#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 6 年 5 月 1 3 日現在

機関番号: 34311

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2018~2023

課題番号: 18K02195

研究課題名(和文)多量の塩を添加せずとも美味しい練り製品を形成し抗酸化性を発揮する新食素材の開発

研究課題名(英文)Development of the new food materials which dose not require a lot of salt to form delicious fish paste and shows antioxidant capability

### 研究代表者

西村 公雄 (Nishimura, Kimio)

同志社女子大学・生活科学部・特任教授

研究者番号:60167567

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文): ランダムセントロイド最適化法を用いて,最大抗酸化能をもたらす最適グルコース修飾小豆タンパク質の調製条件を検索したところ,温度59 ,相対湿度57%,反応時間35.8時間,小豆タンパク質に対するグルコースの重量比は10.51の条件が突き止められた。最適条件下で糖化された小豆タンパク質のヒドロキシラジカル消去活性能値は19.31  $\pm$  1.22  $\mu$  mol 没食子酸当量であり,ネイティブな小豆タンパク質の5.00  $\pm$  0.62  $\mu$  mol 没食子酸当量をしのいでいた。また、粒子径値及び乳化安定性の結果は、小豆タンパク質が最適条件下でグルコース修飾を行うことで乳化安定性を獲得することを示していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義 糖化により乳化安定性の向上を示さなかった魚肉タンパク質を大豆タンパク質に変更し、グルコースで糖化させることで乳化安定性の向上と抗酸化剤として使用できうることを示した。次に、耐熱性に優れた小豆タンパク質を用いて、抗酸化保有するにより、開発性機能を発揮する認識を供えるできます。

ランダムセントロイド最適化法により、最大抗酸化能を発揮する調製条件を突き止め,得られたグルコース修飾小豆タンパク質が、糖化により優れた安定性を獲得していることを認めた。これらのことは、乳化剤としての糖化タンパク質の利用は、豆タンパク質で可能であること。さらに、抗酸化能を携えた天然物由来の乳化剤の開発の乳が供する場合では、 糖化タンパク質の利用は、豆タンパク 発の可能性を示唆する研究となった。

研究成果の概要(英文): The conditions for the preparation of glucose-modified azuki protein that yielded the maximum hydroxyl radical antioxidant activity were searched using the random centroid optimization method, yielding a temperature of  $59\,^{\circ}$  C, a relative humidity of 57%, a reaction time of 35.8 hours, and a glucose to azuki protein ratio of 10.51:1 (w/w). The antioxidant capacity showed  $19.31 \pm 1.22$  mol of gallic acid equivalent/g of protein. The emulsification stability of the optimally glycatd azuki protein was examined, and the particle size was reduced by glycation, resulting in an increase in stability.

研究分野: 食品加工学

キーワード: 小豆タンパク質 グルコース 糖化 機能改変 抗酸化能 乳化安定性 メイラード反応

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1.研究開始当初の背景

申請者は、すでに、鶏筋原繊維タンパク質(Mfs)にマルトースやグルコースを修飾させるとグロブリン系の Mfs が低イオン強度溶液に溶解し、抗酸化能を発現することを認めていた。これは、「多量の塩を添加せずとも美味しい練り製品を形成し抗酸化能を発揮する新食材の開発」を可能とするものである。しかしながら、反応性のよい 5 員環の糖や分子量が大きい糖を用いれば、、どのような機能改変が生じるのか?は、不明である。また、鶏 Mfs を他のタンパク質に変えたときに生じる機能改変についても、知見がなかった。

### 2.研究の目的

そこで、鶏 Mfs を用いて、5 員環の糖であるリボース、グルコースが三つ連なったマルトトリオース、分子量の大きいデキストランを用いて糖化を行いどのような機能改変が生じるのか、または、タンパク質を豆タンパク質に変更することで、どのような機能改変となるのかを調べた。3.研究の方法

