

凍結による卵黄の流動性の変化について(1)*

卵黄構成相と凍結条件

佐藤 泰**・中村 良**・土屋友一***

On the Fluidity of Yolk after Freezing-thawing. Part I.

Yolk constituent phase and freezing conditions.

YASUSHI SATO, RYO NAKAMURA and YUICHI TSUCHIYA.

卵黄を凍結すると、解凍後の流動性に変化があらわれ、ゲル状を呈する。この変化は古くから知られており、この変化を防ぐ実用的方法として、蔗糖、食塩、グリセリンなどを添加することが考えられている¹⁾。しかし、この変化に関する基礎的研究はほとんどなされておらず、その変化機構に対してリポ蛋白質の寄与が推定されている以外は、ほとんど明らかにされていない。

本研究は、解凍後の卵黄が示す流動性の特徴を明らかにするため、ニュートン流体についても非ニュートン流体についても、比較的広い範囲の粘度を測定できるダブルコーン型粘度計を用いて、解凍した卵黄の流動性に及ぼす凍結条件ならびにプラズマ、グラニュール、水などの卵黄構成相の影響を実験考察した。つきにその結果につき報告する。

実験方法および結果

1. 実験方法

(1) 卵黄

同一飼料で飼われた白レグ種より得られた新鮮卵より、常法²⁾により卵白および卵黄膜を除いて分離したものを使用した。

(2) 凍結ならびに解凍方法

卵黄を内容約 10 ml の小型ガラス蒸発皿に入れ、水分の蒸発を防ぐためにアルミ箔で表面をおおったのち、

-10°、-20° および -196°C に所定時間保持した。凍結時間は卵黄内部が所定温度に達するまでの時間をあらかじめ測定しておき、実際の保持時間からこの値をさしひいた値をもって表示した。

また、解凍はすべて室温 (25~30°C) で行なった³⁾。解凍に要した時間はすべて 20 分以内であった。

(3) 流動性の測定

流動性の測定には、直径約 10 cm の 2 枚の円錐よりなるダブル・コーン型粘度計 (リオン製作所製) を使用した。測定は室温で行なったが、測定中の卵黄の温度はすべて 20~25°C の範囲にあった。

また、測定結果は種々のずり応力に対するずり速度の関係として図示し (粘度曲線)、とくに粘度の値を示す場合には、ずり速度 7.5 sec^{-1} における値をもってした。なお、塑性流動の場合を含めたべき関数流動方程式 $e' = k(P-\theta)^n$ (e' はずり速度, P はずり応力, θ は降伏値) の n の値を求めるために、ずり応力と粘度曲線を外挿して求めた降伏値の差を計算し、この値をずり速度に対して両対数目盛で図示し (流動曲線)、流動曲線の勾配の測定を行なった。

(4) プラズマならびにグラニュール区分

SCHMIDT らの方法³⁾ に従い、卵黄を毎分 40,000 回転で 3 時間遠心分離することにより行なった。分離したプラズマは顕微鏡観察を行ない、グラニュールが存在しない

* 蛋白エマルジョンの性質に関する研究 (第 1 報)

** 名古屋大学農学部農芸化学科 (名古屋市千種区不老町)

*** 現在 株式会社渡辺製菓 (名古屋市西区笠取町)

Department of Agricultural Chemistry, Nagoya University. Chigusa-ku, Nagoya.

注 1): この実験で、解凍温度を最高 40°C まで上げたが、この場合の測定値は室温で解凍した場合と差がなかった。

第1表 粘度測定 の 精度

測定回数	1	2	3	4	5	6	7	8	平均	変動係数(%)
粘度(ポアズ)	280	270	265	260	280	280	320	220	270	10.2

注: 凍結条件 -20°C, 20時間

いことを確認してから使用した。また、沈澱したグラニューールは、少量のプラズマを含んだままグラニューール区分と名づけて使用した。卵黄からの分離比より考えて、ここで使用したグラニューール区分は、グラニューールとプ

