

54

助成番号 0154

かまぼこの食感に重要な網目構造形成への海洋深層水塩添加の影響

助成研究者：久保田 賢（高知大学農学部栽培漁業学科）

海洋深層水は清浄性、低温性、富栄養性といった様々な特性をもち、比較的大量かつ安価に入手できることから、これを添加した様々な化粧品や食品が販売されている。海洋深層水の添加により「うどんの"こし"が強くなる」、「豆腐の"きめ"が細くなる」などと一般に言われているものの、その構造レベルでの相違が科学的に実証された例はほとんどない。申請者らはこれまでに、市販の精製塩および海洋深層水塩を添加したかまぼこの物性について検討し、海洋深層水塩を添加した場合に、食感の指標とされるゲル強度が増大することを見出した。さらに最近申請者らは、低真空走査型電子顕微鏡(N-SEM)を用いて、非常に簡便にかまぼこ内部に形成される網目構造を観察できることを示した。本研究では、海洋深層水塩を添加したかまぼこの物性を測定するとともにその内部構造を低真空走査型電子顕微鏡で観察し、その物性と構造の関係を明らかにすることを目的とした。

水分を80%に調整したスケトウダラSS級すり身にNaCl、深層水塩、深層水焼き塩を3%添加し、80°Cで20分加熱してゲルを調製した。ゲルの破断強度と破断伸び率を測定し、ゲル強度と剛性率を求めた。SH含量はEllman法により測定した。タンパク質組成はWeber and Osbornの方法によるSDS-PAGEで検討した。内部構造はかみそりの刃で露出させ、低真空走査型電子顕微鏡で観察した。また、ゲルの物性や内部構造への深層水焼き塩の添加効果が認められたことから、焼き塩中のMgCl₂より生じたMgOがその一因ではないかと考え、MgOおよび焼いたMgCl₂を添加して、物性、SH基含量、タンパク質組成およびその構造について検討した。

深層水焼き塩を添加した場合でのみゲル強度が上昇した。また、S-S結合を介したミオシン重鎖の重合がSH基の測定とSDS-PAGEにより明らかにされた。深層水焼き塩を添加したゲルの内部構造は、NaClや未加熱の深層水塩を添加したものと比較して、全体的にフラットになった。これらの結果から、深層水焼き塩を添加したかまぼこゲルの物性および構造変化は、加熱により変化した深層水中に存在する何らかのミネラルに起因することが示唆された。深層水にも含まれることの知られているMgCl₂が高温の加熱によりMgOに変化することから、これらがゲルの物性や構造の変化の一因ではないかと考えてこれらの塩を添加してゲルを調製し、同様な検討を試みた。その結果、MgCl₂は顕著な影響を示さなかったが、MgOおよび焼いたMgCl₂はゲル強度の上昇、ミオシン重鎖の重合やフラットな内部構造形成を引き起こした。これらは深層水焼き塩を添加したものと類似していたことから、深層水塩を加熱することにより生じたMgOがゲルの物性や構造を変化させる大きな要因のひとつであることが示された。

18

助成番号 0154

かまぼこの食感に重要な網目構造形成への海洋深層水塩添加の影響

助成研究者：久保田 賢 (高知大学農学部栽培漁業学科)

1. 研究目的

海洋深層水は清浄性、低温性、富栄養性といった様々な特性をもつ。高知県では室戸沖で取水され、比較的少量かつ安価に入手できることから、これを添加した様々な化粧品や食品が販売されている(高橋および吉田)。海洋深層水の添加により「うどんの"こし"が強くなる」、「豆腐の"きめ"が細くなる」などと一般に言われているものの、その構造レベルでの相違が科学的に実証された例はほとんどない。

申請者らはこれまでに、かまぼこなどの魚肉練り製品の物性について調べてきた。市販精製塩および海洋深層水塩を添加したかまぼこの物性について検討したところ、海洋深層水塩を添加した場合に、食感の指標とされるゲル強度が増大することを見出した(松井ら)。

一方、これまでにかまぼこの内部構造と物性との関連を明らかにする目的で、種々の顕微鏡観察が試みられており、光学顕微鏡や透過型電子顕微鏡を用いて網目状の構造が観察されている(岡田)。また、走査型電子顕微鏡を用いた場合でも、3次元的な網目構造が観察されているが(山田および吉岡, 山口ら)、その構造の物性へ及ぼす影響が明確に示されているわけではない。最近申請者らは、低真空走査型電子顕微鏡(N-SEM)を用いて、非常に簡便にかまぼこ内部に形成される網目構造を観察できることを示した(久保田ら)。

そこで、本研究では、海洋深層水塩を添加したかまぼこの物性を測定するとともにその内部構造を低真空走査型電子顕微鏡で観察し、その物性と構造の関係を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

2.1. 材料

2.1.1. 冷凍すり身

SS級のスケトウダラ冷凍すり身を用いた。

2.1.2. 海洋深層水塩および表層水塩

高知県室戸市の高知県海洋深層水研究所でくみ上げられた海洋深層水をロータリーエバポレーターで乾燥して得られたものを深層水塩とした。この深層水塩を磁性皿に入れて12時間バーナーで加熱したものを深層水塩焼き塩とした。また、深層水の取水口上部の表層海水を採水し、塩および焼き塩を調製して対照とした。ロータリーエバポレーターで調製した深層水塩および表層水塩は蒸発量と同量の脱イオン水で完全に溶解させることができたが、両焼き塩の場合は濁りを生じた。

