報 文

酵素修飾ゼラチンを用いて調製した高粘性
エマルジョンの品質評価

島田 淳子*・矢沢 悦子*・荒井 綜一**

Quality Evaluation of a Concentrated Emulsion Prepared
with Enzymatically Modified Gelatin

Atsuko SHIMADA*, Etsuko YAZAWA* and Soichi ARAI**

* Department of Food and Nutrition, Ochanomizu University, Bunkyo-ku, Tokyo 112

** Department of Agricultural Chemistry, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113

L-Leucine *n*-dodecyl ester was covalently attached to gelatin by modification with papain under a specific condition. The product linked 0.44% L-leucine *n*-dodecyl ester on weight basis and showed a high degree of surfactancy permitting emulsification of soybean oil. This surfactant was used as an ingredient for preparing a mayonnaise-simulated emulsion, with the result that the emulsion resembled commercial mayonnaise items with respect to oil-particle size distribution, texturometric parameters on hardness and adhesiveness, viscometric flow behavior, and sensory scores. The use of secondary ingredients including seasonings together with the enzymatically modified gelatin, had no adverse effect on the emulsion formation. Also, the emulsion prepared with this surfactant was characterized by a low degree of drainage formation during storage and found to be stable over a long period of time.

(Received Aug. 5, 1981)

アミノ酸エステル存在下の特殊条件でタンパク質をバイン処理することにより、そのアミノ酸エステルをベブチド結合状に付加させることができる。¹⁾ この方法を用いて親水性タンパク質に疎水性ロイシンドデシルエステルを共有付加させると、両親媒性構造をもつタンパク質状界面活性剤を調製することができる^{2)~5)}。筆者ら⁶⁾は、ゼラチンおよび魚肉タンパク質濃縮物に本法を適用することにより、疑塑性流動を示すものから、粘弾性のあるゲル状のものまで幅広い物性をもつエマルジョンを調製するに適したタンパク質状乳化剤を得た。今回は、ゼラチンにロイシンドデシルエステルを共有付加して得られた乳化剤-以後 EMG (enzymatically modified gelatin) と記す-を用いて高粘度エマルジョンを試作し、

そのマヨネーズ類似物としての品質評価を行なうことにより、EMG を全卵あるいは卵黄の代替物としてマヨネーズ状製品の調製に使用しうることが明らかになったので報告する。

試料および方法

1. タンパク質状界面活性剤の調製

既報²⁾³⁾に述べた方法に従って調製した。すなわち、ゼラチン (関東化学) 100 g に対し、10 mM L-システイン含有の 1 M 炭酸緩衝溶液 (pH 9) を 200 ml 加え、これに L-ロイシン *n*-ドデシルエステルを最終濃度が 0.1 mole/100 ml となるように添加した。パパイン (マイルス社, 1.16×10^{-2} 単位) 1 g を加え、37°C で 15 分間イン

* お茶の水女子大学家政学部食物学科 (〒112 東京都文京区大塚 2-1-1)

** 東京大学農学部農芸化学科 (〒113 東京都文京区弥生 1-1-1)

キュベートした後、反応液を十分に流水透析して低分子群を除去し、高分子画分を凍結乾燥して EMG の粉末を得た。このもののアミノ酸組成は Asp 5.8%, Thr 1.6%, Ser 2.9%, Glu 8.6%, Gly 22.9%, Ala 7.7%, Val 1.7%, Met 0.5%, Ile 1.1%, Leu 6.0%, Tyr 0.9%, Phe 1.9%, Lys 3.7%, His 0.6%, Arg 7.0%, Pro 13.4%, Hyp 13.4% で、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法³⁾によって推定した分子量分布は MW 10 000 以下 23.1%, MW 10 000-MW 20 000 47.7%, MW 20 000-MW 30 000 20.5%, MW 30 000-MW 40 000 6.3%, MW 40 000 以上 2.4%, ガスクロマトグラフィー⁴⁾によって求た *n*-ドデシル含量は 0.44% である。

なお、対照として全卵および卵黄、そして Tween-60 (ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート) を用いた。

