乳清タンパク質添加によるハムの保水性 およびテクスチャへの影響

紺野 昭*・木村正弘**

Effects of the Addition of Whey Protein Concentrates on the Water-retention Properties and Texture of Ham

Akira KONNO* and Masashiro KIMURA**

* Kinran Junior College, 5-25-1, Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565

** Orugano Co. Ltd., 2000-43, Kamiyoshiba, Saitama-shi, Saitama 340-01

By alteration of pH values and addition of salts and sugar during the process of ham preparation, the denaturation temperatures of whey protein concentrates (WPC) and their constituents, α -lactalbumin (α -La) and β -lactoglobulin (β -Lg) were investigated by differential scanning calorimetry (DSC). The denaturation temperatures of WPC, α -La, and β -Lg shifted to the higher temperature by alteration of pH values to an isoelectric value for each protein, and addition of sodium chloride. These results may due to alteration of the balance of forces (such as charge-charge interactions, hydrophobic bonding, and hydrogen bonds etc.) which have been implicated in the stabilization of the secondary-tertiary structure of a globular protein according to the change of pH values or addition of sodium chloride. Secondly, effects of the addition of WPC on model hams preparation were studied. The DSC curves of the model ham paste added WPC showed another endothermic peak besides the endothermic peaks that were found in the model ham paste without WPC. From these results, it became evident that WPC, α -La, and β -Lg denaturated at the heating temperature (ca. 75°C) in ham preparation process. The ability of water-retention was improved and some properties, such as strength, cohesiveness, elasticity and chewyness, became higher in the ham added WPC.

(Received Oct. 5, 1992)

乳清タンパク質 (WPC) はチーズ製造とカゼイン製造の副産物として得られ、その製造法については数多くの報告がなされている^{1)~4)}。WPC は主に α -ラクトアルブミン (α -La) と β -ラクトグロブリン (β -Lg) からなり、未変性の WPC は熱凝固性、保水性および気泡性などが優れており、特に風味の良いことで畜肉加工品はもちろん、麺など^{1)~4)} に利用されている。

本報告では WPC をハムへ添加した系において WPC の各タンパク質である α -La、および β -Lg の変性温度が pH 値、塩または糖添加でどのような影響を受け

るか、また WPC 添加によるハムの保水性およびテクスチャが如何に影響を受けるかを検討した。

実験方法

1. 試料

WPC はベルギー製、 α -La および β -Lg はシグマ社製の試薬を用いた。WPC の一般分析値は水分 5.99%、灰分 4.01%、粗タンパク質 76.04%、糖質 8.14%、粗脂肪 5.83% である。

モデルハムは豚モモ肉 (ミンチ) 300 g とピクル液

* 金蘭短期大学家政科 (〒565 大阪府吹田市藤白台 5-25-1)

** オルガノ (株) 技術研究室 (〒340-01 埼玉県幸手市上吉羽 2000-43)

120 g を減圧下で混合した後、塩化ビニル製ケーシングチューブに詰め、5°C にて一晚塩漬したものを熱的性質の測定に、さらに 75°C、1 時間加熱し、流水で 30 分間冷却後、一晚冷蔵 (5°C) して調製した試料を保水性およびテクスチャ測定に用いた。

2. 熱的性質の測定

WPC, α -La, β -Lg 水溶液 (5%) およびモデルハムペーストの熱的性質はセイコー電子工業(株)製の超高度示差走査熱量計 (DSC 120) を用い、測定温度 30~100°C, 昇温速度 1°C/min で行った。試料は 5% 濃度の溶液 60 mg またはモデルハム 60 mg を 70 μ l の銀製密封型容器に入れ、密封したものをを用いた。基準物質は純水を用い、試料の重さと同量にした。試料液の pH 値は 1 N 塩酸または 1 N 水酸化ナトリウムで調整した。温度およびエンタルピーの校正は benzoic acid, diphenyl 又は indium を用いて行った。

3. WPC, α -La, β -Lg の組成測定

α -La, β -Lg および WPC の組成検討は各々 1% 溶液を高速液体クロマトグラフィー (東ソー(株))でゲル濾過用カラム (G-3000 SW) を用い、溶離液としてリン酸緩衝液で流量 1.0 ml/min, 温度 20°C で行った。測定は UV 検出器を用い、測定波長 280 nm で行った。

4. テクスチャの測定

試作したモデルハムのテクスチャはフードレオメーター (不動工業製 NRM-2010 J-CW) で直径 15 mm の棒状プランジャーを用い、試料台速度 1 mm/sec, クリアランス 1.8 mm, 咀嚼回数 2 回で測定した。試料の厚さは 5 mm である。

