

助成番号 0651

米由来タンパク質分解酵素阻害成分を用いたカマボコの戻り防止 に及ぼす食塩濃度の影響

谷口 正之

新潟大学自然科学系(工学部)

概要 1. 研究目的 通常 2~3%の食塩を含むかまぼこの製造において、加熱時に『戻り』という深刻な問題が生じる。『戻り』とは、55~60℃において、原料であるすり身中の種々の内在性プロテアーゼが作用し、かまぼこの弾力や結着性を低下させる軟化現象のことである。この戻りを抑制するために、現在は、プロテアーゼインヒビターを含む卵白などの主に動物性タンパク質が使用されている。そこで、本研究では、コメに含まれるプロテアーゼインヒビターであるオリザシスタチン(OC)を、食塩を含むかまぼこの戻り防止に利用することを目的として、OC を含む米タンパク質を添加した「モデルかまぼこ」を調製し、米タンパク質添加効果に及ぼす食塩の影響を評価した。

2. 実験材料と方法 解凍したすり身をフードプロセッサーを用いて混練し、すり身の温度が 0~1℃になった時に食塩を添加した。また、添加物を加えるときは、食塩と同時に添加した。添加物を加えた後、すり身の温度が 10℃になるまですり身をさらに混練し、ミンチ状にした。ミンチになったすり身を折径 48 mm の塩化ビニリデンフィルムに充填し、両端を糸で結んだ。その後、90℃で 40 分間保温した後、直ちに冷水に浸して冷却した。冷却後、4℃で保存した。調製したかまぼこの物性として押し込み最大荷重(押し込み荷重)と弾性ひずみを測定した。また、約 5 mm の厚さに輪切りにしたモデルかまぼこの切断面に色彩色差計のセンサ部を置き、L(明度)および a と b(色相と彩度)をそれぞれ測定し、ハンター白度を算出した。

3. 研究結果と考察 かまぼこの一般的な原料として使用されているスケトウダラおよびエソのすり身を用いて抽出液を調製し、内在性プロテアーゼ活性に及ぼす米タンパク質の添加効果について検討した。それらの結果から、OC を含む米タンパク質は、両者のすり身抽出液中の内在性プロテアーゼ(Papain 系プロテアーゼ)を部分的に阻害することがわかった。これらの内在性プロテアーゼの活性は食塩濃度の増加につれて徐々に低下したが、いずれの食塩濃度においても OC を含む米タンパク質を添加することによって、活性はさらに低下した。また、各種濃度の食塩を含むすり身に OC を含む米タンパク質を添加して調製したモデルかまぼこは、対照のかまぼこと比較して、その強度と白さが向上することがわかった。

1. 研究目的

コメには、糖質、タンパク質、脂質などの成分が含まれている。その中でも、タンパク質はいろいろな生理活性を有していると考えられるが、他の成分と比較した場合、栄養学的な研究以外はあまり実施されていない。また、コメのタンパク質に関する栄養学的な研究は比較的古くから行われているが、その研究対象はコメ種子の胚乳に存在する貯蔵タンパク質であるグルテリンに限られている。

コメ中の生理活性を有するタンパク質関連成分にはタンパク質分解酵素(プロテアーゼインヒビター)であるオリザシスタチン(OC)、糖結合性タンパク質であり、免疫活性化や癌細胞増殖抑制効果を有するレクチン、血圧降下作

用を有するγ-アミノ酸酪酸(GABA)、アンギオテンシン変換酵素阻害剤などが存在することが既に報告されている。

そこで、本研究では、これらのタンパク質成分の中から、OC に着目した。システインプロテアーゼインヒビターであるシスタチンは、細胞内でプロテアーゼ活性を制御し、また、外敵が分泌するプロテアーゼを阻害することで、生体を防御するために必要な物質と考えられている。このシスタチンとは、パパイヤ由来の Papain、イチジク由来の Ficin、キウイフルーツ由来の Actinidin などのシステインプロテアーゼを特異的に阻害するタンパク質の総称であり、三つのファミリーに分類され、それらはシスタチンスーパーファミリーとして一つに統合される¹⁾。シスタチンには植物シス

タチンと動物シスタチンが存在し、植物シスタチンとしてコーンシスタチン²⁾とソヤシスタチンが報告されている。さらに、ジャガイモ、パパイアなどからもシスタチンが発見されている³⁾。OCはシスタチンスーパーファミリーに属する植物シスタチンの1種であり、コメ種子由来のシスタチンである。これまでにOCについては、次に挙げる特徴が報告されている。① S-S結合、シグナルペプチド、糖鎖を含まない単純タンパク質である。② 植物シスタチンにもかかわらず、動物シスタチンとアミノ酸配列が共通している。③ 耐熱性を有する。④ pH 2~9の広範囲で活性を示す。⑤ 抗ウイルス、昆虫生育阻害、抗菌などの作用を有する。以上の性質と機能を有するOCは、コメ種子の胚乳などから見出されていることも考慮すると、機能性食品素材、医薬や農薬の原料などへの活用が期待される成分である。

新潟県の特産品には、コメ以外にも種々の製品があるが、全国第2位の出荷額を占めるかまぼこなどの水産練り製品は、代表的な特産品である。今日では、魚自体をあまり好まない外国人が喜んで食べるほど、かまぼこは世界的に流通している。その通常2~3%の食塩を含むかまぼこの製造において、加熱時に『戻り』という深刻な問題が生じる。『戻り』とは、55~60℃において、原料であるすり身の種々の内在性プロテアーゼが作用し、かまぼこの弾力や結着性を低下させる軟化現象のことである⁴⁾。この戻りを抑制するために、現在は、プロテアーゼインヒビターを含む卵白などの動物性タンパク質が使用されている^{5,6)}。しかし、最近の鳥インフルエンザの大発生などにより、動物性タンパク質の安全性に懸念を抱く消費者が増えてきている。このような背景から、食品産業においては、動物性タンパク質の代替として、安全な植物性タンパク質が注目されている。

そこで、本研究では、コメに含まれるプロテアーゼインヒビターであるOCを食塩を含むかまぼこの戻り防止に利用することを目的として、OCを含む米タンパク質を添加した「モデルかまぼこ」を調製し、米タンパク質添加効果に及ぼす食塩の影響を評価した。

2. 研究方法

2.1 実験材料

本研究では、スケトウダラ A およびエソのすり身を用いた。すり身は使用するまでは-80℃で保存し、使用時は4℃で解凍した。本研究では、システインプロテアーゼとしてPapain (Sigma-Aldrich), Cathepsin B (Calbiochem)をお

よびセリンプロテアーゼとして Trypsin (和光純薬工業(株))をそれぞれ用いた。本研究では、モデルかまぼこへの添加物として、粉末状の米タンパク質(試作品)、馬鈴薯デンプン、タピオカデンプンおよび乾燥卵白をそれぞれ用いた。

