非熱凝固性卵白液の経腸栄養剤としての利用

西 川 善 之*,**

* 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

Utilization of Non-Thermal-Coagulating Protein of Egg White for Enteral Hyperalimentation

Yoshiyuki NISHIKAWA*,**

*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.*) 38, 371~376 (1985)

We have studied the possibility to use a heat stable protein of egg white in enteral hyperalimentation. At first, the egg white protein solution was found to become turbid or to coagulate on heating at 100°C in the presence of Ca^{2+} . We have developed an egg white protein solution which did not coagulate on heating even in the presence of Ca^{2+} . The egg white solution, which coagulated at pH 7.0, became non-coagulative at pH 9.0 even when the autoclaving time in the preparation of the TEW (treated egg white) solution was extended from the conventional time (10 min) to 60 or 120 min. Further, the TEW solution autoclaved for 120 min was made non-coagulative at pH 7.0 by using calcium glycerophosphate in place of CaCl_2 as the calcium source. Next, the solution of enteral hyperalimentation containing all of the five nutritional components was prepared by mixing the TEW solution, calcium glycerophosphate and the other nutrients. A clear and nutritionally complete solution without the thermal coagulation was finally prepared. Accordingly, the non-thermal-coagulating protein of egg white is expected to be widely useful, not only for enteral hyperalimentation, but also for other foods, such as egg white drink, or for the microbiological industries.

(Received March 11, 1985)

著者らは、これまでに鶏卵白の食品産業界等への利用法を開発する目的で、卵白の熱凝固性低下または消失に関する研究を行ってきた^{1)~3)}。その結果、食塩 (NaCl) を添加してもまったく熱凝固しない卵白液を得ることに成功した。そこで本非熱凝固性卵白液を用いて経腸栄養剤としての利用性を検討した。もとより経腸栄養剤は5大栄養素を理想的な割合で含む完全栄養剤であるとともに、経管、経口供与(細いチューブ内を通過)のために、流動性の高いことが必須の条件である。このタンパク源として従来より牛乳や大豆のタンパク質がおもに利用されてきたが、卵白は栄養価が高いにもかかわらず、ほとんど利用されていない現状にある。これは卵白のもつ強い熱凝固性^{4)~6)}に起因しており、加熱殺菌することが不

可能であったためと思われる。一方、本非熱凝固性卵白液はナトリウムイオン (Na^+) に対しては熱凝固しないが、その後の研究でカルシウムイオン (Ca^{2+}) に対しては加熱することにより白濁または凝固することがわかった。そこで今回はカルシウム塩類の添加によっても熱凝固しない条件を見いだすことを目標に研究を進めた。その結果、本条件をそなえた経腸栄養剤の標品を調製することができたので報告する。

実験方法

1. 非熱凝固性卵白液の調製法³⁾

卵白液を水で数倍(3~5倍)に希釈し、攪拌後生じた糸状の凝集物をろ過除去し、ろ液についてオートクレーブ(120°C)を5~120分行なった。本溶液を以後便宜上、非熱凝固性卵白液(TEW: 処理卵白液(treated egg white)の略)と称する。

* 〒665 宝塚市紅葉ヶ丘 10-1

** 〒606 京都市左京区下鴨森本町 15

Table 1. Effect of autoclaving time on thermal coagulation in the presence of Ca^{2+} (H_2O treatment).

Autoclaving time (min)	pH 9.0			pH 7.0		
	Control	Ca^{2+} *	Ca^{2+} (100°C)**	Control	Ca^{2+} *	Ca^{2+} (100°C)**
5	—	+	+	—	+	+
10	—	±	+	—	±	+
20	—	—	+	—	—	+
30	—	—	±	—	—	+
60	—	—	—	—	—	+
120	—	—	—	—	—	+

* CaCl_2 was added to the solution.

** CaCl_2 was added to the solution and heated at 100°C for 5 min.

The egg white (300 ml) was diluted with water by five fold, and stirred with a glass rod for 5 min. Fibrous coagulate was filtered with a filter paper. The filtrate was autoclaved for 5 to 120 min, cooled and adjusted to pH 9.0 or 7.0. CaCl_2 (Ca^{2+} : 0.05%) was added to the solution, and heated at 100°C for 5 min. In this table, the evaluations (+, —) of the output of coagulate were done by observing the turbidity or measuring the dry weight of the precipitate after filtration as shown below.

