

ノート

あわびの加熱処理による筋肉組織の変化

印 出 進 , 白 井 正 澄*

Changes in Muscular Tissue of Abalone by Heat Treatment

Susumu INDE and Masazumi SHIRAI*

*Tokyo Customs Laboratory ,
5 - 5 - 30 , Konan Minato-ku , Tokyo , 108 Japan

Relationship between temperature of heat treatment and denaturation of muscular tissue of raw abalone was studied by treating at various temperatures for 2 minutes.

As the temperature rise, water-soluble proteins decrease gradually, but most salt-soluble proteins decrease when treated at a temperature between 60 and 70 . Thermal coagulate proteins, in both water- and salt-soluble proteins (extracted with 1 M KCl), decrease remarkably as the temperature rise to higher.

No changes in the UV spectral pattern are noted at various temperatures of heat treatment. But when it was treated at 80 or higher, some peaks other than myosin and actin peaks disappeared relatively in electrophoretic pattern of non soluble proteins.

No further contractions are noted in muscular tissue when treated in boiling water for more than 2 minutes. By treating in boiling water for one minute or more, raw and fresh abalones lose their weight by 40% approximately.

From the results mentioned above, we can conclude that effective evaluation of heat treatment of abalone could be done by measuring thermal coagulate proteins in total proteins, electrophoresis and measuring changes in weight.

- Received June 11.1984 -

1 緒 言

輸入食品の加熱等調理された調製食料品は関税率が異なることから、加熱処理の有無の判別には、従来水溶性たん白質、熱凝固たん白質、旋光分散、組織化学的観察等^{1)・2)}いろいろな方法で検討されてきたが、あわびについては漁獲時期や冷凍方法により、水溶性たん白質に差がでくるので、水溶性たん白質だけで判別するには困難なものが多かった。

著者らは、肉たん白質の筋肉所在位置によって、水溶性たん白質（筋形質たん白質）、塩溶性たん白質（筋原繊維たん白質）、残渣（筋形質、筋原繊維たん白質の不溶物と筋基質たん白質）の3つの区分に分け、肉たん白質の組成が加熱の有無によりどのような影響を受けるか、また可溶性たん白質中の熱凝固たん白質、可溶性たん白質の紫外外部領域におけるスベクトルの挙動、残渣の電気泳動パターン、筋肉組織の熱収縮や加熱による重量変化により加熱の判別

について総合的に検討したので報告する。

2 実験方法

2・1 試料の調製

生きているあわびを東京中央卸売市場で取得し、前もってあわびの筋肉組織を貝殻から取りはずし、生のものと 50 , 60 , 70 , 80 及び沸騰水中で 2 分間温水処理したものを直ちに冷凍し、その後冷凍品を 4 時間室温で解凍、上部及び下部を 1mm 程度取り除き、また内臓及び側面も円柱になるように取り除いたものを試料とした。

2・2 水溶性、塩溶性たん白質の定量

試料 11g 程度を氷冷しながらガラスホモゲナイザーを用いて磨砕し、かゆ状にしたものを 0.2g はかり採り総たん白質定量用とし、別に残りの 10g をはかり採り 200ml のメスフラスコに入れ 0.05 M KCl 溶液 100ml 程度を加え、30 分間振とう後 0.05 MKCl 溶液でメスアップし、10,000rpm で 10 分間遠心分離してろ過し、ろ液 25ml を水溶性たん白質定量用とし、残りを 200ml メスフラスコに入れ、0.6M KCl 溶液 100ml 程度を加え 30 分間振とう後 0.6M KCl 溶液でメスアップし、10,000rpm で 10 分間遠心分離してろ過し、ろ液 25ml を塩溶性たん白質定量用とした。これらからゲルダール法により窒素含有量を求め、6.25 を乗じた値をたん白質量とした。