2.2 すり身抽出液の調製

冷凍すり身(1g)を使用する前日から4℃で解凍した。解凍したすり身を、10 mlのMcIlvaine緩衝液(0.2 M Sodium phosphate-0.1 M Sodium citrate(pH 7))を用いて懸濁した。懸濁したすり身をホモジナイザー(POLYTRON, KINEMATICA)を用いて均一化し、4℃で1時間放置した後、遠心分離(13,000 rpm, 30分間, 4℃)を行い、上清液(すり身抽出液1)と沈殿物に分離した。沈殿物は、再び10 mlのMcIlvaine緩衝液を用いて懸濁した後、ホモジナイザーを用いて均一化した。その後、遠心分離(13,000 rpm, 30分間, 4℃)を行い、上清液(すり身抽出液2)と沈殿物に分離した。エソの場合には、すり身抽出液1を再び遠心分離(13,000 rpm, 30分間, 4℃)を行い、得られた上清液(すり身抽出液1')を回収した。スケトウダラについては、「すり身抽出液1」と「すり身抽出液2」とを、エソについては、「すり身抽出液1'」と「すり身抽出液2」とを混合したサンプルを「すり身抽出液」とした。得られたそれぞれのすり身抽出液を膜ろ過(ADVANTEC, DISMIC-25, Cellulose Acetate, 0.22 μm)した後、限外ろ過により濃縮(Amicon Ultra, Regenerated Cellulose, MWCO 5,000)したサンプルをすり身抽出液として用いた。

2.3 プロテアーゼ活性測定

2.3.1 アゾアルブミンを用いた測定

プロテアーゼ全活性と米タンパク質を添加した後の残存活性を測定するために、既に報告されている方法を改変したアゾアルブミン法を用いた。基質溶液として、アゾアルブミン/McIlvaine緩衝液(pH 7.0)を用いた⁷⁾。スケトウダラおよびエソのすり身抽出液に、食塩濃度が0, 2 および4%となるようにそれぞれ添加し、それらをプロテアーゼ溶液とした。プロテアーゼ溶液のタンパク質量はLowry法により測定した。

2.3.2 蛍光基質を用いた測定

プロテアーゼ活性は反応によって蛍光基質から遊離する7-amino-4-methyl-coumarin (AMC)の蛍光強度を測定することにより求めた。測定には石英セルを使用し、セルに1,000 μlの緩衝液、965 μlの蒸留水、15 μlの酵素溶液および10 μlのプロテアーゼ溶液を入れ、55℃で5分間、

プレインキュベートを行った後、10 μ l の蛍光基質溶液を添加した。この反応をコントロールとした。一方、セルに1,000 μ l の緩衝液、955 μ l の蒸留水、15 μ l の酵素溶液、10 μ l のプロテアーゼ溶液および10 μ l の米タンパク質溶液を入れ、55 $^{\circ}$ Cで5分間、プレインキュベートを行った後、10 μ l の蛍光基質溶液を添加した。Papain 系、Cathepsin 系および Trypsin 系のプロテアーゼ活性の測定においては、蛍光基質としてそれぞれ Z)-Phe-Arg-4-Methyl-Coumaryl-7-Amide (MCA) , (Z)-Arg-Arg-4-Methyl-Coumaryl-7-Amide (MCA) および(Z)-Boc-Phe-Ser-Arg-4-Methyl-Coumaryl-7-Amide (MCA) 溶液をそれぞれ用いた。AMC 濃度は蛍光光度計(RF-5300PC, 島津製作所(株))を用いて380 nm の励起光、440 nm の蛍光を測定し、1分間あたりの AMC の吸光度変化から AMC 濃度を算出した。また、Papain 系のプロテアーゼ活性に及ぼす食塩濃度の影響を検討するために、セル中での最終濃度が 0, 1, 2, 3 および 4 % になるように食塩を緩衝液に加えた。

2.4 モデルかまぼこの調製

スケトウダラおよびエソの冷凍すり身を、調製する前日に、すり身の温度が-2 $^{\circ}$ C前後になるように半解凍した。解凍したすり身をフードプロセッサー(MK-K58, National)を用いて、混練した。混練をしている間、すり身の温度が0~1 $^{\circ}$ Cになった時に食塩を添加した。また、添加物を加えるときは、食塩を添加するときと同時に添加した。添加後、すり身の温度が10 $^{\circ}$ Cになるまですり身を混練し、ミンチ状にした。ミンチになったすり身を折径48 mm の塩化ビニリデンフィルムに充填し、両端を糸で結んだ、その後、90 $^{\circ}$ Cで40分間保温した後、直ちに冷水に浸して冷却した。冷却後、4 $^{\circ}$ Cで保存した。戻りの時間について検討する場合には、90 $^{\circ}$ Cでの保温の前に、スケトウダラは55 $^{\circ}$ Cで0, 1 および3時間、またエソは55 $^{\circ}$ Cで0, 0.5 および1時間保温した。

2.5 モデルかまぼこの性質評価

押し込み最大荷重(押し込み荷重)および弾性ひずみを測定するために、レオメーター(NRM-2010J-CW, FR-31, 不動工業産業株式会社)を用いて押し込み試験を行った。ブランジャーには直径5 mm の球形ブランジャーを使用し、押し込み速度は6 cm/min とした。モデルかまぼこを2.5 cm の厚さに輪切りにし、その切断面に対して、垂直方向にブランジャーを押し込んだ。押し込み試験は3回行い、得られた測定値の平均値を求めた。

約5 mm の厚さに輪切りにしたモデルかまぼこの切断面

に対し、色彩色差計(CR-400, KONICA MINOLTA センシング株式会社)のセンサ部を置き、L(明度)およびaとb(色相と彩度)をそれぞれ測定し、ハンター白度を算出した。

3. 実験結果および考察

3.1 すり身中の全プロテアーゼ活性の阻害

アゾアルブミンを基質として、スケトウダラおよびエソのすり身抽出液のプロテアーゼ全活性を測定した。その時の波長420 nmにおける吸光度の変化をFig. 1 およびFig. 2 にそれぞれ示す。

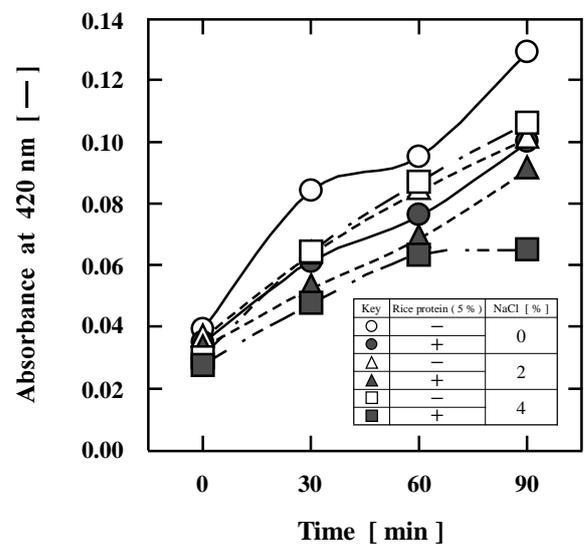


Fig. 1 Inhibition of total protease activity in pollack surimi by rice protein.

