アシル化グルテンの乳化安定性について†

阿 武 尚 彦, 赤 羽 義 章, 森 一 雄

日本新薬株式会社食品技術研究所

Effects of Acylation on the Emulsion Stability of Wheat Gluten

Takahiko ANNO, Yoshiaki AKAHANE, Kazuo MORI

*Food Research Institute, Nippon Shinyaku Co., Ltd.,
Minami-ku, Kyoto*

The chemical modifications of wheat gluten were investigated for preparing the product having the desirable properties for food processing.

Both emulsion stability and solubility were markedly improved by the deamidation and acylation (acetylation, succinylation) of gluten. pH showed the similar effects on emulsifying properties and solubility of deamidated gluten and acylated gluten.

Emulsion stability was not affected by the heating of the protein solution, but decreased by the addition of sodium chloride.

It was shown that the use of these modified glutes into fish sausage caused similar changes to the emulsion stability data.

These results suggest that these modified gluten would be useful as emulsifying agents in food processing.

(Received February 24, 1978)

植物たん白質のなかでも、小麦たん白質グルテンは、凝集性、付着性が強く、加熱すると非常に弾力の強いゲルを形成するため、ねり製品の弾力補強材として魅力ある素材である¹⁾²⁾。しかし、小麦グルテンは、不溶性のため、その機能性のうち、溶解性に関連した吸水性、乳化性などが劣っており、ねり製品においてもその利用は制約されている。そのため小麦グルテンの高度利用にさいしては、その性質を改変することが好ましい。

一般に、たん白質が有する数多くの機能は、たん白分子内の荷電した官能基の量、分布またその立体構造等に起因すると考えられている。そこでグルテンたん白分子内へ官能基を導入し、その性質を改変し、食品加工に適した新たな機能性を発現させる手段としての化学修飾について検討した。

たん白分子内に存在するリジン残基は、食品の貯蔵、加工中に種々の成分と反応し、その栄養的価値が低下す

るが³⁾⁴⁾、アシル基は、これを防止するための有効な保護基ともなりうる³⁾⁵⁾と考え、アシル化による化学修飾を試みた。

化学修飾されたグルテンの食品加工上の機能性に関する研究は、脱アミド化グルテンの報告⁶⁾があるだけで、非常に少ない。それゆえ、アシル化グルテンの乳化性のうち乳化安定性について、脱アミド化グルテンとの比較検討を行ない知見を得たので報告する。

実験材料および実験方法

1. 試 料

- 1) グルテン：東京化成(株)製試薬
- 2) 綿実油：吉原製油(株)製サラダ油

2. グルテンの脱アミド化

グルテン 50g を 0.1N 塩酸 1l に分散し、100°C の湯浴中またはオートクレーブ (120°C, 1 kg/cm²) で、15~90 分と反応時間を変えて加水分解を行なった後、pH を調整し等電沈殿させる。遠心分離により沈殿を集め、水酸化ナトリウムで中和後、凍結乾燥した。この粉末を 2N 硫酸で 2 時間加水分解後、ケールダール法によりアミド態窒素を測定した⁷⁾結果、全アミド含量に対して 2.95~41.64% 脱アミド化された種々の脱アミド化グ

† 小麦グルテンの食品加工への利用に関する研究
(第 4 報)

Studies on the Utilization of Functional Properties of Wheat Gluten for Food Processing
(Part IV)

〒601 京都市南区西大路通り八条下ル

ルテンを得た。これらのうち、修飾率 2.95%, 8.20%, 15.88%, 22.30%, 27.54%, 31.15%, 41.64% の 7 種の脱アミド化グルテンを実験に供した。

3. グルテンのアシル化

グルテンのサクシニル化は、Grant の方法⁹⁾に準じて行なった。すなわち、グルテン 50 g を 0.05% 水酸化ナトリウム溶液 1 l 中に分散後、5% 無水コハク酸・ジオキサン溶液 10~100 ml を少量ずつ加え、pH を 7.5~8 に保って室温で 2 時間反応させ、流水にて透析後、凍結乾燥した。Kakade の方法⁹⁾により ε-アミノ基の定量を行ない修飾率を測定した結果、32.67~92.71% サクシニル化された種々の修飾グルテンを得た。これらのうち、修飾率 32.67~92.71% の範囲の 11 種のサクシニル化グルテンを実験に供した。

また、グルテンのアセチル化は、サクシニル化法に準じ 10% 無水酢酸・ジオキサン溶液を用いて行なった。そのうち修飾率、42.01%, 60.59%, 70.21%, 89.79% の 4 種と 50% 無水酢酸・ジオキサン溶液を用いて、97.08% の修飾を行なったアセチル化グルテンを実験に供した。

