

# 大豆たん白質の分散安定性に及ぼす酸性多糖類の影響

松村康生\*<sup>1</sup>・李 俊<sup>2</sup>

<sup>1</sup>京都大学大学院農学研究科 <sup>2</sup>中国農業科学院飼料研究所

## Effects of Polysaccharides Containing Galacturonic Acids on the Dispersion Stability of Soy Proteins

Yasuki MATSUMURA<sup>1</sup> and Jun LI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University Uji 611-0011

<sup>2</sup>Institute of Feed Research, China Science Academy of Agriculture

### ABSTRACT

Effects of pectin and soluble soybean polysaccharides (SSPS) on the dispersion state of 11S globulin were investigated. The stability of mixture dispersions of 11S globulin (1%) and SSPS (0-1%) or pectin (0-1%) were tested at various pHs from 3.5 to 6.5. SSPS increased amounts of dispersed protein in dose-dependent manner at all pH conditions. Especially, even at pH 5.5 which is close to isoelectric point of 11S globulin, more than 60% protein could be dispersed. On the other hand, only approximately 40% protein was stabilized by pectin at pH 5.5 or 4.5. Although 11S globulin was well-dispersed at pH 3.5 and 6.5 without polysaccharides, pectin decreased the dispersion stability of the protein at both pH conditions. SSPS was shown to have the ability to suppress the precipitation of 11S globulin by addition of calcium or magnesium. These results indicated that SSPS could disperse 11S globulin even under the severe conditions which normally induce the precipitation of the protein. Therefore, the use of SSPS could be promising for the design and production of the acidic or calcium-fortified beverages including soy proteins. *Soy Protein Research, Japan* **9**, 53-57, 2006.

Key words : pectin, soluble soybean polysaccharides, dispersion state

大豆たん白質はアミノ酸バランスに富み、コレステロール低下作用を示すなど栄養学的・生理学的に非常に優れたたん白質である<sup>1)</sup>。大豆油の生産に伴い、多

量の大豆たん白質が副産物として得られることから、その食品への有効利用が望まれている。しかし、大豆たん白質は酸性pH領域、あるいはカルシウム存在下では凝集・沈殿を起こしやすい。また、加熱殺菌や噴霧乾燥などの処理により変性した大豆たん白質は、水

\*〒611-0011 宇治市五ヶ庄

溶液への分散性が低下する。これらの問題点は、大豆たん白質を飲料や乳化食品へ応用する際の障害となっている。

カゼインを主体とする乳飲料の分散安定性については、ペクチン添加が効果を発揮することが知られている<sup>2)</sup>。ペクチンと同様にウロン酸を含む酸性多糖類である水溶性大豆多糖類 (SSPS) にもペクチンと同様な効果のあることが知られている<sup>3)</sup>。しかし、大豆たん白質の分散安定性に対する酸性多糖類の効果はこれまで調べられていなかった。そこで本研究では、大豆たん白質の主要成分である11Sグロブリンを対象とし、様々な条件下における分散安定性に対して、SSPSやペクチンが、どのような効果を与えるのかを検証することを目的とした。また、その安定化メカニズムについて考察を加えた。

## 方 法

### 実験材料および試薬類

11Sグロブリンは脱脂大豆たん白質より、Naganoらの方法<sup>4)</sup>により調製した。調製後の11Sグロブリンは、超高温短時間殺菌 (140℃で数秒間の加熱) をした後、凍結乾燥した。SSPS (製品名: ソヤファイブ-S-DA100) は、不二製油株式会社より供与いただいた。ペクチンは高メトオキシタイプのもの (HM-ペクチン USP-H, CP: Kelco社製) を用いた。その他の試薬は、和光純薬社製のものを用いた。

### 酸性pHにおける11Sグロブリンの分散性に対する酸性多糖類の効果

pH 3.5から6.5までの種々のpHの緩衝液に11Sグロブリン (1%), SSPS (0から1%の様々な濃度) を分散させた。それぞれの混合液を4℃で24時間放置した後、その外観を観察した。また、低速度 (1,000 g) で遠心分離し、沈降してこない分散液中のたん白質濃度をLowry法<sup>5)</sup>によって測定した。

