



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	多獲性多脂魚タンパク質の高度利用：Ⅴ．魚肉の加圧処理による脱脂と回収タンパク質
Author(s)	高間, 浩蔵; TAKAMA, Kōzō; 羽田野, 六男 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 30(1), 74-83
Issue Date	1979-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23674
Type	departmental bulletin paper
File Information	30(1)_P74-83.pdf



多獲性多脂魚タンパク質の高度利用

V. 魚肉の加圧処理による脱脂と回収タンパク質*

高間 浩蔵**・羽田野六男**・座間 宏一**

Developments in the Protein Utilization of Abundantly Caught
Fatty Fish

V. Effects of pressure treatments on eliminated lipids
and recovered proteins of fish

Kōzō TAKAMA,** Mutsuo HATANO** and Kōichi ZAMA**

Abstract

The investigation was done in a series of studies on the utilization of proteins in an abundantly caught fish such as sardine.

It was found that the application of high pressure, 300 kg/cm², to the minced flesh of sardine in a three-folded Pylene P2 bag by using an oil-working fluid cage-press, could eliminate ca. 22% lipids, most triglycerides and seem to promote the solubilization of proteins. The oxidative deterioration of lipids especially in phospholipids seemed to progress in the press-cake at 300 kg/cm², from the results of increases of POV and COV, and decreases of polyenoic fatty acids such as eicosapentaenoate and docosahexaenoate.

The studies have been extended to the homogenates of sardine or rainbow trout flesh in saline solutions and myofibrils prepared from rainbow trout minced flesh on the quantitative-qualitative properties of proteins solubilized by pressurization up to 1,500 kg/cm² using a French-press.

Proteins solubilized by pressurizing to 1,500 kg/cm² for 5 min were larger in quantities in the homogenates with 0.5M KCl solution (pH 6.5) than in those with 0.05M NaHCO₃-0.45M KCl solution (pH 8.1), and the proteins were recovered much more by pressurizing immediately after homogenizing with the former salt solution.

Sepharose 4B column chromatographies indicated that the salt soluble proteins could be solubilized by pressurization, and SDS gel electrophoresis patterns exhibited that the solubilized proteins were of all the major constituents of the myofibril. And yet, the recovered proteins were evidently denaturalized by pressurization for lack of Ca²⁺ ATPase activity.

However, it was considered that the protein solubilization effect induced by pressure was noteworthy to recover the fish proteins which were intended by the authors to be utilized for food-stuffs.

* 本研究は昭和 52, 53 年度文部省科学研究費の補助によった。また大要は昭和 53 年度日本水産学会春季ならびに秋季大会において講演発表した。

** 北海道大学水産学部食品化学第一講座
(Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

結 言

多量に含まれる高度不飽和脂質の存在が多脂肪魚の利用に際して著しく弊害となっていることはいうまでもない。したがって、このような魚類を高度に利用するためには脱脂工程が不可欠と考えられる。魚油はそれなりの用途はあるが、従来行われている採油法の一つであるクッカー・プレス法では蒸気加熱をとまなうことから、魚肉タンパク質は熱変性をまぬがれず、それから得られるタンパク質の利用法は制限されざるを得ない。

著者らは、多獲性魚の高度利用の方法として魚肉タンパク質を“生”の状態で回収し、それを化学的に修飾することによって広範囲に利用出来るタンパク質素材の開発を目指している^{1)~4)}。

本研究では、イワシ類で代表される多獲性小型魚の高度利用法の開発が今日的な問題であることに鑑み、それらのタンパク質を効果的に回収する方法を見出すことが必要であると考え、脱脂効果もある程度期待出来る魚肉の前処理法としての加圧処理法に着目し、魚肉の加圧による脱脂と、その後回収されるタンパク質について若干の検討を行った。

実 験 方 法

供 試 魚

北海道函館市近郊上磯町沿岸の定置網で捕獲された硬直中のマイワシ (*Sardinops melanosticta*, T. et S.) を用い、頭、骨、内臓を除去したのち、肉挽器で細碎して試料とした。また、本学七飯養魚場で飼育のニジマス (*Salmo gairdnerii irideus*, GIBBONS) についても同様にして用いた。