総たん白質量から水溶性、塩溶性たん白質量を引いたものを残渣とした。

2・3 総たん白質中の熱凝固たん白質の定量

2・1 で調製した試料 10g 程度を氷冷しながらガラスホモゲナイザーを用いて磨砕し、かゆ状にしたものを 0.2g はかり採り総たん白質定量用とし、別に残りの 8g をはかり採り 200ml のメスフラスコに入れ、1 M KCl 溶液 100ml 程度を加え 30 分間振とう後 1 M KCl 溶液でメスアップし、10,000rpm で 10 分間遠心分離してろ過し、ろ液 25ml を可溶性たん白質定量用とし、別にもろ液 25ml を 100ml ビーカーに入れ、沸騰石を加え加熱し 5 分間沸騰させ、冷却してろ紙でろ過し、2 度ビーカーとろ紙を

水で洗浄してろ液のたん白質量を可溶性たん白質量から引いたものを熱凝固たん白質量とし、それを総たん白質量で割ったものを総たん白質中の熱凝固たん白質割合とした。たん白質量はケルダール法により窒素含有量を求め 6.25 を乗じて算出した。

2・4 可溶性たん白質の紫外部領域における挙動

2・3 で調製した可溶性たん白質を 10 倍に希釈して紫外部 240nm ~ 340nm を測定した。また 2・2 で調製した塩溶性たん白質及び水溶性たん白質、アルカリ可溶性たん白質（水溶性たん白質残渣を 0.1 規定 NaOH で抽出した。）、可溶性たん白質（1M KCl 溶液抽出した。）を 10 倍に希釈して紫外部 200nm ~ 300nm を測定した⁴⁾。

2・5 電気泳動用検体の調製

2・3 で調製した可溶性たん白質残渣をイオン交換水で洗浄し、1% SDS 1% 2メルカプトエタノールで処理したものを電気泳動用の検体とした。

2・6 SDS-ポリアクリルアミドゲル板の作成

次の試薬を順次混合して 10%ポリアクリルアミドゲル板を作成した⁵⁾。

過硫酸アンモニウム	45mg
水	20.4ml
22.2%アクリルアミド - 0.6%BIS	27ml
0.5M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.2)	12ml
10%SDS	0.6ml
TEMED	0.09ml
電極液の調製	

0.5M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.2) 100ml と 10%SDS 5ml 及び水 395ml を加えて混合したものである。

2・7 電気泳動とたん白質の染色と脱色

電気泳動は定電圧 70mA の条件で行い、泳動の終点は BPB の移動で判別した、泳動終了後、ゲル板を 0.25%コマシーブリリアントブルー R (メタノー

ノート あわびの加熱処理による筋肉組織の変化

ル:酢酸=5:1の混合液に溶かしたもので染色した。染色板は酢酸メタノール液(メタノール:酢酸:水=250:70:680)で電気脱色した。

2・8 筋肉組織の熱収縮

2・1で調製したあわびを一定の方向で同じ長さ(収縮しやすい方向),同じ大きさに切り沸騰水中で15秒間加熱処理して筋肉組織の収縮率をみた。

2・9 加熱温度と重量変化

2・1で調製したあわびを沸騰水中で1分間加熱処理して重量の減少率をみた。

3 結果と考察

3・1 加熱処理による筋肉たん白質の変化

あわびの加熱処理温度と筋肉たん白質の変動との関係を Fig.1 に示した。

総たん白質含量は,加熱処理温度が70 ~ 80にかけて大きく増加する。しかし,水溶性たん白質含量は,加熱処理温度が上昇することにより,

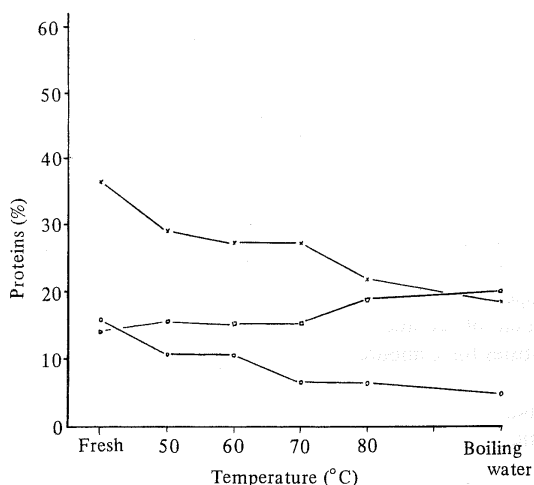


Fig.1 Changes in proteins after heat treatment of raw abalone at various temperatures for 2 minutes

