



Title	K-カラギーナンゲルに及ぼす乳成分の影響
Author(s)	清瀧, 兼司; KIYOTAKI, Kenji; 仁木, 良哉 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 15(2), 186-191
Issue Date	1987-01-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/12063
Type	departmental bulletin paper
File Information	15(2)_p186-191.pdf



κ -カラギーナンゲルに及ぼす乳成分の影響

清瀧兼司・仁木良哉

齋藤善一・有馬俊六郎¹⁾

(北海道大学農学部酪農科学研究施設)

(昭和61年7月4日受理)

Effects of Some Milk Constituents on κ -Carrageenan Gel

Kenji KIYOTAKI, Ryoya NIKI, Zenichi SAITO
and Shunrokuro ARIMA

(Institute of Dairy Science, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

緒 言

紅藻類から抽出されるカラギーナンは、硫酸基を含む直鎖の多糖で、その硫酸基を介して蛋白質と反応する性質があり、乳製品の安定剤として使用されている。また、牛乳中の主要塩類であるカリウム、カルシウム存在下で、それぞれ物性の異なるゲルを形成する¹⁾。ゲル化は、カラギーナン糖鎖のランダムコイルが、冷却によって二重らせん構造を形成し、さらにその二重らせん鎖が K^+ や Ca^{2+} のような正イオンと硫酸基との相互作用によって集合して網目構造を形成することによる²⁾。

GRINDROD & NICKERSON⁴⁾によると、 κ -カラギーナンは、カゼインと相互作用し、 α_s 、 β -カゼインはカルシウム存在下で、 κ -カゼインはカルシウムの存在の如何にかかわらず相互作用する。HANSEN⁵⁾は、カラギーナンが牛乳中の α_s -カゼインをカルシウム沈澱に対して安定化すると報告した。OZAWA¹¹⁾は、 κ -カラギーナンと β -カゼインはカルシウム塩橋を仲立ちにして相互作用するであろうと報告した。

本研究の目的は、乳成分と κ -カラギーナンとの相互作用をゲルの性質の変化という見地から明らかにすることである。そのために、クリーブ試験による静的粘弾性測定により、乳清主要塩類であるカリウム、カルシウム添加により形成される κ -カラギーナンゲルの性質を調べた。さらに、乳蛋白質を添加することによって、ゲルの性質が、どのように変化するかを検討した。

材料と方法

1. κ -カラギーナンの調製

粉末 κ -カラギーナン (Sigma 社製) を 70°C の脱イオン水に溶解し、約 1% 溶液を作製した。この溶液を、10 mM EDTA 溶液に対して 12 時間、脱イオン水に対して 3 日間透析して脱塩した後、凍結乾燥した。乾燥物を脱イオン水に溶解して 1% κ -カラギーナン溶液を調製した。

2. 乳蛋白質の調製

北海道大学農学部附属農場のホルスタイン種牛群の合乳より酸カゼインを調製した。酸カゼイン調製の際、遠心分離によってカゼインを除去した上澄を限外ろ過によって濃縮した。濃縮液を脱イオン水に対して透析し、不溶性となった沈澱物を少量の NaCl を加え溶解後、1N NaOH で中性として、凍結乾燥し、全乳清蛋白とした。 α_s 、 κ -カゼインは、ZITTLE & CUSTER の方法¹⁵⁾、 β -カゼインは HIPP らの方法⁶⁾、 β -ラクトグロブリンは、ASCHAFFENBURG らの方法¹⁾ によって調製した。

3. κ -カラギーナンの調製

最終的に、塩蛋白質が所定の濃度となるように 50 mM イミダゾール塩酸緩衝液 (pH 7.0) を加えた溶液 8 ml を、10 ml 容ビーカーに入れ 50°C に加温した。特に断らない限り、1% κ -カラギーナン溶液 (50°C) 2 ml をそれに添加し、均一になるよう攪拌した。ゴム栓をして恒温槽中に水平に保持し、室温から 0°C 迄、徐々に温度を下げてゲル化させ、1日保持した。イオン濃度は基本的

