

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：34316

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650483

研究課題名(和文) グアー起泡性アルブミンを利用した新規アレルギー・フリー食品の開発

研究課題名(英文) Development of allergy-free food using guar foaming albumin

研究代表者

土居 幸雄(Doi, Yukio)

龍谷大学・経済学部・教授

研究者番号：40172233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：グアーミールから高い起泡性と泡沫安定性を併せ持つタンパク質タンパク質GFA(guar foaming albumin)を抽出し、その食素材としての利用を検討した。GFAの起泡特性に加えて、乳化性の検討を行った。さらに、精製したGFAの表面張力特性を調べ、起泡形成時の表面変性における特徴を明らかにした。この結果、高い泡沫安定性を持つGFAは、アレルギー・フリーの植物性タンパク質として、主要な食物アレルギーである卵白に替わり得る食材であることを示した。

研究成果の概要(英文)：GFA(guar foaming albumin) which had both high foaming ability and foam stability was extracted from guar meal and examined for the use as a food ingredient. In addition to foamability, the emulsifiability of GFA was examined. Furthermore, surface tension properties of refined GFA were examined and a characteristic in the surface denaturation of GFA was clarified. As a result, GFA with high foamability was shown to be allergy-free vegetable protein suitable for a food ingredient that could take place of the egg white being a main food allergen.

研究分野：総合領域

キーワード：食素材 卵白アレルギー タンパク質機能 グアー豆 起泡性

1. 研究開始当初の背景

(1) タンパク質の種々の機能特性は、食品の物性・テクスチャーに大きく影響する。例えば、起泡性を持つタンパク質はカゼインを始めとして多数知られているが、泡沫安定性となると、卵白に勝るものは知られておらず、ボリューム感を持たせる洋菓子などで、卵白は必須の原材料となっている。

(2) グアー豆の胚乳部から工業的にガラクトマンナンが精製され、グアーガムとして広く食品に用いられている。グアーガムは、便通改善作用、糖質代謝改善作用(糖尿病の予防、改善)および脂質代謝改善作用などの機能が明らかになっており、近年は健康指向が強いため、グアーガムの利用は増加している。このグアーガムを、グアー豆から工業的に精製する際、約 30%に相当する種皮部分が廃棄されている。この廃棄されている種皮部分(グアーミール)には約 45%のタンパク質が含まれていることが報告されている。最近我々は、このグアーミールの水抽出画分に、高い起泡性と泡沫安定性を示すタンパク質の存在を明らかにし、GFA (guar foaming albumin) と命名した。GFA の主成分は SS 結合を持つ比較的分子量の低いタンパク質で、卵白の 10 倍の起泡性を示すことが知られている。GFA の高い泡沫安定性を考慮すれば、界面において両親媒性を示すことは明らかであり、高い乳化特性を持つ可能性が期待できる。さらに、GFA は卵白・小麦アレルギー患者の抗血清に対しても交差を示さず、食品としての安全性も示唆された。

2. 研究の目的

卵白は、泡沫安定性を持つ優良な食品タンパク質であるが、同時に最も頻繁に見られる食物アレルギーの原因食品である。本研究では、泡沫安定性を持つ優良な卵白代替タンパク質の見あたらないことから、GFA の機能特性に注目し、その食素材としての利用を考えることとした。精製した GFA の表面張力特性を調べ、起泡形成時の表面変性における特徴を明らかにした。

3. 研究の方法

(1) 試料の調製

グアーミールの水抽出画分から等電点沈澱により沈殿画分を単離し、リン酸緩衝液(pH 6.8~7.0)を用いて、低温室で一晩透析を行った。遠心分離後に得られた上清液を GFA (粗画分)として使用した。また比較対象として、水溶性卵白溶液は、卵白部分をガーゼで濾し、濃厚卵白を除き、GFA と同様に緩衝液に透析して調製した。

