◇◇◇◇ 原著論文 ◇◇◇◇

大豆グロブリンの脱アミド化に伴う親水性の向上と ゲル化特性の変化

嶋崎恵里子¹, 佐野友子², 熊谷日登美², 桜井英敏², 熊谷 仁^{1,†}

¹ 共立女子大学家政学部食物栄養学科, ² 日本大学生物資源科学部農芸化学科

Enhancement of Hydrophilicity of Soybean Globulins by Deamidation and Change in Their Gelation Properties

Eriko SHIMAZAKI¹, Tomoko SANO², Hitomi KUMAGAI², Hidetoshi SAKURAI²
and Hitoshi KUMAGAI^{1,†}

¹ *Department of Food Science and Nutrition, Kyoritsu Women's University,
2-6-1 Hitotsubashi, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0003, Japan*

² *Department of Agricultural and Biological Chemistry, Nihon University,
1866 Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-8510, Japan*

Deamidation of food proteins by cation-exchange resins is a promising method for modifying their functional properties without causing any peptide-bond hydrolysis. The gelation property and the water affinity of phytate-removed deamidated soybean globulin (PrDS) were evaluated in this study. Soybean globulin (US) was prepared by isoelectric precipitation, and phytate was removed by use of anion-exchange resins. Then, the phytate-removed soybean globulin (PrS) was deamidated by using cation-exchange resins of carboxylate type. The heat-induced gel property of PrDS was compared with that of PrS and US. The affinity of the soybean globulins for water was evaluated by the parameters obtained from pulsed NMR measurements. In addition, the denaturation temperature of the soybean globulins was determined with DSC. The water-retaining property of the heat-induced gel was better in the order of PrDS > PrS > US. From the pulsed NMR measurements, the amount of bound water in the untreated soybean globulin was almost constant irrespective of the water content. According to the correlation time of bound water τ_b obtained from pulsed NMR measurements, the affinity of soybean globulin for water was enhanced by deamidation, which was assumed to be the reason for the better water-retaining property of PrDS. However, the amount of bound water was decreased by phytate-removal and deamidation. DSC measurements showed that removal of phytate and deamidation made the denaturation temperature of soybean globulin slightly increase.

Keywords: soybean globulin, gel, deamidation, cation-exchange resins, pulsed NMR, bound water, DSC

1. 緒 言

タンパク質や多糖のゾルやゲルなどコロイドの物性には、分子と水との相互作用が大きく影響を与える[1,2]。よって、タンパク質の親水性や荷電状態を変化させることによってタンパク質を含む食品の物性や機

能を制御しうる。

脱アミド化は、タンパク質中のアミド基をカルボキシル基に変換するタンパク質の化学修飾法の1つである。脱アミド化することによって、タンパク質側鎖の荷電状態が変化するので、タンパク質に新機能を付与できる有力な方法の1つと考えられる。脱アミド化法としては、酸を用いた方法[3,4]や酵素を用いた方法[5-7]が行われている。しかし、酸を用いた方法ではタンパク質の加水分解を引き起こし、タンパク質の低分子化を招きゲル化特性などが低下する懸念がある。また、酵素を用いた方法では酵素の回収法が問題となる。

(受付2007年11月16日, 受理2008年2月12日)

1 〒101-0003 東京都千代田区一ツ橋2-6-1

2 〒252-8510 神奈川県藤沢市亀井野1866

† Fax: 03-3237-2787, E-mail: kumagai@s1.kyoritsu-wu.ac.jp

Shih[8] は、スルホネートタイプの陽イオン交換樹脂を用いて、大豆タンパク質の脱アミド化を行った。陽イオン交換樹脂は再利用が可能以上に、低分子化を招くことなく脱アミド化することが可能である。

我々は、カルボキシレートタイプの陽イオン交換樹脂が、スルホネートタイプの陽イオン交換樹脂よりも高い脱アミド化活性を有することを見だし、これを用いてタンパク質の脱アミド化を行ってきた[9-12]。疎水性タンパク質である小麦粉グリアジンやグルテンに関しては、陽イオン交換樹脂を用いて脱アミド化することによって溶解性や起泡性が向上した[9,10]。これは、脱アミド化によって、タンパク質分子中における親水性の部位が増加することにより界面活性効果が向上したためと考えられる。

