

## 卵黄リポタンパク質の調理による性状変化と 血中コレステロール濃度に及ぼす影響

中部大学応用生物学部食品栄養科学科・教授 小川 宣子

\*\*\*\*\*

### ■ 緒 言

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が、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摂取を避ける傾向が認められる。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報告されている。卵白タンパク質によるコレステロールの吸収阻害、含硫アミノ酸によるコレステロール分解酵素の遺伝子発現の誘導などが原因としてあげられている。卵黄に含まれるリン脂質も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との報告<sup>1)</sup>があり、リン脂質とともに卵黄の乳化性に関わる成分である低密度リポタンパク質にも、コレステロールの吸収を左右する可能性が考えられる。

一方、鶏卵は希釈性や熱凝固性、起泡性などの様々な調理特性を持ち、これらの特性を活かして調理された後に摂取される場合が多い。これら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、調理に伴ってタンパク質の性状は大きく変化している。この調理による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を及ぼすものと考えられる。これまで鶏卵の生理作用については、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。本研究では卵黄リポタンパク質に注目し、加熱、希釈、起泡に伴う性状変化を明らかにするとともに、調理後の卵黄の摂取が血中コレステロール濃度に及ぼす影響を調べ、その関係を明らかにすることを目的とした。

### ■ 方 法

#### 1. 卵タンパク質の変性について

##### (1) SDS ポリアクリルアミド電気泳動法

##### ① SDS ポリアクリルアミド電気泳動法

- ・0.025M トリス・0.192M グリシン電極用緩衝液
- ・試料調製緩衝液  
0.01M トリス・20%グリセリン・4.6%SDS・0.1%メルカプトエタノール
- ・ゲル濃度：12.5%
- ・20mA 定電流

##### ② SDS ポリアクリルアミド電気泳動用試料作製

試料と同量の試料調製緩衝液を加え、沸騰中で3分加熱を行った。

##### (2) 変性条件

##### ① 加熱

卵から卵白を分割後、卵黄8gを試験管に分注し、沸騰水中で加熱し、試料温度60°C、70°C、80°C、90°C、100°Cで取り出し、それぞれ3倍量の蒸留水を加え、3000rpmで3分ホモジナイズ後、さらに6000rpmでホモジナイズしたものを3000rpmで15分遠心分離をした上清を採取した。

##### ② 攪拌条件

割卵し、分離した卵黄を均一にするため35rpmで2.5分攪拌後、3000rpmで0分、1分、3分、5分、10分、15分、20分間攪拌を行ったものを試料とした。

##### ③ 調味料

- 砂糖：②と同様の回転数で攪拌し、2分後に砂糖を卵黄重量の66%添加後、0分、5分、10分、15分、20分間攪拌を行ったものを試料とした。
- 無機質(Na, Ca)：②と同様の回転数で攪拌し、2分後にNaClまたはCaCl<sub>2</sub>を卵黄重量の1%添加後、0分、5分、10分、15分、20分間攪拌を行ったものを試料とした。
- 油：②と同様の回転数で攪拌し、1分後にサラダ油を卵黄重量の11%添加後、0分、5分、10分、15分、20分間攪拌を行った。

## 2. 変性卵が乳化性に及ぼす影響

### (1) 乳化安定性

乳化安定性についてエマルションを作成し、油の粒子の大きさと分光光度計による吸光度から調べた。

#### ① エマルションの作成

サラダ油 3g、穀物酢 3g と変性卵黄 2g、グラニューールを溶解するために 10%NaCl を 5g 添加し、タッチミキサーで 1 分間混合し、エマルション溶液を求めた。

#### ② 油の分散粒子の観察

①で作成したエマルションを MICROSCOPE を用い、10 倍で観察を行った。

#### ③ 分光光度計による吸光度測定

①で作成したエマルションを 0.1%トリトン X で 500 倍に希釈し、500nm で 5 分後、60 分後の吸光度を分光光度計(島津製、UV-1800)から求めた。

### (2) 試料

1. より、卵黄タンパク質がもっとも変性した条件は、食塩 1%添加、砂糖 66%添加して 3000rpm で 5 分以上攪拌と 80°C以上の加熱であったことから、変性卵黄として食塩 1%添加、砂糖 66%添加し、3000rpm で 5 分間攪拌したものを 80°Cに加熱し、作成した。

## 3. 変性卵が脂質代謝に及ぼす影響

### (1) 試料

砂糖を添加した後に攪拌することで、卵黄タンパク質に変性が認められたことから、砂糖を添加後 15 分攪拌した卵黄を試料として、変性卵黄の摂取が脂質代謝に及ぼす影響を調べた。

### (2) 飼料組成

実験に用いた飼料の組成を表 3-1 に示した。AIN-93G 飼料組成<sup>2)</sup>を基本とし、コレステロールの吸収や代謝に影響を及ぼす可能性のあるセルロースとシスチン<sup>3)</sup>を  $\beta$ -コングスターチに置換した飼料を通常飼料とした。

通常飼料の大豆油を凍結乾燥した未変性卵黄(コレステロール含量 2.29%、窒素含量 5.15%)に置換した飼料を未変性卵黄添加飼料とした。未変性卵黄の添加量は、飼料中のコレステロール量が 0.5%となるよう 21.8g/100g とし、コール酸ナトリウム 0.25g/100g を加えた。さらに、窒素量が通常飼料のカゼイン(窒素含量 13.9%)20g と一致するようにカゼイン添加量を 11.9g とした。