2.2. かまぼこゲルの調製

5°Cで16時間自然解凍したスケトウダラ冷凍すり身(40g)に水分が80%となるように蒸留水を加えた後、NaCl、深層水塩、深層水焼き塩、表層水塩または表層水焼き塩を3%になるように加えた。また、マグネシウム塩の効果を検討する場合は、NaClに加えてMgCl₂またはMgOを0%、0.25%、0.5%添加した。10分間播潰し生じた肉糊をステンレス製リング(φ30mm)に気泡が入らないように充填した。塩化ビニール製のラップで包み、80°Cの湯中で20分間加熱した後直ちに氷冷した。

2.3 物性測定

Fig. 1に示した様にゲルをリング状に調製し、レオメーター(サン科学(株) SUN RHEO METER CR-200D)を用いて引張り試験により破断強度(S)と破断伸び(e)を測定した。また、これらの値からゲル強度(S・e)と剛性率(S/e)を算出した。

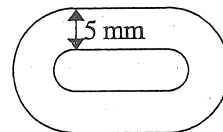


Fig. 1 Gel shape for determination of the textures
Thickness is 5 mm.

2.4. SDS - ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS - PAGE)

調製したかまぼこゲル0.2gを精秤し、10 mlの8 M 尿素, 2% SDS, 0.03% N-エチルマレイミドを含む50mMリン酸緩衝液 (pH6.8) にテフロン製ガラスホモジナイザー (東京理化学機械(株) MAZELA Z GTR-1000) を用いて溶解させた。その一部に終濃度が10%(v/v)になるように2-メルカプトエタノールを添加して還元した。これらの可溶化したタンパク質はWeber & Osborn (1969) の方法により、3%ポリアクリルアミドゲルを用いたSDS-PAGEにより分離した。最初の1時間はゲル1本当たり4mA、その後は8mAの電流で泳動を行った。染色はCoomassie Brilliant Blue R-250を用いた。

2.5. SH基の定量

Ellman法(1958)を用いてSH基を定量した。調製したかまぼこゲル0.05gを10mlの8 M 尿素, 2% SDS, 10 mM EDTAを含む0.2 Mリン酸緩衝液 (pH6.8)に可溶化した。このうち4mlと0.1% DTNB溶液4mlを混合し、40°Cで10分間反応後O.D. 412nmを測定した。システインを用いて検量線を作成してSH基を算出した。

2.6. N-SEMによるかまぼこの内部構造の観察

調製した加熱ゲルを市販の両刃カミソリで切断し、その断面をN-SEM (Hitachi, S-2380N)を用いて観察した。試料は-10°Cに設定したクールステージ (Hitachi, Cool stage)上に保持し、15 kV、3-5 Pa、50倍および250倍で観察を行った。

3. 研究結果および考察

3.1 深層水塩および深層水塩焼き塩添加によるかまぼこの物性および構造変化

Fig. 2にNaCl, 深層水塩および深層水焼き塩を添加したかまぼこゲルの物性を示す。NaClを添加した場合と比較して, 深層水塩を添加した場合には破断強度および破断伸び率のいずれもが減少した。一方, 深層水塩焼き塩を添加した場合には破断強度に有意な変化は観察されなかったものの, 破断伸び率が上昇した。また, 破断強度と破断伸びの積であるゲル強度も有意に高かったが, 破断強度を破断伸びで除したゲル質は有意に低くなった。表層水や表層水焼き塩を添加した場合も同様な傾向が観察された (データは示していない)。

これらの結果から, かまぼこを作る場合, 深層水塩や表層水塩を添加した場合は破断強度および破断伸び率が低下するが, これらの塩を焼くことによりゲルの伸びがよくなることわかった。この伸びの上昇が結果的にゲル強度を上昇させることから, 深層水塩は焼くことにより始めて物性を上昇させる効果を発揮すること, この効果は表層水塩を焼いた

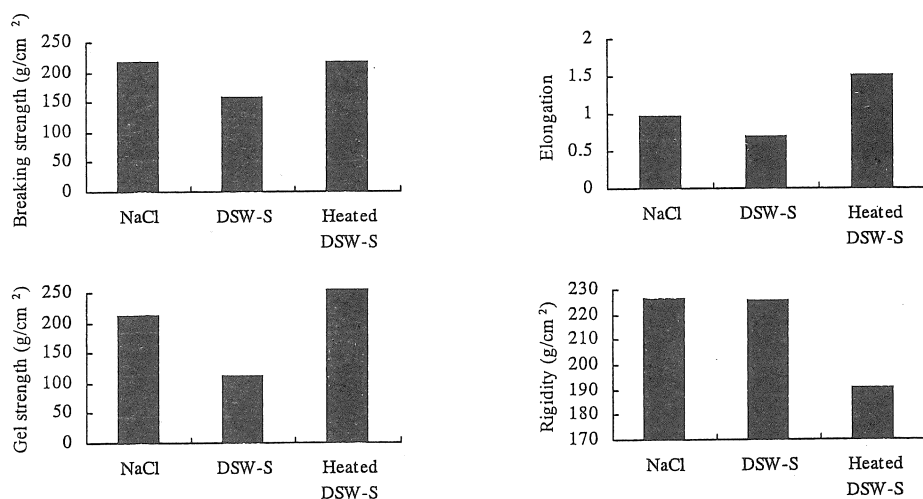


Fig. 2 Effect of DSW-S and heated DSW-S on the textures of walleye pollack surimi gel
DSW-S: Deep seawater-salt

