

大豆たん白質-レシチン複合体による乳化性およびカルシウムの強化

INCREASE IN EMULSIFICATION ACTIVITY AND CALCIUM FORTIFICATION IN SOY PROTEIN BY USING SOY LECITHIN-SOY PROTEIN COMPLEX

鬼頭 誠¹・広塚元彦²・谷口 等²・成田宏史¹ (1 京都大学食糧科学研究所, 2 不二製油研究所)

Makoto KITO¹, Motohiko HIROTSUKA², Hitoshi TANIGUCHI²
and Hiroshi NARITA¹

1. Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611

2. Fuji Oil Company, Izumi-Sano 598

ABSTRACT

Soy proteins were associated with soy lecithin. Soy protein isolate (SPI), 7S and 11S proteins complexed with lecithin were similarly affected by ethanol treatment to increase emulsification activity. By this procedure, the conformation of these proteins was changed resulting in aggregation. Though emulsification activity of the lecithin-SPI complex was apparently increased by boiling for 1 min, this treatment only caused the 11S protein component to aggregate resulting in better emulsification activity, regardless of whether it was complexed with lecithin or not. The increase in emulsification activity caused by ethanol treatment was not affected by NaCl, whereas the increase by heat treatment was reduced by NaCl. It seems likely that ethanol and heat treatments change the conformation of soy proteins in different ways. Calcium ion was enveloped with a membrane system before addition to soy protein to prevent soy protein from being coagulated and precipitated by calcium ion. Soy lecithin was first sonicated in calcium salt solution to envelop the calcium ion with a liposomal structure composed of lecithin. Then, the calcium-lecithin liposomes were added to soy protein solution. Precipitation and coagulation were not observed in this soy protein-lecithin liposome system containing 60 mM Ca²⁺. By this method, it was possible to prepare calcium fortified soy milk containing more calcium (120 mg/100 g) than in cow's milk. These results suggest that this calcium-lecithin liposome system is useful for calcium fortification of soy milk. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn* 6, 15-20, 1985.

SPI は特徴的な食品機能をもつゆえに良好な食品素材として多様な食品に使用されている。しかし乳化性の点では必ずしも満足されうる性質をもっているとは言い難い。また、SPI はカルシウムによって凝固する

ので、SPI 含有食品へのカルシウム増強は困難とされている。従来より化学的処理によりこれらの欠点を補強する試みがなされてきたが、このような処理は実用化の点で問題がある。

本研究では大豆レシチン-大豆たん白質複合体を物理的手法によって調製し、これによって上記の弱点を補うのみならず、新しい性質を大豆たん白質に具備させることを目的とした。

実験方法

1. 大豆レシチン-大豆たん白質複合体の調製¹⁾

市販の大豆レシチン懸濁液を、大豆たん白質 4% 水溶液に加え、Branson ソニファイアー(200 型, 150 W)で超音波処理して複合体を形成させた。たん白質とレシチンの比は通常 4 : 1 (w/w)であった。

2. カルシウム包含レシチンリポソームの調製²⁾

レシチン 10% 懸濁液 1 部に対して種々の濃度の乳酸カルシウム液 19 部を加えた混合液を Branson ソニファイアーで透明になるまで超音波処理した。溶液の pH は 7.0 に調節した。

結果と考察

1. 大豆レシチン-大豆たん白質複合体のエタノール処理¹⁾

複合体形成において、SPI に対するレシチンの割合を増加させると複合体の乳化力は少し増加した (Fig. 1)。しかしこの複合体を 50% エタノール中に 25℃、

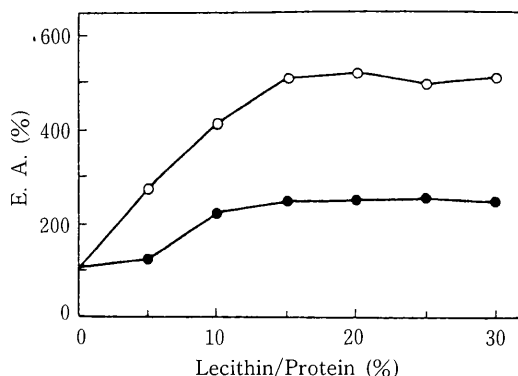


Fig. 1. Relationship between the lecithin to soy protein isolate ratio and emulsification activity following ethanol treatment. With (○) and without (●) ethanol treatment. EA—emulsification activity.

