

低温貯蔵中の魚肉におけるタンパク質変性と脂質酸化との 関連について

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	御木, 英昌 西元, 諄一 山中, 智樹
巻/号	60巻5号
掲載ページ	p. 631-634
発行年月	1994年9月

低温貯蔵中の魚肉におけるタンパク質変性と 脂質酸化との関連について

御木 英昌, 西元 諄一, 山中 智樹

(1993年10月18日受付)

Relation between Protein Denaturation and Lipid Oxidation in Fish Muscle during Storage at Low Temperatures

Hidemasa Miki,* Jun-ichi Nishimoto,* and Tomoki Yamanaka*

We have reported previously that the rate of lipid oxidation due to POV (peroxide value) decreases with temperature and increases with lipid content in fish muscle. In the present paper, we investigated the relation between myofibrillar-protein (M_r-P) denaturation and lipid oxidation in muscles of sardine under various conditions during storage at low temperatures (0, -5, and -20°C). The M_r-P denaturation in sardine muscle was determined by measuring M_r (Ca)-ATPase activity as an indicator; it occurred rapidly at an early stage where lipid oxidation was still in the induced period during storage. The rate of denaturation was independent of lipid content in the fish muscle.

As a result, the relation between protein denaturation and lipid deterioration in fish muscle stored at low temperature was not recognized at an early stage of storage. Both phenomena appeared to occur independently.

キーワード: 魚肉, マイワシ, 低温, 脂質, 酸化, タンパク質, 変性

魚肉の低温貯蔵中における脂質劣化とタンパク質変性との関連は、タラ、ニシン筋肉での中性脂質およびリン脂質の加水分解生成物、さらにそれらを含む酸化生成物の影響が Olley ら¹⁾によって指摘されているが、低温下で冷凍変性を起こす事実に対しその機構は確認されていない。すなわち、低温保蔵（凍結を含む）が、筋原線維タンパク質 (M_r) の変性に直接関与するのか、低温貯蔵中に生成する脂質の加水分解物、さらに脂質ならびに同分解物の酸化物などの影響によるものか興味あることである。

魚肉タンパク質の主要構成成分であり凍結貯蔵中に変性を起こしやすい筋原線維タンパク質を用いて魚肉タンパク質と脂質の相互作用が検討され、低温下での脂質の加水分解物（遊離脂肪酸）および過酸化脂質分解生成物（低級脂肪酸、アルデヒド）が、このタンパク質の不溶化を起こすとされている。²⁻⁴⁾しかし、このような脂質劣化とタンパク質変性との関連性を魚肉レベルの同一試料で両者を同時に調べた実験例は少ない。一方、Andou ら^{5,6)}は凍結貯蔵において魚肉タンパク質と脂質の相互作用を検討する場合、水分を考慮にいれることが重要でありタンパク質-水分-脂質の三成分系で捉えることが必要だと

述べている。本研究では、脂質含量の異なる魚肉レベルで水の状態が異なる温度域を設定し、低温貯蔵中における脂質の酸化物生成と M_r の変性との関連性を調べたので報告する。

実験方法

試料魚 水揚げ直後の平均体長約 20 cm の生鮮魚（死後硬直前または硬直中の市販魚）のマイワシ *Sardinops melanostictus* を供試した。

試料 頭、内臓を除去し、背肉部の体表の皮下約 5 mm の肉を採取し、スピードカッター（National Speed Cutter K-3 型）で均一化したミンチ肉とした（脂質含量 17.9%）。脂質含量の異なる試料の入手が困難であったため、このミンチ肉（脂質含量 17.9%）に Table 1 に示すような市販マイワシ油（K. K. 日本油脂製：トリグリセド=99%、ヨウ素価=170、POV=0、ステロール=0.5%、EPA=13.4%）を添加して脂質含量を調整した試料を脂質添加試料（脂質含量 30.6%）とし、一部は真空包装した試料を調製した。なお、試料の真空包装は、酸素透過性のないアルミレトルトパウチに試料を詰め、特殊真空包装機（K. K. 西原製作所 SIB 型）で真空度 40 cm Hg 以

* 鹿児島大学水産学部食糧保蔵学講座 (Laboratory of Food Preservation, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Simoarata, Kagoshima 890, Japan).

Table 1. Prepared samples of minced muscle of sardine

Sample	Lipid content % (w/w)	Preparation
Control	17.9	Minced muscle
Vacuum sealed	17.9	Vacuum sealed minced muscle* ¹
Lipid added* ²	30.6	Minced muscle added sardine oil* ³

*¹ Used the laminated film (Aluminium pouch) heatsealed at the inside pressure of 40 cmHg.

