

鶏卵卵黄蛋白質成分の加熱変化について

筒井 知己*・小原 哲二郎**

Studies on the Change of Egg Yolk Protein Components by Heat

TOMOMI TSUTSUI, TETSUJIRO OBARA

When the egg yolk solution was heated at various temperature from 55°C to 100°C for 1.5 min. or 5 min., the viscosity of egg yolk increased by heating. At 100°C for 1.5 min., the viscosity of heated yolk was finally 3 fold of the viscosity of unheated yolk. When separated fractions were heated, the viscosity of LDL (Low Density Lipoprotein) increased at above 80°C. On the contrary, the viscosity of Livetin did not almost increase. The viscosity of HDL (High Density Lipoprotein) rapidly increased at above 80°C, and HDL showed highest viscosity among separated fractions. In the disc gel electrophoresis, main bands of HDL almost disappeared at above 90°C. When HDL and LDL were heated at 60°C for 5 min., particles of larger size was found in gel filtration. From the above findings, change of turbidity and viscosity of heated egg yolk was estimated to be mainly due to the coagulation of HDL and LDL.

(Received Apr. 17, 1979)

欧米各国では、プレート型熱交換機による液卵の加熱殺菌の条件として、全卵 60.5~65.5°C で 2~4 分間、卵白 59~62°C で 1.5~4 分間、卵黄 62~64.5°C で 3.5~5 分間を使用している¹⁾。また野並ら²⁾は、バッチ式殺菌の場合 55~62°C で 30 分間加熱がよく、この場合卵液の温度上昇に伴って粘度が著しく増大することが一つの問題点となっていると指摘している。さらに CUNNINGHAM ら³⁾は、卵黄を 61°C, 63°C, 65°C の異なる温度で 4 分間加熱し、Disc 電気泳動で検討した結果、63°C および 65°C の加熱における Disc 電気泳動のパターンは未加熱のものに比べ変化が認められると報告している。また SEIDEMAN ら⁴⁾は、卵黄を 61°C に加熱したものをクロマトグラフィーにかけ、未加熱のものとはほとんど差は認められなかったと報告している。さらに PARKINSON 4)⁷⁾は、卵黄を殺菌する場合、加熱により変性した蛋白質を分析して、いくつかの蛋白質に凝集や会合がおきており、分子量の分布が変わっていることを報告した。また彼⁸⁾は、加熱の際生じる不溶性物質を分離し、この成分が脂質 70%、蛋白質 30% からなるリポ蛋白質複合体であると報告している。これ以上の温度での加熱と

しては、PARKINSON⁹⁾ が全卵を噴霧乾燥し、乾燥後の蛋白質の変化を種々のクロマトグラフィーや電気泳動により検討し、脂質含量 77~81% のリポ蛋白質複合体を検出したと報告している。このように全卵もしくは卵黄を加熱し、その変化を調べた報告は見られるが、卵黄構成蛋白質を分別し、これらの熱による変化を調べたものは少なく、CHANG ら¹⁰⁾が卵黄からリベチンを取り出し、加熱変性させ、その Disc 電気泳動パターンの変化を検討したものと、BANASZAK ら¹¹⁾が Low Density Lipoprotein (HDL) を 60°C で 1 時間放置してもその物性を保持すると報告しているぐらいで、LDL, High Density Lipoprotein (HDL) についてこれ以上の詳細な検討はない。我々は、前報¹²⁾において卵黄蛋白質画分の各種 pH 処理下での変性について報告した。本報ではさらに、卵黄蛋白質画分が加熱によりどのような変化を示すかについて明らかにするため、検討を加えた。ここにその結果を報告する。

実験方法

1. 試料

- * 聖徳栄養短期大学 (〒124 東京都葛飾区西新小岩 1-4-6) (前報, 文献 12))
Seitoku Junior College of Nutrition
4-6, 1 Chome, Nishi-Shinkoiwa, Katsushika-ku, Tokyo
- ** 東京農業大学農芸化学科 (〒156 東京都世田谷区桜ヶ丘).
Tokyo University of Agriculture. Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo

