小麦グルテンよりユバ状皮膜の生成について

渡 辺 研*・岡 本 奨*

On the Formation of Yuba-like Film from Wheat Gluten

KEN WATANABE and SUSUMU OKAMOTO

To elucidate the mechanism of the formation of Yuba-film, wheat gluten was applied instead of soybean protein, and the conditions of film formation, strength, strain and other properties of the film were studied. The Yuba-like films from gluten solution were formed under conditions as follows; at pH 10.2~12.5 and pH 4.9~2.2, or in the solution containing 3.3~4.0 M urea or 0.25~0.5% sodium dodecylbenzenesulfonate. It seems to be necessary that protein is completely solubilized and unfolded to a certain extent and that coagulation of protein molecules on the surface of the solution is not prevented. These conditions of solvents varied the properties of the film. Addition of 2-mercaptoethanol decreased the strength of the film from alkaline solution, while it increased the strength and decreased the strain of the film from urea solution. Addition of N-ethylmaleimide, the modifying reagent of sulfhydryl group, decreased the strength and increased the strain of the film. Remarkable differences were observed between the fractions of gliadin and glutenin on strength, strain and transparency of film. (Received Oct. 11, 1972)

豆乳より加熱によって生ずるユバ膜についての研究はきわめて少なく、これまではユバ膜の生成条件という面からの検討や、蛋白質のほか油脂、炭水化物およびリン脂質などの二次的成分のユバ膜への影響についての報告があるが¹⁾²⁾³⁾、生成の機構については未だ明らかではない。

この生成機構を知るため、大豆蛋白質以外の蛋白質について検討を加えているが、現在のところ落花生、魚肉、卵白、小麦などの蛋白質については一定 pH 範囲の溶液を加熱することによりユバ膜と同様な生成物が得られることがわかった。このうち、小麦グルテンは独特の粘弾性をもつ蛋白質であり、この粘弾性と S-S 結合との関連については数多く報告されている^{4)~7)}。本研究においても小麦グルテンの特徴的な物性に注目し、成膜の際の試料溶液の処理条件が膜質、とくに強伸度に及ぼす影響について検討し、生成機構の一端を明らかにしようとした。

実験方法

1. 実験材料

小麦グルテンとしては市販の分離グルテン (グリコ製 A-グル) を用いた。またグリアジンはこの分離グルテンより 70% アルコールで 4 回抽出した液を減圧濃縮し、2°C の水で沈殿・洗滌して得たものを乾燥することなく用いた。グルテニンとしては抽出残渣を水洗し、そのまま用いた。

2. ユバ状皮膜の生成

ユバ状皮膜の生成の諸条件は、なるべく豆乳よりユバを製造する際の諸条件に合わせた。すなわち、分離グルテンを種々の溶媒に 5% 濃度となるように溶かし、各 200 ml を直径 12 cm の蒸発皿に入れ、湯浴上で 80°C で静かに加熱した。加熱 30 分で液面に皮膜を生じるので第 1 枚目を採取し、さらに加熱をつづけ、以後 15 分ごとに 1 枚ずつとり出した。

グルテンの溶媒としては pH 7.0~12.5 の水酸化ナトリウム水溶液、pH 6.0~2.2 の塩酸溶液、1~4.5 M 尿素水溶液および 0.25~0.5% ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (DBS) 水溶液をえらび、これらについて皮膜生成時の状態および膜質を検討した。また必要に応じて還元剤として 0.06 M メルカプトエタノールを、

* 東京農工大学農学部農芸化学科 (東京都府中市幸町 3-5-8)

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tokyo Noko University, Fuchu, Tokyo.

第1図 引張試験装置の概要

SH 基修飾試薬として 0.04 M N-エチルマレイミド (NEM) をそれぞれ用いた。

液面より採取した皮膜はすぐに大量の水で洗い、乾燥せずに強伸度測定に供した。

3. 皮膜の強伸度の測定

強伸度測定にはインストロン型の引張試験機を試作して用いた。装置の概略は第1図に示した。下方のクリップは定速駆動を受けるクロスヘッドに接続され、上方のクリップにかかる張力は歪みゲージを通して記録計に伝達される。両クリップ間の試料片は適当な液体を入れたカップの中で操作される。