場合でも発現することが明らかとなった。そこで, これらのゲル中のタンパク質にどのような変化が生じているか, SDS-PAGEで検討した。

Fig. 3にNaCl, 深層水塩および深層水焼き塩を添加したかまぼこゲルのSDS-PAGE像を示す。どの塩を加えた場合も, 加熱前は還元および非還元試料のバンドパターンに顕著な変化は見られなかった。一方, かまぼこゲルの場合は, 非還元の深層水焼き塩を添加した試料のみ, ミオシン重鎖の染色強度が減少したが, その染色強度は還元することによりNaClおよび深層水塩添加のゲルと同程度になった。表層水塩および表層水焼き塩を添加したゲルの場合も, 焼き塩を添加した未還元試料中のアクチンバンドの染色強度が減少したことを除いては同様な泳動パターンが観察された (データは示していない)。このことは深層水

や表層水の焼き塩を添加したかまぼこゲル中のみに、S-S結合を介したミオシン重鎖の重合体が形成されていることを示していた。そこで、実際に遊離のSH基がこのゲル中で減少しているかどうかを次に確認した。

Fig. 4にNaCl, 深層水塩および深層水焼き塩を添加したかまぼこゲル中のSH基含量を示す。NaClおよび深層水塩添加ゲルの含量と比較して、深層水焼き塩添加ゲルでは有意

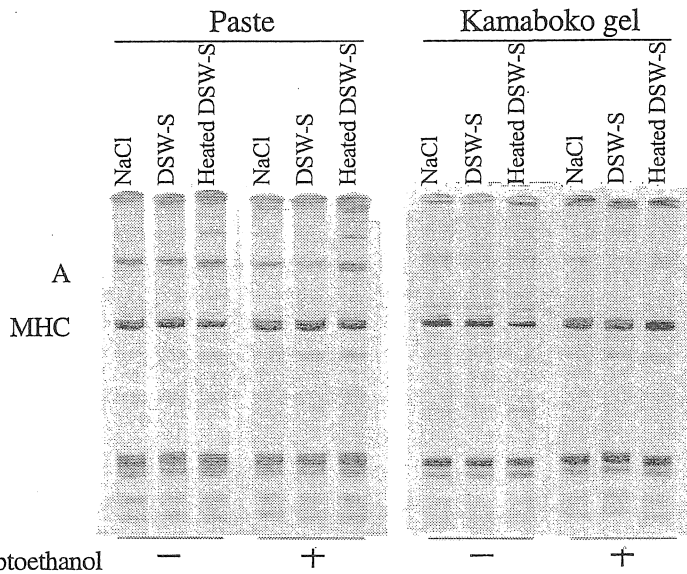


Fig. 3 SDS-PAGE patterns of paste and kamaboko gels containing NaCl, DSW-S and heated DSW-S

にSH基含量が減少した。SDS-PAGEおよびSH基含量の結果から、深層水塩焼き塩添加により身中のミオシン重鎖が加熱過程で酸化し、S-S結合を形成することにより重合することが明らかとなった。また、物性の結果と合わせると、この重合がゲルの伸びの上昇に寄与していることが示唆された。そこで、これらのゲルの内部構造をN-SEMを用いて観察した。

Fig. 5にNaCl, 深層水塩および深層水焼き塩を添加したかまぼこゲルの内部構造のN-SEM像を示す。NaClを添加したゲルでは、倍率50倍で直径数10 μ mから500 μ m前後の様々な小孔やくぼみが観察された。また、250倍では100 μ m前後の孔構造が複数観察された。また、深層水塩添加試料でも同様な孔構造が観察された。一方、深層水焼き塩添加試料の場合は同一視野における孔構造の数が減少し、全体的にフラットになった。表層水塩を添加した場合は深層水塩を添加したゲルと比較して直径10 μ mから1mmの様々な大きさの孔構造が多く観察された。また、表層水焼き塩を添加したゲルの内部構造は、

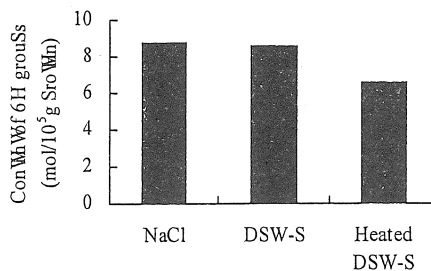


Fig. 4 Content of SH groups in kamaboko gels

深層水焼き塩を添加したものほどフラットな構造を示さず、100-500 μm 程度の孔構造やクレーター状構造が多数観察された(データは示していない)。表層水塩とその焼き塩を添加したゲルは、深層水のそれと比較して、物性では顕著な変化が見られなかったものの、内部構造は一部異なっていることが示された。しかしながら、焼き塩添加により、

