

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560035

研究課題名(和文) 構造単位相互作用解明による乳凝固カードの粘弾性制御に基づく機能性食品開発の新展開

研究課題名(英文) New Development of Dairy Produce based on Rheological Control of Cheese Curds

研究代表者

谷本 守正 (TANIMOTO, Morimasa)

山梨大学・総合研究部・教授

研究者番号：60621323

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：チーズやヨーグルトなど牛乳タンパク質・カゼインを凝固させてつくる乳製品はたくさんある。加工工程での色々な条件でカゼイン凝固状態(チーズカード)の力学物性(硬さ、柔らかさ、弾性、粘性)を把握することで、多様な乳製品の開発を可能にする。チーズカードのpHやチーズカードに含まれる乳脂肪の量・脂肪球の大きさをコントロールすることで、食感(硬さ・柔らかさ)、チーズカードの温度を上げたときの伸びる・伸びない現象を定量化した。pHが低くなると伸びやすく、脂肪の量や大きさも、特に室温以下での食感に影響を与えることを定量化した。また、新しい凝乳酵素を発見し、濃縮した脱脂乳が低温で凝固することも見出した。

研究成果の概要(英文)：This study elucidated the effect of temperature variation on the viscoelastic moduli of fully coagulated curds under different pH conditions. The results showed that Rennet curds treated at pH 4.8 exhibited drastic changes in the viscoelasticity at 43 °C, above which the degree of fluidity exceeded the degree of rigidity. The effect of fat content in cheese curds on their rheological properties was examined using dynamic shear measurements. Surplus fat addition to milk samples caused two distinct types of changes in the temperature dependence of the viscoelastic moduli of resultant curds. The first was a significant reduction in the moduli over a wide temperature range, which is attributed to the presence of liquefied fat globules within the milk protein network. The second was the excess contribution to the low-temperature moduli owing to the reinforcing effect of solidified fat globules.

研究分野：食品物性学

キーワード：チーズ 乳脂肪 カゼイン レオロジー 酵素 凝乳 濃縮 粘弾性

1. 研究開始当初の背景

東日本震災以降の復興・貿易自由化の波と相まって、第一次産業の強化と食料自給率の改善は我が国における喫緊の課題である。その解決策の一つが、酪農業の振興と乳資源の利活用である。人類は長い歴史の中で、酪農によって乳を得、様々な乳製品を獲得し、食料を確保してきた。牛を殺さず、持続的に動物性食品を獲得できることから、酪農は人類の叡智といえる。

我が国の酪農は明治以降から急速に発展し、戦後には乳製品の摂取が日本の食生活に不可欠なものとなった。しかし現在では、酪農家の減少とともに牛乳消費は低迷し、その高い栄養価値を十分発揮できずにいる。この状況を打破し、日本の酪農の発展と食糧確保を実現するには、新しい多様な乳製品・乳利活用製品の創造につながる革新的な乳物性制御技術の提案が強く望まれる。こうした動機のもと、研究代表者は直近の研究において、「乳タンパク質凝固ゲル」の物性を測定・解析し、牛乳酸性ゲルの粘弾性に関する独自性の高い成果を公表してきた。ナチュラルチーズやヨーグルトに代表される「乳タンパク質凝固ゲル」は、栄養価が高く、多様な風味を活かした様々な食品に加工できる。よってその凝固要因を分子レベルで理解することにより、食感・栄養・製造コストなどの総合的視点で優位な乳の利活用が期待できるが、こうした物性論的な研究アプローチは当該分野において先例がない。

2. 研究の目的

乳利活用製品の新たな需要創造による健康で豊かな食生活と酪農業の発展は、持続可能な農と食を実現する一助として極めて重要である。この需要創造を目的として本研究では、乳特有のタンパク質成分ユニット（カゼインミセル・サブミセル）が示す複合構造と凝集・解離機構を解明する。カゼイン物性の解明により、専門職人の主観・経験だけを拠り所としてきた旧来の乳製品開発を革新し、客観的・定量的な物性制御に基づく発展性の高い乳加工技術の処方箋を提供する。本研究で確立するカゼイン物性操作技術は、多様な相(液相・ゲル状態・固相)を示す凝固乳の食品物性(粘弾性特性、破断・流動性、耐熱性・溶融性)の自在操作を可能にするものである。その成果は、商品の多様化と生産性の向上をもたらすと同時に、限りある食資源の有効活用と強い農と食の実現に寄与するものと自負する。

