

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350108

研究課題名(和文)調理に伴うタンパク質の性状変化が血中コレステロール濃度上昇抑制作用に及ぼす影響

研究課題名(英文)Changes in the properties of protein with food preparation affect its inhibitory action on elevation in blood cholesterol levels

研究代表者

小川 宣子(OGAWA, Noriko)

中部大学・応用生物学部・教授

研究者番号：30139901

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：調理に伴う卵白と卵黄のタンパク質の性状変化を調べ、鶏卵を摂取した際の血中コレステロール濃度に及ぼす影響を検討した。卵白は80℃以上の加熱によってほとんどのタンパク質が変性し、2500rpmで10分以上の攪拌により耐熱性のオボムコイドも変性した。変性卵白、未変性卵白はいずれもラットの血中コレステロール濃度の上昇を抑制した。卵黄も80℃以上の加熱によりタンパク質が変性し、さらに食塩や砂糖の添加で変性が促進された。変性卵黄を摂取させたラットの血中コレステロール濃度は、未変性卵黄の場合に比べて低い傾向がみられた。

研究成果の概要(英文)：Changes in the properties of protein in egg albumen and egg yolk accompanying food preparation were investigated, and the effects on blood cholesterol level from consuming chicken eggs was examined. Nearly all of the protein in albumen became denatured when it was heated to 80°C or higher. Heat-stable ovomucoid also became denatured when beaten for more than 10 minutes at 2500 rpm. Both denatured and undenatured albumen inhibited elevation of blood cholesterol levels in rats. When egg yolk was heated to 80°C or higher its protein also became denatured and the denaturation was facilitated with the addition of salt or sugar. A tendency was seen for the blood cholesterol levels of rats that consumed denatured egg yolk to be lower than when undenatured egg yolk was consumed.

研究分野：応用栄養学・調理科学

キーワード：鶏卵 卵白 卵黄 リポタンパク質 熱変性 起泡性 コレステロール ラット

1. 研究開始当初の背景

鶏卵は良質なタンパク質源として栄養的に優れた食品であるとともに、熱凝固性、起泡性、乳化性など様々な調理性をもつことから、今日の食生活に欠くことのできない食品となっている。その一方で、卵黄のコレステロール含量が高いことから、動脈硬化の原因になる食品として鶏卵の摂取を避ける傾向も認められる。しかし、鶏卵の摂取は必ずしも血中コレステロール濃度を上昇させるものではないことが国内外で以前より報告されている (Kummerow et al., 1977; Flynn et al., 1979; 辻ら, 1981)。

コレステロール含量の高い鶏卵を摂取しても血中コレステロール濃度が上昇しない原因のひとつとして、卵黄とともに摂取する卵白タンパク質による血中コレステロール濃度の上昇抑制作用がある。卵白タンパク質によるコレステロールの吸収阻害 (Matsuoka et al., 2008) や、卵白タンパク質に多く含まれる含硫アミノ酸によってコレステロール 7 水酸化酵素の遺伝子発現が誘導され、肝臓におけるコレステロールの分解が促進されることなどが報告されている (Sugiyama et al., 1986; 小田ら, 2002)。

卵黄に含まれるリン脂質による作用も報告されている。大豆や卵黄由来のリン脂質には血中コレステロール濃度の上昇抑制作用が認められており (Imaizumi et al., 1989; Iwata et al., 1992; 黒田ら, 1997; Jiang et al., 2001) リン脂質が腸管内でコレステロールとミセルを形成して吸収を阻害することが要因と考えられている (Reynier et al., 1985)。

2. 研究の目的

これまでの研究から、卵白タンパク質や卵黄リポタンパク質は、鶏卵を摂取した際の血中コレステロール濃度の上昇抑制に大きな役割を果たしていることが考えられる。一方、鶏卵は様々な調理特性を活かして調理された後に摂取される場合が多い。熱凝固性、起泡性などの調理特性は、いずれも鶏卵のタンパク質の性質に基づくものであり、調理操作に伴ってタンパク質の性状は大きく変化している。よって、卵白タンパク質や卵黄リポタンパク質の性状が調理操作によって変化し、血中コレステロール濃度の上昇抑制作用に影響を及ぼす可能性がある。これまで卵白や卵黄に含まれる個々の成分の作用が検討されてきたが、実際の鶏卵の摂取方法をふまえた評価が今後の課題であると考えられる。そこで本研究では、「調理に伴う卵白タンパク質ならびに卵黄リポタンパク質の性状変化」ならびに「調理に伴うタンパク質の性状変化が血中コレステロール濃度上昇抑制作用に及ぼす影響」について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 調理に伴う卵白タンパク質ならびに卵黄リポタンパク質の性状変化