加圧装置と方法

(1) ケージ・プレス マイワシ細碎肉の 200g を 3 枚重ねにした三菱レイヨン・パイレン P 2 袋 (80×250mm) に詰め、86×190mm のプランジャーを装着した島津製油圧式ケージ・プレスに供し、規定した加圧度 (100, 200, 300 kg/cm²) でそれぞれ 10 分間加圧した。圧搾液汁はメスシリンダーに捕集し、液汁量を測定後、また圧搾残渣についても重量を測定後以後の実験に供した。

(2) フレンチ・プレス マイワシ、あるいはニジマス細碎肉を 0.5M KCl 溶液とともに ULTRA TURRAX ホモジナイザーで 1 分間ホモジナイズし、0°C に 1 夜放置後、あらかじめ 4~5°C の冷室で冷却してある大岳製作所製フレンチ・プレス (プランジャー: 30×135mm) に供し、規定の加圧度 (500, 1,000, 1,500 kg/cm²) でそれぞれ 5 分間加圧した。

圧搾液汁および残渣中の脂質成分

(1) 脂質抽出 ケージ・プレスに供して得られた魚肉からの圧搾液汁および残渣に、それぞれ 2 倍容の CHCl₃/MeOH (2:1) 混液を加え、1 分間ホモジナイズし、さらに 1 倍容の同混液を用いて抽出ビンに移し脂質を抽出後、ガラス濾過器で吸引濾過した。得られた抽出残渣について再度同様の抽出操作を繰り返して行い、計 6 倍容の混合溶剤を用いた。抽出液は合一し、Folch の方法による水洗操作を行い、CHCl₃ 層を分別後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧下に溶剤留去して抽出脂質を得た。

(2) 脂質成分の分別 圧搾残渣からの抽出脂質を少量の Benzene に溶解後、Bio-beads S-X2 (200~400 mesh, BIO-RAD Lab.) カラムに供し、同溶剤でトリグリセリド (TG) 含有の非極性脂質区分、リン脂質含有の極性脂質 (PL) 区分、およびその他の脂質区分の 3 区分に分別した。さらに非極性脂質区分からの TG の分別は、Wako gel B-0 プレートによる調製 TLC によって行った。展開剤には n-Hexane/Et₂O/AcOH (85:15:1) を用い、展開後 Rhodamine 6G を噴霧、TG 部をかきとったのち小カラムに移し CHCl₃/MeOH (1:9) で溶出した。

(3) 脂肪酸組成 圧搾液汁からの抽出脂質、および圧搾残渣からの PL ならびに TG をそれぞれ

10% HCl-MeOH とともに封管中 3 時間加熱処理し、それぞれの脂肪酸メチルエステルを調製した。これらを DEGS カラムを装着した日立 063 ガスクロマトグラフに供し、脂肪酸組成の分析を行った。データ処理は日立 834 クロマト・プロセッサーによって行った。

(4) 脂質リン、POV ならびに COV の測定 圧搾残渣から得た脂質のリン含量は Fiske-Subbarow 法により、また COV は熊沢・大山の方法⁵⁾に従って測定し、POV は基準油脂分析法⁶⁾によって測定した。

タンパク質の分離と定量

(1) 魚肉圧搾液と残渣中のタンパク質 圧搾液汁中のタンパク質は一定量の液汁に TCA 溶液を終濃度 5% になるように加え、遠心分離を行って沈澱するタンパク質を集め、1N NaOH を加えて溶解したのち定容し、その一定量についてビュレット法によって直接定量した。また圧搾残渣中のタンパク質は既報の方法⁷⁾に準じて抽出・分別後、ビュレット法によって定量した。

