

9144 塩蔵が魚肉テクスチャーに及ぼす影響について

豊原 治彦(京都大学)

塩蔵は主に食塩による水分活性の低下によってもたらされる静菌効果を期待した我国の伝統的な魚肉貯蔵法のひとつである。しかし、塩蔵過程において塩が単に静菌剤として機能しているのではなく、魚肉を生そのまま貯蔵したのではとうてい望めないような独特の風味や歯応えを魚肉に付与する機能を果たしていることは見逃されがちである。そこで本研究ではマサバを材料として、特に筋肉の物性に及ぼす効果について検討した。

マサバ筋肉を1cm角に整形し、4°Cで24時間ふり塩漬(直接食塩の中に漬け込む)あるいはたて塩漬(食塩水に漬け込む)を行ない、その後さらに4°Cで3日間風乾した。塩漬処理後の塩分濃度には、たて塩とふり塩で差は認められなかったが、ふり塩ではたて塩にくらべてその後の乾燥工程中の塩分濃度上昇が著しかった。最終的な水分濃度は、たて塩のほうがやや高い傾向があった。物性評価をクリープ試験によりおこなったところ、塩漬処理によりゆがみ率は小さくなり、いわゆる“身がしまった状態”となることが示された。

次に塩漬処理による物性変化の原因を明らかにするため、光学顕微鏡と透過型電子顕微鏡による微細構造の観察およびSDS-PAGEによるタンパク質分析をおこなった。低倍率で筋肉の横断面を観察すると、塩漬処理により筋線維間にある結合組織が脱落し、また筋線維が角張ってくる様子が認められた。前者は塩による結合組織の主要成分であるコラーゲンの溶解、また後者は、塩による筋原線維中の脱水あるいはタンパク変性によるものと考えられた。また透過型電子顕微鏡による観察結果から筋原線維構造の消失が認められたが、これは塩漬による筋原線維タンパクの溶解に起因すると考えられた。一方、SDS-PAGE分析の結果、スケトウダラなどで報告されているミオシンの重合は検出されなかったが、筋形質画分については塩漬によりパターンの変化が検出された。

以上の結果から、塩漬による魚肉の物性変化は、結合組織、筋原線維、および筋形質タンパク質の溶解・変性などが原因となっているものと推察された。

9144 塩蔵が魚肉テクスチャーに及ぼす影響について

豊原 治彦 (京都大学)

1. 研究目的

塩漬は古くから知られている代表的な肉の保存方法である。特に我国においては、魚肉の伝統的保存法として長い歴史を持つ。肉を塩漬すると、塩が肉中に徐々に浸透し、反対に肉中の水分が現象する。静菌効果は、この塩の水分活性低下効果によるものである。一方、塩蔵により肉は生(なま)のときとはちがった独特のテクスチャー(歯応え、口ざわり、舌ざわりなど)や風味を持つようになる。輸送機関、方法などが著しく進歩した現代社会においては、塩の単なる静菌効果よりは、むしろこのような二次的な効果を期待して、塩漬をおこなうことも多い。生干しあるいは半夜干しと呼ばれるものは、その例である。本研究では、このような塩の二次効果のうち特にテクスチャーに与える影響に的をしぼって、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡による微細構造の観察、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)によるタンパク質分析を行なった。

2. 研究方法

2.1 塩蔵および乾燥法

実験魚としては年間を通じて入手が容易で、魚体も大きいマサバを用いた。三枚におろし、1cm角に整形し、4℃で24時間ふり塩漬(直接食塩をふりかける)あるいはたて塩漬(15%食塩水に漬込む)を行ない、その後一旦水洗し、さらに低温室内(4℃)で扇風機を用いて3日間風乾した。ふり塩漬けに対する対照として単に空気中に放置したものを、またたて塩漬けに対する対照として水に浸漬したものをを用いた。

2.2 塩分および水分濃度測定法

塩分は4倍量の水抽出液について堀場製作所コンパクトソルトメーターにより、また水

分は加熱乾燥法によった。

2.3 物性評価法

塩蔵品独特の”身がしまった状態”を定量化するため、50g、10秒の荷重条件でクリープ試験をおこない歪みの程度を測定した。測定には、山電レオナーRE-3305を用いた。