30 分間放置することにより乳化力は SPI の 5 倍に増大した。レシチン : SPI が 1 : 4 (w/w) の複合体を用いた場合、40~60% エタノール濃度による処理が最大の効果を示した (Fig. 2)。つぎに、SPI, 11S, 7S たん白質とレシチンとの複合体についてエタノール処理の効果を調べたところ、これらの乳化力はいずれも 5 倍に増大した (Fig. 3)。スプレー乾燥した SPI, 大豆油、

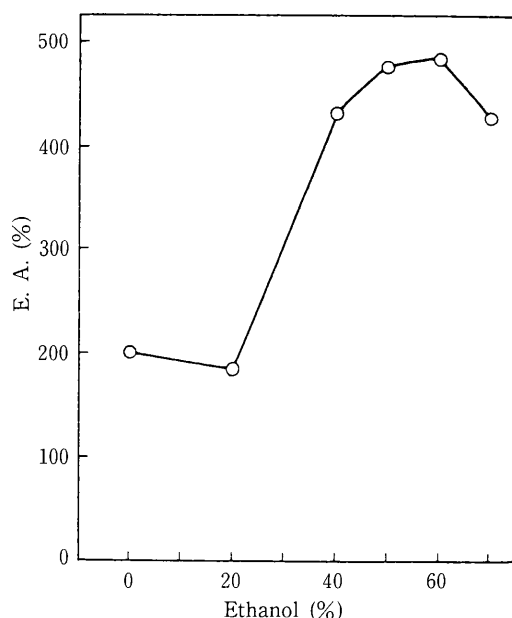


Fig. 2. Effect of ethanol concentration on the increase of emulsification activity of the lecithin-soy protein isolate complex. EA—emulsification activity.

水(20 : 90 : 100)のエマルジョンの粘度をテクスチュロメーターで測定したところ、エタノール処理した複合体を用いた場合はクリーム状のペーストとなり 4.1 mm/v であった。これに対して無処理の複合体、エタノール処理の SPI, 無処理の SPI では 2.8, 2.0, 2.0 mm/v であった。

2. エタノール処理レシチン-たん白質複合体の円二色性およびクロマトグラフィー¹⁾

エタノール処理したレシチン-11S たん白質複合体のスペクトルは 210~230 nm の領域で変化した (Fig. 4A)。無処理のものとの差スペクトルをとることによ

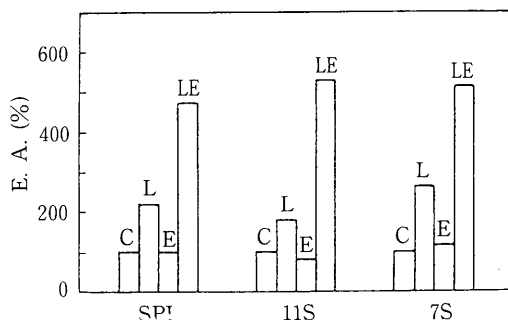


Fig. 3. Effect of ethanol treatment on emulsification activities of soy protein isolate (SPI), 11S, and 7S proteins. C, control; L, lecithin-protein complex; E, ethanol treated protein; LE, ethanol treated lecithin-protein complex; EA—emulsification activity.

り (Fig. 4B), エタノール処理によるコンフォーメーション変化が生じたことが示された。7S たん白質の場合にも同様な傾向がみられた (Fig. 5A, B)。一方, エタノール処理することによりたん白質の会合がみられた (Fig. 6, 7)。しかし複合体の会合フラクションにのみ高い乳化力がみられた (Table. 1)。したがって, レシチンはたん白質と強い相互作用を有しつつ会合体形成に関与していることが示唆される。