[Thermal coagulation test]

++, Strongly coagulated (ppt: over 60 mg); +, coagulated (ppt: 20–60 mg); ±, turbid (ppt: 5–20 mg); —, clear (ppt: under 5 mg).

2. 卵白液の熱凝固性テスト (thermal coagulation test)

種々の条件で調製した卵白液（5倍に卵白液を希釈：50 ml）を湯浴中で 100°C、5分間加熱を行ない熱凝固性を検討した。判定は++, +, ±, —の4段階で評価し、判定基準については Table 1 に記載した。

結 果

1. カルシウムイオン (CaCl_2) 存在下での凝集物の生成と熱凝固性

まず Ca^{2+} の存在下でも熱凝固しない条件を見いだすことを目標に、オートクレーブの加熱時間を変えて検討した (Table 1)。TEW 液に 0.05% Ca^{2+} を添加したとき、オートクレーブが 10 分より短い卵白液は pH 9.0, pH 7.0 いずれも白濁または沈殿物が生じたが、20 分以上のものでは白濁しなかった。しかしこれを 100°C、5分間加熱すると pH 9.0 では 30 分のものまでは熱凝固したが、60 分以上では凝固しなかった。一方、pH 7.0 の場合には加熱により 120 分オートクレーブのものも熱凝固した。一般に TEW 液を調製する際に、水希釈の代わりにエチルアルコール (10% EtOH) を用いると、より透明な卵白液が得られる³⁾。そこでエチルアルコール希釈法を試み、 Ca^{2+} による熱凝固性の低下、消失について検討した。その結果、水希釈の場合とほとんど同じ結果となり、予想に反しエチルアルコールの効果は認められなかった。次に生卵白液の凍結融解法による変性処理を行ない、熱凝固性に及ぼす影響を検討した。Table 2 は凍結卵白を 4°C から 40°C の条件で融解させ、本卵

白液を水希釈、エタノール希釈の 2 群に分け、60 分間オートクレーブした。その結果、10°C での融解が熱凝固性低下には最も好ましいことがわかった。しかし Ca^{2+} 添加下の加熱では、いずれの場合にも熱凝固が起こり、生卵白の凍結融解法も有効な手段でないことが判明した。

2. 2液混合型の経腸栄養剤の調製

前実験より、 Ca^{2+} を添加してもオートクレーブを 20 分以上施した TEW 液は pH 7.0 下でも凝集物が生じないことが見いだされた。すなわち Ca^{2+} と TEW 液を混合しても加熱しなければ凝集物が生じないことより、あらかじめ卵白成分とミネラル成分とを別々に加熱殺菌し、冷後混合すると凝集物が生じないものと考えられる。そこで 2液混合型の経腸栄養剤の調製法を検討した。その結果、A, B 液からなる混合物を調製した (Table 3)。すなわち、A 液には 5% の TEW 液 (20 分のオートクレーブ処理後 2 倍に減圧濃縮を行なったもの) と、ビタミン混合物⁹⁾ を添加後、オートクレーブ (5 分) による滅菌を行なった。一方、B 液には糖質 (米デキストリン)、脂質 (米油)、 Na^+ 、 Ca^{2+} に加え、さらに K^+ 、 Mg^{2+} を添加し、100 ml としてオートクレーブ 10 分を行なった。これらの A, B 液を使用時に混合すると透明な経腸栄養剤が得られた。以上の栄養剤 400 ml 中に固型物は 98.2 g (タンパク質 15.0 g, 糖質 70.1 g, 脂質 9.3 g, ミネラル 2.8 g, ビタミン 1.0 g) 含有され、熱量は 424 kcal, PFC 比は 14:20:66 である。したがってほぼ理想食に近い栄養剤といえる。

3. 全混合型の経腸栄養剤の検討

以上のように、2液混合型の経腸栄養剤は完成できた

Table 2. Effect of thawing temperature of frozen egg white on thermal coagulation.