鶏卵試料はオランダ産ゼックス種鶏の産卵直後の新鮮卵を用いた。

2. 各画分の調製

前報と同様に EVANS ら¹³⁾の方法に準じて卵黄を超速心分離し LDL を調製した。リベチンは RAJU ら¹⁴⁾の方法と同様に、DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーによる吸着成分を集め調製した。HDL は BURLEY ら¹⁵⁾の方法に準じ、分離した。グラニューールに10倍量の0.16 M NaCl 溶液を加え、4°C で一昼夜攪拌後、再度超速心分離し沈殿を得た。LDL および HDL 成分組成は、前報¹³⁾に示したとおりである。これら各画分を透析脱塩して、それぞれの蛋白質分画試料とした。

3. 濁度測定

各画分試料の固形物量について、4%溶液を55°C から100°C まで5°C 間隔で、それぞれ恒温水槽中で3分間および6.5分間加熱処理後、氷水中につけて氷冷し、加熱試料液とした。なお、HDL は5% NaCl 溶液に溶解したものを用いた。各画分試料液および各画分加熱試料液を1%固形物量に希釈し、各溶液の濁度は島津分光光度計 UV-150-02 を用い、650 nm で測定した透過度をもって表わした。

4. 粘度の測定

3の方法で調製した加熱試料液を、東京計器製 EDL 型粘度計で No. 66 のローターを使用して、25°C 100 rpm. ずり速度 35.0 sec^{-1} で測定し、みかけの粘度で表現した。

5. Disc 電気泳動

DAVIS¹⁷⁾の方法に準じて running gel 7%, spacer gel 12.5% のアクリルアミド含量でゲルを作成し、各加熱試料液を pH 8.3, 0.005 M トリス, 0.038 M グリシン緩衝液に、4°C で一夜透析後、これらの試料液をゲルに添加し、カラム1本あたり5 mA の定電流で泳動させた。泳動後1%アミドブラック 10B-7%酢酸溶液で蛋白質を染色した。脱色は7%酢酸溶液を用い、脱色したゲルを富士理研製 FD-AIV 型デンスitomーターにかけ580 nm の吸収を測定した。

6. ゲル口過

60°C で6.5分間加熱した試料溶液と未加熱試料溶液を pH 8, 0.5 M トリス塩酸緩衝液に、4°C で一夜透析後、LDL, HDL は固形物量 100 mg, リベチン, 卵黄は 40 mg を Sepharose-4B カラム (2×80 cm) にのせ、上述のトリス塩酸緩衝液で溶出し、280 nm の吸光度を測定した。溶出は4°C の温度で行ない、溶出速度は 10 ml/hr とした。

実験結果および考察

1. 加熱状態の検討

4%卵黄溶液を内径 15 mm, 肉厚 1 mm の試験管に 5 ml 注入し、恒温水槽中で、55°C から 100°C の各温度で加熱した場合、設定温度に到達するまでに1.5分を要し、3分間加熱の際は、実際は各設定温度で1.5分、6.5分加熱では5分加熱していることが認められた。

2. 各画分の加熱処理による濁度変化

Fig. 1 に各画分の種々の温度での加熱処理後の濁度変化を示す。

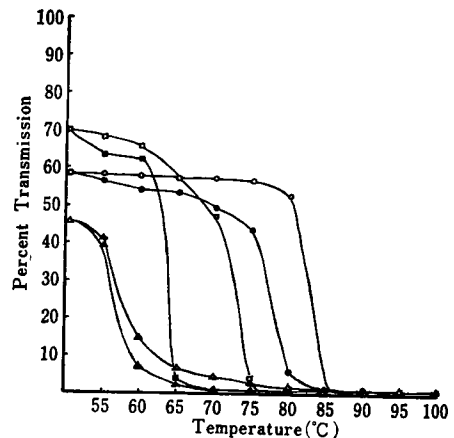


Fig. 1. Turbidity changes of egg yolk fractions in various temperatures

heated at each temperature for
3 min. 6.5 min.
HDL ○—○ ●—●
Livetin △—△ ▲—▲
LDL □—□ ■—■