2.4 微細構造の観察

光学顕微鏡観察用試料は、ブアン固定後、5μmの切片を切り出し、ヘマトキシリン-エオシン二重染色を行なった。透過型電子顕微鏡観察用試料は、カルノフスキー液と1%オスミウム酸で固定した後、超薄切片を切り出し、酢酸ウランとクエン酸鉛二重染色を行なうことにより作製し、日立H-700Hで観察した。

2.5 SDS-PAGE分析

10%ポリアクリルアミドゲルを用い、Laemmli¹⁾の方法にしたがって行なった。

3. 研究結果

3.1 塩蔵及び乾燥工程中における塩分及び水分濃度の変化

結果をFig. 1に示す。ふり塩漬け(Dry salting)、たて塩漬け(Brine salting)のいずれにおいても、24時間後の塩分濃度は6%と塩漬け方法による差は認められなかった。しかし、続く72時間の乾燥工程において、ふり塩漬けを行なったものでは最終的に12%とかなりの塩分濃度の上昇が認められたが、たて塩漬けを行なったものでは7.7%と上昇の程度は少なかった。それぞれの対照では、水分の蒸散のためわずかに塩分濃度の上昇が認めれた。以上の結果は、Fig. 2に示した水分濃度の減少ともよく一致した。つまり、ふり塩漬けではたて塩漬けにくらべて、乾燥工程中により顕著な水分の減少が検出された。また対照においても、蒸散による水分の減少が認められた。

3.2 塩蔵及び乾燥工程中における物性の変化

塩蔵品の物性を評価するにあたって、種々の物性評価法を検討した結果、クリープ試験による歪みの測定が、塩蔵品特有のややゴムに近いような腰の強い肉質を評価するのに適していると判断した。荷重条件は、予備実験から50g、10秒で行なうこととした。Fig. 3にその結果を示した。ふり塩漬けでは、たて塩漬けにくらべて表面部分の脱水が速やかに進行するためより歪みにくい、つまりより身のしまった肉質となることが示され

