

生乳の殺菌方法によるホエイたんぱく質の変性について

食品・化学技術室 大垣 佳寛, 大久保 紘子, 海老原 昇
次長 宮崎 浩子
古谷乳業株式会社 高野 和也, 白井 寛, 石出 卓也

Whey Protein Denaturation with Various Heating Processes of Raw Milk

Yoshihiro OGAKI, Hiroko OKUBO, Noboru EBIHARA, Hiroko MIYAZAKI,
Kazuya TAKANO, Hiroshi SHIRAI and Takuya ISHIDE

本研究では、UHTとHTST殺菌前後の生乳のホエイたんぱく質の変性率の測定を行い、殺菌方法によるたんぱく質の変性の違いを調べた。併せて、市販のLTLT牛乳とUHT牛乳についても同様の試験を行った。その結果、ホエイたんぱく質変性率は、UHT牛乳では銘柄にかかわらず86.5%-89.4%と高い値を示したが、HTST牛乳では15.0%であり、これは大手市販のLTLT牛乳(18.6%)とほぼ同じ値であった。

1. はじめに

牛乳は、カルシウム等のミネラルや、必須アミノ酸を豊富に含むたんぱく質など栄養素に富む食品である。しかし、大変品質が変化しやすい食品でもあり、品質変化の防止や保存性向上のためわが国では「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」で「保持式により摂氏63度で30分間加熱殺菌するか、又はこれと同等以上の殺菌効果を有する方法で加熱殺菌すること」と規定されている。

近年、消費者の自然志向の高まりを受けて、現在最も飲用されている超高温瞬間殺菌（UHT）牛乳に加えて、高温短時間殺菌（HTST）牛乳や、低温保持殺菌（LTLT）牛乳が見直され、販売数量が伸びている。

一般に、UHT殺菌では120～130℃の温度で2～3秒、HTST殺菌では72℃以上15秒以上、LTLT殺菌では63～65℃で30分の条件で殺菌する。いずれの殺菌方法によっても牛乳の栄養素にはほとんど影響しないが、これら殺菌条件の違いが牛乳の物性や風味に影響を与える。

特に、牛乳中のたんぱく質はこれらの殺菌処理の違いによって変性度が大きく異なってくると考えられる。牛乳100g中にたんぱく質は約3.3g含まれ¹⁾、たんぱく質のうち、カゼインが約80%、ホエイたんぱく質が約20%を占める²⁾。カゼインはリンたんぱく質で、カルシウムと結びつきミセルを構成し、牛乳の安定なコロイド状態を形成するのに役立っている³⁾。ホエイたんぱく質は、乳から乳脂

肪分やカゼインを除いて得られる乳清（ホエイ）に含まれるたんぱく質で、 β -ラクトグロブリン、 α -ラクトアルブミン、ウシ血清アルブミン、免疫グロブリン、ラクトフェリン等から構成される。これらのたんぱく質の中には、ラクトフェリンのような抗菌・抗ウイルス活性、ピフィズス菌増殖促進作用、免疫調節作用などの多様な作用が知られるものもある⁴⁻⁶⁾。また、ホエイたんぱく質は加熱による変性を強く受けると考えられており、加熱殺菌の方法の違いによるホエイたんぱく質の変性への影響について興味を持たれている。

前報告では、UHT殺菌およびHTST殺菌による遊離アミノ酸量とクエン酸とリン酸への影響を調べ、UHT、HTSTとも殺菌後は遊離アミノ酸の総量が減少し、リン酸についてUHT、HTSTとも殺菌後に減少する傾向があることを確認した⁷⁾。

本研究では、前回到引き続き、収集時期の異なる千葉県産生乳を試料として、UHTおよびHTST殺菌前後の試料、及び市販のLTLT牛乳とUHT牛乳のホエイたんぱく質の変性率の測定を行い、殺菌方法によるたんぱく質の変性の違いを調べたので報告する。

2. 実験方法

2. 1 試料

2. 1. 1 生乳、HTST殺菌牛乳、UHT殺菌牛乳

古谷乳業株式会社で、千葉県内の2か所で集乳した生乳について、一方をUHT殺菌(130℃, 2秒)、

他方についてはHTST殺菌(75℃, 15秒)を行い、殺菌前の生乳2種類と併せて計4点の試料を冷蔵の状態でご所に搬入し、分析直前まで当所の冷凍庫にて-25℃で冷凍して保存した。これらの試料は2017年10月から2019年1月まで毎月提供された。

