

学位論文題名

凝乳酵素レンネットによる牛乳のゲル化に関する
粘弾性的研究

学位論文内容の要旨

チーズは世界的に最も広く利用されている食品の一つであり、非常に長い間、多くの民族が育んできた伝統的な製造方法を基に造られてきた。しかし、近年、チーズ製造方法も科学的に検討されはじめ、次第に一般化された製造方法が導入されるに至っており、ある種のチーズはすでに完全に自動化された工程で製品化されている。このような動向の中で、より普遍的なチーズ製造方法の構築が望まれている。そのためには、牛乳の凝乳酵素によるカード形成（ゲル化）のメカニズムや熟成過程における乳成分の変化など基本的な問題点をさらに詳細に解明する必要がある。このような観点に立って、具体的には原料乳の予備加熱、殺菌などの加熱処理のカード形成への影響を解明し、チーズ製造の普遍化のための基礎的なデータの蓄積を目的とした。本研究はカゼインミセルの凝乳酵素レンネットによるゲル化過程を主に粘弾性的手法により追究し、さらにゲルの微細構造の観察を電子顕微鏡を用いて行ない、粘弾性的な測定結果を形態的な観察との関連で検討した。

1. 還元脱脂乳及びカゼインミセル懸濁液のレンネットゲル化特性の比較

還元脱脂乳及びカゼインミセル懸濁液のレンネットによるゲル化特性を比較検討した。ゲル化曲線からカーブヒティング法によりゲル化開始時間、ゲル化速度、最大ゲル弾性率を求め、両試料のゲル化特性を比較検討した。両試料ともゲル化温度の低下と共にゲル化開始時間は遅れ、ゲル化速度は減少した。最大ゲル弾性率はカゼインミセル懸濁液の場合、ゲル化温度が40℃から30℃に低下すると増加するが、25～30℃ではほぼ一定の値を示し、20℃になると再び減少し、約28℃に最大ゲル弾性率のピークが存在することが示された。還元脱脂乳の場合、カゼインミセルと比較して、最大ゲル弾性率は1/2から1/3の低い値を示した。しかし、最大ゲル弾性率は温度の低下とともに20℃までは増加し、18℃で減少し、約20℃に最大ゲル弾性率のピークが著しく低温側に移動したことが明らかになった。両試料の最大ゲル弾性率の温度依存性の相違の原因は両者の熱履歴の差にあるものと推測された。そこで還元脱脂乳からカゼインミセルおよび限界濾過液を

分離し、新たなカゼインミセル実験系を作り、各種ゲル化特性を測定比較した。更に、両試料の走査型電子顕微鏡による観察結果、還元脱脂乳のカゼインミセル表面に微粒子の存在が観察された。これが両試料のゲル化特性に差をもたらす原因の一つである。結局、脱脂粉乳の製造の際に受ける加熱処理にその原因があると考えられる。

2. カゼインミセル懸濁液へのWPCとWPIの添加、加熱の影響

カゼインミセル懸濁液を様々な温度で加熱処理した後、ゲル化特性を比較検討した。加熱温度の上昇とともにゲル化開始時間は増加、ゲル化速度は減少、最大ゲル粘弾性も減少した。加熱処理により牛乳中のイオン性Ca濃度が変化する可能性があり、カゼインミセル懸濁液を異なる温度で加熱処理した結果、加熱温度の上昇と共にイオン性Ca濃度は減少の傾向を示した。カゼインミセル懸濁液にホエー蛋白質濃縮物（WPC）とホエー蛋白質分離物（WPI）を添加しレンネットゲルの特性を比較検討した。WPC、WPI 両方加熱温度の増加と共にゲル化開始時間は増加し、ゲル化速度及び最大ゲル粘弾性は減少した。WPCよりWPIの存在下での加熱の場合、ゲル化特性は著しく変化した。このことはWPIの主成分である α -Laと β -Lgにその主な原因があることを示唆している。