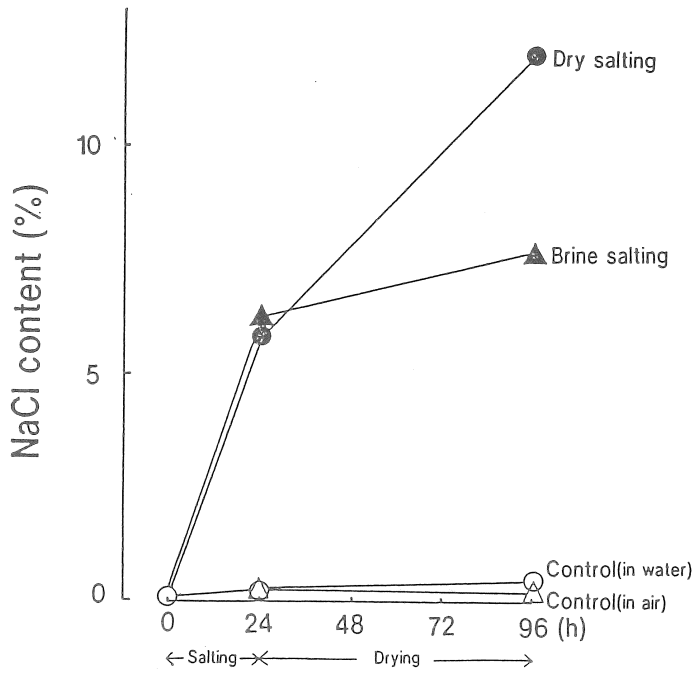


Fig.1 Change in NaCl content during salting and drying

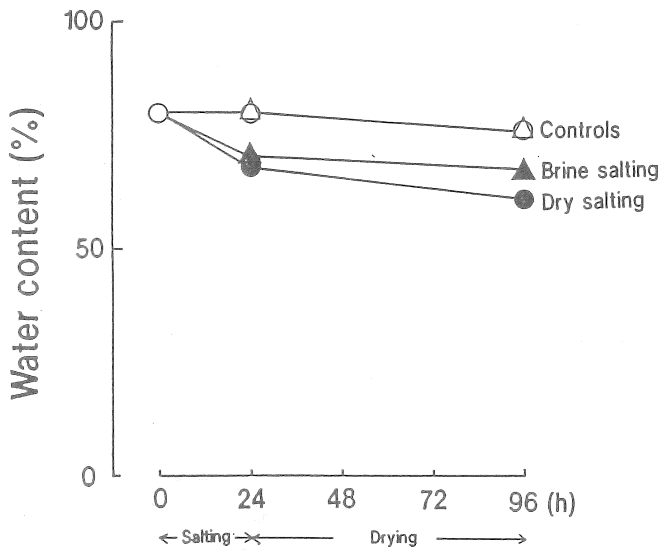


Fig.2 Change in water content during salting and drying

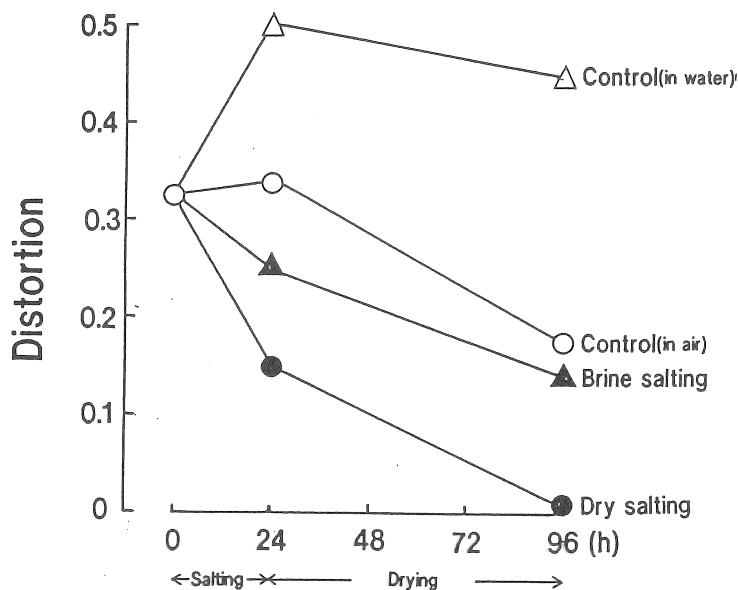


Fig.3 Change in Distortion during salting and drying

た。両者の物性の違いは、乾燥工程を経た後ではさらに広がり、ふり塩漬けを行なったものではこの荷重条件ではまったく歪みを示さなかった。なお、ふり塩漬けの対照として空气中に24時間放置した後、72時間風乾したものでは、風乾中に表面部分の水分の蒸散によると思われる歪みの低下が起こったが、たて塩漬けの対照として水中に24時間浸漬した後、72時間風乾したものでは、浸漬中にかえて歪みは増大し、風乾中にも歪みはそれほど減少しなかった。

3.3 塩蔵工程中の微細構造の変化

Fig. 3に示したように、塩蔵・乾燥工程中に魚肉は明らかなテクスチャーの変化をおこす。この原因を明らかにするために光学顕微鏡と透過型電子顕微鏡による微細構造の観察を行なった。Fig. 4は即殺直後の筋肉組織の横断面を示したものである。濃染された筋線維の横断面と筋線維どうしを結合する結合組織および白く抜けた脂肪顆粒が観察される。Fig. 5およびFig. 6にそれぞれふり塩漬け、たて塩漬けを24時間行なった肉の横断面の光学顕微鏡写真をそれぞれの対照とともに示した。対照においてはともにFig. 4に示した即殺時のものとほとんどちがいは認められないが、塩漬処理を行なっ