(2) 魚肉ホモジネートのフレンチ・プレス処理によって回収されるタンパク質 プレス処理後、35,000 rpm (100,000×G, 日立 55P-2 分離用超遠心機) 60 分間遠心分離を行い、遠沈管を一重ガーゼをしいたロート上に 15 分間倒立させ濾液と沈澱に分別した。得られた濾液中のタンパク質量をビュレット法によって定量し全回収タンパク質 (TP) 量を求め、同時に濾液の一部を水で 10 倍に希釈し 1 夜 0°C に放置後、10,000 rpm 20 分間遠心分離して得られる上澄液中のタンパク質量を測定し水溶性タンパク質 (WP) 量とした。TP 量から WP 量を差引して塩溶性タンパク質 (SP) 量とした。なお、ビュレット法によるタンパク質量の測定は日立 556 二波長分光光度計によって行った。

さらに、本実験での魚肉保水力は加圧処理後の超遠心分離で得られる沈澱重量 (g) の遠心分離前ホモジネート中の肉量 (g) に対する百分率⁷⁾で表示した。

回収タンパク質の性状

(1) 筋原繊維 (Mf) の調製 ニジマス筋肉より Fukazawa らの方法⁸⁾に準じて Mf を調製した。使用に際しては Mf 懸濁液を 600×G, 15 分間遠心分離し、得られた沈澱をその 10 倍容の 0.1M KCl 溶液に懸濁、再び 600×G, 15 分間遠心分離を行い、沈澱を 10 倍容の水に再度懸濁後、KCl を加えて塩濃度を約 0.5M に調整した。

(2) Sepharose 4B カラムクロマトグラフィー⁷⁾ 0.01% NaN₃ を含む 0.5M KCl-0.025M phosphate 緩衝液 (pH 6.50) で平衡化した Sepharose 4B (Pharmacia Fine Chemical) カラム (15×320 mm) を作成し、加圧処理によって得られた回収タンパク質成分の分別に供した。溶出は同緩衝液を用いて行い、260 および 280 nm の吸光度を日立 034 多波長分光光度計でモニターし、溶出パターンを記録した。

(3) SDS ゲル電気泳動⁹⁾ 10% SDS ゲルを調製し回収タンパク質を供したのち、ゲル 1 本当たり 8 mA の通電で泳動を行った。泳動後の染色、弁色の操作はすべて常法に従った。

(4) Ca²⁺ATPase 比活性の測定¹⁰⁾ 1 mM ATP, 5 mM CaCl₂, 25 mM Tris-maleate 緩衝液 (pH 7.0), 25°C の条件で測定し、遊離する Pi を試料タンパク質 1 mg 当りの μmoles/min で表示して比活性とした。

結果および考察

硬直中のマイワシ細碎肉を油圧式ケージ・プレスを用い 100, 200, 300 kg/cm² でそれぞれ 10 分間加圧した際の圧搾液汁量および残渣量は Table 1 に示す通りである。予備実験の結果では、硬直中のマイワシ肉から圧搾液汁が得られるのは 100 kg/cm² 以上の加圧からであり、液汁中に油層が分離するのは 250 kg/cm² 加圧からであった。また、300 kg/cm² 加圧においても肉片が漏出しないためには

濾過布 (パイレン P2) を3重にする必要のあることを認めていることから、本実験においては3重にした濾過袋を用いた。したがって低圧加圧試料では、濾過布に吸着する液汁量の割合が高圧加圧試料にくらべて高いことが考えられ、液汁量の損失は低圧加圧試料で大であることが予想された。

Table 1. Changes following pressurization in press-juice and -cake of sardine minced flesh (per 100 g minced flesh)

Press (kg/cm ² , 10 min)	Juice (ml)	Cake	
		(g)	Moisture (%)*
100	8.0	91.0	67.0
200	12.7	86.5	66.6
300	15.0	84.0	66.4

* measured by using a "Kett" infrared moisture meter

Table 2. Changes in lipid content and its recovery in press-juice and -cake of sardine minced flesh (g/100 g minced flesh)

Press (kg/cm ² , 10 min)	Juice	Cake		Recovered*
100	0.47	8.78	8.03 ^{a)} 0.75 ^{b)}	9.25 (89.1)
200	0.97	8.63	7.92 ^{a)} 0.71 ^{b)}	9.60 (92.5)
300	1.00	8.13	7.49 ^{a)} 0.71 ^{b)}	9.13 (88.0)

a) Nonphospholipid (Total lipid - Phospholipid)

b) Phospholipid (lipid-P × 25)