まず、鶏 Mfs と各種糖に関して、ランダムセントロイド最適化法を用いて,低イオン強度溶液に可溶で最大の抗酸化能を示す条件を検索した。また、その際の加熱ゲル形成能と得られたゲルの抗酸化能も測定した。さらに、同最適化法を用いて大豆または小豆タンパク質とグルコースを反応させ,最も抗酸化能を発揮する条件も検討した。さらに、乳化特性や油の自動酸化の抑制効果についても調べた。

## 4. 研究成果

鶏 Mfs と各糖種との検討では、どの糖を用いても抗酸化能は、ヒドロキシラジカル消去能を指標として比較検討した(Table1)が、どの最適条件下で得られた標品も 1 桁台の抗酸化能( $\mu$ mol of gallic acid equivalent/g of protein)を示した。ただ、加熱ゲル形成能は、グルコース修飾鶏 Mfs に顕著で、また、加熱ゲル自身が標品の約 2 倍の抗酸化能を保持していた。このことは、畜 肉練り製品に調製時に多量の塩を必要とせず加熱ゲルに抗酸化の役割を期待できる有望な糖化 鶏 Mfs は、グルコース修飾鶏 Mfs であることが示された。

	Table 1 Functional alternation of glycated chicken Mfs <sup>44)47-49)</sup>					
		Ribose- conjugated chicken Mfs	Glucose- conjugated chicken Mfs	Maltose- conjugated chicken Mfs	Maltotrios e- conjugated chicken Mfs	Dextran- conjugat ed chicken Mfs
Opti mal	Temperature(	38		57	53	53
prep arat	Relative humidity(%)	40	38	37	45	65
ory cond	Reaction time(h)	4.55	6.79	37.2	38.5	47.95
itio ns	Sugar to chicken Mfs mixing ratio	10.7	11.7	5.43	4.24	14.4
	рН	7	7	7	7	8.5
HORAC values of unheated sugar-conjugated chicken Mfs (µmol of gallic acid eqivalent/g of protein)		5.1 ± 1.3	9.7 ± 0.7	7.8 ± 1.0	8.1 ± 0.4	6.3 ± 0.2
Thermal stability			increase	increase	increase	
Gel forming time(min) N.D.		N.D.	15, 30 min	30 min	15, 30, 60 min	
HORAC values of heated sugar-conjugated chicken Mfs (µmol of gallic acid eqivalent/g of protein)  Mfs, myofibrillar proteins, N		ine N.D. po	23.2 ± 0.8	4.4 ± 1.7	N.D.	
WII3, III	yoribirinai piote	, III.G., III.D., III	or derected.			

Data are presented as mean ± standard deviation		
$(n \geq 3)$ .		

さらに、グルコース修飾鶏 Mfs を用いて、乳化安定性を獲得しているか否かを検討したが、顕著な機能改変は見られなかった。そこで、鶏 Mfs の代わりに大豆 11S グロブリンを用いて、ランダムセントロイド最適化法により、最大の抗酸化能を有する標品の調製条件を検討した。その結果、約63.4  $\mu$  mol of gallic acid equivalent/g of protein のヒドロキシラジカル消去能を示すグルコース修飾大豆 11S グロブリンを得ることができた。この標品を乳化剤として用いた際、得られた水中油滴型ミセルは 50 下で 4 週間たっても完全に分離しなかった。しかしながら、油の自動酸化を顕著に抑えることは、できなかった(3 日後のみ、有意に(p<0.01)ネイティブな大豆 11S グロブリンを用いたものより油の酸化を抑えたが 》、そこで、Tween20 を乳化剤とし、この標品を抗酸化剤として用いる(タンパク質濃度は、乳化剤として用いた際の0.57 から 2.9 mg/mLに上昇)(Fig.1)と 3,5 日後に有意に油の酸化を有意に抑制した(p<0.01 》このことは、グルコース修飾大豆 11S グロブリンを天然素材由来の抗酸化剤として利用できることを示していた。

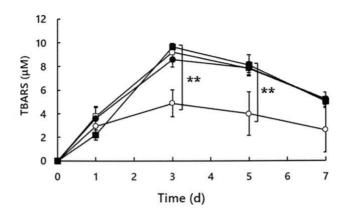


Fig. 1. Inhibitory effects of several types of soybean 11S globulin on lipid oxidation. Emulsions were prepared using Tween 20, diluted 16.7 times with 15 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0) ( $\blacksquare$ ), 0.3 % native ( $\square$ ), 0.3 % glycated ( $\circ$ ), and 0.3 % unreacted soybean 11S globulin ( $\bullet$ ). All emulsions were stored at 50 °C for 7days. The extent of oxidation was evaluated using 2-thiobarbituric acid (TBA) tests. The TBA test value is expressed as the equivalent of malondialdehyde (TBARS). Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (n = 3). \*\* represents

a significant difference between values (p < 0.01).