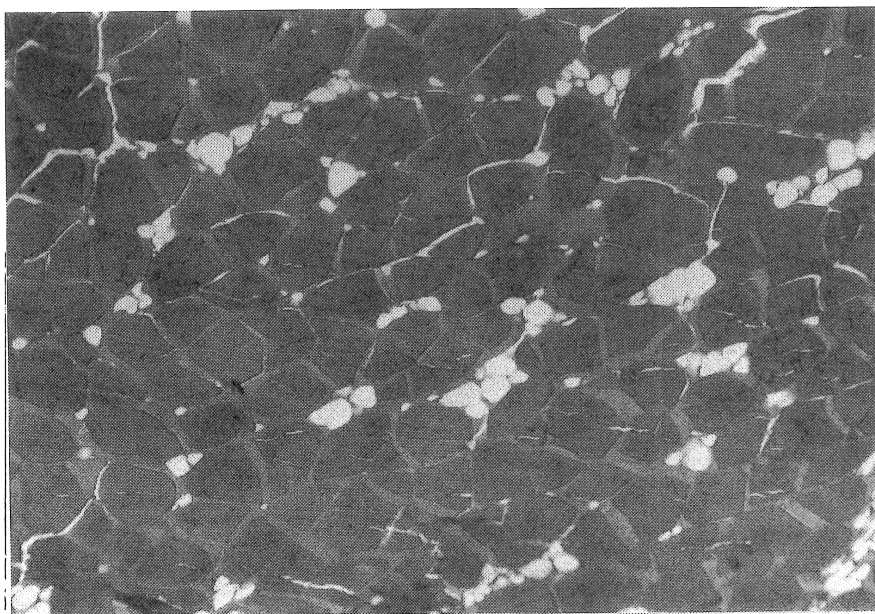
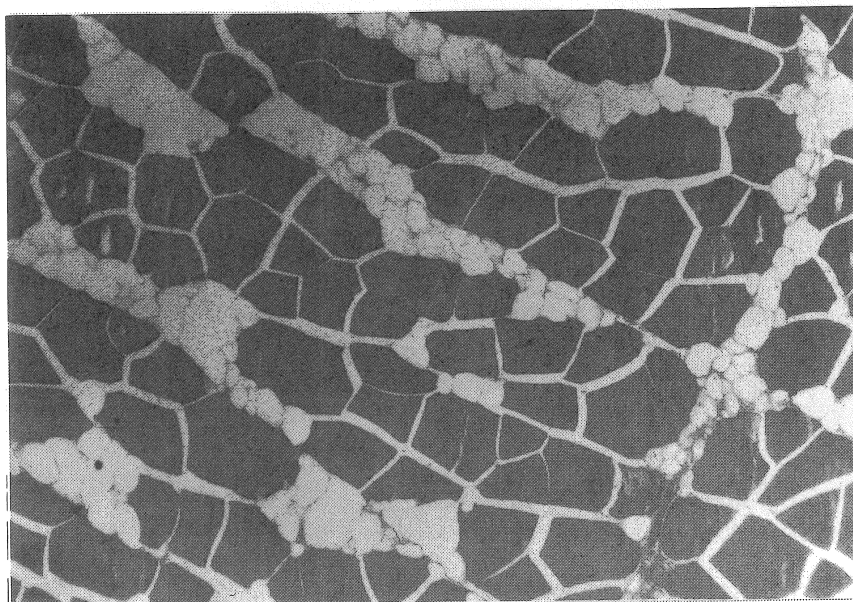


Fig.4 Light micrograph of mackerel muscle
immediately after death (x100)

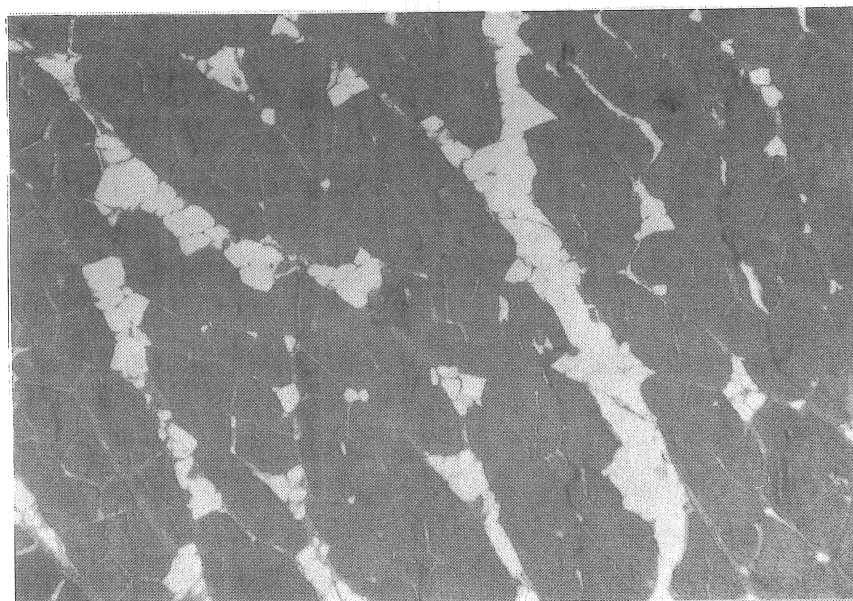
たものでは、筋線維横断面の変形が観察される。つまり、即殺直後には丸みをおびていた筋線維が、塩漬後にはかなり角張った構造になっていることがわかる。しかし、筋線維の内部構造は、この写真で見る限りにおいてとくに顕著な組織の破壊は観察されない。そのほか、筋線維をつなぐ結合組織構造が認められなくなり、その部分に薄い膜構造が残されているのが観察される。またふり塩漬けたて塩漬けとでは、塩漬後の組織構造にそれほど顕著な違いは認められなかった。

