

プロセスチーズの物性発現にかかわるカゼイン分子ネットワークの
近赤外分光分析による評価のための微細構造解析の基礎的研究
**Basic Study on Micro Structure Analysis for Near-Infrared Spectroscopy
Evaluation of Casein Molecules Network Related to Expression of
Processed Cheese Rheological Properties**

天羽 由知^a, 稲垣 孝二^a, 佐藤 眞直^b, 佐野 則道^b, 市川 創作^c
Yoshitomo Amo^a, Koji Inagaki^a, Masugu Sato^b, Norimichi Sano^b, Sosaku Ichikawa^c

^a森永乳業(株), ^b(公財)高輝度光科学研究センター, ^c筑波大学
^aMorinaga Milk Industry Co., Ltd., ^bJASRI, ^cUniversity of Tsukuba

プロセスチーズの製造工程中での近赤外分光分析(NIRS)による最終製品の物性予測モニタリング技術の信頼性向上のため、小角 X 線散乱(SAXS)測定によるチーズ中のカゼイン分子凝集体の微細構造解析を試みた。種々の条件でプロセスチーズのモデル試料を調製し、加熱溶解処理直後の NIRS 測定と冷却固化後の SAXS 測定を実施した。試料調製に用いた溶解塩の種類および溶解処理時間の違いにより、小角領域の SAXS プロファイルに特徴的な変化が観察された。

キーワード： プロセスチーズ、カゼイン、近赤外分光法、小角 X 線散乱

背景と研究目的：

プロセスチーズは、乳に含まれるカゼインミセルをレンネット(凝乳酵素)の作用により凝集させ乳清を除去して得られた凝乳(カード)から作られるナチュラルチーズを主原料に、クエン酸塩やリン酸塩といった溶解塩などの副原料を加えて加熱溶解乳化させて製造される。プロセスチーズの食感(物性)には原料の配合の他、溶解工程における加熱・攪拌(クッキング)条件が大きな影響を与えることが知られており、クッキング中に起こるカゼイン分子の相互作用に起因したチーズの増粘(クリーミング)の制御が最終製品の物性調整の手段として重要である[1]。

我々はチーズの製造工程中において最終的な製品物性を予測するオンライン評価手法として、近赤外分光分析(NIRS)を用いたモニタリング技術の活用を試みている。チーズの物性発現にはカゼイン分子凝集体のネットワーク構造が関与していることから、本研究は小角 X 線散乱(SAXS)測定によるカゼイン分子凝集体の微細構造解析を活用することによって、このモニタリング技術の妥当性を評価することを目的とした。SAXS 測定による微細構造の観察は、電子顕微鏡を用いた従来の方法とは異なり凍結や蒸着などの試料前処理が不要なため、食品中に存在している分子の本来の状態での構造情報が捉えられる点で大きな意義があるものと考えられる。

実験：

プロセスチーズのモデル試料は、72°C、15 s の条件で加熱殺菌した脱脂乳にレンネットを作用させて得たカードと溶解塩(ピロリン酸ナトリウム、あるいは、クエン酸ナトリウム)を材料とし、Rapid Visco Analyzer(RVA)を用いて加熱・攪拌と同時に連続的に見かけの粘度を計測しながら調製した。最終のチーズ重量が 20 g、水分含量が 64%程度、溶解塩濃度が 0.22 μmol/l になるよう、粉碎したカード、いずれかの溶解塩、イオン交換水を RVA 専用容器に計量し、85°C、500 rpm のクッキング条件で所定の時間処理した。得られた溶解チーズサンプルは、FT-NIR 分光計を用いて拡散反射モードで NIR 吸収スペクトルを測定後、予め 5°C に冷却した SAXS 測定用セル(光路長 3 mm)に流し込んで急冷固化させて SAXS 測定用試料とした。X 線散乱プロファイルについては BL19B2 にて試料温度制御装置を使用してサンプル温度を 10°C に保持した状態で測定した。X 線のエネルギーは 18 keV とし、小角 X 線散乱(SAXS)はカメラ長 3074 mm、露光時間 60 s の条件で、極小角 X 線散乱(USAXS)はカメラ長 41474 mm、露光時間 300 s の条件で測定した。カメラ長と散乱角度の較正は、SAXS にはベヘン酸銀、USAXS にはコラーゲンの各回折ピークを用いて実施した。検出器には PILATUS-2M を用いて 2 次元測定を行った。

