

# テウチグルミから分離した蛋白質の乳 化特性について(第1報)

一分離蛋白質の溶解性と分離蛋白質の乳化容量  
(Emulsifying Capacity)におよぼす2, 3の基本因子—

古内幸雄

長野県小県郡東部町を中心とした東信地方はクルミの栽培に適した冷涼夏乾地帯として古くからクルミの生産地として知られている。栽培種であるテウチグルミ (*Juglans regia* L.) は、著者の分析では油脂が66.7%と最も多く、その脂肪酸組成はリノール酸が65.6%を占めサフラワー油に似た良質の油脂であった。又、蛋白質も13.2%と多く栄養学的にもその優秀性が認められている<sup>1)2)3)</sup>。著者は、クルミの用途拡大を目的としてこれまでにクルミの貯蔵性について検討<sup>4)</sup>し、さらにクルミ蛋白質の分離方法と、分離した蛋白質の特性について検討<sup>5)</sup>し、少なからぬ知見を得た。

本研究では、テウチグルミから分離した蛋白質の乳化特性をクルミの用途拡大に結びつける研究の一環として、酸沈殿蛋白質、エタノール及びアセトン沈殿蛋白質の三種の分離蛋白質の溶解性におよぼすpHの影響と、乳化特性の一つである乳化容量(Emulsifying Capacity)におよぼす2, 3の基本的因子の影響について検討したので報告する。

## 実験方法

### 1 試料

酸沈殿蛋白質、エタノールおよびアセトン沈殿蛋白質の調製には、昭和54年10月、長野県東部町(清水直江氏方)で収穫されたテウチグルミ(「清香」)を用いた。

Milk Casein は和光純薬 K. K. 製一級を用いた。

### 2 脱脂クルミおよび分離蛋白質の調製

#### (1) 脱脂クルミの調製

クルミの果仁に付着している薄皮が混入すると分離した蛋白質が著しく黒変することが知られたので、できるだけ薄皮を除去してから荒砕し脱脂に供した。脱脂にはn-ヘキサンを用い、油成分を溶解、遠心をくりかえし十分に脱脂した後、コーヒー・ミルで再び粉碎し白色の脱脂クルミ粉を得た。

#### (2) 分離蛋白質の調製

脱脂クルミから蛋白質を抽出するにあたっては、緩衝液でpHを11.0に調製した10%NaCl溶液で最も高い抽

出率を得た<sup>6)</sup>ので以下この条件で得た蛋白抽出液を分離蛋白質の調製に供した。

①酸沈殿蛋白質(Acid precipitated protein): 上記蛋白抽出液のpHを2.0から6.0まで調整した時の濁度を比較した結果、pH4.0で最も高い値を示した<sup>7)</sup>ので酸沈殿蛋白質の調整は以下によった。

すなわち、蛋白質抽出液を1N-HClでpH4.0に調整して得られた沈殿蛋白質を1N-NaOHでpH7.0に調整してから蒸留水に対して一昼夜冷蔵室内で透析した後、再びpH7.0に調整し凍結乾燥した。

②エタノールおよびアセトンによる沈殿分離蛋白質(Ethanol precipitated protein, Acetone precipitated protein): 上記蛋白抽出液に無水エタノールおよびアセトンを60%濃度になるように添加し、一夜5°Cに放置後、沈殿した蛋白質を遠心分離で集め、無水エタノールおよびアセトンでそれぞれ洗浄脱水後減圧乾燥した。

### 3 分離蛋白質の蛋白質定量および溶解性の測定

分離蛋白質の蛋白質定量は常法のセミ・マイクロケルダール法でN量を求め、5.3を乗じて蛋白質量とした。

後述の分離蛋白質のpHに対する溶解性の測定は以下の方法によった。すなわち分離蛋白質50~100mgを精秤し、これに10mlの水を加え1N-HClおよび1N-NaOHで所定のpHに調整した後、60分間室温下で攪拌抽出し4,000r.p.m.で10分間遠心分離して上清液を得た。この上清液1mlについて常法のビュレット法で540nmの吸光度を測定し、Bovine serum albuminで作成した検量線から算出したN量をそれぞれの分離蛋白質の全Nで除し溶解度(%)とした。なお、酸沈殿蛋白質の溶解性は別法<sup>8)</sup>によった。

### 4 乳化容量(Emulsifying Capacity)の測定

乳化容量は蛋白溶液を攪拌しながら油を加えてゆき、O/W型からW/O型に転相するまでの油の量を測定するものである。ここでは、電気抵抗法によって測定した。すなわち1N-HClおよび1N-NaOHで所定のpHに調整した蛋白溶液にビュレットからサラダオイル(味の

