

乳化性測定方法の検討

水谷 令子

Discussion on the Methods of the Estimation of Emulsifying Properties

Reiko Mizutani

1. 緒 言

乳化は調理や食品加工の過程でしばしば行われる操作である。異なる種類の乳化剤を用いたり、異なった方法でエマルジョンを調製した際に、その適否や優劣を判断するためには調製したエマルジョンを定量的に評価することが必要となる。

調理操作上では、乳化剤は全卵、または卵黄に限られるが、食品加工上では肉類、種々のタンパク質、さらには合成乳化剤なども使用されることが多い。いずれの場合も複合系での乳化性が問題とされることになるし、乳化剤以外の操作上の諸条件も複雑に影響する。従って、複合系での乳化性の評価は、調製されたエマルジョンについておこなうのが適当であろう。

乳化剤は2つの面から評価される。すなわち、乳化力と乳化安定性である。乳化容量は一定量の乳化剤がどれほど多くの油を分散し得るかというものであり、乳化活性は一定量の乳化剤がどれだけ油液界面を広げることが出来るかというもので、両者を乳化力といっている。実際面を考えると、調製されたエマルジョンの安定性を調べるのが重要となる。乳化安定性は、乳化剤の性質、分散相の条件、乳化操作法などによって影響をうける。

本研究は、モデル系として乳化剤は牛血清アルブミン（以下BSAという）と卵レシチン（以下レシチンという）を用い、乳化力、乳化安定性を測定した例を示し、実験上の注意、問題点などについて報告するものである。

2. 実験材料と実験方法

BSAはSigma製（Fraction V）、レシチンはアセトン沈澱法¹⁾によって新鮮な鶏卵卵黄より調製したレシチンを用いた。油脂は市販落花油（米山薬品工業KK）を用いた。

エマルジョンの調製は次のようにして行った。油と乳化剤水溶液を2.8×8.0cmの試験管に入れ、polytoron（kinematica社製 Model CH-6010）を用いて、10,000rpmで60秒間攪拌した。試料の総容積が異なると測定結果に差が出来るために、油と乳化剤の比率が異なる実験では容

量が4 mlとなるように配分した。乳化活性の測定は、Pearce と Kinsella の方法²⁾に準じた。調製したエマルジョンを0.1% Triton X-100溶液で500~1,000倍に希釈した。これを1 cmのセルを用いて500nmでの吸光度を測定し、この吸光度をもって乳化活性値とした。

エマルジョン中に分散している脂肪球のサイズを測定する実験では、調製したエマルジョンを0.1% Triton X-100溶液で25~50倍に希釈し、中心部が丸くくぼんだホールスライドグラスにのせて光学顕微鏡で観察し、写真撮影した。異なった視野の写真の脂肪球の直径を計測し、その分散状態を下記の Mita の式³⁾を使って体積平均の脂肪球の大きさを求めた。

$$D_v = 3 \sqrt{\frac{\sum N_i D_i^3}{\sum N_i}}$$

D; 分散脂肪球の直径

N; それぞれのサイズの個数

Creaming Stability Rate の測定は、Torunberg の方法⁴⁾に準じた。調製したエマルジョンの上層を一定量とって、これをエチルエーテルで抽出し、溶媒を蒸発させた後、残った油脂の重量を測定した。

Creaming Stability Rate (SR) は次の式により求めた。

$$SR = \left(1 - \frac{F_1 - F_0}{F_0}\right) \times 100$$

F₀ = 調製直後のエマルジョン一定量に含まれる脂肪量

F₁ = 48時間後に生じたクリームの一量中に含まれる脂肪量

3. 結果と検討

(1) 乳化力測定について

Waniska ら⁵⁾は調製したエマルジョンを希釈して、光電光度計を用いて測定した時の濁度はエマルジョン中に分散している油液界面積に比例することを見いだした。すなわち、希釈エマルジョンの濁度はエマルジョン中に分散している油滴(脂肪球)の大きさに比例する。この方法は少量の試料で測定が可能なこと、操作が簡単なこと、再現性が良いことなどから現在では多くの研究者によって用いられている。Pearce ら²⁾は下に示した式を用いて乳化活性係数(Emulsifying Activity Rate: EAI)を算定し、種々のタンパク質の乳化活性値を求めている。