3. カゼインミセル懸濁液への α -Laと β -Lgの添加、加熱の影響

α -Laおよび β -Lgをカゼインミセル懸濁液に添加、加熱後そのレンネットゲル化性を検討した。 α -Laの場合、 β -Lgと比較してゲル化性の低下の度合いは小さかった。さらに β -Lgについては、加熱の際にその-SH基がカゼインミセルの κ -カゼインの-SH基を通じて結合する可能性を検証するために、まず、-SH基の加熱による変化を調べた。加熱による-SH基含量は約80%減少した。このことから-S-S結合を通して複合体を形成する可能性が示された。さらに、-SH基を化学的な方法によりブロックした β -Lgを調製し、ゲル化の性質を比較した結果、-SH基ブロック β -Lgが存在する試料のゲル化性質が-SH基ブロックしない β -Lgが存在しない試料よりコントロールにより近い傾向を示した。一方、走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡の観察結果から、カゼインミセル表面に微粒子の存在（突出物）が確認され、これが β -Lg本体であろうと推測される。このように、 β -Lgのカゼインミセルの表面への結合がゲル化性の低下をもたらす原因であることが明確になった。

4. カゼインミセルのサイズのゲル化性に及ぼす影響

カゼインミセルに含まれる κ -カゼインの量は、カゼインミセルのサイズにより異なることが知られている。超遠心分離によって、二種類の異なるサイズのカゼインミセルを調製して、それらのゲル化特性と比較した、さらに、 β -Lgを添加、加熱して、そのゲル化特性についても検討した。大および小サイズのカ

ゼインミセル、両方とも加熱温度の増加とともにゲル化開始時間は増加し、ゲル速度は減少した。次にSH基ブロック β -Lgを両試料をそれぞれ添加し、同じ様に三つのパラメータを検討した結果、コントロールにより近い値になったが、一致はしなかった。このことは、加熱処理により β -LgのSH基と κ -カゼインのSH基が-S-S-結合を形成してゲル化の性質に影響を及ぼすが、-S-S-結合以外の結合も複合体形成に関与していることを示唆している。加熱処理後蛍光試薬ANSを用いてカゼインミセル懸濁液の疎水性を測定した。その結果、加熱処理温度の増加とともに疎水性度が増加する傾向が観察された。

レンネットによる牛乳のゲル化特性は、加熱により著しく影響を受けるが、本論文の結果は、そのことはホエー蛋白質がカゼインミセル表面に結合することに起因することを明らかにした。その結合様式は β -Lgおよび κ -カゼインの-SH基を通して形成される-S-S-結合が主要なものと考えられるが、-S-S-結合のみではなく他の結合様式、特に、疎水結合の関与も考えられる。さらに他の要因としては、カゼインミセル懸濁液中のイオン性Caの加熱による減少が考えられる。本論文では、牛乳の加熱によるゲル化性の低下の要因の幾つかを明らかにすることが出来た。このことは単に牛乳のレンネットによるゲル化のメカニズムを知る手掛かりを与えるばかりでなく、チーズ製造の際のレンネットによるカード形成工程の制御への応用の可能性を示すものである。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 仁 木 良 哉

副 査 教 授 富 田 房 男

副 査 教 授 島 崎 敬 一

学 位 論 文 題 名

凝乳酵素レンネットによる牛乳のゲル化に関する 粘弾性的研究

本論文は5章から構成され、図50、表15、引用文献111を含む170頁からなる論文で、他に参考論文4編が添えられている。

チーズは世界的に最も広く利用されている食品の一つであり、伝統的な製造方法を基に造られてきた。近年、チーズ製造方法が科学的に検討されはじめ、次第に一般化された製造方法が導入されており、ある種のチーズはすでに完全に自動化された工程で製品化されている。現在、より普遍的なチーズ製造方法の構築が望まれている。そのためには、牛乳の凝乳酵素によるカード形成（ゲル化）のメカニズムや熟成過程における乳成分の変化など基本的な問題点をさらに詳細に解明する必要がある。このような観点に立って、本論文は原料乳の予備加熱、殺菌などの加熱処理のカード形成への影響を解明し、チーズ製造の普遍化のための基礎的なデータの蓄積を目的とした。

