

コンニャクグルコマンナの粘度と分離大豆タンパク質の 酵素分解に対する影響

吉村 美紀¹、船見 孝博²

¹生活環境大講座

²三栄源エフ・エフ・アイ

Viscosity of Konjac-glucomannan and Influence of Konjac-glucomannan on the Enzymatic Degradation of Soy Protein Isolate

Miki YOSHIMURA¹ and Takahiro FUNAMI²

¹School of Human Science and Environment, University of Hyogo,
1-1-12 Shinzaike-honcho, Himeji, 670-0092 Japan

²Saneigen F・F・I

ABSTRACT Konjac-glucomannan (KGM) is hydrated in water and appears high viscosity. It has been demonstrated in various studies that KGM were not affected by human digestive enzymes. The influence of KGM on the enzymatic reaction of soy protein isolate (SPI) by pancreatin was studied using rheological measurements. On adding the enzyme to SPI dispersion, both the storage modulus and the loss modulus decreased with time, and attained to plateau value with the lapse of time. The degradation for mixtures of KGM and SPI in the presence of pancreatin occurred slowly with time. Although the rate constant of SPI degradation decreased by the addition of KGM, it was not dependent on KGM viscosity (10~30 mPa・s)

Key words: konjac-glucomannan, soy protein isolate, viscosity, enzyme degradation

緒 言

食物繊維ハイドロコロイドは健康に有益な種々の効果をもつことが知られているが、多くは水に分散し増粘剤、乳化剤、安定剤などの目的で加工食品に使用される¹⁻³⁾。本研究で用いた食物繊維であるコンニャクグルコマンナは、日本の伝統的食品であり、水に分散し極めて高い粘度を発現し、人間の消化酵素では分解されないため、コレステロールの低下、便秘改善作用などの効果が広く知られている⁴⁾。同様に、日本の伝統的食品である大豆に含まれる大豆タンパク質は血中コレステロールの低下作用、肥満の改善効果など生活習慣病に対する機能性があることが報告されている^{5,6)}。大豆は、畑の肉とも言われ、注目されるタンパク源であり、その大豆を加工した粉末状分離大豆タンパク質は水産練り製品、ハム、ソーセージなどの副原料として、また粘性、乳化性などの機能性を利用して、スープ、マヨネーズなどの加工食品に

広く用いられている^{5,6)}。

食物繊維は小腸での栄養素の消化・吸収に影響を与えるとされているが、タンパク質においてもその消化・吸収率を減少させることが報告されている⁷⁻¹¹⁾。これまで、レオロジー的手法により食物繊維の添加によって、大豆タンパク質の消化・吸収にかかわるパンクレアチン活性が抑制されることを報告した^{12,13)}。このパンクレアチンによる分離大豆タンパク質の分解反応は、混合する食物繊維の種類によって異なり、さらに混合する食物繊維溶液の見かけの粘度が影響することを考察した。

そこで本研究では、食物繊維ハイドロコロイドとしてコンニャクグルコマンナを用い、分離大豆タンパク質のパンクレアチンによる分解に対するコンニャクグルコマンナの粘度の影響を調べることを目的とした。

実験方法

1) 試料

コンニャクグルコマンナン (以下KGMと示す。)(三栄源 F F I 製) および分離大豆タンパク (以下SPIと示す。) としてニューフジプロ-SE 粉末状植物性たん白 (不二製油製) を用いた。パンクレアチン酵素として用いたパンクレアチンF (天野製薬製) は、動物の膵臓から抽出され、アミラーゼ活性、プロテアーゼ活性、リパーゼ活性をもち、タンパク消化力は1g当たり26,000units以上である。酵素活性と安定性が高い pH 7 で測定を行った。