$$EAI \text{ (単位: } m^2, g^{-1}) = 2T / \phi C$$

T = 吸光度

C = 単位容積当りのタンパク質重量

ϕ = 油容量比

EAIは測定された吸光度を油の容量比と用いた乳化剤の濃度で割って求められる。即ち、乳化剤が広げた油液界面積を示す EAI は乳化剤の濃度と油の容量比との関数として示される。

レシチンと BSA を用いて調製したエマルジョンを0.1% Triton X-100溶液で500倍に希釈し、その500nmでの吸光度、すなわち、Pearce らの方法に準じて濁度を測定した (Fig. 1)。BSA, レシチンともにそれぞれ濃度が高くなるにしたがって吸光度は上昇したが両者ではその様子が少し異なった。

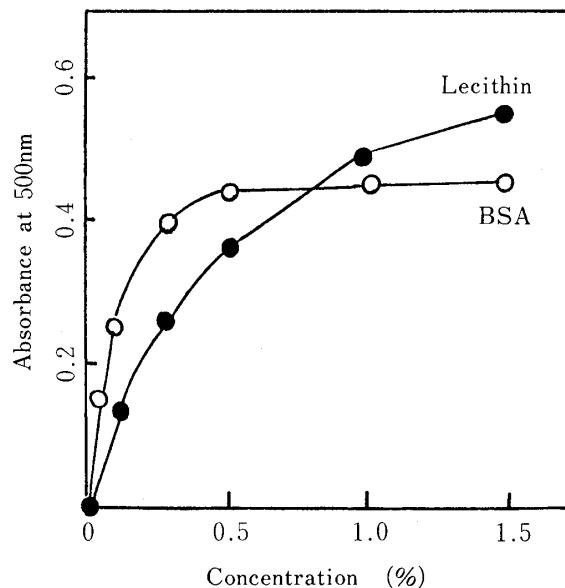


Fig.1 Absorbance at 500 nm of emulsions as a function of BSA or lecithin concentration.

BSA では約0.5%までは濃度にしたがって直線的に吸光度は上昇した。しかし、0.5%以上では吸光度はほとんど変化しない。一方、レシチンではかなり高い濃度まで吸光度が上昇し続ける。従ってこの例で示されるような場合に Pearce らの式によって乳化活性値；EAI を求めるときには乳化剤濃度と吸光度が比例する範囲で測定された吸光度を用いる必要があることが解る。

乳化剤（この実験では乳化剤に卵黄低密度リポタンパク質；LDL を用いた⁶⁾濃度を一定にし、油の容量比を変化させて調製したエマルジョンの濁度を測定すると Fig. 2 のようになる。

油の容量比が0.5付近までは油量に従って濁度は著しく上昇する。さきに述べた Pearce らの濁度法を用いて乳化活性値を測定する場合には油容量比が小さいエマルジョン（この場合には0.4以下）を調製して行い、正確な測定値を得るためには油の採取量は厳密にする必要がある。著者は油の比重を考慮して重量で秤りをとることによって再現性のある結果を得た。