素K. K. 製) を滴下しながら「ホモゲナイザー HC 型」(日本精機K. K. 製) で14, 000r. p. m. で攪拌し、電気抵抗が急上昇 (O/W→W/O) した時の油の容量 (ml) を求め、分離蛋白質のN 1 mgあたりの油の容量 (ml) をもって乳化容量とした。

実験結果および考察

1 テウチグルミの一般成分組成

テウチグルミの一般成分組成を Tabl 1 に示した。

Table 1 Composition of Walnut, "Shinano-Gurumi"

Composition	%
Moisture	4.4
Oil	66.7
Protein (N×5.3)	13.2
Carbohydrate (as reducing sugar)	2.8
Ash	1.6

2 分離蛋白質の蛋白質含量

酸沈殿蛋白質は、僅かにクルミ臭を有する淡褐色の軽い粉末で、蛋白質87.45%、水分8.08%であった。

エタノール沈殿蛋白質は紫褐色のサラサラした粉末で、蛋白質64.90%、水分7.03%でほとんどクルミ臭はなかった。

アセトン沈殿蛋白質は、酸沈殿蛋白質によく似た淡褐色の粉末で、僅かにクルミ臭があり、蛋白質68.40%、水分5.89%であった。

3 分離蛋白質の溶解性

分離蛋白質の溶解性におよぼす pH の影響について検討し、Fig. 1 に示した。

酸沈殿蛋白質は、pH 7 で最も溶解度が低かったのに対し、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質はpH 4~5 で最低の溶解度を示し、それぞれ等電点が、酸沈殿蛋白質ではpH7.0、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質ではともに pH 4~5 にあると思われた。また、酸沈殿蛋白質の溶解度が pH 2~3 で95~100%と高かったのに対し、エタノール沈殿蛋白質、アセトン沈殿蛋白質の両者は、10~70%と低かった。しかし、pH 7 以上のアルカリ域では、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質は、ともに酸沈殿蛋白質の溶解度を上回り、とくにアセトン沈殿蛋白質は pH 7~10 で40~83%を示し、他の2つの分離蛋白質に比べアルカリに溶けやすい蛋白質であることが知られた。pH11~12では、いずれの分離

蛋白質も96%以上の高い溶解度を示した。以上の結果、酸沈殿蛋白質と、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質とはかなり性状を異にする蛋白質であることが推察された。

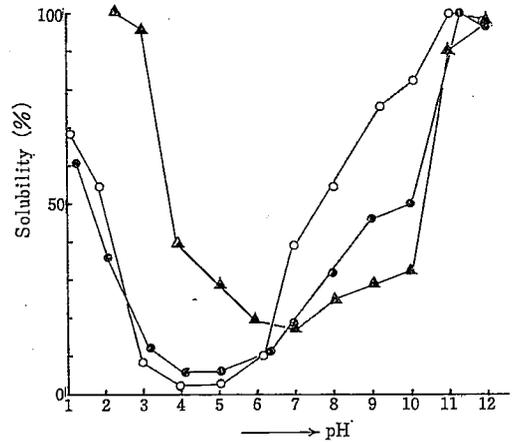


Fig.1 Solubility of walnut protein isolates, as a function of pH.

●: Ethanol precipitated protein (EPP)  
○: Acetone precipitated protein (AcPP)  
▲: Acid precipitated protein (APP)

4 乳化容量におよぼす pH の影響

大豆蛋白質の乳化容量は、pH が等電点に近い程減少し、遠くなる程増加することが知られている<sup>9)10)</sup>。

Fig 2~4 は、各分離蛋白質溶液の濃度をそれぞれ0.3、0.5および1.0% (たゞし、図では蛋白濃度をmg・N%で示した) に、かつイオン強度を0 および0.01に調整した時の乳化容量におよぼす pH の影響について示したものである。後述するように、いずれの分離蛋白質も蛋白濃度が高くなると N 1 mg あたりの乳化容量は減少する傾向を示した。

pH の影響からみると、Fig. 3 および Fig. 4 では、どの分離蛋白質も溶解性の低い等電点付近の pH 域では乳化容量は小さく、溶解性の高い pH 1~2 および pH10~12で上昇する傾向がみられとくに pH 1~2 の酸性域で顕著であった。しかし、このように蛋白濃度が高くなると乳化容量に与える pHの影響は小さく、分離蛋白質の溶解性と乳化容量は必ずしも相関しなくなることが認められた。一方、蛋白濃度の最も低かったFig. 2では、イオン強度0 の Milk casein およびイオン強度0.01のアセトン沈殿蛋白質の乳化容量は溶解性と相関がかなり強いことが認められたが、他の分離蛋白質では等電点以下の酸性側では比較的強い相関を示したもの

