卵白の泡立処理による熱凝固性の低下

西川 善之*, 河合 文雄*, 満田 久輝**

* 甲子園大学栄養学部

** 生産開発科学研究所食品工学研究室

Reduction of Thermal-Coagulation of Egg White Solution by Foaming Treatment

Yoshiyuki NISHIKAWA,* Fumio KAWAI* and Hisateru MITSUDA**

* Department of Nutrition, Koshien University, Takarazuka, 665

** Department of Food Science and Technology, Research Institute
for Production Development, Kyoto, 606

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 37, 129~137 (1984)

Hen's egg white contains several kinds of proteins, and these are of good quality balanced well in essential amino acids. However, the egg white as processed goods are of limited application on these days. One of the reasons of this limitation was thought to be due to a strong thermal coagulation of egg white. Accordingly, we investigated to find the reducing methods of thermal coagulation of egg white solution. By foaming treatment on native egg white using hand mixer, electric foamer or Waring blender, the thermal coagulation was respectably reduced. The relationship between the freshness of hen's egg and the thermal coagulation was pursued, and it was found that the reducing effect of thermal coagulation by foaming was brought into full play on moderately fresh egg (over 1.07 of specific gravity) and scarcely on stale egg (under 1.05 of s.g.). The addition of organic acids (citrate etc.) and oxidizing reagents (hydrogen peroxide, performic acid) before foaming treatment facilitated the effect. Irradiations of ultra violet light or supersonic waves on egg white gave an impetus to reducing thermal coagulation. From the results of experiments using several kinds of proteases, pepsin was the most effective on reducing thermal coagulation. Next, a flavinogenic strain of *Eremothecium ashbyii* was cultured in the medium of egg white solution treated with foaming and additions of the reagents. The mycelia grow up excellently in this medium containing citrate similarly to the medium of pepton.

(Received August 4, 1983)

わが国における鶏卵の生産量は昭和30年(38万トン)から昭和46年にかけて、需要の増加に伴い生産量も4.2倍(180万トン)と急上昇したが、その後は消費の頭打傾向が現われ生産調整が行なわれたために昭和54年には199万トンと停滞ぎみに推移してきた。この停滞の原因として、鶏卵需要の大部分を占める一般家庭内での生卵殻つき卵としての利用が、ほぼ上限に達したものと考えられる。一方、マヨネーズや製菓、製菓等の加工卵としての利用は、鶏卵全生産量の11~12%程度¹⁾にしかすぎず用途は限定されている。鶏卵のもつ優れた栄養価および、わが国の鶏卵の生産能力を考慮した場合、さらなる加工利用が期待される。このような鶏卵の加工利用の

限定の要因として卵白のもつ顕著な熱凝固性があげられる。従来よりの卵白の熱凝固性に関する研究においては、生卵白を60℃前後で加温、加熱しても熱変性しない条件(イギリスでは57.2℃、2.5分以上の加熱殺菌)、すなわち、耐熱性を増加させること²⁾⁻⁴⁾に主力が注がれてきた。したがって、100℃の加熱条件下でも熱凝固しない条件を見いだす研究はいまだ十分には進展していない。そこで、著者らは本問題を解明し、卵白の食糧資源および微生物、動物組織培養工学的資源としての利用開発を目指し、さらに卵白を通じてタンパク質の熱凝固性機構⁵⁾⁻⁶⁾を解明することを大目標にして、まず卵白タンパク質の熱凝固性の低下の条件を見いだすことを本研究の目的として研究を始めた。

* 〒665 宝塚市紅葉ヶ丘 10-1

** 〒606 京都市左京区下鴨森本町 15

実験方法

1. 卵白の泡立法

生鶏卵から卵白(60 g)を分離し、(1)手動攪拌器(茶せん型泡立器)(10分)、(2)電動攪拌機(4分)、(3)ワーリング・ブレンダー(2分)を用いて所定の時間攪拌した。約1時間放置後、泡が消失し溶液となった卵白液を処理卵白液とした。

