

# 大豆たん白質のグリシニン成分がゲル形成性に優れている理由の解明

長野隆男\*

川崎医療福祉大学医療技術学部

## Elucidation of the Reason Why Glycinin Has a High Ability to Form Heat-induced Gel

Takao NAGANO

Department of Clinical Nutrition, Kawasaki University of Medical Welfare,  
Kurashiki 701-0193

### ABSTRACT

Heat-induced gels of glycinin and soybean protein isolate (SPI) were prepared using magnesium chloride ( $MgCl_2$ ) as a coagulant. Viscoelastic properties and microstructures of glycinin and SPI gels were investigated using dynamic viscoelastic measurements (DVM) and confocal laser scanning microscopy (CLSM). DVM indicated that glycinin was formed stiffer than SPI under all experimental conditions. CLSM images showed that the structures of glycinin gels were coarser and more heterogeneous than SPI gels in comparable conditions. The microstructures of glycinin and SPI gels were analyzed by two parameters: the fractal dimension and the average density of network structures. Compared to SPI, glycinin forms  $MgCl_2$ -induced gels with a lower fractal dimension and a higher density of network structures. *Soy Protein Research, Japan* **10**, 30-33, 2007.

Key words: soybean proteins, magnesium chloride, heat-induced gel, dynamic viscoelastic measurement, confocal laser scanning microscopy

グリシニン（11Sグロブリン）は大豆たん白質の主要成分であり、今までの加熱ゲルや豆腐に関する研究から大豆たん白質の中で最もゲル形成性に優れていることが知られている<sup>1)</sup>。しかしながら、その理由はいまだ説明できていない。本研究では、グリシニンがゲル形成性に優れている理由の解明を目的とし、グリシ

ニンと分離大豆たん白質（以下、SPI）のゲルについて、粘弾性特性とゲル構造の違いを調べた。加熱ゲルは、塩化マグネシウム（以下、 $MgCl_2$ ）を凝固剤として使用した。 $MgCl_2$ は、豆腐の製造によく使用される凝固剤である。粘弾性特性は動的粘弾性測定法（以下、DVM）、ゲル構造は共焦点レーザー走査顕微鏡（以下、CLSM）を用いて実験をおこなった。

\*〒701-0193 倉敷市松島288

## 方 法

### 材料と試料の調製

大豆は品種フクユタカを使用し、グリシニンとSPIの調製は既報<sup>2,3)</sup>に従って調製した。

### 動的粘弾性測定 (DVM)

グリシニンとSPIのたん白質分散液を1NのHClでpH 6.8に調製し、96°Cで10分間加熱した。加熱たん白質分散液に、適量のMgCl<sub>2</sub>と塩化ナトリウム（以下、NaCl）を加えて攪拌し、測定台にのせた。DVMはAR 550レオメータ（TAインストルメントジャパン）を使用した。ジグは60 mmパラレルプレート、ギャップは1 mmに設定した。測定中に水の蒸発を防ぐため少量のシリコンオイルで測定試料の表面を覆った。試料分散液は70°C、30分間加熱し、25°Cに冷却（約3分）した後、25°Cで30分間保った。その後、1 Hzで歪みを変化させて歪み依存性を測定した。G'の値は、G'値が歪みに依存しない領域（線形領域）の値を採用し、3回以上測定した平均値と標準誤差を求めた。

### 共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM)

加熱たん白質分散液の調製は前述した方法と同様におこなった。加熱分散液に、まず、ローダミンB (0.001 w/w) を加えて攪拌し、次に、適量のMgCl<sub>2</sub>とNaClを加えて攪拌し、プレパラートに封入した。加熱は、高温そう中で70°C、30分間おこない、室温、暗所で冷却したものを観察試料とした。ゲル構造の観察は、CLSM (Digital Eclipse C1, ニコン) を用い、543 nmで蛍光を激起して、油浸100倍対物レンズでおこなった。画像解析はImage-Pro Plus 5.0 (日本ローパー) を使用し、フラクタル解析はボックスカウンティング法<sup>9)</sup>によりおこなった。