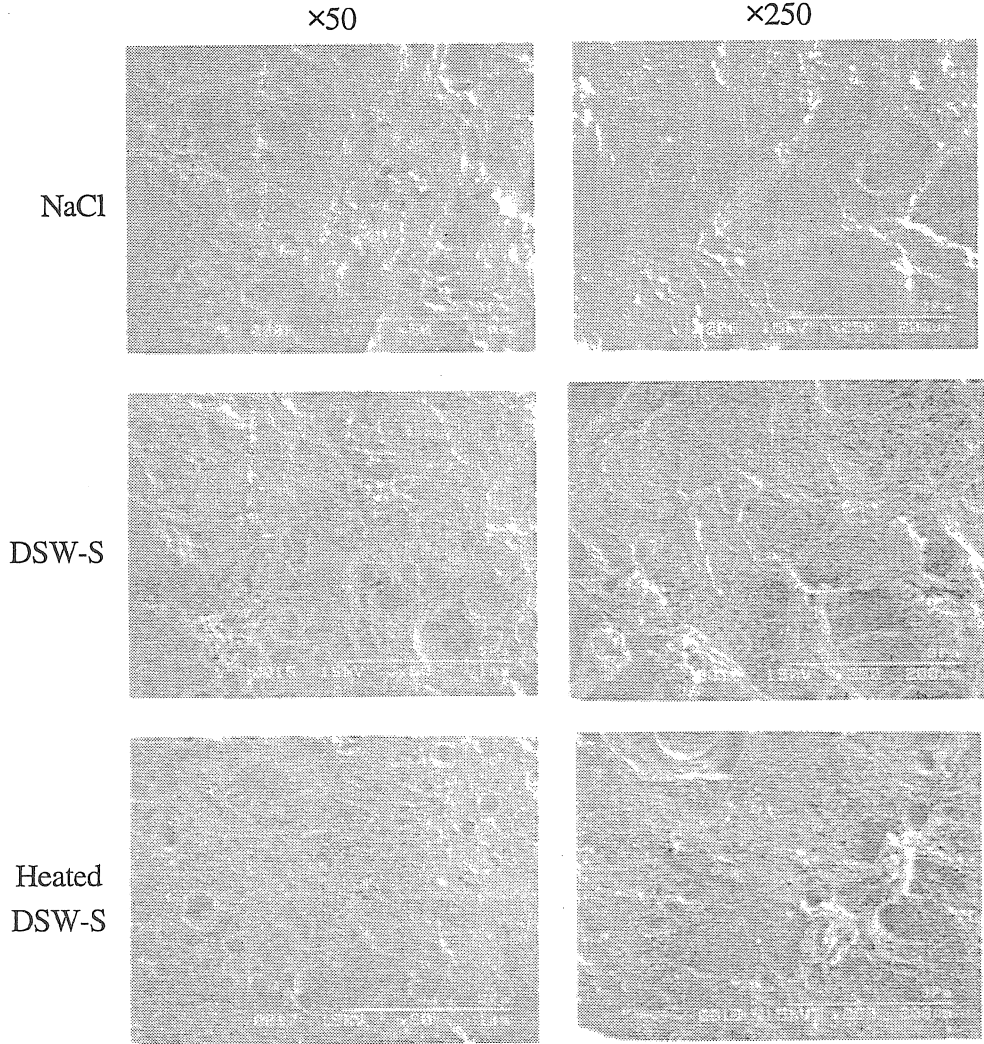


Fig. 5 Internal structures of kamaboko gel containing NaCl, DSW-S and heated DSW-S

物性が上昇することおよび内部構造がフラットになることは共通して観察されたことから、海水の焼き塩添加によるこの凹凸の少ないフラットな構造への変化がゲルの伸びの上昇へ寄与していることが示唆された。

以上の結果から、ゲルの物性上昇におよぼす深層水塩の添加効果は深層水塩を焼くことによりはじめて発揮されることが明らかとなった。また、この効果は表層水でも観察され

ることから、両方に同様に含まれる成分の関与が示唆された。海水中に比較的少量に含まれるMgCl₂は高熱で加熱することによりMgOになることが知られていることから(水島編)、深層水や表層水塩中のMgCl₂が加熱によりMgOへ変換し、ゲル強度の上昇に寄与しているのではないかと考えた。そこで、次項ではかまぼこの物性や構造に及ぼすMgOおよび焼いたMgCl₂添加の影響をMgCl₂添加のものと比較検討した。

3.2 MgCl₂, 加熱MgCl₂およびMgO添加によるかまぼこの物性および構造変化

Fig. 6にMgCl₂, MgOおよび焼いたMgCl₂を0.25および0.5%添加したかまぼこゲルの物性を示す。MgCl₂の添加により破断強度と破断伸び率が減少して結果的にゲル強度が低下したのに対し、MgOの添加により破断強度と破断伸び率のいずれの値も上昇した。また0.25%の焼いたMgCl₂を添加した場合には、MgO添加の場合よりさらに破断強度および破断伸び率の両方の値が高くなった。しかしながら、焼いたMgCl₂は0.5%添加するとMgOの値と同程度になった。

