血漿蛋白質の乳化特性

斎藤昌義*・石橋恵美子*・平 春枝*

Emulsifying Properties of Plasma Protein

Masayoshi SAITO*, Emiko ISHIBASHI* and Harue TAIRA*

* National Food Research Institute, Ministry of Agriculture,
Forestry and Fisheries, 2-1-2, Kannondai,
Tsukuba, Ibaraki 305

Emulsifying properties of plasma protein obtained from slaughtered pigs were compared with those of other animal proteins on the market (bovine plasma, egg white, egg yolk, whole egg, casein and whey). Plasma protein showed the highest emulsifying activity among the seven samples at pH 3 in the presence of NaCl and pH 7 in water. Emulsifying capacity of the plasma protein was the highest except the egg white. Emulsifying stability of the plasma protein after heating was the highest, however it was the lowest after freezing. This study proved that the plasma protein has a great advantage to be utilized in food processing as an emulsifier. Since surface hydrophobicity and surface pressure of the plasma protein was lower than those of the egg yolk or the whole egg which have as high emulsifying properties as the plasma protein, it is suggested that surface hydrophobicity and surface pressure are not the important factors on emulsifying properties of the plasma protein.

(Received Apr. 10, 1990)

屠殺した牛や豚から得られる血液は、貴重な蛋白質資源でありながら、我国ではその大部分が廃棄されている。しかし最近では、血漿粉末の持つ機能特性が注目され、食品素材としての利用についても検討され始めている^{1)~3)}。

血漿蛋白質を食品として利用するためには、蛋白質の持つ機能特性のうち、保水性、ゲル化特性や乳化特性などを解明し、これらの特性を活用することが必要である。我々は、これらの特性のうち乳化特性について、加熱処理による変化を明らかにしたり⁴⁾、血漿中の主な蛋白質を分離して各々の蛋白質の特性について検討を加えたりしてきた⁵⁾。

本研究では、実用的な観点から血漿蛋白質の乳化特性を解明することを目的とした。血漿蛋白質の乳化特性(乳化活性、乳化容量、乳化安定性)を、広く食品素材として用いられている動物性蛋白質(卵蛋白質、乳蛋白質)と比較した。さらに、蛋白質の疎水性、表面圧など

の要因から乳化特性発現について検討した。これらのことから、血漿蛋白質を乳化性食品へ利用するには、どのような形態が適しているかを示した。

実験方法

1. 試料

(1) 豚血漿蛋白質の調製

豚血漿は、農林水産省畜産試験場より入手した。屠殺時に採取した血液に、凝血防止剤としてクエン酸ナトリウム水溶液(5% w/v)を1/10容量加え、直ちに氷浴中で4℃に冷却した。これを4℃、1600×gで15分間遠心分離し、上澄みをさらに6400×gで15分間遠心分離した。上澄みを透析し、凍結乾燥したものを豚血漿蛋白質とした。

(2) その他の蛋白質

卵白粉、卵黄粉、全卵粉、ホエー粉(サンラクト N4)(以上太陽化学)、牛血漿粉(American Protein 社)、

* 農林水産省食品総合研究所(〒305 茨城県つくば市観音台 2-1-2)

カゼイン粉 (Sigma 社) を用いた。

2. 乳化活性

PEARCE と KINSELLA⁶⁾ の濁度法によって乳化活性を測定した。各試料を 1% (w/v) となるように、蒸留水または 0.2 M NaCl に溶解させ、1 N HCl または、1 N NaOH で pH を 3 または 7 に調節した。この溶液 2 ml と大豆油 0.5 g を試験管 ($\phi 1.2 \times 10.6$ cm) に入れ、Polytron PTA 7 を用いて、30°C、3 分間最高速度でホモジナイズして乳化した。乳化直後のエマルションの 500 nm における吸光値から乳化活性指標 (EAI) を算出した。

3. 乳化容量

各試料を、0.1% (w/v) となるように 5 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解させ、この溶液 5 ml に大豆油を 0.5 g きざみで 5 g から 30 g 加え、Polytron PTA 10 S を用いて、30°C、3 分間最高速度でホモジナイズして乳化した。このエマルションの電気的抵抗を測定することにより、エマルションの型 (油/水または、水/油) を判定した。エマルションが油/水型から水/油型へ転相したとき的大豆油の量から、試料 1 mg 当り乳化した大豆油の量 (g) を算出し、これを乳化容量とした。

