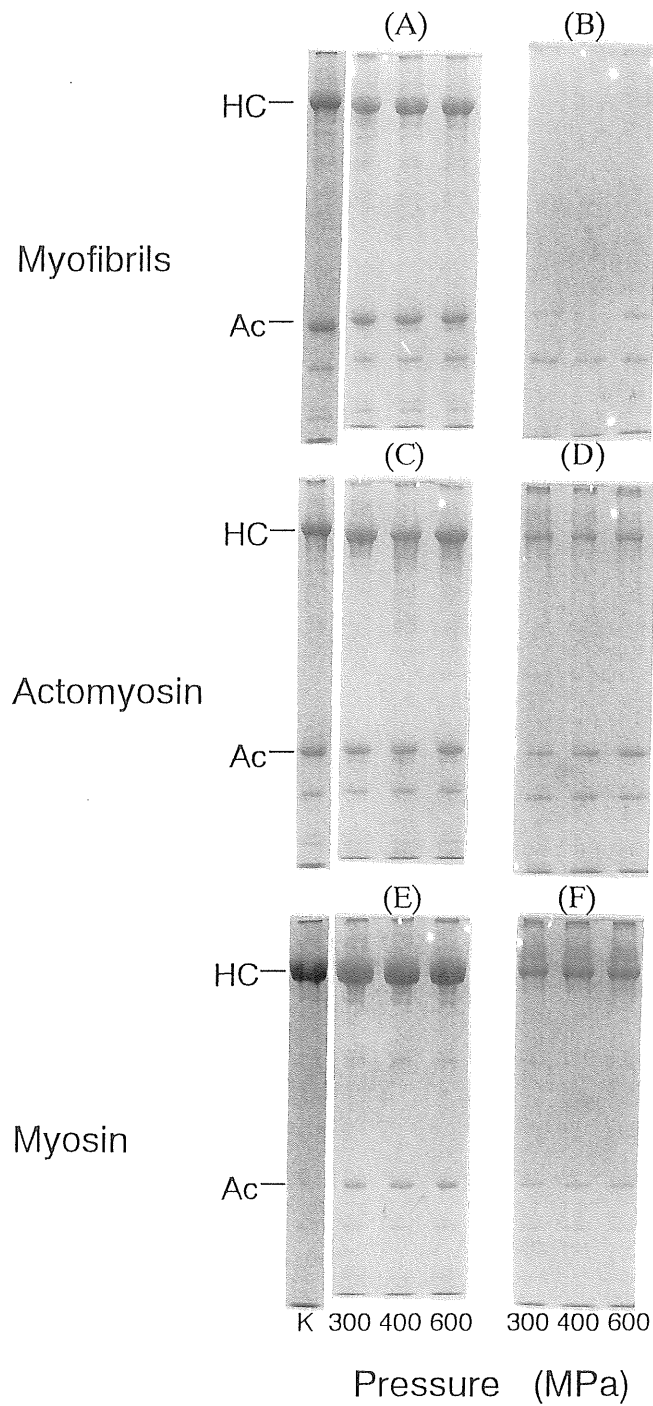


Fig. 23. SDS-polyacrylamide gel (10%) electrophoretic patterns of solubilized protein from high pressure-induced gels with the food additive containing transgalutaminase of salt-ground myofibrils, actomyosin and myosin from carp.

The high pressure-induced gel was prepared by conducting under various pressures for 30 min.

K, no-pressure; A,C,E, without the additive; B,D,F, with 0.3% additive.

HC, myosin heavy chain; Ac, actin.

