

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02926

研究課題名（和文）チーズ製造初期過程のナノ構造と物性

研究課題名（英文）Nanostructure and property of fresh cheese (curd)

研究代表者

大沼 正人 (Ohnuma, Masato)

北海道大学・工学研究院・教授

研究者番号：90354208

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：X線小角散乱法を中心とした手法により、ナチュラルチーズのナノ構造および物性におよぼすプロセス依存性について検討した。通常のゴーダチーズ製造法で製造したチーズを基準とし、ホモジナイズ処理を行い脂肪球を微細化した原料乳を使い、他のプロセスは全て同じに揃えて製造したナチュラルチーズと比較、ナノ構造と物性の差異を検討した。その結果、カゼインミセルの凝集構造に明瞭な差を観測した。具体的にはホモジナイズ処理したチーズの凝集構造がより細かいことがX線極小角散乱測定のプロファイルの差から明らかとなった。この微細構造の差により、ホモジナイズ有りチーズは柔らかい物性を示し、ナノ構造と物性のリンクを解明できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電子顕微鏡を用いたナノ構造観測では水を含んだ系の解析は難しい。このため、乳の構造についてはX線小角散乱(SAXS)法が用いられることが多い。一方、SAXS法の実験の多くが大型放射光施設を使用しているため、モデル系を使った実験が多く、生乳やそれを使った製品であるチーズのナノ構造の研究は少ない。本研究では、実験室系のSAXS装置を使うことで、チーズ製造現場と解析装置とを近接させ、実際のチーズ製造プロセスがどのようにナノ構造や食感にどのような影響を与えるかを初めて示すことができた。今後、原料乳の乳質を各成分の分散状態まで含めて解析を進めることで、チーズの製造性との相関を解明できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The relation between nanostructure, texture and mechanical properties are discussed with using several techniques including laboratory small-angle scattering. We compare those of regular Gouda cheese and the cheese made from homogenized milk. The cheese with homogenized process shows softer texture and mechanical properties. Nano-structures characterized by ultra small angle scattering shows finer network of casein micelles than those of regular cheese. Therefore, softer texture can be attributed to the finer casein network. Meanwhile, aggregated structure of colloidal calcium phosphate (CCP) also shows some difference between them. Almost all CCP in the cheese made from homogenized milk forms aggregated particles, while the Gouda type cheese includes both aggregated structure and original size CCP.

研究分野：ナノ構造解析

キーワード：食品科学 量子ビーム 微細組織解析

1. 研究開始当初の背景

チーズは乳製品の中でも歴史が古く、その根幹は共通するものの、世界中に様々な製造技術が存在している。例えば、チーズやヨーグルト製造時の凝乳プロセスにおける酸性度 (pH)、温度や酵素(レンネット)使用の有無などのプロセス条件により、風味や食感、さらには物性が大きく変化するが、その構造的起源はほとんど解明されていない。凝乳過程においては原乳中に含まれるカゼインミセルの凝集や解離とゲル形成が重要であるため、カゼインそのものに注目した研究がこれまでの中心であった。一方、カゼインがミセルを形成する鍵となっているコロイド状リン酸カルシウム(以下 CCP と表示)については凝乳過程、その後の熟成過程でも重要な役割を果たすと考えられてきたが、実証例はこれまで皆無である。この理由としては CCP の大きさが直径 5 nm 以下と小さく、直接観察では透過電子顕微鏡(TEM)が必要なレベルであるものの、液体である牛乳や水分を含む凝乳の TEM 観察は容易ではなく、その存在状態の解明は困難であった。

2. 研究の目的

そこで本研究ではナノ組織を非破壊的に観測でき、かつ長時間にわたるその場測定が可能な高エネルギーラボ X 線小角散乱(SAXS)法を用いて、原乳から凝乳まで 1 日程度のタイムスパンでの組織形成の過程、さらに凝乳後の圧搾処理をしたカード(curd)の数日間にわたる初期組織変化を連続的に観測することで、原乳からチーズ形成までのプロセスにおいて CCP が果たす役割を解明することを目的とした。図 1 に示した乳における主要な構成要素のうち、カゼインミセルおよびミセルが形成するネットワーク構造について高エネルギーラボ X 線超小角散乱装置(USAX)を中心とした散乱手法および実空間での観察を併用することで、チーズ形成の初期段階における構造およびそれに及ぼすプロセスの影響を検討した。