3. レシチン-たん白質複合体の熱処理¹⁾

大豆たん白質は熱処理により重合することが知られている。複合体を加熱(100℃)すると, SPI 単独で加熱した時に得られる乳化力よりも2倍高い乳化力が得られた (Fig. 8)。しかしその機構はエタノールによる場合とは異なっていた (Fig. 9)。加熱処理により 11S たん白質はレシチンとの複合体形成とは無関係に乳化力

を増大させた。7S たん白質はレシチンと複合体を形成することにより乳化力を増大させたが, この複合体は加熱処理によっては乳化力を増大させることはできなかった。

4. 熱処理レシチン-たん白質複合体の円二色性およびクロマトグラフィー¹⁾

11S たん白質とレシチンとの複合体は熱処理により大きくコンフォーメーションが変化したが, 7S たん白質の場合にはそのような変化はみられなかった (Fig. 10A, B)。エタノール処理の場合とは異なるこのようなコンフォーメーション変化の挙動は, 乳化力の発現が多面的なものであることを示唆している。

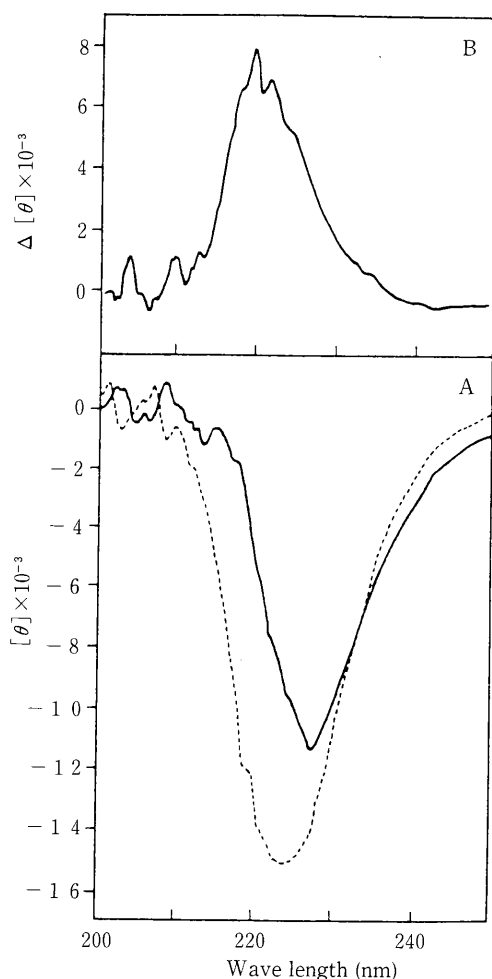


Fig. 4. CD spectra of lecithin-11S protein complex: (A) ethanol treated lecithin-11S protein complex (dotted), lecithin-11S protein complex (solid). (B) difference spectrum of A.

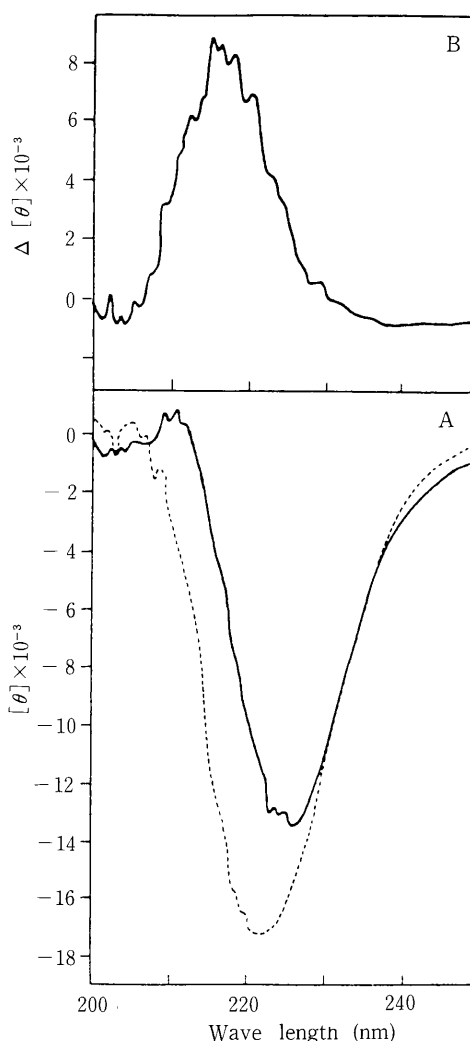


Fig. 5. CD spectra of lecithin-7S protein complex: (A) ethanol treated lecithin-7S complex (dotted), lecithin-7S protein complex (solid). (B) difference spectrum of A.

