大豆蛋白質のゲル形成に関する研究 (第 2 報)*

ゲル形成に影響をおよぼす二, 三の基本的因子について

青 木 宏 (味の素株式会社横浜工場)

昭和 39 年 9 月 30 日 受 理

緒 言

前報⁽¹⁾においては, 大豆蛋白質ゲルの食用品利用として, 歯による触感(chewiness)を目的とした, 比較的高濃度における大豆蛋白質のゲル形成状態を, 客観的に測定評価する方法につき検討した. 今回は食用品的な意味での基本因子, すなわち, 蛋白質濃度, 食塩濃度, pH, ゲル形成時の加熱条件, および原料脱脂大豆の変性度等が大豆蛋白質のゲル形成にいかなる影響を与えるか, 主として現象的な面の検討を行なったのでここに報告する.

試料および方法

1. 試料

脱脂大豆 A : 米国産イリノイ大豆からヘキサン抽出により大豆油を分別, 残渣の大豆ミールを蒸気加熱により脱溶剤した後乾燥したもの. このものの NSI (Nitrogen Solubility Index)⁽²⁾ は 50~55.

脱脂大豆 B : 原料大豆, ヘキサン抽出は上記のとおり. ただし, 大豆ミールの脱溶剤および乾燥は, 加熱することなく減圧下に常温で行なった. このものの NSI は 80~85. 本実験においてはとくにことわらない場合は脱脂大豆 B を原料として用いた.

2. 蛋白質ゲルの調製法

第 1 報⁽¹⁾の方法によった. なお, 攪潰時に添加する塩の濃度は, ペースト中の水分に完全に溶解したと仮定した場合の規定度で示した. また加熱は種々の温度の水浴中に試料を投入し, 試料中心部の温度上昇速度が約 3.5°/分でそれぞれ所定の温度に達した後, そのまま 30 分間保つ. 100°以上に加熱する場合は, オートクレーブにより第 1 報⁽¹⁾の方法によって行なった. また, ペーストを加熱してゲルを形成させる場合, 一般に第 1 図に示すよ

うな pH の変化をとまなう. すなわち, 塩酸凝固蛋白質ではペーストの pH が大体 5 を境として, それ以下の時は上昇しそれ以上の時は下降する. 塩化カルシウム凝固蛋白質では, pH 6 付近を境として大体同じような変化を示す. このような pH の変化は加熱温度によっても多少影響される. 本実験では表示の煩雑さをさけるため, 原則としてペーストの pH を基にして種々の性質を比較した.

第 1 図 ペーストを加熱した場合の pH の変化

○: 塩酸凝固蛋白質

△: 塩化カルシウム凝固蛋白質

加熱温度は 105°, 蛋白質 (N×5.71, 以下同じ) 濃度は約 20%

3. 物理的測定法その他

Penetrometer によるゲル強度の測定, および保水力の測定は, いずれも第 1 報⁽¹⁾の方法により行ない, 測定値は 3 点以上の平均値を用いた.

折れ試験: 直径 30~31 mm, 厚さ 5 mm の円板状の試料片を手で折り曲げた時の破壊の状態を観察し, 折れやすさに応じて次のように採点する. 試料片がわずかに彎曲したときに破壊するものを 1 ポイント, かなり彎

* Studies on the Gelation of Soybean Protein, Part II, On the Fundamental Factors Affecting the Gelation.

By Hiroshi AOKI (Yokohama Factory, Ajinomoto Co., Inc.)

曲した時に破壊するものを 2 ポイント, 試料片の両端が接触するまで彎曲したときに破壊するものを 3 ポイント, 全面が完全に接触するまで 2 つ折りに曲げたとき破壊するものを 4 ポイント, 同じく破壊しないものを 5 ポイント, さらに明かにこれよりも強い性質を示すものを 6 ポイントとする。測定値は 5 点以上の平均値を用いた。

この試験の測定結果は, 試料中の空泡によって主に影響をうけるが, この点に注意して試料を選べばかなりよい再現性を示す。補助的な手段として, 試料のもろさを相対的に比較するには, 操作の簡単なわりに有効な方法であり, とくに傾向の異なる試料間の比較には効果的である。

pH の測定: 試料, すなわち, 蛋白質ペーストあるいはゲル 5 g をとり乳鉢で 20 ml の水と均質に混合, 分散させたのち, ガラス電極 pH メーターにより測定した。

