大豆グロブリン加熱時の粘性に及ぼす 昇温速度と高温保持の影響

鎌田慶朗*・梅屋潤一郎**†・木村通秀**・谷井 聡**・山内文男**

Effects of Heating Rate and High-temperature Holding on Soy Protein Gel Viscosity

Yoshiro KAMATA*, Jun-ichiro UMEYA**†, Michihide KIMURA**
Satoshi TANI** and Fumio YAMAUCHI**

* Food Science, Miyagi University of Education, Aramaki-aza-aoba,
Aoba-ku, Sendai 980

** Department of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University,
1-1 Tsutsumidori amamiyamati, Aoba-ku, Sendai 981

† Present address: Shiseidou Product Research Laboratories,
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama 223

Effects of heat treatment methods on soybean globulin gel viscosity were studied. Changes in viscosity during the heat treatment and thixotropic behavior of the samples before and after the heat treatment were studied. β -Conglycinin became more viscous when a rising rate in temperature was small. On the other hand, the viscosities of glycinin gels did not increase at all at any heating rate, except a case at 35°C/h. When the β -conglycinin solutions were stood at 90°C for 20 min during the heating process, their viscosities increased by this treatment and the final viscosities were also higher than those of the samples treated by the standard method. In the case of glycinin, however, the response was more complex. The viscosities increased at low protein concentrations, whereas they sharply dropped after initial small increase in the cooling process at high protein concentrations. These results suggest that the formed gels were destroyed by shear in the viscosity measurements and the destroyed structures were not re-formed in the case of glycinin. It can therefore be presumed that β -conglycinin gels were formed with non-covalent bonds which is easily restored by standing. On the other hand, glycinin gel network, which seemed to be made up with disulfide bonds, may hardly be recovered by standing. (Received Jul. 4, 1989)

今日、大豆タンパク質は食品用タンパク素材として種々の用途に使われている。このタンパク質のゲル化特性については種々の優れた研究¹⁾²⁾があるが、われわれも加熱時の粘性変化という観点からこの性質を追求してきた^{3)~8)}。加熱中の大豆タンパク質のゲル形成反応は約70°Cから始まり、加熱中に更に粘度を増加させるが、

主な粘度上昇は冷却過程において生ずる³⁾。この粘度上昇は β -コングリシニンにおいて著しく、グリシニンはほとんど変化を示さない³⁾。このことは、通常の静置しながらつくるゲルにおいて、グリシニンの方が硬いゲルをつくるという報告⁹⁾と矛盾するように思えた。一方、 β -コングリシニンの方が硬いゲルをつくるとの報告¹⁰⁾

* 宮城教育大学家庭科 (〒980 仙台市青葉区荒巻字青葉)

** 東北大学農学部食糧化学科 (〒981 仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1)

† 現在：資生堂製品研究所 (〒223 横浜市港北区新羽町 1050)

も見られた。そこで、この2つのグロブリンの加熱に対する性質の差を明らかにするため温度環境やタンパク質濃度を種々変えて粘性上昇に及ぼす影響を検討した。

一方、これら食品用タンパク素材をゲルとして利用する上で、ゲル特性をコントロールすることは重要な意義がある。この方法についてはこれまで、種々の化学的方法^{6)11)~14)}が試みられてきたが、これらには食品に適用するには難しいものが多かった。そこで、大豆タンパク質のゲル特性をコントロールする方法として物理的手段が有効と考え、その一方法として加熱ゲル形成時の温度の状態を変えることにより粘性がどのように変化するかにについても検討した。

実験方法

1. 試料

タンパク質試料としては、大豆の主グロブリンであるグリシニンと β -コングリシニンを用いた。

これらのグロブリンは、低温においてヘキササンで脱脂した脱脂大豆粉を用い、THANH and SHIBASAKI¹⁵⁾の方法を用いて抽出分画した。

2. 分散系の調製

各大豆グロブリンを減圧下でリン酸カリウム緩衝液(2.6 mM KH_2PO_4 , 32.5 mM K_2HPO_4 , 2 mM NaN_3 , pH 7.6)に所定のタンパク質濃度(W/V)になるよう分散させた。