3. 研究の方法

食品構造研究においては、食品に内在する個体差と制御パラメータと観測結果との相関を明確に分離できるかが重要である。この課題を以下の 2 つの条件を満たすことで達成することを目指した。

(1) 原乳からチーズ作成までブラックボックスの無い良く制御された試料を用い、プロセス変化が引き起こす構造上の相違点とその結果得られる特性の差を明確にひもづける。

(2) その場連続測定のメリットを活用し、同一個体の定点観測もしくは同一バッチでの組織変化を検討する。

この課題に対して、チーズ製造、チーズの特性評価、チーズの散乱手法による解析、直接観

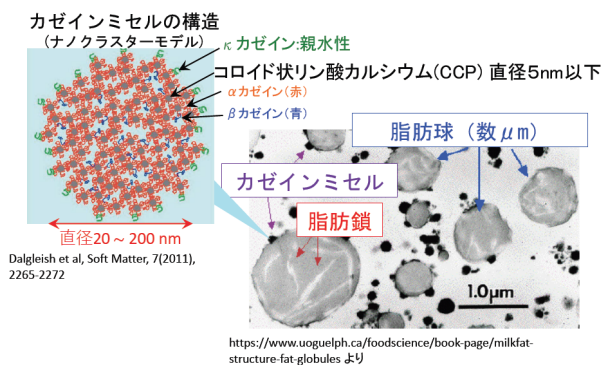


図 1 牛乳に含まれる主要な構成要素

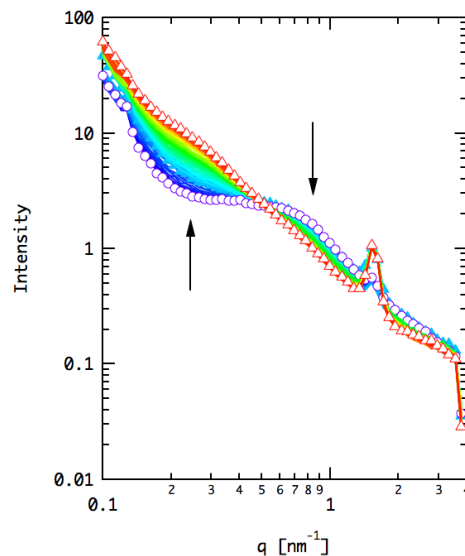


図 2 1 次圧搾カード (○)、圧搾カード、塩漬カードを経て熟成 4 日目 (△) に至るまでの SAXS プロファイル変化。完全に時間順に ↓ 部は強度減少し、↑ 部は強度増加する。

察による解析チームで連携して取り組むことで、チーズのナノ構造に関する新たな知見を得ることを目的とした。

4. 研究成果

(1) 同一試料の定点観察：図2にはチーズ製造から熟成4日目に至る過程でのその場 SAXS 測定の結果を示した。下向きの矢印は原料乳の状態からほぼ形状変化なく存在している直径3nm程度の筒状 CCP による散乱成分である。この散乱成分はカード製造直後の時間経過により連続的に減少する。反対に、時間経過につれて、上向き矢印で示した直径7nm程度の円盤状粒子が新たに出現する。散乱長密度差 $\Delta\rho$ が一定と仮定して、数密度を見積もった結果および数密度と平均粒子径の積から求めた総体積分率を図3に示した。総体積分率がほぼ一定であることから、新たに形成した円盤状粒子は CCP の凝集体であると推測できる。このように熟成過程における CCP 凝集構造の形成を定点観測で初めて観測できた。

