

高圧処理がアクトミオシンと大豆11S混合系の加熱ゲル形成 に与える影響

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
巻/号	282
掲載ページ	p. 59-65
発行年月	2002年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



高圧処理がアクトミオシンと大豆11S混合系の 加熱ゲル形成に与える影響

鈴木敏郎*・多田耕太郎**

Effect of High Pressure Treatment on the Heat-induced Gelation
of Mixture of Actomyosin and Soy11S Globulin

SUZUKI Toshiro*, TADA Kotaro**

*Tokyo University of Agriculture, Food Processing Center
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

**Toyama Food Research Institute
360, Yoshioka, Toyama-shi, Toyama 939-8153

This study aims at investigating the effect of high pressure treatment on the heat-induced gelation of mixture of actomyosin and soy 11S globulin (soy11S) by changing protein concentration (actomyosin 20mg/g, soy 11S 0~100mg/g), heating temperature (30~90°C), pressure intensity (0~600MPa), pH (5.5~7.5), concentration of N-ethylmaleimide (NEM, 1~8 mM). When mixtures were in low salt concentration (0.2M KCl) without pressure treatment, the gel-formation was not recognized at 70°C which is the critical gel-forming temperature of actomyosin. However, good gel was formed when pressure-treatment was applied to the same samples. At 90°C, the critical gel-forming temperature of soy 11S, the gel-formation was observed in the non-pressurized samples. However, when pressure treatment was exercised on the same samples, firmer gel was formed. These results show clear pressurization effect. The gel-formation was not observed in the samples with pH above 7.5. However, strong gel-formation was observed within the pH range between 6.0~7.0. The gel strength and work done values increased as the pressure from 100 to 400 MPa was exercised on the samples. Over 400 MPa, however, the gel-formation dropped dramatically. The gelation was inhibited by the addition of NEM. These results show that SH-groups play an important role in the formation of heat-induced gelation after actomyosin and soy 11S mixture samples had a pressure treatment.

(Received Oct. 19, 2001; Accepted Feb. 2, 2002)

これまで、筆者らは食肉の主要タンパク質であるミオシンやアクトミオシンに加圧処理を行うと、通常は自立する加熱ゲルを形成しない0.2M程度の低塩濃度においても加熱ゲルを形成することを明らかにした^{1),2)}。本報においては、近年、畜肉製品の副原材料としてその使用量が增大している、大豆タンパク質の主要成分である大豆11Sグロブリン(大豆11S)に着

目し、加熱ゲル特性の異なるアクトミオシンと大豆11Sを混合し加圧処理を行った場合、どのような加熱ゲル形成能を示すかについて詳細に検討を行った。

実験方法

1. アクトミオシンおよび大豆11Sの精製

アクトミオシンは前報と同様にPERRY and CORSI³⁾

*東京農業大学食品加工技術センター(〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1)

**富山県食品研究所(〒939-8153 富山県富山市吉岡360)

の方法に従い、豚（パークシャー種）の胸最長筋（M. longissimus dorsi）より調製した。大豆11Sはフジ産業株式会社製の脱皮大豆粉「ソイソーラN」を用いてNAGANOらの方法⁴⁾に従い精製した。

2. タンパク質濃度の測定

アクトミオシン濃度の測定にはビュレット法⁵⁾を用い、大豆11Sグロブリン濃度はミクロケルダール法⁶⁾を用いて測定した。

3. アクトミオシンと大豆11S混合試料の調製

試料はアクトミオシンの最終濃度を20mg/gに固定し、大豆11S濃度は11Sの濃度試験（11S濃度：0～100 mg/g）以外は、大豆11Sの最終濃度が50mg/gになるように混合した。また、KCl濃度はKClの濃度試験（0～0.8M）以外は、KCl濃度が0.2Mになるよう添加した。pHは0.1N HClあるいは0.1N NaOHを用いて、pHの影響試験（pH5.5～7.0）以外は、pH6.0に調整し試験に供した。