このことから、コイ肉糊とエソ肉糊との加圧ゲル化機構の違いはどこにあるのかを検討するため、魚肉練り製品のゲル形成に主要な役割を担っていると言われるミオシンを調製し、加圧によるゲル形成を調べた。同時に塩ずりミオシンの加圧ゲルと塩ずり筋原繊維およびアクトミオシンの加圧ゲルとを比較した。実験結果 (Fig.21) に示されるように、コイの筋原繊維およびアクトミオシン加圧ゲルの破断強度は非常に低かったが、ミオシン加圧ゲルのそれは非常に高く、しかもエソのものよりも高い値を示した。一方、コイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの各タンパク質組成は、SDS-PAGEのパターン (Fig.23-A,C,E) に示されるように、いずれも加圧処理前後での変化が認められないことから、これらの加圧ゲルは加圧処理による構成タンパク質間の強い重合や分解などは起こっていないことが分かった。このことから塩ずりしたコイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの加圧処理によるゲル形成は、主として筋原繊維タンパク質間の水素結合や疎水結合など^{38,39)}によることが推測される。

一方、コイミオシン加圧ゲルの破断強度は筋原繊維やアクトミオシンと比較して非常に高かった。このことは筋原繊維およびアクトミオシンからミオシンへとタンパク質の単離調製が進むに伴って、ゲル構成タンパク質の差異 (Table 2) によって生じた結果であると考えられる。

次に、TGase製剤添加コイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンゾルの加圧ゲルの破断強度 (Fig.22) は、いずれも無添加のものより非常に高く、TGase製剤の添加効果が認められた。昌子ら³⁸⁾が先にスケトウダラ冷凍すり身から調製したTGase粗酵素液を350MPa以上の圧力で処理すると、TGase活性はほとんど失活することを報告している。しかし、本実験では300~600MPaで20分間加圧処理でTGase製剤の作用は認められた。このことから、TGase製剤添加コイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシン加圧ゲルが高い破断強度を示したのは、加圧処理によって筋原繊維タンパク質の構造が変化し、それによりTGaseに作用しやすい基質になり、加圧処理過程でTGase活性が失活する前に作用したと考えられる。

また、SDS-PAGEパターン (Fig.23-B,D,F) から、ミオシンHCに相当する成分は圧力に関

わりなく、無添加のものと比べて筋原繊維では消失、アクトミオシンおよびミオシンでは大きく減少し、いずれもミオシンHCより低分子の成分の新たな生成は認められなかった。このことから、TGase製剤添加筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンのゾルは、加圧処理中にTGaseによりミオシンHC間に ϵ -(γ -Glu)Lys架橋反応^{26,52-55)}が誘発されて、ミオシンHCより高分子量成分を形成し、その結果、無添加のものより強いゲルが形成されていると考えられる。

第七章 総合考察

淡水産魚肉はゲル形成能が低いことから、日本では、練り製品の原料としてほとんど利用されていない。また、それに関する研究はほとんど行われていない。そこで、淡水産魚肉の練り製品への利用を目的として、淡水産魚肉のゲル化特性（第二章）、氷蔵耐性（第三章）、冷凍すり身化（第四章）、筋原繊維タンパク質のゲル化特性（第五章）および高圧処理の効果（第六章）を検討してきた。

本研究（第二章）に供試された6種の淡水産魚類のゲル形成能は、いずれも海産ねり製品原料魚のエソ^{20,21}やシログチ²²のゲル形成能より低いが、イワシやサバ（本研究室の未発表データ）のそれと同レベルであった。このことから、淡水産魚はねり製品原料としての適性を有すると考えられるが、淡水産魚肉単用によるねり製品は低級レベルの評価となることが予測されるので、他のゲル形成能の高い魚肉、例えばエソなどとの混用が望ましいと考えられた。しかし、淡水産魚肉のゲル形成能向上あるいは高度利用のためには、さらに検討が必要と考えられる。そこで、有効な添加物の探索（第五章）あるいは高圧処理法（第六章）の検討を行った。

魚肉を2~3%のNaClとともに搗潰し肉糊を加熱すると、弾力を有するゲルに変わる。そのゲルの形成は肉糊中の主要なタンパク質であるミオシンが担っており、加熱によって特異な変性凝集が起きてゲル化する。このミオシンの熱ゲル化反応はさまざまな修飾を受けるが、その中でゲルの坐りと戻りは特徴的な現象として古くから知られている。坐りは魚肉肉糊を一定の温度で保管する（坐らせる）と徐々に塑性を失ってしなやかな弾性ゲルに変わる現象である。海産魚ではさらにこの坐らせたゲルを高温で加熱（二段加熱）すると直接加熱した場合よりもゲル強度の著しく高いゲルが形成される。第五章で述べたように、坐りにはゲル化機構の異なる二つの種類、筋肉中の内在するTGaseが触媒するミオシン分子間のイソペプチド結合による架橋で起こる坐り^{19,26,27,52}（共有結合型）とミオシン分