4. 乳化安定性試験

修飾グルテンの乳化安定性は、Acton ら¹⁰⁾、青木ら¹¹⁾の方法に準じて試験した。

塩酸または水酸化ナトリウムにより、各種 pH に調整した脱アミド化グルテンまたはアシル化グルテンの 1% 水溶液あるいは 1% 分散液を作り、この液 135 ml を 300 ml ビーカーにとり、綿実油 65 ml を加え全量を 200 ml とした後、特殊機化工業(株)製 T.K. ホモミキサーを用い、入力電圧 60 V で 1 分、さらにその後 65 V で 1 分間の乳化を行なった。乳化液より 10 ml をとり、試験管 (18×180 mm) に移し、室温に 30 分間放置後、試験管の底部より乳化液 5 ml を採取し、乾燥法により水分の定量を行ない、その結果より次式により乳化安定性を算出した。

$$\text{乳化安定性} = \frac{100 - M_t}{100 - M_0} \times 100$$

M_t : 実際に含まれていた水分 %

M_0 : 本来含まれているはずの水分 %

なお、グルテンの乳化安定性に対する修飾率の影響、熱安定性、食塩の影響についての測定は、pH 7.0 に調整したものを用いた。

また、修飾グルテンの溶解性は、乳化安定性試験時に調整した 1% 水溶液、あるいは分散液について 3,000 rpm で 10 分間遠心分離した上澄液をとり Folin 法によりたん白質を測定し、1 ml 中に存在するグリアジン相当量として表示した。

5. 魚肉ソーセージの試作

解凍したスケトウダラすり身 100 部をサイレントカッターに入れ細碎、食塩 3 部を加えよく細碎した後、水 60 部、パレイシヨ澱粉 8 部、ショ糖 1 部、グルタミン酸ナトリウム 1 部を加え、さらによく細碎してねり肉を調製した。このねり肉 100 部に対し、修飾率を変えたグルテン 2 部を加え、万能ミキサーで 62 rpm, 3 分間混合後、精製ラード 20 部を加え、さらに 5 分間よく混合した後、30 mmφ の塩化ビニリデンのケーシングに充填、80°C で 30 分間の加熱を行なって魚肉ソーセージを調製した。

魚肉ソーセージの弾力性の測定は、全研製テクスチュロメーター GTX2 型を用い、15 mm 厚の試料について、プランジャー: ルサイト 18 φ, クリアランス: 1.5 mm, 入力電圧 1 V, そしゃく速度 6 回/分, チャート速度 750 mm/分の条件で行なった。弾力性の表示には、6 個の試料について、上記条件で測定した Hardness T.U. の平均値を用いた。

実験結果および考察

1. 乳化安定性におよぼす化学修飾率の影響について

化学修飾にともなう、乳化安定性がどのように変化するか検討した。Fig. 1 に脱アミド化率と乳化安定性との関係を示した。脱アミド化反応においては、脱アミド化率 3% 程度のわずかな脱アミド化によっても乳化 (安定) 性は急激に上昇し、脱アミド化率 22.30% で最高の安定性が得られた。その後、脱アミド化が進むにつれて乳化安定性も漸次減少した。

溶解性についても同様な結果が得られ、脱アミド化率 22.30% の試料で溶解性は最大となり、さらに脱アミド化が進行すると溶解性も減少した。これらの結果は、脱アミド化グルテンに関する Finley¹²⁾、Wu⁶⁾ らの報告とも一致している。しかし、α-アミノ基の定量からは、

Fig. 1. Effect of deamidation on emulsion stability and solubility of wheat gluten.

○ Emulsion stability, ● Solubility, pH 7.0

ペプチド結合の若干の解裂が示唆され、脱アミド化と同時にペプチド結合の切断も進行しており、溶解性、乳化性の向上に寄与していると考えられた。

⑤ アミノ基のサクシニル化、アセチル化により乳化安定性がどのように変化するか検討した結果を Fig. 2 に示した。その結果、グルテンのサクシニル化では、修飾の進行にともなって、乳化安定性、溶解性ともに上昇し、修飾率 49.19% 以上では、乳化安定性 80 以上を示し、乳化安定性もほぼ一定となった。この結果より、サクシニル化により乳化性、溶解性を付与するためには、グルテンの品質の相違、調製法等を考慮に入れ、アミノ基の 50% 以上を修飾する必要があると考えられる。

また、アセチル化においては、修飾率 50% 付近で乳化安定性は最高となり、その後、修飾率の進行につれて乳化安定性は低下するという結果が得られた。

2. 乳化安定性に及ぼす pH の影響について

脱アミド化グルテン、サクシニル化グルテンおよびアセチル化グルテンの乳化安定性、溶解性に及ぼす pH の影響について測定した結果を Fig. 3 および Fig. 4 に示した。

脱アミド化、サクシニル化、アセチル化グルテンの乳化安定性は、その溶解性とよく類似した様相を呈し、アルカリ性、中性付近では、乳化安定性、溶解性ともにすぐれており、pH 4 前後に等電点を有し、等電点付近の pH で乳化安定性は最低となり、さらに pH がさがり可溶化がおこると乳化安定性も上昇した。しかしアシル化グルテンの場合は、脱アミド化グルテンとはやや異なり、修飾率が進むにつれて等電点以下の酸性 pH で、乳化安定性、溶解性が減少していく現象が認められた。

Fig. 2. Effect of acylation on emulsion stability and solubility of wheat gluten.

