

乳タンパク質ゲル状食品の力学物性と構造への澱粉添加の影響

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-07-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 付, 惟 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10291/19575

明治大学大学院農学研究科

2017年度

博士学位請求論文

乳タンパク質ゲル状食品の

力学物性と構造への澱粉添加の影響

Effects of starches on mechanical properties and
microstructures of milk-protein gelling food

学位請求者 農芸化学専攻

付 惟

乳タンパク質ゲル状食品の力学物性・構造への澱粉添加の影響

目次

1	序論	7
1-1	はじめに	
1-2	食品構造に依存する食感の形成と破壊	
1-3	食感に関わる相分離構造の形成と破壊における界面の重要性	
1-4	ゲル状食品とモデルゲル	
1-5	タンパク質ゲル	
1-6	タンパク質ゲル状食品であるプロセスチーズ	
1-7	食感に寄与する多糖類の一種である澱粉	
1-8	電子顕微鏡による構造観察	
1-9	本研究の課題	
2	ネットワーク構造の異なるホエータンパク質 (WPI) ゲルの力学物性と構造への澱粉添加の影響を構造破壊から解析する	18
2-1	緒言	
2-2	材料及び方法	
2-2-1	材料	
2-2-2	ゲル作製法	

- 2-2-2-1 WPI 単独ゲル作製法
- 2-2-2-2 WPI・澱粉共存ゲル作製法
- 2-2-3 分析法
 - 2-2-3-1 RVA 試験
 - 2-2-3-2 破断強度試験
 - 2-2-3-3 走査型電子顕微鏡 (SEM)
 - 未破壊構造観察
 - 構造破壊
 - アミラーゼ処理法による澱粉の除去
- 2-2-4 統計処理
- 2-3 結果及び考察
 - 2-3-1 ネットワーク構造の異なる WPI 単独ゲル
 - 2-3-2 澱粉の RVA 粘度糊化曲線への pH の影響
 - 2-3-3 WPI・澱粉共存ゲルの破断強度試験
 - 2-3-4 WPI・澱粉共存ゲルの微細構造観察
 - 各種ゲルにおけるタンパク質連続相構造
 - ストランド構造におけるタピオカ澱粉の添加
 - ストランド構造における馬鈴薯澱粉の添加
 - ランダム構造におけるタピオカ澱粉の添加
 - ランダム構造における馬鈴薯澱粉の添加
 - 2-3-5 WPI・澱粉共存ゲルの構造と物性の関係
- 2-4 結論
- 2-5 図表

3 プロセスチーズの力学物性と構造への作製条件の影響

3-1 プロセスチーズの力学物性と構造への異なる乳化条件の影響 - - - - 45

3-1-1 緒言

3-1-2 材料及び方法

3-1-2-1 材料

3-1-2-2 プロセスチーズ作製法

3-1-2-3 分析法

3-1-2-3-1 破断強度試験

3-1-2-3-2 共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM)

3-1-2-3-3 走査型電子顕微鏡 (SEM)

3-1-2-4 統計処理

3-1-3 結果

RVA による乳化条件の異なるプロセスチーズ見かけ粘度曲線

乳化条件の異なるプロセスチーズの破断強度曲線

微細構造観察

3-1-4 考察

3-1-5 結論

3-1-6 図表

3-2 プロセスチーズの力学物性と構造へのプレクックチーズ添加の影響 - 68

3-2-1 緒言

3-2-2 材料及び方法

3-2-2-1 材料

3-2-2-2 プロセスチーズ作製法

3-2-2-3 分析法

3-2-2-3-1 破断強度試験

3-2-2-3-2 共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM)

3-2-2-3-3 走査型電子顕微鏡 (SEM)

3-2-2-4 統計処理

3-2-3 結果及び考察

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの見かけ粘度曲線

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの破断強度曲線

微細構造観察

異なる乳化条件のプレクックチーズの影響

3-2-4 結論

3-2-5 図表

4 ネットワーク構造の異なるプロセスチーズの力学物性と構造への澱粉添加の影響 ----- 81

4-1 緒言

4-2 材料及び方法

4-2-1 材料

4-2-2 プロセスチーズ作製法

4-2-2-1 プレクックチーズの作製

4-2-2-2 プロセスチーズの作製

4-2-3 分析法

4-2-3-1 破断強度試験

4-2-3-2 走査型電子顕微鏡 (SEM)

微細構造観察

アミラーゼ処理法による澱粉構造の除去

4-2-4 統計処理

4-3 結果及び考察

4-3-1 二種類のカゼインミセルネットワーク構造

4-3-2 見かけ粘度

4-3-3 破断強度試験

4-3-4 微細構造

4-4 結論

4-5 図表

5	要約	-----	104
6	引用文献	-----	110
7	著書及び投稿論文	-----	124
8	謝辞	-----	125

1 序論

1-1 はじめに

食品のおいしさは、風味や香りなどの化学的要因と、外観や食感などの物理的な要因によって決定される。現代社会において、おいしさを決める要素の中で食感の占める割合はますます増大している¹。食感は英語では食品属性としてのフードテクスチャー (Food Texture) やヒト感覚のマウスフィール (Mouthfeel) と言われている²。テクスチャーという言葉はもともと textile からきた織物を指し、転じて織り方、組織、構造、感触を意味するようになり³、国際標準化機構 (International Organization for Standardization) において、フードテクスチャーは「力学的、触覚的および適切であれば、視覚的・聴覚的な方法で感知できる食物の力学的・幾何学的・表面状態の総体」と定義されている。また、マウスフィールは「固体、半固体、液体食品、飲料が口腔内に存在するときから嚥下するまでに知覚される触覚 (感触) の性質」である⁴。つまり、食感は咀嚼中に感覚器官により感知される物理的性質である⁵。本研究は、その食感を物性面と構造面から追究することを主題としている。第一章では、本研究の背景となる乳タンパク質ゲル状食品における食品構造の形成と破壊、また、タンパク質・多糖類多成分系の相分離構造と食感の関係について述べる。

1-2 食品構造に依存する食感の形成と破壊

食品構造は食品構成成分と食品加工条件によって決められる。実際の食品は多成分 (タンパク質、多糖類、油脂、水、空気、味・香り成分など) からなる不均質構

造を持っている。特に、タンパク質や多糖類のようなハイドロコロイド（生体高分子化合物）は食品構造を形成する本体であり、その量と存在状態が食感に直接関与している^{6,7}。一般的に、タンパク質と多糖類は分散液としてコロイド状態で存在している。そして、食品加工条件によって、ゲル化・相分離などの食品構造（ネットワークなど）を形成しており、ゲルに食感（物理的な性質など）を付与している。その食感人間が咀嚼することによって、食品構造の破壊過程から力学特性と構造状態の変化を知覚・認知しており、言葉で表現される。つまり、食品構造が食感を決定する前提とされている。そのため、食品構造を制御することによって、おいしい食感の創造に寄与すると考えられている^{4,5,8,9}。

1-3 食感に関わる相分離構造の形成と破壊における界面の重要性

実際の加工食品ではタンパク質と多糖類を併用した場合、それぞれの単独での特徴が発揮されず、狙った食感を実現することが難しい。その原因の一つとして、多成分系で生じる相分離現象がある。食品の様な高濃度のタンパク質・多糖類共存系においては、これらの成分間での相互作用の有無により凝集性(Aggregative)相分離、または分離性(Segregative)相分離のいずれかの現象を起こす¹⁰⁻¹²。凝集性相分離は、タンパク質・多糖類間に相互作用がある場合に起こり、電氣的に中性な凝集体を形成する。そのため、温度や圧力、pH、イオン強度、タンパク質・多糖類混合比、固形分濃度などが凝集性相分離を引き起こすファクターと考えられている¹³。一方、分離性相分離はタンパク質・多糖類間に相互作用がない場合に生じる。これは、タンパク質のコロイド粒子と多糖類のポリマー鎖間の斥力により、ポリマー鎖がコロイド粒子から排除され、生じたコロイド粒子周辺の濃度とバルク相濃度の浸透圧差によりコロイド粒子が凝集する、枯渇凝集効果に起因する。この様に、

高濃度系においては相互作用の有無で 2 種類の相分離現象を起こすと考えられている。

高濃度系であるゲル状食品では、タンパク質や多糖類を主要な構成成分としているため、相分離、特に分離性相分離が起こる。タンパク質相と多糖類相に相分離した w/w エマルジョン構造を形成することが知られており¹²、この相分離構造を形成する要因としては両成分間の熱力学的不相和性や、枯渇凝集効果などが考えられている¹⁴。そのため、高固形分濃度ほど、また低温ほど、相分離が起こり易い。この相分離が起こると、分散相成分は食品中で局在し、食品全体の力学特性に寄与できない。さらに、新たに界面を形成するため、各単独成分では見られない特性が現れる。そのため、単独系とは異なる多成分系での食品構造と食感の関係を明らかにすることは、食品開発や製造において単に試行錯誤を繰り返すのではなく、指標やイメージをもって効率的に食感を設計するための基盤になると期待される。

例として、卵白と寒天共存系において生じる相分離構造が挙げられる^{7,15}。我々行った研究では、卵白タンパク質と寒天の濃度を変化させると転相が起こり、連続相が異なるゲルを形成した。すなわち、①多糖類分散相/タンパク質連続相、②タンパク質と多糖類のいずれもが連続相を形成する両連続相、さらに③タンパク質分散相/多糖類連続相、これら三種類のゲルを形成した。これら連続相の異なるゲルについて、クリープメータを用いて圧縮し、破断測定（応力・歪曲線）から力学特性を数値化した。圧縮初期の立ち上がりの応力は連続相を形成しているものの単独での性質と一致した。また、目視と走査型電子顕微鏡により、マクロ・ミクロレベルで破壊過程を観察し、状態構造の変化を画像化した。その結果、卵白の凝集ネットワークと寒天の繊維ネットワークが相互に貫入している様子はなく、いわゆる分離性相分離に相当すると考えられる。つまり、卵白と寒天の界面での相互作用がなく、分散相は連続相に充填されているインアクティブフィラー (inactive filler) で

あることが明らかとなった。また、相分離した卵白タンパク質と寒天の界面で亀裂が発生・伝播していく様子が見られた。このように、咀嚼のはじめ（構造破壊前）のかたさは連続相により決定されると考えられる。

1-4 ゲル状食品とモデルゲル

食品の形状は液状、半固形 (semisolid)、ソフト固形 (softsolid)、固形の四種類に分けられる¹⁶。中でも、半固形、ソフト固形はゲル状食品と呼ばれる。例として、チーズやプリンのようなタンパク質ゲル状食品が挙げられる。これらタンパク質ゲル状食品は多くの場合、複数の成分から構成されている。その中でも、食品の構造を形成する主要な成分としてタンパク質と多糖類が挙げられる。これらタンパク質や多糖類の食品素材は、単独成分として用いられるだけでなく、食感に多様性を持たせる目的で併用され、構成的かつ構造的に複雑である^{10,14,17}。そのため、本質的に還元主義的アプローチとして、モデルゲルが用いられている¹⁸。

コロイド科学において、液体を分散媒とし、固体を分散相とする分散系のうち、流動するものをゾル、流動しないものをゲルと定義している¹⁶。食品に関係の深いタンパク質や多糖類のゲルは有機高分子ゲルに属している。高分子ゲルのうち、共有結合により架橋されネットワーク構造が形成されているものを化学ゲルと呼んでいる。これに対して、水素結合、静電的相互作用、疎水性相互作用などの二次結合によりネットワーク構造が形成されているようなゲルを物理ゲルと呼んでいる。食品のモデルゲルにおいて、w/w エマルションゲルと o/w, w/o, w/o/w エマルションの乳化ゲルが含まれている。さらに、複雑なモデルゲルでは、塩、砂糖、アルコールの役割も検討されている。いずれにおいても、タンパク質や多糖類のような生体高分子化合物は食感素材と位置付けられる。これら食品素材は製造加工でど

のような変化を経て食品構造を形成するのか？形成した食品構造が咀嚼によりどのように破壊し食感を発現するのか？これらの変化の過程を具体的にイメージ化できれば、効率的なものづくりと望む食感の実現につながると考えられる⁷。

1-5 タンパク質ゲル

タンパク質ゲルは繊維状あるいは球状タンパク質によってネットワーク構造が形成され、そのネットワーク構造の特性として結び目（架橋領域）の大きさ、架橋領域間の距離、それを結ぶ分子の形態などが重要と考えられる¹⁶。この様な食品タンパク質ゲルにおいて、タンパク質の固形分濃度や温度、pH、イオン強度を調節することにより、透明ゲル、透明ゾル、白濁ゲル、白濁ゾルを自由に作製できることが知られている¹⁹。つまり、濃度や pH などこれら条件の変化により、食品タンパク質分子の配列状態の変化を引き起こし、さらにゲルの光散乱強度に影響を与え、ゲルの巨視外観特徴に反映される。中でも、pH はゲルに定性的に影響するファクターとして、静電的相互作用によるタンパク質分子の凝集状態を考える上で、タンパク質相の形態形成において重要である^{17,20-24}。タンパク質ゲルのネットワーク構造のマトリクスとして、斥力的 (repulsive) ストランド構造と引力的 (attractive) ランダム構造の二種類がある。ストランド構造は、タンパク質分子間の静電力が斥力である場合に起こり、球状タンパク質分子が数珠状に会合するタンパク質連続相構造である。一般的に、等電点より pH が高いほど、あるいは低いほど、ストランドタンパク質ネットワーク構造が形成される。一方、ランダム構造は球状タンパク質分子が塊状に凝集した粒子集合体のタンパク質連続相構造である。タンパク質分子間の電荷が等電点に近い、つまり、引力の下で、粒子集合体を起こす。この pH に、さらにタンパク質ゲルの水分損失および物理特性の影響を検討した研究は、 β -ラ

クトグロブリン²⁵を始め、多く報告されている²⁶⁻³²。

1-6 タンパク質ゲル状食品であるプロセスチーズ

プロセスチーズは流行的、かつ伝統的なゲル状食品であり、世界多数国の食品産業において重要な役割を占めている。プロセスチーズは 1911 年に Gerber 社（スイス）の Walter Gerber と Fritz Stettler によって発明された。当時のプロセスチーズ製造の目的は、ナチュラルチーズを殺菌し、賞味期限を延ばすことであった。現在、プロセスチーズの特徴は原料の種類・配合や製造条件などを変えることにより、いろいろな食感・風味・二次加工特性の製品を作製できることである。また、プロセスチーズはキャンディー、スライス、粉状など、製品の形状が多様であることが特徴として挙げられ、ピザ、ハンバーガーやパンのような食品においても多く応用されている。日本におけるプロセスチーズの消費は、チーズの消費全体の約 50% を占めており、ナチュラルチーズと同様重要な位置を占めている³³。

一般的に、ナチュラルチーズは酸処理或いは酵素反応を通じて、乳中のカゼインミセルの疎水結合により作製される。一方、プロセスチーズは、ナチュラルチーズを加熱溶融し、溶融塩の乳化促進作用により再び成型するものである。そのため、プロセスチーズは主にカゼインミセルのネットワーク構造からなり、カゼインのネットワーク構造に脂肪球が分散している。プロセスチーズが、多相・多成分系 o/w エマルション構造を持っていると考えられ、特に、タンパク質連続相がプロセスチーズの乳化・安定化・ゲル化に寄与し、プロセスチーズに物理的性質を付与させる。そのため、プロセスチーズ製造の特徴は、配合や製造条件から物性や構造などを設計できる自由度が大きいことが挙げられる。

1-7 食感に寄与する多糖類の一種である澱粉

品質の多様性が求められる食品開発の現場において、望む食感を設計することは最も必要とされている。多糖類を添加することは一般的な方法である。多糖類は多くの種類があり、多様な食感を生み出す素材として幅広く使われている。例えば、食感を付与する常用な多糖類として澱粉が用いられている。澱粉は緑色植物の葉緑体中で光合成された多数の α -グルコース分子がグリコシド結合によって重合した天然高分子多糖類である。増粘、分散、安定、ゲル化、保水などの機能を持ち、他の多糖類ハイドロコロイドと比較して安価でもあるために、広く用いられている。食品で使用される時、最も重要な特性は糊化及び老化である。澱粉の糊化と老化は澱粉を含有する食品素材を扱うすべての食品工業にとって最大の関心である。糊化は熱と水により澱粉粒が膨潤し、粘度が上昇する現象（澱粉粒中の結晶領域の部分の融解）であり、老化は糊化の逆の現象（再配列、再結晶化）である。澱粉粒は、物理的に結晶部分、非結晶部分を含み、化学的にもアミロースとアミロペクチンを含む不均質な物質である^{34,35}。基本的に、アミロースは α -D-グルコースが一位と四位で脱水結合した直鎖状高分子であるのに対し、アミロペクチン分子はグルコースが α -1,4-結合で連結しているほかに、散発的に α -1,6-結合で分岐している三次元構造の房状モデルであると考えられている。アミロースとアミロペクチンの分布、溶出状態や鎖長などが糊化粘度に影響を与える。例えば、コロイド粒子間の架橋結合により、粘度上昇や弾性増加が起こる。そのため、澱粉は食品のテクスチャー（食感）・モディファイヤーとして広く用いられている³⁴⁻³⁶。

澱粉の種類は様々あり、中でも、タピオカ澱粉や馬鈴薯澱粉はそれぞれ特徴があり、食品製造に、よく利用されている。タピオカ澱粉は、キャッサバまたはマニオカと称される中南米原産の植物の塊茎から得られる澱粉である。タピオカ澱粉は食

品の食感改良の目的で広く用いられている。例えば、うどんに添加することで、特徴的な「もちもち」とした食感が付与されることが知られている³⁷。対照的に、馬鈴薯澱粉は「さっくり」とした食感を付与する³⁸。この様に違う食感を付与することは、それぞれの澱粉の性質や構造が決めると考えられる。

1-8 電子顕微鏡による構造観察

電子顕微鏡は、1932年、ドイツのエルンスト・ルスカ (Ernst Ruska) らによって発明された³⁹。電子顕微鏡の発明によって様々な新しい知見が得られた。電子顕微鏡の最大の特徴はその高い分解能にある。そのため、駆使すれば分子レベルの情報が得られる。目的とする食品素材あるいは加工食品のミクロレベルからサブミクロ、ナノレベルまでの構造解析が可能である⁴⁰。電子顕微鏡には、透過電子顕微鏡 (TEM) と走査電子顕微鏡 (SEM) の2種類がある。TEMは主に試料の内部構造を観察するもので、得られる像は二次元の像である。SEMは、試料の表面形態を立体的に観察するのに用いられる。SEMは、性能や操作性の向上並びに多機能化に伴い医学・生物学領域に留まらず非生物系を含め極めて広い領域に浸透、それぞれ独自の試料作製法が考案されている。また、観察目的によっては基本的な試料作製法のどこかで目的にあわせた処理を行う。そのため、観察目的に応じた試料作製法を選択することが必要となる。とりわけ電子顕微鏡による観察する手法を確立することが必要となる。

例えば、食感は食品構造の破壊過程で発現するため、この破壊時の構造変化 (構造破壊過程) について明らかにすることは重要である^{41,42}。破壊後の構造の形状から食感発現を明らかにすることもできる。しかし、現在、破壊構造を観察する明確な手法は確立されていない。未破壊 (破壊前) の構造と破壊時 (破壊後) の構造を

観察し、比較することで、どのように構造が破壊されたのかを明らかにすることができると考えている。

1-9 本研究の課題

本研究は、高濃度系である乳タンパク質ゲル状食品を想定し、ホエータンパク質（WPI）モデルゲルと実際の乳タンパク質ゲル状食品であるプロセスチーズを対象とし、多糖類である澱粉を添加することによって、変形試験によるタンパク質・多糖類多成分系食品の食感の変化を物性面と構造面から追究する。過去の研究において、タンパク質・多糖類共存系の変形試験による破断特性について、多くの研究が報告されてきた^{17,19-24,43-47}。しかし、異なるネットワーク構造の乳タンパク質に食感の異なる澱粉を添加することで、破断特性にどの様に影響を与えるのかは明らかになっていない。多成分系でのより豊かな食品構造と食感の関係を明らかにすることは、指標やイメージを持って効率的に食感設計をするための基盤になると期待される。

そこで、第2章では、乳タンパク質ゲル状食品に繋がるWPIと食感の異なる澱粉（タピオカ澱粉・馬鈴薯澱粉）の共存ゲルをモデルとして、基礎研究を行った。ネットワーク構造の異なるWPIゲルの破断特性への食感の異なる澱粉の添加の影響を破壊過程から明らかにすることを目的とした。具体的に、pHによる異なるタンパク質マトリクス構造（ランダム/ストランド）を形成し、少量の澱粉を添加することによる食感変化の違いを決定した。食感を解析するためには、機器によって客観的に力学特性を解析し、さらに、構造破壊過程における構造変化の可視化に重点を置いた。特に、破壊構造に着目し、破断特性と破壊構造の相関について解析した。本章で行った構造観察や物性測定の手法は、咀嚼を模擬した手法であり、他の

食品でも応用可能であると考えている。

第3章では、タンパク質・多糖類素材だけではなく、実際の加工食品であるプロセスチーズを取り上げた。プロセスチーズは主にカゼインミセルのネットワーク構造からなる。乳タンパク質カゼインの形態について乳からカード、ナチュラルチーズ、プロセスチーズを通してみると、カゼイン自体の形態変化もさることながら、その周囲に存在するカルシウム、リンの量及び量比が変化すると、カゼイン粒子間の相互作用が変わり、その結果として新規な構造が形成される。そこで、ネットワーク構造の異なる WPI ゲルと同様に、ネットワーク構造の異なるプロセスチーズの作製を目指し、プロセスチーズの力学特性と構造への作製条件の影響を検討した。まず、ラビッド・ビスコ・アナライザー (RVA) による異なる乳化条件で確立し、異なる溶融塩を使用し、各乳化条件におけるプロセスチーズの力学物性と構造への影響を評価することを目的とした。さらに、各乳化条件で作製したプロセスチーズをプレクックチーズとして再添加し、プロセスチーズの力学物性と構造へのプレクックチーズ添加の影響を評価することも検討した。本章で行った研究に基づいて、プロセスチーズの力学物性とネットワーク構造 (ランダム/ストランド) をコントロールできることが明らかとなった。

第4章では、第三章の結果に基づいて、同じ加熱条件でランダム/ストランドのネットワーク構造の異なるプロセスチーズを作製し、力学物性と構造などへの食感の異なる澱粉添加の影響を検討した。澱粉を添加したプロセスチーズの破断特性と微細構造の変化及び破断特性と多成分共存構造の相関を明らかにすることを目的とした。

以上の様に、本研究では、タンパク質と多糖類、油脂などからなる不均質食品ゲルの構造形成と構造破壊の過程について、基本的な考え方と、食品開発における構造的イメージ化の重要性を示した。加えて、食品構造を設計することで食感を実現

する「食品構造工学」の確立に寄与すると考えている。

2 ネットワーク構造の異なるホエータンパク質（WPI）ゲルの力学物性と構造への澱粉添加の影響を構造破壊から解析する

2-1 緒言

食品のおいしさには、低分子量の食品成分が寄与する「化学的おいしさ」と、高分子量の成分が寄与する「物理的おいしさ」に大別される。中でも物理的おいしさである食感、チーズやゼリーのようなゲル状食品において、おいしさに大きく寄与することが明らかにされている⁴⁸⁻⁵¹。これら食感は加工により形成された食品構造を咀嚼により破壊することで知覚される。そのため、食品成分の分散、集合および配列状態の異なる食品構造が食感の違いを生じると考えられる^{1,52-54}。実際の食品では、生体高分子であるタンパク質や多糖類を複数の構成成分として構造が形成されている⁸。開発のスピードが求められる食品開発の現場において、効率的に望む食品の食感を設計するためには、タンパク質や多糖類がどのように構造を形成するのか、またその構造がどのような食感を示すのかを理解する必要がある^{55,56}。そのため、タンパク質と多糖類を共存させたゲルの構造形成の機構に関する研究は多く報告されている^{17,19-24,43}。しかし、破壊構造に関する研究は少なく、食品構造の破壊と食感の関係は明らかになっていない。

食品タンパク質の中では、ホエータンパク質（WPI）はゲル化能や乳化能、起泡性といった様々な機能性を有することから、食品素材や機能性代用食品として広く用いられている。そのため、タンパク質と多糖類を共存させた系において、タンパク質としてWPIを用いた研究は多数ある^{28-30,57-61}。WPIは、牛乳からカゼインや脂肪を取り除いた液体部分であるホエーに含まれる球状タンパク質であり、 β -ラクトグロブリンを主要タンパク質として、 α -ラクトグロブリン、血清アルブミン、

免疫グロブリン、ラクトフェリンなど、複数のタンパク質により構成されている。ホエータンパク質のゲル化過程は、タンパク質分子間の引力と斥力のバランスに依存する²⁶。溶剤の条件（pHとイオン強度）や加熱条件（加熱温度と加熱速度）等を変化することにより、タンパク質分子間の相互作用が変化するため、ゲル形成過程に影響を与える。 β -ラクトグロブリンは球状タンパク質であり、WPIのゲル化過程において、重要な役割を果たす。球状タンパク質の電荷により、主に粒子状ランダムと数珠状ストランドの二つタイプのネットワーク構造を持つゲルが形成される。斥力が大きいほど、ストランドタイプが形成される。また、等電点に近く引力が大きいほど、ランダムタイプのネットワークが形成される^{25,27}。

一方、食品製造において、澱粉の添加がタンパク質類食品に影響を与え、澱粉の食感を食品に付与させ、さらに、新たな食感を付与する。しかし、その原因に着目すると、澱粉やタンパク質など多成分間で界面を生じることで破断特性に影響を与えるのか、あるいは、成分間の相互作用を生じて破断特性に影響を与えるのかは明らかになっていない。そこで、本章では、食感の異なるタピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉を添加したWPIゲルを食品モデルとし、ネットワーク構造の異なるWPIゲルの破断特性への食感の異なる澱粉の添加の影響を破壊過程から明らかにすることを目的とした。特に、破断特性と共存成分の界面相互作用の関係について検討した。具体的には、食感の異なるタピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉を添加したゲルについて、破断強度試験により破断特性を測定し、顕微観察により共存ゲルの連続相構造、分散相である澱粉構造、界面構造、さらにゲルの破壊構造を観察した。

2-2 材料及び方法

2-2-1 材料

ホエータンパク質[無脂乳固形分 94.0%、乳脂肪分 1.0%]として乾燥乳タンパク質ビプロ(WPI)を株式会社光洋商会より入手した。タピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉は株式会社 J-オイルミルズより入手したものを使用した。 α -アミラーゼ(枯草菌性、ノボザイムズ社ターマミル 120L 使用)は和光純薬工業株式会社より入手した。ローダミン B はナカライテスク株式会社より入手した。50%グルタルアルデヒド溶液(TAAB)、2%四酸化オスミウム(千代田純薬株式会社)を使用した。その他試薬はすべて特級を用いた。全ての水溶液調製には、蒸留水を使用した。

2-2-2 ゲル作製法

2-2-2-1 WPI 単独ゲル作製法

WPI を固形分濃度が 15%(w/w) [材料濃度 15.8%(w/w)]となるように、蒸留水中へ溶解させた後、10 分間攪拌し溶液を作製した。その後、pH METER(F-52) (HORIBA 株式会社)で測定し、0.1mol/L 塩酸溶液を用いて、pH6.8 と pH5.8 の WPI 溶液を調製した。直径 10mm の 2ml 容量のポリプロピレン製チューブにこれら溶液を入れ、恒温槽を用いて 95°C 10 分間加熱した。その後、氷水にて 10 分間冷却し、5°Cで一晩放置したものを分析用ゲルとした。

2-2-2-2 WPI・澱粉共存ゲル作製法

WPI を固形分濃度が 20%(w/w) [材料濃度 21%(w/w)]となるように、蒸留水中へ溶解させた後、10 分間攪拌し溶液を作製した。その後、澱粉粉末を WPI 溶液中へ分散させ、WPI と澱粉の目標濃度がそれぞれ 15%(w/w)と 2.5%(w/w)となるように蒸留水で調製した。0.1mol/L 塩酸溶液で pH を 6.8 と 5.8 に調整し、直径 10mm の 2ml 容量のポリプロピレン製チューブに入れた。その後、恒温槽を用いて 95℃10 分間加熱した。氷水にて 10 分間冷却し、5℃で一晩放置したものを分析用ゲルとした。分析用サンプルとして pH6.8 と pH5.8 の WPI 単独ゲル(N)、タピオカ澱粉・WPI 共存ゲル (T)、馬鈴薯澱粉・WPI 共存ゲル (P)、計六種類を作製した。

2-2-3 分析法

2-2-3-1 RVA 試験

ハロゲン水分計 (HG53-P, METTLER TOLEDO) にて 0.2g のタピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉それぞれ水分含量 (A) を測定した。式： $(1-A/100) \cdot x / (25\text{ml}+x) = 6\%$ により、澱粉量 (x) を決めた。その後、6%澱粉溶液を作製した。pH6.8 と pH5.8 に調整し、Rapid Visco Analyzer (RVA-4, Newport Scientific, Australia) にて 160rpm、20 分の条件で 30~95℃まで昇温し、95℃で 5 分保持した後、30℃まで冷却する加熱パターンで、それぞれ pH の異なる澱粉溶液の RVA を測定した。