尚、急に濁度が下がる点は乳化容量を示していることになるため、乳化剤濃度をもとに計算して求めることが出来る。

調製したエマルジョンを約20倍に希釈して光学顕微鏡で観察するとエマルジョン中に分散し

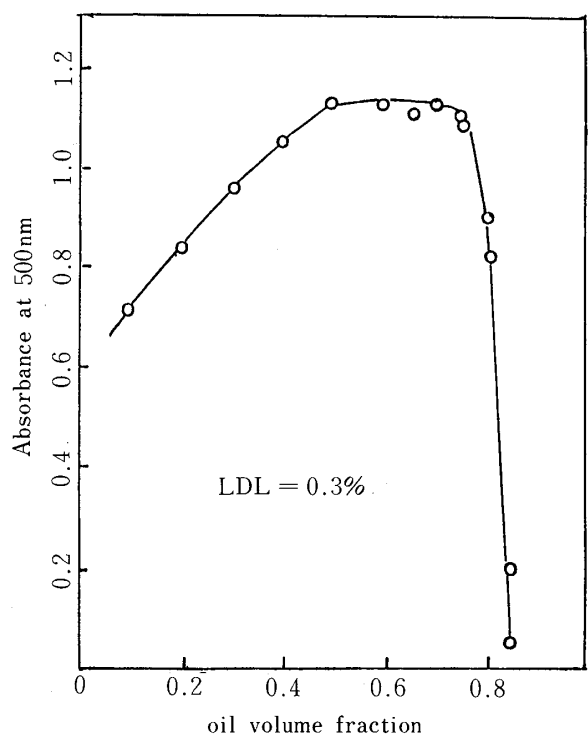


Fig.2 Absorbance at 500 nm LDL-emulsion as a function of oil volume fraction.

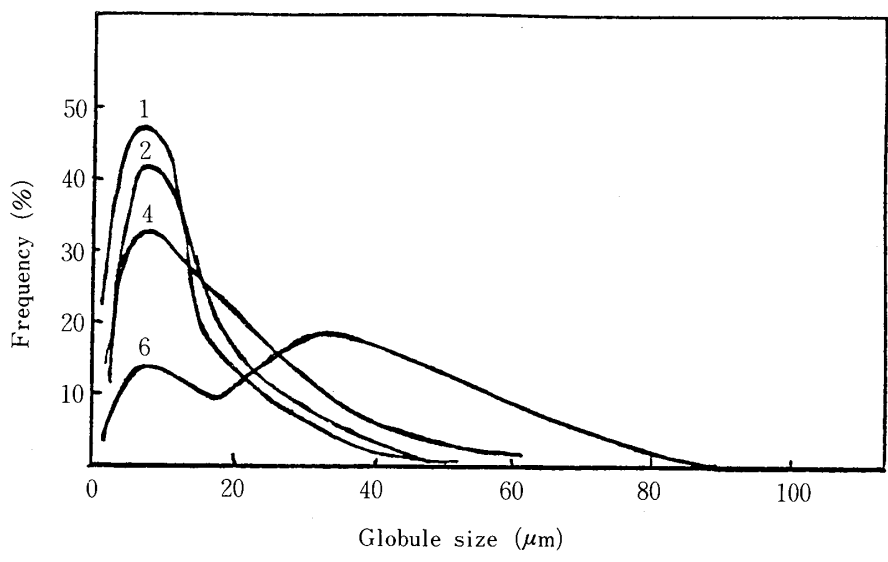


Fig.3 Globule size distribution of the emulsions prepared with BSA. $\phi = 0.5$

ている脂肪球を見ることが出来る。小さな脂肪球が分散しているエマルジョンほど良質なエマルジョンと考えられるのでこの脂肪球の大きさを測定することによってもエマルジョンの品質や用いた乳化剤の良否を知り得ると考えられる。

様々な視野の写真を取り、1試料につき500~1,000個の脂肪球の直径を測定した。その分布は Fig. 3 に示した。図中の数字は BSA 濃度の異なる溶液を用いて調製したエマルジョンであることを示している。数字の小さい方が高濃度の BSA 溶液である。BSA 濃度が大きいほど小さな脂肪球の分布が多くなっている。

BSA 濃度を横軸に、平均脂肪球サイズを縦軸にとって図にすると Fig. 4 のようになり、濁度測定の結果 (Fig. 1) と比較的よく対応した。種々の条件で得られた濁度測定値を横軸に、平均脂肪球サイズを縦軸にして、プロットすると Fig. 5 のようになり、両者はよく相関した。その相関係数は0.996であった。