筋線維内部のさらに微細な構造変化を知るため、透過型電子顕微鏡による観察を行なった。その結果、Fig. 7に示すように、即殺直後には明瞭に観察されたミオシンからなる太いフィラメント構造が、塩漬後には消失している様子が示されている。しかし、Z帯の構造は、塩漬後にもそれほど変化しておらず、また細いフィラメント構造もある程度は認めることができる。ふり塩漬けとたて塩漬けとの差も認められなかった。

なおここには示さなかったが、24時間塩漬後さらに72時間の乾燥を行なった試料についても、同様に光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡による観察を行なったが、乾燥工程中には目立った組織構造の変化は認められなかった。

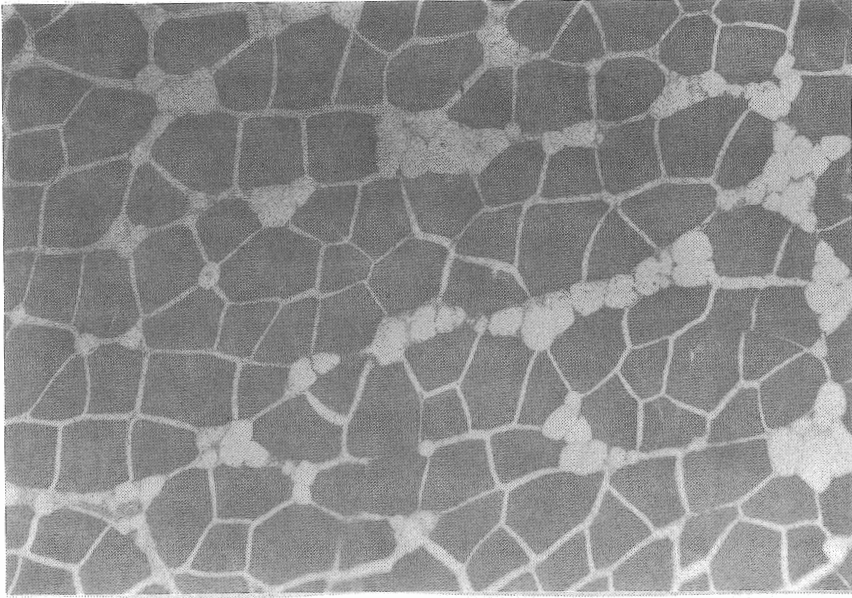


Dry salting

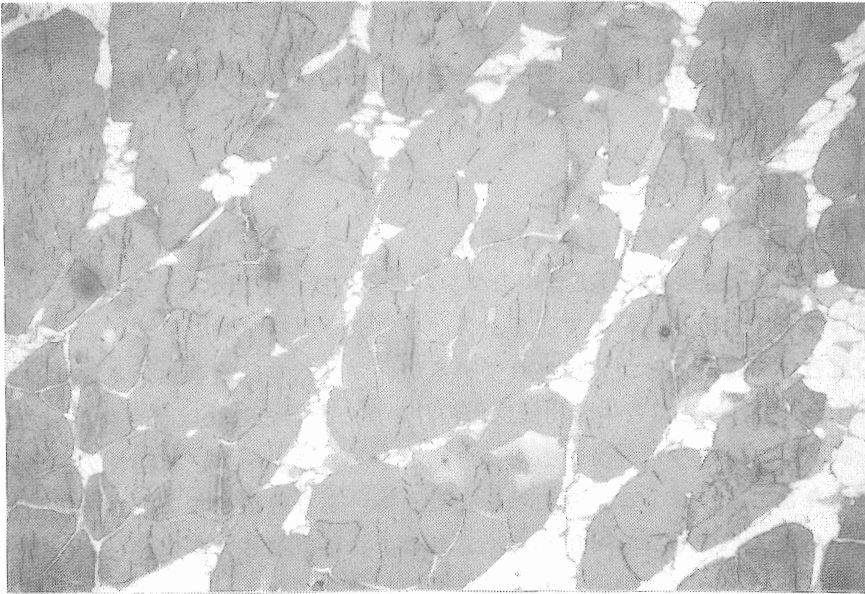


Control(in air)

Fig.5 Effect of dry salting on mackerel muscle (x100)



Brine salting



Control(in water)

