

9361 塩の存在下における魚筋肉タンパク質の界面変性と熱ゲル化特性

助成研究者: 田口 武(東京水産大学 水産学部)

魚筋肉タンパク質は、食塩の存在下で容易に糊状となり、これを加熱するとかまぼこゲルになる。肉糊の表面に空気を吹きつけ処理をした後に加熱すると、著しく弾力性の高いかまぼこゲルができた。本研究は、このことについて種々検討を加えたものである。肉糊のゲル形成性に対する吹きつけ(エアブロー)処理効果は、表面タンパク質の急激な濃縮(脱水)に伴って起こった。ミオシンの同効果も同様であることを観察した。同効果は誘導期があるが、あらかじめ静電パルス処理すると著しい促進作用を示した(図1)。

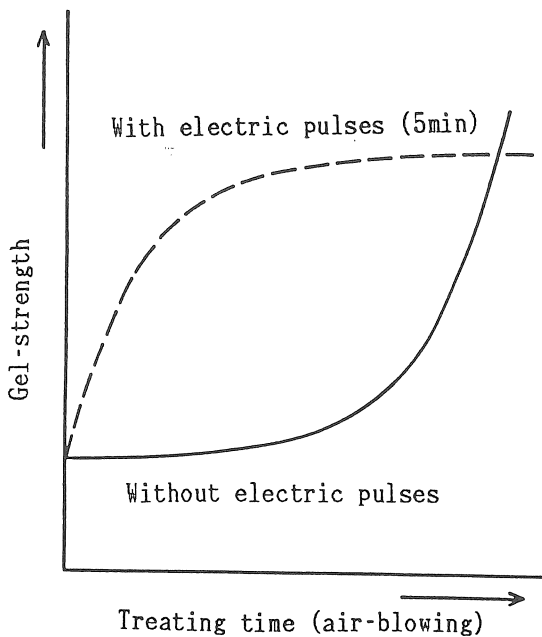


図1 静電パルス処理とエアブロー処理効果の相関

ミオシンおよびそのサブフラグメント(S-1, rod)のエアブロー処理による変性では、溶解性の減少、unfoldingの進行、表面疎水性の増大が同時に観察された。S-1における表面疎水性の増大は特に著しかった。静電パルス処理による同タンパク質の変性では、溶解性の減少とunfoldingの進行は観察されたが、表面疎水性に対する影響は極く僅かである点が特徴的であった。これらの事から、静電パルス処理は、タンパク質分子間の静電的相互作用に影響を与え、結果としてエアブロー変性(界面変性)を促進できたものと推察した。

響は極く僅かである点が特徴的であった。これらの事から、静電パルス処理は、タンパク質分子間の静電的相互作用に影響を与え、結果としてエアブロー変性(界面変性)を促進できたものと推察した。

9361 塩の存在下における魚筋肉タンパク質の界面変性と熱ゲル化特性

助成研究者: 田口 武(東京水産大学 水産学部)

〔研究目的〕

魚筋肉タンパク質は、食塩の存在下において容易に糊状となり、これを加熱するとかまぼこゲルになる。ところで、肉糊の表面に空気を吹きつけ処理をした後に加熱すると、弾力性の高いかまぼこゲルができた。¹⁾このことは界面変性が魚筋肉タンパク質の熱ゲル化を促進したことを示すものである。界面変性による熱ゲル化曲線には誘導期がみられたが、あらかじめ肉糊あるいはタンパク質ゾルを静電パルス処理すると、誘導期における熱ゲル化反応に対し著しい促進効果が認められた。本研究では、これらのことについて種々検討を加え、ゲル形成性とこれら変性とを関係づけることを目的とした。

