

発表番号 41 (0543)

塩漬魚肉中で起こる筋原繊維タンパク質の変性様式と それに及ぼす Ca, Mg, および K の影響について

大泉 徹 (福井県立大学生物資源学部)

食塩は水分活性の低下による貯蔵性の向上とともに風味やテクスチャーの改善に寄与するなど水産加工品の品質形成に重要な役割を果たしている。一方、高濃度の食塩が魚肉中の筋原繊維タンパク質の変性を引き起こし、水産加工品の品質を損なうことも知られている。このため、食塩によって引き起こされる筋原繊維タンパク質の変性のメカニズムとその制御に関して従来から多数の研究が行われてきた。しかしながら、それらの研究の多くは魚肉から単離したアクトミオシンや筋原繊維などのタンパク質標品を魚肉モデルとして用いて行われたものであり、実際に塩漬した魚肉中の筋原繊維タンパク質の変性様式については十分な研究がなされていない。そこで、本研究では塩漬した魚肉からアクトミオシンを抽出し、その抽出率と生化学的性質の変化を、単離した筋原繊維タンパク質を塩処理した場合のそれらと比較することを通じて、塩漬魚肉中における筋原繊維タンパク質の変性様式を明らかにしようとした。その結果、筋原繊維の塩処理ではミオシンの塩溶解性はほとんど変化しなかったが、塩漬魚肉からのアクトミオシンの抽出率は塩漬時間とともに大きく低下し、塩漬魚肉中では筋原繊維タンパク質が強く凝集することが示唆された。また、塩漬魚肉から抽出

したアクトミオシンの Ca-ATPase 活性も塩漬時間とともに低下したが、その度合いも筋原繊維を塩処理した場合よりも大きかった。さらに筋原繊維を塩処理した場合には筋原繊維中のアクチンのキモトリプシン感受性が增大したが、塩漬魚肉から抽出したアクトミオシン中のアクチンはキモトリプシンで消化されず、未変性であることが示された。これらの結果から、魚肉から単離した筋原繊維を塩処理する場合とは異なり、塩漬魚肉中のミオシンはアクチンと結合したまま Ca-ATPase 活性を失い、引き続き大規模に凝集して塩溶解性を低下させることが強く示唆された。10 mM の Ca、Mg、または K を塩漬液に添加してもアクトミオシンの抽出率はほとんど変化しないことから、NaCl に混在する程度の濃度ではこれらの陽イオンは塩漬魚肉中の筋原繊維タンパク質の変性の進行に影響を及ぼさないことが推察された。このように、単離した筋原繊維の塩変性様式と塩漬魚肉中で起こる筋原繊維タンパク質の変性様式が大きく異なる理由として、魚肉中では筋原繊維タンパク質が 10% 以上の高濃度で存在すること、およびマアジ魚肉の pH が 6.1 前後まで低下していることが考えられた。

助成番号 0543

塩漬魚肉中で起こる筋原繊維タンパク質の変性様式と それに及ぼす Ca, Mg, および K の影響について

大泉 徹 (福井県立大学生物資源学部海洋生物資源学科)

1. 研究目的

水産加工品の製造過程で魚肉に添加される食塩は製品の貯蔵性の向上や呈味やテクスチャーの改善に寄与している。しかし一方では、高濃度の食塩によって引き起こされる筋原繊維(Mf)タンパク質の変性は水産加工品の保水性やテクスチャーに大きな影響を及ぼし、品質を損なうことが知られている。このため、従来から加塩によるMfタンパク質の変性の進行について数多くの研究がなされてきた。その結果、魚肉から単離したMfやアクトミオシン(AM)を高濃度の食塩で処理するとミオシンの変性に先行してアクチンが変性すること^{1,2)}、続いて起こるミオシンの塩変性は、ATPaseやアクチンのとの相互作用を担っているS-1部位で主に起こり、フィラメント形成能を有するrodへの影響は小さいこと³⁾などが明らかにされている。しかし、これらは、構成成分が単純で、魚肉中に比べてかなり低いタンパク質濃度のタンパク質標品を魚肉モデルとして用いて得られた成果である。実際に魚肉を塩漬するとき起こるMfタンパク質の変化については、ミオシン重鎖の多量化反応の進行に注目した研究^{4,5)}がみられるが、上述したような単離したMfタンパク質で進行する生化学的変化が魚肉中でも起こるかどうかにについては未だ明らかではない。塩漬魚肉中で起こるMfタンパク質の生化学的性状の変化に関する研究が進展しない背景には、塩漬魚肉が不均一系であり魚肉全体に起こる変化を追跡することが困難であることや塩漬におけるNaClの処理強度を見積もる手法が確立しておらず、モデル実験との比較ができなかったことがあげられる。そこで、本研究では、塩漬した魚肉からのAMの抽出率とその生化学的性状の変化を塩漬時間や食塩の浸透量との関連で解析した。そしてそれらを単離したMfを塩処理したときに起こる変化とNaClの処理強度を基準にして比較することを通じて、魚肉中で起こるMfタンパク質の塩変性の進行様式を明らかにすることを目的とした。また、近年では様々な組成の塩が水産加工に用いられる場合が増加していることから、Mfタンパク質の塩変性様式に及ぼすMgやCaおよびKの影響についても併せて検討を行った。

