

# 新しい手法を用いた卵の低アレルゲン化方法の開発

島根大学人間科学部人間科学科・教授 鶴永 陽子

## ■ 緒 言

鶏卵は食物アレルギーの最も多い原因食物である。日本の消費者庁が2011年に実施した「即時型食物アレルギーに関する全国調査」によると、食物アレルギーの原因食物の1位は鶏卵で、その割合は39.0%であった。食物アレルギーの発症は0~1歳児が多くを占めているが、0歳児の57.6%、1歳児の39.1%は鶏卵によるものであり<sup>1)</sup>、多くの人に影響を与えてることが分かる。また、鶏卵の特徴として、料理への汎用性が高いことが挙げられる。経済的かつ完全栄養食といわれるほど栄養価が高く、便利な食材と言える。さらに、パン、菓子類、ハムなどの加工肉、マヨネーズなどの調味料などにも広く含まれている。現在、鶏卵アレルギーの治療法は、食事において一部または完全なアレルゲン除去が一般的だが、鶏卵を除去することは日常生活における大きな制限となってしまう。さらに、気づかず暴露する可能性も高く、生命を脅かすアナフィラキシー反応の発生にもつながりかねない。これまでに鶏卵アレルギー性の低減化に関する研究はいくつかなされている。主要な鶏卵アレルゲンは卵白中に含まれているオボムコイドとオボアルブミンであり、卵白タンパク質の約11%、54%を占めている<sup>2)</sup>。オボアルブミンは加熱によりタンパク質が変性し、アレルゲン性が低下かつ分解されやすくなることが分かっている<sup>3)</sup>。一方で、オボムコイドは熱安定性があり、アレルゲン活性が失われない<sup>4)</sup>。以上のように、鶏卵アレルギーは多くの人に、多大な影響を与えており、鶏卵のアレルゲン性の低減化は重要かつ喫緊な課題である。それに関する研究は行われているものの、現在、鶏卵アレルギーを避ける主な方法は除去食療法である<sup>5)</sup>。しかし、これは患者本人や家族等の周囲への負担が大きい。本研究では、鶏卵アレルギーの新たな低アレルゲン化の方法を開発することを目指した。我々は、以前から食品加工時に廃棄される栗の皮(chestnut inner skin, CIS)<sup>6)</sup>や、柿栽培時の摘果工程や規格外品として廃棄される柿の幼果(young persimmon fruit, YPF)<sup>7)</sup>、ヤマモモ葉(bayberry leaf, BBL)<sup>8)</sup>に関する研究を行ってきた。その中で、これらには多量のタンニンが含まれていることを確認している。タンニンはタンパク質との結合性が高く<sup>9)</sup>、抗酸化作用が高いことで知られている。これまでの研究において、我々はタンニンが有するタンパク質の結合作用を活用して、小麦にタンニンを添加することで、小麦加工品のアレルゲン性を低下できる技術を開発した(特願2022-129816)。本研究では、CIS、YPF、BBLに含まれるタンニンの性質を利用して、卵白の低アレルゲン化に関する新しい方法を見いだすこととした。

## ■ 方 法

### 1)卵白ゲルの原材料

卵は乾燥卵白Wタイプ(キューピータマゴ株式会社製、52870)を使用した。購入したものを100gずつに小分けにし、試料調製まで冷凍庫(-25°C)で保管した。タンニンエキス製造には、栗(*Castanea crenata*)の渋皮、柿(*Diospyros kaki*)の幼果、ヤマモモ(*Morella rubra*)の葉を用いた。これらの素材を乾燥後粉末にて熱水抽出し、タンニンエキスとした。

### 2)卵白ゲル製造方法

卵白粉末を蒸留水に混和、溶解後15分間静置し、卵白液をステンレスシャーレ(40×15mm)に、気泡が入らないよう注意しながらピペットで15gずつ分注した。次にスチームオーブンレンジ(パナソニック株式会社、NE-BS1600-K)に入れ、90°C・15分間の加熱処理後、余熱3分間でゲル化させた。これを冷蔵庫で1時間冷却して分析試料とした。この方法によって得られた卵白ゲルをContorol区(タンニンエキス添加無し)とした。また、タンニンエキス添加区については、乾燥卵白粉末に加える蒸留水89gのうち、10gもしくは50g分をタンニンエキスに置換した処理区を設定した。