4. 加圧および加熱条件

タンパク質濃度、塩濃度およびpHを調整した各試料を、密栓のできるプラスチック容器（内径11mm、高さ25mm）またはガラス容器（内径11mm、高さ25mm）に充填した後、超高压処理機（石川島播磨重工社製ITP-70）を用いて100～600MPa（通常は200MPaで加圧）、0℃、15minの加圧処理を行った。加圧処理後、加圧処理を行っていない試料とともに、70℃あるいは90℃で30分間加熱処理を行い、流水中で15分間冷却後、4℃の冷蔵庫中に8時間以上放置した。

5. ゲル強度およびワークダン値の測定

試料温度を室温（20℃）に戻した後、インストロン万能試験機（インストロン社製5500型）を用いてゲル強度およびワークダン値の測定を行った。即ち、直径8mmのプランジャーを用い、プランジャー速度50mm/min、挿入率80%でゲル強度およびワークダン値を測定した。また、測定は各試料とも5連で行い各測定値の平均を求めた。

6. N-Ethylmaleimide (NEM) 添加試験

タンパク質濃度（アクトミオシン20mg/g、大豆11S50mg/g）、KCl濃度0.2M、pH6.0に調整した混合試料に対してNEM濃度が0～8mMになるように添加した。即ち、アクトミオシンと大豆11S混合試料にNEMを添加し12時間低温室（4℃）に置いた後、200MPaで加圧処理を行ったもの（Sample A）、初めにアクトミオシンのみにNEMを添加し12時間放置した後、大豆11Sと混合し200MPaで加圧処理を行ったもの（Sample B）、および最初大豆11SにNEMを添加して

12時間低温室（4℃）で放置した後、アクトミオシンを混合したもの（Sample C）の3種類のNEM添加試料を調製した。

8. SH基量の測定

アクトミオシンおよび大豆11S単独試料の場合は、タンパク濃度がそれぞれ2mg/mlになるように0.1Mリン酸緩衝液（pH6.8）を用いて調整した。また、アクトミオシンと大豆11Sを混合した試料では、アクトミオシンと大豆11Sの最終濃度がそれぞれ1mg/mlになるように調整した。次に、200MPaで加圧処理を行った後、2,2'-Dithiobis（5-nitropyridine）（DTNP）エタノール溶液を用いる小幡らの方法⁷⁾によりSH基量を測定した。

実験結果および考察

1. 大豆11S濃度の影響

低塩濃度（0.2M KCl）における加圧処理後の加熱ゲル形成に与える大豆11S濃度の影響をFig. 1に示した。アクトミオシンの加熱ゲル形成温度帯である70℃加熱において、加圧処理を行わない場合には、大豆11Sを添加してもアクトミオシン単独の場合と同様に²⁾、ゲル形成は認められなかった。これに対して200MPa

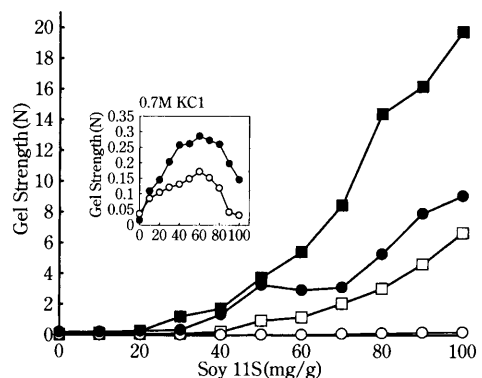


Fig. 1 Effect of soy 11 S concentration on the heat-induced gel strength of pressure-treated (200 MPa, 0℃, 15 min) and non-pressure-treated mixtures of actomyosin and soy 11 S in low salt concentration (0.2 M KCl at pH 6.0)

- : Non-pressure-treated mixture (Heating Temp. 70℃/30 min)
- : Pressure-treated mixture (Heating Temp. 70℃/30 min)
- : Non-pressure-treated mixture (Heating Temp. 90℃/30 min)
- : Pressure-treated mixture (Heating Temp. 90℃/30 min)

Inset (0.7 M KCl at pH 6.0)

- : Non-pressure-treated mixture (Heating Temp. 70℃/30 min)
- : Pressure-treated mixture (Heating Temp. 70℃/30 min)