(1) LDL

LDL は未加熱の時透過度 69.5% であり、3分間加熱では60°C までは透過度の大きな減少は見られなかった。猪飼¹⁸⁾は LDL は比較的熱に対して安定であり、65°C 以上に加熱するとはじめて白濁し、70°C 以上で LDL の不可逆的变化が起こり脂質と蛋白質が分離すると報告している。我々の場合も 65°C から 75°C までの加熱では透過度が 51.9% から 2.7% へと急激に減少した。また 6.5分加熱では 65°C 以上で透過度が急激に減少した。このように LDL の濁度変化には、加熱時間がかなり影響を与えることがわかった。

(2) リベチン

リベチン画分は 60°C 以上の加熱で透過度が急激に減少した。

(3) HDL

HDL は3分間加熱では55°Cから75°Cまでほとんど透過度は変らなかつた。85°C以上で急激に透過度が減少した。一方6.5分間加熱では、加熱温度が上昇するにつれ透過度が徐々に減少し、80°C以上で急激に透過度が減少した。

3. 卵黄溶液の加熱処理による粘度変化

Fig. 2 に卵黄溶液の種々の温度での加熱処理後の粘度変化を示す。

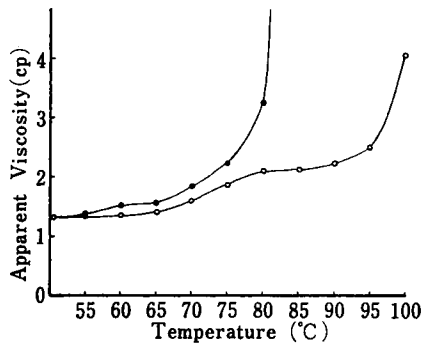


Fig. 2. Viscosity of egg yolk solution
heated at each temperature for
3 min. 6.5 min.
○—○ ●—●

卵黄溶液を3分間加熱した場合、60°Cまでほとんど粘度の変化は認められなかつた。しかし65°C以上の加熱では、温度の上昇とともに粘度が徐々に増加し、100°Cに加熱すると、未加熱の場合の3倍近くまで粘度が増大した。一方6.5分間加熱では60°Cで粘度1.52 cpと多少粘度の上昇が認められ、80°Cで3.26 cpと未加熱のもの約2.5倍の粘度を示した。この様に加熱温度が高い場合ほど、加熱時間が粘度に与える影響が大きいことがわかつた。

4. 各画分の加熱処理による粘度変化

Fig. 3 に各画分溶液の種々の温度での加熱処理後の粘度変化を示す。

(1) LDL

LDL は未加熱の時1.29 cpを示し、3分間加熱では75°Cまで粘度の大きな変化は認められなかつた。しかし80°C以上で粘度がかなり増加した。一方6.5分間加熱では、3分間加熱の場合よりいくぶん粘度の高いカーブを描き、90°C以上で急激に粘度が増加し、最終的に未加熱の場合の6倍近い粘度を示した。

(2) リベチン

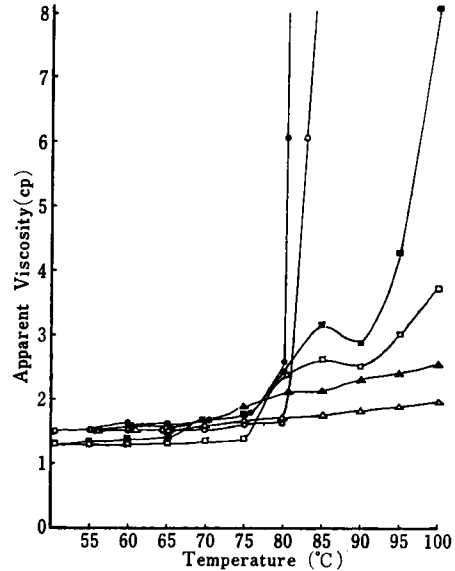


Fig. 3. Viscosity of egg yolk fractions

heated at each temperature for
3 min. 6.5 min.
HDL ○—○ ●—●
Livetin △—△ ▲—▲
LDL □—□ ■—■