2-2-3-2 破断強度試験

作製したゲルを 25°C の恒温槽に 30 分放置した後、チューブから取り出し、かみそり（ニッケンかみそり株式会社製厚さ 0.1mm）にて直径 10mm、高さ 5mm の円柱状に成形した。クリープメータ RE2-33005s（株式会社山電）にて破断強度試験を行った。直径 3mm の貫入型プランジャー（No.4）を用い、圧縮速度 1.0mm/sec、歪率 99%まで一軸方向に圧縮した。得られた応力-歪曲線から破断強度解析ソフトウェア Ver.2.0 を用い、破断応力、破断歪を求めた。各ゲルにつき、少なくとも 20 回以上測定した。

2-2-3-3 走査型電子顕微鏡（SEM）

未破壊構造観察

作製したゲルを室温に戻した後、かみそりで $1\text{mm}^2 \times 5\text{mm}$ の長方形の試料に成形した。これを 2% (w/v) グルタルアルデヒド溶液に 60 分浸漬させた後、1% (w/v) オスミウム溶液に 90 分間浸漬し、化学二重固定を行った。次いで、30%、50%、60%、70%、80%、90%、95% (v/v) のエタノール溶液に各 20 分間浸漬した後、100% エタノールに 2 回浸漬させて脱水した。その後、酢酸イソアミルに 20 分間 2 回浸漬させ、溶媒置換した。臨界点乾燥機 JCPD-5（日本電子株式会社）を用い、液体 CO_2 に置換後、臨界点乾燥した。乾燥した試料をピンセットで割り、この割断面を上にし、直径 12.5mm の試料台にカーボンテープで貼り付けた。さらに、オスミウムプラズマコーター NL-OPC80N（フィルジェン株式会社）を用い、オスミウムの膜厚がおよそ 10nm となるよう蒸着した。電界放射形走査型電

子顕微鏡(SEM)JSM-6700F（日本電子株式会社）を用いて、加速電圧 3kV、照射電流 $8\mu\text{A}$ で観察した。

構造破壊

作製したゲルについて、圧縮試験を行った。直径 40mm の円板型プランジャー (No.2) を用い、圧縮速度 1.0mm/sec、歪率 99%まで一軸方向に圧縮した。プランジャーは歪率 99%まで止めさせ、破壊サンプルとした。その後、2-3-3-1 項と同様の方法でサンプルを前処理し、電界放射形走査型電子顕微鏡 (SEM)JSM-6700F（日本電子株式会社）を用いて、加速電圧 3kV、照射電流 $8\mu\text{A}$ で観察した。

アミラーゼ処理法による澱粉の除去

アミラーゼ処理によって澱粉を除去したゲルを SEM 観察することで、ゲル中の澱粉構造の確認を行った。ゲルをマイクロチューブから取り出し、直径 5mm、高さ 1mm の円柱型にした。円柱型にしたゲルを、蒸留水 6ml、 α -アミラーゼ原液 $20\mu\text{L}$ の混合液を調製し、スチロールねじ瓶 (10mL) に入れ、 37°C に設置した恒温槽中で振動させずに 3 時間処理した。この処理を行ったものについて、2-3-3-1 項に準じて前処理を行い、SEM 観察を行った。

2-2-4 統計処理

統計処理には、IBM SPSS Statistics Ver.21（日本アイ・ビー・エム株式会社）を用いた。また、試料間の破断特性の差を検定するため、一元配置の分散分析による多重比較を行い、有意差を算出した。

2-3 結果及び考察

2-3-1 ネットワーク構造の異なる WPI 単独ゲル

pH の異なる WPI 単独ゲルのデジタルカメラの巨視的写真と SEM 観察によるネットワーク構造を図 2-1 に示した。pH6.8 の WPI 単独ゲルは透明であり、ネットワーク構造は数珠状の様なストランド構造であった。それに対し、pH5.8 の WPI 単独ゲルは白濁しており、粒子凝集状のランダムネットワーク構造が見られた。

WPI 単独ゲルの破断強度試験による応力・歪曲線を図 2-2 に示した。pH6.8 の WPI 単独ゲルでは、応力・歪曲線の立ち上がり応力が緩やかに上昇したのに対し、pH5.8 では急激に上昇した。しかし、pH6.8 では高歪高応力で破断したのに対し、pH5.8 では低歪低応力で破断した。

2-3-2 澱粉の RVA 粘度糊化曲線への pH の影響

pH の違いが澱粉の糊化特性に影響を与えれば、WPI・澱粉共存ゲルの破断特性にも微細構造にも影響を及ぼすと考えられる。そのため、澱粉単独の糊化特性への pH6.8 と pH5.8 の差を調べるために、RVA による澱粉の糊化粘度変化を測定した。

pH の違いによりタピオカ澱粉及び馬鈴薯澱粉単独溶液の粘度糊化曲線を図 2-3 に示した。タピオカ単独溶液の粘度糊化曲線では、pH6.8 と pH5.8 のタピオカの糊化粘度の違いは認められなかった。馬鈴薯単独溶液の粘度糊化曲線では、pH5.8 は pH6.8 より馬鈴薯の最高糊化粘度が少し減少したが、全体的糊化粘度曲線はほぼ変わらなかった。すなわち、pH6.8 と pH5.8 の違いにより、タピオカ澱粉に糊

化粘度の違いは認められなく、馬鈴薯は少し認められたが、ほぼ同じであった。以上のことから、二種類の澱粉単独の糊化特性へのこの範囲での pH の影響はほとんど認められないと判断した。

2-3-3 WPI・澱粉共存ゲルの破断強度試験

pH6.8 と pH5.8 の WPI 単独ゲル (N)、WPI・タピオカ澱粉共存ゲル (T) 及び WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲル (P) の応力・歪曲線を図 2-4、各サンプルの低歪の立ち上がり応力 (歪率 20%時の応力)、破断応力および破断歪率を表 2-1 に示した。pH6.8 では、WPI・タピオカ澱粉共存ゲルが応力 $4.84 \times 10^5 \text{Pa}$ 、歪率 86.9% で破断点を生じた。しかし、WPI 単独ゲルに比べて有意差は認められなかった。WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルでは、応力 $3.00 \times 10^5 \text{Pa}$ 、歪 82.2% で破断点を生じ、WPI 単独ゲルに比べて有意に低歪低応力で破断した ($p < 0.05$)。単独ゲルよりも、澱粉添加した場合には、20%歪率での立ち上がり応力が高かった。しかし、T と P の立ち上がり応力の差が見られなかった。一方、pH5.8 の WPI・タピオカ澱粉共存ゲルでは、歪率の増加に対し応力が増加しなくなる降伏点が表れ、明確に応力が低下する破断点を示さなかった。WPI 単独ゲルの破断歪率より、降伏点の歪率は 40.1% で有意に小さかった ($p < 0.05$)。すなわち、pH5.8 では、タピオカ澱粉を添加した WPI 共存ゲルは、脆性破壊から延性破壊へと変化し、より強固なゲルになると考えられる。WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルでは、応力 $3.48 \times 10^5 \text{Pa}$ 、歪 65.8% で破断点を生じ、WPI 単独ゲルに比べて有意に高応力で破断した ($p < 0.05$)。立ち上がり応力の順は $T > P > N$ であった。

pH6.8 のゲルと pH5.8 のゲルを比べると、pH6.8 の各種類ゲルの立ち上がり応力は緩やかに上昇したのに対し、pH5.8 では急激に上昇した。これは、主に pH

の違いにより、タンパク質ネットワーク構造が異なるためと考えられる。また、pH6.8 の各種類のゲルは pH5.8 の同種類のゲルと比べると、pH6.8 では、全てのゲルの立ち上がり応力が低下することを有意に示した ($p < 0.05$)。

2-3-4 WPI・澱粉共存ゲルの微細構造観察

各種類ゲルにおけるタンパク質連続相構造

各種類ゲルにおけるタンパク質連続相構造を図 2-5 に示した。pH6.8 では、WPI 単独ゲルのストランド構造よりも、WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルと WPI・タピオカ澱粉共存ゲルのタンパク質連続相構造は密になることが見られた。pH5.8 では、WPI 単独ゲルのランダム構造よりも、WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルのタンパク質連続相は密になり、WPI・タピオカ澱粉共存ゲルのタンパク質連続相の密度はさらに高いことが観察された。すなわち、 $T > P > N$ であった。澱粉の添加により、タンパク質連続相構造の密度は高くなることが明らかとなった。すなわち、共存ゲルにおいて、タンパク質連続相の密度がゲルの硬さを決め、連続相の密度が高くなることで、ゲルの立ち上がり応力が高くなる原因であると考えられる。

ストランド構造におけるタピオカ澱粉の添加

澱粉相構造を確認するため、アミラーゼ処理による澱粉を除いた画像と澱粉を含む共存ゲルの画像を比較した。pH6.8 の WPI・タピオカ澱粉の未破壊構造、アミラーゼ処理した構造と破壊構造を図 2-6 に示した。アミラーゼで処理した WPI・タピオカ澱粉共存ゲルの画像 (図 2-6, B) では、連続相である WPI 相の中に隙間が存在し、澱粉が除かれたと思われる様子が見られた。その内部の画像を拡大して見ると、球状のホエータンパク質粒子が観察された (図 2-6, b-1)。アミラーゼで

処理しない WPI・澱粉共存ゲル（図 2-6, A）の粒状部分の中では、アミラーゼで処理した場合（図 2-6, B）と異なる繊維状構造が見られた。その繊維状構造が澱粉であると考えられる。しかし、この澱粉粒と思われる場所に注目すると、外部のタンパク質と似ている構造も見られた。この部分を拡大して見ると、ホエータンパク質の球状粒子 P は繊維状の澱粉粒の構造 S と共存している様子が見られた（図 2-6, a-1）。すなわち、pH6.8 の WPI・タピオカ澱粉共存ゲルでは、分散相であるタピオカ澱粉粒内の繊維状ネットワーク構造の中にホエータンパク質球状粒子が局部的に存在している構造を有することが明らかとなった。これが、pH6.8 のタピオカ澱粉添加ゲルは WPI 単独ゲルの破断特性と似ている原因と考えられる。また、WPI・澱粉共存ゲルの破壊構造（図 2-6, C）では、生じた断面の両側では、球状のタンパク質構造が観察された。すなわち、破壊部位が澱粉のある構造ではなく、タンパク質連続相構造で生じるため、単独ゲルの破断特性と類似していたと考えられる。

ストランド構造における馬鈴薯澱粉の添加

pH6.8 の WPI・馬鈴薯澱粉の未破壊構造、アミラーゼ処理した構造と破壊構造を図 2-7 に示した。同様なストランド構造において、アミラーゼで処理した WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルの画像（図 2-7, B）では、澱粉粒を除いた様子が見られた。また、澱粉粒を除去したタンパク質に澱粉粒の跡が見られた。対照として、アミラーゼで処理しない WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルの（図 2-7, A）では、WPI・タピオカ澱粉共存ゲルにおける澱粉構造とは異なり、澱粉粒がタンパク質連続相に埋められている様子が見られた。澱粉粒表面を確認したところ、タンパク質と違う繊維状ネットワーク構造が見られた（図 2-7, a）。これは、澱粉であると考えられる。澱粉粒とタンパク質の界面では、タンパク質の球状粒子構造 P と繊維状構造 S がそ

れぞれ観察された（図 2-7, b）。すなわち、相互作用しない澱粉とタンパク質の界面が形成されたと考えられる。そのため、WPI 単独ゲルより、馬鈴薯を添加したゲルが低歪低応力で破断したのは相互作用のない界面が破壊しやすかったためと考えられる。また、破壊構造では、馬鈴薯澱粉が残り、タンパク質連続相と分離し亀裂が生じた様子が示された。それぞれ部分を拡大して見ると、澱粉表面と思われる部分（図 2-7, c）では、澱粉の繊維状構造が示された。タンパク質連続相と思われる部分（図 2-7, d）では、繊維状構造ではなく、タンパク質球状構造であった。すなわち、破壊後も馬鈴薯澱粉粒が残っていることが明らかとなった。

ランダム構造におけるタピオカ澱粉の添加

pH5.8 の WPI・タピオカ澱粉の未破壊構造、アミラーゼ処理した構造と破壊構造を図 2-8 に示した。アミラーゼで処理した WPI・タピオカ澱粉共存ゲルの画像（図 2-8, B）では、澱粉粒を除いた様子が見られた。pH6.8 のアミラーゼ処理した WPI・タピオカ共存ゲルの澱粉を除いた画像と違い、pH5.8 では、澱粉粒の場所が全て除かれ、跡にタンパク質粒子が見られなかった。すなわち、タンパク質相がタピオカ澱粉の内部に入っていないことが分かった。アミラーゼで処理しない WPI・澱粉共存ゲルの（図 2-8, A）では、タンパク質と違う繊維状ネットワーク構造が見られた。これは、澱粉粒であると考えられる。また、破壊構造では、破壊部位の周囲に繊維状構造は壊れて伸びた様子が見られた（図 2-8, (c-1)-(c-4)）。すなわち、破壊過程では、タンパク質相より、澱粉粒で破壊しやすい可能性を示した。このことが、破断点ではなく、降伏点を生じた原因ではないかと考えられる。

ランダム構造における馬鈴薯澱粉の添加

pH5.8 の WPI・馬鈴薯澱粉の未破壊構造、アミラーゼ処理した構造と破壊構造

を図 2-9 に示した。アミラーゼで処理した WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルの画像（図 2-9, B）では、澱粉粒を除いた様子が見られた。アミラーゼで処理しない画像（図 2-9, A）では、pH6.8 と同様に、タンパク質と違う繊維状ネットワーク構造が変わらないことが認められた（図 2-9, (a-1) と (a-2)）。しかし、澱粉粒がタンパク質に埋め込まれた様子とは異なり、タンパク質相と澱粉粒間に、隙間が見られた。タンパク質分子の凝集により、澱粉粒との隙間が生じると考えられる。また、破壊構造では、澱粉粒の伸びる様子が観察されたが、亀裂破壊部位ではなかった（図 2-9, c-1）。亀裂破壊部位がタンパク質連続相で生じた（図 2-9, c-2）。破壊後に澱粉粒が壊れた可能性を示したが、澱粉よりもタンパク質相から亀裂を発生し、単独と同じ歪で破断点が生じたと考えられる。

2-3-5 WPI・澱粉共存ゲルの構造と物性の関係

pH6.8 の WPI 単独ゲルはストランド構造を持ち、破断強度試験では高歪高応力で破断したのに対し、pH5.8 ではランダム構造を持ち、低歪低応力で破断した。ストランド構造が密であり数珠状モデルになるため、破壊するまでに緩やかに応力が上昇し、高歪高応力で破断したと考えられる。一方、ランダム構造がタンパク質分子の大きな凝集体を形成したが隙間を生じた。そのため、歪の増加による応力上昇の傾きは大きくなったが低歪低応力で破断したと考えられる。すなわち、単独ゲルでは、破断特性はタンパク質連続相を形成しているネットワーク自体の性質を反映していると考えられる。また、澱粉の添加混合ゲルでは、pH6.8 と pH5.8 どちらにおいても、単独ゲルより全ての歪で応力が高かった。各サンプルのタンパク質連続相の構造から、澱粉の添加ゲルでは、単独ゲルより隙間が少なく、密度の高いタンパク質連続相を持つことがわかった（図 2-5）。このことから澱粉の糊化によ

るタンパク質連続相の濃度効果が考えられる。すなわち、加熱による澱粉の糊化が起こり、澱粉が吸水するため、タンパク質連続相のタンパク質濃度が高くなり、密な構造のゲルが形成され、応力が高くなった。この澱粉の糊化による濃度上昇効果が Matignon ら⁶²の研究においても見られた。以上のように、タンパク質連続相の濃度効果が各ゲルの立ち上がり応力の増加に寄与することが明らかとなった。

また、ストランド構造とランダム構造において、タピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉の添加により、破断特性への影響が破壊メカニズムの差から明らかとなった(図 2-10)。破断点から見ると、pH6.8 のストランド構造では、WPI 単独ゲルよりタピオカ添加のゲルの破断点の有意差が見られないが、馬鈴薯は低歪低応力で破断した。pH5.8 のランダム構造では、タピオカ澱粉添加した WPI 共存ゲルは低歪で降伏点を生じた。馬鈴薯添加のゲルは WPI 単独ゲルに比べて高応力で破断した。

微細構造では、ストランド構造におけるタピオカ澱粉の添加ゲルでは、分散相であるタピオカ澱粉粒の繊維状ネットワーク構造の中にホエータンパク質球状粒子が局部的に存在している構造を有することがわかった。さらに、破壊構造では、生じた亀裂断面で澱粉構造が観察されず、タンパク質連続相で破壊生じたため、タンパク質単独と似ている力学物性が見られ、高歪高応力で破壊したと考えられる。ストランド構造における馬鈴薯澱粉の添加ゲルでは、馬鈴薯澱粉がタンパク質連続相に埋まっていた。さらに、破壊構造では、澱粉粒が残り、タンパク質と澱粉粒の界面から破壊が生じたため、単独のタンパク質連続相で破壊するよりも、低歪で破断したと考えられる。Sangeetha and Rai⁶³はタピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉ゲルの性質について研究を行なった。その結果、タピオカ澱粉ゲルの非常に軟らかい物性と馬鈴薯澱粉の硬い物性が示唆された。本研究では、数珠状のストランド構造を持つ単独ゲルが破断しにくい物性を示したため、軟らかいタピオカ澱粉を添加しても、ストランド構造の中ではタピオカ澱粉の性質が現れないと考えられる。硬い性質を

持つ馬鈴薯澱粉を添加すると、破断しにくいストランド構造であっても、澱粉粒が硬いため、界面から破壊しやすくなったと考えられる。

一方、ランダム構造におけるタピオカ澱粉の添加ゲルでは、タンパク質相がタピオカ澱粉の内部に入っていないことがわかった。さらに、破壊構造では、破壊部位の周囲にタピオカ澱粉が破壊され伸びて、この伸びる構造により、延性破壊になり、降伏点を生じたと考えられる。ランダム構造における馬鈴薯澱粉の添加ゲルでは、タンパク質相と澱粉粒の間に隙間を生じた。さらに、破壊構造では、澱粉粒が変形したが澱粉粒よりもタンパク質相から破壊を生じたため、単独と同じ歪で破断したと考えられる。タンパク質分子が凝集するランダム構造において、澱粉粒の内部にタンパク質が入らなかったため、軟らかいタピオカ澱粉の性質が先に現れ破壊したと考えられる。また、馬鈴薯澱粉の硬い性質により、タンパク質連続相から先に破壊したと考えられる。

2-4 結論

ネットワーク構造の異なる WPI ゲルへの食感の異なる澱粉の添加により、力学物性の変化を微細構造、特に破壊構造から明らかにした。立ち上がり応力がタンパク質連続相の密度で決められる。破断点がタンパク質連続相と澱粉の相互作用に依存する。タピオカ澱粉の影響はネットワークのストランド構造では現れにくい、ランダム構造では現れる。馬鈴薯澱粉の影響はストランド構造とランダム構造どちらにおいても現れる。本章の結果から、食感の異なる澱粉を用いて、WPI・澱粉共存系の力学物性を制御する可能性を提供した。また、本章で行った構造観察や物性測定の手法は、咀嚼を模擬した手法であり、他の食品でも応用可能であると考えられる。

2-5 図表

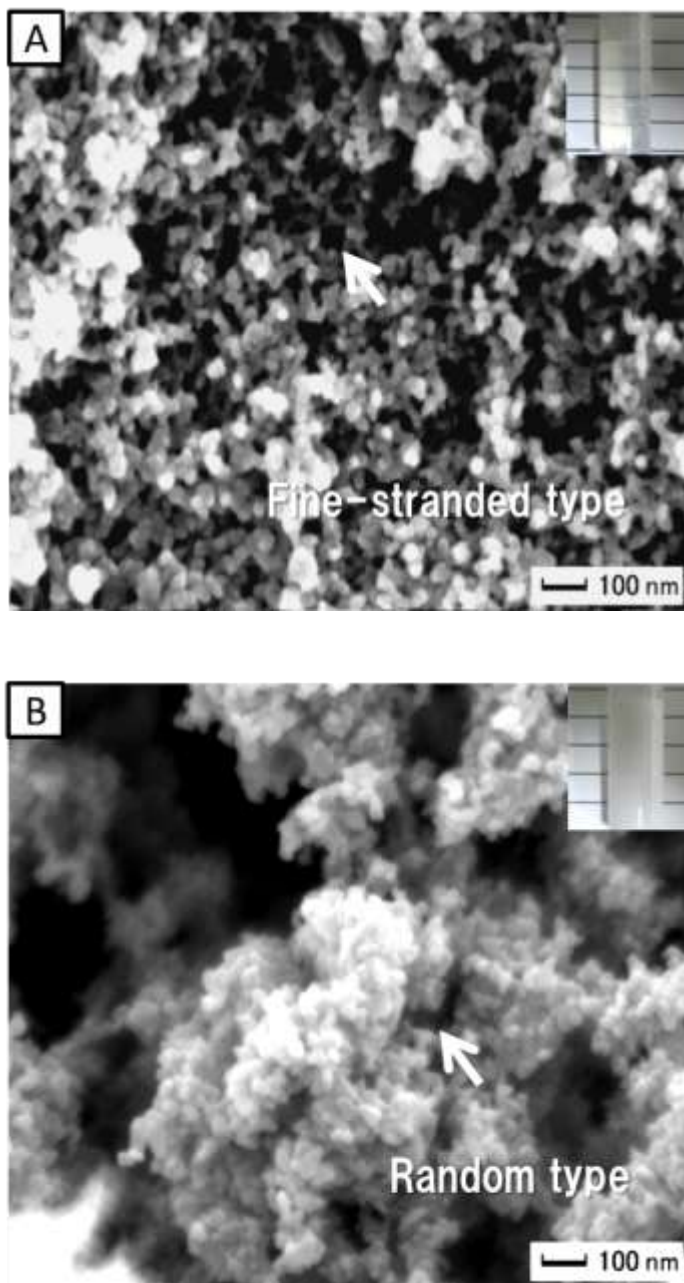


図 2-1 WPI 単独ゲルの巨視的写真と SEM 写真

A:pH6.8; B:pH5.8 (画像：80K 倍)

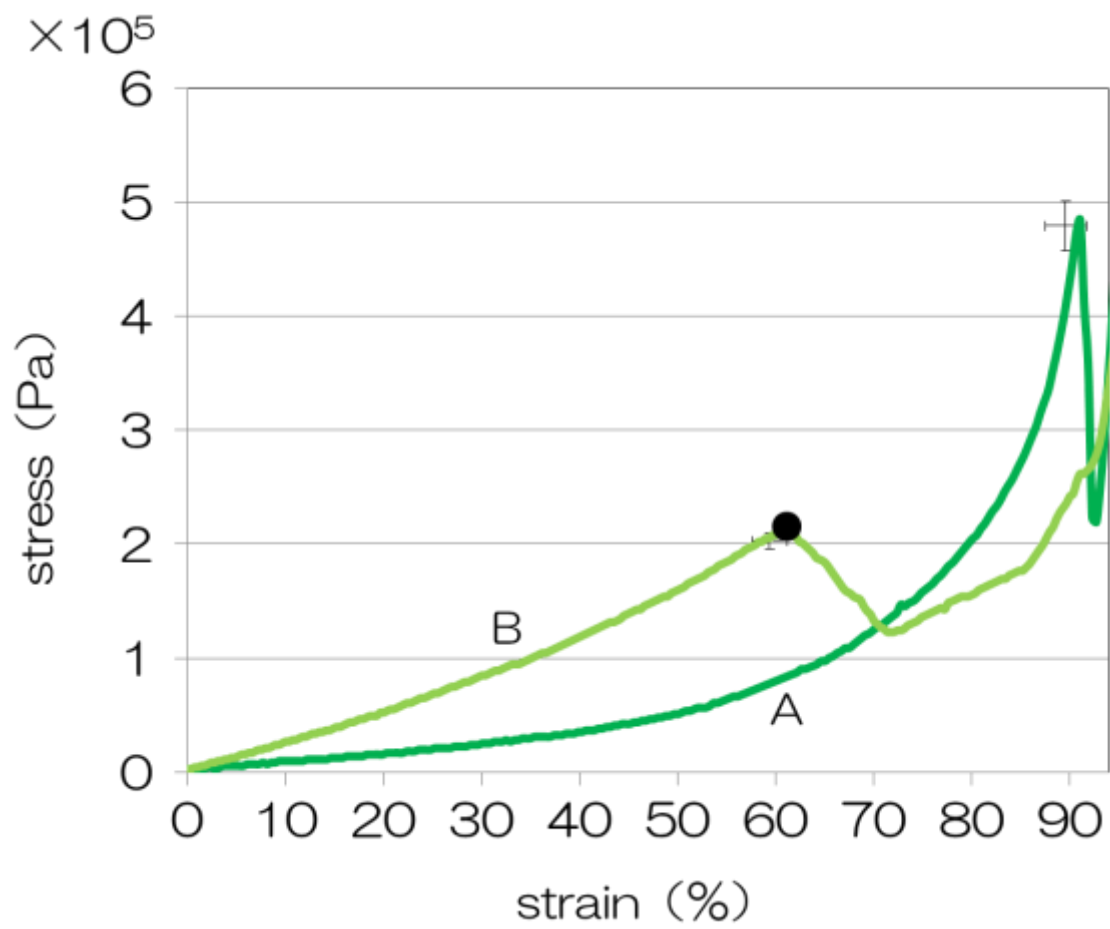


図 2-2 WPI 単独ゲルの破断強度（応力・歪）曲線

A:pH6.8 ; B:pH5.8 ; •:破断点

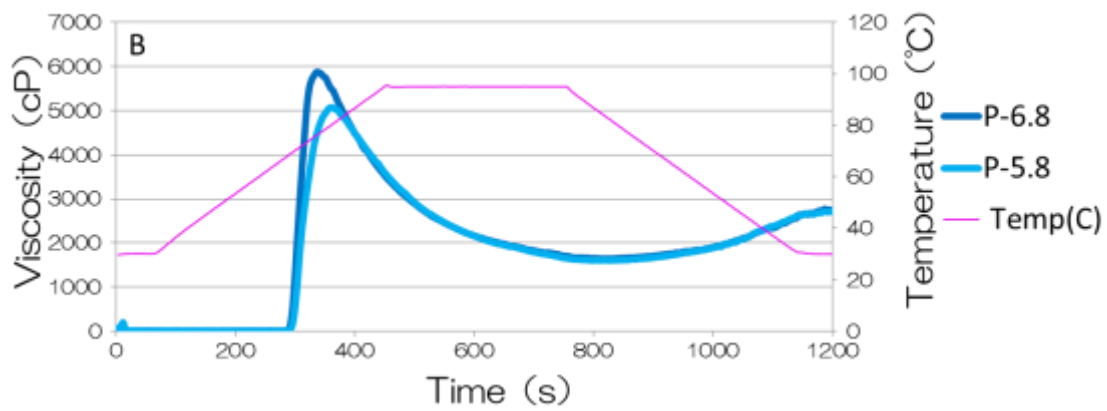
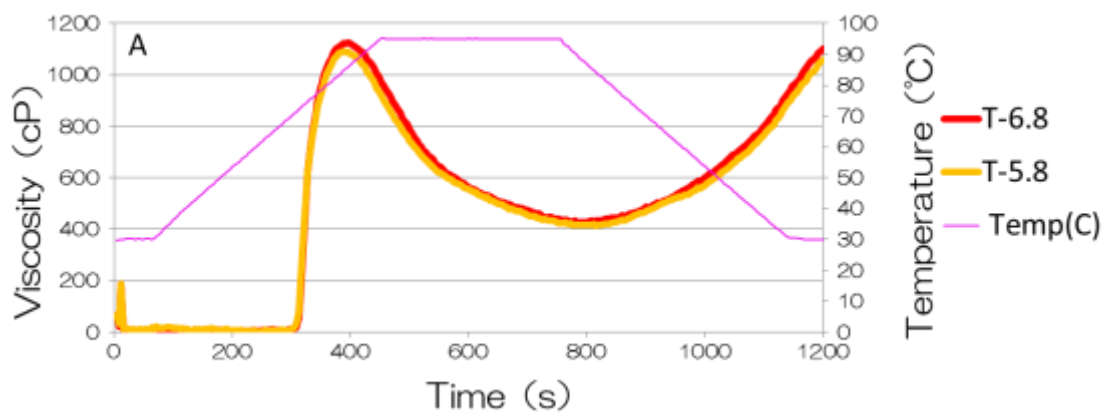


図 2-3 pH の違いによるタピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉溶液の RVA 曲線