〔研究方法〕

本実験には、クロカワカジキおよびトビウオの背筋肉から、肉糊、アクトミオシン、ミオシン、およびそのサブフラグメント-1 (S-1) とRodをそれぞれ常法によって調製した。肉糊、およびタンパク質ゾルに対する界面処理は、円筒型(直径2.5cm)の電動送風機(エアブロー方式)を用いて、低温室内(2°~4°C)でメンブランフィルターを通した空気(風速、4 m/sec)をタンパク質ゾル表面に吹きつけて行った。静電パルス処理は電子細胞融合装置(BE-800型、関西電子)によって、特に断わらない限り、200Vで行った。加熱処理は70°C、10分間とした。M、S-1、および Rodの表面疎水性はANSの吸着法²⁾およびTryptophan蛍光³⁾によって測定した。一方、 α -ヘリックス含量の変化は、円二色性(CD)曲線から求めた。溶解性は遠心分離した上清のタンパク質濃度より求めた。得られたゲルは、プランジャー押し込み試験に供し、破断強度と歪みを測定した。

〔研究結果と考察〕

1. 食塩の存在下における魚筋肉タンパク質のゲル形成性

Fig.1はエアブロー処理したトビウオ肉糊の加熱ゲル強度曲線を示している。加熱ゲルの破断応力と歪は、エアブロー処理時間と共に増大した。このことはエアブロー処理した肉糊中のタンパク質分子に何らかの変化をもたらしたためであると考えられた。この変化は、おそらく系中から脱水作用によるものであろうが、乾燥剤による長時間脱水とエアブローによる短時間脱水についてアクトミオシン系で比較すると、アクトミオシンの熱ゲル化曲線の形状は、乾燥剤脱水とエアブロー脱水との間で著しく相異した(Fig.2)。エアブロー脱水処理に伴うアクトミオシンの加熱ゲル強度曲線は、多分子層的吸着型曲線を示した。エアブローによる脱水は、表面タンパク質濃度の急激な変化を引き起こすであろう。おそらくこの処理によってタンパク質分子間相互作用は全体的に活発化されたと考えられる。両者の関係をFig.3に示す。ミオシンゾル中の脱水の進行に伴って、熱ゲル化も一層促進されていく傾向が認められた。脱水の程度は、処理時間に必ずしも比例的ではなく、ある程度脱水が進むと、それ以上進行しにくいことを示した。おそらく表面膜形成が起こっているためであろう。表面加熱ゲル強度が界面変性によって著しく高い値を示したのもそのためと解される。

エアブロー処理は、加熱ゲル形成にとって著しい効果のあることが示されたが、ゲル化曲線上には、つねに誘導期が見られた。おそらく、タンパク質分子間反応が連鎖的に進行するためであると解される。言い換えれば、初期の反応が極めて遅いか、または起こりにくいかであろう。例えば、界面変性には分子間におけるある種の配向が必要であるのかも知れない。本研究では、このような観点から静電パルス処理を試みたのである。

静電パルス処理は、それ自身熱ゲル化反応に全く影響を与えなかった。しかしながら、Fig.4に示されたように、あらかじめ静電パルス処理した後、エアブロー処理を行うと、熱ゲル化曲線上に誘導期を示さなくなり、著しい促進作用のあることが観察された。両処理によって得られるタンパク質の変性に関する知見は重要となろう。

2. ミオシンとそのフラグメントの変性

関連してミオシンのエアブロー処理による変性（界面変性）を検討した。その結果、ミオシンの溶解性および α -ヘリックス含量は、エアブロー処理によって減少した。エアブロー処理はまた、ミオシンの表面疎水性基に著しい影響を与え、同疎水性基の増大を示した。この場合、フラグメントの表面疎水性基では、Rodに比べS-1に著しい増大が示された(Fig.5)。本実験で観察されるミオシンの界面変性では、S-1の疎水性領域がゲル形成性にとって重要な役割を演じる可能性が示唆された。

つぎに、静電パルスによるミオシンの変性が検討された。その結果、ミオシンおよびそのフラグメントの溶解性の減少の程度は、ミオシン>Rod>S-1であった(Fig.6)。また、これらタンパク質の静電パルス処理による α -ヘリックス含量の変化もほぼ同様で、Rod>ミ

