

卵白アルブミンの加圧変性によるゲル形成について

誌名	日本食品科学工学会誌
ISSN	1341027X
著者	三好, 恵理奈 小関, 泰平
巻/号	57巻6号
掲載ページ	p. 268-272
発行年月	2010年6月

卵白アルブミンの加圧変性による ゲル形成について

三好恵理奈[§], 小関泰平

武庫川女子大学生活環境学部食物栄養学科

Gel Formation Induced by Pressure
Denaturation of Ovalbumin

Erina Miyoshi[§] and Taihei Koseki

School of Human Environmental Sciences,
Mukogawa Women's University, 6-46
Ikebirakicho, Nisinomiya, Hyogo 663-8558

In this study, we described the effects of pressure on the formation of OVA gels, and clarified the condition of denaturation of OVA and the lowest protein concentration needed to form gels of OVA with pressure treatment. The lowest protein concentration needed to form pressure-induced OVA gels was 7~9%, and was about twice as high as the lowest protein concentration needed to form gels by heat treatment. Cohesiveness of the pressure-induced gels was higher than that of the heat-induced gels. The appearance and the hardness of the pressure-induced OVA gels depended on the difference of pressure. The pressure-induced OVA gel formed at 686 MPa for 20 min was transparent, but the gel formed at 510 MPa for 2 h was turbid and was clearly harder than the gel formed at 686 MPa.

(Received Jun. 23, 2009 ; Accepted Mar. 2, 2010)

Keywords : ovalbumin, denaturation, pressure

キーワード : オボアルブミン, 変性, 加圧

鶏卵はゆで卵などの調理素材として使用されているのみならず、鶏卵中に豊富に含まれているタンパク質やリン脂質が示すゲル形成能、泡沫形成能、および乳化性といった食品機能特性を活かして幅広く加工食品に利用されている。その中でも、卵白タンパク質はゲル形成能に優れているため、練り製品やハムの結着剤などの食品加工素材として重要な役割を果たしている。卵白タンパク質のゲル化はタンパク質が変性することにより引き起こされるが、食品加工においてはタンパク質を変性させる方法としては安価におこなえる加熱処理が多く用いられている。しかしながら、加熱処理にともなう化学的な変化は、栄養素の破壊、褐色物質の生成、アミノ酸の分解による硫黄臭の発生など難点もある。一方、加熱処理以外によるタンパク質の変性手段としては加圧処理が知られており、魚肉のすり身や食肉などにおいては数多く研究、報告されている¹⁾²⁾。

卵白の加圧処理については古くから研究されていて、1914年にP.W. Bridgmanは6000 atmで30分間の加圧処理によりゲル化することを報告している³⁾。その後、林らにより、各種食品タンパク質の加圧処理に関する研究が進められ、加圧処理により形成された鶏卵卵白ゲルは、加熱処理の場合と比べて、やわらかく、きめが細かいことが述べられている⁴⁾⁵⁾。さらに、卵白の加圧ゲルは、加熱ゲルよりもゲル形成時のビタミンの損失が少なく、プロテアーゼによる消化性にも優れていることが報告されている⁶⁾。食品タンパク質の加圧処理に関する研究結果から、加圧ゲルは加熱ゲルとは異なる性質をもち新しい食品素材としての利用が期待されているが、加圧処理によるゲル形成の詳細については不明な点が多い。

卵白アルブミンは卵白タンパク質の半分以上を占め、加熱変性にともないゲルを形成し、卵白の凝固に大きく寄与している。そこで、本研究では卵白アルブミン (Ovalbumin : OVA) を卵白の加圧ゲル形成におけるモデルタンパク質として用いて、加圧処理による卵白タンパク質のゲル形成の特性について検討した。

OVAの加圧処理によるゲル形成についてはDumoulinら⁷⁾が、15%のOVA溶液(pH 4.4)を用いて実験をおこない、25℃では500 MPaの処理圧力によりゲル化することを報告しているが、タンパク質濃度が15%の条件だけで実験をおこなっているため、ゲル形成にどの程度のタンパク質濃度が必要かについては明らかにされていない。また、土井ら⁸⁾は、80℃の加熱処理により形成したOVAゲルが加圧処理により融解するか否かについて検討しているが、加圧処理単独でのゲル形成条件については詳細な記述はしていない。