2. 1. 2 市販牛乳

千葉市内の小売店にて、賞味期限の近いLTLT牛乳(A)、およびUHT牛乳3種類(B~D)を購入し、冷蔵の状態でご所に搬入し、分析直前まで当所の冷凍庫にて-25℃で冷凍して保存した。

2. 2 試薬

ホエイの調製に用いた乳酸は和光純薬の特級試薬を用いた。

ホエイたんぱく質変性率の分析に用いた食塩は塩事業センターの食塩、塩酸は和光純薬の特級試薬を用いた。

アミノ酸分析装置によるホエイたんぱく質の定量分析に用いた pH2.2 クエン酸リチウム緩衝液(0.25mol/L)、アミノ酸混合標準液(AN-II型, B型)は和光純薬製を用いた。また、アミノ酸分析の1~5th緩衝液、水酸化リチウム水溶液、ニンヒドリン試薬は日本電子(株)のアミノ酸分析装置専用試薬を用いた。

2. 3 ホエイの調製

生乳または牛乳試料に攪拌しながら乳酸を滴下し pH 4.6 とし、その後 800×g (トミー精工 MX-301) で 5 分間遠心分離して分離した溶液を濾過(東洋濾紙 No. 2) し、分析開始まで -25℃ で冷凍して保存した。

2. 4 ホエイたんぱく質変性率の分析⁸⁾

50mL 遠心チューブに食塩 8.0 g を入れ、生乳または牛乳試料 20mL を添加した後ふたを閉め 30 秒間上下に激しく振とうした後、37℃で 30 分間保持した。その後 800×g で 5 分遠心分離し、分離した溶液を濾過(東洋濾紙 No. 2) した。分離した溶液 1.0mL を飽和食塩水 10.0mL に加え混合した後、分光光度計用セルに入れ、分光光度計(日立製作所 U-3000) を用い波長 420 nm の吸光度を測定しゼロ点合わせした。その後、塩酸(23+77)を 60 μL 加え、セル内の溶液をマイクロピペットで吸引と吹出を繰り返して攪拌した後、5 分放置し、再度 420 nm の吸光度を測定した。変性率(%)は $100 \times (\text{生乳の吸光度} - \text{殺菌牛乳の吸光度}) \div \text{生乳の吸光度}$ により算出した。なお、市販牛乳の変性率の算

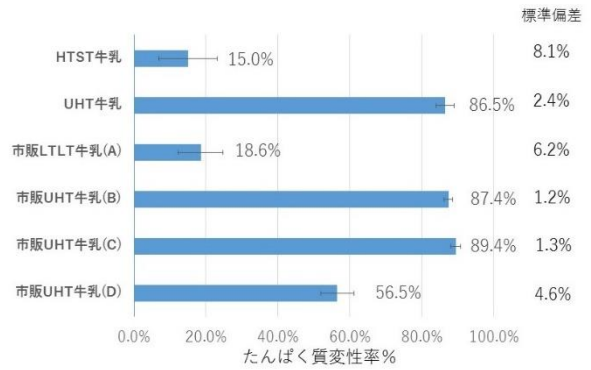


図1 殺菌方法の異なる牛乳のホエイたんぱく質変性率

- ・たんぱく質変性率 = $(\text{生乳の吸光度 } A_0 - \text{試料の吸光度 } A) \div \text{生乳の吸光度 } A_0 \times 100$
- ・HTST牛乳, UHT牛乳は16か月分の平均, 市販牛乳は12か月分の平均, エラーバーは標準偏差)

出に用いた生乳の吸光度については、古谷乳業株式会社の生乳の吸光度の平均値を用いた。

2. 5 ホエイ中のたんぱく質の分析⁹⁾

真空加水分解管(テクノケミカル社製)にホエイ 1.0 mL, 6 mol/L 塩酸 9.0 mL を加えて、アスピレーターで減圧しながら超音波洗浄機を用いて脱気し、さらに15分間脱気を続けた後封管し、110℃で20時間加熱し分解した。その後、全ての溶液を50mLナスフラスコに移し、エバポレーターで蒸発させ、残渣にpH2.2クエン酸リチウム緩衝液を加えて溶解し10 mLに定容した。この溶液を0.22 μm シリンジフィルターで濾過し、アミノ酸分析装置(日本電子(株) JLC-500/V)を用い、生体アミノ酸モードで分析を行いアミノ酸定量し、アミノ酸残基の量を合計してたんぱく質を定量した。