* The number in parentheses shows percentage of total lipid content (10.38g/100 g flesh) in nonpressurized sample

液汁中に圧出する脂質は Table 2 に示すように、200 kg/cm² 以上の加圧で著しく増大し、300 kg/cm² 加圧で得られる脂質量 (1.00 g/100 g 肉) がほぼ圧出される限界量と思われる。すなわち、圧搾液汁中に流出する脂質量は魚肉中に含有される全脂質 (10.38%) の約 10% 程度が限界であることを示している。

圧搾残渣中の残存脂質量は 300 kg/cm² 加圧試料で全脂質の約 78% である。後述するように、タンパク質の大部分 (全タンパク質の 86.3%) は圧搾残渣中に存在するために、残渣からのタンパク質回収 (抽出) 操作が引続いて必要となることから、残渣中に残存する脂質量と質が問題となる。その点ではケージ・プレスによる加圧処理で約 22% の脂質が除去されたことになる。

加圧処理によって除去される脂質の主体は貯蔵脂質であり、組織脂質のリン脂質は高圧処理によってもほとんど除去されない。未回収分に相当する脂質量が低圧加圧 (100 kg/cm²) 試料で多いのは、前述した濾過布の液汁吸着分が多いためと考えられる。しかし、高圧加圧 (300 kg/cm²) 試料で再び未回収分が多くなるのは主として脂質成分の酸化的分解に起因していることが考えられる。すなわち、Table 3 に示すように、300 kg/cm² 加圧試料における圧搾残渣中脂質の COV, POV が他の加圧試料に比して高く、また Table 4 に示すように、モノ不飽和脂肪酸の含量には加圧度による差異は認

められないが、ジエン酸以上の高度不飽和酸組成には加圧度による特徴的な差異があり、相対的に飽和酸組成にも違いが生じ PL でとくにドコサヘキサエン酸が著しく減少している。300 kg/cm² 加圧における圧搾液汁の脂質においても、他の加圧試料に比して明らかに高度不飽和酸の減少が認められ

Table 3. Changes in COV and POV of lipid in press-cake of sardine minced flesh

Press (kg/cm ² , 10 min)	100	200	300
COV (meq/kg)	27.9	22.5	47.4
POV (meq/kg)	43.2	25.7	87.0

Table 4. Changes in fatty acid composition of lipid in press-juice and -cake of sardine minced flesh

Fatty acid	Press (kg/cm ² , 10 min)									
	100			200			300			
	J*	Cake		J*	Cake		J*	Cake		
		TG ^{a)}	PL ^{b)}		TG ^{a)}	PL ^{b)}		TG ^{a)}	PL ^{b)}	
Saturated	16	27.0	19.1	32.3	21.7	23.9	30.4	26.1	19.1	47.8
	Others	26.0	16.4	10.3	18.5	20.3	8.0	22.0	15.5	10.2
Monoenoic		30.3	29.8	10.1	31.0	30.1	13.0	32.2	30.0	13.1
Polyenoic	20:5	7.6	14.1	8.8	11.8	11.3	9.0	8.7	14.6	7.3
	22:6	3.3	11.7	34.1	9.1	6.6	34.0	5.1	12.0	18.2
	Others	5.8	8.9	4.4	7.9	7.8	5.6	5.9	8.8	3.4

* J: Juice

- a) TG: Triglyceride separated by preparative TLC from nonpolar lipid fraction obtained on Bio-beads S-X2 column.
- b) PL: Polar lipid eluted from the Bio-beads column.