2. マヨネーズおよび類似の高粘度エマルジョンの調製

市販マヨネーズの一般組成に準じ、大豆油（昭和産業株式会社）、3.5% 酢酸水溶液、塩化ナトリウムの重量混合比を 6:1:0.1 に設定した。乳化用カップに 3.5% 酢酸を 10 ml、塩化ナトリウムを 1 g 入れ、0.5~3.0% (W/W) の濃度となるように EMG を加え、40℃ に保温して溶解した後 20℃ になるまで放置した。これに 20℃ の大豆油 60 g を 20 ml/min の速度で滴下しつつ、ホモゲナイザーを用いて 6 000 rpm で 10 分間攪拌した。

同じ方法で全卵マヨネーズおよび卵黄マヨネーズを調製した。全卵および卵黄の水分含量を考慮して、水分と塩化ナトリウムの比率が 1:0.1 となるようにし、油と水分の比率は全卵を用いる場合 3:1 から 6:1 まで、卵黄を用いる場合 2:1 から 4:1 までとした。すなわち、全卵 5 g、3.5% 酢酸 5 g、塩化ナトリウム 0.875 g に大豆油を 26.3 g、35.0 g、43.8 g および 52.5 g 加えた。卵黄については卵黄 5 g、3.5% 酢酸 5 g、塩化ナトリウム 0.75 g に大豆油 15 g、22.5 g および 30 g をそれぞれ加えてマヨネーズとした。

なお、市販マヨネーズ 4 種（キューピー株式会社、味の素株式会社、Beatrice Food 社、BEST FOOD 社）も参考試料として用いた。

3. 油滴粒度分布およびエマルジョンの物性測定

マヨネーズ類および類似エマルジョンにおける粒度分布はコールターカウンター（株式会社日科機、モデル BZ）を用い、対数確率紙にプロットした油脂球の累積体積パーセントから、平均粒子径と幾何学標準偏差を算出した。エマルジョンの硬さおよび付着性はテクスチャー

メーター（株式会社全研、GTX-2 型）を用いて測定し、それぞれ kg 単位およびテクスチャーメーター単位 (T.U.) で表わした。またエマルジョンの流動特性をコーンプレート型粘度計（東京計器株式会社、EHD 型）で測定し、Herschel-Bulkley の流動方程式⁷⁾の降伏値 Py (dyn/cm²)、粘性定数 K (poise)、流動性指数を算出した。

4. 安定性の測定

マヨネーズ約 7 g をスビュツに入れ、5 000 rpm、3 分間遠心分離し、分離してきた油と水を注射器で採取して秤量し、もとの重量に対する重量パーセントで示した。

5. 官能検査

お茶の水女子大学調理学研究室員 30 名をパネルとし、試料 3~4 g を口に入れたさいの、かたさとなめらかさを評点法より評価した。

結 果

1. マヨネーズおよび類似の高粘度エマルジョンの特性

EMG および Tween-60 を用いて調製した高粘性エマルジョン、全卵および卵黄を用いて調製したマヨネーズ、そして 4 種類の市販マヨネーズについて測定した各種性状および官能特性を表 1 にまとめた。

油滴の平均直径は、EMG の使用量を 0.5% から 3% に増加させると 10.0 μm から 2.68 μm に低下した。市販マヨネーズのそれは 3.10~7.50 μm であり、全卵マヨネーズは 6.61~8.50 μm であることから、EMG の使用量を 1% 以上にすれば、市販マヨネーズまたは全卵マヨネーズに匹敵した平均油滴直径を、さらに 3% 使用すれば卵黄マヨネーズと同等の平均油滴直径をもつエマルジョンが得られることがわかった。また、Tween-60 で調製したエマルジョンは、同量の EMG で調製したエマルジョンと比較して平均油滴直径はかなり大きかった。油滴直径の幾何学的標準偏差は、平均油滴直径が大きいものほど大きな値となる傾向にあった。EMG を 3% 使用して調製したエマルジョンの幾何学的標準偏差は 1.28 で、卵黄マヨネーズのそれよりも小さく、油滴サイズの一様なエマルジョンであることが認められた。

テクスチャーメーターにより硬さを測定したところ、EMG 使用エマルジョンはその使用量が増すにしたがい、硬さは 0.87 kg 単位から 2.38 kg 単位へと増加したが、Tween-60 使用エマルジョンでは使用量は硬さに影響せず、1% 使用でも EMG 1% 使用エマルジョンより顕著にやわらかかった。全卵マヨネーズは、市販品の配合割合に準じ、油の割合のみ変えることにより調製し