また、大豆グロブリンに関しては、カルシウムの吸収を阻害するフィチン酸を除去後に脱アミド化した大豆グロブリンは、カルシウム結合特性が向上し[11]、腸管内でのカルシウム吸収を促進することを報告した[12]。これは、大豆グロブリンのアミド基がカルボキシル基に変換されたことにより、カルシウムの結合量が増加したためと考えられる。しかし、大豆グロブリンの重要な加工特性である加熱によるゲル化特性については検討していない。球状タンパク質である大豆グロブリンのゲル化過程では、加熱変性によって水溶液中に露出した疎水基同士の相互作用[1]によって高分子網目構造が形成され、その内部に水が保持されるといわれる。よって、カルボキシル基は親水性が高いため、脱アミド化によりタンパク質の水との親和性が変化すれば、ゲル化特性も変化する可能性がある。

本報では、陽イオン交換樹脂を用いた大豆グロブリンの脱アミド化によるゲル化特性の変化を検討するために、未処理大豆グロブリン、フィチン酸除去大豆グロブリン、フィチン酸除去脱アミド化大豆グロブリンの加熱ゲルをそれぞれ作製し、ゲル化特性の変化を比較した。また、パルス NMR を用いて脱アミド化に伴う大豆グロブリンと水との結合性の変化について測定を行った。さらに、示差走査熱量測定 (DSC) による大豆グロブリンの熱変性温度のデータも加味し、ゲル化特性とタンパク質の親水性との関係について考察を行った。

2. 方 法

2.1 試料および試薬

大豆としては、市販のものを用いた。フィチン酸除去処理には、陰イオン交換樹脂 IRA410 (オルガノ社製) を用いた。また、脱アミド化処理には、陽イオン交換樹脂 IRC50 (オルガノ社製) を用いた。その他の試薬は和光純薬(株)の特級品を用いた。

2.2 大豆グロブリンの調製

市販大豆を脱脂後、脱脂大豆の 20 倍量の Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) に混合し、メルカプトエタノールを 0.01 M 溶液となるように加えて 1 時間抽出した。抽出液を 20℃, 11000 rpm で 20 分間遠心分離してタンパク質抽出溶液を得た。タンパク質抽出溶液を pH 6.4 に調節し、4℃, 11000 rpm で 20 分間遠心分離して得られた沈殿画分を透析により脱塩後、凍結乾燥した。この試料を以下、未処理大豆グロブリン (US) とする。

2.3 イオン交換樹脂による脱アミド化

2.3.1 陰イオン交換樹脂の再生法

陰イオン交換樹脂は、樹脂量に対して 3 倍量の 1 M HCl、蒸留水、1 M NaOH、蒸留水、1 M HCl、蒸留水の順で洗浄を行い、H 型にして実験に供した。

2.3.2 陽イオン交換樹脂の再生法

陽イオン交換樹脂は、樹脂量に対して 3 倍量の 1 M NaOH、蒸留水、1 M HCl、蒸留水、1 M NaOH、蒸留水の順で洗浄を行い、Na 型にして実験に供した。

2.3.3 大豆グロブリンの脱アミド化

大豆に含まれるフィチン酸は腸管でのミネラル吸収を阻害するため、大豆タンパク質からフィチン酸を除去することは多く検討されている[13,14]。本報におけるフィチン酸除去方法は、Kumagai らによる方法[7,11]を修正して行った。大豆グロブリン 0.3 g を 0.2% となるように 0.05 M の Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) に加え、4℃で 30 分間溶解した。0.2%大豆グロブリン溶液に陰イオン交換樹脂をタンパク質 1 g 当たり 25 g 加え、20℃で 1 時間攪拌した。ガーゼろ過後、蒸留水に対して透析し、凍結乾燥してフィチン酸除去大豆グロブリン (以下 PrS) を得た。