以上により Pearce と Kinsalla の濁度法はこれまで述べてきたような注意をしながら適用すればエマルジョンの分散状態をよく反映している優れた方法であることが解った。

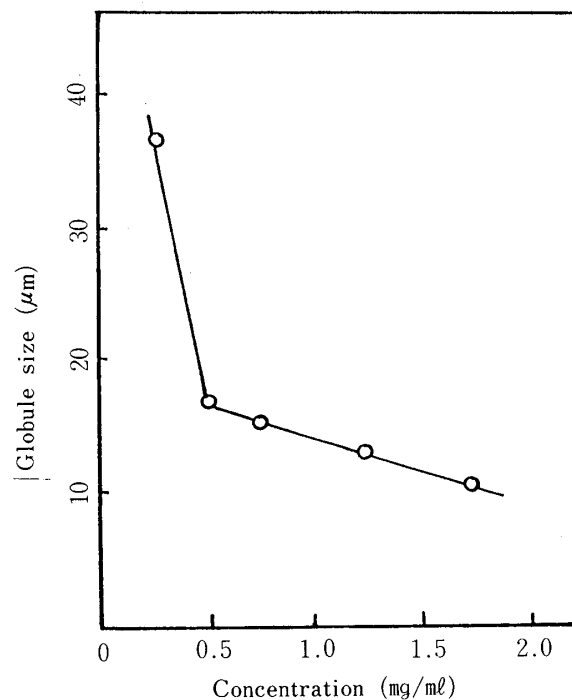


Fig.4 Globule size of the emulsions prepared with BSA as a function of BSA concentration.

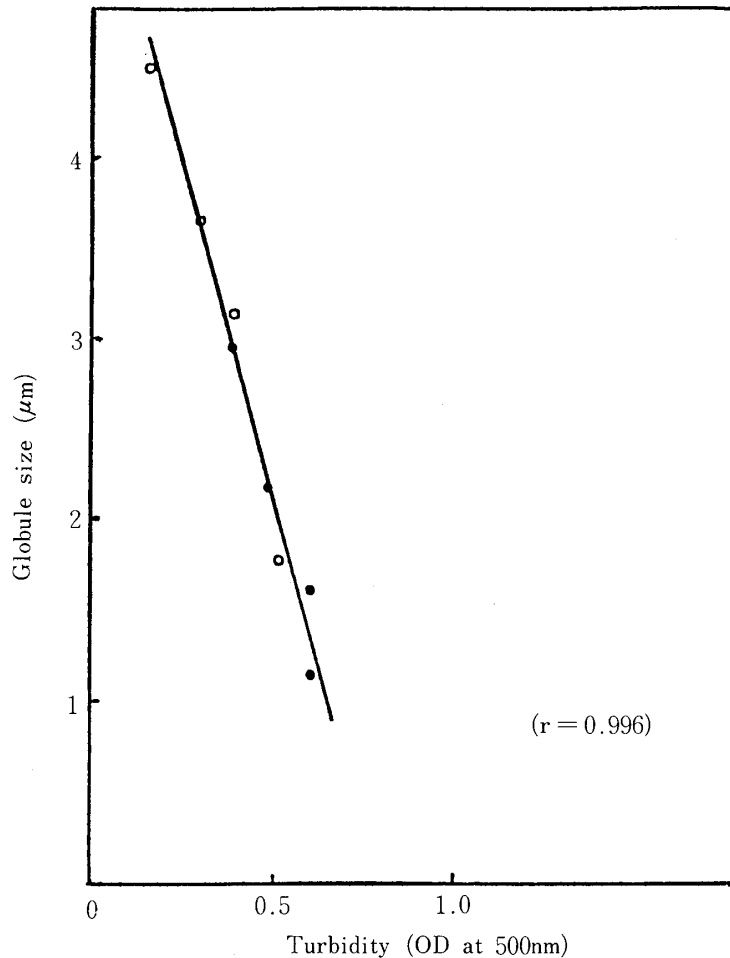


Fig.5 Relationship between globule size and turbidity (OD at 500nm).

