

## 塩蔵オキアミの利用に関する研究（第2報）

——オキアミたん白濃縮物（KPC）の機能特性——

河端 信・田口邦子・大槻耕三・田中敬子\*

### Studies on Utilization of Salted Antarctic Krill (*Euphausia superba*) (II)

—Some Functional Properties of the Krill Protein Concentrate(KPC)—

MAKOTO KAWABATA, KUNIKO TAGUCHI, KOZO OHTSUKI  
and YOSHIKO TANAKA\*

The protein characteristics and the functional properties of the krill protein concentrate (KPC) from salted antarctic krill were compared with those of KPC from raw frozen krill.

Water holding capacity, emulsifying capacity, emulsion stability, foaming capacity and foam stability were determined as the parameters for the functional properties of the KPC.

A slight proteolysis on the myosin heavy chain during salting of the krill was suggested from the results of the gel filtration on Sephadex G-100 and SDS-polyacrylamide slab gel electrophoresis.

There is no significant difference between the functional properties of KPC from salted krill and that from raw frozen krill.

(Received July 28, 1979)

#### 緒 言

新しいたん白源としての南極オキアミ (*Euphausia superba*) の利用法について、現在までわが国では、ボイル凍結品、むき身凍結品、すり身などの形態で一部実用化されている<sup>1)</sup>が、コストの問題、オキアミのもつ濃厚な味による嗜好上の問題等が未解決であり、大量消費にまでは至っていない。

著者ら<sup>2)</sup>はさきに、塩蔵オキアミからイソプロピルアルコール抽出法により、脂質、色素、エキスを分離し、淡色無味無臭のオキアミたん白濃縮物（KPC）を調製し、その化学成分の分析を行なった。その結果 KPC のたん白質はアミノ酸組成の上からも畜肉魚肉

に匹敵する栄養価をもち、一度も加熱されていないことから、たん白質の特性を生かした新しい加工食品用の素材として、広い範囲での利用が期待される。

今回は、この KPC を新しいたん白質素材として食品に利用するための基礎的資料を得るため、KPC 中の可溶性たん白の性状 および 機能的な特性 (Functional Property) として保水性、乳化性 および 起泡性について、生凍結オキアミから得られた KPC と比較検討を行なって、2, 3 の知見を得たので報告する。

#### 実 験 方 法

##### 1. 実験材料

用いた KPC は前報<sup>2)</sup>の方法により調製した。以下

京都府立大学食物学科食品学講座

Laboratory of Food Chemistry, Department of Food Science, Kyoto Prefectural University

\* 光華女子短期大学

Koka Women's Junior College

生凍結オキアミから調製した KPC を生凍結 KPC, 塩蔵オキアミから調製した KPC を塩蔵 KPC とする。

## 2. KPC の可溶性<sup>3)</sup>

KPC 1g に 8M 尿素-20mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) 20 ml を加えて沸騰浴中で 2 分間加熱した後, SDS および 2-メルカプトエタノールを終濃度 1% となるように加えて室温で一晩攪拌する。ついで, 10,000×g, 10 分間, 遠心分離して得られた上清を 0.1% SDS-5 mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) に一夜透析して可溶たん白液とする。

## 3. SDS-ゲル法<sup>4)</sup>

上記で可溶化したたん白液 1 ml について, 0.1% SDS-5mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) で緩衝化したセファデックス G-100 をつめたカラム (3.0×28.0cm) を用いて, ゲル法を行なう。溶出液は, フラクションコレクターで 5 ml ずつ分画し, ミクロビュレット法<sup>4)</sup>でたん白量の測定を行なう。

## 4. SDS-ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動法<sup>5)</sup>

上記で可溶化したたん白液および 0.6 M KCl 可溶たん白について, 0.1% SDS を含む 12.5% ポリアクリルアミドスラブゲルを用い, 0.1% SDS を含む 0.025 M-トリス, 0.192 M-グリシン緩衝液, 27 mA (2 mA/cm) の条件で約 2 時間泳動を行ない, Coomassie Brilliant Blue R-250 で染色を行なう。