1) 現住所 九州東海大学農学部畜産学科

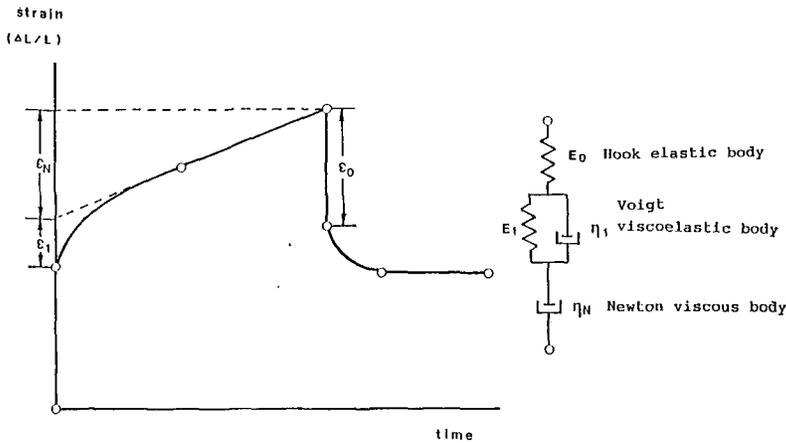


Fig. 1. Creep curve and four elements models.

ΔL : deformation L : Initial height

に、牛乳の平均的 K^+ , Ca^{2+} , Na^+ 濃度とし¹⁰⁾, 負イオンは Cl^- で統一した。

4. クリープ現象の測定

クリープメーター (山電 RE 3305) に、5 mm 径のプランジャーを装着し、荷重時間 5 分、試料台速度 5 mm/sec とした。荷重は歪と荷重の線形性の範囲に設定し、特に断らない限り、2 g とした。恒温装置を用い、測定は $0^\circ C$ で行った。

5. クリープ現象の解析

κ -カラギーナンのクリープ現象 (Fig. 1) の解析は、除重後の瞬間変形 (ϵ_0), 粘弾性部の変形 (ϵ_1), 定常粘性部の変形 (ϵ_N) について行った。それぞれの変形は、フック, フォークト, ニュートンのモデルで解析し、弾性率, 粘性率, 遅延時間を以下の方式によって算出した。また、クリープ曲線は、荷重開始時の瞬間変形に含まれる塑性歪をクリープ歪から差し引き、3 回の測定の平均値を示した。

1) フックの瞬間弾性体

応力 (dyn/cm²) P : 荷重 (g) \times 980/面積 (cm²)

歪 ϵ_0

弾性率 (dyn/cm²) $E_0 = P/\epsilon_0$

2) フォークトの粘弾性体

歪 ϵ_1

弾性率 (dyn/cm²) $E_1 = P/\epsilon_1$

遅延時間 (sec) τ $\epsilon_1(1 - e^{-1})$ になる圧縮変形に要する時間

粘性率 (poise) $\eta_1 = \tau \cdot E_1$

3) ニュートンの定常粘性体

歪 ϵ_N

荷重時間 (sec) t

粘性率 (poise) $\eta_N = P \cdot t / \epsilon_N$

結 果

1. カリウムおよびカルシウムの影響

脱塩した状態での κ -カラギーナンは低温では、粘性の高い溶液であるが、塩が存在すると低温でゲル化する。そこで、実際の牛乳の系を想定して、カリウムとカルシウムが混在する場合の κ -カラギーナンゲルの性質を調べた。牛乳中の平均的濃度である 39.4 mM のカリウム存在下で 0.2% κ -カラギーナンゲルを作り、その際、カルシウムを 0~10 mM 添加した場合の弾性率, 粘性率, 遅延時間を Table 1 に示した。カルシウムの添加により、ゲルの性質は明らかに変化し、フック体の弾性率 (E_0) の増加, フォークト体の弾性率 (E_1) とニュートン体の粘性率 (η_N) の減少が観察された。

次に、カリウムおよびカルシウムが単独で存在する場合のカラギーナンのゲル化について検討した。クリープ曲線から、それぞれの弾性率, 粘性率, 遅延時間を求め、Table 2 にその結果を示した。カリウムゲルに比較して、カルシウムゲルは、一定応力当りの歪が大きく、フック体の弾性率 (E_0) が同程度のゲルを比較したが、フォークト体の弾性率 (E_1), フォークト体の粘性率 (η_1) は低く、遅延時間 (τ) は長かった。また、ニュートン体の粘性率 (η_N) は低かった。