GFA (粗画分)から GFA の精製は、低圧陰イオン交換クロマトグラフィーにより行い、得られた GFA (イオン交換画分)は、表面張力の測定に用いた。

(2) 乳化特性の測定

エマルションは以下のように調製した。1~15 mg/ml の GFA 溶液を用い、容量比を変化させて落花生油と混合し、ポリトロンで 8,000rpm x 30sec x 2 回攪拌した。乳化活性は、エマルションを遠心分離(1000rpm x 2min x 1 回)にかけ、乳化部分を 0.1%トリトン X-100 で希釈して、濁度を測定することで求めた。乳化活性は、乳化活性係数 (EAR; Emulsifying Activity Rate) により評価し、その算定式は以下の通りである: $EAR(\text{単位: } \text{m}^2, \text{g}^{-1}) = 2T / C$; T=吸光度、C=単位容積当りのタンパク質重量、=油容量比。エマルションの安定性は、顕微鏡観察により平均脂肪球サイズの時間経過による変化を測定して求めた。BSA(牛血清アルブミン)を対象として用いた。

(3) 表面張力の測定

表面張力の測定では、試料を 5 mM リン酸緩衝液 (pH 6.8) で一晩透析した物を用いた。ウィルヘルミー法により測定した。対象試料としてオボアルブミン (OVA) を使用した。

(4) エンゼルケーキの調製

GFA、卵白、および GFA:卵白 (1:1) 混合試料についてタンパク質濃度 15~60mg/ml のエンゼルケーキを調製し、焼成前バターおよび焼成後ケーキの比容積、体積増加率、テクスチャー、外観を比較した。

4. 研究成果

(1) GFA の乳化特性

乳化剤であるタンパク質濃度を一定に保ち、落花生油との容量比を変化して、乳化活性の変化を観察した (Fig 1)。GFA、BSA とともに、0.2 までですみやかに乳化容量が上り、GFA は容量比 0.6、BSA は容量比 0.8 で油を乳化限界をむかえた。

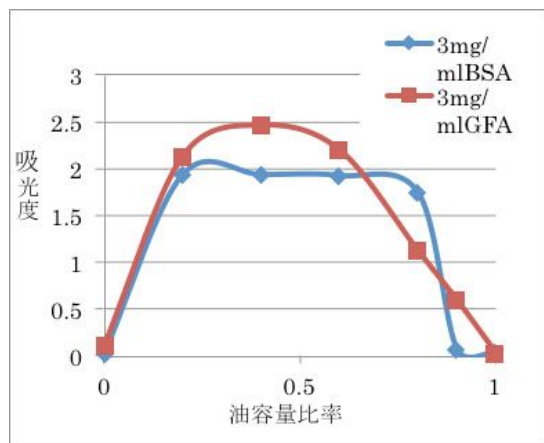


図1 乳化活性の油容比率依存性

次に、乳化剤濃度を変化させ、乳化活性の変化を観察した (Fig. 2)。GFA および BSA 共に、乳化剤濃度の上昇に従い EAR は大きくなり、2 mg/ml まで上昇は類似していたが、それ以降は BSA の EAR 上昇は GFA のそれを上回った。

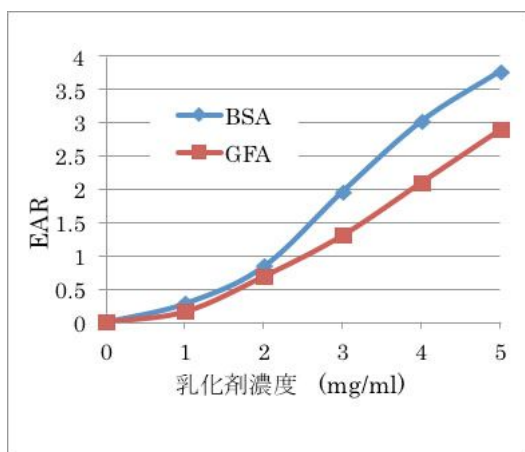


図2 乳化活性の乳化剤濃度依存性

次に、エマルションの安定性を脂肪球平均サイズを観察することで調べたところ、GFA、BSAともに、1～3 mg/ml までの低濃度の乳化剤存在下では、エマルション調整後2～3日からエマルションサイズが大きくなり、エマルション平均面積は50～300 μm^2 程度まで上昇した。乳化剤濃度4～15 mg/ml においては、安定性は大きく改善され、室温でのエマルションサイズは5日後でも大きな変化は見られなかったが、その後は徐々に上昇し、10日後には面積が50%程度上昇した。