2. 研究方法

2.1 筋原繊維の塩処理と生化学的性質の変化

魚肉から単離したMfタンパク質の塩処理による生化学的性質の変化を明らかにするため、マアジ背部普通筋から加藤らの方法⁶⁾に準じてMfを調製した。塩変性の進行に及ぼすタンパク質濃度の影響を検討するためMfのタンパク質濃度を1または5%に調節した。これらのMf標品に固体のNaClまたは3M NaCl溶液を加えて、NaCl濃度を2Mに調整し、4°Cで12時間まで処理した。なお、塩処理中のpHは20mM Tris-HClで7.5に保持した。一定時間ごとにNaClを含まない20mM Tris-HCl(pH 7.5)を加えてNaCl濃度を希釈して反応を停止した後、1M ソルビトールを含む50mM NaCl-20mM Tris-HCl(pH 7.5)溶液に透析した。本研究ではこれら一連の操作をMfの塩処理と称する。塩処理したMfの生化学的性質は、ミオシンの塩溶解性、Ca-ATPase活性およびアクチンのキモトリプシン感受性から検討した。ミオシンの塩溶解性は1mM ATP-Mgを含む0.5M NaClに可溶化するミオシンをSDS-PAGEのデンストメトリーにより定量して検討した。Ca-ATPase活性は5mM CaCl₂, 0.5M NaCl, 25mM Tris-maleate (pH 7.0)および1mM ATPを含む反応組成液にMfを加えて25°Cで反応させ、遊離する無機リン酸を定量して測定した。アクチンのキモトリプシン感受性は塩処理Mfに重量比で1/250の α -キモトリプシンを加えて20°Cで消化し、未消化のアクチンをSDS-PAGEのデンストメトリーで定量して検討した。ミオシンの塩溶解性はミオシンの凝集の進行を反映し、Ca-ATPase活性の変化は活性中心を含むミオシン頭部の構造変化を反映している。また、未変性のアクチンはキモトリプシンで消化されないが、変性の進行とともにキモトリプシンに対する感受性が増大することが知られている⁷⁾。

2.2 塩漬魚肉からのアクトミオシンの調製とその生化学的性質

マアジ背部普通筋から一定形状(4×2×0.5 cm)の魚肉試験片を調製し、1, 2, または3MのNaCl溶液で48時間まで塩漬して、塩漬にともなう魚肉中へのNaClの浸透量と魚肉水分量の変化を検討した。一定時間ごとに取り出した塩漬魚肉からMfの調製を試みたが、Mfの凝集

が著しく均質な標品を得ることができなかった。そこで、この Mf を 1 mM Mg-ATP を含む 0.5 M NaCl で処理して AM を抽出し、その抽出率と生化学的性質の変化を塩漬時間や NaCl の浸透量との関連で検討した。また、塩不溶画分(未抽出画分)についても尿素、SDS あるいは 2-メルカプトエタノールなどに対する溶解性を検討した。