## 5. 機能特性 (Functional Property)

### 1) 保水力<sup>6)</sup> (Water Holding Capacity)

KPC 1g を 3.5% NaCl 溶液 30ml に懸濁して pH を調整する。10 分間マグネチックスターラーで攪拌した後, 85°C の湯浴中で 15 分間加熱を行ない, 10 分間冷却した後 4,000 rpm, 15 分間, 遠心分離を行ない上清を除く。吸水した KPC の一定量を採取し, 赤外線水分計 (ケット製, F-1A 型) で乾燥を行ない, 乾燥重量 1g に対する保水量 (ml/g) として表わす。

### 2) 乳化力<sup>7)</sup> (Emulsifying Capacity)

KPC 1g と 5% NaCl (0.02 M NaHCO<sub>3</sub>, pH 7.5) 10 ml をホモブレンダー (日本精機, Ace-AM-8) の 30 ml 容のカップに入れ, 5,000rpm, 3 分間攪拌後, コーン油 10 ml を加えて, さらに 16,000 rpm, 1.5 分間攪拌する。ついで, 乳化液 10 ml を目盛付試験管に入れ, 沸騰浴中で 30 分間加熱し, 冷却後分離した水層の容積を差引いて, 全乳化液に対する残存乳化液の容積百分率として表わす。

### 3) 乳化安定性<sup>8)</sup> (Emulsion Stability)

KPC 1g と 1.0 M クエン酸-リン酸緩衝液 (pH 7.0) 75 ml をホモブレンダーの 100 ml 容カップに入れ, 5,000 rpm, 1 分間攪拌する。ついでコーン油 25 ml

を加えて 16,000 rpm, 2 分間攪拌する。この乳化液をメスシリンダーに移し, エマルジョンがこわれて分離するまでの時間 (min.) を測定して乳化安定性として表わす。

### 4) 起泡力と泡安定性<sup>9)</sup> (Foaming Capacity and Foam Stability)

KPC 1g に 25 ml の種々の濃度の食塩溶液を加え, pH を調整した後ホモブレンダーの 100 ml 容カップに移し, 15,000 rpm, 3 分間泡立て, 3 分後再び 3 分間泡立てる。この液をメスシリンダーに移し入れ, 1 分後および 60 分後の泡の容積を測定する。懸濁液 100 ml に相当する 1 分後の泡の容積を起泡力, 60 分後の泡の容積を泡安定性, 1 分後の泡の容積に対する 60 分後の泡の減少量を変化率, 懸濁液量に対して, 起泡後に増加した容積を容積増加率として表わす。

### 5) 塩可溶たん白量<sup>9)</sup> (Salt soluble protein)

KPC 1g に 5% NaCl (0.02 M NaHCO<sub>3</sub>, pH 7.5) 25 ml を加えて, マグネチックスターラーで 3 時間, 室温で攪拌して抽出を行なう。抽出液を濾過して濾液中のたん白量をミクロビュレット法で定量する。

### 6) 懸濁固形物量<sup>6)</sup> (Suspended solids)

KPC 1g に蒸留水 25 ml を加えて, マグネチックスターラーで 3 時間攪拌を行なう。この液をメスシリンダーに移し入れ, 1.5 時間放置後, 上部液 5 ml を秤量瓶にとり, 105°C で乾燥して固形物量を求める。

## 実験結果および考察

### 1. 可溶化たん白の SDS ゲル法<sup>4)</sup>

一般にたん白質の溶解性が保水力, 乳化力および起泡力に与える影響は大きい<sup>10)</sup>とされているので, まず, KPC の溶解性について検討した結果を Table 1 に示した。塩蔵により, 5% NaCl に対する溶解性は減少している。8 M 尿素処理では, 生凍結および塩蔵

Table 1. Solubilization of the Protein from Krill Protein Concentrate (KPC)

KPC	Solubility (%) <sup>a)</sup>	
	5% NaCl <sup>b)</sup>	8M Urea <sup>c)</sup>
Raw frozen	20.6	88.0
Salted (A)	15.5	94.4
(B)	9.5	82.5

(A) dialyzed, (B) washed with acetic acid before dehydration

a) soluble protein (%) to total protein in KPC

b) in 0.02M NaHCO<sub>3</sub> (pH 7.5)

c) in 1% SDS-1% 2-mercaptoethanol-20mM phosphate buffer (pH 7.2)