2) 粘度のずり速度依存性

80℃の脱イオン水にKGMを溶解し、KGM水溶液 (濃度は0.01~0.5 wt%) を調製した。歪制御型レオメータARES (TA Instruments社製) を用いて、測定温度は25℃とし流動曲線を求めた。ずり速度を0 s⁻¹から500 s⁻¹まで増加させた後、500 s⁻¹から0 s⁻¹まで減少させた。ずり速度の増加速度および減少速度は、いずれも200 s⁻¹/minとした。治具は円錐-平板型 (円錐アングル0.04 rad、直径50 mm、ギャップ0.05 mm) を用いた。

求めた流動曲線により、溶媒粘度 η_s とずり速度ゼロに外挿した場合の溶液粘度 η_0 から、ゼロずり速度における比粘度 (η_{sp})₀ を求めた。

3) 動的粘弾性の時間依存性

SPI単独系は、SPI濃度が15 wt%あるいは12.5wt%となるよう、脱イオン水にSPIを攪拌混合した。SPI・KGM混合系は、脱イオン水にKGMを攪拌混合して溶解した後、SPIを攪拌混合した。KGMの濃度は1 wt%あるいはゼロずり速度における粘度が10mPa・s、20mPa・s、30mPa・sとなる濃度とした。パンクレアチンは0.2 M hepes buffer溶液と2M NaCl溶液で調製したhepes buffer ストック液に分散させ、最終濃度は0.16 wt%または0.33 wt%とした。

レオウィン (Thermo HAAKE社製) を用いて、測定温度は37℃、歪0.05、1 Hzの周波数において動的粘弾性の時間依存性を求めた。KGM単独系、SPI単独系およびSPI・KGM混合系にパンクレアチン酵素を添加し、3分 (t = 180s) 間保持した後測定を開始した。貯蔵弾性率 G' と損失弾性率 G'' の時間依存性を30分間測定した。治具は平板型 (直径35 mm、ギャップ0.1 mm) を用いた。

結果と考察

Fig. 1 はKGM 水溶液の定常ずり応力のずり速度依存性を示す。KGM水溶液0.01%の低濃度ものは擬塑性流動に近い挙動を示した。濃度が高いほど流動をおこさ

せるのに要する最小の応力である降伏応力が大きい、擬塑性流動の挙動を示した。Fig.2は定常ずり粘度のずり速度依存性を示す。KGM水溶液の定常ずり粘度はずり速度の増加とともに減少し、特に高濃度において顕著であった。このような現象は多くの食物繊維ヒドロコロイドで見られ、ずり流動化流動と呼ばれている。KGM水溶液に分散している分子や粒子がずり速度によって、配向・変形・構造変化することによって生ずる挙動と考えられている¹⁴⁾。

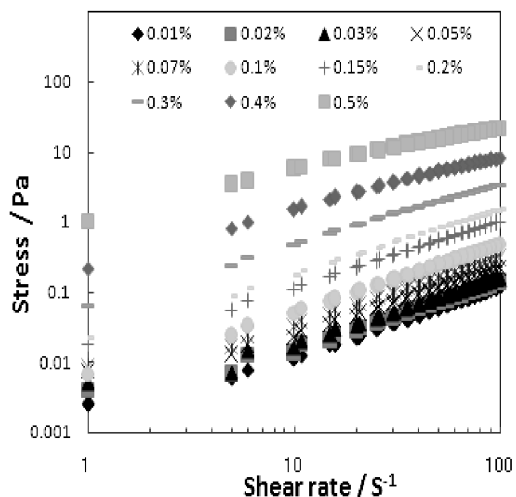


Fig.1 Shear rate dependence of steady shear stress of KGM aqueous solutions (KGM concentration: 0.01~0.5%).

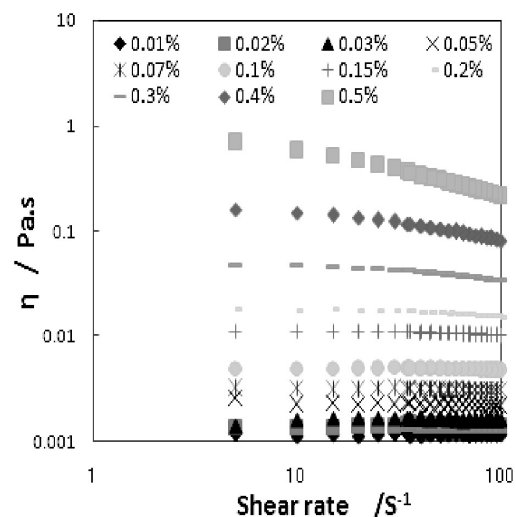


Fig.2 Shear rate dependence of steady shear viscosity of KGM aqueous solutions (KGM concentration: 0.01~0.5%).

