

## 9143 加熱にともなう食品タンパク質の粘稠化とゲル化に対する塩の影響

北島 直文(京都大学)

【研究目的】 タンパク質は毎日の食事において摂取せねばならない必須の栄養成分である。その一方で、食品には食品として受け入れられるための物性や構造が必要であり、タンパク質はそれを形成する成分でもある。食品は多くの場合、調理や加工の段階で加熱を受ける。熱処理を受けたタンパク質液は、タンパク質濃度が低い場合には粘稠なゾルとなり、タンパク質濃度が高い場合にはゲルを形成する。塩の存在はこのゾル、ゲルの性状に著しい影響を与える。本研究では特に、タンパク質濃度が低い場合について、加熱前後の物性、性状に対し、塩がどのように影響を与えるのか検討した。

【研究方法】 対象とした食品タンパク質は牛乳清タンパク質、卵白タンパク質である。乳清タンパク質は新鮮牛乳より酸沈澱法により調製した。pHは7、タンパク質濃度は1から6.7%まで変えた。卵白は、蒸留水に透析した後、生じた不溶物を除き、pHを7に調整した標品を用いた。キサントガム等の多糖類は、水に溶解したものをを用いた。粘度計は、東京計器製のE型回転粘度計を用い、粘度計測・データ処理プログラム(TOP, 東機産業)を用いて解析した。ずり速度は、 $3.83\text{ s}^{-1}$ から $383\text{ s}^{-1}$ まで順次上昇させ、ついで $3.83\text{ s}^{-1}$ まで降下させた。測定は $25^{\circ}\text{C}$ で行なった。

【研究結果】 卵白液(タンパク質濃度3%)の場合、見かけの粘度がずり速度に強く依存し、いわゆる非ニュートン挙動を取り、低ずり速度域では極めて高い粘度を示したが、高ずり速度域では低い粘度を示した。 $38.3\text{ s}^{-1}$ では $20\text{ mP}\cdot\text{s}$ の粘度を示した。この卵白液は加熱すると白濁するが、pHを3付近に調整すると透明液の状態が保たれる。この状態において粘度を測定すると、同じように非ニュートン挙動を示し、かつ粘度も、加熱前に比べ、上昇していた。乳清タンパク質の場合も、未変性で塩の存在しない状態では非ニュートン挙動を示したが、塩を添加するとニュートン性の挙動を示した。しかしタンパク質濃度が6%を越えると、塩が存在しても非ニュートン挙動を示した。塩が存在しない場合には加熱を行なった場合も、粘度の上昇はほとんど見られないが、塩存在下で加熱した場合には粘度上昇が認められた。しかも興味深いことに、見かけの粘度がずり速度にほとんど依存せず、ニュートン流体に近い挙動を示した。



## 9143 加熱にともなう食品タンパク質の粘稠化とゲル化に対する塩の影響

北島 直文(京都大学)

## 1. 研究目的

毎日の食事はにおいて摂取せねばならない必須の栄養成分を、われわれは食品の形で取り込んでいる。その一方で、食品には食品として受け入れられるための物性や構造が必要である。タンパク質は必須の栄養成分であると同時に、食品形態を構成する成分でもある。例えばスープに代表される液状食品や、肉やゼリーなどの咀嚼感のある組織状食品の構造形成に食品タンパク質が係わっている。食品タンパク質は、通常、調理や食品加工の段階で、殺菌、消化性の向上、風味の付与などを目的として、加熱を受ける。この加熱にともなうタンパク質は変性し、先のように食品固有の物性や構造をもたらす。

熱処理を受けたタンパク質液は、タンパク質濃度が低い場合には粘稠なゾルとなり、タンパク質濃度が高い場合にはゲルを形成する。塩の存在はこのゾル、ゲルの性状に著しい影響を与える。本研究は食品タンパク質の加熱前後における物性、性状の変化に対し、塩がどのように影響するか、そしてどのような機構で作用するのかを知ろうとするものである。卵白および卵白アルブミンの場合、加熱後の状態がタンパク質液の塩濃度とpHに著しく依存することが明らかになっている。すなわち中性領域の緩衝液に溶かした卵白アルブミン溶液を加熱すると、白濁ゲルが形成する。しかし極めて低い塩濃度においては透明ゲルや透明溶液を形成する。透明ゲルの方が白濁ゲルよりもゲル自体の強度が強く、硬いゲルとなる<sup>(1-6)</sup>。このような現象は乳清タンパク質についても見出されることがすでに判明している。タンパク質濃度の低い領域において同様に透明液の状態を造りだし得る。

