

酵素処理卵黄と卵白による O/W 型エマルジョンゲルの物性制御

東京電機大学理工学部生命科学系・教授 半田 明弘

■ 緒 言

マヨネーズは卵黄を乳化剤とした粘稠でクリーミーな水中油滴型の乳化物である。一般的なマヨネーズの食用油含量は 70% 程度であるが、その物性発現には油滴間相互作用と水相タンパク質のネットワーク構造が深く関わっている。昨今、産業界では食用油や鶏卵などの原料コスト高騰のため、食用油と卵黄の配合量を減らして従来品と同等の物性を有するマヨネーズを製造する技術開発が求められている。同時に消費者からのクリーンラベルへの要請も高まり、増粘多糖類を使用せずに、最小限の原材料を使用することも求められている。

それを実現するための一つの切り口は原材料の工夫である。食用油卵黄にホスフォリパーゼ A2 処理を施すと、卵黄リン脂質が加水分解されてリゾリン脂質と脂肪酸が生成される(以降 P 卵黄と呼ぶ)。その結果、卵黄の乳化力は著しく向上することが知られている¹⁾。一方、経験的に卵白をマヨネーズに配合すると弾性が付与されゲル様の物性を呈することが知られている。卵白タンパク質は、リポタンパク質として存在している卵黄タンパク質よりも酸変性しやすく、それにより高次構造が緩み内部に埋もれた疎水領域が分子表面に露出し、タンパク質分子同士の疎水結合が促進されると考えられる。それによりマヨネーズの油滴間相互作用が促進され、また、水相ネットワークが形成されると推察される。また、卵白タンパク質分子の表面に露出した疎水領域に、P 卵黄に含まれる脂肪酸が吸着し、タンパク質分子表面に負の電荷が付与され²⁾、その結果均一で緻密なネットワーク構造を形成しマヨネーズの物性値を向上させることが期待される。

二つ目の切り口は卵白タンパク質変性のタイミングである。油滴を形成する乳化膜の表面には界面吸着力が比較的弱い卵白タンパク質が配向していると考えられるが、乳化後に酸変性をさせた方が卵白タンパク質を介在した油滴間疎水性相互作用が強められる可能性が考えられる。

以上を鑑みて、本研究では、P 卵黄、卵白、酢酸、食塩、食用油を原料とし、それらの混合順序を変えてマヨネーズ(エマルジョンゲル)を調製し、最大の粘度が得られる方法を特定し、その機構を解明することを目的とした。

■ 方 法

・原材料

市販の鶏卵より純卵黄を分離して原料とした。食用油は市販の菜種油を、酢酸は食品添加物氷酢酸を使用した。卵白は未殺菌乾燥卵白を 7 倍重量の水で水戻ししたものを使用した。添加時のタンパク質の局部変性を防ぐために酢酸は水で希釈して使用した。ホスフォリパーゼ A2 は Biocatalysts 社製 Lipomod 699L を使用した。

・P 卵黄の調製

純卵黄 100g に水 50g を混合し、ホスフォリパーゼ A2 を 100 μ L 添加し、40 $^{\circ}$ C にて反応させ 15 分ごとに pH を測定した。

・配合と試作方法

市販のマヨネーズと同等の粘度にすべく予備実験を行い表 1 の配合に決定した。乳化は家庭用ミキサー Vitamix E310(Vita-Mix Corp.)を用いて、粗乳化(食用油投入)と精乳化の二段階乳化を行った。粗乳化は目盛り 2 にて 3 分間行い、精乳化は目盛り 3 にて 1 分間行った。

・原料混合順序の検討

卵黄タンパク質および卵白タンパク質の酸変性に及ぼす食塩存在と酢酸混合タイミングの影響を検討するために、以下の 4 つの試作方法を実施した。

方法①は P 卵黄と卵白に食塩を混合してから食酢を混合するのに対し、方法②では P 卵黄と卵白に食酢を混合してから食塩を混合した。

方法①：P 卵黄→卵白→食塩→酢酸→食用油(粗乳化、3 分)→精乳化(1 分)

方法②：P 卵黄→卵白→酢酸→食塩→食用油(粗乳化、3 分)→精乳化(1 分)