T:タピオカ澱粉; P:馬鈴薯澱粉

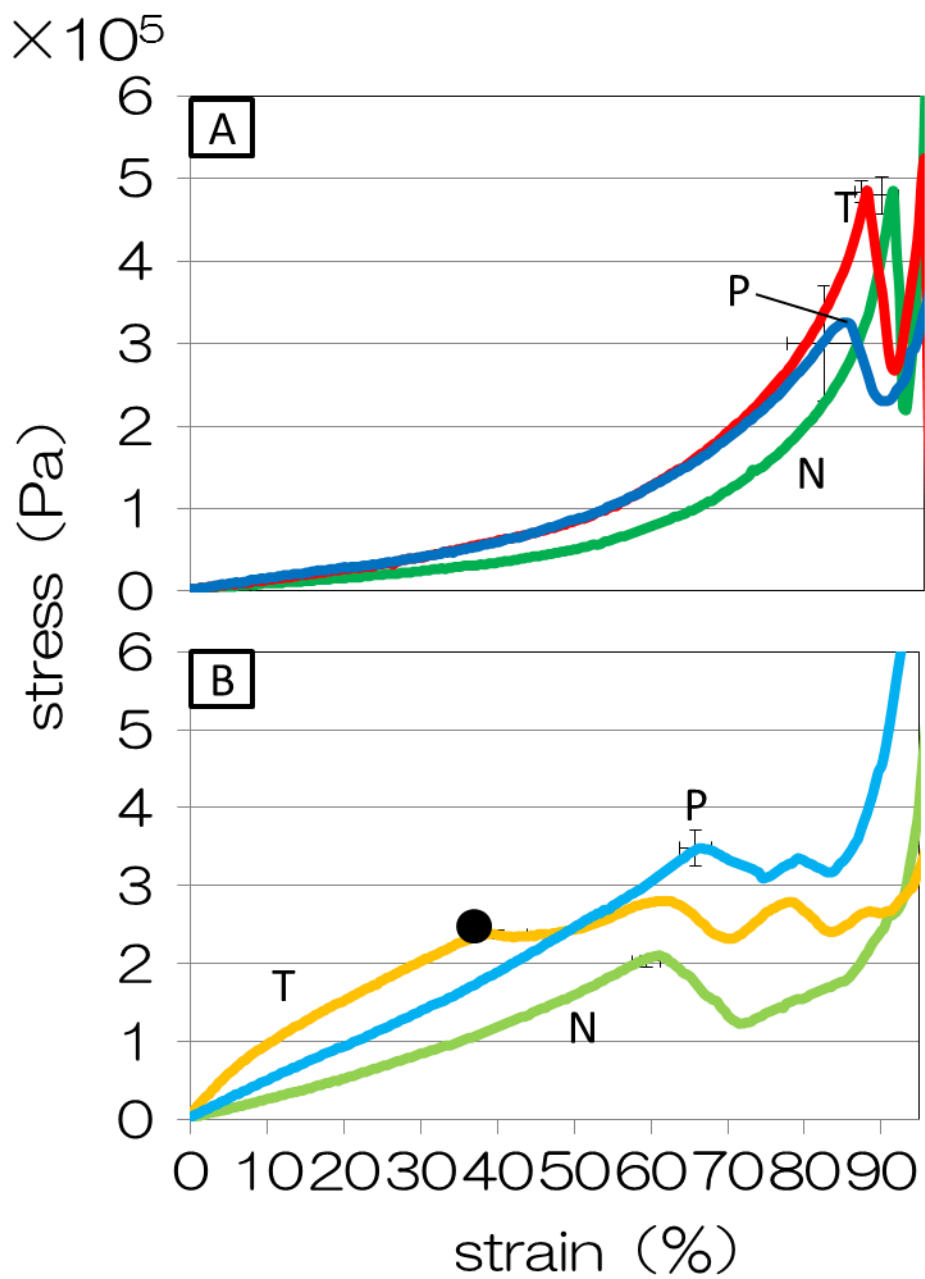


図 2-4 pH の違いによる WPI・澱粉共存ゲルの応力歪曲線

A:pH6.8 ; B:pH5.8 ; • :降伏点; T:タピオカ澱粉 P:馬鈴薯澱粉 N:無添加

表2-1. 各サンプルの立ち上がり応力、破断応力、破断歪率

サンプル	20%の応力 (10 ⁴ Pa)	破断応力 (10 ⁵ Pa)	破断歪率 (%)
pH 澱粉			
6.8 N	1.66±0.09 ^a	4.79±0.22 ^a	89.6±2.1 ^a
6.8 T	2.71±0.10 ^b	4.84±0.13 ^a	86.9±0.7 ^{ab}
6.8 P	3.03±0.19 ^b	3.00±0.70 ^{bc}	82.2±4.7 ^b
5.8 N	5.18±0.07 ^c	2.02±0.08 ^d	59.7±1.3 ^c
5.8 T	15.2±0.48 ^d	2.37±0.06 ^{cd}	40.1±3.8 ^d
5.8 P	9.69±0.35 ^e	3.48±0.23 ^b	65.8±2.1 ^c

(有意差: $p < 0.05$)

異なる上付き文字が同じ列の平均値間の有意差を示す

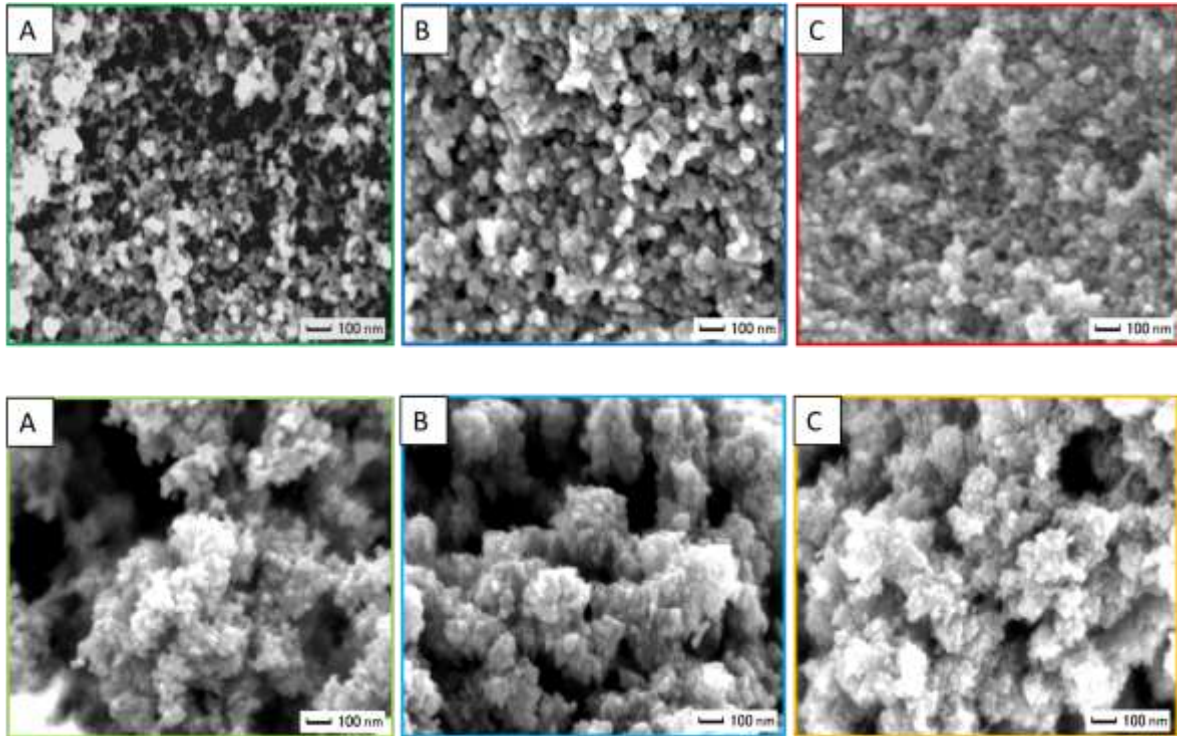


図 2-5 SEM による各サンプルのタンパク質連続相の微細構造
A:無添加 B:馬鈴薯澱粉添加 C:タピオカ澱粉添加 (画像:80K 倍)
上段: pH6.8; 下段: pH5.8

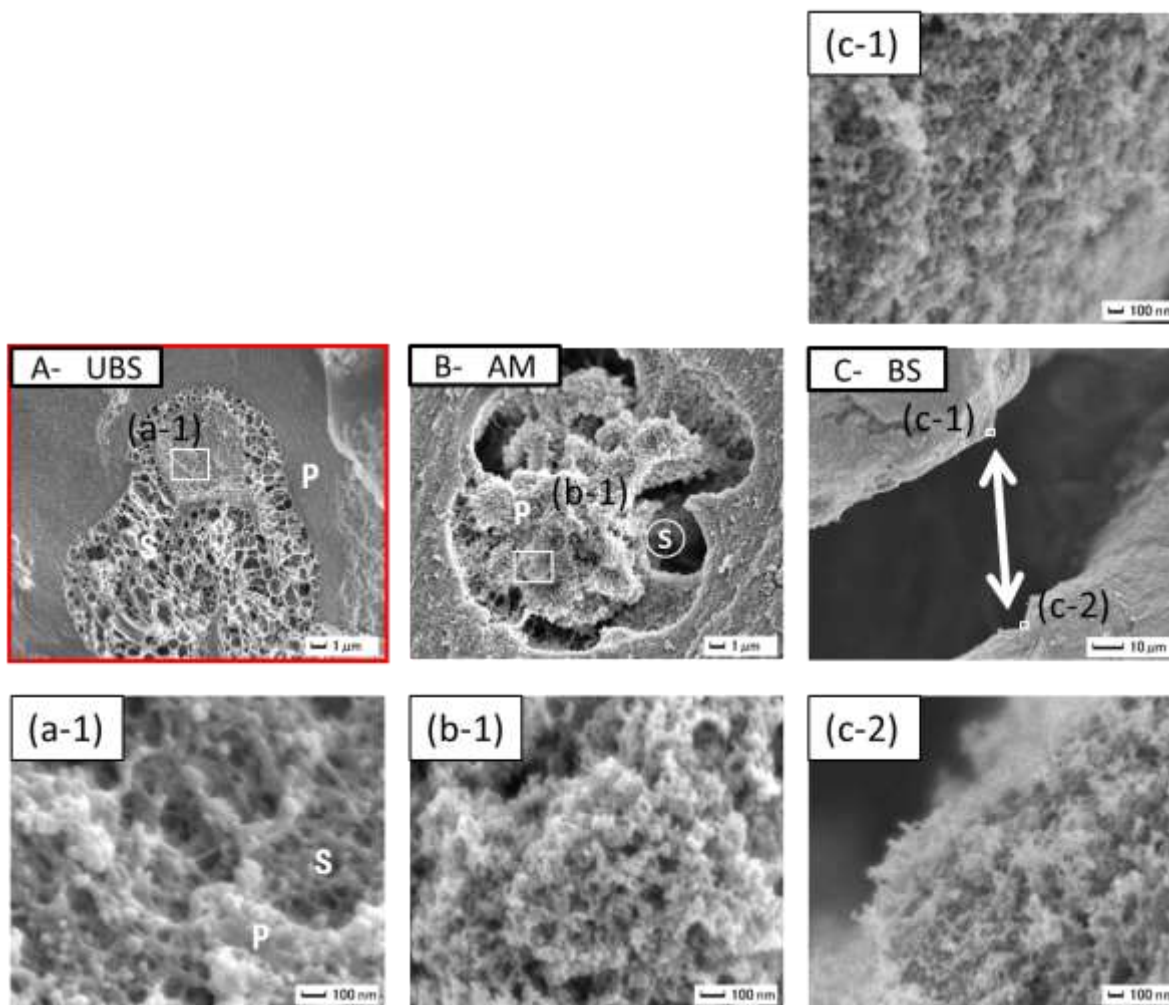


図 2-6 SEM による pH6.8 の WPI・タピオカ澱粉共存ゲルの微細構造

A:未破壊構造；B:アミラーゼ処理構造；C:破壊構造

S:澱粉構造；P:タンパク質構造；⊙:除いた澱粉；矢印:破壊

A,B: 5K；C:1K；a-1,b-1: 80K；c-1,c-2: 50K

UBS:未破壊構造；AM:アミラーゼ処理構造；BS:破壊構造を表す

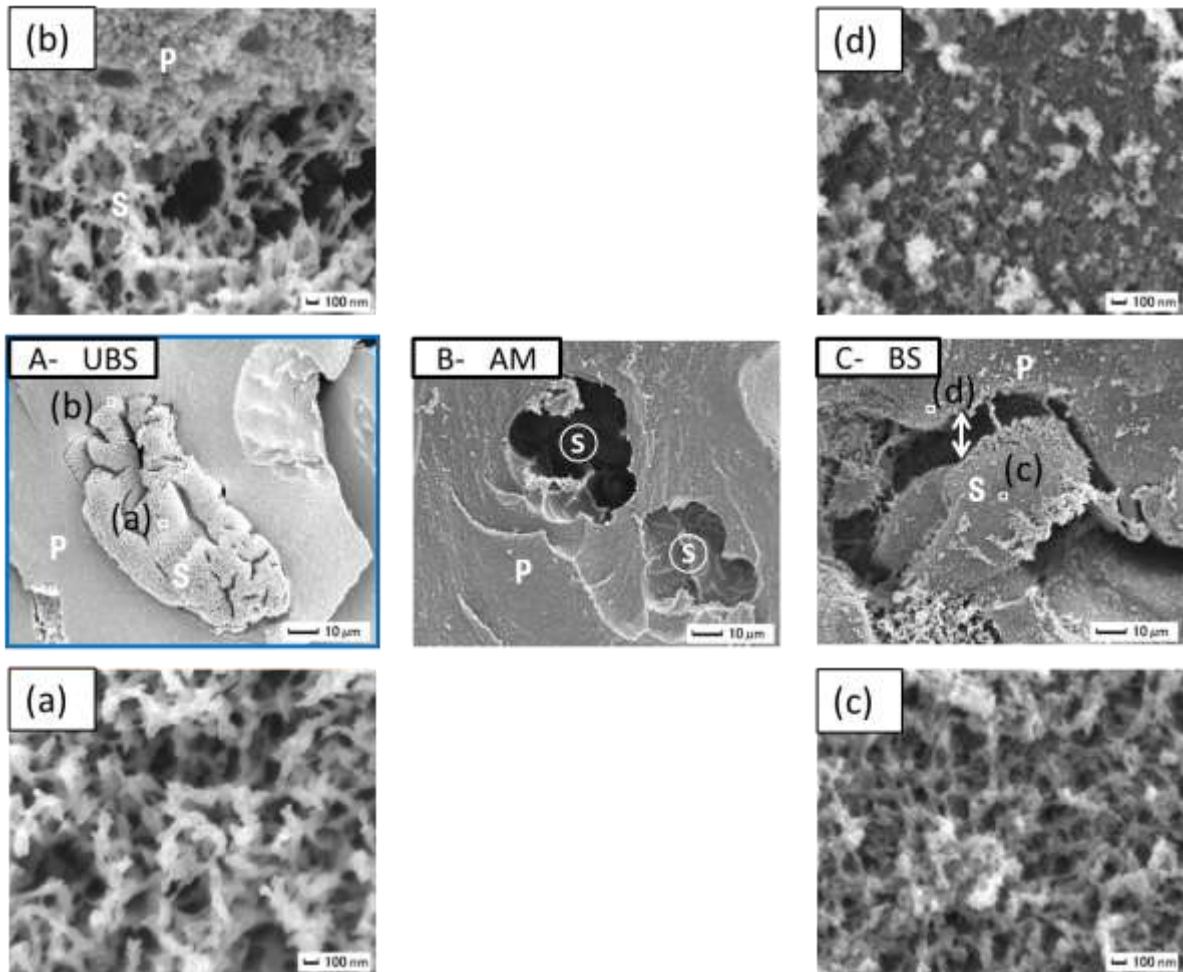


図 2-7 SEM による pH6.8 の WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルの微細構造

A:未破壊構造；B:アミラーゼ処理構造；C:破壊構造

S:澱粉構造；P:タンパク質構造；⊙:除いた澱粉；矢印:破壊

A,B,C:1K；a,c,d: 50K；b: 40K

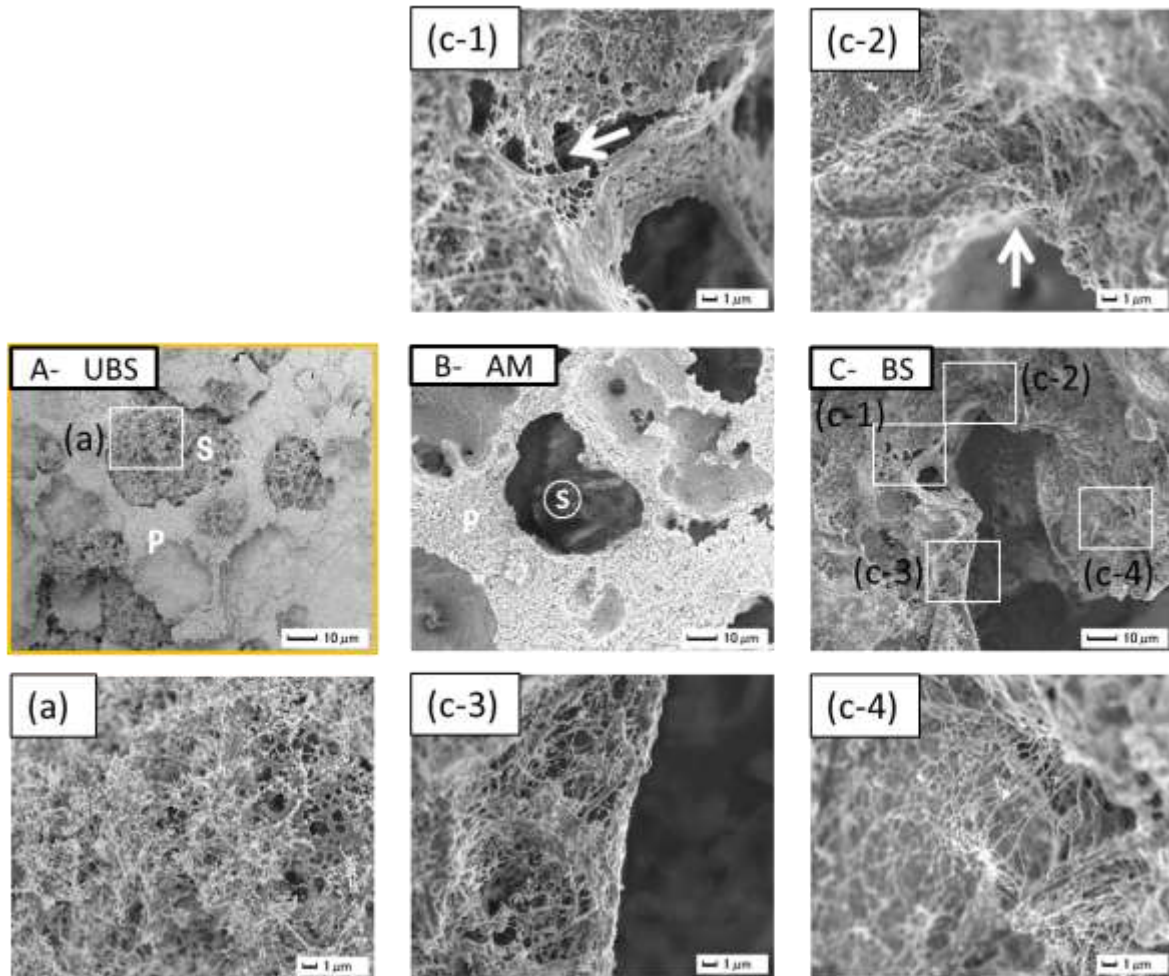


図 2-8 SEM による pH5.8 の WPI・タピオカ澱粉共存ゲルの微細構造

A:未破壊構造；B:アミラーゼ処理構造；C:破壊構造

S:澱粉構造；P:タンパク質構造；⊙:除いた澱粉；矢印:破壊

A,B,C:1K；a,c-1,c-2,c-3,c-4: 5K

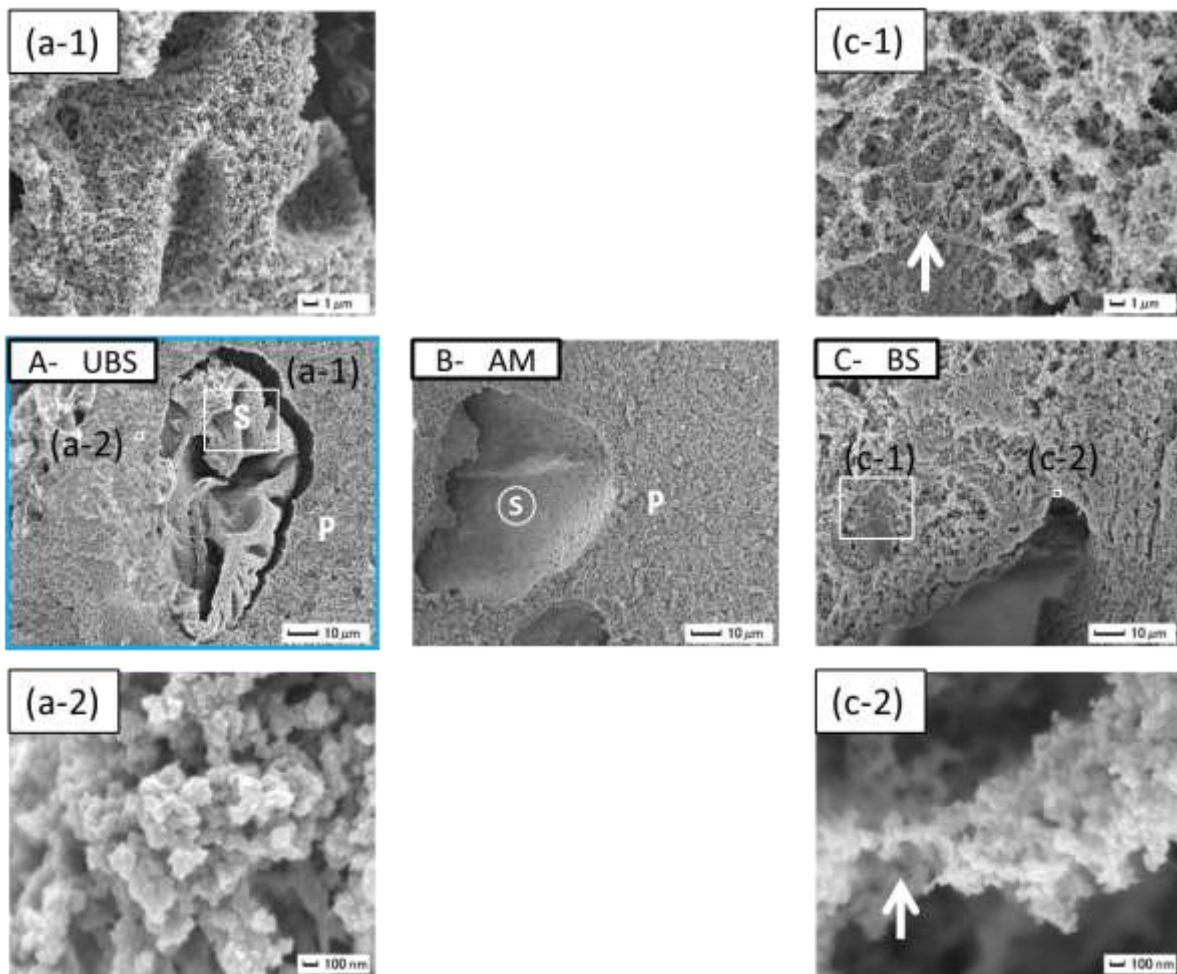


図 2-9 SEM による pH5.8 の WPI・馬鈴薯澱粉共存ゲルの微細構造

A:未破壊構造；B:アミラーゼ処理構造；C:破壊構造

S:澱粉構造；P:タンパク質構造；Ⓢ:除いた澱粉；矢印:破壊

A,B,C: 1K；a-1,c-1: 5K；a-2,c-2: 50K

構造	ストランド	ランダム
+タピオカ澱粉		
破壊部位	タンパク質連続相で破壊が生じる	タピオカ澱粉が壊れ伸びる
+馬鈴薯澱粉		
破壊部位	タンパク質連続相と馬鈴薯澱粉の界面で破壊が生じる	馬鈴薯澱粉が壊れるが、タンパク質連続相で破壊が生じる

図 2-10 WPI・澱粉共存ゲルの破壊構造のイメージ

3 プロセスチーズの力学物性と構造への作製条件の影響

3-1 プロセスチーズの力学物性と構造への異なる乳化条件の影響

3-1-1 緒言

プロセスチーズは乳化したゲル状食品であり、乳タンパク質であるカゼインと脂肪球からなる。カゼインは牛乳中のタンパク質の一つであり、主に α_{s1} 、 α_{s2} 、 β および κ カゼインの四種類がある。特に、 κ カゼインは親水性部分 CGP をもち、表面に位置しコロイド粒子の安定化に寄与する。これらはカゼイン分子が数百個集まってできたカゼインサブミセルという集合体を形成しており、さらにカゼインサブミセルはコロイド状リン酸カルシウム CCP による架橋で結合したカゼインミセルが牛乳中に分散している³³。牛乳中のカゼインミセルの親水性領域 CGP がレンネット反応によって遊離する。CGP を失ったカゼインミセルは、互いに疎水結合により凝集し不溶化カード（パラカゼインとも呼ぶ）を形成する。その後、乳清除去しナチュラルチーズが得られる。このナチュラルチーズを原料として、乳化されたものがプロセスチーズである（図 3-1）。

プロセスチーズは、ナチュラルチーズ、乳化促進のための溶融塩、水、食品添加物などの原料を混合・加熱溶融・攪拌（シェアリング）・成型・冷却して製造される。プロセスチーズの規格は国により異なり、日本では食品衛生法に基づく「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」（乳等省令）において、「ナチュラルチーズを粉碎し、加熱溶融し、乳化したもの」と定義され、成分は「乳固形分：40.0%以上」と規定されている。プロセスチーズの特徴は原料の種類・配合や製造条件を変えることにより、いろいろな食感・風味・二次加工特性の製品を作製できることで

ある。また、キャンディー、スライス、粉状など、製品の形状が多様であることも特徴して挙げられ、ピザ、ハンバーガーやパンのような食品においても多く応用されている。そのため、プロセスチーズの嗜好性への注目が多く集められている。近年、研究者たちはプロセスチーズの食感に寄与する物性に着目し、よく研究が行われている^{51,64-67}。プロセスチーズの製造過程では、加熱溶融、シェアリングの乳化工程は製品の品質を決定づける最も重要な工程と考えられている。中でも、溶融塩及びシェアリングの攪拌速度や攪拌時間が製品の粘度上昇によるクリーミング効果に寄与し、製品の物性に影響を与えることが知られている^{68-72,73-83}。

一般的に、プロセスチーズではカゼインのネットワーク構造に脂肪球が分散している。この構造や物性をコントロールする主な要因は、溶融塩の選択と製造時の攪拌工程である。溶融塩は主に、リン酸やクエン酸のナトリウム塩やカリウム塩が使用されており、様々な種類が研究され使用されている^{82,84,85-88}。加熱溶融した時に、溶融塩の作用によるカゼインサブミセルが分散される。溶融塩の1価のカチオンとチーズ中のコロイド状リン酸カルシウムがイオン交換し、コロイド状リン酸カルシウムが切断される。その結果、カゼインミセルはサブミセル単位で分散することになる。この作用の強さが溶融塩の種類によって異なり、プロセスチーズの物性・構造に影響を及ぼすと考えられている（図3-2）。

また、pHも物性・構造要因の一つであり、エマルションの安定性に寄与する。イオン交換力はpHが高い時、溶融塩の解離が進むため強くなっている。カゼインが等電点(pH=4.6)に近づくと、チーズの組織が脆くなり、pH6.5以上になると、チーズの組織が軟らかくなる。過去の研究では、pH5.7は網目状のカゼインネットワークを持つ均一なエマルション構造となり、最も硬い物性を持つと報告された⁸⁹。

一方、プロセスチーズの物性・構造など品質には、攪拌工程も非常に重要である。

実際のプロセスチーズの製造場では、物理的シェアリングの乳化装置にてプロセスチーズを生産していることが多い。近年、研究レベルでは、時間やコストなどを考慮し、Rapid Visco Analyzer (RVA) を用いプロセスチーズの作成によく使用されており、攪拌速度、攪拌時間および温度を制御し加熱攪拌中の粘度を測定している⁹⁰⁻⁹²。RVA において、通常プロセスチーズの加熱乳化は 80-100°Cの温度まで昇温させるのが一般的であるが、目標の温度に達した後も、攪拌を続けるとチーズの粘度が次第に上昇する現象が見られる。この現象をクリーミング効果と呼んでいる⁶⁹。プロセスチーズの生産において、クリーミングは非常に重要である。多くのせん断力を与えることで脂肪球サイズがより小さくなり、均質なエマルジョン構造が形成される。ただし、過度のクリーミングは溶融状態のチーズの流動性を失わせることになり、プロセスチーズを硬く、脆い組織にする。このような物性へのクリーミングの影響は、基本的に、カゼインミセルのネットワーク構造の変化が原因であると考えられている。Lee らは脂肪に関係なく、タンパク質とタンパク質の相互作用によるクリーミング効果が生じることを示した⁶⁸。

本章では、異なる種類の溶融塩を使用したうえで、異なる攪拌速度と異なる攪拌時間の乳化条件を設計しプロセスチーズを作製した。プロセスチーズの物性と構造への異なる乳化条件の影響を検討し、カゼインネットワーク構造の変化に着目し、物性及び粘度の変化と相関づけた。本章の結果は、プロセスチーズの粘度、物性および構造の制御に役立つと考えられている。

3-1-2 材料及び方法

3-1-2-1 材料

ゴーダチーズ（豪州産）、チェダーチーズ（豪州産）は雪印メグミルク株式会社より入手した。ポリリン酸ナトリウム塩、ジリン酸ナトリウム塩、クエン酸三ナトリウム塩、モノリン酸ナトリウム塩、重曹は食品グレードを使用した。50%グルタルアルデヒド溶液、2%四酸化オスミウムは TAAB より入手した。ローダミン B はナカライテスク株式会社より入手した。BODIPY500/510 c4,c9（1mM）は Life Technologies Corporation より入手した。他の試薬は全て特級を用いた。蒸留水をプロセスチーズ作製のための水として使用した。