Fig.3に、KGM水溶液の流動曲線から求めたゼロずり速度における比粘度 (η_{sp}/c) を $C[\eta]$ に対して両対数プロットしたものを示す。ここで、 C はKGMの濃度で、 $[\eta]$ は固有粘度である。直線の折曲がり点は、 C^* で示される。 C^* より高濃度では、粘度が急激に高くなることから、溶媒中でKGM分子が重なり合いを始める濃度と考えられている¹⁵⁾。 C^* より低濃度領域は $Y=2.098X^{1.073}$ ($R^2=0.994$)、高濃度領域は $Y=1.941X^{2.509}$ ($R^2=0.975$)の累乗回帰式で近似することができた。この高濃度領域における回帰式を用いて、ゼロずり速度における粘度が10mPa・s、20mPa・s、30 mPa・sとなる濃度を求めたところ、それぞれ、0.108wt%、0.141wt%、0.166wt%であった。

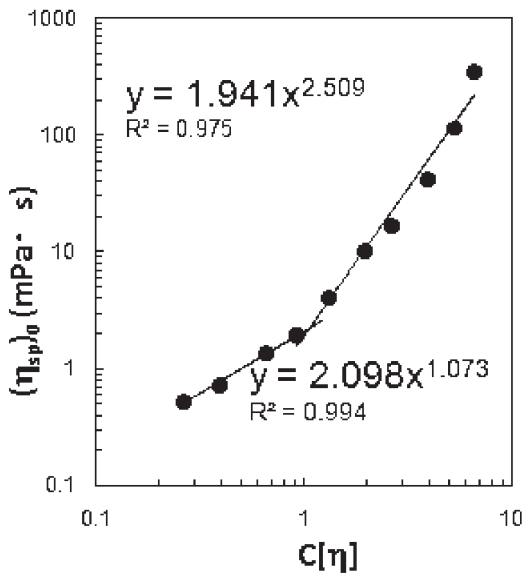


Fig.3 Generalized concentration dependence of viscosity for KGM

Fig.4はKGM単独系 (1 wt%)、SPI単独系(15 wt%) およびSPI・KGM混合系 (SPI14 wt%, KGM1 wt%)におけるパンクレアチン添加による貯蔵弾性率 G' の時間依存性を示す。Fig.5はKGM単独系、SPI単独系およびSPI・KGM混合系におけるパンクレアチン添加による貯蔵損失率 G'' の時間依存性を示す。SPI単独系の G' と G'' は時間とともに減少し、SPIがパンクレアチンの酵素作用によって分解されることが観察された。また、SPI①(パンクレアチン濃度は0.16 wt%)よりSPI②(パンクレアチン濃度は0.33 wt%)の方が、分解が速く進んだ。KGM単独系は、時間に伴う G' と G'' の変化はみられなかった。これは、パンクレアチンがセルラーゼ、ヘミセルラーゼなどを含んでおらず、KGM自体がパンクレアチン酵素によって分解を受けないためと考えられる。