*² Added the sardine oil*³ to the minced muscle with 17.9% lipid.

*³ Product of Nihon Yushi Co., Ltd.: Triglycerides=99%, Sterol=0.5%, Iodine value=170, Peroxide value=0, EPA (Eicosapentaenoic acid)=13.4%.

上で減圧脱気して密封（ヒートシール）した。

貯蔵中のマイワシの脂質とタンパク質の両者について同時に調べるため、各試料肉は実験試料1回分ずつ約30gを食品包装用ラップ（ポリ塩化ビニル）で包み、また真空包装試料も同量の試料肉を詰めたものを、0、-5、および-20°Cの各一定温度（最大変動幅±0.5°C）に貯蔵した。なお、貯蔵試験は電気低温恒温器（K. K. 日本医化器械製作所NK式）を用いた。

脂質の抽出は Bligh & Dyer 法⁷⁾により、過酸化物価 (POV) は Lea 法⁸⁾により測定した。POV は脂質 100g 中に生成される過酸化物量であるが、本報では酸化度の表示を過酸化物価相当量 (POV-C)⁹⁾ とした。この POV-C は、魚肉 100g の脂質含量中に生成される過酸化物量に相当するもので、魚肉 100g 中に生成された過酸化物量 (meq/100g 魚肉) として用いた。タンパク質の変性は、 M_r -Ca²⁺-ATPase 全活性（以下、 M_r (Ca)-ATPase 活性と略）を指標として測定した。 M_r の調製は関らの方法¹⁰⁾、 M_r (Ca)-ATPase 活性の測定は川島らの方法¹¹⁾にそれぞれ準じた。

結果および考察

0°C 貯蔵 この温度条件での試料は未凍結状態での検討を試みたもので、貯蔵期間は可食の限界として6日間とした。結果は Fig. 1 に示した。 M_r (Ca)-ATPase 活性の変化は貯蔵日数とともに暫減し、3~4日間で対照（脂質含量 17.9%）、脂質添加試料（脂質含量 30.6%）、および真空包装試料（脂質含量 17.9%）とも全活性は当初の 1/2 以下になった。一方、POV-C の変化は真空包装試料では全く増加なく、他の試料の誘導期は3~4日目から約 30.6% 脂質添加試料では3日目から、約 18% 脂質試料（対照）では4日目から増大した。

-5°C 貯蔵 この温度条件は、魚肉水分の 70~80% が

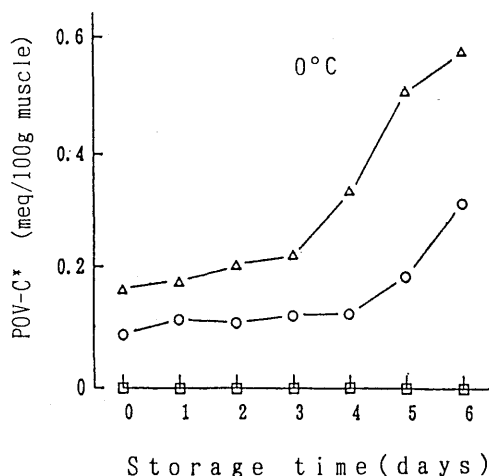
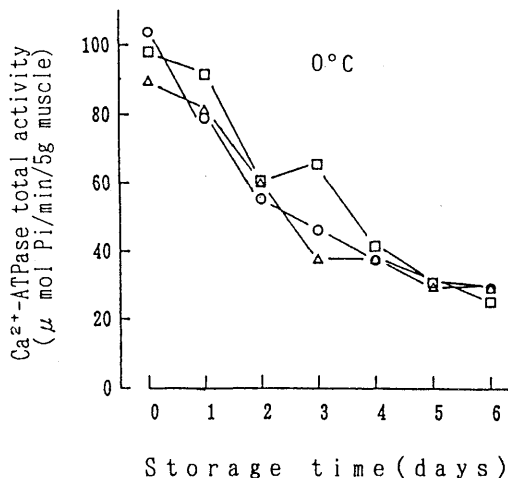


Fig. 1. Changes in the ATPase activity and the POV-C* (corresponding amount) of POV in the minced muscles (sardine) with various conditions during storage at 0°C.

○, control (lipid content 17.9%); □, vacuum sealed (lipid content 17.9%); △, lipid added (lipid content 30.6).

*POV-C: The amount of POV (peroxide value) as shown in the lipid content per 100g muscle, meq/100g muscle.

