

(論文内容の要旨)

近年では、生活習慣病の予防や治療のために食生活の改善による内臓脂肪の低減化が求められている。ジアシルグリセロール (DAG) は体脂肪として蓄積しにくい性質を持つため、健康を増進させる油脂素材として注目を集めている。DAG は O/W 型エマルションを形成しにくい、W/O 型エマルションを容易に形成できる。このように DAG は通常の油脂であるトリアシルグリセロール (TAG) とは異なる界面特性を持っている。DAG の食品分野での応用範囲を拡大するためには、安定な O/W 型エマルションを形成させる必要がある。O/W 型エマルションの調製にはタンパク質の乳化力を利用することが多い。なかでも卵黄および乳タンパク質は最も利用度が高い。そこで本研究では、DAG と TAG の乳化特性の違いを明らかにすることを目的として、乳あるいは卵黄タンパク質を用いて DAG および TAG エマルションを調製し、油滴の分散性や油滴表面の吸着タンパク質の存在状態について解析を行った。

第 1 章では、乳清タンパク質の主要成分である β -ラクトグロブリン (β -LG) の水溶液と DAG および TAG を混合してエマルションを調製し、両油滴表面におけるタンパク質の吸着挙動を比較した。TAG エマルションと DAG エマルションの粒子径には大きな差は認められなかった。吸着したタンパク質量を測定した結果、TAG 油滴表面には DAG の場合の 2 倍程度の β -LG が吸着していた。また DAG の油滴の ζ -電位は TAG の ζ -電位より大きく、DAG エマルションの方が高い分散安定性をもつ可能性が示された。蛍光スペクトル分析、FT-IR 分析の結果、 β -LG のコンフォメーションは油滴表面に吸着することで変化することが明らかとなった。DAG エマルションの場合と比較して TAG エマルション中の β -LG の二次構造は、より大きく変化していた。油滴に吸着した β -LG をプロテアーゼ分解し、その分解産物を SDS-PAGE で分析した結果、 β -LG は TAG と DAG の油滴表面において異なった状態で吸着していることが示唆された。

第 2 章では、TAG および DAG エマルションの安定性および油滴表面の β -LG の吸着状態が時間の経過とともにどのように変化するか検討を行った。比較のため、より疎水度の高い油である、テトラデカンエマルションについても検討を行った。その結果、TAG および DAG エマルションの粒度分布は 72 時間後もほとんど変化せず、安定な分散状態を示したが、テトラデカンエマルションの場合には著しく油滴の凝集が進んでいた。 ζ -電位は DAG、TAG エマルションでは低下の傾向を示したのに対し、テトラデカンエマルションでは増加しており、油滴表面上の電氣的反発力はエマルションの長時間に渡る安定性には寄与していないことが示された。テトラデカンの油滴表面には、乳化時には、TAG の 2 倍、DAG の 4 倍の β -LG が吸着しており、時間の経過とともに吸着量が増加する傾向にあった。これに対し、TAG および DAG エマルションでは、時間の経過とともに β -LG は油滴表面から脱着される傾向が認められた。これらの結果と、蛍光スペクトルによる吸着タンパク質の構造変化、油滴表面上における β -LG のジスルフィド架橋を介した重合体形成の結果などを総合し、TAG、DAG、テトラデカンエマルションの安定性に差が認められる原因について考察を行った。

第 3 章では卵黄を乳化剤として DAG および TAG エマルションを調製し、その乳化特性を比較した。また、卵黄のホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) 処理が乳化性に与える影響も検討した。未処理あるいは PLA₂ 処理卵黄水溶液と TAG もしくは DAG を混合することによりエマルション

を調製した。粒度分布測定と顕微鏡観察の結果、未処理卵黄で乳化した場合には、TAGエマルションの粒子がDAGのものに比べて小さく、より良好な乳化状態を示した。酵素処理卵黄を用いると、どちらのエマルションでも粒子がより小さくなる傾向が認められたが、特にDAGの場合、その効果が顕著であった。未処理卵黄で乳化した場合の、DAG、TAG油滴表面に対する卵黄タンパク質の吸着量を比較した結果、どちらの油滴にも、ほぼ同量のタンパク質が吸着していた。また、卵黄をPLA₂処理してもアポタンパク質の油滴への吸着量はほとんど変化しなかった。油滴に吸着したタンパク質の組成をSDS-PAGEで分析した結果、TAGとDAGの違いにかかわらず、また卵黄のPLA₂処理の有無にかかわらず、タンパク質の種類に大きな違いは見られなかった。一方、油滴に含まれるリン脂質の量や組成については、TAGとDAGの違いに応じて、また卵黄のPLA₂処理の有無により、有意な差が認められた。以上の結果より、未処理、PLA₂処理卵黄によるTAG、DAGエマルションの乳化性の違いには、卵黄中のタンパク質よりも、リン脂質が深く関係していることが明らかとなった。

