報 文

乳化剤の添加方法がホワイトソースの冷凍劣化に及ぼす影響

道口靖央^{1*}, 松宮健太郎¹, 高橋康明², 行田和樹², 芦田泰三², 松村康生¹

¹ 京都大学大学院農学研究科

² 理研ビタミン(株)

Effect of Emulsifier Addition on the Deterioration of White Sauce by Freezing

Yasuhiro Doguchi^{1*}, Kentaro Matsumiya¹, Yasuaki Takahashi²,

Waki Yukita², Taizo Ashida² and Yasuki Matsumura¹

¹ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Uji, Kyoto 611-0011

² Riken Vitamin Co., Ltd, 56 Shinminato, Mihama, Chiba, Chiba 261-0002

Freeze-thaw white sauces made by adding Propylene glycol monoarate (PO) or Propylene glycol monostearate (PS) to water phase (PWWS) kept rheological properties similar to that of unfrozen white sauce and showed better sensory properties than white sauce made by adding PO or PS to oil phase (POWS). In PWWS, retrogradation phenomena (i. e., syneresis, increasing of hardness and viscosity, aggregation of starch) were not observed clearly as compared to the control white sauce and POWS. This suggests that retrogradation phenomena are inhibited in PWWS. Results of measurement for starch-iodine color and X-ray structure analysis imply that starch-emulsifier complex inhibited retrogradation of PWWS. The reason for low inhibition of degradation by freezing in POWS seems to be attributed to a low degree of starch-emulsifier complex formation. In the future, functions of conventional emulsifier may be emerged by using this study method. (Received Dec. 24, 2014 ; Accepted Mar. 12, 2015)

Keywords : white sauce, freeze, emulsifier, addition method, starch-emulsifier complex

キーワード : ホワイトソース, 冷凍劣化, 乳化剤, 添加方法, 澱粉-乳化剤複合体

ホワイトソースはホワイトシチュー, グラタン, コロッケなどの幅広い料理に使われており, 調理済みの冷凍食品への需要も高い。しかし, ホワイトソースを冷凍すると, 本来のなめらかなテクスチャーを失い, 品質が著しく劣化することが知られている¹⁾。この冷凍劣化を抑制する方法の1つとして, 乳化剤を添加する方法がある。松本ら¹⁾はHLB-3の疎水性ショ糖脂肪酸エステルを油相に, HLB-14の親水性ショ糖脂肪酸エステルは水相に添加することでホワイトソースの冷凍劣化に対する抑制効果を評価した。その結果, 疎水性ショ糖脂肪酸エステルでは冷凍劣化を半分程度しか抑制できなかったのに対して, 親水性ショ糖脂肪酸エステルでは未冷凍ホワイトソースには及ばないがそれに近い品質を呈した。食品用乳化剤は主に疎水性乳化剤ではあるが, 水に分散して使用する場合が多い²⁾。それにも関わらず, 疎水性乳化剤を水相に添加した際のホワイトソースの冷凍劣化を検討した例は報告されていない。

本研究では疎水性乳化剤の水相添加によるホワイトソースの冷凍劣化抑制効果を評価することと, その作用機構を解明することを目的として, 凍結融解したホワイトソース

の物性評価を行うとともに, 澱粉-乳化剤複合体形成がその物性にどのように関与しているのかを調べた。

実 験 方 法

1. ホワイトソース調製

ホワイトソースは小麦澱粉(長田産業社製)7.0wt%, 菜種油(和光純薬工業社製)4.7wt%, スキムミルク(森永乳業社製)9.3wt%, 乳化剤(理研ビタミン社製)0.3wt%, 超純水78.7wt%の組成で調製した。乳化剤を添加しない場合は, その分を菜種油で補填した。疎水性乳化剤はHLBが2~4のプロピレングリコールモノオレート(PO)とプロピレングリコールモノステアレート(PS)の2種類を使用し, 水相または油相に添加した。乳化剤を水相添加する場合, 高速回転式分散・乳化機(ヒストロン; マイクロテック・ニチオン社製)を用いて, 乳化剤と超純水を30000rpmで30秒間ブレホモジナイズした。続いて高圧式均質化処理機(Panda Plus 2000; ニロ・ソアビ社製)を用いて第1段圧力17.5MPa, 第2段圧力3.5MPaの条件で1回処理し, 乳化剤を超純水中に分散させた。乳化剤を油相添加

¹ 〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄, ² 〒261-0002 千葉県千葉市美浜区新港 56

*連絡先 (Corresponding author), doguchi.yasuhiro.58c@st.kyoto-u.ac.jp

図 1 凍結融解後のホワイトソースの外観 (PS も同様の結果)