ラズマのほぼ等量混合物であると考えられる注2)。

(5) オボアルブミン

新鮮卵卵白より KECKWICK および CANNAN の方法⁴⁾で調製した。これを卵黄に添加するときは、所定量を直接添加し、よく攪拌して溶解させた。

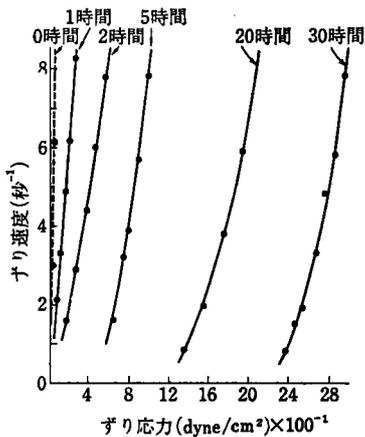
2. 実験結果

(1) 測定 の 精度

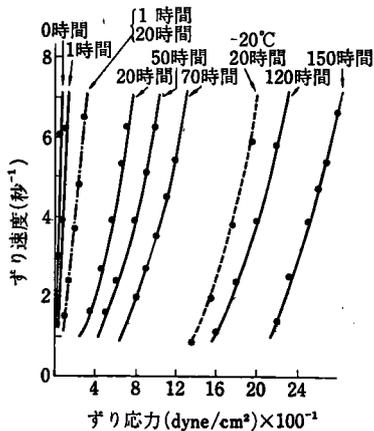
-20°C で 20 時間凍結後解凍した同一卵黄について 8 回その粘度を測定した。測定結果ならびにこれより求めた変動係数は第1表に示すとおりである。

(2) 解凍後の卵黄が示す流動性に及ぼす凍結条件の影響

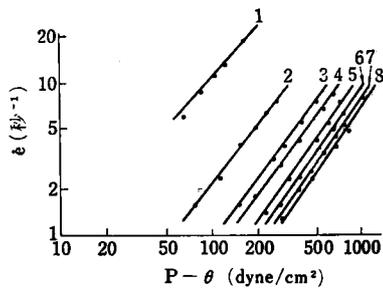
未凍結ならびに凍結解凍後の卵黄の粘度曲線は第1図



第1図 解凍卵黄の粘度曲線(1)凍結時間の影響
凍結温度: -20°C

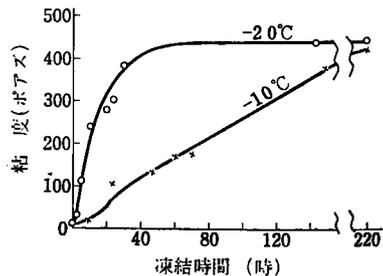


第2図 解凍卵黄の粘度曲線(2)凍結温度の影響
凍結温度: -10°C, -195°C
—: -10°C ---: -195°C



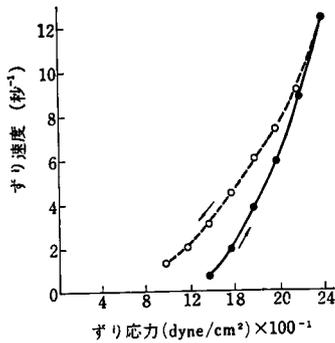
第3図 解凍卵黄の流動曲線

- 1. 未凍結
- 2. -196°C, 20時間
- 3. -20°C, 5時間
- 4. -20°C, 20時間
- 5. -20°C, 144時間
- 6. -10°C, 50時間
- 7. -10°C, 70時間
- 8. -10°C, 120時間

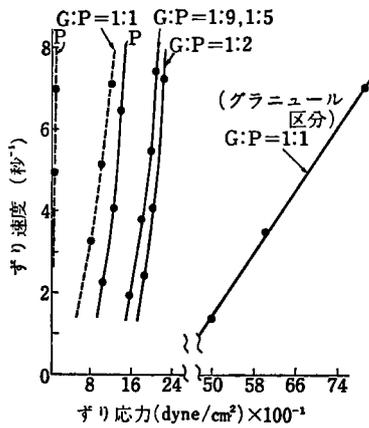


第4図 解凍卵黄の粘度に対する凍結時間の影響

注 2): 卵黄中でのプラズマとグラニューールの比率はほぼ 4:1 である⁴⁾。



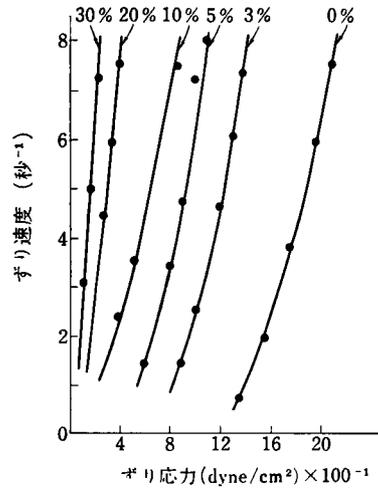
第5図 解冻卵黄のヒステリシスカーブ
凍結温度: -20°C 凍結時間: 20時間