3. 粘度測定

粘度測定には共軸円筒回転粘度計(L型オートビスコメーター、岩本製作所)を用い、内筒と外筒の直径はそれぞれ2.8 cm, 3.0 cmで、浸液長は7 cmであった。加熱前のタンパク質-緩衝液分散系、ならびにその加熱生成ゲルの流動特性を測定する目的でCyclic shearing test⁶⁾を行った。まず各測定にあたって、測定機中で400 rpm (649.9 s^{-1})の激しい攪拌を30分間加えて分散系を均一にしてから30分間静置し、分散系の温度を平衡化させると共に、元の分散状態に回復させた。次に温度を20°Cに保ち、せん断速度を30 rpm (48.8 s^{-1})から150 rpm (243.6 s^{-1})まで10分間で直線的に上昇させ、続いて同様に下降させた。この測定を、以下に述べるCyclic temperature testの前後に各々1回、計2回行った。

加熱・冷却過程の構造形成を粘度変化から把握する目的で、加熱処理としてCyclic temperature test⁶⁾を行なった。すなわち、激しい攪拌で初期条件を一定にし、静置した後、50 rpm (81.2 s^{-1})の定常せん断変形下で

温度を20°Cから90°Cまで一定速度で直線的に上昇させ、続いて同様に下降させた。温度変化速度は、20°Cから90°Cまでを3, 2, 1時間と45, 30分で上昇させ、同じ速度で冷却した。また、温度保持を行う場合は、温度を90°Cまで1時間で上昇させた後20分間その温度を保持してから下降させた。上記の一連の試験は直接デジタル制御によって行ない、得られたデータをコンピューターで演算処理した。

結果および考察

1. 大豆タンパク質の粘性に及ぼす加熱速度の影響

β -コングリシニンの加熱冷却中の粘度変化がFig. 1である。タンパク質濃度は12%であった。一般的に大豆タンパク質の場合、温度の上昇と共に分散系の粘度は低下して行くが、70~80°Cのゲル化開始温度から急に立ち上がり、更に冷却過程において温度の低下と共に粘度が上昇するという共通の性質を持っている。本実験によれば、温度上昇速度の遅いもの、すなわちゲル化開始温度以上に保持された時間の長いものほど粘性上昇が大きいことが分かる。各グラフを対比させてみると、ゲル化開始点から最高温度までの傾きが最も急で、最高温度を過ぎるとゆっくりと粘度が上昇している。このような温

Fig. 1 Effect of heating rate on apparent viscosity of β -conglycinin-water suspending systems under apparent shear rate of 81.2 sec^{-1} during constant rate heating and cooling process

Heating and cooling rate; 23.3°C/h (A), 35.0°C/h (B), 70.0°C/h (C), 93.3°C/h (D) and 140°C/h (E).

Fig. 2 Effect of heating rate on hysteresis relations between apparent viscosity and apparent rate of shear at 20°C of β -conglycinin thermal gels

Heating and cooling rate; 23.3°C/h (A), 35.0°C/h (B), 70.0°C/h (C), 93.3°C/h (D) and 140°C/h (E).

度の変化に従って次のようなことが考えられる。すなわち、20~70°Cまでは、ゲル化に反映すると考えられる準構造の形成が起らず、70°C付近でタンパク質が変性を起こすとゲル化が始まる。はじめはほとんど全部が未変性であるので、温度の上昇と共に反応速度が上がり、見かけ上最も急な傾きをつくる。最高温度を過ぎ、プログラムが冷却過程に転ずると反応速度も落ちるため、傾きはやや小さくなるが、この点までに変性したタンパク質分子が、温度低下と共に分子と水素結合などを通して準構造を形成しやすくなるために、30~40°C頃からまた徐々に傾きは急になっていくと考えられる。さらに、ゲルの生成後の Cyclic shearing test における粘性については (Fig. 2), Cyclic temperature test の後、初期条件を一定にするため激しく攪拌しているにもかかわらず、ゆっくりと加熱したゲルは急速に加熱したものに対して4~5倍の粘性を持ち、30 rpmでの値を比較すると加熱前の約0.03 Pa·sという値と比べると、約500倍という高粘度に達することが分かった。

Fig. 3 のグリシニンの場合、B (35°C/h) の試料の粘性が上昇した他はゲル化の徴候はみられない。これは、 β -コングリシニンと異なりグリシニンが比較的熱に安定であるばかりではなく、高濃度でないとゲル形成反応が進まないためであるとも考えられる。後述の実験

Fig. 3 Effect of heating rate on apparent viscosity of glycinin-water suspending systems under apparent shear rate of 81.2 sec⁻¹ during constant rate heating and cooling process

Heating and cooling rate; 23.3°C/h (A), 35.0°C/h (B), 70.0°C/h (C), 93.3°C/h (D) and 140°C/h (E).