本研究では、OVAの加圧処理にともなうゲル形成実験をおこない、OVAの加圧処理による変性条件とゲル形成濃度を明らかにした。また、形成されたゲルの外観と物性についても、加熱ゲルと比較し、OVAの加圧ゲルの特徴についての知見を得た。

1. 実験方法

(1) 試料の調製

本研究に使用した卵白アルブミン (OVA) は、新鮮な鶏卵卵白より飽和硫酸アンモニウムを用いて塩析法⁹⁾により4回結晶化をおこない精製した。

OVA結晶は、20 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH7) に対して二日間透析をおこない、得られた溶液を試料として使用した。

(2) OVAの加熱処理および加圧処理

OVA溶液 (pH 7) をシリコンチューブ (長さ45 mm, 内径5 mm) に封入し、加熱処理または加圧処理をおこなった。ただし、物性測定に用いたゲルはステンレスリングを用いて作製した。加熱処理には恒温水槽を使用し、加圧処理には三菱食品加圧装置 (Frescal MFP-7000) を使用し、

〒663-8558 兵庫県西宮市池間町 6-46

[§] 連絡先 (Corresponding author), erina92@mukogawa-u.ac.jp

室温で加圧処理をおこなった。加圧処理前後の試料容器内の温度は約 20℃ であり、昇圧中は 510 MPa に達するまでに約 10℃、686 MPa に達するまでに約 13℃ まで上昇するが、OVA の加熱変性が生じる温度域より十分に低い温度であった。686 MPa までの昇圧時間は 84 秒であった。

(3) 加熱処理および加圧処理による OVA の変性率の測定

加熱処理および加圧処理による OVA の変性率は、0.5% OVA 溶液を 68~100℃ による加熱処理 (10 分間) または 450~686 MPa による加圧処理 (20 分間) をおこない、等電点沈殿法¹⁰⁾ により測定した。

加熱処理あるいは加圧処理した 0.5% OVA 溶液に 4 倍量の 0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.7, 0.5 M NaCl 含有) を添加し、30 分間放置した。その後、遠心分離 (15000 rpm, 3 分間) をおこない、不溶化したタンパク質を取り除き、上澄み液の 280 nm での吸光度を測定した。同様の操作をおこなった対照 OVA 溶液 (未処理の OVA 溶液) の上澄み液の吸光度との差から変性した OVA 濃度を算出し、変性した OVA 濃度の割合を変性率とした。

また、75℃ および 100℃ における加熱処理あるいは 510 MPa および 686 MPa における加圧処理については 10~120 分間の処理をおこない、処理時間の影響について変性率を測定した。

(4) OVA の加熱処理および加圧処理によるゲル形成

加熱処理および加圧処理によるゲル形成実験の方法を図 1 に示した。ゲル形成実験では 1~10% の OVA 溶液 (pH 7) とともにシリコンチューブの中にステンレスボール (直径 3 mm) を封入し、加熱処理および加圧処理をおこなった。シリコンチューブには処理時の試料容器の上下がわかるように容器上方に赤い線をひいておいた。ゲル化の確認は、加熱処理または加圧処理後の試料を上下反転し、ステンレス小球の沈降の有無によりゲル形成の判定をおこなった⁹⁾。

処理条件は、加熱処理では 75℃ および 100℃ により 10 分間または 2 時間、加圧処理では 510 MPa および 686 MPa により 20 分間または 2 時間の処理をおこなった。

(5) 加熱ゲルおよび加圧ゲルの外観の観察

ゲルを形成した最も低い OVA 濃度により形成されたゲルをシリコンチューブから取り出し、目視によりゲルの透明、不透明度の判断をした。

(6) 加熱ゲルおよび加圧ゲルの物性測定

物性測定用のゲルは、シリコンシートによりステンレス製リングの上下に蓋をした容器 (内径 30 mm, 高さ 10 mm) に OVA 溶液 (5% あるいは 10%) を封入し、OVA の変性率が 100% になる加熱および加圧処理条件下で処理をおこない作製した。試料溶液には 10 mM の塩化ナトリウムを添加した。

物性測定は、クリーブメーター (山電社 レオナー II) のテクチャーモードにより直径 10 mm の円柱形のプランジャーを用いて、クリアランス 5 mm, 圧縮速度 1 mm/sec の測定条件により、2 回繰り返し圧縮を行った。