2. 熱凝固性テストおよびトリクロル酢酸添加テスト

泡立等の処理を施した卵白溶液に蒸留水または0.1 M リン酸緩衝液(pH 6.8)を卵白に対し10倍、50倍希釈となるように添加した。本溶液を湯浴中で室温(20°C)から100°Cまで加熱し、懸濁または熱凝固の生ずる状態を観察した。実験結果の判定には白濁沈殿物が生じたものを(+), 白濁したものを(±), ほとんど変化なく透明なものを(-)として記載した。また、タンパク質溶液(10 ml)に20%トリクロル酢酸(TCA)を2.5 ml 加え、沈殿物の量を測定した。

3. 卵白の化学的、物理的処理法

卵白に食塩、ショ糖や酸化剤(過酸化水素等)、還元剤(アスコルビン酸)、タンパク変性剤(ラウリル硫酸ナトリウム)、金属キレート剤(EDTA)等の試薬を所定量添加し泡立処理を行なった。一方、卵白液を泡立し滅菌箱(カステン)中にて24時間紫外線を照射した。また超音波処理は卵白30 ml に対して2分間ずつ3回(計6分間)、冷却しながら20 kHzの超音波を照射した。ガス通気実験では二酸化炭素、硫化水素を卵白溶液中に通気することにより攪拌泡立処理を行なった。以上の各処理卵白液を用いて熱凝固性に対する効果を検討した。

4. 卵白溶液を培地とする微生物培養法

高フラビン生産菌 *Eremothecium ashbyii* を前培養培地(1%ペプトン, 1%グルコース, 0.1%酵母エキス)中に1白金耳植菌し、27°C, 24時間、回転振盪培養を行なった⁷⁾。本培養液2 ml を試験物質(0.1 N クエン酸, または3.3 N 過ギ酸, または4.3%過酸化水素水)を含む泡立処理卵白(生卵白と粉末卵白を原料として使用)液中に植菌し、48時間、振盪培養を行なった。培養後濾過し、菌体の乾重量および総 B₂ 生産量(モル吸光係数 $\epsilon_{450nm}=12.2 \times 10^3$)を測定した。

5. 卵白の酵素処理法

所定の pH の泡立処理卵白(または無処理の卵白)にペプシン(pH 1.8), またはトリプシン(pH 7.6)を、それぞれ0.5%量加え、37°C, 18時間加水分解反応を行なった。その後、再び泡立を行ない熱凝固性を検討した。また卵白の泡立前にショ糖、過ギ酸等を添加するか、紫外線照射を行ないペプシン作用による熱凝固性に対する効果を検討した。さらに、ジアスターゼ、 α -アミラーゼ、パンクレアチン等の酵素を用いて、ペプシンと同様の効果を検討した。

結 果

1. 卵白の泡立処理による熱凝固性の低下

タンパク質は変性処理により高次構造が変わり熱凝固性に変化が現われると考えられる。そこで、卵白の攪拌泡立変性⁸⁾⁹⁾による熱凝固性の影響を観察した。Table 1は卵白を蒸留水に50倍(0.2%タンパク質)に希釈し、20°C から100°C まで徐々に加熱したとき、100°C の沸騰水中に卵白液を添加したときの熱凝固の状態を示した

Table 1. Reduction of thermal coagulation of egg white solution by foaming treatment.

	pH	20-100°C	100°C
(1) Control	8.89	+***	+
(2) Acid-treatment*	4.60	+	+
(3) Acid-heating-treatment*	4.44	+	+
(4) Foaming-treatment** (2 min)	8.89	—	—
(5) Foaming-treatment** (10 min)	8.89	—	—

* Fresh egg white (30 ml) was diluted with 0.2 N HCl by two times, and then heated at 100°C for 5 min. This acidified solution (2 ml) was added to water (48 ml). It was heated up slowly (5°C/min) from 20°C to 100°C or boiled at 100°C for 10 min in the water bath.

** Fresh egg white (30 ml) was foamed by hand mixing for 2 min or 10 min. This solution (1 ml) was diluted with water (49 ml), and heated similarly to the above conditions.

*** The results (+, —) of these thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity or weighting the dry weight of precipitate after centrifuging.

[Thermal coagulation]

++ strongly coagulated (ppt: over 40 mg)
 + coagulated (ppt: 10-40 mg)
 ± turbid (ppt: 2-10 mg)
 — clear (ppt: under 2 mg)

Table 2. The effect of foaming treatment on the reduction of the thermal coagulation of egg white.