で明らかなように、本実験に用いた12%以下の濃度ではグリシニンは比較的ゲル形成反応が進みにくい。しかし、条件を選べば粘性を上昇させることも可能である。Bの場合は、この条件が整ったためとも思われる。

2. 大豆タンパク質の粘性に及ぼす高温保持の効果

前節に述べたように、ある一定温度以上に試料の温度が保たれている時間が長い方が高い粘性を得ることができると考えられる。そこで、このことを確認するため、ゲル化開始温度以上に一定時間保持することを試みた (90°C, 20分間)。

β -コングリシニンの結果を Fig. 4 に示した。5段階の濃度の試料について測定した。各濃度で、温度保持により見かけの粘度が増加し、この増加分は冷却過程において維持された。例えば、12%濃度では、保持中に約0.2 Pa·s増加し、冷却過程の最終粘度も保持法によるものの方が0.2 Pa·s近く高く、両者の曲線はほぼ平行した。温度保持中の粘度変化を Fig. 5 に示した。濃度が高くなるほど保持中の粘度の増加勾配が大きくなる傾向にあった。また、保持中にみられた2~3分周期の粘度の増加減少は、加熱により形成された構造がせん断により破壊されたためと思われる。加熱後の Cyclic shearing test (Fig. 6) によると、保持法により生成されたゲルは標準法によるゲルよりも高いチキソトロピ

Fig. 4 Apparent viscosity of β -conglycinin-water suspending systems as a function of temperature with or without temperature holding at 90°C for 20 min

Heating rate; 70°C/h

Temperature holding; with (—) and without (---).

Protein concentration; 10% (A), 11% (B), 12% (C), 13% (D) and 14% (E).

Fig. 5 Change in apparent viscosity of β -conglycinin-water suspending systems during temperature holding

Heating rate; 70°C/h

Protein concentration; 10% (A), 11% (B), 12% (C), 13% (D) and 14% (E).

Fig. 6 Effect of temperature holding on hysteresis relations between apparent viscosity and apparent rate of shear at 20°C of β -conglycinin thermal gels

Temperature holding; with (—) and without (---).

Protein concentration; 10% (A), 11% (B), 12% (C), 13% (D) and 14% (E).

一性を示し、さらに濃度が大きくなるほど高いチキソトロピー性を示した。 β -コングリシニン、初期設定のための激しいせん断により破壊されても、静置によって復元し得る粘性構造を加熱処理過程において生成し、この構造形成は高温保持により促進されたと思われる。この様に、せん断によって破壊されても静置によって復元し、チキソトロピー性の原因となる構造形成は、構造粘性の一部であり、ゲル形成の一因であるといわれている¹⁶⁾。

グリシニンの場合の温度保持の効果を Fig. 7 に示す。各濃度において、90°C まで粘度の増加はみられなかったが、90°C に達し冷却過程に入った後、あるいは保持過程に入った後に粘度が増加した。12% 以下の濃度では保持法によるものは冷却過程において粘度が増加したが、13% 以上の濃度ではある程度粘度が上昇した後に、逆に急激な減少がみられた。これは高濃度において形成されるゲルの構造が堅く脆いために、せん断により破壊され粘度が減少したように見えるためと思われる。

温度保持中の粘度変化を Fig. 8 に示した。11% 以上の濃度において保持中の粘度増加がみられ、濃度が高いほどその増加勾配が大きくなった。冷却後の Cyclic

Fig. 7 Apparent viscosity of glycinin-water suspending systems as a function of temperature with or without temperature holding at 90°C for 20 min

Heating rate; 70°C/h
Temperature holding; with (—) and without (---),
Protein concentration; 10% (A), 11% (B), 12% (C), 13% (D) and 14% (E).