オシン>S-1の順であった。ところが、静電パルス処理によるミオシンとそのフラグメントの表面疎水性基の変動は、極めて僅かであった(Fig.7)。

以上のように、肉糊やタンパク質ゾルに対するエアブロー処理は、ある種の界面変性を引き起こし、熱ゲル化促進効果を示すことが認められた。この場合、ミオシンの界面変性では、表面疎水性基に著しい変動を示し、S-1部位で同疎水性基の増大が見られることを明らかにすることができた。静電パルスによる効果では、界面変性-加熱ゲル強度曲線の誘導期に影響を与え、同誘導期において著しい促進作用のあることを示した。静電パルス処理によるミオシンの変性では、溶解性および α -ヘリックス含量の減少が観察されたが、表面疎水性基に影響を与えなかった。おそらく、ミオシンおよびそのフラグメントに対して静電相互作用として分子間配向などに影響を与えたのかも知れない。このことがエアブロー処理による界面変性にとって極めて効果的であったものと解される。

[今後の課題]

本実験における静電パルス処理条件は、極めて限られたものであった。この点について種々検討の必要があるように思われた。

[文献]

- 1) Ishizaki, S., Endo, K., Lin, W.L., Chiu, W.K., Tanaka, M, and Taguchi, T. 1993. Conformational changes in black marlin myosin at interface as affected by air-blowing in relation to gel-formation. Nippon Suisan Gakkaishi, 59, 2079-2083.
- 2) Niwa, E., Konda, S., Kanoh, S., and Nakayama, T. 1986. Exposure of hydrophobic amino acid residues from actomyosin on freezing-reconfirmation by fluorometry. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 1039-1042.
- 3) Kato, S., and Konno, K. 1993. Isolation of carp myosin rod and its structural stability. Nippon Suisan gakkaishi, 59, 539-544.

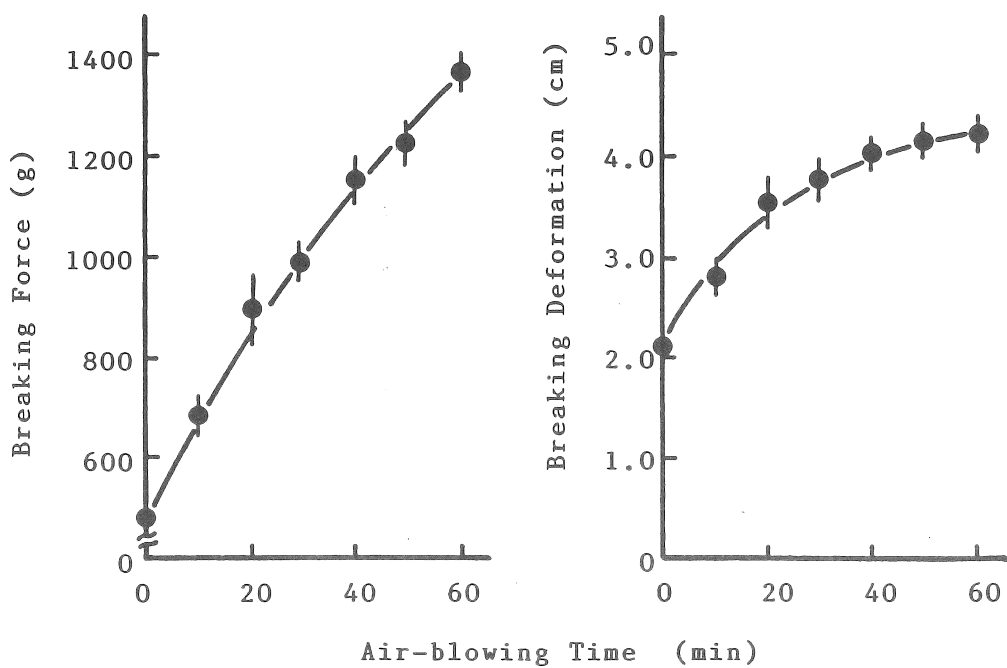


Fig. 1 Effect of air-blowing on the thermal gel-strength of flying fish muscle paste.

