報 文

大豆タンパク質溶液の誘電的性質に及ぼす
電解還元処理の影響†

米 安 実*・三浦芳助*

Effect of Electrolytic Reduction on Dielectric Properties
of Soybean Protein Solution

(Food Technological Studies on Gelation of Soybean Protein Part V)

Minoru KOMEYASU* and Yoshisuke MIURA*

* Hiroshima Food Research Institute, 12-70, Hijiya-honmachi, Hiroshima-shi, 730

The effect of electrolytic reduction on the dielectric properties of the acid precipitated protein solution prepared from "old soybean" stored at 40°C (R.H. 75%) for 30 days was investigated. The electrolytic reduction current was set at 10 mA (current density, 2.5 mA/cm²). 1) The dielectric constant and dielectric increment of the solution had maximum values at 120 minutes after the start of electrolytic reduction. On further application, they decreased gradually. 2) The dielectric constant showed high frequency dependence and the anomalous dispersion was found in the frequency range from 1 to 10 MHz/sec. 3) The dispersion of the dielectric loss had a well-defined shape with a single peak between 1 and 3 MHz/sec. With the application time of electrolytic reduction, the peak once shifted toward lower frequencies, and then higher ones. 4) In the frequency range from 10 to 100 MHz/sec, the specific conductance appeared to depend on frequency and the frequency dependence increased with the application time of electrolytic reduction. 5) A plot of dielectric constant against dielectric loss at each frequency showed semi-circle in agreement with the equation of Cole and Cole. The dipolemoment μ , and mean dielectric relaxation time τ_0 and its distribution parameter α had maximum values at 120 min-electrolytic reduction. On further application, they decreased gradually.

(Received Jan. 9, 1982)

大豆は重要なタンパク源として、広く加工利用されているものであるが、流通や貯蔵の過程でタンパク質の加工特性が劣化し、製品の収率や品質の低下を招きやすいという難点を有している。特に、高温高湿度で貯蔵した大豆では、タンパク質がSS結合等によって会合し、窒素溶解指数(NSI)や凝固性の低下を引き起こすことが示

唆されている¹⁾。大豆の電解還元処理は、電気分解によって生じる陰極付近の還元状態を利用して、主として大豆タンパク質に生じたSS結合を切断し、加工特性の改善を図ろうとするものである²⁾。電解還元処理によって、脱脂大豆水抽出液中の遊離のSH基が増加し、超遠心沈降パターンが変化するとともに、大豆のNSIや豆

† 大豆タンパク質のゲル化に関する食品工学的研究(第5報)(前報, 文献18))

* 広島県食品工業試験場(〒730 広島市南区比治山本町12-70)

乳の凝固性が増大することなどが認められた⁸⁾。大豆の合理的な電解還元処理技術を確立するためには、処理条件と効果の相関関係を明確にする必要がある。そのためには、まず、電解還元処理によって大豆タンパク質に生じる上記の変化の実態を明らかにすることが先決と考えられる。これらの変化は、大豆タンパク質分子の形状と無関係とは考えられない。特に、遊離のSH基の増加は、大豆タンパク質分子の電荷の分布状態にも変化を引き起こすことが予測され、こうした変化は、大豆タンパク質分子全体の双極子モーメントの変化や誘電分散における挙動として検出されることが推察される。タンパク質分子の形状を解析する手段としての誘電率の測定は、古くから行なわれており⁴⁾⁵⁾、カタラーゼ⁶⁾、ミオグロビン⁶⁾、アルブミン⁶⁾⁷⁾、ヘモグロビン⁸⁾⁻¹²⁾等について、分子の形状変化や酸化機構の解明に応用され、成果をあげている。

本研究は、電解還元処理が大豆タンパク質に及ぼす作用の実態を明らかにするための手掛かりを得ることを目的として、貯蔵大豆から調製した酸沈殿タンパク質溶液の誘電的性質に及ぼす電解還元処理の影響について検討した。

実験方法

1. 供試大豆

1979年12月に入手した米国産オハイオ大豆(1979年度産)を、40°Cの恒温器中に収納した食塩飽和デシケーター(関係湿度、75%)中で30日間貯蔵したのち供試した大豆のNSIは、貯蔵によって88から69に低下した。