shearing test (Fig. 9) によれば、濃度に関わらず温度保持によって顕著なチキソトロピーを示すようになった。12% 以下のゲルにおいては濃度の上昇とともに粘度は増加し、チキソトロピー性が高くなり、90°C 保持により更にその傾向が顕著になった。一方、13% 以上のゲルにおいては逆に濃度の上昇、90°C 保持により粘度は減少し、チキソトロピー性も低くなった。これは、冷却過程において形成されるグリシニンの凝集構造はせん断により破壊されるが、この構造は30分間静置しても復元しないためと考えられる。この構造生成は90°C 保持により13% 以上の濃度において促進されたと思われる。12% 以下の濃度においても同様の構造形成が行われたと思われるが、濃度が低いためせん断により系全体が破壊されるに至らず、粘度が減少しなかったものと思われる。Fig. 3 の B の場合も準構造の生成と、系全体の破壊のバランスがうまくとれた結果と思われる。

本研究のような回転粘度計による粘度測定は、本質的に系の破壊を防ぐことができない。つまり、静置して作ったゲルの粘性を測定することは不可能である。しかし、この方法には、できあがったゲルを観測する他の各種測

Fig. 8 Change in apparent viscosity of glycinin-water suspending systems during temperature holding

Heating rate; 70°C/h
Protein concentration; 10% (A), 11% (B), 12% (C), 13% (D) and 14% (E).

Fig. 9 Effect of temperature holding on hysteresis relations between apparent viscosity and apparent rate of shear at 20°C of glycinin thermal gels

Temperature holding; with (—) and without (---).
Protein concentration; 10% (A), 11% (B), 12% (C), 13% (D) and 14% (E).

定法にはない、ゲル形成過程を追跡できるという利点がある。加熱及び冷却というゲル形成過程は、通常の加熱ゲルについては共通のプロセスであり、この間に起こる粘性変化は、本研究のように系の破壊を十分に考慮にあれば、ゲル形成過程の一つの反映とみることができると思われる。

一方、本実験では加熱冷却後に、生成したゲルに対して激しい攪拌を行い、その後静置して準構造の発達を促してからチキソトロピー性の測定に入っている。この時の試料は、高粘性を示す場合は、測定機より取り出すと保形性を示すゲルとなっている。それ故、この時の低回転速度での粘度は、ゲルのネットワーク構造の強さを反映しているものと思われる。

本実験で作られたゲルは、チキソトロピーを示す。これは、Cyclic shearing test におけるヒステリシスの存在として定義される¹⁶⁾。また、破壊からの構造粘性の復元も観察されており、大豆のグロブリンのゲル形成には、復元可能な3次元ネットワーク¹⁶⁾の寄与が大きい場合があると思われる。このようなチキソトロピーを示すシステムでの水素結合の重要性が指摘されている例もある¹⁶⁾。

これまで、グリシニンのゲルと β -コングリシニンのゲルの硬さを比較した報告では加熱ゲルについてグリシニンの方が硬いものが得られるとしてきたものが多い⁹⁾。しかし、われわれのこれまでの粘度測定の研究結果³⁾では、グリシニンは加熱冷却後も高粘性を示さなかった。この結果は、ゲルの硬さについての報告と一見矛盾するように考えられたが、これは、測定対象の違いに基づくと考えられる。つまり、以上のような考え方に立つと、グリシニンは加熱によりむしろゲルネットワークを発達させやすく急速に粘性が上昇するが、このネットワークは硬いかわりに脆く、せん断により容易に破壊される。一方、 β -コングリシニンの場合はそのゲルネットワークは破壊されても静置すれば容易に復元し、再び粘度が上昇する。グリシニンを静置状態で加熱処理すると、粘度測定のような恒常的なせん断がないため、硬いゲルが得られることとなる。この原因としては、グリシニンのゲル形成にジスルフィド結合のような共有結合が大きな寄与をしていると報告¹⁷⁾されているのに対し、 β -コングリシニンの場合はそのアミノ酸組成にシステインが少なく、ゲルネットワークの形成には水素結合のような非共有結合が主な役割を果たしていることによると思われる。つまり、このような非共有結合は、力を加えることにより容易に切断されるが、分子レベルにとどまり、結果