子間の疎水結合などによる架橋で起こる坐り¹⁷⁾（非共有結合型）がある。一方、肉糊の加熱（相対的に低い温度）中に起きるゲル強度の低下は一般に戻りといわれる。通常は50～60℃での加熱による火戻りを指すことが多い。これまでにこの戻りの原因としては、タンパク質分解酵素による筋原繊維タンパク質の分解に起因するとしてプロテアーゼ説、¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾ および筋肉タンパク質の熱変性に起因するとしてタンパク質熱変性説¹¹⁷⁾の二つが提唱されている。しかし、現在、戻りでは経時的なミオシンHCの分解が観察されること、プロテアーゼインヒビターにより戻りが抑制されること、¹¹⁶⁾ 戻りを誘発するプロテアーゼ群^{118,119)}が単離されたことにより、プロテアーゼ説が有力視されている。

エソの水晒肉および筋原繊維の肉糊を坐らせると、強くゲル化が起こり、その形成されたゲルの破断強度は高かった。しかし、ミオシンレベルではそれが低かった（第五章および第六章）。関ら⁵²⁾は、海産魚の中で典型的な坐りを起こすスケトウダラ冷凍すり身を低塩濃度の緩衝液で洗浄してから肉糊を調製し坐りを行ったところ、ミオシンHC間の架橋重合能の低下に伴って、坐りゲルのゲル強度がかなり低下すること、さらに洗浄によって除かれた水溶性成分を再添加するとゲル強度とミオシンHC間の架橋重合能の回復が起こること、また、その水溶性成分の精製を行ったところ、タンパク質の修飾酵素の一種であるTGaseが関与していることを報告している。このことから、エソのミオシンレベルでのゲル形成能が低くなったことは、魚肉落し身からミオシンへの調製段階で内在するTGaseが除外され、結果的にTGaseが触媒するミオシンHC間のイソペプチド結合による架橋重合が起こらなかったことに起因していると考えられる。

一方、スケトウダラ肉糊を坐らせると、ミオシンHCの大部分は内在するTGaseによって架橋重合される。しかし同時にミオシンHCの一部が低分子量化されることは古くから気づかれていた。²⁰⁾この低分子量化はプロテアーゼ阻害剤E64の存在下で完全に抑制されることから、坐り中にもプロテアーゼが作用していることが分かる。したがって、スケトウダラの肉糊は加熱中、ミオシンのゲル化とともにTGaseとプロテアーゼによる酵素反応が同時に進行することが考えられている。¹¹⁰⁾当然、内在するTGaseの活性の高いスケトウダラ肉糊

では、架橋重合が強く起こるから、プロテアーゼの影響は現れなかった。淡水魚コイ水晒肉、筋原繊維およびアクトミオシンのゾルを加熱する場合は坐りが起こらない。同時にミオシンHCの一部が低分子化されることが認められた。このことはコイ肉中の内在するTGaseの不活性化による影響²⁷⁾でミオシン分子間のイソペプチド結合による架橋反応が起こらず、各種のプロテアーゼによる酵素反応^{107,108)}は非共有結合（疎水結合）によるゲル化反応¹⁷⁾より強くしかも先行することから、坐りを起さないものと考えられる。一方、塩ずりミオシンを単独加熱する（45℃）と強くゲル化が起こる。このことは魚肉落とし身からミオシンへの調製段階でゲル形成に阻害する各種プロテアーゼが除外されることに起因すると考えられる。二段加熱では、淡水魚は坐りを起こさないため、二段加熱を行うと一段（直）加熱のものよりゲル強度が低下することは当然なことであると考えられる。本研究に用いた淡水産魚肉肉糊はいずれも坐りを起こさなかったことから、コイ肉と同様の作用機構が推測される。