□—□ Total proteins
 ×—× Water-soluble proteins in total proteins
 ○—○ Salt-soluble proteins in total proteins

徐々に減少する。また,塩溶性たん白質含量は60 ~ 70 で急激に低下するのがみられる。

これらは,水溶性たん白質を形成するミオゲン,ミオアルブミンより塩溶性たん白質を形成するミオシン,アクチン,トロポニンの方が比較的熱に不安定なために出てくる相違と考えられる。

3・2 加熱処理温度と熱凝固たん白質の変化

加熱処理温度と熱凝固たん白質の変動をみたところ Fig.2 に示したように熱凝固たん白質は80 まで大きく減少し,沸騰水中で2分間以上加熱処理すれば熱凝固たん白質はゼロに近くなる,また加熱処理温度の判別は従来の水溶性たん白質の測定方法より明りょうな方法である。

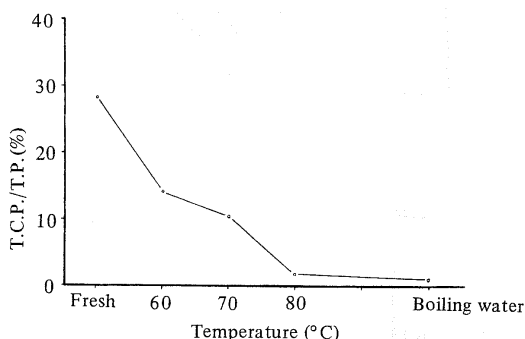


Fig.2 Thermal coagulate proteins in 1 M KCl extract after heat treatment of raw abalone at various temperatures for 2 minutes
 T.C.P.: Thermal Coagulate Proteins
 T.P.: Total Proteins

3・3 可溶性たん白質の紫外外部領域における挙動

加熱処理温度に対する紫外外部領域でのスペクトルパターンを Fig.3 に示した。

Fig.3 からわかるように,あわびの可溶性たん白質は263nm 及び313nm 付近に極大吸収を示し,263nm は主に核酸に起因する吸収スペクトルで,230~260nm のATP 関連物質,280nm の芳香族アミノ酸残基チロシン,トリプトファンの吸収と重なっている。