で加圧処理を行った試料では、大豆11S濃度30mg/g以上でゲル形成がみられ、50~70mg/gのタンパク質濃度において容器いっぱい広がる弾力のある良好なゲルを形成した。大豆11S濃度が80mg/g以上になるとゲルはさらに硬くなっていったが、ツヤ、弾力、手触りなどの物性は50~70mg/gのものに比べ明らかに劣っていた。上記の結果より、90℃にゲル形成温度帯をもつ大豆11Sをアクトミオシンと混合し加圧処理を行った後に70℃で加熱すると、大豆11Sの添加量が適切であれば、大豆11Sはアクトミオシンのゲル形成を阻害せず、混合試料は良好な加熱ゲルを形成できることが明らかになった。

一方、大豆11Sの加熱ゲル形成温度である90℃で加熱を行うと、大豆11S濃度が無加圧区では40mg/g以上から、加圧区においては20mg/g以上の添加からゲル形成が見られた。また、大豆11S濃度50mg/gまで、70℃加熱と90℃加熱のゲル強度の値に大きな差がみられなかったことより、大豆11Sの添加量が50mg/gまでは、アクトミオシンを主体としたゲル形成が起こっているものと考えられた。しかし、それ以上大豆11S添加量が増加すると、90℃加熱区において70℃加熱との間に大きなゲル強度の差が生じたことより、90℃加熱では大豆11Sの添加量が50mg/g以上で大豆11S主体のゲル形成に移行していくものと推察された。また、70℃、90℃加熱ともに、無加圧区に比べ加圧区のほうが常にゲル強度およびワークダン値（データ未掲載）が高くなったことより、加圧処理を行うと両タンパク質がより強固なゲルを形成できる状態になることも明らかになった。

次に、高塩濃度（0.7M KCl）における無加圧および加圧処理後の70℃加熱でのゲル強度の変化をFig. 1中にインセットした。アクトミオシンは加圧処理を行わなくても0.4M以上の塩濃度においてゲルを形成するため、無加圧区においてもゲルを形成し、大豆11S濃度が60mg/gまではタンパク質濃度が高くなるにつれ加圧区、無加圧区ともにゲルは硬くなっていった。また、大豆11S濃度が20mg/g以上では、加圧区のほうが無加圧区に比べ、より硬いゲルを形成し明らかな加圧効果が認められた。しかし、大豆11S濃度が70mg/g以上になると両区共、急激にゲルは軟らかくなり、大豆11S添加量が多くなることによるゲル形成の阻害が認められた。これは、70℃がアクトミオシンのゲル形成温度であるため、90℃付近にゲル形成温度をもつ大豆11Sの濃度が必要以上に増加すると、高塩濃度におけるアクトミオシンを中心とするゲル形成が阻害を

受けたためと考えられた。また、高塩濃度で形成されたゲルは低塩濃度のものと比較すると、そのゲル強度は極端に軟らかくなっていた。これは、低塩濃度においてアクトミオシンは会合し凝集体を形成するのに対し、高塩濃度においては矢じり構造を保持したまま解離した状態にあるという芳賀の報告⁹⁾やHUXLEYの報告⁹⁾から、アクトミオシンに大豆11Sを混合した場合も、加圧処理前にアクトミオシンは塩濃度の違いにより異なった形態をとっているため、加圧処理後に形成される加熱ゲルは異なった機構によってゲルが形成されるものと推察された。そのため、上述したような大きなゲル強度の差が生じたものと考えられた。

2. 加熱温度の影響

低塩濃度（0.2M KCl）におけるアクトミオシン（20mg/g）と大豆11S（50mg/g）混合系のゲル形成に与える加熱温度の影響をFig. 2に示した。無加圧区においては、60℃まではゲル形成は認められず、60℃~90℃の間でゲル強度が直線的に増加した。一方、200MPaで加圧処理を行った場合は、加圧処理により両タンパク質間に相互作用が起こるため30℃においても非常に柔らかなゲル形成が認められた。また、50℃までゲル強度は増加し、50℃~70℃にかけてほぼ一定の値を保ち、70℃から再び大豆11Sのゲル形成温度である90℃までゲル強度は増加した。加圧処理を行ったものと無加圧のものを比較すると、そのゲル強度は加圧処理を行ったほうが90℃において約3倍値が高く、明らかな加圧効果が認められた。

