

大豆たん白質の熱加工による機能性の改良と透明ゲルの調製

北畠直文*・藤田由紀・得丸定子

京都大学食糧科学研究所

Improvement of Functionalities of Soybean Protein by Heat Processing and Preparation of Transparent Gel

Naofumi KITABATAKE, Yuki FUJITA and Sadako TOKUMARU

Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611

ABSTRACT

Defatted soybean extract was dialyzed against distilled water at pH 7.5. The dialysate was a transparent solution having less beany flavor. After heating the desalted soybean extract kept transparency even in the presence of salt (NaCl). When the desalted-soybean extract preheated under salt-free condition was heated again in the presence of NaCl (0.2 M), it gave translucent gel at a lower concentration than that of non-heated desalted-soybean extract. This translucent gel was melted by the following heating and gelified again by cooling, that is, this gel is cold-setting and gel-sol transition is reversible, which was confirmed with the measurement of dynamic viscoelasticity. Desalted-soybean extract preheated under salt-free condition could give a gel at room temperature or lower temperature only by addition of salt, and was not precipitated by the incubation at 4°C, which is different from native soybean protein. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* 18, 31-36, 1997.

Key words : soybean extract, heat processing of soy extract, cold-set gel, reversible gel, transparent gel, viscoelasticity of gel

たん白質を加熱すると通常白濁するが、低イオン強度下で加熱すると、白濁凝集が抑制され、透明液が得られる。これは加熱変性たん白質分子の可溶性凝集体からなる。この液に塩を添加すると、安定かつ弾力性に富んだゲルを形成し、その物性は従来のものとは大きく異なり、食品科学的に興味深い¹⁾。この現象は卵白アルブミン²⁾、牛血清アルブミン³⁾などのアルブミン系のたん白質のみならず、牛乳乳清たん白質に含まれるグロブリン系のたん白質⁴⁾についても見いだされてい

る。グロブリン系のたん白質に分類される大豆たん白質についてこの点の検討を行った。他の動物たん白質などとの比較を行い、大豆たん白質の特殊性と一般性について調べ、大豆たん白質ゲル化の改良、透明ゲルの調製を行い、その特徴を明らかにすることを目的とした。

実 験 方 法

脱塩脱脂大豆抽出液の調製法

低温脱脂大豆に重量比で7倍量の蒸留水を加え、室

*〒611 宇治市五ヶ庄官有地

温にて1時間攪拌し、得られた懸濁液を遠心処理に供し、抽出液を得た。この脱脂大豆抽出液に希水酸化ナトリウム水溶液を加え、pHを7.5に調整後、蒸留水に対して透析を行った。透析外液は3時間毎に交換し、その都度pHを7.5に調整した。計3回外液を交換し、低分子画分を除き、さらに透析液を遠心処理を行い、上清画分として脱塩脱脂大豆抽出液を得た。この脱塩大豆抽出液を凍結乾燥に供した。得られた脱塩大豆粉は-20℃に保存し、随時蒸留水に溶解し、脱脂大豆抽出液を調製し、以下の実験に用いた。

加熱脱塩大豆抽出液とゲルの調製

先の脱塩大豆抽出液のたん白質濃度を所定の濃度；15 mg/mL, 75 mg/mL, 85 mg/mLに調整し、80℃で1時間、または90℃において1時間加熱、冷却したものを加熱脱塩大豆抽出液とした。たん白質濃度は280 nmにおける吸収を用いて決定し、E1%を10として計算した。この加熱脱塩大豆抽出液に塩化ナトリウムを添加し、75℃で加熱、冷却後、ゲルを得た。塩化ナトリウム濃度は0.2 Mを標準として、様々な濃度に調整した。

動的粘弾性の測定

動的粘弾性の測定はレオログラフゲル（東洋精機）を用いて測定した。本機の加振周波数は3 Hzである。温度制御ジャケット付きクラム型容器に1.6 mLの標品液を入れ、液の上層には少量の流動パラフィンを添加し、液の蒸発を防いだ。昇温速度ならびに降温速度はいずれも2℃/分である。貯蔵弾性率ならびに損失弾性率を測定した。