凍結乾燥した変性卵黄(コレステロール含量 0.856%、窒素含量 1.94%)で置換した飼料を変性卵黄添加飼料とした。変性卵黄の添加量は、飼料中のコレステロール量が 0.5%となるよう 58.4g/100g とし、カゼインを 11.8g として窒素量を一致させた。

また、通常飼料にコレステロール 0.5g を加えて高コレステロール食とした飼料を対照飼料とした。精製コレステロール(和光純薬一級、コレステロール含量 86.4%)を 0.58g/100g 添加した。さらに、脂質量が未変性卵黄添加飼料の未変性卵黄(脂質含量 61.7%)21.8g と一致するように大豆油添加量を 12.9g とした。

いずれの飼料も  $\beta$ -コングスターチで 100g に調整し、第三ヒドロキシキノン 0.0014g/100g を添加した。

### (3) 実験動物

7 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラット 24 匹を用い、通常飼料を与えて 5 日間予備飼育した後、4 群(各群 6 匹)に分け、各々の飼料を与えて 10 日間飼育した。通常飼料を与えたラットを通常飼料群、対照飼料を与えたラットを対照飼料群、未変性卵黄あるいは変性卵黄添加飼料を与えたラットを各々未変性卵黄群、変性卵黄群とした。

### (4) 飼育条件

飼育はステンレス製代謝ケージを用い、飼育環境は温度 22±2°C、12 時間の明暗サイクル(明期 8:00 ~ 20:00)で、飼料および水は自由摂取とした。

### (5) 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開腹した。腹部大動脈から採血した後、肝臓を採取し重量を測定した。採取した血液は 3000rpm 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。

### (6) 統計処理

測定結果は 1 群 6 匹の平均値 ± 標準偏差で示した。各測定項目について群間で一元分散分析を行い、要因の影響が有意な場合には分散分析の誤差分散を用いて Tukey の多重比較を行った。統計

処理には SPSS (IBM SPSS Statistics 23) を用い、危険率が 0.05 未満のとき有意であるとみなした。

## ■ 結果

### 1. 卵タンパク質の変性について

卵黄タンパク質の変性について、加熱、攪拌、調味料(砂糖, NaCl, CaCl<sub>2</sub>)、油から検討を行った結果、80°C以上の加熱によりいずれの卵黄構成タンパク質にも変性が見られた(図 1-1)。

攪拌の影響は、3000rpm で 20 分攪拌を行っても卵黄の構成タンパク質に変性は見られなかった(図 1-2)。

調味料の影響は、砂糖の添加は 5 分以上の攪拌で卵黄構成タンパク質に変性が見られ(図 1-3)、食塩の添加は、15 分以上の攪拌により、卵黄構成タンパク質のポスト  $\alpha$ -リベチンと  $\alpha$ -リベチンにやや変性が見られたが(図 1-4)、塩化カルシウムの添加では卵黄構成タンパク質に変性は見られなかった(図 1-5)。

油の添加の影響は、卵黄を構成するタンパク質に変性は見られなかった(図 1-6)。

以上の結果より、卵黄タンパク質が最も変性を受ける条件は、食塩 1% 添加、砂糖 66% 添加して 3000rpm で 15 分以上の攪拌と 80°C 以上の加熱であった。

### 2. 変性卵が乳化性に及ぼす影響

変性卵黄を添加したエマルションの油粒子は、未変性卵黄に比べて油の粒子が明らかに小さいことがわかる(図 2-1)。これより、卵黄に食塩、砂糖を添加し、3000rpm で 15 分間攪拌した卵黄を 80°C まで加熱して変性させた卵黄は、乳化性を促進することが推定できる。

卵黄を添加したエマルションの吸光度は、変性卵黄を添加したエマルションの吸光度の方が未変性卵黄を添加したエマルションより大きいことから、変性卵黄は未変性卵黄よりも乳化性が優れていることが考えられる。これは変性卵黄を添加したエマルションの油の粒子が未変性卵黄添加に比べて小さいことと一致している。未変性卵黄の乳化安定性は、60 分後に吸光度の値がやや小さくなり、乳化安定性がやや悪かったが、変性卵黄によるエマルションは高い吸光度を保っていたことから、変性卵黄を添加したエマルションは乳化安定性が優れていた(表 2-1)。

### 3. 変性卵が脂質代謝に及ぼす影響

各群のラットの初体重と終体重、体重増加量を表 3-2 に示した。いずれの測定項目においても群間に差は認められなかった。

飼育終了後の肝臓重量ならび血清コレステロール濃度の測定結果を表 3-3 に示した。肝臓重量は、通常飼料群 9.85g に比べて対照飼料や卵黄添加飼料を摂取したラットで大きく、対照飼料群 12.13g と変性卵黄群 11.34g では通常飼料群との間に有意差( $p < 0.05$ )が認められた。

血清総コレステロール濃度は群間に差は認められなかった。LDL-コレステロール濃度は、通常飼料群 3.7mg/dl に比べて対照飼料群 14.0mg/dl において有意( $p < 0.05$ )に増加した。未変性卵黄ならびに変性卵黄の摂取によっても通常飼料群に比べて有意( $p < 0.05$ )に増加したが、いずれも対照飼料群に比べて低く、変性卵黄群 8.7mg/dl は対照飼料群に比べて有意( $p < 0.05$ )に低かった。HDL-コレステロール濃度は、通常飼料群 20.0mg/dl に比べて対照飼料群 11.2mg/dl において有意( $p < 0.05$ )に低下した。未変性卵黄ならびに変性卵黄の摂取によっても通常飼料群に比べて有意( $p < 0.05$ )に低下したが、いずれも対照飼料群に比べて高く、変性卵黄群 15.5mg/dl は対照飼料群に比べて有意( $p < 0.05$ )に高かった。