加熱処理時間が2分間では,加熱温度による紫外

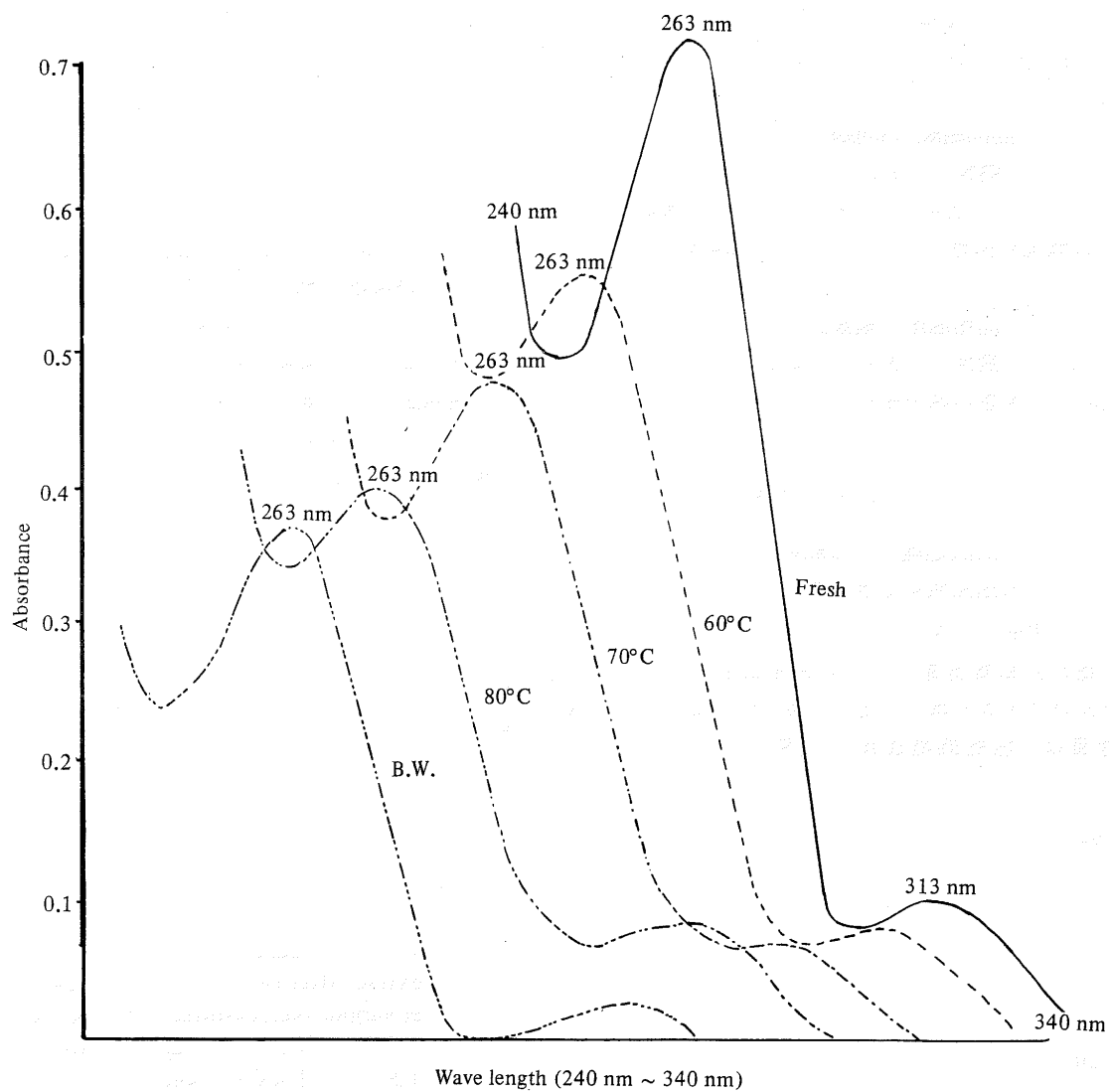


Fig.3 UV absorption spectra of 1M KCl extract ,
after heat treatment of raw abalone at
various temperatures for 2 minutes

- Fresh
- 60°C heating
- · - · - 70°C heating
- 80°C heating
- Boiling water

ノート あわびの加熱処理による筋肉組織の変化

吸収曲線の形の変化はみられないが、263nmの吸収強度は加熱処理温度が上昇すると減少していく。

水溶性たん白質には核酸、ATP 関連物質、チロシン、トリプトファンなどの強い吸収がみられるが、塩溶性たん白質では、それらの吸収強度が減少する。また、アルカリ可溶性たん白質では 240nm に、他の可溶性たん白質にない吸収がみられ、それらはチロシンの解離によると考えられる。1M KCl 溶液での抽出液は水溶性たん白質と同じよう

な吸収曲線を示した。(Fig.4～7)。

しかし、紫外外部領域 200nm～300nm での、水溶性、塩溶性、アルカリ可溶性たん白質のスペクトルパターンが相違するので、いずれにも共通な極大吸収を示す 215nm 近辺で測定したところ、ケルダール法に近い値が得られたので、今後簡便な方法として、可溶性たん白質中の熱凝固たん白質を紫外吸光度により測定できると考えられる。