大豆グロブリンの脱アミド化は、陽イオン交換樹脂を用いた Kumagai らによる方法[11]を修正して行った。溶媒が 0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) である 0.2% PrS 溶液に、陽イオン交換樹脂をタンパク質 1 g 当たり 50 g 加えて、20℃で 24 時間攪拌した。ガーゼろ過後、蒸留水に対して透析し、凍結乾燥してフィチン酸除去脱アミド化大豆グロブリン (以下 PrDS) を得た。

2.3.4 脱アミド化度の測定

脱アミド化度は、US および PrDS を HCl により完全に脱アミド化し、生成したアンモニア量の差から算出した。アンモニア量は Kumagai ら[11]と同様の方法で測定した。

2.4 ゲルの調製

US, PrS, PrDS それぞれ 0.2 g をタンパク質濃度が

13%となるように蒸留水に溶解し、20 分間室温で放置した。90℃で30 分間加熱後、水中で30 分間冷却し、30 分間室温で放置した。

2.5 パルス NMR による試料中の水の状態解析

2.5.1 測定方法

試料中の水の状態解析には、測定周波数 20MHz のパルス NMR (BRUKER 社製 Minispec PC-120) を用いた。スピン-格子緩和時間 (T_1) 測定には、180- τ -90° パルス系列 (反転回復 IR 法) [15] を用いて行った。ここで、 τ はパルス系列中のパルス間の間隔 (遅延時間) である。磁化 M は、 T_1 の 5 倍以上で平衡に達する。平衡に達した磁化 M を平衡磁化 M_0 とし、 τ [s] で観測される磁化 M_{obs} とすると以下の関係式が成り立つ。

$$M_0 - M_{\text{obs}} = A e^{-\frac{\tau}{T_1}} \quad (1)$$

ここで、 A は定数である。(1) 式から、 $(M_0 - M_{\text{obs}})$ を τ に対して片対数グラフにプロットして、その直線の傾きから T_1 [s] を求められる。

スピンスピン緩和時間 (T_2) 測定には、CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) 法 [16] を用いた。CPMG 法では、 M_{obs} の値を τ に対して片対数グラフにプロットし、得られた直線の傾きから T_2 [s] が求められる。

測定温度は T_1 , T_2 共に 20℃とした。測定は、加水した US, PrS, PrDS の各試料を NMR 測定用チューブに高さ 7 から 8 mm まで詰めて行った。試料含水率の測定は、105℃常圧乾燥により行い、含水率 W [g/g-dry matter] を乾量基準で表した。

2.5.2 解析方法

水分子の ^1H 核の T_1 , T_2 は、同一分子中の水素原子との相互作用に比べて他の近接分子による緩和の影響を無視できると仮定すると、相関時間 τ_c [s] を用いて次式 [17] で表される。

$$\frac{1}{T_1} = \frac{6}{5} \gamma^2 \mu^2 r^{-6} \tau_c \left(\frac{1}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right) \quad (2)$$

$$\frac{1}{T_2} = \frac{9}{5} \gamma^2 \mu^2 r^{-6} \tau_c \left(1 + \frac{5}{3} \frac{1}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{2}{3} \frac{1}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right) \quad (3)$$

ここで、 γ : 水素核の磁気回転比 ($=2.675 \times 10^4$ [s $^{-1}$ gauss $^{-1}$]), μ : 水素核の磁気能率 ($=1.41 \times 10^{-23}$ [erg gauss $^{-1}$]), r : 水素原子の核間距離 [cm], ω_0 : 共鳴周波数 $2\pi\nu_0$ (ν_0 : 測定周波数) [s $^{-1}$], である。自由水と結合水の T_1 および T_2 は、(2), (3) 式と同じ式で表される。本研究では、結合水の存在状態を調べるために、(2), (3) 式の T_1 を結合水のスピン-格子緩和時間 T_{1b} [s], T_2 を結合水のスピンスピン緩和時間 T_{2b} [s] として、 τ_c を結合水の相関時間 τ_b [s] と置き換えた式を解析に用いた。計算の際には、 $\gamma^2 \mu^2 r^{-6} = 8.7 \times 10^{-9} \text{s}^{-2}$ とした [17]。