る。一方、200 kg/cm² 加圧では TG が特徴的な脂肪酸組成を示し、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸を主とする高度不飽和酸の減少が顕著である。しかしこの場合、圧搾液汁脂質は高度不飽和酸を構成成分とする TG の流入を示唆するような脂肪酸組成を示しており、加圧処理による脂質成分の酸化的分解はそれほど問題にならないものと考えられる。

Table 5 に示すように、圧搾液汁中のタンパク質は加圧度の増大にともなって多くなる。この場合、圧搾残渣中の筋漿タンパク質が加圧度の増大にともなって減少し、その減少量が液汁中のタンパク質増収分とよく一致していることから、液汁中タンパク質の主体は筋漿タンパク質であると考えられる。圧搾残渣から抽出される筋原繊維タンパク質 (MfP) が 200 kg/cm² 加圧試料で減少していることは、この程度の圧力が魚肉中の MfP を不溶化することが考えられる。しかし、300 kg/cm² 加圧試料では再び MfP が多量に抽出され、高圧処理はむしろ MfP の可溶化を促進する可能性を示している。このことは Table 6 に示すように、300 kg/cm² 加圧残渣からの MfP の Ca²⁺ATPase 比活性が他の試料に比して最も大であり、全活性においても著しく高いことから推察される。

魚肉をはじめとして食肉加工で一般に用いられるスクリュウ・プレスでは、1,400~2,800 kg/cm²

の圧力にまで達する¹¹⁾。そこで魚肉ホモジネートをフレンチ・プレスに供し、加圧度を1,500 kg/cm²まで高めた際の回収タンパク質について量的質的検討を行った。

Table 5. Changes in protein content and its recovery in press-juice and -cake of sardine minced flesh (g/100 g minced flesh)

Press (kg/cm ² , 10 min)	Juice	Cake			Total recovered*
	Total protein	Total protein	Myofibrillar protein	Sarcoplasmic protein	
100	0.62	10.79	7.02	3.77	11.41(94.3)
200	0.89	10.17	6.58	3.59	11.06(91.4)
300	1.08	10.44	7.02	3.42	11.52(95.2)

* The number in parentheses shows the percentage of total protein content in a nonpressurized sample (12.10 g/100 g minced flesh).

Table 6. Changes in Ca²⁺ ATPase activity of myofibrillar protein extracted from press-cake of sardine minced flesh

Press (kg/cm ² , 10 min)	Ca ²⁺ ATPase activity (μmoles Pi/min)		Recovery*
	Specific	Total	
100	0.163	1.14 × 10 ³	69.7
200	0.171	1.13 × 10 ³	67.3
300	0.245	1.72 × 10 ³	102.4

* percentage of total activity in nonpressurized sample (1.68 × 10³ μmoles Pi/min)

Table 7. Changes following pressurization in total, water soluble and salt soluble proteins and water holding capacity of homogenate of rainbow trout minced flesh (1 part) in 0.5M KCl solution (10 parts)

Press (kg/cm ² , 5 min)	Protein (g/100 g minced flesh)			WHC* (%)
	Total	Water soluble	Salt soluble	
0	8.90	3.78	5.12	243.5
500	9.82	3.99	5.83	240.6
1,000	12.11	4.12	8.00	130.9
1,500	13.68	4.93	8.75	78.0

* WHC: Water holding capacity (%) = $\frac{\text{wt of centrifugal sediment}}{\text{wt of original flesh in homogenate}} \times 100$

Table 7 に、ニジマス肉の 0.5M KCl 溶液によるホモジネートを用いた場合の加圧度と回収タンパク質量の関係を示してある。加圧度を 1,500 kg/cm² まで増大しても回収される WP 量には大差はないが、TP 量が増大し、SP の増収が反映している。また、加圧の増大は魚肉の保水力の低下を促進している。この結果は羊肉ホモジネートを加圧した場合と同様である¹²⁾。以後の実験では 1,500 kg/cm²、5 分間の加圧処理を固定した条件として、まず 0.5M KCl によるホモジネート中の肉量と加圧回収タ

ンパク質量の関係を検討し、結果を Table 8 に示してある。非加圧試料では、塩溶液量が多いほど（魚肉濃度が低いほど）回収タンパク質量が多く、その主体は WP である。加圧試料では、魚肉濃度の最も高い 1:2 ホモジネートで加圧によって粘性が高まり、ゾル化し回収タンパク質量が著しく少い。1:3~1:10 ホモジネートでは非加圧試料にくらべて著しい TP の増収がなされ、とくに SP の増収が顕著である。魚肉濃度が最も低い 1:20 ホモジネートでは、むしろ回収タンパク質は減少するが、SP