3. 研究の方法

乳タンパク質構造単位（カゼインミセル、カゼインサブミセル）物性の相互作用にとって重要な因子である、酵素レンネット反応凝固過程、酸凝固過程、酸およびレンネット反応の複合系での種々ゲル状・固形状サンプルを用い、非線形（大変形）での力学挙動、線形領域（微小変形）での力学挙動を明らかにする。さらに、牛乳の主要成分である脂肪のカゼインゲル（チーズカード）中での分散状態の違いによる力学挙動を明らかにする。また、凝乳を引き起こす、レンネット以外の酵素の探索とその反応凝固過程、ゲル状サンプルの力学挙動を明らかにする。これらの各種条件での測定反応系での外的刺激（力、熱など）を付加した際の、ゲル状態挙動なども明らかにする。いわゆる、カゼインミセル崩壊過程の定量化と崩壊後の構成ユニットの確認、相互作用の定量化を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 異なる pH でのチーズカード（モツアレタイプ）の力学物性の温度依存性

八ヶ岳エリア（長野・山梨）から得た生乳を用い、低温殺菌後、乳酸菌スターターを投入し、レンネット反応させ、ジャンケット状態を得た。さらにカッティング・ホエイオフして得たチーズカードをマッティングし、所望の pH を持つチーズカードを作製した。異

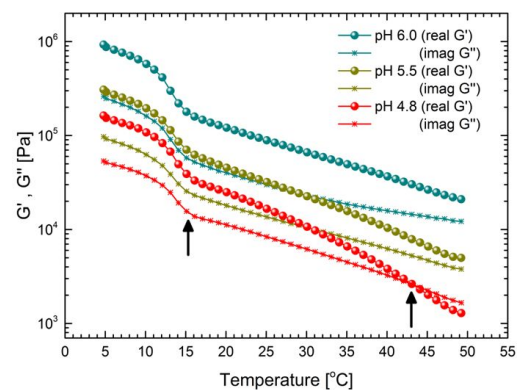


図1 . pH6.0, pH5.5, pH4.8 のチーズカードの貯蔵弾性率(G')と損失弾性率(G'')の温度依存性(温度分散)を示す。上向き矢印()の、高温側(右側)は pH4.8 のカードにみられるゾル-ゲルポイント、低温側(左側)はそれぞれの pH カードで乳脂肪の固化液化による弾性率の変化が観察される。

なる pH のカードの動的粘弾性について、その温度分散を系統的に精査した。その結果、pH6.0 から pH5.5 付近のカードは弾力に富み、pH4.9 付近のカードは伸展性に富むことを定量的に示すことが出来た。

特に、pH4.9 付近のカードは、温度 43 付近で貯蔵弾性率と損失弾性率の曲線が交差（ゾル - ゲルポイント）し、より高温側では損失弾性率が支配的となった。こうした粘弾性曲線の交差は他の pH 値のカードでは発現しなかった。また、いずれの pH 値のカードでも 15 以下で貯蔵弾性率が急激に大きくなった。その傾向は pH4.9 のカードより pH 5.5 のカードのほうが顕著であった。