溶解度測定: 試料 20 g をとり乳鉢で水と均質に分散させた後全量を 100 ml とし, 60 分間振盪抽出を行なう。これを遠心分離後, さらに濾紙 (東洋濾紙 No. 5B) により残渣をわけ, 抽出液につき全窒素を測定する。溶解度は次式により計算した。

$$S = \left(\frac{N_2 \times W}{N_1} \right) \times 100$$

S: 溶解度 (%)

N_1 : 試料中の全窒素量 (g)

N_2 : 抽出液中の全窒素濃度 (%)

W: 分散液中の水分量 (g)

ただし, $N_2 \times W$ は厳密には全抽出窒素量よりもやや低い値となるが, 相対値の比較には無視できる程度のものであると考えられる。

4. 官能試験

第 1 報⁽¹⁾で選定したパネル・メンバーを用い, profile test 法により行なった。

実験結果

1. 大豆蛋白質のゲル形成におよぼす加熱の影響

加熱温度の影響: 塩化カルシウム凝固蛋白質を用い, 蛋白質 ($N \times 5.71$, 以下同じ) 濃度約 19.5% で塩類共存下の加熱温度の影響を試験した (第 2 図)。官能試験でもこの図と同様な傾向がみとめられ, 加熱温度の上昇に従って強さ, しなやかさが増加した。ただ塩化カルシウム共存の場合は 100° 以上が, また硝酸カルシウム共存の場合は 90° 以上が, それぞれ弾力的で歯切れのよいゲルを形成し, それ以下の温度ではいずれも粉っぽい, 脆い組織しか形成されないことがみとめられた。保水力は 90°

第 2 図 ゲル強度におよぼす加熱温度の影響

— 塩化カルシウム添加 (0.7N) ○: (α)
 硝酸カルシウム添加 (0.7N) △: (β)
 図中の数字は pH を示す。

第 3 図 保水力におよぼす加熱温度の影響

△—△ 塩化カルシウム添加 (0.7N)
 ○.....○ 硝酸カルシウム添加 (0.7N)

第 4 図 ゲル強度におよぼす加熱時間の影響

— 塩化カルシウム凝固蛋白質 ○: (α)
 硝酸凝固蛋白質 △: (β)

付近までは温度とともに増加するが、それ以上の加熱ではほとんど増加を示さなかった(第3図)。なお、この間の pH は第1図の中に記入したとおり、ほとんど変化しないことをみとめた。

加熱時間の影響 : 塩化カルシウム凝固蛋白質および塩酸凝固蛋白質を用い、試料中心部の温度が 90° に達してから保持時間とゲル強度との関係を試験した。塩化カルシウム凝固蛋白質の場合は 0.7 N の食塩を共存させ (pH 6.2~6.3)、また塩酸凝固蛋白質の場合は pH を 6.8 に調整してゲルを形成させた。蛋白質濃度は約 19.5 % (第4図)、官能試験によるゲルの強さも大体第4図に示す結果と同じ傾向を示し、30 分まで増加した後ほぼ一定となることをみとめた。ただ 15 分以下の加熱ではゲル形成が不十分であり、触感的に粉っぽい脆さが観察された。

加熱速度の影響 : 塩化カルシウム凝固蛋白質を用い、蛋白質濃度 21%, 0.7 N 硝酸カリウム共存下で試験した。種々の加熱速度で試料中心部の温度を 25° から 90° に加熱し、そのまま 30 分間保った場合のゲル強度の変化を第5図に示す。官能試験の結果でも図と同じ傾向がみとめられ、加熱速度が大きいほど、弾力的で強いゲル形成が観察された。なお、この間のゲルの pH は 6.1~6.2 でほとんど変化しなかった。

ゲル形成のための臨界温度におよぼす pH の影響 : 大豆蛋白質のゲル形成は、蛋白質濃度が 25% 以下では特殊の場合を除いて一定温度以上の加熱を必要とする。ゲル形成のために必要な最低加熱温度(臨界温度)がペーストの pH により変化する状態を示したのが第6図で

第5図 ゲル強度におよぼす加熱速度の影響
○: (a) △: (β)