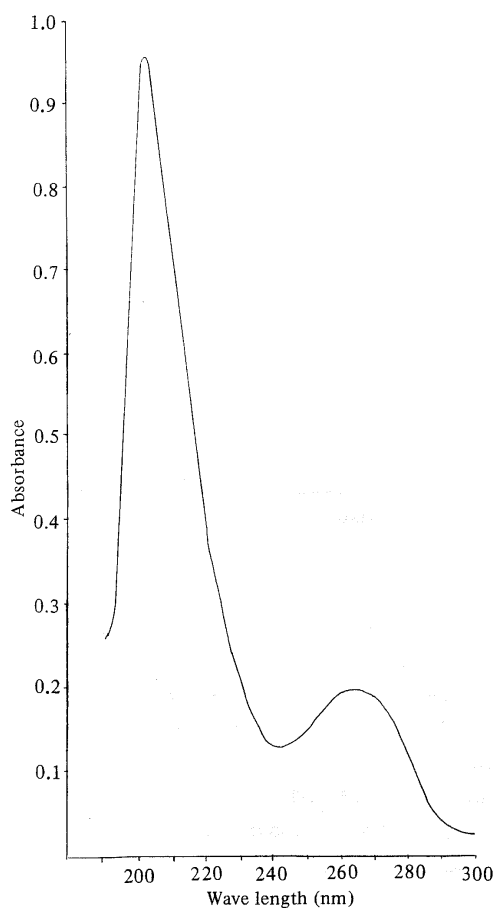


Fig.4 UV absorption spectrum of water-soluble proteins

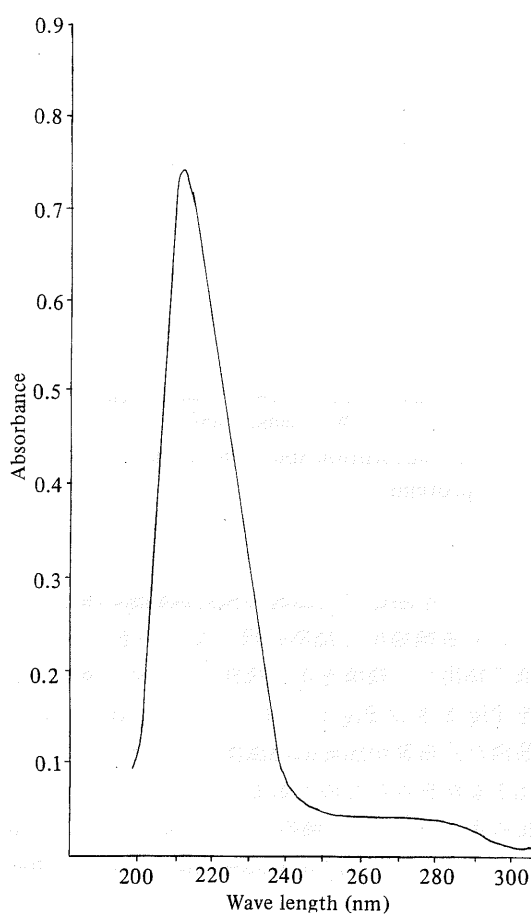


Fig.5 UV absorption spectrum of salt-soluble proteins

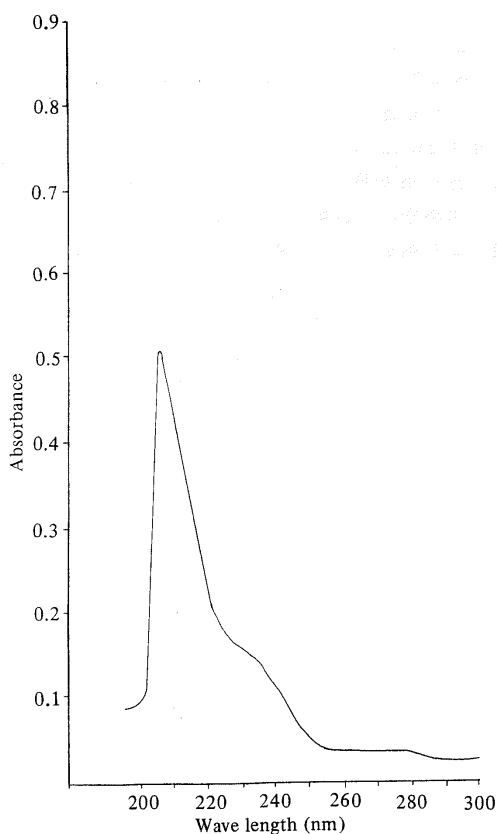


Fig.6 UV absorption spectrum of alkali-soluble proteins

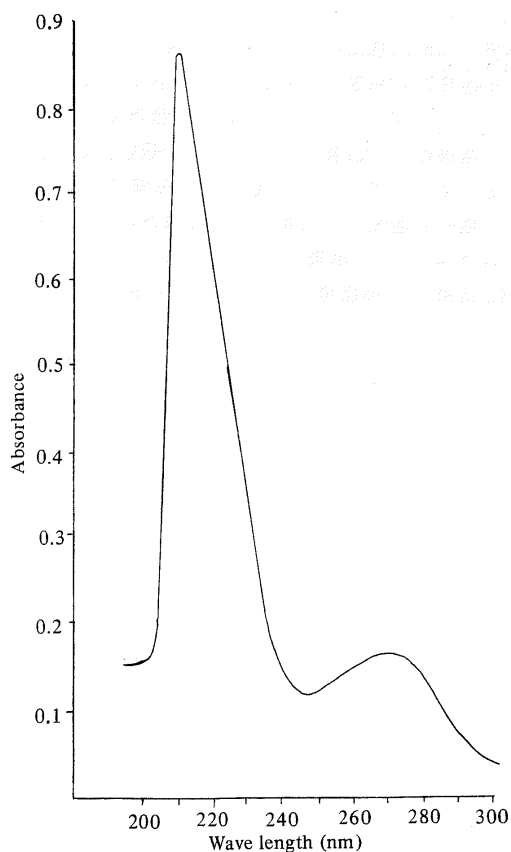


Fig.7 UV absorption spectrum of 1 M KCl extract

3・4 不溶性たん白質の電気泳動図の変化

2 分間各種温度で加熱処理したものを 1M KCl 溶液で抽出し、残渣を水で洗浄したものの電気泳動図を Fig.8 及び Fig.9 に示した。これは、あわびの筋肉たん白質が加熱処理温度によりどのように不溶化するかをみたものである。

生のあわびでは 12 個のピークが現れるが、10 個のピークとして、他の加熱処理温度のあわびと比較

してみた。加熱処理温度が高くなっても相対的に減少しないピークは、 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ と、各ピークの同定は行っていないが、泳動距離からはミオシン（パラミオシン³⁾）、 ζ はアクチンで、 η 、 θ 、 ι とはミオシンの light chains と考えられる。

80 以上で加熱処理したあわびは、熱に不安定なミオシンやアクチンの濃度が増加して、相対的に、 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ のピークが消失していくことがわかる。