リベチンは3分間加熱では、55°Cから100°Cまで、加熱温度の上昇につれ、わずかに粘度の増加が認められた。一方6.5分間加熱では、3分間加熱の場合より多少粘度の増加が認められた。このようにリベチンでは、粘度の変化と濁度のいちじるしい増加とは関連性がないように考えられた。

(3) HDL

HDL は未加熱の時1.47 cpを示し、3分間加熱では80°Cまで粘度はほとんど増加しなかつた。しかし80°Cを越えると急激な粘度の増加が認められた。この粘度上昇はHDLの濁度増加と関連性があると考えられた。また6.5分間加熱でもほぼ同様の傾向を示した。以上のようにHDLの加熱温度が80°Cを越えた場合の粘度は他の二画分より大きく、卵黄の加熱による粘度上昇に対してHDLの与える影響が大きいように思われた。

5. Disc 電気泳動

LDL, リベチン, HDLは加熱による濁度変化, 粘度変化に差違が認められたので、さらにDisc電気泳動を行ない比較検討した。

(1) 卵黄

Fig. 4 に卵黄のDisc電気泳動図を示す。泳動した主要蛋白質バンドはRf0.1~0.16, 0.46~0.57, 0.60~

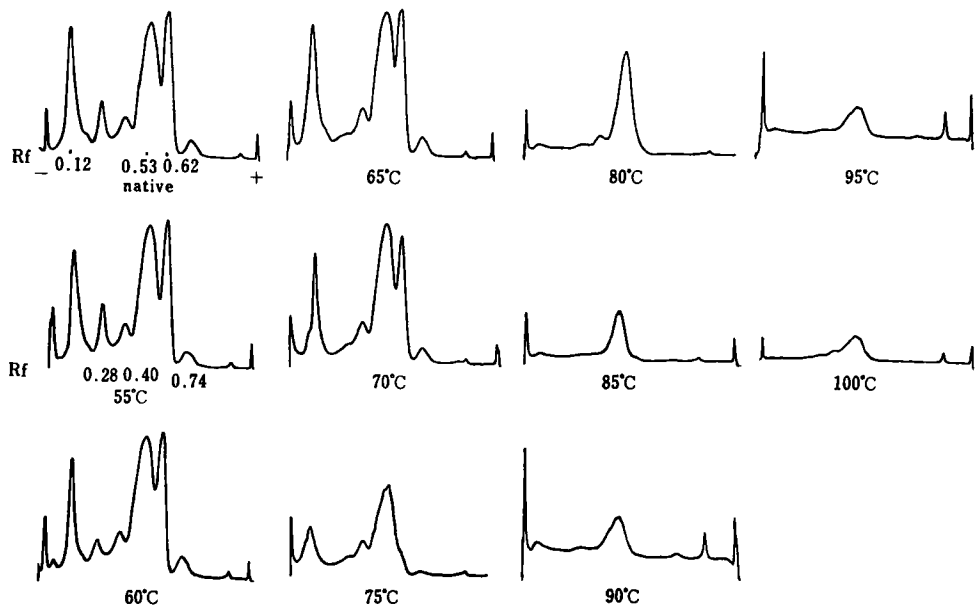


Fig. 4. Disc gel electrophoresis of egg yolk heated at various temperatures

0.65 の三バンドであり、これ以外に Rf 0.25~0.31, 0.36~0.43, 0.71~0.77 にも蛋白質バンドが認められた。このような卵黄溶液の 55°C の加熱では未加熱の場合にくらべ蛋白質バンドの変化はほとんど認められなかった。しかし 60°C 加熱で Rf 0.25~0.31 の位置にあるバンドが減少し、65°C 加熱でこのバンドはさらに減少した。70°C 加熱では Rf 0.1~0.16 の位置にあるバンドが減少し、75°C では Rf 0.60~0.65 のバンドが、80°C では Rf 0.1~0.16 のバンドが消失し、主に Rf 0.46~0.57 に位置をしめる蛋白質バンドが残存するのみであった。CUNNINGHAM ら⁹⁾は卵黄溶液を 63°C または 65°C で 4 分間加熱すると、未加熱の場合に比べて Disc 電気泳動図に著るしい差があり、 Rf 0.2 から 0.3 の位置にあるバンドが低下すると報告している。また CHANG ら¹⁰⁾は 61.7°C, 65.6°C 3 分の加熱で同様の各蛋白質の熱変性がおこると述べている。我々の場合彼らよりも加熱時間が短かったが、やはり 65°C で Rf 0.25~0.31 のバンドの減少が認められた。

(2) LDL

Fig. 5 に LDL の Disc 電気泳動図を示す。LDL は未加熱の時には Disc 電気泳動で泳動しなかった。しかし 80°C 加熱では Rf 0.07 にあらたなバンドが出現し、85°C では Rf 0.25 にもバンドが認められた。さらに 90°C 以上では Rf 0.07, 0.25, 0.36, 0.46, 0.57 の五

