

## 9257 油脂代替物“蛋白質-サポニン-線維”の食品特性発現に対する食塩の役割

助成研究者:渡辺 乾二(岐阜大学 農学部)

共同研究者:下山田 真(岐阜大学)

**研究目的** 油脂代替性乳化物の製造に二種の方法がとられている。一つは油脂性の物質ではないのにも拘らず天然油脂の特性を発現させる物質の製造であり、他は複合系の乳化物におけるような油脂の中に水系を取り込ませて油脂含量を低減化させてはいるが、油脂のそれらの特性は減少させていないようなW/O/W型乳化物の製造である。

本研究では、鶏卵卵白蛋白質-サポニン-オボムチン(鶏卵卵白中の線維状の蛋白質)を素材としての、前述のW/O/W型の複合系油脂代替性乳化物の構築における食塩の役割を明確にすることを目的とした。サポニンは界面活性剤であると共に種々の生理作用があるとされている成分で、生理機能をもつ乳化物の構築をも意図したものである。

**研究方法** 1. 試料 1.1. 鶏卵卵白、およびオボアルブミン、オボムチン複合体とオボムチン:新鮮な鶏卵卵白を均質化して試料とした。この試料より常法によりオボアルブミン、オボムチン複合体とオボムチンを調製して試料とした。 1.2. 大豆サポニン:大豆の胚軸からサポニンを抽出して試料とした。 2. 乳化物の調製:目盛り付き試験管に、pHの調整・食塩を添加した試料溶液をとり、大豆油あるいはケロシンを添加し、ヒスコトロンにて乳化物を調製した。W/O/W型乳化物の調製は、0.5%大豆サポニン水溶液に種々の割合にて大豆油を添加して製造した第一段階の乳化物に、種々の濃度にて食塩を添加した卵白、あるいはオボムチン強化卵白を加えて第二段階の乳化処理を行う方法によった。乳化物の型の判定には光学顕微鏡を用いた。3. 乳化特性の測定:PearceとKinsellaの濁度法によって乳化力を、常法によって乳化安定性(不安定性)と乳化物への蛋白質の吸着率を測定した。

**研究結果と考察** 油脂代替性乳化物を構築するために、油脂の中に微粒子の0.5%大豆サポニン含有の水滴を分散させるようなO/W型の乳化物をまず形成させ、これを内相としてW/O/W型の乳化物を製造する条件を設定した。大豆サポニンを乳化剤として内相の乳化物を製造するに際し、その溶液には出来るだけ食塩を低濃度とすること、および蛋白質を共存させないことが必要条件であると認めた。大豆サポニン水溶液に対して大豆油の添加割合を3, 4と5とした第一段階乳化処理において、当初のO/W型からW/O型に転相し、ここに卵白等を添加して第二段階乳化処理を行うとW/O/W型となると明らかにした。卵白への食塩の添加が3%以上とすると、O/W型とW/O/W型のものとの混合型となると認められた。しかしながら、卵白にオボムチンあるいはオボムチン複合体を添加した場合、複合型乳化物の油脂代替性は増加した。この場合において、卵白への食塩の添加は3%前後が必要であると判明した。卵白を用いた複合系乳化物では、油脂代替性は少なくとも20~25%、卵白にオボムチンを添加するとそれ以上において、油脂の低減化が可能となった。



## 9257 油脂代替物“蛋白質-サポニン-線維”の食品特性発現に対する食塩の役割

助成研究者：渡辺 乾二(岐阜大学 農学部)

共同研究者：下山田 真(岐阜大学)

## 研究目的

油脂代替性とは、多くの食品中の油脂を部分的に代替することを意味しており、現在では油脂代替性乳化物の製造に二種の方法がとられている。一つは油脂性の物質ではないのにも拘らず天然油脂の物性とテクスチャー、および呈味性を発現させる性質の造成である。他は、W/O/W型等の複合系乳化物におけるような油脂の中に水系を取り込まさせて油脂の含量を低減化させてはいるが、油脂のそれらの特性は減少させていない乳化物の造成である。従って、油脂代替性乳化物は低カロリー、低脂肪含有食品であることから将来の発展が大いに期待されている食品加工素材である。

