

大豆たん白質の化学修飾

—化学的ケラチン化と高分子新材料としての機能に関する研究—

山内 清*

大阪市立大学工学部

Chemical Modification of Soy Protein Isolate : Chemical Keratinization and Functions of Proteinous Polymer Material

Kiyoshi YAMAUCHI

Faculty of Engineering, Osaka City University, Osaka 558

ABSTRACT

Thiol groups (SH) were introduced chemically into soy protein isolate (SPI). The sulfur content in the modified SPI was 3-4 wt%. The transparent film, which was obtained readily upon casting an aqueous solution of SPI-SH under air, was water-resistant and had high tensile strength. The results were explained by a formation of disulfide crosslinkings between the proteins. The film properties (tensile strength, Young's modulus, solubility, swelling degree, etc.) were compared with those of polymer films and discussed in conjunction with spectral and physicochemical data. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **18**, 25-30, 1997.

Key words : chemical modification, protein film, polymer, soy protein isolate (SPI), thiolation

たん白質は工業素材として展開できるであろうか—このテーマに応えうる対象として大豆たん白質は恰好な材料である。供給源である大豆は大量入手性、価格など経済性に優れ、それから得られる大豆たん白質は多くの石油系高分子同様、直鎖分子で分子量も大きく、機械的性質に優れた性質を潜在的に持つことが推定されるからである。事実、1940年代に繊維、接着剤、プラスチックなどへの実用化が計られその可能性が示唆されている。しかも、アミノ基、水酸基、チオール基、フェノール基、カルボン酸基など反応性に富む種々の官能基を持ち、これらの化学修飾により機械的性質の向上、接着性、乳化性など各種機能の向上の可能性があり、触感、環境にやさしい素材として、資源の再生

産性と合わせ、21世紀に向け注目される存在である¹⁻⁵⁾。ところが石油系高分子の勃興により、大豆たん白質の工業素材としての活用はここ50年近く、全く無視され、現在、研究は真空状態にある。

一方、この間の科学および化学工業の進歩は著しく、高分子化学の誕生、高分子加工ならびにその周辺技術の進歩、さらには石油化学工業の発展により、1940年代には入手困難であった多数の化学品が供給されるようになり、大豆たん白質の新しい化学修飾が経済的に可能な時代になってきた。

また、大豆たん白質自体の研究も進歩し、アミノ酸連鎖の配列が判明するなど、化学修飾を論理的に進める素地が整ってきている。

このような背景から私どもは大豆たん白質の化学修飾を系統的に行い工業素材としての可能性を引き出す

*〒558 大阪府大阪市住吉区杉本3-3-138

に沸騰水中での膨潤度を求めた。力学的強度は自記張力計を用いて、25°C、相対湿度65～68%にてフィルム試験片 (7 mm×30 mm, 厚さ=0.03～0.06 mm) を引張速度20 mm/min で延伸したときの応力/伸長カーブより求めた。代表的な結果を Table 1 に記した。

結果と考察

これまでにたん白質一般について分子間のネット形成を上げるために種々の架橋反応が試みられている。最近ではコラーゲンやケラチンの修飾が盛んである。これらのたん白質に比べて、大豆たん白質 (SPI) は分子量が約20～35万であり大きいので、架橋性を持たせ

れば有力な新素材へと変換できる可能性がある。

本実験では SPI のチオール化修飾を簡便な操作で行うことを試みた (Fig. 1)。不二製油から提供された SPI (フジプロ-R) は約90%以上が pH 8～9 程度の淡黄色の弱アルカリ水溶液として可溶化されたので、特に精製することなく、本水溶液をそのまま修飾反応に使うことにした。可溶化された SPI は SDS-PAGE 電気泳動によれば複数のたん白質から成っているが 7S および 11S が主成分である。このままでは膜にキャストしても、たん白質分子同士はイオンおよび疎水相互作用で接近しているだけなので、室温水にて膜は2～4倍も白濁膨潤し、沸騰水中では自然に碎片化するほどであった (Tables 1, 2)。

