

凍結昇圧装置を用いたタンパク質変性に関する研究

上野 義 栄*1
八 田 一*2

【要 旨】

均質化卵白液は、加熱、油圧昇圧及び凍結昇圧処理により、いずれも白濁ゲル化した。油圧昇圧卵白ゲルが加熱卵白ゲルと同じ硬さを示したのに対し、凍結昇圧卵白ゲルは約 12 倍の硬さを示した。また、加圧処理では濃厚卵白ゲルよりも水様性卵白ゲルが硬くなり、油圧昇圧処理で 2.5 倍、凍結昇圧処理で 1.6 倍の硬さを示した。凍結昇圧卵白ゲルでは水様性卵白にのみ、繊維状凝集体が配向した構造が見られた。この繊維状凝集体の形成が、凍結昇圧卵白ゲルの強固なゲルの原因であることが示唆された。

1 緒言

凍結昇圧法は、従来の油圧ポンプによる加圧法に変わる新しい加工技術であり、加圧にポンプ等の機械設備を必要とせず、冷凍庫中で凍結昇圧容器ごと冷却するだけで、高圧力での処理を行うことができることから、これまでの大型の高圧処理装置に比較して容易に導入できる技術である¹⁾。

また凍結昇圧法は、小型で簡便な方法で高圧力と同時に低温と凍結という 3 つの条件を同時に発生することより、タンパク質の変性、微生物の殺菌及びウイルスの不活化等の効果が確認されている^{1, 2)}。

本研究では、加熱及び油圧昇圧とは異なる凍結昇圧法によるタンパク質の変性効果を明らかにするために、鶏卵の卵白に対する物性変化について検討した。

2 実験方法

2. 1 実験材料

鶏卵は、採卵後約 1 週間以内の新鮮なものを

用いた。「(農) 亀岡養鶏センター 丹の国さくら卵」を、割卵後に卵黄と分離した卵白を使用した。

2. 2 水様性卵白と濃厚卵白の分離及び均質化卵白の作成

卵白液を裏ごし網 (1 mm メッシュ) にのせて、網の上に残ったものを濃厚卵白、網目を通ったものを水様性卵白とした。

また、卵白液をストマッカー用袋に入れ、マステイクーター (IUL Instruments 製) で、60 秒間処理後、気泡をとり除いた液状部分を均質化卵白とした。

2. 3 卵白のゲル化

卵白液約 10 ml を、直径 1.2 cm の円筒状チューブに封入し、加熱 (90℃、30 min)、油圧昇圧 (三菱重工業(株)製 MFP-7000 : 600 MPa、30 min)、凍結昇圧 (株第一技研製 DHP-1000 : -25℃、16 h) の 3 種類の方法でゲル化させた。

2. 4 物性測定

テクスチュロメーター (株全研製 GTX-2-IN)

* 1 : 応用技術課 主任研究員

* 2 : 京都女子大学 家政学部 教授

を用い、以下の条件で物性測定を行った。

- チャートスピード：750 mm/min
- プラットフォーム：平皿
- 電圧：0.5 V、1 V
- プランジャー：ルサイト 18
- サンプル厚さ：10 mm
- サンプル方向：たて
- クリアランス：0.5 mm

2. 5 電子顕微鏡観察

ゲル化した試料を約 1 mm に切断し、0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄した。更に、1 %グルタルアルデヒド溶液中で 2 時間固定し、エタノールで脱水後に、t-ブチルアルコールに置換した。凍結乾燥後白金蒸着し、電子顕微鏡用試料とした。

電子顕微鏡観察は、日立走査型電子顕微鏡 (S-800) により、3,000 倍で観察した。

3 実験結果及び考察

3.1 卵白のゲル化

均質化卵白液を円筒状チューブに充填し、加熱、油圧昇圧及び凍結昇圧の処理を行った。その後、円筒状チューブから卵白ゲルをとりだし、ゲル性状、離水性、風味及び弾力性について比較した (表 1)。

表 1 各種卵白ゲルの特性

ゲル化方法	加熱	油圧昇圧	凍結昇圧
ゲル様式	白濁	白濁	白濁
離水	±	+	++
匂い, 味	硫黄臭	生	生
硬さ (kg/cm ²)	0.07	0.07	0.86
弾力性	+	+	++
その他	気泡	光沢、滑らか	繊維状

卵白液は全てのゲル化方法で白濁ゲルへ変化した。凍結昇圧卵白ゲルは、離水が目立った。油圧昇圧卵白ゲル及び凍結昇圧卵白ゲルは、生卵白の匂いや風味を保っていた。油圧昇圧卵白ゲルが加熱卵白ゲルと同じ硬さを示したのに対し、凍結昇圧卵白ゲルは約 12 倍の硬さを示した。

3.2 水溶性卵白及び濃厚卵白のゲル化

卵白を濃厚卵白と水溶性卵白に分離し、それぞれを円筒状チューブに充填した後、加熱、油圧昇圧及び凍結昇圧の処理を行った。各卵白ゲルを取りだして、テクスチュロメーターによる物性測定を行った結果を図 1 に示す。