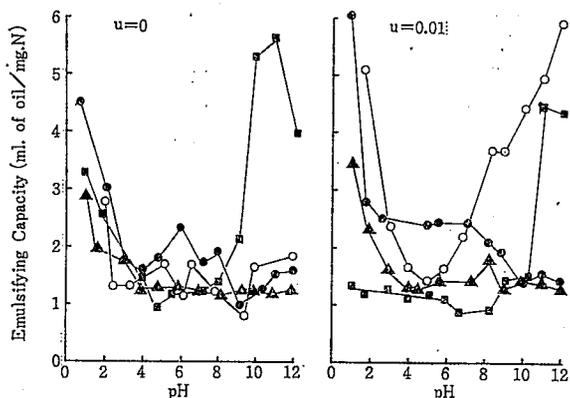


Fig. 2 Effect of pH on Emulsifying Capacity.

u: ionic strength  
 ●: Ethanol precipitated protein, 36.74 mg.N%  
 ○: Acetone precipitated protein, 38.72 mg.N%  
 ▲: Acid precipitated protein, 49.5 mg.N%  
 ■: Milk casein, 38.21 mg.N%

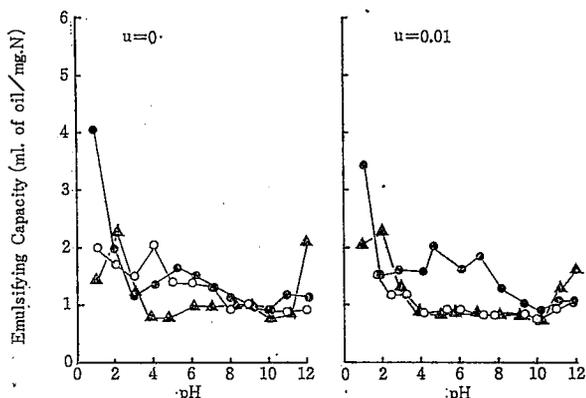


Fig. 3 Effect of pH on Emulsifying Capacity.

u: ionic strength  
 ●: Ethanol precipitated protein, 61.23 mg.N%  
 ○: Acetone precipitated protein, 64.53 mg.N%  
 ▲: Acid precipitated protein, 82.50 mg.N%

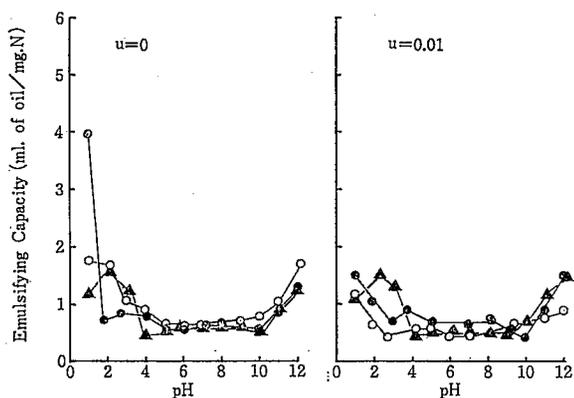


Fig. 4 Effect of pH on Emulsifying Capacity.

u: ionic strength  
 ●: Ethanol precipitated protein, 122.45 mg.N%  
 ○: Acetone precipitated protein, 129.06 mg.N%  
 ▲: Acid precipitated protein, 165.00 mg.N%

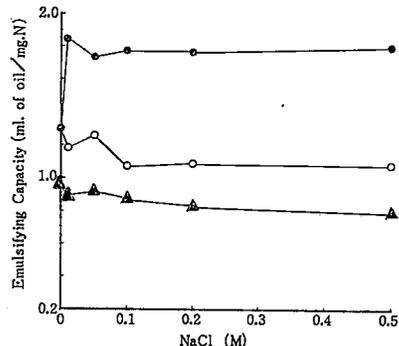


Fig. 5 Effect of NaCl concentration on Emulsifying Capacity.

●: EPP, 61.23 mg.N%, pH 7.01  
 ○: AcPP, 64.53 mg.N%, pH 6.99  
 ▲: APP, 82.55 mg.N%, pH 6.71

の、同様に溶解性の高いアルカリ域では目立った乳化容量の増加は認められなかった。

また Fig. 2 ~ 4 のいずれの N-濃度においても、酸沈殿蛋白質の乳化容量は、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質のそれを下まわり、これは、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質の変性の程度が酸沈殿蛋白質よりも大きく、より低分子化しているためと推察された。

#### 5 乳化容量におよぼす食塩の影響

分離蛋白質の乳化容量におよぼす食塩添加の影響を検討し、Fig. 5 に示した。

エタノール沈殿蛋白質の乳化容量は、食塩の添加によ

って大きな影響をうけ、食塩濃度 0.01M で急激に増加し、0.05M 以降ではほぼ一定となった。しかし、酸沈殿蛋白質およびアセトン沈殿蛋白質の乳化容量は、ほとんど食塩添加の影響はなく 0.05M まで僅かに低下したが以後はほぼ一定となった。