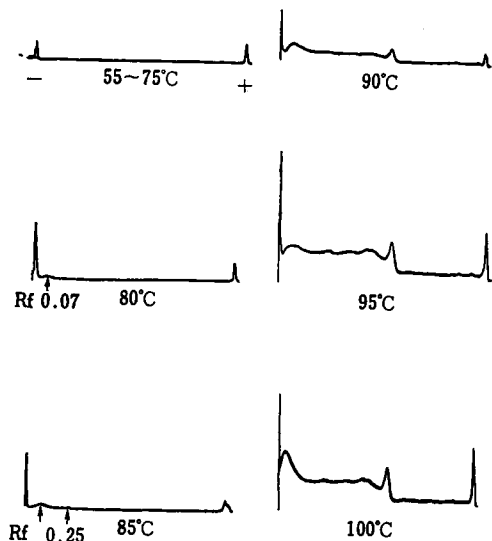


Fig. 5. Disc gel electrophoresis of LDL heated at various temperatures

つの位置にバンドが認められた。このように LDL は 80°C 以上の加熱でその構造が破壊され、構成蛋白質の一部が泳動してきたものではないかと推測された。

(3) リベチン

Fig. 6 にリベチンの Disc 電気泳動図を示す。リベチ

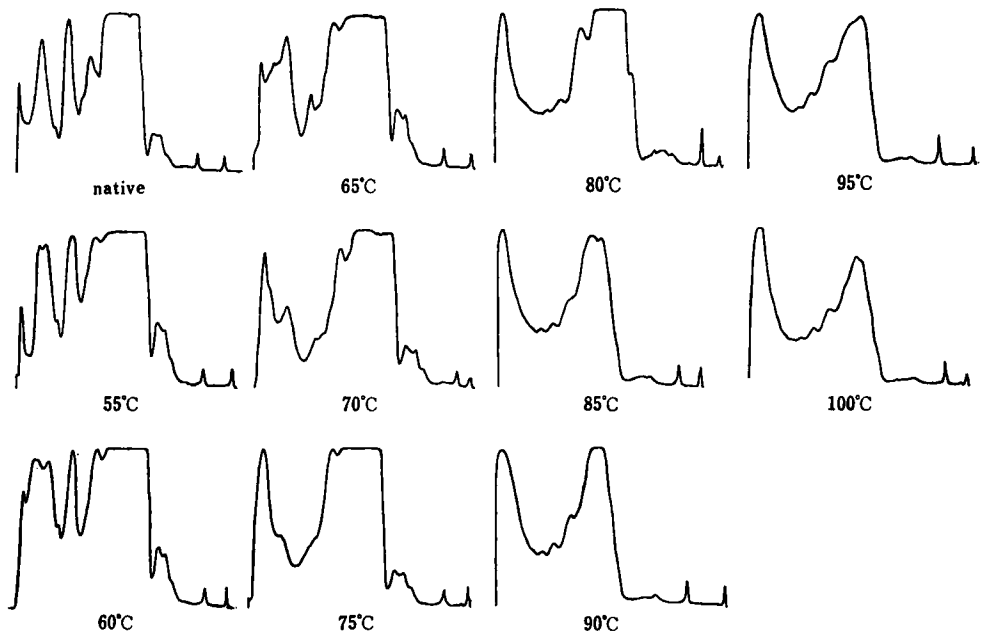


Fig. 6. Disc gel electrophoresis of livetin heated at various temperatures

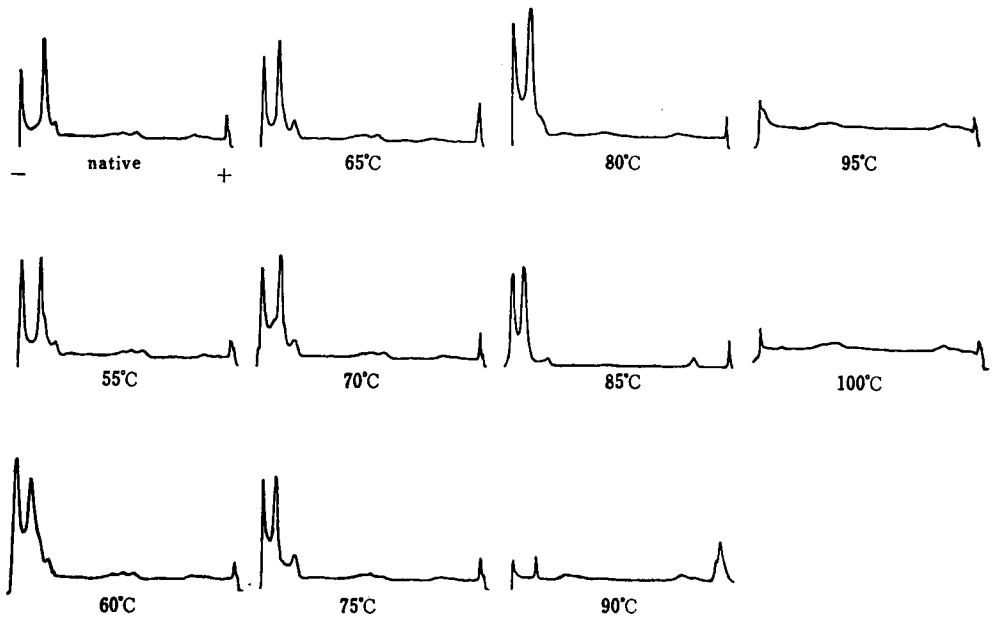


Fig. 7. Disc gel electrophoresis of HDL heated at various temperatures

ンの主要蛋白質バンドは Rf 0.08~0.16, 0.24~0.31, 0.38~0.43, 0.46~0.69 の四バンドであった。このようなリベチンは 65°C で Rf 0.24~0.31 のバンドが減少し、 70°C でこのバンドはほぼ消失した。さらに 75°C の加熱では Rf 0.08~0.16 のバンドが減少し、最終的に Rf 0~0.09 と 0.48~0.63 にある二バンドが残存した。 Rf 0~0.09 のバンドは加熱温度の上昇に伴ない増大しているので、加熱により凝集したリベチン成分がこのバンドに加わっているものと推定された。リベチンのうち α -リベチン、 β -リベチンは非常に熱変性を受けやすく、 65.6°C 、3分加熱では Disc 電気泳動で Rf 0.2~0.34 の範囲にある三バンドが消失し、 Rf 0.6~0.8 付近のバンドが減少すると CHANG ら¹⁰⁾ により報告されている。我々の場合 65°C で加熱時間が彼らの半分であったためか Rf 0.04~0.31 のバンドが減少するのみであった。

(4) HDL

Fig. 7 に HDL の Disc 電気泳動図を示す。HDL の主要蛋白質バンドは原点付近と Rf 0.10~0.12 に認められた。このような HDL は 80°C 加熱までバンドの大きな変動は認められなかったが、 85°C で主要蛋白質バンドが減少し、 90°C ではさらに減少した。以上のように HDL は加熱により凝集をおこし、Disc 電気泳動で泳動できなかったものと推測された。