調製した AM 中のミオシンの生化学的性質の変化は Ca-ATPase 活性を測定して検討した。また、アクチンの変性はアクチンのキモトリプシン感受性と AM Ca-ATPase の加熱失活様式から検討した。Ca-ATPase 活性とアクチンのキモトリプシン感受性は Mf を塩処理した場合と同様の方法で測定した。アクチンはミオシンを強く安定化していることから、その一部が変性したり、あるいはミオシンとの親和性を失うと AM の Ca-ATPase の熱失活は AM から遊離したミオシンに由来する速い失活と AM の緩やかな失活の二段階で進行するようになることが知られている³⁾。

塩漬魚肉からの AM の抽出率と生化学的性質の変化を Mf の塩処理の場合と比較するため、塩漬にともなう魚肉中への NaCl 浸透量の変化を塩漬時間で積分して NaCl との反応強度 (mol・h/kg) を算出し、それらと反応の進行との関連を検討した。なお、単離した Mf を塩処理した場合の塩処理強度は NaCl 濃度と処理時間の積とした。さらに、塩漬液に Mg や Ca あるいは K を共存させて、AM の抽出率を検討した。

3. 実験結果

3.1 塩漬にともなうアクトミオシンの抽出率の変化

まず、塩漬にともなう魚肉中への NaCl の浸透量の変化を Fig. 1 に示した。いずれの濃度の塩漬液を用いた場合も、NaCl の浸透量は塩漬の初期に著しく、その後は緩やかに増加して、24 時間後には 1 M 溶液では約 0.6 mol/kg、2 M 溶液では約 1.2 mol/kg、3 M 溶液では約 2.0 mol/kg でほぼ一定値となった。これらの結果は従来の報告⁸⁾とよく一致していた。

塩漬にともなう魚肉からの AM の抽出率の変化を Fig. 2 に示した。これによると塩漬液の濃度にかかわらず、AM の抽出率は塩漬の初期から大きく低下したが、その傾向は塩漬液の NaCl 濃度が高いほど大きかった。次に塩不溶性画分(未抽出画分)を 8 M 尿素、8 M 尿素 + 2% SDS または 8 M 尿素 + 2% SDS + 2% 2-メルカプトエタノールで処理し、可溶化するタンパク質量を測定した。その結果を Fig. 3A に示したが、塩不溶性画分の大部分がこれらの変性剤で溶解することから、塩漬魚肉中の Mf タンパク質は水素結合や疎水結合などの非共有結合や

ジスルフィド結合を介して凝集し、塩溶解性を失っていることが示唆された。塩不溶性画分の主体はミオシンであることから、これらの結果はミオシンの塩溶解性の変化を反映していると考えられる。Fig. 3B には抽出された AM 量と各種変性剤で溶解したタンパク質量の総計と塩漬時間との関係を示した。この結果によると AM と不溶性タンパク質の総量は約 14% 前後でほぼ一定値を示し、AM の抽出および塩不溶性タンパク質の可溶化が定量的に行われており、実験結果が魚肉全体に起こる Mf タンパク質の変化を反映していることを示唆した。

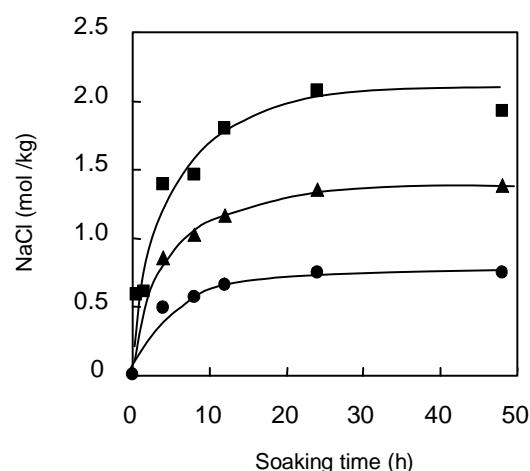


Fig. 1 Permeation of NaCl into fish meats by soaking. Fish meat strips were soaked in 1.0 (●), 2.0 (▲), or 3.0 (■) M NaCl solution. At appropriate time intervals, the meat strips were taken out from the solution and the NaCl contents in fish meat were measured.