(2) 脂肪コントロール（脱脂、クリーム添加）されたチーズカード（モツアレタイプ）の力学物性の温度依存性

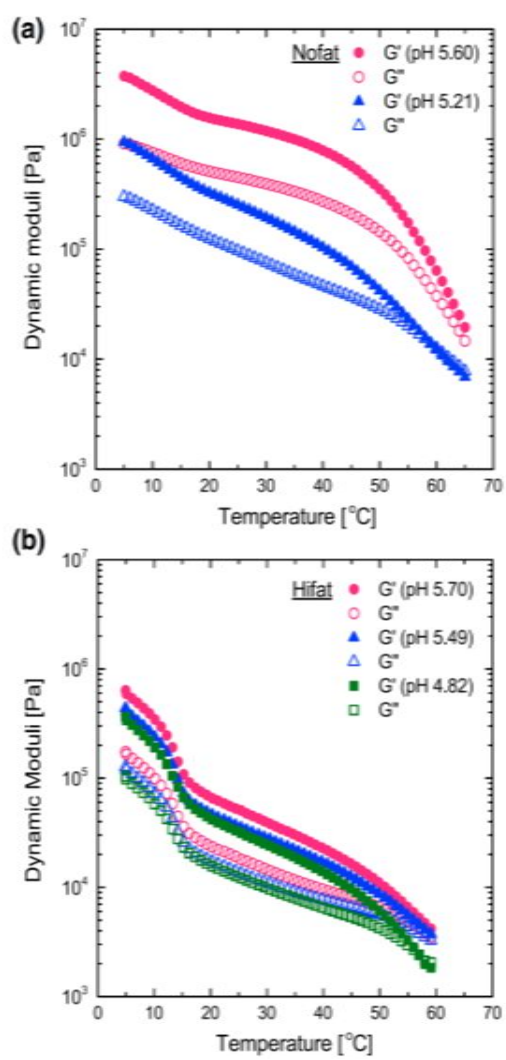


図2 (a) 脱脂タイプ (b) クリーム添加（高脂肪）タイプの pH の異なるチーズカードにおける動的粘弾性の温度分散.

乳脂肪の影響を把握するため、出発原料として未殺菌脱脂乳とクリーム添加の乳を用い、レンネットチーズカードを作製した。（原料乳は清里ミルクプラントから入手した。） pH 変化させたカードの温度依存的な力学挙動（貯蔵弾性率、損失弾性率）を把握した。低温側（20 以下）でみられる急激な貯蔵弾性率の増加はクリーム添加で顕著に現れ、脂肪の固化に伴う現象と推測された。pH を低下させたカードでは、損失弾性率が貯蔵弾性率を上回る、見かけのゾル - ゲル転移が両者で見られ、カゼイン状態固有の性質と推測された。

(3) 脂肪球コントロール（ホモの有無）されたチーズカード（モツアレタイプ）の力学物性の温度依存性

平均脂肪球径が異なる（均質の有無）原料乳からチーズカードを調製し、力学物性（温度分散）を測定した。脂肪球径の違いにより、特に 20 以下の力学物性に違いがみられた。脂肪球径が小さい方が貯蔵弾性率、損失弾性率ともに大きな値を取るが、 $\tan \delta$ （損失弾性率 / 貯蔵弾性率）に特徴的なピーク（もしくは平坦）部分が観察された。脂肪球径が小さくなることで、単に弾性率が大きくなるのではなく、損失弾性率の寄与が大きくなるのが分かった。これは、脂肪球形表面でのカゼイン（連続相）との相互作用によるものと推測できる。

(4) 新規きのこ由来凝乳酵素を用いた凝乳過程とそれを用いて作製したチーズカードの力学物性

種々のきのこを用い、凝乳特性をスクリーニングし、ヤマブシタケ由来の酵素に凝乳活性があることを見出した。この新規きのこ由来凝乳酵素を用い、凝乳チーズカードを作製し、従来のレンネット凝固カードとの力学挙動（貯蔵弾性率、損失弾性率）の違いを把握した。きのこ由来酵素を用いた凝乳チーズカードはレンネットチーズカードと比べて、貯蔵弾性率は低いが $\tan \delta$ （損失弾性率 / 貯蔵弾性率）は高かった。食感的にも、柔らかく滑らかなものであった。従来のレンネット酵素において、超高温牛乳では凝固しないが、本研究で得られた新規きのこ由来酵素では凝乳が観察された。また、ホエイ中のペプチド分析では、両者は異なった。従来のレン

ネットでのホエイには GMP(カゼイン由来のグリコペプチド)は観察されるが、本新規酵素のホエイ中では GMP が観察されず、従来とは異なる凝乳メカニズムであることが示唆された。