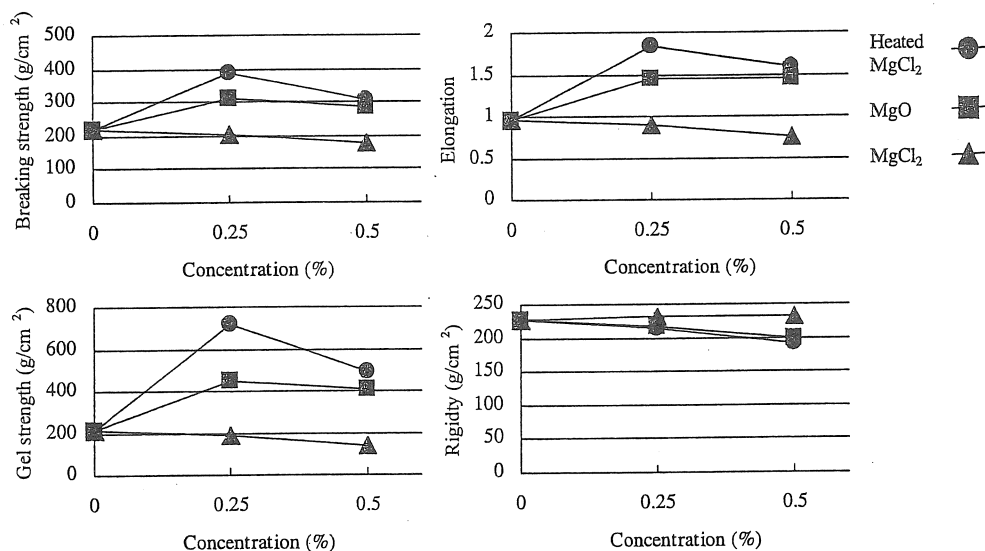


Fig. 6 Effects of MgCl₂, MgO, and heated MgCl₂ on the textures of walleye pollack surimi gel

これらの結果から、MgCl₂の添加はかまぼこゲルの物性にほとんど影響を及ぼさないが、MgOおよび焼いたMgCl₂の添加は、ともに破断強度およびゲルの伸びを有意に上昇させることが明らかとなった。MgOの添加と比較して焼いたMgCl₂を添加した場合はより物性が上昇したことから、MgCl₂を焼いた場合はすべてがMgOになるわけではなく、それ以外の副産物が生じ、それが物性の上昇に寄与していることも推測された。そこで、次にこれらのゲル中のタンパク質にどのような変化が生じているかSDS-PAGEで検討した。

Fig. 7にMgCl₂, MgOおよび焼いたMgCl₂をそれぞれ0.25および0.5%添加したかまぼこゲルのSDS-PAGE像を示す。未加熱すり身ではMgOや焼いたMgCl₂を添加した非還元試料の

場合、わずかにミオシン重鎖のバンドが減少したが、 $MgCl_2$ を添加したゲルでは染色強度に有意な変化は観察されなかった。一方このゲルを加熱した場合、 MgO や焼いた $MgCl_2$ を添加した非還元試料のミオシン重鎖の染色強度が著しく減少した。 $MgCl_2$ を添加した試料は未加熱すり身と同様に顕著なバンドパターンの変化は観察されなかった。

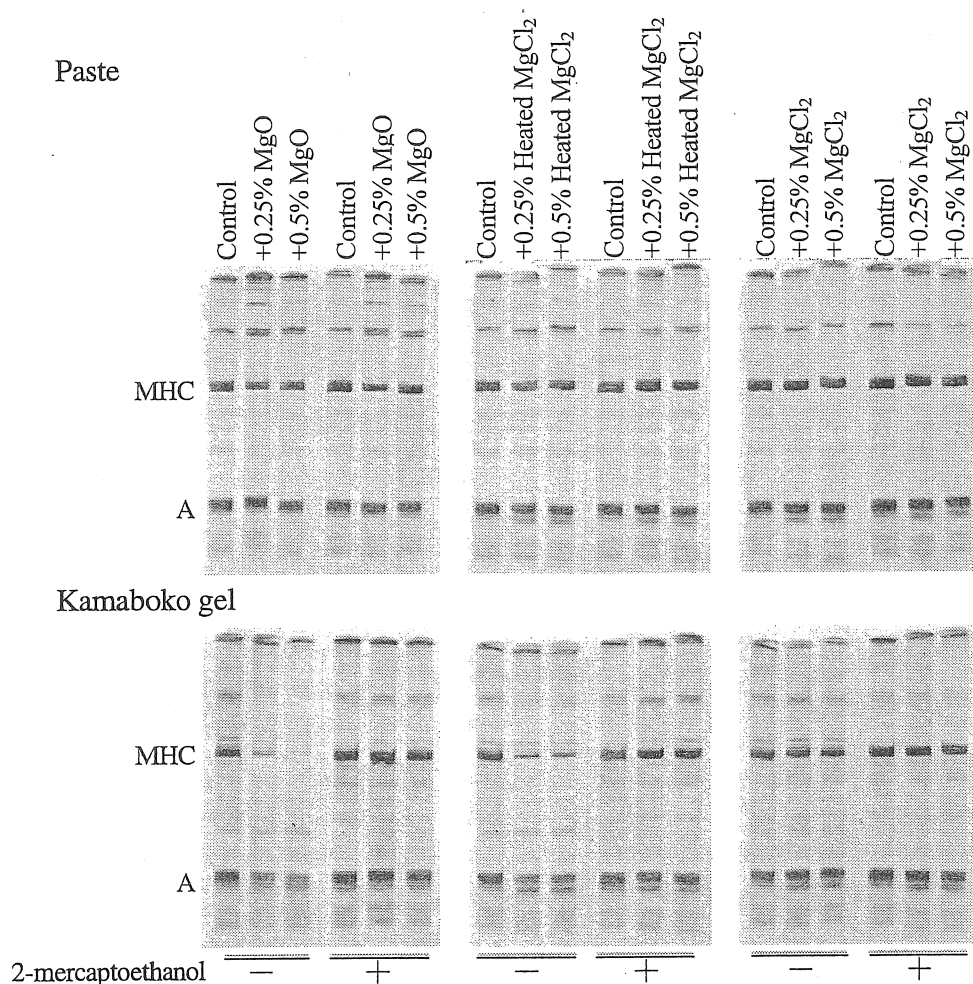


Fig. 7 SDS-PAGE patterns of unheated and kamaboko gels containing MgO , heated $MgCl_2$ and $MgCl_2$.