下記の調理条件に伴うタンパク質の変性を SDS ポリアクリルアミド電気泳動法により調べた。

加熱 卵黄と卵白を分離後、各々 8 g を試験管に入れ、沸騰水中で試料温度 60, 70, 80, 90, 100 まで加熱した。

攪拌 卵黄は 3000 rpm、卵白は 2500 rpm で 1, 3, 5, 10, 15, 20 分間攪拌した。

調味料の添加 卵黄または卵白に、砂糖 (66%)、塩化ナトリウム (1%)、塩化カルシウム (1%)、サラダ油 (11%) を添加し、と同様の条件で攪拌した。

(2) 卵黄コレステロールの分布に及ぼす調理の影響

卵黄中のコレステロールは、遊離した状態ではなく、ほとんどがリポタンパク質に含まれた状態で存在すると考えられており、そのために吸収が抑制されている可能性がある。卵黄リポタンパク質の性状が調理に伴って変化すると、コレステロールの分布状態も変化し吸収にも影響を及ぼすことが考えられることから、加熱ならびに砂糖の添加が卵黄コレステロールの分布に及ぼす影響を調べた。

割卵後、卵黄分離器で採取した卵黄を生卵黄とした。生卵黄と同量の砂糖を乳鉢に入れて 120rpm で 2 分間攪拌し砂糖添加卵黄を作成した。また、割卵せずに水 300ml を入れたビーカー内で 25 から沸騰まで 10 分間、沸騰後さらに 10 分間加熱し、氷水中で 5 分間冷却して作成したゆで卵の卵黄を加熱卵黄とした。

各卵黄 5g に 3 倍量の 1.6% 塩化ナトリウム溶液を加え、300rpm で 2 時間攪拌した後、3000rpm で 30 分間遠心分離して得られた沈殿をリポタンパク質として重量を測定した (定森, 1969)。リポタンパク質に含まれるコレステロール量を推定するため、沈殿重量の 20 倍量のクロロホルム・メタノール混合液を加えて攪拌した後、25 で 24 時間精置して脂質を抽出した。抽出液のコレステロール濃度をコレステロール測定キットを用いて測定した。また、リポタンパク質を沈殿させた際の上清についても同様にコレステロール濃度を測定し、リポタンパク質に含まれないコレステロール量を推定した。

(3) 卵黄リポタンパク質の摂取が血中コレステロール濃度に及ぼす影響

卵黄の乳化性に関わる主成分はリン脂質ではなく低密度リポタンパク質であり、低密度リポタンパク質のアポタンパク質部分がリン脂質と複合体を形成することにより高い乳化性を示しているとの報告があり (Mizutani et al., 1987) コレステロールの吸収を抑制しているのはリン脂質ではなくリポタンパク質の可能性が高いと考えら

れる。そこで、卵黄由来のリン脂質と卵黄リポタンパク質について、血中コレステロール濃度に及ぼす影響をラットを用いた動物実験において比較した。

飼料組成 AIN-93G 飼料組成の大豆油を乾燥卵黄で置換した飼料を卵黄リポタンパク質飼料、これと同量のレシチンとコレステロールを添加した飼料をリン脂質飼料、同量のコレステロールのみを添加した飼料を対照飼料とした。

実験動物・飼育条件 7週齢 SD 系雄ラット (1群 6匹) に、実験飼料を 10日間自由摂取させた。

測定項目 飼育期間終了後、16時間絶食し、ペントバルビタール麻酔下で回復し、腹部大動脈から採血した。採血した血液は 3000 rpm で 20 分間遠心分離し血清を得た。血清中の総コレステロール、LDL ならびに HDL-コレステロール濃度を測定した。

(4) 調理に伴うタンパク質の性状変化が血中コレステロール濃度上昇抑制作用に及ぼす影響

卵白タンパク質の性状変化

AIN-93G 飼料組成に 0.5%コレステロールを添加した高コレステロール飼料を対照飼料とし、対照飼料のカゼインを凍結乾燥した卵白あるいは調理後の変性卵白に置換した飼料を、各々未変性卵白飼料、変性卵白飼料とした。これらの飼料を用いて(3)と同様の条件でラットの血中コレステロール濃度に及ぼす影響を調べた。