(2) 乳化安定性測定について

油容量比の小さいエマルションを放置しておくとお層部に脂肪球が浮き上がってくる。この現象をクリーミングといっている。クリーミングは可逆的な現象で、直接エマルションの破壊とは関係ないが、油滴同士が接触し易くなるので油滴が合一する機会が増し、エマルションの破壊につながると考えられる。

Torunberg はエマルションを一定時間放置し、クリーム中の脂肪量を定量して、エマルションの安定性の指標とした⁴⁾これを Creaming Stability Rate といつて、100に近いほどエマルションの安定性は高く、0ではエマルションがまったく壊れたことを意味する。

Table 1 は、BSA 及びレシチンを用いて調整したエマルションを37℃に48時間放置して Creaming Stability Rate を測定した例である。Aは0.25%、Bは3% BSA 溶液を用いて調整したエマルションである。

BSA 濃度が大きいとき Stability Rate は高くなる。また、BSA とレシチンを比較すると BSA の方が安定なエマルションを作るといえる。

	Stability Rate (%)	
	Emulsion A	Emulsion B
BSA	51.1±0.4	98.7±1.2
Lecithin	0	51.2±1.5
BSA+Lecithin	0	47.2±1.8

Emulsion A ; 0.25% solution

B ; 3.0 % solution

Table 1 Creaming Stability Rate of Emulsions

この方法は測定が簡単ではあるがクリーミング現象は比重に大きく影響されるし、微妙な安定性の違いや油の容量比の異なるエマルションへの適用が難しいという欠点がある。

エマルションが壊れる過程では、油滴同士が合一する。脂肪球サイズは次第に大きくなり、最後には油が連続相となって、エマルションの破壊が起こる。このことから脂肪球サイズを測定し、その変化を調べるとエマルションの安定性を知ることが出来る。一定の油容量比でエマルションを調製して、経日的に脂肪球サイズの変化を調べた。BSA の濃度が高いほど小さな脂肪球となることは Fig. 3, 4, 5 に示したが、保存日数が長くなるにしたがって脂肪球サイズは次第に大きくなった (Fig. 6)。脂肪球の直径が $3\mu\text{m}$ 以上になるとエマルションは不安定な状態となるため、0.3% BSA エマルションは保存に耐えないものである。

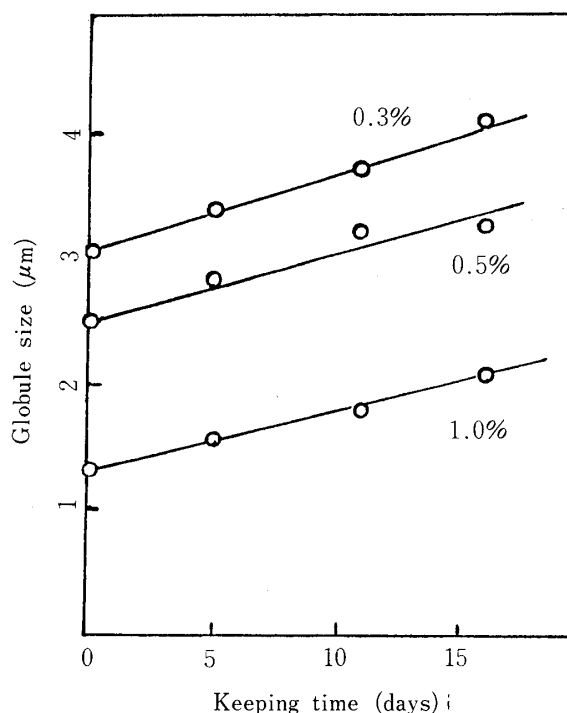


Fig.6 Changes in the globule size of BSA-emulsions. storage temp.; 37°C , oil volume fraction; $2/3$