乳清タンパク質は牛乳からカゼイン成分を除いて生じる上清画分やチーズ等の製造によって生じる副産物であり、その量は欧米を中心において膨大なものになっている。その利用は乳清タンパク質の物性改良や制御法の開発によってより進むものと思われる。

本研究では、乳清タンパク質液について、加熱に伴う粘稠化、ゾル化に対する塩の効果を検討した。

## 2. 研究方法

**材料** 対象とした食品タンパク質は牛乳清タンパク質、卵白タンパク質である。卵白タンパク質は、卵白を蒸留水に透析した後、生じた不溶物を除き、pHを7に調整した標品を用いた。キサントガム等の多糖類は、蒸留水に溶解したものをを用いた。液糖は50% (w/v) の砂糖液を用いた。乳清タンパク質は以下の方法で精製した。新鮮牛乳のpHを4.5に調整し、沈澱部分を除いた上清を濃縮したものを入手し、これを希釈した後、再度pHを1N HClを用いて4.5に調整し、遠心分離(8000 rpm, 日立9-2ローター)により上清を得た。この上清をNo. 2の濾紙で濾過した後、硫酸アンモニウムを75%飽和になるように加え、乳清タンパク質を沈澱させた。この沈澱を遠心分離(8000 rpm, 日立9-2ローター)により回収し、蒸留水に対して十分透析した。透析により生じた微かな濁りは同様に、遠心分離(8000 rpm, 日立9-2ローター)により除去し、透明な乳清タンパク質溶液を得た。この乳清タンパク質溶液のpHを2N NaOHによって7.0に調整し、以下の実験に供した。タンパク質濃度は70mg/mlに調整した。

**粘度測定** E型粘度計(東京計器製)を用い、粘度計測・データ処理プログラム(TOP, 東機産業)を用いて解析した。ずり速度は、 $3.83\text{ s}^{-1}$ から $383\text{ s}^{-1}$ まで段階的に上昇させ、ついで $3.83\text{ s}^{-1}$ まで降下させた。測定は25℃で行なった。

## 3. 研究結果

**液糖液、卵白液、キサントガム** 液糖液、卵白液、キサントガムの粘性挙動を図1に示してある。図1の左図は各ずり速度におけるずり応力をプロットしたものである。液糖液はずり応力がずり速度増加に対して直線的に増加し、完全なニュートン流体としての挙動を示した。左図のデータから見かけの粘度をずり速度に対してプロットすると、当然のことながら、横軸に平行な、粘度がずり速度に依存しない直線を与える(図1右図)。

次に卵白液の場合、これは液糖とは全く異なる挙動を示した(図2)。ずり速度を上げていくと、ずり応力ははじめは急激に増加するが、その後、定常状態に達する。ずり速度を下げていくと、徐々にずり応力が減少し、ずり速度が0に到達してもずり応力は高い値を示したままである。典型的なチクソトロピックなヒステシスループを示し、しかもずり速度を上げていく場合、ずり応力の増加はS字型になっており、これはいわゆるオストワルドの構造粘性を示すものである。