温度を上げずに10,000気圧程度の圧力を用いるときには、もともと反応性の高いものではない限り、共有結合の切断や生成は起こらないと考えられる。¹¹²⁾ 昌子ら¹¹³⁾は、スケトウダラすり身の塩ずり肉を低温下で加圧処理すると、強くゲル化すると同時にミオシンHC多量体成分の生成も認められることを報告している。このことは、スケトウダラすり身の肉糊を加圧処理するとき、内在するTGaseが圧力により失活する前に触媒して、ミオシンHC間のイソペプチド結合による架橋重合が起こること、また、一旦形成されたその結合が非常に強い共有結合であり、その後の加圧処理（10,000気圧以下）によって切断されず、同時に形成された多数の非共有結合（水素結合や疎水結合）¹¹²⁾との共同作用によって、強いゲル化反応が起こった結果であるとしている。第六章で述べたように、塩ずりしたコイ水晒肉、筋原繊維およびアクトミオシンの加圧ゲル形成能はエソのそれらのものと比べて非常に低かった。このことは上述したようにコイ肉の内在するTGaseが不活性で、加圧処理するときミオシンHC間のイソペプチド結合による架橋重合が起こらないこと、エソ肉の内在するTGase活性は非常に高いことから、加圧処理するときのゲル化がスケトウダラ

すり身の肉糊を加圧処理するときのゲル化と同様、内在するTGaseが圧力により失活する前に触媒して、ミオシンHC間のイソペプチド結合による架橋重合が起こって、同時に形成された多数の非共有結合（水素結合や疎水結合）¹¹²⁾との共同作用によって、強いゲル化反応が起こったことに起因していると考えられる。しかし、コイミオシン加圧ゲル形成能は筋原繊維およびアクトミオシンのそれと比べて非常に高く、また、エソのそれよりも高かった。このことはコイの筋原繊維およびアクトミオシンからミオシンへとタンパク質の単離調製が進むに伴って、加圧処理する時のゲル構成タンパク質の差異（Table 2）、すなわちミオシンサンプル中のミオシン含量と筋原繊維およびアクトミオシンサンプル中のそれとの違いか、またはミオシンサンプル中のアクチン含量と筋原繊維およびアクトミオシンサンプル中のそれとの違いかによって生じた結果であると考えられる。このミオシン加圧ゲル形成はSDS-PAGEのパターン（Fig.23）に示されたように、加圧処理前後での変化が認められないことから、タンパク質間の水素結合や疎水結合など¹¹²⁾によることが推測される。一方、エソ肉では上述したように、筋原繊維およびアクトミオシンからミオシンへとタンパク質の単離調製が進むに伴って、内在するTGaseが除外され、TGaseが触媒するミオシンHC間のイソペプチド結合による架橋重合が起こらなかったことに起因していると考えられる。

一方、TGase製剤添加の塩ずりしたコイ筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンの加圧ゲルのゲル形成能（Fig.22）は、いずれも無添加のものより非常に高かった。また、SDS-PAGEパターン（Fig.23-B,D,E）から、ミオシンHCに相当する成分は圧力に関係なく筋原繊維では消失、アクトミオシンおよびミオシンでは大きく減少し、いずれもミオシンHCより低分子の成分の新たな生成は認められなかった。このことから、TGase製剤添加塩ずり筋原繊維、アクトミオシンおよびミオシンは、加圧処理中にTGaseによりミオシンHC間に ϵ -（ γ -Glu）Lys架橋反応^{26,52-55)}が誘発されて、ミオシンHCより高分子の成分を形成し、その結果、強いゲルが形成されていると考えられる。しかし、TGase製剤添加塩ずりミオシンは、加熱処理（45~60℃）では第五章に示したようにゲル中のミオシンHCが消失し架橋