以上の結果から、物性の著しい上昇の観察された MgO および焼いた $MgCl_2$ 添加によりミオシン重鎖のS-S結合を介した重合が生じていることが明らかとなった。そこで、実際に遊離のSH基がこのゲル中で減少しているかどうかを次に確認した。

Fig. 8に $MgCl_2$, MgO および焼いた $MgCl_2$ を0.25および0.5%添加したかまぼこゲル中のSH基含量を示す。 $MgCl_2$ を添加した場合はSH含量ほとんど変化しなかったが、焼いた $MgCl_2$ や MgO を添加した場合には添加量の増加とともにSH基含量が有意に減少した。遊離のSH

基含量およびSDS-PAGEの結果から、深層水塩焼き塩添加と同様に、MgOおよび焼いたMgCl₂添加によりすり身中のミオシン重鎖が加熱過程で酸化し、S-S結合を形成することにより重合することが明らかとなった。そこで、これらのゲルの内部構造をN-SEMで観察した。

Fig. 9にMgCl₂を添加したかまぼこゲルの内部構造を示す。50倍で観察した場合、0.25% MgCl₂添加により100-400μmの孔構造が多数確認された。

さらにこの孔構造は0.5% MgCl₂添加により増加した。250倍で観察するとしてもそれより小さなレベルの孔構造や網目構造は観察されなかったが、繊維状の構造が観察された。MgCl₂を添加したゲルは、100μm前後の孔構造の存在すること、および繊維状の構造が観察される点などで3% NaClのみを含むかまぼこゲルの場合と類似していたが(Fig. 5参照)、100μmを超える孔構造の数が多く、MgCl₂濃度上昇とともに増加していることから、この孔構造がわずかな破断強度や破断伸び率の低下(Fig. 6参照)の原因であると推測された。

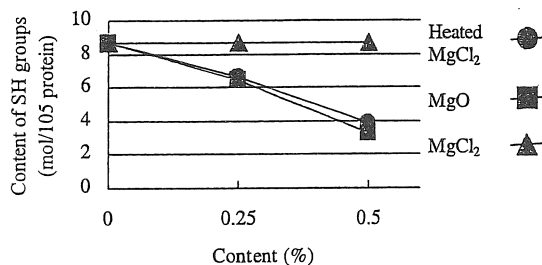


Fig. 8 Content of SH groups in kamaboko gels containing heated MgCl₂, MgO and MgCl₂

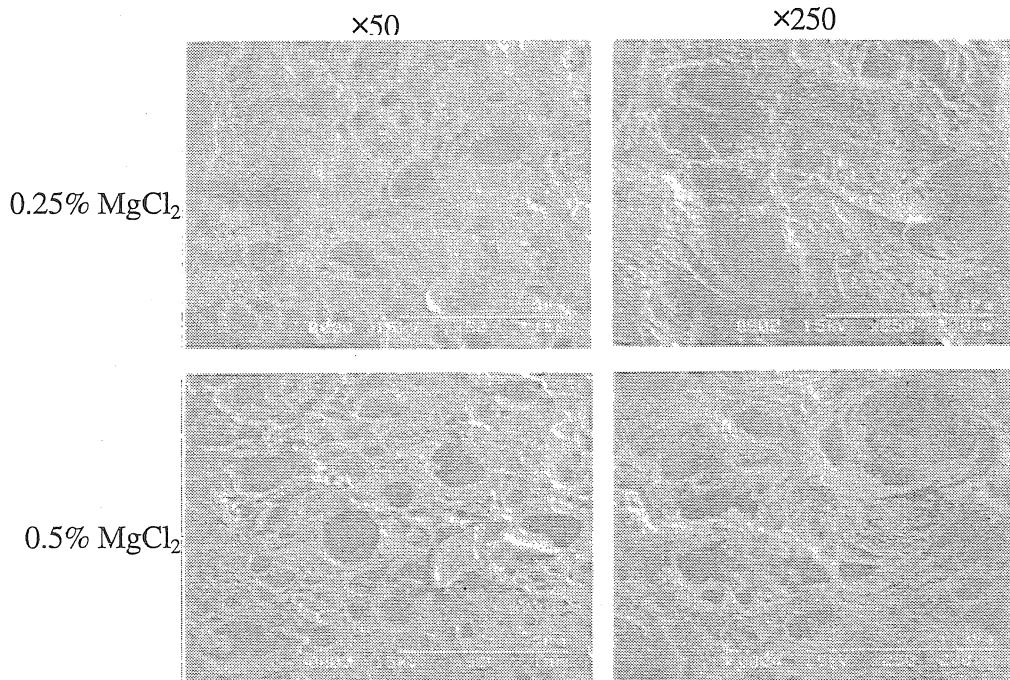


Fig. 9 Internal structures of kamaboko gel containing MgCl₂

Fig. 10に焼いたMgCl₂を添加したかまぼこゲルの内部構造を示す。MgCl₂添加の場合と比較して孔構造が著しく減少した。また、全体的にフラットになるのが観察された。倍率250倍でも孔構造はあまり観察されなかった。これらのことから、焼いたMgCl₂添加は、250倍