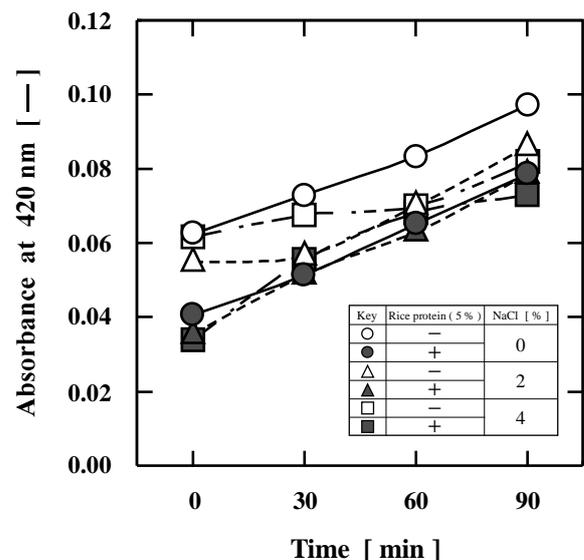


Fig. 2 Inhibition of total protease activity in lizard fish surimi by rice protein.

米タンパク質の添加によって、全ての食塩濃度において、それぞれプロテアーゼの全活性がスケトウダラのすり身抽出液の場合には約 10~20%、エソのすり身抽出液の場合には約 15~30%低下した。エソのすり身抽出液については、米タンパク質を添加しない場合の反応開始時に、タンパク質分解が認められた。一方、米タンパク質を添加した場合には、反応開始時のタンパク質分解は少なくなった。これは、エソのすり身抽出液中には、米タンパク質により瞬時に阻害されるプロテアーゼが存在しているためと考えられる。次に、それぞれすり身抽出液中のプロテアーゼ比活性を比較した。スケトウダラおよびエソのすり身はともに、食塩を添加しない時のプロテアーゼ比活性が食塩を添加した時に比べて、高い値となったことから、食塩のみでもプロテアーゼ活性が阻害されることがわかった。

スケトウダラについては、4%の食塩濃度の時に、米タンパク質を添加した場合、時間が経過するにつれて、相対活性が最も減少した。すなわち、阻害効果が強くなった。この結果から、スケトウダラのすり身抽出液中のプロテアーゼ全活性は、食塩濃度が 4%の時に、米タンパク質によって最も阻害されることがわかった。エソについては、米タンパク質の有無および食塩濃度の変化にかかわらず、時間が経過するにつれて、プロテアーゼ比活性が増加した。また、米タンパク質を添加した時の相対活性は、時間経過とともに増加した。すなわち、阻害効果が弱まった。この結果から、エソのすり身抽出液中では、時間経過とともに米タンパク質中のプロテアーゼ阻害活性が失われるため、持続的にプロテアーゼの全活性を阻害することが困難であると考えられる。この現象は、プロテアーゼ阻害因子がプロテアーゼによって分解されたためと考えられる。

3.2 各種プロテアーゼ活性の阻害

すり身抽出液中の Papain 系, Cathepsin 系および Trypsin 系のプロテアーゼ活性と米タンパク質を添加した時の各プロテアーゼ活性の変化を、それぞれに反応する蛍光基質を用いて測定した。すなわち蛍光基質として (Z)-Phe-Arg-MCA, (Z)-Arg-Arg-MCA, Boc-Phe-Ser-Arg-MCA をそれぞれ使用した。米タンパク質を添加することによって、スケトウダラの場合には Papain 系および Trypsin 系のプロテアーゼ活性が、エソの場合には Papain 系のプロテアーゼ活性がそれぞれ約 20%低下した。スケトウダラの Cathepsin 系プロテアーゼ活性とエソの Trypsin 系プロテアーゼ活性は、米タンパク質による影響を受けなかった。また、エソの Cathepsin 系プロテアーゼ活性は、米タンパク

質を添加すると約 20%増加した。この結果から、米タンパク質はエソの Cathepsin 系プロテアーゼ活性を増強させる働きがあると考えられる。あるいは、米タンパク質中に Cathepsin 系プロテアーゼが含まれていることも考えられる。

以上の結果から、スケトウダラとエソのすり身抽出液に米タンパク質を添加することにより抽出液中のプロテアーゼ活性を部分的に阻害することができた。次に、検出できた Papain 系プロテアーゼ活性に対する米タンパク質の添加効果を、食塩濃度を変えて検討した。スケトウダラに関する結果を Fig. 3 に、エソに関する結果を Fig. 4 にそれぞれ示す。縦軸の相対値は、米タンパク質を添加せずに、食塩濃度を0%とした時のすり身抽出液中の Papain 系プロテアーゼ活性を 100%とした場合の値を示す。

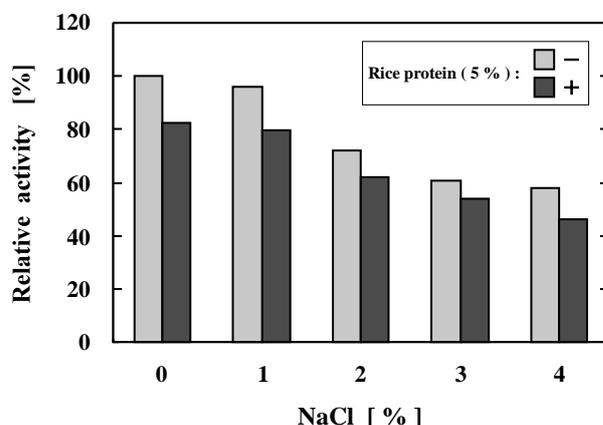


Fig. 3 Effect of NaCl concentration on inhibition of papain like protease activity in pollack surimi by rice protein.

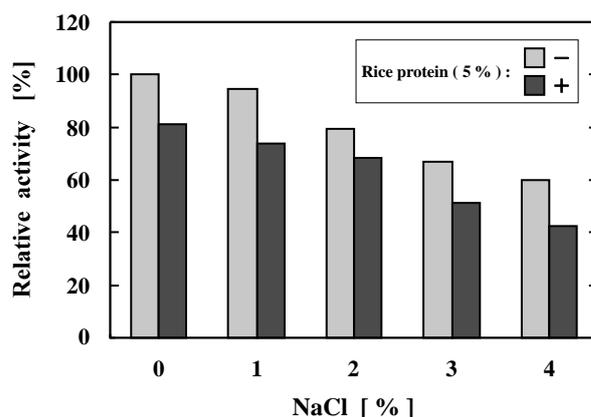


Fig. 4 Effect of NaCl concentration on inhibition of papain like protease activity in lizard fish surimi by rice protein.