一方、ワークダン値は無加圧の場合は加熱温度が高くなるに従い、値は徐々に増加したが、加圧処理を行った場合には、50℃加熱から急激なワークダン値の増加がみられた。ゲル強度では、50~70℃において値がほぼ一定であったのに対し、ワークダン値はこの温度帯でも直線的に値が上昇したことより、アクトミオシンと大豆11Sの混合試料は、加圧処理により70℃付近でゲルの硬さは増加せず弾力性に富んだプリン様の良好なゲルを形成することが明らかになった。

3. KCl濃度の影響

加圧処理後の加熱ゲル形成に与えるKCl濃度の影響をFig. 3に示した。アクトミオシン20mg/gに対し大豆11Sを50mg/gの割合で混合した場合、無加圧区では、0.3Mまでは非常に柔らかな凝集体となりゲルは形成されず、0.4M以上の塩濃度において軟らかいゲルが形成された。一方、加圧区においては通常はゲルを形成しない0.1~0.3Mにおいてゲルを形成し、特に0.2Mにおける200MPaと300MPa処理でゲル強度およ

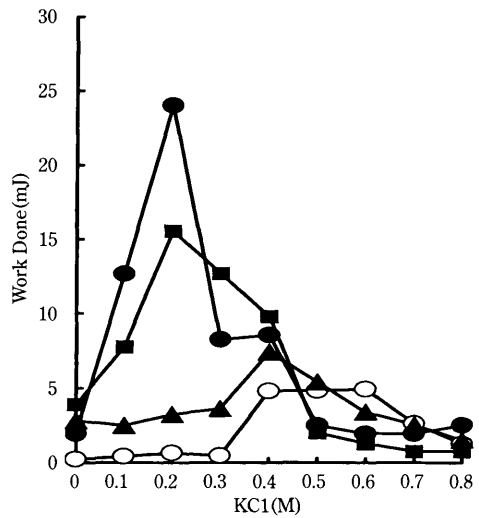
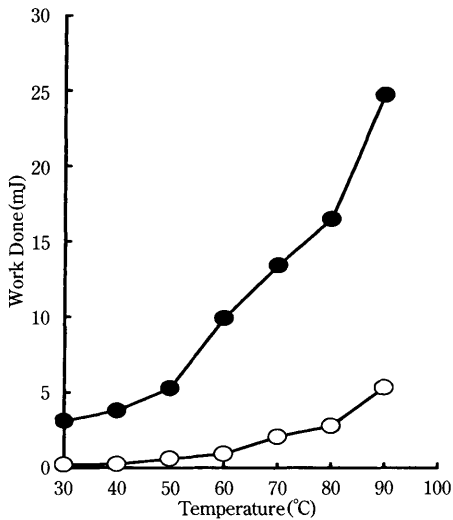
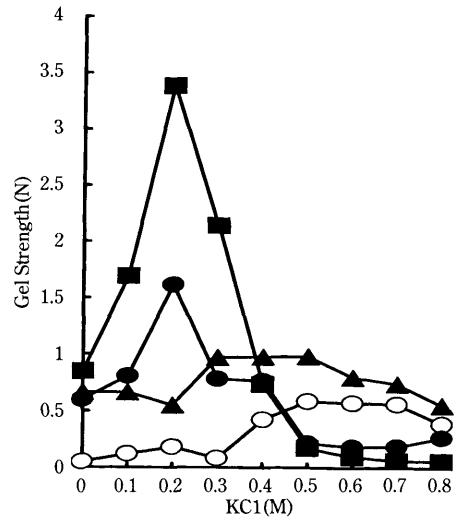
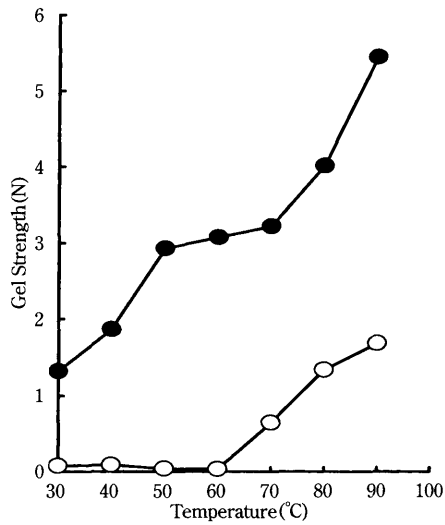