6. ゲル口過

Fig. 8 から Fig. 11 に 60°C 、6.5 分間加熱した試料溶液および未加熱試料液のゲル口過の結果を示す。

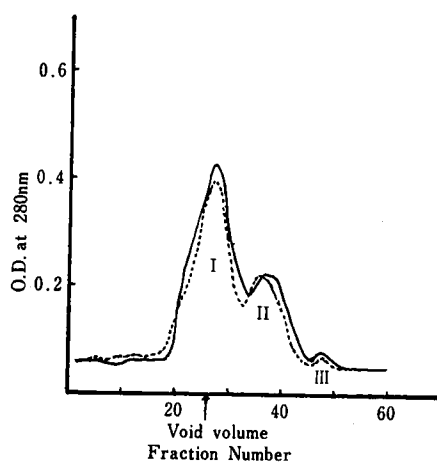


Fig. 8. Gel filtration on sepharose 4B of raw and heated egg yolk

Solid line—raw egg yolk; dotted line—heated egg yolk

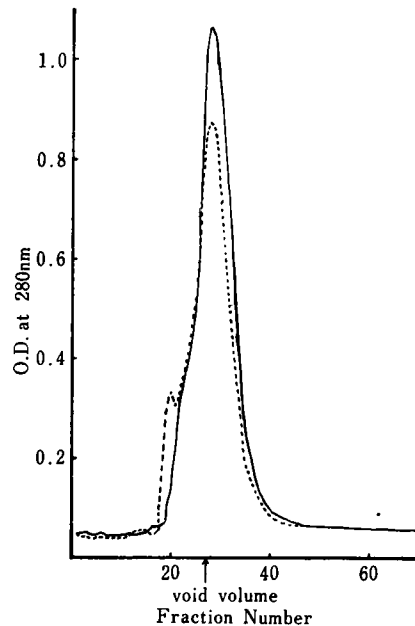


Fig. 9. Gel filtration on sepharose 4B of raw and heated LDL

Solid line—raw LDL; dotted line—heated LDL

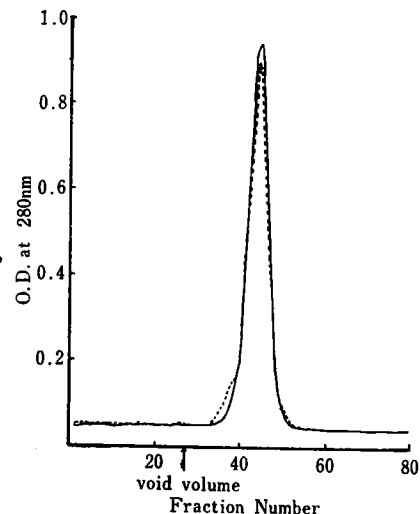


Fig. 10. Gel filtration on sepharose 4B of raw and heated livetin

Solid line—raw Livetin; dotted line—heated Livetin

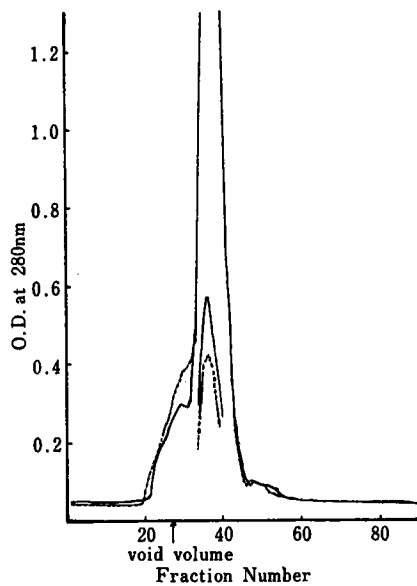


Fig. 11. Gel filtration on sepharose 4 B of raw and heated HDL

Solid line—raw HDL: dotted line—heated HDL Tube Number 34~40 represents O.D. 10 times diluted sample