第6図 ゲル形成時の臨界温度におよぼす pH の影響
●: もろいゲル ○: 中間的なゲル ○: 強いゲル

ある。塩酸凝固蛋白質の場合は蛋白質濃度約 21%, 塩化カルシウム凝固蛋白質の場合は約 20.5%, pH の調整は塩酸および水酸化ナトリウムを用いて行なった。一般に臨界温度は pH の増加により低下することがみとめられる。塩酸凝固蛋白質と塩化カルシウム凝固蛋白質とでは、蛋白質濃度の差を考慮に入れても、前者の臨界温度の方が後者のそれよりも全般的に低いところにあるものと思

第7図 ゲル強度におよぼす蛋白質濃度の影響
△: 脱脂大豆A (NSI: 51.5), a
▲: " ("), β
○: 脱脂大豆B (NSI: 80.5), a
●: " ("), β

第 8 図 折れ試験強度におよぼす蛋白質濃度の影響
△: 脱脂大豆A ○: 脱脂大豆B

第 9 図 蛋白質濃度によるゲルの pH の変化
○: NSI=80.8 △: NSI=51.0

われる。

2. 大豆蛋白質のゲル形成におよぼす蛋白質濃度の影響

脱脂大豆 A および B を原料とした塩化カルシウム凝固蛋白質を用い、0.7 N 食塩共存下にゲルを形成させた。加熱温度は 100°, 第 7, 8 図に示すように、蛋白質濃度の増加に従ってゲルの強さは増加することがみとめられた。また、第 8 図では脱脂大豆 B よりも脱脂大豆 A の方がより強いゲルを形成すること、および第 9 図では脱脂大豆 A からのゲルが脱脂大豆 B からのゲルより pH で約 0.2 も低い水準にあることがみとめられた。同時に蛋白濃度によって pH はほとんど変化しないことも観察された。

3. 大豆蛋白質のゲル形成におよぼす食塩濃度の影響

塩化カルシウム凝固蛋白質を用い、蛋白質濃度約 19% で食塩濃度を 0~3 N の間で変化させたときのゲル形成状態を試験した。加熱温度は 100° (第 10~13 図), ゲル強度測定結果および折れ試験結果から、食塩濃度 0.7 N 付近において最も弾力的で強いゲル形成が行なわれることをみとめた。官能試験においても上述の結果と同じ傾向がみとめられ、0.7 N 付近のものが最も強く歯切れのよい触感を示し、0.5 N 付近のものがこれに次ぎ、他

第 10 図 ゲル強度におよぼす食塩濃度の影響
○: NSI=80.2 △: NSI=51.5

第 11 図 折れ試験強度におよぼす食塩濃度の影響
○: NSI=80.2 △: NSI=51.5

第 12 図 蛋白質ペーストの保水力におよぼす食塩濃度の影響
NSI=80.2

第 13 図 食塩濃度によるゲルの pH の変化
○: NSI=80.2 △: NSI=51.5

はいずれも粉っぽく脆い組織であった。第 10 図において、破断応力 (α) が食塩濃度 0.25 N 以下で異常に高い値を示すが、これは折れ試験の結果からも明かなように、この領域のゲルは非常に脆く、また、しまった組織となっており、penetrometer による破断応力の値がゲルの強さとの相関性を失った状態にあるためと解釈される。

蛋白質ペーストの保水力は 0.7 N 付近で最高値を示し、ゲルの強さの順位とよく一致している。なお、以上の食塩濃度によるゲル形成状態の変化に pH は関与していないものと判断される (第 13 図)。