## ■ 考察

### 1. 卵タンパク質の変性について

卵の摂取は生ではなく、調理加工して「卵料理」として摂取する場合も多い。調理加工とは加熱だけでなく、外圧を加え変性させる攪拌や、加熱時や攪拌時に調味料を添加する。80°C以上の加熱から卵黄タンパク質は変性し始める。卵黄タンパク質は卵白タンパク質に比べ、攪拌のような外的応力による変性を受けにくい。砂糖の添加や 1% の食塩を添加し、攪拌することで、卵黄構成タンパク質のポスト  $\alpha$ -リベチンと  $\alpha$ -リベチンにやや変性が見られた。砂糖や 1% 程度の食塩を添加して攪拌し、80°C以上の加熱を行う調理加工条件である菓子類は最も卵黄タンパク質が変性をしている料理である。

## 2. 変性卵が乳化性に及ぼす影響

変性卵黄(砂糖、食塩を添加して攪拌した卵黄を 80°C に加熱したもの)を、油、酢の溶液に添加して作成したエマルションは、未変性の卵黄で同様に作成したエマルションに比べ、油粒子は細かく乳化性に優れ、さらに乳化安定性に優れていたことから、砂糖の添加および熱変性は卵黄の乳化性を促進することが考えられた。

## 3. 変性卵が脂質代謝に及ぼす影響

大豆油と精製コレステロールを添加して高脂質・高コレステロール飼料とした対照飼料を摂取したラットの肝臓重量は、通常飼料を摂取したラットに比べて増加した。未変性卵黄、変性卵黄を摂取したラットの肝臓重量も対照飼料群と同程度であり、卵黄の摂取によっても肝臓の重量が増加した。未変性卵黄群と変性卵黄群の間に有意差は認められず、卵黄タンパク質の変性の影響は認められなかった。

血清総コレステロール濃度はいずれの群間にも差は認められなかったが、LDL-コレステロール濃度は高脂質・高コレステロール飼料の摂取によって有意に上昇、HDL-コレステロール濃度は有意に低下した。対照飼料群に比べて未変性卵黄群ならびに変性卵黄群の方が LDL-コレステロール濃度は低く、HDL-コレステロール濃度は高い傾向がみられ、卵黄の摂取がコレステロール代謝に及ぼす影響は、大豆油と精製コレステロールを摂取した場合に比べて小さいことが示唆された。卵黄に含まれるリン脂質あるいはリポタンパク質がコレステロールの吸収を抑制し、LDL-コレステロール濃度の上昇を抑制したことが考えられた。さらに、未変性卵黄群と変性卵黄群を比較すると、変性卵黄群の方が LDL-コレステロール濃度は低く、HDL-コレステロール濃度は高い傾向がみられた。砂糖の添加ならびに攪拌に伴う卵黄タンパク質の変性が、卵黄による LDL-コレステロール濃度の上昇抑制作用を強める可能性が考えられた。

## ■ 要 約

鶏卵は希釈性や熱凝固性、起泡性などの様々な調理特性を持っていることから生で摂取するだけでなく、これらの特性を活かし、多種類の料理として食されている。しかし、鶏卵、特に卵黄は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摂取を避ける傾向が認められる。卵の調理特性によるタンパク質の性状変化を調べるとともに、このタンパク質変性が血中コレステロール濃度に及ぼす影響について検討を行うことを目的とした。卵黄タンパク質は食塩 1% 添加、砂糖 66% 添加した卵黄を 3000rpm で 15 分以上攪拌し、その後 80°C 以上の加熱を行うことにより最も変性が見られた。この変性卵黄は未変性卵黄に比べ乳化性や乳化安定性が優れていた。

血中コレステロールへの影響は、変性卵黄摂取群のラット(7 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラット)および未変性卵黄摂取群では対照飼料群に比べて LDL-コレステロール濃度は低く、HDL-コレステロール濃度は高い傾向がみられ、卵黄の摂取がコレステロール代謝に及ぼす影響は、大豆油と精製コレステロールを摂取した場合に比べて小さいことが示唆された。未変性卵黄群と変性卵黄群では、変性卵黄群の方が LDL-コレステロール濃度は低く、HDL-コレステロール濃度は高い傾向がみられた。砂糖添加および攪拌、加熱による卵黄タンパク質の変性は調理特性や脂質代謝に影響を及ぼす可能性が考えられた。

## ■ 文 献

- 1) Reynier, M.O., Lafont, H. Crotte, C., Sauve, P. and Gerolami, A. (1985) Intestinal cholesterol uptake: comparison between mixed micelles containing lecithin or lysolecithin. *Lipids*, 20, 145-150
- 2) Reeves, P.G., Nielsen, F.H. and Fahey, G.C. (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, 123, 1939-1951
- 3) Sugiyama, K., and Ohkawa, S. and Marumatu, K. (1986) Relationship between amino acid composition of diet and plasma cholesterol level in growing rats fed a high cholesterol diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 32, 87-96

表 2-1 変性卵黄がエマルジョンに及ぼす影響

	吸光度 (Abs) 500nm	
	調製後 5 分	調製後 60 分
未変性卵黄	2.045	1.956
変性卵黄	2.443	2.464

表 3-1 飼料組成

(g)