5. モデルハムの加熱歩留まりの測定

塩漬肉を塩化ビニル製ケーシングチューブに詰め、加熱前後の内容物の重量を測定し、次式で算出した。

加熱歩留まり (%) = (加熱後の内容物重量/加熱前の内容物重量) $\times$ 100

実験結果及び考察

WPC 水溶液は加熱すると凝固する。Fig. 1 は 5% WPC 水溶液 (pH 6.9) の DSC 曲線を示した。WPC 水溶液は約 66°C と 78°C に吸熱ピークを示した。また、Fig. 1 には α -La と β -Lg 水溶液 (pH 6.9) の DSC 曲線も示した。 α -La 水溶液は約 66°C に、 β -Lg 水溶液は約 75°C にそれぞれ単一の吸熱ピークを示した。WPC をハムへ添加した系において、WPC の各タンパク質である α -La および β -Lg が pH 値、塩および糖添加で、これらのタンパク質の熱変性挙動が如何に影響

Fig. 1 The DSC curves of whey protein concentrates, α -lactalbumin and β -lactoglobulin in aqueous solution (5 %)

Bar presents 25 μ W.

を受けるかを検討した。

Fig. 2-a および Fig. 2-b は α -La および β -Lg 水溶液の DSC 曲線の pH の影響を示した。両方のタンパク質共に液の pH 値が酸性側へ移動するとタンパク質の変性温度は高温側へ移動した。 α -La 水溶液の変性温度は液の pH 8.00 のとき 64.8°C であったが、pH 5.98 では 66.9°C と僅かな高温側への移動であった。一方、 β -Lg 水溶液の変性温度は液の pH 7.59 のとき 70.2°C であったのが pH 5.01 では 78.1°C と非常に高温側へ移動した。 α -La および β -Lg の等電点は各々 pH 4.2~4.5 および pH 5.35~5.49 である⁴⁾。pH 値を等電点に近づけると、電荷が減少し、今まで球状タンパク質の高次構造の安定化に関与していた電荷-電荷相互作用、疎水結合、水素結合などの均衡が崩れて、特に電荷-電荷相互作用が崩れ、静電気反発力が減少したことにより球状タンパク質である α -La および β -Lg の unfolding が起こりにくくなる⁵⁾⁻⁸⁾。その結果、DSC 曲線の変性温度が高温側へ移動したと考えられる。等電点 pH 5.35~5.49 の β -Lg が等電点 pH 4.2~4.5 の α -La より同じ pH 値で変性温度が高温側へ大きく移動するのは α -La より正味電荷が少ないために起因すると考えられる。さらに、pH 値が等電点に近くなると各タンパク質、特に β -Lg 水溶液の DSC 曲線の吸熱ピークが大きくなるのは電荷の減少による静電気反発力が小さくなり、球状タンパク質の unfolding に要するエネルギーが熱に大きく依存するためと考えられる。

Fig. 2-a Effect of pH on the DSC curves of α -lactalbumin in aqueous solution (5%)Bar presents $50\mu\text{W}$.Fig. 2-b Effect of pH on the DSC curves of β -lactoglobulin in aqueous solution (5%)Bar presents $50\mu\text{W}$. Fig. 3-a Effect of NaCl on the DSC curves of α -lactalbumin in aqueous solution (5%) at pH 6.9.Bar presents $50\mu\text{W}$.Fig. 3-b Effect of NaCl on the DSC curves of β -lactoglobulin in aqueous solution (5%) at pH 6.9Bar presents $50\mu\text{W}$.

Fig. 3-a および Fig. 3-b は α -La および β -Lg 水溶液へ塩化ナトリウム添加による DSC 曲線を示した。両方のタンパク質液共に変性温度が高温側へ移動し、吸熱ピークが大きくなった。これは塩化ナトリウムの添加により電荷が抑えられ、静電気反発力が減少⁹⁾¹⁰⁾したことで球状タンパク質である α -La および β -Lg の unfolding が起こりにくくなったことによる。また吸

熱ピークが大きくなるのは塩化ナトリウム添加で電荷が抑えられ球状タンパク質の unfolding に要するエネルギーが熱に大きく依存するためと考えられる。

一般に、糖はタンパク質の変性防止効果があると言われている¹¹⁾。Fig. 4-a および Fig. 4-b は α -La および β -Lg 水溶液にシュクロース添加による DSC 曲線を示した。両方のタンパク質液共に塩化ナトリウム添加の

Fig. 4-a Effect of sucrose on the DSC curves of α -lactalbumin in aqueous solution (5%) at pH 6.9

Bar presents 50 μ W.