第6図 プラズマ, グラニュール区分の粘度曲線

凍結温度: -20°C } ---: 凍結前
凍結時間: 20時間 } —: 解冻後
P: プラズマ
G: グラニュール

ならびに第2図に示すとおりであり, 流動曲線は第3図に示すとおりである。第3図より求めたn値は, 未凍結卵



第7図 解冻卵黄の粘度曲線
水を加えた場合

凍結温度: -20°C 凍結時間: 20時間

黄については 1.1, 凍結解冻卵黄については, すべての凍結条件の場合についてほぼ 1.3 であった。

凍結温度 -10°C および -20°C の場合について, 各凍結温度に対する粘度の値を図示すると, 第4図に示すとおりである。また, -20°C で 20 時間凍結し, 解冻後の卵黄のヒステリシスカーブは第5図に示すとおりである。

なお, -196°C で 20 時間凍結した場合の解冻後の粘度は 40 ポアズであり, 15 分間あるいは 1 時間凍結し解冻した場合とほぼ等しい値を示した。

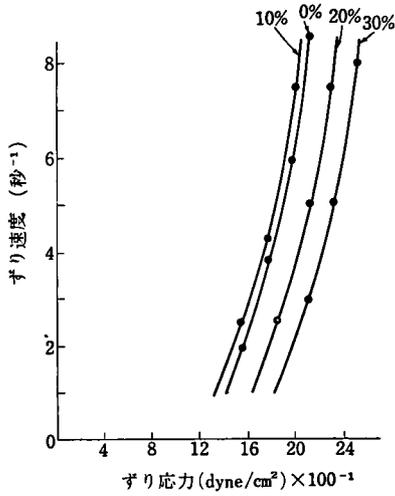
(3) プラズマとグラニュール区分の流動性に対する凍結の影響

プラズマ, グラニュール区分ならびにプラズマとグラニュールとの混合比 9:1, 5:1, 2:1 の混合物を -20°C

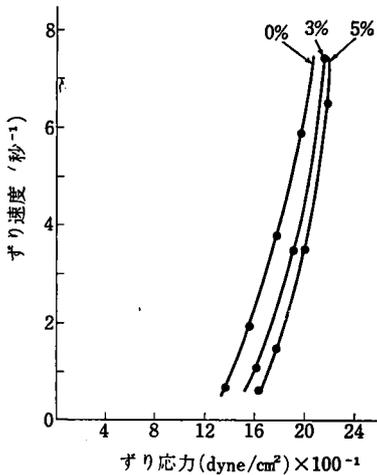
第2表 プラズマ, グラニュール区分の粘度

混合比	{ プラズマ	1	1	9	5	2
	{ グラニュール	0	1	1	1	1
			(グラニュール区分)			
粘度(ポアズ)	{ 凍結前(B)	10	170	12	15	20
	{ 凍結後(A)	185	850	250	260	275
粘度増加率(A/B)		19	5	21	17	14