## 結果と考察

### たん白質濃度の影響

豆腐の製造において、使用されるMgCl<sub>2</sub>の濃度は、0.25%が一般的である<sup>5)</sup>。そこで、MgCl<sub>2</sub>濃度が0.25%、NaCl濃度が1%の条件で、タンパク質濃度を変化させて、グリシニンとSPIのゲルを作製し粘弾性特性とゲル構造を調べた。Fig. 1にDVMで得られたG'とたん白質濃度の関係を示した。G'値をたん白質濃度に対して指数対数プロットしたところ、グリシニンゲルとSPIゲルのどちらも直線関係がみられた。グラフの傾きからnの値を求め、グリシニンゲルは2.9、SPIは、3.3との値が得られ、nの値はグリシニンゲルの方が

SPIゲルよりも低い値であった。このことは、グリシニンの方がSPIよりも低濃度でゲルを形成することを意味している。ゲルの粘弾性特性に与えるたん白質濃度の影響を調べたところ、同じたん白質濃度において、グリシニンゲルはSPIゲルよりも高いG'値を示したことから、より硬いゲルを形成することが示された。

Fig. 2にCLSMでゲル構造を観察した結果を示した。使用した蛍光試薬ローダミンはたん白質を染色するため、白く発色している部分がたん白質と考えられる。CLSM画像の白色部分はたん白質濃度が低下すると減少すること、グリシニンとSPIのゲル構造の違いは低たん白質濃度でより明らかになることが示された。また、グリシニンのゲル構造は、SPIに比べて、より荒く不均一な構造であった。次に、フラクタル解析をおこないCLSM画像からフラクタル次元を求めた。その結果をFig. 3に示す。フラクタル次元はたん白質濃度の低下とともに低下した。さらに、グリシニンゲルとSPIゲルのフラクタル次元の値は、3.2%以下で差が見られた。また、グリシニンゲルのフラクタル次元はSPIゲルよりも低い値を示した。ゲル構造に与えるたん白質濃度の影響をCLSMで観察した結果から、グリシニンのゲル構造は、SPIに比べてより荒く不均一であること、グリシニンとSPIのゲル構造を比較するには、3.2%以下のたん白質濃度が望ましいことがわかった。

### MgCl<sub>2</sub>濃度の影響

たん白質濃度が3.2%、NaCl濃度が1%の条件で、MgCl<sub>2</sub>濃度を変化させて、グリシニンとSPIゲルの粘弾性特性とゲル構造を調べた。Fig. 4にDVMから得られたG'とMgCl<sub>2</sub>濃度の関係を示した。グリシニンゲル

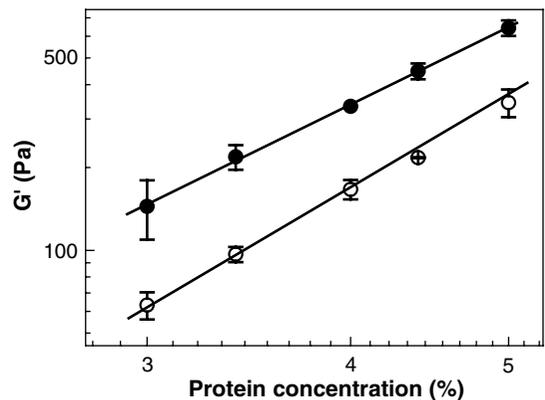


Fig. 1. Storage modulus G' of glycinin and SPI gels against protein concentration on a logarithmic scale. (●) glycinin, (○) SPI.

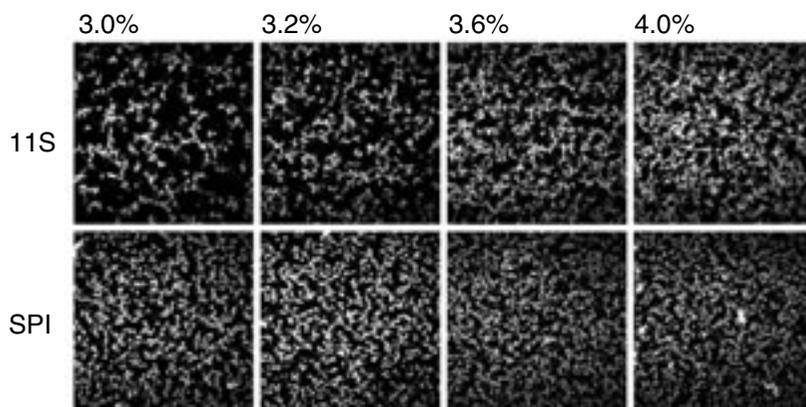


Fig. 2. CLSM images of glycinin and SPI gels at different protein concentrations. The width of each image was  $127.5\ \mu\text{m}$ .

