鶏卵の凍結貯蔵に関する研究

(第3報) 凍結卵白の泡立ち性の変化

森 高明*・中村 良**・佐藤 泰**

Studies on the Freezing Storage of Hen's Egg

Part 3. Changes in the foaming property of frozen egg white

TAKAAKI MORI, RYO NAKAMURA and YASUSHI SATO

Changes in the egg white frozen at -20°C were investigated to obtain information as to the cause and mechanism of decrease in foaming power of whole egg during the freezing storage at -20°C .

The foaming power of frozen egg white blended with unfrozen yolk was lower than that of unfrozen egg white. The foaming power and foam stability of egg white was decreased during freezing storage.

By the salting out curve with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, changes in globulin fraction of egg white was recognized from 30 days after freezing at -20°C . The foaming power of globulin fraction precipitated by $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.45 saturated from frozen egg white was significantly lower than that of unfrozen egg white.

Tiselius's electrophoresis patterns in globulin+lysozyme, ovomucoid+flavoprotein and ovomucin fractions differed between unfrozen and frozen egg white stored for 30 days at -20°C .

From these results, it was seemed that decrease of foam property in egg white during freezing storage at -20°C was caused by changes in globulin and ovomucin.

(Received Aug. 21, 1973)

前報¹⁾では卵黄と卵白を混合した全卵を -20°C で貯蔵すると、解凍後に粘度が大きくなったり、泡立ちが悪くなり、凍結全卵で作ったカステラの品質は新鮮卵で作ったものに比べて劣ることなどについて報告した。しかし、 $-5\sim-8^{\circ}\text{C}$ あるいは -10°C という従来の貯蔵温度より高い温度で貯蔵した全卵は泡立ちの低下が少なく²⁾、しかも汚染細菌の残存数も少なくなった³⁾。

鶏卵を泡立てて用いる場合は、主として卵白の泡立ち性を利用することはよく知られ⁴⁾、鶏卵の製菓機能については卵白において多くの研究がされている。たとえば、MacDONNELら⁴⁾はangel cakeの製造においてglobulinが泡立ちに、ovomucinが泡の安定性に重要であり、ovalbuminは組織の形成に関与すると述べてい

る。また、中村および佐藤⁵⁾は卵白構成たん白質の同一濃度における起泡力は $\text{Fe-conalbumin} > \text{globulin} > \text{conalbumin} > \text{ovalbumin} > \text{ovomucoid} > \text{lysozyme}$ の順に大きいことを報告し、ovomucin(B)が泡の安定度に関与することを明らかにした⁶⁾⁷⁾。

このような研究結果を考慮すると、 -20°C で貯蔵した凍結全卵の泡立ちが、凍結前に比べて劣るようになるのは卵白の変化によるものと考えられる。よって本報では凍結卵白の泡立ち性の変化について検討を行なった。

実験方法

1. 供試料の調製ならびに凍結方法

鶏卵は産卵20時間以内の白色レグホーン種のものを

* 香川県農業試験場(高松市仏生山町)

* Kagawa Agricultural Experiment Station. Takamatsu shi, Kagawa.

** 名古屋大学農学部食品工業化学科(名古屋市千種区不老町)

** Laboratory of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Nagoya University. Chikusa-ku, Nagoya.

使用した。

全卵試料は殻付卵の殻を除き、内容物全量をホモジナイザーで均質化したものを使用した。全卵白試料はビンセットでカラザを除いたのちホモジナイザーで均質化して用いた。濃厚卵白はカラザを除いた全卵白を直径2 mmの篩上に流し込み、約20分間放置して篩上に残ったものをホモジナイザーで均質化して用いた。水様卵白は篩から流下した部分をスターラーで約5分間泡立たないように攪拌して用いた。各試料の均質化は中村および佐藤⁸⁾の方法により20分間行なった。

また、分離した卵黄は5～6回蒸留水で洗浄し、濾紙上をころがして水滴を除き、卵黄膜を破って卵黄内容物を取り出して使用した。各供試料の凍結は -20°C のフリーザー中に入れ、所定期間保存した。