(5) 限外濾過による濃縮脱脂乳のゲル化挙動

脱脂乳の限外濾過で得られるカゼインを主成分とする濃縮物の性状、および力学特性を明らかにすることを目的とした。清里ミルクプラントから入手した未殺菌原料脱脂乳を低温殺菌(65 30分間)後、冷却し、分画分子量1万の限外濾過膜で濃縮し、重量比5倍濃縮率になる濃縮物を得た。

低温でゲル状態を示し、熱可逆性を有することを確認できた。動的粘弾性測定を行い、温度分散(3 ~35) 5 から 20 の温度帯で周波数分散と歪分散を測定した。温度分散により、ゾル-ゲルポイントを把握した。周波数分散では高温側(10 以上)で周波数依存性が見られ、温度-時間換算ができた。歪分散も温度帯によって線形領域の限界点が異なった。特に、歪分散の損失弾性率は粒子分散系に見られる特徴的なピークが観察された。サンプルを希釈するとゾル-ゲル転移の温度が低下することや歪分散でも、より小さい歪でゲルが崩れることなどからカゼインの濃度によって結合力に差があることが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

H. Shima & M. Tanimoto

Effect of milk fat content on the viscoelasticity of mozzarella-type cheese curds, (査読あり) Eur. Food Res. Technol. Eur. Food Res. Technol. 242, (157-162) 2016.

H. Shima & M. Tanimoto

Quantifying thermally induced flowability of rennet cheese curds, (査読あり) International Journal of Food Properties 18, (2277 ~ 2283) 2015

中村和夫、小林奈保子、谷本守正
凝乳酵素を生産する食用きのこ株の選抜

(査読あり) 日本食品科学工学会誌 61(9)
(p.444 ~ 447) 2014

[招待講演](計 2 件)

H. Shima & M. Tanimoto

“Aggregates of milk protein droplets Aggregates of milk protein droplets”, in EMN Meeting on Droplets 2015 in Phuket, Thailand (2015/5/8-11)_

H. Shima & M. Tanimoto

“Physics of cheese making: viscoelastic properties of enzyme-induced milk protein network”, in Energy, Materials and Nanotechnology - Open Access Week in Chengdu, China (2013/10/21-27)

[学会発表](計 6 件)

遠藤基、佐藤薫、島弘幸、谷本守正
限外濾過による濃縮脱脂乳のゲル化に関する研究
日本食品科学工学会関東支部大会 2016年3月5日 日本大学(神奈川県藤沢市)

畑井佑菜、田崎拓杜、中村和夫、岸本宗和、谷本守正
きのこ酵素を用いたチーズの長期保存性と抗菌物質の探索
日本食品科学工学会関東支部大会 2016年3月5日 日本大学(神奈川県藤沢市)

中村和夫、谷本守正、佐藤薫、島弘幸、小林奈保子、金丸京弥、畑井佑菜
食用きのこのヤマブシタケが生産する凝乳酵素の性質とチーズの特徴
日本酪農科学会 2015年9月25日 とかちプラザ(北海道帯広市)

金丸京弥、小林奈保子、中村和夫、谷本守正
ヤマブシタケの凝乳酵素を用いた新規なチーズの作成
日本食品科学工学会関東支部大会 2015年3月14日 東京海洋大学(東京、品川区)

H. Shima M. Tanimoto R. Niki
Visco-elasticity of cheese curd
IDF World Dairy Summit 2013 2013年10月30日 横浜ベイホテル東急(神奈川県横浜市)

島弘幸、谷本守正、仁木良哉 チーズカードの粘弾性測定によるカゼイン凝集・解離モデルの検討 日本食品科学工学会 2013年8月30日 実践女子大学(東京都日野市)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：チーズ及びその製造方法

発明者：中村和夫、谷本守正、小林奈保子、金丸京弥

権利者：山梨大学

種類：特許

番号：特願2015-146446

出願年月日：2015年7月24日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

谷本 守正 (TANIMOTO, Morimasa)

山梨大学・総合研究部・教授

研究者番号：60621323

(2)研究分担者

島 弘幸 (SHIMA, Hiroyuki)

山梨大学・総合研究部・准教授

研究者番号：40312392

(4)研究協力者

仁木 良哉 (NIKI, Ryouya)