

冷蔵期間が牛筋漿タンパク質画分の抽出性におよぼす影響

関川三男

生物資源化学科生物資源利用学講座

1. 目的

食肉は、家畜をと殺後、筋肉が硬直、解硬さらに熟成の各段階を経て、食用に適したものとなる。熟成中に食肉は、プロテアーゼ等によって軟化し風味が向上する。これらの現象、特に風味に関しては、主に食肉の水溶性成分に大きく依存していると考えられているが、その詳細については不明の点も多い。そこで、本研究では、食肉の水溶性成分である筋漿タンパク質に注目して、まずタンパク質の抽出性を検討し、さらに保存方法とその期間の影響を明らかにすることを目的とした。

2. 材料および方法

1) 材料

材料は、北海道立新得畜産試験場から供与されたヘレホード種およびアバディーンアンガス種(去勢牛、25カ月齢)の胸最長筋(M. longissimus thoracis)である。なお、材料はと殺後2日目に採取した。

2) 抽出液および抽出方法

抽出液は、蒸留水と2種類の緩衝液を用いた。緩衝液は、クエン酸およびライガー(Rigor)緩衝液を用いた(クエン酸緩衝液：20 mM Citrate, 10 mM Phosphate, 0.1 M NaCl, 0.05% NaN₃, pH 5.5, ライガー緩衝液：0.1 M KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 0.5 Mm Dithiothreitol, 10 mM KH₂PO₄, 0.05% NaN₃, pH 7.0)。

筋漿タンパク質の抽出は、材料の赤肉30gを氷冷下で、先述の3種類の抽出液90mlにそれぞれ懸濁してヒスコトロンを用いて均質化し、これを遠心分離後(11,000×g)、上清をろ過した。

保存試料は、と殺後2日目の材料を均質化したものと、これを遠心分離後、上清をろ過したものの2種類である。保存期間は、と殺後2, 7, 14, 21日までで、保存温度は1±1℃である。

3) 電気泳動および高速液体クロマトグラフィー

電気泳動は、Laemmli(Nature, 1970)の方法に従い、11%アクリルアミドのスラブゲル(0.15×7×9 cm)で行った。試料は、尿素およびSDSを含む緩衝液と等量混合後、3昼夜透析した。タンパク質濃度は、280 nmの吸光度から求め、30 μgのタンパク質を泳動させた。染色は、クマシーブリリアントブルー G 250で行った。

高速液体クロマトグラフィーは、カラム TSK-G2000SW(カラム温度 25±2℃)を用い、リン酸緩衝液(0.25 M, pH 6.5)で溶出した。タンパク質の検出は 280 nmの吸光度を用いた。

3. 結 果

今回用いたヘレホード種とアパディーンアンガス種では、結果に大きな相違がなかったため、両者を区別せずに記載する。

表1は、高速液体クロマトグラフィーから得られたタンパク質画分(保持時間39分以内；推定分子量17,000以上)の面積(mV×sec., 平均値)の経日的変化で、各抽出液における抽出性と、2種類の保存試料での差を示したものである。抽出性は、両保存試料ともにライガー緩衝液、クエン酸緩衝液、蒸留水の順に低下し、また、抽出量は経日的に減少した。保存試料間での差は、各抽出液で異なっていた。すなわち、ライガー緩衝液では均質化した状態で保存したものが、遠心ろ過上清で保存したものよりも、保存期間にかかわらず抽出量が多かった。しかし、クエン酸緩衝液では14日目、蒸留水では14と21日目を除き均質化保存のほうが抽出量が多かった。

電気泳動の結果で特徴的なことは、各抽出液および両保存試料ともに、分子量37,000の乳酸脱水素酵素(subunit)と分子量97,000のホスホリラーゼ(King and MacFarlaen, *Advances in Meat Research*, 1987)に相当するバンドが減少あるいは消失することであった。また、両保存試料ともにクエン酸緩衝液抽出のものは、蒸留水抽出に比べ経日的に減少あるいは消失するバンドが多かった。

遠心ろ過保存では、21日目に各抽出液試料ともに白色沈澱が形成されたが、蒸留水でのものは他に比量的に少なかった。

4. 考 察

一般に、筋肉あるいは食肉のタンパク質は、筋原線維画分と筋漿画分到大別され、食肉の軟化は筋原線維画分に大きく依存し、風味に関しては筋漿画分に左右されると考えられている。筋漿画分には解糖系やライソゾームに関連する多くのタンパク質(酵素)が含まれ、研究目的によって種々の試料調製方法や分析が行われている。食肉の熟成との関係で筋漿タンパク質を調製する場合でも、

表1. 筋漿タンパク質の抽出性 (mV×sec.)

		クエン酸	ライガー	蒸留水
	2日	133.7	136.9	107.3
遠心ろ過 保 存	7日	115.9	125.9	97.5
	14日	112.2	115.2	96.7
	21日	105.4	107.7	86.9
	2日	133.7	136.9	103.7
均質化後 保 存	7日	118.1	126.9	99.5
	14日	110.1	117.8	87.0
	21日	108.7	110.7	84.7

抽出液や方法に研究者間で差がある。今回用いた3種類の抽出液と2種類の保存方法は、その代表的なもので、これらの特徴を知るために同一試料・同条件で分析し検討することは重要である。

筋漿タンパク質の抽出性は、蒸留水よりも両緩衝液のほうが高く、これは塩濃度やpHの影響と考えられる。しかし、保存中に生じる沈澱の形成は、蒸留水が最も少なく、長期間の保存試験には適していると考えられる。

電気泳動および高速液体クロマトグラフィーの結果(表1, 7日目)から、均質化保存では筋原線維画分のタンパク質が低分子化して、筋漿画分に移行してくることが明らかとなった。このため保存方法は、筋原線維画分を含む食肉自体をモデルとする場合には、均質化した状態で保存し、筋漿画分だけに注目する時には遠心ろ過したものを保存する方法が適当であると考えられる。

電気泳動の結果から、経日的に大きく減少するタンパク質は乳酸脱水素酵素(subunit)とホスホリラーゼと推定されたが、この傾向は2種の緩衝液で顕著であった。このことは、遠心ろ過保存試料での沈澱生成量と考え合わせると、これらのタンパク質が不溶化して沈澱した可能性が示唆される。この2つのタンパク質は他の筋漿タンパク質に比べ疎水性が高く、不溶化することは十分予想される。今後は、沈澱自体の分析を行うことが必要である。