する場合、乳化剤を菜種油に溶解させた。乳化剤を油相または水相に添加した後、残りの全材料を容器に入れ、スターラー (HS-3E；井内盛栄堂社製) で攪拌しながら 100℃ のウォーターバス (TBS181SA；アドバンテック東洋社製) 中で 10 分間加熱した。調製したホワイトソースを室温で 25℃ まで放熱後、半量ずつ分けて一方を未凍結ホワイトソースとし、もう一方は凍結ホワイトソースとした。凍結ホワイトソースはプラスチック容器に分注して -20℃ で 24 時間凍結し、室温で 6 時間解凍した。

2. 離水量

50 ml コニカルチューブに凍結ホワイトソースを 30 g 投入し、4000×g で 3 分間遠心機 (マイクロ冷却遠心機 3740；久保田社製) により遠心分離を行った。コニカルチューブをろ紙上に逆さまに 1 分間静置して生じた離水を除いた後、計量前後の差を離水量として割合を計算した。

3. かたさ

金属製の円筒状容器 (内径 50 mm；高さ 15 mm) に凍結ホワイトソースを摺りきり充填し、クリープメーター (RE-33005B；山電社製) を用いて測定した。直径 16 mm の円柱形プランジャーを使用し、速度 10 mm/s で圧縮したときにプランジャーにかかる応力をかたさとした。

4. 粘度

動的粘弾性機器 (Rheosol-3000；IBM 社製) を用いて、凍結ホワイトソースの定常流粘度を測定した。治具はコーンプレートを用いて、剪断速度 0.01~10 s⁻¹、25℃ で測定した。

5. 内部構造観察

超純水とローダミン B (和光純薬工業社製) を混合し、1 mg/mL ローダミン溶液を調製した。次に Nile red (sigma 社製) をポリエチレングリコール 200 (和光純薬工業社製) に溶かして 0.1 mg/mL Nile red 溶液を調製した。ホワイトソース 10 g にローダミン溶液と Nile red 溶液を 200 μL ずつ添加し、均一に混ぜて染色した。染色したホワイトソースを、両端が 100 μm 高くなっているスライドガラスに載せ、カバーガラスで被覆した。これにより本来の構造を維持したままの観察が可能となる³⁾。励起波長を 488 nm (Nile Red) と 565 nm (ローダミン B) に設定し、共焦点レーザー顕微鏡 (FLUOVIEW FV1000；オリンパス社製) で観察した。

6. 複合体形成試験

未凍結ホワイトソースを超純水で 50 倍に希釈した分散

液 3 mL に、ヨウ素溶液 (ヨウ素 0.2%-ヨウ化カリウム 2%) 100 μL を添加した。ヨウ素溶液を添加した分散液 1 mL を光路長 1 cm のセルに移し、400~800 nm の吸光スペクトルを分光光度計 (UV-2550；島津製作所社製) で測定した。

7. X 線回折測定

凍結ホワイトソース 3 mL を 50 mL コーニングに分注し、液体窒素で予備凍結を行った。その後、凍結乾燥機 (FDU-1200 型；東京理科学器械社製) で 24 時間凍結乾燥させた。凍結乾燥したホワイトソースを粉碎し、その粉末 0.5 g でタブレットを作成した。X 線回折装置 (ultraX-18；リガク社製) を用いて、以下の条件で測定を行った。

電圧 30 kV、電流 400 mA、走査速度 1°/min、2θ=3~35°

実験結果および考察

1. 外観観察

凍結融解した際のホワイトソースの外観写真を図 1 に示す。無添加の凍結ホワイトソースは本来のなめらかな表面は損なわれ、ボソボソした表面を示した。PO を油相添加したホワイトソースは無添加の凍結ホワイトソースに比べて、ボソボソした感じがいくぶん緩和した外観を示した。PO を水相添加したホワイトソースは未凍結ホワイトソース同様のなめらかな表面を維持していた。PS で調製したホワイトソースでも同様の結果を得ることができた (データ示さず)。

2. 離水量

凍結融解によりホワイトソースから生じた離水量を図 2 に示す。未凍結のホワイトソース (乳化剤無添加) では離水は生じなかった。無添加の凍結ホワイトソースでは約 17% 離水が生じた。PO および PS を油相添加した場合は、無添加と比較して凍結ホワイトソースの離水量が減少することはなかった。それに対し、PO および PS を水相添加した凍結ホワイトソースでは離水量が無添加のものに比べて減少する傾向が見られた。