本実験ではまず条件を揃えるため第1枚目採取後15分間で生成した第2枚目の皮膜を用い、測定部分が幅5 mm、長さ10 mmとなるように帯状に裁断し、試料片とした。各試料片について室温水中での強伸度を測定した。このときの引張速度は2 mm/secとし、各10回以上の測定値より平均値を求めた。皮膜の厚さはマイクロメーターによって測定し平均値を求めた。破断応力はいもとの試料の断面積1 cm²あたりの応力に換算し、伸び率はこの応力1 g/cm²あたりの伸びの割合で示した。したがって伸び率は近似的にヤング率の逆数に相当するものである。

結 果

1. 皮膜生成に及ぼす溶媒の影響

ここで用いた各種溶媒において、成膜状態は、A. グルテンは沈殿することなく成膜状態良好である。B. グルテンが一部溶解し、1~2枚まで成膜するが、大部分は沈殿してしまう。C. グルテンはよく溶解しているが成膜が遅いかもしくは全く成膜しない。あるいは、D. 成膜せずグルテンが凝集し沈殿してしまう、という4つの段階で表した。

(1) 溶液の pH の影響

第1表に示したように、アルカリ性では pH 10.2 以

上でグルテンが均一に溶解、成膜状態がよく、溶液の最後まで皮膜を採取することができる。膜質は乳白色で大豆蛋白質からの皮膜に比べてかなり強く弾力性がある。pH 11.0 では成膜状態は良好であるが pH 10.2 の皮膜ほど弾力性はなく、黄色味を帯びた皮膜が得られた。さらにアルカリ性になると、pH 12.5 以上では生成した皮膜は著しく脆く、水中に入れると崩壊分散してしまう。

酸性側においても、pH 4.9 以下で均一なグルテン溶液が得られ、加熱によって成膜するが、膜質はアルカリ性での皮膜に比べて著しく弱く、また同一溶液においても枚数を重ねるに従って脆く水に分散しやすい皮膜となる。

(2) 尿素、DBS の影響

上記のように pH を調整して溶解するかわりに、尿素や DBS を一定濃度以上に加えることによってグルテンは中性附近でも溶解する。これを加熱したときの成膜状態は第2表および第3表に示した。尿素では 3.3~4 M

第1表 グルテンの成膜に及ぼす pH の影響

pH	成膜状態	膜 質
2.2	C	脆く水に分散しやすい 強度が小さい
3.0	A	
4.9	A	
5.1	B	
6.0	D	
7.0	D	
8.0	D	
9.0	B	薄くて弱い
10.2	A	強度が大・弾力性あり
11.0	A	強度が大・弾力性なし
12.5	C	軟かく水に分散しやすい

蛋白濃度 5%, pH 6.0 より酸性は HCl, アルカリ性は NaOH で調整

A: 成膜状態良好

B: 1~2 枚まで成膜し、残りは沈殿

C: グルテンは溶解しているが成膜しない

D: グルテンが沈殿し成膜しない。

第2表 グルテンの成膜に及ぼす尿素濃度の影響

尿素濃度 (モル)	成膜状態	膜 質
1.0	D	
2.0	D	
3.0	B	強度小さく、伸度大きい
3.3	A	強度小さく、伸度大きい (ゴム膜状によく伸びる)
4.0	A	
4.5	C	脆く水に分散しやすい

蛋白濃度 5%

A, B, C および D は第1表と同じ

第3表 グルテンの成膜に及ぼす DBS 濃度の影響

DBS 濃度(%)	成膜状態	膜 質
0.10	D	
0.15	D	
0.20	B	
0.25	A	強度小さく、伸度大きい (ゴム膜状によく伸び、ベタつく)
0.30	A	
0.40	A	
0.50	C	薄く、採取の際に破れやすい

蛋白濃度 5%

A, B, C および D は第1表と同じ。

第2図 各処理溶液からのグルテン皮膜の強伸度曲線

a: 尿素のみ, b: 尿素+NEM
c: 尿素+メルカプトエタノール
d: 尿素+メルカプトエタノール+NEM

引張速度 2 mm/sec (毎秒20%), 室温水中で測定

第4表 各処理溶液からのグルテン皮膜の性状

処理条件	厚さ (mm)	破断応力 $\times 10^2$ (g/cm ²)	伸び率 $\times 10^{-2}$ (cm ² /g)
U	0.065	11.1	0.44
U+NEM	0.065	3.1	0.64
U+m.e.	0.130	32.8	0.03
U+m.e.+NEM	0.125	20.7	0.07