Thawing temperature (°C)		pH 9.0			pH 7.0		
		Control	Ca ²⁺ **	Ca ²⁺ (100°C)**	Control	Ca ²⁺ **	Ca ²⁺ (100°C)**
H ₂ O treatment	4	—	—	±	—	—	+
	10	—	—	±	—	—	+
	20	—	—	±	—	±	+
	30	—	—	±	—	±	+
	40	—	—	±	—	±	+
EtOH treatment	4	—	—	±	—	±	+
	10	—	—	±	—	—	+
	20	—	—	±	—	±	+
	30	—	—	±	—	±	+
	40	—	—	±	—	±	+

* CaCl₂ was added to the solution.

** CaCl₂ was added to the solution and heated at 100°C for 5 min.

The fresh egg white (500 ml) was divided into five parts and frozen in a stocker at -20°C. It was then thawed at different temperature from 4 to 40°C, and used for the thermal coagulation test. The experiments were carried out in the same way as shown in Table 1.

Table 3. Utilization of non-thermal-coagulating egg white solution for enteral hyperalimentation.

A solution		B solution	
(1) 5% TEW* solution (autoclaved for 20 min)	300 ml	(1) Rice dextrin	70.1 g
(2) Vitamin mixture (Harper)	1.0 g	(2) Rice oil	9.3 g
		(3) NaCl	1.0 g
		(4) KCl	0.61 g
		(5) CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.60 g
		(6) MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.62 g
		(7) H ₂ O	about 50 ml
	(300 ml)		(100 ml)
	↓ autoclaved for 5 min		↓ autoclaved for 10 min

A+B→Enteral hyperalimentation.

A solution, the egg white (150 ml) was diluted with 600 ml of water, filtered and autoclaved for 20 min. The protein solution was condensed by evaporation by two times (5% protein). This condensed solution and vitamin mixture were mixed and autoclaved for 5 min.

B solution, rice dextrin, rice oil, NaCl, KCl, CaCl₂·2H₂O and MgSO₄·7H₂O were thoroughly mixed and dissolved in water to a final volume of 100 ml and the mixture was autoclaved for 10 min.

A and B solutions were mixed after cooling.

ので、次に全混合型の経腸栄養剤の検討を試みた。全栄養成分を含む全混合型のものでは、TEW 液と Ca²⁺ の存在下で熱凝固しないことが必須の条件である。そこでカルシウムイオン剤の種類を変えてその効果を検討した。すなわち、塩化カルシウム (CaCl₂) の代わりに、リン酸カルシウム (Ca (PO₄)₂)、硫酸カルシウム (CaSO₄)、リン酸水素カルシウム (CaHPO₄)、リン酸二水素カルシウム (Ca (H₂PO₄)₂)、パントテン酸カルシウム、グリセロ

リン酸カルシウムを用いて検討した。その結果、グリセロリン酸カルシウムがたいへん有効である事実を見いだした。Fig. 1 はカルシウムの添加濃度と TEW 液のオートクレーブ時間による効果を検討したものであるが、オートクレーブ 0 分のものでは 100°C、10 分の加熱で沈殿物量が多く、1% の添加まで直線的に増加したのに対し、オートクレーブが 10 分、120 分の TEW 液では沈殿物の生成は著しく低下した。この傾向は 120 分の

Table 4. Effect of autoclaving time and Ca^{2+} on thermal coagulation.

Autoclaving time (min)		Mineral Ca ²⁺				
		Control	CaCl ₂		C ₃ H ₇ O ₆ P·Ca	
			Preheating	Heating	Preheating	Heating
20	pH 9.2	—	—	+	—	—
	pH 7.0	—	—	+	—	±
30	pH 9.2	—	—	+	—	—
	pH 7.0	—	—	+	—	±
60	pH 9.2	—	—	—	—	—
	pH 7.0	—	—	+	—	—
120	pH 9.2	—	—	—	—	—
	pH 7.0	—	—	+	—	—

Non-thermal-coagulating egg white solution was prepared by the way described in Table 1. The solution was adjusted to pH 9.2 or 7.0, and CaCl_2 or calcium glycerophosphate was added to the solution. The results (+, —) of TC test were judged by observing the turbidity as shown in Table 1.