(2) 同一バッチでの組織形成過程検討：このテーマではチーズ製造プロセスが熟成過程におけるチーズナノ構造に及ぼす影響を中心に検討した。この目的で殺菌処理のみを施して製造したチーズ（通常のゴーダチーズ）と原料乳にホモジナイズを施したのち、同じ製造プロセスで製造したチーズにおける物性とナノ組織について検討した結果。前者に比べて後者は柔らかくなることがわかった（図4）。これらの試料について USAXS 測定によりカゼインミセルのネットワーク構造を検討したところ、ホモジナイズを施した原料乳で作成したチーズのナノ構造は通常のゴーダチーズと比較して微細化していることが USAXS 測定の結果より明らかとなった。このネットワークの微細化が「チーズの柔らかさ」の起源と考えられる。さらに CCP の分散状態も異なっており、ホモありチーズにおいては凝集が促進し（図5上向き矢印）、初期サイズの CCP がほとんどなくなっている（図5下向き矢印）のに対し、通常のゴーダチーズでは初期サイズの CCP も残存している（図5）。凝集した CCP はミセル間のネットワークの強化に寄与していると考えられるものの、ミセル内部に当初存在していた初期サイズの CCP

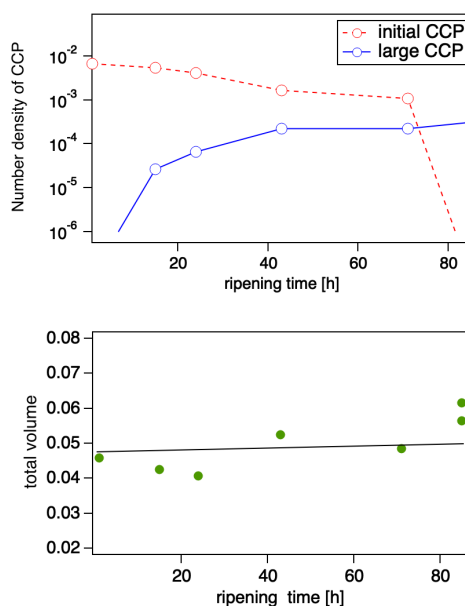


図3 初期状態から存在する球状 CCP と凝集した CCP の数密度（上図）と体積分率（下図）のの熟成時間依存性

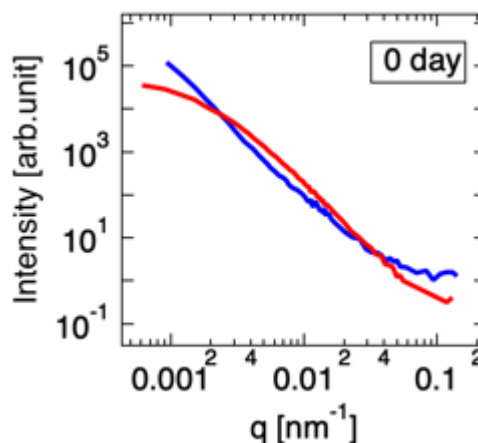


図4 通常のゴーダチーズ（青色）とホモありチーズ（赤色）の USAXS 測定結果。Guinier 近似による解析で、凝集体サイズはとホモありチーズで $1.5\mu\text{m}$ 程度であるのに対し、通常のゴーダでは $2\mu\text{m}$ 以上であった。

通常のゴーダチーズでは初期サイズの CCP も残存している（図5）。凝集した CCP はミセル間のネットワークの強化に寄与していると考えられるものの、ミセル内部に当初存在していた初期サイズの CCP

が減ってしまうため、ミセル構造を脆弱化する方向に働いていると現時点では想定している。

以上の通り、本研究でチーズ製造と組織解析、物性測定をリンクさせることで、特性-プロセス-構造の関係が解明方法を提案できた。この手法により、より多くの種類のチーズや乳質とチーズ品質との関係解明を今後さらに進めていく。