キサントガム液も卵白液同様に、非ニュートン流体としての挙動を示すが、卵白液の場合と異なり、ずりの速度の上昇、下降においてその挙動に違いはなく、ヒステシスル

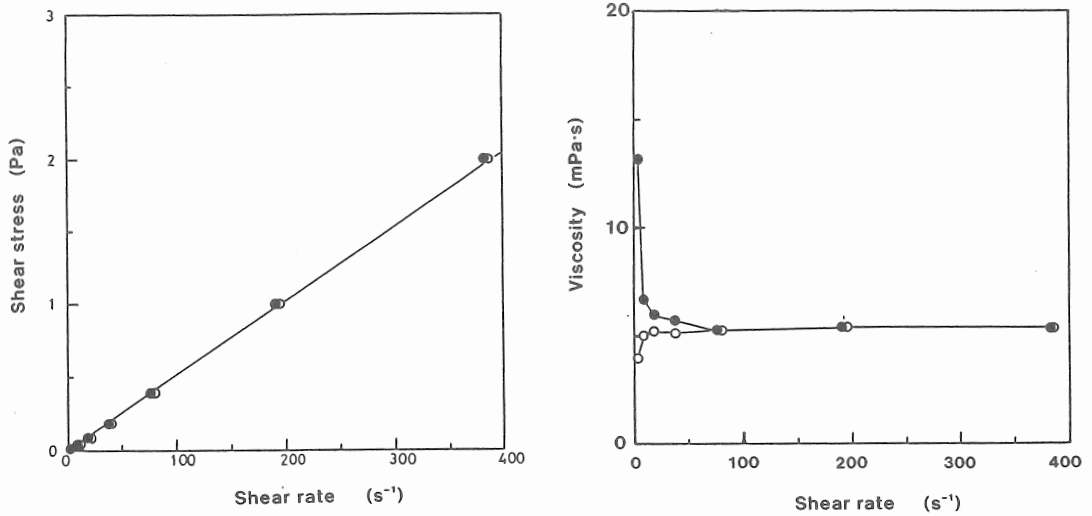


Figure 1. Flow curves of liquid sugar solution. Shear rate increased from 3.83 sec<sup>-1</sup> to 383 sec<sup>-1</sup> (●) and decreased from 383 sec<sup>-1</sup> to 3.83 sec<sup>-1</sup> (○).

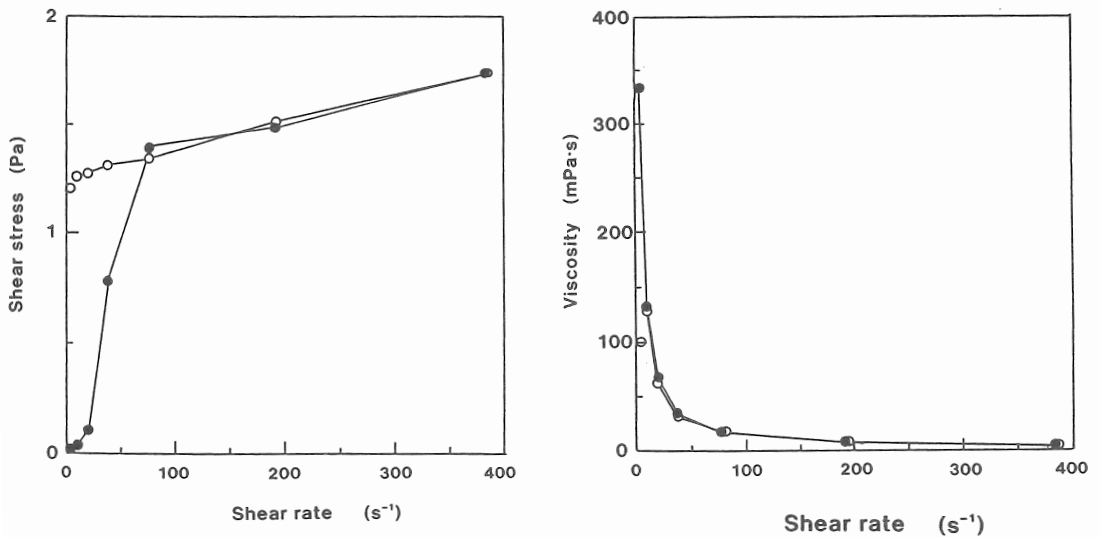


Figure 2. Flow curves of egg white. Shear rate increased from 3.83 sec<sup>-1</sup> to 383 sec<sup>-1</sup> (●) and decreased from 383 sec<sup>-1</sup> to 3.83 sec<sup>-1</sup> (○).