Fig. 4-b Effect of sucrose on the DSC curves of β -lactoglobulin in aqueous solution (5%) at pH 6.9

Bar presents 50 μ W.

ときと同じように、変性温度が高温側へ移動し、熱安定性が増加した。

次に、組成分析の結果、 α -La 29.5%と β -Lg 33.9%含有している WPC について pH 値、塩および糖添加による変性温度の影響を検討した。Fig. 5 は WPC 水溶液の DSC 曲線の pH 値による影響を示した。WPC 水溶液の DSC 曲線の低温側の α -La による吸熱ピーク温度は pH 値にほとんど影響されないが、高温側の β -Lg による吸熱ピーク温度は pH 7.3 で 76.4 $^{\circ}$ C であるが、pH 6.3 では 78.7 $^{\circ}$ C と高温側へ移動した。そして pH 5.5 では 77.5 $^{\circ}$ C と pH 6.3 のときより多少低温側へ移動したのは不明であるが、球状タンパク質水溶液の pH 値を等電点側へ変化させることでタンパク質の unfolding が起こりにくくなったことによるのであろう⁵⁾⁻⁸⁾。この WPC は脂質測定の結果 5.83% 含有していた。桑田ら¹²⁾¹³⁾は WPC の加熱凝集が含有している脂質によって阻止されること、WPC 水溶液の pH 値を等電点側に変化させることにより電荷が減少し、また加熱によってタンパク質内部の疎水性基の露出した WPC が脂質と結合性を増し、タンパク質間での凝集巨大化が阻害されて変性温度が高温側へ移動すると報告している。

Fig. 6 および Fig. 7 は WPC の DSC 曲線の塩化ナトリウム添加、およびシュクロース添加による影響を示した。WPC の DSC 曲線の各成分 (α -La, β -Lg)

と同じように塩化ナトリウム、およびシュクロース添加で変性温度は高温側へ移動し、シュクロース添加より塩化ナトリウム添加のときが大きく移動した。これらの結果は α -La および β -Lg の DSC 曲線の塩化ナトリウムおよびシュクロース添加効果と同じで、塩化ナトリウム添加で電荷が抑えられ静電気反発力の減少で unfolding 温度が高温側へ移動、シュクロース添加でタンパク質の熱安定性が増し、変性温度が高温側へ移動したと考えられる。

以上 WPC および WPC の各タンパク質である α -La と β -Lg のハム製造での pH 値、塩および糖添加による変性温度が如何に影響されるかを検討した。ハム製造時、肉の加熱変性にともない肉汁の流出でハムの歩留まりが悪くなる。各ハムメーカーはハムの歩留まり向上およびテクスチャの改良を目的として WPC および卵白などのゲル化剤を添加している。しかしながら、ハム製造での加熱温度、pH 値、塩および糖添加で、これらのゲル化剤が如何に影響しているかの報告がない。一般に、WPC および卵白などのゲル化剤のゲルは多量の水を含有する能力がある。Figs. 2-a~7 から、WPC がハムの製造条件下でも加熱変性し、ゲル化していることが判った。モデルハムペーストの WPC 添加（塩漬上がり濃度 5%）の有無による DSC 曲線を Fig. 8 に示した。WPC 無添加のモデルハムペーストの DSC 曲線は 50.5 $^{\circ}$ C, 56.2 $^{\circ}$ C そして 66.5 $^{\circ}$ C に吸熱ピークを示し

Fig. 5 Effect of pH on the DSC curves of whey protein concentrates in aqueous solution (5%)

Bar presents 37.5 μ W.

Fig. 7 Effect of sucrose on the DSC curves of whey protein concentrates in aqueous solution (5%) at pH 6.9

Bar presents 25 μ W.

Fig. 6 Effect of NaCl on the DSC curves of whey protein concentrates in aqueous solution (5%) at pH 6.9

Bar presents 25 μ W.

Fig. 8 The DSC curves of model ham paste without and with whey protein concentrates

Bar presents 25 μ W.