Fig. 2 Effect of heating temperature on the heat-induced gel strength and work done values of pressure-treated (200 MPa, 0 °C, 15 min) and non-pressure-treated mixtures of actomyosin and soy 11 S at pH 6.0

- : Non-pressure-treated mixture
(Actomyosin 20 mg/g, Soy 11 S 50 mg/g)
- : Pressure-treated mixture
(Actomyosin 20 mg/g, Soy 11 S 50 mg/g)

Fig. 3 Effect of salt concentration on the heat induced gel strength and work done values of various pressure-treated and non-pressure-treated mixtures of actomyosin and soy 11 S in low salt concentration (0.2 M KCl at pH 6.0, Heating Temp. 70°C/30 min)

- : Non-pressure-treated mixture
(Actomyosin 20 mg/g, Soy 11 S 50 mg/g)
- ▲ : Pressure-treated mixture at 100 MPa for 15 min at 0 °C
- : Pressure-treated mixture at 200 MPa for 15 min at 0 °C
- : Pressure-treated mixture at 300 MPa for 15 min at 0 °C

びワークダン値が高い弾力のある良好なゲルを形成した。しかし、KCl濃度が0.4M以上になると、ゲル強度およびワークダン値は急激に減少し無加圧区のものより値が低くなり、アクトミオシンと大豆11S混合系においては塩濃度が高くなると200MPa以上の加圧処理を行うと加熱ゲル形成を阻害することが明らかにな

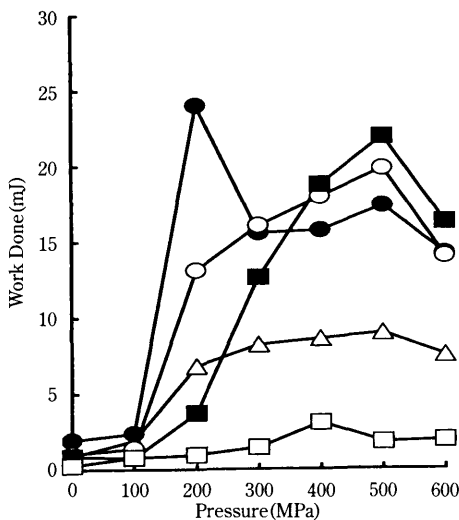
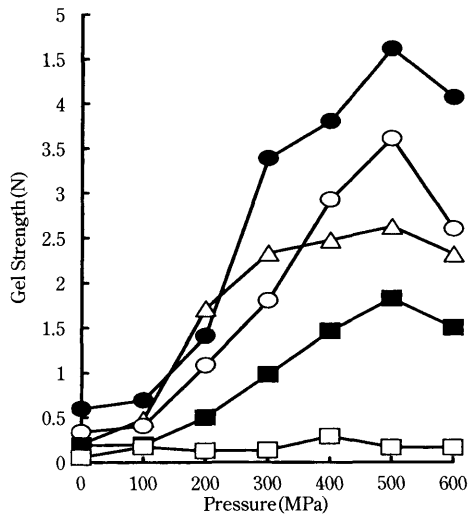


Fig. 4 Relationship between pressure intensity and pH of heat-induced gel strength and work done values of mixtures of actomyosin and soy 11S in low salt concentration (0.2 M KCl, Heating Temp. 70°C/30 min)