示差走査熱量測定

示差走査熱量計（セイコー電子工業、DSC100）を用いて、標品の熱分析を行った。70 μL容の銀製容器を用い、50 μLの標品を入れ、2℃/分の昇温速度で分析を行った。

大豆分離たん白質の調製

脱脂大豆粉に重量比で20倍量の蒸留水を加え、室温にて1時間攪拌した。この懸濁液を遠心処理に供し、抽出液を得た。この抽出液のpHを希塩酸の添加により4.5に調整し、たん白質を沈澱、回収し、蒸留水に溶解、中和後、不溶成分を遠心除去後、再び希塩酸の添加によりpH 4.5に調整した。この操作を3度繰り返して、分離たん白質を調製した。

結果と考察

卵白たん白質や牛乳乳清たん白質を加熱すると白濁する。これはたん白質の加熱変性によってたん白質分

子の会合、凝集が生じ、光の散乱を引き起こす巨大な凝集体が生成したためである。白濁そのものが変性の指標ともされていた。しかし、これらのたん白質を低イオン強度下において加熱すると、白濁凝集が抑制され、加熱変性たん白質分子の可溶性凝集体の形成を得る。加熱変性に伴ってたん白質分子内の疎水性領域が分子表面に露出し、その領域間での分子間相互作用による分子間親和力と分子表面に存在する電荷の互いの反発が分子間斥力となり、この両者のバランスにより凝集体構造が決まり、分子間斥力の高い条件下ではたん白質分子の線状凝集体；可溶性凝集体が形成され、網目構造が生成して、ゲルが生じると考えられる。すなわち、凝集体の構造は溶媒のpHとイオン強度に強く依存し、低イオン強度下、たん白質の等電点より離れたpH域では加熱後も白濁せず、透明ゲルもしくは透明液となる。さらにこの一旦低イオン強度下、たん白質の等電点より離れたpH域で加熱し、得られた透明液に塩を添加すると、安定かつ弾力性に富んだゲルを形成する。この可溶性凝集体からなる加熱透明液の物性は従来のもとは大きく異なる⁹⁾。

大豆たん白質の濁度の塩濃度、pH依存性

グロブリン系のたん白質に分類される大豆たん白質について、加熱時のイオン強度、pHの影響を検討した。大豆分離たん白質を蒸留水に透析したところ、pHを7.5に調整するかぎり、ほとんど沈澱は見られず、可溶性のたん白質液として回収された。大豆分離たん白質液の塩濃度、pHを様々変えて、加熱したのがFig. 1である。Fig. 1上図が加熱前、下図が加熱後である。白濁が塩濃度とpHに強く依存することがわかる。このパターンはこれまで卵白アルブミンや乳清たん白質で観察されていた結果とよく対応する。特にpH 7から8において、低い塩濃度下で加熱後も透明液が得られた。これは新たな物性をもつ可溶性たん白質と考えられ、興味深いのが、本研究では分離大豆たん白質は用いず、大豆抽出液そのものを対象とした。

蒸留水による大豆抽出液

脱脂大豆粉に7倍量の蒸留水を加えて抽出した場合、得られた抽出液は大豆臭が少ない⁵⁾。これをpH 7.5で直ちに蒸留水透析を行うとさらに大豆臭が軽減する。この低大豆臭の脱塩大豆抽出液を加熱すると透明性を維持した液が得られる。これを加熱脱塩大豆抽出液と呼ぶ。高濃度の（少なくとも85 mg/mLまで）たん白質液の場合も透明な加熱脱塩大豆抽出液が得られた。

加熱脱塩大豆抽出液とゲル形成

透明の加熱脱塩大豆抽出液に塩（NaCl）を添加して、再加熱した場合、塩濃度が上昇するにつれ、加熱

後の標品の濁度、粘度は増し、ゲル状になった。しかし加熱処理を行っていない脱塩大豆抽出液に比べると、濁度は低く、半透明に近いものであり、かつ粘度は高かった。加熱脱塩大豆抽出液の塩添加、加熱に伴うゲ