第4章では、第3章で明らかになった、卵黄を乳化剤として用いた時のTAG、DAGエマルションの乳化特性の違い、および卵黄のPLA₂処理の乳化性改善効果について、そのメカニズムを探るため、卵黄の主要な構成成分である低密度リポタンパク質（LDL）を用いてDAGおよびTAGエマルションの乳化特性を比較した。未処理もしくは酵素処理LDL溶液とTAGもしくはDAGを混合することによりエマルションを調製した。未処理LDLによって乳化した場合、TAGエマルションに比べて、DAGエマルションの粒子径は大きく、DAGはTAGに比べてLDLによって乳化されにくいことがわかった。しかし、酵素処理LDLを用いると、DAGエマルションでもTAGエマルション同様、微細な粒子が形成された。以上の結果は、3章で得られた卵黄による乳化の結果と一致する。また、未処理LDLで調製したDAGエマルションは2週間後にクリーミングを起こしたが、酵素処理LDLで乳化したDAGエマルションではクリーミングは観察されなかった。酵素処理LDLで乳化した場合、TAG、DAGエマルションとも、未処理LDLを用いて調製した場合に比べて、大きな ζ -電位を示した。酵素処理LDLで乳化したエマルション粒子の分散安定性が上昇する原因として、この ζ -電位の増大が寄与している可能性がある。未処理LDLで乳化した場合の、DAG、TAG油滴表面に対するLDLアポタンパク質の吸着量を比較した結果、どちらの油滴にも、ほぼ同量のタンパク質が吸着していた。また、酵素処理LDLを用いると、TAG油滴表面へのアポタンパク質の吸着量は未処理LDLを用いた場合と比較して変化しなかったものの、DAG油滴表面への吸着量は有意に減少していた。SDS-PAGEによる吸着タンパク質の組成分析、および蛍光スペクトルによるタンパク質のコンフォメーション解析を行ったが、TAG、DAGエマルションの違い、あるいはLDLのPLA₂処理の有無によって、結果に大きな違いは認められなかった。次に、³¹PNMRを用いてリン脂質の存在状態について分析した。未処理LDLで乳化した場合、TAGエマルションのスペクトルにはブロードなシグナルのみが観察されたが、DAGエマルションにはそれに加えてシャープなシグナルが観察された。この結果は、LDL中のリン脂質は、TAGの場合には油滴表面に吸着していること、一方DAGの場合には、リン脂質の一部は油滴内部に溶解込み、モノマーの状態で存在していることを示唆している。酵素処理LDLで乳化した場合にはDAGおよびTAGエマルションのスペクトルにおいて同様のブロードなシグナルのみが観察された。このことより、酵素処理で生じたリゾリン脂質はDAGの油滴内部に溶解込むことなく、油滴表面に存在し界面を安定化することによって、DAGを微細に分散させているものと考えられた。

氏 名

Mirian Maya Sakuno

(論文審査の結果の要旨)

ジアシルグリセロール (DAG) は、一般の食品用油脂であるトリアシルグリセロール (TAG) に比べて、体内で消化吸収された後に体脂肪として蓄積しにくい性質を持つことから注目を集めている。このような DAG の生理効果に関する報告は数多く存在するが、乳化性に関する研究は少なく、不明な点が多い。特に、DAG は TAG と比較すると、O/W 型エマルションを形成しにくいことが報告されており、DAG の乳化食品への拡大を図るためには、その原因について検討する必要がある。本論文は、乳および卵黄タンパク質を乳化剤として DAG および TAG エマルションの乳化特性および界面特性を比較検討したものであり、評価すべき主な点は以下の通りである。

1. 乳清タンパク質の主要成分である β -ラクトグロブリン (β -LG) を用いて乳化を試み、TAG だけでなく DAG から微細な粒子のエマルションを調製できることを示した。両油滴表面に吸着した β -LG の吸着量、高次構造およびプロテアーゼ分解の受けやすさには大きな違いがあることを示し、 β -LG は TAG および DAG 油滴表面に異なった状態で吸着していることを明らかにした。

2. β -LG を用いて乳化した TAG および DAG エマルションの安定性について検討を加えた。比較のために、疎水度の高い油であるテトラデカンエマルションについても検討を行った。TAG および DAG エマルションは、調製後 72 時間経過しても、その粒度分布には変化はなく安定であったのに対し、テトラデカンエマルションの場合には著しく油滴の凝集が進んでいた。このような違いが見られる原因について、 ζ 電位測定、吸着タンパク質の定量、蛍光スペクトル解析等の結果を総合し考察を加えた。

3. 卵黄を乳化剤として使用した場合、TAG からは微細なエマルションを調製することができたが、DAG の場合、良好なエマルションを得ることはできなかった。しかし、卵黄をホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) 処理することにより、DAG のエマルション粒子は細かく分散し安定な状態を示した。その原因について検討した結果、卵黄に含まれるリン脂質が、DAG エマルションの乳化特性に大きな影響を与えていることを明らかにした。

4. 前項で得られた結果の理由を明らかにするため、卵黄の主成分である低密度リポタンパク質 (LDL) を用いて DAG 及び TAG エマルションの乳化特性を比較検討した。その結果、LDL 中のアポタンパク質の吸着挙動には、TAG と DAG の違いにかかわらず、また LDL の PLA₂ 処理の有無にかかわらず大きな違いは認められなかった。一方、³¹P NMR による解析の結果、未処理 LDL に含まれるリン脂質は DAG に溶け込むが、PLA₂ 処理した LDL 中のリゾリン脂質は DAG の油滴表面に存在し界面を安定化することによって、DAG を微細な状態に分散させていることを明らかにした。

以上のように、本論文は、食品産業においてよく利用されている乳および卵黄タンパク質を用い、さらに酵素処理技術も組み合わせることにより、微細な O/W 型 DAG エマルションを調製できることを示すとともに、その乳化の分子論的メカニズムを明らかにしたものである。得られた知見は、DAG の乳化食品への利用拡大を図る上で重要なものであり、食品科学、品質評価学、食品健康科学に寄与するところが多い。

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 9 月 18 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。