2. 乳蛋白質添加の影響

乳蛋白質の約 80% を占める。カゼインは主に α_s , β -および κ -カゼインから成る。そこで、牛乳中の平均的濃度のカリウム, ナトリウム, イオン性カルシウムを含む

Table 1. Effects of calcium on the elasticity, viscosity and retardation time of potassium gel

CaCl ₂ (mM)	E_0 (10 ⁵ dyn/cm ²)	E_1 (10 ⁵ dyn/cm ²)	τ (sec)	η_1 (10 ⁷ poise)	η_N (10 ⁷ poise)
Control	2.7	4.9	25	1.2	13.0
1	3.0	4.4	24	1.1	11.4
2	3.0	4.2	23	1.0	10.5
3	3.3	4.2	24	1.0	10.0
4	3.3	3.8	24	0.9	9.2
5	3.4	3.4	27	0.9	9.0
6	3.6	3.1	32	1.0	8.3
7	4.0	2.8	32	0.9	7.9
8	3.9	2.8	30	0.8	7.7
9	3.9	2.8	32	0.9	7.5
10	3.9	2.8	31	0.9	7.3

Control: 0.2% κ -carrageenan, 39.4 mM KCl, 50 mM imidazole-HCl pH 7.0.

Table 2. The elasticity, viscosity and retardation time of potassium-gel and calcium-gel

	E_0 (10 ⁵ dyn/cm ²)	E_1 (10 ⁵ dyn/cm ²)	τ (sec)	η_1 (10 ⁷ poise)	η_N (10 ⁷ poise)
K-gel	2.3	4.4	27	1.2	9.7
Ca-gel	2.3	1.4	36	0.5	3.2

K-gel: 0.2% κ -Carrageenan, 39.4 mM KCl, 50 mM Imidazole-HCl pH 7.0, stress 2g.

Ca-gel: 0.3% κ -Carrageenan, 6 mM CaCl, 50 mM Imidazole-HCl pH 7.0, stress 1g.

Table 3. Effects of caseins on the elasticity, viscosity and retardation time of 39.4 mM potassium+18.3 mM sodium+3 mM calcium system gel

	E_0 (10 ⁵ dyn/cm ²)	E_1 (10 ⁵ dyn/cm ²)	τ (sec)	η_1 (10 ⁷ poise)	η_N (10 ⁷ poise)
Control	3.3	4.2	23	1.0	8.8
1% Whole-Cn	3.6	4.5	23	1.0	14.2
1% α_s -Cn	3.1	4.8	20	1.0	12.6
1% β -Cn	3.2	4.4	27	1.2	9.6
1% κ -Cn	3.8	5.2	23	1.2	19.6

Control: 0.2% κ -carrageenan, 39.4 mM KCl, 18.3 mM NaCl, 3 mM CaCl₂ 50 mM imidazole-HCl pH 7.0.

系に、全カゼインおよび α_s -、 β -、 κ -カゼインを1%添加した時のゲルの性質の変化を調べた (Table 3)。

無添加の場合と比較して、全カゼインを1%添加することにより、 E_0 が1.1倍、 E_1 が1.1倍、 η_N が1.6倍になり、ゲルの弾性および粘性が増加した。さらに、カゼイン成分ごとに調べると、ゲルに対する影響は大きい順に $\kappa > \alpha_s > \beta$ -カゼインであった。 κ -カゼインを添加した場合、 E_0 、 E_1 、 η_1 、 η_N が増加した。一方、 α_s - および β -カゼインの添加は η_N を増加させたが、 E_0 をわずかに減少させた。

成分ごとに調べると、ゲルに対する影響は大きい順に $\kappa > \alpha_s > \beta$ -カゼインであった。 κ -カゼインを添加した場合、 E_0 、 E_1 、 η_1 、 η_N が増加した。一方、 α_s - および β -カゼインの添加は η_N を増加させたが、 E_0 をわずかに減少させた。