Fig.6 Effect of brine salting on mackerel muscle (x100)

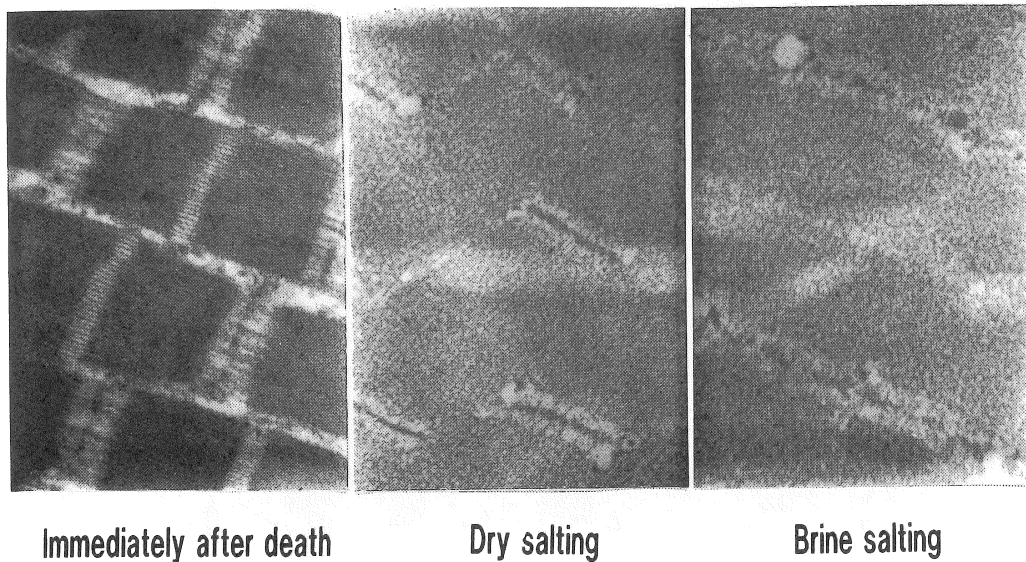


Fig.7 Effect of salting of mackerel muscle (x20,000)

3.4 塩蔵及び乾燥工程中のタンパク質の変化

SDS-PAGEにより塩漬・乾燥工程中のタンパク質の変化を調べた。Fig. 8は、全肉タンパク質について分析した結果である。スケトウダラ²⁾やマアジ³⁾では、塩漬工程中にミオシンの重合がおこることが報告されているが、マサバでは重合によるミオシンバンドの減少や高分子域における重合生成物は認められなかった。ここには示さなかったが、筋原線維画分を調製して行なった分析でも同様の結果であった。一方、水溶性の筋形質画分について検討したところ、Fig. 9に示したように、ふり塩漬けおよびたて塩漬けにおいて、かなりのバンドパターンの変化が認められた。特に目立った変化として、高分子量域におけるコラーゲンバンドの出現、中分子量域における新たなバンドの出現、低分子量域におけるバンドの消失などの変化が観察された。

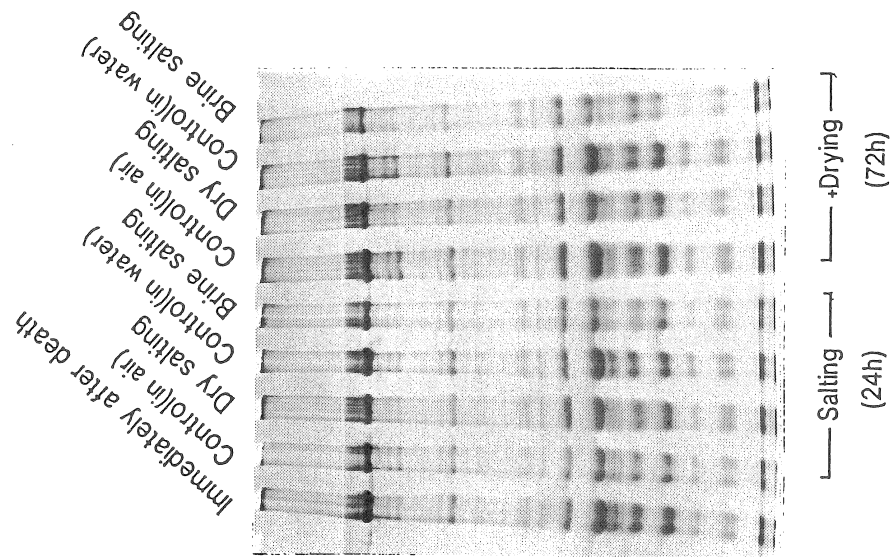


Fig.8 SDS-PAGE analysis on mackerel muscle protein treated with salting and drying.