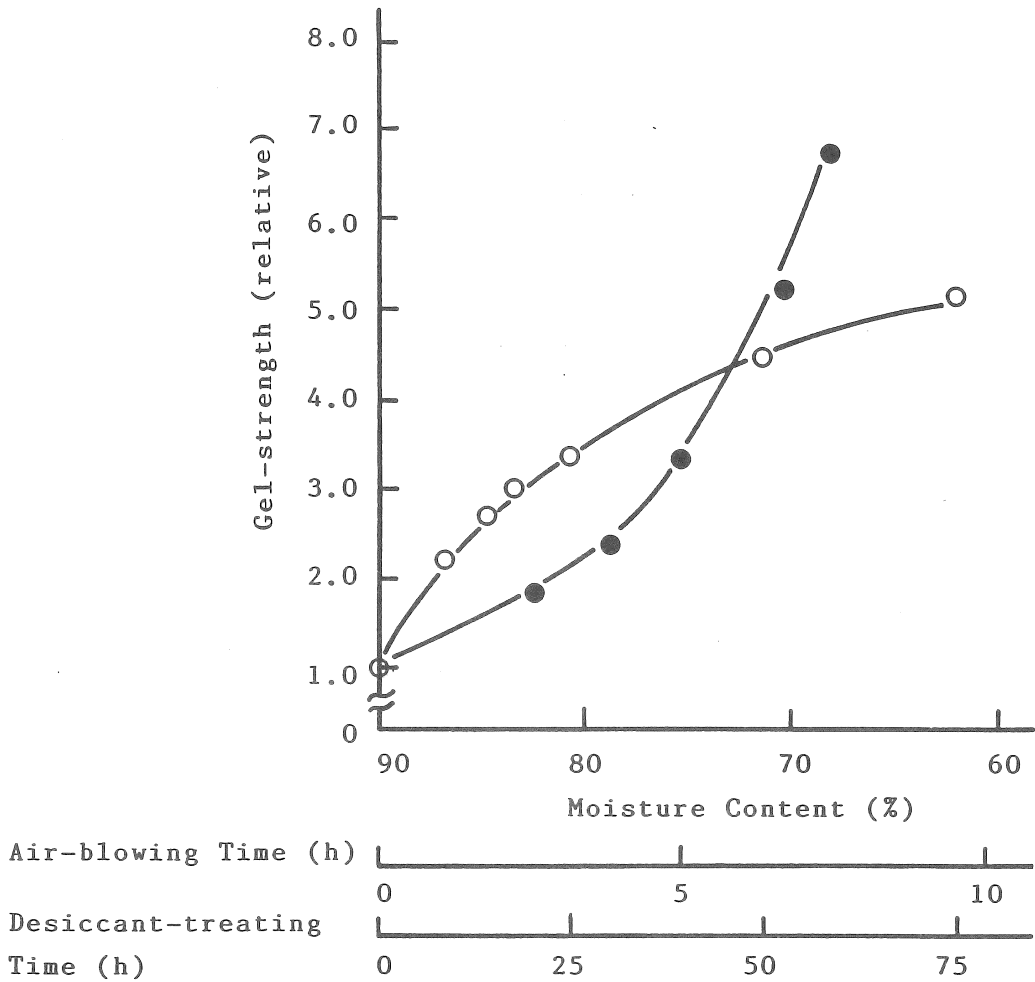


Fig. 2 Moisture content-thermal gel-strength curves of black marlin actomyosin gels.

The actomyosin sols were heated at 70°C for 10 min. The under scales show treating time.

(O):desiccant-treatment; (●):air-blowing treatment.