2. 酸沈殿タンパク質溶液の調製

大豆をWILEY粉砕器で微粉化し、石油エーテル(沸点、30~60°C)を用いて、ソックスレー抽出器中で約40時間脱脂した。得られた脱脂大豆粉末に10倍量の脱イオン水を加えて、30°Cの恒温水槽中で1時間かくはん抽出した。ついで、15,000 rpmで30分間遠心分離したのち、上澄をガラスフィルター(G-3)で濾過して得た濾液を脱脂大豆水抽出液とした。脱脂大豆水抽出液に1N塩酸を加えてpH 4.5とし、5,000 rpmで10分間遠心分離して、上澄を除去した。脱イオン水への分散と遠心分離を3回繰り返して、沈殿を洗浄したのち、脱イオン水に分散させ、1N水酸化ナトリウムでpH 7.0に調節して、酸沈殿タンパク質溶液(タンパク質濃度、1.3%)とした。

3. 酸沈殿タンパク質溶液の電解還元処理

電解還元装置は、前報³⁾と同じものを使用した。白金製の陰極を挿入した100 ml容のビーカーにかくはん子と酸沈殿タンパク質溶液100 mlを入れ、これと塩橋で接続した電解液(0.4 M食塩水溶液)に挿入した白金製の陽極との間に直流電圧を印加して、10 mAの電流(電流密度、2.5 mA/cm²)を流し、電解還元処理を行なった。

4. 誘電特性の測定

誘電率(ϵ')および誘電損失(ϵ'')の測定は、並列T型回路で構成したブリッジ(フジソク製、3型誘電体損測定器)を用いて行なった。測定は20°Cの恒温で、1~150 MHz/secの周波数範囲で行なった。

電気伝導度 $k - k_0$ (moh·cm⁻¹) は、次式⁵⁾¹³⁾から求めた。

$$k - k_0 = \frac{\epsilon'' f}{1.80 \times 10^{13}}$$

ここで、 ϵ'' は誘電損失、 f は周波数(Hz/sec)を示す。

誘電率増加度 $\Delta\epsilon'$ は、一般に、溶液の誘電率 ϵ' の、同じ状態における溶媒の誘電率 ϵ^0 よりの増加 ($\Delta\epsilon' = \epsilon' - \epsilon^0$) として定義される⁵⁾。本実験では、大豆タンパク質溶液の誘電率から、同一周波数で測定した脱イオン水の誘電率を差し引いた値を誘電率増加度とした。

誘電分散曲線の特徴づける ($\epsilon_0' - \epsilon_\infty'$)、誘電緩和時間 τ_0 および誘電緩和時間の分布係数 α は、COLE-COLEプロット¹⁴⁾から求めた。すなわち、 ϵ'' と ϵ' をそれぞれ縦軸と横軸にとり、測定周波数ごとにプロットすると、 ϵ' 軸の下に中心を持つ円弧になるので、 ϵ_0' と ϵ_∞' は円弧が ϵ' 軸を切る点から、 τ_0 は $\epsilon' = (\epsilon_0' + \epsilon_\infty')/2$ に対応する周波数 f_c から $\tau_0 = 1/2\pi f_c$ によって、また、 α は円弧が ϵ' 軸を切る点と円弧の中心を結ぶ線が ϵ' 軸となす角 ($\pi/2$) から、それぞれ求めた。

双極子モーメント μ は、次式¹⁵⁾から求めた。

$$\mu^2 = \frac{9000 k T M (\epsilon_0' - \epsilon_\infty')}{4\pi N g b}$$

ここでは、 k はボルツマン定数、 N はアボガドロ数、 M は分子量、 g は溶液 1 l 中のタンパク質のグラム数、 b は定数を示す。 b の値は、ONCLEY¹⁵⁾がグリシンの双極子モーメントを基礎にして求めた 5.8 を採用した。

実験結果

1. 誘電分散

電解還元処理時間が大豆タンパク質溶液の誘電率に及ぼす影響を Fig. 1 に示した。大豆タンパク質溶液の誘電率は、電解還元処理時間開始後 120 分程度までは、処

Fig. 1 Variations in dielectric constant of soybean protein solution during electrolytic reduction

(1) 1 MHz/sec; (2) 3 MHz/sec
Electrolytic reduction current was 10 mA
(current density, 2.5 mA/cm²)

Fig. 2 Dielectric dispersion curves for soybean protein solution at 20°C

The protein solution was reduced electrolytically under the various conditions: electrolytic reduction current, 10 mA (current density, 2.5 mA/cm²); electrolytic reduction time, (1) 0 min; (2) 60 min; (3) 120 min; (4) 180 min