3-1-2-2 プロセスチーズ作製法

冷凍保存（-20℃）された粉砕ナチュラルチーズを冷蔵庫（4℃）で約 24 時間かけて解凍した。材料を計量し、RVA 缶の中に、溶融塩、重曹、蒸留水の順に入れて攪拌した。さらに、原料チーズを加えパドルをはめ、乳化を行った。乳化は Rapid Visco Analyzer (RVA-4, Newport Scientific, Australia) にて、攪拌速度と攪拌時間の異なる 4 条件（400 rpm, 10 min; 400 rpm, 30 min; 1500 rpm, 10 min; 1500 rpm, 30 min）で行った（図 3-3）。溶融塩の影響を調べるために、各乳化条件でプロセスチーズを作製する過程では、ポリリン酸塩とジリン酸塩の混合物（PDSP）、単独ポリリン酸塩（PP）、単独モノリン酸塩（MP）及び単独クエン酸塩（TSC）の異なる 4 種類溶融塩をそれぞれ用いた。原料配合は表 3-1 に示した。乳化後、熱いうちにチャック袋に移し、高さ 5 mm のプラスチック棒

を2本用いて袋の両端に挟んで、ローラーで素早く平らにのばした。成型したチーズとプラスチック棒をガラス板で上下に挟み、クリップでとめて、氷水中で10分間急冷した。その後、冷蔵庫（4℃）に1日保管したものを分析用のサンプルとした。

3-1-2-3 分析法

3-1-2-3-1 破断強度試験

直径10 mmのストローでチーズをくり抜き、高さ5 mmの円柱型にカットしたチーズをペトリシャーレの中に2個ずつ入れ、ステンレスパットの上に置き、冷蔵庫4℃で1時間冷やして測定用のサンプルとした。クリープメータ（RE2-33005s, YAMADEN）を用いて1種類につき10回、破断強度試験を行った。測定条件は円板型のプランジャー（直径40 mm）を用い、ロードセル20 N、測定速度1 mm/secとした。応力・歪曲線はfracture test analysis software Ver.2.0を用いて処理した。

3-1-2-3-2 共焦点レーザー走査顕微鏡（CLSM）

チーズを剃刀で厚さ1 mm程度に薄く切った。カバーガラス付きのプラスチック穴あきシャーレにRhodamine B（2.5 μg/ml）2.5 μlとBODIPY500/510 c4, c9（1 mM）2.5 μlを滴下し、カットしたチーズを浸した。共焦点レーザー走査顕微鏡（FV1000D, OLYMPUS）にて観察を行った。レーザーの励起波長はHeNe（559 nm）とAr（488 nm）であった。観察後、FV10-ASW 1.7 Viewer

にてデータ処理を行った。

3-1-2-3-3 走査型電子顕微鏡 (SEM)

チーズを剃刀で約 $1 \times 1 \times 5$ mm 角の大きさに切った。小瓶に 2 % Glutaraldehyde (GA) 1000 μ l と切ったサンプルを入れ、1 時間冷蔵庫で浸漬した。GA を捨て蒸留水で 2 回洗浄した。さらに、1 % 四酸化オスミウム 400 μ l に室温で 90 分間浸漬し、化学二重固定した。固定したチーズを 30 % エタノール溶液で 1 回洗浄し、同溶液に 20 分間浸漬した。その後、同様の操作を 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、100 %、100 % と行い、脱水した。脱水したチーズを酢酸イソアミルに 20 分間で 2 回浸漬し、置換した。臨界点乾燥器 (JCPD-5, JEOL) にて、乾燥した。乾燥したチーズを割り、カーボンテープを用いて試料台に貼り付けた (サンプルとテープの間があいている場合、カーボンペーストを用いて固定した)。オスミウムプラズマコーター (NL-OPC80N, JEOL) にてオスミウム蒸着をした (コーティング時間 8 秒)。これらを電界放射型走査型電子顕微鏡 (SEM) (JSM-6700F, 日本電子株式会社) を用いて、観察した。観察条件は加速電圧 3 kV、エミッション電流 10 μ A、WD 8 mm であった。観察後、Smile View にてデータ処理を行った。

3-1-2-4 統計処理

統計処理には、IBM SPSS Statistics Ver.21 (日本アイ・ビー・エム株式会社) を用いた。一元配置分散分析による試料間の破断特性の差を検定した。有意差は $p < 0.05$ とした。

3-1-3 結果

RVAによる乳化条件の異なるプロセスチーズ見かけ粘度曲線

RVAによる攪拌速度と攪拌時間（加熱）の異なるプロセスチーズの見かけ粘度曲線を図3-4に示した。Aにおいて、10分間では粘度が上昇しなかった。目標の温度に達した後、攪拌につれて粘度が次第に上昇することがクリーミング効果である観点から、Aではクリーミング効果は起こらないことを示している。それに対し、Cにおいて、同様の10分間内に粘度上昇の傾向が見られ、1500 rpmの高速攪拌が粘度上昇の原因と考えられる。また、BとDにおいて、10分間後見かけ粘度曲線が穏やかに上昇し、20分から粘度が急激に上昇した。つまり、長時間攪拌がクリーミング効果に寄与することが明らかとなった。BよりもDの粘度が早めに大幅に上昇したのは高速攪拌に起因すると考えられている。

RVAによる溶融塩の異なるプロセスチーズの見かけ粘度曲線を図3-5に示した。溶融塩を十分に作用させることを考慮し、長時間攪拌の条件として30分を設定した。400 rpmの場合において、PDSP添加の場合、粘度が最も上昇した。PPも粘度の上昇が見られたが、PDSPよりも小さかった。MPが最も低い粘度を示しており、粘度の上昇が見られなかった。TSCは僅かな粘度上昇が見られた。また、1500 rpmの場合において、400 rpmの場合と一致する傾向が見られたが、MPにおいても粘度が少し上昇した。特に、この粘度の上昇が階段状であった。

乳化条件の異なるプロセスチーズの破断強度試験

各溶融塩を用いて、攪拌速度と攪拌時間の異なるプロセスチーズの応力・歪曲線

を図 3-6 に示した。溶融塩 PDSP と PP において、B と D の立ち上がり応力が高く硬く、圧縮により降伏点が生じることがわかった。一方、A と C は立ち上りの応力が低くやわらかい性質を示し、降伏点を生じないことがわかった。長時間攪拌がプロセスチーズの硬さと降伏点の形成に寄与すると考えられている。TSC では、B と D は降伏点が生じることが見られ、長時間攪拌が降伏点の形成に寄与することが示唆された。MP では、PDSP、PP および TSC と違う傾向であった。全てのサンプルがよりやわらかい性質を示した。MP の溶融乳化活性が低いためと考えられている。A と B よりも C と D は有意な高い立ち上がり応力が見られた。長時間攪拌に関わらず、高速攪拌の影響が明らかとなった。また、D で降伏点を生じたが、B では降伏点を生じなかった。D の高速攪拌のせん断力により MP を活性化、長時間攪拌により降伏点が生じたと考えられる。

微細構造観察

攪拌速度と攪拌時間の異なるプロセスチーズの脂肪球サイズを図 3-7 に示した。SEM も CLSM も同じスケールの 1000 倍観察画像で、CLSM では、赤がタンパク質、緑が脂質を示している。攪拌速度が速い時 (C と D)、脂肪球サイズが小さいことが見られた。一方、脂肪球サイズへの攪拌時間の影響は小さかった。攪拌時間よりも攪拌速度の脂肪球サイズへの影響が大きいことが明らかとなった。

攪拌速度と時間の異なるプロセスチーズの SEM 観察によるカゼインミセルネットワーク構造を図 3-8 に示した。A と C では、不規則なカゼインタンパクが集まったランダムネットワークを示している。B と D では、カゼインが数珠状になり、ストランドネットワークを示している。つまり、攪拌速度に関わらず、攪拌時間が長くなると、カゼインのネットワークはストランドタイプになっていくことが示さ

れた。

また、溶融塩の異なるプロセスチーズのカゼインネットワーク構造を図 3-9 に示した。400 rpm、30 min の場合では、PDSP、PP 及び TSC において、カゼインネットワーク構造がストランドであることを示している。MP はランダムネットワーク構造であることをしめしている。PDSP、PP、TSC の添加により乳化を促進したのに対し、MP の添加では、乳化が進まないと考えられる。一方、1500 rpm、30 min の場合では、全てのサンプルにおいてストランドネットワーク構造が見られた。MP ではストランド構造が見られるのは高速攪拌のせん断力により MP が活性化され、カゼインの分散を促進したと考えられる。

3-1-4 考察

RVA による攪拌速度と攪拌時間の異なる条件によって、プロセスチーズの見かけ粘度、物性や、構造が異なることが明らかとなった (図 3-10)。低攪拌速度の場合 (400 rpm、10 min と 400 rpm、30 min) では、脂肪球サイズが大きく、高速攪拌の場合 (1500 rpm、10 min と 1500 rpm、30 min) では、脂肪球サイズが小さくなった。短攪拌時間の場合 (400 rpm、10 min と 1500 rpm、10 min) では、クリーミング効果を示さず (粘度が上昇しなかった)、軟らかい物性を示し、カゼインミセルネットワークがランダムであった。長時間攪拌の場合 (400 rpm、30 min と 1500 rpm、30 min) では、クリーミング効果を示し (粘度が次第に上昇した)、硬い物性を示し、ネットワークがランダムからストランド構造へ変化した。つまり、攪拌速度がプロセスチーズの脂肪球サイズに寄与し、攪拌時間がプロセスチーズのカゼインミセルネットワークの変化に寄与すると考えられる。Lee ら⁶⁸ は、クリーミング効果は脂肪の有無に関わらず、根本的にタンパク質-タンパク質相互作用により決まり、脂肪の存在は粘度曲線のパターンに影響を与えることを報告した。また、加熱によるタンパク質構造の変化に関わるクリーミングモデルを提案した。加熱溶融の最初に、溶融塩の作用によって、タンパク質分子は分散状態であり、加熱により、分散したタンパク質分子が再び凝集し、タンパク質とタンパク質の相互作用によって、タンパク質ネットワークを形成し、粘度が増加する (undercreamed、ランダム構造)。持続的な加熱溶融によるネットワーク構造が発展し、数珠状構造になり、粘度が増加する (well-creamed、ストランド構造)。さらに加熱し、粘度の最大限になると、タンパク質のネットワークが崩され (overcreamed)、それによって、脆い組織になり、粘度の減少が起こる。本研究では、プロセスチーズの嗜好性を考慮し、overcreamed 状態は検討し

なかった。攪拌時間がプロセスチーズのクリーミング効果（粘度上昇）に影響を与え、攪拌速度が粘度上昇のタイミングを早めることが明らかとなった（図 3-4）。また、ストランド構造は長時間攪拌により形成し、クリーミング効果と降伏点を生じる原因と考えられる。それに対し、ランダム構造はクリーミング効果なし、降伏点なしの原因と考えられる。

プロセスチーズへの異なる溶融塩の影響について、各溶融塩の鎖長による CCP の分離程度が決めることを示した。Weiserova ら⁹³は、カルシウムとの結合力はポリリン酸塩 > 三リン酸塩 > ジリン酸塩 > モノリン酸塩であることと報告した。MP は最も短鎖をもち、Ca²⁺イオン結合力が弱いため、PP と PDSP よりも小さい影響であったと考えられる。Mizuno ら⁸⁵は、TSC が溶融塩として使用される時に、カゼインサブミセル間で架橋するのではなく、CCP のカルシウムをキレート（chelate）し、可溶性複合体を形成していると述べた。CCP を失うカゼインサブミセルが分散されることで、TSC の添加による僅かな粘度上昇が起こるのではと考えられる。また、Sadlikova ら⁹⁴はチーズへの複合溶融塩の影響を調べた。ポリリン酸塩と混合する時に、ポリリン酸塩が 50%以上になれば、単独の溶融塩の場合より硬いことを報告した。本研究では、攪拌速度が低い時に MP の添加により、カゼインネットワークがランダムであることは、MP の Ca²⁺イオン結合力が弱いためと考えられる（図 3-9）。複合リン酸塩を使用した場合は、ポリリン酸塩とジリン酸塩（PDSP）の比が 4:1 である時に、単独より粘度が上昇し、より硬い性質を示した。また、長時間攪拌の場合では、溶融塩の効果について、単独的溶融塩（PP、TSC）の使用よりも、混合的溶融塩 PDSP がプロセスチーズのクリーミングへの影響が最も大きかった。特に、高速攪拌の場合では、粘度やカゼインネットワークへの溶融塩の効果が見られ、MP の添加でもストランド構造を形成した。高速攪拌が MP の溶融塩としての効果を早めたと考えられる（図 3-10）。

3-1-5 結論

攪拌速度がプロセスチーズの脂肪球サイズに寄与し、攪拌時間がプロセスチーズのカゼインミセルネットワーク構造に寄与する。攪拌速度が速い時、脂肪球が小さくなり、攪拌時間が長い時、カゼインミセルネットワークがランダム構造からストランド構造に変化した。このネットワークの変化がクリーミング効果（粘度上昇）、硬さの上昇および降伏点を生じることに寄与する。溶融塩を使用する場合は、単独溶融塩より、混合塩（ポリリン酸塩：ジリン酸塩=4：1）が著しい効果であった。特に、速い攪拌速度がモノリン酸塩の溶融塩とする効果を引き起こした。

以上の結果は、プロセスチーズの粘度、物性および構造などの制御に貢献すると考えられる。

3-1-6 図表

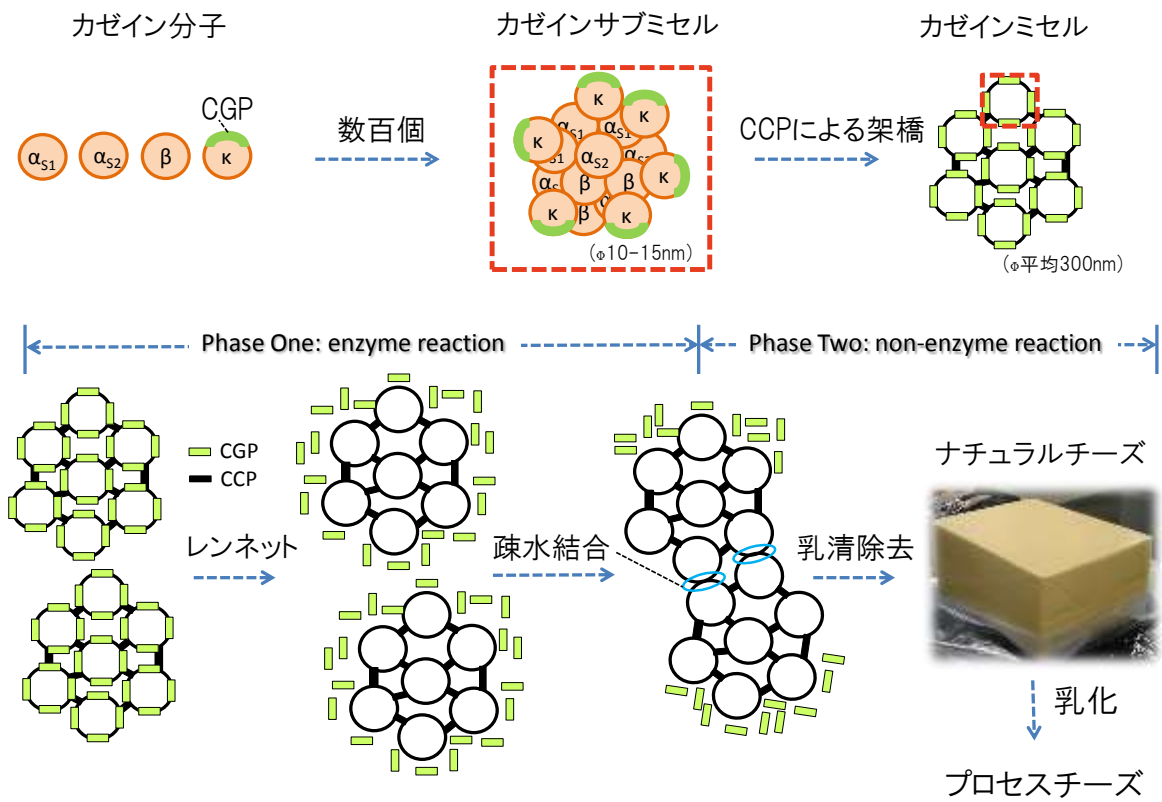
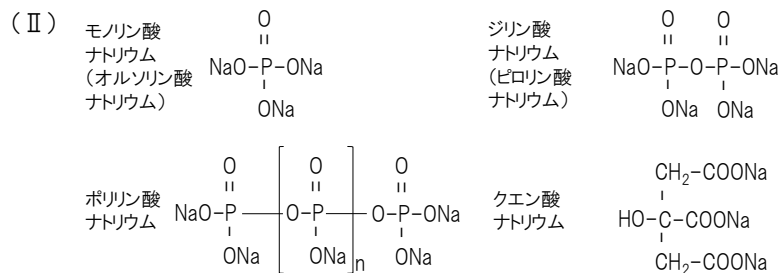
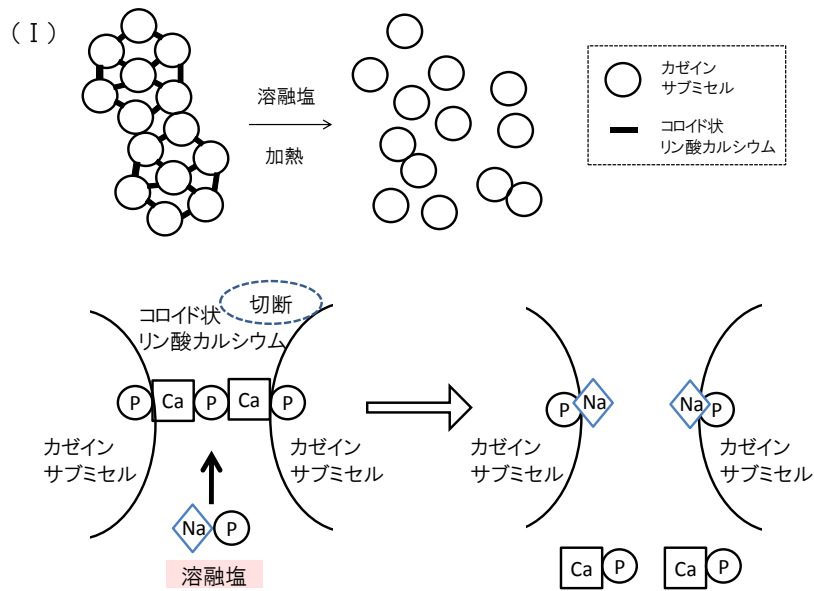
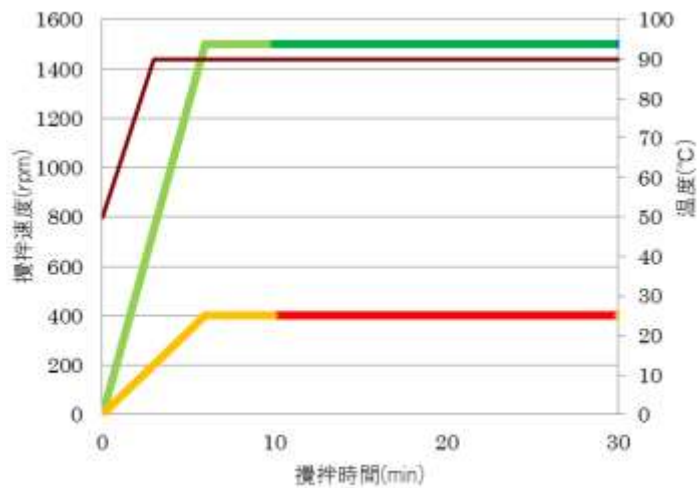


図 3-1. 牛乳からゲル状食品であるプロセスチーズができる過程
文献 (川崎、2010) ³³ より改変した。



分類	一般に使用される塩	Ca封鎖力	pH緩衝能	パラカゼイン水和力	脂肪乳化・分散力
クエン酸塩	クエン酸3Na	低い	高い	低い	低い
オルソリン酸塩	リン酸水素2Na リン酸3Na	低い	高い	低い	低い
ピロリン酸塩	ピロリン酸2水素2Na ピロリン酸水素3Na ピロリン酸4Na	中間的	中間的	極めて高い	極めて高い
ポリリン酸塩	トリポリリン酸5Na テトラポリリン酸Na塩 長鎖ポリリン酸Na塩	高い~ 極めて高い	低い~ 極めて低い	高い~ 低い	極めて高い~ 低い

図 3-2. I 溶融塩の作用によるカゼインミセルの分散効果
II プロセスチーズ製造に使用される溶融塩の種類と諸性質
文献 (川崎、2010) ³³ より改変した。



時間(分)	温度(°C)	回転数(rpm)
0	50	0
1	90	70
6	90	400
10	90	400
20	90	400
30	90	400

時間(分)	温度(°C)	回転数(rpm)
0	50	0
1	90	250
6	90	1500
10	90	1500
20	90	1500
30	90	1500

	10min	30min
400rpm	A	B
1500rpm	C	D

図 3-3. 温度・攪拌速度・攪拌時間の制御プロフィール

表3-1. プロセスチーズ作製の原料配合

材料	重量比 (%)			
	PDSP	PP	MP	TSC
ゴーダ	40	40	40	40
チェダー	40	40	40	40
ポリリン酸塩	1.6	2	0	0
シリン酸塩	0.4	0	0	0
モノリン酸塩	0	0	2	0
クエン酸塩	0	0	0	2
目標水分	45-46	45-46	45-46	45-46
最終pH	5.8-5.9	5.8-5.9	5.8-5.9	5.8-5.9

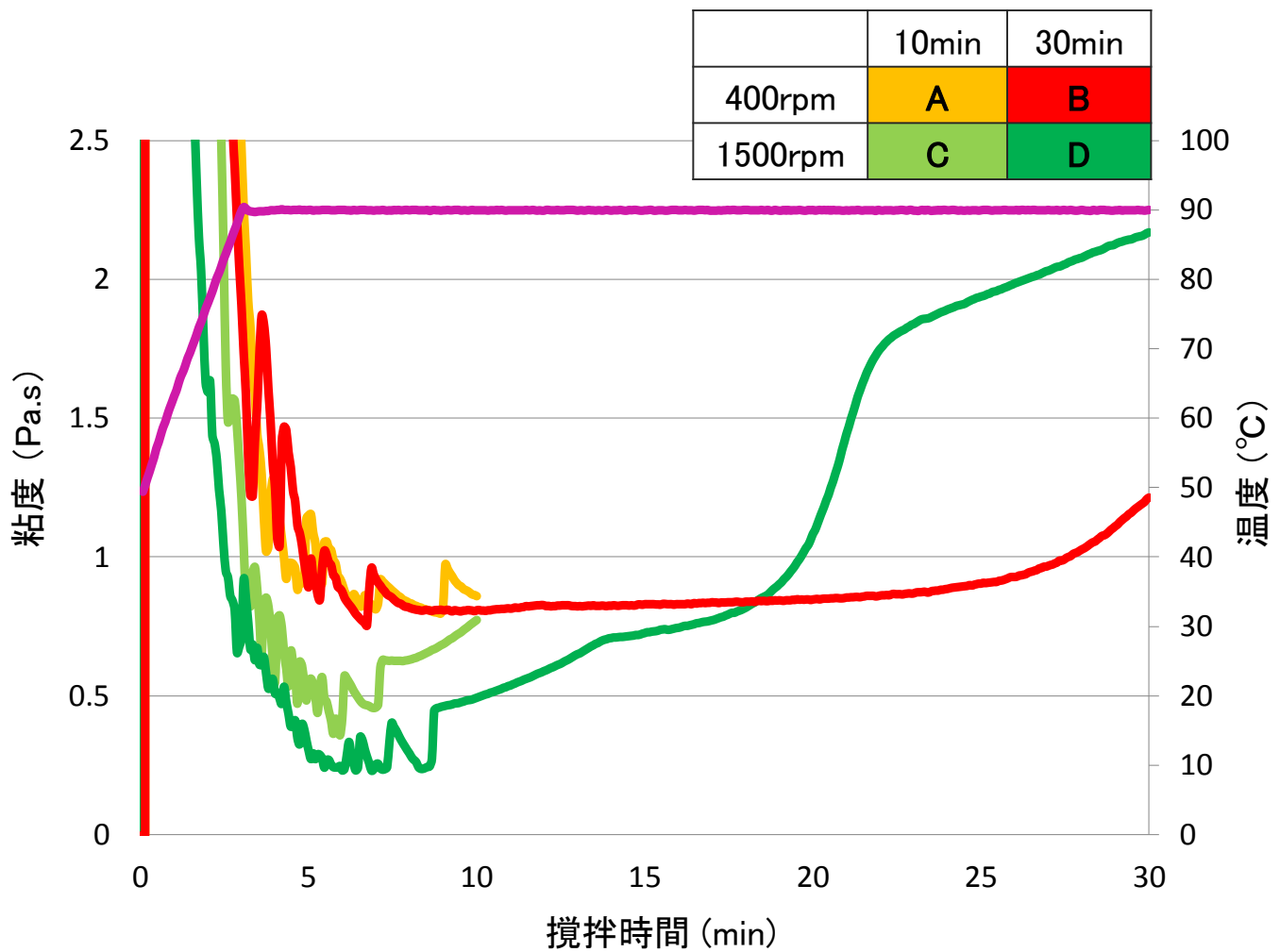
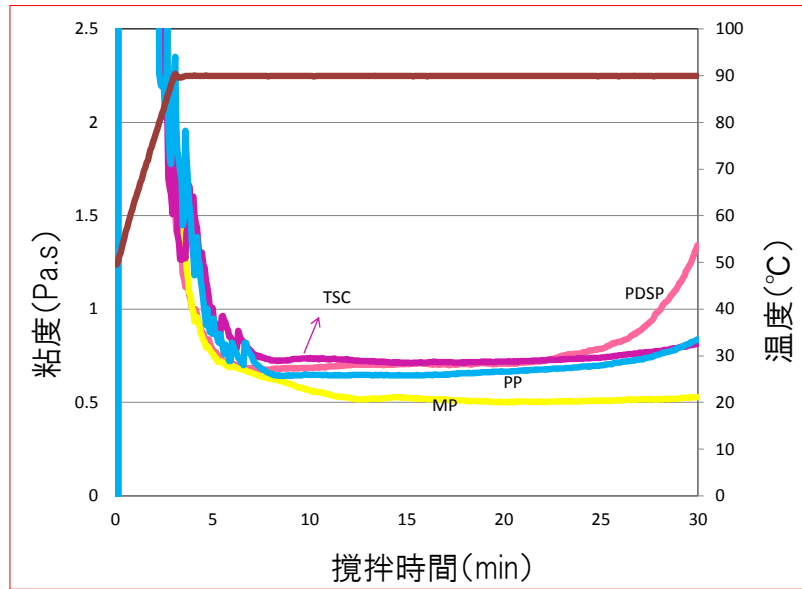