ノート あわびの加熱処理による筋肉組織の変化

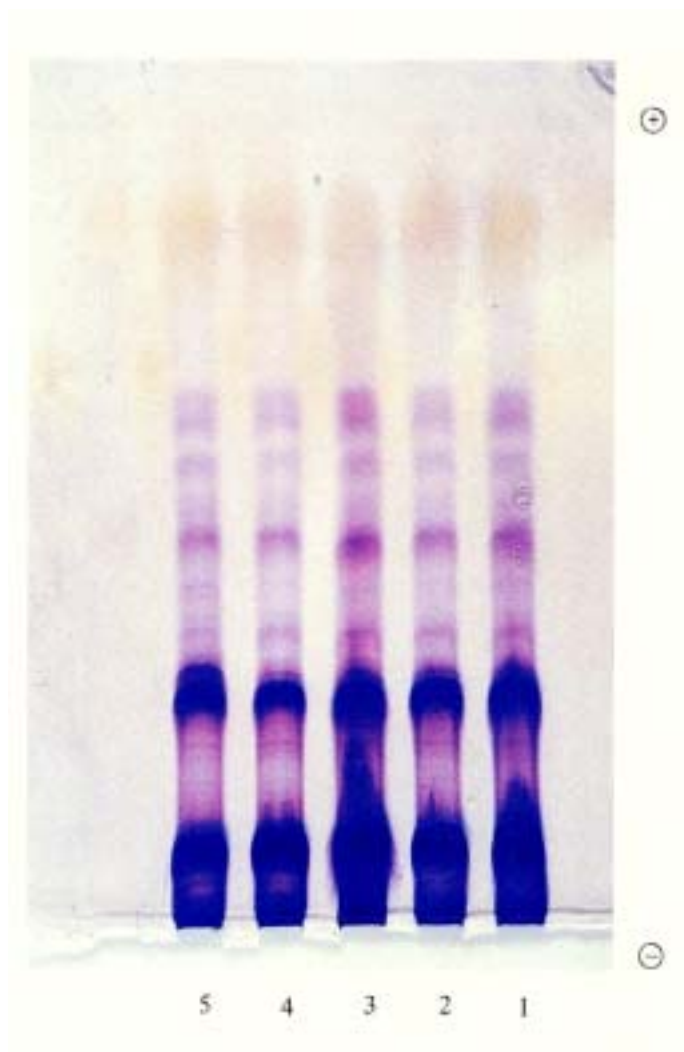


Fig.8 Electrophoretic pattern of the residue of
1 M KCl extraction after heat treatment
of raw abalone at various temperatures
for 2 minutes
Fresh (5), 60 (4), 70 (3), 80 (2),
Boiling Water(1)