理時間が長くなるほど増大し、その後、処理時間の経過とともに減少することが認められた。この傾向は、1~150 MHz/sec の周波数領域では、周波数が低いほど顕著であった。

電解還元処理をした大豆タンパク質溶液の誘電分散曲線を Fig. 2 に示した。大豆タンパク質溶液の誘電率は、かなり高い周波数依存性を示した。すなわち、大豆タンパク質溶液の誘電率は、周波数が高くなると急激に減少し、100 MHz/sec 付近で、溶媒である水の誘電率にほぼ等しい値を示すことが認められた。

Fig. 3 The dispersion of dielectric loss of the soybean protein solution at 20°C

The protein solution was reduced electrolytically under various conditions. Electrolytic reduction conditions were essentially the same as those in Fig. 2

Fig. 4 The dispersion of specific conductance of the soybean protein solution at 20°C

The protein solution was reduced electrolytically under the various conditions. Electrolytic reduction conditions were essentially the same as those in Fig. 2

2. 誘電損失

電解還元処理をした大豆タンパク質溶液の誘電損失と周波数との関係を Fig. 3 に示した。各タンパク質溶液とも、1~3 MHz/sec の周波数領域で誘電損失の最大値を示すピークが認められた。このピークに対応する周波数は、電解還元処理時間の増加とともに、いったん低周波数領域に移動し、その後再び高周波数領域にもどることが認められた。

3. 電気伝導度

電解還元処理をした大豆タンパク質溶液の電気伝導度と周波数との関係を Fig. 4 に示した。大豆タンパク質

溶液の電気伝導度は、高い周波数依存性を有し、10~100 MHz/sec の周波数領域では、電解還元処理時間の違いによって、電気伝導度がかなり異なることが認められた。

4. 誘電率増加度

大豆タンパク質溶液を電解還元処理した際の処理時間

Fig. 5 Variations in the dielectric increment of the soybean protein solution with the time of electrolytic reduction at 20°C

Curves 1, 2 and 3 were obtained at the frequency of 1 MHz/sec, 3 MHz/sec and 10 MHz/sec respectively

と誘導率増加度との関係を Fig. 5 に示した。大豆タンパク質溶液の誘電率増加度は、処理時間が100~120分の付近で極大になることが認められた。また、1~150 MHz/sec の周波数領域では、周波数が低いほど大豆タンパク質溶液の誘電率増加度が大きいことが認められた。

5. 双極子モーメントと誘電緩和

各タンパク質溶液について、周波数ごとに誘電損失を誘電率に対してプロットしたものを Fig. 6 に示した。各プロットは、ほぼ同一円周上に並び、円の中心は ϵ' 軸の下にあることから、大豆タンパク質溶液が COLE-COLE の円弧則¹⁴⁾に従うことが認められた。

Table 1 Variations in the dielectric increment, dipole moment, relaxation time and COLE-COLE parameter of the soybean protein solution during electrolytic reduction

Electrolytic reduction time (min)	0	30	60	90	120	150	180	210
$(\epsilon'_0 - \epsilon'_\infty)/g$	6.25	6.73	8.03	8.94	10.15	9.53	8.47	8.41
μ (debye)	3900	4000	4400	4600	4900	4700	4500	4400
τ_0 ($\times 10^{-8}$ sec)	6.9	7.1	8.8	9.5	10.0	9.7	9.4	9.3
α	0.13	0.15	0.25	0.27	0.30	0.29	0.28	0.26

Fig. 6 COLE-COLE plots of the data obtained at several electrolytic reduction time

(1) 0 min; (2) 60 min; (3) 120 min; (4) 180 min. The small numbers in each graph are the frequencies in megahertz. The temperature was 20°C

各大豆タンパク質溶液の COLE-COLE プロットから求めた誘電率増加度 $(\epsilon'_0 - \epsilon'_\infty)/g$ 、双極子モーメント μ 、誘電緩和時間 τ_0 および誘電緩和時間の分布係数 α を Table 1 に示した。大豆タンパク質溶液の双極子モーメント、誘電緩和時間および誘電緩和時間の分布係数は、電解還元処理時間の増加にともなって増大し、処理時間が120分の付近で極大を示したのち、ゆるやかに減少することが認められた。