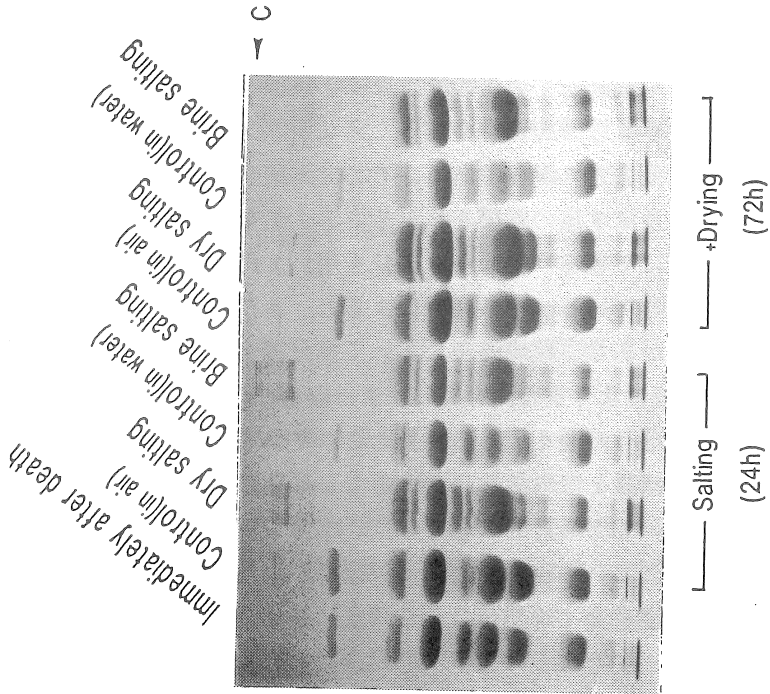


Fig.9 SDS-PAGE analysis on sarcoplasmic proteins of mackerel muscle treated with salting and drying ("c" indicates collagen bands)

4. 考察

塩漬は我国において古くから知られている代表的な魚肉保存法である。しかし、塩漬過程において塩が単に静菌剤として機能しているのではなく、魚肉を生(なま)のまま貯蔵したのではとうてい望めないような独特の風味や歯ごたえ(テクスチャー)を魚肉に付与する機能を果たしていることは見逃されがちである。そこで本研究においては、マサバを用いて、特に筋肉の物性変化に及ぼす塩の影響を検討した。

塩漬の効果については、すでに下坂ら⁴⁾によりマアジを用いて行なったふり塩漬けとたて塩漬けの詳細な比較が報告されている。その報告によると、ふり塩漬けでは、塩漬工程中に水分の浸出による重量減少があり、乾燥処理において水分減少が大きい、たて塩漬けでは水分の減少が少なく、乾燥により長時間を要し、また塩漬法の違いによりテクスチャーに差が生じる(ふり塩漬けのほうが硬く、もろい)とされている。用いた魚種、塩漬条件などが異なるため、本研究の結果とは単純に比較することは難しいが、Figs. 1-3に示したように、本研究においても最終的な塩分濃度、水分濃度、歪みなどの点において、ふり塩漬けとたて塩漬けとにおいて明らかな違いが認められた。特に興味深いのは、Fig. 1に示したように、塩漬を24時間行なった時点においては、ふり塩漬けもたて塩漬けも塩分濃度はともに6%程度であったのが、乾燥後にはふり塩漬けのほうがはるかに塩分濃度が高くなっていることである。これはおそらく24時間の塩漬工程後の塩分測定の際、ふり塩漬けの試料については表面の硬く変質している部分をけずりつつ残りの部分を用いて塩分濃度を測定したためと考えられる。つまり、乾燥工程後にふり塩漬けの試料で塩分が高くなっているのは、表面部分の特に濃い塩分(乾燥工程を行なったものについてはけずっていない)が、全体に拡散した結果によるものと推察される。Fig. 3において、ふり塩漬けの試料のほうが歪みが小さく”しまった状態”となっているのは、ふり塩漬けとたて塩漬けとで上記のような塩分の浸透性に違いがあるためと考えられる。