卵黄溶液は Fig. 8 のようにゲルろ過で主に二つのピークが得られ、第一のピークが LDL であった。卵黄溶液を 60°C, 6.5 分加熱すると溶出パターンの変動が認められた。各画分では LDL は Fig. 9 のように、加熱により一部分が凝集したためか、主成分の減少とともに、凝集物の小ピークが認められた。リベチンは Fig. 10 のように加熱による変動はほとんど認められなかった。さらに HDL は Fig. 11 のように、加熱後高分子成分の増加が認められた。

以上の事実により卵黄の加熱変性は主に HDL 及び LDL の挙動によることがわかった。

要 約

鶏卵卵黄を超速心分離して得た LDL, リベチン, HDL の加熱による変性を濁度, 粘度, Disc 電気泳動, ゲルろ過から検討した結果を要約すると次の如くである。

(1) LDL, リベチン, HDL 各溶液を加熱すると, リベチンは 60°C 以上, LDL は 65°C 以上, HDL は 80°C 以上で透過度が急激に減少した。

(2) 卵黄溶液を加熱すると, 粘度は温度の上昇につれて徐々に増加したが, 80°C 以上では 5 分間加熱物が 1.5 分間加熱物よりも粘度の増加が著しかった。

(3) LDL リベチン, HDL 各溶液を加熱すると, リベチンは, 加熱温度の上昇にともなう粘度の大きな増加は認められなかった。一方 LDL, HDL は 80°C 以上で粘度が著しく増加し, HDL は卵黄構成成分中, 最も高い粘度を示した。

(4) 卵黄を加熱すると, Disc 電気泳動で主に R_f 0.1 ~ 0.16 の蛋白質バンドが変化した。HDL は 85°C 以上の加熱で, 主要蛋白質バンドが減少した。一方 LDL は 80°C 以上の加熱であらたな蛋白質バンドが出現した。

(5) 卵黄溶液, LDL 溶液および HDL 溶液を 60°C, 5 分間加熱した際のゲルろ過の結果は, 未加熱のパターンに比べて変動が認められ, LDL では凝集物の小ピークが出現した。

文 献

- 1) 野並慶宣: 畜産の研究, 28, 185 (1974).
- 2) CUNNINGHAM, F. D. and VARADARAJULE, P.: *Poultry Science*, 52, 365 (1973).
- 3) SEIDEMAN, W. E., COTTERILL, O. J. and CEHRKE, C. W.: *Poultry Science*, 47, 884 (1968).
- 4) PARKINSON, T. L.: *J. Sci. Food Agric.*, 18, 208 (1967).
- 5) PARKINSON, T. L.: *ibid.*, 19, 502 (1968).
- 6) PARKINSON, T. L.: *ibid.*, 19, 590 (1968).
- 7) PARKINSON, T. L.: *ibid.*, 21, 477 (1970).
- 8) PARKINSON, T. L.: *ibid.*, 21, 481 (1970).
- 9) PARKINSON, T. L.: *ibid.*, 26, 1625 (1975).
- 10) CHANG, P., POWRIE, W. D. and FENNEMA, O.: *J. Food Sci.*, 35, 774 (1970).
- 11) BANAZAK, L. J. and McDONALD, G. C.: *Biochemistry*, 1, 344 (1962).
- 12) 筒井知己・小原哲二郎: 食品工誌投稿中
- 13) EVANS, R. J., BANDEMER, S. R. and DAVIDSON, J. A.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 164, 566 (1968).
- 14) RAJU, K. S. and MAHADEVAN, S.: *Anal. Biochem.* 61, 538 (1974).
- 15) BURLEY, R. W. and COOK, W. H.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39, 1295 (1961).
- 16) 筒井知己・小原哲二郎: 食品工誌, 26, 81 (1979).
- 17) DAVIS, B. J.: *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, Art. 2, 321 (1964).
- 18) 猪飼 篤: 生化学, 50, 21 (1978).

(昭和 54 年 4 月 17 日受理)