考 察

大豆タンパク質溶液は、1~10 MHz/sec の周波数領域で誘電率が急激に減少する。いわゆる誘電率の異常分散⁵⁾¹⁶⁾を生じることが認められた。誘電率の異常分散は、電場の周期が誘電緩和時間と同程度になっ

たときに生じる。誘電緩和時間は、電場に対して完全に配向した分子が $1/e$ だけ元の不規則状態にもどるのに要する時間で、一定温度においては、溶媒の粘度、双極子の大きさ、形に関係するといわれている¹⁵⁾。大豆タンパク質の誘電緩和時間は、 6.9×10^{-8} sec で、同じように水溶液状態で測定されたウマのカルボキシヘモグロビン (8.4×10^{-8} sec)¹⁶⁾ や血清アルブミン (7.5×10^{-8} sec)¹⁷⁾ と同程度であった。一方、COLE-COLE プロットから得られた誘電率増加度をもとに、ONCLEY¹⁵⁾ の方法に従って算出した大豆タンパク質の双極子モーメントは 3,900 debye で、ウマのカルボキシヘモグロビンの 470 debye¹⁶⁾ や血清アルブミンの 380 debye¹⁷⁾ に比べると非常に大きい値を示すことが認められた。これらのことが、大豆タンパク質分子の特殊性によるものかどうかは、現段階では全く不明であり、今後さらに試験を行なって検討するつもりである。

本実験の範囲内では、大豆タンパク質の双極子モーメント、誘電緩和時間、誘電緩和時間の分布係数は、いずれも、電解還元処理時間の経過にともなって増大し、120 分の処理時間で最大となったのち、減少することが認められた。また、大豆タンパク質溶液中の遊離の SH 基量は、電解還元処理時間の経過にともなって増加し、処理時間が 120 分を越えても増加し続けるが、グルコノデルタラクトンによるゲル (GDL ゲル) のかたさは、処理時間が 120 分のとき最大となり、さらに処理時間が経過すると、減少することが認められた¹⁸⁾。大豆タンパク質溶液中の遊離の SH 基量は、GDL ゲルのかたさと高い相関のあることが知られている¹⁹⁾。一方、GDL ゲルの形成においては、pH の低下にともなう実効荷電の減少によって、タンパク質分子が接近して分子間相互反応を起こし、SS 結合、疎水結合、水素結合などを引き起こすことが示唆されている²⁰⁾。大豆タンパク質溶液を電解還元処理すると、処理時間の経過にともなって遊離の SH 基が増加する一方、他の解離基の増加や電荷分布のかたよりが進行し、処理時間が 120 分のあたりで誘電的に最も複雑な分子状態になることが推察される。さらに処理時間が経過すると、還元作用による大豆タンパク質分子全体の同種荷電への整合が進み、大豆タンパク質分子どうしの接近が困難となり、各種の結合が阻害されるために、GDL ゲルのかたさが減少するのではないかと考えられる。大豆タンパク質のゲル形成には、サブユニットへの解離会合反応が密接に関係していることが示唆されており²¹⁾²²⁾、電解還元処理が大豆タンパク質のゲル形成に及ぼす影響については、この方面からさらに追究する

必要がある。

要 約

貯蔵大豆から調製した酸沈殿タンパク質溶液の誘電的性質に及ぼす電解還元処理の影響について検討した。

(1) 誘電率および誘電率増加度は、電解還元処理時間の経過にともなって、いったん増大したのち、減少することが認められた。

(2) 誘電率は、高い周波数依存性を有し、1~10 MHz/sec の周波数領域で異常分散を生じることが認められた。

(3) 誘電損失の分散曲線は、1~3 MHz/sec の周波数領域に最大値を有し、そのピーク周波数は、電解還元処理時間の経過にともなって、いったん低周波数側に移動したのち、高周波数側にもどることが認められた。

(4) 電気伝導度は、高い周波数依存性を有し、10~100 MHz/sec の周波数領域では、電解還元処理時間の違いによって、電気伝導度がかなり異なることが認められた。

(5) 誘電損失と誘電率を周波数ごとにプロットしたものに COLE-COLE の円弧則を適用して求めた双極子モーメントと誘電緩和時間およびその分布係数は、電解還元処理時間の経過にともなって、いったん増大したのち、ゆるやかに減少することが認められた。