方法③と④は粗乳化してから酢酸を混合した。③では粗乳化の前に食塩を、④では乳化の後に食塩

を混合した。

方法③：P 卵黄→卵白→食塩→食用油(粗乳化、3 分)→酢酸→精乳化(1 分)

方法④：P 卵黄→卵白→食用油(粗乳化、3 分)→食塩+酢酸→精乳化(1 分)

・マヨネーズの評価

調製されたマヨネーズの物性評価として、粘度(東機産業 BH 型粘度計)、硬さと付着力(山電クリープメータ RE2-3305C)、動的粘弾性(Anton Paar レオメーター MCR102)を測定した。また、油滴の凝集度を評価するために SDS 存在下と非存在下で粒度分布測定を行った(島津製作所レーザー回折式粒子径分布測定装置 SALD2300)。またマヨネーズの油滴乳化膜と水相に存在するタンパク質の種類を特定するため、マヨネーズに等重量の水相部溶液を加え、ボルテックスミキサーで充分攪拌後、遠心分離によりクリーム相と水相に分画して非還元 SDS-PAGE 分析を行った。

■ 結 果

・P 卵黄の調製

反応時間とともに pH は低下し 45 分以降は 5.7 で安定したため、反応時間は 60 分で固定した。薄層クロマトグラフィーによりほぼすべてのリン脂質がリゾ化されたことを確認した。

・マヨネーズの評価

粘度、硬さ、付着力ともに方法②<方法①<方法③<方法④の順となり、それぞれ方法③④は方法①②の倍以上であった(表 2)。動的粘弾性測定の結果より、方法①②③④とも微小変形領域では G'' (損失弾性率)< G' (貯蔵弾性率)となり弾性成分が支配的であった。また支配的な領域が弾性成分から粘性成分に転ずるひずみ率は、方法③④の方が方法①②と比べが高かった(図 1)。

乳化力の指標である SDS 存在下での平均粒子径は方法④<方法①<方法③<方法②の順であった(表 3、図 2)。油滴凝集の指標である SDS 存在下と非存在下の平均粒子径の差は、方法③④が方法①②と比較して著しく大きく、凝集度が高いことが確認された(表 3)。

非還元 SDS-PAGE の結果から、クリーム相には卵黄タンパク質と卵白タンパク質が確認され、水相の主なタンパク質は卵白タンパク質であるオボトランスフェリン、オボアルブミン、リゾチームであった。クリーム相および水相では、方法①②③④の間でタンパク質組成の大きな差は認められなかった(図 3)。

■ 考 察

本研究では、最小限の種類の原料で最も高い粘度発現が期待される配合、すなわち P 卵黄と卵白を用いて、原料の混合順序を変えた場合のマヨネーズの物性の違いとその機構を検討した。最も特徴的であったことは、酢酸の混合タイミングを粗乳化の前にするか後にするかにより、劇的にマヨネーズの物性が変化したことである。方法③④は方法①②と比較して、粘度、硬さ、付着性、 G' (貯蔵弾性率)、 G'' (損失弾性率)、すべての物性値が高かった。実際に触った感じも、ゲル様の硬く弾力性が感じられた。

粒度分布測定の結果より、方法①②は油滴凝集が認められなかったが、方法③④では認められ凝集体の平均粒径は油滴単体の 2 倍近くになった。また、非還元 SDS-PAGE の結果より水相には主に卵白タンパク質、クリーム相すなわち油滴の乳化膜には卵黄と卵白のタンパク質が存在していることが示された。油滴を形成する乳化膜の外側には界面吸着力が比較的弱い卵白タンパク質が配向していると思われるが、酢酸を粗乳化の後に混合すると、卵白タンパク質の疎水領域が分子表面に露出して卵白タンパク質を介在した油滴間疎水性相互作用が強められる可能性が考えられる。一方、粗乳化前に酢酸を混合すると、卵白タンパク質は変性して疎水領域は分子表面に露出するものの、粗乳化の際に油滴界面に吸着している卵黄タンパク質と疎水性相互作用をするため、油滴間の疎水的相互作用は弱いと考えられた。