	AIN-93G	通常飼料	対照飼料	卵黄添加飼料	
				未変性卵黄	変性卵黄
カゼイン	20	20	20	11.9	11.8
シスチン	0.3	—	—	—	—
大豆油	7	7	12.9	—	—
乾燥未変性卵黄	—	—	—	21.8	—
乾燥変性卵黄	—	—	—	—	58.4
α-コーンスターチ	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2
β-コーンスターチ	39.75	45.05	38.35	38.06	1.54
シュクロース	10	10	10	10	10
セルロース	5	—	—	—	—
AIN-93G ミネラル混合	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-93 ビタミン混合	1	1	1	1	1
重酒石酸コリン	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
第三ブチルヒドロキノン	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014
コレステロール	—	—	0.58	—	—
コール酸ナトリウム	—	—	0.25	0.25	0.25

表 3-2 体重増加量

	通常飼料群	対照飼料群	未変性卵黄群	変性卵黄群
初体重 (g)	272 ± 5	271 ± 9	271 ± 3	272 ± 6
終体重 (g)	324 ± 7	328 ± 9	323 ± 16	325 ± 10
体重増加量 (g)	52 ± 3	56 ± 5	52 ± 14	53 ± 8

表 3-3 肝臓重量ならびに血清コレステロール濃度

	通常飼料群	対照飼料群	未変性卵黄群	変性卵黄群
肝臓重量 (g)	9.85 ± 0.40 b	12.13 ± 0.80 a	11.05 ± 1.22 ab	11.34 ± 0.48 a
総コレステロール (mg/dl)	61.7 ± 5.2	61.8 ± 9.4	57.3 ± 7.6	56.7 ± 8.8
LDL-コレステロール (mg/dl)	3.7 ± 0.5 c	14.0 ± 3.3 a	11.3 ± 4.1 ab	8.7 ± 1.8 b
HDL-コレステロール (mg/dl)	20.0 ± 1.4 a	11.2 ± 2.3 c	13.8 ± 1.5 bc	15.5 ± 2.6 b

a, b, c : 異なるアルファベットは各測定項目において群間に有意差 (p<0.05) があることを示す。

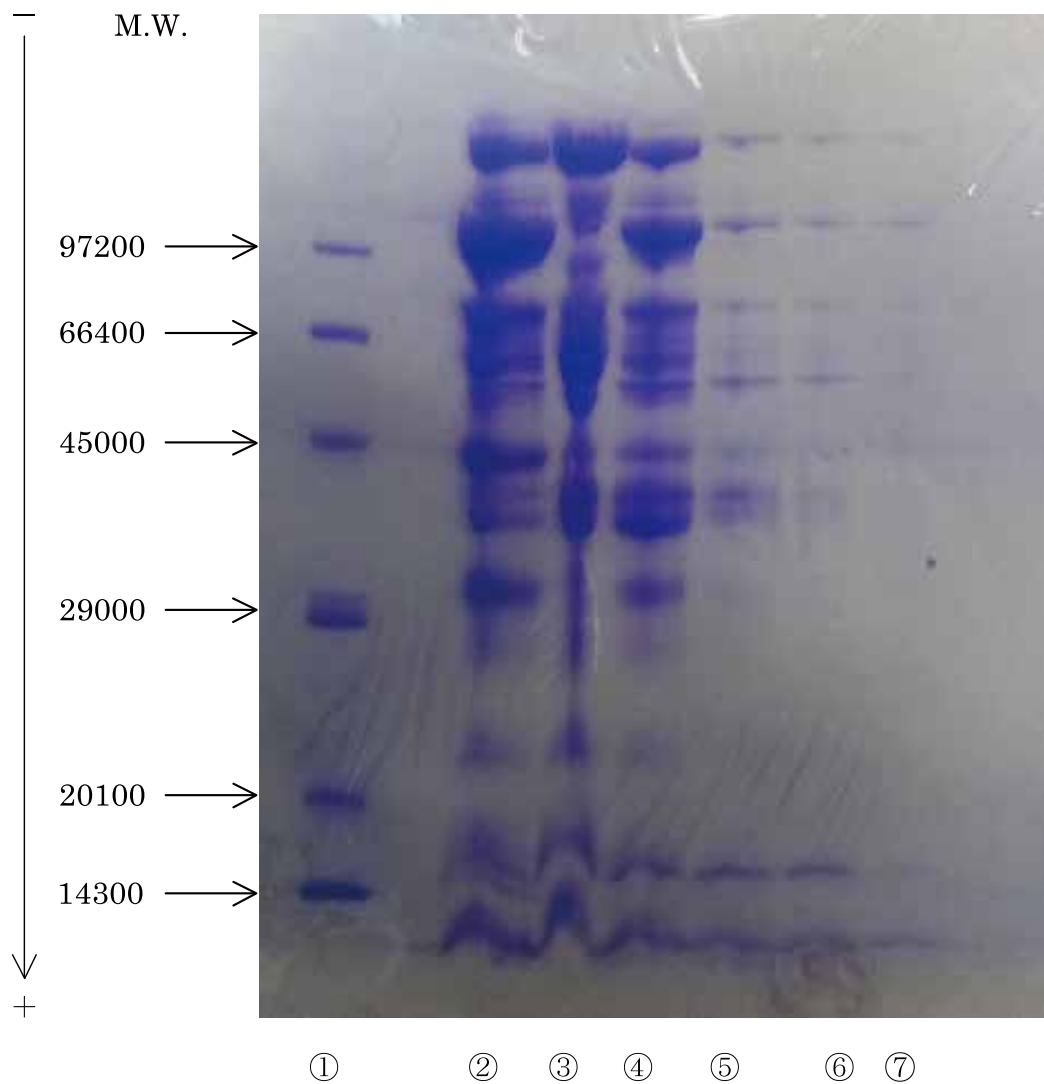


図 1-1 加熱による卵黄タンパク質の変化

- ① : 分子量マーカー
- ② : 加熱なし                      ⑤ : 80°C加熱
- ③ : 60°C加熱                      ⑥ : 90°C加熱
- ④ : 70°C加熱                      ⑦ : 100°C加熱

