

令和元年6月14日現在

機関番号：25406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00821

研究課題名(和文) 卵白の熱凝固で構築されるゲル様食品の微細構造やレオロジー特性に及ぼす卵黄の影響

研究課題名(英文) The effects of egg yolk on the microstructure and rheological characteristics of gel-like foods formed by thermocoagulation of egg white

研究代表者

杉山 寿美 (Sugiyama, Sumi)

県立広島大学・人間文化学部・教授

研究者番号：10300419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：卵は、卵白および卵黄蛋白質が有する熱凝固性と卵黄が有する乳化性により、料理のテクスチャーを向上させる。本研究では、卵白蛋白質の熱凝固によって構築される微細構造構築への卵黄の影響を解明することを目的とし、動的粘弾性測定、脂質分画等を行った。プディングを試料とした場合、牛乳配合温度が低い場合は卵白蛋白質と卵黄LDLの表面蛋白質との相互作用によって卵白蛋白質の構造構築が妨げられるのに対し、配合温度が高い場合は卵黄LDLの表面蛋白質の熱変性によって卵白蛋白質のゲルネットワーク形成が妨げられず、構造構築作用が十分なものになり、結果、硬いプディングとなることが確認された。パン等の結果は本文中に示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、卵白蛋白質の熱凝固によって構築される食品や料理の構造がテクスチャー特性や嗜好特性へ及ぼす影響を把握することを目的としたものである。結果、試料としたカスタードプディングには卵黄蛋白質の変性程度が、パンや揚げ物の衣には卵黄配合量が、それぞれの仕上がりに影響することを、レオロジー測定等の様々な分析手法によって明らかとした。これらはいずれも、卵白蛋白質が形成する加熱過程での微細構造への関与であり、調理科学領域における食品や料理の構造構築解明の基盤となるものである。

研究成果の概要(英文)：The thermocoagulation properties of eggs are attributable to egg white and yolk proteins and the emulsifying properties of the yolk, which improve the texture of foods during cooking. In this study, analyses including dynamic viscoelastic measurement, lipid fractionation, and SDS-PAGE were performed to clarify the effects of egg yolk on the creation of microstructures formed by thermocoagulation of egg white proteins. Analysis of custard pudding revealed that at low milk mixing temperatures, the interaction between egg white proteins and egg yolk low-density lipoprotein (LDL) surface proteins prevents the egg white proteins from forming a structure. In contrast, at high temperatures the egg yolk LDL surface proteins are heat denatured and egg white proteins form a gel network, thereby providing sufficient structure to result in a hard custard pudding. The results obtained from the experiments of bread and deep fry batter batter were shown to the main text.

研究分野：調理科学

キーワード：卵 微細構造 テクスチャー レオロジー カスタードプディング パン 揚げ物の衣

1. 研究開始当初の背景

卵は、卵黄が有する乳化性と卵白・卵黄たんぱく質が有する熱凝固性から、その食品への添加により、微細構造を変化、テクスチャーを向上させる。故に、家庭のみならず加工食品においても、パンやケーキ、カスタードソース、さらには揚げ物の衣やハンバーグ等に広く利用されている。しかしながら、卵を使用した場合にどのような機構で料理のテクスチャーの向上を生じさせるのかは意外にも解明されていない。本研究では、テクスチャー制御を目的として、卵白たんぱく質の熱凝固によって構築される微細構造の構築機構、および、卵黄やその成分・共存する他の食品成分の影響を解明することを目的とする。

2. 研究の目的

具体的には全卵を使用する料理を試料として、実際の調理加工過程で、(1)卵白たんぱく質の熱凝固過程で料理の微細構造がどのように構築されるのか、(2)卵黄やその成分・共存する他の食品成分が構築されるゲル様構造(ゲルや固体泡)にどのように変化し構造構築に影響しているのかを明らかにする。さらに、(3)構築された構造がテクスチャーや嗜好特性にどのように寄与しているのか、(4)その特有のテクスチャー、嗜好特性に寄与する成分は何かを明確化する。本研究は、卵のみならず、多くの食品の構造構築の解明の基礎となると考えられる。

3. 研究の方法

本研究は、カスタードプディング(28-30 年度)、パン、揚げ物の衣(29-30 年度)を試料として行ったが、卵黄が有する乳化性と卵白・卵黄たんぱく質が有する熱凝固性の影響を最も詳細に検討したカスタードプディングでの方法を中心に、卵の添加による微細構造を変化、テクスチャー等の検討を報告する。