図 3-4. 乳化条件の異なるプロセスチーズの見かけ粘度曲線

* 溶融塩としてポリリン酸塩とジリン酸塩混合塩 (PDSP) を使用した

400rpm, 30min



1500rpm, 30min

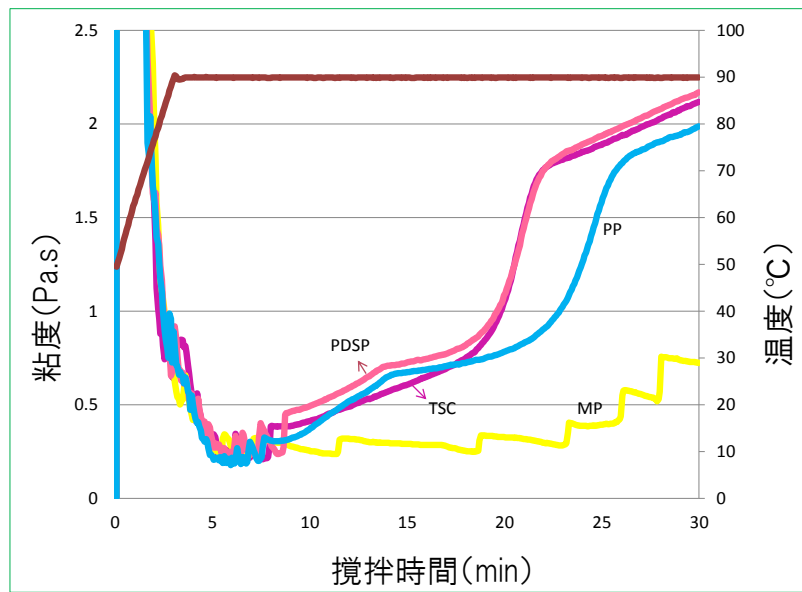


図 3-5. 溶融塩の異なるプロセスチーズの見かけ粘度曲線

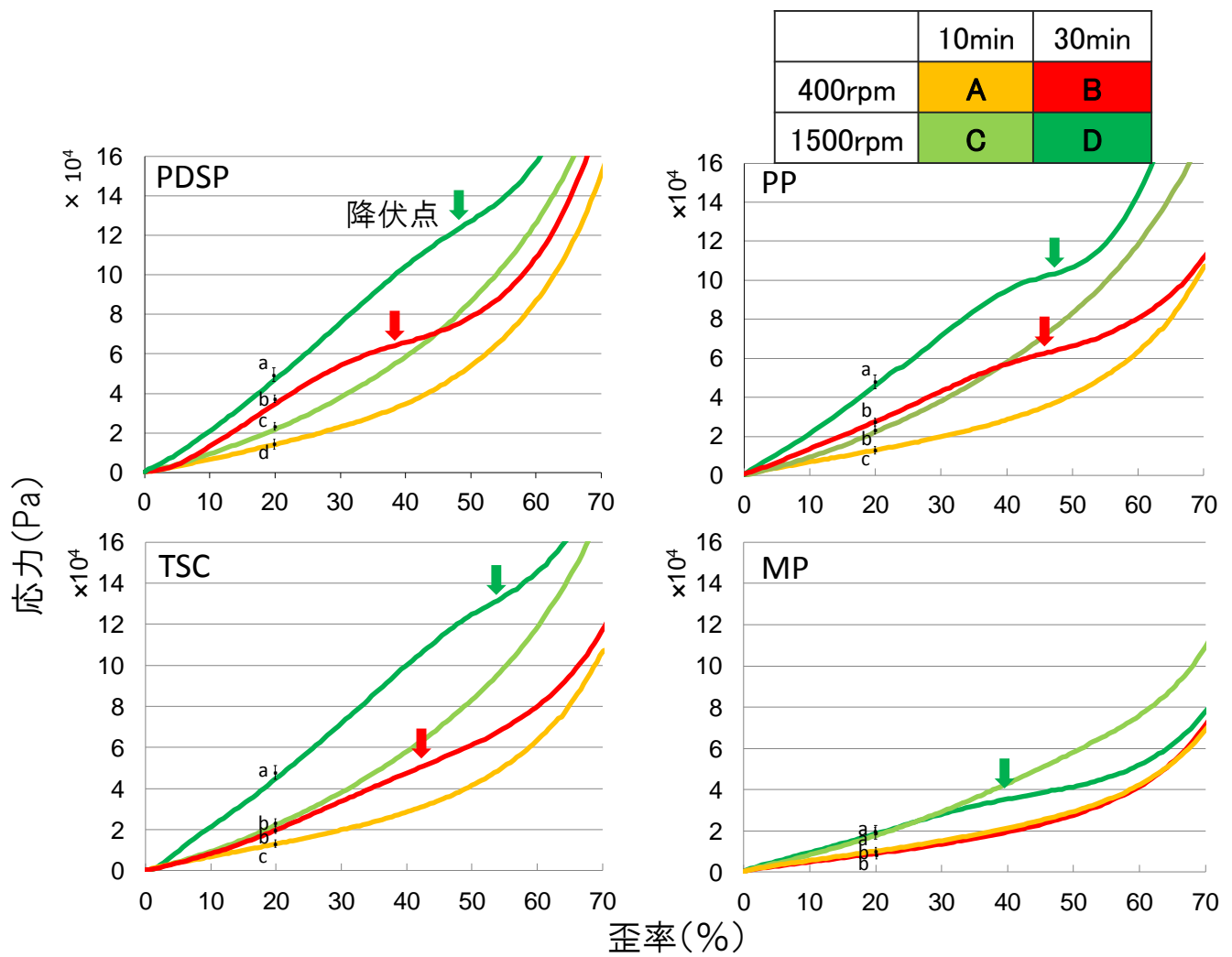


図 3-6. 各溶融塩において乳化条件の異なるプロセスチーズの破断強度曲線

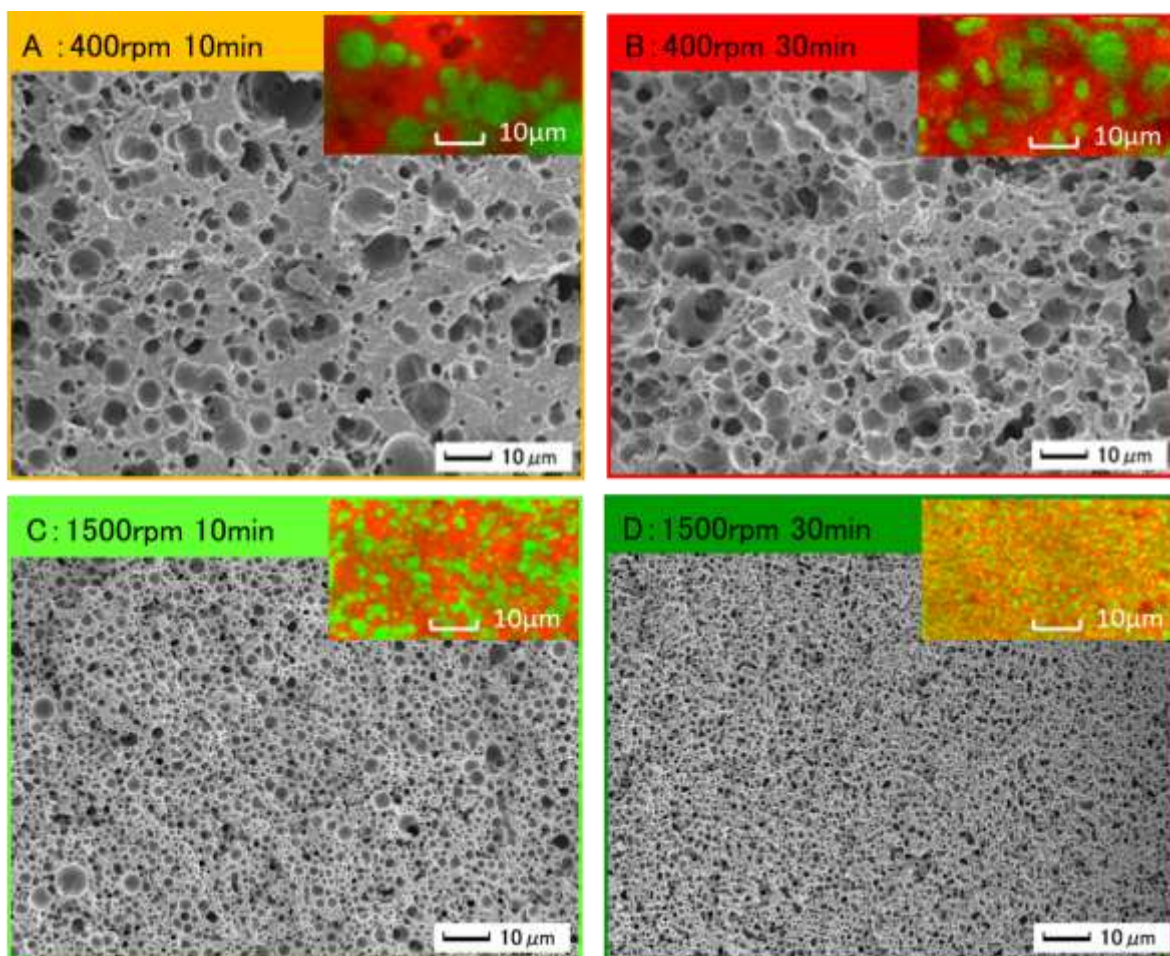


図 3-7. 乳化条件の異なるプロセスチーズの脂肪球サイズの CLSM 画像と SEM 画像

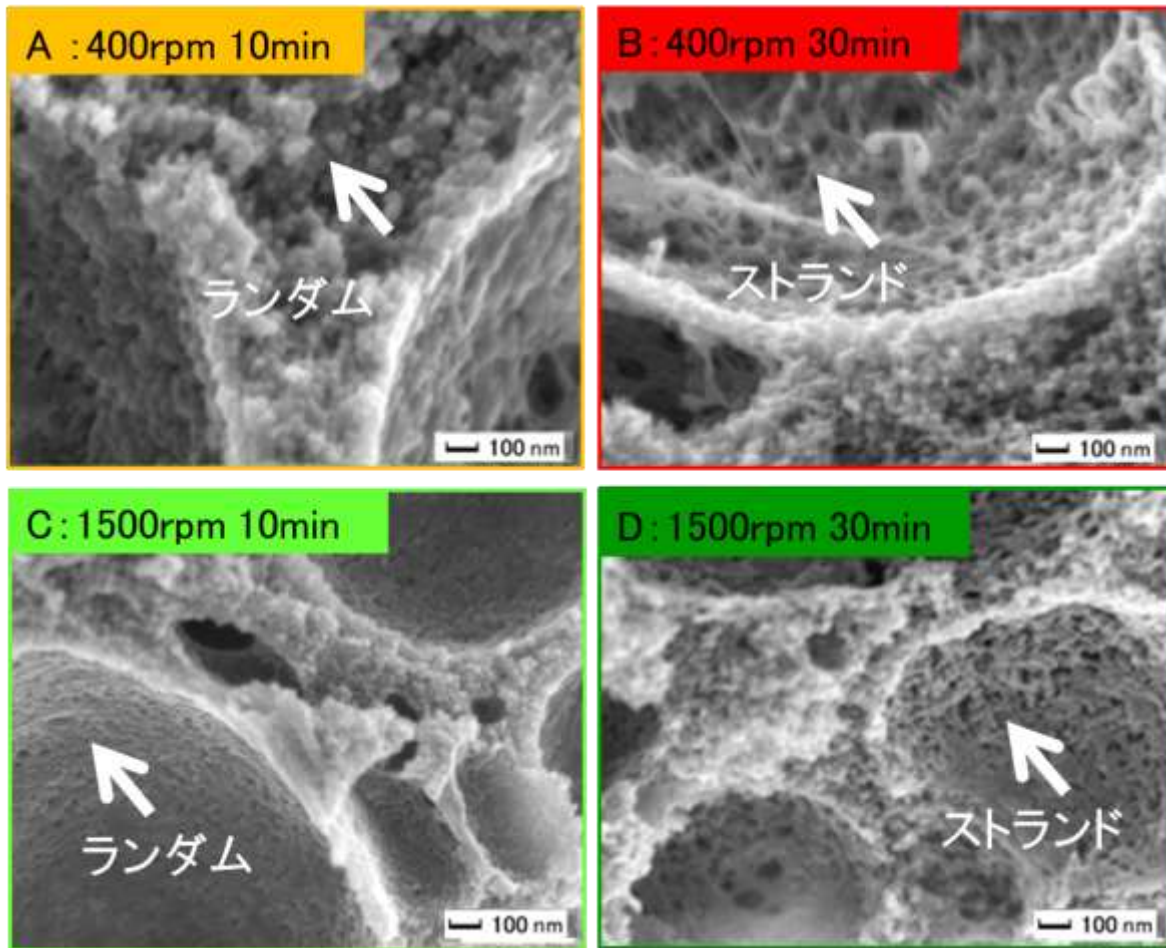
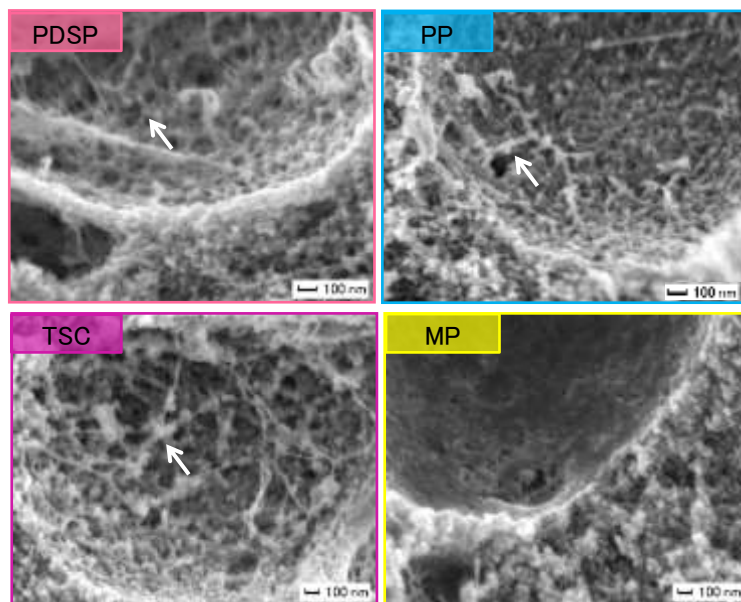


図 3-8. 乳化条件の異なるプロセスチーズのカゼインネットワーク構造の SEM 画像

400rpm, 30min



1500rpm, 30min

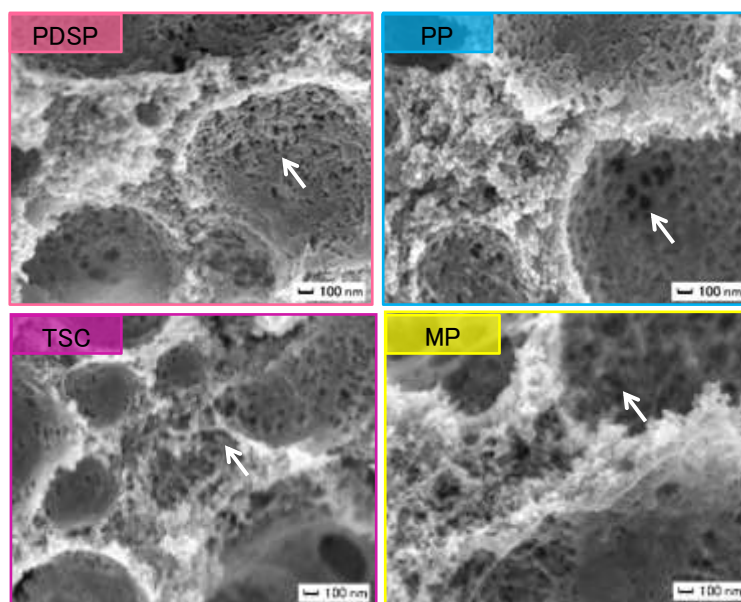


図 3-9. 溶融塩の異なるプロセスチーズのカゼインネットワーク構造 SEM 画像

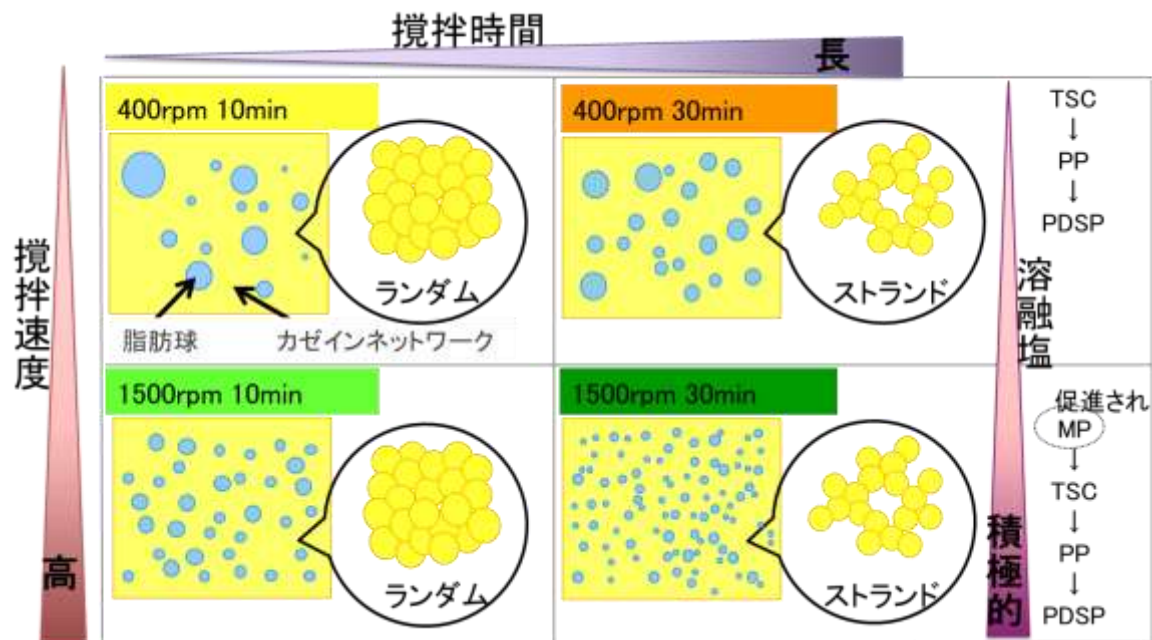


図 3-10. プロセスチーズへの異なる乳化条件や溶融塩の影響 (イメージ図)

3-2 プロセスチーズの力学物性と構造へのプレクックチーズ添加の影響

3-2-1 緒言

3-1 章では、攪拌速度が速い時、また攪拌時間が長い時、脂肪球が小さくなり、特に、攪拌時間が長い時、カゼインネットワークがランダム構造からストランド構造に変化することがわかった。このネットワークの変化がクリーミング効果（粘度上昇）、硬さの上昇および降伏点の生じることに寄与する。溶融塩を使用した場合では、単独溶融塩より、混合塩（ポリリン酸塩：ジリン酸塩＝4：1）の著しい効果が見られた。

クリーミングと同様に、プロセスチーズ製造において物性調整の目的で用いられている技術にプレクックチーズの利用がある^{33,69}。プレクックチーズとは、プロセスチーズを製造する過程で包装ミスなどによって製品化できなかったものや、製造終了後配管内に残ったチーズのことを言い、基本的にはプロセスチーズそのものである。ナチュラルチーズを加熱乳化しプロセスチーズを製造する際、このプレクックチーズを数%添加すると、クリーミングの場合と同様、乳化したチーズの粘度が上昇するとともに最終製品であるプロセスチーズをより硬く耐熱保形性のあるものに変化させる。

本章では、プロセスチーズの物性・構造への異なる作製条件で作ったプレクックチーズの影響を調べた。本章の結果に基づいて、適切なプレクックチーズを用いたプロセスチーズの粘度、物性および構造の制御が期待される。

3-2-2 材料及び方法

3-2-2-1 材料

ゴーダチーズ（豪州産）、チェダーチーズ（豪州産）は雪印メグミルク株式会社より入手した。ポリリン酸ナトリウム塩、ジリン酸ナトリウム塩、重曹は食品グレードを使用した。50%グルタルアルデヒド溶液、2%四酸化オスミウムは TAAB より入手した。ローダミン B はナカライテスク株式会社より入手した。BODIPY [D3825]は Life Technologies Corporation より入手した。他の試薬は全て特級を用いた。蒸留水をプロセスチーズ作製のための水として使用した。

3-2-2-2 プロセスチーズ作製法

冷凍保存（-20℃）された粉砕ナチュラルチーズを冷蔵庫（4℃）で約 24 時間かけて解凍した。材料を計量し、RVA 缶の中に、溶融塩、重曹、蒸留水の順に入れて攪拌した。さらに、原料チーズを加えパドルをはめ、乳化を行った。乳化は Rapid Visco Analyzer(RVA-4, Newport Scientific, Australia)にて行った。

4 つの乳化条件で作製したプロセスチーズをプレクックチーズとしても使用した。それぞれは PCLS（400 rpm、10 min）、PCLL（400 rpm、30 min）、PCHS（1500 rpm、10 min）、PCHL（1500 rpm、30 min）であった。新たなプロセスチーズの作製時の乳化条件は 400 rpm、15 min であった。溶融塩はポリリン酸塩とジリン酸塩の混合物を用いた。原料配合は表 3-2 に示した。乳化後の手順は 3-2 章 2-2 項と同様の方法で行なった。この条件でプレクックチーズを添加しない場合、クリーミング効果は起こらない。

3-2-2-3 分析法

3-2-2-3-1 破断強度試験

3-1-2-3-1 項と同様の方法で行なった。

3-2-2-3-2 共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM)

3-1-2-3-2 項と同様の方法で行なった。

3-2-2-3-3 走査型電子顕微鏡 (SEM)

3-1-2-3-3 項と同様の方法で行なった。

3-2-2-4 統計処理

3-1-2-4 項と同様の方法で行なった。

3-2-3 結果及び考察

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの見かけ粘度曲線

RVA による異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの見かけ粘度曲線を図 3-11 に示した。PCLS (400 rpm、10 min) と PCHS (1500 rpm、10 min) 添加の場合では、粘度曲線が後半では穏やかであり、上昇しなかった。つまり、短撪拌時間で作ったプレクックチーズの添加により、クリーミング効果に寄与していないことがわかった。一方、PCLL (400 rpm、30 min) と PCHL (1500 rpm、30 min) 添加の場合では、後半では粘度が上昇した。長時間撪拌で作ったプレクックチーズの添加により、クリーミング効果に促進することが明らかとなった。特に、PCHL の添加により最大に粘度上昇が見られた。30 min 長時間撪拌を前提にして、高速撪拌 1500 rpm の影響を強調した。

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの破断強度曲線

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの応力・歪曲線を図 3-12 に示した。PCLL (400 rpm、30 min)、特に PCHL (1500 rpm、30 min) 添加の場合では、立ち上がり応力が高く、降伏点が生じることを示している。一方、PCLS (400 rpm、10 min) と PCHS (1500 rpm、10 min) では、立ち上がり応力が緩やかに上昇していることがわかった。撪拌時間の長いプレクックチーズを添加すると、硬さの増加や降伏点の形成に寄与することが明らかとなった。

微細構造観察

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの脂肪球サイズを図 3-13 に示した。SEM も CLSM も 1000 倍画像であった。PCLS(400 rpm、10 min)、PCLL (400 rpm、30 min)、PCHS (1500 rpm、10 min) 添加の場合では、脂肪球サイズが大きいであり、PCHL (1500 rpm、30 min) 添加の場合では、脂肪球サイズが小さいことが見られた。つまり、異なるプレクックチーズの添加により、脂肪球サイズに影響を及ぼすことが明らかとなった。

異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズのカゼインネットワーク構造のモデルを図 3-15 に示した。PCLS と PCHS では、カゼインタンパクが凝集し、ランダムネットワークを示している。PCLL と PCHL では、数珠状のストランドネットワークを示している。つまり、攪拌速度に関わらず、攪拌時間の長いプレクックチーズを添加すると、カゼインのネットワークはストランドタイプになっていくことが明らかとなった。

異なる乳化条件のプレクックチーズの影響

過去の研究では、プロセスチーズへのプレクックチーズ添加の影響について、3%以下の量を添加してもプロセスチーズの粘度や物性へのプレクックチーズの効果が見られた⁶⁹。本研究では、プレクックチーズの添加量を 1.5%に小さく設定し、異なる条件のプレクックを添加することによって、プロセスチーズの見かけ粘度、物性や、構造が異なることがわかった (図 3-15)。PCLS (400 rpm、10 min : ランダム構造) と PCHS (1500 rpm、10 min : ランダム構造) を添加したプロセスチーズ場合では、カゼインネットワークがランダム構造であり、粘度が低く(ク

リーミング効果が起こらず)、軟らかくて降伏点を生じないことが明らかとなった。PCLL (400 rpm、30 min : ストランド構造) と PCHL (1500 rpm、30 min : ストランド構造) を添加した場合には、カゼインネットワークがストランド構造であり、粘度が上昇し (クリーミング効果が起こる)、硬くて降伏点を生じることが明らかとなった。また、脂肪球サイズについて、PCHL 添加の場合のみ、脂肪球が小さくなった。プレクックチーズの高速攪拌や長時間攪拌により、脂肪球サイズが小さくなることが明らかとなった。

3-2-4 結論

短攪拌時間で作ったプレクックチーズの添加により、カゼインネットワークがランダム構造であり、低い粘度や軟らかい物性を示した。長時間攪拌で作ったプレクックの添加により、カゼインネットワークがストランド構造であり、クリーミング効果（粘度上昇）、硬い物性および降伏点の形成に寄与する。特に、長時間攪拌と高速攪拌で作ったプレクックの添加により、小脂肪球を持つプレクックがプロセスチーズの脂肪球に影響を与え、脂肪球が小さくなり、より硬い物性を示した。

以上の結果は、プロセスチーズの粘度、物性および構造などの制御に貢献すると考えられる。

3-2-5 図表

表3-2. プレクックチーズを添加したプロセスチーズの原料配合

材料	重量比 (%)	
	プレクックチーズ	プロセスチーズ
ゴータ	40	40
チェダー	40	40
溶融塩	2	2
プレクック	0	1.5
目標水分	45-46	45-46
最終pH	5.8-5.9	5.8-5.9

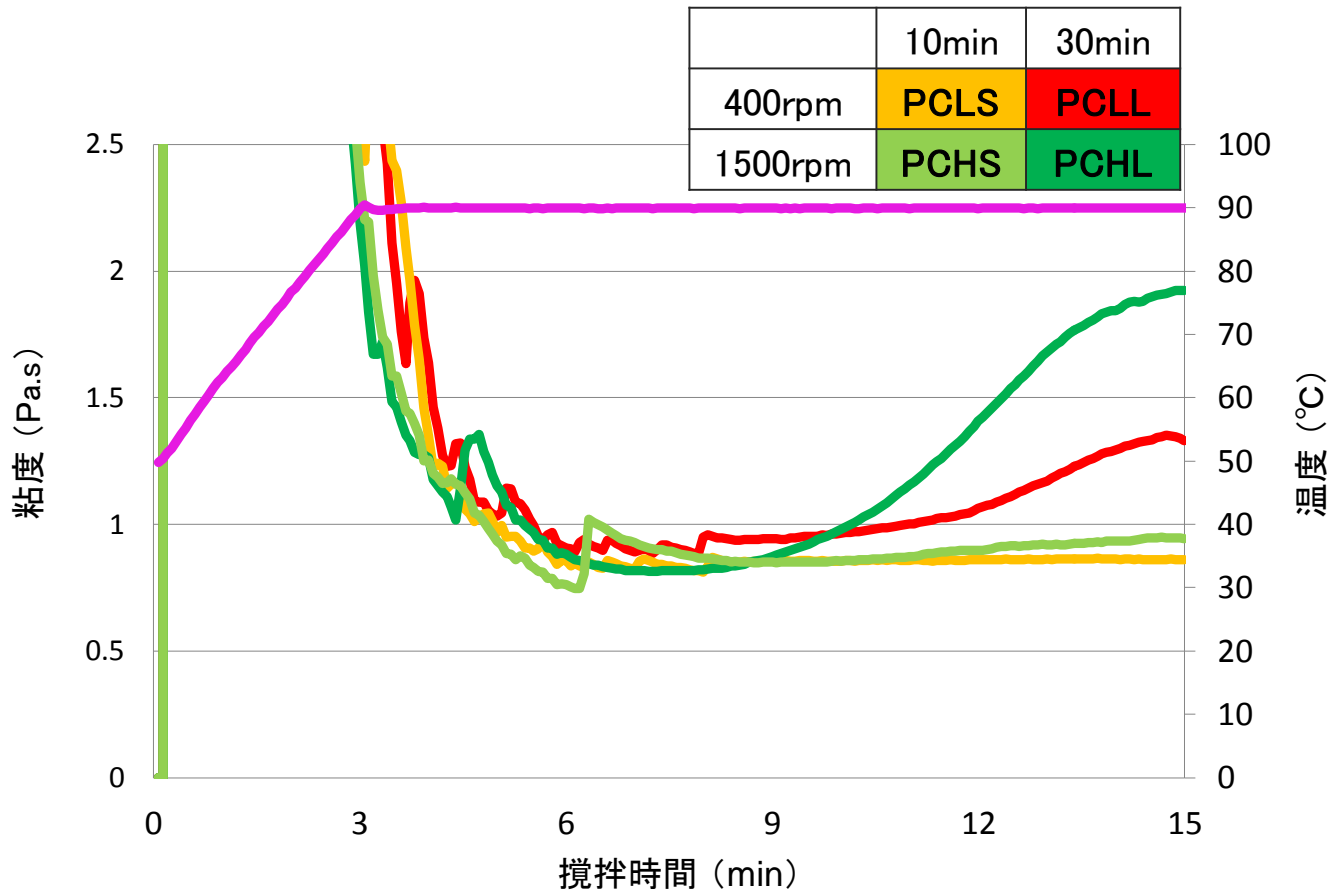


図 3-11. 異なるプレックチーズを添加したプロセスチーズの見かけ粘度曲線

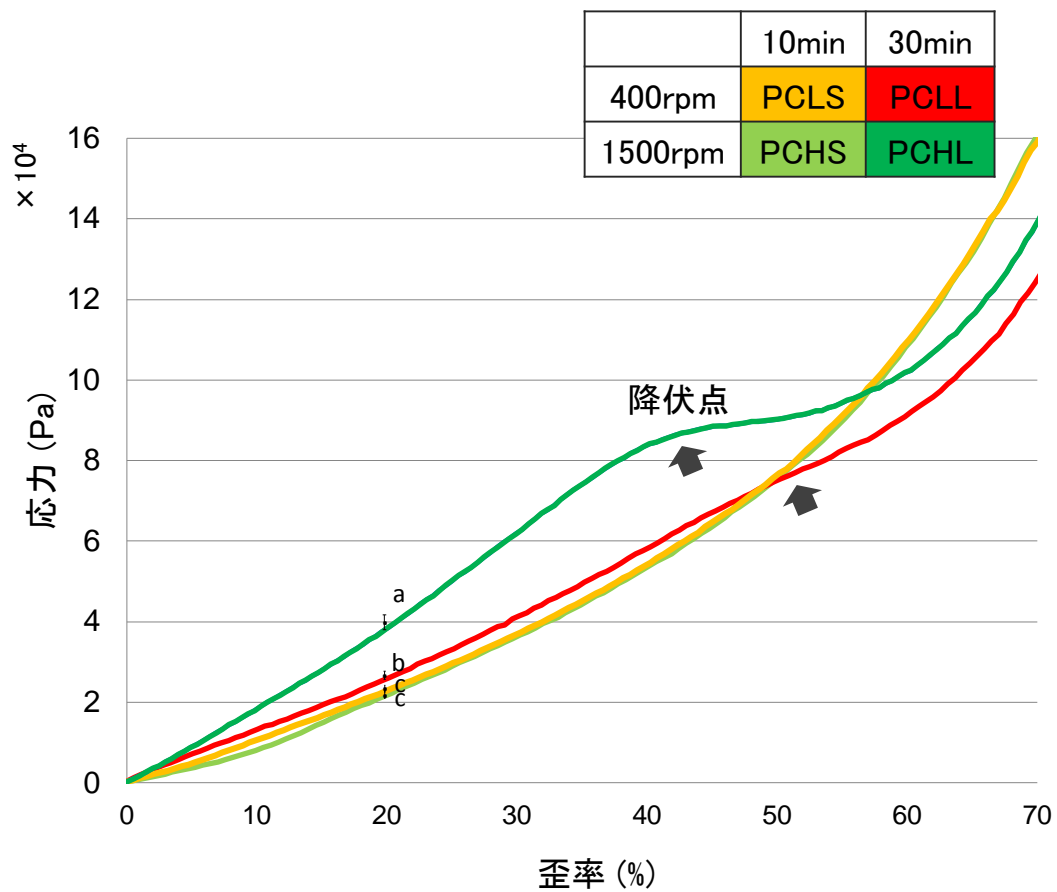


図 3-12. 異なるプレックチーズを添加したプロセスチーズの破断強度曲線

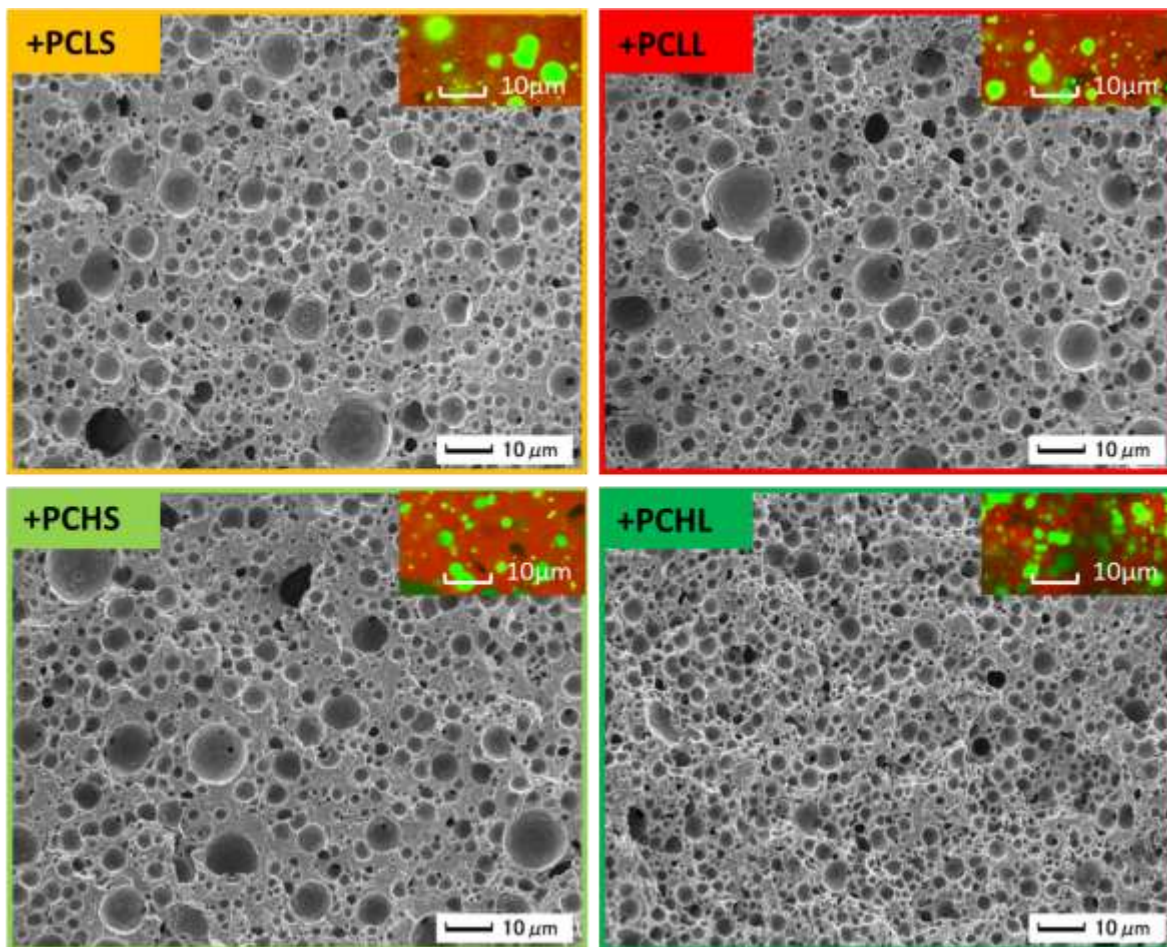


図 3-13. 異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズの脂肪球サイズの CLSM 画像と SEM 画像