3. かたさ

凍結融解により変化したホワイトソースのかたさを図 3 に示す。無添加の凍結ホワイトソースではかたさが著しく増加した。PO および PS を油相添加した凍結ホワイトソースでもかたさが増加したが、無添加ホワイトソースよりは少し低かった。PO および PS を水相添加した凍結ホワイトソースでは未凍結のものと同様のかたさを維持して

図2 凍結融解により生じた離水量

表示：平均±標準偏差 (n=3)

図3 凍結融解後のホワイトソースのかたさ

表示：平均±標準偏差 (n=3)

図4 凍結融解後のホワイトソースの粘度

表示：平均±標準偏差 (n=3)

いた。

4. 粘 度

動的粘弾性装置を使用して凍結ホワイトソースの粘度を測定した結果を図4に示す。無添加の凍結ホワイトソースでは、未凍結のものに比べて粘度が著しく増加した。PO

およびPSを油相添加した凍結ホワイトソースでも粘度増加が見られたが、無添加ホワイトソースよりは小さかった。POおよびPSを水相添加した凍結ホワイトソースでは粘度の増加はなく、むしろ未凍結ホワイトソースよりも低い値を示した。これは凍結融解により生じた離水で構造が緩くなったためかもしれない。

10名のパネリストによって実施した官能評価では、POおよびPSを水相添加した凍結ホワイトソースは口どけ、風味すべての評価が高く、総合評価において十分に優れていた。それに対しPOおよびPSを油相添加した凍結ホワイトソースでは、風味は水相添加のものと同等であったが、口どけが劣っていた（未発表データ）。したがって今回の物性値と官能評価は概ね対応していると言える。

5. 内部構造観察

共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した未凍結および凍結ホワイトソースの内部構造写真を図5に示す。黄色が油滴、赤色がタンパク質、染色されなかった黒色部分が澱粉³⁾を表している。無添加とPOおよびPSを油相添加した凍結ホワイトソースでは澱粉が凝集し、構造が顕著に変化した様子が観察され、その程度は無添加ホワイトソースの方が大きかった。それとは対照的に、POおよびPSを水相添加した凍結ホワイトソースでは未凍結ホワイトソースとほぼ同様の構造を維持していた。全ての凍結ホワイトソースにおいて、油滴サイズの増加が観察された。しかし油滴サイズはホワイトソースの物性に影響を与えないと報告されている³⁾。本研究において乳化剤添加方法により物性変化に著しく差があった結果を合わせて考えると、本研究の凍結融解による物性変化は油滴サイズによるものではないと推測される。

6. 複合体形成試験（ホワイトソース）

澱粉は低温環境下で老化が進行し、特に0℃付近で顕著に老化が進行する。主な老化現象としてアミロースやアミロペクチンの凝集による離水の発生やかたさと粘度の増加が知られている⁴⁾。本研究で冷凍劣化したホワイトソースも上記の老化現象を示し、また凍結時と解凍時に0℃付近を経験していることから、澱粉の老化により冷凍劣化が引き起こされている可能性が考えられた。POおよびPSを水相添加した凍結ホワイトソースでは離水の減少傾向やかたさと粘度の増加抑制が見られたことから、澱粉の老化が抑制されていることが推測される。この推測を確かめるため、以下の検討を行った。

澱粉の老化を抑制する1つの要因として澱粉と乳化剤の複合体形成がある⁵⁾。そこでヨウ素呈色比色法⁶⁾を用いてホワイトソースの複合体形成を検証した。その結果を図6に示す。無添加のホワイトソースとPOおよびPSを油相添加したホワイトソースは青紫を呈色した。それに対し、POおよびPSを水相添加したホワイトソースでは赤紫を呈色した。

図 5 共焦点レーザー顕微鏡によるホワイトソースの内部構造観察

赤色がタンパク質，黄色が油滴，黒色が澱粉を表す
スケールバー：200 μm

図 6 未凍結ホワイトソースの複合体形成試験

平均値で表示 ($n=3$)

澱粉を構成しているアミロースとアミロペクチンはそれぞれヨウ素と複合体を形成して，濃青と赤紫を呈色する⁷⁾。

乳化剤は主にアミロースと複合体を形成⁸⁾するため，乳化剤と複合体を形成した澱粉にヨウ素を添加するとヨウ素はアミロースと複合体を形成できず，アミロペクチンによる赤紫を呈色すると考えられる。したがって乳化剤と複合

体を形成した澱粉では最大吸光波長は低波長側へと移行する。

PO および PS を水相添加したホワイトソースの最大吸光波長は低波長側に移行したことから，乳化剤と澱粉の複合体形成が示唆された。

図7 未凍結モデルソースの複合体形成試験
 平均値で表示 ($n=3$)