### カルシウム添加による11Sグロブリンの沈降挙動に及ぼすSSPSの効果

カルシウム (20 mM CaCl<sub>2</sub>) を含む緩衝液中に11Sグロブリン (1%), SSPS (0から1%の様々な濃度) を分散させた。4℃で保存後、その外観の観察および沈降しない分散液中のたん白質濃度の定量を前項と同じ方法で行った。

### ゼータ電位測定

11Sグロブリン、酸性多糖類、および11Sグロブリン-酸性多糖類複合体のゼータ電位は、大塚電子社製のゼータ電位測定装置 (ELS-Z) を用いて測定した。

## 結 果

### 酸性pH領域における11Sグロブリンの分散安定性及び酸性多糖類の添加効果

11Sグロブリンを酸性領域のpHに分散させた場合の安定性に対して、酸性多糖類がどのような影響を与えるのかを検討した。Fig. 1にSSPSを添加した場合の結果を示す。まず、(a)の外観を検討した結果、SSPS無添加の場合には、pH 3.5および6.5では、比較的溶液の透明度も高く、良好な分散性あるいは溶解性を示したが、pH 4.5および5.5では、明確な沈殿が認められた。特にpH 5.5では、等電点付近のため、極めて11Sグロブリンが沈殿しやすかった。これに対し、SSPSを加えると、pH 4.5および5.5付近では、添加濃度の上昇に伴い、11Sグロブリンがより分散しやすい状態になっていた。一方、pH 3.5および6.5では、却って、SSPS添加により白濁が生じていた。(b)には、遠心後の、分散液中のたん白質濃度の結果について示す。SSPS無添加の場合、pH 5.5では、ほとんどのたん白質が遠心操作により沈降した。SSPSを0.05%加えた場合には、pH 4.5では90%程度のたん白質が沈降するなど、より分散状態が不安定になる傾向が認められた。しかし、より添加濃度を上昇させてゆくと、pH 4.5でも5.5でも、11Sグロブリンの分散性は著しく改善された。特に、等電点付近のpH 5.5でさえ、60%程度のたん白質が分散していることが示された。pH 3.5および6.5においては、SSPSの添加は分散性に影響を与えなかった。

Fig. 2には、ペクチンを添加した場合の結果を示す。ペクチン無添加の場合に比べて、pH 5.5では、11Sグロブリンが、より分散する傾向が認められた(a)。しかし、そのほかのpHでは、特に分散状態が改善される傾向は認められなかった。遠心後の分散液の定量結果(b)を検討すると、pH 5.5の場合には、ペクチン添加により分散安定性が上昇したが、11Sグロブリンの分散最大量はせいぜい40%程度にとどまった。pH 4.5においては、無添加の場合に50%程度の分散量であったものが、ペクチン添加により分散量が低下する傾向が認められた。pH 3.5や6.5の場合には、無添加の場合に、100%近くが分散していたのに対し、ペクチン添加により、不安定化が促進された。特に、pH 3.5、ペクチン0.25%添加の場合には、ほとんどのたん白質が沈殿し、ペクチン0.5%添加の場合には、pH 3.5、6.5とも40%程度の分散量に止まっていた。