ープを示さなかった（図3）。つまりキサントガム液も液体内にあって、変形を妨げているある種の構造が存在し、それがずりを与えることにより破壊されるものと考えられる。しかしながらチクソトロピックなヒステレシスループは示していない。

先に卵白液で示したように、一般的にタンパク質溶液は非ニュートン流体としての挙動を示すが、この現象が乳清タンパク質液に対しても成り立ちうるか否か検討した。

まず塩を含まない条件で、3%および6.5%の未変性の乳清タンパク質溶液の粘性流動は図4の如くなり、低ずり速度域において見かけの粘度が高くなる傾向を示した。つまり非ニュートン挙動である。しかし卵白液で見られたパターンとはかなり異なり、非ニュートン挙動は顕著ではない。同じ系に塩を50mM、もしくは100mM添加した場合（図5、6）、3%においてはニュートン体としての挙動を示した。6.5%の場合には100mMにおいても非ニュートン流動を示した。このような非ニュートン挙動は未加熱のタンパク質液において、通常見られる現象であり、未変性のタンパク質分子間の静電的相互作用に基づくものであるとされている。

次に、塩を含まない状態でこの乳清タンパク質を加熱した場合の粘性挙動を示したのが図7である。図4に示した未変性の乳清タンパク質液よりも粘度の上昇が認められ、特に6%の場合は、4倍近い値になっている。しかし粘度—ずり速度のプロットからわかるように、加熱乳清タンパク質液の場合も、ニュートン挙動を示し、見かけの粘度がずり速度の依存しない。この加熱標品は透明液の状態を維持している。

タンパク質は加熱すると変性し、凝集する。塩の存在は、変性タンパク質分子の凝集を促進するため、密なネットワークの形成や塊状凝集体を形成し、弾力性に富んだ透明ゲルや白濁したゲルを形成する。つまり、塩の存在下で加熱した場合、より粘度が上昇するものと考えられる。そこで50mMのNaClを添加して加熱して得られた乳清タンパク質液、および塩無添加でいったん加熱して得られた乳清タンパク質液に50mMのNaClを添加して再加熱して得られた乳清タンパク質液の粘度—ずり速度プロットを図9に示してある。

塩の存在下で加熱した場合（図9左図）、予想に反して塩を添加すると粘度はかえって低い値を示した。50mMのNaCl添加で、液は若干濁度を呈していたことから、熱変性したタンパク質分子は直鎖状の凝集体を形成せず、塊状の凝集体を形成したため、粘度が増加しなかったものと解釈した。それに対して、塩無添加の条件でいったん加熱して、それに塩を添加して（50mM）、再加熱後調べた粘度は約13mPa\*sを示し、高い値となった。この標品は50mMのNaClを含んでいるが、全く白濁はなく、透明である。つまりこの標品のタンパク質分子は変性して、線状凝集体を形成するため粘度が上昇したものと考えられる。

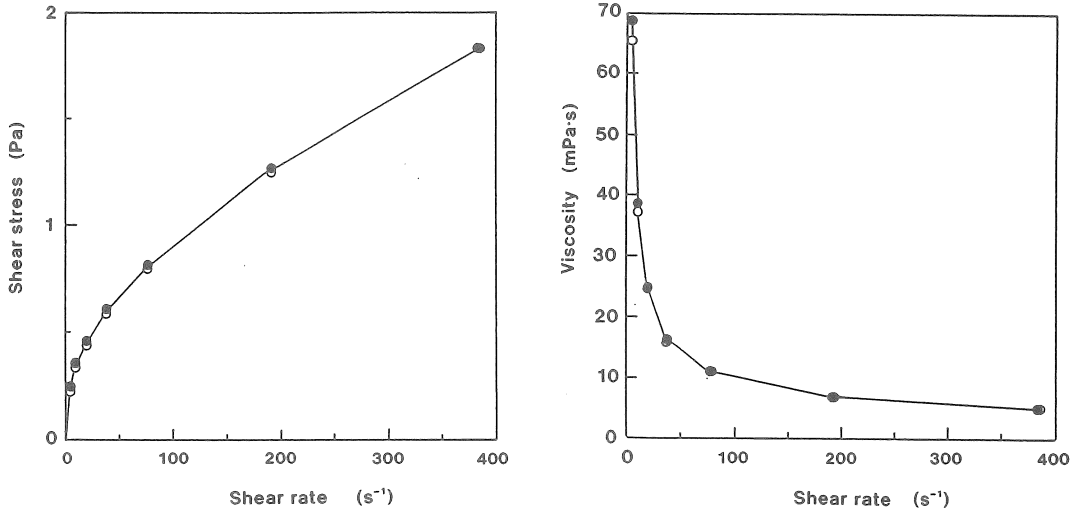


Figure 3. Flow curves of xanthan gum solution. Shear rate increased from 3.83 sec<sup>-1</sup> to 383 sec<sup>-1</sup> (●) and decreased from 383 sec<sup>-1</sup> to 3.83 sec<sup>-1</sup> (○).