氷結する状態での検討を試みた。結果は Fig. 2 に示したように、 M_r (Ca)-ATPase 活性は貯蔵初期に激減し、7~8日目で当初の 1/2 以下になった。

POV-C の変化は、0°C 貯蔵と同様真空包装試料は全く変化なく、誘導期は脂質含量が異なっても約 3日間であったが、誘導期を過ぎると脂質含量が異なる場合その増加割合が異なり、約 30% の脂質添加試料が約 18% 脂質試料（対照）より大きかった。しかしながら、 M_r (Ca)-

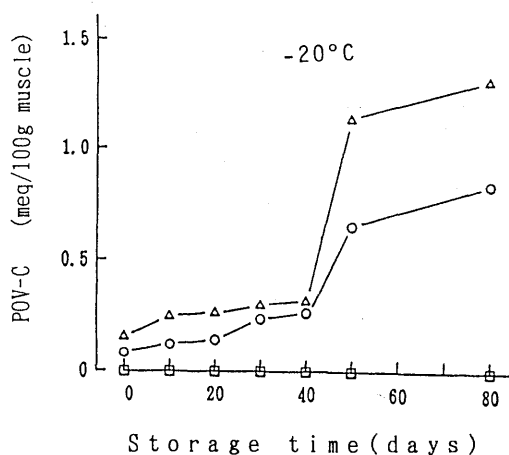
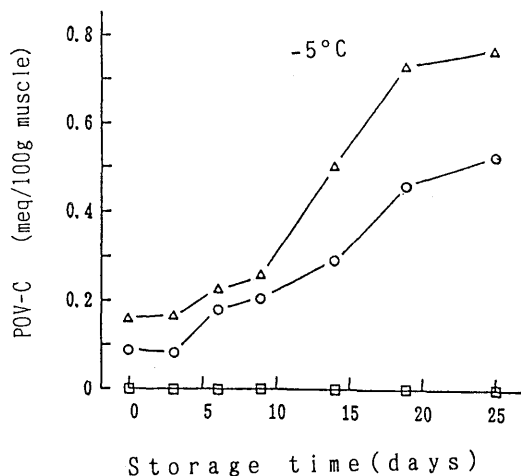
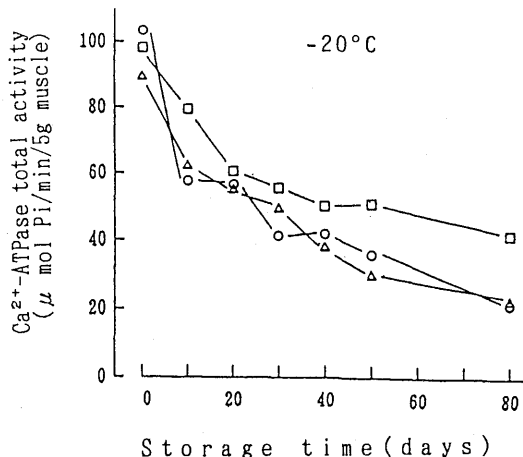
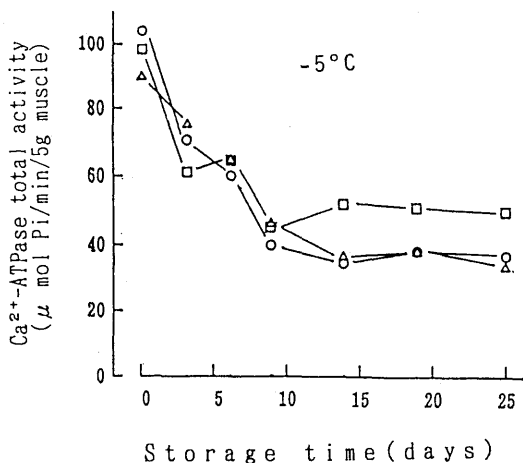


Fig. 2. Changes in the ATPase activity and the POV-C (corresponding amount) of POV in the minced muscles (sardine) with various conditions during storage at -5°C .

○, control (lipid content 17.9%); □, vacuum sealed (lipid content 17.9%); △, lipid added (lipid content 30.6%).

Fig. 3. Changes in the ATPase activity and the POV-C (corresponding amount) of POV in the minced muscles (sardine) with various conditions during storage at -20°C .

○, control (lipid content 17.9%); □, vacuum sealed (lipid content 17.9%); △, lipid added (lipid content 30.6%).