スケトウダラとエソのすり身抽出液中の Papain 系プロテアーゼ活性はともに、米タンパク質を添加することによって、

低下したことから、米タンパク質は Papain 系プロテアーゼ活性を阻害する成分を含んでいることが確認できた。また、米タンパク質の添加の有無にかかわらず、食塩濃度が高くなるにつれて、Papain 系プロテアーゼ活性が低下したことから、食塩のみでも Papain 系プロテアーゼ活性を阻害できることがわかった。

3.3 スケトウダラのすり身を用いたモデルかまぼこの性質

スケトウダラのすり身から調製したモデルかまぼこの押込み荷重、弾性ひずみ、ハンター白度、水分含量および pH を測定した。すり身に対して 5%の米タンパク質を添加した時の影響を検討した結果を Fig. 5 に、食塩濃度を 3%として米タンパク質の添加濃度の影響を検討した結果を Fig. 6 に、食塩濃度を 3%として 55°Cでの保温時間(戻り

時間)の影響を検討した結果を Fig. 7 に、および添加物の種類を変化させて検討した結果を Fig. 8 にそれぞれ示す。押込み荷重は、米タンパク質を添加することによって、添加しないコントロールのモデルかまぼこの値に比べて大きく増加した。また、米タンパク質を添加したモデルかまぼこは食塩濃度の増加につれて、押込み荷重は増加した。

食塩濃度を 3%にして、米タンパク質の添加濃度を変化した結果、添加濃度が増加するにつれて、押込み荷重も増加した。すり身に対して 5%または 10%の米タンパク質を添加して調製したモデルかまぼこの戻り時間を 0, 1 および 3 時間とし、押込み荷重を測定した。

その結果、戻り時間が 0 時間、すなわち戻りを生じさせなかった時に比べて、戻り時間が 1 時間および 3 時間のモデルかまぼこの押込み荷重は著しく減少し、時間が長くな

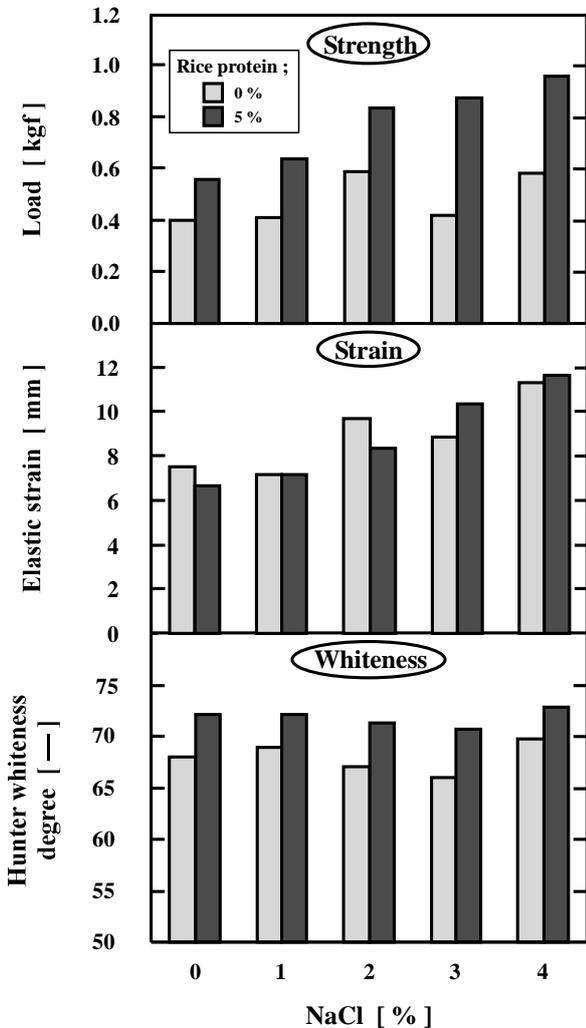


Fig. 5 Effect of addition of rice protein on properties of kamaboko prepared from pollack surimi.

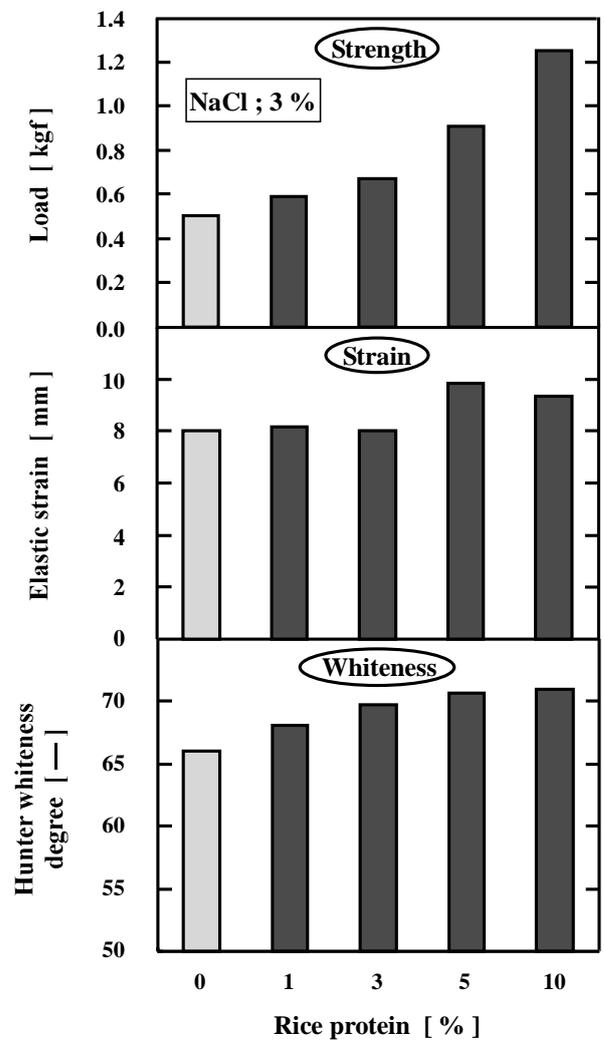


Fig. 6 Effect of concentration of rice protein on properties of kamaboko prepared from pollack surimi.