次に、乳清蛋白質のカラギーナンゲルに及ぼす影響について調べた。牛乳中の平均的なカリウム、ナトリウム、イオン性カルシウムの系に全乳清蛋白質および乳清蛋白質の主成分であるβ-ラクトグロブリンをそれぞれ1%添加したときのゲルの性質変化を調べた。

全乳清蛋白質およびβ-ラクトグロブリンが、ゲルにおよぼす影響は少なく、カゼイン添加の場合ほどゲルの性質を変化させなかった (Fig. 2)。全乳清蛋白質とβ-ラクトグロブリンとを比較すると、全乳清蛋白質の方が、幾分ゲルに対する影響が強かった。

3. カルシウムの存在とα_s-カゼイン添加の影響

カゼインは、カルシウムと結合して、その状態が変化する。カルシウムのカゼインへの結合性は、強い順にα_s>β->κ-カゼインである³⁾。そこで、カルシウムの存在が、α_s-カゼインを添加した時のκ-カラギーナンゲルの性質の変化に、どのように関わるかについて検討した。

39.4 mM カリウム, 3 mM カルシウムを含む系と, 39.4 mM カリウム, 9 mM ナトリウムを含む系にα_s-カゼインを1% 添加した時の0.2% κ-カラギーナンゲルの弾性率, 粘性率, 遅延時間を Table 4 に示した。

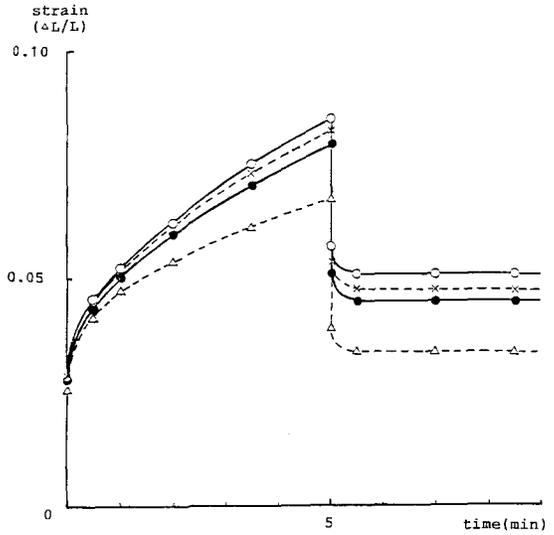


Fig. 2. Effects of whey proteins on creep curve of 39.4 mM potassium+18.3 mM sodium+3 mM calcium system gel.

Control: 0.2% κ-carrageenan, 39.4 mM KCl, 18.3 mM NaCl, 3 mM CaCl₂, 50 mM imidazole-HCl pH 7.0 ○—○

Added protein: Whole whey, protein ●—●, β-lactoglobulin ×---×, Whole casein △---△

Table 4. Effects of α_s-casein on the elasticity, viscosity and retardation time of 39.4 mM potassium+9 mM sodium or 3 mM calcium system gel

		E_0 (10 ⁵ dyn/cm ²)	E_1 (10 ⁵ dyn/cm ²)	τ (sec)	η_1 (10 ⁷ poise)	η_N (10 ⁷ poise)
9 mM Sodium	Control	2.8	4.4	24	1.0	12.8
	1% α _s -Cn	3.0	4.5	24	1.1	14.9
3 mM Calcium	Control	3.4	4.3	24	1.0	9.8
	1% α _s -Cn	3.2	4.5	24	1.1	16.3

Control: 0.2% κ-carrageenan, 39.4 mM KCl, 9 mM NaCl or 3 mM CaCl₂, 50 mM imidazole-HCl, pH 7.0.