Figs. 5と6に示したように、塩漬工程中に、筋線維の形態が丸みを失うことが明らかとなった。下坂ら⁴⁾らの塩漬したマアジの肉の光学顕微鏡観察では、即殺時の写真がないためはっきりとしたことはいえないが、やや塩漬により丸みを失っているように見える。塩漬によりこのような形態変化がおこる原因としては、“脱水”と“筋肉タンパクの変性”のふたつが考えられる。Fig. 7に示した透過型電子顕微鏡観察の結果、塩によりかなりのタンパクが変性をうけていることはまちがいないと思われるので、塩漬によるテクスチャーの変化は単に塩による脱水反応だけによるのではなく、筋肉タンパク質の変性が関与している可能性が高いものと推察される。このことは、Fig. 9に示した水溶性画分のタンパク質バンドパターンの変化からも支持される。特に我々のこれまでの研究から、鮮魚特有の物性は、筋線維どうしを結合しているいわゆる結合組織の強度に依存していることが明らかとなっていることを考慮すると、Figs. 5と6において結合組

織がかなり消失していること、およびFig. 9において結合組織の主要成分であるコラーゲン（図中では”C”と表示）が水溶性画分に溶出していることは、塩漬肉では結合組織はほとんどテクスチャーに寄与していないことを示している。一方、スケトウダラ²⁾、マアジ³⁾を塩漬した時に認められると報告されているミオシンの重合は、マサバでは観察されなかった（Fig. 8）。マアジではこの重合反応はかなり限定された条件下でない³⁾と起こりにくい³⁾とされているので³⁾、マサバにおいても塩漬条件をさらに検討すれば同様の重合反応が起こるのかもしれない。

5. 今後の課題

本研究の結果、塩蔵品特有の歯応えは、生（なま）の時とはまったくことなる筋肉組織の構造により支えられていることが明らかとなった。つまり、鮮魚では歯応えにもっとも重要な機能を果たしていた結合組織が崩壊し、その代わりに筋線維の形態変化がおこっていることが示された。そして、この形態変化にはタンパク質レベルの変性が関与していることが、明らかとなった。そこで、今後の課題としてまず第一に考えられるのは、Fig. 9のSDS-PAGEパターンにおいて変化が認められたタンパク質の同定である。筋肉タンパク質のうち存在量の多いものについては、すでに分子量、等電点などが明らかにされているので、それほど難しいことではないと思われる。また、本研究においては着手することができなかったが、一定の荷重をかけた後で、光学顕微鏡観察を行ない、いわゆる歯応えを支えているのは筋肉組織中のどの部分なのかを、組織学的手法を用いて明らかにする必要があると思われる。

6. 文献

- 1) U. K. Laemmli: Nature, 227, 680-685(1970).
- 2) 伊藤 剛、北田長義、山田典彦、関 伸夫、新井健一：日水誌, 56, 687-693(1990).
- 3) 丹保丘人、山田典彦、北田長義：日水誌, 58, 677-683(1992).
- 4) 下坂智恵、石田優子、下村道子：日家誌, 41, 1159-1167(1990).
- 5) M. Ando, H. Toyohara, Y. Shimizu, and M. Sakaguchi: J. Sci. Food Agric., 55, 589-597(1991).

Effect of salting on fish meat texture

Haruhiko Toyohara and Masashi Ando

Faculty of Agriculture, Kyoto University

Summary

Salting is known as one of typical storing methods of fish meat in Japan. However, it is often ignored that salting gives favorable flavor and texture to fish meat during storage. In the present study, we examined the effect of salting on the change of meat texture of Pacific mackerel.

Pacific mackerel muscle was cut into small pieces(1cmx1cmx1cm), salted by a dry salting method or a brine salting method (in 15 % brine) at 4°C for 24h, and dried in air at 4°C for 72h. The final salt content (after 96h) was higher in the meat salted by the dry salting method, while that after salting (after 24h) was almost same. Both meats was evaluated as "stiffened state" by a creep test.

Light microscopic observation revealed that the disintegration of the connective tissue between muscle fibers and the conformational change of muscle fibers. Transmission electron microscopic observation demonstrated that the denaturation of myofibrillar proteins occurred in muscle fibers. These morphological changes were probably due to the salting-out and denaturing effects by sodium chloride during salting process. Whereas no crosslinking of myosin heavy chains was not recognized, some changes were observed for sarcoplasmic proteins by SDS-PAGE analysis.