4. 大豆蛋白質のゲル形成におよぼす pH の影響

塩化カルシウム凝固蛋白質および塩酸凝固蛋白質を用

第 14 図 ゲル強度におよぼすペーストの pH の影響
○: 塩化カルシウム凝固蛋白質
△: 塩酸凝固蛋白質

第 15 図 折れ試験強度におよぼすペーストの pH の影響

○: 塩化カルシウム凝固蛋白質
△: 塩酸凝固蛋白質

第 16 図 保水力におよぼす pH の影響
(塩酸凝固蛋白質)
○: ペースト △: ゲル

第 17 図 蛋白質ペーストの溶解度におよぼす pH の影響

い、塩酸および水酸化ナトリウムによってペーストの pH を 2 から 9 付近まで変化させた場合のゲル形成状態を検討した。加熱温度は 90°, 蛋白質濃度は約 20% (第 14~17 図)。なお、第 15 図ではゲルの保水力もペーストの pH に対する値として示した。ゲル形成状態は pH 3.5~5.5 の領域をはさんで 3 つの型に分れる。第 1 の pH 3.5 以下の領域ではゲルはきわめて脆く、くずれやすいことをみとめた (第 14, 15 図)。ただ、この pH 域の蛋白質ペーストは非常に高い保水力 (第 16 図) と溶解性 (第 17 図) を示し、また、ペーストを加熱処理した後もかなり高い保水力を保っていた。第 2 の pH 3.5~5.5 の領域においては、非常にかたくしまった荒い粒子の集合体となり、脆い組織を形成した (第 14~15 図)。保水力も極端に低い (第 16 図)。なお、第 14 図の異常に高い破断応力の値は、さきの第 10 図において観察したと同様の理由によるものと思われる。第 3 の pH 5.5 以上の領域においては、全体的にみて保水力に富んだ弾力性のある組織を形成した。こまかく分ければ、この中も 3 つの段階に分かれる。第 1 段階はまだ 5.5 以下の pH 域の影響が残り、弾力不十分で粉っぽい触感があり、保水力も余り大きくない。第 2 段階では完全にさきの影響は消え、弾力性のある組織を形成し、保水力も増加する。すなわち、強力なゲル構造が形づくられる。第 3 段階ではさらに弾力性の増したものとなり、触感はむしろゴム状に近くなる。保水力は非常に高く、折れ試験でも極端な弾性を示す。溶解度はこの 3 段階を通じて pH の上昇とともに増加した。ただ、第 17 図において pH 7 以上では溶解度測定時に、全体が粘稠な均一系となり、実質的にはほとんど完全に溶解しているものと考えられた。破断応力は pH 9 以上において低下の傾向がみられたが (第 14 図)、官能試験結果では pH 8.5 以上ではほとんどゲルの強さに増加がみとめられない程度であった。

5. 大豆蛋白質のゲル形成におよぼす原料蛋白質の変性度の影響

大豆蛋白質のゲル形成状態が脱脂大豆蛋白質の NSI によって影響されるようすを、pH との関連において示したのが第 18 図である。この場合の蛋白質濃度は約 21.5%，加熱温度は 100°, pH はペーストのそれで比較した。pH が酸性側からアルカリ性側に移行するにつれて、ゲルの状態は前述 4 の場合と同様な変化をたどるが、蛋白質が脆い凝固体から弾力的なゲルへと変化するときの

第 18 図 ゲル形成時の臨界 pH におよぼす原料脱脂大豆蛋白質の変性度の影響

●: もろいゲル ◐: 中間的なゲル ○: 強いゲル

pH (ゲル形成のための臨界 pH) は、原料蛋白質の NSI によって明かに異なることがみとめられた。すなわち、塩化カルシウム凝固蛋白質の場合も塩酸凝固蛋白質の場合も、ともに NSI ≥ 50 の方が NSI ≥ 80 よりもゲル形成のための臨界 pH は常に低く、両者の間に pH にして約 0.5 の開きがみとめられた。

考 察

脱脂大豆を加熱すると一般に NSI は低下し、蛋白質は溶出しにくくなる。しかし脱脂大豆を十分の水とともに加熱すると、常温における水抽出の場合*と同様に蛋白質は熱水中に溶出する**。熱水に溶出した蛋白質と水に溶出した蛋白質とは、同じ水に溶けた状態にはあっても当然それらの性質は異っている。このことは粘度、混濁度、あるいは酸や塩類による凝固物 (蛋白質カード) の保水力の相異などからも観察され、また、電気泳動や超遠心分析の上からも明かにされている^(3,4)。このように大豆蛋白質の熱変性はかなり複雑であり、これを一面的に NSI のみで論ずることはもちろん不可能である。本実験ではゲル形成の状態を主として現象面で観察した関係上、従来大豆蛋白質の変性度を比較するのに最も一般的な尺度とされている NSI を便宜的に使用したが、厳密には大豆蛋白質の複雑な変性状態がそのゲル化に対しても

