凍結濃縮牛乳高圧ゲルのゲル化機構

衆野恵子*・中濱信子*・本間一男**

木村利昭***・渡辺道子****

Gelation Mechanism of Pressure-induced Gel from Freeze-concentrated Milk

Keiko KUMENO*, Nobuko NAKAHAMA*,
Kazuo HONMA**, Toshiaki KIMURA***
and Michiko WATANABE***** Department of Food and Nutrition, Japan Women's
University, 2-8-1, Mejirodai, Bunkyo-ku, Tokyo 112** Research Institute of Q.P. Corporation, 5-13-1,
Sumiyoshi-cho, Fuchu-shi, Tokyo 183*** Technical Research Institute, Snow Brand Milk
Products Co., Ltd., 1-1-2, Minamidai,
Kawagoe-shi, Saitama 350**** Faculty of Education, Tokyo Gakuai University,
4-1-1, Nukuikita-machi, Koganei-shi,
Tokyo 184

A combined process of freeze concentration and pressurization produced gels from raw cow's milk without using gelling agents. Gelation was observed when milk was freeze-concentrated at solid concentrations of 25% or higher. Urea and EDTA inhibited gelation, however, proper concentrations of sucrose was favorable for gelation. Pressurization resulted in formation of casein particles of the size between casein micelle and submicelle, which contributed to pressure-induced gelation. Sucrose was considered to inhibit aggregation of casein particles.
(Received Aug. 10, 1993)

牛乳を原料とした固形状食品にはチーズとヨーグルトが知られている。前者はレンネットで水溶性のマクロペプチドをカゼインミセルから切断することによって、後者は乳酸発酵でpHを等電点に近づけることによって形成したカードである。著者らは、細菌の水核活性を利用した凍結濃縮と300 MPa以上の高圧処理を組み合わせ

るという物理的方法のみで、牛乳ゲルが得られるということを報告した¹⁾。このゲルは、全くゲル化剤を使用しないという点で新規の食品である。凍結濃縮の利点は、熱に不安定な成分を比較的安定に保てること、フレーバー成分の揮発がないこと、色を新鮮なまま保持できること、室温で氷核活性細菌を加えるため攪拌する必要がないので、2次核生成が小さく抑えられて氷の総表面積は小さくなり高い収率が得られること、-5℃で凍結できるのでコストがかからないこと、高圧処理することで殺菌とゲル化が同時に達成できることである。

本研究は、凍結濃縮と高圧処理を組み合わせた方法によって得られたゲルのゲル化機構を解明することを目的とする。

1. 実験方法

(1) 材 料

生乳(乳脂肪分=3.55%, 無脂固形分=8.55%)は雪印乳業(株)から提供を受けた。尿素、蔗糖およびEDTA(エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム)は、試薬特級のものを用いた。

(2) 凍結濃縮

Xanthomonas campestris INXC-1²⁾を氷晶核として生乳を凍結濃縮し、濃縮牛乳を得た¹⁾。

(3) 高圧処理

凍結濃縮牛乳または凍結濃縮牛乳に尿素、蔗糖、EDTAをそれぞれ添加したものの150 mlを直径3 cmの円筒状のポリエチレン袋に詰め、600 MPa、5℃で5分間高圧処理した。用いた高圧発生装置は、三菱重工業製MFP-7 000である。

(4) 見かけの粘性率

加圧前の試料およびゲル化しなかった試料については、回転粘度計(Haake, Rhotovisco RV3)を用いて、10℃でずり速度234 s⁻¹における見かけの粘性率を測定した。

(5) 破断特性

ゲル試料を3.0 cm×2.0 cmの円筒型に成型し、ダイナグラフ(アイテクノ)を用いて測定した。測定条件は、プランジャー直径=1.3 cm、圧縮速度=6.0 cm/分、変形率=80%である。歪-応力曲線から破断応力を求めた。