本研究では、鶏卵卵白蛋白質-大豆サポニン-オボムチン（鶏卵卵白中の線維状の蛋白質）を素材としての、前述の後者のW/O/W型の複合系油脂代替性乳化物の構築における食塩の役割を明確にすることを目的とした。サポニンは種類によって異なるが、一般的にはO/W型の乳化剤として知られている。ここでは大豆サポニン水溶液に対して油脂の混合割合を変えた乳化物に、種々の濃度の食塩を含む鶏卵卵白を添加してW/O/W型の乳化物を造成させる方法をとった。さらに、それらの乳化物の安定性を強化し、さらにテクスチャーを油脂代替性とするためにオボムチンを添加して、その効果を明確にすることも試みた。一般的にサポニンは肝障害発生抑制作用、脂質酸化抑制作用、抗コレステロール作用、血清脂質改善作用などの生理作用があると報告されてきた。このような作用を持つサポニンを含有する乳化物の製造は機能性食品の開発にも結びつくものと考えられる。

## 研究方法

## 1. 試料

## 1.1. 鶏卵卵白、およびオボアルブミン、オボムチン複合体とオボムチンの調製

新鮮な鶏卵より卵白をとり、泡を立てないようにして均質化して試料とした。さらに、これより常法によりオボアルブミンを、並びに水希釈法によってオボムチン複合体（オボムチンが主としてリゾチームとイオン結合したもの）を調製した。このオボムチン複合体を0.2M KCl溶液にて洗浄を繰り返ししてオボムチンを調製した。オボアルブミンは凍結乾燥した後一定の溶液として、また沈殿物として得たオボムチンおよびオボムチン複合体

はpH9の炭酸緩衝液などにて懸濁させ線維蛋白質として使用した。

## 1.2. 大豆サポニン

大豆から胚軸を集め、これに約10倍量の70%含水エタノールを加え、24時間振盪抽出を2回繰り返して抽出液を得た。この濃縮乾固物をブタノール：水=1：1（V/V）に分散させ、一晚静置した後、その上層を減圧濃縮後少量の水に分散させて凍結乾燥し、粗サポニン画分を得た。これを大豆サポニンとして使用した。

## 2. 乳化物の調製

### 2.1. O/W およびW/O 型乳化物の調製

目盛り付き試験管（15mm×110mm）に、pHの調整・食塩の添加した試料溶液（卵白、オボアルブミン、0.5%大豆サポニン含有オボアルブミン、オボムチンとその複合体懸濁液、或いは大豆サポニン水溶液）1mlをとり、大豆油或いは一部にはケロシン1.0～5.0g添加し、ヒスコトロン（ヒスコトロン超高速ホモジナイザー、寺岡製NS-50）で乳化（目盛り60で、1分間）させ、油の添加量に応じてO/W型或いはW/O型の乳化物を調製した。

### 2.2. W/O/W 型乳化物の調製

0.5%大豆サポニン水溶液に対して大豆油の添加割合を1、2、3、4および5とした系の下に、全体量を2mlとして乳化させて2.1.と同様にして第一段階の乳化物を形成させた後、ここに外水相として食塩濃度を0、0.5、1.0および3.0%とした卵白を加えて第二段階の乳化処理を行い、主としてW/O/W型の乳化物を形成させる条件を設定した。さらに、それら卵白に線維状を強化するべくオボムチン懸濁溶液を添加して同様に乳化物を形成させた。乳化物の型の判定には光学顕微鏡を用いた。

## 3. 乳化特性の測定

### 3.1. 乳化力

PearceとKinsellaの濁度法によって乳化力を測定した。乳化直後の乳化物を10 $\mu$ lとり、0.1%SDS溶液にて1000倍希釈し、500nmにおける吸光度から以下の算式にて濁度を求め、濁度の高い程乳化力が高いとした。