U: 3.3 M 尿素, NEM: 0.04 M N-エチルマレイミド
m.e.: 0.06 M メルカプトエタノール

の範囲で成膜良好であるが、同一溶液においても枚数を重ねるに従って尿素濃度が高くなると表面に尿素が結晶し全く成膜しなくなる。DBS では 0.3~0.5% で成膜状態良好である。尿素や DBS を用いた皮膜はいずれもゴム膜状によく伸び強度が小さく、とくに後者は弱くてベ

第5表 グルテン、グリアジンおよびグルテニンの皮膜の性状

処理条件	試料	厚さ (mm)	破断応力 $\times 10^2$ (g/cm ²)	伸び率 $\times 10^{-2}$ (cm ² /g)
NaOH	G	0.09	28.7	0.06
	Gd	0.08	30.8	0.03
	Gn	0.11	28.2	0.06
NaOH+m.e.	G	0.07	22.3	0.03
	Gd	0.055	21.5	0.05
	Gn	0.12	15.0	0.06
U	G	0.065	11.0	0.44
	Gd	—	測定不能(流動)	—
	Gn	—	採取不能(分散)	—
U+m.e.	G	0.13	32.8	0.03
	Gd	0.11	38.5	0.02
	Gn	0.10	34.0	0.05

NaOH: NaOH で pH 10.2 に調整。U: 3.3 M 尿素

m.e.: 0.06 M メルカプトエタノール

G: 全グルテン, Gd: グリアジン, Gn: グルテニン

タついた。また両者ともにユバ膜独特のシワを生じないなど、膜質はアルカリ性溶液からのものと明らかな相違がみられた。

2. 皮膜生成に及ぼす還元剤および SH 基修飾試薬の影響

アルカリ皮膜と尿素皮膜のちがいは S-S 結合の関与があると思うので、還元剤と SH 基修飾試薬の影響を調べた。pH 10.2 のアルカリおよび 3.3 M 尿素溶液に 0.06 M メルカプトエタノールを添加して皮膜を生成させたところ第5表に示した膜質のものを得た。アルカリ溶液では添加により強度が2割ほど減少するが伸び率も約1/2に減少し、無添加より脆くなっている。尿素溶液では添加によって逆に強度は約3倍に増大し、アルカリ皮膜に比べても強くなっており、伸び率は約1/15に減少するなど、著しい変化を示した。

またグルテンの尿素溶液をメルカプトエタノールと反応させたのち、0.04 M NEM を添加して生成した皮膜は第2図のように、尿素のみからの皮膜に比べると強度は大きい、尿素とメルカプトエタノールからの皮膜より強度は減少し、約 1500 g/cm² 以上の応力で伸び率は増大し、全体の伸び率は約2倍になった(第4表)。

3. 粗分画蛋白質区分の成膜能

グリアジンおよびグルテニン区分はグルテンと同様に pH 10.2 のアルカリ性あるいは 3.3 M 尿素によってほぼ均一な水溶液となった。各溶液から生成した皮膜の性状を第5表に示した。

第3図 グリアジンおよびグルテンのユバ状皮膜
(いずれも尿素・メルカプトエタノール水溶液による)

アルカリ性で溶解した液からの皮膜はいずれもメルカプトエタノールを添加することにより強度が低下するが、グルテンに比べてグリアジンの方が強度が大きく伸び率が小さい皮膜ができた。

他方、尿素で溶解した液からの皮膜は、グルテンでは脆くて採取できず、グリアジンでは粘稠でベタつき、全体としてはじめの各蛋白区分の性状が膜質に現われているが、メルカプトエタノールの添加によって皮膜は著しく強度を増し、かつ伸び率の小さいものに変化した。とくにグリアジンの尿素・メルカプトエタノール溶液からの皮膜は最大の強度と最小の伸び率を示した。