3. 結果及び考察

3. 1 ホエイたんぱく質変性率の分析

図1に古谷乳業で調製されたHTST牛乳とUHT牛乳試料、および市販のLTLT牛乳(1種類)、市販のUHT牛乳(3種類)のホエイたんぱく質変性率(以下変性率)を示す。古谷乳業で調製されたHTST牛乳の変性率は15.0%であり、UHT牛乳の変性率は86.5%であった。これらの数値は2017年10月から2019年1月までの16回の平均値である。

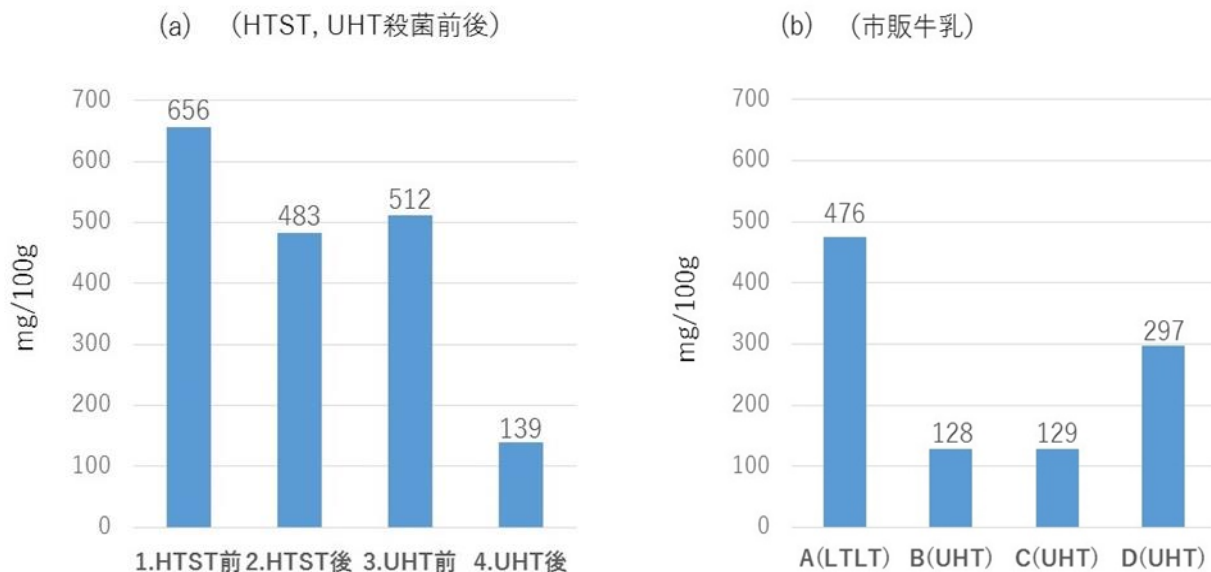


図2 ホエイ中のたんぱく質量
(a) HTST, UHT 殺菌前後 (b) 市販牛乳

各市販牛乳との変性率と比べてみると、HTST牛乳の変性率(15.0%)は市販 LTLT 牛乳 (A) の変性率 (18.6%) とほぼ同じであった。一方標準偏差については、HTST 牛乳では 8.1%で、LTLT 牛乳 (A) では 6.2%となり、HTST 牛乳の方が高くなった。HTST 牛乳は LTLT 牛乳に比べて殺菌時間が短いので、変性度のばらつきが大きくなる傾向があるのではないかと考えられた。さらに変性率の標準偏差は LTLT 牛乳、HTST 牛乳両者とも UHT 牛乳 (後述) に比べて大きくなった。

LTLT 牛乳と HTST 牛乳のホエイたんぱく質変性率については、岩附が LTLT 牛乳で 10%、HTST 牛乳で 12%であったと報告している¹⁰⁾。また、高木らは LTLT 牛乳で 11.8 ± 4.8 %であったと報告している¹¹⁾。分析方法および試料の若干の違いによるものと考えられるが、今回測定されたホエイたんぱく質変性率はこれらの値より若干大きくなったものの、今回用いた HTST 牛乳は、市販の LTLT と同様のホエイたんぱく質変性率をもつと考えられる。