### 3)オボアルブミン(OVA)含量

本研究では、単一抗原系のFaspek ELISA kit II卵(卵白アルブミン)(森永生物科学研究所、日本)を用いた。分析方法はキットの取扱説明書に従った

### 4)外観および色調

外観はデジタルカメラ(リコー社、WG-40W)にて撮影した。原料の卵液と卵白ゲルの色調を分光測

色計(コニカミノルタ社、CR-13)にて測定した。ゲル表面を直接測定した。1処理区につき、10回ずつ計測した。

### 5) 総ポリフェノール量測定(TPC)

Folin-Ciocalteu 法<sup>10)</sup>を改良した Chung ら (2015) の方法<sup>11)</sup>にて測定した。

### 6) かたさ応力

物性測定は、クリープメーター(株式会社山電、RE2-33005B)を用いて行った。20±1°Cの条件下で、1処理区につき5個体の卵白ゲルの測定を行った。測定条件は、L40のアクリル樹脂製の延長プランジャーにNo.56(直径20mm)のアクリル樹脂製のプランジャーを装着し、ロードセル20N、SPEED10mm/sec、歪率66.67%に設定し、ステンレスシャーレのまま測定した。各試料のかたさ応力をテクスチャー解析ソフト(YAMADEN社製 Ver.2.2)を用いて求めた。

## ■ 結 果

### 1) OVA 含量

卵白ゲルの測定結果をFig.1に示す。卵白ゲルにおいては、Control区と比較して、YPF10g置換区を除く、全てのタンニンエキス置換区において有意に値が減少し、タンニンエキスの置換量が多いほど値の減少が大きかった( $P<0.05$ )。また、本研究で用いた3種のタンニンエキス(CIS, YPF, BBL)を比較すると、CISとBBLにおいて効果が高いことが分かった。Control区の値127762.0 $\mu\text{g/g}$ に対してCIS50g置換区は47554.0 $\mu\text{g/g}$ (62.8%減)、BBL50g置換区は51778.7 $\mu\text{g/g}$ (59.5%減)であった。一方、YPFの10g置換区(131052.0 $\mu\text{g/g}$ )はControl(127762.0 $\mu\text{g/g}$ )と有意差はなく、YPE50g置換(80477.3 $\mu\text{g/g}$ )はCIS10g(92835 $\mu\text{g/g}$ )とBBL10g(79974.7 $\mu\text{g/g}$ )置換区と同等だった。

### 2) TPC

Fig.2はTPCの値を示している。TPCはタンニンエキス置換区全てにおいてControl区と比較して値が有意に高かった( $P<0.05$ )。特に、CIS10g置換区ではControl区(93.1mg/g)の4.7倍(437.3mg/g)、50g置換区では8.2倍(760.8mg/g)の値を示した。タンニンエキスを添加することで、アレルゲン低減効果のみならず、TPCの高い卵白ゲルが得られることが明らかとなった。

### 3) 外観と色調

Fig.3のデジタルカメラ画像に示すように、YPF、CISを添加した場合、Control区と比較して赤みが濃くなり、置換量が増加すると顕著になった。特にCISにおいてその傾向は強く現れた。BBLはYPF、CISと比較すると、エキス置換による外観の変化は小さかった。Fig.4に色調の結果を示す。L\*値は明度を示しており、a\*値は緑から赤にかけて、b\*値は青から黄にかけての色味の強さを表す。CISエキスのL\*, a\*, b\*値はそれぞれ39.3±0.0, 14.7±0.0, 12.0±0.1, YPFエキスは49.5±0.1, 12.2±0.1, 8.9±0.1, BBLエキスは36.6±0.1, 12.9±0.2, 14.0±0.2であった(Table.1)。タンニンエキス添加によるL\*, a\*, b\*値への影響を比較すると、タンニンエキスの影響が大きかったのは、a\*ならびにb\*値であった。

### 4) かたさ応力

食品のかたさを示すかたさ応力は、CIS10g置換区を除き、全てのタンニンエキス置換区でControl区よりも有意に高い値となった( $P<0.05$ )。Control区が4807±135Paであるのに対し、CIS50g置換区が21161±372Pa(Control区の4.4倍)、YPF50g置換区は10059±90Pa(Control区の2.1倍)、BBL50g置換区は25077±278Pa(Control区の5.2倍)であった(Fig.5)。