Table 1. Emulsification activity of fractions separated by gel filtration^a

Protein	Frac-tion 1	Frac-tion 2	Frac-tion 3	Frac-tion 4
7S	450	145	130	100
11S	330	100	105	100

^a Fraction numbers as shown in Figs. 6 and 7.

5. エタノールおよび熱処理による乳化力の増加に対する食塩の影響¹⁾

エタノールおよび熱処理による複合体の乳化力の増大が同一機構によるものであるかという点を調べるために食塩濃度の影響をみた (Fig. 11)。エタノール処理の場合は食塩によってなんらの影響も受けなかったが、熱処理の場合は高濃度の食塩により乳化力の増強は抑制された。

6. カルシウム包含レシチンリポソーム

レシチンを塩溶液中で超音波処理すると塩はリポソーム中に包含される。しかし一部のものはリン脂質の極性頭部と静電的に結合するか、またはリポソーム外部に未包含で存在している。市販の大豆レシチンはホスファチジルエタノールアミンが混在するので、カルシウムにより凝集沈殿するようになる。そこでキレート剤を共存させることにより、これを防止できることを明らかにした。EDTA が最も効果的であったが、食品への利用を考慮してクエン酸ナトリウムを使用したところ、レシチンリポソーム系に 30 mM の乳酸カルシウムが存在すると、30 mM 以上の濃度で十分な効果が得られた。

Table 2. Effect of calcium contents on coagulation of soy protein isolate (SPI)^a

Ca ²⁺ (mM)	0	10	20	30	40	50	60
(mg/100 g)	0	40	80	120	160	200	240
No heat							
-Soybean oil	○	○	○	○	○	○	○
+SPI							
Heat							
-Soybean oil	○	○	●	×	×	×	×
+SPI							
Heat							
+Soybean oil	○	○	○	○	●	×	×
+SPI							

^a The concentrations of reagents are as follows: lecithin, 0.5%; soybean oil, 3%; SPI, 3.5%. Ca was added in a mixture of calcium lactate and sodium citrate (1:1.5). The heating was carried out at 37°C for 10min. ×, coagulation; ●, turbid.; ○, clear solution.

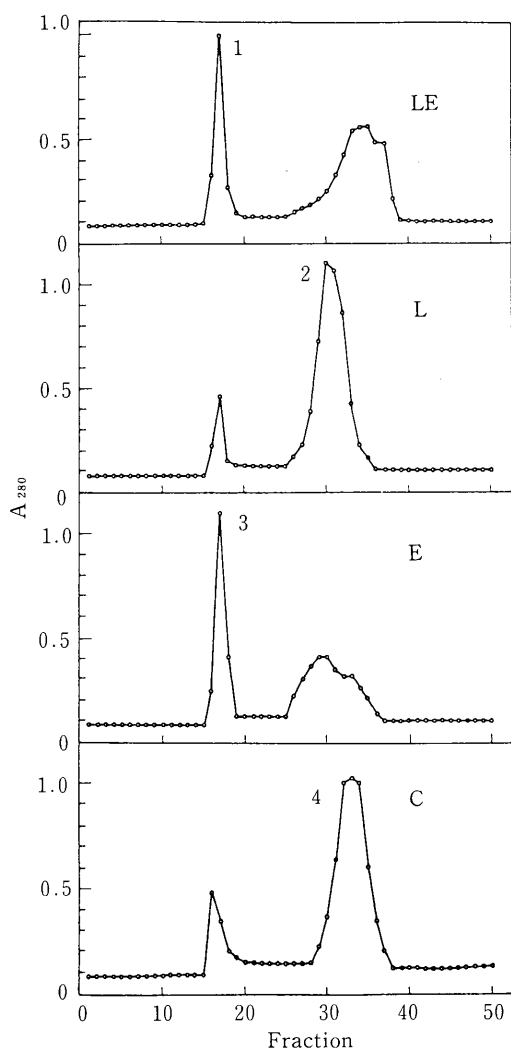


Fig. 6. Gel filtration of 11S protein. C, 11S protein; E, ethanol treated 11S protein; L, lecithin-11S protein complex; LE, ethanol treated lecithin-11S protein complex. Peaks 1-4 were used for the determination of emulsification activity.