図表は、西村公雄 "加工工程での食品タンパク質の品質改良並びにその機能改変" (令和5年度 日本食品科学工学会賞)日本食品科学工学会誌 71巻3号71-82 (2024/3)より引用

# 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件(うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件)	
1 . 著者名 K. Nishimura, K. Hasegawa, Y. Matsumura, H. Saeki and K. Matsumiya	4.巻 28
2.論文標題 Functional alteration of soybean 11S globulin through glycation	5 . 発行年 2022年
3.雑誌名 Food Sci.Technol.Res.	6.最初と最後の頁 415-422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.FSTR-D-22-00085	   査読の有無   有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著
1 . 著者名 M. Suzuki, K. Matsumiya, H. Saeki, Y. Matsumura and K. Nishimura	4.巻 28
2. 論文標題 Development of Glucose-Conjugated Chicken Myofibrillar Protein with the Strongest Superoxide Anion Radical Scavenging Activity Using Random-Centroid Optimization and Maltotriose-Conjugated Ones	5 . 発行年 2022年
3.雑誌名 Food Sci.Technol.Res.	6 . 最初と最後の頁 501-511
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.FSTR-D-22-00062	   査読の有無   有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著
1 . 著者名 K. Hasegawa, K. Matsumiya, H. Saeki, Y. Matsumura and K. Nishimura	4.巻 29
2.論文標題 Emulsifying properties of glucose-conjugated soybean 11S globulin with maximum antioxidant capacity, obtained under optimal preparatory conditions identified by random-centroid optimization	5 . 発行年 2023年
3.雑誌名 Food Sci.Technol.Res.	6 . 最初と最後の頁 57-69
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.FSTR-D-22-00169	   査読の有無   有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著
1 . 著者名 Kimio Nishimura & Hiroki. Saeki	4.巻 72
2.論文標題 Dextran-Glycation Improves the Solubility of Chicken Myofibrillar Proteins in Low Ionic Strength Medium, Allowing the Proteins to Exhibit Antioxidant Activity	5 . 発行年 2021年
3.雑誌名 J. Home Econ. Jpn.	6.最初と最後の頁 377-386
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.11428/jhej.72.377	   査読の有無   有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著

1.著者名	4 . 巻
Kimio Nishimura, Momoka Suzuki & Hiroki Saeki	26
2.論文標題	5.発行年
Maltotriose-conjugated chicken myofibrillar proteins derived from random-centroid optimization exhibit potent solubility in low ionic strength medium	2020年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Food Sci.Technol.Res	759-769
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	│ │ 査読の有無
10.3136/fstr.26.759	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1 . 著者名	4. 巻
Kimio Nishimura, Momoka Suzuki & Hiroki Saeki	83
2 . 論文標題	5.発行年
Glucose-conjugated chicken myofibrillar proteins derived from random-centroid optimization present potent hydroxyl radical scavenging activity	2019年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	2307 - 2317
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	<u></u> 査読の有無
10.1080/09168451.2019.1662276	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1.著者名	4 . 巻
Kimio NISHIMURA and Hiroki SAEKI	24
2 . 論文標題	5 . 発行年
Properties of Ribose-conjugated Chicken Myofibrillar Protein with the Strongest Hydroxyl Radical Scavenging Activity Prepared Using Random-Centroid Optimization	2018年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Food Science and Technology Research	1083 ~ 1092
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	   査読の有無
10.3136/fstr.24.1083	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
【学会発表】 計10件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)         1.発表者名	
長谷川京加,佐伯宏樹,松村康生,谷史人,松宮健太郎,西村公雄	
2.発表標題	
2 . 先衣標題 グルコース修飾大豆11Sグロブリンの抗酸化能と乳化特性について	