また、パルス NMR 測定で観測される試料の $T_{1\text{obs}}$ [s] および $T_{2\text{obs}}$ [s] は 2 状態モデルを仮定することによって導かれる以下の式で表される。

$$\frac{1}{T_{1\text{obs}}} = \frac{p_b}{T_{1b}} + \frac{(1-p_b)}{T_{1f}} \quad (4)$$

$$\frac{1}{T_{2\text{obs}}} = \frac{p_b}{T_{2b}} + \frac{(1-p_b)}{T_{2f}} \quad (5)$$

ここで、 T_{1f} : 自由水のスピン-格子緩和時間 [s], T_{2f} : 自由水のスピンスピン緩和時間 [s], p_b : 結合水の割合、である。 T_{1f} および T_{2f} の値としては、20℃における自由水の緩和時間 3.15 s を用いた [18]。(2), (3), (4), (5) の 4 つの連立方程式を解くことにより、未知数である T_{1b} , T_{2b} , τ_b , p_b を算出した。

τ_b は、食品成分と水との結合が強く、プロトンが動きにくくなれば大きくなる性質がある。よって、 τ_b は水とタンパク質との結合の強さの指標とみなせる。

2.6 タンパク質の熱変性温度の測定

加熱によるタンパク質のゲル化過程の初期には、タンパク質の変性による疎水基の露出が起こるので、脱アミド化によるタンパク質の変性温度変化の有無の確認は重要である。タンパク質の熱変性温度の測定には、示差走査熱量計 (セイコーインスツルメンツ製 DSC100) を用いた。試料 40 mg を 70 μl の銀製の pan に密封し、測定温度範囲は 5℃から 120℃、昇温速度 1℃/min で測定した。リファレンスとしては、空の銀製の pan を用いた。

3. 結 果

陽イオン交換樹脂を用いて大豆グロブリンを 20℃で 24 時間攪拌して脱アミド化することにより、全アミド量の 14.5% の脱アミド化が行えた。

Fig. 1 に US, PrS, PrDS の加熱によって得られたゲルの写真を示す。Fig. 1(a) の US は、離水がみられ保形性の劣るゲルとなった。Fig. 1(c) の PrDS は保形性に優れ滑らかな外観のゲルとなった。Fig. 1(b) の PrS は離水がみられるが、離水した水は US よりも透明であり、保形性は US と PrDS の中間となった。つまり、大豆グロブリンを、フィチン酸除去、脱アミド化と処理するにつれ、大豆グロブリン加熱ゲルの保形性が向上したことになる。

Fig. 2 に、大豆グロブリンの T_1 測定における磁化 M の回復過程の一例を示す。この試料では磁化 M は T_1 の 5 倍以上である $\tau=500$ ms において、平衡に達していることが確認された。平衡に到達した時点での磁化 M を平衡磁化 M_0 とした。

Fig. 3 に、含水率の異なる US について、 $(M_0 - M_{\text{obs}})$ を時間 τ に対して片対数プロットした結果を示す。ど

Fig. 1 Appearance of heated gels of soybean globulin. (a); US, (b); PrS, (c); PrDS.

Fig. 2 Recovery process of M for US in measurement of T_1 . water content W : 1.63g/g-dry matter.

Fig. 3 Semilogarithmic plots of $(M_0 - M_{\text{obs}})$ vs. τ of US for evaluating T_1 . water content W [g/g-dry matter]: $\square$; 1.13, $\circ$; 1.63, $\triangle$; 2.85.

の含水率の試料に関しても, $(M_0 - M_{\text{obs}})$ の値は, τ に対して片対数プロットで直線となることが確認できた. 含水率の高い試料ほど直線の傾きは小さくなる傾向がうかがわれた. 直線の傾きから得られた T_1 を $T_{1\text{obs}}$ とする.

Fig. 4 に, 含水率の異なる US の T_2 測定における磁化 M_{obs} を τ に対して片対数プロットした結果を示す. M_{obs} は片対数プロットで直線性を示し, 含水率の高い試料の方が直線の傾きは小さくなる傾向がみられた. 直線の傾きから得られた T_2 を $T_{2\text{obs}}$ とする.