ル形成を動的粘弾性測定器により測定した。Fig. 2 に示したように加熱脱塩大豆抽出液（たん白質濃度75 mg/mL, NaCl 0.2 M）ならびに未加熱の脱塩大豆抽出液を25°Cから75°Cまで2°C/分で加熱し、75°Cで10分保

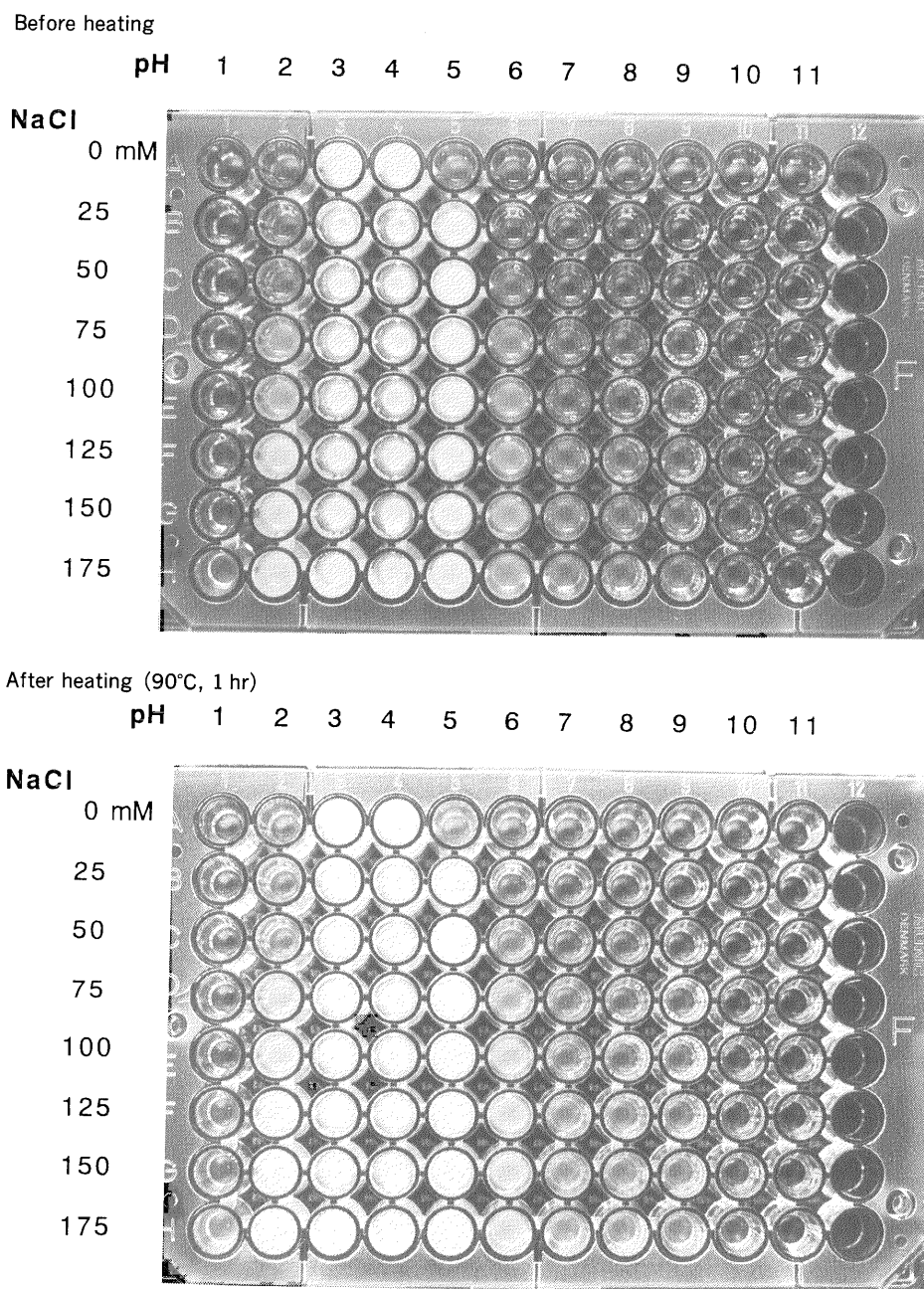


Fig. 1. Soybean protein isolate before and after heating at 90°C for 1 h. Each well contained 250 μ L of soybean protein isolate solution (15 mg/mL). Soybean protein isolate was dialyzed against distilled water, and then pH, NaCl concentration and protein concentration were adjusted.

持し、75°Cから25°Cまで2°C/分で温度を下げた場合の貯蔵弾性率 G' ならびに損失弾性率 G'' を示してある。未加熱の脱塩大豆抽出液や脱塩大豆抽出液を、80°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液は、 G' ならびに G'' の上昇が全く認められなかった。一方、脱塩大豆抽出液を90°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液は、冷却に伴い、 G' ならびに G'' の上昇が認められた。このことは90°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液がゼラチンや寒天のような冷却ゲル形成能を獲得したことを示す。

示差熱分析