△: pH 5.5, ●: pH 6.0, ○: pH 6.5,
■: pH 7.0, □: pH 7.5

った。

4. pHと加圧量の影響

加圧処理後の加熱ゲル形成に与えるpH (pH5.5~7.5)と加圧量(0~600MPa)の影響をFig. 4に示した。アクトミオシン(20mg/g)と大豆11S(50mg/g)混合系のゲル強度は、pH7.5でゲルはほとんど形成されなかったが、それ以外のpHにおいては500MPaまで、加圧量が大きくなるに従いゲル強度は増加し、600MPaにおいてゲル強度は減少した。また、300MPa以上の加圧処理ではpH6.0が最も高いゲル強度を示した。一方、ワークダン値はpH6.0、200MPaの加圧処理において最大値を示した。pH6.0以外のワークダン値ではpH7.5を除いて加圧量が500MPaまでワークダン値が増加する傾向を示した。以上の結果より、アクトミオシンのゲル形成温度帯である、70°Cにおいて混合試料はアクトミオシンの至適ゲル形成pHであるpH6.0、

200MPaの圧力処理で柔らかく弾力に富んだ良好なゲルを形成することが明らかになった。

5. NEM添加の影響

加圧処理後の加熱ゲル形成に与えるNEM添加の影響をFig. 5に示した。70°C加温の無加圧区ではすべての試料においてゲルは形成されなかったが、加圧前にアクトミオシン(20mg/g)と大豆11S(50mg/g)の混合系にNEM添加したSample Aでは、NEM濃度が3mMまでほぼ直線的にゲル強度は減少した。最初にアクトミオシン(20mg/g)にNEMを添加した後、大豆11S(50mg/g)を加えたSample BではNEM濃度2mMまで急激にゲル強度が減少し、その減少率はSample Aよりも明らかに大きくなっていった。一方、最初に大豆11S(50mg/g)にNEMを添加したSample Cにおいては、NEM濃度2mMまではほとんどゲル強度の減少がみられず、その後値は直線的に減少し、最終的にNEM濃度8mMでSample A、Bとほぼ同じゲル強度に達した。しかし、前述のsample AおよびSample Bに比べNEM添加の影響は緩やかだった。次に、ワークダン値においては、Sample AとSample Bはほぼ同じワークダン値の減少パターンを示し、NEM濃度3mMまで値は急激に減少した。Sample CにおいてはNEM濃度1~8mMにかけてワークダン値は直線的に減少した。一方、90°C加熱では(結果未掲載)、無加圧区においても加圧区ほどではないが、若干のゲル強度およびワークダン値の減少がみられた。また、加圧区においては、ほぼ70°C加温と同じ傾向がみられたが、90°C加温のほうがゲル強度、ワークダン値ともに70°Cより

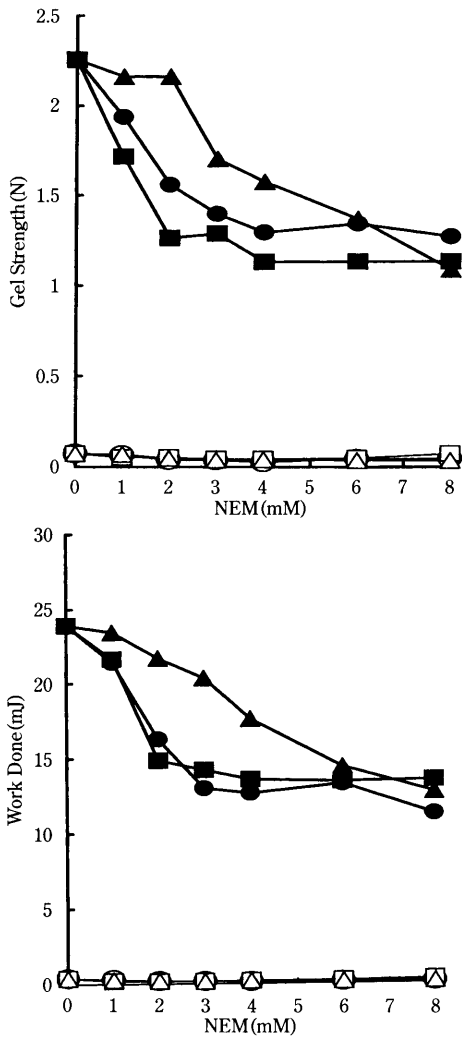


Fig. 5 Effect of N-ethylmaleimide concentration on the heat-induced gel strength and work done values of pressure-treated (200 MPa, 0 °C, 15 min) and non-pressure-treated mixtures of actomyosin and soy 11 S in low salt concentration (0.2 M KCl at pH 6.0, Heating Temp. 70 °C/30 min)