高分子化による多量体が形成されるのに対し、加圧処理ではゲル中のミオシンHCの一部の減少にとどまっております、しかも後者のゲル形成能は前者のそれより非常に高かった。このことは、TGase製剤添加ミオシン加圧ゲルのゲル形成がミオシンHC間の ϵ -(γ -Glu) Lys架橋結合^{26,52-55)}のみならず、ミオシタンパク質間に形成される多数の非共有結合(水素結合や疎水結合)¹¹²⁾も寄与していることが推察される。

第五、六章で述べたように、コイ筋肉の加熱および加圧ゲル形成能は水晒肉レベルでは非常に低いが、ゲル形成の主要成分であるミオシンレベルでは非常に高かった。また、コイの塩ずりミオシンの加熱および加圧ゲル形成能は、強足魚種であるエソのそれらと比べて高かった。このことから、これまで練り製品素材として未利用のコイ肉は練り製品への利用適性を潜在的に保持している可能性を示している。しかし、練り製品素材としての利用は、通常水晒肉を用いるためゲル形成能が弱く、使用も限定される。したがって、TGase製剤を品質改良剤として活用することにより、ゲル形成能の弱い淡水魚の広範な利用が期待できると考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するに当り，終始ご懇篤なるご指導を賜った長崎大学水産学部 野崎征宣教授に心から感謝し，厚く御礼申し上げます。

また，本稿をまとめるに当り厳密なる御校閲を頂いた長崎大学水産学部 野口玉雄教授，石原 忠教授および長崎大学工学部 古川睦久教授に深甚なる謝意を表します。

さらに，御指導を賜り，常々御助言を頂いた長崎大学水産学部故 田端義明教授，市川寿助教授に厚く御礼申し上げます。

最後に，研究の遂行上，御協力を頂いた長崎大学水産学部水産利用学研究室の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 真道重明：水産ねり製品技術研究会誌，No.18,368-376(1992)。
- 2) 朱 端龍：水産ねり製品技術研究会誌，No.18,260-263(1992)。
- 3) 元廣輝重：加工原料としての加工適性。「水産利用原料」（野中順三九編），恒星社厚生閣，東京，1987,pp.270-283。
- 4) 志水 寛，町田 律，竹並誠一：日水誌，47,95-104(1981)。
- 5) 田端義明，野崎征宣，金律良一：長大水研報，No.39,13-16(1975)。
- 6) 野崎征宣，田端義明，金律良一：長大水研報，No.40,29-34(1975)。
- 7) 黒川孝雄：日水誌，45,1551-1555(1979)。
- 8) 野崎征宣，赤枝 宏，谷口忠敬，田端義明：冷凍，59,527-532(1984)。
- 9) E. C. Bate-Smith and J. R. Bendall: *Brit. Med. Bull.*, 12,230-235(1956)。
- 10) 藤巻正生，古城健三：日水誌，19,499-504(1953)。
- 11) 野口栄三郎，山本常治：日水誌，20,1020-1022(1955)。
- 12) 野口栄三郎，山本常治：日水誌，20,1023-1026(1955)。
- 13) 斎藤 要，日高富雄：鹿大水産紀要，4,90-96(1955)。
- 14) 斎藤 要，日高富雄：日水誌，21,1025-1028(1956)。
- 15) 丹羽栄二：日水誌，41,907-910(1975)。
- 16) E. Niwa, K. Sato, T. Nakayama, and I. Hamada: *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47, 817-821(1981)。
- 17) 丹羽栄二，加納 哲，中山照雄：農化，60,279-285(1986)。
- 18) 伊藤慶明，吉中禮二，池田静徳：日水誌，45,1023-1025(1979)。
- 19) 伊藤慶明，吉中禮二，池田静徳：日水誌，46,617-620(1980)。
- 20) 沼倉忠弘，関 伸夫，木村郁夫，豊田恭平，藤田孝夫，高間浩蔵，新井健一：日水誌，51,1559-1565(1985)。