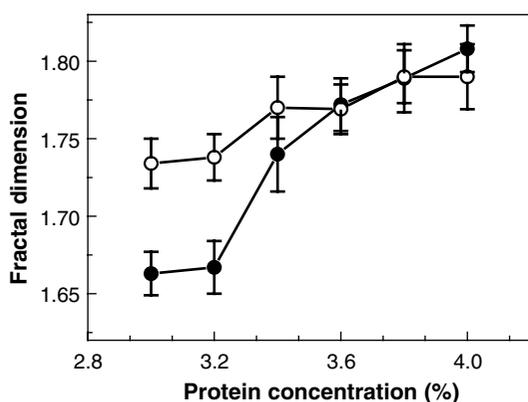


Fig. 3. Fractal dimensions of glycinin and SPI gels obtained by CLSM images at different protein concentrations. (●) glycinin, (○) SPI.

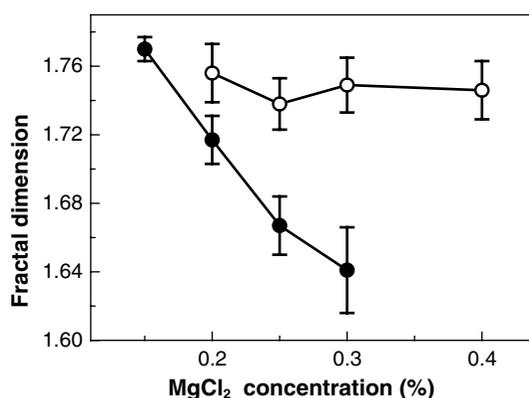


Fig. 5. Fractal dimensions of glycinin and SPI gels obtained by CLSM images at different  $\text{MgCl}_2$  concentrations. (●) glycinin, (○) SPI.

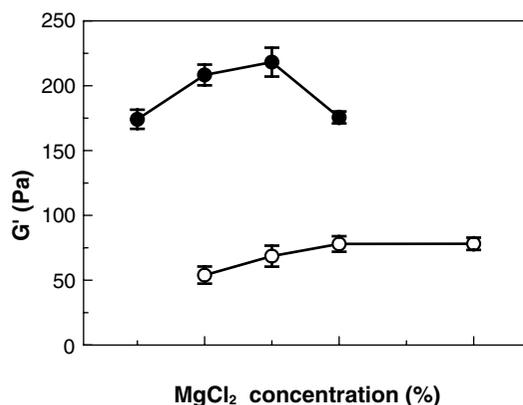


Fig. 4. Storage modulus  $G'$  of glycinin and SPI gels as a function of  $\text{MgCl}_2$  concentration. (●) glycinin, (○) SPI.

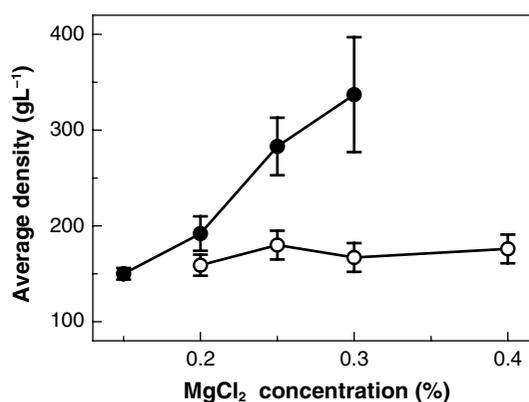


Fig. 6. Average density of gel networks for glycinin and SPI gels obtained by CLSM images at different  $\text{MgCl}_2$  concentrations. (●) glycinin, (○) SPI.