Temperature foaming condition*	Thermal coagulation (50-fold diluted)		
	0°C	25°C	50°C
Control(no-foaming)	+	+	+
Hand mixing(10 min)	—	—	—
Waring blender(2 min)	—	—	—
Electric mixer(4 min)	—	—	—

* Fresh egg white (30 ml) was foamed under the temperature conditions (0, 25, 50°C) by hand mixing (10 min), waring blender (2 min) or electric mixer (4 min), respectively. This foamed solution (1 ml) was diluted with water (49 ml) and heated at 100°C in the water bath for 10 min. The results (+, —) of these thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity of the solution as shown in Table 1.

ものである。無処理の対照では両加熱条件下で雲状の凝固物が生じたのに対し、2分または10分間、泡立処理を行なったものでは熱凝固はまったく起こらなかった。そこで次に、より効果的な泡立の条件を見いだすために手動攪拌器、電動攪拌機、ワーリング・ブレンダーを用い、また攪拌時の温度を0°C、25°C、50°Cとし、熱凝固性に対する効果を検討した。Table 2に示すように泡立しない対照では熱凝固が起こったのに対し、泡立処理をした卵白液は、いずれの泡立方法でも、また、いずれの温度条件下でも熱凝固は起こらなかった。したがって、以後の実験では手動攪拌法と電動攪拌性とを適宜用いることとし、攪拌泡立処理と他の変性処理とを組み合わせ、より効果的な熱凝固性低下の方法を検討した。

2. 卵白溶液の pH 変化と泡立処理

生卵白 (pH 9.10) を塩酸または水酸化ナトリウムで pH 2.00 から pH 12.50 に調整し、泡立処理を行なった。その後、水で10倍、50倍に希釈し熱凝固性テストを行なった (Table 3)。pH 2.00 および、pH 9.10 以上のものでは10倍希釈濃度でも熱凝固は起こらなかったが、オボアルブミン (卵白タンパク質の主成分) の等電点である pH 4.80 では50倍希釈でも強い熱凝固が起こった。

3. 食塩とショ糖の添加効果

調味料として広く利用されている食塩とショ糖 (砂糖) は卵白の熱凝固性と関係深いことが示差走査熱量計等を用いた研究で報告¹⁰⁾¹¹⁾されている。そこで、本実験では食塩またはショ糖を卵白に対し100%量まで添加し、泡立処理と組み合わせ、熱凝固性に対する効果を検討した。Table 4は泡立後の pH、粘度、泡末安定性と水10倍希釈後の熱凝固性および、TCA 試験の結果を示してい

Table 3. The effect of pH conditions at the foaming time on the thermal coagulation of egg white.

Dilution pH	50-fold	10-fold	1-fold
pH 2.00	+	+	+
4.80	+	+	+
6.00	—	+	+
9.10	—	—	+
12.50	—	—	+

* Fresh egg white (30 ml) was adjusted pH at 2.00 to 12.50 with 6 N HCl or 6 N NaOH, then foamed by hand mixing. This foamed solution (1 ml or 5 ml) and water (49 ml or 45 ml) were mixed, and heated at 100°C in the water bath for 10 min. The results (+, —) of this thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity of the solution as shown in Table 1.

る。食塩添加では、粘性、泡末安定性は変化なかったが、熱凝固性は著しく増加した。一方、ショ糖の添加では粘性、泡末安定性は50%量添加から増加したが、熱凝固は起こらなかった。

4. 鶏卵の鮮度と熱凝固性

市販の鶏卵を14日間、室温に放置し、経時的に所定の濃度 (5%から12%まで) の食塩水に浸漬させ均衡する

Fig. 1. Determination of freshness of hen's egg stored at room temperature.

Hen's egg was sunk into a standard NaCl solution, and its specific gravity was determined from the concentration balanced with NaCl solution.

濃度を比重に換算する方法にて鮮度変化を観察した。その結果, Fig. 1 に示すように比重の低下は2週間目まで, はほぼ直線的に進行し, 1日当たり比重は約0.002の割合で減少した。次に新鮮卵を室温保存(20°C), 冷蔵庫保存(8°C), 冷凍庫保存(-20°C)の3群に分ち, 2

週間保存後の泡立処理による熱凝固性に対する効果を検討した(Table 5)。無処理の卵白はいずれの保存法でも強い熱凝固が起こったのに対し, 泡立処理を施したものでは, 冷蔵卵(平均比重1.07), 冷凍卵(平均比重1.08)および新鮮卵(平均比重1.08)では熱凝固しなかった。

Table 4. The effect of addition of NaCl and sucrose on thermal coagulation of egg white.