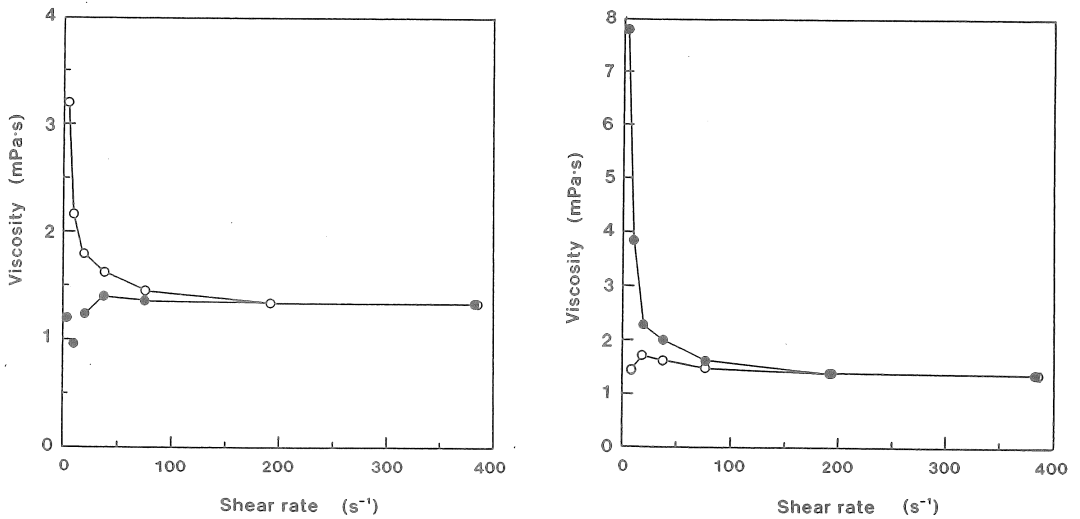


Figure 4. Flow curves of whey protein solution without salt. Protein concentration; 3.0% (left) and 6.5% (right). Shear rate increased from 3.83 sec<sup>-1</sup> to 383 sec<sup>-1</sup> (●) and decreased from 383 sec<sup>-1</sup> to 3.83 sec<sup>-1</sup> (○).

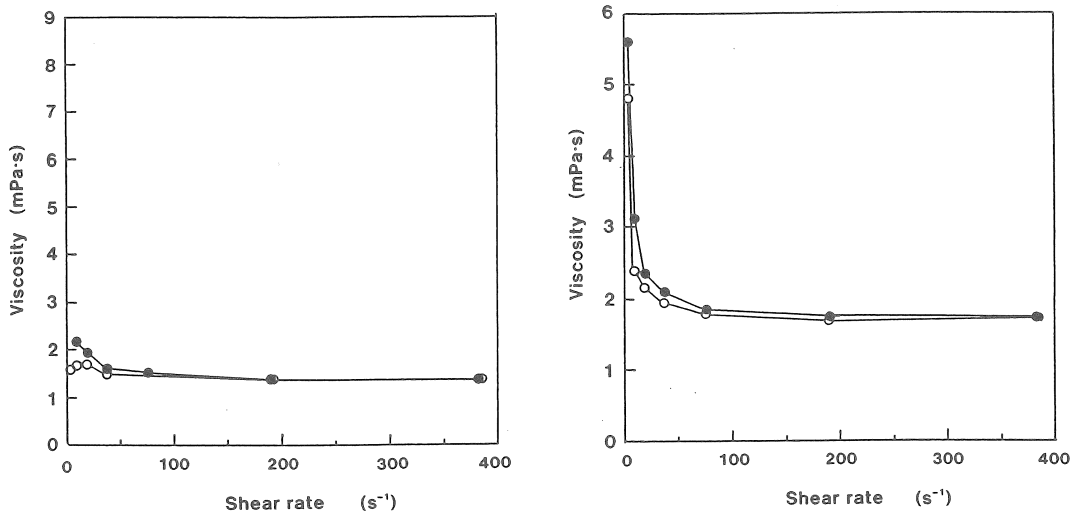


Figure 5. Flow curves of whey protein solution in the presence of 50 mM NaCl. Protein concentration; 3.0% (left) and 6.5% (right). Shear rate increased from  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  to  $383 \text{ sec}^{-1}$  (●) and decreased from  $383 \text{ sec}^{-1}$  to  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  (○).