## ■ 考 察

本研究で用いたFaspek ELISA kit II(森永生物科学研究所)は単一のオボアルブミン抗原を対象とする分析キットである。本実験で使用したタンニンエキスにはいずれもオボアルブミン低減効果が認められ、特にCISとBBLの効果が高かった。タンニンはタンパク質と強固に結合する性質を有することから、タンニンエキスを添加することで卵白の主要なアレルゲンであるOVAが減少したと考えられた。CISには抗酸化作用、抗菌作用が<sup>6)</sup>、YPFポリフェノールにも胆汁酸結合活性とマウスにおける血糖降下作用が<sup>12,13,14)</sup>、BBLには抗酸化作用<sup>15)</sup>と抗アレルギー作用<sup>16)</sup>があることがわかっている。タンニンの添加により、これらの健康機能性を付与した卵白ゲルの調製が可能であることが示唆された。また、色調については、原料であるCISエキスのa\*値が高かったことから、CIS置換区の卵白ゲルで赤みが強くなったのはCISエキスに起因するものと思われた。外観への影響が少ないのでBBLであることが明らかとなった。さらに、Tsurunagaら<sup>17)</sup>は、豆乳に渋柿あるいは渋抜き柿を加えてゼリー状洋菓子を作製し、渋柿ゼリーは脱渋柿ゼリーよりも破断応力等が高く、これはタンニンと豆乳

タンパク質の複合体形成によるのだと推察した<sup>17)</sup>。本実験でタンニンエキスの添加により卵白のかたさ応力が向上したのは、タンニン-タンパク質複合体形成による影響が考えられた。

## ■ 要 約

本実験で用いた CIS、YPE、BBL の熱水抽出液(タンニンエキス)はいずれも卵白の主要なアレルゲンであるオボアルブミン量を低減させる効果があることが明らかとなった。また、これらのタンニンエキスを添加することでポリフェノール含量の高いゲルとなり、かたさ応力も増すことがわかった。卵白の低アレルゲン化ならびにかたさ応力の増加は、タンニンエキスと卵白タンパク質の複合体形成によるものだと考えられた。

## ■ 文 献

- 1) Ebisawa M., Ito K., Fujisawa T., and Allergology J.S.o.(2017). Japanese guidelines for food allergy 2017. *Allergology International*, 66, 248-264.
- 2) Mine Y. and Yang M.(2008). Recent advances in the understanding of egg allergens: basic, industrial, and clinical perspectives. *J Agr Food Chem*, 56, 4874-4900.
- 3) Golias J., Schwarzer M., Wallner M., Kverka M., Kozakova H., Srutkova D., Klimesova K., Sotkovsky P., Palova-Jelinkova L., and Ferreira F.(2012). Heat-induced structural changes affect OVA-antigen processing and reduce allergic response in mouse model of food allergy. *PloS one*, 7, e37156.
- 4) GU J., MATSUDA T., and NAKAMURA R.(1986). Antigenicity of ovomucoid remaining in boiled shell eggs. *Journal of Food Science*, 51, 1448-1450.
- 5) Burks A.W., Tang M., Sicherer S., Muraro A., Eigenmann P.A., Ebisawa M., Fiocchi A., Chiang W., Beyer K., and Wood R.(2012). ICON : food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129, 906-920.
- 6) Tsurunaga Y. and Takahashi T.(2021). Evaluation of the antioxidant activity, deodorizing effect, and antibacterial activity of 'Porotan' chestnut by-products and establishment of a compound paper. *Foods*, 10, 1141.
- 7) Tsurunaga Y., Takahashi T., Kanou M., Onda M., and Ishigaki M.(2022). Removal of astringency from persimmon paste via polysaccharide treatment. *Heliyon*, 8, e10716.
- 8) 鶴永陽子, 松崎一, 松本敏一, 富川康之, 板村裕之. (2006). 製造工程がヤマモモ葉茶のアスコルビン酸含量, ポリフェノール含量およびラジカル捕捉活性に与える影響. 日本食品保藏科学会誌, 32, 221-227.
- 9) Tsurunaga Y. and Onda M.(2022). Effects of soy milk and condensed milk on astringency removal, astringency recurrence, appearance, and syneresis in persimmon paste. *Acta Horticulturae*, 365-374.
- 10) Swain T. and Hillis W.(1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10, 63-68.
- 11) Chung H.S., Kim H.S., Lee Y.G., and Seong J.H.(2015). Effect of deastringency treatment of intact persimmon fruits on the quality of fresh-cut persimmons. *Food Chemistry*, 166, 192-197.
- 12) Matsumoto K., Watanabe Y., Ohya M.-a., and Yokoyama S.-i.(2006). Young persimmon fruits prevent the rise in plasma lipids in a diet-induced murine obesity model. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29, 2532-2535.
- 13) Matsumoto K., Yokoyama S.i., and Gato N.(2010). Bile acid-binding activity of young persimmon (*Diospyros kaki*) fruit and its hypolipidemic effect in mice. *Phytotherapy Research : An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 24, 205-210.
- 14) Matsumoto K., Kadowaki A., Ozaki N., Takenaka M., Ono H., Yokoyama S.i., and Gato N.(2011). Bile acid-binding ability of kaki-tannin from young fruits of persimmon (*Diospyros kaki*) in vitro and in vivo. *Phytotherapy Research*, 25, 624-628.
- 15) Tsurunaga Y., Matsuzaki H., Matsumoto T., Tomikawa Y., and Itamura H.(2006). Effects of manufacturing process on ascorbic acid contents, polyphenol content and radical scavenging activities of bayberry leaf tea. *Food Preservation Science*, 32, 221-227.
- 16) Shimosaki S., Tsurunaga Y., Itamura H., and Nakamura M.(2011). Anti-allergic effect of the flavonoid myricitrin from *Myrica rubra* leaf extracts in vitro and in vivo. *Natural product research*, 25, 374-380.