注: 凍結温度: -20°C
凍結時間: 20 時間



第8図 解冻卵黄の粘度曲線
大豆油を加えた場合
凍結温度: -20°C 凍結時間: 20時間

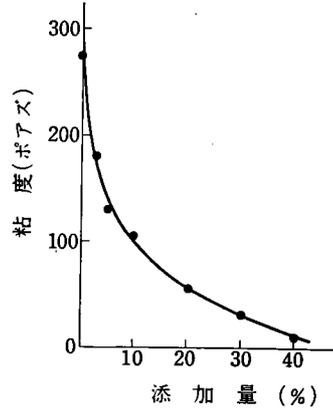


第9図 解冻卵黄の粘度曲線
オボアルブミンを加えた場合
凍結温度: -20°C
凍結時間: 20時間

で20時間凍結し解冻した場合の粘度曲線は第6図に示すとおりである。また、それぞれの未処理ならびに凍結解冻後の粘度は第2表に示すとおりである。

(4) 水、油および蛋白質添加の影響

卵黄に種々な割合で水、大豆油ならびにオボアルブミンを添加し、-20°Cで20時間凍結したのちに解冻したものの粘度曲線は第7、8図および第9図に示すとおり



第10図 解冻卵黄の粘度に対する水添加の影響
凍結温度: -20°C
凍結時間: 20時間

りである。また、水添加の場合について、各添加量に対する粘度の値を図示すると、第10図に示すとおりである。

考 察

1. 解冻後の卵黄が示す流動性に対する凍結条件の影響について

第1図および第2図において、未凍結卵黄はニュートン流体に近い流動性を示し、解冻後の卵黄は凍結条件によってその粘度曲線が異なるが、すべて非ニュートン流動性を示し、凍結時間が長くなると塑性流動性を示すことが認められる。すなわち、-10°Cでは20時間まで、-20°Cでは2時間までの凍結では、流動性の変化は小さい。また、-196°Cでは凍結時間にはあまり関係なく、流動性の変化もきわめて小さい。これに対し、-10°Cで20時間以上、または-20°Cで2時間以上凍結すると、解冻後の卵黄は塑性流動性を示すことが認められる。第3図に示すように、塑性流動の場合を含めたべき関数流動方程式のn値は凍結条件とは無関係にほぼ1.3であるから、凍結条件により流動性が異なる点は、降伏値の有無とその大小にあるものと思われる。

つぎに、その粘度の値について比較すると、第4図に示すように、-10°Cおよび-20°Cで凍結した場合には、凍結時間が長くなるにつれて粘度も増加することが認められる。この場合、粘度の増加率は凍結温度により異なり、-20°Cでは40時間までに急激に増加するのに対し、-10°Cではきわめて徐々に増加し、144時間後においてもなお粘度の増加が認められる。また、-196°Cの場合には、凍結時間を増しても粘度の増加は認められ

ず、15分凍結の場合と20時間凍結の場合の値がほぼ等しかった。

MORAN⁹⁾は、液体空气中で凍結した卵黄を、水銀蒸気中で解凍した場合に、その流動性が凍結前とほとんど差がないことを認めている。また、 -6°C で凍結した卵黄は、解凍しても粘度増加がほとんど認められないともいわれている⁹⁾。これらの報告を参照して上述の結果について考えると、解凍後の卵黄が示す流動性の変化は、凍結温度が低いほど大きい、ある温度以下になると、この変化はむしろおさえられるものと考えられる。その境界となる温度は、本実験の結果から -20°C と -196°C との間にあると考えられる。

2. 解凍後の卵黄が示す流動性に対するプラズマおよびグラニューールの寄与について

第6図に示すように、未凍結プラズマは未凍結卵黄と同様にニュートン流体に近い流動性を示し、 -20°C で20時間凍結して解凍した場合には塑性流動性を示す。これに対し、グラニューール区分は凍結しない場合にも著しい非ニュートン流動性を示し、凍結解凍した場合には降伏値が増加し、粘度曲線の形も卵黄あるいはプラズマを凍結解凍した場合と異なることが認められる。流動曲線より求めた n の値は、解凍後のプラズマの場合が解凍後の卵黄と等しくほぼ1.3であるのに対し、未凍結および解凍後のグラニューール区分ではその流動曲線が直線とはならず、 n の値を求めることができなかった。

つぎに第2表において、プラズマおよびグラニューール区分ともに凍結解凍すると粘度の増加が認められる。しかし、その増加率は、プラズマが19であるのに対し、グラニューール区分では5であり、著しく相異なる。また、グラニューール区分にプラズマを加えて、グラニューールとプラズマの割合を変えた場合の粘度の値は、プラズマのみの場合の値に近い。

以上の結果から考えると、解凍後の卵黄が示す流動性に対しては、卵黄中で溶液としては存在しないグラニューールの寄与は少なく、卵黄中で溶液として存在するプラズマの寄与がきわめて大きいものと思われる。著者らは、第2報⁷⁾において5%以上の食塩を添加してグラニューールを溶解した場合の卵黄の粘度は、凍結前においても凍結解凍したあとにおいても食塩を添加しない未凍結の卵黄の粘度より大きいことを報告する予定であるが、その結果も凍結による卵黄の粘度変化にプラズマの寄与が大きいことを支持している。