平均粒径は方法①<方法②であったため、食塩が卵黄タンパク質の酸変性を抑えている可能性が示唆された。さらに方法④<方法③の結果より、卵黄グラニュールが解離していない方が卵黄の乳化力が高いことが示唆された。卵黄グラニュールは低密度リポタンパク質(LDL)、高密度リポタンパク質(HDL)、ホスビチンから構成されている顆粒であるが、pH と食塩濃度が高いほどそれらが解離することが知られている³⁾。方法③ではグラニュールがほとんど解離していない状態で、方法④では多くのグラニュールが解離している状態で粗乳化がなされたことになるが、グラニュールのサイズを考慮すると、グラニュールそのものが乳化に関与したのではなく、解離した HDL が LDL による乳化を阻害したと考えられた。

本研究では、方法④すなわち P 卵黄と卵白を混合して粗乳化をした後に食塩と酢酸を混合する方法が最も物性値が高くなり、粗乳化の前に酢酸を混合する場合よりもすべての物性値は 2 倍以上となった。通常マヨネーズと同等の物性を維持しながら、この方法でどこまで P 卵黄や食用油の配合量を減らせるのかは今後の検討課題である。また、本研究ではタンパク質分子間相互作用に焦点を当てたが、より詳細な物性発現機構を考察するためにはエマルションゲル全体の微細構造観察も必要と思われる。

■ 要 約

P 卵黄と卵白を配合したマヨネーズは、原料の混合順序でその物性が大きく異なることが明らかとなった。すなわち粗乳化後に酢酸を混合すると油滴凝集が促進させ、マヨネーズの粘度、硬さ、付着性は著しく高くなった。油滴乳化膜や水相ネットワークを構成する卵白タンパク質の酸変性により、タンパク質分子間の疎水的相互作用が強められたことが主原因であると推察された。

■ 文 献

- 1) K. Daimer and U. Kulozik, (2009) Oil-in-water emulsion properties of egg yolk : Effect of enzymatic modification by phospholipase A2. *Food Hydrocoll.*, 23, 1366-1373.
- 2) A. Handa, *et al.*, (1999) Physical and molecular properties of egg-white lipid films. *J. Food Sci.*, 64, 860-864.
- 3) M. Anton. (2013) Egg yolk : structures, functionalities and processes. *J. Sci. Food Agric.*, 93, 2871-2880.
- 4) A. Wang, *et al.*, (2020) Fabrication and characterization of emulsion stabilized by table egg-yolk granules at different pH levels. *J. Sci. Food Agric.* 100, 1470-1478.

表 1 配合割合

原料	(%)
純卵黄	10.00
水（純卵黄希積分）	5.00
乾燥卵白	1.25
水（乾燥卵白水戻し分）	8.75
食塩	1.60
酢酸	0.70
水（酢酸希積分）	2.70
菜種油	70.00
合計	100.00

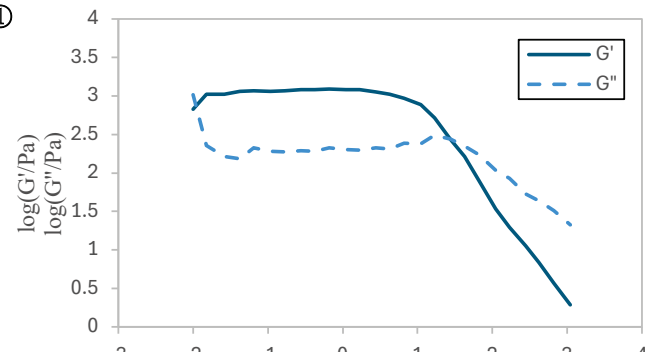
表 2 マヨネーズの粘度・硬さ・付着力

	方法①	方法②	方法③	方法④
粘度 (Pa・s)	35.2	26.7	66.6	75.5
硬さ (N)	0.20	0.11	0.40	0.44
付着力 (N)	0.12	0.07	0.25	0.26

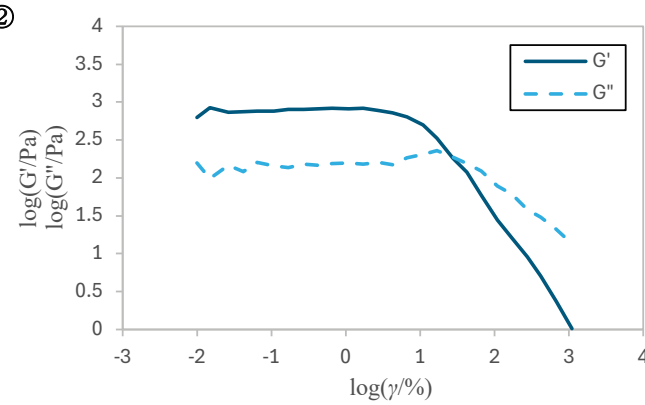
表 3 マヨネーズの平均粒子径

	方法①	方法②	方法③	方法④
SDS 存在下 (μm)	3.73	4.45	4.34	3.06
水分散 (μm)	3.93	4.74	8.33	6.66
差 (μm)	0.20	0.29	3.99	3.60