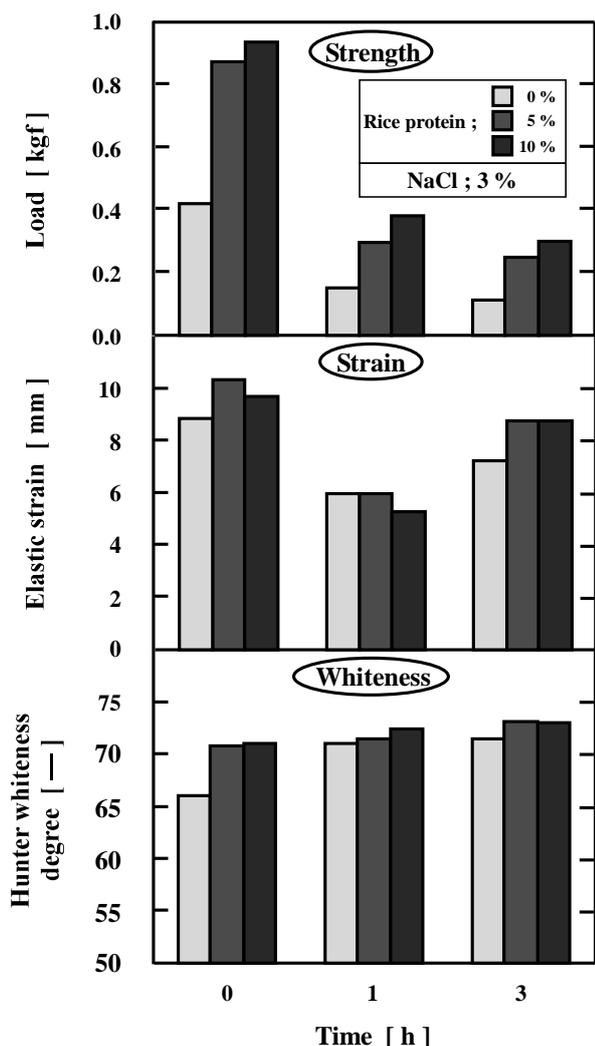


Fig. 7 Effect of modori time at 55°C on properties of kamaboko prepared from pollack surimi.

るにつれて、押し込み荷重が減少した。また、戻り時間が長くなっても米タンパク質を添加したモデルかまぼこは、一定の割合で米タンパク質を添加しないモデルかまぼこの値に比べて押し込み荷重が大きくなった。特に 10%の米タンパク質を添加したモデルかまぼこの押し込み荷重は、米タンパク質を添加しないで戻りを生じさせなかったモデルかまぼこの場合に近い値となった。すり身に対して 5%の濃度の添加物(米タンパク質の代わりに、馬鈴薯デンプン、タピオカデンプン、および乾燥卵白)を加えて調製したモデルかまぼこの押し込み荷重を測定した結果、米タンパク質を添加したモデルかまぼこの場合に最大となった。

弾性ひずみを、米タンパク質を添加したときと添加しない時について比較すると、食塩濃度が 2%までは弾性ひずみは減少したが、3%および 4%の時に米タンパク質の

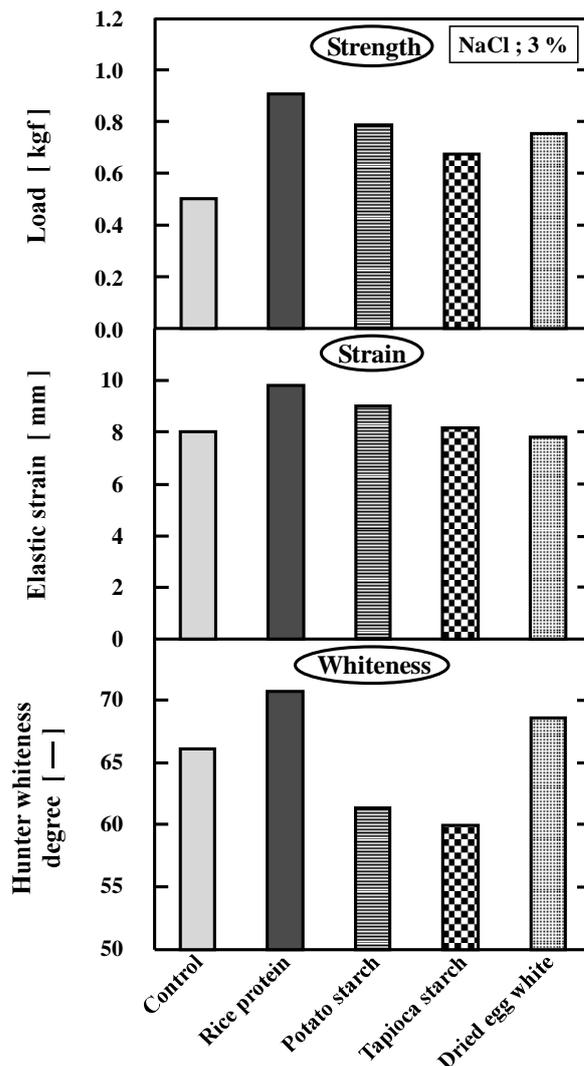


Fig. 8 Effect of kind of additive on properties of kamaboko prepared from pollack surimi.

添加により、弾性ひずみは増加した。また、押し込み荷重と同様に、米タンパク質を添加したモデルかまぼこの弾性ひずみも、食塩濃度の増加につれて増加した。米タンパク質の添加濃度を変えて比較した結果、弾性ひずみは添加濃度が 3%まではほぼ等しく、添加濃度が 5%および 10%の時に増加した。戻り時間を 0, 1 および 3 時間として調製したモデルかまぼこの弾性ひずみは、押し込み荷重と同様に、戻り時間が 0 時間のモデルかまぼこの場合に比べて、戻り時間が 1 時間および 3 時間のモデルかまぼこの弾性ひずみよりは小さかった。しかし、押し込み荷重の場合と異なり、戻り時間を 1 時間と 3 時間としたモデルかまぼこでは、戻り時間を 3 時間としたモデルかまぼこの方が、弾性ひずみが大きかった。これは、55°Cで 3 時間保温したために、戻りの影響を大きく受け、過剰に軟化したために測定値の

精度が低くなったためと考えられる。添加物の種類を変えた時には、押し込み荷重の場合とほぼ同様な傾向が得られた。弾性ひずみは、モデルかまぼこの調製時に、モデルかまぼこ内に気泡が入るために、その測定精度が低くなった。このことが原因となって、弾性ひずみの傾向は押し込み荷重の傾向は異なると考えられる。

ハンター白度は、米タンパク質を添加することにより、すべての食塩濃度において約5[-]増加した。米タンパク質の添加濃度を変えて比較した結果、添加濃度が5%までは徐々に増加した。戻り時間を変えて調製したモデルかまぼこでは、戻り時間が長くなるにつれて、ハンター白度は徐々に増加した。また、5%または10%の米タンパク質を添加した場合にも、戻り時間に関係なく、米タンパク質を添加しないモデルかまぼこよりも僅かにハンター白度が増加した。添加物の種類を変えて調製したモデルかまぼこのハンター白度を比べた場合、米タンパク質を添加した場合に最大となり、乾燥卵白の場合とほぼ同程度のハンター白度が得られた。