また、いずれの場合にもグリアジン皮膜は第3図に一例として示したように湿潤状態ではほぼ無色透明であり、グルテン皮膜は乳白色で不透明であった。

考 察

分離グルテンからユバ状皮膜が生成するためには、一定 pH 範囲のアルカリ性および酸性溶液、一定濃度範囲の尿素あるいは DBS 溶液など、グルテンが溶液中においてはよく溶けていることが必要条件であるといえる。しかし酸性側で成膜したものはアルカリ性側のものに比べて膜質が脆弱であるのは S-S 結合開裂力の差異などにより unfold が不十分であることによると考えられる。また成膜には液面で蛋白分子がなんらかの結合力で凝集する必要があるが、尿素濃度がある程度以上高くなると再び成膜困難となるのは液面において凝集するときに水素結合による分子間の再結合が妨げられるためである。大豆蛋白質の場合も 1.0 M ですでに成膜阻止作用が現われる²⁾。

SH 基修飾試薬や還元剤添加の実験から、生成した皮膜の強伸度には蛋白分子中の S-S 結合による架橋の状態が大きく関与しているものと思われる。還元および再

酸化したときのグルテン分子の挙動についてはすでに BECKWITH, A. C.⁴⁾ の模式図が提起されているが、還元グルテンや各分画区分の成膜の際にも第4図に模式的に示したような挙動が推定される。すなわち還元により S-S 結合が開裂したグルテン分子は液面へ浮上する間あるいは液面において、S-S 交換反応や再酸化により、unfold の状態で分子間架橋を高度に形成するために、強度が大きく伸度の小さいものとなるのであろう。

また、アルカリ性溶液からの皮膜の性質は尿素溶液からのものと異なるが、pH 10.2 以上では SH 残基やカルボキシル残基などの多くが解離し、負の荷電による分子間の反発が成膜に不利に作用していることが考えられる。またこのような高い pH で加熱している際には、他の蛋白質について報告されているようなアミド基の脱離⁹⁾や、シスチン残基の分解¹⁰⁾などの一次構造の変化がグルテンにおいても起ることが考えられるが、これらの点については今後さらに検討する。

還元したグルテンとグリアジンからの皮膜には強度、伸度あるいは透明度などで差がみられるが、これは両者の分子の形状や unfold の状態が必ずしも同様でないことによるのであろう。

要 約

分離グルテンよりユバ状皮膜を生成する条件と、生成した皮膜の性質、とくに強伸度について検討し、次の結果を得た。

- (1) グルテンからユバ状皮膜を生成するには pH 10.2 ~ 12.5 のアルカリ性溶液、pH 4.9 ~ 2.2 の酸性溶液、

第4図 成膜の際の S-S 結合の挙動の推定図
---は水素結合を示す

3.3~4 M 尿素溶液あるいは 0.25~0.5% DBS 溶液など、グルテンが溶液中で均一に溶けて、かつ表面での分子間の結合を妨げないことが必要である。なお、溶解条件によって膜質はそれぞれ異なる。

(2) S-S 結合の還元剤とされているメルカプトエタノールを添加することにより、アルカリ性溶液からの皮膜は強度を若干低下させるが、尿素溶液からの皮膜は強度を著しく増大させ、かつ伸度を小さくする。

また SH 基修飾試薬を溶液に添加することにより皮膜強度は低下し伸度は増大する。

(3) グリアジンとグルテニンの両区分の間には各処理条件によって皮膜強度、伸度、透明度など膜質に明らかな差がみられる。

文 献

- 1) 岡本 奨・丸山美江子: 食品工誌, 13, (5), 184

(1966).

- 2) 岡本 奨: 食品工誌, 14, (4), 148 (1967).
3) Wu, L.C. and BATES, R.P.: *J. Food Sci.*, 37, (1), 36 (1972).
4) BECKWITH, A.C. and DIMLER, R.J.: *Federation Proc.*, 22, 348 (1963).
5) 松本 博: 大阪女子大学紀要生活理学編 第4号, p. 1 (1967).
6) EWART, J.A.D.: *J. Sci. Food Agric.*, 19, 617 (1968).
7) LASZTITY, R.: *Nahrung*, 13, 131 (1969).
8) 斎尾恭子・梶川昌弘・渡辺篤二: 食品工誌, 19, (7), 321 (1972).
9) DE GROOT, A.P. and SLUMP, P.: *J. Nutrition*, 98, 45 (1969).
10) CAVALLINI, D., FEDERICI, G., BARBONI, E. and MARCUCCI, M.: *Fed. Eur. Biochem Soc.*, 10, (2), 125 (1970).

(昭和47年10月11日受理)