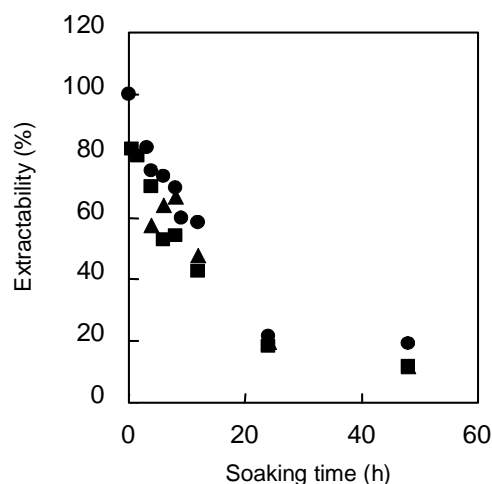


Fig. 2 Changes in extractability of actomyosin from fish meat by soaking in NaCl solution. Actomyosin was extracted from the soaked fish meat and the extractabilities were examined as a function of soaking time. The same symbols were used as in Fig. 1

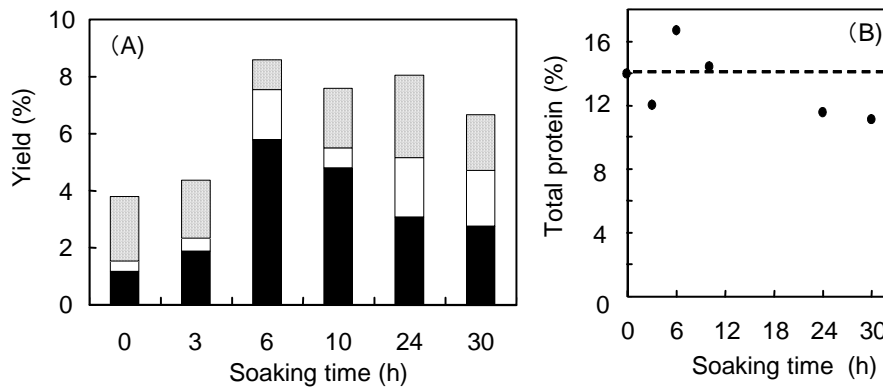


Fig. 3 Solubility of salt insoluble proteins in salted fish meat with various denaturants.

After extraction of actomyosin from fish meats soaked in 3.0 M NaCl for up to 30 h, the residues were solubilized into 8 M urea (■), 8 M urea + 2 % SDS (□), or 8 M urea + 2 % SDS + 2 % 2- mercaptoethanol (▨). The yields of the solubilized proteins with the denaturants (A) and the sum of actomyosin and the solubilized proteins (B) were estimated.

そこで、塩漬にともなう魚肉からの AM の抽出率の変化と塩処理による Mf 中のミオシンの塩溶解性の変化を比較するため、それらを塩処理強度に対してプロットして Fig. 4 とした。塩漬魚肉からの AM の抽出率は用いた塩漬液の NaCl 濃度にかかわらず、塩処理強度が同じならほぼ一定値を示し、抽出率の低下が Mf と NaCl の反応の進行に依存して起こることが確かめられた。一方、Mf を塩処理した場合は、塩漬と同じ強度で塩処理してもタンパク質濃度にかかわらずミオシンの塩溶解性は全く変化せず、ミオシンの大規模な凝集が進行しないことが示された。このように単離した Mf と実際の塩漬魚肉では Mf タンパク質の凝集の進行に大きな違いがみられた。

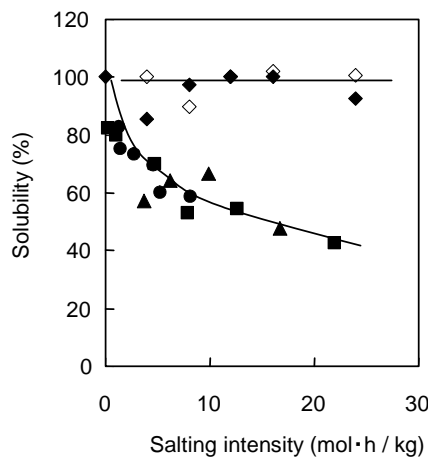


Fig. 4 Changes in solubility of myofibrillar proteins by salting. The extractabilities of actomyosin from salted meat were plotted against the salting intensity, which is estimated by integration of the relation between NaCl content and soaking time. The same symbols for the concentrations of soaking solution were used as in Fig.1. The salt solubility of myosin in salt-treated myofibril preparations with 1 (◆) or 5 (◇) % of protein concentration was also examined as a function of the salting intensity.