凍結した供試料の解凍は、前報¹⁾で述べたように、解凍方法の影響を考慮し、解凍条件をほぼ一定にするため $17\sim 20^{\circ}\text{C}$ の流水中で行なった。

2. 泡立ち性の測定法

(1) ケーキミキサーによる起泡力測定

全卵白と卵黄を1:0.5の割合に混合した卵液200 g、砂糖200 gおよび水40 mlを15コート用ケーキミキサ

ー(藤井葉機製)にとり、 25°C に保って回転速度目盛を低速(180 rpm)にして10分間泡立てた。このときの泡を予め容積を測定した円筒容器(約 10 cm^3)にとり、泡の重量を測定して泡の比重を求めた。この方法で測定すると、測定値が小さいほど起泡力は大きいことを示す。

(2) 送気法による泡立ち性の測定

中村および佐藤⁸⁾が検討した方法に準じて起泡力と泡の安定度にかけて測定した。ただし送気は東京理化製のカムポンプで送気した。すなわち、予め送気調節目盛を1.0として、泡沫室の圧力を一定にしたのち、試料10 mlをビベットで入れ、2分間以内に泡立ちが始まるようにした。泡沫室が所定の圧力に達したのち送気調節目盛を0.5にして2分間および4分間送気し、このときの泡沫室の高さをそれぞれ測定した。ここに得られた測定値よりそれぞれ1分間当りに生じる泡の高さを算出し、平均値に泡沫室の断面積を乗じて泡の容積を求め、試料の量(10 ml)で除した数をもって起泡力とした。さらに上記の方法で6分間起泡せしめ、送気をやめ、泡沫室を取りはずして倒立し、30分間に滴下した試料の容積で泡の安定度を表わした。起泡力は数字が大きいほど大きいことを示し、泡の安定度は数字が小さいほど大

Fig. 1. Chemical fractionation of egg white

Egg white was separated from the shell egg with 24 hours after laying. Frozen egg white was thawed in running water after storage at -20°C for 30 days.

きいことを示す。

3. 卵白の塩析曲線の作製

佐藤および中村⁹⁾の方法で行なった。

4. 卵白たん白質の分別

globulin 区分の起泡力測定用試料は塩析曲線の結果にもとずき次のごとくして調製した。全卵白を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ で 0.45 飽和として生じる沈殿区分を遠心分離で集め、上澄液にトリクロル酢酸による白濁が認められなくなるまで同じ 0.45 飽和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液で洗浄した。得られた沈殿を少量の蒸留水に溶解し、5°C で 100 倍量の蒸留水で 1 夜透析した。透析内液に NaCl を 5% になるように加え、さらに 5% NaCl 溶液でたん白濃度が所定の濃度になるように希釈した。この希釈液を globulin 区分の起泡力測定用試料とした。

チゼリウスの電気泳動用試料は Fig. 1 の方法で調製した。

5. チゼリウスの電気泳動図の作製

Fig. 1 の ovalbumin, conalbumin, ovomucoid + flavoprotein, および globulin + lysozyme の各区分は磷酸緩衝液 (pH 7.8, μ : 0.15) を使用して 5 mA で 60 分間泳動させた。ovomucin 区分は Menzel's 緩衝液 (pH 9.6, μ : 0.25) を使用して 6 mA で 60 分間泳動させた。泳動は日立 D-1 型 チゼリウス 電気泳動装置を使用してすべて 4°C で行なった。

実験結果および考察

1. 送気法による全卵の起泡力の変化

Table 1 は全卵を所定期間保存したのち解凍して送気法で起泡力を測定した場合である。解凍後の全卵は前報¹⁾で述べたように、凝集物が生成して不均一な状態になるので、ピーカーに移して凝集物を存在せしめたままスターラーで 5 分間攪拌してから測定した。前報¹⁾ではケーキミキサーを使用した場合には -20°C, 1 か月保存後の全卵に泡立ちの低下が認められたが、送気法では起泡力の低下が凍結 3 日後から有意に認められた。

2. 全卵白の泡立ち性の変化

凍結全卵の起泡力が未凍結の全卵に比べて低かったことについて、卵白に変化が起きたためかどうかを確認するため、未凍結全卵白と凍結保存した全卵白に同一割合の未凍結卵黄を加え、卵白の起泡力に対する卵黄の影響を同一にして起泡力を比較した。

Table 2 は未凍結全卵白と -20°C で 50 日間凍結保存した全卵白に未凍結卵黄を加え、ケーキミキサーで泡立てた場合の測定結果である。凍結全卵白を使用するとき

Table 1. Changes in the foaming power of frozen whole egg by the pneumatic method⁸⁾.