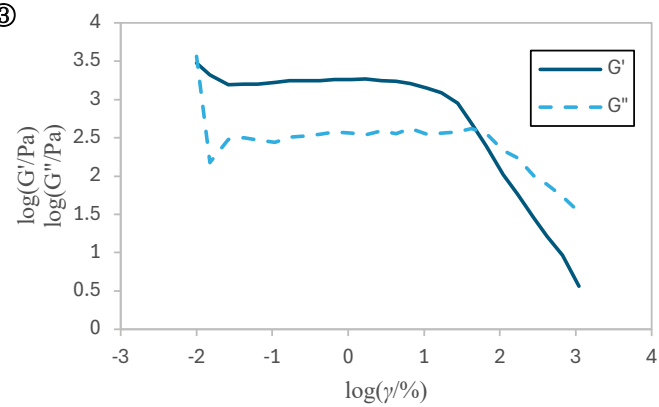
方法①



方法②



方法③



方法④

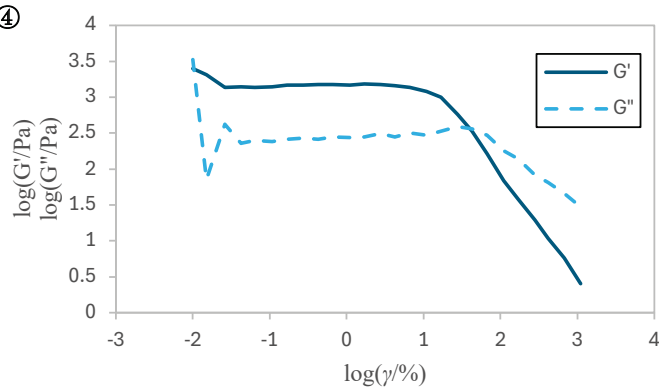


図1 マヨネーズの動的粘弾性

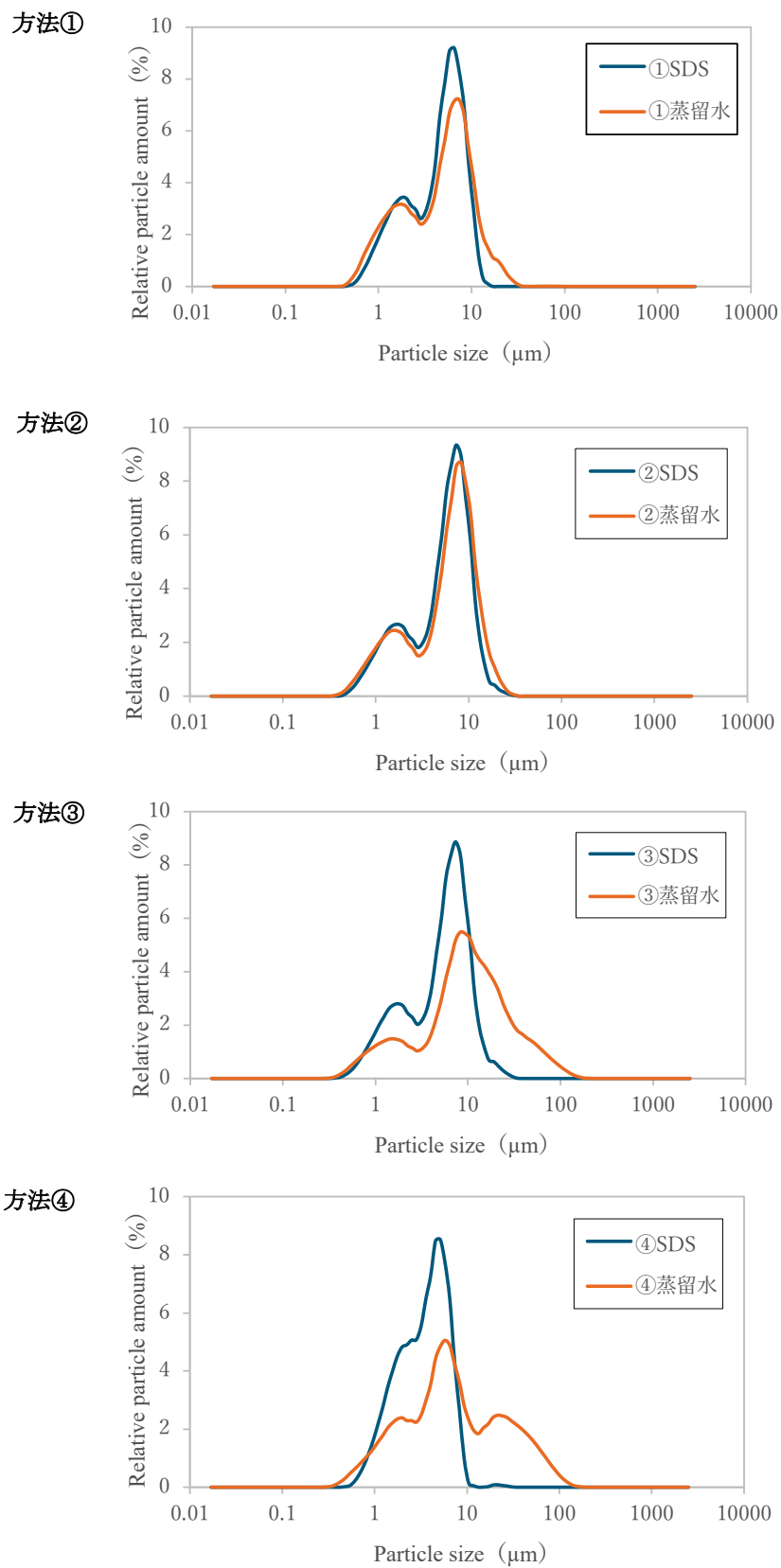