程度までの低倍率観察による巨視的レベルでの構造を密にする作用のあることが示唆された。次に同様に破断強度と破断伸びの上昇効果を示したMgOを添加したかまぼこゲルの内部構造を観察した。

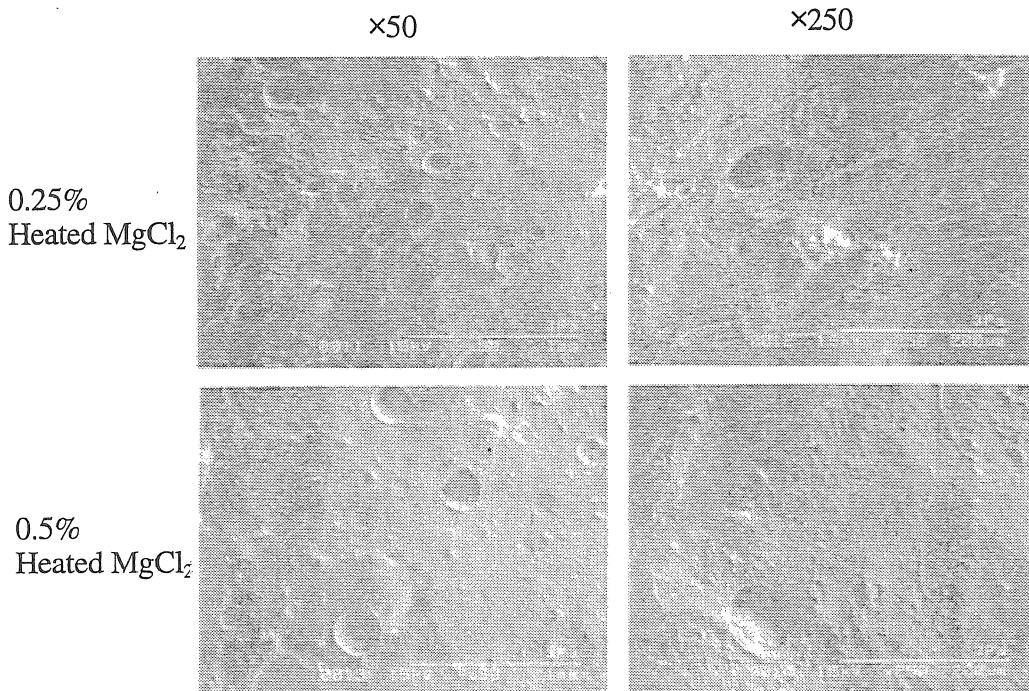


Fig. 10 Internal structures of kamaboko gel containing heated $MgCl_2$

Fig.11にMgOを添加したかまぼこゲルの内部構造を示す。焼いた $MgCl_2$ を添加した場合と同様に全体的にフラットな観察像を示した。また、孔構造も同様に観察されたが焼いた $MgCl_2$ を添加したものと比較してその数が若干増加した。物性が焼いた $MgCl_2$ を添加したゲルと比較して低かった原因はこの孔構造の数に起因する可能性も考えられるが、現在のところ詳細は不明である。

本研究では海洋深層水焼き塩を添加することによりかまぼこゲルの物性が上昇することおよびミオシン重鎖のS-S結合を介した重合が生じることを明らかにした。また、この物性の上昇したゲルの内部構造観察により、孔構造の減少と全体的にフラットな構造の出現が見られた。しかしながら、内部構造は多少異なるものの、表層水塩およびその焼き塩を添加した場合にも同様の結果が得られた。また、焼き塩調製時に海水に比較的多量に含まれている $MgCl_2$ から生じると予想されるMgO添加によっても同様な結果が得られたことから、深層水塩や表層水焼き塩のゲル物性上昇効果は $MgCl_2$ の加熱により生じる産物に起因することが強く示唆された。