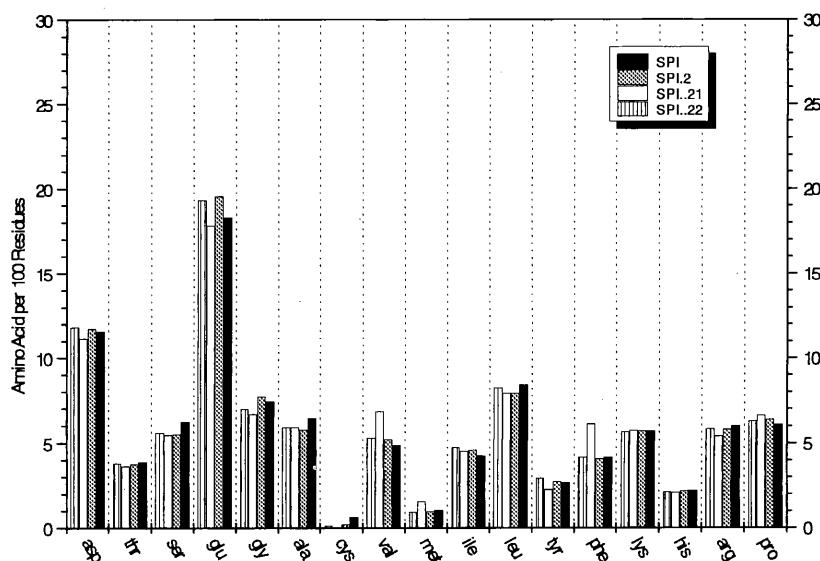


Fig. 2. Amino acid analysis of the starting SPI (solid bar), SPI-2 (total; gray bar), SPI-21 (insoluble part; white bar) and SPI-22 (soluble part; shadow bar). The samples were assayed after exhaustive acid hydrolysis.

Table 1. Effect of thiolation of SPI

Film ^a	Mechanical property			Swelling property in water (%)	
	Ultimate strength (g/cm ²)	Ultimate elongation (%)	Young's modulus (kg/cm ²)	20-23°C	100°C
SPI	125	14	3,500	200	Collapse
Reduced SPI	200	10	7,700	30	0
SPI-22 (soluble)	270	16	8,800	30	0
SPI-2 (total)	300	16	9,600	40	5
SPI-3	140	17	1,300	45	10

a) Glycerol was used as a plasticizer in an amount of 20-25 wt% of proteins.

さて、SPI は Fig. 1, 式(1)と(2)に概略する操作で SPI-1~3 に変換された。修飾たん白質の元の SPI に対する収率は約80~90%であった。SPI-2 はたん白質成分の約3~7%に相当する SDS を含んでいるが、SPI-3 はたん白質成分のみである。一般にリジン、ヒスチジンなどの $-NH_2$, $=NH$ などのアミノ基とチロシン等の OH 基が反応性が高いことで知られているが、SPI-1~3 においてもイオウ定量分析によってこれらの感応基の過半が修飾されたことが示唆された。

SPI-1 は水溶性粉末ないしは水溶液として保存される。SPI-2 と SPI-3 は薄ミルク状の半透明水溶液として得られるが、これら溶液は沈澱を生じることなく長期間安定であった。粘度は3%溶液、pH 7 で2~3センチポアズ (cp) である。溶液中でも修飾たん白質 (SPI-2~3) は元の大豆たん白質と同様な構造をしていることが CD スペクトルによって示唆された。

さて、SH 化大豆たん白質 (SPI-2~3) の架橋は、Fig. 1, 式(3)に示すように、空気酸化によって不溶性の重合体に進むと考えられる。SPI-1 のキャスト膜は水溶性であるがヨウ素 (アルコール溶液) など酸化剤処