図2 マヨネーズの粒度分布

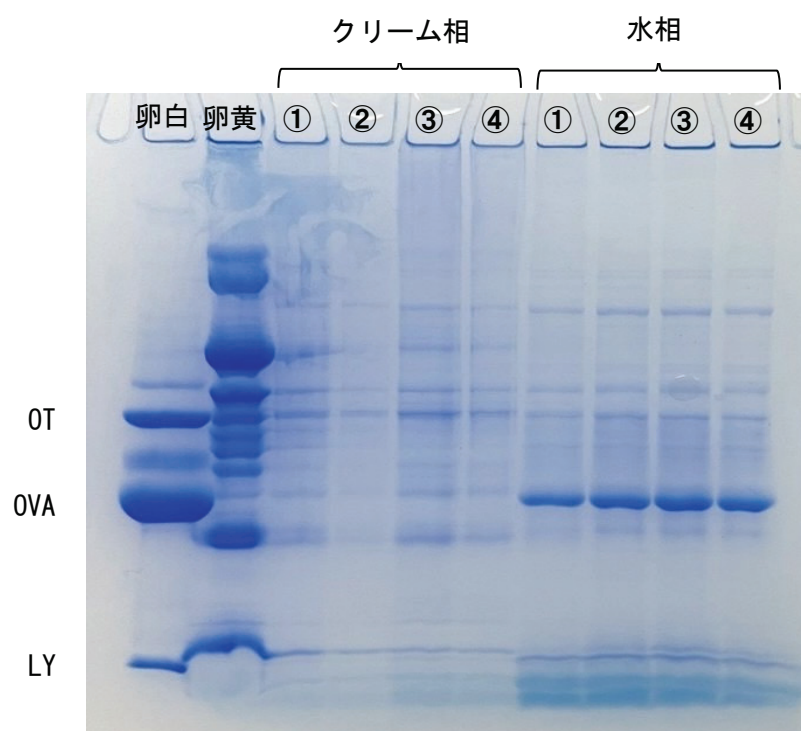


図3 マヨネーズの非還元 SDS-PAGE
 OT : ovotransferrin、OVA : ovalbumin、LY : lysozyme