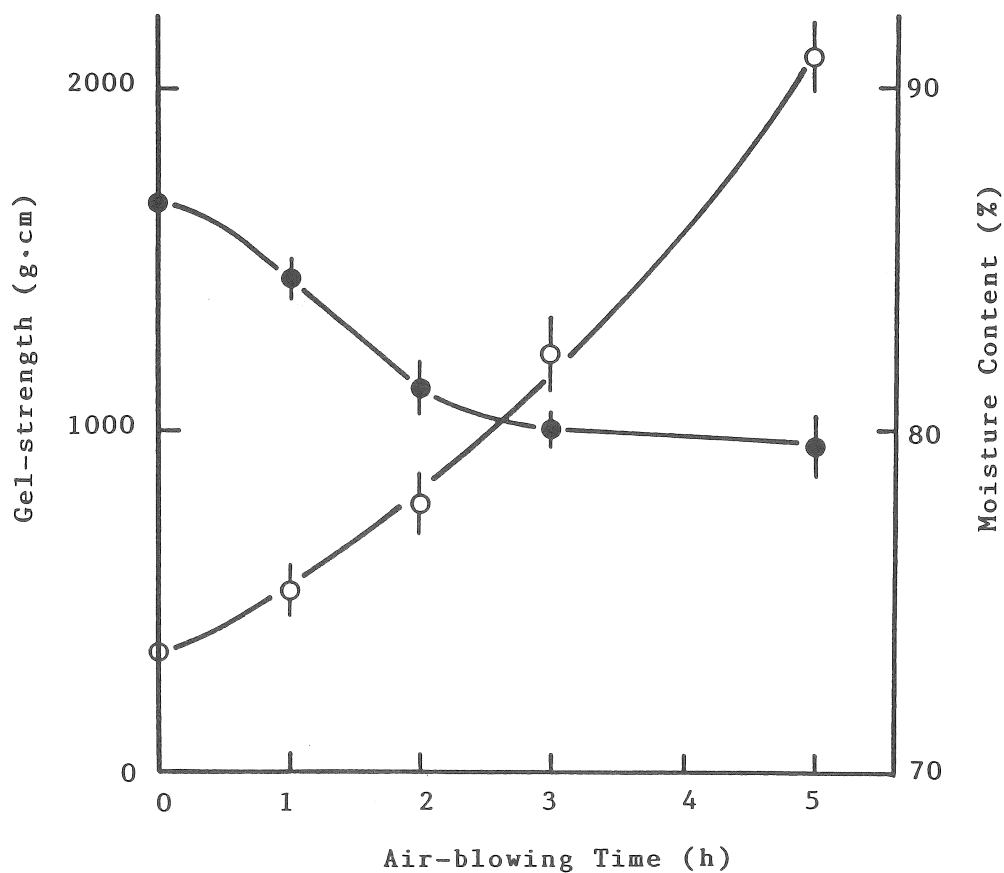


Fig. 3 Surface moisture contents of air-blown black marlin myosin sols and their thermal gel-strength.

The air-blown myosin sols were heated at 70°C for 10 min. (O):gel-strength; (●):moisture content.