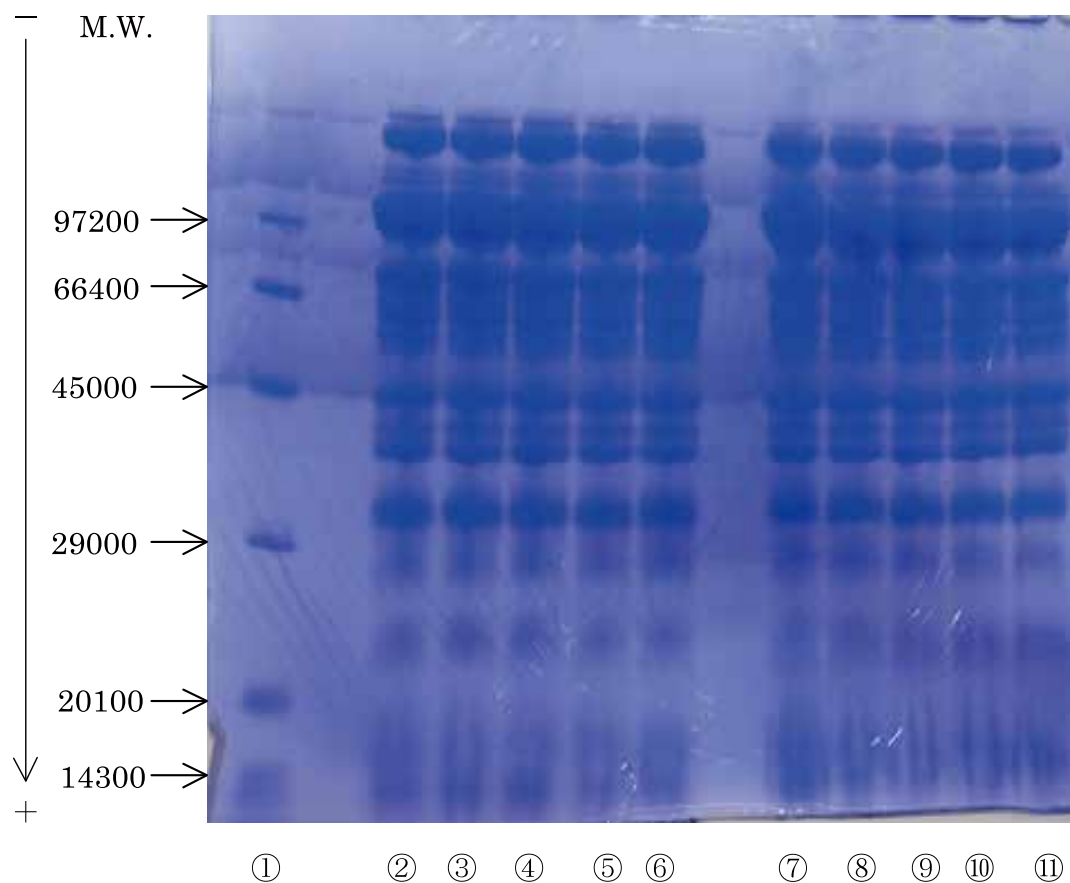


図 1-2 攪拌 (3000rpm) による卵黄タンパク質の変化

① : 分子量マーカー

② : 0 分

③ : 1 分

④ : 3 分

⑤ : 5 分

⑥ : 7 分

⑦ : 0 分

⑧ : 5 分

⑨ : 10 分

⑩ : 15 分

⑪ : 20 分

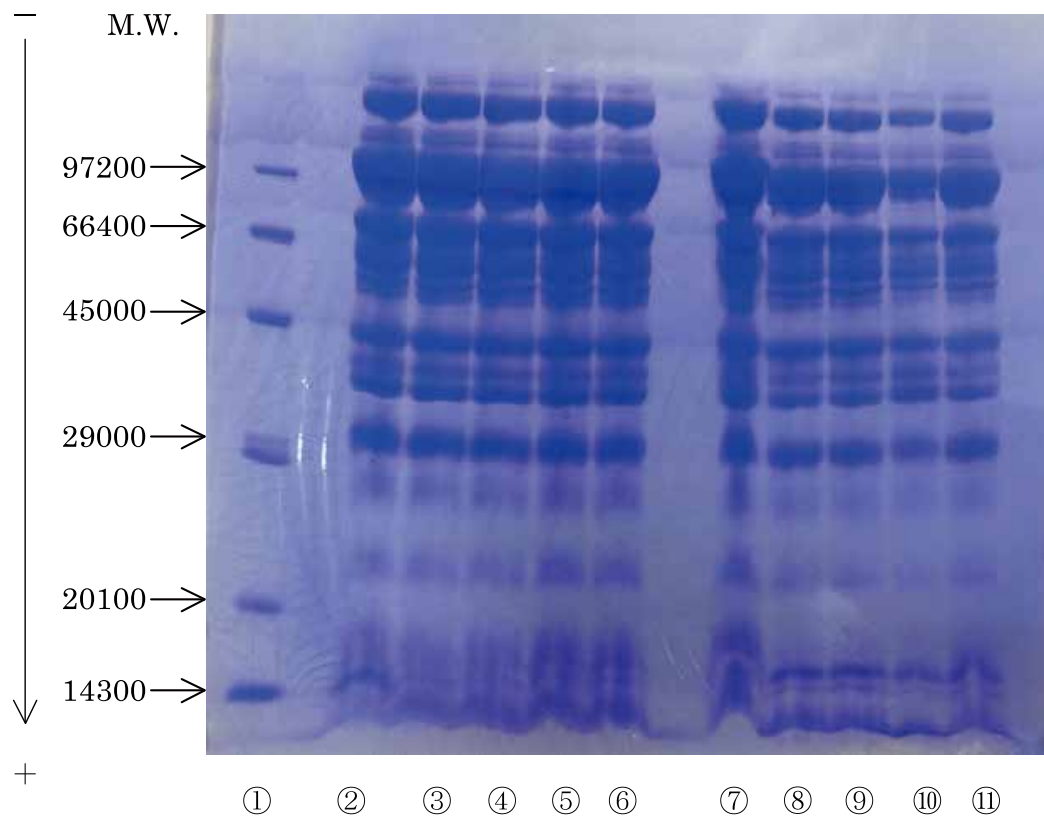


図 1-3 砂糖を添加し、攪拌 (3000rpm) した卵黄タンパク質の変化

①：分子量マーカー

②：砂糖無添加 攪拌時間 0分

③：砂糖無添加 攪拌時間 5分

④：砂糖無添加 攪拌時間 10分

⑤：砂糖無添加 攪拌時間 15分

⑥：砂糖無添加 攪拌時間 20分

⑦：砂糖添加 攪拌時間 0分

⑧：砂糖添加 攪拌時間 5分

⑨：砂糖添加 攪拌時間 10分

⑩：砂糖添加 攪拌時間 15分

⑪：砂糖添加 攪拌時間 20分