濁度(T) = A X 2.303 / l、 A : 500 nmにおける吸光度 l : セルの長さ (cm)

### 3.2. 乳化安定性

乳化前の水溶液量と乳化24時間後の離水量との関係から離水量の割合を算出し、乳化安定性の尺度とした。

### 3.3. 蛋白質の吸着率

乳化後遠心分離（3000rpm, 20分間）して下層の溶液を分画し、その溶液中の蛋白質をLowry法にて定量した。吸着率は次の算式にて求めた。

吸着率 (%) = [ (A x V) - (A' x V') ] / (A x V) x 100, A : 乳化前の蛋白質濃度 (%), A' : 乳化後の蛋白質濃度 (%), V : 乳化前の溶液の量 (ml), V' : 遠心後の離水量 (ml)

## 研究結果と考察

### 1. 大豆サポニンの乳化特性

#### 1.1. 大豆サポニンの乳化力と安定性

親水性界面活性剤とされている大豆サポニンの基本的乳化特性を、その乳化力および安定性におよぼすpHと食塩の影響から検討した。まず、大豆サポニンの濃度とpHとの関係における乳化力をFig. -1に、その安定性をTable-1に示した。乳化力はpHが6と7の中性付近にてサポニンの濃度に依存して最大値をとり、またpH 5と8ではサポニン濃度が0.5%で最大値を示した。一方それらの安定性はサポニン濃度が高い程高く、特にpH6ではその傾向が顕著であった。次に、大豆サポニンを0.5%とした場合の食塩の濃度とpHとの関係における乳化力をFig. -2に、その安定性をTable-2に示した。pHよりもむしろ食塩の濃度に依存して乳化力と安定性は共に急激に低下した。以上の実験より、大豆サポニン水溶液を乳化剤とする場合においてはそのpHを6または7として、食塩の濃度は無添加あるいは1%以内とする方が良くと判明した。0.5%大豆サポニン水溶液に大豆油の添加割合を1, 2, 3, 4および5として乳化して、水を対照としての乳化力と安定性も比較した。添加割合が1と2ではO/W型が、3, 4と5ではW/O型が主として得られ、その1, 2と3で乳化性が高かったのに反し、安定性は低かった。

大豆サポニン水溶液への食塩の添加による乳化剤としての機能低下要因は、大豆サポニン水溶液への食塩の添加割合を増加させるとその水溶液の濁度が減少したことから、食塩の共存下ではサポニンのミセル構造が破壊されたことによるものと考察できよう。

#### 1.2. オボアルブミンと大豆サポニンの共存下における乳化力と安定性

卵白の乳化力の基本となるオボアルブミンの乳化特性が、大豆サポニンの共存下においてどのように影響をうけるかまず検討した。pH7の0.1Mリン酸緩衝液に種々の濃度にて溶解させたオボアルブミン（0～10%）に、大豆サポニン（0.5%）を添加した場合の乳化力および乳化物における蛋白質の吸着率を測定し、それぞれの結果をFig. -3とFig. -4に示した。前者において、蛋白質濃度が5%以下ではその濃度の上昇と共に大豆サポニンがオボアルブミンの乳化性を阻害する傾向と、逆にオボアルブミンも大豆サポニンの乳化力を阻害する傾向とを示した。蛋白質濃度5%以上では蛋白質とサポニンが共同して乳化性を増強している傾向となったが、両者の共存下で加算的に乳化力が増加することはなかった。Fig. -4に見られるように、乳化物におけるオボアルブミンの吸着率も大豆サポニンの存在にて低下した。大豆サポニンが蛋白質に結合し、その結果オボアルブミンの両親媒性のバランスが崩れ、乳化物における吸着率が低下したと考察出来よう。卵白を用いて同様な実験を行うと、オボアルブミンの場合と同じように乳化力はサポニンの共存下にて低下したが、安定性の低下率の減少は止まった。この結果はオボアルブミン以外の蛋白質の安定性への寄与があることを示唆している。