硬さ、凝集性、もろさの解析はクリーブメーター付属のソフトウェアであるテクチャー解析 Windows Ver. 1.2 (TAS-3305) を用いて行った。

2. 実験結果

(1) OVA の加熱処理および加圧処理による変性率の変化

OVA は加熱処理では 70℃ 付近から変性がはじまり、75℃ の処理により 50% 程度が変性して、80℃ 以上の処理温度において変性率はほぼ 100% に達した。一方、加圧処理において OVA は 480 MPa 付近から変性がはじまり、510 MPa の処理により 50% 程度変性し、550 MPa 以上の処理圧力において変性率は 97% 以上になった。

また、短時間の処理 (10~20 分間) においては変性率が 50% 程度の条件である、75℃ による加熱処理および 510 MPa による加圧処理においては、2 時間処理をおこなうことにより、変性率はほぼ 100% に達した。

(2) OVA の加熱処理および加圧処理によるゲル形成濃度の比較

短時間 (10 分間) の加熱処理においては 75℃ および 100℃ の処理により、5% 以上の OVA 濃度でゲルが形成された (図 2-a, c)。さらに、処理時間を 2 時間に延長することにより、75℃ では 3% (図 2-b)、100℃ では 4% におい

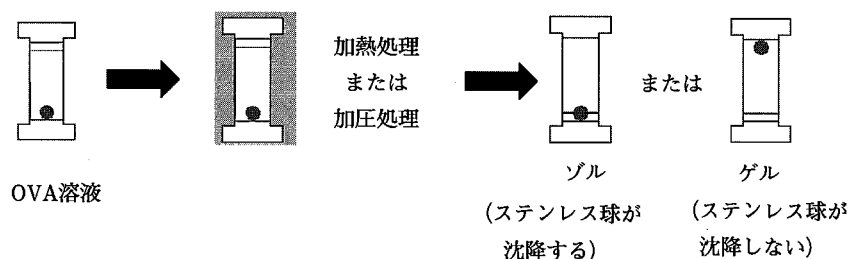


図 1 OVA の加熱処理および加圧処理によるゲル形成の評価

1~10% の OVA 溶液 (pH7) を加熱処理では 75℃ または 100℃ により 10 分間または 2 時間、加圧処理では 510 MPa または 686 MPa により 20 分間または 2 時間処理をおこなった。ゲル化の確認は、加熱処理および加圧処理後の試料を上下逆さまにし、ステンレス小球の沈降の有無により判定をおこなった。