US に関して, パルス NMR 測定で得られた $T_{1\text{obs}}$, $T_{2\text{obs}}$ と, 解析式から算出した T_{1b} , T_{2b} , τ_b , p_b の含水率依存性の結果を Table 1 に示す. 含水率の高い試料の方が $T_{1\text{obs}}$ および $T_{2\text{obs}}$ は長くなる傾向がみられた. 一方, 試料中の水には自由水と結合水という 2 つの状態があると仮定して解析したことにより求められた T_{1b} , T_{2b} , τ_b の値は, それぞれ含水率が変化してもほぼ一定であ

Fig. 4 Semilogarithmic plots of M_{obs} vs. τ of US for evaluating T_2 . water content W [g/g-dry matter]: $\blacksquare$; 1.13, $\bullet$; 1.63, $\blacktriangle$; 2.85.

Table 1 Water content dependence of parameters obtained from NMR measurements for untreated soybean globulins.

W [g/g-dry matter]	$T_{1\text{obs}}$ [ms]	$T_{2\text{obs}}$ [ms]	T_{1b} [ms]	T_{2b} [ms]	τ_b [10^{-8} s]	p_b	$p_b W$ [g/g-dry matter]
1.13	56	8.9	16	2.6	2.0	0.29	0.33
1.63	79	14	16	2.7	1.9	0.20	0.33
2.85	120	25	14	2.9	1.6	0.12	0.34

ることがうかがえた。このことは、本実験における水分含量の範囲では、水と大豆グロブリンの相互作用の大きさはほとんど変化していないことを意味している。一方、 p_b の値は、含水率が増加するに伴って、減少する傾向が見られた。 p_b は結合水の割合を表すので、含水率が増加すれば、結合水の割合は減少すると考えられる。さらに、試料含水率と p_b から求めた大豆グロブリン1g当たりの結合水量 $p_b W$ は、含水率が変化してもほぼ変わらないことが示された。以上のことから、本研究において行ったパルスNMR測定および2状態モデルによる解析は妥当であると考えられる。

続いて、PrSとPrDSに関して、図には示していないが、 T_1 測定において、 τ に対する $M_0 - M_{\text{obs}}$ の片対数プロットは直線で表され、 T_2 測定についても、 τ に対する M_{obs} の片対数プロットは直線となることが確認された。Table 2にパルスNMR測定で得られたほぼ同一含水率のUS、PrS、PrDSに関する $T_{1\text{obs}}$ 、 $T_{2\text{obs}}$ 、 T_{1b} 、 T_{2b} 、 τ_b 、 p_b を示す。結合の強さの指標となる τ_b は、USよりもPrS、PrSよりもPrDSが大きくなっており、フィチン酸除去、脱アミド化と処理が進むにしたがって、大豆グロブリンと水との親和性が向上していることが示された。ただ、 p_b の値は、USよりもPrS、PrDSは小さくなった。これは、脱アミド化した試料の方が結合水量 $p_b W$ は小さくなっていることを意味している。

Table 3に試料含水率がほぼ同一の加熱したUS、PrDSに関する $T_{1\text{obs}}$ 、 $T_{2\text{obs}}$ 、 T_{1b} 、 T_{2b} 、 τ_b 、 p_b を示す。ただ、加熱試料の調製は、均一な加熱や含水率の制御

が困難なため、Table 3に示すのは概略値である。Table 3に示すように、US、PrDS共に、加熱前の試料と比べて、各パラメータの桁は大きく変化はない。つまり、加熱によって大豆グロブリンと水との相互作用の大きさは大きく変動はしていないと考えられる。

Fig. 5にDSC測定で得られた熱変性温度の吸熱ピークを示す。吸熱ピークはUSよりもPrSとPrDSはやや高温側にシフトした。つまり、フィチン酸除去や脱アミド化によって熱変性温度は上昇した。

Fig. 5 DSC diagram for soybean globulins. water content W : 1.63g/g-dry matter. (a); US, (b); PrS, (c); PrDS.

Table 2 Parameters obtained from NMR measurements for soybean globulins.