本報告の概要は、昭和 55 年度日本農芸化学会西日本支部大会 (松山市) で発表した。

文 献

- 1) 斎尾恭子・有坂将美: 日食工誌, **25**, 451 (1978).
- 2) 米安 実・三浦芳助・酒井宏美: 発明名称 "大豆タンパク質の通電処理方法", 特許番号第1077548号 (1981).
- 3) 米安 実・三浦芳助: 日食工誌, **28**, 41 (1981).
- 4) ONCLEY, J. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 1115 (1938).
- 5) 白井道雄・長倉三郎: 蛋白質化学, **2**, 水島一郎・赤堀四郎編 (共立出版, 東京), p. 305 (1954).
- 6) TAKASHIMA, S.: *J. Polym. Sci.*, **56**, 257 (1962).
- 7) TAKASHIMA, S.: *Biachim. Biophys. Acta*, **79**, 531 (1964).
- 8) TAKASHIMA, S.: *J. Am. Chim. Soc.*, **78**, 541 (1956).
- 9) TAKASHIMA, S. and LUMRY, R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 4238 (1958).
- 10) TAKASHIMA, S. and LUMRY, R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 4244 (1958).

- 11) TAKASHIMA, S. and LUMRY, R.: *Biochim. Biophys. Acta*, **33**, 576 (1959).
- 12) TAKASHIMA, S.: *Biochim. Biophys. Acta*, **51**, 260 (1961).
- 13) 杉浦嘉彦：蛋白質・核酸・酵素，**10**, 870(1965).
- 14) COLE, K. S. and COLE, R. H.: *J. Chem. Phys.*, **9**, 341 (1941).
- 15) ONCLEY, J. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 1115 (1938).
- 16) 岡本重晴：高分子実験学講座，**4**，高分子学会編（共立出版，東京），p. 174 (1961).
- 17) ONCLEY, J. L.: *J. Phys. Chem.*, **44**, 1103(1940).
- 18) 三浦芳助・米安 実：日食工誌，**29**, 460 (1982)
- 19) SAIO, K., MATSUO, T. and WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1851 (1970).
- 20) 橋詰和宗・何 銀蘭：日食工誌，**25**, 383(1978).
- 21) WOLF, W. J. and TAMURA, T.: *Cereal Chem.*, **46**, 331 (1969).
- 22) CATSIMPOOLAS, N., FUNK, S. K. and MEYER, E. W.: *Cereal Chem.*, **47**, 331 (1970).

(昭和57年1月9日受理)

新 刊 紹 介

Current Developments in Yeast Research

G. G. Stewart and I. Russell 編

1980年7月20～25日にカナダのロンドン市で開催された第5回国際酵母シンポジウムのプロシーディングスである。本シンポジウムは、第6回国際はこうシンポジウムと同時に開催されたもので、それについては別に、*Advances in Biotechnology* という書名でプロシーディングスが発行されている。

内容は、セクション別に、
Industrial and Agricultural Uses (22),
Genetics (11),
Sporulation and conjugation (7),
Biochemistry (33),
Taxonomy and ecology (19),
Cell cycle (4),
Phaff symposium (6),
基調講演 (3)

()内の数字は論文数

である。応用よりは、基礎的なものを中心である。日本からも9の論文が提出されている。

B5版 682ページ

Pergamon Press Ltd.,
Headington Hill Hall,
Oxford OX3 0BW
England

新 刊 紹 介

栄 養

第1巻 歴史と生化学

第2巻 所要量と摂取量

川村信一郎 著

ユニークな本である。著者自ら、序文の中で「持論を説明した」と述べているように、栄養素の働きについて、種々大胆な解説を行っている。第1巻は、栄養学の歴史と、栄養素の生化学となっているが、内容は食品化学に近い。現在の動的栄養学の面からは少し物足りないかも知れない。しかし、逆に、食品化学の面からは多くの化学構造式が集められており、ハンドブック的に利用できる。ユニークな内容なので教科書としては不向きであろうが、すでに栄養学の知識を持っている人が、自分の行っている研究と対比してみるのもおもしろいかも知れない。第2巻は、うって変って、1979年にまとめられた栄養所要量についての解説である。所要量がいかにして決められるかということの紹介である。第1巻と同じく、すでに栄養学の知識を持っている人向きである。

A5版 第1巻 165頁 1800円

第2巻 120頁 1000円

三共出版