(6) 動的弾性率

西成ら³⁾の方法で、ゲル試料を2.0 cm×3.0 cmの円筒

* 日本女子大学家政学部(〒112 東京都文京区目白台2-8-1)

** キュービー(株)研究所(〒183 東京都府中市住吉町5-13-1)

*** 雪印乳業(株)技術研究所(〒350 埼玉県川越市南台1-1-2)

**** 東京学芸大学教育学部(〒184 東京都小金井市貫井北町4-1-1)

型に成型し、レオログラフゲル（東洋精機）を用いて測定した。測定条件は、加振周波数=3 Hz、振幅=±100 μm、温度=10℃である。レオログラフゲルで測定できない試料については、レオログラフソル（東洋精機）を用いて測定し、 G' （ずりの動的弾性率）の値は3倍則によりすべて E' （圧縮による動的弾性率）に統一して示した。測定条件は、加振周波数=3 Hz、振幅=±50 μm、温度=10℃である。

(7) 走査型電子顕微鏡観察

ゲルを1%四酸化オスミウム溶液で固定し、顕微鏡観察した。

2. 実験結果および考察

凍結濃縮牛乳の高圧ゲル化に必要な臨界濃度を求めた。加圧前の試料では、固形分含量が高くなるに従って見かけの粘性率は緩やかに増加したが、加圧後の試料では、固形分含量17.5%から急激に見かけの粘性率は上昇し、固形分含量25%以上でゲル化した。ゲルの破断応力と弾性率は固形分含量が高くなるに従って増大した。凍結濃縮牛乳の高圧ゲル化における臨界濃度は22.5%で

表 1 濃縮牛乳高圧ゲルの特性値^aに与える固形分濃度の影響

固形分濃度 (%)	見かけの粘性率		破断応力 ^c	弾性率 ^e
	加圧前	加圧後	加圧後	加圧後
12.5	0.40	1.90	—	0.00
17.5	0.53	1.52	—	0.00
20.0	0.57	4.09	—	0.00
21.0	0.74	6.36	0.12 ^d	0.04
22.0	0.71	11.21	0.12 ^d	0.40
22.5	0.68	13.56	0.63	1.04
25.0	0.89	n.m. ^b	1.67	4.32
30.0	1.48	n.m.	4.88	27.75
35.0	2.75	n.m.	13.21	54.40
37.5	4.27	n.m.	16.20	76.25

^a 特性値の単位：見かけの粘性率，×10 mPa·s；破断応力，×10³ N/m²；弾性率（ E' ），×10² N/m²。4回の独立した測定を行い、平均値を示した。標準誤差は各平均値の10%以下であった。

^b ゲル化したため測定できなかった。

^c 加圧前の試料はゲル化しなかったため測定できなかった。

—はゲル化しなかったため測定できなかった。

^d 破断点ではなく、変曲点における値である。

^e 加圧前の試料はゲル化せず、測定値は0であった。

表 2 濃縮牛乳高圧ゲルの特性値^aに与える尿素濃度の影響

尿素濃度 (M)	見かけの粘性率		破断応力 ^c	弾性率 ^d
	加圧前	加圧後	加圧後	加圧後
0.00	0.89	n.m. ^b	1.67	4.32
0.05	0.76	n.m.	0.73	3.36
0.10	0.76	n.m.	0.47	0.93
0.20	0.68	9.40	—	0.33
0.30	0.70	4.74	—	0.03
0.50	0.71	1.82	—	0.00
0.70	0.86	1.74	—	0.00
1.00	0.90	1.55	—	0.00

^a 特性値の単位：見かけの粘性率，×10 mPa·s；破断応力，×10³ N/m²；弾性率（ E' ），×10² N/m²。4回の独立した測定を行い、平均値を示した。

