酵母蛋白質, 大豆蛋白質およびカゼイン 濃厚溶液の粘弾性的性質

川崎 聖 司*・野村 男 次*

Viscoelastic Properties of Concentrated Solutions of Yeast Protein, Soybean Protein and Casein

SEISI KAWASAKI* and DANJI NOMURA*

The viscoelasticities of concentrated solutions of yeast protein, soybean protein and casein were investigated in order to clarify the fundamental rheological properties and the applicability to the theory of linear viscoelasticity. The results obtained were as follows: 1) The viscoelastic behavior of each protein sample was found to be applicable to "method of reduced variables", and the master curves of storage modulus (G') were obtained over a wide range of time scale. 2) The master curves were characteristic in each protein, resembling to each other among the same protein source. 3) Yeast protein and soybean protein were apt to form gel-like structure, suggesting the formation of cross-linkage. On the other hand, casein was acting very similarly to uncross-linked amorphous polymers. Their differences were especially apparent at terminal zone.

(Received Apr. 11, 1978)

現在、油糧種子を始めとする植物性蛋白質を利用してテクスチャーを有する肉類似食品の製造方法が広く研究されている^{1,2)}。特に大豆では既に種々の形態の食品が開発されている³⁾。この場合、製品の原料になるテクスチャーをもつ蛋白質は大別して粒状蛋白質と繊維状蛋白質に分類される。後者は適当濃度の蛋白質濃厚溶液(解膠液)をノズルから凝固液中に吐出延伸させて製造されるが、この蛋白質解膠液の性状はノズル径、凝固液組成および紡糸時の温度に影響を受ける。そして製法は製品の咀嚼性、繊維強度などにも関係する。

しかし、このような蛋白質解膠液の挙動はまだ十分に解明されておらず、合成高分子の分野における広範な研究^{4,5,6)}に比較すると、天然物としての構成成分が複雑なことなどが関与し、粘弾性流体として解析を行なった例は少ない⁷⁾。

著者らは酵母蛋白質を肉類似食品として加工する際の基礎的な知見を得るために大豆蛋白質や紡糸特性の優れ

たカゼインを比較試料として動的粘弾性の測定を行なった。そしてこれらの流動性の相違について検討し、現在合成高分子に認められている基本的な法則の適用性を考察した。

実験方法

1. 試料

カゼイン: 試薬一級(キシダ化学)を使用した。

酵母蛋白質: パン酵母(*Saccharomyces cerevisiae*, 鐘淵化学工業)を用いて Fig. 1 に示す方法により調製した。5 kg の压榨酵母を 12 l の 0.25% 水酸化ナトリウム水溶液に懸濁し、衝撃式細胞破碎装置(ICM®)で 700 kg/cm², 30 分処理した。その後 10,000 g, 30 分遠心分離し細胞壁などの不溶性残渣を除去した。上澄みは 2 N 塩酸で等電点沈殿(pH 4.5)させ、2 倍容の脱イオンで懸濁、遠心分離し洗浄を 2 回行なった後、アセトンにて脱水乾燥し供試酵母蛋白質(以下 SCP と略す)とした。

* 九州大学農学部 食糧化学工学科(福岡市東区箱崎)

Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka

Fig. 1. Preparation of yeast protein (SCP).

Fig. 2. Preparation of 7S and 11S protein.

大豆 7 S, 11 S 蛋白質: 市販脱脂大豆を Fig. 2 の方法^{9),10)}で抽出分離し, 供試大豆 7 S および 11 S 蛋白質とした。

これらの蛋白質の一般分析結果を Table 1 に示す。

2. 装置および測定法

(1) 蛋白質濃厚溶液 (アルカリ解膠液) の調製

所定濃度になるように蛋白質, 水酸ナトリウムおよび脱イオン水を秤量しブレンダー (ポリトロン PT 45 Kinematica) で 5 分間攪拌後遠心分離により脱泡した。解膠液は室温で 1 時間放置後測定に供した。

Table 1. Analytical Data of Samples

Sample	Protein (%)	Lipid (%)	Carbohydrate (%)	Ash (%)
Casein	97.9	0.8	1.2	0.2
Yeast protein	86.5	4.5	3.6	4.5
7 S Soybean protein	91.3	2.5	3.2	3.4
11 S Soybean protein	92.4	2.2	2.9	3.2

Protein: Kjeldahl method ($N \times 6.25$)

Lipid: Soxhlet method chloroform-methanol (1:1)

Carbohydrate: Phenol-sulfuric acid method

(2) 動的粘弾性の測定

動的粘弾性の測定には共軸二重円筒型レオメーター (岩本製作所) を用い, 一定温度において周波数を 0.002 Hz から 1.0 Hz まで変化させ周波数依存性を求めた。測定温度は 5, 15, 30, 45, 60, 75°C を設定し, 試料の測定可能上限温度まで行なった。なお試料の組成比率によっては高温での経時変化を考慮に入れる必要があるもの