90°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液が冷却ゲル形成能を示したが、80°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液は冷却ゲル形成能を示さなかった。そこでこの原因を調べるために示差走査熱分析を行った。未加熱の脱塩大豆抽出液は11S グロブリンならびに7S グロブリンに対応する熱吸収ピークが観察されたが、90°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液ではそれらの熱吸収ピークは全く検出されず、完全に熱変性していることが確認された。一方、80°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液は7S グロブリンに対応する熱吸収ピークはほとんど観察されなかったが、11S グロブリンに対応する熱吸収ピークは観察された。すなわち80°Cの予

備加熱では、未変性 11S グロブリンが残るために、75°Cの再加熱ではゲルが形成しえなかったであろうと結論した。

冷却ゲル形成と熱可逆のゲル・ゾル転移

先の実験において90°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液がゼラチンや寒天のような冷却ゲル形成能をもつことが示されたが、1) 先の実験では75°Cにおける加熱が10分であった。この時間を延長した場合、冷却を伴わなくても、ゲル化が生じるのではないかと、また2) ゼラチンゲルや寒天ゲルのように加熱、冷却を繰り返した場合のゲル・ゾルの熱可逆性がこの場合もあるか否かを検討した。90°Cで予備加熱した加熱脱塩大豆抽出液の加熱—冷却を9回繰り返したときの G' ならびに G'' の変化を Fig. 3 に示してある。75°Cにおける加熱を40分に延長したが、その間ではゲル化は認められず、冷却に伴い顕著な G' ならびに G'' の上昇が認められた。その様式は加熱—冷却を繰り返した場合、ほとんど同様であり、ゼラチンや寒天ゲルのようにゲル・ゾル転移の熱可逆性があることを示している。この現象は特殊な場合⁹⁾を除き、卵白ゲルや乳清ゲルには一般的には見い出されておらず、大豆抽出液に特徴的な現象であり、それは大豆たん白質の特質に起因し