図8 凍結融解後のモデルソースの外観 (PSも同様の結果)

7. 複合体形成試験 (モデルソース)

前項でPOおよびPSと澱粉の複合体形成が示唆されたものの、これらの乳化剤は澱粉と複合体を形成しにくいことが報告⁹⁾されている。

POおよびPSと澱粉の複合体形成を改善した要因を調べるために、ホワイトソースからスキムミルクを除外したモデルソースで同様の実験を試みた。その結果を図7に示す。全てのモデルソースにおいて青紫色が観察された。中でも無添加のモデルソースはホワイトソースに比べて、大きく高波長側に移行していた。内部構造観察の結果 (データ示さず)、無添加のモデルソースでは油滴サイズの増大が確認できたことから、スキムミルクが存在しないことで油滴が微粒化されなかったと思われる。油滴サイズが増大、すなわち油滴表面積が減少し澱粉との接触面積が減少したことが、無添加のモデルソースにおける脂質-複合体

形成低下の原因と考えられる。POおよびPSを添加したモデルソースでは、ホワイトソースの結果と同様に水相添加したものの方が低波長側に移行していた。水相に分散したPOおよびPSは、油相に分散したものに比べて澱粉と接触しやすかったために複合体も形成しやすかったと推測される。ただ、その低波長側への移行度合は、POおよびPSを水相添加したホワイトソース程には顕著ではなかった。また、その色調はホワイトソースのような赤紫色を示さず、青紫色に近いものだった。以上のことからPOおよびPSは水相添加してもモデルソースではホワイトソースの場合に比べて、澱粉と複合体を形成しにくいと思われる。HLB2~4であるPOおよびPSは強い疎水性ゆえに安定して水相に分散できず、親和性の高い油相に移行したために複合体形成が進行しにくかったのではないかと考えられた。外観観察の結果 (図8)、かたさの増加は僅かに抑制さ

図 9 凍結ホワイトソースの X 線回析試験結果
 平均値で表示 (n=3)

れているようだったものの、全てのモデルソースに差異は認められず、ボソボソとした外観を示した。すなわちモデルソースではホワイトソースのような冷凍劣化抑制は起きなかった。この結果は PO および PS と澱粉の複合体形成が起きにくかったことに起因していると考えられる。

乳化剤の分散状態が向上すると不飽和脂肪酸でも直鎖飽和脂肪酸と同等に複合体を形成することが知られている¹⁰⁾。今回も同様のことが原因であるとすれば、ホワイトソースの水相に添加された PO および PS は、分散状態が改善されたために澱粉との複合体形成が進んだと考えられる。ホワイトソースに存在し、モデルソースに含まれていないものはスキムミルクである。PO および PS を水相添加した未凍結ホワイトソースでは、スキムミルク成分により PO および PS の分散状態が向上したために複合体形成が促進され、不飽和脂肪酸である PO と飽和脂肪酸である PS 間に差異が見られなかったと推察される。それに対してスキムミルクを除外したモデルソースでは、水相における PO および PS の分散状態が改善されなかったために、複合体形成が顕著に進行しなかったと考えられる。

8. X 線回析測定

アミロースはアミロペクチンよりも老化しやすく、初期の老化はアミロースによるものと考えられている⁴⁾。本研究の凍結ホワイトソースにおける老化もアミロースの老化を主要因とする可能性が考えられ、それを調べるために X 線回析試験を行った。生澱粉は結晶性を示し、糊化によりその結晶性は消失し V 型図形を示すが、老化により再び結晶性が回復することが知られている¹¹⁾。X 線回析試験により得られる澱粉の結晶性は、ほとんどアミロペクチンにの

み依存する¹²⁾ ため、凍結ホワイトソースにおける結晶性の回復を確認することで、本研究の老化がアミロペクチンによるものかを確認できる。凍結ホワイトソースの結晶性を調べた結果を図 9 に示す。全ての凍結ホワイトソースが V 型図形を示して結晶性の回復を示さなかったことから、生じた老化はアミロペクチンによるものではないと推察された。したがって結晶性を示すアミロペクチンではなく、残りの非結晶部分に存在しているアミロースにより老化が起きているのではないかと考えられる。老化澱粉の物性は非結晶部分に支配されていると報告されている⁴⁾ ことを考慮すると、本研究におけるホワイトソースの老化も主にアミロースによるものと推測される。