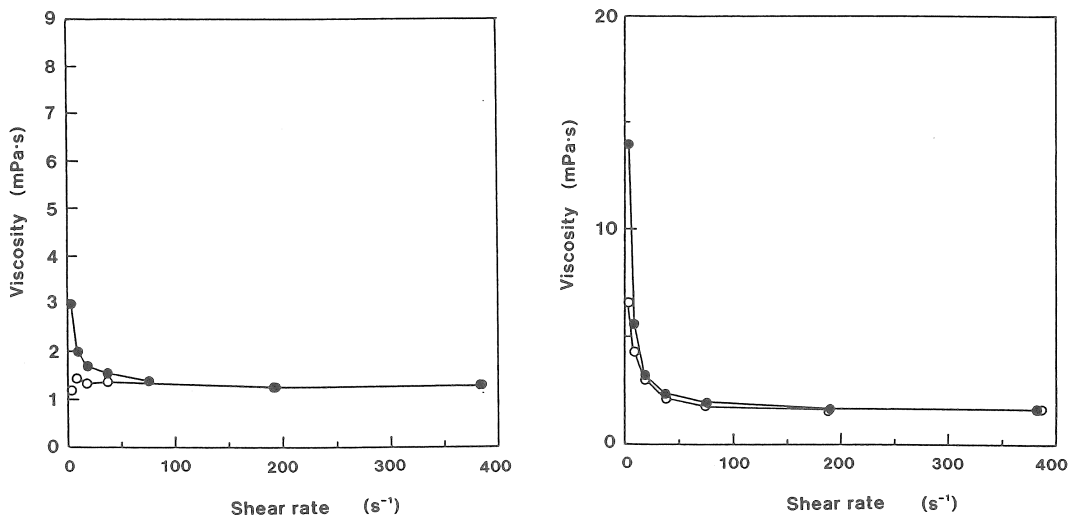


Figure 6. Flow curves of whey protein solution in the presence of 100 mM NaCl. Protein concentration; 3.0% (left) and 6.5% (right). Shear rate increased from  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  to  $383 \text{ sec}^{-1}$  (●) and decreased from  $383 \text{ sec}^{-1}$  to  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  (○).