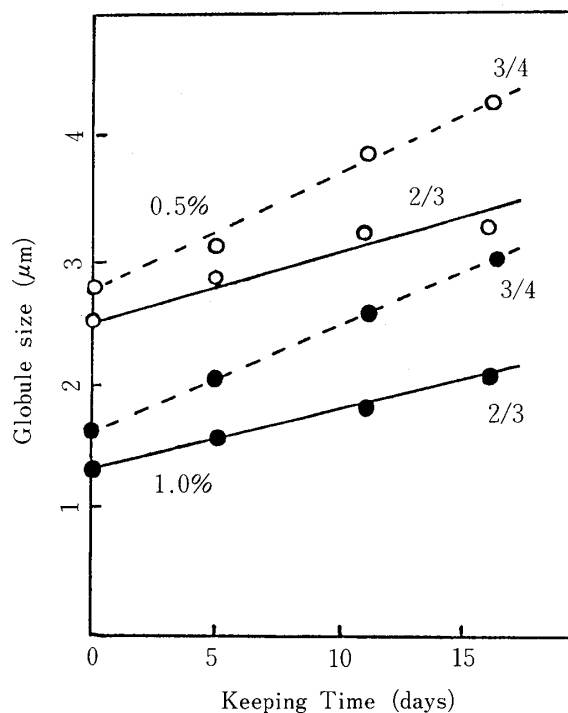


Fig.7 Changes in the globule size of BSA-emulsions during storage at 37°C.

0.5%, 1.0% BSA 溶液用い, それぞれ油容量比を3/4, 2/3として調製したエマルションの貯蔵中の脂肪球サイズの変化を示したのが Fig. 7 である。図中の変化速度を示す線の傾きには, 実線より破線の方が急である。乳化剤に対して油量が多くなるほど貯蔵中の脂肪球サイズの変化が大きく, 不安定なエマルションであることがわかる。脂肪球は乳化剤量が多いほど合一が起り難く, 安定である。これは油滴の合一が吸着膜の厚さや強度と関係があるためと考えている。

この脂肪球サイズを測定して安定性を調べる方法は, 直接エマルションの分散状態を反映しているので優れた方法であると考えられる。

最近では, 粒子サイズを測定するカウンターもあるが, 我々の行った方法では非常に時間と労力を要した。

なお, Pearce らの濁度法を用いてエマルションの安定性を調べる場合, 即ち, 保存した後の濁度を比較して安定性の指標とすることは, 保存中に, 乳化剤であるタンパク質が会合, あるいは凝集することにより溶液が濁ることがある。従って, エマルションの安定性を濁度法によって測定することは避けた方がよいと思われる。

4. 要 約

- (1) 乳化活性値を Pearce らの濁度法を用いて測定する場合には、乳化剤濃度と濁度が比例する範囲内で測定する必要がある。
- (2) Pearce & Kinsalla の濁度法による吸光度とエマルション中の脂肪球サイズとはよく関連した。
- (3) Creaming Stability Rate は比重と大きく関係するのでエマルションの安定性測定の方法としては必ずしも適当な方法ではないが、測定操作が簡便であるため安定性についての参考となる。
- (4) エマルション中に分散している脂肪球サイズの経日的な変化によってエマルションの安定性を調べる事が出来る。

参 考 文 献

- 1) Singleton, W. S., Gray, M. S., Brown, M. L. & White, J. L.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **45**, 53 (1965)
- 2) Pearce, K. N., & Kinsella, J. E.: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 716 (1981)
- 3) Mita, T., Yamada, K., Matsumoto, S. & Yonezawa, D., *J. Texture Stud.*: **4**, 41 (1973)
- 4) Tornberg, E.: *J. Food Sci.*, **43**, 1559 (1978)
- 5) Waniska, R. D., Shetty, J. K. & Kinsella, J. E.: *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 826 (1981)
- 6) Reiko Mizutani & Ryo Nakamura: *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.*, **17**, 213 (1984)