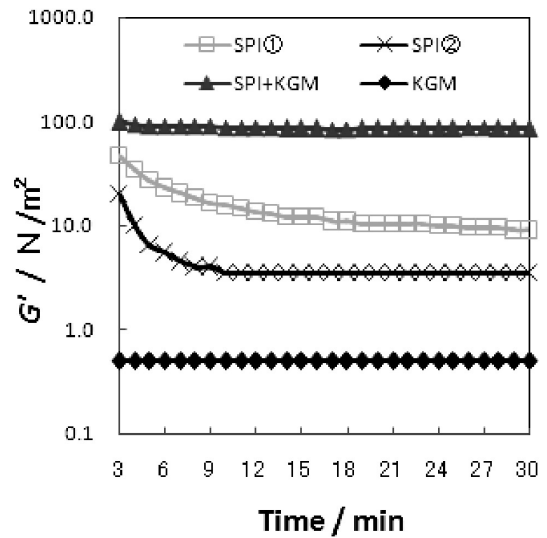


Fig.4 Time evolution of G' for dispersions of 15 wt% SPI, 14 wt% SPI+1 wt% KGM, and 1 wt% KGM with pancreatin. (Pancreatin concentration: 0.16 wt% for SP①, SPI+KGM, KGM, 0.33 wt% for SPI②)

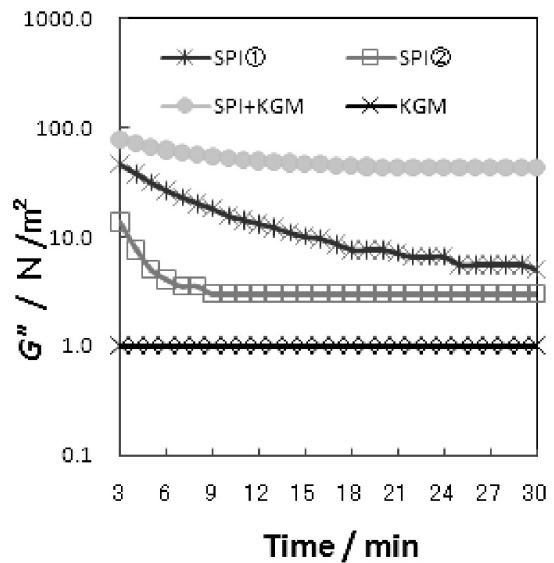


Fig.5 Time evolution of G'' for dispersions of 15 wt% SPI, 14 wt% SPI+1 wt% KGM, and 1 wt% KGM with pancreatin. (Pancreatin concentration: 0.16 wt% for SP①, SPI+KGM, KGM, 0.33 wt% for SPI②)

SPI・KGM混合系の G' と G'' は、SPI単独系とKGM単独系それぞれの G' と G'' に比べて顕著に高く、粘弾性発現におけるSPIとKGMの相乗効果が考えられる。SPI・KGM混合系では、 G' と G'' は時間とともに減少し、平

平衡値に達した。SPI・KGM混合系の分解は、SPI単独系に比べてゆっくり進んだ。SPIに食物繊維ハイドロコロイド添加することで、パンクレアチン酵素によるSPIの分解が遅延する現象は、グアーガム、キシログルカンにおいても観察されている^{12,13)}。

多糖類やタンパク質のゲル化過程のレオロジー的变化は2段階の一次反応式で取り扱われることが多く¹⁶⁻¹⁸⁾、分解過程のレオロジー的变化も次式により近似できる。
 $G(t) = 1 - G'_{1s}(1 - e^{-k_1 t}) - G'_{2s}(1 - e^{-k_2 t})$,
 $G_{3s} = 1 - G'_{1s} - G'_{2s}$ 、 k_1, k_2 は速度定数 ($k_1 > k_2$) であり、 G_{3s} は平衡値を示す。最小二乗法を用いて、 k_1, k_2, G_{3s} を求めた結果をTable 1に示す。速度定数 k_1, k_2 はSPI①よりSPI②が大きく、平衡値 G_{3s} は小さく、SPIの分解はパンクレアチン酵素濃度の増加により速く進むことが示された。SPI・KGM混合系 (KGM 1 wt%) はSPI単独系に比べて速度定数 k_1, k_2 が小さく、平衡値 G_{3s} は大きくなり、SPIの分解がKGM添加により遅延することが推測される。

Table 1 The values of k_1, k_2 and G_{3s} for dispersion of 15 wt% SPI, 14wt% SPI+1 wt% KGM, and 1wt%KGM with pancreatin