	Unfrozen	Frozen	
		for 3 days	for 20 days
Foaming power	3.85	3.45**	3.53*

* Differences between unfrozen and frozen whole egg significant at 5% level.

** Differences between unfrozen and frozen whole egg significant at 1% level. (n=4)

Whole egg was frozen at -20°C.

Table 2. Difference of the foaming power of unfrozen and frozen egg white by the cake mixer.

No. of test	Unfrozen	Frozen
1	0.20	0.21
2	0.19	0.21
3	0.19	0.23
Average	0.19	0.22*

* Differences between unfrozen and frozen egg white significant at 5% level.

The foaming power was determined respectively on the unfrozen or frozen egg white which was blended with the same composition of unfrozen egg yolk as that of whole egg. Whole egg white was frozen at -20°C, for 50 days.

Table 3. Changes in the foaming power of frozen whole egg white by the pneumatic method⁸⁾.

	Unfrozen	frozen		
		for 28 days	for 43 days	for 74 days
Foaming power	4.00	3.73	3.85	3.13*

* Differences between unfrozen and frozen for 74 days egg white significant at 5% level. (n=4).

The foaming power was determined respectively on the unfrozen or frozen egg white which was blended with the same composition of unfrozen egg yolk as that of whole egg. Whole egg white was frozen at -20°C.

は未凍結全卵白を使用した場合に比べて起泡力の低下が認められた。

Table 3 は所定期間凍結保存した全卵白に未凍結卵黄を 1:0.5 の割合に加え、送気法で起泡力を測定した結果である。この場合、74 日間凍結保存した全卵白が 5%

の危険率で起泡力が劣った。以上の実験で前報¹⁾ならびに Table 1 で認められた凍結全卵の泡立ちの変化は、卵白になんらかの変化が生じたことが原因と考えられる。

次に全卵白のみについて凍結保存後の泡立ち性の変化を起泡力と泡の安定度に別けて送気法で測定した。結果は Table 4 および Table 5 のとおりである。起泡力は 30 日間保存後までには変化が認められなかったが、泡の安定度は凍結 30 日後から 1% の危険率で有意に劣るようになった。NAKAMURA and SATO⁶⁾⁷⁾ により明らかにされたように、卵白の泡の安定度は ovomucin(B) によるものであるならば、凍結全卵白の泡の安定度が劣ったのは ovomucin に変化が起きたためと考えられる。

また、前報¹⁾で全卵を泡の比重が同一になるように泡立ててカステラを試作した場合、凍結全卵で作ったカステラは未凍結全卵に比べて比重が大きくなった。このことは卵白の泡の安定度が低下し、泡が崩壊しやすくなったためと考えられる。

3. 卵白構成たん白質の変化

凍結全卵白の泡立ち性の低下の原因を追求するため、卵白構成たん白質の変化を検討した。

卵白構成たん白質のうち最も起泡力が大きいのは globulin⁸⁾ であるので、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を用いて塩析曲線を作製して globulin 区分たん白質の沈殿傾向を調べた。全卵白、濃厚卵白および水様卵白について、各期間凍結保存したものと未凍結の各卵白の塩析曲線を求めた。Fig. 2 は未凍結の各卵白の塩析曲線である。卵白の

Fig. 2. Salting out curves of unfrozen egg whites.

Fig. 3. Salting out curves of frozen egg whites.

Frozen egg whites were frozen at -20°C , for 30 days.

Table 4. Changes in the foaming power of frozen whole egg white by the pneumatic method⁹⁾.

	Unfrozen	Frozen		
		for 3 days	for 14 days	for 30 days
Foaming power	3.63	3.58	4.05	3.85

Difference was not significant.
Whole egg white was frozen at -20°C .