ノート あわびの加熱処理による筋肉組織の変化

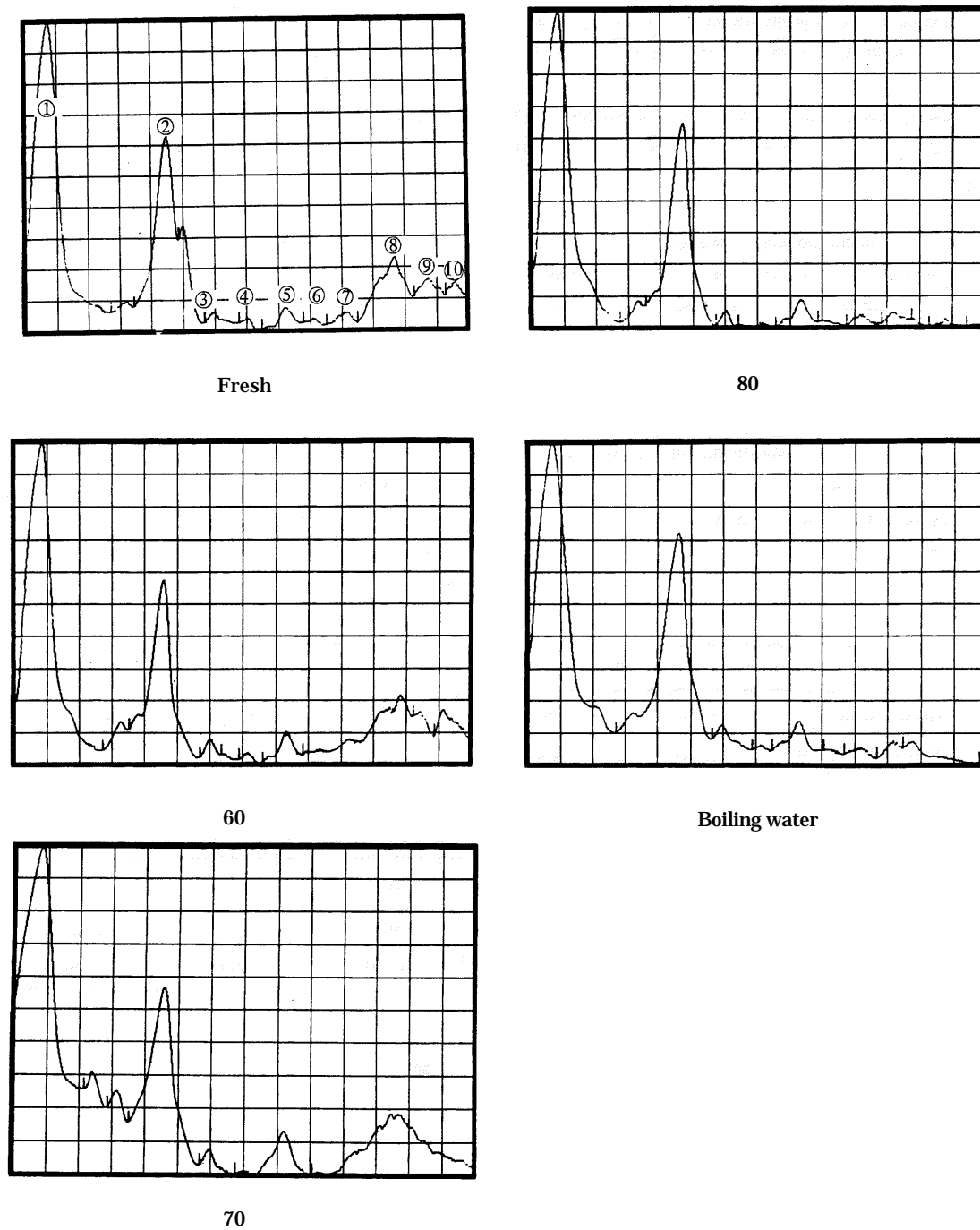


Fig.9 Electrophoretic pattern of the residue of 1 M KCl extraction after heat treatment of raw abalone at various temperatures for 2 minutes

3・5 筋肉組織の熱収縮

各種温度で 2 分間加熱処理したあわびを沸騰水中で 15 秒間加熱処理して得た筋肉の収縮率を Table 1 に示した。

加熱処理温度が高くなるにつれ、筋肉組織の収縮率が減少しており、沸騰水中で処理したものは筋肉組織の収縮がみられなくなる。

3・6 加熱処理温度と重量変化

各種温度で 2 分間加熱処理したあわびを沸騰水中で 1 分間加熱処理した重量の減少率を Table 2 に示した。

生のあわびは著しく重量が減少するが、加熱処理温度が高くなるにつれて重量の減少率は小さくなる、これは 3・1 の加熱処理温度が上昇することにより、総たん白質が増加することと併せて考えると、筋肉組織が熱で収縮して組織内の水分を押しだし、元に戻らないためと考えられる。

4 要約

2 分間加熱処理した生のあわびの加熱処理温度と筋肉組織の熱変性について検討した。

加熱処理温度が上昇すると水溶性たん白質は徐々に減少するが、塩溶性たん白質では 60 ~ 70 で大きな減少がみられる。また両たん白質中 (1M KCl 抽出) の熱凝固たん白質は特に差が大きくなる。

紫外外部領域における加熱処理温度によるスペクトルパターンの変化はみられないが、不溶性たん白質の電気泳動パターンは 80 以上で加熱処理すると相対的にミオシン、アクチン以外のピークが消失する。

筋肉組織は 2 分以上沸騰水で処理すると収縮がなくなり、また生鮮のあわびを 1 分以上沸騰水で処理すると重量が 40% 程度減少する。

以上により、あわびの加熱処理の判別には総たん白質中の熱凝固たん白質、電気泳動及び重量変化の測定が有効な方法と思われる。