もみられたが, 実験では, 設定温度における測定時間内での供試試料の物性値の変化が無視できることを確認して測定を行なった。貯蔵弾性率 (G'), 損失弾性率 (G''), 動的粘性 (η') は MARKOVITZ の式の近似式¹¹⁾より算出した。

実験結果および考察

1. 換算変数法の適用性

一般に無定形高分子の粘弾性的性質が依存する時間と温度との二つの主要な変数を分離して, それぞれ単一の関数として表わす方法に換算変数法がある。これには WLF 式¹²⁾がよく用いられるが, 得られた蛋白質

Fig. 3. Storage modulus of protein solution (30% casein 1.0% NaOH), plotted logarithmically against frequency at 5, 15, 30, 45, 60 and 75°C, respectively (open circles), and its master curve reduced to 30°C with horizontal shift as indicated (black circles).

解膠液の粘弾性関数に対してこの経験則の適用性を検討した。

Fig. 4. Temperature dependence of shift factor a_T used in plotting Fig. 5-1, 2, 3, points chosen empirical curve from WLF equation.

Casein (%)	NaOH (%)	SCP (%)	NaOH (%)
a: 36	1.0	f: 20	1.5
b: 30	1.0	j: 18	1.2
c: 24	1.0	k: 18	1.4
d: 20	1.0	l: 18	1.8
e: 18	1.0	m: 20	2.2
Soybean 7S	NaOH (%)	Soybean 11S	NaOH (%)
q: 24	2.0	n: 24	2.0
r: 22	2.0	o: 22	2.0
s: 20	2.0	p: 20	2.0

各測定温度において得られた G' を基準温度 30°C としにかさね合わせを行なった。カゼイン 30%，水酸化ナトリウム 1.0% について時間軸に沿って各温度の曲線を移動させ基準温度曲線の上に重ね合わせた場合を Fig. 3 に示した。図のようにかさね合わせた曲線は良好な一致がみられた。また他の結果についても同様であった。このときの合成曲線の妥当性について調べるために移動量 a_T と温度 T との関係を検討した。実験で求めた a_T のデーターを一つの調整可能なパラメーターをもつ WLF 型の式に適合させるために多くの合成高分子において成立することが認められている次式を用いた。

$$\log a_T = -8.86(T - T_s) / (101.6 + T - T_s)$$

この適合は測定温度 T に対する $\log a_T$ のプロットを上式の標準曲線に対して水平および垂直移動を行なって合わせた。この結果 Fig. 4 にみられるように曲線と実験値はかなりよく一致することが認められ移動量 a_T の妥当性が示された。またこのとき得られた合成曲線は良好な一致をみた。カゼインは曲線の広い範囲にわたって分布しており、SCP や大豆蛋白質においては a_T がそれより大きくなる結果が得られた。この移動量の差は実験の制約上に起因するものと考えられるが基本的には蛋白質濃厚溶液系において時間-温度の換算則が成立することが認められた。しかし上式は基準温度 (T_s) を媒介としたものであり、その評価および定数 8.86, 101.6 についてはさらに検討の必要があろう。

2. 蛋白質解膠液の粘弾性的挙動

換算変数法により合成した各蛋白質のマスターカーブを Fig. 5-1, 2, 3 に示した。カゼインの場合、1.0% 水酸化ナトリウムに対して 18% から 30% まで解膠させた時の曲線はいずれも同様な傾向がみられた。粘弾性挙動の特徴は橋かけのない高分子と類似しており¹⁸⁾、図における終端領域の勾配は約 2 で、転移領域では約 0.5 であった。

SCP はカゼインに比較して同量の蛋白質の解膠に要する水酸化ナトリウムの割合が多く、種々の比率で解膠させてもカゼインのような流動性は得られなかった。またアルカリ量が少ないとゲルを形成しやすく、一方過多では液滴状になった。Fig. 5-2 において f の組成のように測定の温度範囲でゲルを形成しているものや、 j, k のように温度が上昇すればゲル構造が解離されて流動性を有するような現象がみられた。

Fig. 5-1. Storage modulus of casein reduced to 30°C, symbol as indicated in Fig. 4.

Fig. 5-2. Storage modulus of SCP reduced to 30°C, symbol as indicated in Fig. 4.

一般に橋かけ系、またはゲル^{14,15)}においては弾性率が周波数とともにわずかしき変化せず、永久的な化学的橋かけをもつゲルでは擬平衡領域の弾性率が絶対温度に比例することが知られている¹⁶⁾。SCP では橋かけが温度の上昇とともに解離し、それに対応して G' は低下した。一方 l や m は常温でゲルを形成せず流動性を有した組成であるが、これはこの測定温度範囲で橋かけが解離しているためであろう。

大豆 7 S, 11 S 蛋白質の粘弾性関数は SCP と同様に G' の周波数依存性が少なく Fig. 5-3 のようになだらかな曲線となりその勾配は SCP よりもゆるやかであった。また 11 S 蛋白質は 7 S 蛋白質よりも同一調製条件では G' が高くなる傾向がみられたが、これは分子量の差に起因しているためと考えられる。

これらの結果から Fig. 5-1, 2, 3 にみられるように粘

Fig. 5-3. Storage modulus of soybean 7S and 11S protein reduced to 30°C, symbol as indicated in Fig. 4.