Sample	K1	K2	G3s
SPI①	0.799	0.168	0.202
SPI②	2.002	0.577	0.179
SPI+KGM	0.600	0.141	0.867
KGM	—	—	—

次に、SPI・KGM混合系として、ゼロずり速度における比粘度が10, 20, 30 mPa・sとなるKGM濃度で検討した。

Fig. 6に、SPI単独系 (12.5 wt%) およびSPI・KGM混合系 (SPI濃度12.5 wt%、KGM濃度0.108 wt%, 0.141 wt%, 0.166 wt%) におけるパンクレアチン添加による貯蔵弾性率 G' の時間依存性を示す。Table 2にSPI単独系とSPI・KGM混合系の速度定数 k_1, k_2 、平衡値 G_{3s} を示す。

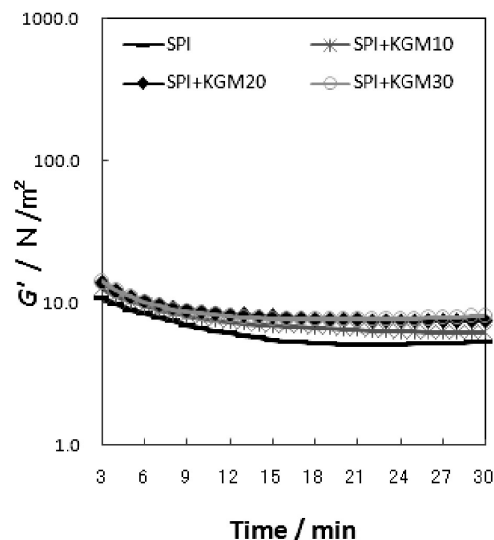


Fig.6 Time evolution of G' for dispersions of 12.5 wt% SPI and SPI+KGM with pancreatin. (Pancreatin concentration: 0.33 wt%)

Table 2 The values of k_1, k_2 and G_{3s} for dispersion of 12.5wt%SPI and SPI+KGM with pancreatin

Sample	K1	K2	G3s
SPI+KGM10	0.296	0.076	6.000
SPI+KGM20	0.282	0.080	7.500
SPI+KGM30	0.477	0.149	7.800
SPI	1.247	0.095	5.000

SPI単独系およびSPI・KGM混合系の G' は、時間とともに減少し、SPIがパンクレアチンの酵素作用によって分解されることが観察されたが、その差はごくわずかであった。また、Table 2よりSPI単独系と比較して、SPI・KGM混合系の速度定数 k_1 は小さく、平衡値 G_{3s} はやや大きくなった。しかし、ゼロずり速度における比粘度が10 mPa・s~30 mPa・s範囲内でKGMを添加した場合、その差はわずかであった。

分離大豆タンパク質のパンクレアチン酵素によるSPIの分解において、KGM濃度が低い場合遅延効果は認められるが、その効果に顕著な差がなかった。

これらの結果より、SPIにおけるパンクレアチン酵素の作用は、KGMが低濃度である場合、粘度だけの要素で遅延効果に影響を与えるのではないことが示唆される。SPIとキシログルカン混合系では、パンクレアチン酵素の作用は、粘度の影響だけでなく、その粘度を決めるキシログルカンの分子量の影響によっても影響されることが示唆されている¹³⁾。今後、KGMの分子量の異なる試料を用いて低濃度での分子量の影響を検討することが必要と考えている。