表1 高粘度エマルジョン試料の性状および官能特性

試料	界面活性剤 使用量(%)	水分：油 (重量比)	油滴サイズ		テラス・ブローメーター によるパラメーター		Herschel-Bulkley 流動方程式の定数					官能特性 かたさ*	特 性 なめらかさ**	
			平均直径 (μm)	線向学的 標準偏差	硬さ (kg 単位)	付着性 (T.U.)	P (dyne/cm ²)	K (poise)	n	r				
(平均±標準偏差)														
タンパク質状界面活性剤で 調製したエマルジョン	0.5	1:0.1:6	10.0	1.62	0.87±0.01	1.77±0.02	145	140	0.41	0.998	3.30±0.58	3.85±0.96		
	1.0	1:0.1:6	6.82	1.63	1.06±0.02	2.26±0.02	200	649	0.33	0.985	3.50±0.60	3.55±0.86		
	2.0	1:0.1:6	4.42	1.97	1.90±0.01	3.90±0.04	450	1473	0.29	0.996	4.00±0.55	3.80±0.72		
	3.0	1:0.1:6	2.68	1.28	2.38±0.02	4.73±0.07	2000	3808	0.17	0.999	4.98±0.02	3.00±0.05		
Tween-60 で調製したエ マルジョン	0.5	1:0.1:6	15.0	1.93	0.26±0.00	0.50±0.01	50	76	0.43	0.999	—	—		
	1.0	1:0.1:6	10.5	1.74	0.25±0.00	0.44±0.01	50	100	0.43	0.999	—	—		
全卵マヨネーズ	—	1:0.1:3	8.20	1.60	0.42±0.01	0.85±0.02	90	394	0.29	0.999	1.64±0.64	3.50±0.84		
	—	1:0.1:4	6.61	1.61	0.51±0.00	1.03±0.02	180	301	0.31	0.999	1.86±0.71	3.43±0.85		
	—	1:0.1:5	8.50	1.63	0.53±0.00	1.07±0.02	160	724	0.28	0.999	2.14±0.64	3.48±0.96		
	—	1:0.1:6	7.90	1.59	0.75±0.00	1.68±0.02	300	869	0.22	0.993	3.00±0.50	3.81±0.50		
卵黄マヨネーズ	—	1:0.1:2	2.51	1.51	0.79±0.01	1.59±0.02	50	440	0.30	0.999	3.50±0.59	3.40±0.73		
	—	1:0.1:3	2.27	1.42	1.32±0.02	2.89±0.05	210	716	0.31	0.993	4.25±1.04	3.15±0.85		
	—	1:0.1:4	2.55	1.57	1.49±0.07	3.31±0.02	250	1061	0.29	0.993	4.59±0.58	3.00±0.80		
	—	—	3.10	1.52	0.84±0.02	1.75±0.02	190	706	0.40	0.970	3.00±0.58	3.75±0.58		
市販マヨネーズ	A	—	5.30	1.82	0.80±0.01	1.68±0.02	340	570	0.23	0.981	2.85±0.57	3.80±0.75		
	B	—	7.50	1.84	0.90±0.01	1.92±0.01	260	724	0.26	0.997	3.20±0.60	3.25±0.62		
	C	—	6.36	1.57	1.18±0.02	2.57±0.04	310	1238	0.25	0.999	4.20±0.68	3.15±0.73		
	D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

* 5=かたすぎる 4=かたない 3=適度にかたない 2=ややわらかい 1=ややわらかすぎる
 ** 5=なめらかすぎる 4=かなりなめらか 3=なめらか 2=なめらかになりにかたない 1=なめらかさが全くない