(1)試料調製

鶏卵、牛乳、砂糖は、広島市内で購入した。鶏卵は割卵後、卵黄と卵白に分け、卵黄はキッチンペーパーの上で転がし、卵白を除去した。それぞれをストレーナーで濾し、卵黄 17.5g、卵白 32.5g を混合し、砂糖 18g を溶かした牛乳 100ml を 25、50、70、95 として、攪拌しながら加えた。攪拌は、泡だて器で 1 秒あたり 4 回とし、30 秒間で混合、こし器(50 メッシュ:0.28mm)で 2 回濾した。混合後の温度はそれぞれ 25、38、50、57 であった。このプディング液を 65g ずつ型に入れ、天板に 1L の熱湯を張った 160 のオープンで 25 分焼成、5 分保温、その後 4 で 2 時間冷却した。試料は同一日に必ず各条件の試料を調製し、卵の購入日による差が生じないように配慮して、実験を繰り返した。

(2)官能評価

女子大学生 10 名をパネルとして、識別試験、嗜好試験を行った。試料は、牛乳配合温度 25、50、70、95 のプディングを用いた。評価項目は、識別試験として、硬さ、脆さ、きめこまかさ、あぶらっぽさの 4 項目、嗜好試験として、総合的な好ましさの 1 項目とし、-2~+2 の 5 段階評価で行った。

(3)テクスチャー測定

焼成、冷却したプディングの中央部を円形(φ36mm)に型抜きし、たこ糸を用いて高さ 20mm に切り出した。テクスチャーアナライザーEZ-Test(島津)を用いて、円形プランジャー(φ30mm)で測定した。測定条件は、ストロークスピード 50mm/min で 70%の圧縮とした。

(4)動的粘弾性測定

動的粘弾性測定装置 RS6000(Thermo HAAKE)を用いて、応力依存性測定、周波数依存性測定、温度依存性測定を行った。ダブルコーンセンサー φ60mm を用いて、ギャップ 0.052mm とし、3 分間のウェイトングタイム後に測定を行った。まず、応力依存性測定によって、プディング液の 20 での線形領域を確認し、その後、周波数依存性測定を行った。さらに、温度依存性測定測定(20~85)と、装置上で 85 の測定も行った(牛乳配合温度が 25、95 の試料は、40、60 での応力依存測定、周波数依存測定も実施)。測定条件は、応力依存性測定:0.5Hz、0.01~100Pa、周波数依存性測定:0.01~100Hz、1Pa、温度依存性測定:0.5Hz、1Pa、T=20~85 (昇温速度 2 /min)とした。また、予め、試料調製から 8 時間以内では測定結果に差がないことを予備実験で確認し、その時間内で測定を行った。なお、すべての測定は 3 回以上行い、測定中にはリサージュ図形を確認した。また、試料は測定ごとに処分し、新たな試料で測定を行った。

(5)冷却遠心分離による脂質分画と分析(脂肪量、リン脂質リン量)

材料(牛乳、卵黄、卵白)、プディング液、プディングについて、脂質抽出および分析を行った。材料、プディング液はその 10g に蒸留水 10g を加えて攪拌後、プディングは中央部を円形(φ26mm)に型抜き、その 10g に蒸留水 10g 加えホモゲナイザーで均質化(12000rpm、10 秒)した。これらを 4 で 20 分間の冷却遠心分離(8000rpm、あるいは 16000rpm)を行ない、冷却遠心分離で得られた上層、下層を脂質抽出試料とした。なお、上層上部に生じるわずかに油層が生じた場合は上層に含めた。

分画された各画分について Bligh&Dyer 法で脂質抽出を行い、その後、抽出脂質の一部にトリペンタデカノインを内部標準物質として加えて、メタノール-塩酸を用いてメチル化、脂肪酸分析を行った。脂肪酸メチルエステルの分析は、キャピラリーカラム DB-WAX を用いて、ガスクロマトグラフィー

(GC-2025)によって行った。なお、内部標準物質としてトリペンタデカノインを用いた。リン脂質中リン(PL-Pi)の定量は、Bartlett法で行った。抽出脂質の一部に10N硫酸0.5ml加え、160℃で3時間加熱した。冷却後、0.22%モリブデン酸アンモニウムを加えて沸騰水浴中で7分間反応させた後にFiske試薬を加え、830nmの吸収を分光光度計で測定した。

(6)SDS-電気泳動

SDS-電気泳動はLaemmliの方法で12.5%分離ゲルを用いて行った。サンプル処理は、試料約5mgを最終濃度が2%メルカプトエタノールあるいは5M Ureaとなるよう調整したサンプルバッファー中で行った(100℃, 2分)。分子量マーカータンパク質分子量マーカータンパク質(TEFCO)を使用した。泳動は、20mA定常電流で行った。泳動後のゲルは、CBB染色を行った。各タンパク質の分子量および濃度は、デンストグラフ(Lane analyzer ver.3, アトー)で算出した。