4. 加熱及び凍結に対する乳化安定性

各試料を、1% (w/v) となるように 5 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解させ、これを乳化活性の測定と同じ条件で乳化した。このエマルションを、60°C で 10 分間加熱した。乳化直後の EAI と加熱後の EAI の比率 (%) を加熱に対する乳化安定性とした。

また、乳化直後のエマルションをドライアイス-エタノール中で急速に凍結し、これを -20°C で 20 時間保存した。その後、凍結したエマルションを 37°C の湯浴に 2 分間つけて解凍した。乳化直後の EAI と解凍後の EAI の比率 (%) を凍結に対する乳化安定性とした。

5. 蛋白質の表面疎水性

KATO と NAKAI⁷⁾ の方法に従って、シス-パリナリン酸を蛍光プローブとして用いて測定した。

6. 蛋白質溶液の表面圧

ウィルヘルミー型表面張力計 (協和界面科学, CBVA A-3 型) を用いて測定した。プレートは、ガラス製 (24 mm $\times$ 24 mm) を使用した。試料を 5 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に 0.001% (w/v) となるよう溶解させた。この溶液を、よく攪拌し、静止後の表面張力の減少を測定した。表面圧 (π) として、純水の表面張力 (72 mN/m) と表面張力の測定値 (mN/m) の差を算出した。

結果および考察

1. 乳化活性

Fig. 1 に、各試料の pH 3, 7 における乳化活性指標 (EAI) を示した。pH 3, 0.2 M NaCl 溶液及び pH 7, 水溶液の乳化条件では、7 種の試料のうちで豚血漿蛋白質、牛血漿粉が最も高い EAI を示した。またこれらは、いずれの条件においても、ホエー粉、カゼイン粉の乳蛋白質よりも高い乳化活性を示した。このように、血漿蛋白質は、乳化条件によっては乳化剤として広く用いられている卵黄粉などよりもよい乳化活性を示すことが明らかになった。

一方、pH 7, 0.2 M NaCl 溶液の乳化条件では、豚血漿蛋白質、牛血漿粉の EAI は卵黄粉、全卵粉などより低い値を示した。このように、卵蛋白質は、全ての乳化条件で良い乳化活性を示すのに対し、血漿蛋白質は、

Fig. 1 Emulsifying activity of various animal proteins

Pp: plasma pig, Pb: plasma bovine, Ew: egg white, Ey: egg yolk, We: whole egg, Cn: casein, Wh: whey

□ at pH 3 in water

▨ at pH 7 in water

■ at pH 3 in 0.2 M NaCl

▩ at pH 7 in 0.2 M NaCl

pH, NaCl の条件によって, EAI が大きく変化することも示された。

以上のことから, 血漿蛋白質は, 乳化性食品への利用が期待されるが, 現在食品素材として用いられている蛋白質よりも優れた乳化活性を発現させるためには, 乳化条件 (pH, イオン強度) の設定が重要になることが明らかになった。

本実験では, 血漿蛋白質として, 豚または牛起源の2種類を用いた。豚血漿は, 実験室規模で調製し凍結乾燥したもので, 牛血漿は, 噴霧乾燥した市販品である。乳化活性の pH, イオン強度による変化には, pH 3, 蒸留水の乳化条件で牛血漿が豚血漿より高い EAI を示すなど, 両者の間に異なる点がみられた。この差異の原因は, 調製条件 (溶血, 乾燥方法など) によることが考えられるが, 牛, 豚の血漿の間に本質的な乳化特性の違いがあるのかについては, 今後さらに検討しなければならない。

EAI は, エマルジョンの脂肪球の表面積を反映していると考えられている⁶⁾。分散系の光散乱は, 他の要因も関与する複雑な現象であり, EAI から単純に脂肪球粒子の大きさを判定することはできない。しかし, EAI は, 蛋白質の乳化特性を比較する際の一つの目安となる。さらに, 実用的には, 乳化容量, 乳化安定特性等も重要な要因であるため, これらの点も以下で検討した。