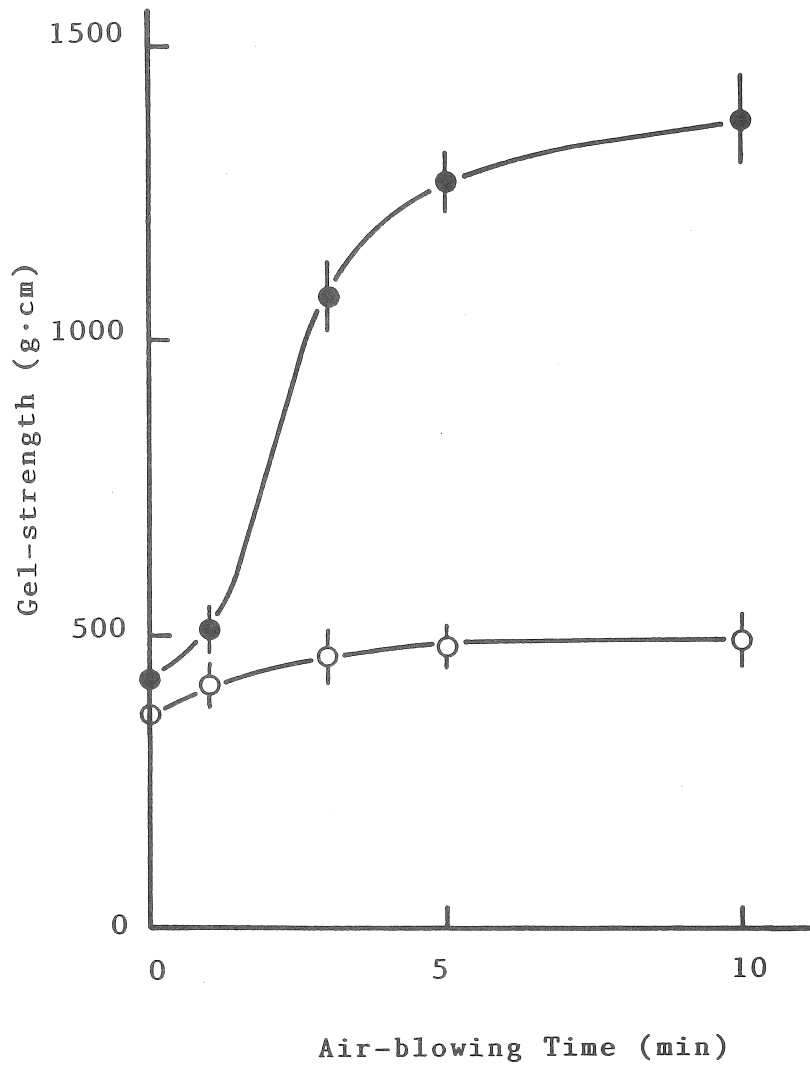


Fig. 4 Thermal gelation of black marlin myosin sols treated with electric pulses and air-blowing.

(○):air-blowing; (●):air-blowing after electric pulses at 200V for 5 min.