	NaCl addition			Sucrose addition					Control (no-foam)
	10%	50%	100%	0.1%	1%	10%	50%	100%	
pH	8.75	8.31	8.30	8.99	8.99	8.99	9.00	8.81	8.99
Viscosity*	±	±	±	±	±	±	+	+	±
Stability of foam**	±	±	±	±	±	±	+	+	±
Thermal coagulation***	++	++	++	-	-	-	-	-	+
TCA-test***	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fresh egg white (30 ml) was mixed with NaCl (10-100 % for egg white) or sucrose (0.1-100 %), and foamed by hand mixing for 10 min.

The pH, viscosity, thermal coagulation and TCA-test of the solution, and stability of the foam were measured as follows.

* Viscosity was determined by a time that 25 ml of egg white solution got through into the glass column (1×50 cm).

(±: 45-60 sec, +: over 60 sec)

** Stability of the foam was determined by a liquified volume from foam after 1 hr.

(±: 18-24 ml, +: under 18 ml)

*** Thermal coagulation test and TCA-test were persued as follows. The liquified solution (5 ml) was diluted with water (45 ml) and heated at 100°C for 10 min. The results was judged by observing the turbidity as shown in Table 1.

Moreover, 10 fold diluted solution (10 ml) and 2.5 ml of 20 % trichloroacetic acid (TCA) were mixed and judged from precipitation.

[TCA-test]

++ strongly precipitated (ppt: over 50 mg)

+ precipitated (ppt: 20-50 mg)

± turbid (ppt: 5-20 mg)

- clear (ppt: under 2 mg)

Table 5. The effect of storage of fresh egg in a room temperature, refrigerator and stocker on thermal coagulation of egg white.

	Foaming treatment		No-foaming treatment	
	H ₂ O	P. buffer	H ₂ O	P. buffer
Fresh egg* (A)	-	±	+	+
(B)	-	±	+	+
Stored egg**				
in room temp.	±	±	+	+
in refrigerator	-	±	+	+
in stocker	-	±	+	+

* Two kinds (A or B) of fresh egg white (5 ml) were foamed and diluted with water (45 ml) or 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8) (45 ml).

Thermal coagulation test was persued by using this solution.

** Fresh eggs (A) were stored in a room temperature (20°C), refrigerator (8°C) or stocker (-20°C) for 14 days. The stored egg white was diluted with water or phosphate buffer by 10 times, and heated at 100°C for 10 min. The results (+, ±, -) of these thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity as shown in Table 1.

一方、室温保存卵（平均比重 1.05）では、白濁が観察された。したがって、鶏卵の鮮度低下で、本泡立処理の効果が減少するように思われる。なお、0.1M リン酸緩衝液（pH 6.8）で希釈すると、いずれの場合も強い熱凝固が起こった。

5. 酸化剤，還元剤による熱凝固性の変化

卵白の泡立時におけるタンパク質の酸化の促進や抑制が熱凝固性に関与しているかを、酸化剤や還元剤¹²⁾を用いて検討した (Table 6)。その結果、とくに過酸化水素¹³⁾

(5%), フェリシアン化カリウム(1%), 過マンガン酸カリウム(1%)の添加で熱凝固法の低下が観察された。一方、アスコルビン酸(還元剤)では逆に熱凝固性は増加した。そこで、さらに、ギ酸、過ギ酸¹⁴⁾、クエン酸、レモン抽出液の効果を検討した。Table 7 に示すように、泡立処理を行なうことにより、上記いずれの場合も、水希釈時には熱凝固性は低下された。

6. 消泡剤、乳化剤等の添加効果

Table 8 に示すような消泡剤，乳化剤，金属キレート

Table 6. The effect of oxidizing or reducing agents on thermal coagulation of egg white.