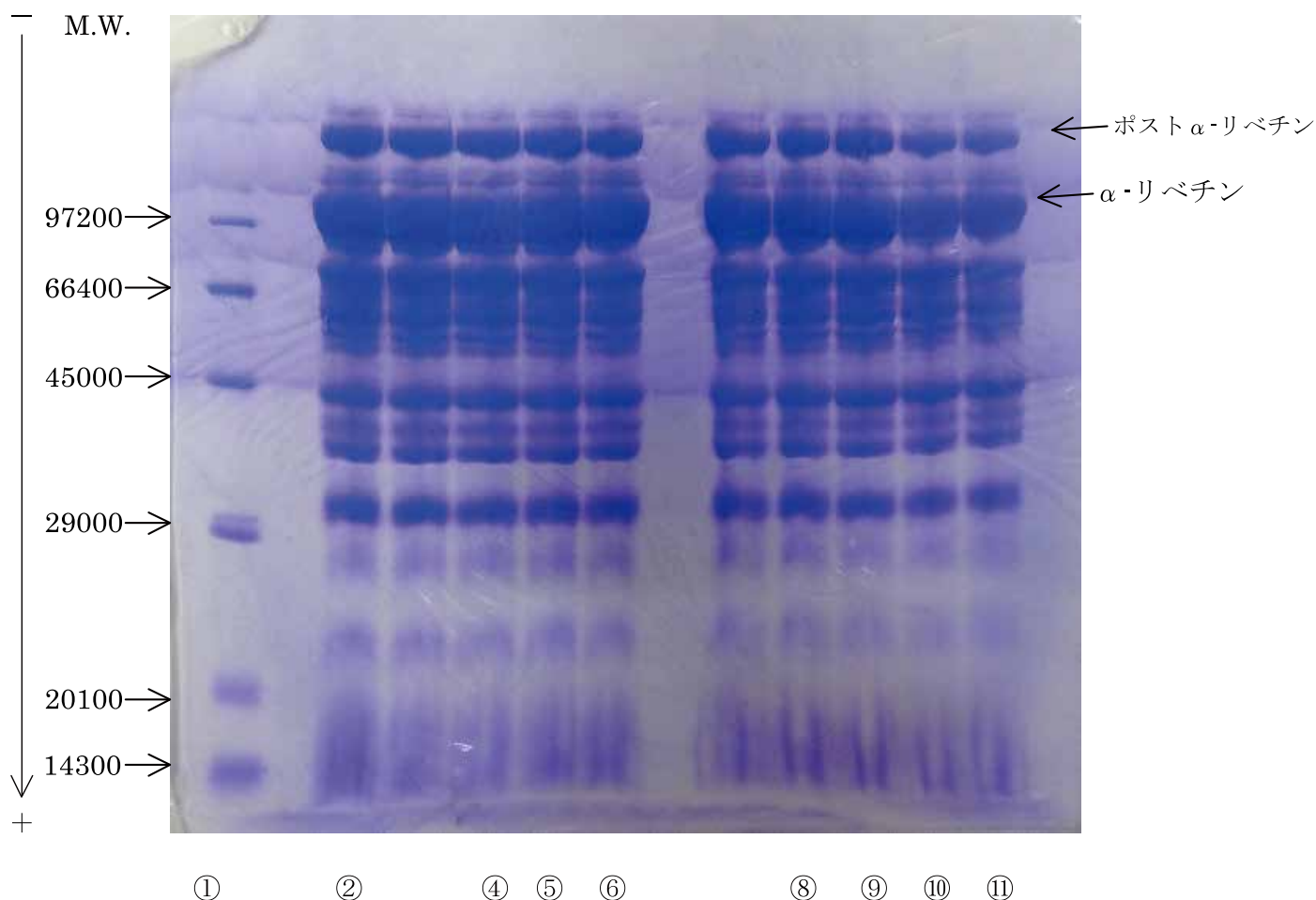


図 1-4 食塩を添加し、攪拌 (3000rpm) した卵黄タンパク質の変化

- |                     |                    |  |
|---------------------|--------------------|--|
| ① : 分子量マーカー         |                    |  |
| ② : 食塩無添加 攪拌時間 0 分  | ⑦ : 食塩添加 攪拌時間 0 分  |  |
| ③ : 食塩無添加 攪拌時間 5 分  | ⑧ : 食塩添加 攪拌時間 5 分  |  |
| ④ : 食塩無添加 攪拌時間 10 分 | ⑨ : 食塩添加 攪拌時間 10 分 |  |
| ⑤ : 食塩無添加 攪拌時間 15 分 | ⑩ : 食塩添加 攪拌時間 15 分 |  |
| ⑥ : 食塩無添加 攪拌時間 20 分 | ⑪ : 食塩添加 攪拌時間 20 分 |  |