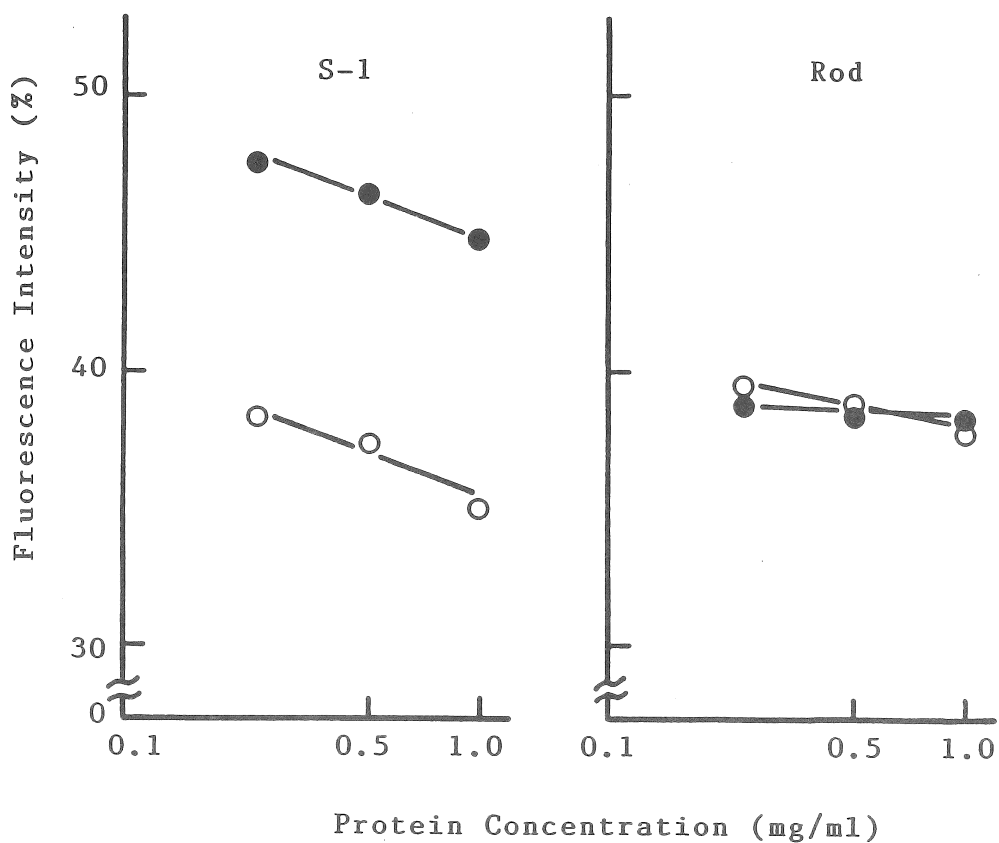


Fig. 5 ANS fluorescence intensity of black marlin S-1 and rod treated with air-blowing.

(○):without air-blowing; (●):with air-blowing for 5 h.

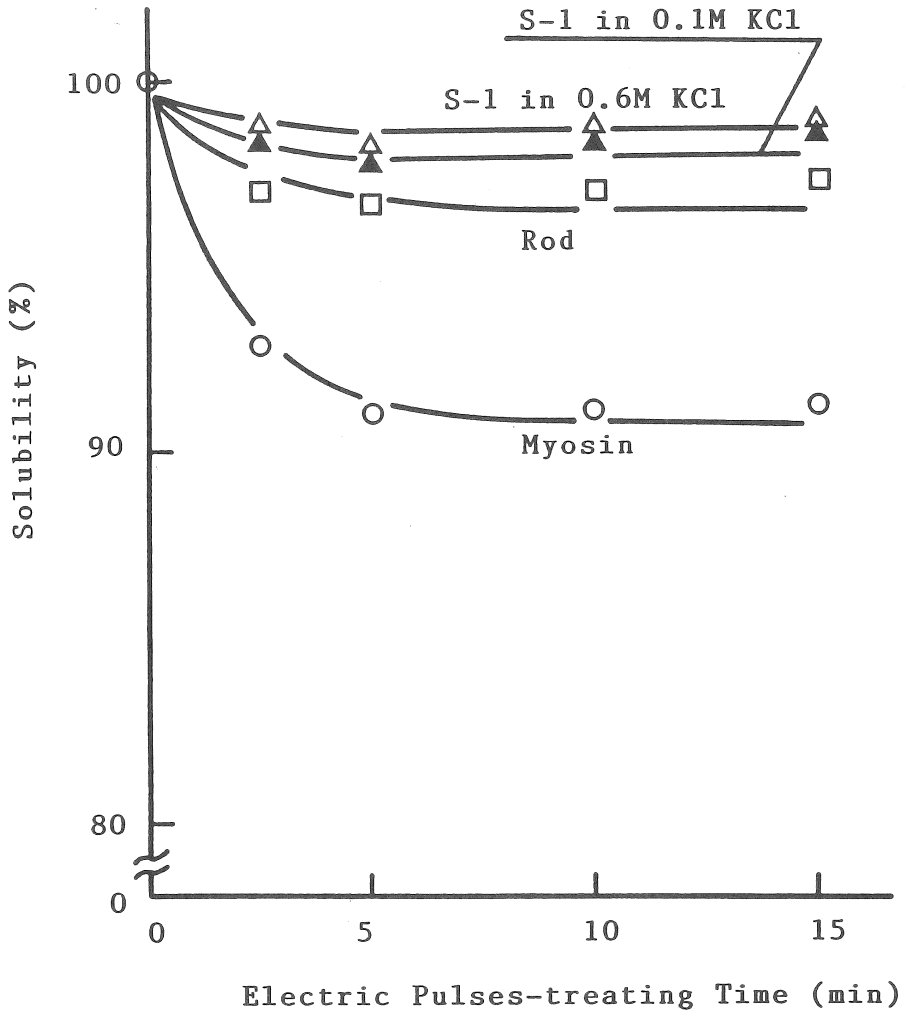


Fig. 6 Changes in solubility of black marlin myosin and its fragments by treatment with electric pulses.