	pH		Thermal coagulation (50-fold)	
	Before*	After*	H ₂ O	P. buffer
H ₂ O ₂ (1 %)	8.79	8.80	±	+
H ₂ O ₂ (5 %)	8.94	8.86	—	±
K ₃ Fe(CN) ₆ (1 %)	8.86	8.92	—	+
CuSO ₄ (1 %)	8.98	6.89	+	+
Na ₂ SO ₃ +H ₂ O ₂ **	8.98	9.10	—	±
KMnO ₄ (1 %)	8.96	8.91	—	+
Na ₂ SO ₃ (0.5%)	9.09	9.02	—	+
Na ₂ S ₂ O ₃ (0.5%)	9.10	7.12	—	+
Ascorbic acid (1 %)	8.98	6.67	+	+
Control	8.92	9.50	+	+

* Oxidizing or reducing agents were added to 30 ml of fresh egg white and foamed by hand mixing for 10 min. The pH of egg white was measured before or after the addition of these agents.

Thermal coagulation test of the solution was pursued by diluting with water or phosphate buffer by 50 times. The results (+, $\pm$, -) of these thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity as shown in Table 1.

** Na_2SO_3 (0.5%) + H_2O_2 (5 %).

Table 7. The effect of organic acids on thermal coagulation of egg white.

	Foaming treatment*		No-foaming treatment	
	H ₂ O	P. buffer	H ₂ O	P. buffer
HCOOH (3.3 N)**	—	+	±	+
H ₂ O ₂ (4.3 %)	—	+	±	±
HCOOH + H ₂ O ₂	—	+	±	+
SDS*** (1 %) + $\frac{\text{HCOOH****}}{\text{H}_2\text{O}_2}$	+	+	+	+
Citric acid (0.1 N)	—	+	—	+
Acetic acid (0.1 N)	+	+	+	+
Lemon (1/2)	±	+	+	+
Lemon (1)	—	+	+	+

* Organic acids were added to 30 ml of fresh egg white and foamed by hand mixing for 10 min. This protein solution (5 ml) was diluted with 45 ml of water or phosphate buffer and heated at 100°C for 10 min. The results of these thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity as shown in Table 1.

** Final concentration.

*** SDS: sodium dodecylsulfate.

**** HCOOH (3.3 N) + H_2O_2 (4.3 %).

Table 8. The effect of chemical reagents on thermal coagulation of egg white.

	Thermal coagulation (50-fold)*	
	H ₂ O	P. buffer
Antifoam AF (1%)	—	±
EDTA** (1%)	±	+
Taurocholate	—	±
SDS*** (1%)	±	±
Urea (1M)	+	+
EtOH (1%)	+	+

* Chemical reagents were added to 30 ml of fresh egg white and foamed by hand mixing for 10 min. This protein solution (1 ml) was diluted with water (49 ml) or phosphate buffer, and heated at 100°C for 10 min. The results of these thermal coagulation tests were judged by observing the turbidity as shown in Table 1.

** EDTA: ethylenediamine tetraacetate.

*** SDS: sodium dodecylsulfate.

剤, タンパク変性剤を用いて前記と同様の実験を行なった。その結果, Antifoam AF (消泡剤), タウロコール酸 (乳化剤) は熱凝固性を低下させ, EDTA (キレート剤), SDS (変性剤) は変化なく, 尿素や, エタノール (変性剤) は逆に増加させた。

7. 紫外線, 超音波, ガス通気による効果

次に紫外線照射および超音波照射による熱凝固性に対する効果を検討した (Table 9) ところ, いずれの場合にも熱凝固性は低下することが判明した。また, 炭酸ガ

ス, 硫化水素 (卵白中にも含まれる) を外部から卵白液に通気し攪拌処理を行なった。これらの気体の通気攪拌によっても熱凝固性の低下が観察された。しかし, リン酸緩衝液中ではいまだ強い熱凝固が起こった。

8. 酵素反応による熱凝固性の変化

タンパク質や糖質の加水分解酵素を用いて本処理による卵白液の熱凝固性の変化を検討した。Table 10に示すように, ペプシン (pH 1.8) の酵素作用により著しく熱凝固性は低下し, とくに酵素反応の前後に泡立処理を行なったものは最も透明な溶液となった。同様の実験をトリプシン (pH 7.6) を用いて試みたところ, この場合も酵素反応の前後に泡立処理をしたものが最も有効であった (Table 11)。しかし, 全体的にはトリプシンの効果はペプシンに比べ小であった。そこで, ショ糖, SDS, 過ギ酸添加等の前処理とペプシン, 泡立処理を組み合わせでその効果を検討した。その結果, 過ギ酸添加を除き熱凝固性の低下効果はなく, 逆に増加が認められた (Table 12)。また糖質分解酵素であるジアスターゼ, α -アミラーゼ等を用いて同様の実験を試みたところ (Table 13) いずれの酵素処理も熱凝固性の低下効果を有さなかった。