3 . 学会等名

4 . 発表年 2022年

(公社)日本農芸化学会2022年度京都大会

1.発表者名 長谷川 京加,佐伯 宏樹,西村 公雄
2 . 発表標題 グルコース修飾大豆11Sグロブリンの機能改変
3.学会等名 (一社)日本家政学会 第73回大会
4 . 発表年 2021年
1.発表者名 青山 遥,佐藤 千紘,牛尾 有里,鈴木 桃佳,松宮健太郎,松村 康生,佐伯 宏樹,西村 公雄
2.発表標題 グルコース並びにマルトトリオース修飾鶏筋原線維タンパク質の機能改変
3.学会等名 (公社)日本食品科学工学会第4回関西支部大会
4 . 発表年 2021年
1.発表者名 長谷川 京加,佐伯 宏樹,松村 康生,谷 史人,松宮健太郎,西村 公雄
2 . 発表標題 グルコース修飾大豆11Sグロブリンの抗酸化能と乳化特性について
3.学会等名 (公社)日本農芸化学会2022年度京都大会
4 . 発表年 2022年
1.発表者名 長谷川 京加, 佐伯 宏樹, 西村 公雄
2 . 発表標題 デキストラン修飾により生じる鶏筋原線維タンパク質の機能改変
3.学会等名 (一社)日本家政学会 第72回大会
4 . 発表年 2020年

1.発表者名

西村 公雄,鈴木 桃佳,佐伯 宏樹

2 . 発表標題

最大抗酸化能(ヒドロキシラジカルを指標として)を発揮するデキストラン修飾鶏筋原線維タンパク質のランダムセントロイド最適化法を 用いた調製条件の検索

3 . 学会等名

(一社)日本家政学会 第71回大会

4.発表年

2019年

1.発表者名

鈴木 桃佳, 佐伯 宏樹, 西村 公雄

2 . 発表標題

低イオン強度溶液に対する最大溶解度を発揮するマルトトリオース修飾鶏筋原線維タンパク質の最適調製条件とその機能改変

3.学会等名

(公社)日本農芸化学会 関西・中部支部 2019年度合同神戸大会

4.発表年

2019年

1.発表者名

長谷川 京加,佐伯 宏樹,西村 公雄

2 . 発表標題

最大抗酸化能(ヒドロキシラジカルを指標として)を発揮するデキストラン修飾鶏筋原線維タンパク質のランダムセントロイド最適化法を 用いた調製条件の検索 (第2報)

3 . 学会等名

(公社)日本食品科学工学会第2回関西支部大会

4.発表年

2019年

1.発表者名

鈴木 桃佳, 佐伯 宏樹, 西村 公雄

2.発表標題

ランダムセントロイド最適化法を用いた最大抗酸化能 ( 0<sub>2</sub>-</sup>を指標として)を発揮するグルコース修飾鶏筋原線維タンパク質の最適調製条件検索

3 . 学会等名

第22回ESRフォーラム研究会

4 . 発表年

2018年

1.発表者名 鈴木 桃佳,佐伯 宏樹,西村 公雄				
2 . 発表標題 グルコース修飾鶏筋原線維タンパク質の機能改変について				
3.学会等名 (公社)日本食品科学工学会 第65回大会				
4 . 発表年 2018年				
〔図書〕 計0件				
〔産業財産権〕				
〔その他〕 同志社女子大学研究者データベース https://research-db.dwc.doshisha.ac.jp/rd/html/japanese/researchersHtml/1979/1979_Researcher.html				
6 . 研究組織 氏名				
(ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考		
佐伯 宏樹	北海道大学・水産科学研究院・教授			
研究 分(Saeki Hiroki) 担				
担   者  				
(90250505) (10101)				
7.科研費を使用して開催した国際研究集会				
〔国際研究集会〕 計0件				
8.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況				
共同研究相手国相手方研究機関				