カルシウムを含んだ系での E_0 の減少, η_N の顕著な増加が観察された。

考 察

1. カリウムおよびカルシウムの影響

カリウム存在下でのゲルとカルシウム存在下でのゲルを比較すると、前者は、高い E_1 , η_1 , η_N より網目構造の強いゲル、後者は、反対に弱いゲルを形成すると考えられる。このことは、ゲル破断試験より得られた OZAWA の結果¹¹⁾ と一致した。

一方、カリウムの系にカルシウムを添加することによって、ゲルは、 E_0 の増加, E_1 の減少から見るとより硬く、 η_1 と η_N の減少から見るとより脆くなると考えられる。また、構造的に考察すると、カルシウムは、 E_0 の増加より、κ-カラギーナンの硫酸基に対するカウンターイオンとして、硫酸基間の反発力を弱め、網目構造の結合点を増加させると考えられる。更に、カルシウムの添加はゲルの E_1 , η_1 , η_N の減少をもたらす、荷重し続けることによって流動しやすく、網目構造の結合点の結合力を弱めると考えられる。

渡瀬¹⁴⁾は、 κ -カラギーナンのゲルを強める効果は、 Li^+ 、 Na^+ より K^+ 、 Cs^+ の方が強いとし、前者が水の構造に対して構造形成イオンであり、後者は構造破壊イオンであるためと考察した。この事に関連して、 Ca^{2+} などの多価イオンは、水の構造形成イオンであり、 Ca^{+2} を含む κ -カラギーナンゲルにおいて、水の構造形成がカラギーナン網目構造を弱め、反対に、水の構造破壊イオンである K^+ の存在する κ -カラギーナンゲルでは、水の構造破壊が網目構造を強めると考えられる。

2. 乳蛋白質添加の影響

κ -カラギーナンとカゼインとの相互作用について、数々の研究が報告されている^{2,4,5,11,12,13)}。本研究における κ -カラギーナンを含む系への全カゼインの添加によるゲルの E_0 、 η_1 、 η_N の増加 (Table 3) は、 κ -カラギーナンとカゼインとが相互作用することによる、 κ -カラギーナンゲルの網目構造の強化を意味するものと推定した。つまり、カゼイン粒子が、周辺の κ -カラギーナン二重らせん鎖のランダムな部位と結合し²⁾、網目構造の結合点を増加させ、同時に、その結合力を強めたと考えた。

一方、乳清蛋白質については、ゼーラムアルブミン以外には κ -カラギーナンと相互作用をしないとされている⁴⁾。そのために、クリープ曲線に大きな影響を与えないと考えられる (Fig. 2)。

カゼイン成分ごとに調べた結果 (Table 3) から、最もゲルの弾性、粘性を強めたカゼインは、 κ -カゼインであった。 κ -カゼインは、正負の解離基が局部的に偏在する構造を持つので、そのプラス域が、 κ -カラギーナンのマイナスに荷電した硫酸基と直接に相互作用し¹³⁾、ゲルの網目構造を強化したと思われる。

α_s -および β -カゼインは、カルシウムと結合して、それ自体の状態が変化するために、カラギーナンゲルへの影響は複雑であり、更に、検討が必要であると考えられる。

3. カルシウム存在下での α -カゼイン添加の影響

カルシウムを含んだ系に α_s -カゼインを添加してゲルを作ると、カルシウムを含んだ κ -カラギーナンゲルの硬く、脆い性質が改善された (Table 4)。SKURA & NAKAI¹²⁾は、 κ -カラギーナンによる α_s -カゼインのカルシウムに対する安定性の増加は κ -カラギーナンのカルシウム架橋の形成によると考えた。Table 4はカルシウムの存在によって、 α_s -カゼイン添加ゲルの弾性および粘性が更に強くなることを示している。このことは、 α_s -カゼイン添加 κ -カラギーナンゲルが α_s -カゼインと κ -カラギーナンとのカルシウム架橋を形成し、更に、網

目構造を強化していることを示している。

摘 要

κ -カラギーナンゲルのレオロジー的特性に及ぼすカリウム、カルシウム、乳蛋白質の影響を調べるために、ゲルのクリープ (一定荷重における変形の時間的経過と除重後の回復) を測定した。

κ -カラギーナンのカリウム存在によって形成されるゲルは、高いフォークト体の弾性率、粘性率、と高いニュートン体の粘性率を示す強いゲルであり、一方、カルシウム存在によるゲルは弱いゲルであった。

