

氏 名	王 昊
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1714 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 学 専 攻
学位論文題目	Improvement of Functional Properties of β -Lactoglobulin by Lysolecithin (リゾレシチンによる β -ラクトグロブリンの機能特性の改善)
論文調査委員	(主 査) 教 授 松 村 康 生 教 授 内 海 成 教 授 北 畠 直 文

論 文 内 容 の 要 旨

β -ラクトグロブリン (β -LG) は乳清タンパク質の主要構成成分であり、その機能特性、すなわち乳化性、ゲル化性、起泡性などに関する研究が広く行われている。しかし、 β -LGは、種々の加工条件、たとえば塩類の添加、pHの低下、加熱などの処理によって、その機能特性が損なわれやすく、食品産業へ利用する際の大きな問題となっている。リン脂質であるレシチン（ホスファチジルコリン）は、 β -LGと相互作用することにより、 β -LGの構造や機能特性に影響を与えることが報告されている。一方、そのリゾ体であるリゾレシチン（リゾホスファチジルコリン）は、レシチンより親水性が高く、優れた乳化性やミセル形成能を示すが、 β -LGとの相互作用については、ほとんど研究が行われていない。本論文では、リゾレシチンと β -LGとの複合体形成が可能であるのか、またリゾレシチン添加により β -LGの機能特性の改善が可能であるのかを明らかにすることを目的として研究を行った。その主な内容は以下のように要約できる。

第一章では、一定濃度の β -LG水溶液（タンパク質濃度：2%，pH 7.0とpH 3.4）に種々の濃度のリゾレシチン（純度97%以上の卵黄由来リゾレシチン）を加えることにより、複合体の調製を試みた（リゾレシチン/ β -LG重量比：0～4.8）。複合体の形成はゲルろ過分析および円二色性（CD）スペクトル測定によって検証した。また、加熱・冷却に伴うCDスペクトル変化より、複合体形成に及ぼす加熱処理の効果について検討した。その結果、どちらのpHにおいても、リゾレシチンを一定濃度以上（pH 7.0の場合は重量比で1.2，pH 3.4の場合は0.6）加えるとCDスペクトルが変化し、リゾレシチン/ β -LGの複合体形成が示唆された。pH7.0においては、ゲルろ過分析においても複合体形成を支持するデータが得られたが、pH3.4においては複合体形成を確認することはできなかった。リゾレシチンを加えることにより、 α -ヘリックスの増加および β -シートの減少が認められた。特に加熱変性後にその傾向が強かったことから、加熱処理が β -LGとリゾレシチンの相互作用を促進する可能性が示唆された。

第二章では、前章の結果に基づき、リゾレシチンの添加により β -LGの分散安定性が改善されるかどうかを検討した。ここでは、第一章の純度の高い卵黄リゾレシチンに加え、応用的な観点から食品添加物用の大豆リゾレシチン（リゾレシチン含量20%未満）についても検討を加えた。一定濃度の β -LG水溶液（pH 7.0およびpH 3～5）に種々の濃度のリゾレシチンを加えることにより、複合体を形成させた（ β -LG：1.25%，リゾレシチン/ β -LG重量比：0～1.2）。外観の観察および遠心分離後の上澄み液中における残存タンパク質量の定量により、リゾレシチンによる β -LGの分散安定化効果を検証した。 β -LGは未加熱の場合、検討した全てのpH領域で沈殿が認められなかったが、加熱により弱酸性pH領域（pH 4～5）で沈殿が生じた。塩（0.5 M NaCl）添加後、加熱すると、上記の弱酸性pH領域に加えてpH 3および7でも沈殿を生じた。重量比で β -LGの1.2倍の卵黄リゾレシチンを加えることにより、加熱による β -LGの沈殿生成は著しく抑制された。それに対し、大豆リゾレシチンでは、卵黄リゾレシチンほどの優れた効果は認められず、pHによっては、むしろ不安定化する傾向が認められた。蒸発光散乱検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー分析により、大豆リゾレシチンには、リゾホスファチジルコリンのほか、ホスファチジン酸などのリン脂質が含まれていることが明らかとなった。大豆リゾレシチンの純度