水分含量およびpHは、米タンパク質を添加することによって、両者は共に減少し、また食塩濃度が増加するにつれて、さらに減少する傾向があることがわかった。水分含量に及ぼす食塩濃度の影響は浸透圧によると考えられ、モデルかまぼこ内の水分はモデルかまぼこの外へ放出されたと考えられる。米タンパク質の添加濃度を変えた場合には、添加濃度が高くなるにつれて、水分含量およびpHは減少する傾向があることがわかった。さらに添加物の種類を変えた場合には、コントロール(無添加)、米タンパク質、馬鈴薯デンプン、タピオカデンプン、乾燥卵白の順に水分含量は減少した。pHはコントロールの時に最大であり、その他の添加物と比較した場合には乾燥卵白、タピオカデンプン、米タンパク質、馬鈴薯デンプンの順で減少した。このような添加物の種類による水分含量の変化は、添加物を加えたことによって、モデルかまぼこの網目構造中の水分をその構造の外に追い出したためと考えられる。戻り時間を変化させた実験では、米タンパク質を添加しない場合と比べて、5%または10%の米タンパク質を添加した場合には、戻り時間が長くなるほどpHは減少した。しかし、米タンパク質を添加した場合、戻り時間が長くなるにつれて水分含量は増加した。一般に、馬鈴薯などのデンプンをかまぼこに添加した場合には、かまぼこの保水効果が向上することが知られている。戻り時間が長くなっても水分含量が減少しなかったのは、スケトウダラのすり身から調

製したかまぼこに対して、米タンパク質もデンプンと同様な効果があったためと考えられる。

以上の結果から、米タンパク質の添加によって、押し込み荷重および弾性ひずみが増加し、ハンター白度も増加したことから、スケトウダラのすり身から調製したモデルかまぼこの強度と白さを向上できることがわかった。しかし、米タンパク質を添加したモデルかまぼこの押し込み荷重と水分含量の間の関係を比較した場合、押し込み荷重が高いほど水分含量が低くなった。このことからモデルかまぼこの強度の向上には、米タンパク質のプロテアーゼインヒビターが寄与しただけではなく、モデルかまぼこ内の水分含量も影響したと考えられる。

3.4 エソのすり身を用いたモデルかまぼこの性質

スケトウダラと同様に、エソのすり身から調製したモデルかまぼこの押し込み荷重、弾性ひずみ、ハンター白度、水分含量およびpHを測定した。すり身に対して5%の米タンパク質を添加した時の影響を検討した結果をFig. 9に、食塩濃度を3%として米タンパク質の添加濃度の影響を検討した結果をFig. 10に、食塩濃度を3%として55°Cでの保温時間(戻り時間)の影響を検討した結果をFig. 11に、および添加物の種類を変化させて検討した結果をFig. 12にそれぞれ示す。

押し込み荷重は、米タンパク質を添加することによって、食塩濃度にかかわらず米タンパク質を添加しない場合の約2倍に増加した。米タンパク質の添加濃度を変化した結果、添加濃度が高くなるにつれて、押し込み荷重は増加した。戻り時間を0, 0.5 および1時間に変化させた場合を比較した結果、戻り時間が長くなるにつれて、押し込み荷重は減少した。また、5%の米タンパク質を添加したモデルかまぼこに比べて、10%の米タンパク質を添加したモデルかまぼこの押し込み荷重は、戻り時間に関係なく、ほぼ一定の割合で増加した。添加物の種類を変えた場合には、押し込み荷重は乾燥卵白を添加した時に最も高い値となった。

弾性ひずみは、食塩濃度に関係なく、米タンパク質を添加することによって、米タンパク質を添加しない場合に比べて、僅かに増加した。米タンパク質の添加濃度を変えて調製したモデルかまぼこの弾性ひずみは、添加濃度が5%まではほとんど変化がなく、添加濃度が10%になると増加した。戻り時間を変えた場合を比較した結果、米タンパク質の添加濃度に関係なく、弾性ひずみは戻り時間が0.5時間まではほとんど変化がなく、戻り時間が1時間にな

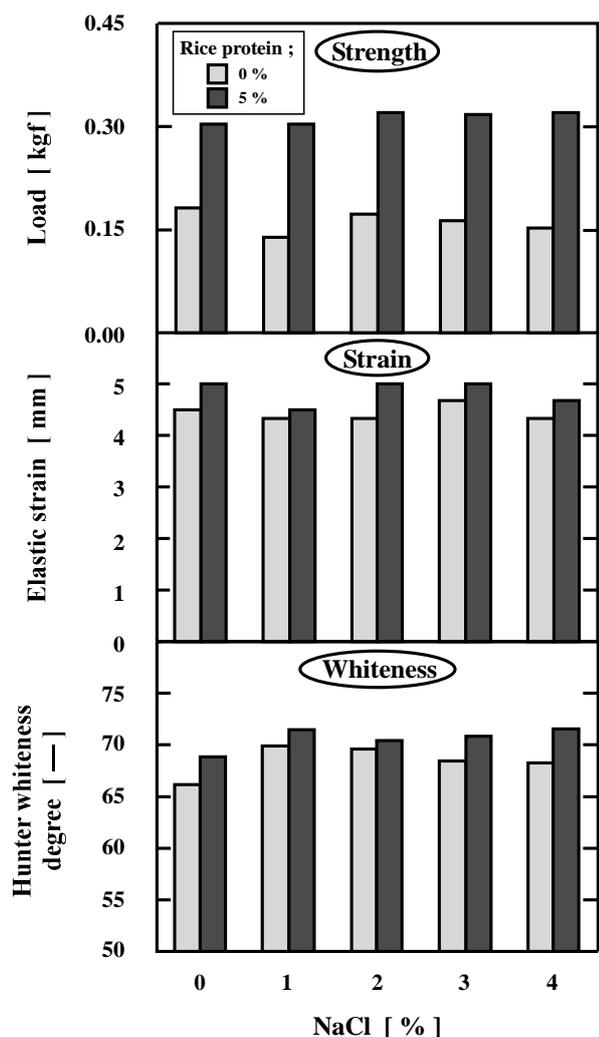


Fig. 9 Effect of addition of rice protein on properties of kamaboko prepared from lizard fish surimi.