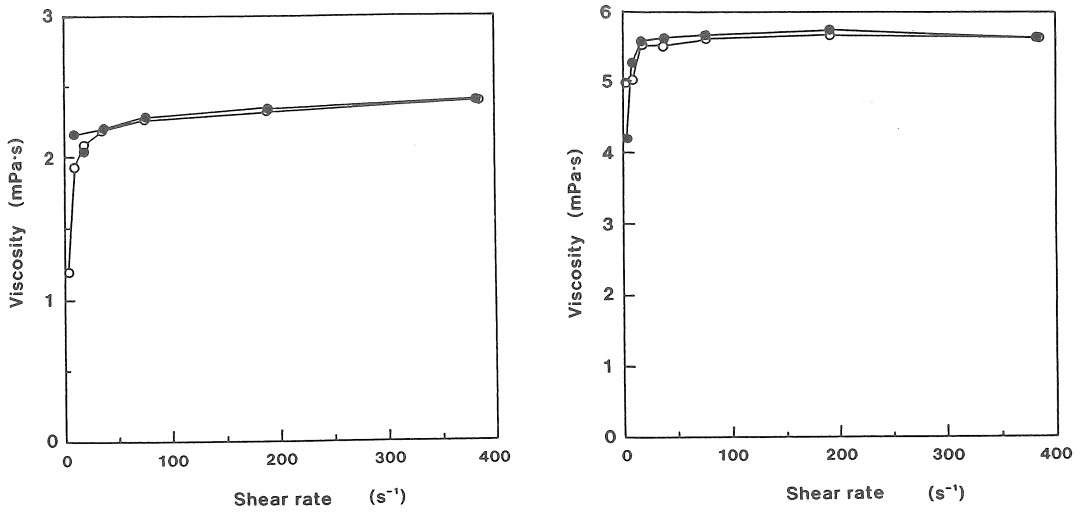


Figure 7. Flow curves of whey protein solution heated without salt. Protein concentration; 3.0% (left) and 6.0% (right). Shear rate increased from  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  to  $383 \text{ sec}^{-1}$  (●) and decreased from  $383 \text{ sec}^{-1}$  to  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  (○).

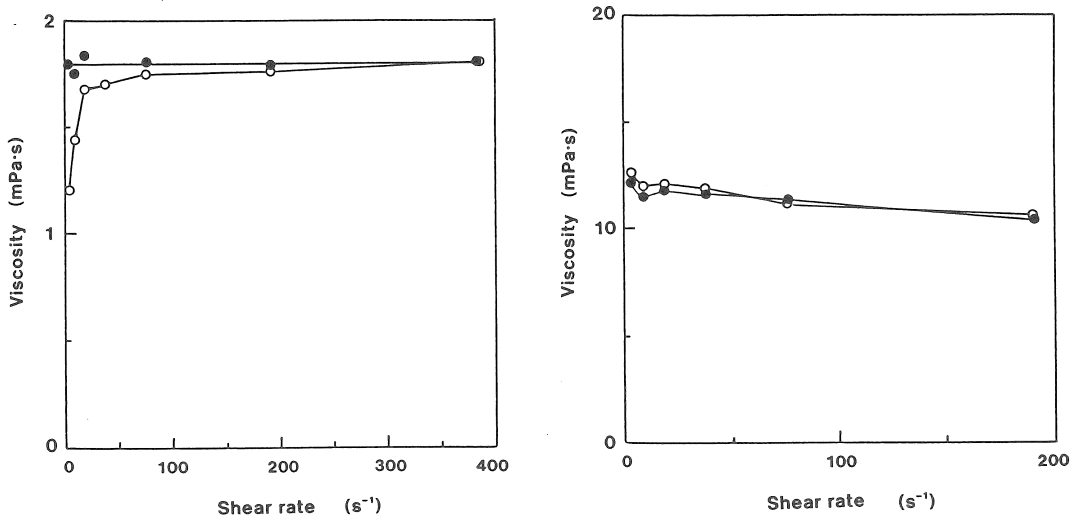


Figure 8. Flow curves of whey protein solution heated with 50 mM NaCl. Protein concentration; 3.0% (left) and 6.0% (right). Shear rate increased from  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  to  $383 \text{ sec}^{-1}$  (●) and decreased from  $383 \text{ sec}^{-1}$  to  $3.83 \text{ sec}^{-1}$  (○).