一方 UHT 牛乳においては、古谷乳業 UHT 牛乳、市販の UHT 牛乳 (B) および UHT 牛乳 (C) とも変性率はほとんど同じであり 86.5%-89.4%を示した。また、標準偏差も前者の LTLT 牛乳や HTST 牛乳に比べて小さく、変性率のばらつきも小さかった。また、UHT 牛乳の中には(D)のようにたんぱく質変性率の比較的少ないものもあった。

UHT 牛乳のホエイたんぱく質変性率については、高木らは 91.1 ± 0.6 %であったと報告している¹¹⁾。また、岩附らは 130°C で 2 秒殺菌の UHT 牛乳について 76%、140°C で 2 秒殺菌の UHT 牛乳について 79%であったと報告している¹⁰⁾。前述のように分析方法および試料の違いにより測定値に若干差が出ると考えられるが、このことを考慮しても、一般の市販の UHT 牛乳のホエイたんぱく質変性率は 76%~90 %以上になると考えられる。

3. 2 ホエイ中のたんぱく質の分析

図 2 (a)に加水分解後のアミノ酸量から求めた HTST 牛乳と UHT 牛乳の殺菌前後のホエイ中のたんぱく質量を示す。HTST 殺菌前のホエイ中のたんぱく質量は 656 mg/100g であるが、HTST 殺菌後は 483 mg/100g と約 26%減少した。

対して UHT 殺菌の場合、殺菌前は 512 mg/100g であり、もともと生乳中のたんぱく質量は、HTST 牛乳に用いる生乳のたんぱく質量より少なかったが、殺菌後は 139mg/100g となり約 73%減少した。

図 2(b)に市販牛乳のホエイ中のたんぱく質量を示す。市販の LTLT 牛乳 (A) では 476mg/100g であり、(a)の HTST 牛乳とほぼ変わらない一方、市販の UHT 牛乳(B, C)ではそれぞれ 128mg/100g、129 mg/100g を示した。(D)の UHT 牛乳では 297 mg/100g と他の UHT 牛乳に比べて多いことがわかった。

4. まとめ

本研究では、収集時期の異なる千葉県産牛乳を試料として、UHT と HTST 殺菌牛乳の殺菌前及び殺菌後の試料及び市販牛乳のホエイたんぱく変性率の測定と、ホエイ中のたんぱく質量の測定を行い、殺菌方法によるホエイたんぱく質の変性の違いを調べた。その結果、ホエイたんぱく質変性率は、UHT 牛乳では 86.5%-89.4%と高い値を示したが、HTST 牛乳は 15.0%であり、これは市販の LTLT 牛乳(18.6%)とほぼ同じ値であった。

また、アミノ酸分析装置によるホエイ中のたんぱく質量の分析から、HTST 殺菌後のホエイ中に残存するたんぱく質量は UHT 殺菌後のそれよりも多いことがわかり、市販の LTLT 牛乳と同程度残存していることがわかった。

参考文献

- 1) 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会編：日本食品標準成分表2015.
- 2) 一般社団法人Jミルク編：牛乳・乳製品の知識改訂版(2017) p.33.
- 3) 石井哲也, ミルクサイエンス, 54, (1) 1-8, 2005.
- 4) 今井哲哉, ミルクサイエンス, 55, (4) 227-235, 2007.
- 5) 山内恒治, 日本食品科学工学会誌, 53, (3) 193, 2006.
- 6) 上野宏, ミルクサイエンス, 61, (2) 105-113, 2012.
- 7) 大垣佳寛, 大久保紘子, 海老原昇, 宮崎浩子, 高野和也, 白井寛, 三浦みゆき, 千葉県産業支援技術研究所研究報告, 17, 12-16, 2019
- 8) 日本薬学会編：乳製品試験法・注解 (1999) 61-63.
- 9) 日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編：新・食品分析法 (1996) 496-497.
- 10) 岩附慧二, 溝田泰達, 住正宏, 外山一吉, 富田守, 日本食品科学工学会誌, 46, (8) 535-542, 1999.
- 11) 高木和子, 依田一豊, 宮澤賢司, 原田岳, 何方, 平松優, 日本官能評価学会誌, 20, (1) 10-15, 2016.