Fig. 1. The effect of Ca^{2+} on the thermal coagulation of egg white.

The egg white (500 ml) was diluted with water by five fold, and filtered. The filtrate was divided into three parts and autoclaved for 0 min, 10 min or 120 min, respectively. Three kinds of samples of TEW (100 ml) were mixed with calcium glycerophosphate and heated at 100°C for 10 min. The precipitate emerged was filtered, dried and weighed.

TEW 液でより顕著であった。そこで次に、塩化カルシウムとグリセリン酸カルシウムの比較実験を試みた (Table 4)。その結果、60 分以上のオートクレーブを行った TEW 液を pH 7.0 に調製し、グリセリン酸カルシウム (Ca^{2+} : 0.05%) を添加し、加熱してもまったく熱凝固は起こらなかった。したがってアニオン部分の異なったカルシウム剤を用いることにより、全混合型

Table 5. Effect of Ca^{2+} and Mg^{2+} on thermal coagulation.

Mg^{2+}	Ca^{2+}	
	$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.6 g)	$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P}\cdot\text{Ca}$ (0.85 g)
$\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ (0.55 g)	+	±
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.62 g)	+	—

$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ or calcium glycerophosphate and $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ or $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ were added to 5% TEW solution (300 ml) autoclaved for 120 min, after addition of NaCl and KCl. The mixture of protein and mineral was heated at 100°C for 5 min. The results (+, —) of TC test were judged [by observing the turbidity as shown in Table 1.

の経腸栄養剤の調製が可能であるように思われた。そこで次に、 Ca^{2+} に加え、さらに Mg^{2+} の添加混合が可能かを検討した。Table 5 に示した量を添加し、熱凝固性を調べたところ、グリセリン酸カルシウムと硫酸マグネシウムの組合せが最も卵白液を透明にすることが判明した。そこで次に、Table 6 に示す成分を混合し、全量 400 ml の溶液を 5 分間オートクレーブ滅菌し、長期間保存可能で透明な経腸栄養剤が得られた。さらにこの 5 % TEW 液を凍結乾燥により粉末化して、Table 7 に示すような組成を混合することにより、粉末の経腸栄養標品を得ることができた。本標品は、サンプル A (脂肪入り)、または B (脂肪なし) の 100 g に水を加えて 400

Table 6. Composition of enteral hyperalimentation (Solution).

(1) 5% TEW solution (autoclaved for 120 min)	300 ml
(2) Rice dextrin	70.1 g
(3) Rice oil or MCT	9.3 g
(4) NaCl	1.0 g
(5) KCl	0.61 g
(6) $C_3H_7O_6P \cdot Ca$	0.85 g
(7) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.62 g
(8) Vitamin mixture	1.0 g
(9) H_2O	about 40 ml
↓	
autoclaved for 5 min	total 400 ml

These nutrients were mixed and autoclaved for 5 min, and the solution for enteral hyperalimentation was prepared.

ml とすると透明な溶液が得られた。以上の Table 6, 7 の標品は Table 5 と同一カロリー, PFC 比をもつ高栄養食品であり, 細管チューブをも通過した。

考 察

現在の食品工業界ではタンパク質源として牛乳や大豆が広く利用されている。一方, 卵白は栄養価が高いにもかかわらず, その加工利用は著しく限定されている。著者らはこの限定の主因が卵白のもつ強い熱凝固性にあると考え, 本性質の完全消失についての研究を行ない, 既報¹¹⁻¹³⁾のごとく本問題を解明することができた。そこで今回は, 本非熱凝固性卵白 (TEW) 溶液の経腸栄養剤としての利用性を検討した。経静脈栄養剤¹⁰⁻¹²⁾は血管中に直接栄養分を供給するものであり, タンパク質源としては抗原抗体反応を起こしやすい高分子のものは用いられず, アミノ酸混合物といった低分子物質に限られる。一方, 経腸栄養剤¹³⁻¹⁵⁾は低分子のアミノ酸供与では腸内の浸透圧が過剰に高くなり, 下痢を起こすという不都合が生じるため, 胃または小腸を通す場合には高分子状のタンパク質を供給する必要がある。また経管供与の患者の負担を少なくするためには, チューブをできるだけ細いものにすることが好ましい。このためには栄養剤は沈殿物がなく透明で, 粘度の低いものが必要となる。そこで以上の高分子性を維持することと, 熱凝固しない透明なものを得ることの2点を基本的項目として実験を試みた。著者らの開発した従来の非熱凝固性卵白液は, 食塩の存在 (1% NaCl) によっても熱凝固しないが, カルシウム ($CaCl_2$) を添加すると強い熱凝固が起こった。