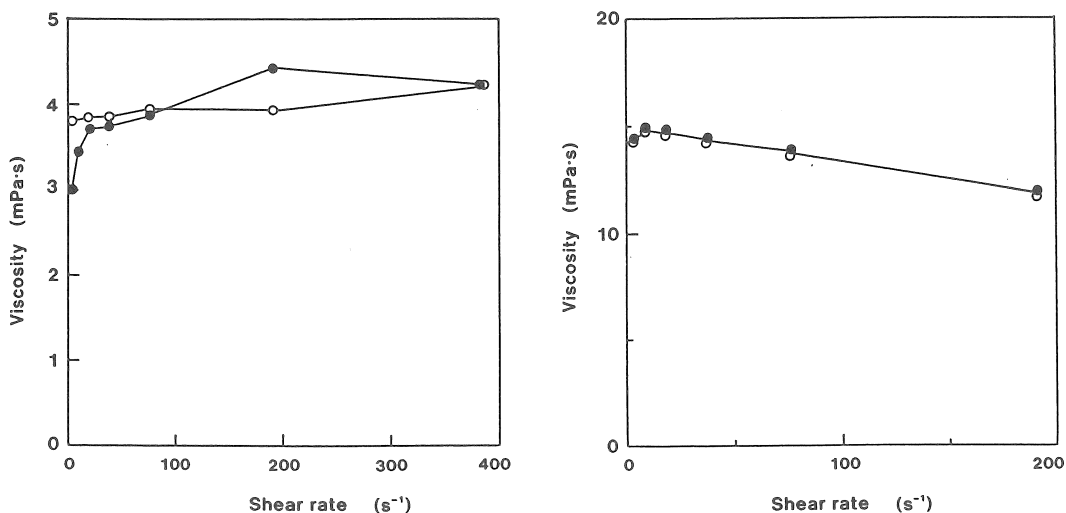


Figure 9. Flow curves of whey protein solution. Whey protein solution was once heated without salt and then to the solution added 50 mM NaCl (left) and heated again (right). Protein concentration; 3.0%. Shear rate increased from 3.83 sec<sup>-1</sup> to 383 sec<sup>-1</sup> (●) and decreased from 383 sec<sup>-1</sup> to 3.83 sec<sup>-1</sup> (○).

#### 4. 考察

乳清タンパク質分子は加熱を受けると変性する。変性タンパク質分子は互いに会合し、凝集体を形成する。この凝集体がゲルのネットワークや白濁塊を構成する。すなわち熱変性に伴い、本来分子内部に存在していた疎水領域が分子外部に露出し、互いの疎水的相互作用で分子間に親和力が与えられる。しかし分子間には親和力だけでなく、分子の表面電荷による静電的な反発力も作用し、この二つの力のバランスにより分子凝集体の大きさや形状が決まる。塩の存在は、分子表面電荷の被覆を意味し、静電的反発力を抑えることになる。したがって加熱時の塩濃度を調整することにより、二つの力にバランスを制御することが可能であり、本実験で用いた低濃度のタンパク質液の場合、粘稠な透明ゾルが形成され、高塩濃度では白濁ゾルが形成される。透明ゾルの方が線状凝集体として存在している変性タンパク質分子の量が多いため、より粘稠な透明ゾルが形成されるものと考えられる。一方、白濁のゾルを形成した場合には、粘度増加をもたらす線状凝集体の濃度が低いいため、低い粘度に留まるものと思われる。高い粘度を示すには、加熱した後も透明で、しかもゲル化しない条件を選ぶことが肝要であると考えられた。

## 5. 今後の課題

ゾル物性を示す最も基本的なパラメータである粘度を、様々なずり速度において測定し、それらと塩濃度、pH変化との対応を調べた。これらの物性発現はタンパク質分子の凝集体形成による。したがってそのタンパク質分子の凝集体を実際に電子顕微鏡を用いて観察し、その実体を明らかにすることも重要な今後の課題であると思われる。

## 引用文献

- 1) N. Kitabatake and E. Doi: Agric. Biol. Chem., 49, 2457 (1985).
- 2) H. Hatta, N. Kitabatake and E. Doi: Agric. Biol. Chem., 50, 2083 (1986).
- 3) N. Kitabatake, H. Hatta and E. Doi: Agric. Biol. Chem., 51, 771 (1987).
- 4) N. Kitabatake, A. Shimizu and E. Doi: J. Food Sci. 53, 292 (1988).
- 5) N. Kitabatake, A. Shimizu and E. Doi: J. Food Sci. 54, 292 (1989).
- 6) N. Kitabatake, Y. Tani, and E. Doi: J. Food Sci. 54, 1632 (1989).

Effects of pH and Salt concentration on the Heat-induced  
Gelation and Increase in Viscosity of Food protein Solution

Naofumi KITABATAKE (Research Institute for Food  
Science, Kyoto University)

S u m m a r y

Effects of pH and salt concentration on the turbidity and the viscosity of liquid sugar, xanthan gum, egg white, and milk whey protein solution were examined. Viscosity was measured using Cone type rotational viscometer. Liquid sugar showed Newtonian behavior, and xanthan gum and egg white showed a Non-Newtonian flow behavior. Native milk whey protein solution also gave a Non-Newtonian flow behavior, but by adding of salt whey protein solution showed Newtonian flow. After heating whey protein solution almost showed Newtonian behavior and even in the presence of salt it gave a Newtonian flow behavior. Heated sample could show high viscosity and keep transparency by adding salt.