表 2 高粘性エマルジョンの物性におよぼす主材料濃度および副材料の影響

因 子	使用量 ^a (%)	硬 さ		付 着 性	
		平均値 (kg 単位)		平均値 (T.U.)	
A 酢酸濃度	1.75 ^b 3.50	0.990 1.061	} P < 0.01	2.106 2.255	} P < 0.01
B 塩	0.7 ^a 1.4	1.033 1.019		2.179 2.182	} P > 0.05
C カラシ粉 ^c	0 1.0 ^a	0.849 1.203	} P < 0.01	1.829 2.533	} P < 0.01
D コシ ョウ ^d	0 0.1 ^a	0.960 1.091	} P < 0.01	2.048 2.314	} P < 0.01
E 砂 糖	0 1.0 ^a	1.029 1.023	} P > 0.05	2.199 2.163	} P > 0.05
F グルタミン酸ソーダ	0 0.1 ^a	1.034 1.018	} P > 0.05	2.205 2.156	} P > 0.05
B×D			P < 0.05		P < 0.05
A×E			P < 0.01		P > 0.05

a. 高粘性エマルジョン全量に対する百分率

b. 使用酢酸濃度

c. エスピー食品株式会社

d. ハウス食品工業株式会社

である。その結果、本実験では全卵マヨネーズは 0.42～0.75 kg 単位、卵黄マヨネーズは 0.79～1.49 kg 単位の硬さのものが得られ、EMG 使用エマルジョンは全卵マヨネーズより硬く、卵黄マヨネーズと同等もしくはそれ以上の硬さであった。また、EMG 0.5～1% 使用で市販マヨネーズと同等の硬さが得られた。このことは官能検査によっても裏づけられた。食品材料をあえるときの“まといつき”に対応するパラメーターである付着性についても硬さについて得られたと同様の傾向がみられた。

次に、流動特性のうち保形性に関するパラメーターである降伏値 P は、EMG 0.5% 使用で 145 dyn/cm²、3% 使用で 2000 dyn/cm² と著しく増大し、粘性定数 K も 140 poise から 3808 poise と同様に増大した。また、絞り出しやすさと相関するパラメーターである流動性指数 n は 0.41～0.17 と顕著に減少した。全卵マヨネーズ、卵黄マヨネーズおよび市販マヨネーズの流動特性値とほぼ同等のそれは、EMG を 0.5～2% 使用することによって得られた。それに対し、Tween-60 使用エマルジョンは使用量を増加させても EMG 使用エマルジョンに匹敵するものは得られなかった。

評点法により評価したなめらかさの官能検査の結果は、“なめらか” から “かなりなめらか” の間であった。

以上より、EMG を 0.5～1% の範囲で使用することにより、物性的にも官能的にもマヨネーズ類と同等の性状をもつエマルジョンを作ることができ、さらに油滴のサイズにおいては、使用量 1% 以上、好ましくは使用量 3% で卵黄マヨネーズに匹敵する優れた高粘性エマルジ

ョンが調製され得ることがわかった。

2. 主材料濃度および副材料の影響

マヨネーズに普通用いられる副材料により乳化が阻害されるか否か、また酢酸や食塩濃度により影響を受けるか否かを、L₁₆ の直交表を用いて検討した。試料は、EMG を 0.5% 使用した高粘性エマルジョンとした。予備実験より、マヨネーズの物性に影響する可能性のある主効果 6 因子と交互作用 2 種を検定し得よう計画した。各因子について、テクスチュロメトリーによって硬さ (kg 単位) と付着性 (T.U.) を測定し、水準ごとの平均値を求め、分散分析を行なった。その結果を表 2 に記す。カラシ粉の添加はエマルジョンの硬さと付着性の両者を 1.4 倍程度にまで増加させた。またコシヨウの添加は、硬さ、付着性を 1.1 倍程度増加させた。他の副材料は影響を与えなかった。酢酸濃度は、3.5% の方が 1.75% のものより、硬さ、付着性ともに大であった。

以上より、EMG を実際のマヨネーズ製造に用いるさい、副材料や材料濃度により物性値に多少の変動はみられるものの、高粘性エマルジョンの形成を大きく阻害することのないことが確認された。

3. EMG から調製した高粘性エマルジョンの安定性

各種マヨネーズ試料および類似の高粘性エマルジョンを試料ビン (ポリエチレン製、30 ml 容器) に約 20 g 充填して密閉し、市販マヨネーズのシェルフライフを考慮して 20℃ に 5 ヶ月間保存し、保存前後の安定性を比較した。結果を表 3 に記す。EMG 0.5% 使用のエマルジョンは、貯蔵前から分離水を生じ、5 ヶ月保存後では一層不安定となった。Tween-60 を 0.5% 使用したエマルジ