17) Tsurunaga Y. (2016). Formation of a protein-tannin complex to remove astringency during processing of Western-style persimmon jelly. *VI International Symposium on Persimmon*, 2016, 177-182.

**Table1.TPC value, pH, Brix and color tone of CIS, YPF, BBL solution and egg white solution**

	TPC (mg CTN eq/100 mL)	L <sup>*</sup>	a <sup>*</sup>	b <sup>*</sup>	pH	Brix
CIS	2698.0±10.3	39.3±0.0	14.7±0.0	11.6±0.1	4.1±0.0	8.6±0.0
YPF	1184.7±6.5	49.5±0.1	12.2±0.1	8.9±0.1	4.8±0.0	10.1±0.0
BBL	1300.3±18.7	36.6±0.1	12.9±0.2	14.5±0.2	4.0±0.0	4.7±0.0
Egg white solution	127.9±6.1	41.6±0.1	0.1±0.1	8.4±0.1	7.2±0.0	7.1±0.0

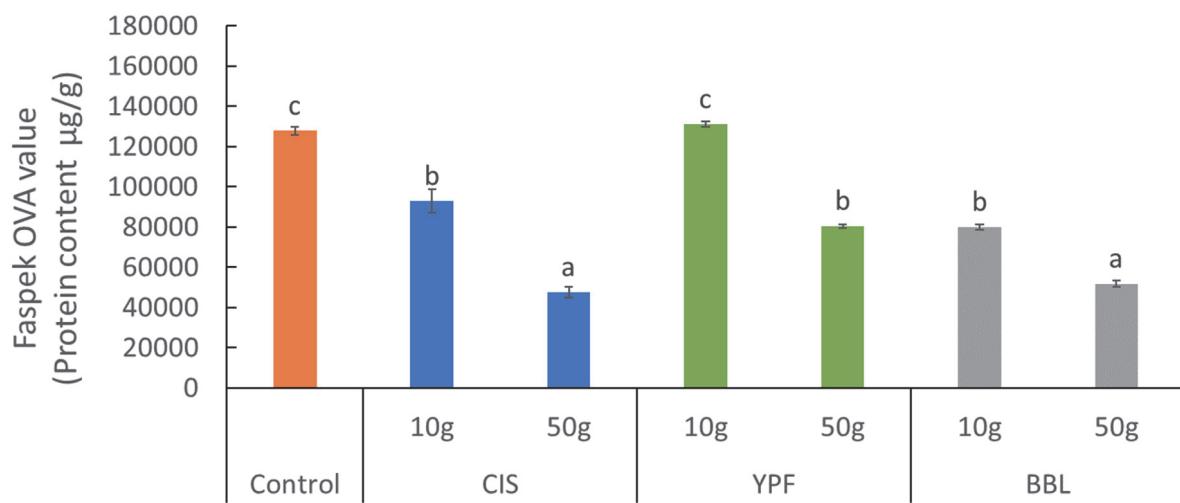


Fig.1 Effect of tannin extract addition on Faspek OVA (ovoalbumin) value

All results were obtained by Tukey's test for multiple comparisons. Different letters indicate significant differences at  $P<0.05$ . Data are expressed as mean $\pm$ SE.