### 2. 油脂代替性乳化物の製造

油脂代替性乳化物を構築するために、油脂の中に微粒子の水滴を分散させるような第一段階乳化においてW/O型の乳化物をまず形成させ、これを内相として第二段階乳化においてW/O/W型の乳化物を製造する方法をとった。1の実験結果において、大豆サポニンを利用するに際し、その溶液には出来るだけ食塩を低濃度とすること、および蛋白質を共存させないことが必要条件であると認められた。そこで、食塩無添加の大豆サポニン水溶液を油脂の中に閉じ込めたW/O型の乳化物をまず形成させた後、種々の濃度の食塩を添加した卵白にてW/O/W型の乳化物を製造するべく試みた。

実験方法にて記載したように、大豆サポニン水溶液に対して大豆油の添加割合を変えての第一段階乳化物に、食塩添加・無添加卵白を添加後第二段階乳化処理を行なった。これらの試料につき乳化力と安定性を測定し、それら両者の関係を食塩の添加量別にプロットしてFig. -5にその結果を示した。大豆サポニン水溶液量に対して大豆油の添加量の割合が1と2の場合において、その割合が4と5と高い場合と比較して、乳化力が高いのに対して、安定性が低くなる傾向となった。一方、割合が3の試料では比較的乳化特性が良いという結果となった。卵白への食塩の添加量の差異も乳化力と安定性との関係に差を示す要因となった。すなわち、食塩の添加量が多くなるにつれて、油脂の添加割合が3の試料における乳化特性はその割合が1と2の試料のものに近づく傾向となった。第一段階乳化処理において、添加割合が1と2の試料では前述したようにO/W型の多い乳化物となり、さらに、第二段階乳化処理においてもそのままO/W型の形態を保持している。従って、その第二段階処理において卵白蛋白質がサポニンと反応して、乳化物を不安定化していると言えよう。添加割合が3、4と5となると食塩の添加量が低い場合に、第一段階乳化処理において当初のO/W型からW/O型に転相し、第二段階乳化処理においてW/O/W型となる。この場合、食塩の添加量が多くなると、添加割合が3の場合において、O/W型とW/O/W型の混合形態をとるようになった。

前述した1.2の実験結果において、オボアルブミン以外の蛋白質の乳化安定性への寄与があると判明した。この蛋白質が線維状のオボムチンであろうとの想定のもとに、次のような検討を行った。オボムチンの含有量の多い濃厚卵白溶液を分画・均質化後、pHを3とするとオボムチン複合体は沈殿する。この沈殿物のpHを再度調整して中性懸濁溶液とし、一方の上清溶液区分（主な蛋白質はオボアルブミンとオボトランスフェリン）と別個に乳化して比較検討した。濃厚卵白溶液に類似の特徴的な乳化安定性を示したのは、沈殿区分の方であった。即ち、オボムチン複合体が乳化安定性に大きく関与していると認められた。さらに、この結果はオボムチン懸濁溶液にても確認し得た。0.06%オボムチン溶液としてpHと食塩の乳化力と乳化安定性への影響を試験したところ、pHが6から7、食塩濃度が3%付近においてそれらに最大値が得られた。そこで、上記のW/O/W型乳化物の製造におけるオボムチン複合体の卵白への添加効果を、pHを6、食塩を3%としたオボムチン複合体含有卵白溶液にて検討した。オボムチン複合体の添加割合を増加させるにつれて乳化性は向

上した。

以上の実験における食塩存在下の乳化物の安定化は、油脂の周囲にまずオボムチン以外の蛋白質が吸着し、その上に、食塩の添加によって反発力の弱まり、かつ部分的に可溶化したゲル状のオボムチンが覆い被さるようにして乳化物の安定性を増強しているというような機構が、線維状蛋白質の効果であると考察できよう。