ATPase 活性はいずれの試料の間にも顕著な差はみられなかった。

-20°C 貯蔵 この温度条件では試料のほとんどの水分は凍結しており、温度が低いためか Fig. 3 に示したように対照と脂質添加試料の M_f (Ca)-ATPase 活性は約 30 日貯蔵で、一方、真空包装試料は約 40 日で約 1/2 に低下した。POV-C の変化は真空包装試料では 0 および -5°C 貯蔵の場合と同様 80 日後まで全く変化なく、約 18% および約 30% 脂質試料では約 40 日間の誘導期間で、その後急増した。

各貯蔵試験において M_f -P の変性速度の抑制に低温および真空包装の効果が認められたが、 M_f (Ca)-ATPase

活性は脂質含量の多寡に関係なく同程度の低下を示し、POV-C が増加した時期にも急激な失活を伴わなかった。一方、脂質の酸化速度も低温になるほど遅くなるが、高含量の方が速く過酸化物を多く生成した。これは前報⁹⁾で報告した結果と一致していた。さらに、凍結点以下の -5 および -20°C 貯蔵では過酸化物生成の誘導期間中に M_f -P の変性が急速に起こるので、タンパク質の変性には脂質酸化物よりむしろ凍結の影響の方が強いことが若干考えられた。すでに、コイ筋肉 M_f にマイワシ油過酸化物を添加したモデル実験の成果が川崎らにより報告された。^{12, 13)} それによると過酸化物の添加は Ca-ATPase 活性を少量の添加で増大させ、ある濃度以上で低下させ

る二相性を示すことを示している。本報告の場合は ATPase 活性の増大は無く、過酸化生成の誘導期すでに M_f (Ca)-ATPase 活性の急激な低下が起こることから、過酸化物の生成が ATPase 活性の低下の主因でないことを示唆している。本報告と川崎らの実験条件が異なるので軽々に結論できないが、筋肉組織レベルの試料での結果を報告し、今後の低温貯蔵中の魚肉タンパク質と脂質との相互作用の検討へ発展させる資料としたい。

以上のとおり、本報でマイワシ貯蔵初期に起こる脂質劣化 (POV 変化) とタンパク質変性 (ATPase 活性の低下) との関連は直接には少ないと結論した。

終わりに、本研究は平成3年度水産庁委託研究費に依って行われたことを附記し、関係各位に深謝する。

文 献

- 1) J. Olley, R. Pirie, and H. Watson: Lipase and phospholipase activity in fish skeletal muscle and its relationship to protein denaturation. *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 501-516 (1962).
- 2) F. Ohta and J. Nishimoto: Effect of lipid on insolubilization of protein in frozen fish muscle during storage. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.*, **13**, 45-51 (1964).
- 3) M. L. Anderson and E. M. Ravas: Relation between protein extractability and free fatty acid production in cod muscle aged in ice. *J. Fish Res. Bd. Canada*, **25**, 2059-2069 (1968).
- 4) 高間浩蔵, 座間宏一, 五十嵐久尚: 魚類筋肉脂質の冷凍貯蔵中の変化—III. 脂質酸化生成物の蛋白質に及ぼす影響. 日水誌, **38**, 607-612 (1972).
- 5) S. Andou, K. Takama, and K. Zama: Interaction between lipid and protein during frozen storage I. Effect of oil dipping on rainbow trout muscle during frozen storage. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **30**, 282-287 (1979).
- 6) S. Andou, K. Takama, and K. Zama: Interaction between lipid and protein during frozen storage II. Effect of non-polar lipid on rainbow trout myofibrils during frozen storage. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **31**, 201-209 (1980).
- 7) E. G. Bligh and W. J. Dyer: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- 8) 小原哲二郎, 岩尾裕之, 鈴木隆雄: 食品分析ハンドブック, 初版, 建帛社, 東京, 1969, p. 151.
- 9) 御木英昌, 西元諄一, 西本素三, 進藤 穰: 低温貯蔵中の魚肉における脂質の酸化速度. 日水誌, **60**, 509-513 (1994).
- 10) 関 伸夫, 大金由夫, 渡辺孝博: イワシ肉水蔵中の筋原繊維タンパク質の ATPase 活性およびその他の性状変化. 日水誌, **46**, 607-615 (1980).
- 11) 川島孝省, 新井健一, 斉藤恒行: 魚類筋肉構成タンパク質に関する研究-IX. 日水誌, **39**, 207-214 (1973).
- 12) 川崎賢一, 大泉 徹, 今野久仁彦: コイ筋原線維の ATPase 活性に及ぼす過酸化脂質の影響. 日水誌, **56**, 1185-1191 (1991).
- 13) 川崎賢一, 大泉 徹, 今野久仁彦: マイワシ油由来の過酸化脂質によって引き起こされるミオシン重鎖の多量化反応. 日水誌, **58**, 127-133 (1992).