3.2 塩漬にともなうアクトミオシンの Ca-ATPase 活性の変化

続いて塩漬魚肉から抽出した AM の Ca-ATPase 活性の変化を検討し、その結果を Fig. 5A に示した。これによると抽出した AM の Ca-ATPase 活性は塩漬液の NaCl 濃度にかかわらず、塩漬時間とともに低下したが、低下の度合いは 1 M NaCl で塩漬した場合よりも 2~3 M NaCl で塩漬した場合に大きかった。Fig. 5B には AM の Ca-ATPase 活性と塩処理強度との関係を示したが、AM の抽出率の場合と同様に塩処理強度が同じなら AM の Ca-ATPase 活性はほぼ同値を示し、AM の Ca-ATPase 活性の低下も Mf と NaCl の反応に依存して起こることが裏付けられた。これらの結果は塩漬魚肉中では AM の大規模な凝集による不溶化に先行してミオシンの活性中心の構造が変化していることを示している。

そこで、塩漬魚肉から調製した AM の Ca-ATPase 活性の変化と塩処理 Mf のそれらを塩処理強度との関連で比較するため Fig. 6 を描いた。塩漬魚肉では AM の抽出率の低下とその Ca-ATPase 活性の変化が同時に起こっているため、抽出率に活性値を乗じて単位魚肉重量当たりの活性値 (全活性) を算出して比較した。タンパク質濃度にかかわらず Mf を塩処理した場合にも Ca-ATPase 活性が低下したが、塩処理強度が同じなら Ca-ATPase 活性の低下の度合いは塩漬魚肉中のミオシンで大きいことが示された。

3.3 アクトミオシン中のアクチンの変性

塩漬魚肉から調製した AM と塩処理した Mf をキモトリプシンで処理し、アクチンの消化性を検討した。未消化アクチン量と塩処理強度との関係を Fig. 7 に示した。

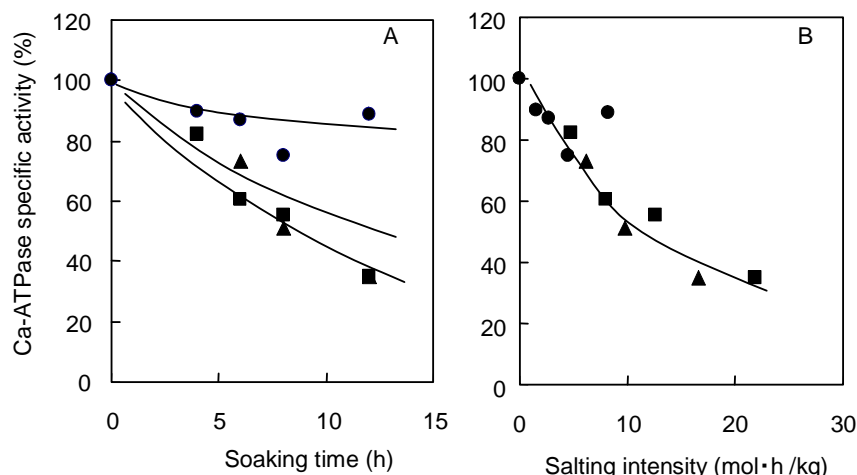


Fig. 5 Inactivation of Ca-ATPase of actomyosin extracted from salted meats.

The Ca-ATPase activities of actomyosin extracted from salted meats were assayed and plotted against soaking time (A) or salting intensity (B). The same symbols for the NaCl concentrations of the soaking solution were used as in Fig. 1.

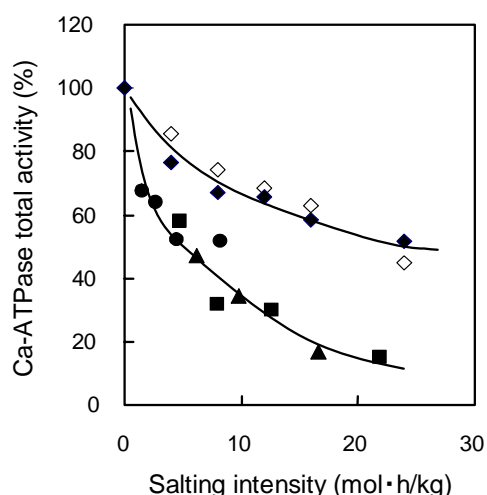


Fig. 6 Decrease in Ca-ATPase total activity of actomyosin from salted meats as a function of salting intensity.