9. 泡立処理卵白液の微生物培養実験

以上の実験中, 卵白の熱凝固性をより有効に低下せしめる処理法を選び, 生卵白と市販の卵白粉末を原料とし微生物培養液を調製した。高フラビン生産菌である *Eremothecium ashbyii* (子のう菌) を本卵白液を培地として生育させたところ, Fig. 2 に示すように菌体の生育は過ギ酸, 過酸化水素添加卵白液では抑制されたが, クエン酸添加卵白液ではビタミン B₂ 生産量は高くはない

Table 9. The effect of bubbling of gas and ultraviolet or ultrasonic irradiation on thermal coagulation of egg white.

	Foaming treatment			No-foaming treatment		
	Coagulation (10-fold)		TCA	Coagulation (10-fold)		TCA
	H ₂ O	P. buffer		H ₂ O	P. buffer	
UV-treatment*	—	+	++	+	+	++
US-treatment*	—	+	+	—	+	+
CO ₂ **	—	+	+			
H ₂ S**	—	+	+			

* Fresh egg white (30 ml) was irradiated with ultraviolet light in a kasten for 24 hr or ultrasonic wave (20 kHz) for 6 min (2 min×3 times). After the egg white solution was foamed by hand mixing for 10 min.

** CO₂ or H₂S gas was bubbled into egg white solution (60 ml) for 20 min. The solution was diluted with water or phosphate buffer by 10 times and heated at 100°C for 10 min. Moreover, the diluted solution (10 ml) and 20% TCA were mixed. The results of these thermal coagulation tests and TCA-tests were judged by observing the turbidity as shown in Tables 1 and 4, respectively.

Table 10. The effect of enzymatic reaction of pepsin and foaming on thermal coagulation of egg white.

	In H ₂ O		In P. buffer	TCA
	50-fold	10-fold	10-fold	
Control	+	+	++	++
F-pepsin-F*	—	—	+	+
F-pepsin	—	—	+	++
pepsin-F	—	—	+	++
pepsin	—	±	+	++

* Fresh egg white (30 ml) was foamed for 10 min, and adjusted pH at 1.8 with 6N HCl. Pepsin (300 mg) was added to this solution, incubated at 37°C for 18 hr, and then foamed for 10 min again. The solution was diluted with water or 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8) by 50 times or 10 times, and heated at 100°C for 10 min. Moreover, 10-fold diluted solution (10 ml) and 20 % TCA (2.5 ml) were mixed. The results of thermal coagulation tests and TCA-tests were judged by observing the turbidity as shown in Tables 1 and 4, respectively.

Table 12. The effect of enzymatic reaction of pepsin and pretreatment on thermal coagulation of egg white.

	Foaming treatment*			No-foaming treatment		
	Coagulation (10-fold)		TCA	Coagulation (10-fold)		TCA
	H ₂ O	P. buffer		H ₂ O	P. buffer	
Sucrose-pepsin (10 %)	+	+	++			
SDS-pepsin (1 %)	+	±	++			
UV-pepsin (24 hr)	+	+	++	+	+	+
Performic acid-pepsin (3.3 N)	—	+	+	+	+	+

* A definite weight of reagents were added to fresh egg white (30 ml) and foamed by 10 min. After the solution was adjusted pH at 1.8 with 6N HCl, thermal coagulation test was carried out by the method described in Table 10. The results of the thermal coagulation tests or TCA-tests were judged by observing the turbidity as shown in Tables 1 and 4, respectively.

Table 13. The effect of enzymatic reactions and foaming treatment on thermal coagulation of egg white.