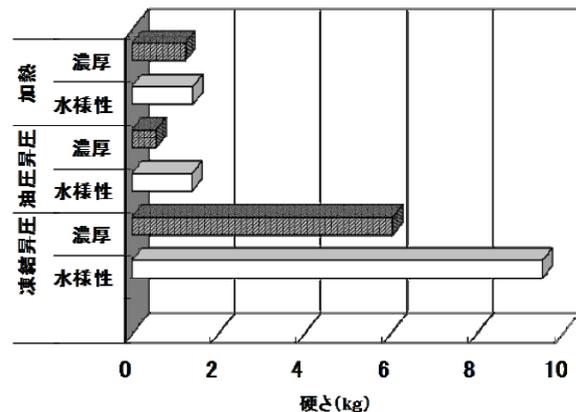


図 1 水溶性卵白及び濃厚卵白ゲル強度

水溶性卵白及び濃厚卵白ともに、加熱卵白ゲル及び油圧昇圧卵白ゲルよりも、凍結昇圧卵白ゲルが明らかに硬くなった。

また、濃厚卵白ゲルと水溶性卵白ゲルを比較すると、加熱ゲルではほぼ同程度の硬さだったのに対し、油圧昇圧卵白ゲルでは水溶性卵白ゲルが濃厚卵白ゲルの 2.5 倍、凍結昇圧卵白ゲルでは 1.6 倍硬くなった。加熱と加圧処理では、卵白のタンパク質変性機構が異なることが予想される。

3.3 卵白ゲルの電子顕微鏡観察

加熱、油圧昇圧及び凍結昇圧処理により変性した卵白ゲルの構造について、走査型電子顕微鏡により拡大観察（3,000倍）した結果を図2に示す。

加熱卵白ゲルは、濃厚卵白と水溶性卵白でほぼ同じ硬さを示すが、その構造においても同じであった。

また、加圧卵白ゲルでは、水溶性卵白ゲルと濃厚卵白ゲルで構造が異なっていた。油圧卵白ゲルは、水溶性卵白ゲルが濃厚卵白ゲルよりも、タンパク質の凝集体大きくなっていた。一方、凍結昇圧卵白ゲルでは水溶性卵白にのみ、繊維状凝集体が配向した構造が見られた。この繊維状凝集体を形成してしていることが、凍結昇圧卵白ゲルの硬さに影響していることが示唆された。

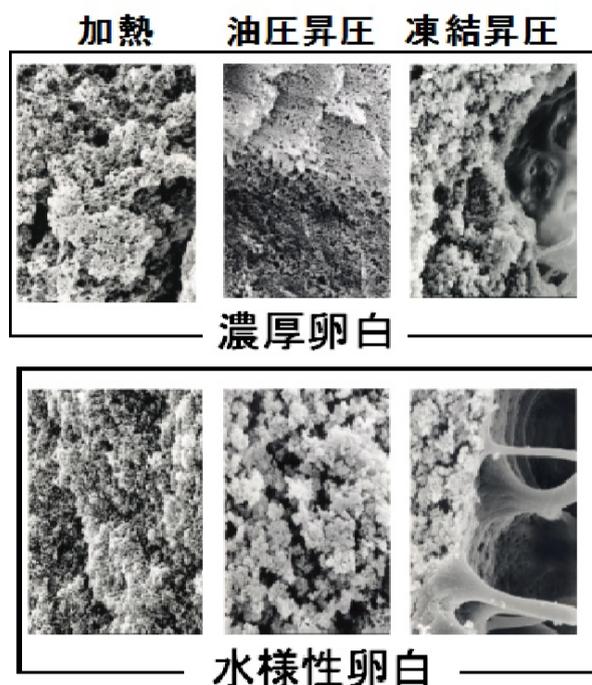


図2 水溶性卵白及び濃厚卵白ゲルの構造

4 まとめ

凍結昇圧法によるタンパク質変性効果を検討するために、加熱、油圧昇圧及び凍結昇圧の3

種類の方法により、卵白の変性効果を比較した。

均質化卵白液は、加熱、油圧昇圧及び凍結昇圧処理により、いずれも白濁ゲル化した。

油圧昇圧卵白ゲルが加熱卵白ゲルと同じ硬さを示したのに対し、凍結昇圧卵白ゲルは約12倍の硬さを示した。

加圧処理では、濃厚卵白ゲルよりも水溶性卵白ゲルが硬くなり、油圧昇圧処理2.5倍、凍結昇圧処理で1.6倍の硬さを示した。

凍結昇圧卵白ゲルでは水溶性卵白にのみ、繊維状凝集体が配向した構造が見られた。この繊維状凝集体の形成が、凍結昇圧卵白ゲルの強固なゲルの原因であることが示唆された。

(参考文献)

- 1) K. Hyakawa, Y. Ueno, S. Kawamura, T. Kato, R. Hayashi: Appl. Microbiol. Biotechnol., **50**, 415-418(1998)
- 2) 上野 義栄, 原口 健司: 京都府中小企業技術センター技報, **33**, 56-58(2005)