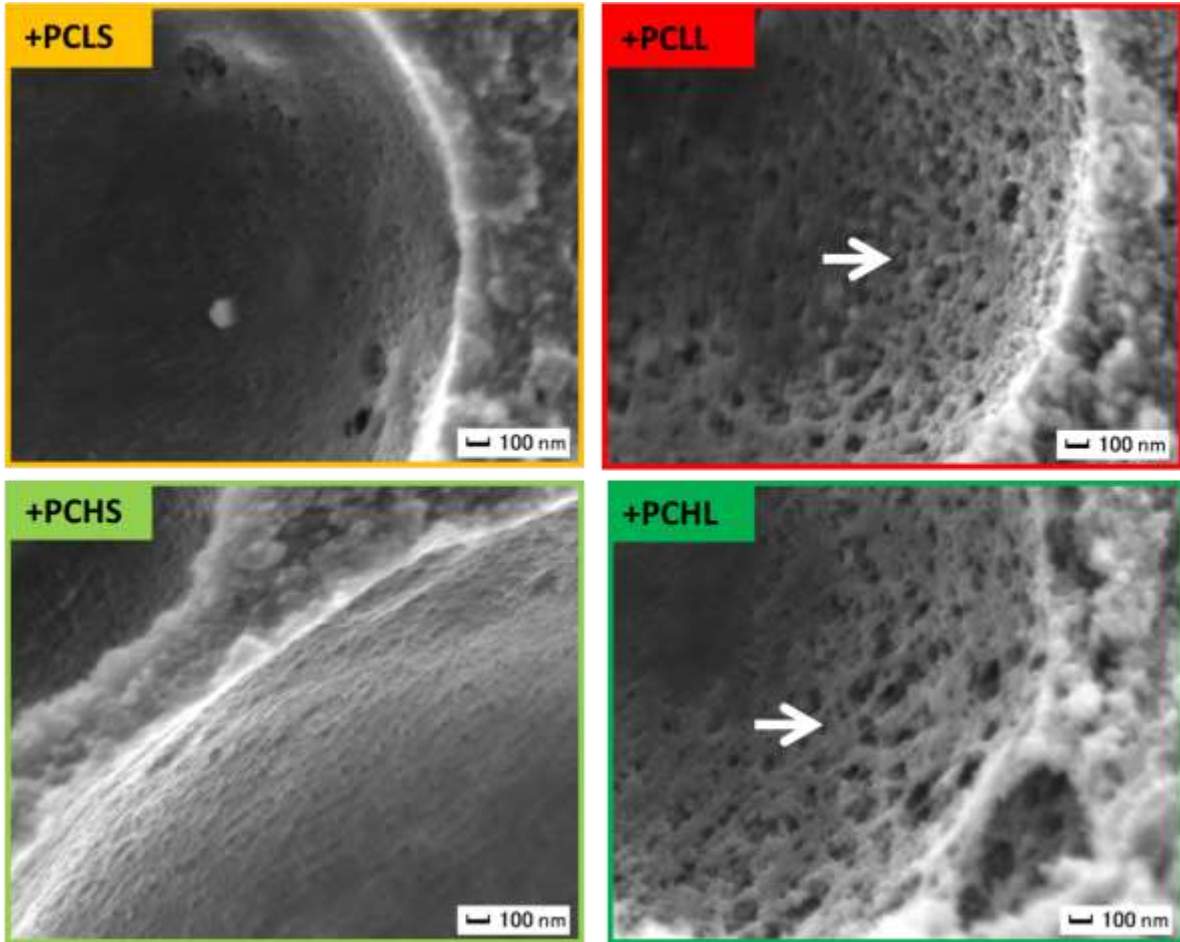


図 3-14. 異なるプレクックチーズを添加したプロセスチーズのカゼインネットワーク構造の SEM 画像

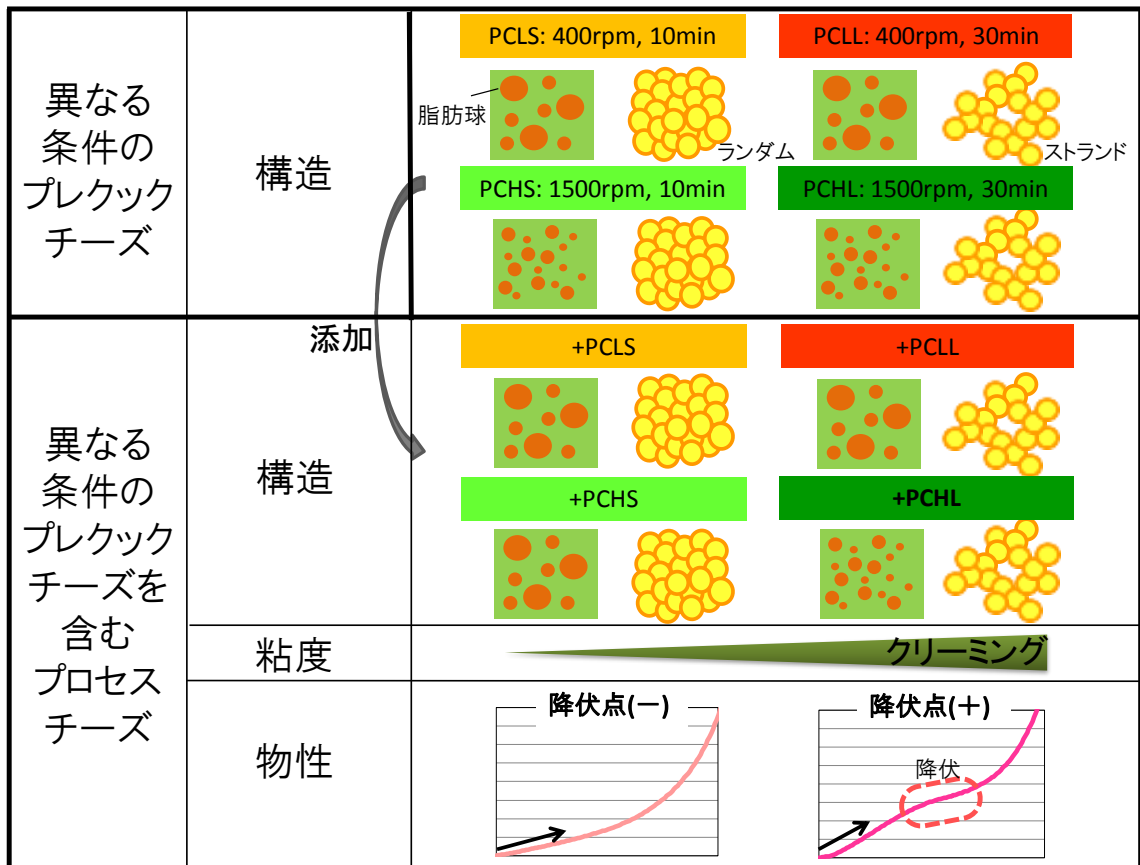


図 3-15. プロセスチーズへの異なる条件のプレックチーズ添加の影響(イメージ図)

4 ネットワーク構造の異なるプロセスチーズの力学物性と構造への澱粉添加の影響

4-1 緒言

前章では、プロセスチーズの製造過程において、加熱乳化条件の違いによりカゼインネットワーク構造がランダムタイプとストランドタイプの異なる二種類に分けられることが明らかとなった。また、溶融時の攪拌速度や時間がある範囲になれば、粘度が次第に上昇するクリーミング効果が見られる。このクリーミング効果を持つプロセスチーズをプレックチーズとして再添加すると、カゼインミセルの構造変化（ストランド構造）に起因する現象であり、プロセスチーズの物性などにも影響を及ぼすことが明らかとなった（図 4-1）。プロセスチーズの物性の変化は、根本的に、カゼインネットワーク構造の変化が原因であると考えられている^{68,69}。

品質の多様性が求められる食品開発の現場において、望む食感を設計するため、多糖類を添加することは常用的な方法である。近年、プロセスチーズへの多糖類添加の研究が多く増えている^{77,95-101}。中でも、澱粉は加工食品の保水、増粘、ゲル化などの機能性を持つため、よく使用されている。第2章では、タピオカ澱粉は「もちもち」食感、馬鈴薯澱粉は「さっくり」食感を付与することと考えられ、ネットワーク構造の異なるホエータンパク質ゲルに添加することで、それぞれがゲルの破断特性に大きく影響を及ぼすことが明らかとなった。本章では、実際のタンパク質ゲル状食品であるプロセスチーズにおいても、この食感の異なる二種類澱粉を用いて、ネットワーク構造の異なるプロセスチーズのクリーミング効果・力学物性・構造などへの影響を検討した。

前章の結果から、攪拌時間が長い時、カゼインネットワークがランダム構造から

ストランド構造に変化することを明らかにした。しかし、加熱時間の違いによる異なる構造のプロセスチーズに澱粉を添加する場合には、加熱時間の違いが澱粉の糊化に影響を与える可能性があたため、澱粉添加の影響が明確に確認できないと考えられる。そこで、同じ加熱条件で異なる構造のプロセスチーズを作製するために、異なる2種類の構造を持つプレックチーズを使用した。

本章では、異なるネットワーク構造のプロセスチーズのクリーミング効果と物性と構造への異なる食感澱粉添加の影響を検討し、カゼインネットワーク構造の変化に着目し、力学物性および粘度の変化と関連づけた。

4-2 材料及び方法

4-2-1 材料

ゴーダチーズ（豪州産）、チェダーチーズ（豪州産）は雪印メグミルク株式会社より入手した。ポリリン酸ナトリウム塩、ジリン酸ナトリウム塩、重曹は食品グレードを使用した。50%グルタルアルデヒド溶液、2%四酸化オスミウムは TAAB より入手した。他の試薬は全て特級を用いた。蒸留水をプロセスチーズ作製のための水として使用した。

4-2-2 プロセスチーズ作製法

4-2-2-1 プレクックチーズの作製

プレクックチーズの作製とそれを用いたプロセスチーズの作製方法を図 4-2 に示した。まず、プレクックチーズの作製手順について、冷凍保存（-20℃）された粉砕ナチュラルチーズを冷蔵庫（4℃）で約 24 時間かけて解凍した。材料を計量し、RVA 缶の中に、溶融塩、重曹、蒸留水の順に入れて攪拌した。さらに、原料チーズを加えパドルをはめ、乳化を行った。溶融塩はポリリン酸塩とジリン酸塩の混合物を使用した。乳化は Rapid Visco Analyzer(RVA-4, Newport Scientific, Australia)にて、攪拌速度と攪拌時間の異なる 2 条件（1000 rpm, 10 min; 1000 rpm, 30 min）で行った。このように作製したチーズをプレクックチーズとして使用した。原料配合は表 4-1 に示した。

4-2-2-2 プロセスチーズの作製

プロセスチーズの作製手順について、一晩保存した二種類プレクックチーズを使用しプロセスチーズを作製した。手順は前の段落とほぼ同様であるが、プレクックチーズをナチュラルチーズに5%添加し、他の原料と混合、さらに澱粉を2.5%添加し、RVAにて1000 rpm,15 minの同じ加熱熔融過程を経て、プロセスチーズを作製した。作製したプロセスチーズは一定水分、pHになるように調整した。原料配合は表4-2に示した。

分析用プロセスチーズは1000 rpm,10 minで作製したプレクックチーズPC1を添加した澱粉無添加NPC1、タピオカ澱粉添加TPC1、馬鈴薯澱粉添加PPC1及び1000 rpm,30 minで作製したプレクックチーズPC2を添加した澱粉無添加NPC2、タピオカ澱粉添加TPC2、馬鈴薯澱粉添加PPC2、計六種類のプロセスチーズを作製した。

4-2-3 分析法

4-2-3-1 破断強度試験

直径10 mmのストローでチーズをくり抜き、高さ5 mmの円柱型にカットしたチーズをペトリシャーレの中に2個ずつ入れ、ステンレスパットの上に置き、冷蔵庫4℃で1時間冷やして測定用のサンプルとした。クリープメータ(RE2-33005s, YAMADEN)を用いて1種類につき10回、破断強度試験を行った。測定条件は貫入型のプランジャー(直径3 mm)を用い、ロードセル20 N、測定速度1 mm/secとした。応力・歪曲線はfracture test analysis software

Ver.2.0 を用いて処理した。

4-2-3-2 走査型電子顕微鏡 (SEM)

微細構造観察

SEM 観察の前処理手順について、チーズを剃刀で約 $1 \times 1 \times 5$ mm 角の大きさに切った。未破壊サンプルとして冷蔵庫(4°C)内で 1%グルタルアルデヒド溶液に一晩浸漬、1%四酸化オスミウム溶液に 90 分間浸漬して化学二重固定した。エタノール溶液の上昇系列 (30, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100%)に各 20 分間室温で浸漬して脱水した。そして、中間液である酢酸イソアミルに 20 分間 2 回浸漬し、臨界点乾燥装置(JCPD-5, 日本電子株式会社)で液化二酸化炭素に置換した後、臨界点乾燥した。内部構造を観察するためにサンプルを切断し、カーボンテープとカーボンペーストで試料台上に固定した。オスミウムプラズマコーター(NL-OPC80N, 日本レーザ電子株式会社)を用いて、放電時間 8 秒間で被膜厚約 6 nm になるようにオスミウムを蒸着した。これらを電界放射型走査型電子顕微鏡 (SEM) (JSM-6700F, 日本電子株式会社)で観察した。加速電圧は 3 kV、照射電流は $8 \mu\text{A}$ とした。観察後、Smile View Ver. 2.06 (日本電子株式会社)にて画像解析を行った。

アミラーゼ処理による澱粉構造の除去

アミラーゼ処理によって澱粉構造を除去したサンプルを SEM 観察することで、プロセスチーズ中の澱粉構造の確認を行った。サンプルを剃刀で厚さ 1 mm 程度

に薄く切った。蒸留水 6 ml、 α -アミラーゼ原液 20 μ l の混合液を調製し、スチロールねじ瓶 (10 ml) にサンプルを入れ、37 °C に設置した恒温槽中で振動させずに 3 時間処理した。この処理を行ったものについて、前の段落に準じて前処理を行い、SEM 観察を行った。

4-2-4 統計処理

統計処理には、IBM SPSS Statistics Ver.21 (日本アイ・ビー・エム株式会社) を用いた。一元配置分散分析による試料間の破断特性の差を検定した。有意差は $p < 0.05$ であった。

4-3 結果及び考察

4-3-1 二種類のカゼインミセルネットワーク構造

プレクックチーズの二種類カゼインネットワーク構造のSEM観察結果を図4-3に示した。1000rpm,10minで作製したプレクックチーズPC1は大きい脂肪球サイズ(最大:約7 μ m)を有することが分かり、1000rpm,30minで作製したプレクックチーズPC2では、PC1より小さい脂肪球(最大:約3 μ m)を持つことがわかった。また、PC1はカゼインミセルが凝集したランダム構造を有するのに対し、PC2は延長した数珠状ストランド構造を有した。すなわち、異なる乳化条件によりネットワーク構造の異なる二種類プレクックチーズを作製できた。

二種類のカゼインネットワーク構造を持つプレクックチーズを添加したプロセスチーズのカゼインネットワーク構造のSEM観察結果を図4-4に示した。PC1を添加したプロセスチーズ(NPC1)では、ランダム構造を形成することがわかった。一方、PC2を添加したプロセスチーズはストランド構造を持つことがわかった。すなわち、プレクックチーズのカゼインネットワーク構造はプロセスチーズのカゼインネットワーク構造に影響することが明らかとなった。以上の様に、同じ加熱時間で、ネットワーク構造の異なるプレクックチーズを添加することで、異なる構造のプロセスチーズを作製できた。

4-3-2 見かけ粘度

RVAによる各プロセスチーズの見かけ粘度曲線を図4-5に示した。PC1を添加したプロセスチーズをPC1グループ(NPC1, TPC1, PPC1)、PC2を添加し

たプロセスチーズを PC2 グループ (NPC2, TPC2, PPC2) とした。PC1 グループより、PC2 グループの各サンプルは高い粘度を示した。PC2 グループでは、NPC2 よりも TPC2 と PPC2 は高い粘度であった。これは澱粉の糊化による粘度の上昇が考えられる。また、5-9min の間に、粘度が上昇し、クリーミング効果が見られた。PC1 グループでは、同様に単独よりも澱粉の添加により、粘度の上昇が見られたが、早い段階では、TPC2 と PPC2 の様な粘度上昇が見られなかった。しかし、PPC1 は 13min 後、急に粘度の上昇が見られた。すなわち、PPC1 ではクリーミング効果が生じた。

4-3-3 破断強度試験

破断強度試験による応力歪率曲線を図 4-6A、歪率 10%、30%、60%の応力を図 4-6B に示した。馬鈴薯澱粉の添加を除いて、PC2 グループは PC1 グループより硬い物性を示した。すなわち、馬鈴薯澱粉の添加はタピオカ澱粉よりプロセスチーズに硬い性質を加えた。PC1 グループでは (図 4-6B-1)、低歪率 (10% と 30%) での立ち上がりの応力は PPC1 > TPC1 > NPC1 であった ($p < 0.05$)。高歪率 60%の応力では、TPC1 と NPC1 の有意差が見られなかったが、PPC1 は有意に高かった ($p < 0.05$)。プロセスチーズの硬さへの馬鈴薯澱粉の有意な影響が考えられるのに対し、タピオカ澱粉はプロセスチーズの低歪率の立ち上がり応力のみに影響を与えられられる。一方、PC2 グループでは (図 4-6B-2)、プロセスチーズの硬さへの澱粉添加の影響が見られなかった。PC2 グループはストランド構造を持つ、このストランド構造がプロセスチーズの硬さに大きく寄与するため、澱粉の添加量 2.5%では影響が小さいと考えられる。

4-3-4 微細構造

澱粉構造を確認するため、アミラーゼ処理による澱粉を除いた画像と澱粉を含むプロセスチーズの画像を比較した。PC1 グループにおいて、TPC1 では(図 4-7)、カゼインネットワーク連続相の中で変形し伸びるタピオカ澱粉の繊維状構造が分散している様子が見られたが、アミラーゼで処理した画像では見られなかった。すなわち、アミラーゼ処理により、澱粉構造を除いたと考えられる。澱粉粒構造が存在していないことは、高速攪拌により澱粉粒が壊れたと考えられる。NPC1 より、低歪率での TPC1 の硬さがこれら繊維状澱粉構造により決められると考えられる。過去の研究では^{99,100}、プロセスチーズのカゼインネットワーク構造において、澱粉が充填物として分散している時、プロセスチーズの硬さあるいは弾性性質を増加し、添加された澱粉の性質に依存すると報告されている。本研究では、タピオカ澱粉の添加により、高倍率のカゼインネットワーク構造では、カゼインが凝集するランダム構造が見られた。このランダム構造がプロセスチーズの軟らかい性質を維持したと考えられる。PPC1 では(図 4-8)、壊れた馬鈴薯澱粉の構造が見られたが、タピオカ澱粉の繊維状構造より、馬鈴薯澱粉の構造が厚くて、塊状であった。また、高倍率のカゼインネットワーク構造では、カゼイン分子が分散しているストランド構造が見られた。Trivedi ら⁹⁹の研究では、プロセスチーズの食感性質、特に硬さへの馬鈴薯澱粉の影響が著しかった。本研究では、硬い性質を持つ馬鈴薯澱粉だけでなく、カゼインネットワーク構造がストランドへの変化は PPC1 の硬い物性と粘度曲線でのクリーミング効果が生じる(図 4-4)原因である可能性が示された。しかし、馬鈴薯澱粉の添加によるランダムからストランドへの構造の変化について、今後、さらなるの研究が必要である。

PC2 グループにおいて、TPC2 では、TPC1 と同様に壊れて伸びる繊維状構造

が見られた(図 4-9)。また、カゼインネットワーク構造がストランド構造であり、NPC2 のストランド構造と一致した。PPC2 では、カゼインネットワーク構造がストランド構造を有することが確認された。同じストランド構造を持つ NPC2 と TPC2 と PPC2 は硬さの違いが見られなかった原因であると考えられる。

Ye ら¹⁰⁰ は、澱粉の添加量が全体の 4%以下であると、充填物としてチーズのマトリクスに分散している時に、チーズの性質に影響が小さいことを報告した。本研究では、澱粉の添加量が 2.5%であった。添加量が低いため、ストランド構造を持つ PC2 グループに十分に影響を与えない、硬さへの有意に影響が見られなかったと考えられる。しかし、小さい添加量であっても、ランダム構造を持つ PC1 グループに影響を与え、特に、低歪率における応力への影響が有意に見られた。つまり、ストランド構造よりも、ランダム構造において、充填物として澱粉の性質が現れやすいことが明らかとなった。

4-4 結論

ランダム構造を持つプレクックチーズを添加したプロセスチーズにおいて、タピオカ澱粉の添加の場合では、カゼインネットワーク構造がランダムであり、特に、馬鈴薯澱粉の添加の場合では、ランダムからストランド構造に変化した。ランダムからストランドに変化することで、馬鈴薯澱粉の添加により、プロセスチーズの硬さが増加した（図 4-11）。ストランド構造を持つプレクックチーズを添加したプロセスチーズにおいて、カゼインネットワーク構造と力学物性への澱粉添加の影響が見られなかった。本章の結果から、ネットワーク構造の異なるプロセスチーズの粘度や力学物性などへの食感の異なる澱粉添加の影響を明らかにした。

4-5 図表

表4-1. プレクックチーズ作製の原料配合

原料	重量比% (w/w)	
	PC1	PC2
ゴータチーズ	40	40
チェダーチーズ	40	40
ポリリン酸塩	1.6	1.6
シリルン酸塩	0.4	0.4
最終水分含量(%)	45-46	45-46
最終pH	5.8-5.9	5.8-5.9
RVA 乳化条件		
攪拌速度 (rpm)	1000	1000
攪拌時間 (min)	10	30
温度 (° C)	90	90

表4-2. プロセスチーズ作製の原料配合

原料	重量比% (w/w)					
	NPC1	TPC1	PPC1	NPC2	TPC2	PPC2
ゴータチーズ	40	40	40	40	40	40
チェダーチーズ	40	40	40	40	40	40
ポリリン酸塩	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
シリルン酸塩	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
PC1	5	5	5	0	0	0
PC2	0	0	0	5	5	5
タピオカ澱粉	0	2.5	0	0	2.5	0
馬鈴薯澱粉	0	0	2.5	0	0	2.5
最終水分含量	48-50	48-50	48-50	48-50	48-50	48-50
最終pH	5.8-5.9	5.8-5.9	5.8-5.9	5.8-5.9	5.8-5.9	5.8-5.9
RVA 乳化条件						
攪拌速度 (rpm)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
攪拌時間 (min)	15	15	15	15	15	15
温度 (° C)	90	90	90	90	90	90