Table 8. Changes in total, water soluble and salt soluble proteins of homogenate of rainbow trout minced flesh at various ratios of flesh to 0.5 M KCl solution

Flesh/Solution	Protein (g/100 g minced flesh)		
	Total	Water soluble	Salt soluble
Nonpressurized sample			
1 : 2	4.74	4.19	0.55
1 : 3	4.60	3.97	0.63
1 : 5	7.26	4.35	2.91
1 : 10	8.75	3.98	4.59
1 : 20	8.56	5.58	2.98
Pressurized sample*			
1 : 2	3.60	2.38	1.22
1 : 3	10.42	3.35	7.07
1 : 5	12.44	3.89	8.55
1 : 10	12.21	4.89	7.32
1 : 20	10.19	4.67	5.52

* Pressurization: at 1,500 kg/cm² for 5 min

の減収が主因であり WP 量はそれほど減少していない。これらの結果は加圧によるタンパク質の効果的回収に際し至適な条件の存在することを示すものであり、1,500 kg/cm²、5分間の加圧条件では回収タンパク質の絶対量では 1:5 のホモジネートが有利であり、加圧処理が SP の可溶化を促進することを示した。

そこでマイワシ肉についても 1:5 ホモジネートを調製し、1,500 kg/cm²、5分間の加圧処理によって得られるタンパク質量について検討し、結果を Table 9 に示してある。0.5M KCl 溶液 (pH 6.50) によるホモジネートの pH は非加圧試料で 5.80、加圧試料で 5.85 であった。また、イワシの場合は魚体あるいは魚肉処理中に pH の低下が速やかであることから、0.05M NaHCO₃ を含む 0.45M KCl 溶液 (pH 8.10) によるホモジネートも調製したが、この場合の pH は非加圧試料で 7.25、加圧後で 7.30 を示し、KCl のみの溶液を用いた場合はかなり酸性側に移行して等電点に近づくが、NaHCO₃ 含有溶液ではほぼ中性付近を保持している。しかしながら、非加圧試料では KCl のみの溶液を用いた方が回収タンパク質量が多く、この傾向は 0°C に 1 夜放置して抽出時間を延長した試料でより明らかである。一方、加圧処理は TP では KCl のみの溶液を用いたものが非加圧試料の 42% の増収に対し、NaHCO₃ 含有 KCl 溶液を用いた場合は 50% の増収となり、加圧効果の点では NaHCO₃ 含有溶液でわずかに有利であることを示している。同様の観点から、0°C に 1 夜放置したものでより明らかであり、pH をあらかじめアルカリ側に調整した塩溶液を用いることが有利である。しかし、回収タンパク質の絶対量では KCl のみの溶液を用い、ホモジナイズした直後に加圧処理することが最も効果的であることを示している。

NaHCO₃ 含有 KCl 溶液を用いた場合はイワシ肉ホモジネートの pH が中性付近に保たれ、保水力が増大 (212.3%) し、KCl のみの溶液を用いた場合 (131.6%) の約 1.6 倍になっている。さらに、

Table 9. Effect of saline solution (5 parts) on total, water soluble and salt soluble proteins from homogenate of sardine minced flesh (1 part), and on pH and water holding capacity of the homogenate

Homogenate	Nonpressurized		Pressurized (1,500 kg/cm ² , 5 min)	
	0.5 M KCl (pH 6.5)	0.05 M NaHCO ₃ - 0.45 M KCl (pH 8.1)	0.5 M KCl (pH 6.5)	0.05 M NaHCO ₃ - 0.45 M KCl (pH 8.1)
pH	5.80	7.25	5.85	7.30
WHC†	131.6 104.1	212.3 225.3	108.0 101.9	167.1 199.9
Total protein†*	5.87 6.95	4.95 3.97	8.34 7.63	7.43 5.30
Water soluble protein†*	4.85 5.00	4.30 3.60	4.55 4.65	4.97 3.92
Salt soluble protein†*	0.99 1.95	0.65 0.37	3.79 2.98	2.46 1.38

† The numbers in the upper row show the data on the samples treated just after homogenizing, and in the lower row on the samples treated after equilibrating the homogenates overnight at 0°C.