Table -3に、作製した乳化物中における油脂量とその割合を纏めた。設定した条件下においては、卵白-油脂系の0/W型においては、油脂の含量割合が最大50%であるが、W/0/W型とすることによって少なくとも10~12.5%の油脂量の低減化が可能となった。即ち、20~25%の油脂の低減化が達成できた。食塩の共存下でオボムチンを卵白に添加するとさらに油脂量の低減化が可能となった。サポニン水溶液は渋味等のどちらかと言えば不快味を呈するが、その水溶液として油脂中に閉じ込めることによってヒトがそれを摂取した場合においてそれらの呈味性も殆ど感じられないことも、天然の乳化剤である大豆サポニンを使用しての本研究の油脂代替性の目的が達成できたものと結論できよう。またオボムチンを添加することによって、乳化物のゲル状の性質も付加された。このことは直接的油脂代替物の可能性を示唆している。

#### 今後の課題

本研究においては、W/0/W型の乳化物の形成による間接的な油脂代替性を検討し、油脂低減化に成功した。ここにて使用したサポニンは大豆由来のものであり、食塩の共存下にて乳化性は低下したため、内相における食塩の無添加の系にて実施した。大豆サポニンと他の植物由来のサポニンとは性質も異なり、食塩の存在下にて可溶化するものもある。このため、今後種々様々なサポニンにてW/0/W型の乳化物を造成する必要がある。サポニンごとに生理活性が異なるため、食品機能の目的に応じた乳化物の調製が可能となると期待されよう。アスパラ由来のサポニンなどは親油性であり、大豆サポニンとは異なったタイプの乳化物が形成されることも興味深い。これら親油性のサポニンは大豆サポニンと共存させると、複合体を形成して水に可溶性となる。このような複合体を利用してW/0/W型の乳化物を造成させることも今後の課題である。さらに、このような乳化物の機能食品としての価値を広く実験動物を用いて検討することも必要となる。

オボムチンを卵白に添加した乳化物であると、安定性も増加すると共に味における濃厚性が加味された。このような乳化物を加熱処理してゲル化させ、直接的な油脂代替性を詳細に検討することも今後の課題である。本研究では線維状蛋白質としてオボムチンを選び検討したが、さらに広く肉由来のコラーゲンなどの線維状蛋白質、並びに繊維および非繊維状の種々の多糖類についても試験することが必要である。

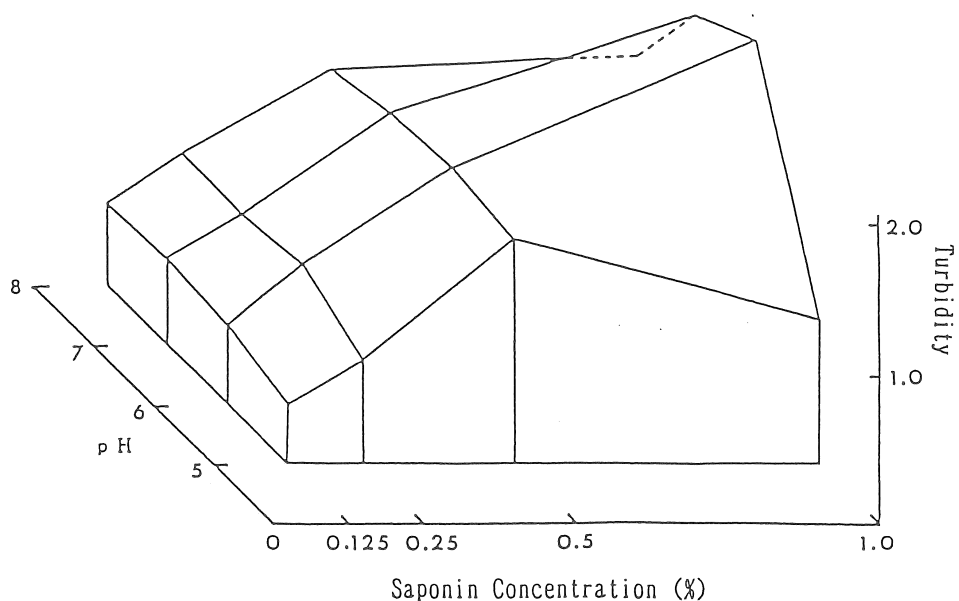


Fig.-1 Effect of pH on Emulsifying Activity under the Various Concentrations of Soybean Saponin.