- Sample A
 ● : Pressure-treated mixture (NEM was added to mixture immediately)
 ○ : Non-pressure-treated mixture (NEM was added to mixture immediately)
- Sample B
 ■ : Pressure-treated mixture (NEM was added to actomyosin first)
 □ : Non-pressure-treated mixture (NEM was added to actomyosin first)
- Sample C
 ▲ : Pressure-treated mixture (NEM was added to soy 11 S first)
 △ : Non-pressure-treated mixture (NEM was added to soy 11 S first)

も値が高くなっていった。SMYTHら¹⁰⁾はミオシンの加熱ゲル形成には、ミオシン中のSH基が重要な役割を演じていると報告しているが、アクトミオシンと大豆11S混合系に圧力処理を行った場合も、最初にアクトミオシン中のSH基をNEMによりブロックしたSampleBが最も強く影響を受けたことより、混合系の加熱ゲル形成には、アクトミオシン中のSH基が重要な役割を演じているものと推察された。しかし、NEM添加によって完全に加熱ゲル形成が抑制されなかったことより、加圧処理後のアクトミオシンと大豆11Sの加熱ゲル形成には、SH基のS-S交換反応以外に水素結合や疎水結合などの分子内あるいは分子間結合もゲル形成に関与しているものと考えられた。

6. 加圧処理後のSH基量の変化

アクトミオシン (2 mg/ml), 大豆11S (2 mg/ml) および両者を1対1の割合で混合した場合の加圧処理によるSH基量の変化をFig. 6に示した。無加圧の場合のアクトミオシンと大豆11SのSH基量は、それぞれ3および1 moles SH/10⁵g proteinであったが、加圧処理を行うと200MPaまで両者共にSH基量は増加した。しかし、その増加量はアクトミオシンのほうが明らかに多かった。また、400MPaの加圧においてSH基量は両タンパク質とも若干減少していた。両タンパク質と

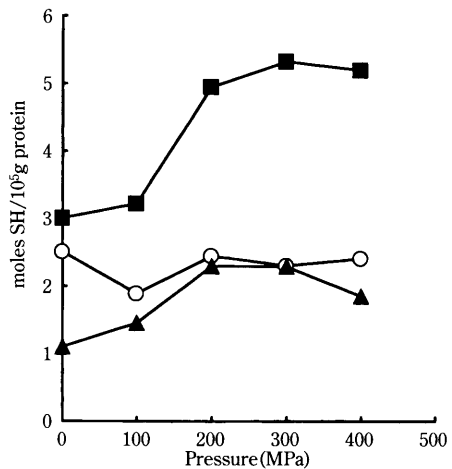


Fig. 6 Effect of pressure intensity on the concentrations of SH-groups in actomyosin, soy 11 S and mixture of actomyosin and soy 11 S in low salt concentration (0.2 M KCl at pH 6.0)

- : Actomyosin (2 mg/ml)
 ▲ : Soy 11 S (2 mg/ml)
 ○ : Mixture of actomyosin and soy 11 S (2 mg/ml : 2 mg/ml)