標準誤差は各平均値の10%以下であった。

^b ゲル化したため測定できなかった。

^c 加圧前の試料はゲル化しなかったため測定できなかった。

—はゲル化しなかったため測定できなかった。

^d 加圧前の試料はゲル化せず、測定値は0であった。

表 3 濃縮牛乳高圧ゲルの特性値^aに与える蔗糖濃度の影響

蔗糖濃度 (M)	見かけの粘性率		破断応力 ^c	弾性率 ^d
	加圧前	加圧後	加圧後	加圧後
0.0	0.89	n.m. ^b	1.67	4.32
0.1	0.87	n.m.	3.71	26.70
0.2	0.83	n.m.	6.76	20.00
0.3	1.14	n.m.	8.54	35.00
0.4	1.18	n.m.	10.44	36.70
0.5	1.44	n.m.	7.62	37.00
0.6	1.67	n.m.	2.13	1.32

^a 特性値の単位：見かけの粘性率，×10 mPa·s；破断応力，×10³ N/m²；弾性率（ E' ），×10² N/m²。4回の独立した測定を行い、平均値を示した。標準誤差は各平均値の10%以下であった。

^b ゲル化したため測定できなかった。

^c 加圧前の試料はゲル化しなかったため測定できなかった。

—はゲル化しなかったため測定できなかった。

^d 加圧前の試料はゲル化せず、測定値は0であった。

あった (表 1)。

高圧ゲルの分子間相互作用の様式を明らかにするために、固形分含量 25 重量% の濃縮牛乳の高圧ゲル化におよぼす添加物の影響をしらべた。ゲル化における水素結合と疎水性相互作用の寄与を調べるために尿素⁴⁾を添加した。0.2 M 以上の尿素添加ではゲルが生成しなかった。ゲル化しなかった試料の粘性率は、添加尿素濃度が高くなるに従って減少した。ゲル化した試料の破断応力と弾性率は、尿素添加で減少した (表 2)。これらの結果から、

尿素添加によって鎖状分子間の水素結合が切断されたと考えられた。

水和量が多いほどタンパク質のゲル形成には有利である⁵⁾。そこで水和の影響をしらべるために、蔗糖添加効果を検討した。表 3 に示したように、0.4 M までは蔗糖濃度が増加するに従ってゲル強度は増大したが、それ以上の濃度ではゲル強度は減少した。蔗糖無添加のゲルと蔗糖 0.3 M 添加のゲルについて微細構造を走査型電子顕微鏡で観察した (図 1)。蔗糖無添加の凍結濃縮牛乳加圧

図 1 凍結濃縮牛乳の加圧ゲルの走査電子顕微鏡写真

a, b: 蔗糖無添加ゲル, c, d: 0.3 M 蔗糖添加ゲル スケールバーはいずれも 1 μ m を示す。

ゲルでは、多数のカゼイン粒子が凝集し、凝集体が紐状につながって網目構造を形成していた。カゼイン単一粒子の大きさは約 50 nm で、生乳のカゼインミセルより明らかに小さいが、サブミセルよりやや大きい。生乳のカゼインミセルの粒子径は 100~120 nm である⁶⁾から、高圧ゲルでのカゼインミセルの粒子径は約 1/2 となる。この原因は、高圧処理によってカゼインミセルが変化したと考えられる。SHIBAUCHI *et al.*⁷⁾ は高圧処理したカゼインは変性し、広い分布をもつサブミセルの鎖状または房状の会合物に変化していることを示した。本研究で得られた高圧ゲルでも同様のことが考えられる。網目構造に分散する脂肪球は、大きいものでは直径 10 μ m 程度、平均的には 2~3 μ m の大きさであった。この大きさは、生乳の脂肪球の大きさと同じであり、高圧処理で脂肪球は変化しないと考えられる。0.3 M 蔗糖添加ゲルは、蔗糖無添加ゲルよりさらに緻密な網目構造を形成していた。カゼインの単一粒子の大きさは蔗糖無添加高圧ゲルとほぼ同じで約 50 nm だが、カゼイン粒子の凝集状態が異なり、無添加ゲルではところどころに大きな空隙がみられるのに対して、蔗糖 0.3 M 添加ゲルでは小さな空隙が均一に分布していた。このことは、蔗糖添加ゲルの破断応力が高くなったことと対応していた。蔗糖は、おそらく、カゼイン粒子の水和状態を安定化し、カゼイン粒子相互の強度の会合を妨げているのだろう。