- ▲ Emulsion stability of acetylated gluten
 - △ Solubility of acetylated gluten
 - Emulsion stability of succinylated gluten
 - Solubility of succinylated gluten
- pH 7.0

Fig. 3. Effect of pH on emulsion stability and solubility of acetylated gluten.

- ▲ Emulsion stability (acetylation : 60.59%)
- △ Solubility (acetylation : 60.59%)
- Emulsion stability (acetylation : 97.08%)
- Solubility (acetylation : 97.08%)

Fig. 4. Effect of pH on emulsion stability of modified wheat gluten.

G : gluten

DAG : deamidated gluten (deamidation 33.11%)

SG : succinylated gluten (succinylation 71.92%)

このようなアシル化による等電点以下の pH での不溶化現象は、他の多くのたん白質においても認められている^{13)~15)}。もとのグルテンに比較し、脱アミド化、アシル化したグルテンは中性付近の溶解性が著しく改善され、乳化性を有し、乳化安定性も増大する。したがって、アルカリ性～中性付近では修飾グルテン、酸性では未修飾のグルテンと使い分けることにより、幅広い pH で乳化性の利用が可能であろう。

3. 乳化安定性に対する加熱の影響

1% の修飾グルテン液を各温度に 10 分間加熱後、同様に乳化液を調製し、加熱による影響を検討した結果を Fig. 5 に示した。その結果、90°C、10 分間の加熱でも、乳化安定性には、ほとんど影響が認められなかった。こ

の理由については、さらに詳細な検討を必要とするが、グルテンたん白質が元来加熱に対して凝固しにくいたん白質であること、アシル化によりSH基にも反応が起っており、そのため加熱に対して安定になっているのではないかと考えられる。アセチル化した分離大豆¹⁴⁾、アシル化した卵白¹⁶⁾¹⁷⁾等も、熱凝固に対して安定になってくるといふ。それゆえ、たん白質のアシル化により加熱に対して安定性が増大するのも一般的傾向かもしれない。

4. 乳化安定性に対する食塩の影響

乳化安定性に対する食塩の影響について検討した結果を Fig. 6 に示した。

Fig. 5. Effect of heating of the protein solution on emulsion stability.

DAG : deamidated gluten (deamidation 27.54%)
SG : succinylated gluten (succinylation 40.75%)
AG : acetylated gluten (acetylation 89.79%)

Fig. 6. Effect of NaCl concentration on emulsion stability.

DAG 1 : deamidated gluten (deamidation 2.95%)
DAG 2 : deamidated gluten (deamidation 31.15%)

AG : acetylated gluten (acetylation 70.21%)
SG : succinylated gluten (succinylation 81.35%)

アセチル化、サクシニル化グルテンのようなアシル化誘導体では、食塩による影響を強く受け、乳化安定性は急速に低下し、食塩濃度が1%以上では、乳化安定性は著しく低下した。

脱アミド化を行なったグルテンでは、脱アミド化が進行するにつれて、食塩による影響を受けにくくなった。

このようにアシル化グルテンと、脱アミド化グルテンで食塩による影響が異なるのは、修飾、脱アミド化により分子内に導入されたカルボキシル基量が異なることに起因する現象であると考えられる。

以上の結果より、脱アミド化反応、サクシニル化反応はグルテンたん白質に溶解性、乳化性を付与させるための有効な修飾手段であることが認められた。またグルテンの乳化特性は、修飾が進み可溶化が生じるに伴い、乳化安定性が上昇すること、pHの変化に伴ってその安定性も変化することから、溶解性に付随して起きる作用であり、機能発現には、たん白分子内の荷電状態の重要性が指摘できる。さらに脱アミド化グルテンにおいて、脱アミド化の過度の進行は乳化安定性を低下させること、ドウ形成能を示すサクシニル化グルテンとドウ形成能を示さない脱アミド化グルテンとでは¹⁸⁾、乳化安定性に若干差違が認められることなどから、乳化安定性において、分散たん白粒子の平均的大きさ、分布状態等もかなり重要な役割を果たしていると推察される。

5. 魚肉ソーセージにおける修飾グルテンの添加効果について

Fig. 7 に修飾率を変えたグルテンを添加して調製した魚肉ソーセージの品質改良効果について測定した結果を示した。

その結果、魚肉ソーセージにおいても、乳化安定性試験の測定結果と同様な傾向が得られた。脱アミド化グル

Fig. 7. Effect of modified gluten on hardness of fish sausage.