を高めることにより、その β -LG分散安定化効果はかなり改善された。

第三章では、エマルションのゲル化挙動に及ぼすリゾレシチンの添加効果について検討した。タンパク質水溶液と油を混合してエマルションを調製すると、生成した油滴の表面はタンパク質で覆われる。このようなエマルションを加熱すると、加熱変性したタンパク質分子の会合が起こり、その会合を介した油滴の凝集が生じることにより、エマルションはゲル化する。本章では、 β -LG水溶液と大豆油より調製したエマルションを対象とし、その加熱ゲル化挙動に対するリゾレシチンの添加効果を、レオロジック的手法を用いて検討した。 β -LG水溶液 (pH 7) と大豆油を混合してエマルションを調製した。エマルション中の構成成分の濃度は、大豆油が40%、 β -LGが2%、リゾレシチンが0～3%であった。調製したエマルションを90℃で30分間加熱後、25℃まで冷却し、その加熱・冷却過程における動的粘弾性の変化を解析した。その結果、エマルションにリゾレシチンを加えると、加熱によるゲルの形成に、より長い時間を要することを確認した。また、ゲルの貯蔵弾性率 G' 、損失弾性率 G'' は、リゾレシチンの添加濃度に依存して低下した。損失正接 $\tan \delta$ は、90℃ではリゾレシチン添加により低下したが、冷却後のゲルにおいては、逆に高くなる傾向を示した。卵黄リゾレシチンと大豆リゾレシチンの効果を比較した結果、卵黄リゾレシチンの方がより低い濃度でエマルションゲルの物性を改変することが示された。電子顕微鏡観察の結果、リゾレシチン無添加の場合には、エマルションゲル中の油滴表面への β -LG分子の吸着が確認されたが、リゾレシチンの添加により、 β -LGが脱着し、油滴表面は滑らかな形状を示した。このような微細構造上の変化がエマルションゲル物性の改変と深く関連しているものと思われる。

論文審査の結果の要旨

乳清タンパク質は、カゼインやチーズ製造の過程で大量に副産物として発生するが、食品産業において十分に利用されるには至っていない。このような状況を打開するため、乳清タンパク質、中でも、その主要構成成分である β -LGの機能特性改善の試みが広く行われている。リン脂質であるレシチンは、 β -LGと相互作用することによって、その構造や機能特性に影響を与えることが報告されている。一方、リゾレシチンについては、 β -LGのみならず他の食品タンパク質との相互作用に関する研究がほとんど行われていない。本論文は、リゾレシチンと β -LGとの複合体形成、およびリゾレシチンによる β -LGの機能特性の改善効果について検討を行ったものであり、成果として評価すべき点は以下のとおりである。

1. 卵黄リゾレシチン（純度97%以上）と β -LGのpH 7.0あるいはpH 3.4における複合体形成をゲルろ過法およびCDスペクトル測定によって検討した。その結果、両pHにおいて複合体の形成が確認されたが、pH 3.4の場合の方が、より少量のリゾレシチンの添加によって複合体を形成していた。CDスペクトル解析の結果、リゾレシチンの添加により、 β -シートから α -ヘリックスへの転換が起こるなど β -LGの二次構造が大きく変化することを示した。

2. β -LGの分散安定性に対するリゾレシチンの添加効果を検討した。前項で用いた卵黄リゾレシチンに加え、食品添加物用の大豆リゾレシチン（リゾレシチン含量20%未満）を用いた。 β -LGは弱酸性pH (pH 3～5)、塩添加条件で加熱すると沈殿を生じたが、卵黄リゾレシチンを加えることにより、その沈殿生成が著しく抑制されることを明らかにした。一方、大豆リゾレシチンには、 β -LGの沈殿生成を抑制する効果はほとんど認められなかった。しかし、混在する酸性リン脂質を除くなど、その純度を高めることにより、 β -LGの沈殿生成に対する抑制効果を飛躍的に向上させることに成功した。リゾレシチンの添加により酸性pH領域での β -LGの分散安定性が著しく改善されたことから、ヨーグルト飲料など様々な食品への用途拡大の可能性が示唆された。

3. エマルションの加熱ゲル化挙動に対するリゾレシチンの添加効果を検討した。その結果、リゾレシチンの添加により、エマルションのゲル化に要する時間が長くなることを確認したほか、形成されたエマルションゲルの動的粘弾性が大きく変化することを見出した。卵黄リゾレシチンと大豆リゾレシチンの効果を比較した場合、卵黄リゾレシチンの方がより低い濃度でエマルションゲルの物性を改変することを示した。

以上のように、本論文は、リゾレシチンと β -LGが複合体を形成すること、およびその複合体形成により β -LGの機能特性が著しく改善されることを明らかにしたものであり、品質評価学、食品化学、食品加工学の進展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，平成20年2月14日，論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果，博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。