た。一方、WPC 添加モデルハムペーストの DSC 曲線は無添加品での吸熱ピークの他に、75.9°C に吸熱ピークを示した。この吸熱ピークは WPC の熱変性による吸熱ピークであろう。WPC の各タンパク質の中で α -La の加熱変性ピークは肉の加熱変性ピークと重なって明白ではないが、 β -Lg の加熱変性ピークは肉の加熱変性ピークより高温に現れているがハム製造の加熱条件下で十分変性していることが判る。したがって、ハム製造で肉の保水性に加えて、WPC 添加による保水性が加算されると考えられる。また、保水性が増加するとテクス

チャにも影響を及ぼすものと考えられる。モデルハムでの WPC 添加の有無によるテクスチャおよび加熱歩留まり（保水性）を Table 1 に示した。WPC の添加品は無添加品に比べて保水性が向上し、強度も強く、凝集性も大きく、弾力性も大きく、そして咀嚼性も向上した。

要 約

ハム製造での pH 値、塩または糖添加で乳清タンパク質 (WPC) および WPC の各タンパク質である α -ラクトアルブミン (α -La) および β -ラクトグロブリン

Table 1 The physical properties of model ham with and without whey protein concentrates

テクスチャ	コントロール	WPC 入り
強 度 (kg/cm ²)	3.473	4.635
凝 集 性	0.7376	0.7724
弾 力 性 (%)	92.11	94.08
咀 嚼 性 (強度×凝集性×弾力性)	236	337
加熱歩留 (%)	95.0	98.0

ン (β -Lg) の変性温度がどのような影響を受けるかを、超高感度示差走査熱量計 (DSC) を用いて検討した。また、WPC 添加によるハムの保水性およびテクスチャが如何に影響を受けるかについてレオメーターを用いて検討した。

WPC の DSC 曲線の低温側の吸熱ピークは α -La の変性、高温側の吸熱ピークは β -Lg 変性による。WPC, α -La, β -Lg の変性温度はそれぞれのタンパク質水溶液の pH 値を等電点側に移動させると各吸熱ピークは高温側へ移動した。また、これらのタンパク質水溶液に塩化ナトリウム、シュクロースを添加すると各タンパク質の吸熱ピークは高温側へ移動した。これらの結果は球状タンパク質の高次構造の安定化に関与している電荷-電荷相互作用の変化によると考えられる。

WPC を添加したモデルハムペーストの DSC 曲線は WPC 無添加のモデルハムの DSC 曲線の吸熱ピークに加えて WPC の吸熱ピークと考えられるピークが現れた。WPC 添加モデルハムの保水性は向上し、またハムのテクスチャは強度が強くなり、凝集性も大きく、弾力性も大きくなった。

本研究は多数のご助言を頂戴した北海道大学農学部教授 仁木良哉先生に深謝致します。また、本研究の測定に協力して戴いた本学食物栄養専攻の高橋ルミ、山下歩未、山本綾子の各氏に謝意を表します。

文 献

- 1) 堂迫俊一: *New Food Industry*, **27** (3), 69 (1985).
- 2) 堂迫俊一: *New Food Industry*, **27** (4), 60 (1985).
- 3) WELSBY, D., MCCARTHY, M. and DOOLAN, D.: *Prog. Fd. Nutr. Sci.*, Vol. **6**, p. 221 (1982).
- 4) BOTTOMLEY, R.C., EVANS, M.T.A. and PARKINSON, C.J.: *Food Gels*, ed. by HARRIS, P., (Elsevier Applied Science), p. 435 (1990).
- 5) von HIPPEL, P.H. and Kwok-Ying WONG: *J. Biol. Chem.*, **240**, 3909 (1965).
- 6) PRIVALOV, P.L. and KHECHINASHVILI, N.N.: *J. Mol. Biol.* **86**, 665 (1974).
- 7) de WIT, J.N. and KLARENBECK, G.: *J. Dairy Res.*, **48**, 293 (1981).
- 8) RÜEGG, M., MOOR, U. and BLANC, B.: *J. Dairy Res.*, **44**, 509 (1977).
- 9) TANFORD, C.: *Advances in Protein Chemistry*, **23**, 121 (1980).
- 10) VARUNSATIAN, S., WATANABE, K., HAYAKAWA, S. and NAKAMURA, R.: *J. Food Sci.*, **48**, 42 (1983).
- 11) BULL, H.B. and BRESEE, K.: *Biopolymers*, **17**, 2121 (1978).
- 12) 桑田 有・大友英生・堀 悦子・山本良郎: *日食工誌*, **32**, 493 (1985).
- 13) 桑田 有・舟川由希子・渡辺裕美・大友英生・山本良郎: *日食工誌*, **32**, 639 (1985).

(平成 4 年 10 月 5 日受理)