結果および考察：

チーズ試料中のタンパク質に対する X 線照射ダメージおよび試料調製後のカゼイン分子凝集体微細構造の経時変化の有無を確認するため、プロセスチーズのモデル試料に 20 分間 X 線を照射し続け、連続的に X 線散乱プロファイルを測定したが、SAXS および USAXS のプロファイルに変性や凝集などによる変化は認められなかった。以前の課題(課題番号 2015A1851)においては、空冷での緩慢な冷却による試料調製および室温での SAXS 測定により、経時的な構造変化に起因するプロファイルの変化が観察された[2]。今回の実験では試料の作製や測定時の積極的な温度調整により、調製条件の異なる試料間でデータを比較する際に問題となる変化を抑制できた。

プロセスチーズのモデル試料調製におけるクッキング中の見かけの粘度プロファイルは、用いる溶融塩の種類によって大きく異なり、ピロリン酸塩では乳化直後から粘度が漸増したのに対し、クエン酸塩では粘度が一度低下した後を上昇する挙動を示した。また、クエン酸塩を使用した試料の方が溶融時の粘度および冷却固化後の硬度が高かった。SAXS プロファイルについても図 1 に示すように両者で明確に異なり、前回の課題で得られた結果と同様にピロリン酸塩添加の場合、クエン酸塩と比較してシャープなピークが観察された。一方、クッキング時間による X 線散乱プロファイルの推移は、小角領域においてはピロリン酸塩を用いたものでは 20 分以降に大きな変化が見られなくなったが、クエン酸塩を使用したものについてはピークが明瞭になった後に不明確になる変化が認められた。極小角領域については図 2 に示すように、ピロリン酸塩では明らかな変化は観察されなかったが、クエン酸塩では時間の経過とともに傾きが緩やかになる傾向が認められた。これまでの研究からクエン酸塩はカルシウムをキレートする作用によりカゼイン分子を分散することで、リン酸塩はカゼイン分子間を架橋することでプロセスチーズの組織形成を促すと考えられている[3]。また、クッキング中に起こるチーズの増粘は、溶融塩の作用により分散したカゼイン分子凝集体が、タンパク質間の相互作用により再び会合してネットワーク構造を形成するために起こると説明されている [1]。これらのことから、X 線散乱プロファイルの経時変化の溶融塩による差異は、クリーミング過程におけるカゼイン分子凝集体のネットワーク形成の変化を反映していると推察される。

NIRS によるプロセスチーズの溶融時の粘度および冷却固化後の硬さの予測モデルでは、OH 基第 1 倍音領域においてカゼイン分子の水和状態を反映していると推測されるローディングが得られており、ネットワーク構造の変化と関係する分子間相互作用の差異を捉えていると考えられる。

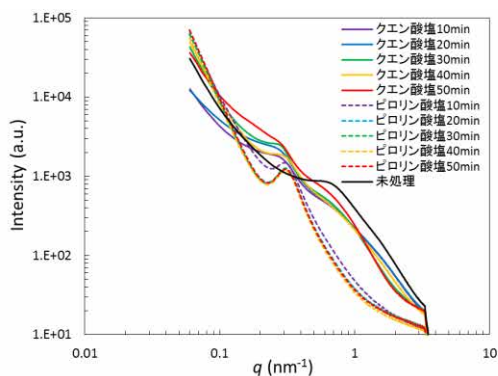


図 1. 各チーズ試料の SAXS プロファイル

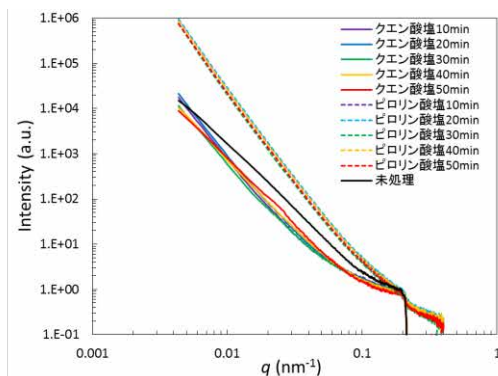


図 2. 各チーズ試料の USAXS プロファイル

今後の課題：

今回の実験ではプロセスチーズの溶融塩の種類およびクッキング処理時間の違いによるカゼイン分子ネットワーク構造の差異について再現性を確認することができた。小角 X 線散乱プロファイルを、カゼイン分子凝集体のネットワーク構造を類推する構造モデルにより解析するため、希薄系で測定を行うことでネットワークを形成する基本単位構造を推定する必要がある。

参考文献：

- [1] S. K. Lee et al., *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* **36**, 339 (2003).
- [2] 天羽由知 他、平成 27 年度 産業新分野支援課題・一般課題(産業分野)実施報告書(2015A), 2015A1851.
- [3] R. Mizuno, J. A. Lucey, *J. Dairy Sci.* **88**, 3411 (2005).