* Protein content: g/100 g minced flesh

ホモジネートを 0°C に 1 夜放置したものは KCl のみの溶液を用いたもので保水力が低下 (104.1%) するのに対し、NaHCO₃ 含有溶液によるものの方では逆に大きくなる (225.3%) ことが認められ、塩溶液の pH をアルカリ側にあらかじめ調整することは、魚肉の保水力を高めゾル化を促進する結果となり、マイワシ肉からのタンパク質回収を目的とする場合、加圧のタンパク質可溶化作用が肉の保水力を低下させることに基づいていることからむしろ不利であると考えられる。

加圧処理によって増収されるタンパク質の主体が MfP であることはすでに推察されたが、この点をさらに明らかにするために、ニジマス肉から Mf を調製し、0.5M KCl 溶液に懸濁後、加圧して得られる可溶化タンパク質の性状について検討した。Table 10 に示すように、非加圧試料からはわずかに約 17% のタンパク質が回収されるにすぎない。これは超遠心分離の過程ではほとんどのタンパク質がゲル状沈渣になっているためである。しかし、このような条件においても加圧試料からは約 77% のタンパク質が得られ、加圧処理が MfP の可溶化を促進していることが明らかである。一方、Ca²⁺ATPase は非加圧試料でわずかながら認められるのに対し、加圧試料では全く認められない。

回収タンパク質を SDS ゲル電気泳動に供した結果は Fig. 1 に示すように、ミオシンおよびアク

Table 10. Protein solubilized from rainbow trout myofibril suspended in 0.5 M KCl solution pressurized at 1,500 kg/cm² for 5 min

Sample	Solubilized protein (mg/ml)	Ca ²⁺ ATPase (μmoles Pi/mg protein/min)
Myofibril suspension	5.23	0.244
Nonpressurized	0.88	0.059
Pressurized	4.02	Nil

チン由来のバンドが明瞭に認められ、典型的な MfP のパターンを示している。このことは羊肉を用いた Macfarlane and Mckenzie の結果と同様である¹³⁾。

また、ニジマス肉ホモジネートを用いた際の回収タンパク質を Sepharose 4B カラムに供した場合の溶出パターンを Fig. 2 に示す。溶出液量が 20ml 付近にピークを示す成分のほか、43~45ml、および 52~54ml にピークを示す成分に分離され、加圧試料で最初に溶出する成分が著しく多く、非加圧試料よりも増大している。これらとは別に調製した SP および WP を同カラムに供した結果から、最初のピーク成分は SP であり、後二者のピーク成分が WP であることを認めている。

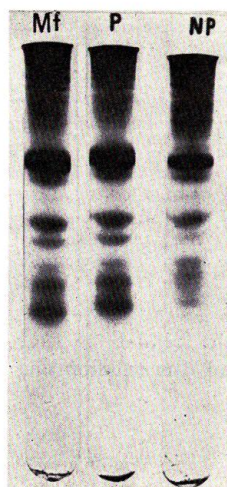


Fig. 1. SDS gel electrophoresis patterns of the protein solubilized from myofibril of rainbow trout suspended in 0.5 M KCl solution