理によって SS 架橋が起こり SPI-2 のキャスト膜と同様な性質を持つようになった。修飾たん白質の作る構造体の性質についてはキャストフィルムを作成して調べた (Tables 1~3)。一般にたん白質フィルムは湿度に影響されるが、相対湿度65~70%でのキャスト膜の引張強度は羊毛由来のケラチン膜に匹敵するか、凌駕しているほどであった。また、本実験では単純なキャスト膜をもちいているが、それでも引張強度はポリスチレン薄膜並みか、サランラップ (ポリビニリデンクロリド) の約1/3に達した (Table 3)。フィルムを沸騰水処理すると常温での約30~40%の膨潤状態から収縮し、元のサイズに戻る傾向が見られた。その時の湿潤状態での引張強度 (約70 kg/cm²) も相当大きいことがわかった。ただ、力学強度や膨潤度は使用した可塑剤の性質と量に、また、キャスト膜作成後の脱水処理 (主にメタノール浸漬) にもかなり影響された。Table 2 に可塑剤についておおよそを記している。フィルムの透明性もよく、たとえば SPI-2 から調製した厚さ40 μ m (サランラップの約4倍厚) の膜では、300, 400, 450~800 nm の波長にてそれぞれ透過度が0.15, 0.82,

Table 2. Effects of plasticizer

Film (Plasticizer)	Mechanical property			Swelling property in water (%)	
	Ultimate strength (kg/cm ²)	Ultimate elongation (%)	Young's modulus (kg/cm ²)	20-23°C	100°C
SPI (glycerol ; 20%)	135	40	1,800	250	Collapse
SPI (glycerol + sulfolane ; 20% : 80%)	155	13	2,200	100	0
SPI-3 (glycerol ; 20%)	140	17	1,300	45	10
SPI-3 (glycerol + sulfolane ; 20% : 80%)	340	33	8,500	15	0

Table 3. Mechanical and swelling properties of various films

Film (Plasticizer)	Mechanical property			Swelling property in water (%)	
	Ultimate strength (kg/cm ²)	Ultimate elongation (%)	Young's modulus (kg/cm ²)	20-23°C	100°C
SPI-3 (glycerol + sulfolane ; 20% : 80%)	340	33	8,500	10	0
Keratin (glycerol ; 20%)	110	32	2,400	40	-10
Polyethylene, low density	250	300	1,900		
Polyvinylidene chloride	1,050	50	3,100		

