

平成 30 年度 プロジェクト研究費研究実績報告書

平成 31 年 3 月 31 日

代表者 栗崎 純一

研究課題名	各種鳥卵主要卵白タンパク質の加熱安定性に関する研究
研究期間	平成 30 年 6 月 1 日 ~ 平成 31 年 3 月 31 日
共同研究者	梶野涼子
1. 今年度の研究概要	
<p>鶏卵は食生活に欠かせない食材で、その成分特性を活用して種々の食品が提供されており、成分の理化学的性質に関する報告も多い。近年、鶏卵以外の家禽卵も利用される機会が増えているが、鶏卵に比して知見ははるかに少ない。生物多様性・遺伝子資源の有効利用といった観点や、鶏卵に勝る特性を他の家禽卵が秘めている可能性も考慮すると、鶏卵以外の家禽卵に関する系統的な特性研究は、食品学的意義のみならず食品産業にとっても大きな意義をもつ。本研究は、従来進めてきた消化性研究とも密接に関連するため、殺菌等で実用的な意味でも重要な、主要成分タンパク質の加熱安定性に焦点を絞り、オボアルブミン OVA、オボトランスフェリン OVT およびオボムコイド OVM（合わせて卵白タンパク質の 80%）を対象とした。具体的には、ニワトリおよび 5 種の各鳥卵（ウズラ、ホロホロチョウ、シチメンチョウ、アヒル、ダチョウ）から、上記の三種タンパク質（合計 18 種類）を、塩析法、アルコール沈殿法、イオン交換クロマトグラフィー等を組合わせ高度に精製した。ついで、得られたタンパク質の基本的性質の一部を明らかにしたのち、加熱安定性を各種条件下で比較することとした。加熱環境条件として OVA では pH (2~9)、イオン強度 (0~1.0) を変化させた。加熱安定性試験方法は、微量試料で測定可能な PCR チューブ中での温度勾配溶液加熱、その後の濁度変化をマイクロプレート測定した。その他蛍光測定法も試みた。</p>	
2. 研究の成果	
<p>1. 分画・精製：6 種鳥卵 OVA は塩析法と陽および陰イオン交換クロマトグラフィーの組合わせた方法で従来通り高度に精製できた。OVT は、Ko & Ahn らのニワトリ OVT に適用したエタノール沈殿法を 5 種鳥卵 OVT にもそれぞれ最適化し、粗画分を得たのち陽および陰イオン交換クロマトグラフィーで精製タンパク質を得た。なお、卵中の OVT は金属イオンフリーとされているため、エタノール分画中に使用した塩化鉄の完全除去を目的として十分なキレート剤処理を行った。OVT アルコール沈殿残液のアルコール濃度をさらにあげて沈殿を回収、粗 OVM を得た。OVM の調製はニワトリでの従来法では煩雑な操作を必要とするが、本法により大量調製の見通しが立った。精製は未実施となった。</p> <p>2. 6 種鳥卵 OVT の基本的な性質：加熱安定性のような分子間の相互作用解析を目的とする場合には、溶質濃度が重要な因子となるため、濃度算出のための基本的分析（紫外吸光スペクトル分析、280 nm 吸光値測定、BCA 法による BSA 換算値決定、窒素分析）を行い、各鳥種の濃度換算係数を決定した。この間、結合糖鎖の存在が示唆され、今後糖分析の必要が生じた。</p> <p>3. 加熱安定性：OVA に関しては、従来結果の再現性を確認した。具体的には、どの鳥卵でも pH 2 および pH 7（ダチョウでは pH 6）以上では加熱凝集が起こらなかったが、その中間では加熱凝集が認められ、とくにウズラで約 10℃、ダチョウで約 20℃も他の鳥卵より高い加熱温度がタンパク質の凝集に必要とされた。イオン強度の影響はわずかであった。蛍光測定では加熱変性初期反応を把握できず、新たな蛍光試薬の導入が必要となった。OVA に比べて加熱感受性が高いと推測される OVT については、加熱温度範囲を限定化する予備試験で留まり、継続して試験を実施する。</p>	

3. 研究成果の公表実績・予定（年月日，方法）

予定：第 66 回日本食品科学工学会大会（2019 年 8 月 29-31 日：藤女子大学，口頭発表）

予定：Food Science and Technology Research に投稿