(7)統計処理

得られたデータの統計解析は、SPSS Statistics 20.0を用いて行い、一元配置分散分析後、多重比較を行った。有意水準は、両側検定で危険率5%とした。

4. 研究成果

(1)カスタードプディングの官能評価とテクスチャー特性

官能評価の結果、牛乳配合温度25℃のプディングは、やわらかく、脆く、きめこまかくないと評価され、牛乳配合温度95℃のプディングは、硬く、脆くなく、きめこまかいと評価された。また、95℃のプディングはあぶらっぽくないと評価された。総合評価では50℃, 70℃のプディングが好ましいとされ、これらは硬さ、脆さは25℃, 95℃のプディングの中間であり、きめこまかさは95℃, あぶらっぽさは25℃と同程度であった。このことから、牛乳配合温度はプディングのテクスチャーに影響していることが示された。テクスチャー測定(破断強度と破断歪)の結果、牛乳配合温度が高いほど破断強度は高く、牛乳配合温度25℃と95℃で有意な差が認められた。一方、破断歪は、牛乳温度に関わらず同程度であった。このことから、牛乳配合温度に関わらず、同程度の圧縮でプディングは崩れるが、牛乳配合温度が高いほど、その際の応力は高く、すなわち、硬いことが示された。

(2)プディング液およびプディングのレオロジー特性(動的粘弾性挙動)

応力依存性:牛乳配合温度の異なるプディング液について、20℃, 85℃で応力依存性測定を行った結果、20℃では、牛乳配合温度(25℃, 50℃, 70℃, 95℃)に関わらず、いずれのプディング液でもG'がG''よりも高く、弾性要素の高い液体であることが確認された。また、牛乳配合温度25℃では線形領域がほぼ認められなかったが、牛乳配合温度50℃, 70℃, 95℃では広い線形領域が認められ、安定した構造のプディング液であることが示された。85℃では、牛乳配合温度が高いほど、線形領域が狭く、10Pa付近での低下幅が大きくなり、強固な構造である(安定した構造でない)ことが示された。すなわち、高温の牛乳を配合したプディング液は、加熱前は安定した構造であり、焼成後は線形領域が狭い強固な構造のゲルを形成することが確認された。

周波数依存性:周波数依存性測定の結果、測定温度20℃, 85℃とも、牛乳配合温度に関わらずプディング液は周波数依存性を示し、その傾きが同程度であったことから、プディング液およびプディングの構造に著しい差はないことが示された。また、測定温度85℃においても、全周波数領域でG' > G''であるものの、G', G''ともに周波数に依存してわずかな増加を示していたことから、プディングの構造は、弱いゲル(構造化した液体)であると考えられた。

温度依存性:牛乳配合温度にかかわらず、40℃~50℃付近でG'とG''が重なっていた。また、牛乳配合温度が高いほど、40℃~50℃付近でのG'とG''の重なりが少なく(ゾル的性質を強く有する温度領域が狭く)、60℃付近からの変化が小さいことが確認された。また、tan δのピークも牛乳配合温度が高くなるほど高温側にシフトし、シャープになった。このことから、牛乳配合温度が高い場合は、牛乳配合時に卵黄たんぱく質のある程度の変性が生じていることに起因して、卵白たんぱく質の構造構築が速やかになされていることが示された。

(3)卵黄脂質と卵白たんぱく質の相互作用

冷却遠心分離による脂質分画(脂肪量, リン脂質中リン量):プディング液のTGとPL-Pの分画の結果、TGは牛乳配合温度による差はなく、約9割が上層に分画された。一方、PL-Pは牛乳配合温度が高くなるほど上層に分画される割合が高くなった。我々はこれまでに、卵黄単独の希釈液を加熱した場合、TG, PL-Pともに50℃では上層に、90℃では下層に多く分画されることを確認している。PL-Pは卵黄中ではリポたんぱく質を形成し、LDL, HDLとして存在している。PL-Pが上層に多く分画された結果は、牛乳配合温度が高い場合に、卵黄LDLの構成たんぱく質の変性によって、LDLにいくらかの構造変化が生じた結果と考えられた。

プディングのTGとPL-Pの分画の結果、TGは上層に分画されにくくなったが、牛乳温度が高くなるほど、上層に多く分画された。PL-Pは、8000rpmでは上層に、16000rpmでは下層に多く分画され、分画画分が異なっていた。また、牛乳温度が高くなるほど、上層に多く分画された。PL-Piはリン脂質の構成成分であり、たんぱく質とも脂質とも親和性を有することから、焼成によって、卵白たんぱく質との結合が優位になるものの、牛乳配合温度が高い場合はその結合が緩やかになることが示された。

SDS-電気泳動:卵白たんぱく質のオボアルブミンとともに牛乳に由来するカゼインやラクトグロブリンのバンドが濃く観察された。オボアルブミンのバンドはいずれの試料でも-NMe処理で濃く観察され、