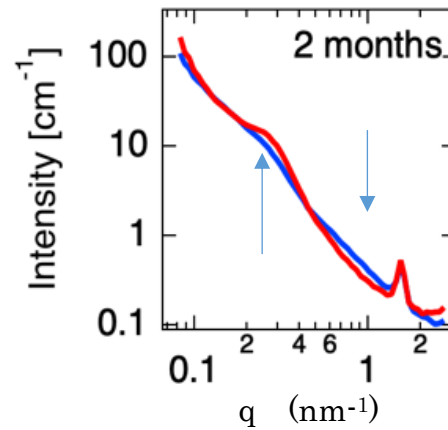


図5 通常のゴーダチーズ（青色）とホモありチーズ（赤色）の SAXS 測定結果。上向き矢印で示した CCP 凝集体による散乱がホモありチーズ（赤色）で強く、反対に下向き矢印で示した初期状態から存在する CCP に起因する散乱は通常のゴーダチーズ（青色）と比べてほぼ消失している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 I. Kaneda, S. Kaneko, T. Tochihara, M. Ohnuma	4. 巻 27
2. 論文標題 Effect of homogenization treatment of raw milk on the rheological properties of Gouda type cheese during the ripening period	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nihon Reoroji Gakkaishi,	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1678/rheology.51.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 那須田祐子、大沼正人、古坂道弘、原かおる、石田倫教	4. 巻 67
2. 論文標題 乳製品のナノ構造解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 186-192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岡部尚輝、大沼正人、金田勇、栃原孝志
2. 発表標題 原料乳へのホモジナイズ処理がゴーダチーズのナノ構造に与える影響
3. 学会等名 食品科学工学会年回
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masato Ohnuma, Shigeru Kuramoto, Isamu Kaneda
2. 発表標題 "Slow-Operando" measurements by laboratory small-angle X-ray scattering with high energy source
3. 学会等名 International Union of Crystallography 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大沼正人、那須田裕子、阿部勇魚、岡部尚輝、河野剛、山住弘
2. 発表標題 ラボSAXS装置によるコロイド状リン酸カルシウム(CCP)の時間変化の定点観察
3. 学会等名 日本農芸化学会 講演大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田勇、高橋亜紗夏、地原かれん、栃原孝志、岡部尚輝、大沼正人
2. 発表標題 原料乳のホモジナイズ処理による凝乳挙動の変化
3. 学会等名 レオロジー討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部勇魚、岡部尚輝、那須田裕子、大沼正人、河野剛、石原達也、山住弘
2. 発表標題 ラボSAXS/USAXS装置による凝乳過程における乳げるの微細構造変化の定点観察
3. 学会等名 日本食品科学工学会1
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masato Ohnuma, Y Nasuda, N. Okabe, I. Kaneda, T. Tochihara
2. 発表標題 Nanostructure of Gouda cheese studied by small-angle scattering
3. 学会等名 Neutron and Food 6
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部勇魚、岡部尚輝、那須田裕子、大沼正人、河野剛、石原達也、山住弘
2. 発表標題 ラボSAXS/USAXS装置による凝乳過程における乳ゲルの微細構造変化の定点観察
3. 学会等名 日本食品科学工学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上村 雄基, 阿部 勇魚, 福田 遥暉, 大沼 正人
2. 発表標題 USAXSによる乳中の カゼイン脱離挙動
3. 学会等名 日本農芸化学会 北海道 東北合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大沼 正人
2. 発表標題 乳製品のナノ構造解析 「酪農x(かける)工学」でもう一つのパラメータを評価
3. 学会等名 日本農芸化学会 東北支部シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 兼子ささら、栃原孝志、岩崎智仁、川端庸平、金田勇
2. 発表標題 「キウイ果汁の凝乳活性とモデルチーズの調製」
3. 学会等名 日本食品科学工学会 北海道支部会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 卓 (Nakamura Takashi) (30328968)	明治大学・農学部・専任教授 (32682)	
研究分担者	佐藤 眞直 (Sato Masugu) (30360837)	公益財団法人高輝度光科学研究センター・産業利用・産学連携推進室・主席研究員 (84502)	
研究分担者	金田 勇 (Kaneda Isamu) (30458129)	酪農学園大学・農食環境学群・教授 (30109)	
研究分担者	栃原 孝志 (Tochihara Takashi) (70458131)	酪農学園大学・農食環境学群・講師 (30109)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------