カリウムの系にカルシウムを添加することにより、フック体の弾性率が増加し、フォークト体の弾性率、粘性率が減少し、硬く、脆いゲルとなった。

カリウム、ナトリウム、カルシウムを牛乳のイオン濃度と同程度含む系に、カゼインを添加することによって、ゲルの弾性率および粘性率が増加した。各成分ごとに調べるとゲルに対する影響は大きい順に κ -カゼイン> α_s -カゼイン> β -カゼインであった。

一方、乳清蛋白質の添加のゲルに及ぼす影響は少なかった。

本研究の一部は乳清研究会奨学寄付金によった。

引用文献

1. ASCHAFFENBURG, E. R., REES, D. A. and ROBINSON, G.: Improved method for the preparation of crystalline β -lactoglobulin and α -lactalbumin from cow's milk, *Biochem. J.*, **65**: 273-277. 1957
2. CHAKRABORTY, B. K. and HANSEN, P. M. T.: Electron microscopy of protein/hydrocolloid interaction system, *J. Dairy Sci.*, **54**: 754. 1971
3. DICKERSON, I. R. and PERKINS, D. J.: Studies on the interactions between purified bovine caseins and alkaline-earth-metal ions, *Biochem. J.*, **124**: 235-240. 1971
4. GRINDROD, J. and NICKERSON, T. A.: Effect of various gums on skimmilk and purified milk proteins, *J. Dairy Sci.*, **51**: 834-841. 1968
5. HANSEN, P. M. T.: Stabilization of α_s -casein by carrageenan, *J. Dairy Sci.*, **51**: 192-195. 1968
6. HIPPEL, N. J., GROVES, M. L., CUSTER, H. J. and MCMEEKIN, T. J.: Separation of α -, β - and r -casein, *J. Dairy Sci.*, **35**: 272. 1952
7. MORRIS, E. R., REES, D. A. and ROBINSON, G.: Cation-specific aggregation of carrageenan

helices (Domain model of polymer gel structure), *J. Mol. Biol.*, **138**: 349-362. 1980

8. 中川鶴太郎：レオロジー（第2版），p. 157-172, 岩波書店. 1983
9. 中浜信子：調理におけるレオロジー的研究, 家政学雑誌, **23**: 18-26. 1972
10. 仁木良哉：乳タンパク質の構造, *New Food Industry*, **22**(11): 2-16. 1980
11. OZAWA, K.: Interaction between β -casein and κ -carrageenan, Doctoral dissertation, Faculty of Agriculture, Hokkaido University. 1985
12. SKURA, B. J. and NAKAI, S.: Stabilization of α_s -casein by κ -carrageenan in the presence of calcium, *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **14**: 59-63. 1981
13. SNOEREN, TH. H. M., PAYENS, T. A. J., JEUNINK, J. and BOTH, P.: Electrostatic interaction between κ -carrageenan and κ -casein, *Milchwissenschaft*, **30**: 393-396. 1975
14. 渡瀬峰男：ハイドロゲルの熱的およびレオロジー的性質, *New Food Industry*, **28**(2): 49-54. 1986
15. ZITTLE, C. A. and CUSTER, J. H.: Purification and some of the properties of α_s -casein, *J. Dairy Sci.*, **46**: 1183-1188. 1963

Summary

The effects of potassium, calcium and milk proteins on the rheological property of κ -carrageenan gel were investigated by creep measurement.

The κ -carrageenan potassium system gel was a tough gel which had a high elasticity (E_1), viscosity (η_1) of Voigt body and a high viscosity of Newton body (η_N). Inversely, the κ -carrageenan calcium system gel was a weak gel.

By the addition of calcium in potassium system gel, an increase in elasticity of Hook body (E_0) and a decrease in E_1 , η_1 , η_N were observed. It meant that the potassium system gel became more rigid and brittle following the addition of calcium.

By the addition of casein in potassium, calcium, sodium system gel, an increase in gel's elasticity (E_0 , E_1) and viscosity (η_1 , η_N) was observed. The effect of casein components on κ -carrageenan gel was large in the following order: κ -casein > α_s -casein > β -casein.

The effect of whey proteins on κ -carrageenan gel was less than that of any casein component.

The calcium binding ability of α_s -casein participates in the interaction between α_s -casein and κ -carrageenan.