Table 7. Composition of enteral hyperalimentation (Powder).

Nutrient	Sample	A (g/100 g)	B (g/100 g)
Protein	TEW powder (autoclaved for 120 min)	15.0	15.0
Carbohydrate	Rice dextrin	70.1	70.1
Lipid	Rice oil	9.3	—
Mineral	NaCl	1.0	1.0
	KCl	0.61	0.61
	$C_3H_7O_6P \cdot Ca$	0.85	0.85
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.62	0.62
Vitamin	Vitamin mixture	1.0	1.0
Others	—	1.52	1.52

For sample A, all of the nutrients were mixed. For sample B, lipid was excluded from sample A. 100 g of sample A or B was added to water and made up to 400 ml of solution.

本問題を解明するためには, (1)加熱時間を延長し, タンパク質の変性を進める, (2)TEW 液にタンパク質分解酵素 (protease) を働かせ, 加水分解による低分子化を行なう方法が基本的には考えられる。そこで, 今回は高分子性の維持を主目的として, オートクレーブ時間の延長による解決策を検討した。まず, オートクレーブを 60 分以上行なった場合は, pH 9.0 の条件下では Ca^{2+} ($CaCl_2$) の添加 (0.05%) 後, 加熱しても熱凝固が起こらなかったが, 一般に食品に用いられる pH 領域である pH 7.0 では 120 分加熱のものでも熱凝固した。この結果は, 水希釈の代わりにエタノール希釈を行なったり, 生卵白の凍結融解による変性を行なっても向上することにはなかった (Table 2)。しかし, 20 分以上加熱したものでは pH 7.0 においても Ca^{2+} を添加しても凝集物が生じたり, 沈殿物が生じたりしないことがわかり (Table 1), この性質を利用して 2 液混合型の経腸栄養剤の調製を試みた。その結果, 卵白のタンパク質に加え, 糖質, 脂質, ビタミン, ミネラルの 5 大栄養素を含有する栄養剤が A, B 液の 2 液の混合により得られることが見いだされた。次に一つの容器に 5 大栄養素が混合してある全成分混合型の栄養剤の調製法の検討を行なった。その結果, 塩化カルシウムの代わりにグリセリン酸カルシウムを用いると, 60 分以上の加熱の TEW 液は熱凝固しないことが見いだされ, 卵白の熱凝固にはカチオンだけでなくアニオンも大きく影響することがわかった。以上の検討の結果, Table 6 に示すようにオートクレーブを 120 分した TEW 液 (5% タンパク質), デキストリン,

米油 (または MCT), ミネラル, ビタミンを混合し, 全量 400 ml とし, 5 分間オートクレーブ滅菌を行なうと長期保存が可能な経腸栄養溶液が得られることがわかった。本溶液は, 400 ml 中に 424 kcal の熱量を含み, PFC 比は, 14:20:66 でほぼ理想的な成分割合であると考えられる。本液を 1 日 5 回, 2,000 ml 飲用すると, 2,120 kcal, タンパク質は 75 g, 炭水化物は 350 g, 脂肪は 46 g 得られることになる。さらに TEW 粉末標品を用いることにより, 粉末の経腸栄養剤が得られ, これは溶液標品と同じ栄養成分をもっている。以上のように, 前報³⁾ で見いだされた非熱凝固性卵白溶液 (TEW) は経腸栄養剤として十分利用できることが明確となった。今後は, 経腸栄養剤以外の食品中への本非熱凝固性卵白液の利用が期待される。