#### 6 乳化容量におよぼす蛋白濃度の影響

乳化特性と蛋白質との関係は、一般に蛋白質濃度が増すと見かけの値は増加するが、単位蛋白重量当りに換算すると減少していることが知られている(1)。

Fig. 6 は、乳化容量におよぼす蛋白濃度の影響について示したものである。Fig. 2, 3 および 4 で明らかなよ

うに、酸沈殿蛋白質、エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質のいずれも窒素濃度が増すにつれて乳化容量は低下し、とくにイオン強度を0.01に調整したエタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質においてその低下は著しかった。

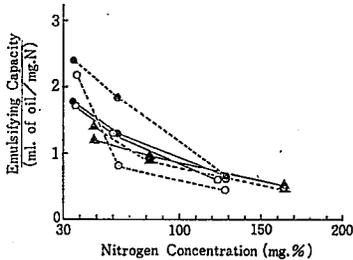


Fig.6 Effect of Nitrogen Concentration on Emulsifying Capacity;

EPP(●—● pH 7.23; ○—○ pH 7.14),  
AcPP(○—○ pH 7.10; ○—○ pH 7.03),  
APP(▲—▲ pH 7.14; ▲—▲ pH 6.93).  
Barred line=ionic strength 0, dotted line=ionic strength 0.01.

要約

長野県東部町で収穫されたテウチグルミ (*Juglans regia* L.) から得た酸沈殿蛋白質、エタノール沈殿蛋白質およびアセトン沈殿蛋白質の溶解性におよぼす pH の影響を検討し、さらに乳化特性の一つである乳化容量 (Emulsifying Capacity) におよぼす 2, 3 の因子の影響について検討し次のような知見を得た。

- (1) 酸沈殿蛋白質、エタノール沈殿蛋白質およびアセトン沈殿蛋白質の蛋白質含量は、それぞれ87.6、64.9および68.4%であった。
- (2) 酸沈殿蛋白質は、中性付近では溶けにくく、pH を酸性側では3以下、アルカリ性側では10以上でよく溶解した。

エタノールおよびアセトン両沈殿蛋白質は pH 4~5 で溶解度は2~5%と最も低く、pH 1~2の酸性側でも60~70%と酸沈殿蛋白質より低かった。しかし pH

7~10では酸沈殿蛋白質の溶解度より高く、特にアセトン沈殿蛋白質は40~83%と、アルカリ域で溶解しやすいことが認められた。

(3) 分離蛋白質の乳化容量は、pH によって影響をうけ、特に蛋白濃度が低い場合に影響は大きく、等電点付近でより低い乳化容量を示した。特にイオン強度を0.01に調整したアセトン沈殿蛋白質の乳化容量は溶解性と非常によく相関し、pH が等電域から遠ざかると乳化容量も増加した。しかし、酸沈殿蛋白質およびエタノール沈殿蛋白質の乳化容量は必ずしも溶解性と相関せず、溶解性の高い酸性域およびアルカリ域で、等電域の乳化容量より僅か上昇するにすぎなかった。

(4) エタノール沈殿蛋白質の乳化容量は食塩の添加によって大きく影響され、0.01Mで急上昇し、0.1M以降は一定となった。酸沈殿蛋白質およびアセトン沈殿蛋白質では、食塩添加の影響は小さく、むしろ乳化容量は低下した。

(5) いずれの分離蛋白質も蛋白濃度が増すと乳化容量の見かけの値は増加したが、単位蛋白質重量あたりに換算すると減少した。

終りに本研究を行うにあたり、一部実験の手伝いをいただいた本学助手牛越静子氏に感謝します。

文献

- 1) 岩田久敬:糧食, 182, 373 (1941)
- 2) STAFFORD, W. and OKE, O.L.: *Nutr. Rep. Int.*, 16 (6), 813 (1977)
- 3) STAFFORD, W., UMOH, I. B., AYALOGU, E. O. and OKE, O.L.: *Nutr. Rep. Int.*, 18(1), 69 (1978)
- 4) 古内幸雄・牛越静子:長野県短期大学紀要, 33(1973) 5), 6), 7)
- 5) 古内幸雄・浅野三夫・柴崎一雄:日食工誌, 25, 548(1981)
- 6) 青木宏, 長野宏子:日食工誌, 22, 320 (1975)
- 7) 山内文男・菱沼紀子・小野秀光・柴崎一雄:日食工誌, 25, 446 (1978)
- 8) 山内文男:日食工誌, 26, 266 (1979)