プロセスチーズの多相・多成分系エマルジョン構造⇒O/W

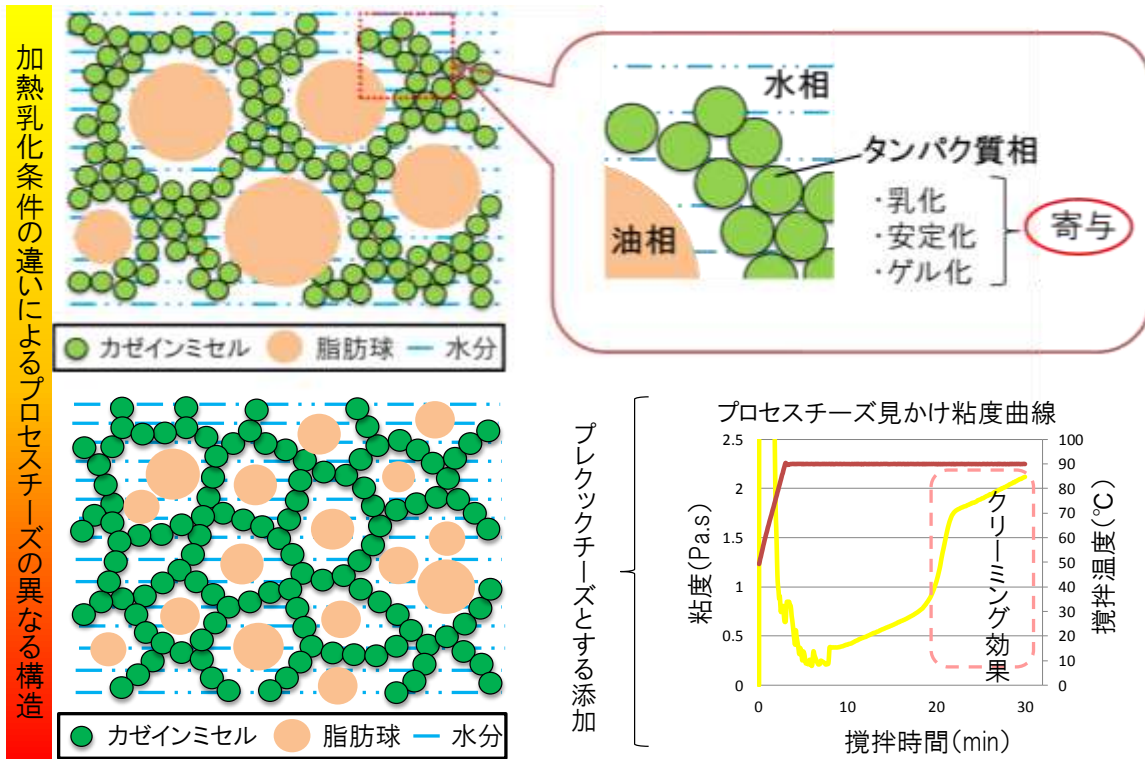


図 4-1. プロセスチーズの異なる二種類カゼインネットワーク構造

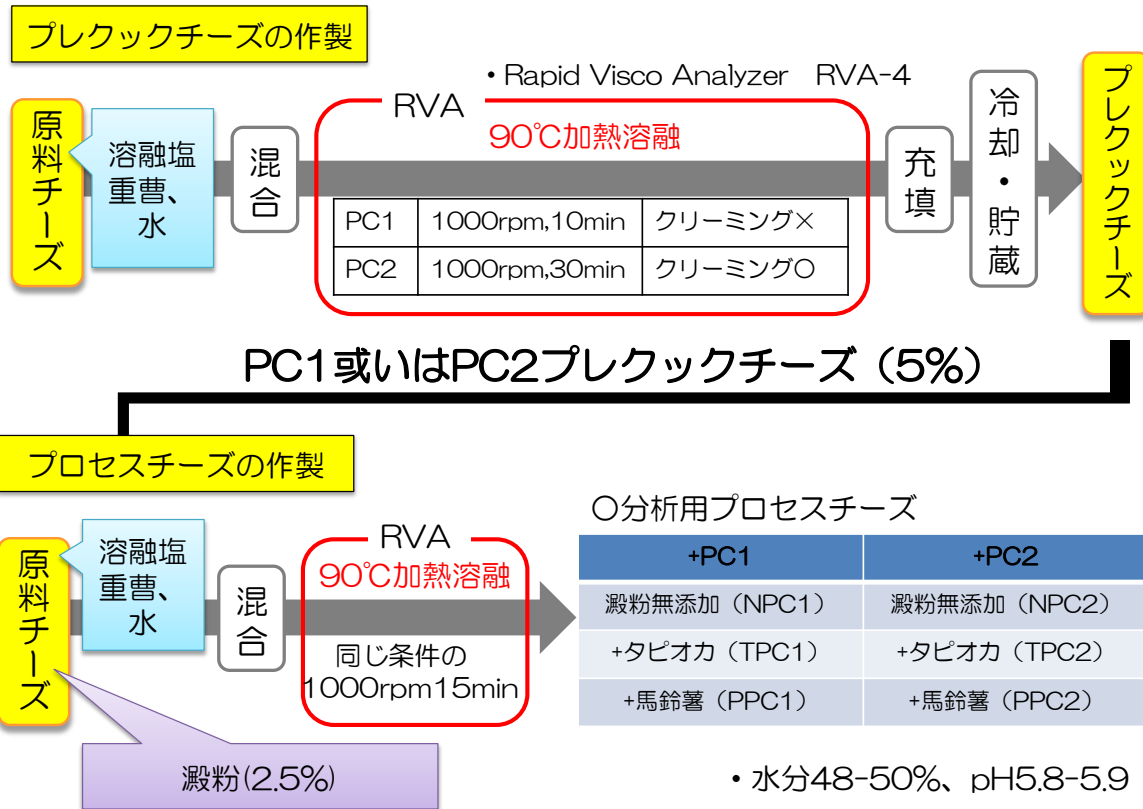


図 4-2. プレクックチーズを添加するプロセスチーズの作製手順

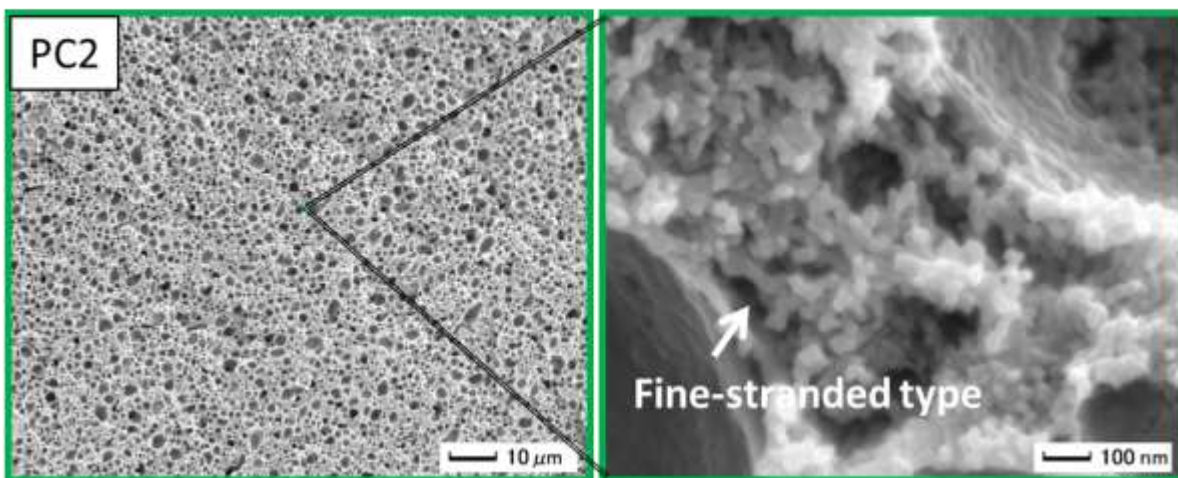
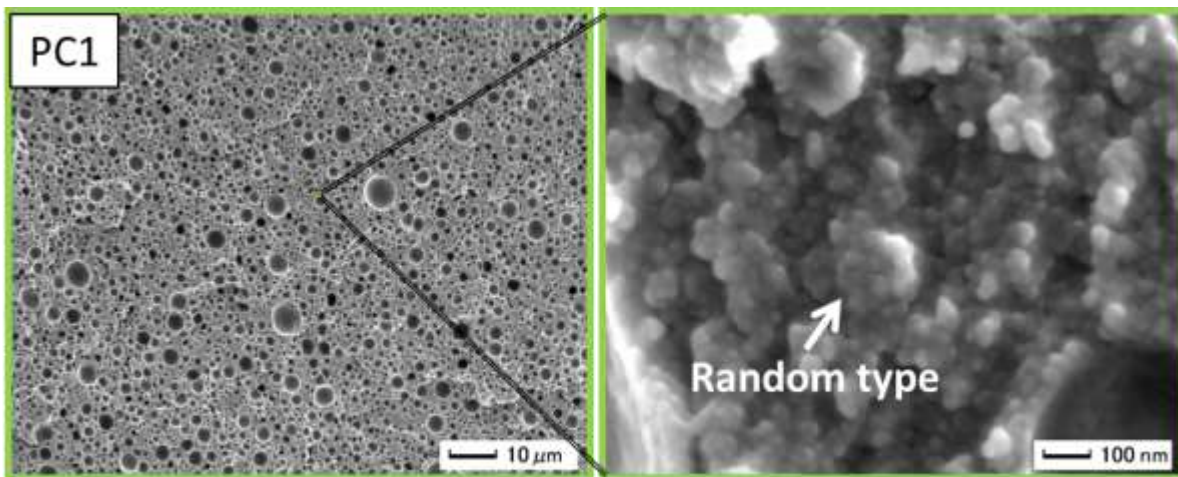