- 21) 沼倉忠弘, 溝口 竜, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 関 伸夫, 新井健一: 日水誌, 55,1083-1090(1989).
- 22) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: 平成元年度日本水産学会春季大会講演要旨集, pp.154.
- 23) 新井健一: 水産ねり製品技術研究会誌, No.15,145-154(1989).
- 24) 伊倉宏司: 農化, 62,1451-1461(1988).
- 25) 関 伸夫, 宇野秀樹, 李 南赫, 新井健一, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫: 昭和63年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp.167.
- 26) 塚正泰之, 志水 寛: 日水誌, 56,1105-1112(1990).
- 27) 塚正泰之, 志水 寛: 日水誌, 57,535-540(1991).
- 28) H. Ando et al.,: *Agric. Biol. Chem.*, 53,2613(1983).
- 29) H. Sakamoto, Y. Kumazawa, S. Toiguchi, K. Seguro, T. Soeda, and M. Motoki: *J. Food Sci.*, 60,300-304(1995).
- 30) 阿部洋一: 日水誌, 60,381-387(1994).
- 31) 阿部洋一, 安永廣作, 北上誠一, 村上由里子, 太田隆男, 新井健一: 日水誌, 62,439-445(1996).
- 32) 阿部洋一, 安永廣作, 北上誠一, 村上由里子, 太田隆男, 三堀友雄, 新井健一: 日水誌, 62,446-452(1996).
- 33) 安永廣作, 阿部洋一, 山澤正勝, 新井健一: 日水誌, 62,659-668(1996).
- 34) 鈴木敏朗: 肉の科学, 29,145-154(1988).
- 35) 昌子 有, 佐伯宏樹, 若目田 篤, 中村 誠, 野中道夫: 日水誌, 56,2069-2076(1994).
- 36) 昌子 有, 佐伯宏樹, 若目田 篤, 中村 誠, 野中道夫: 日水誌, 58,329-336(1994).
- 37) 昌子 有, 佐伯宏樹, 若目田 篤, 中村 誠, 野中道夫: 日水誌, 58,2055-2061(1994).

- 992).
- 38) 昌子 有, 佐伯宏樹, 若目田 篤, 野中道夫: 日水誌, 60,101-109(1994).
 - 39) 上田智広, 草葉隆一, 上村俊一, 岡崎恵美子, 福田 裕, 新井健一: 日水誌, 63,600-607(1997).
 - 40) 志水 寛: 日水誌, 40,175-179(1974).
 - 41) 志水 寛, 藤田照人: 日水誌, 51,1187-1194(1985).
 - 42) 益田 一, 尼岡邦夫, 荒賀忠一, 上野輝彌, 吉野哲夫編: 日本産魚種大図鑑「解説」(東海大学出版会) 初版, 東京, 1984, pp.37-185.
 - 43) 志水 寛: 特許公報, 昭40-21224(1965).
 - 44) 志水 寛, 川崎正之: 昭和52年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp.152.
 - 45) 志水 寛: ジャパン・フード・サイエンス, 3, No.11, 65-66(1964).
 - 46) 山本常治: 昭和51年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp.140.
 - 47) 猪上徳雄, 上野雄平, 秋場 稔: 昭和53年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp.174.
 - 48) 西岡不二男, 志水 寛: 昭和55年度日本水産学会春季大会講演要旨集, pp.241.
 - 49) 志水 寛, 西岡不二男: 日水誌, 40,267-270(1974).
 - 50) 志水 寛, 柄多 哲, 西岡不二男: 日水誌, 42,1025-1031(1976).
 - 51) 志水 寛, 池田和夫: 日水誌, 45,533-536(1979).
 - 52) 関 伸夫, 宇野秀樹, 李 南赫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: 日水誌, 56,125-132(1990).
 - 53) I. Kimura, M. Sugimoto, K. Toyoda, N. Seki, K. Arai, and T. Fujita: *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57,1389-1396(1991).
 - 54) Y. Tsukamasa, K. Sato, Y. Shimizu, C. Imai, M. Sugiyama, Y. Minegishi, and M. Kawabata: *J. Food Sci.*, 58,785-787(1993).
 - 55) 塚正泰之: 学位請求論文, 京都大学, 京都, 1992, pp.53-59.