以上の結果より、SSPSはペクチンに比べて、広い酸性pH領域で、11Sグロブリンを、より安定した状態

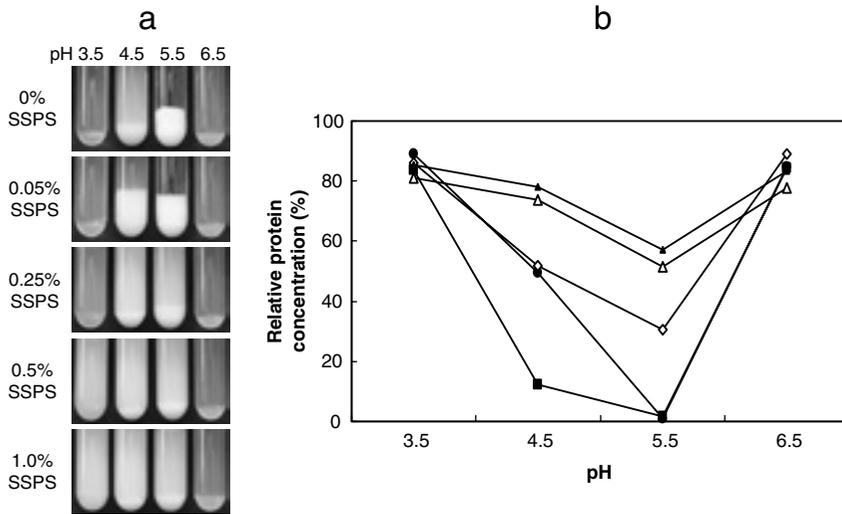


Fig. 1. Effects of SSPS on dispersion state of 11S globulin at various pH conditions. 11S globulin (1%) and SSPS (0-1%) were dispersed in buffers varying pH from 3.5 to 6.5. (a) Appearance of dispersions after storage for 24 h at 4°C. (b) Relative protein concentration in dispersion was determined by Lowry method after centrifugation at 1,000 g. SSPS concentration: (●), 0%; (■), 0.05%; (◇), 0.25%; (▲), 0.5%; (△), 1.0%.

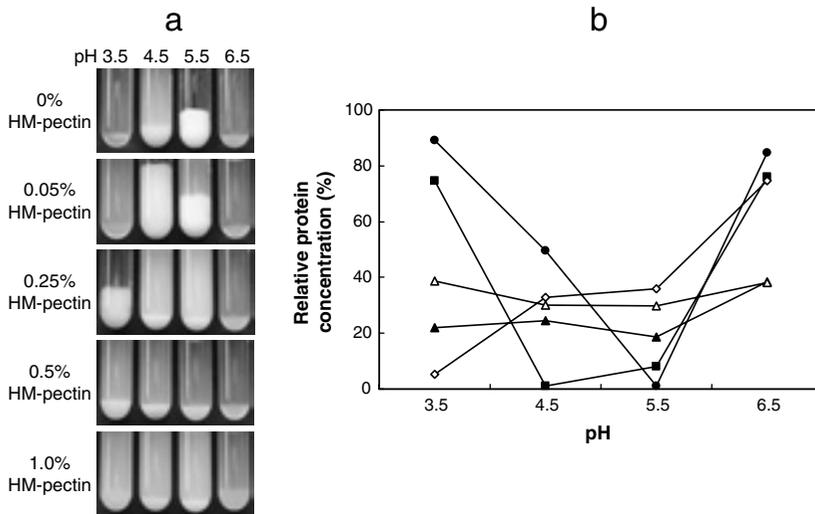


Fig. 2. Effects of pectin on dispersion state of 11S globulin at various pH conditions. 11S globulin (1%) and pectin (0-1%) were dispersed in buffers varying pH from 3.5 to 6.5. (a) Appearance of dispersions after storage for 24 h at 4°C. (b) Relative protein concentration in dispersion was determined by Lowry method after centrifugation at 1,000 g. Pectin concentration: (●), 0%; (■), 0.05%; (◇), 0.25%; (▲), 0.5%; (△), 1.0%.

で分散させる能力を持つことが明らかとなった。  
**カルシウム添加による11Sグロブリンの沈殿挙動に及ぼすSSPSの添加効果**

Fig. 3にカルシウム存在下における11Sグロブリンの分散安定性に及ぼすSSPSの添加効果を示す。(a)に示すように、SSPS無添加あるいは0.05%添加の場合には、沈殿が観察されたが、0.25%以上添加すると良好な分

散性が認められた。遠心後、分散液の濃度を定量した結果(b)においても、0.25%のSSPSの添加で、分散量が増加し、最終的には1%のSSPSの添加で、約70%の11Sグロブリンが分散可能であった。以上の結果より、カルシウム添加条件においても、SSPSは11Sグロブリンを安定した状態で分散させる可能性が示唆された。また、マグネシウム添加条件でも同様な結果が示