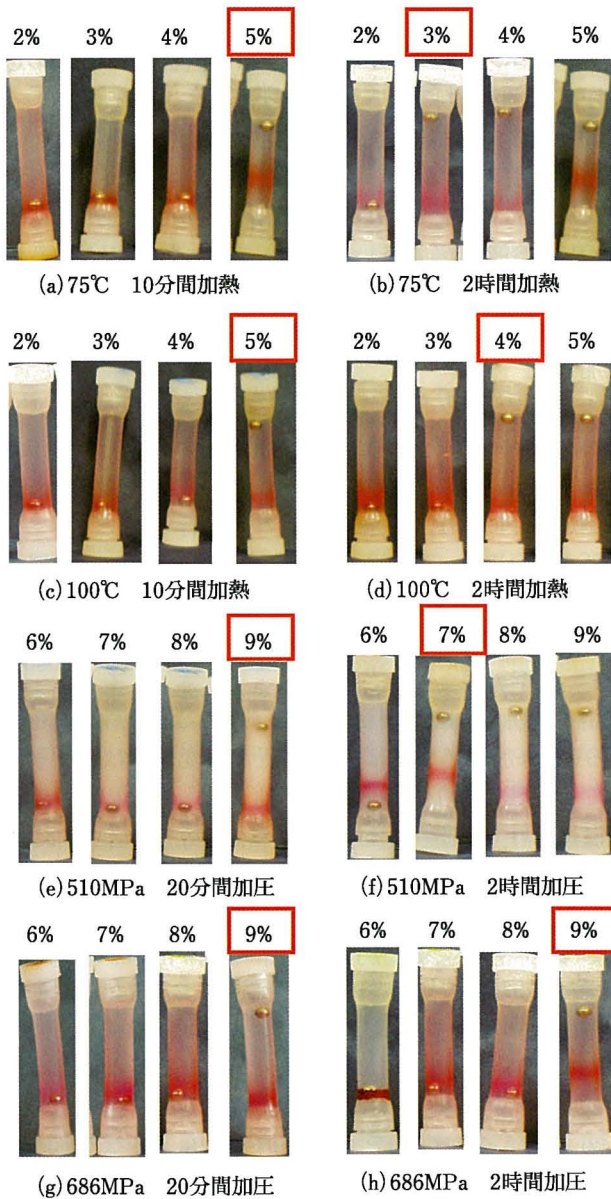


図 2 OVA の加熱処理および加圧処理によるゲル形成濃度の比較

□ はゲルを形成した最も低い OVA 濃度を示した。

なお、赤い線の広がり具合やシリコンチューブの形が不揃いなのは、シリコンチューブを繰り返し使用した回数異なるためである。

てゲル化した (図 2-d)。

短時間 (20 分間) の加圧処理では 510 MPa および 686 MPa の処理により、いずれも OVA 濃度が 9% において、はじめてゲル化が認められた (図 2-e, g)。また、処理時間を 2 時間に延長した場合は 510 MPa の処理により加熱処理と同様にゲル形成濃度は低くなり、7% でゲルを形成したが、686 MPa の処理においてはゲル形成濃度に変化はみられなかった (図 2-f, h)。

(3) 加熱処理および加圧処理により形成されたゲルの外観の比較

加熱処理および加圧処理により形成された OVA ゲルの

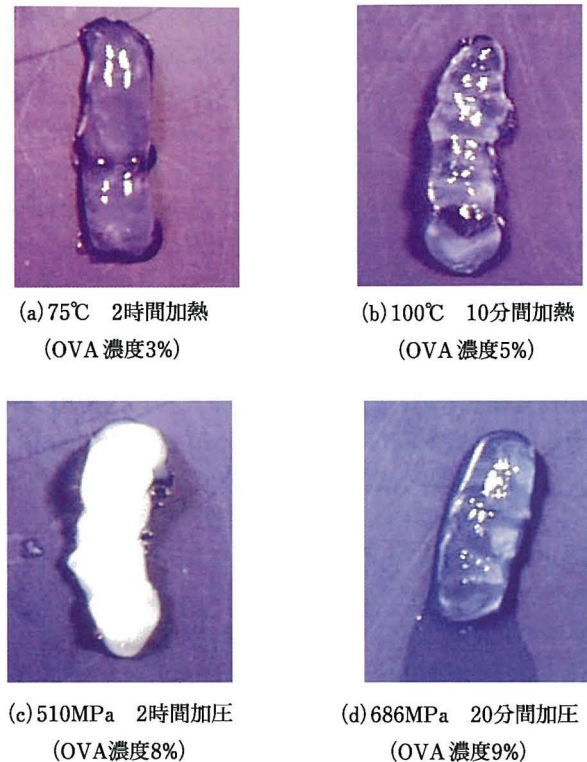


図 3 加熱処理および加圧処理により形成した OVA ゲルの外観の比較

ゲルを形成した最も低い OVA 濃度で形成した OVA ゲルを用いた。

写真を図 3 に示した。ゲルを形成した最も低い OVA 濃度においては、75°C または 100°C の加熱処理により透明なゲルが形成されていた (図 3-a, b)。一方、加圧処理では 686 MPa の処理において透明なゲルが得られた (図 3-d) が、510 MPa の処理により形成されたゲルは白濁していた (図 3-c)。

(4) 加熱処理および加圧処理により形成されたゲルの物性
加熱処理および加圧処理により形成されたゲルのかたさ、凝集性、もろさを表 1 に示した。

加熱ゲルでは 75°C と 100°C いずれの処理温度においても、もろさがあった。一方、加圧ゲルはいずれの処理圧力でももろさは確認できず、高い凝集性が示された。また、ゲルの硬さは、加熱処理および 686 MPa の加圧処理においてはやわらかかったが、510 MPa の加圧処理により明らかに硬いゲルが形成されていた。