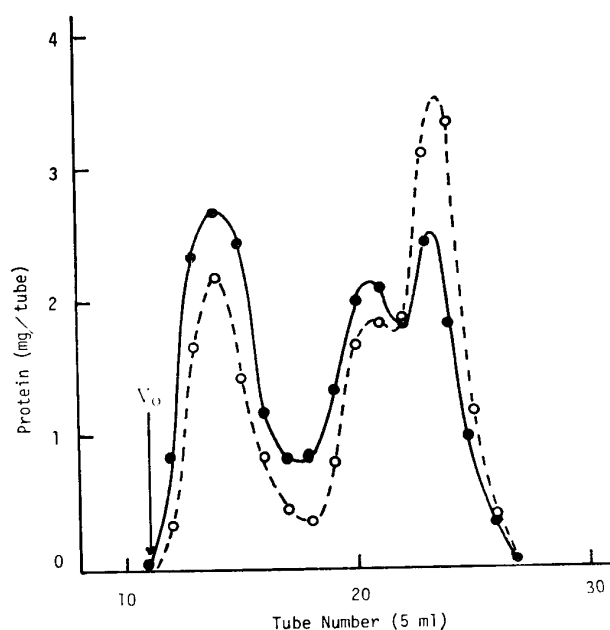


Fig. 1. Gel Filtration Patterns of KPC on Sephadex G-100 in the Presence of SDS

●—● KPC from Raw Frozen Krill,  
○---○ KPC from Salted Krill

KPC was solubilized with 8M urea-1% SDS-1% 2-mercaptoethanol-20mM phosphate buffer (pH 7.2). A column (3.0×28.0cm) was equilibrated with 0.1% SDS-5mM phosphate buffer (pH 7.2) and eluted with the same solution. Void volume are indicated by the arrow.

KPC のたん白質のほとんど全部が可溶化 されていることを示している。

KPC のたん白組成を検討する手段として、8 M 尿素で可溶化した液について SDS ゲル濾過を行なった結果を Fig. 1 に示した。マイクロビュレット反応によるプロットでは3つのピークに分画され、第1、第2、第3のピークの比率は、生凍結 KPC では45 : 25 : 30、塩蔵 KPC では33 : 23 : 44となり、塩蔵 KPC では、生凍結 KPC に比べて明らかに第1ピークの減少と第3ピークの増加が見られた。この結果を、関ら<sup>3)</sup>の行なった生凍結オキアミのゲル濾過パターンから推定すると、第1ピークは主としてミオシンの heavy chains と考えられ、このたん白質画分が塩蔵中に一部分解されて低分子量のたん白質に移行していることを示している。

## 2. SDS ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動

0.6 M KCl および 8 M 尿素可溶たん白について、電気泳動を行なった結果を Fig. 2 に示した。0.6 M KCl 可溶画分においては明らかな差が認められ、生凍結 KPC では4本のバンドが認められたが、塩蔵 KPC では分子量46,000付近のバンドが消失して、30,000付

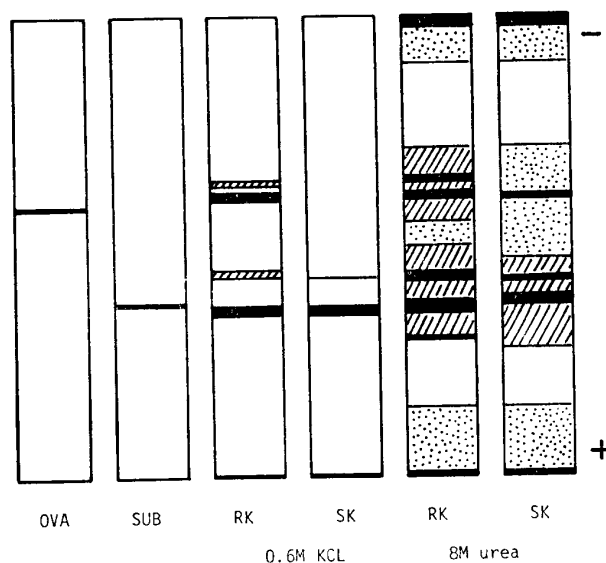


Fig. 2. SDS 12.5% Polyacrylamide Slab Gel Electrophoretic Patterns of Soluble Proteins in KPC

OVA : Ovalbumin (M. W. 43,000)

SUB : Subtilisin (M. W. 27,600)

RK : KPC from Raw Frozen Krill

SK : KPC from Salted Krill

Electrophoresis was performed with 0.025M Tris-0.192M Glycine- 0.1% SDS buffer (pH 8.6) at 27mA (2mA/cm) for 2 hrs.