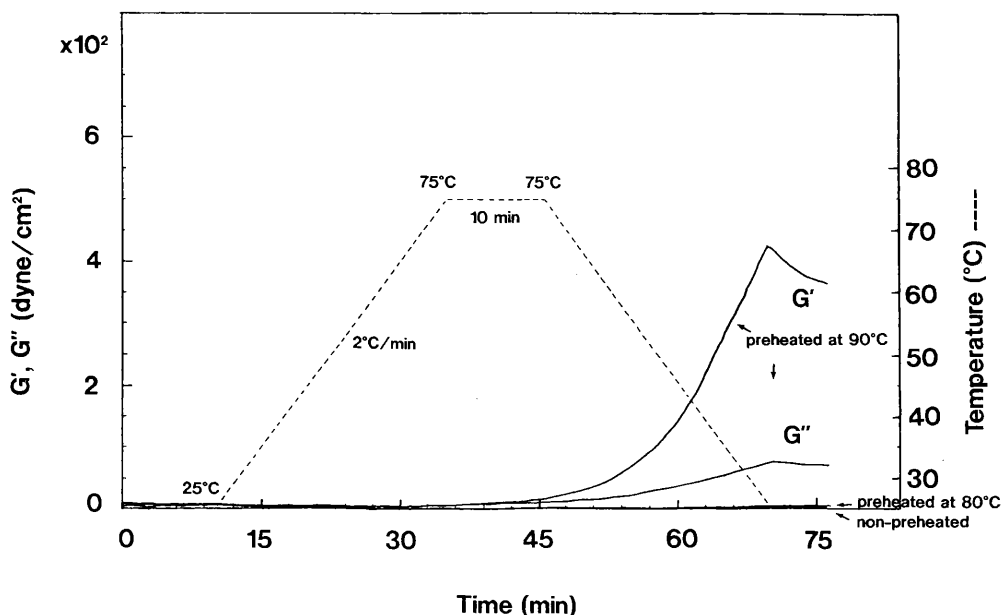


Fig. 2. Changes in the storage modulus, G' and the loss modulus, G'' , of the desalted soybean protein isolate solution (non-preheated) and the desalted soybean protein isolate solutions preheated at 90°C (preheated at 90°C) and 80°C (preheated at 80°C) during heating and cooling. The protein concentration was 75 mg/mL and NaCl concentration was 0.2 M.

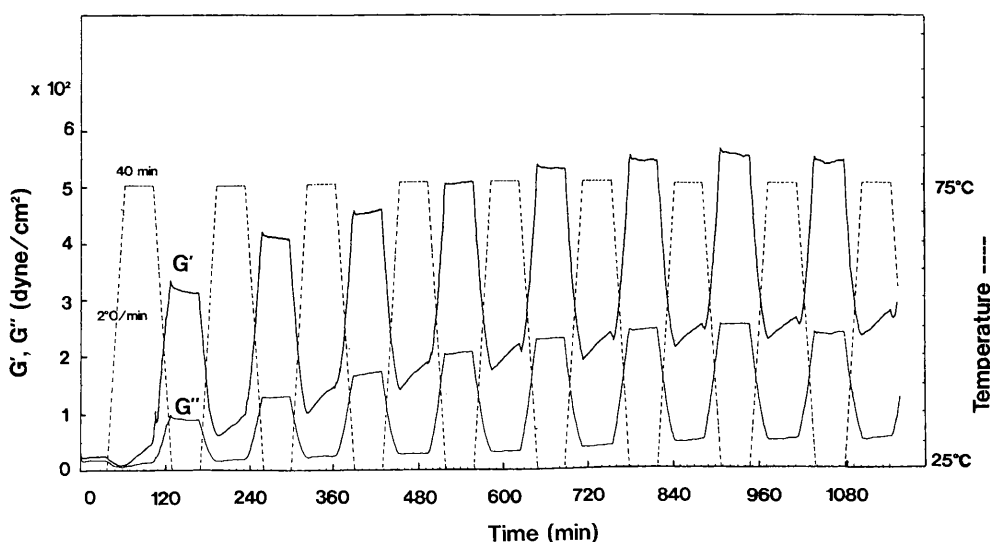


Fig. 3. Change in the storage modulus, G' and the loss modulus, G'' , of the desalted soybean protein isolate solutions preheated at 90°C in the repetition of heating and cooling. The protein concentration was 75 mg/mL and NaCl concentration was 0.2 M.