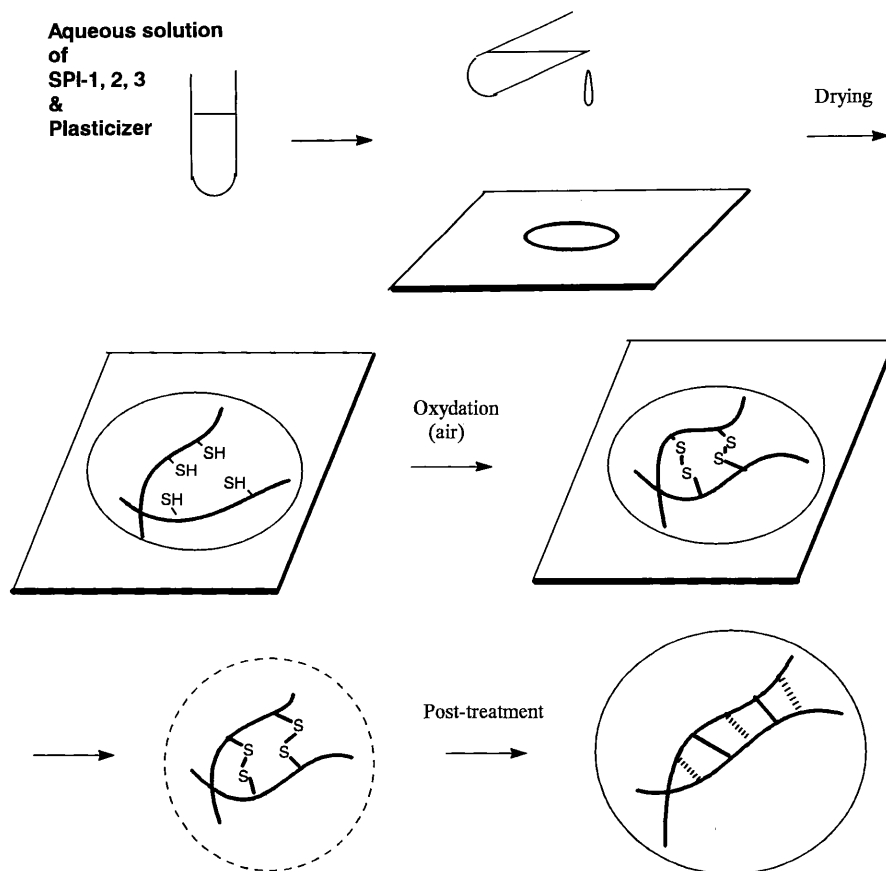


Fig. 3. Preparation of films by casting the thiolated SPI materials.

0.93である。

本報告では可塑剤としてグリセロールとスルフォランを使用した例をあげたが、特にスルフォランは耐水性に大きな効果があった。グリセロールは膜に柔軟性を与えるなど可塑剤としての効果が大きいが、膜の強度にはあまり働かないようであった。これら二者を組み合わせることにより、膜に適度な耐水性、強度、柔軟性が付与された。たん白質素材の成形には可塑剤の設計（選択）が大変重要であることを示している。

SPI-1～3 のフィルムは数%の2-メルカプトエタノール水溶液で分解された。おそらく SS 架橋結合の還元が進んだためであろう。また、土壌中でも40 μm厚のフィルムなら1～3週間でフラグメント化して崩壊することがわかった。このような生分解性は今回の大

豆たん白質からのフィルムの特長の一つである。

フィルムの熱重量分析によれば、150℃までは安定であるが200℃付近から溶融することなく急速に褐色化し熱分解が進んだ。示差走査熱量分析において80℃付近に脱水にともなう反応、170℃付近よりたん白質の結晶融解、熱分解等と思われる吸熱ピークが現れた。これらの熱特性はケラチンでも観察されている。

謝 辞

本研究を進めるに当たり不二製油研究所の皆様からご教示を数多く賜りました。熱分析など実験においてもご協力いただきました。深謝申し上げます。

要 約

(1)SPI (フジプロ-R) は簡易な操作で効率よくチオール化された。(2)水溶液は安定であり、(3)修飾たん白質の α -ヘリックス、 β -シート含量は原料の SPI にほぼ同様であった。(4)修飾たん白質水溶液は、空気酸化により重合し、耐水性で力学的強度が大きな構造体 (フィルム) を与えた。(5)同ポリマーは還元剤により、また土壌中でも分解された。

文 献

- 1) 繊維学会編(1963): タンパク繊維. 化繊便覧, 丸善, 東京, pp. 310-315.
- 2) Gannets A and Weller CL (1991): Edible films and coatings from soymilk and soy protein. *Cereal Foods World*, **36**, 1004-1009.
- 3) Yamauchi K, Yamauchi A, Kusunoki T, Khoda A and Konishi Y (1996): Preparation of stable aqueous solution of keratins, and physico-chemical and biodegradational properties of films. *J Biomed Mat Res*, **31**, 439-444.
- 4) Okamoto N, Wada T, Takagi S and Yasumatsu K (1973): Texture of SS-cross linked gelatin gels. *Agric Biol Chem*, **37**, 2501-2504.
- 5) Meyer EW and Williams LD (1976): Chemical modification of soy proteins. In: *Food Proteins*. Kinsell, JE ed., American Oil Chemists Society, pp. 52-66.