ると増加した。また、押し込み荷重の場合と同様に、5%の米タンパク質を添加した場合に比べて10%の米タンパク質を添加した時には、戻り時間に関係なく、弾性ひずみがほぼ一定の割合で増加した。添加物の中では乾燥卵白を添加した場合に最も弾性ひずみが大きくなった。スケトウダラの項でも述べたが、弾性ひずみの測定においては、モデルかまぼこの調製時に、モデルかまぼこ内に気泡が入るために、測定値の精度が低くなった。このため、弾性ひずみは押し込み荷重とは異なる傾向を示すようになったと考えられる。

ハンター白度は、米タンパク質を添加しない場合に比べて、米タンパク質を添加した場合に、食塩濃度に関係なく僅かに増加した。米タンパク質の添加濃度を変えた場合には、添加濃度が5%までは徐々にハンター白度が増加した。また、戻り時間を長くしてもほとんど変化がなかつ

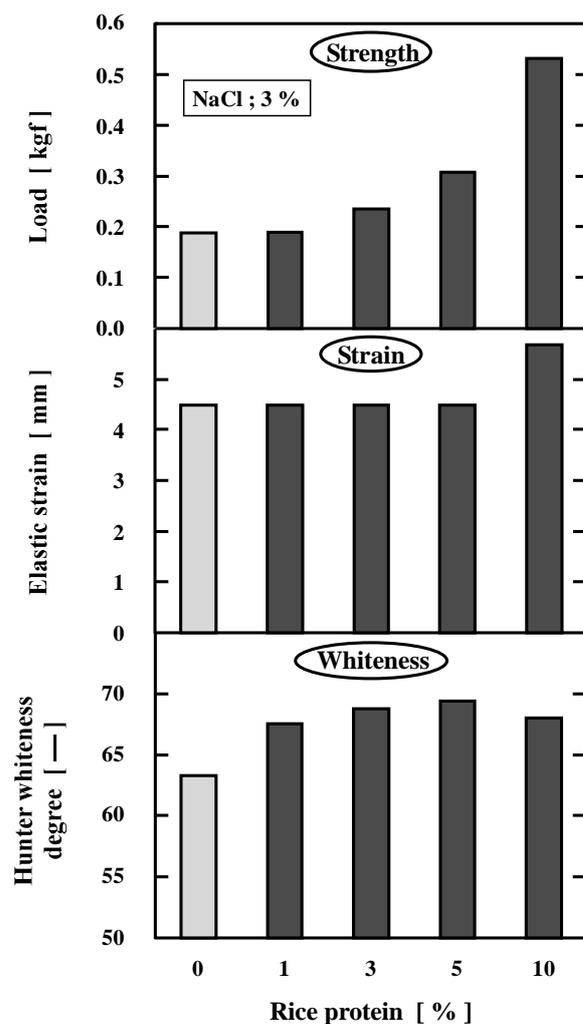


Fig. 10 Effect of concentration of rice protein on properties of kamaboko prepared from lizard fish surimi

た。さらに、5%の米タンパク質を添加した場合に比べて10%の割合で添加した時には、戻り時間に関係なくほぼ一定の割合でハンター白度が減少した。

水分含量およびpHは、米タンパク質を添加しない場合に比べて、米タンパク質を添加することによって、ともに減少した。また、食塩濃度が増加するにつれて、両者は減少する傾向があることがわかった。この水分含量に及ぼす食塩濃度の影響は、スケトウダラの場合と同じように浸透圧によると考えられ、モデルかまぼこ内の水分がモデルかまぼこの外へ放出されたためと考えられる。米タンパク質の添加濃度を変えて水分含量とpHを比較した結果、添加濃度が高くなるにつれて、両者は減少する傾向があることがわかった。さらに添加物の種類を変化させると、コントロール(無添加)を除いた中では、馬鈴薯デンプンが最も高い水分含量となった。これは、先にも述べたようにデ

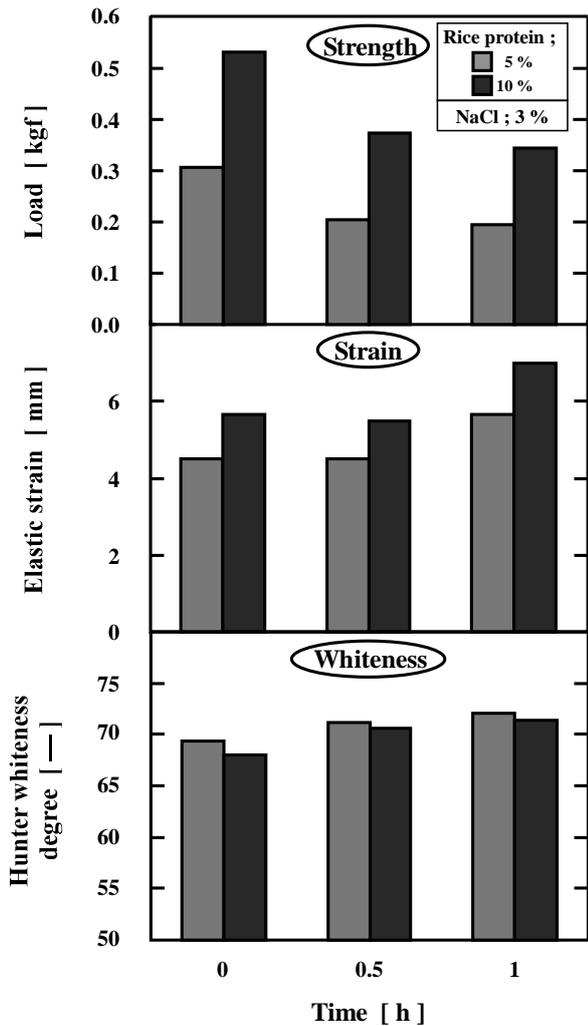


Fig. 11 Effect of modori time at 55°C on properties of kamaboko prepared from lizard fish surimi.

ンポン特有の保水効果によるためと考えられる。また、馬鈴薯デンプンの次に、米タンパク質を添加した場合にも高い水分含量であったことから、スケトウダラだけでなく、エソのすり身から調製したモデルかまぼこについても、デンプンと同様な保水効果があったと考えられる。pH は乾燥卵白の場合が最大となった。このような添加物による水分含量の変化は、スケトウダラの場合と同様に、添加物がモデルかまぼこの網目構造中の水分をその構造の外に追い出したためと考えられる。戻り時間を変えても、水分含量は戻り時間に関係なくほとんど変化しなかった。しかし、pH は戻り時間が長くなるにつれて減少した。