要 約

分離大豆タンパク質のパンクレアチンによる分解に対するコンニャクグルコマンナンの粘度の影響を検討した。

- 1) KGM水溶液定常ずり粘度はずり速度の増加とともに減少するずり流動化流動を示した。
- 2) ゼロずり速度における粘度が10mPa・s、20mPa・s、30mPa・sとなるKGM濃度は、それぞれ0.108 wt%、0.141 wt%、0.166 wt%であった。
- 3) SPI単独系の G' と G'' は、時間とともに減少し、SPIがパンクレアチンの酵素作用によって分解することが示された。KGM単独系は、 G' と G'' の変化がみられなかった。
- 4) SPI・KGM混合系 (KGM 1 wt%) は、SPI単独系に比べてパンクレアチン酵素作用における速度定数 k_1 、 k_2 が小さく、平衡値 G_{∞} は大きくなり、KGM添加により酵素反応が遅延することが示された。
- 5) KGM濃度が低く、ゼロずり速度における比粘度が10 mPa・s、20 mPa・s、30 mPa・sとなるKGM濃度では、SPIの分解における遅延効果は認められたが、その効果に差がなかった。

参考文献

- 1) McCleary, B.V.: *Dietary fibre analysis, Proc.Nutr. Soc.*, 62,3-9(2003)
- 2) De vries, J.W.: *On defining dietary fibre, Proc.Nutr. Soc.*, 62, 37-43 (2003)
- 3) Phillips,G.O.:*Colloids:A partnership with nature, Hydrocolloids Part2*, 3-14, edited by Nishinari,K., Elsevier Science B V. (2000)
- 4) 吉村美紀、清水寿夫:「コンニャクグルコマンナン」『食品ハイドロコロイドの開発と応用』pp272-281, 西成勝好監修, シーエムシー出版(2008)
- 5) 渡邊篤二、斉尾恭子、橋詰和宗:『大豆とその加工』, 建帛社(1987)
- 6) 山内文男:『大豆の科学』,朝倉書店(1992)
- 7) Kelsay,J.L.: *A Review of research on effects of fiber intake on man.J.Clin.Nutr.*31,142-159(1978)
- 8) Booth, A. N. ,Hendrickson, A. P. and Deeds, F. : *Physiologic effects of three microbial polysaccharides on rats. Toxic.Appl.Pharmac.* 5,478-484(1963)
- 9) Harmuth - Hoene ,A. E. and Schwerdtfeger, E.: *Effects of indigestible polysaccharides on protein digestibility and nitrogen retention in growing Rats, Nutr. Metab.*, 23,399-407 (1979)
- 10) Commings,J.H., Southgate,D.A.T.,Branch,W.: *The colonic response to dietary fiber from carrot,*

cabbage, apple, bran and guar gum. Lancet,1,5-9 (1978)

- 11) Ikegami,S., Tsuchihashi,F. , Harada,H., Tsuchihashi,N., Nishida,E. and Innami,S.: *Effects of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. J.Nutr.* 120,353-360 (1989)
- 12) Yoshimura,M., Nishinari,K.: *Rheological studies of influence of dietary fibers on the enzymatic reaction for soy protein isolate, FFI J.*,210 (10) 954-962 (2005)
- 13) 金保叔、吉村美紀、曾根良昭、西成勝好:「分離大豆タンパク質の消化酵素分解に対するキシログルカンの影響」『大阪市大生活科学研究』6,1-8(2007)
- 14) 中濱信子、大越ひろ、森高初恵:『おいしさのレオロジー』pp9-11, 弘学出版(1997)
- 15) Morris,E.R.: *Polysaccharide rheology and in-mouth perception, Food polysaccharides and their applications, pp527-530*, edited by Alistair,M.S.,Marcel dekker,Inc (1995)
- 16) Nishinari,K., Kohyama,K., Zhang,Y., Kitamura,K., Sugimoto,T., Saio,K., Kawamura,Y.: *Rheological Study on the Effect of the A5 Subunit on the Gelation Characteristics of Soybean Prroteins. Agric. Biol.Chem.*,55,351-355(1991)
- 17) Yoshimura,M. and Nishinari,K: *Dynamic viscoelastic study on the Gelation of konjac glucomannan with different molecular Weighs,Food Hydrocoll.*,13,227-233(1999)
- 18) 吉村美紀、柴田文江、江藤正義、西成勝好:「大豆粉水分散液のGDLによるゲル化過程のレオロジー」『日食科工誌』51,3,115-122 (2004)

(平成20年9月26日受付)