The changes in Ca-ATPase total activities of actomyosin extracted from salted meats were compared with those of the salt treated myofibrils. The total activity was estimated from the extractability and the specific activity as shown in Figs. 2 and 5. The same symbols were used as in Fig. 4.

塩処理 Mf ではタンパク質濃度にかかわらず、未消化アクチン量が著しく減少し、アクチンの変性が進行することが示された。塩処理 Mf でみられる未消化アクチン量の減少は Ca-ATPase の低下 (Fig. 5B) よりも低い塩処理強度で進行しており、Mf の塩処理ではミオシンの変性に先立ってアクチンが変性することがあらためて確かめられた。一方、塩漬魚肉から調製した AM 中のアクチンは塩処理強度が同じでもキモトリプシンで全く消化されず未変性であることが示唆された。このことを確かめるために、塩処

理魚肉から調製した AM の Ca-ATPase 活性の熱変性様式を検討した。すなわち、Fig. 8 には未処理および 1 M NaCl で 9 時間または 3 M NaCl で 1.5 時間塩漬したマアジ魚肉から調製した AM を 38°C で加熱し、Ca-ATPase 活性の変化を検討した結果を示した。これによると塩漬の有無にかかわらず、AM の Ca-ATPase 活性は単純な一次反応式に従って低下しており、遊離のミオシンに由来する速い失活は認められなかった。これらの結果は、塩漬魚肉中でミオシンはアクチンと結合したまま変性・凝集することを示唆している。

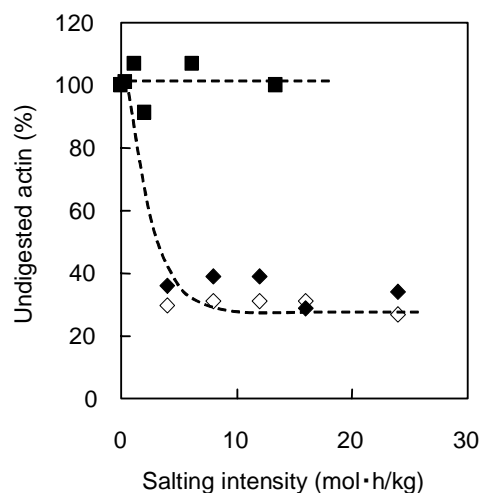


Fig. 7 Chymotryptic digestibility of actin inactomyosin from salted meats.

The undigested actin by chymotryptic digestion of actomyosin from salted meats and salt-treated myofibrils was determined by densitometry of SDS-PAGE. The symbols are the same to those in Fig. 4.

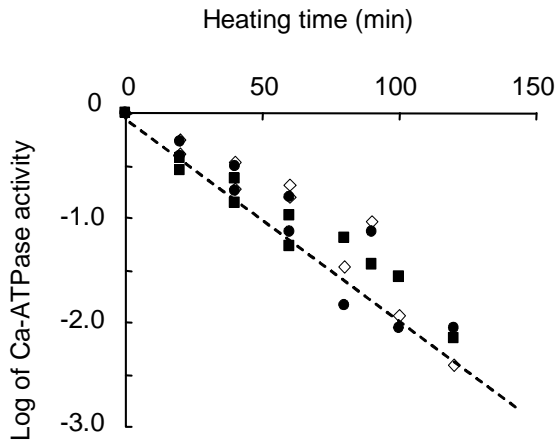


Fig. 8 Thermal inactivation mode of Ca-ATPase of actomyosin from salted meats.

Actomyosins extracted from fish meats soaked in 1 M NaCl for 9 h (●) and 3 M NaCl for 1.5 h (■) were heat-treated at 38°C. The changes in Ca-ATPase activity of the actomyosins were compared with those from untreated meat (◇).