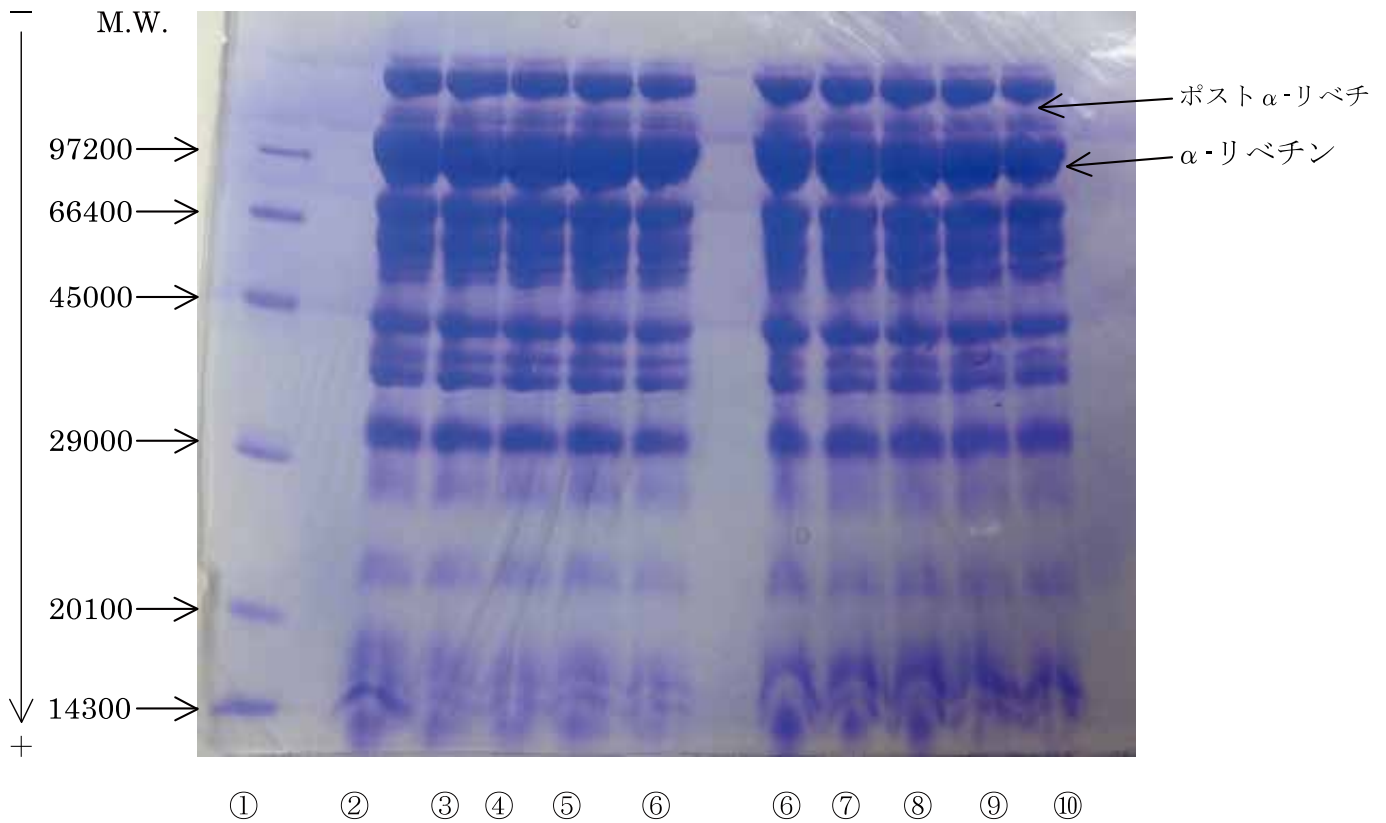


図 1-5. 塩化カルシウムを添加し、攪拌 (2500rpm) した卵黄タンパク質の変化

① : 分子量マーカー

② : CaCl<sub>2</sub> 無添加 攪拌時間 0 分

③ : CaCl<sub>2</sub> 無添加 攪拌時間 5 分

④ : CaCl<sub>2</sub> 無添加 攪拌時間 10 分

⑤ : CaCl<sub>2</sub> 無添加 攪拌時間 15 分

⑥ : CaCl<sub>2</sub> 無添加 攪拌時間 20 分

⑦ : CaCl<sub>2</sub> 添加 攪拌時間 0 分

⑧ : CaCl<sub>2</sub> 添加 攪拌時間 5 分

⑨ : CaCl<sub>2</sub> 添加 攪拌時間 10 分

⑩ : CaCl<sub>2</sub> 添加 攪拌時間 15 分

⑪ : CaCl<sub>2</sub> 添加 攪拌時間 20 分

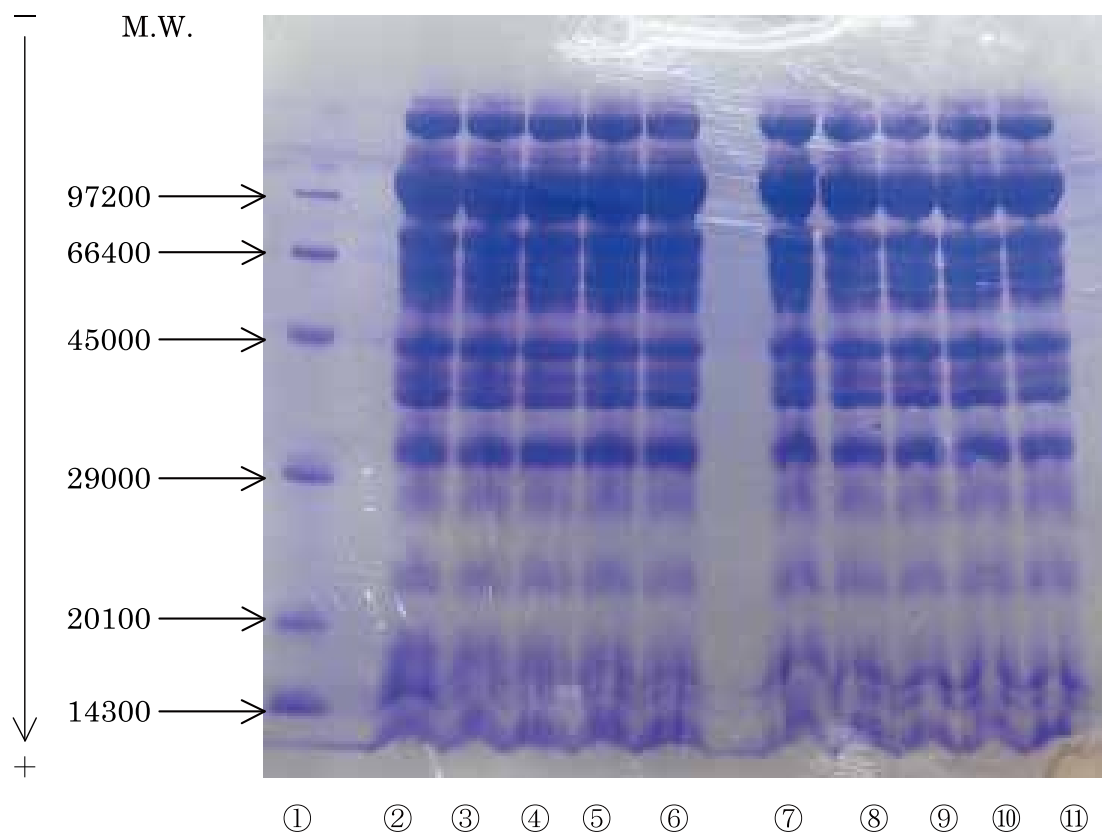