	Foaming treatment*		TCA (mg)	No-foaming treatment		TCA (mg)
	H ₂ O	P. buffer		H ₂ O	P. buffer	
Diastase	+	+	29.6	+	+	13.8
α-Amylase	+	+	40.7	+	+	18.5
Pancreatin	+	+	41.6	+	+	42.1
Takadiastase	+	+	41.9	+	+	42.0

* Fresh egg white (30 ml) was foamed for 10 min, and adjusted pH at 7.6 with 6N HCl. Enzyme (300 mg) was added to this solution, and incubated at 37°C for 18 hr. This solution was foamed for 10 min again. Thermal coagulation tests and TCA-tests were carried out as described in Table 12.

Table 11. The effect of enzymatic reaction of trypsin and foaming on thermal coagulation of egg white.

	In H ₂ O		TCA
	50-fold	10-fold	
Control	+	+	++
F-trypsin-F*	—	—	+
Trypsin-F	—	±	++
F-trypsin	—	±	++
Trypsin	±	+	++

* Fresh egg white (30 ml) was foamed for 10 min, and adjusted pH at 7.6 with 6N HCl. Trypsin (300 mg) was added to this solution, and incubated at 37°C for 18 hr, and foamed for 10 min again. The results of thermal coagulation tests or TCA-tests were judged by observing the turbidity as shown in Tables 1 and 4, respectively.

Fig. 2. The utilization of egg white solution added reagents and foamed for the growth of *E. ashbyii*.

A flavinogenic strain of *E. ashbyii* was incubated in the precultured medium (1% peptone, 1% glucose, 0.1% yeast extract) at 27°C for 24 hr under agitation on a rotatory shaker. Two ml of the seed culture was inoculated into 50 ml of the basal medium containing egg white solution (fresh egg or egg white powder) added reagents and foamed. Furthermore, it was incubated under agitation for 48 hr. After filtration of mycelia, dry weight of mycelia was measured. Riboflavin production was determined by measuring optical density at 450 nm for filtrate.

が、菌体の生育はペプトン培地と同程度に良好であった。

考 察

卵白を加熱すると粘度が増し 58°C で白濁し始め、しだいに流動性を失い 80°C で完全に凝固する。この卵白の熱凝固をひき起こす主因子が、どのタンパク質成分に起因しているのかは明白ではない。さらにタンパク質の熱凝固機構についてもまだ確立されていない。そこで著者は、卵白タンパク質の熱凝固性の低下および消失の条件を見いだし卵白のタンパク食糧資源および工業的資源としての利用範囲を拡大し、あわせて熱凝固性の機構を体系づけることを目標として研究を始めた。一般に卵白液の熱凝固性は pH の低下 (pH 4.8) や塩類の添加によって強められる。したがって食品工業や微生物方面に利用するためには比較的広い範囲の pH 条件下でも、また塩類の添加でも熱凝固しないことが必要である。著者らはタンパク質の種々の変性処理を試み熱凝固性の効果を検討したところ、卵白を激しく攪拌し泡立を行なうことにより、卵白液を水で 10 倍に希釈 (タンパク質濃度約 1%) した場合でも pH 9.3 から pH 7.0 の範囲では熱凝固性が消失することを見いだした。さらに、この泡立操作に加え種々の化学的、物理的な処理を試みたところ、酸化剤 (過酸化水素、過ギ酸)、クエン酸、ショ糖等の

添加や、紫外線照射、超音波照射、および、ペプシン酵素処理が有効であることが判明した。しかし、これらの熱凝固性の低下現象は純水中で可能であり、リン酸緩衝液のような塩類の存在下ではいまだ改善されなかった。次に泡立処理卵白液を培養液として高フラビン生産菌 *Eremothecium ashbyii* を培養したところ、クエン酸添加卵白液ではビタミン B₂ 生産量は低かったものの、菌体の生育はペプトン培地と同程度に良好であった。以上の実験より、泡立処理および種々の化学的、物理的処理により熱凝固性がかなり低下されることが見いだされた。この卵白の泡立処理と熱凝固性の関係については、不明であるが、本法が、泡立することを基本とする点、および、濃厚卵白の多い新鮮卵白で有効であることより、泡の形成や安定化に、また濃厚卵白の形成に寄与している^{15)~18)} リゾチームとオボムシンが関与している可能性が考えられる。今後、本物質について熱凝固性の関連のもとで、さらに詳細に検討する必要がある。また、熱凝固性の消失が純水中のみならず塩類の存在下でも起こる条件を見いだす必要がある。