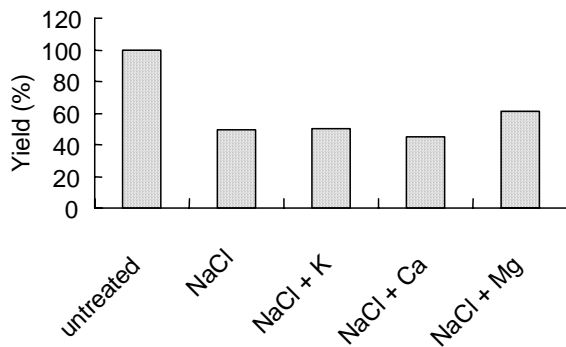


Fig. 9 Effect of K, Ca, and Mg ion on the extractability of actomyosin from salted meats.

Fish meat strips were soaked in 1 M NaCl in the presence or absence of 10 mM KCl, CaCl₂, or MgCl₂ for 19 h. The extractability of actomyosin from the soaked meats were determined.

3. 4 アクトミオシンの変性におよぼす Mg, Ca, および K の影響

以上述べたように塩漬魚肉中では単離した Mf を塩処理する場合よりも Mf タンパク質の凝集反応が強く進行することが明らかになった。そこで、このような塩漬による Mf タンパク質の凝集反応の進行に及ぼす Ca, Mg, および K の影響を検討した。すなわち、10 mM の CaCl₂, MgCl₂ または KCl を含む 1 M NaCl 溶液に 19 時間塩漬したマアジ魚肉からの AM の抽出率を検討した。その結果を Fig. 9 に示した。これによると、1.0 M NaCl 単独溶液に塩漬した魚肉では AM の抽出率が 50% まで低下したが、10 mM の Mg, Ca, または K を含む塩漬液に塩漬した場

合も AM の抽出率はほとんど変化せず、これらの陽イオンの共存は AM の凝集の進行に影響を及ぼさないことが示された。

4. 考 察

本研究の結果から、塩漬魚肉中で進行する Mf タンパク質の変性様式は、単離した Mf を塩処理する場合とは異なり、ミオシンはアクチンと結合したまま Ca-ATPase 活性を失い、大規模に凝集することが示唆された。このような相違が生じる理由として最も考えられることはタンパク質濃度の違いである。すなわち、魚肉中で Mf タンパク質は 10% 以上の高濃度で存在している。本研究では単離した Mf タンパク質の濃度を 5% まで上昇させて塩処理したが、この程度のタンパク質濃度では変性の進行は 1% の懸濁液の場合と全く同様であった。従ってタンパク質濃度が 5% 以上で Mf タンパク質の凝集が著しく促進されることが推定される。

また、単離した Mf を塩処理する場合には pH は 7.5 で一定としたが、実際のマアジ塩漬魚肉の pH は 6.1 前後まで低下していた。従って、このような pH の低下が Mf の凝集を促進していることが十分に考えられる。そこで、マアジ Mf の pH を 6.1 に調整して塩処理し、Ca-ATPase 活性とミオシンの塩溶解性の変化を検討したところ、pH 6.1 では Ca-ATPase の失活が著しく促進され、ミオシンの塩溶解性も低下する傾向が示された(結果は図示しない)。このことから魚肉の pH の低下も Mf タンパク質の塩変性におけるタンパク質の凝集を促進することが推察された。

これらの塩漬魚肉の水分量は 1 M NaCl で塩漬した場合はやや増加し、2 M または 3 M で塩漬した場合には減少した(結果は図示しない)。これらの結果は従来の報告⁸⁾とよく一致していた。しかし、これらいずれの塩漬液で塩漬しても魚肉中の Mf タンパク質の凝集が強く進行することから、塩漬による魚肉の吸水・脱水は Mf の凝集になんら影響を及ぼしていないと考えられる。

さらに、1 M NaCl に 10 mM の CaCl₂, MgCl₂, または KCl を共存させて塩漬した魚肉からの AM の抽出率は、NaCl 単独溶液に塩漬した場合のそれとほとんど違いがみられず、NaCl に混在する程度の濃度の Ca, Mg, または K は塩漬魚肉中の Mf タンパク質の変性の進行に影響を及ぼさないことも示唆された。