ているものと思われる。Fig. 3 において加熱—冷却を繰り返した場合、 G' の値が上昇し、6回繰り返してほぼ一定の値になる。この G' の値の上昇の原因説明は今後の課題であるが、分子間のジスルフィド結合の生成などが考えられる。

低温ゲル化能

Fig. 3 の実験においては NaCl の添加濃度は0.2 M である。これまで乳清たん白質などで、加熱脱塩乳清たん白質に塩を添加した場合、室温や水冷却の低温条件下でもゲル化しうることが明らかにされている⁷⁾。そこで90°Cで調製した加熱脱塩大豆抽出液のたん白質濃度を80 mg/mL に上げて、0.2 M NaCl 存在下、30°C で静置し、 G' ならびに G'' の変化を追跡した。その結

果、時間とともに G' ならびに G'' の上昇が認められた。つまり室温もしくは室温以下においても塩添加によりゲル化しうること示している。

加熱脱塩大豆抽出液は冷却沈澱しない

上述の様に90°Cで調製した加熱脱塩大豆抽出液は透明液である。これを67 mg/mL, 100 mM Tris 緩衝液 pH 7.5において4°Cに静置すると、未加熱の脱塩大豆抽出液の場合は時間とともに沈澱が生じるが、加熱脱塩大豆抽出液は沈澱が全く生じなかった。すなわち大豆 11S グロブリンに特有の冷却沈澱能が低イオン強度下での90°Cの予備加熱によって消失したことを示し、大豆抽出液を可溶性を保った状態で冷蔵保存できることを意味している。

要 約

- 1) 脱脂大豆抽出液を pH 7.5に保持しつつ蒸留水に透析して脱塩を行うと、透明な脱塩大豆抽出液が得られる。この脱塩大豆抽出液は大豆臭が極めて少ない。この脱塩大豆抽出液を凍結乾燥すると脱塩大豆粉が得られる。この大豆粉は容易に水に溶解し、以下の特性に変化はない。
- 2) 脱塩大豆抽出液を加熱しても透明の溶液状態を保つ。
- 3) 加熱脱塩大豆抽出液に塩 (NaCl) を添加しても、透明性を保持する。
- 4) 加熱脱塩大豆抽出液に塩 (NaCl) を添加し、再加熱、そして冷却するとゲルが得られる。未加熱の脱脂大豆抽出液に比べ、低濃度でゲル化する。
- 5) この再加熱ゲルは半透明であり、加熱で再融解する。このゲルは寒天やゼラチンゲルのように、冷却でゲル化、加熱で再融解する可逆ゲルである。

- 6) 加熱脱塩大豆抽出液のたん白質濃度を高めて、塩 (NaCl) を添加すると室温 (30°C) 以下の温度に放置するだけでゲル化する。
- 7) 加熱脱塩大豆抽出液は低温に保持しても冷沈しない。

文 献

- 1) Kitabatake N and Doi E (1993) : Improvement of protein gel by physical and enzymatic treatment. *Food Rev Int*, **9**, 445-471.
- 2) Hatta H, Kitabatake N and Doi E (1986) : Turbidity and hardness of a heat-induced gel of hen egg ovalbumin. *Agric Biol Chem*, **50**, 2083-2089.
- 3) Kitabatake N, Hatta H and Doi E (1987) : Heat-induced and transparent gel prepared from hen egg ovalbumin in the presence of salt by two-step heating method. *Agric Biol Chem*, **51**, 771-778.
- 4) Kinekawa Y and Kitabatake N (1995) : Turbidity and rheological properties of gels and sols by heating process whey protein. *Biosci Biotech Biochem*, **59**, 834-840.
- 5) Sasaki R, Okumura K, Kitabatake N, Kitabatake N and Chiba H (1981) : Changes of aldehyde levels in defatted soybean extract. *J Food Sci*, **47**, 31-35.
- 6) Shimizu A, Kitabatake N, Higasa T and Doi E (1991) : Melting of the ovalbumin gels by heating : reversibility between gel and sol. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **38**, 1052-1056.
- 7) Kitabatake N, Fujita Y and Kinekawa Y (1996) : Viscous sol and gel formation from process whey protein below 25°C. *J Food Sci*, **61**, 500-503.