Table-1 Effect of pH on Emulsion Stability of Soybean Saponin.

pH	Soybean Saponin Concentration (%)			
	0.125	0.25	0.5	1.0
5	0	15	48	55
6	15	40	83	100
7	20	35	43	75
8	50	40	43	85



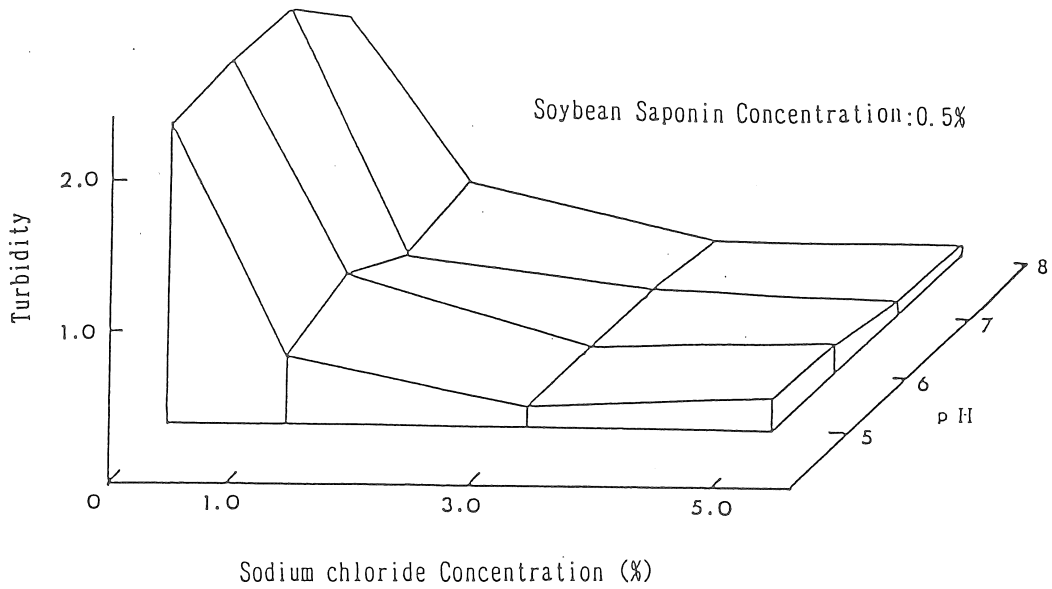


Fig.-2 Effect of Sodium chloride and pH on Emulsifying Activity of Soybean Saponin.

Table-2 Effect of Sodium chloride on Emulsion Stability of Soybean Saponin.

pH	Sodium chloride Concentration (%)			
	0	1	2	3
5	48	20	35	35
6	83	30	25	35
7	43	10	15	30
8	43	20	20	10