カゼインミセルからコロイド状リン酸カルシウムを除去すると、カゼインミセルは解離してしまう⁸⁾。カルシウムのゲル化への影響をしらべるために EDTA 存在下で高圧処理した。表 4 に示したように、EDTA 0.01~0.05 M 存在下ではゲル化せず、カルシウム架橋によるカゼインミセル構造の保持がゲル化に必要であることが示唆された。以上の結果から、高圧処理によってカゼインミセルはサブミセルよりやや大きな粒子となり、その粒子間で相互作用してゲルが形成することが示唆された。固形分濃度が高いほどカゼイン粒子間の相互作用の機会が増えるため、ゲル強度は増大すると考えられる。これらのカゼイン粒子間の結合力としてカルシウム架橋と水素結合が関与していると考えられた。高圧ゲルのゲル強度は空隙構造に依存し、適度なカゼイン粒子の凝集状態が高圧ゲル化に重要であることが示唆された。

3. 要 約

固形分濃度が 22.5% 以上の凍結濃縮生乳を高圧処理

表 4 濃縮牛乳高圧ゲルの特性値^a に与える EDTA 濃度の影響

EDTA 濃度 (M)	見かけの粘性率		破断応力 ^c	弾性率 ^d
	加圧前	加圧後	加圧後	加圧後
0.000	0.89	n.m. ^b	1.67	4.32
0.010	0.95	7.96	—	0.15
0.025	0.96	1.90	—	0.00
0.050	0.93	4.93	—	0.11

^a 特性値の単位：見かけの粘性率、 $\times 10$ mPa $\cdot$ s；破断応力、 $\times 10^3$ N/m²；弾性率 (E'), $\times 10^2$ N/m²
4 回の独立した測定を行い、平均値を示した。
標準誤差は各平均値の 10% 以下であった。

^b ゲル化したため測定できなかった。

^c 加圧前の試料はゲル化しなかったため測定できなかった。

—はゲル化しなかったため測定できなかった。

^d 加圧前の試料はゲル化せず、測定値は 0 であった。

すると、ゲルが生成した。尿素と EDTA はゲル化を阻害した。適度の蔗糖の存在はゲル化を助けた。高圧処理によって、カゼインミセルとサブミセルの中間的な大きさの粒子が生成し、この粒子の凝集による網目構造の形成がゲル化に寄与した。ゲル強度は空隙構造に依存した。

文 献

- 1) KUMENO, K., NAKAHAMA, N., HONMA, K., MAKINO, T. and WATANABE, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 750 (1993).
- 2) WATANABE, M., WATANABE, J., MAKINO, T., HONMA, K., KUMENO, K. and ARAI, S.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 994 (1993).
- 3) 西成勝好・堀内久弥・石田勝己・池田勝則・伊達宗宏・福田栄一：日食工誌, **27**, 227 (1980).
- 4) GORDON, J.A. and JENCKS, W.P.: *Biochemistry*, **2**, 47 (1963).
- 5) 山内文男：食品の物性, 第 8 集, 松本幸雄編 (食品資材研究会, 東京), p. 145 (1982).
- 6) 種谷真一・木村利昭・相良康重：食品・そのミクロの世界, (槇書店, 東京), p. 51 (1991).
- 7) SHIBAUCHI, Y., YAMAMOTO, H. and SAGARA, Y.: *High Pressure and Biotechnology*, **224**, 239 (1992).
- 8) 青木孝良：乳技協資料, **41**, 27 (1991).

(平成 5 年 8 月 10 日受理)