以上述べたように、単離した Mf や AM を塩処理する場合とは異なり、塩処理魚肉中ではミオシンはアクチンと結合したまま Ca-ATPase を失い、引き続き強く凝集することが明らかになった。このような Mf タンパク質の凝集の進行には魚肉中に Mf タンパク質が高濃度で存在すること

に加えて、pH の低下も凝集を促進していることが推察された。今後はこのようなタンパク質変性の進行と塩干品などの品質との関係を詳細に検討するとともに、塩変性の制御についても速度論的な解析を行い、品質管理に役立てることが重要であると思われる。

引用文献

- 1) 若目田 篤・新井 健一:高濃度の塩存在下におけるコイのミオシン B の変性機構. 日水誌, 50, 635-643(1984).
- 2) 若目田 篤・新井 健一:高濃度の塩存在下で起るコイミオシン B のアクチンとミオシンへの解離. 日水誌, 52, 293-300(1986).
- 3) 山岸 雄一郎・大泉 徹・赤羽 義章:塩処理によって起こるマアジ筋原繊維中のミオシンの変性様式. 平成11年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p.139(1999).
- 4) 伊藤 剛・北田 長義・山田 典彦・関 伸夫・新井 健一:スケトウダラ筋肉の塩漬中に起こる筋原線維タンパク質の生化学的変化. 日水誌, 56,687-693(1990).
- 5) 丹保 岳人・山田 典彦・北田 長義:塩漬によって起こる魚肉中の筋原線維タンパク質の変化. 日水誌, 58, 677-683(1992).
- 6) 加藤 登・内山 均・塚本 志郎・新井 健一:魚類筋原繊維 ATPase の生化学的研究. 日水誌, 43, 857-867(1977).
- 7) M. Torigai and K. Konno: Thermal stability of fish G-actin extracted from the acetone-dried myofibril powder. Fish Sci. 63, 403-406(1997).
- 8) T. Ooizumi, M. Kawase, and Y. Akahane: Permeation of sodium chloride into fish meat and its effect on moisture content as a function of the osmotic pressure of the soaking solution. Fish Sci. 69, 830-835 (2003)

0543

Denaturation mode of myofibrillar protein in salted fish meats as affected by Ca, Mg, or K concentration

Tooru Ooizumi

Department of Marine Bioscience, Faculty of Biotechnology,
Fukui Prefectural University

Summary

Sodium chloride (NaCl) is an essential additive for seafood processing through contributing to extension of the self life by reduction of water activity as well as improvement of the flavor and the texture of the products. On the other hand, denaturation of myofibrillar protein caused by high concentration of NaCl damages the quality of the seafood. Thus, to control the salt-induced protein denaturation of fish meat is indispensable process in seafood processing.

A number of studies have been done to elucidate the mechanism of salt-induced protein denaturation by using isolated protein preparation such as actomyosin or myofibrils. However, little information is available about the denaturation mode of myofibrillar protein in salted fish meats. In this study, we investigated the extractability and the biochemical properties of actomyosin extracted from salted fish meat to reveal the denaturation mode of myofibrillar protein in fish meat by salting comparing with those of salt-treated myofibrils.

Soaking of fish meats in NaCl solution significantly decreased the extractability of actomyosin, while the salt solubility of myosin in salt-treated myofibrils barely changed at the same salting intensity, suggesting that extensive aggregation of myofibrillar proteins proceeded in salted fish meat. The extent of Ca-ATPase inactivation of actomyosin extracted from salted fish meat was also larger than those of salt-treated myofibrils at the same salting intensity. Furthermore, actin in salt-treated myofibrils lost the resistance for chymotryptic digestion in the earlier stage of salt treatment, indicating the actin denaturation prior to the Ca-ATPase inactivation. On the other hand, actin in actomyosin extracted from salted fish meats was still resistant for chymotryptic digestion. No free myosin was detected in terms of thermal inactivation process of Ca-ATPase, confirming that actin in extracted actomyosin was still intact. Addition of Ca, Mg or K ion at 10 mM to soaking solution gave little effect on aggregation of myofibrillar protein.

It was, thus, concluded that the Ca-ATPase inactivation of myosin binding to actin in salted fish meats was followed by the extensive aggregation to lose the salt solubility. Higher protein concentration and pH decrease in salted fish meat would be implicated in the denaturation mode of myofibrillar protein in salted fish meat.