Mf: Myofibril suspension

P: Pressurized (at 1,500 kg/cm² for 5 min) sample

NP: Nonpressurized sample

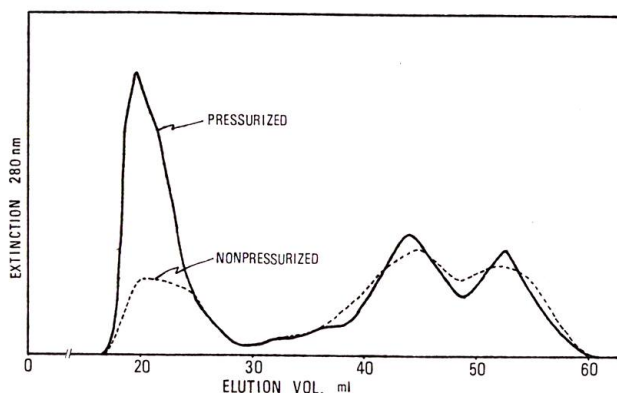


Fig. 2. Elution patterns of supernatant liquids obtained from nonpressurized and pressurized (at 1,500 kg/cm² for 5 min) homogenates of rainbow trout minced flesh in 0.5 M KCl, after chromatography on Sepharose 4B column

Pressurized and nonpressurized samples were applied on the column 11.2 mg and 8.0 mg proteins, respectively.

以上のことから、魚肉の加圧処理は主として MfP の可溶化を促進するが、高压加圧 (1,500 kg/cm²) によって回収されるタンパク質はすでに Ca²⁺ATPase 活性を失っており、その点では変性したタンパク質であることが明らかとなった。さらに、加圧処理によって得られるタンパク質溶液は明ら

かに粘度低下を起たしており、アクチンの F→G 変換の進行も考えられる¹⁴⁾。しかしながら、回収タンパク質を食品素材として用いることを指向している本研究においては、より多く、より効果的にタンパク質の回収がなされることが必要であり、その点では、魚肉あるいは魚肉ホモジネートの加圧処理は魚肉タンパク質の効果的な回収方法であるとして注目し得るものと考えられた。

終りに、本研究の遂行にあたり、種々御援助を賜った本学部生物化学講座新井健一助教授、ならびに関伸夫博士に深く感謝します。

文 献

- 1) 高間浩蔵・羽田野六男・座間宏一. 多獲性多脂魚タンパク質の高度利用-I. マイワシの死後硬直と抽出タンパク質の性状. 日水誌 投稿中.
- 2) 羽田野六男・高野秀明・高間浩蔵・フェデリコ・カプリング・座間宏一. 同上-II. マイワシ・サクシニル化筋原繊維タンパク質の化学的性質と機能特性. 同誌 投稿中.
- 3) 羽田野六男・高野秀明・高間浩蔵・座間宏一. 同上-III. マイワシ・サクシニル化筋原繊維タンパク質の乳化性と可溶性. 同誌 投稿中.
- 4) 羽田野六男・高間浩蔵・座間宏一. 同上-IV. マイワシ・サクシニル化筋原繊維タンパク質のカード形成. 同誌 投稿中.
- 5) 熊沢 恒・大山 保 (1965). 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをを用いる酸化油の総カルボニル測定法. 油化学 14, 167-171.
- 6) 基準油脂分析法 (1971). 日本油化学会編.
- 7) Van Eerd, J.P. (1972). Emulsion stability and protein extractability of ovine muscle as a function of time postmortem. *J. Food Sci.* 37, 473-475.
- 8) 常盤知宣 (1974). 魚肉筋原繊維の調製と観察. 水産生物化学・食品学実験書. 斎藤恒行他編. 170-178. 恒星社厚生閣. 東京.
- 9) 関 伸夫 (1974). SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動. 同上. 124-134. 同上.
- 10) 新井健一 (1974). 魚類筋内タンパク質の特性の測定. ATPase 活性, ATP 感度, 超沈殿, アクチンの活性. 同上. 189-202. 同上.
- 11) Brennan, J.G. et al. 藤井 達訳 (1971). 最新食品工学 (Food Engineering Operations). 356 p. K.K. 食品資材研究会. 東京.
- 12) Macfarlane, J.J. (1974). Pressure-induced solubilization of meat proteins in saline solution. *J. Food Sci.* 39, 542-547.
- 13) Macfarlane, J.J. and McKenzie, I.J. (1976). Pressure-induced solubilization of myofibrillar proteins. *Ibid.* 41, 1442-1446.
- 14) Ikkai, T. and Ooi, T. (1966). The effects of pressure on F→G transformation of actin. *Biochemistry* 5, 1551-1560.