のG'値はMgCl<sub>2</sub>濃度の増加とともに0.25%まで増加しそれ以上の濃度では低下した。一方、SPIのゲルではMgCl<sub>2</sub>濃度の増加とともにG'の増加が観察されたが、その増加は小さいものであった。同じMgCl<sub>2</sub>濃度において、グリシニンのゲルはSPIよりも高いG'値を示したことから、より硬いゲルを形成することが示された。

ゲル構造をCLSMで観察したところ、MgCl<sub>2</sub>濃度を变化させるとグリシニンゲルの網目構造が大きく変化するが、SPIゲルの網目構造はほとんど変化しなかった（結果は示さず）。次に、CLSM画像からフラクタル次元を求めた。Fig. 5にフラクタル次元とMgCl<sub>2</sub>濃度の関係を示す。グリシニンゲルのフラクタル次元はMgCl<sub>2</sub>濃度に強く影響をうけ、MgCl<sub>2</sub>濃度が増加すると、フラクタル次元は大きく低下した。一方、SPIゲルのフラクタル次元はMgCl<sub>2</sub>濃度にほとんど影響を受けず、MgCl<sub>2</sub>濃度が増加してもフラクタル次元はほとんど変わらなかった。同じMgCl<sub>2</sub>濃度でのフラクタル

次元は、グリシニンゲルの方がSPIゲルよりも低い値を示した。グリシニンゲルとSPIゲルのフラクタル次元は、1.64から1.77の値を示したことから、ゲル形成はクラスター凝集（cluster-cluster aggregation; CCA）モデルが適用できると考えられる。

ゲルの網目構造の密度をCLSM画像から求め、MgCl<sub>2</sub>濃度と網目構造の平均密度との関係をFig. 6に示した。グリシニンゲルの網目構造の平均密度はMgCl<sub>2</sub>濃度に強く影響をうけ、MgCl<sub>2</sub>濃度が増加すると大きく増加した。一方、SPIゲルの網目構造の平均密度はMgCl<sub>2</sub>濃度に影響を受けず、MgCl<sub>2</sub>濃度が増加しても網目構造の平均密度はほとんど変わらなかった。

同じMgCl<sub>2</sub>濃度でのゲルの網目構造の密度は、グリシニンゲルの方がSPIゲルよりも高い値を示した。この結果から、グリシニンはSPIよりも、たん白質分子がより密に凝集したゲル構造を形成すると考えられる。

## 要 約

豆腐の凝固剤としてよく用いられている塩化マグネシウム（にがり）をもちいて、グリシニンと分離大豆たん白質（SPI）の加熱ゲルを作製した。ゲルの粘弾性特性は動的粘弾性測定法（DVM）を用いて、ゲル構造は共焦点レーザー走査顕微鏡（CLSM）を使用して調べた。DVMの結果から、グリシニンはSPIよりも硬いゲルを形成することが示された。CLSMを使用してゲル構造の観察をおこなったところ、グリシニンのゲルは、SPIのゲルよりも粗く、より不均一な構造であった。さらに、ゲル構造について画像解析をおこない、フラクタル次元と網目構造の平均密度を求めた。その結果、グリシニンのゲルはSPIのゲルよりも、フラクタル次元はより低く、網目構造の平均密度はより高い結果となった。以上の結果から、グリシニンがゲル形成性に優れている理由は、たん白質分子が密に凝集する性質によるものであることが考えられた。

## 文 献

- 1) Utsumi S, Matsumura Y and Mori T (1997): Structure-function relationships of soy protein. In: Food proteins and their applications. Damodaran S and Paraf A eds., Marcel Dekker, Inc, New York, pp 257-291.
- 2) Nagano T, Hirotsuka M, Mori H, Kohyama K and Nishinari K (1992): Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of  $\beta$ -conglycinin. *J Agric Food Chem*, **40**, 941-944.
- 3) Nagano T, Fukuda Y and Akasaka T (1996): Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of  $\beta$ -conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolates. *J Agric Food Chem*, **44**, 3484-3488.
- 4) 松下 貢 (2002): フラクタルの物理 (I) - 基礎編 -, 小裳華房, 東京.
- 5) Toda K, Ono T, Kitamura K, Hajika M and Takahashi K (2003): Seed protein content and consistency of Tofu prepared with different magnesium chloride concentrations in six Japanese soybean varieties. *Breeding Sci*, **53**, 217-223.