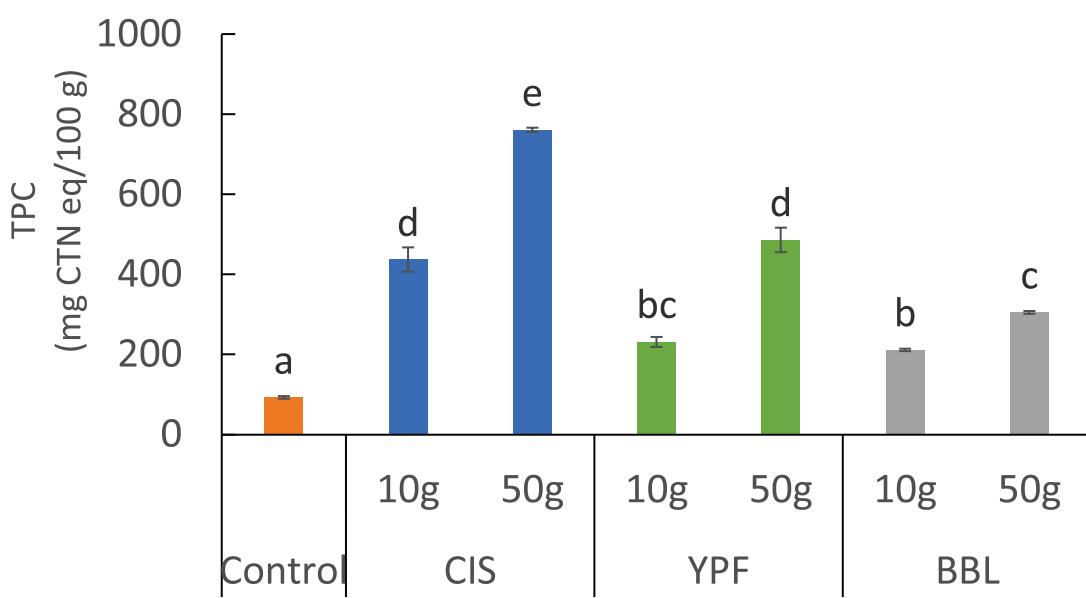


Fig.2 Effect of tannin extract addition on TPC (total polyphenol content)

All results were obtained by Tukey's test for multiple comparisons. Different letters indicate significant differences at  $P<0.05$ . Data are expressed as mean $\pm$ SE

Control	CIS		YPF		BBL	
	10g	50g	10g	50g	10g	50g
<b>Non-heated</b>						
<b>90 °C, 15 min</b>						