2. 乳化容量

Fig. 2 に, 各試料の乳化容量を示した。乳化容量は, 卵白粉が極めて大きく, 卵黄粉が最も小さかった。豚血漿蛋白質は, 卵白粉に次いで大きな値を示し, 牛血漿粉も, ホエー粉, 卵黄粉, 全卵粉より大きな値を示した。

乳化容量には, 乳化剤の濃度, 乳化系の温度のほか, 乳化機の構造など非常に多くの要因が関与している。そのため, 多くの種類の蛋白質を用い, 同一条件で乳化容量の比較を行った例は少ない。乳化容量には, 乳化剤の疎水基, 親水基のバランス (HLB) が大きく影響すると考えられている。特に今回のような低濃度では, この要因が重要であると考えられ, 乳化容量が大きな蛋白質は, このバランスがよいものと考えられる。

今回の結果から, 血漿蛋白質は低濃度でも多くの油を分散相として油/水型エマルジョンを形成することができることが明らかとなった。このように, 血漿蛋白質は乳化容量の面からもよい乳化剤となりうることが示された。

3. 乳化安定性

Table 1 に, 各試料の乳化安定性を示した。エマル

Fig. 2 Emulsifying capacity of various animal proteins

Pp, Pb, Ew, Ey, We, Cn and Wh: same as in Fig. 1

Table 1 Emulsifying stability of various animal proteins

	EAI* (m ² /g)	Stability(%)	
		heating**	freezing***
Plasma, pig	58.2	92.7	71.0
Plasma, bovine	62.5	95.8	68.7
Egg white	36.4	59.6	82.1
Egg yolk	41.0	91.7	77.0
Whole egg	37.6	91.9	82.0
Casein	14.9	92.3	91.9
Whey	21.4	90.2	95.0

* immediately after emulsification 1% solution in 5mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)

** 60°C, 10 min

*** -20°C, 20 h.

ジョンの加熱に対する安定性は, 牛血漿粉, 豚血漿蛋白質を乳化剤とした場合, 他の蛋白質より高い値を示した。安定性は, カゼイン粉, 全卵粉, 卵黄粉, ホエー粉の順で高く, 卵白粉が最も低かった。

凍結に対する安定性は, ホエー粉, カゼイン粉の乳蛋白質が優れており, 次に卵白粉, 全卵粉, 卵黄粉の卵蛋

白質がそれに次いだ安定性を示した。血漿蛋白質を乳化剤とした場合は、豚、牛ともに安定性は低い値を示した。

以上の結果から、血漿蛋白質を乳化剤とした食品を検討する場合、加熱安定性を活用した形態が有力で、エマルジョンを凍結させる形態に対しては、不向きであると考えられた。

乳化性食品には、ソーセージ、マヨネーズ、ミルクなど、様々な形態がある。そのため、単なる蛋白質の乳化性性が、実際の食品として利用するときの特性と必ずしも一致するとは限らない⁸⁾。しかし、今回の結果から、血漿蛋白質を食品素材として利用する際に、どのような形態が有利であるかについては示すことができた。

4. 乳化特性に関与する蛋白質の構造的要因

Fig. 3 に、各試料の表面疎水性を示した。表面疎水性は、卵黄粉、全卵粉が高い値を示し、ホエー粉、豚血漿蛋白質、牛血漿粉がそれに次いでいる。卵白粉、カゼイン粉は、極めて低い値を示した。

蛋白質が乳化活性を発現するには、蛋白質の表面疎水性が重要であり、シス-パリナリン酸を蛍光プローブとして測定した表面疎水性と乳化活性の間には、よい相関があることが報告されている⁷⁾。乳化活性の高い卵黄粉、全卵粉は高い表面疎水性を示したが、同様に乳化活性の高い血漿蛋白質は、卵蛋白質と比較して表面疎水性は著しく低い値を示した。

Fig. 4 に、各試料の 1 分後と 30 分後の表面圧を示し

Fig. 3 Surface hydrophobicity of various animal proteins

Pp, Pb, Ew, Ey, We, Cn and Wh : same as in Fig. 1

S₀ : surface hydrophobicity, relative values

Fig. 4 Surface pressure of various animal proteins

Pp, Pb, Ew, Ey, We, Cn and Wh : same as in Fig. 1

□ 1 min

■ 10 min

た。表面圧は、卵黄粉、全卵粉が 1 分後、30 分後とも高かった。豚血漿蛋白質は、1 分後ではホエー粉に次いだ値で、30 分後はさらにカゼイン粉よりも小さい値となった。牛血漿粉は、1 分後、30 分後ともこれらの試料中最も低い値を示した。