近の2本のバンドしか存在しない。また、8 M 尿素可溶たん白においても、塩蔵 KPC では高分子量画分のバンドが減少している。これは、Fig. 1 のセファデックス G-100 によるゲル濾過の結果ともよく一致している。

これらの結果から、塩蔵中にたん白質の高分子量部分が分解を受けていることがわかった。

## 3. 機能特性

どのような方法が、機能特性の測定法として最も食品加工に相応しているかは、その材料によって異なり実際の場合と一致しないこともある。したがって、製品に近い成分組成中の挙動として評価するのが理想的であるが、均一条件を得ることが難しいので、今回は、保水力、乳化力および起泡力について、生凍結 KPC と塩蔵 KPC を比較した結果を Table 2に示した。なお、塩蔵 KPC については、透析後乾燥した試料を塩蔵 KPC(A)、酢酸洗浄後乾燥した試料を塩蔵 KPC(B) として比較した。

### 1) 保水力

保水力、乳化力は medium の pH の影響が大きくたん白質の溶解性と平行関係にあるといわれている<sup>10)</sup>が Table 3 の結果から、KPC においては、pH 4.0で

Table 2. Functional Properties of KPC

Functional Property		KPC	
		from Raw Frozen Krill	from Salted Krill (A) (B)
Water Holding Capacity <sup>a)</sup>	(ml/g)	4.9	4.6 3.3
Emulsifying Capacity <sup>b)</sup>	(%)	95	94 84
Emulsion Stability <sup>c)</sup>	(min)	10	25 35
Foaming Capacity <sup>d)</sup>	(ml)	336	380 128
Foam Stability <sup>e)</sup>	(ml)	220	250 100
Foam volume change	(%)	34.2	24.2 21.9
Volume increase	(%)	240	252 88
Suspended solids	(%)	13.5	14.8 4.8
pH of suspension		6.95	6.75 4.65

(A) dialyzed, (B) washed with acetic acid before dehydration.

a) amount to water retained per gram of dry KPC.

b) percentage of oil & water, bound to the KPC after heat treatment.

c) time required to emulsion breakdown.

d) volume of foam after 1 min. (pH 7.0, 0.5MNaCl)

e) volume of foam remained after standing for 60 min.

Table 3. Effect of pH on Emulsion Stability and Water Holding Capacity of KPC from Salted Antarctic Krill

pH	Emulsion Stability (min)	Water Holding Capacity (ml/g)
2.0	60	4.4
4.0	0	3.9
7.0	25	4.6
8.5	0	4.7

最低の値を示し、KPC のたん白質の等電点が pH4.0 付近にあることがわかった。pH 7.0における生凍結 KPC と塩蔵 KPC(A) の保水力を比較すると大差は見られないが、塩蔵 KPC(B) が低い値を示すのは、乾燥前の酸洗浄により、懸濁液の pH が4.65 を示していることから、pH の影響と考えられる。

## 2) 乳化力

乳化力についても Table 2 に示した結果から、生凍結 KPC と塩蔵 KPC(A) ではほとんど差が見られないが、乳化安定性は塩蔵 KPC の方がすぐれている。乳化安定性に対する pH の影響は、Table 3に示した通り、pH 4.0および pH 8.5で0となり、pH 2.0で最も高い値を示している。

## 3) 起泡力

起泡力は Table 2 に示した通り、生凍結 KPC よりも塩蔵 KPC(A) の方がややすぐれており、いずれも、もとの懸濁液容積の3.4~3.8倍に増加し、すぐれた起泡力を有していることがわかった。

起泡性に及ぼす塩濃度の影響を Table 4に示したが、食塩濃度を0, 0.1, 0.5, 1.0 M と変化させた結果、塩濃度の増加につれて起泡力はやや増加の傾向を示し、安定性も増加した。

Table 4. Effect of NaCl Concentration on Whippability of KPC from Salted Antarctic Krill

NaCl Concentration (M)	Foaming Capacity <sup>a)</sup> (ml)	Foam Stability <sup>b)</sup> (ml)	Foam volume change (%)	Volume increase (%)
0	332	250	24.7	252
0.1	372	248	33.3	280
0.5	380	280	24.2	288
1.0	388	324	16.5	308

a) volume of foam after 1 min.

b) volume of foam after 60 min.