* NSI の高い脱脂大豆では抽水液の pH は 6.4~6.5 となる。

** 加熱の影響で抽出液の pH はやや低下し、pH 6.3~6.4 付近になるのが一般である。

と種々な面で影響していることは当然考えられるところである。この点の詳細はまだ不明であり、今後の検討が必要である。

ただ、本実験の結果から、NSI で示される変性と蛋白抽出時の熱変性とは、それぞれ別の面からゲル化に影響をおよぼしているものと推察される。というのは、NSI $\cong 50$ の脱脂大豆からの蛋白質は、NSI $\cong 80$ のそれに比してゲル形成に有利な状態にあり（第 8, 18 図）、触感的にも歯切れのよい弾力的なゲルが得られやすいが、この両者の差異を蛋白抽出時の熱処理（少なくとも第 1 報で予備試験として触れた 90° 達温加熱から 100° , 10 分保持加熱の範囲内で）の苛酷さによってちぢめることはできない。すなわち、NSI によって示される脱脂大豆中での変性は、ゲル化に与える影響という面から見た場合、これを熱水抽出時の加熱変性によって置き換えることはできないということである。大豆蛋白質では他の種子蛋白質と同様に、各 component 相互間に種々の会合を起すことが知られている⁽⁵⁻⁷⁾。大豆あるいは脱脂大豆中に各 component がどのような会合状態で存在するかは正確にはわかっていないが、原料中での変性によってこの存在状態が変化すること⁽⁸⁾、さらに、蛋白抽出過程における会合のようすが異なることは予想される。この面からも原料蛋白質の変性がとくにゲル形成に影響を与えると可能性は十分考えられる。

塩化カルシウム凝固蛋白質と塩酸凝固蛋白質との間には、第 4, 6, 14, 18 図等にも示されるように、種々の因子に対するゲル形成時の挙動として基本的差異はみとめられない。ただ、蛋白質濃度、pH、加熱条件などを同一にして比較した場合、両者の間には触感上若干の相異があり、塩化カルシウム凝固蛋白質の方がどちらかといえば、かたい感じになるのに対し、塩酸凝固蛋白質の方はしなやかな感じになる。触感上の特性をも含めた両者の間のこまかい相異についてまだ詳細は不明であるが、その説明はゲルの噛み具合 (chewiness) を制御していく上にも今後検討する必要があると考えられる。

要 約

比較的高濃度 (15% 以上) における大豆蛋白質のゲル

形成に影響を与える二、三の基本的因子について検討し、次の結果を得た。

(1) 大豆蛋白質のゲル形成は、一般に蛋白質を加熱するときの条件、すなわち、加熱温度、加熱速度、加熱時間などにより支配される。また、ゲル形成のために必要な最低加熱温度は、蛋白質ペーストの pH により変化する、pH の増加に従って低下する。

(2) 大豆蛋白質のゲル形成は、蛋白質濃度により影響され、一般に蛋白質濃度が増加するにつれてゲルの強さは増加する。

(3) 大豆蛋白質のゲル形成は共存する食塩濃度によって影響され、0.7 N 付近の濃度において最もつよいゲル形成がおこる。

(4) 大豆蛋白質のゲル形成は、pH によって影響され、pH 約 6.5 以上でのみ強いゲルが形成される。

(5) 大豆蛋白質のゲル形成は原料脱脂大豆蛋白質の変性度によって影響され、NSI $\cong 50$ のものの方が NSI $\cong 80$ のものよりもゲル形成に関して有利な状態にある。

終りに、本研究に発表の機会を与えられた味の素株式会社曾根原吉実横浜工場長、ならびに御懇篤な御指導を賜った北海道大学小幡弥太郎教授に厚く御礼申し上げます。また、終始御教示、御鞭撻くださいました食糧研究所渡辺篤二郎長、当社横浜工場大上清治課長ならびに実験を担当した塚本修二社員に併せて深謝いたします。

- (1) 青木 宏：本誌, 39, 262 (1965).
- (2) P. A. Belter, A. K. Smith : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 29, 170 (1952).
- (3) R. L. Mann, D. R. Briggs : *Cereal Chem.*, 27, 258 (1950).
- (4) 渡辺篤二, 中山 修：本誌, 35, 890 (1962).
- (5) D. R. Briggs, W. J. Wolf : *Arch. Biochem. Biophys.*, 72, 127 (1957).
- (6) W. J. Wolf, D. R. Briggs : *ibid.*, 76, 377 (1958).
- (7) W. J. Wolf, G. E. Babcock, A. K. Smith : *ibid.*, 99, 265 (1962).
- (8) W. J. Wolf : Proc. Seed Protein Conference, New Orleans, La., U. S. Dept. Agr. Res. Serv., p. 43 (1963).