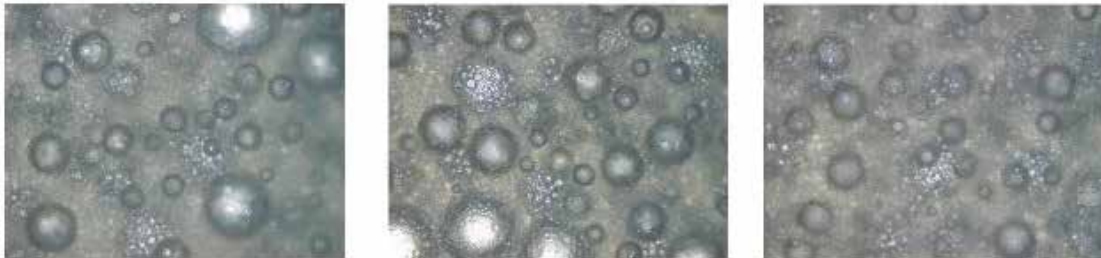


図 1-6 油を添加し、攪拌 (30000rpm) した卵黄タンパク質の変化

- |                   |                  |  |
|-------------------|------------------|--|
| ① : 分子量マーカー       |                  |  |
| ② : 油無添加 攪拌時間 0分  | ⑦ : 油添加 攪拌時間 0分  |  |
| ③ : 油無添加 攪拌時間 5分  | ⑧ : 油添加 攪拌時間 5分  |  |
| ④ : 油無添加 攪拌時間 10分 | ⑨ : 油添加 攪拌時間 10分 |  |
| ⑤ : 油無添加 攪拌時間 15分 | ⑩ : 油添加 攪拌時間 15分 |  |
| ⑥ : 油無添加 攪拌時間 20分 | ⑪ : 油添加 攪拌時間 20分 |  |

a. 未変性卵黄を添加したエマルション



b. 変性卵黄を添加したエマルション



図 2-1 変性卵黄がエマルションの油粒子に及ぼす影響