Table 5. Changes in the foam stability of frozen whole egg white by the pneumatic method⁹⁾.

	Unfrozen	frozen			
		for 3 days	for 14 days	for 30 days	for 40 days
Foam stability	2.23	2.58	2.65	4.90**	4.53**

** Differences between unfrozen and frozen egg white significant at 1% level. ($n=4$)
Whole egg white was frozen at -20°C .

globulin 区分は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 半飽和で沈殿するたん白質といわれているが¹⁰⁾、未凍結卵白は各卵白とも 0.4~0.45 飽和で特徴のある塩析曲線がえられ、佐藤および中村⁹⁾ の報告とほぼ一致した。これに対して 1 か月以上

Table 6. Foaming power of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.45 saturated fraction of unfrozen or frozen whole egg white.

	1% sol. ¹⁾		0.2% sol. ¹⁾		0.2% sol. ²⁾	
	Unfrozen	Frozen	Unfrozen	Frozen	Unfrozen	Frozen
Foaming power	3.30	2.53	3.52	2.62	3.48	2.68
Difference	0.77		0.90		0.84	
Probability*	0.05-0.02		0.02-0.01		>0.01	

* $n=5$. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05 sat'd fraction was diluted with 5% NaCl. Whole egg white was frozen at -20°C .

1) Frozen for 47 days. 2) Frozen for 21 days.

Table 7. Difference of foaming power of diluted unfrozen and frozen whole egg white by the pneumatic method⁸⁾.

No. of test	Unfrozen	Frozen for 32 days
1	3.6	3.3
2	3.7	3.4
3	3.7	3.4
Average	3.7	3.4*

* Differences between unfrozen and frozen egg white significant at 5% level. Whole egg white was diluted 2 times with water.

whole egg white was frozen at -20°C .

凍結保存した各卵白の塩析曲線は Fig. 3 のようになり、0.4~0.45 飽和付近における特徴のある段階的塩析の状態が認められなくなった。

次に Fig. 2 の結果から未凍結全卵白と 21 日間あるいは 47 日間凍結保存した全卵白の $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.45 飽和で生ずる沈殿を globulin 区分として遠心分離で集め、洗浄、透析ののち NaCl の濃度を 5% にしたときに溶解する区分の起泡力を送気法で測定した。結果は Table 6 のとおりである。凍結全卵白の globulin 区分の起泡力は未凍結全卵白からのものに比べて有意に劣った。

Table 4 に示した値では凍結全卵白と未凍結全卵白との間に起泡力の有意差が現われなかった。この実験では全卵白を希釈せずに実験したため、凍結の影響は誤差範囲内にかくれて明示できなかったものと思われる。そこで全卵白を蒸留水で 2 倍に希釈して再度、実験を行なった。その結果は Table 7 に示すとおりである。32 日間凍結保存した全卵白では起泡力がわずかながら低下すると考えられた。

また、Table 1 の全卵の場合、たん白濃度が高いにもかかわらず送気法によっても未凍結全卵と凍結全卵の起泡力に有意差が認められ、Table 4 の結果に比較してその差が顕著に現われた。殻付卵の貯蔵中に卵黄脂質が卵

白に移行して卵白の泡立ち性が低下することが知られているが¹¹⁾、卵白と卵黄を混合して凍結保存すると、卵白の泡立ち性の変化を卵黄が助長することもあり得ると思われる。この点については確認をする必要があろう。

凍結全卵白の構成たん白質の変化をなお追求するため、Fig. 1 の方法で分別した各区分の電気泳動図の検討を行なった。凍結全卵白は 30 日間凍結保存した試料を用いた。

Fig. 4 および Fig. 5 の ovalbumin, conalbumin の各区分は未凍結全卵白と凍結全卵白の間に明らかな差が認められなかった。しかし、Fig. 6~8 の ovomucoid + flavoprotein, globulin + lysozyme および ovomucin の各区分の泳動図は未凍結全卵白では 2~3 の泳動峰をもつ泳動図がえられたのに対し、凍結全卵白のこれらの

Fig. 4. Ovalbumin fraction

Protein concentration 1.0%, temperature 4°C , phosphate buffer (pH 7.8, μ : 0.15), 5 mA 60 min.