7. SPI とカルシウム包含リポソームとの相互作用²⁾

60 mM 乳酸カルシウムと 90 mM クエン酸ナトリウム溶液および種々の濃度のレシチンを超音波処理した。ついで等量の 7% SPI 溶液をこれに混合して安定性を調べたところ、0.5% 以上のレシチン濃度でカルシウムと SPI との相互作用(凝固)が完全に防止できた。ついでこの系でカルシウム濃度を増加し、SPI との相互作用を生ずる最低濃度を明らかにした (Table. 2)。未加熱の場合は 60 mM カルシウムでは凝固は生じなかった。しかし加熱(100°C, 10 分)によって 20 mM カルシウム以上の濃度で凝固がみられた。一方、この加熱系に大豆油を 3% 予め存在させることにより、凝固を引

き起す濃度を 40 mM (160 mg カルシウム/100 g)にまで引き上げることが可能となった。

8. カルシウム強化豆乳²⁾

130 mM 乳酸カルシウム, 195 mM クエン酸ナトリウム, 2% 大豆油, レシチンより成るリポソーム液 20

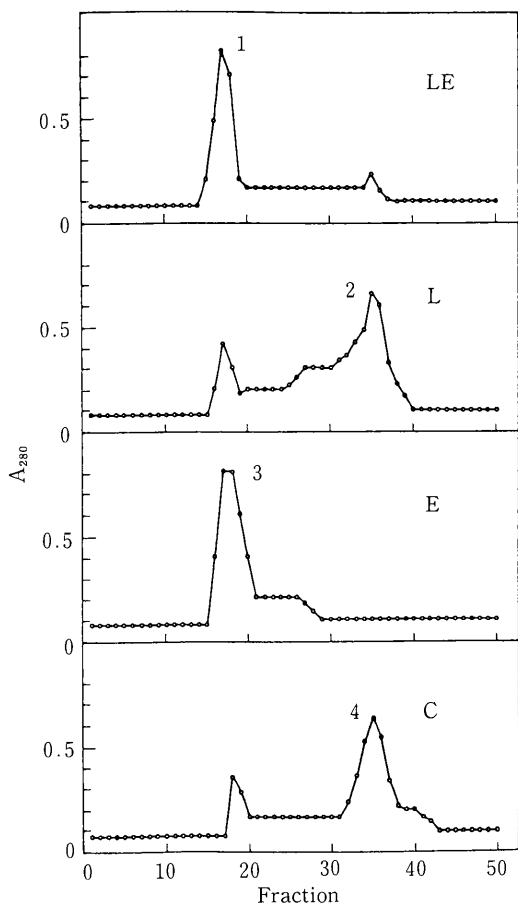


Fig. 7. Gel filtration of 7S protein. C, 7S protein; E, ethanol treated 7S protein; L, lecithin-7S protein complex; LE, ethanol treated lecithin-7S protein complex. Peaks 1-4 were used for the determination of emulsification activity.

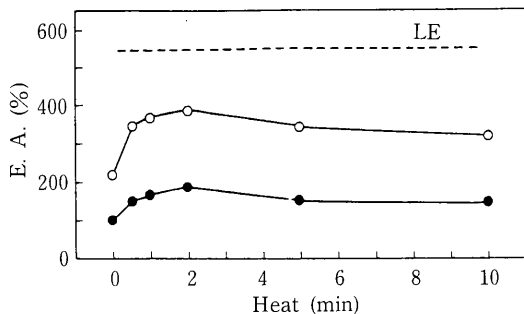


Fig. 8. Effect of heat treatment on emulsification activities of soy protein isolate (SPI) and lecithin-SPI complex. ●, SPI; ○, lecithin-SPI complex; LE, ethanol treated lecithin-SPI complex.