3. 考察

本研究では、中性 pH における種々の濃度の OVA 溶液を用いてゲル形成実験をおこなったところ、加熱処理において OVA は 3~5% の濃度域でゲルを形成したのに対し、加圧処理では 7~9% の OVA 濃度が必要であり、加圧処理ではゲル形成に高い OVA 濃度が必要であることを明らかにした (図 2)。Dumoulin らは 15% という高濃度の OVA 溶液を用いて、-20°C~50°C の温度域での加圧処理

表 1 加熱処理および加圧処理により形成した OVA ゲルの物性

	処理条件		硬さ (N)	もろさ荷重 (N)	凝集性
加熱処理	75°C	2 時間	0.59	0.09	/*2
(OVA 濃度 5%)	100°C	10 分間	0.79	0.47	/*2
加圧処理	510 MPa	2 時間	1.25	0*1	0.71
(OVA 濃度 10%)	686 MPa	20 分間	0.49	0*1	0.74

*1 加圧処理で形成されたゲルは破断していないため、もろさが発生しなかった。

*2 加熱処理で形成されたゲルは破断していたため、凝集性は測定できなかった。

によるゲル形成の実験をおこない、低温度域と高温度域ではゲル化しやすいことを報告している⁷⁾。このように加圧処理において、ゲルを形成するために必要なタンパク質濃度が高かったことは、加圧ゲルの特徴であると考えられた。

OVA の加圧ゲルのもうひとつの特徴は、ゲルの外観が、686 MPa の処理では透明であったが、510 MPa の処理により白濁したゲルを生じたことである (図 3)。同じ溶媒条件にもかかわらず、処理圧力の違いによりゲルの透明度が異なっていたことは加熱処理によるゲル形成では認められなかった。加熱処理においては、OVA 溶液の塩濃度や pH など溶媒条件の変化によりゲルの透明度が異なることが報告されている¹¹⁾。加熱処理による OVA のゲル形成機構は、熱変性した OVA 分子の表面疎水性が増大することにより分子間の疎水性相互作用がひきおこされ、凝集することにより、ゲルを形成することが知られており、OVA は等電点付近の pH あるいは高いイオン強度の溶媒条件においては、ランダムな凝集体からなる白濁したゲルを形成するが、等電点から少し離れた pH でイオン強度が低い溶媒条件下においては、数珠玉様の線状会合体を基本構造とする透明なゲルが形成されると考えられている^{12)~14)}。今回、本実験において、同じ溶媒条件にもかかわらずゲルの透明度が異なっていた加圧ゲルでは、変性した OVA 分子の凝集状態が処理圧力に依存して異なっているのではないかと考えられた。また、OVA の加圧ゲルは 510 MPa の処理において 686 MPa の処理に比べて明らかに硬いゲルが形成され (表 1)、ゲルの硬さにおいても加圧変性 OVA の分子間での凝集状態の違いが反映されているのかもしれない。

OVA の加圧ゲルと加熱ゲルの硬さを比較すると、510 MPa により処理した OVA の加圧ゲルは、加熱ゲルより硬い特徴が認められた (表 1)。岡本ら⁴⁾の報告によると、大豆タンパク質を 3000 kg/cm² で処理した加圧ゲルおよび、コイのアクトミオシンとうさぎのペースト肉を 2000 kg/cm² で処理した加圧ゲルは、それぞれの加圧ゲルの硬さが、100°C で 10 分間の処理による加熱ゲルと比較してやわらかいとされている。表 1 における加圧 OVA ゲルと加熱 OVA ゲルは、ゲルを形成した最も低い OVA 濃度付近における比較であるため、OVA 濃度を 10% に揃えてゲルの硬さを比較してみたところ、加熱ゲルの硬さは 75°C の処理においては 2.06 N、100°C の処理では 4.13 N であり、

加圧 OVA ゲル (表 1) は加熱 OVA ゲルの硬さには至らず、やわらかかった。また、加熱 OVA ゲルは、いずれのタンパク質濃度においても、もろさがあるのに対し、加圧 OVA ゲルでは荷重に関係なく、今回の測定条件ではもろさは確認されず、高い凝集性を示していた (表 1)。この加圧 OVA ゲルが示す高い凝集性は、林らが、卵白について、6000 kg/cm² により 30 分間処理した加圧ゲルが、加熱ゲルに比べて破断されにくいと報告している⁹⁾ ことと一致した。したがって、OVA の加圧ゲルは単一のタンパク質で形成されているが、その物性の特徴は、卵白をはじめ他のタンパク質性素材の加圧ゲルとも対応していることが示された。