Fig. 5. Conalbumin fraction

Protein concentration 1.0%, temperature 4°C , phosphate buffer (pH 7.8, μ : 0.15), 5 mA 60 min.

Fig. 6. Ovomuroid + flavoprotein fraction.

Protein concentration 1.0%, temperature 4°C, phosphate buffer (pH 7.8, μ : 0.15), 5 mA 60 min.

Fig. 7. Globulin + lysozyme fraction.

Protein concentration 1.0%, temperature 4°C, phosphate buffer (pH 7.8, μ : 0.15), 5 mA 60 min.

Fig. 8. Ovomucin fraction.

Protein concentration 1.0%, temperature 4°C, Menzel's buffer (pH 9.6, μ : 0.25), 6 mA 60 min.

区分の泳動図はほとんど泳動しない単一峰の泳動図がえられた。すなわち、未凍結全卵白のこれらの区分に現われた成分が凍結によって凝集し、原点付近から泳動しない成分に変わったものと思われる。この変化の詳細については不明である。

凍結全卵白では Fig. 3 に示した塩析曲線および Table 6 に示した $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.45 飽和沈殿区分の起泡力の比較から globulin 区分の変化がみられたが、Fig. 7 の電気泳動図でも卵白構成たん白質のうち最も起泡力の大きいといわれる⁹⁾ globulin 区分に変化が認められた。また、Table 5 で全卵白は凍結保存中に泡の安定度が劣るようになり、ovomucin の変化が推察されたが、Fig. 8 に示したように電気泳動図でも ovomucin 区分に変化が認められた。これらの卵白構成たん白質の電気

的性質の変化からみても、凍結全卵白の泡立ち性の低下がたん白質の変性に起因することは明らかと思われる。

要 約

-20°C で凍結保存した全卵の泡立ちが悪くなる原因として、凍結による卵白の変化を考え、-20°C で凍結保存した場合の卵白の変化について検討した。

(1) 凍結卵白に未凍結卵黄を混合したものの起泡力は、未凍結卵白に未凍結卵黄を混合したものに比べて低かった。また、卵白のみについても凍結卵白の起泡力ならびに安定度は低かった。

(2) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を用いた塩析曲線で、凍結卵白は globulin 区分に変化が認められた。

(3) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.45 飽和で沈殿する globulin 区分の起泡力も、未凍結全卵白より凍結全卵白の方が有意に低かった。

(4) 卵白より調製したたん白質のチゼリウスの電気泳動図において、凍結全卵白の globulin + lysozyme, ovomucoid + flavoprotein および ovomucin の各区分は未凍結全卵白と異なる泳動図がえられた。

(5) 以上の結果にもとずき、-20°C で凍結保存した卵白の泡立ち性の低下の原因は globulin および ovomucin の変化によるところが大きいものと考えた。

文 献

- 1) 森 高明：食品工誌，18，(4)，135(1971)。
- 2) 森 高明：食品工誌，18，(1)，14(1971)。
- 3) 野並慶宣：鶏卵の化学と利用法（地球出版）p. 111 (1960)。
- 4) MACDONNELL, L. R., FEENEY, R. E., HANSON, H. C., CAMPBELL, G. and SUGIHARA, T. F.: *Food Tech.*, 9, 49 (1955)。
- 5) 中村 良・佐藤 泰：農化，35，(4)，385(1961)。
- 6) NAKAMURA, R. and SATO, Y.: *Agr. Biol. Chem.* 28, (8), 534 (1964)。
- 7) NAKAMURA, R. and SATO, Y.: *Agr. Biol. Chem.* 28, (8), 530 (1964)。
- 8) 中村 良・佐藤 泰：農化，34，(9)，746(1960)。
- 9) 佐藤 泰・中村 良：農化，38，(7)，342(1964)。
- 10) SØRENSEN, S. P. L. and HØYRUP, M.: *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 12, 12 (1915/17)。
- 11) SMITH, C. F.: *Poultry Sci.*, 38, 181 (1959) (文献 3). p. 142 より引用

(昭和48年8月21日受理)