Table 5. Effect of pH on Whippability of KPC from Salted Antarctic Krill

pH	Suspension medium	Foaming Capacity (ml)	Foam Stability (ml)	Foam Volume Change (%)	Volume increase (%)
2.0	water	288	220	23.6	208
	0.5M NaCl	192	134	30.2	140
4.0	water	132	96	23.7	92
	0.5M NaCl	116	80	31.0	88
7.0	water	332	250	24.7	252
	0.5M NaCl	380	288	24.2	288
8.5	water	316	228	27.8	220
	0.5M NaCl	488	420	13.9	388

Each suspension contains 4% KPC and pH were adjusted with 1.0 N-HCl and 1.0 N-NaOH

起泡性に及ぼす pH の影響は Table 5 に示した通り顕著に現われており, pH 4.0 で最低の値を示し, pH 7.0 における起泡力の約1/3の値しか示さない. Table 2 に示した塩蔵 KPC(B) の起泡力が塩蔵 KPC (A) の 1/3 の値しか示さないのは, pH の影響であると考えられる.

また, 同じ pH において水と0.5 M 食塩水の場合について比較すると, 酸性側の pH では食塩の存在が抑制的に働き, 起泡力, 泡安定性ともに, 水の場合よりも低い値を示しているが, pH 7.0~8.5 においては, 食塩の存在により起泡力, 泡安定性ともに増加している. このように, 起泡力も, 保水力および乳化力と同じ傾向を示し, たん白質の溶解性と密接に関連していると考えられる.

以上の結果から, 酸洗浄処理を行なった塩蔵 KPC (B) は塩蔵 KPC(A) に比べて, 機能特性がいずれも低い値を示したが, 酸洗浄後, 中和処理を行なった試料は塩蔵 KPC(A) に近い値を示すことが認められたので, 塩蔵 KPC(B) の場合も, 使用時に pH の調整を行なえば, 実用面において支障をきたすことはない.

今回, 実験を行なった範囲では, 塩蔵 KPC が生凍結 KPC に比べて, 特に劣る点は見られず, かえって起泡力はすぐれており, 新しいたん白素材として加工食品への応用範囲は広いと考えられる.

### 要 約

1. KPC 中の 5% NaCl 可溶たん白は, 生凍結 KPC では20.6%, 塩蔵 KPC では15.5% であるが, 8 M 尿素によりそのほとんどが可溶化された.
2. 塩蔵 KPC 中のたん白は生凍結 KPC 中のたん白

に比べて低分子量たん白の増加が見られ, 塩蔵により分解が進んでいることが, SDS を含むセファデックス G-100 によるゲル透過法および SDS ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動法により認められた.

3. KPC の機能特性の測定結果より, 塩蔵 KPC は生凍結 KPC に比べて, 保水力はやや劣るが, 乳化力は大差なく, 乳化安定性, 起泡力および泡安定性においてすぐれていることがわかった.

(1979年 7月28日 受理)

### 文 献

- 1) 木村 進: ジャパンフードサイエンス, **16**(8), 28 (1977)
- 2) 河端 信, 田口邦子, 大槻耕三, 田中敬子: 京都府大学報 (理学・生活科学), **29**, 27 (1978)
- 3) 関 伸夫, 小沢竜太郎, 新井健一: 日水誌, **41**, 1287 (1975)
- 4) 生化学研究法 II, p 443, 朝倉書店 (1967)
- 5) 鈴木勝彦: 遺伝, **11**, 43 (1977)
- 6) G. C. Smith, Hyunil Juhn, Z. L. Carpenter, K. F. Mattil and C. M. Cater: *J. Food Sci.*, **38**, 849 (1973)
- 7) D. L. Dubrow, A. Kramer and A. D. Mcphee: *J. Food Sci.*, **38**, 1012 (1973)
- 8) J. Spinelli, B. Koury and R. Miller: *J. Food Sci.*, **37**, 604 (1972)
- 9) A. S. Antonio, H. V. Carolyn and L. O. Robert: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 855 (1978)
- 10) 山内文男: 食工誌, **26**, 266 (1979)