乳化の際、乳化剤が油-水界面に吸着して、界面張力を低下させることにより、安定なエマルジョンを形成することができる。本実験で測定しているのは、空気-水界面の界面圧（表面圧）であるが、表面圧が大きい蛋白質ほど、エマルジョンを安定化させると考えられる。また、表面圧の増加が速やかなほど、蛋白質の柔軟性が大きく、エマルジョンの脂肪球表面で蛋白質が変性して、乳化特性を発現しやすいと考えられる⁹⁾。

蛋白質が界面に吸着したときの表面電位は、エマルジョンの脂肪球の合一速度などに重要な因子であるが、表面圧の変化にも影響を及ぼす。そのため、蛋白質の等電点と水相の pH の関係は考慮されなければならない。今回の試料は、いずれも蛋白質の混合物であるが、各試料中の主要な蛋白質の等電点は、血漿中の血清アルブミン : 5.1, 卵白中のオボアルブミン : 4.5, カゼイン : 4.6, ホエー中の β -ラクトグロブリン : 5.4 である¹⁰⁾。これらの蛋白質は、pH 7 においてはいずれもマイナスに帯電しており、これらの蛋白質を主な構成成分とする

各試料の帯電状態に大きな差はないと考えられる。しかしこの点については、乳化安定性の解明などに関連して、より詳細な検討が今後必要である。

卵黄粉は、高い表面疎水性、表面圧からすぐれた乳化特性を持つことが説明される。しかし、血漿のすぐれた乳化特性と、今回測定した表面疎水性、表面圧の間には、一般に考えられている傾向は見られなかった。血漿蛋白質の乳化特性に関しては、蛋白質に結合している物質が乳化特性を高めていることも考えられる³⁾。今後、血漿蛋白質が、どのような構造的要因を反映してすぐれた乳化特性を発現しているのかを検討していく必要がある。

要 約

屠殺時に採血し調製した豚血漿蛋白質を乳化性食品へ利用することを目的として、これを市販されている他の動物性蛋白質（牛血漿粉、卵白粉、卵黄粉、全卵粉、カゼイン、ホエー粉）と乳化特性を比較した。

(1) 血漿蛋白質は、pH 3, 0.2 M NaCl 溶液及び pH 7, 水溶液の乳化条件の乳化活性は各試料中最高であった。しかし、卵黄粉よりもよい乳化活性を発現させるためには、pH やイオン強度の条件を適切にする必要があった。

(2) 血漿蛋白質の乳化容量は、卵白粉に次いで大きかった。血漿蛋白質を乳化剤とした場合、加熱に対するエマルジョンの安定性は高いが、凍結に対しては安定性は低かった。

(3) 血漿蛋白質は、乳化条件と、利用する食品の形態

によって、実用上の利点が多いことが示された。

(4) 血漿蛋白質の表面疎水性、表面圧は、同様に乳化特性の優れている卵黄粉よりも著しく低く、これらの要因は、血漿蛋白質の高い乳化特性には、重要ではないと考えられた。

豚血液の採取に当たりお世話になった農林水産省畜産試験場中井博康室長に感謝します。

文 献

- 1) 佐藤 泰：肉の科学，28 (1)，17 (1987)。
- 2) 戸田義郎：New Food Industry，29 (9)，15 (1987)。
- 3) 斎藤昌義・清水 誠・山内邦男：日食工誌，34，223 (1987)。
- 4) SAITO, M. and TAIRA, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2787 (1987)。
- 5) SAITO, M., ICHIKAWA, N. and TAIRA, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 52, 2831 (1988)。
- 6) PEARCE, K.N. and KINSELLA, J.E.: *J. Agric. Food Chem.*, 26, 716 (1978)。
- 7) KATO, A. and NAKAI, S.: *Biochim. Biophys. Acta*, 624, 13 (1980)。
- 8) 山内文男：食品タンパク質の科学（食品資材研究会，東京）p. 16 (1983)。
- 9) DICKINSON, E. and STAINSBY, G.: *Colloids in Food* (Applied Sci. Pub., London and New York) p. 285 (1982)。

(平成2年4月10日受理)