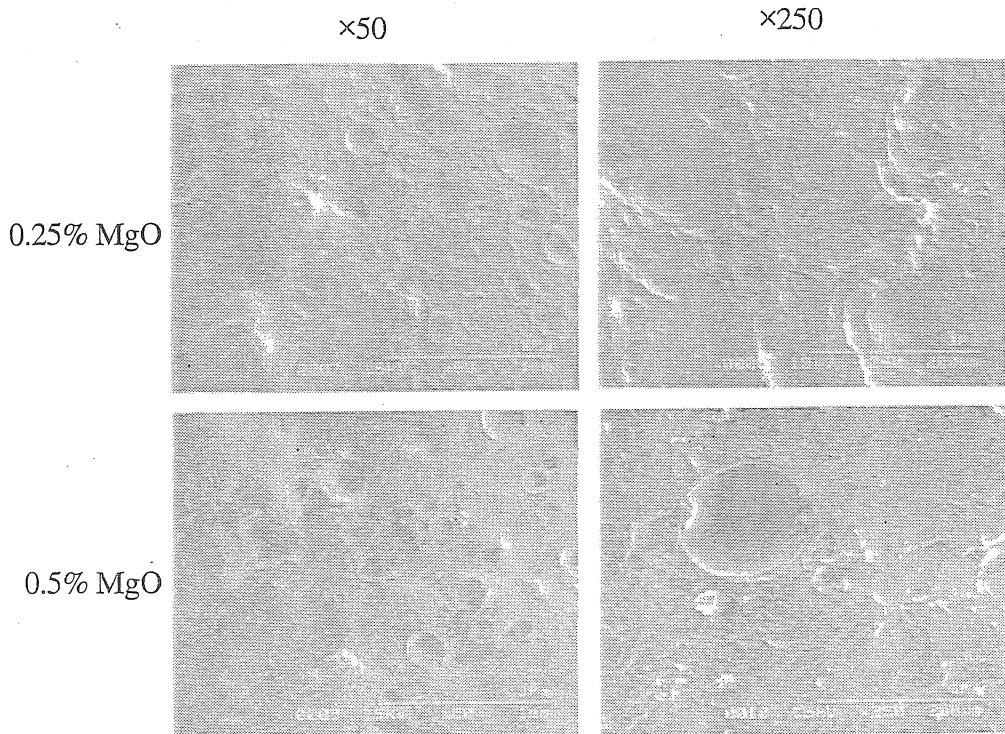


Fig. 11 Internal structures of kamaboko gel containing MgO

4. 今後の課題

本研究では、高温で焼いた塩でのみ煉り製品の物性への影響が見られた。また、その原因のひとつとして MgO の関与が示唆された。今後は、この物性変化に及ぼす魚肉タンパク質の構造変化の機構について解明する必要がある。

最後に、この研究助成により海洋深層水を添加した煉り製品の構造解明研究を発展させることができた。ここに貴財団に対して感謝の意を表す。また、貴重な助言をいただいた伊藤慶明教授、森岡克司助教授、大学院生の竹内章氏に感謝の意を表す。

5. 文献等

高橋正征, 吉田秀樹: よくわかる海洋深層水, コスモトゥーワン, 2000

伊藤慶明, 松井武史, 森岡克司: 海洋深層水塩の練り製品物性に及ぼす影響について, 平成11年度日本水産学会中国・四国支部大会, 1999

岡田稔: かまぼこの科学, 成山堂書店, 1999

山口敦子, 阿部洋一, 石下真人, 鮫島邦彦: かまぼこの物性と微細構造—重合リン酸塩の効果—, *New Food Industry*, 42, 25-32, 2000

山田愛, 吉岡慶子: 高圧処理および食塩添加が魚肉すり身ゲルの物理的特性と食味評価に及ぼす影響, *中村学園研究紀要*, 31, 223-228, 1999

久保田 賢, 田村佳子, 伊藤慶明: 低真空走査型電子顕微鏡(N-SEM)によるかまぼこの観察, 平成12年度日本水産学会春季大会, 2000

Weber K and Osborn M: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244, 4406-4412 (1969).

Ellman GL: A colorimetric method for determining low concentration of mercaptans. *Arch. Biochem. Biophys.*, 74, 443-450, 1958.

水島三一郎編: 化学大辞典, 共立出版, 1963

Effect of deep seawater-salt on the formation of network structure involved in the texture properties of the kamaboko gel

Satoshi Kubota

It has been considered that addition of deep seawater (DSW) to the processed food such as wheat noodles (udon) and soybeans curd (tofu) improve the textural properties. However, the effect of DSW on the structural changes observed with microscope has not been cleared. We have found that breaking strength and elongation of kamaboko gel increased by adding the DSW-salt (DSW-S). In this study, we tried to observe the internal structure of the kamaboko gel containing DSW-S to elucidate the contribution of DSW-S for the textures.

SS grade surimi was used as material. Water content of thawed surimi was adjusted to 80% and ground with 3% NaCl, DSW-S or heated DSW-S. Surface sea water (SSW) was used as control. These pastes were stuffed into stainless-steel ring, wrapped with polyvinylidene chloride film and boiled for 20 min at 80°C. The textural properties and SH group contents of the gels were determined. The protein compositions in the gels were analyzed by SDS-PAGE. The internal structures were observed with natural-scanning electron microscope (N-SEM).

The gel strength increased by adding the heated DSW-S, but not by unheated DSW-S. The polymerization of myosin heavy chain (MHC) through the S-S bonding was appeared by determination of SH content and SDS-PAGE analysis. Internal structure of the gel became smooth and flat with increasing of the gel strength. Similar phenomena were observed in the gel containing SSW-S and heated SSW-S. These results suggested that these textural and structural changes of the kamaboko gel with heated DSW-S or SSW-S were caused by heating some minerals in the deep seawater. Because $MgCl_2$ become MgO by heating at high temperature, we speculated and confirmed that contribution of MgO and heated $MgCl_2$ to those changes. Although unheated $MgCl_2$ was not affective to any changes of the kamaboko gel, both MgO and heated $MgCl_2$ caused the increases of gel strength, polymerization of MHC and formation of smooth and flat structure. These results were similar to that with heated DSW-S and SSW-S, indicating that MgO in heated DSW-S and SSW-S could improve the textural and structural properties of kamaboko gel.