Table 1 Contractile rate of muscular tissue after heat treatment of raw abalone at various temperatures for 2 minutes

Heating temp. (°C)	Fresh	60°C	70°C	80°C	Boiling water
Contractile rate of muscular tissue	16.4%	9.4%	7.5%	3.6%	Nil

Measured after dipping the heat treated samples into boiling water for 15 seconds.

Table 2 Changes in weight during the treatments of raw abalone, first by heat treatment at various temperatures for 2 minutes, then freezing once and thawing it taking 4 hours and then dipping into boiling water for one minute.

Heating temp. (°C)	Fresh	60°C	70°C	80°C	Boiling water
Changes in weight	-44%	-17.8%	-17.6%	-13.9%	-10.7%

文 献

- 1) 三倉健也, 笹原清美: 本誌, **15**, 83
- 2) 出来三男, 関川義明: 本誌, **22**, 9
- 3) Jae-Hyeung Pyeung, Kanehisa Hashimoto and Fumio Matsuura
Bulletin of the Japan Society of Scientific Fisheries, **39**(4), 395(1973)
- 4) 梅本滋: 水産生物化学・食品学実験書(河端俊治, 梅本滋, 内山均, 斉藤恒行編), 第 1 版, 恒星社厚生閣, 東京, 1974, PP, 203-217
- 5) 関伸夫: 水産生物化学・食品学実験書(河端俊治, 梅本滋, 内山均, 斉藤恒行編), 第 1 版, 恒星社厚生閣, 東京, 1974, PP, 124-132