以上の結果から乳化容量を評価すると、GFAはBSAに比べて低かった。また乳化活性値は、1～15 mg/ml どの濃度においてもBSAの方が高い値を示したので、GFAの乳化活性はBSAに比べるとやや低いことが判明した。また、乳化安定性については、ある程度以上の濃度であれば、GFAは比較的良好な乳化剤であると思われる。食品への応用を考えると、食塩・砂糖の添加、pHの変化による影響などを詳細に調べる必要がある。

(2) 表面張力の測定

表面張力のタンパク質濃度依存性を調べたところ、食塩、ショ糖、メルカプトエタノール (ME) の有無にかかわらず、いずれの場合もGFA濃度の上昇にともない表面張力は急激に減少した後、0.05～0.1 mg/mL 付近から漸減し45～50 mN/mまで低下した。食塩存在下 (0.1 M) では、表面張力の低下は非存在下より大きく、高タンパク質濃度 (1 mg/mL) では45 mN/mまで低下した (図3)。比較として用いたOVAの場合は、食塩添加の影響はそれほど大きくなかった。ショ糖添加による表面張力の変化への影響も食塩の場合と同様にみられたが、OVAの場合と同程度であった。これに対して、ME添加の影響はOVAで大きく、GFAで小さかった (図4)。

表面張力のpH依存性を調べたところ、GFA溶液の表面張力はpH4付近で最小となり、等電点に近いOVAと同様な変化を示した。結論として、起泡現象における最初の過程である表面張力の減少に関しては、GFAとOVAと

でその機能発現において大きな相違は見られなかった。GFAとOVAの表面吸着におけるこれらの知見は、これまでの起泡性・泡沫安定性に関する実験結果と矛盾するものではなかった。

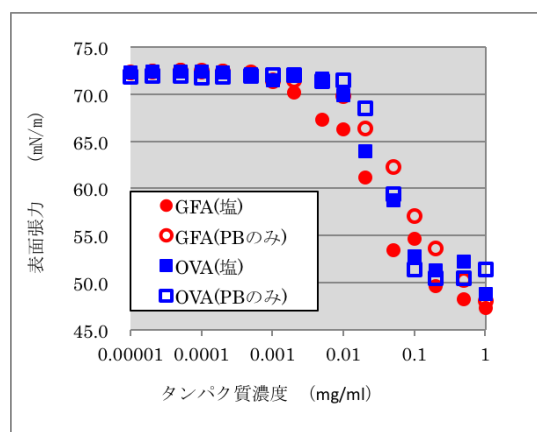


図3 表面張力のタンパク質濃度依存性

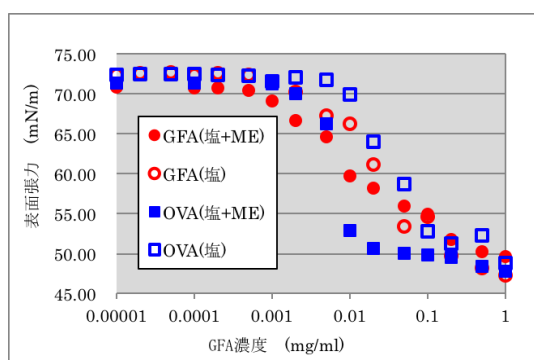


図4 表面張力に及ぼすME添加の影響

(3) エンゼルケーキへの応用

バター焼成前および焼成後の比容積はGFAと卵白で大きな差は見られず、混合試料では2つの試料に比べ大きくなった。低濃度のタンパク質を使用したときは、GFAおよび混合試料で卵白を上回る体積増加率が見られたが、濃度が高くなると、GFAでは高さや側面の体積減少と側面の崩れが目立ち、混合試料では体積の全体的な減少が著しかった。これらの結果から、起泡力とケーキの安定性は必ずしも一致しないことがわかった原因要素としてGFAの泡立ちに影響を及ぼす砂糖が考えられ、高濃度の砂糖添加によりGFAおよび混合試料の泡立ち性が減少したことが大きな原因だと考えられる。今後はGFAの泡立ち性を生かす調製方法の検討が必要である。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計1件)

徐知華、土居幸雄、グアー起泡性アルブミン溶液の表面張力、日本農芸化学2014年大会、要旨集2B3p14。2014年3月27日～29日、明治大学生田キャンパス(神奈川県)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

土居 幸雄 (DOI, Yukio)

龍谷大学・経済学部・教授

研究者番号：4 0 1 7 2 2 3 3