- 56) R. G. Povlter, C. A. Curran, and J. G. Disney: *Paris*, 1981, pp.111-123.
- 57) 岩本宗昭, 山中英明, 阿部宏喜, 渡部終五, 橋本周九: 日水誌, 56, 93-99(1990).
- 58) 岩本宗昭, 井岡 九, 齊藤素子, 山中英明: 日水誌, 51, 443-446(1985).
- 59) 岩本宗昭, 山中英明: 日水誌, 52, 275-297(1985).
- 60) 望月 聡, 佐藤安岐子: 日水誌, 60, 125-130(1994).
- 61) 豊原治彦, 志水 寛: 日水誌, 54, 1795-1798(1988).
- 62) 尾藤方通, 山田金次郎, 三雲泰子, 天野慶之: 東海水研報, No.109, 89-96(1983).
- 63) 富岡和子, 遠藤金次: 日水誌, 50, 889-892(1984).
- 64) 内山 均: 鮮度変化, 白身の魚と赤身の魚(日本水産学会編), 水産学シリーズ13, 恒星社厚生閣, 東京, 1976, pp.78-92.
- 65) 山田金次郎, 原田勝彦, 河原敏明, 伊東良太郎, 塚本真一: 水大校研報, 31, 59-64(1983).
- 66) 志水 寛: 冷凍すり身。「魚肉ねり製品」(岡田 稔・横関源延・衣巻豊輔編), 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp.62-76.
- 67) 加藤 登, 内山 均, 塚本志郎, 新井健一: 日水誌, 43, 857-867(1977).
- 68) 川島孝省, 新井健一, 斎藤恒行: 日水誌, 39, 207-214(1973).
- 69) 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.191-194.
- 70) 関 伸夫, 池田 優, 成田憲弘: 日水誌, 45, 791-799(1979).
- 71) A. G. Gornall, C. T. Bardawill, and M. M. David: *J. Biol. Chem.*, 177, 751-766(1949).
- 72) 若松利男, 佐藤 泰: 農化誌, 53, 415-420(1979).
- 73) 志水 寛: 冷凍, 41, 182-187(1966).
- 74) 田中武夫: 冷凍, 40, 3-13(1965).
- 75) 福田 裕, 掛端甲一, 新井健一: 日水誌, 47, 663-672(1981).

- 76) 野崎征宣, 福田耕一, 矢田殖朗, 高木保昌, 兼原壽生, 久野俊行, 田端義明: 日本冷凍協会論文集, 5, 85-92(1988).
- 77) 野口 敏: 冷凍すり身. 「魚肉ねり製品—研究と技術」(志水 寛編), 恒星社厚生閣, 東京, 1984, pp.49-61.
- 78) 野口 敏: 魚肉タンパク質の凍結変性. 「食品タンパク質科学」(山内文男編), 食品資材研究会, 東京, 1984, pp.195-208.
- 79) 志水 寛: かまぼこ形成能. 「魚肉ねり製品—研究と技術」(志水 寛編), 恒星社厚生閣, 東京, 1984, pp.9-24.
- 80) 野口 敏: すり身のゲル化機構. 「食品工業における科学・技術の進歩(VII)」(日本食品科学工学会編), 光琳, 東京, 1997, pp.67-86.
- 81) 川島孝省, 大場明子, 新井健一: 日水誌, 39, 1201-1209(1973).
- 82) 加藤 登, 野崎 恒, 小松一宮, 新井健一: 日水誌, 45, 1027-1032(1979).
- 83) 福田 裕, 柞木田善治, 川村 満, 掛端甲一, 新井健一: 日水誌, 48, 1627-1632(1982).
- 84) 花房尚史: 生体高分子と水. 「食品の水」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 1973, pp.9-24.
- 85) L. Liedel: *Kaltetechnik*, 8, 374-377(1956).
- 86) E. Berlin, P. G. Kliman, and M. J. Pallansch: *J. Colloid Interface Sci.*, 34, 448-494(1970).
- 87) R. B. Duckworth: *J. Food Technol.*, 6, 317-323(1971).
- 88) L. G. Parducci and R. B. Duckworth: *J. Food Technol.*, 7, 423-429(1972).
- 89) S. C. Harvey and P. Hoekstra: *J. Phy. Chem.*, 76, 2987-2994(1972).
- 90) N. Inoue, A. Kishimoto, K. Yamazaki, and H. Shinano: *Fisheries Sci.*, 62, 603-605(1996).
- 91) M. V. Sussman and L. Chin: *Science*, 151, 324-325(1966).