Electric pulses treatment was carried out at 200V.

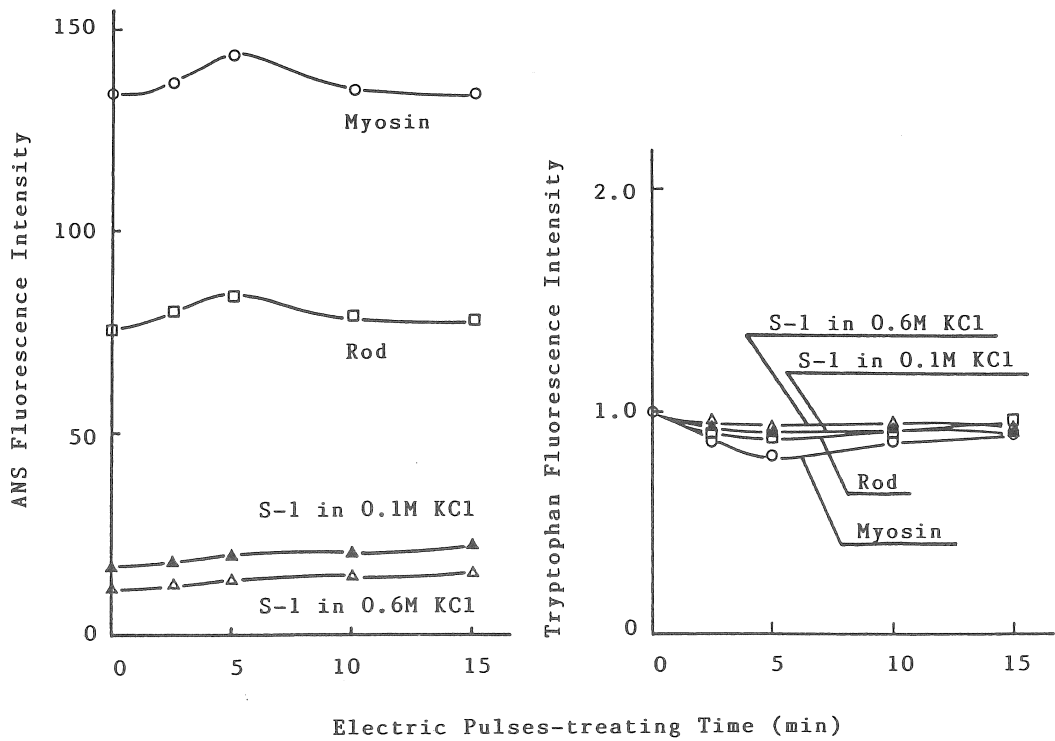


Fig. 7 Changes in fluorescence intensity of black marlin myosin and its fragments by treatment with electric pulses.

Electric pulses treatment was carried out at 200V.

Interfacial Denaturation and Thermal Gelation of Fish Muscle Proteins in the Presence of Salt

Takeshi Taguchi

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries

Summary

The reinforcement of thermal gelation of black marlin and flying fish muscle proteins treated with air-blowing and electric pulses was examined in connection with their protein denaturation. It was found that interfacial denaturation of fish muscle proteins in the presence of salt occurred during air-blowing accompanying the dehydration from the surface of protein sol. Though the muscle protein sols treated with air-blowing gave an induction period on their thermal gelation curve, the induction period disappeared when the protein sols were treated with electric pulses. Black marlin myosin denaturation by air-blowing showed a decrease in solubility and helical content, and there was a marked increase in the fluorescence intensity of protein-ANS corresponding to hydrophobic surface area. For denaturation by electric pulses, the solubility and α -helix content of myosin and its fragments decreased rapidly, but an increase in the fluorescence intensity was not observed. From these results, it was suggested that the hydrophobic interactions by interfacial denaturation was prerequisite for thermal gelation and the electrostatic interactions by electric pulses was effective for the interfacial denaturation by air-blowing.