ウレア処理では SS 結合が維持されるため、ブディングではオボアルブミンのバンドはほぼ認められなかった。また、-Me 処理で認められたオボアルブミンのバンドは、同じレーンのカゼインおよびラクタグロブリンのバンドと比較し、ブディング液では牛乳配合温度による差はほぼ認められず、ブディングでは、カゼイン 1 に対し、25 のブディングでは 2.98、95 では 2.29 であり、牛乳配合温度が高いほど濃度が薄くなった。オボアルブミンは、分子内に 1 つの SS 結合と 4 つの SH 基を有する加熱凝固性に関与するたんぱく質であり、牛乳配合温度が高いブディングでは、オボアルブミンによる強固なゲルネットワークが形成されたため、サンプル処理による溶解の程度が低かったと考えられた。以上より、ブディングは、オボアルブミンが SS 結合を伴うゲルネットワークを形成していること、さらに、牛乳配合温度が高いほど、オボアルブミンのネットワーク構築が進み、より強固な構造構築がなされていることが示唆された。

(4)まとめ

卵は、卵白および卵黄たんぱく質が有する熱凝固性と卵黄が有する乳化性から、その食品への添加により、多くの料理のテクスチャーを向上させる。特に、卵白は加熱により、SH、SS 交換反応や疎水性アミノ酸残基の露出によって卵白たんぱく質のゲルネットワークを形成する。一方、卵黄に含まれるたんぱく質や脂質は LDL として存在する。その構成たんぱく質であるアポたんぱく質は加熱中に広がり、互いに相互作用して疎水性結合を形成する。

本研究の結果から、牛乳配合温度は、焼成後のテクスチャーに影響し、牛乳配合温度が高いと破壊強度が高くなり、官能評価においても、脆くないと評価されるブディングとなることが示され、その要因は、牛乳配合温度が低い場合は、卵白たんぱく質と卵黄 LDL の表面たんぱく質との相互作用によって卵白たんぱく質の構造構築が妨げられるのに対し、牛乳配合温度が高い場合は、卵黄 LDL の表面たんぱく質の熱変性によって、卵白たんぱく質のゲルネットワーク形成が妨げられず、構造構築作用が十分なものになった結果と考えられた。

すなわち、動的粘弾性測定から、TG、PL-P 量の分画、SDS-PAGE の結果から、牛乳配合温度が高いと、加熱後に強固な構造(安定性が低い構造)となること、卵黄 LDL と卵白タンパク質との結合が緩くなり、オボアルブミンが SS 結合を伴うゲルネットワーク構築形成の程度が高くなることが示唆された。

なお、パンおよび揚げ物の衣を試料とした、レオロジー測定、走査電子顕微鏡観察、体積測定等の結果については、パンの検討では、卵白を配合したパンの体積は有意に小さく、SEM 観察においても空隙が小さく厚みのある壁が形成され、グルテンがデンプン粒の周囲を密に取り囲んでいることが確認された。一方、全卵、卵黄、レシチンを配合したパンの体積は大きく、空隙は大きく薄い膜で形成され、デンプン粒の周囲に空隙を有していた。これは、卵黄の乳化特性によって生地中の水分が生地の構造の中に取り込まれることにより、卵白たんぱく質の熱凝固が抑制されるとともに、小麦デンプン粒子表面への水分移行遅延による糊化が遅延したためと推察された。揚げ物の衣での検討においても、全卵を配合したフライの体積(膨化の程度)は大きく、卵黄 LDL に含まれるレシチン等の成分が、グルテンやデンプン粒子表面に存在することで、バッテリーの進展性を確保したためと考えられた。

以上から、卵白の熱凝固性によって構築される構造構築に、卵黄配合の有無や卵黄の状態が影響していることが示された。本研究の成果は、調理科学領域における食品・料理の構造構築解明の基盤となると考えられる。

5. 主な発表論文等

[学会発表](計 2 件)

檀上沙梨, 重永真志, 池田真帆, 北和貴, 石橋ちなみ, 杉山寿美, パンの多孔質構造構築およびテクスチャー特性への卵黄の影響, 日本家政学会中国四国支部研究発表会, 2018

長木恵, 須山智恵, 檀上沙梨, 杉山寿美, カスタードブディングのレオロジー特性へ及ぼす調製時の牛乳温度の影響, 日本家政学会中国四国支部研究発表会, 2016

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 野村 知未

ローマ字氏名 : (NOMURA satomi)

所属研究機関名 : 広島女学院大学

部局名 : 人間生活学部

職名 : 講師

研究者番号(8 桁) : 90735945

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : 長木恵, 須山智恵, 檀上沙梨, 重永真志, 池田真帆, 北和貴, 鈴木彩日, 石橋ちなみ

ローマ字氏名 : (NAGAKI megumi, SUYAMA chie, DANJYOU sari, SHIGENAGA masashi, IKEDA maho, KITA kazutaka, SUZUKI sayaka, ISHIBASHI chinami)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。