以上の結果から、エソのすり身に米タンパク質を添加することによって、モデルかまぼこ中の押し込み荷重および弾性ひずみが増加することがわかった。また、ハンター白

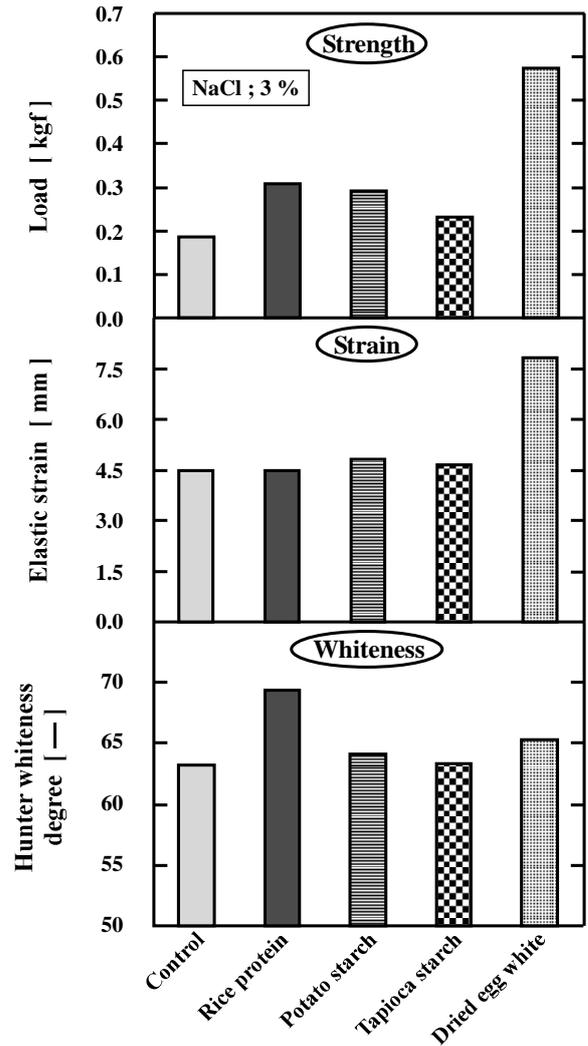


Fig. 12 Effect of kind of additive on properties of kamaboko prepared from lizard fish surimi.

度も増加したことから、このモデルかまぼこの白さも向上できることがわかった。しかし、スケトウダラの時と同様に、米タンパク質を添加したモデルかまぼこの押し込み荷重と水分含量の間の関係を検討した場合、押し込み荷重が高いほど水分含量が低かったことから、エソのモデルかまぼこの場合にも、強度の向上の理由として、米タンパク質由来プロテアーゼインヒビターの作用だけでなく、モデルかまぼこ内の水分含量の低下の寄与も考えられる。

4. 今後の課題

かまぼこの一般的な原料として使用されているスケトウダラおよびエソのすり身を用いてすり身抽出液を調製し、すり身の内在性プロテアーゼ活性に及ぼす米タンパク質の添加効果を検討した。その結果から、OC を含む米タン

パク質は、スケトウダラおよびエソのすり身抽出液中の内
在性プロテアーゼの1種類である Papain 系プロテアーゼ
を阻害することがわかった。また、米タンパク質を添加した
両者のすり身からモデルかまぼこを調製することによって、
かまぼこの強度と白さを向上できることがわかった。しかし、
水分含量が減少するにつれて、押し込み荷重が増加する
ことから、強度の向上の理由として、米タンパク質のプロテ
アーゼ阻害作用以外に、水分含量も影響することもわか
った。

本研究では、すり身中の Papain 系プロテアーゼのみを
詳しく検討したが、将来、米タンパク質が実際にかまぼこ
の戻り防止へ利用することを目標として、Cathepsin 系およ
び Trypsin 系プロテアーゼについても検討する必要がある。
さらに、かまぼこの強度の向上の理由を明確にするために、
米タンパク質のプロテアーゼ阻害作用の効果のみを検討
できる実験系を構築する必要がある。

文献等

- 1) A. J. Barrett, H. Fritz, A. Grubb, S. Isemura, M. Jarvinen, N. Katunuma, W. Machleidt, W. Muller-Esterl, M. Sasaki, and V. Turk: Nomenclature and classification of the proteins homologous with the cysteine-proteinase inhibitor chicken cystatin., *Biochem. J.*, 236, 312 (1986).
- 2) M. Abe, H. Kondo, S. Arai: Purification and characterization of a rice cysteine proteinase inhibitor. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2763-2768 (1987).
- 3) I. Song, M. Taylor, K. Baker, R. C. Jr. Bateman: Inhibition of cysteine proteinases by carica papaya cystatin produced in *Escherichia coli*. *Gene*, 162, 221-224 (1995).
- 4) M. Ohkubo, K. Osatomi, K. Hara, T. Ishihara and F. Aranishi : Myofibrillar proteolysis by myofibril-bound serine protease from white croaker *Argyrosomus argentatus*. *Fisheries Sci.*, 71, 1143-1148 (2005).
- 5) O. Akpinar and H. An: Purification and determination of inhibitory activity of recombinant soyacystatin for surimi application. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 247-255 (2005).
- 6) S. S. Tzeng and S. T. Jiang: Glycosylation modification improved the characteristics of recombinant chicken cystatin and its application on mackerel surimi. *J. Agr. Food Chem.*, 52, 3612-3616 (2004).
- 7) S. Rawdkuen, S. Benjakul, W. Visessanguan and T. C. Lanier: Chicken plasma protein: Proteinase inhibitory activity and its effect on surimi gel properties. *Food Research International*, 37, 156-165 (2004).

No. 0651

Effect of NaCl Concentration on Inhibition of Modori of Kamaboko by Addition of Rice Protein with Protease Inhibitory Activity

Masayuki Taniguchi

Department of Materials Science and Technology,
Niigata University

Summary

Several endogenous proteases autohydrolyse partially proteins in Surimi (fish meat paste). In manufacture of Kamaboko, proteolysis by endogenous proteases in Surimi causes Modori (softening) and therefore lowering of quality of Kamaboko. In this study, we investigated on inhibition of the softening using rice protein with protease inhibitory activity. In particular, taking into consideration that Kamaboko contains usually 2-3% NaCl, the effect of NaCl concentration on the protease inhibitory activity of rice protein was examined. At concentrations from 1% to 4%, rice protein inhibited partially endogenous protease in surimi (pollack and lizard).

By using a synthetic fluorescent substrate of protease, we found that rice protein contains inhibitors toward papain like protease and that the extracts of surimi (pollack and lizard) showed papain like protease. On the basis of these results, we prepared model Kamaboko using surimi (pollack and lizard) as a starting material. When rice protein was added to surimi paste with 3% NaCl, the breaking force and deformation of Kamaboko obtained were higher than those without rice protein. Moreover, the whiteness of Kamaboko was improved by adding rice protein. Therefore, we clarified that the addition of rice protein to surimi was effective to prevent Kamaboko from Modori (softening) in the presence of 2-3% NaCl. Further study on clarification of relationship between degree of inhibition of protease activity in surimi and physical properties of Kamaboko is necessary.