DAG : deamidated gluten
SG : succinylated gluten.

テンでは、脱アミド化率 22.30% で最高の Hardness が得られ、それ以上の脱アミド化処理したグルテンを添加した場合、Hardness が減少していくことが認められた。

またサクシニル化グルテンの場合、修飾率が高まるにつれて、得られる魚肉ソーセージの Hardness も増大した。官能的にも、これらの傾向と一致し、Hardness が高くなるにつれ、食感のよいよく乳化された製品が得られた。

脱アミド化グルテン、サクシニル化グルテンともに、乳化安定性についてのモデル系同様、塩漬漬魚肉中においても乳化性が発揮でき、品質改良効果の得られることが明らかになり、グルテン誘導体の食品系での乳化材としての利用も可能なことが示唆された。

以上修飾グルテンを食品素材として利用するさいの乳化性（機能面）について検討した。一般に修飾グルテンを含め植物性たん白質は、その機能性を活して利用されるものであり、単独では食品の主成分とはなりえないが、利用にさいしては、その栄養面についても考慮する必要がある。過度のアシル化は、たん白質の PER を低下させるという報告¹⁹⁾²⁰⁾があり、今後さらに食品加工上の機能性と栄養価との関係について追究する必要がある。

要 約

1) グルテンの脱アミド化、アシル化誘導体について、乳化安定性を検討した結果、グルテンの脱アミド化、アシル化反応は、グルテンに乳化性、溶解性を付与するための有効な修飾手段であることが認められた。

2) 修飾グルテンの乳化安定性は pH により影響をうけその等電点で最低となった。

3) 修飾グルテン溶液の加熱処理が乳化安定性に及ぼす影響はすくなく、その影響をほとんど受けなかった。

4) アシル化グルテンの乳化安定性に及ぼす食塩添加の影響は大きく、1% 以上の濃度で顕著に現われた。

5) 修飾グルテンの魚肉ソーセージにおける利用を検討した結果、製品の Hardness、食感に改善が認められ、

乳化材として利用可能なことが示唆された。

本報告の概要は、52 年 11 月、日本栄養・食糧学会第 16 回近畿支部大会で発表した。

文 献

- 1) 森 一雄, 内藤恵一, 阿武尚彦: 栄養と食糧, 28, 201 (1975)
- 2) 阿武尚彦, 内藤恵一, 森 一雄: 栄養と食糧, 29, 165 (1976)
- 3) 稻神 馨, 古賀民穂: 九大農学芸誌, 22 (3), 225 (1966)
- 4) 高 栄泰, 柳田晃良, 菅野道廣: 農化, 49, 435 (1975)
- 5) Carpenter, K.J. (with Booth, V.H.): *Nutr. Abst. Rev.*, 43, 431 (1973)
- 6) Wu, C.H., Nakai, S. and Powrie, W.D.: *J. Agric. Food Chem.*, 24, 504 (1976)
- 7) Beckwith, A.C., Wall, J.S. and Dimler, R.J.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 103, 319 (1963)
- 8) Grant, D.R.: *Cereal Chem.*, 50, 417 (1973)
- 9) Kakade, M.L. and Liener, I.E.: *Anal. Biochem.*, 27, 273 (1969)
- 10) Acton, J.C. and Saffle, R.L.: *J. Food Sci.*, 35, 852 (1970)
- 11) 青木 宏, 長野宏子: 食工誌, 22, 320 (1975)
- 12) Finley, J.W.: *J. Food Sci.*, 40, 1283 (1975)
- 13) Franzen, K.L. and Kinsella, J.E.: *J. Agric. Food Chem.*, 24, 788 (1976)
- 14) Barman, B.G., Hansen, J.R. and Mossey, A.R.: *J. Agric. Food Chem.*, 25, 638 (1977)
- 15) Beuchat, L.R.: *J. Agric. Food Chem.*, 25, 258 (1977)
- 16) Gandhi, S.K., Schultz, J.R., Boughey, F.W. and Forsythe, R.H.: *J. Food Sci.*, 33, 163 (1968)
- 17) Sato, Y. and Nakamura, R.: *Agric. Biol. Chem.*, 41, 2163 (1977)
- 18) 阿武尚彦: 未発表
- 19) Groninger, H.S.: *J. Agric. Food Chem.*, 21, 978 (1973)
- 20) Bjarnason, J. and Carpenter, K.: *Br. J. Nutr.*, 23, 859 (1969)

(昭和 53 年 2 月 24 日受理)