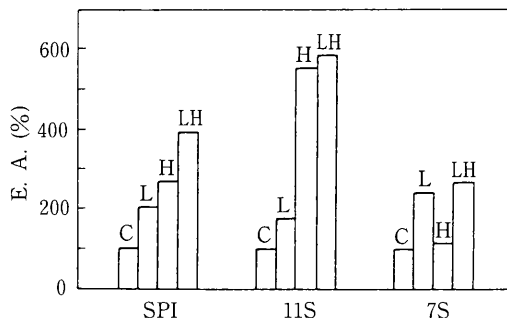


Fig. 9. Effect of heat treatment on emulsification activity of soy protein isolate (SPI), 7S and 11S proteins. C, control; L, lecithin-protein complex; H, heat treated protein; LH, heat treated lecithin-protein complex; EA—emulsification activity.

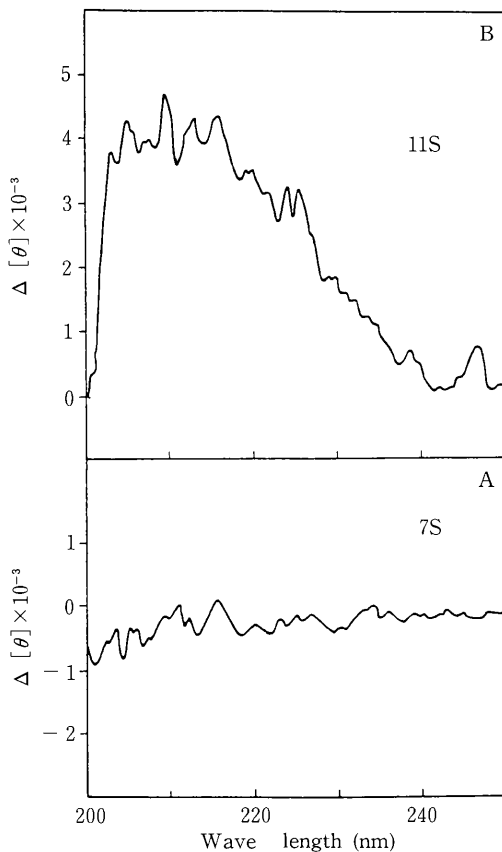


Fig. 10. Difference CD spectra of heat treated lecithin-7S (A) or 11S (B) protein complex as compared to respective untreated complexes.

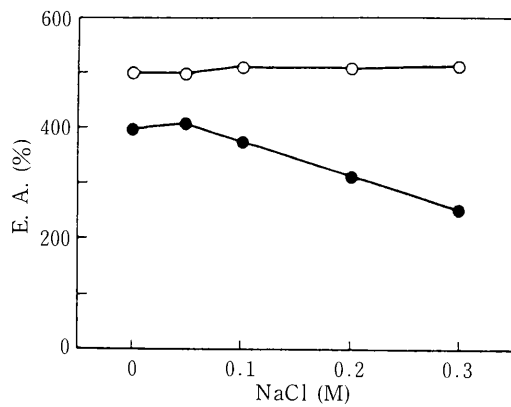


Fig. 11. Effect of NaCl on increase in the emulsification activity of ethanol or heat treated lecithin-soy protein isolate (SPI) complex. ○, ethanol treated lecithin-SPI complex; ●, heat treated lecithin-SPI complex.

ml を加熱滅菌後、67 ml の豆乳と混合し 4 °C に 1 週間放置したが、なんらの沈殿も凝固も生じなかった。これにより、豆乳に牛乳並みのカルシウムが強化できることが可能となった。

文 献

- 1) Hirotsuka, R., Taniguchi, H., Narita, H. and Kito, M. (1984): Increase in emulsification activity of soy lecithin-soy protein complex by ethanol and heat treatments. *J. Food Sci.*, **49**, 1105-1110.
- 2) Hirotsuka, R., Taniguchi, H., Narita, H. and Kito, M. (1984): Calcium fortification of soy milk with calcium-lecithin liposome system. *J. Food Sci.*, **49**, 1111-1112 and 1127.