	W [g/g-dry matter]	$T_{1\text{obs}}$ [ms]	$T_{2\text{obs}}$ [ms]	T_{1b} [ms]	T_{2b} [ms]	τ_b [10^{-8} s]	p_b	$p_b W$ [g/g-dry matter]
US	1.63	79	14	16	2.7	1.9	0.20	0.33
PrS	1.70	130	14	21	2.1	2.7	0.15	0.26
PrDS	1.63	200	14	27	1.7	3.4	0.12	0.20

Table 3 Parameters obtained from NMR measurements for heated soybean globulins.

	W [g/g-dry matter]	$T_{1\text{obs}}$ [ms]	$T_{2\text{obs}}$ [ms]	T_{1b} [ms]	T_{2b} [ms]	τ_b [10^{-8} s]	p_b
Heated US	1.63	72	19	12	3.2	1.3	0.17
Heated PrDS	1.63	160	16	22	2.0	2.7	0.13

4. 考 察

我々は、疎水性タンパク質である小麦粉グルテンに関して、脱アミド化により親水性が向上したことにより溶解性や起泡性が向上することを報告した [10]。一般に、タンパク質のゲル化には、タンパク質同士の相互作用によるネットワーク形成およびゲル内部に水を保持するためのタンパク質と水との相互作用が大きく関わっていると考えられる。本研究では、大豆グロブリンをフィチン酸除去後に脱アミド化することによるゲル化特性の変化を観察し、タンパク質と水との親和性と、ゲル化特性との関係について検討を行った。

DSC 測定によるタンパク質の熱変性温度は、PrDS と PrS では US よりもやや高温側にシフトした (Fig. 5)。熱変性温度が上昇したのは、パルス NMR 測定の結果から、PrS あるいは PrDS の親水性が強くなったことにより、ゲル化する際にタンパク質がほどけて疎水基が露出するのに多くのエネルギーを要するようになったためと推察される。この DSC 測定の結果は、フィチン酸除去および脱アミド化操作により熱変性温度が低下してゲル化が容易になったわけではないことを意味する。また、Fig. 5 でみられる程度の変性温度の差では、実際の加熱により変性の程度に差が生じるとは考えにくい。一方、パルス NMR 測定の結果から、大豆グロブリンの脱アミド化によって、結合水の相関時間 τ_b の値は大きくなり、大豆グロブリンと水との相互作用が大きくなったことがうかがえる (Table 2)。これらのことから、フィチン酸除去、脱アミド化処理によって Fig. 1 のようにゲルの保形性および保水性が向上したのは、大豆グロブリンの水との親和性の向上による結果と推測される。

本報では、大豆グロブリンを陽イオン交換樹脂により脱アミド化することによってゲル化特性が向上することを示した。大豆グロブリンに関して、Kumagai らは、脱アミド化することによってカルシウム結合特性が向上し、腸管内でのカルシウム吸収を促進することを報告した [11, 12]。よって、陽イオン交換樹脂を用いた脱アミド化により、大豆グロブリンは、カルシウムの吸収促進効果のみでなく、加熱によるゲル化特性も向上することが確認された。

5. 結 論

大豆グロブリンについて、フィチン酸を除去後に脱アミド化を行い、パルス NMR を用いて、試料中の水の存在状態の観点から大豆グロブリンのゲル化特性の変化の理由について考察を行なった。さらに、DSC を用いて大豆グロブリンの熱変性温度の測定も合わせて行った。その結果、以下の知見が得られた。

(1) 大豆グロブリンの加熱ゲルの保形性および保水性は、フィチン酸除去脱アミド化大豆グロブリン (PrDS)、フィチン酸除去大豆グロブリン (PrS)、US の順に良好になった。