Soybean Saponin Concentration: 0.5%

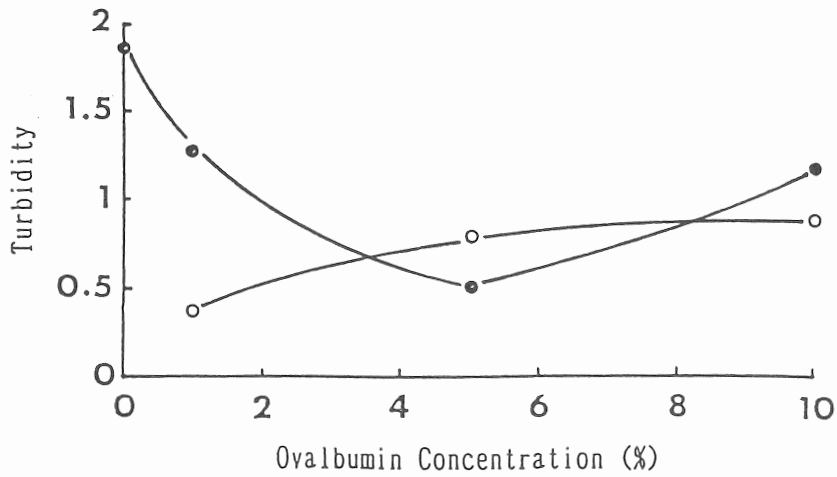


Fig.-3 Effect of Soybean Saponin on Emulsifying Activity of Ovalbumin.

- : Ovalbumin containing 0.5% Soybean Saponin Solutions
- : Ovalbumin Solutions

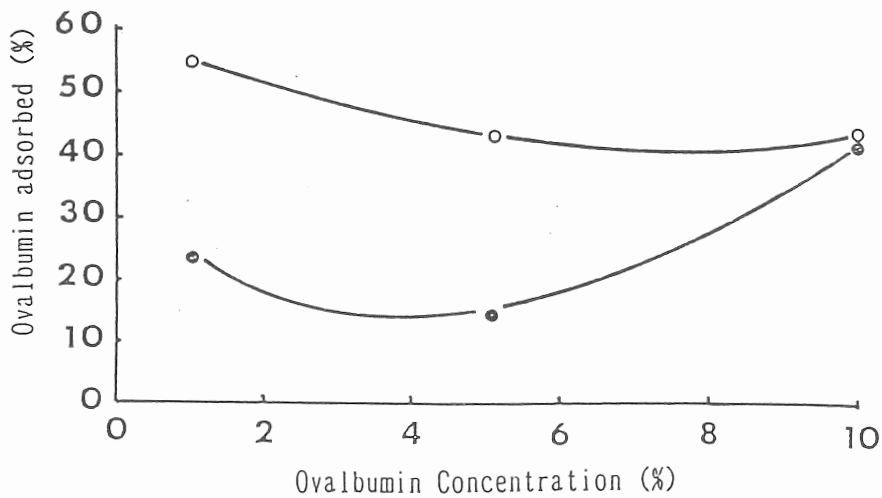
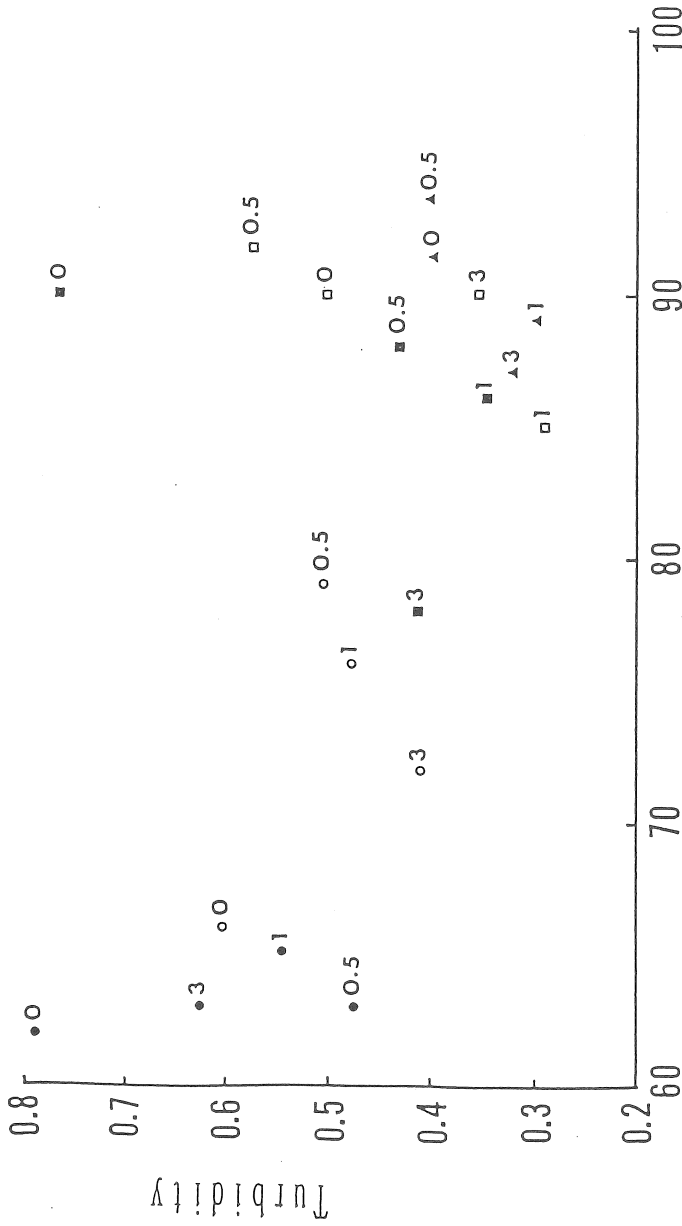