もに溶解性の低い0.1M付近の塩濃度においてSH基量が増加したのは、加圧処理により両タンパク質が構造変化を受け、内部に埋没していたSH基が表面に露出してきたためと考えられた。また、HAMM and HOFMAN¹¹⁾とSAIOら¹²⁾の報告から、分子内に存在するSH基量はアクトミオシンのほうが多く、アクトミオシンは線維状タンパク質のため、圧耐性が球状タンパク質である大豆11Sよりも低いため、加圧処理により構造変化を受けやすく表面に露出してくるSH基量が多くなったものと推察された。また、加圧処理を行わない場合には、アクトミオシンと大豆11Sを混合した場合に両者のSH基の総量が未反応のまま、ほぼ試料中に残存していたのに対し、加圧処理を行うとその総量が減少していた。このことは加圧処理により表面に露出したSH基がHAGGINSら¹³⁾が提唱しているSH基から生じたメルカプトアニオン(RS⁻)が求核反応によって他のS-S結合を分裂させ、そのうちの1つの硫黄原子と結合して架橋を形成するSH-SS交換反応が起こりSH基量が減少したものと推察された。

以上の結果より、溶解性や加熱ゲル形成温度帯の異なるアクトミオシンと大豆11Sの混合系において、加圧処理により表面にSH基を露出させると、低塩濃度においてもアクトミオシンと大豆11S間にSH-SS交換反応が起こりやすくなり70℃加熱においても良好なゲルを形成させることができることが明らかになった。また、上記の結果は、圧力処理という物理的な力のみで消費者の望むリン酸塩等の食品添加物を使用しない低塩濃度の食肉と大豆タンパク質を原料としたハイブリッド型の新しいタイプのソーセージ様製品の製造に、加圧処理が十分利用できる可能性を示唆するものであった。

要 約

アクトミオシンと大豆11S混合試料の加熱ゲル形成能に与える加圧処理の影響をアクトミオシンと大豆11Sの混合割合、加熱温度、加圧量、pHおよびNEM添加量を変えて検討した。ミオシンのゲル形成温度帯である70℃加熱の場合には、加圧処理を行わない場合にはゲル形成は認められなかったが、加圧処理を行うと低塩濃度において良好なゲルを形成した。大豆11Sの

ゲル形成温度帯である90℃加熱の場合には、無加圧区においてもゲル形成はみられたが、加圧処理を行うとより強固なゲルを形成し、明らかな加圧効果が認められた。pHの影響は、pH7.5では加圧処理を行ってもゲル形成はほとんどみられず、pH5.5~7.0においてゲルが形成されたが、pH6.0が最も良好なゲルを形成した。加圧量の影響は、100~500MPaまでの加圧においてゲル強度およびワークダン値はほぼ直線的に増加していた。一方、SH基阻害剤であるNEMを添加するとゲル形成が阻害されたことよりアクトミオシンと大豆11S混合系の加圧処理後の加熱ゲル形成にはSH基が重要な役割を演じていることが明らかになった。

文 献

- 1) SUZUKI, T. and MACFARLANE, J. J.: *Meat Science*, **11**, 263 (1984)
 - 2) 鈴木敏郎・植原忠勝・鴨居都三: 日畜会誌, **62**, 154 (1991)
 - 3) PERRY, S.V. and CORSI, S.: *Biochem. J.*, **68**, 5 (1958)
 - 4) NAGANO, T., et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 942 (1992)
 - 5) 菅原 潔・副島正美: 生化学実験法7 蛋白質の定量法 第2版(学会出版センター, 東京), p. 74 (1982)
 - 6) NIELSEN, S. S.: *Food Analysis Second Edition* (Aspe Publishers, Inc., Maryland), p. 239 (1998)
 - 7) 小幡明雄・松浦 勝・福島男児: 日食工誌, **36**, 707 (1989)
 - 8) 芳賀聖一: 宮大農報, **32**, 1 (1985)
 - 9) HUXLEY, H. E.: *J. Mol. Biol.*, **7**, 281 (1963)
 - 10) SMYTH, A. B., SMYTH, D. M. and O'NEILL, E.: *J. Food Sci.*, **63**, 584 (1998)
 - 11) HAMM, H. and HOFMAN, K.: *Nature*, **207**, 1269 (1965)
 - 12) SAIO, K., KAJIKAWA, M. and WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 890 (1975)
 - 13) HUGGINS, D., TAPLEY, F. and JENSEN, E. V.: *Nature*, **167**, 592 (1951)
- (平成13年10月19日受付, 平成14年2月2日受理)