表3 乳化剤の種類と高粘性エマルジョンの貯蔵安定性^a

乳化剤	使用量 ^b (%)	貯蔵前		貯蔵後	
		分離油 ^b (%)	分離水 ^b (%)	分離油 ^b (%)	分離水 ^b (%)
EMG	0.5	0	4.0	8.3	7.0
	1.0	0	0	0	0
Tween-60	0.5	0	5.2	7.1	6.5
全卵	— ^c	0	0.4	0.4	0.4
卵黄	— ^d	0	0	0	5

a. 20°C, 5ヶ月

b. 高粘性エマルジョンの全量に対する百分率

c. 水分:塩:油=1:0.1:6

d. 水分:塩:油=1:0.1:2

ンも同様であり、全卵マヨネーズもやや不安定であった。しかし EMG 1% 使用エマルジョンは5ヶ月保存後も、卵黄マヨネーズと同様水分は全く分離しなかった。

考 察

マヨネーズは O/W 型のエマルジョンである。一般に、O/W 型エマルジョンにおいては、W/O 型エマルジョンにおけるよりも HLB の高い乳化剤が必要とされる。しかし、市販の脂質系乳化剤は蔗糖脂肪酸エステルの一部を除き HLB が低い。また、蔗糖脂肪酸エステルは酸に溶けにくく、このことからマヨネーズ様エマルジョンには卵黄に代わる乳化剤のないのが実情である。

本実験で明らかのように、EMG が良好な O/W 型エマルジョンを形成したのは、マヨネーズ様食品への応用可能性が高いことを示している。マヨネーズにとって必要な性質は、まず油を細かく分散し、安定なエマルジョンを作ることである。また口に入れたときにはある程度のかたさがあり、食品と混合するとき、すなわちざり速度をかけたときには流動して食品材料に十分ゆきわたり、混合後は食品にまといついて流動しないことが必要である。またそのエマルジョンが安定で長期の保存に耐えることを必要とする。

EMG は、0.5% 用いるだけで物性的には市販マヨネーズ、全卵マヨネーズ、卵黄マヨネーズに匹敵する値を

示した(表1)。しかし、0.5% 添加試料は分散粒子の粒径がやや大きく(表1)、安定性も悪い(表3)。これらを考慮すると、EMG を1%使用することにより、物性的にも官能的にもマヨネーズと同等でしかも安定な高粘性エマルジョンを作ることができると言えよう。なお、同じ程度に油脂が分散したエマルジョンの物性を比較すると、EMG からのエマルジョンは他の乳化剤からのそれにくらべて、いずれも硬さ、付着性、降伏値および粘性定数が大きい傾向にあった。特に Tween-60 のようにマヨネーズ様物性を全く示さないものとの対比が顕著であった。一般に O/W 型エマルジョンは油相の割合が増加すれば硬くなる。しかし、現在の食品工業では、一般に低カロリー食指向の傾向にあり、マヨネーズ様ドレッシングも油を減らし、その分を糊料で補う傾向にある。上記の実験結果は、EMG が乳化剤として細かく分散させるばかりでなく、糊料の役割をも兼備し、マヨネーズ様食品に対して極めて実用可能性の高い素材であることを示唆している。

終わりに、本実験を行なうにあたり御協力頂きましたお茶の水女子大学家政学部、桑島みどり氏に感謝いたします。

文 献

- 1) YAMASHITA, M., ARAI, S., IMAIZUMI, Y., AMANO, Y. and FUJIMAKI, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 52 (1979).
- 2) ARAI, S. and WATANABE, M.: *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1979 (1980).
- 3) WATANABE, M., TOYOKAWA, H., SHIMADA, A. and ARAI, S.: *J. Food Sci.*, **46**, 1467 (1981).
- 4) WATANABE, M., SHIMADA, A., YAZAWA, E., KATO, T. and ARAI, S.: *J. Food Sci.*, 印刷中。
- 5) WATANABE, M., SHIMADA, A., ARAI, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1621 (1981).
- 6) SHIMADA, A., YAZAWA, E., ARAI, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 173 (1982).
- 7) RAO, M.A.: *J. Texture Studies*, **8**, 135 (1977).

(昭和56年8月5日受理)