第一章では還元脱脂乳及びカゼインミセル懸濁液のレンネットによるゲル化特性を比較検討した。ゲル化曲線からカーブヒティング法によりゲル化開始時間、ゲル化速度、最大ゲル弾性率を求め、両試料のゲル化特性を比較検討した。両試料ともゲル化温度の低下と共にゲル化開始時間は遅れ、ゲル化速度は減少した。還元脱脂乳の場合、カゼインミセルと比較して、最大ゲル弾性率は $1/2$ から $1/3$ の低い値を示した。しかし、最大ゲル弾性率は温度の低下とともに 20°C までは増加し、 18°C で減少し、約 20°C に最大ゲル弾性率のピークが著しく低温側に移動したことが明らかになった。両試料の走査型電子顕微鏡による観察結果、還元脱脂乳のカゼインミセル表面に微粒子の存在が観察された。これが両試料のゲル化特性に差をもたらす原因の一つであり、脱脂粉乳の製造の際に受ける加熱処理にその原因があると考えられる。

第二章ではカゼインミセル懸濁液へのホエー蛋白質濃縮物（WPC）とホエー蛋白質分離物（WPI）の添加、加熱の影響を検討した。カゼインミセル懸濁液を様々な温度で加熱処理した後、ゲル化特性を求め、カゼインミセル懸濁液のレンネットゲルを比較検討した。WPCとWPIを添加しレンネットゲルの特性を比較検討した。両試料とも加熱温度の増加と共にゲル化開始時間は増加し、ゲル化速度及び最大ゲル粘弾性は

減少した。WPCよりWPIの存在下で、ゲル化特性は著しく低下した。このことはWPIの主成分である α -Laと β -Lgにその主要原因があると考えられる根拠を与えるものである。

第三章ではカゼインミセル懸濁液への α -Laと β -Lgの添加、加熱の影響について検討した。両試料とも、加熱処理温度の増加とともにゲル開始時間とゲル速度は増加し、最大ゲル粘弾性は減少した。 α -Laの場合、 β -Lgと比較してそれらの変化の割合は小さかった。 β -Lgについては、加熱により-SH基含量は約80%減少した。走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡の観察結果から、カゼインミセル表面に微粒子の存在(突出物)が確認され、これが β -Lg本体であると推測される。 β -Lgのカゼインミセルの表面への結合がゲル化性の低下をもたらす原因であることが示唆された。

第四章ではカゼインミセルのサイズのゲル化性に及ぼす影響について検討した。カゼインミセルに含まれる κ -カゼインの量は、カゼインミセルのサイズにより異なることが知られている。超遠心分離によって、二種類の異なるサイズのカゼインミセルを調製して、それらのゲル化特性と比較した。さらに、 β -Lgを添加、加熱して、特性を比較した。両試料とも、加熱温度の増加とともにゲル性の低下が観察された。次にSH基ブロック β -Lgを両試料に添加、加熱した結果、コントロールにより近い値になったが、一致はしなかった。このことは加熱処理により β -LgのSH基と κ -カゼインのSH基が-S-S-結合を形成してゲル化の性質に影響を及ぼすが、-S-S-結合以外の結合も複合体形成に関与していることを示唆している。

レンネットによる牛乳のゲル化特性は、加熱により著しく影響を受けるが、本論文の結果はその影響の主要な原因は、ホエー蛋白質がカゼインミセル表面に結合することに起因することを明らかにした。その結合様式は β -Lgおよび κ -カゼインの-SH基を通して形成される-S-S-結合が主要なものであることを確かめた。一方、-S-S-結合のみではなく他の結合様式、特に、疎水結合の関与も示した。以上のように、本論文では、牛乳の加熱によるゲル化性の低下の要因の幾つかを明らかにすることが出来た。この研究成果は牛乳のレンネットによるゲル化のメカニズムを知る手掛かりを与えるばかりでなく、チーズ製造の際のレンネットによるカード形成工程の制御への応用の可能性をも示唆した。よって、審査員一同は、別に行った最終試験の結果と合わせて本論文の提出者朴宣映は博士(農学)の学位を受けるのに十分は資格があるものと認定した。