卵黄タンパク質の性状変化

卵黄あるいは調理後の変性卵黄を各々凍結乾燥し、AIN-93G 飼料組成の大豆油とカゼインをこれらで置換し、コレステロール含量 0.5%の飼料を調製し、各々未変性卵黄飼料、変性卵黄飼料とした。これらの卵黄添加飼料の脂質とコレステロール含量が同量となるように AIN-93G 飼料組成に大豆油とコレステロールを添加した飼料を対照飼料とした。(3)と同様の条件でラットの血中コレステロール濃度に及ぼす影響を調べた。

4. 研究成果

(1) 調理に伴う卵白タンパク質ならびに卵黄リポタンパク質の性状変化

卵白タンパク質の性状変化

卵白タンパク質は 80 以上の加熱によりトランスフェリン、オボグロブリン、オボアルブミン、リゾチームは変性したが、耐熱性のあるオボムコイドには加熱による顕著な変性は認められなかった。

卵白の攪拌による影響を検討した結果、2500 rpm、5 分間の攪拌によりポストトランスフェリン、ポストリゾチームが変性し、10 分以上の攪拌により加熱では変性しにくかったオボムコイドに変性が見られた。

調味料の添加による影響については、砂糖、塩化ナトリウム、塩化カルシウム、サラダ油

のいずれを添加した場合にも、攪拌に伴って認められた卵白たんぱく質の変性が抑制される傾向が認められた。

卵黄タンパク質の性状変化

卵黄タンパク質は 70 までの加熱では顕著な変性はみられなかったが、80 以上の加熱によりいずれの卵黄構成タンパク質も変性した。

卵黄の攪拌は卵黄タンパク質の性状に影響を与えなかったが、塩化カルシウムを添加し 15 分以上攪拌すると α -リベチンと推定されるタンパク質に変性がみられた。また、砂糖を添加し 5 分以上攪拌すると分子量 20~30kDa と推定されるタンパク質に変性がみられた。塩化カルシウム、サラダ油の添加は卵黄タンパク質の性状に影響を及ぼさなかった。

(2) 卵黄コレステロールの分布に及ぼす調理の影響

生卵黄 5g に 1.6%塩化ナトリウム溶液を加えて攪拌、遠心分離して得られた沈殿量は 2.08g であり、コレステロール量は生卵黄 100g あたり沈殿中に 270mg、上清中に 1007mg であった。リポタンパク質とともに沈殿したコレステロールは全体の約 20% であった。

砂糖添加卵黄の沈殿量ならびにコレステロール量は生卵黄と同程度であったが、加熱卵黄では沈殿量が生卵黄に比べて有意 ($p < 0.05$) に増加した。加熱卵黄のコレステロール量は沈殿中に 1232mg、上清中に 28mg であり、ほとんどのコレステロールがリポタンパク質とともに沈殿した。この結果から、生卵黄に比べて加熱卵黄の方が、コレステロールがリポタンパク質から分離しにくくなっており、加熱に伴う卵黄タンパク質の変性によって、コレステロールの分布状態が変化していることが推察された。

(3) 卵黄リポタンパク質の摂取が血中コレステロール濃度に及ぼす影響

対照飼料群の血中 LDL-コレステロール濃度は 14.0 mg/dl であった。リン脂質飼料群では 9.7 mg/dl であり、対照飼料群に比べて有意 ($p < 0.05$) に低く、リン脂質の摂取によって LDL-コレステロール濃度の上昇を抑制することが示された。卵黄リポタンパク質飼料群の LDL-コレステロール濃度は 11.3 mg/dl で、対照飼料群ならびにリン脂質飼料群との有意差はなかった。今回の実験条件ではリン脂質と卵黄リポたんぱく質の作用に顕著な違いは認められず、卵黄に含まれるコレステロールの吸収抑制は、リン脂質ではなくリポタンパク質による作用であることを明らかにすることはできなかった。

(4) 調理に伴うタンパク質の性状変化が血中コレステロール濃度上昇抑制作用に及ぼす影響

卵白タンパク質の性状変化

(1)- の結果から、80 以上の加熱によってトランスフェリン、オボグロブリン等のオボムコイド以外の卵白タンパク質が変性し、2500 rpm で 10 分以上の攪拌により加熱では変性しにくかったオボムコイドに変性が見られたことから、2500rpm で 10 分間攪拌した後、80 に加熱した卵白を変性卵白としてラットに与え、血中コレステロール濃度の上昇抑制作用に及ぼす影響を調べた。