要 約

非熱凝固性卵白液 (TEW) の経腸栄養剤としての利用性を検討した。

1) 本 TEW 液は NaCl (1%) の添加では熱凝固しないが, CaCl_2 (Ca^{2+} : 0.05%) の添加では熱凝固が起こった。そこで TEW を調製する際にオートクレーブ時間を従来の 10 分から 60 分, 120 分にすると, pH 9.0⁴⁾ では熱凝固しないことがわかった。しかし pH 7.0 では 120 分オートクレーブしても依然, 熱凝固した。

2) そこで pH 7.0 下で Ca^{2+} 添加後加熱による熱凝固性の消失について検討したところ, 水希釈法の代わりにエチルアルコール希釈法を行なっても, また生卵白の凍結融解変性処理を施しても効果はなかった。

3) 一方, pH 7.0 下で Ca^{2+} を添加しても, あらかじめオートクレーブ 20 分以上した TEW 液は白濁しなかった。したがってタンパク液成分と Ca^{2+} 成分をあらかじめ別々にオートクレーブ滅菌した 2 液混合型の経腸栄養剤を調製した。

4) Ca イオン剤の種類を検討したところ, グリセリン酸カルシウムを用いると, pH 7.0 下でオートクレーブ 60 分の TEW は熱凝固しなかった。したがって本 Ca イオン剤を用いることにより, 全混合型の経腸栄養剤の調製が可能と思われ, 調製したところ, 透明な溶液が得られた。さらに, TEW の粉末標品を用いることに

より粉末の経腸栄養剤が得られることがわかった。

5) 以上の結果より, 本非熱凝固性卵白液は経腸栄養剤として十分利用できることが明確となった。したがって, その他, 卵飲料や微生物工業等にも本液が広く利用できるものと思われる。

本研究を遂行するに当たり, 終始ご懇切なご指導を賜りました恩師, 京都大学名誉教授満田久輝先生に心からお礼申しあげます。また適切なご助言をいただきました甲子園大学教授河合文雄先生に感謝の意を表します。なお, 本論文の要旨は第 38 回日本栄養・食糧学会総会において発表した。

文 献

- 1) 西川善之, 河合文雄, 満田久輝: 栄食誌, 37, 129 (1984)
- 2) 西川善之, 河合文雄, 満田久輝: 栄食誌, 37, 457 (1984)
- 3) 西川善之, 河合文雄, 満田久輝: 栄食誌, 38, 191 (1985)
- 4) Stadelman, W.J.: Egg Science and Technology (Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J., eds.), Chap. 1 (1977), Avi Publishing Co., Inc. (Westport, Connecticut) (森田重広訳: 卵の技術と科学 (1979), 学窓社 (東京))
- 5) 佐藤 泰, 渡辺乾二: 蛋白質 核酸 酵素, 23, 54 (1978)
- 6) 今井忠平: 食品工学, 8, 57 (1976)
- 7) 中村 良: 化学と生物, 22, 523 (1984)
- 8) Shimada, K. and Matsushita, S.: Agric. Biol. Chem., 44, 637 (1980)
- 9) Harper, A.E.: J. Nutr., 68, 405 (1959)
- 10) 近藤芳夫: 輸液と栄養ジャーナル (特集: 静脈栄養と経腸栄養の今日的視点), 3, 399 (1981)
- 11) 岡田 正: 日本消化器外科学会誌, 13, 1297 (1980)
- 12) McGowan, J. and Fausto, N.: Biochem. J., 170, 123 (1978)
- 13) 小越章平, 入江氏康: 輸液と栄養ジャーナル (特集: 静脈栄養と経腸栄養の今日的視点), 3, 427 (1981)
- 14) 小山 真, 相場哲郎, 吉川和子: 輸液と栄養ジャーナル (特集: 静脈栄養と経腸栄養の今日的視点), 3, 430 (1981)
- 15) Kaminski, M.V.: Surg. Gynecol. Obstet., 143, 12 (1976)

(昭和 60 年 3 月 11 日 受理)