3. 解凍後の卵黄が示す流動性に対する水、油、蛋白質添加の影響について

第7図に示すように、卵黄に水を加えて凍結解凍した場合には、5%以下の少量の添加によっても流動性に变化が起こり、降伏値が著しく減少する。これに対し、卵黄に大豆油を添加した場合には、解凍後の流動性の変化は小さく、10%の添加により降伏値がわずかに減少するにもかかわらず、20%以上の添加により降伏値の増加が認められる(第8図)。また、オポアルブミン添加の場合には、大豆油の場合のような大量添加実験を行なえなかったが、添加による降伏値のわずかな増加が認められる(第9図)。

この添加物の影響は粘度に対しても明らかに認められ、大豆油およびオポアルブミン添加の影響は小さいのに対し、水添加の影響はきわめて大きく、第10図に示すように、40%の水を添加すると、解凍後の卵黄の粘度は凍結前の粘度にほぼ等しくなることが認められる。

卵黄をエマルジョンの一形態とみなし、解凍後の卵黄が示す流動性に対するエマルジョン構成成分の役割を考えた場合には、水は少なければ少ないほど、蛋白のような構造をもつものは多ければ多いほど降伏値を増す傾向があると推定される。凍結卵黄が解凍後に示す粘度曲線において凍結時間の増加にとまって降伏値が増加する傾向も、溶媒として働く水の減少によるのかもしれない。また、蛋白質の変化が溶媒として働く水の減少を誘発するのかもしれない。

これまでに、凍結による卵黄の流動性の変化に対してもっとも深い関係をもつといわれるリポ蛋白質の構造には、水が重要な働きをもつといわれている⁹⁾。また、種々の食品についての実験において、 -20°C 以下の低温でもなお自由水の一部が氷とならずに存在しているともいわれている⁹⁾。

いずれにしても、凍結による卵黄の流動性の変化を考える場合には、卵黄中の蛋白質と水の変化に注目する必要があるものと思われる。なお、油のような構造をもつものは10%以下の添加量で降伏値がわずかに減少し、20%以上の添加量によって降伏値が増加する現象については、さらに今後検討されるべきである。

要 約

-10° 、 -20° および -196°C でそれぞれ凍結し、解凍した卵黄の流動性を、ダブルコーン型粘度計を用いて測定し、つぎの結果を得た。

(1) 凍結しない卵黄は、ニュートン流体に近い流動性を示すのに対し、凍結解凍後の卵黄はすべて非ニュートン流動性を示した。しかし、その内容は凍結条件によ

って異なり、 -10°C で20時間以上あるいは -20°C で2時間以上の凍結により塑性流動性を示した。また、 -196°C では、凍結時間をのばしても流動性にはあまり変化がみられなかった。

(2) 卵黄の凍結による流動性の変化に対しては、グラニユール区分よりもプラズマ区分の寄与が大きいことが認められた。

(3) 卵黄に水を添加して凍結した場合には、凍結後の流動性の変化は著しく小さくなるのに対し、大豆油、オボアルブミンを添加した場合にはあまり大きな影響はなかった。

本報文の御校閲を賜った東京大学宇宙航空研究所 神戸博太郎教授に深謝いたします。

文 献

- 1) LOPEZ, A., FELLERS, C.R. and POWRIE, W.D.: *J. Milk Food Technol.*, 18, 77 (1955).
- 2) POWRIE, W.D., LITTLE, H. and LOPEZ, A.: *J. Food Sci.*, 28, 38 (1963).
- 3) SCHMIDT, G., BESSMAN, M.J., HICKEY, M.D. and THANHAUSER, S.J.: *J. Biol. Chem.*, 223, 1027 (1956).
- 4) 長谷川喜代三: 農化, 34, 879 (1960).
- 5) KEKWICK, R.A. and CANNAN, R.K.: *Biochem. J.*, 30, 227 (1936).
- 6) MORAN, T.: *Proc. 4th. Intern. Congr. Refriger.*, 1, 122 (1924). (文献²⁾より引用)
- 7) 佐藤 泰・中村 良: 食品工誌, 14, 461 (1967).
- 8) 今井 陽・坂上利夫: 脂質の生化学, (朝倉書店), p. 53 (1966).
- 9) 加藤舜郎・石波憲治: 食品冷凍法, (恒星社厚生閣), p. 51 (1965).

(1967年5月22日受理)