は粘度の低下として現れ、系全体が破壊され分断されることはないで、時間と共に復元することができると思われる。これに対して、グリシニンゲルの場合は系全体が破壊され、系としての連続性を失ってしまうものと考えられる。

要 約

大豆タンパク質のゲル特性をコントロールする目的で、加熱時の温度環境を変化させた。試料としては大豆グリシニンと β -コングリシニンを用いた。物性の測定は、加熱中の粘性変化、加熱前後のチキソトロピー性について分析を行なった。

(1) 加熱冷却過程における温度上昇下降速度を変えると、 β -コングリシニンの場合はよりゆっくりした速度の場合に高い粘度を得ることができた。

(2) グリシニンの場合はある特定の速度(35°C/h)の場合粘度が上昇することが観察されたが、他の場合は顕著な粘度上昇がみられなかった。

(3) 加熱冷却処理を行う際に、高温(90°C)で一定時間温度保持を行うと、 β -コングリシニンの場合は濃度に関わらず粘度を上昇させる効果があり、この効果は冷却後のゲルの粘性に反映した。

(4) グリシニンの場合は低い濃度で粘度上昇の効果があったが、濃度が高くなるとせん断による構造の破壊によって粘度は下がった。

(5) 以上の結果、 β -コングリシニンの場合のゲル形成は、破壊されても静置によって復元し得る非共有結合を主とし、グリシニンの場合は、破壊されると復元できないジスルフィド結合を主体としていると推定された。

文 献

- 1) 山内文男：日食工誌，26，266 (1979)。
- 2) KINSELLA, J.E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 56, 242 (1979)。
- 3) UMEYA, J., YAMAUCHI, F. and SHIBASAKI, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 44, 1321 (1980)。
- 4) 梅屋潤一郎・山内文男・柴崎一雄：日食工誌，27，459 (1980)。
- 5) UMEYA, J., YAMAUCHI, F. and SHIBASAKI, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 45, 233 (1981)。
- 6) UMEYA, J., MITSUISHI, N., YAMAUCHI, F. and SHIBASAKI, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 45, 1577 (1981)。
- 7) MIURA, M. and YAMAUCHI, F.: *Agric. Biol. Chem.*, 47, 2217 (1983)。
- 8) 三浦 靖・山内文男：日食工誌，31，636 (1984)。

- 9) SAIO, K. and WATANABE, T.: *J. Texture Studies*, **9**, 135 (1978).
10) UTSUMI, S. and KINSELLA, J.E.: *J. Food Sci.*, **50**, 1278 (1985).
11) 山内文男・菱沼紀子・小野秀光・柴崎一雄: 日食工誌, **25**, 446 (1978).
12) OCHIAI-YANAGI, S., MIYAUCHI, H., SAIO, K. and WATANABE, T.: *Cereal Chem.*, **55**, 157 (1978).
13) BRINEGAR, A.C. and KINSELLA, J.E.: *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 818 (1980).
14) SUNG, H.Y., CHEN, H.J., LIU, T.Y. and SU, J.C.: *J. Food Sci.*, **48**, 716 (1983).
15) THANH, V.H. and SHIBASAKI, K.: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 692 (1978).
16) 小野木重治: 化学者のためのレオロジー (化学同人) p. 37, (1982).
17) 山岸辰則・山内文男: 食品の物性 “第 12 集” (食品資材研究会), p. 117 (1986).
(平成元年 7 月 4 日受理)

新 刊 紹 介

Safety of Irradiated Foods

F.F. Diehl 著

Food Science and Technology シリーズの第 37 巻である。食品照射に関する本は何冊かあるが、その安全性に焦点を絞った初めての本である。内容は、

1. 序—歴史
2. 線源及び工程管理
3. 照射の化学効果
4. 照射の生物学効果
5. 照射食品の放射能及び毒性学的安全性
6. 照射食品の微生物学的安全性
7. 照射食品の栄養価
8. 国際機関による照射食品の健全性評価
9. 照射の実用化の現状
10. 各国の許可の現状
11. 消費者運動

CODEX の勧告が付録されており、照射食品の安全性について、集大成された本である。 (T)

15.6 cm × 23 cm, 345 頁, 150 ドル

Marcel Dekker, Inc.

270 Madison Avenue New York, NY 10016
USA