- 92) I. D. Kuntz: *J. Am. Chem. Soc.*, 93,514-516(1971).
- 93) E. Suzuki and N. Nagashima: *Chem. Lett.*, 1981,181-184(1981).
- 94) E. Suzuki and N. Nagashima: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 55,2730-2733(1982).
- 95) 岡田 稔:新版魚肉ねり製品(岡田 稔・衣巻豊輔・横関源延編), 恒星社厚生閣, 東京, 1981, pp.189-212.
- 96) 伊藤慶明, 吉中禮二, 池田静徳:日水誌, 46,621-624(1980).
- 97) 来住 晃, 伊藤慶明, 小畠 渥:日水誌, 61,75-80(1995).
- 98) 来住 晃, 伊藤慶明, 小畠 渥:日水誌, 61,380-386(1995).
- 99) 高士令二, 新井健一, 斎藤恒行:日水誌, 36,165-168(1970).
- 100) 市川 寿, 松本竜治, 橋口周文, 野崎征宣:平成7年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp.122.
- 101) 西岡不二男, 町田 律, 志水 寛:日水誌, 49,1233-1238(1983).
- 102) M. A. Porzio and A. M. Pearson: *Biochim. Biophys. Acta.*, 490,27-34(1977).
- 103) 沼倉忠弘, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫:日水誌, 56,2035-2043(1990).
- 104) 李 南赫, 関 伸夫, 加藤 登, 中川則和, 照井正三郎, 新井健一:日水誌, 56,329-336(1990).
- 105) 李 南赫, 関 伸夫, 加藤 登, 中川則和, 照井正三郎, 新井健一:日水誌, 56,2093-2101(1990).
- 106) 平石隆哉, 甘粕幸代, 佐野 猛, 田宮 徹, 松本重一郎, 土屋隆英:昭和63年度日本水産学会春季大会講演要旨集, pp.119.
- 107) 西本真一郎, 横尾 裕, 橋本昭彦, 関 伸夫, 新井健一:昭和62年度日本水産学会春季大会講演要旨集, pp.277.
- 108) 村元 学, 関 伸夫:日水誌, 55,1605-1613(1989).
- 109) K. Osatomi, H. Sasai, M. Cao, K. Hara, and T. Ishihara: *Comp. Biochem. Physiol.*, 116B,183-190(1997).

- 110) 田中晴生, 野中雅彦, 本木正雄: 日水誌, 56,1341(1990).
- 111) 関 伸夫: 日水誌, 62,149-150(1996).
- 112) 林 力丸: 食品への高圧利用(林 力丸編), さんえい出版, 京都, 1989, pp.1-30.
- 113) 昌子 有: 水産加工とタンパク質の変性制御(新井健一編), 水産学シリーズ84, 恒星社厚生閣, 東京, 1991, pp.41.
- 114) 牧之段保夫, 山本正男, 清水 亘: 日水誌, 29,776-780(1963).
- 115) H. Toyohara, M. Kinoshita, and Y. Shimizu: *J. Food Sci.*, 55,259-260(1990).
- 116) H. Toyohara, T. Sakata, K. Yamashita, M. Kinoshita, and Y. Shimizu: *J. Food Sci.*, 55,364-368(1990).
- 117) 志水 寛, 吉本晴樹, 清水 亘: 日水誌, 28,610-615(1962).
- 118) M. Kinoshita, H. Yoyohara, and Y. Shimizu: *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58,715-720(1992).
- 119) M. Kinoshita, H. Yoyohara, and Y. Shimizu: *J. Biochem.*, 107,587-591(1990).