今回、OVA の加圧ゲルを加熱ゲルと比較し、ゲルの外観や物性を検討することにより、OVA の加圧ゲルは、今までに加圧処理卵白などで報告されている栄養性や物性の違いに加えて、さらに、ゲルの透明度やゲル形成濃度についても加熱ゲルとは明らかに異なる特徴があることが認められた。今後さらに、加圧ゲル形成メカニズムに関する研究をすすめ、加熱ゲルにはない加圧ゲルの特徴を解き明かしていくことは、加圧処理を用いた食品タンパク質ゲルの加工食品への応用に重要な知見を与えると考えられる。

4. 要約

本研究では OVA の加圧変性にもなうゲル形成実験をおこない、加圧処理により形成された OVA ゲルの特徴を加熱ゲルと比較することにより明らかにした。OVA は 480 MPa 以上の加圧処理により変性するが、ゲルを形成するために必要なタンパク質濃度は 7~9% と高く、加熱処理による場合 (3~5%) の 2 倍程度の OVA 濃度を必要とした。形成された OVA の加圧ゲルは加熱ゲルよりも高い凝集性を示した。

また、加圧 OVA ゲルの外観と硬さは、加熱 OVA ゲルとは異なり、変性条件 (処理圧力) に依存していた。686 MPa の処理により形成した加圧 OVA ゲルはやわらかく透明であったが、510 MPa の処理では、686 MPa 処理による透明ゲルよりも明らかに硬い白濁ゲルを形成した。

以上のことから、OVA の加圧ゲルは加熱ゲルとは大きく異なる特徴を示した。

文 献

- 1) 川崎賢一, 船津保浩, 伊藤裕佳子, 高圧処理を用いたすり身とマイワシ脂質の組織化, 食科工, **43**, 146-156 (1996).
- 2) 鈴木敦士, 超高圧処理による食肉の食味性改良, 食品工業, **43**, 8, 31-39 (2000).
- 3) P.W. Bridgman, The coaguration of albumin by pressure. *J. Biol. Chem.*, **19**, 511-512 (1914).
- 4) Okamoto, M., Kawamura, Y. and Hayashi, R., Application of high pressure to food processing : textural comparison of pressure- and heat-induced gels of food proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 183-189 (1990).
- 5) 岡本巳恵子, 出内智子, 林 力丸, 高圧加工食品の物性および官能検査「食品への高圧利用」(さんえい出版, 京都), pp. 89-101 (1989).
- 6) Hayashi, R., Kawamura, Y., Nakasa, T. and Okinaka, O., Application of high pressure to food processing : pressurization of egg white and yolk, and properties of gels formed. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2935-2939 (1989).
- 7) M. Dumulin., Ozawa, S. and Hayashi, R., Textural properties of pressure-induced gels of food proteins obtained under different temperatures including subzero. *J. Food. Sci.*, **63**, 92-95 (1998).
- 8) Doi, E., Shimizu, A. and Kitabatake, N., Melting of heat-induced ovalbumin gel by pressure. *Food Hydrocol.*, **5**, 409-425 (1991).
- 9) Sorensen, S.P. and Hoyrup, M., Studies on proteins. *Comp. Rend. Trav. Lab. Carlsberg*, **12**, 12-67 (1915).
- 10) M.B. Smith, Studies on ovalbumin. *Aust. J. Biol. Sci.*, **17**, 261-270 (1964).
- 11) Hatta, H., Kitabatake, N. and Doi, E., Turbidity and hardness of heat-induced gel of hen egg ovalbumin. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2083-2089 (1986).
- 12) Doi, E. and Kitabatake, N., Structure of glycinin and ovalbumin gels. *Food Hydrocol.*, **3**, 327-337 (1989).
- 13) Koseki, T., Kitabatake, N. and Doi, E., Irreversible thermal denaturation and formation of linear aggregates of ovalbumin. *Food Hydrocol.*, **3**, 123-134 (1989).
- 14) Koseki, T., Fukuda, T., Kitabatake, N. and Doi, E., Characterization of linear polymers induced by thermal denaturation of ovalbumin. *Food Hydrocol.*, **3**, 135-148 (1989).

(平成 21 年 6 月 23 日受付, 平成 22 年 3 月 2 日受理)