Fig.3 Effect of tannin extract addition on appearance

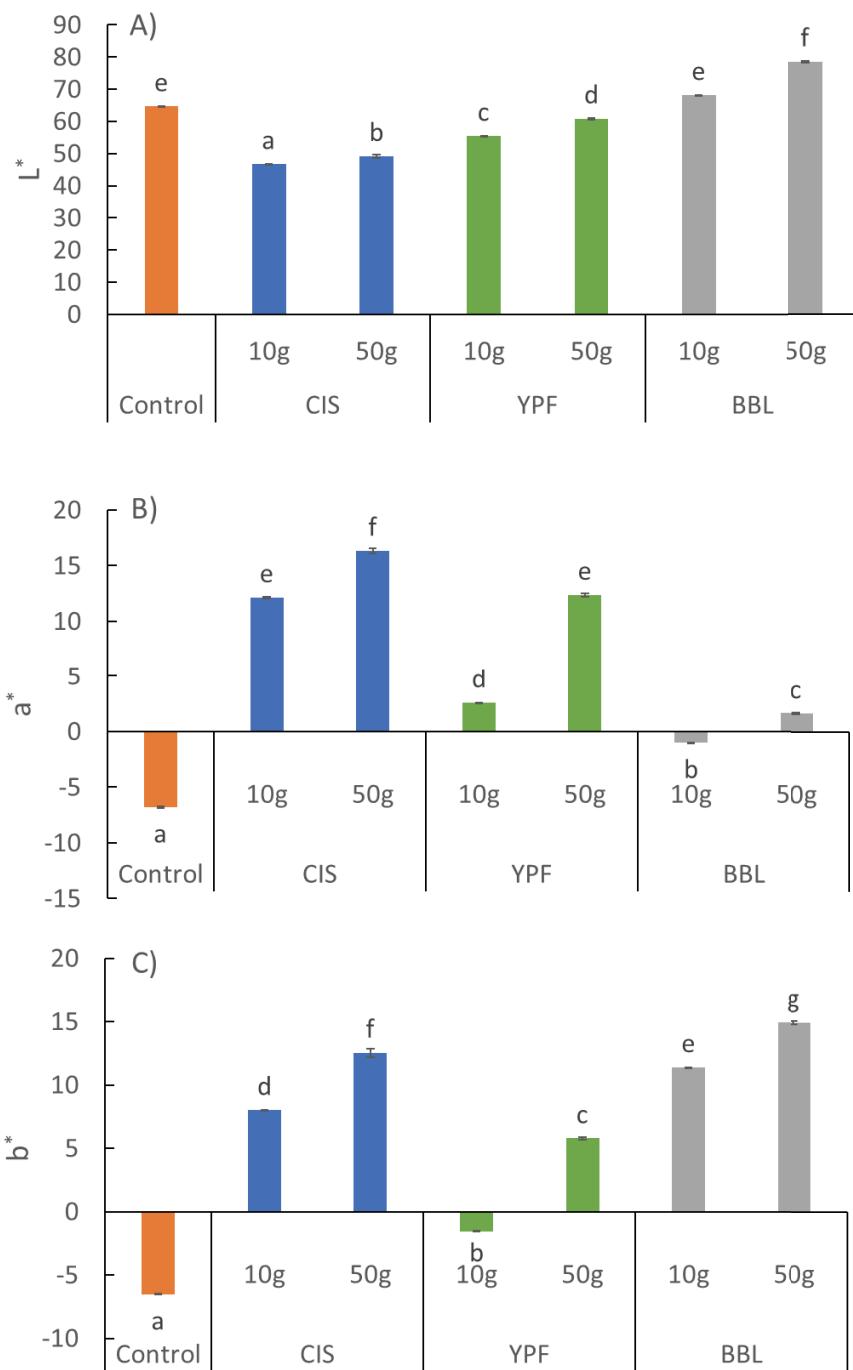


Fig.4 Effect of tannin extract addition on color tone

All results were obtained by Tukey's test for multiple comparisons. Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ . Data are expressed as mean  $\pm$  SE.

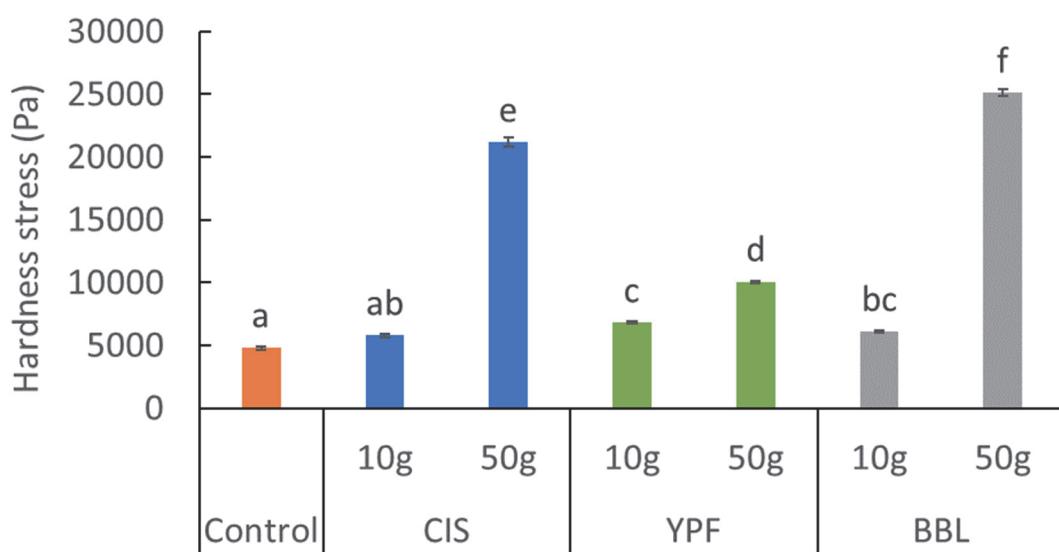


Fig.5 Effect of tannin extract addition on hardness stress

All results were obtained by Tukey's test for multiple comparisons. Different letters indicate significant differences at  $P<0.05$ . Data are expressed as mean  $\pm$  SE.