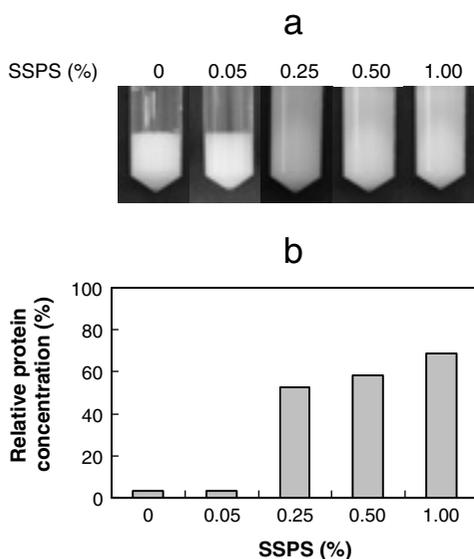


Fig. 3. Effects of SSPS on dispersion state of 11S globulin in the presence of  $\text{CaCl}_2$ . 11S globulin (1%) and SSPS (0-1%) were dispersed in buffers containing 20 mM  $\text{CaCl}_2$ . (a) Appearance of dispersions after storage for 24 h at 4°C. (b) Relative protein concentration in dispersion was determined by Lowry method after centrifugation at 1,000 g.

された (データ示さず).

#### ゼータ電位測定

11Sグロブリンと酸性多糖類との相互作用を検討するため、ゼータ電位を測定した。様々なpHで測定を行ったが、pH 5.5の場合だけを述べると、11Sグロブリン分散液のゼータ電位は-9.5 mVであった。それに対し、SSPSまたペクチンを添加した場合には、それぞれ-11 mVと-21 mVであった。この結果、SSPSもペクチンも11Sグロブリンと相互作用してそのゼータ電位を変化させること、ゼータ電位の低下能力はペクチンの方が優れていることが示された。

#### 考 察

11Sグロブリンの様々な溶液条件における分散安定性に対する酸性多糖類の添加効果を検討したところ、特にSSPSで優れた分散安定化効果が認められた。酸性領域における実験では、11SグロブリンはpH 5.5や4.5ではほとんどが沈殿したが、SSPSを加えることによりその分散性が著しく改善された。それに対し、ペクチンはpH 5.5では、ある程度11Sグロブリンの分散性を改善するものの、他のpHでは逆に分散を不安定化する結果が得られた。一方、ゼータ電位を測定したところ、SSPSと11Sグロブリン複合体の負の表面電荷は、ペクチン-11S複合体に比べて小さくなる傾向が認

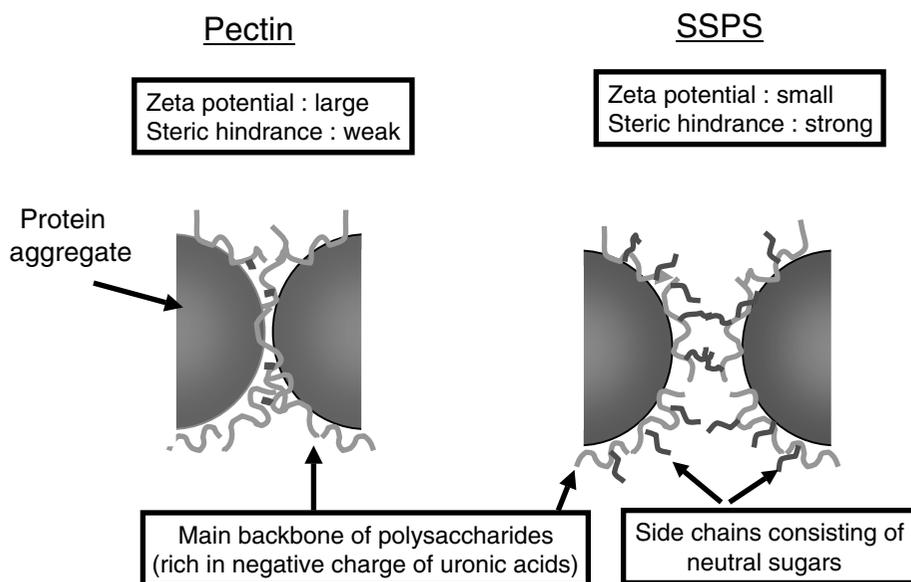


Fig. 4. Stabilizing mechanism of protein aggregates by pectin or SSPS. Protein aggregates should be stabilized via electrostatic repulsion between adsorbed layers of pectin or SSPS. In the case of SSPS, the steric hindrance by long side chains consisting of neutral sugars may also contribute to the stabilization.