要 約

卵白の熱凝固性の低下条件および熱凝固の機構を解明する目的で研究を始め、以下の結果を得た。

1) 生卵白を手動攪拌器, または電動攪拌機, ワーリングブレンダーを用いて攪拌泡立を行なうと50倍水希釈下(タンパク質濃度0.2%)で熱凝固しないことが判明した。

2) 泡立時, 加熱時のpH条件をpH 2.0以下または, pH 9.1以上とすると10倍水希釈下でも熱凝固しなかった。

3) 2週間室温(20°C)に放置し鮮度が低下した鶏卵(比重1.05)の卵白では攪拌泡立による熱凝固性の低下効果は小であった。したがって, 本処理には適度の鮮度の鶏卵(比重1.07)卵白が必要であると思われた。

4) クエン酸, 過酸化水素, 過ギ酸等を添加し攪拌泡立を行なうと熱凝固性の低下効果はさらに増加した。

5) 卵白を超音波照射または紫外線照射を行なうと熱凝固性は低下した。

6) 卵白を基質とし種々の酵素反応を行なったところ, ペプシンと泡立処理を組み合わせたものが熱凝固性の低下に最も有効であった。

7) クエン酸, 過酸化水素, 過ギ酸を添加し泡立処理を施した卵白液を培養液として微生物生育実験(*Eremothecium ashbyii*)を行なったところ, クエン酸添加のものでは生育はペプトン培地と同程度に良好であった。

以上の結果より, 攪拌泡立および, クエン酸等の添加が卵白の熱凝固性の低下に有効であることが判明した。今後は塩類の存在下でも熱凝固しない条件を見いだす必要がある。

本研究に当たり, 実験にご助力いただいた滝上晶子(元: 甲子園大学助手), 村上寛子(現: 神戸市長田保健所), 太田道代(現: 岐阜女子高等学校), 野田幸子の各氏に深く謝意を表します。

また, 本研究の一部は, 財団法人糧食研究会の助成研

究費の厚意によるものであり, ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) 鎌田啓二: 食品工業, 8, 38 (1978)
- 2) 佐藤 泰, 渡辺乾二: 蛋白質 核酸 酵素, 23, 54 (1978)
- 3) Seideman, W. E., Cotterill, O. J. and Funk, E. M.: *Poult. Sci.*, 42, 406 (1963)
- 4) Smith, M. B. and Back, J. F.: *Nature*, 193, 878 (1962)
- 5) Kuntz, J. D. and Kautzmann, W.: *Adv. Protein. Chem.*, 28, 239 (1974)
- 6) Hegg, P. O., Martens, H. and Löfqvist, B.: *J. Sci. Food Agric.*, 29, 245 (1978)
- 7) Mitsuda, H., Nishikawa, Y. and Nakajima, K.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 22, 115 (1976)
- 8) Nakamura, R. and Sato, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 28, 524 (1964)
- 9) 中里トシ子, 松元文子: 家政学雑誌, 18, 10 (1967)
- 10) 北條洋子: 栄食誌, 36, 105 (1983)
- 11) Donovan, J. W., Mapes, C. J., Davis, J. G. and Garibaldi, J. A.: *J. Sci. Food. Agric.*, 26, 78 (1975)
- 12) Heans, G. E. and Feeney, R. E.: Chemical Modification of Protein, Chapter 8(1971), Holden-Day (San Francisco, Cambridge, London, Amsterdam)
- 13) Neumann, N. P., Moore, S. and Stein, W. H.: *Biochemistry*, 1, 68 (1962)
- 14) Sanger, F.: *Biochem. J.*, 44, 126 (1949)
- 15) Cotterill, O. J. and Winter, A. R.: *Poult. Sci.*, 34, 679 (1955)
- 16) Robinson, D. S.: Egg Formation and Production (Freeman, B. M. and Lake, P. E., ed.), 82 (1972), British Poultry Science (Edinburgh)
- 17) Donovan, J. W., Davis, J. G. and Wiele, M. B.: *J. Agric. Food Chem.*, 20, 223 (1972)
- 18) Miller, S. M., Kato, A. and Karai, S.: *J. Agric. Food Chem.*, 30, 1127 (1982)

(昭和58年8月4日受理)