PO および PS を油相添加した凍結ホワイトソースでは、アミロースと脂肪酸の複合体形成を示す 13°付近に弱い回析ピークが現れた¹³⁾。よって PO および PS を油相添加した凍結ホワイトソースにおいて冷凍劣化が少し抑制されたのは複合体形成によるものと考えられる。PO および PS を水相添加した凍結ホワイトソースの 13°付近の回析ピークは油相添加したものより少し大きかった (図 10)。よって PO および PS を水相添加した凍結ホワイトソースにおいて老化抑制が強く働いたのは、複合体の形成量が多かったからではないかと考えられる。しかしながら、油相添加と水相添加ホワイトソースの複合体を示す回析ピークの差は僅かであり、冷凍時に生成した氷結晶による影響も考えられる。また長期保存した場合や急速凍結した場合では冷凍劣化の挙動が変わるかもしれない。今後は凍結条件や保存期間、氷結晶がホワイトソースの冷凍劣化に及ぼす影響についても検討して行きたい。

図10 複合体を示す回折ピーク強度

表示：平均±標準偏差 (n=3)

本研究で用いた PO および PS 以外の疎水性乳化剤でも、水相添加によるホワイトソースの冷凍劣化抑制効果の向上が期待できる。今後本研究の添加方法を用いて、既存の疎水性乳化剤の機能を引き出せるかもしれない。

要 約

疎水性乳化剤であるプロピレングリコールモノオレート (PO) およびプロピレングリコールモノステアレート (PS) を水相に分散させて調製したホワイトソースでは、油相に分散させた場合に比べて凍結融解後の物性は未凍結ホワイトソースに近く、官能評価も優れていた。

無添加と PO および PS を油相添加した凍結ホワイトソースで観察された離水やかたさと粘度の増加、澱粉凝集などの老化現象が、水相添加した場合には緩和されたことから老化抑制が示唆された。

ヨウ素呈色比色法と X 線回折測定の結果から、水相添加ではアミロースと乳化剤の複合体形成が示唆され、複合体により澱粉の老化が抑制されていることが示唆された。

油相添加において抑制が弱かったのは複合体形成量が低かったためではないと思われる。

今後本研究の添加方法を用いて、既存の疎水性乳化剤の機能を引き出せるかもしれない。

文 献

- 1) 松本美鈴, 坂上朋子, 徳屋文子, 島田淳子, 吉松藤子, ホワイトソースの冷凍劣化に及ぼす乳化剤の影響, 家政学雑誌, **37**, 369-375 (1986).
- 2) 日高 徹, グリセリン脂肪酸エステルを中心とする食品用乳化剤の現状と動向, 油科学会誌, **30**, 823-836 (1981).
- 3) Guardado, L.M., Sanz, T., Fiszman, S.M., Quiles, A. and Hernando, I., Microwave heating effect on rheology and microstructure of white sauces. *J. Food Sci.*, **76**, E544-E552 (2011).
- 4) 不破英次, 澱粉の機能的性質, 「澱粉科学の事典」, 普及版第1刷 (朝倉書店, 東京), pp.193-199 (2010).
- 5) 高橋禮治, でん粉の科学, 「でん粉製品の知識」, 第5版 (幸書房, 東京), pp.79-91 (1996).
- 6) 島田淳子, 徳屋文子, 神寄やえ, 松本美鈴, 吉松藤子, ホワイトソースの冷凍劣化に及ぼす調理条件の影響, 家政学雑誌, **36**, 867-873 (1985).
- 7) 二國二郎, 澱粉およびその成分の調製と定量, 「澱粉科学ハンドブック」, 第1版 (朝倉書店, 東京), pp.174-175 (1977).
- 8) 戸田義郎, 乳化剤の作用, 「食品用乳化剤—基礎と応用—」, 第1版 (光琳, 東京), pp.118-127 (1997).
- 9) Krog, N., Functions of emulsifiers in food system., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**, 124 (1977).
- 10) 山下政統, 足立秀哉, 中村武嗣, 徳力尚美, 多価アルコール不飽和脂肪酸エステルの澱粉複合体形成能, 日本食品科学工学会誌, **47**, 112-119 (2000).
- 11) 三好恵真子, 糸野恵子, 大久保晶子, 高橋雅江, 中浜信子, X線回折およびレオロジー測定による澱粉ゲルの老化過程の比較検討, 澱粉科学, **39**, 253-260 (1992).
- 12) 山田哲也, 玉置真司, 加藤俊次, 澱粉粒の酸処理で生成する分解物とその分子構造の検討, 名城大学農学部学術報告, **39**, 47-56, (2003).
- 13) Lu, S., Chen, C.Y. and Lii, C.Y., Gel-chromatography fractionation and thermal characterization of rice starch affected hydrothermal treatment. *Cereal Chem.*, **73**, 5-11 (1996).

(平成26年12月24日受付, 平成27年3月12日受理)