められた。それにも関わらず、SSPSの方がペクチンに比べて、優れた分散安定化能を示す理由はFig. 4のように考えられる。すなわち、SSPSとペクチンは、両者とも酸性糖を主体とした主鎖と、中性糖からなる測鎖を持っている<sup>3,6)</sup>。しかし、SSPSの方が、測鎖の長さが長いので、吸着したたん白質表面において、測鎖の立体効果が働き、たん白質の接近・凝集を妨げるものと考えられる<sup>7)</sup>。このほか、SSPSは、カルシウムやマグネシウム添加による11Sグロブリンの沈殿現象

に対しても、抑制的に働くことが示唆された。

なお、この報告では11Sグロブリンの結果についてのみ述べたが、7Sグロブリンの分散性に対しても、SSPSが著しい安定化効果を持つことを明らかにしている。以上のようにSSPSはペクチンに比べて優れた大豆たん白質分散安定化効果を示すことから、大豆たん白質を含む酸性飲料やカルシウム添加飲料等の開発に大きく貢献するものと思われる。

## 要 約

ペクチンおよび同じ酸性多糖類である水溶性大豆多糖類 (SSPS) の、11Sグロブリンの分散安定性に対する添加効果について検討した。pH 3.5からpH 6.5の様々なpHにおいて、11SグロブリンとペクチンあるいはSSPSを種々の比率で混合し、11Sグロブリンの分散安定性を検討した。その結果、SSPSに関しては、一部例外はあるものの、その添加量の増大に応じて、11Sグロブリンの分散安定性が上昇することが明らかとなった。特に等電点付近のpH 5.5においても、11Sグロブリンと当量のSSPSを加えることによって、60%以上のたん白質が安定した状態で分散していた。それに対し、ペクチンの場合には、等電点付近での分散安定化効果がSSPSに比較して劣っていただけでなく、pH 3.5や6.5においては、添加によって逆に11Sグロブリンが凝集沈殿しやすくなる例が認められた。また、11Sグロブリンのカルシウムやマグネシウムによる沈殿形成に対するSSPSの添加効果を検討した結果、SSPSの添加量の増加に伴い、11Sグロブリンの沈殿が抑制されることが示された。このように、SSPSを添加すると、通常では適用することのできない溶液条件においても11Sグロブリン溶液あるいは分散液を調製できることが明らかとなった。この成果を利用することによって、大豆たん白質を含む酸性飲料やカルシウム添加飲料の設計が可能になるものと期待される。

## 文 献

- 1) Friedman M and Brandon DL (2001): Nutritional and health benefits of soy proteins. *J Agric Food Chem*, **49**, 1069-1086.
- 2) May CD (2000): Pectins. In: Handbook of Hydrocolloids. Philipps GO and Williams PA, eds., *CRC Press*, pp.169-188.
- 3) Maeda H (2000): Soluble soybean polysaccharides. In: Handbook of Hydrocolloids. Philipps GO and Williams PA, eds., *CRC Press*, pp. 309-320.
- 4) Nagano T, Hirotsuka M, Mori H, Kohyama K and Nishinari K (1992): Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans. *J Agric Food Chem*, **40**, 941-944.
- 5) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall J (1951): Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*, **193**, 265-275.
- 6) Nakamura A, Furuta H, Maeda H, Takao T and Nagamatsu Y (2002): Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan. *Biosci Biotechnol Biochem*, **66**, 1301-1313.
- 7) Nakamura A, Furuta H, Kato M, Maeda H and Nagamatsu Y (2003): Effects of soybean soluble polysaccharides on the stability of milk protein under acidic conditions. *Food Hydrocoll*, **17**, 333-343.