その結果、対照飼料群の血中 LDL-コレステロール濃度は 15.2 mg/dl であったのに対し、変性卵白飼料群では 7.8 mg/dl、未変性卵白飼料群では 8.7 mg/dl であり、いずれも対照飼料群に比べて有意 ($p < 0.05$) に低かった。しかし、変性卵白飼料群と未変性卵白飼料群の間には有意差は認められなかった。卵白の摂取により血中 LDL-コレステロール濃度の上昇を抑制することは示されたが、卵白の加熱ならびに攪拌に伴うタンパク質の性状変化は、血中コレステロール濃度の上昇抑制作用に影響しないことが示された。

卵黄タンパク質の性状変化

(1)- の結果から、80 以上の加熱によりいずれの卵黄タンパク質にも変性が認められた。さらに食塩添加し 15 分以上、砂糖添加し 5 分以上攪拌するとタンパク質に変性が見られたことから、卵黄に食塩と砂糖を添加して 3000rpm で 15 分間攪拌し 80 に加熱した卵黄を変性卵黄としてラットに与え、血中コレステロール濃度の上昇抑制作用に及ぼす影響を調べた。

その結果、対照飼料群の血中 LDL-コレステロール濃度は 14.0 mg/dl であったのに対し、変性卵黄飼料群では 8.7 mg/dl であり、対照飼料群に比べて有意 ($p < 0.05$) に低く、変性卵黄の摂取は、LDL-コレステロール濃度の上昇を抑制することが示された。未変性卵黄飼料群では 11.3 mg/dl であり、対照飼料群ならびに変性卵黄飼料群との有意差はなかった。変性卵黄飼料群の方が未変性卵黄飼料群に比べて LDL-コレステロール濃度が低い傾向が認められたことから、調理操作に伴う卵黄たんぱく質の変性は、血中コレステロール濃度の上昇抑制作用に影響する可能性が示された。

<引用文献>

- Flynn, M.A., Nolph, G.B., Flynn, T.C., Kahrs, R. and Krause, G. (1979) Am. J. Clin. Nutr., 32, 1051
- Imaizumi, K., Sakono, M., Sugano, M., Shigematsu, Y. and Hasegawa, M. (1989) Agric. Biol. Chem., 53, 2469
- Iwata, T., Hoshi, S., Takehisa, F., Tsutsumi, K., Furukawa, Y. and Kimura, S. (1992) J. Nutr. Sci. Vitaminol., 38, 471
- Jiang, Y., Noh, S.K. and Koo, S.I. (2001) J. Nutr., 131, 2358
- Kummerow, F.A., Kim, Y., Hull, Pollard,

J., Ilinov, P., Dorossiev, D.L. and Valek, J. (1977) Am. J. Clin. Nutr., 30, 664

- 黒田圭一, 細山田康恵, 小島義樹 (1997) 日本栄養・食糧会誌, 50, 25
- Matsuoka, R., Kimura, M., Muto, A., Masuda, Y., Sato, M. and Imaizumi, K. (2008) Biosci. Biotechnol. Biochem., 72, 1506
- Mizutani, R. and Nakamura, R. (1987) Agric. Biol. Chem. 51, 1115
- 小田裕昭, 荒川真悟, 林直紀 (2002) 必須アミノ酸研究, 163, 29
- Reynier, M.O., Lafont, H. Crotte, C., Sauve, P. and Gerolami, A. (1985) Lipids, 20, 145
- 定森許江 (1969) 家政学雑誌, 120, 7, 485
- Sugiyama, K., Ohkawa, S. and Marumatu, K. (1986) J. Nutr. Sci. Vitaminol., 32, 413
- 辻悦子, 鈴木慎次郎 (1981) 栄養と食糧, 34, 169

5. 主な発表論文等

[学会発表](計1件)

小川宣子, 山中なつみ, 小林由実, 「鶏卵の調理に伴うタンパク質の性状変化が血中コレステロール濃度上昇抑制作用に及ぼす影響」平成 27 年度本調理科学会東海・北陸支部、近畿支部合同研究発表会、平成 27 年 7 月 4 日、近江町交流プラザ(石川県・金沢市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

小川 宣子 (OGAWA, Noriko)
中部大学・応用生物学部・教授
研究者番号: 3 0 1 3 9 9 0 1

(2)研究分担者

山中 なつみ (YAMANAKA, Natsumi)
名古屋女子大学・家政学部・教授
研究者番号: 0 0 2 5 7 5 2 8

小林 由実 (KOBAYASHI, Yumi)
中部大学・応用生物学部・助手
研究者番号: 4 0 5 1 2 1 0 8