Fig.-4 Effect of Soybean Saponin on Amount of Ovalbumin Adsorbed on the Emulsion.

- : Ovalbumin containing 0.5% Soybean Saponin Solutions
- : Ovalbumin Solutions



Emulsion Stability (%)

Fig. -5 Relationship between Emulsifying Activity and Emulsion Stability of the Multiple-phase Emulsions at Sodium chloride Concentrations of 0-3%.

Soybean oil/Soybean Saponin = ●:1, ○:2, ■:3, □:4, ▲:5  
 Sodium chloride Concentration = 0:0 (%), 0.5:0.5 (%), 1:1.0 (%), 3:3.0 (%)

Table-3 Proportion of Soybean Oil in Multiple-phase Emulsions.

First Emulsification		Second Emulsification		Decreased Ratios of Oil(%)
SSA(ml)	SO(g)	SO/SSA	EW(ml)	
0	2	-	2	50.0
1	1	1	2	25.0
0.67	1.33	2	2	33.3
0.50	1.50	3	2	37.8
0.40	1.60	4	2	40.0
0.33	1.67	5	2	41.8
1(water)	1	1	2	25.0

SSA: Soybean Saponin Aqueous Solution

SO: Soybean Oil

EW: Egg White

MpE: Multiple-phase Emulsion

Effect of sodium chloride on the appearance of food characterization of  
"protein-saponin-fiber " as oil-substituted materials.

Kenji WATANABE and Makoto SHIMOYAMADA

(Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Gifu University)

Summary

The aim of this study is to investigate the effect of sodium chloride on the preparation of the W/O/W type multiple-phase emulsions as the oil-substituted materials using the egg white protein-soybean saponin-ovomuchin (fiber-like protein in egg white). The operations used in this study were designed on the basis of a two-step procedure of emulsification. In the first operation for providing the W/O type emulsions, aqueous solutions of 0.5% soybean saponin were homogenized with a Polytron with the soybean oil at the ratios of 1, 2, 3, 4 and 5 of soybean oil to 1 of the saponin solution. The presence of sodium chloride at the concentrations of 0.5 ~3% in the systems resulted in a lowering of the emulsifying activity and emulsion stability. In the second operation for providing the W/O/W type emulsions, the obtained W/O type emulsions without sodium chloride were homogenized with egg white or ovomuchin-enriched egg white in the presence and absence of sodium chloride. In the presence of 3% of sodium chloride, the stable W/O/W type emulsions could be prepared successfully. On the preparations of the described multiple-phase emulsions as the oil-substituted materials, reduction at the rates of 20 ~25% or above in weight of the added oil could be attained especially in the presence of ovomuchin.