弾性挙動は測定試料に対し、各々の蛋白質について類似した曲線群として近似された。そしてこれらは蛋白質の種類や分離調製条件に特徴的であった。解膠液の粘弾性挙動は観測時間の相違により見かけの物性を異にするが基本的には各々の蛋白質について同様の性質を示すことになる。

3. 動的粘性

押し出し延伸操作と密接な関係をもつのは粘性要素であるが¹⁷⁾, Fig. 6-1, 2, 3 のようにカゼイン 30%, 水酸化ナトリウム 1.0% を例にとると, η' の周波数依存性は測定温度によりかなり異なった傾向を示した。温度 5°C では η' の勾配はほぼ -1 であるが、測定温度が上昇するにつれて勾配はゆるやかになり、30°C, 45°C の場合低周波数域になるほど一定値に近づいた。60°C, 75°C ではほぼ一定となり極限粘度に等しくなった。

Fig. 6-1. Dynamic viscosity of casein.

Fig. 6-2. Dynamic viscosity of SCP

Fig. 6-3. Dynamic viscosity of 11S protein.

SCP (Fig. 6-2) では G' の変化が小さい領域では η' の勾配は -1 に近くなるが、図のようにゲルが解離して流動性を有するものでも η' は一定値に達せず 45°C にみられるように低周波数域になるほどわずかずつではあるが上昇した。

大豆蛋白質 (Fig. 6-3) も同様の現象がみられたが 7 S, 11 S 蛋白質の間には顕著な差はなかった。

要 約

酵母蛋白質、大豆蛋白質およびカゼイン濃厚溶液の動的粘弾性を測定してその流動特性の相違につき検討をおこない、次の結果を得た。

各蛋白質の粘弾性挙動には基本的に G' について換算

変数法が適用でき、長いタイムスケールにわたる合成曲線が得られた。これらは各蛋白質において特徴的な傾向を示し、同一種の蛋白質では類似した挙動がみられた。酵母蛋白質は大豆蛋白質と同様にゲルを形成しやすく、橋かけ高分子としての特徴を示した。一方カゼインには橋かけのない高分子としての現象がみられた。両者の差は特に終端領域で顕著であった。

文 献

- 1) NAISMITH, W.E.F. and THOMSON, R.H.K.: *J. Appl. Chem.*, **5**, 192 (1955).
- 2) BALMACEDA, E. and RHA, C.: *J. Food Sci.*, **39**, 226 (1974).
- 3) HORAN, F.E.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **51**, 67A (1974).
- 4) HERSH, S.P., HIGGINS, T.D. and KRAUSE, H.W.: *J. Appl. Polymer Sci.*, **7**, 411 (1963).
- 5) HOLMES, L.A., KUSAMIZU, S., OSAKI, K. and FERRY, J.D.: *J. Polymer Sci.*, A-2, **9**, 2009 (1971).
- 6) ONOGI, S., KIMURA, S., KATO, T., MASUDA, T. and MIYANAGA, N.: *J. Polymer Sci.*, C, No. 15, 381 (1966).
- 7) 早川 功・グエン ジー カイ・野村男次: 酸工誌, **51**, 677 (1973).
- 8) HAYAKAWA, I., KHAI, N.D. and NOMURA, D.: *J. Ferment. Technol.*, **51**, 677 (1973).
- 9) KOSHIYAMA, I.: *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 858 (1965).
- 10) SAIO, K., KAJIYAMA, M. and WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 890 (1971).
- 11) 高分子学会レオロジー委員会編: レオロジー測定法, 昭和 43 年版 (共立出版) p. 55 (1968).
- 12) WILLIAMS, M.L., LANDEL, R.F. and FERRY, J.D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3701 (1955).
- 13) FREDRICK, J.E., TSCHOEGL, N.W. and FERRY, J.D.: *J. Phys. Chem.*, **68**, 1974 (1964).
- 14) TRAUB, W. and PIEZ, K.A.: *Adv. Protein Chem.*, **25**, 243 (1971).
- 15) 永沢 満・山下雄也編: 高分子物性と分子構造, 化学増刊 58 (化学同人) p. 89 (1973).
- 16) FERRY, J.D.: *Viscoelastic Properties of Polymers* 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York. p. 599 (1970).
- 17) INAGAKI, H.: *J. Colloid Sci.*, **11**, 226 (1956).

(昭和 53 年 4 月 11 日受理)