(2) パルス NMR の解析から、脱アミド化により大豆グロブリンの親水性が増加したことが示され、このことがゲルの保水性向上につながったと推察された。

参 考 文 献

- [1] K. Nishinari, H. Zhang, S. Ikeda; Hydrocolloid gels of Polysaccharides and proteins. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **5**, 195-201 (2000).
- [2] A. H. Clark, S. B. Ross-Murphy; Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv. Polym. Sci.*, **83**, 57-192 (1987).
- [3] N. Matsudomi, T. Sasaki, A. Kato, K. Kobayashi; Conformation and surface properties of acid-modified soy protein. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1251-1256 (1985).
- [4] J. R. Wanger, J. Guéguen; Surface functional properties of native, acid-treated, and reduced soy glycinin. 1. Foaming properties. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2173-2180 (1999).
- [5] A. Kato, A. Tanaka, N. Matsudomi, K. Kobayashi; Deamidation of food proteins by protease in alkaline pH. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 224-227 (1987).
- [6] J. S. Hamada, W. E. Marshall; Preparation and functional properties of enzymatically deamidated soy proteins. *J. Food Sci.*, **54**, 598-601 & 635 (1989).
- [7] H. Kumagai, Y. Shizawa, H. Sakurai, H. Kumagai; Influence of phytate removal and structural modification on the calcium-binding properties of soybean globulins. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 341-346 (1998).
- [8] F. F. Shih; Deamidation of protein in a soy extract by ion exchange resin catalysis. *J. Food. Sci.*, **52**, 1529-1531 (1987).
- [9] 熊谷日登美, 則松優子, 橋爪尚子, 櫻井英敏, 熊谷仁; イオン交換樹脂による小麦粉グリアジンの脱アミド化, 日本食品科学工学会誌, **48**, 884-890 (2001).
- [10] 則松優子, 熊谷日登美, 永井龍一, 櫻井英敏, 熊谷仁; 陽イオン交換樹脂による小麦粉グルテンの脱アミド化およびその機能特性評価, 日本食品科学工学会誌, **49**, 639-645 (2002).
- [11] H. Kumagai, S. Ishida, A. Koizumi, H. Sakurai, H. Kumagai; Preparation of phytate-removed deamidated soybean globulins by ion exchangers and characterization of their calcium-binding ability. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 172-176 (2002).
- [12] H. Kumagai, A. Koizumi, A. Suda, N. Sato, H. Sakurai,

H. Kumagai; Enhanced calcium absorption in the small intestine by a phytate-removed deamidated soybean globulin preparation. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **68**, 1598-1600 (2004).

- [13] O. de Rham, T. Jost; Phytate-protein interactions in soybean extracts and low-phytate soy protein products. *J. Food Sci.*, **44**, 596-600 (1979).
- [14] J. R. Brooks, C. V. Morr; Phytate removal from soy protein isolates using ion exchange processing treatments. *J. Food Sci.* **47**, 1280-1282 (1982).
- [15] ファラー・ベッカー; “パルスおよびフーリエ変換 NMR”, 吉岡書店, 1986, pp. 27-30.
- [16] ファラー・ベッカー; “パルスおよびフーリエ変換 NMR”, 吉岡書店, 1986, pp. 36-38.
- [17] H. J. C. Berendsen; Specific interaction of water with biopolymers, In “Water,” Vol. 5, F. Franks ed., Plenum Press, 1975, p.317.
- [18] J. A. Glasel; Nuclear magnetic resonance studies on water and ice, In “Water,” Vol. 1, F. Franks ed., Plenum Press, 1972, p. 236.

要 旨

陽イオン交換樹脂を用いた脱アミド化は、ペプチド結合の加水分解を引き起こすことなく、タンパク質の機能改質に有望な方法である。本研究では、フィチン酸除去後、大豆グロブリンをカルボキシレートタイプの陽イオン交換樹脂によって脱アミド化した。フィチン酸除去脱アミド化大豆グロブリン (PrDS) の加熱ゲルの特性を、フィチン酸除去大豆グロブリン (PrS) および未処理大豆グロブリン (US) の加熱ゲルと比較した。大豆グロブリンの水との親和性はパルス NMR 測定から得られたパラメータによって評価した。さらに、大豆グロブリンの変性温度を DSC により決定した。

加熱ゲルの保水性は、PrDS, PrS, US の順に良好であった。パルス NMR 測定から、US の結合水量は含水率に関係なくほぼ一定であった。パルス NMR 測定から得られた結合水の相関時間 τ_b によると、大豆グロブリンの水との親和性は脱アミド化により向上し、PrDS の保水性が良好になったと推測された。しかしながら、結合水量は、フィチン酸除去や脱アミド化によって減少した。DSC 測定によると、フィチン酸除去や脱アミド化によって大豆グロブリンの変性温度はわずかに上昇することが示された。