図 4-3 カゼインネットワーク構造の異なるプレックチーズのSEM画像
左側：1K倍；右側：100K倍

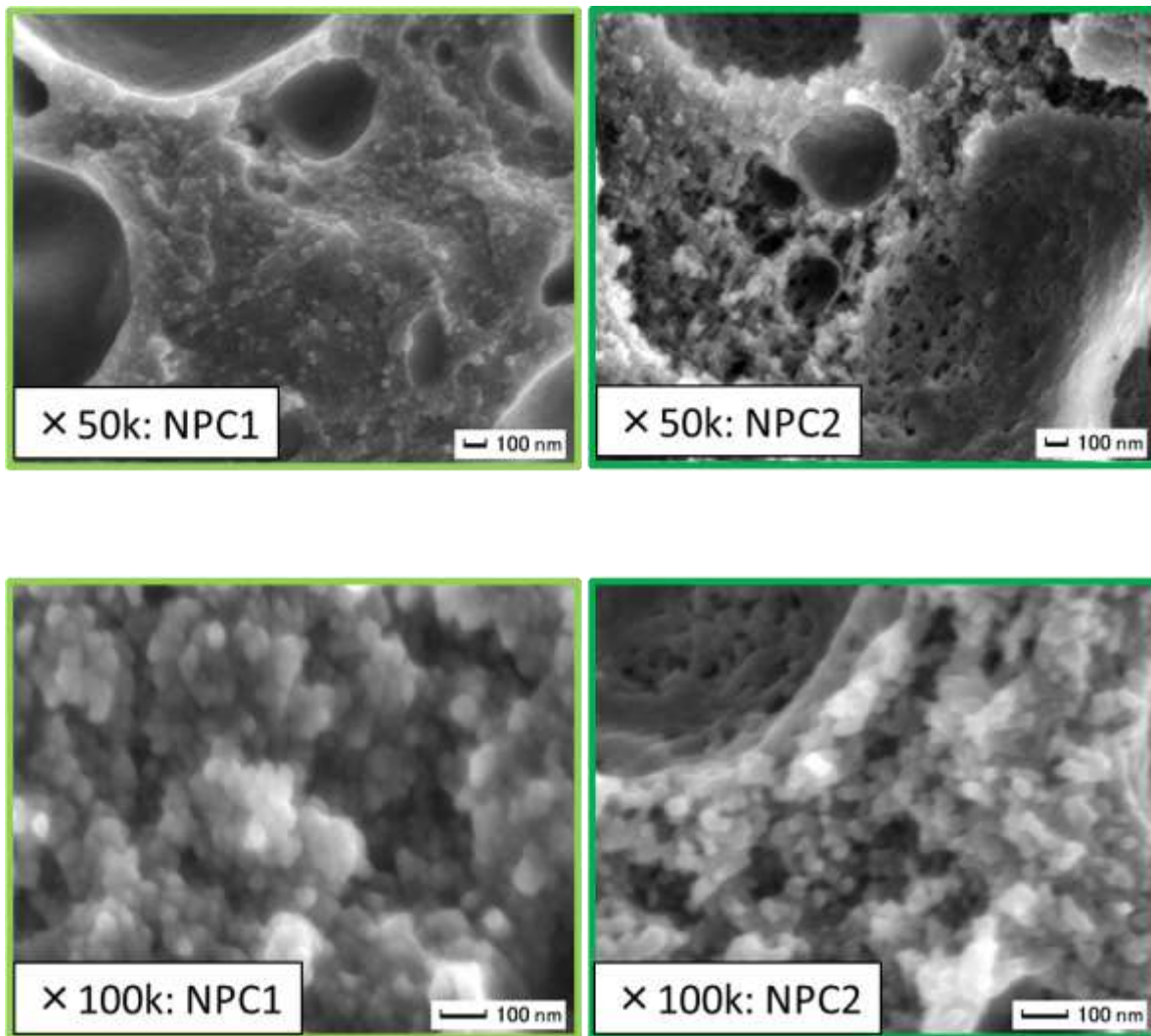


図 4-4 異なる二種類プレクックチーズを添加したプロセスチーズの SEM 画像

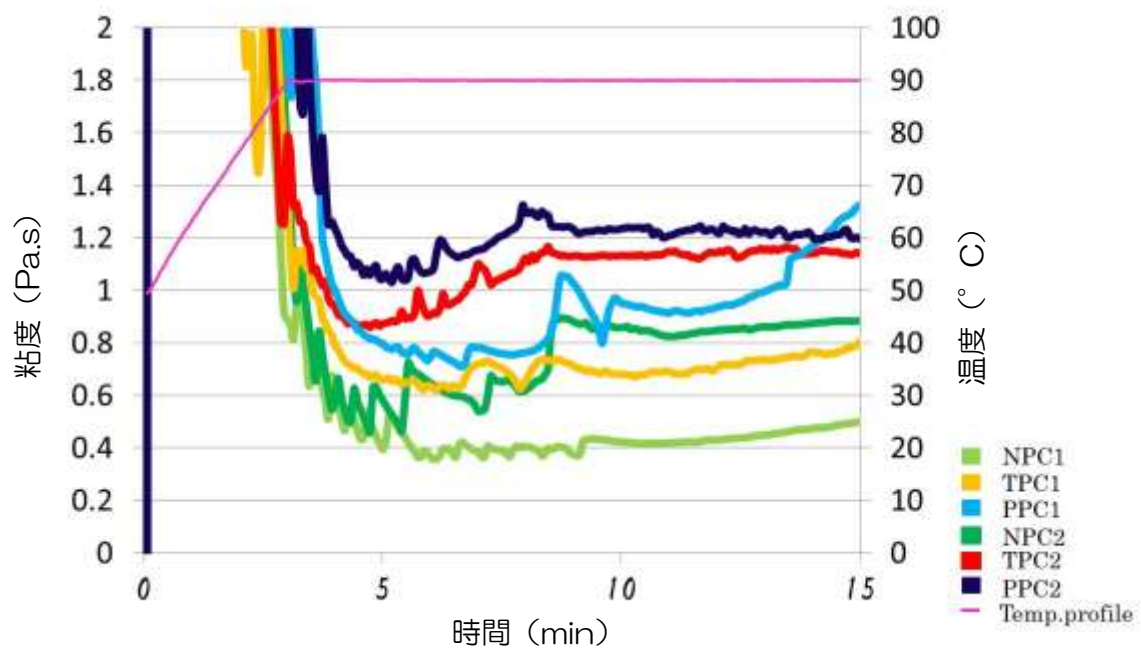


図 4-5 各プロセスチーズの見かけ粘度曲線

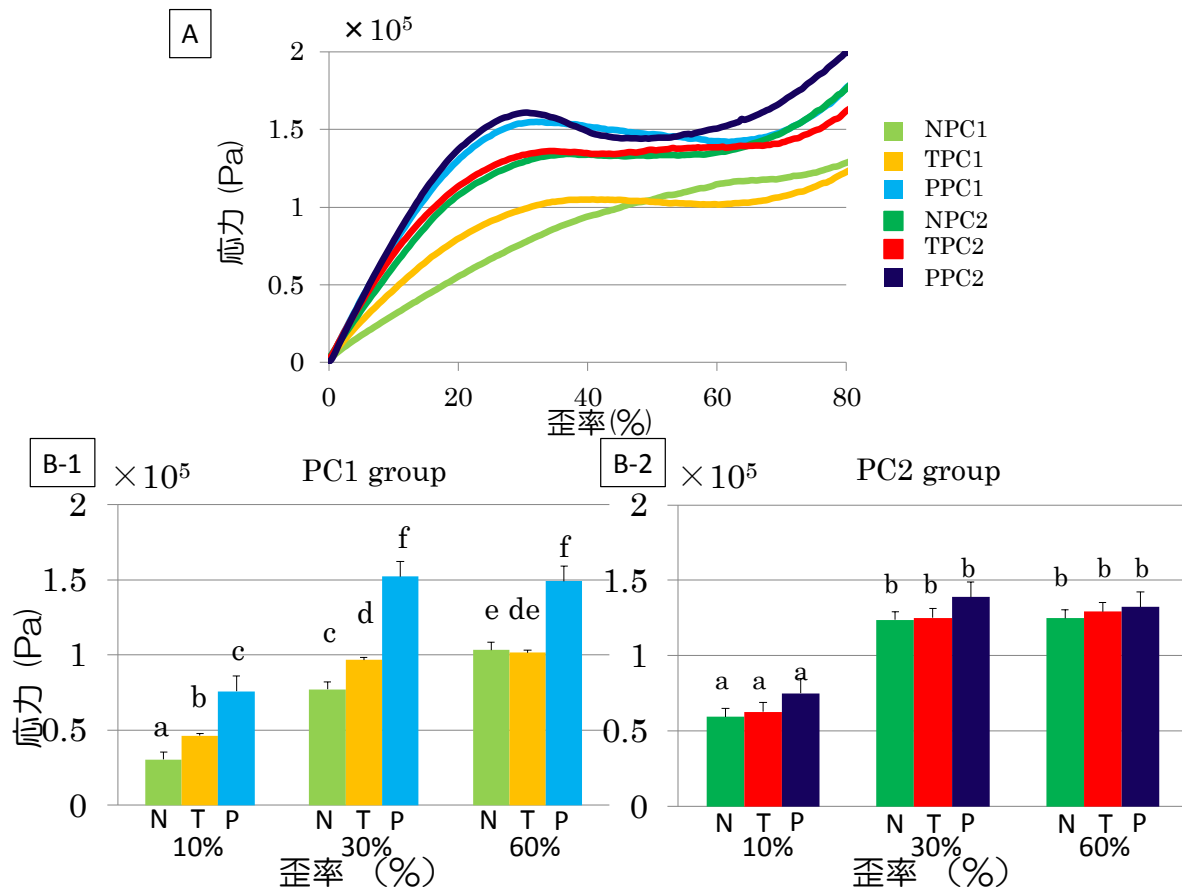


図 4-6 各プロセスチースの破断強度曲線及び歪率 10%, 30%, 60%の応力
異なる英文字が各歪率での応力の平均値間の有意差を示す

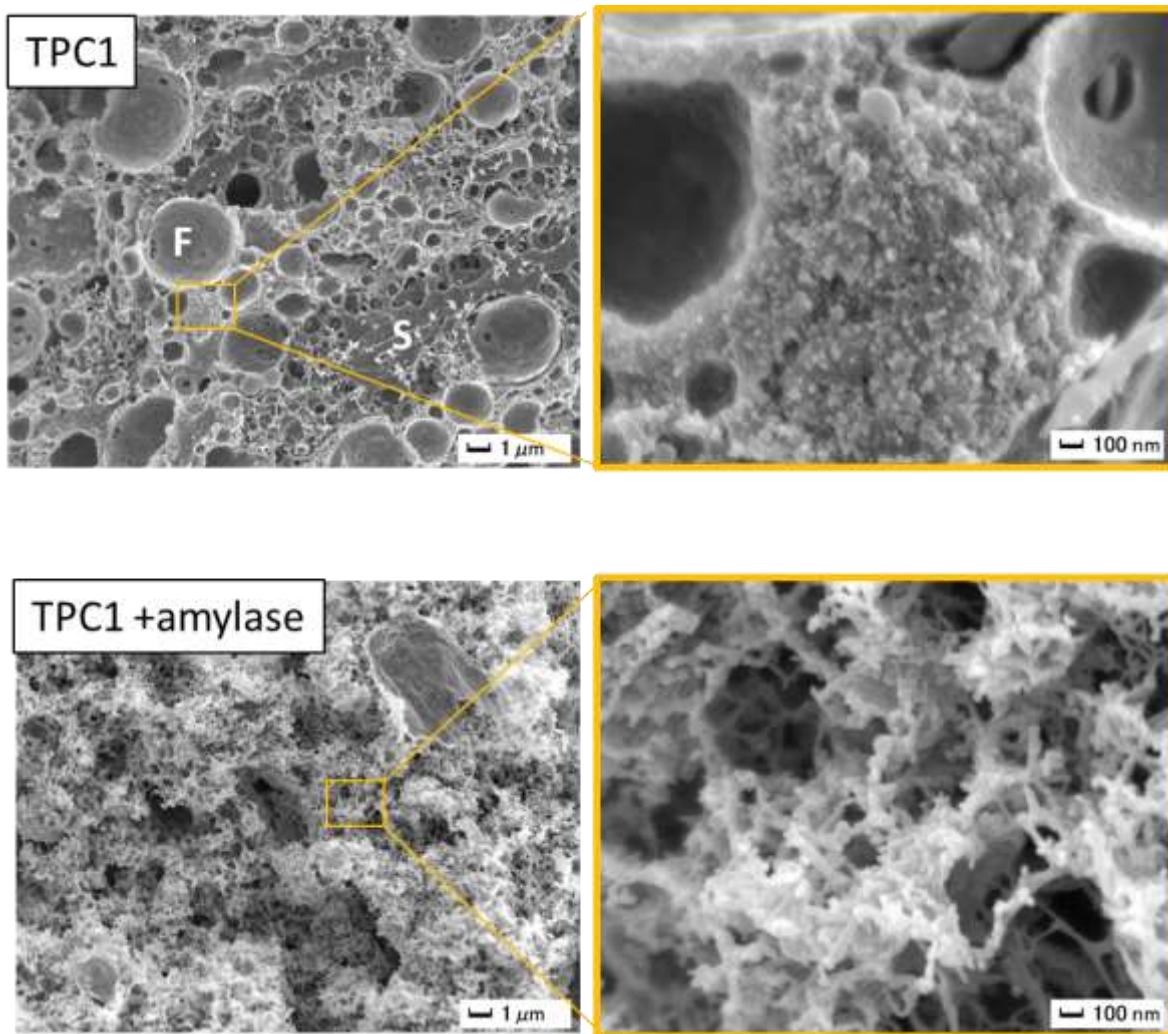


図 4-7 PC1 グループにおいてタピオカ澱粉の添加による SEM 画像

S: 澱粉 ; F: 脂肪球

左側 : 5K 倍 ; 右側 : 50K 倍

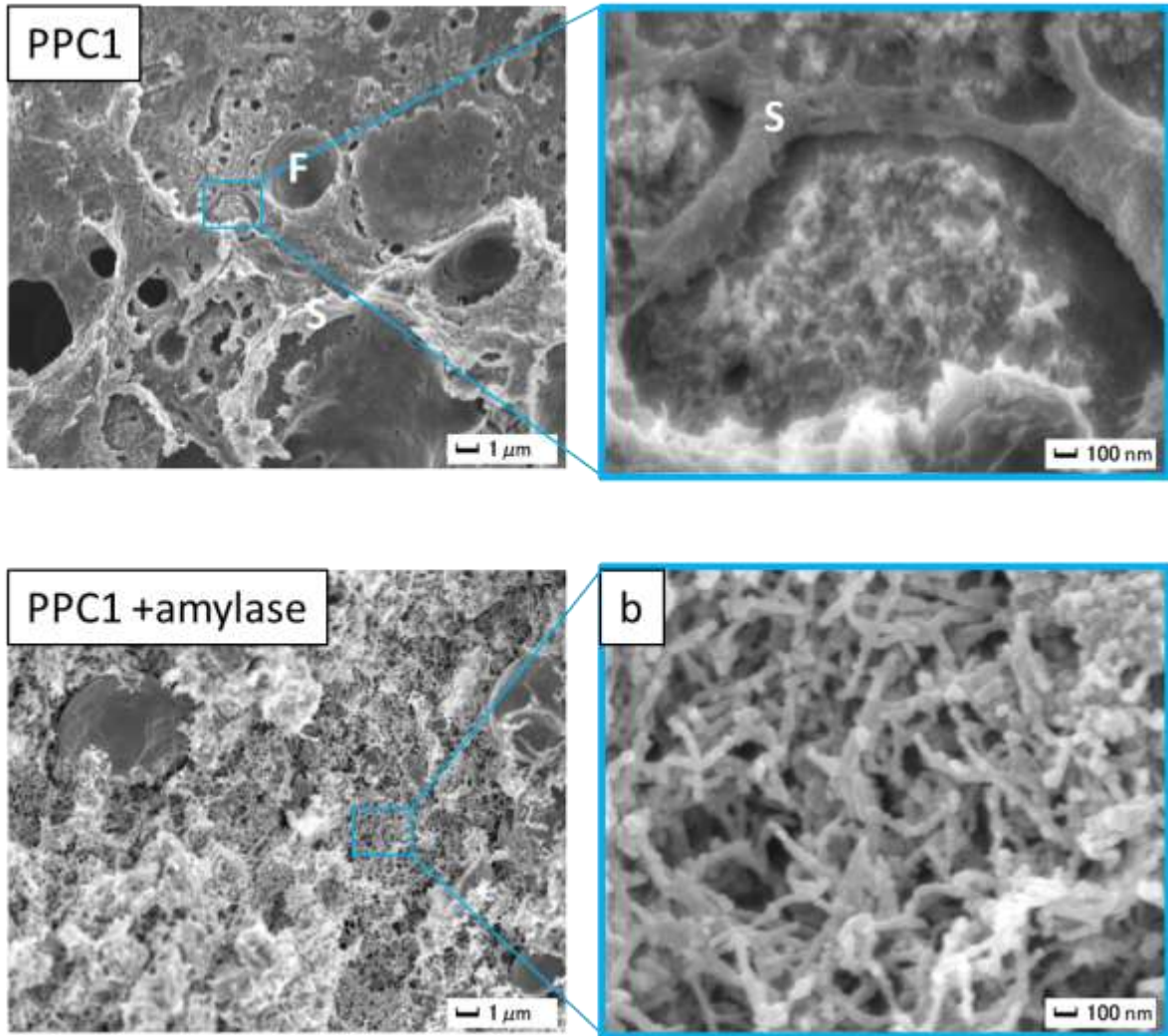


図 4-8 PC1 グループにおいて馬鈴薯澱粉の添加による SEM 画像

S: 澱粉 ; F: 脂肪球

左側 : 5K 倍 ; 右側 : 50K 倍

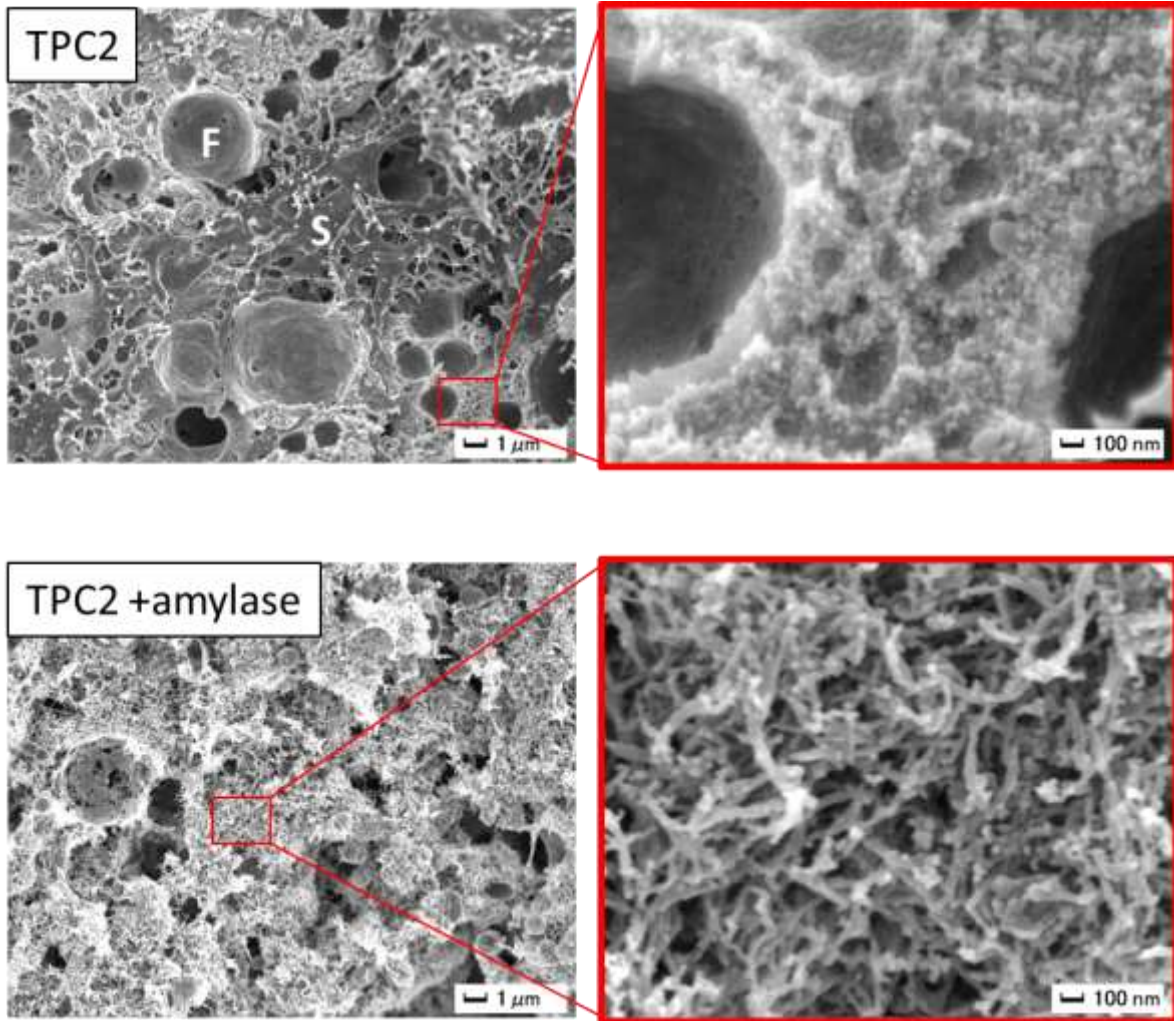


図 4-9 PC2 グループにおいてタピオカ澱粉の添加による SEM 画像

S: 澱粉 ; F: 脂肪球

左側 : 5K 倍 ; 右側 : 50K 倍

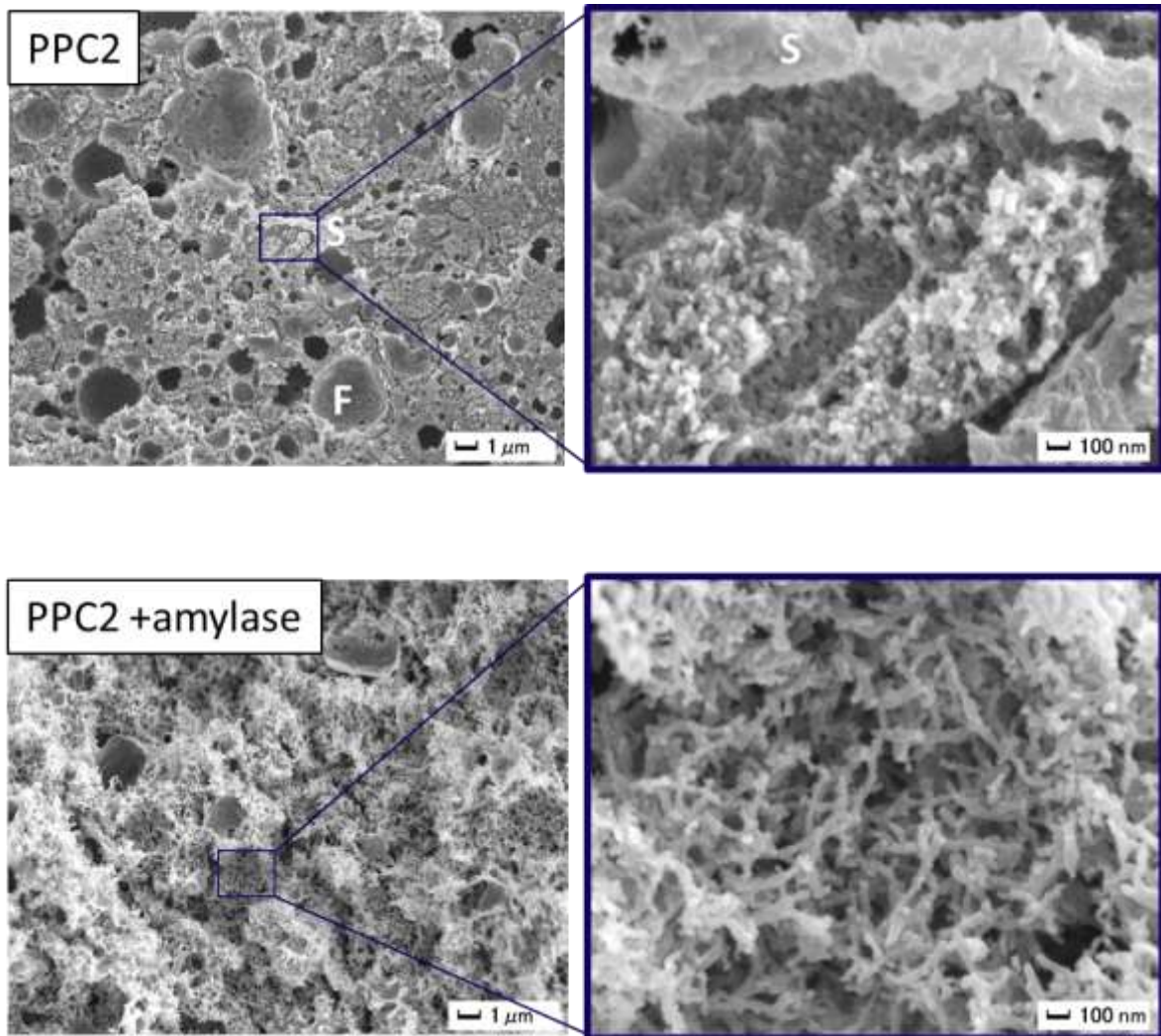


図 4-10 PC2 グループにおいて馬鈴薯澱粉の添加による SEM 画像

S: 澱粉 ; F: 脂肪球

左側 : 5K 倍 ; 右側 : 50K 倍

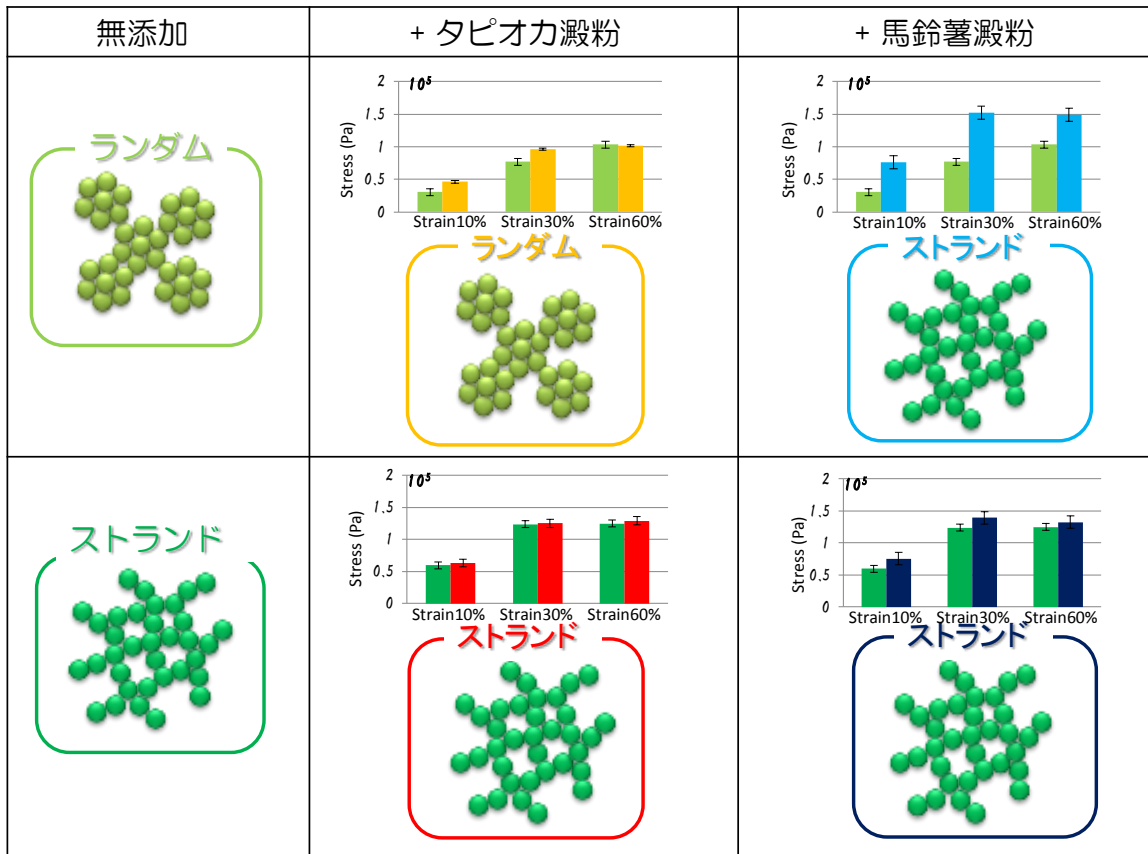


図 4-11 澱粉の添加によるプロセスチーズの力学物性と構造変化のイメージ

5 要約

本研究では、タンパク質と多糖類からなる不均質食品ゲルの構造形成と構造破壊の過程について、基本的な考え方と、食品開発と製造における構造的イメージ化の重要性を示した。また、タンパク質と多糖類共存系のモデルゲルだけではなく、油脂を含む実際のゲル状食品であるプロセスチーズに食感の異なる澱粉を添加することで、多成分共存系について研究した。特に、破壊構造に焦点を絞り、未破壊（破壊前）の構造と破壊時（破壊後）の構造を比較観察することで、どのように構造が破壊されたのかを明らかにし、構造と力学物性の関係を考察した。

過去の研究において、タンパク質・多糖類共存ゲルの大変形試験による破断特性について、多く報告されてきた。しかし、タンパク質や多糖類は製造加工でどのような変化を経て食品構造を形成するのか、形成した食品構造が咀嚼によりどのように破壊し食感を発現するのか明らかではない。これらの変化の過程を具体的にイメージ化できれば、効率的なものづくりと望む食感の実現につながると考えられる。そこで、本研究では、構造のイメージ化を図るために、異なるネットワーク構造の乳タンパク質に食感の異なる澱粉を添加すると、ゲルの破断特性にどの様に影響を与えるのかを構造的メカニズムから明らかにすることを目的とした。

<第1章 序論>

食品のおいしさは、風味や香りなどの化学的要因と、外観や食感などの物理的な要因によって決定される。現代社会において、おいしさを決める要素の中で食感の占める割合はますます増大している。その食感は、ヒトが咀嚼することによって食品構造の破壊過程から力学特性と構造状態の変化を知覚・認知しており、言葉で表

現される。そのため、食品構造を制御することによって、おいしい食感の創造に寄与できると考えられる。具体的な食品構造は食品構成成分と食品加工条件によって決められる。実際の食品は多成分（タンパク質、多糖類、油脂、水、空気、味・香り成分など）からなる不均質構造を持っている。特に、タンパク質や多糖類のようなヒドロコロイド（生体高分子化合物）は食品構造を形成する本体であり、その量と存在状態が食感に直接関与している。

実際の加工食品では、非常にさらさらした液状食品やあまり水を含まない固形食品を除くと、かなり多くの食品がゲル状態で食べられる。例として、チーズやプリンのようなタンパク質ゲル状食品が挙げられる。これらゲル状食品は多くの場合、複数の成分から構成されている。その中でも、食品の構造を形成する主要な成分としてタンパク質と多糖類が挙げられる。しかし、タンパク質と多糖類を併用した場合、それぞれの単独での特徴が発揮されないことが多く、狙った食感を実現することが難しい。そのため、単独系とは異なる多成分系での食品構造と食感の関係を明らかにすることは、食品開発や製造において単に試行錯誤を繰り返すのではなく、指標やイメージをもって効率的に食感を設計するための基盤になると期待される。

〈第2章 ネットワーク構造の異なるホエータンパク質（WPI）ゲルの力学物性と構造への澱粉添加の影響を構造破壊から解析する〉

食品タンパク質ゲルにおいて、ホエータンパク質（WPI）は優れたゲル化能を有することから、食品素材や機能性代用食品として広く用いられている。WPIのゲル化過程において、ネットワーク構造のマトリクスとして、ストランド構造とランダム構造の二種類がある。ストランド構造は、タンパク質分子間の静電力が斥力である場合に起こり、球状タンパク質分子が数珠状に会合するタンパク質連続相構造で

ある。一方、ランダム構造は球状タンパク分子が塊状に凝集した粒子集合体のタンパク質連続相構造である。タンパク質ゲルに多糖類を添加することは加工食品の製造においてよく行われている。タピオカ澱粉は食品の食感改良の目的で広く用いられている。一方、馬鈴薯澱粉は「さっくり」とした食感を付与する。この様に種類の異なる澱粉を添加することで、食品に違う食感を付与することができる。しかし、そのメカニズムは明らかになっていない。

本章では、食感の異なるタピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉を添加した WPI ゲルを食品モデルとし、ネットワーク構造の異なる WPI ゲルの破断特性への食感の異なる澱粉の添加の影響を破壊過程から明らかにすることを目的とした。pH の違いにより異なるタンパク質マトリクス構造（ランダム/ストランド）を形成し、その時少量の澱粉を添加することによる食感変化の違いを破壊構造から検討した。pH6.8 の WPI 単独ゲルでは、ストランド構造を持ち、高歪高応力で破断したのに対し、pH5.8 ではランダム構造を持ち、低歪低応力で破断した。澱粉の添加混合ゲルでは、単独ゲルよりすべての歪で応力が高かった。ストランド構造ではタピオカの添加ゲルの立ち上がり応力は単独と一致したが、馬鈴薯の添加ゲルは低歪低応力で破断した。ランダム構造ではタピオカの添加ゲルは破断点ではなく、降伏点を生じた。馬鈴薯の添加ゲルは単独より高歪高応力で破断した。

さらに、破壊過程における破壊部位の可視化に重点を置いて、食感の変化をメカニズムから解析した。ストランド構造のタピオカ澱粉と WPI 共存ゲルでは、生じた亀裂断面で澱粉粒が観察されず、タンパク質連続相構造で破壊を生じた。ランダム構造では、澱粉粒が伸びる様子が観察され、タピオカ澱粉の伸びる性質により、延性破壊になったと考えられる。ストランド構造の馬鈴薯の共存ゲルでは、亀裂断面に澱粉粒が残り、タンパク質連続相と分離した。澱粉とタンパク質の界面から破壊されたため、単独のタンパク質連続相で破壊するよりも、低歪で破断したと考え

られる。ランダム構造では、破壊後に澱粉粒が変形したが、亀裂断面ではタンパク質連続相構造が観察された。馬鈴薯澱粉粒ではなくタンパク質連続相中で破壊を生じたため、単独より、高歪で破断したと考えられる。以上の様に、ストランド構造とランダム構造である WPI ネットワーク構造において、タピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉の添加により、破断特性への影響が破壊メカニズムの差から明らかとなった。本章で行った構造観察や物性測定の手法は、咀嚼を模擬した手法であり、他の食品でも応用可能であると考えられる。

〈第3章 プロセスチーズの力学物性と構造への作製条件の影響〉

3-1 プロセスチーズの力学物性と構造への異なる乳化条件の影響

実際のゲル状タンパク質食品の一つ例として、プロセスチーズが挙げられる。プロセスチーズは、ナチュラルチーズを加熱溶融し、溶融塩の乳化促進作用により再び成型するものである。プロセスチーズの製造過程では、加熱溶融、シアリングの乳化工程は製品の品質を決定づける最も重要な工程と考えられている。中でも、溶融塩及びシアリングの攪拌速度や攪拌時間が製品の粘度上昇によるクリーミング効果に寄与し、製品の物性に影響を与えることが知られている。近年、研究レベルでは、時間やコストなどを考慮し、Rapid Visco Analyzer (RVA) がプロセスチーズの作製に使用されており、攪拌速度、攪拌時間および温度を制御し加熱攪拌中の粘度を測定している。RVA において、目標の温度に達した後、攪拌を続けるとチーズの粘度が次第に上昇するクリーミング効果が見られる。

本章では、異なる種類の溶融塩を使用したうえで、異なる攪拌速度と異なる攪拌時間の乳化条件を設定し、RVA を用いてプロセスチーズを作製した。攪拌速度が

速い時、脂肪球が小さくなり、攪拌時間が長い時、カゼインネットワークがランダム構造からストランド構造に変化した。各種溶融塩を使用する場合、単独溶融塩より、混合塩（ポリリン酸塩：ジリン酸塩＝4：1）が著しい効果を示した。さらに、速い攪拌速度がモノリン酸塩の溶融塩としての効果を早めた。以上の結果は、プロセスチーズの粘度、物性および構造などの制御に貢献すると考えられる。

3-2 プロセスチーズの力学物性と構造への異なるプレクックチーズ添加の影響

プロセスチーズ製造において物性制御の目的で用いられている技術にプレクックチーズの利用がある。プレクックチーズとは、プロセスチーズを製造する過程で生じたものであり、基本的にプロセスチーズそのものである。プロセスチーズを製造する際、このプレクックチーズを数%添加すると、クリーミングの場合と同様、乳化したチーズの粘度が上昇するとともに最終製品であるプロセスチーズがより硬く耐熱保形性のあるものに変化する。

本章では、プロセスチーズの物性・構造への異なる作製条件で作ったプレクックチーズの影響を調べた。短時間攪拌で作ったプレクックチーズの添加の場合、カゼインネットワークがランダム構造であり、低い粘度や軟らかい物性を示した。長時間攪拌で作ったプレクックチーズの添加の場合、カゼインネットワークがストランド構造であり、クリーミング効果（粘度上昇）、硬い物性および降伏点を示した。特に、長時間攪拌と高速攪拌で作ったプレクックチーズの添加により、プロセスチーズの脂肪球に影響を与え、脂肪球が小さくなり、より硬い物性を示した。以上の結果から、適切なプレクックチーズを用いたプロセスチーズの粘度、物性および構造の制御が期待される。

〈第 4 章 ネットワーク構造の異なるプロセスチーズの力学物性と構造への澱粉添加の影響〉

第 2 章では、タピオカ澱粉と馬鈴薯澱粉をネットワーク構造の異なる WPI ゲルに添加することで、それぞれがゲルの破断特性に大きく影響を及ぼすことを明らかにした。また、第 3-2 章では、クリーミング効果を持つプロセスチーズをプレクックチーズとして再添加すると、カゼインミセルの構造変化（ランダムからストランド構造へ）が起こり、プロセスチーズの物性にも影響を及ぼすことを明らかにした。

本章では、この食感の異なる二種類の澱粉を用いて、ネットワーク構造の異なる（ランダム/ストランド）プロセスチーズのクリーミング効果・力学物性・構造への影響を明らかにすることを目的とした。同じ加熱条件で澱粉を添加するために、異なる 2 種類の構造を持つプレクックチーズを添加することによって、異なる構造のプロセスチーズを作製した。ランダム構造を持つプレクックチーズを添加したプロセスチーズにおいて、タピオカ澱粉の添加の場合では、カゼインミセルネットワーク構造がランダムであり、特に、馬鈴薯澱粉の添加の場合では、ランダムからストランド構造に変化した。ランダムからストランドに変化することで、馬鈴薯澱粉の添加により、プロセスチーズの硬さが増加した。ストランド構造を持つプレクックチーズを添加したプロセスチーズにおいて、カゼインミセルネットワーク構造と力学物性への澱粉添加の影響が見られなかった。本章の結果から、ネットワーク構造の異なるプロセスチーズの粘度や力学物性などへの食感の異なる澱粉添加の影響を明らかにした。

6 引用文献

1. 西成勝好. 食品の物性におけるハイドロゲルに関する研究. 日本食品科学工学会誌. 2005;9(52):385-390.
2. 川端晶子. 食品とテクスチャー.; 2003:1-9.
3. 大坪研一, 内藤成弘. 食品のテクスチャー評価の標準化. In: 官能検査とテクスチャー用語. ; 1997:1-25.
4. Guinard JX, Mazzucchelli R. The sensory perception of texture and mouthfeel. *Trends Food Sci Technol*. 1996;7(7):213-219. doi:10.1016/0924-2244(96)10025-X.
5. Szczesniak AS. Texture is a sensory property. *Food Qual Prefer*. 2002;13(4):215-225. doi:10.1016/S0950-3293(01)00039-8.
6. 青山博明, 井之上明弘, 付惟, 中村卓. 食品の構造とおいしさー多成分における増粘多糖類の影響ー. 月刊フードケミカル. 2014;1:19-25.
7. 付惟, 中村卓. 第五章 タンパク質・多糖類混合ゲルの開発と応用. In: 食品ハイドロコロイドの開発と応用Ⅱ. ; 2015:224-230.
8. Wilkinson C, Dijksterhuis GB, Minekus M. From food structure to texture. *Trends Food Sci Technol*. 2001;11(12):442-450. doi:10.1016/S0924-2244(01)00033-4.
9. Booth DA, Earl T, Mobini S. Perceptual channels for the texture of a food. *Appetite*. 2003;40(1):69-76. doi:10.1016/S0195-6663(02)00141-1.
10. De Kruif CG, Tuinier R. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocoll*. 2001;15(4-6):555-563.

doi:10.1016/S0268-005X(01)00076-5.

11. V.B.Tolstoguzov. Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocoll.* 1991;4(6):429-468. doi:10.1016/S0268-005X(09)80196-3.
12. van de Velde F, de Hoog EHA, Oosterveld A, Tromp RH. Protein-Polysaccharide Interactions to Alter Texture. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2015;6(1):371-388. doi:10.1146/annurev-food-022814-015558.
13. Schmitt C, Turgeon SL. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Adv Colloid Interface Sci.* 2011;167(1-2):63-70. doi:10.1016/j.cis.2010.10.001.
14. Rodriguez Patino JM, Pilosof AMR. Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocoll.* 2011;25(8):1925-1937. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.023.
15. Moriguchi N, Nakamura T. 卵白・寒天の共存ゲルにおける両連続相構造の形成と破断特性. 日本食品科学工学会誌. 2013;232(5):225-232.
16. 西成勝好. 食品科学工学とゲル. 日本食品科学工学会誌. 1997:681-688.
17. Li X, Hua Y, Qiu A, Yang C, Cui S. Phase behavior and microstructure of preheated soy proteins and κ -carrageenan mixtures. *Food Hydrocoll.* 2008;22(5):845-853. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.04.008.
18. Qualities N. S : Sensory and Nutritive Qualities of Food Sensory Texture and Mechanical Properties of Stranded and Particulate. 2001.
19. Doublier JL, Garnier C, Renard D, Sanchez C. Protein-polysaccharide interactions. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2000;5(3-4):202-214.

doi:10.1016/S1359-0294(00)00054-6.

20. Li X, Deng F, Hua Y, Qiu A, Yang C, Cui S. Effect of molecular weight of dextran on the phase behavior and microstructure of preheated soy protein/dextran mixtures. *Carbohydr Polym.* 2008;72(1):160-168. doi:10.1016/j.carbpol.2007.07.037.
21. Hans Tromp R, Van de Velde F, Van Riel J, Paques M. Confocal scanning light microscopy (CSLM) on mixtures of gelatine and polysaccharides. *Food Res Int.* 2001;34(10):931-938. doi:10.1016/S0963-9969(01)00117-X.
22. Butler MF, Heppenstall-Butler M. Phase separation in gelatin/dextran and gelatin/maltodextrin mixtures. *Food Hydrocoll.* 2003;17(6):815-830. doi:10.1016/S0268-005X(03)00103-6.
23. Firoozmand H, Murray BS, Dickinson E. Microstructure and rheology of phase-separated gels of gelatin + oxidized starch. *Food Hydrocoll.* 2009;23(4):1081-1088. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.07.013.
24. Hua Y, Cui SW, Wang Q. Gelling property of soy protein-gum mixtures. *Food Hydrocoll.* 2003;17(6):889-894. doi:10.1016/S0268-005X(03)00110-3.
25. Langton M, Hermansson AM. Fine-stranded and particulate gels of β -lactoglobulin and whey protein at varying pH. *Top Catal.* 1992;5(6):523-539. doi:10.1016/S0268-005X(09)80122-7.
26. Leksrisonpong PN, Lanier TC, Foegeding EA. Effects of Heating Rate and pH on Fracture and Water-Holding Properties of Globular Protein Gels as Explained by Micro-Phase Separation. *J Food Sci.* 2012;77(2).

doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02550.x.

27. Bowland EL, Foegeding EA. Effects of anions on thermally induced whey protein isolate gels. *Top Catal.* 1995;9(1):47-56.
doi:10.1016/S0268-005X(09)80193-8.
28. Stone AK, Nickerson MT. Formation and functionality of whey protein isolate-(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. *Food Hydrocoll.* 2012;27(2):271-277.
doi:10.1016/j.foodhyd.2011.08.006.
29. van den Berg L, van Vliet T, van der Linden E, van Boekel MAJS, van de Velde F. Breakdown properties and sensory perception of whey proteins/polysaccharide mixed gels as a function of microstructure. *Food Hydrocoll.* 2007;21(5-6):961-976.
doi:10.1016/j.foodhyd.2006.08.017.
30. Gaaloul S, Turgeon SL, Corredig M. Influence of shearing on the physical characteristics and rheological behaviour of an aqueous whey protein isolate-kappa-carrageenan mixture. *Food Hydrocoll.* 2009;23(5):1243-1252. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.09.011.
31. Stading M, Hermansson AM. Large deformation properties of β -lactoglobulin gel structures. *Top Catal.* 1991;5(4):339-352.
doi:10.1016/S0268-005X(09)80046-5.
32. MCGUFFEY MK, FOEGEDING EA. Electrostatic effects on physical properties of Particulate Whey Protein Isolate Gels. *Journal of texture studios.* 2001;32(919):285-305.
33. 川崎功博. プロセスチーズ. In: 現代チーズ学. ; 2010:211-234.

34. 久下喬. 澱粉の構造と機能. In: 食品ハイドロコロイドの科学. ; 1990:134-149.
35. 不破英次, 小巻利章, 檜作進, 貝沼圭二. 澱粉科学の事典.; 2003.
36. Kalichevsky MT, Orford PD, Ring SG. The retrogradation and gelation of amylopectins from various botanical sources. *Carbohydr Res.* 1990;198(1):49-55. doi:10.1016/0008-6215(90)84275-Y.
37. Properties P. タピオカ澱粉配合麺の力学特性と若年者 および高齢者による咀嚼特性. 日本食品科学工学会誌. 2012;59(6):268-278.
38. Chen Z, Schols H a, Voragen a GJ. The Use of Potato and Sweet Potato Starches Affects White Salted Noodle Quality. *J Food Sci.* 2003;68(9):2630-2637. doi:doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb05781.x.
39. 日本顕微鏡学会, 電子顕微鏡技術認定委員会. 電顕入門ガイドブック.; 2011.
40. 第10回電顕サマースクール実行委員会. 電子顕微鏡 基礎技術と応用1999～電子顕微鏡で見るために～.; 1999.
41. Abhyankar AR, Mulvihill DM, Auty MAE. Combined microscopic and dynamic rheological methods for studying the structural breakdown properties of whey protein gels and emulsion filled gels. *Food Hydrocoll.* 2011;25(3):275-282. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.05.012.
42. Lillford PJ. The Importance Of Food Microstructure In Fracture Physics And Texture Perception. *J Texture Stud.* 2011;42(2):130-136. doi:10.1111/j.1745-4603.2011.00293.x.
43. Bourriot S, Garnier C, Doublier J-L. Phase separation, rheology and microstructure of micellar casein-guar gum mixtures. *Food Hydrocoll.* 1999;13(1):43-49. doi:10.1016/S0268-005X(98)00068-X.

44. Harrington JC, Foegeding EA, Mulvihill DM, Morris ER. Segregative interactions and competitive binding of Ca²⁺ in gelling mixtures of whey protein isolate with Na⁺ κ-carrageenan. *Food Hydrocoll.* 2009;23(2):468-489. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.03.007.
45. Kohyama K, Sasaki T, Hayakawa F. Characterization of food physical properties by the mastication parameters measured by electromyography of the jaw-closing muscles and mandibular kinematics in young adults. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2008;72(7):1690-1695. doi:10.1271/bbb.70769.
46. Chung C, Degner B, McClements DJ. Creating novel food textures: Modifying rheology of starch granule suspensions by cold-set whey protein gelation. *LWT - Food Sci Technol.* 2013;54(2):336-345. doi:10.1016/j.lwt.2013.07.003.
47. 森口奈津美, 武藤愛, 中村卓. 卵白・寒天・カドランの三成分混合ゲルにおける構造と破断特性の相関の二成分混合ゲルを基盤とした解析. *日本食品科学工学会誌.* 2013;406(8).
48. Kopjar M, Pichler A, Turi J, Pili??ota V. Influence of trehalose addition on antioxidant activity, colour and texture of orange jelly during storage. *Int J Food Sci Technol.* 2016;51(12):2640-2646. doi:10.1111/ijfs.13250.
49. Hatsue Moritaka, Shigehiro Naito, Katsuyoshi Nishinari, Miki Ishihara HF. Effects of various ingredients on the texture of milk jelly. *Journal of texture studies.* 1998;29:387-396.
50. Everard CD, O'Callaghan DJ, O'Kennedy BT, O'Donnell CP, Sheehan EM,

- Delahunty CM. A three-point bending test for prediction of sensory texture in processed cheese. *J Texture Stud.* 2007;38(4):438-456. doi:10.1111/j.1745-4603.2007.00106.x.
51. Sołowiej B, Cheung IWY, Li-Chan ECY. Texture, rheology and meltability of processed cheese analogues prepared using rennet or acid casein with or without added whey proteins. *Int Dairy J.* 2014;37(2):87-94. doi:10.1016/j.idairyj.2014.03.003.
 52. Foegeding EA. Rheology and sensory texture of biopolymer gels. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2007;12(4-5):242-250. doi:10.1016/j.cocis.2007.07.001.
 53. van den Berg L, Jan Klok H, van Vliet T, van der Linden E, van Boekel MAJS, van de Velde F. Quantification of a 3D structural evolution of food composites under large deformations using microrheology. *Food Hydrocoll.* 2008;22(8):1574-1583. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.11.002.
 54. Nishinari K. Rheology, food texture and mastication. *J oNishinari, K (2004) Rheol food texture mastication J Texture Stud 35, 113–124* <http://doi.org/101111/j1745-46032004.tb00828.x> *Texture Stud.* 2004;35:113-124. doi:10.1111/j.1745-4603.2004.tb00828.x.
 55. Aguilera JM. Why food micro structure? *J Food Eng.* 2005;67(1-2):3-11. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.05.050.
 56. Tolstoguzov V. Texturising by phase separation. *Biotechnol Adv.* 2006;24(6):626-628. doi:10.1016/j.biotechadv.2006.07.001.
 57. Van Den Berg L, Van Vliet T, Van Der Linden E, Van Boekel MAJS, Van

- De Velde F. Physical properties giving the sensory perception of whey proteins/polysaccharide gels. *Food Biophys.* 2008;3(2):198-206. doi:10.1007/s11483-008-9084-5.
58. de Jong S, Klok HJ, van de Velde F. The mechanism behind microstructure formation in mixed whey protein-polysaccharide cold-set gels. *Food Hydrocoll.* 2009;23(3):755-764. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.03.017.
59. Çakir E, Daubert CR, Drake MA, Vinyard CJ, Essick G, Foegeding EA. The effect of microstructure on the sensory perception and textural characteristics of whey protein/ κ -carrageenan mixed gels. *Food Hydrocoll.* 2012;26(1):33-43. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.04.011.
60. Turgeon SL, Beaulieu M. Improvement and modification of whey protein gel texture using polysaccharides. *Food Hydrocoll.* 2001;15(4-6):583-591. doi:10.1016/S0268-005X(01)00064-9.
61. van den Berg L, Rosenberg Y, van Boekel MAJS, Rosenberg M, van de Velde F. Microstructural features of composite whey protein/polysaccharide gels characterized at different length scales. *Food Hydrocoll.* 2009;23(5):1288-1298. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.10.013.
62. Matignon A, Michon C, Reichl P, Barey P, Mauduit S, Sieffermann JM. Texture design based on chemical-physics knowledge of dairy neutral desserts: instrumental and sensory characterization. *Food Hydrocoll.* 2015;52:289-300. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.05.029.
63. Mishra S, Rai T. Morphology and functional properties of corn, potato

and tapioca starches. *Food Hydrocoll.* 2006;20(5):557-566.

doi:10.1016/j.foodhyd.2005.01.001.

64. Giri A, Kanawjia SK, Rajoria A. Effect of phytosterols on textural and melting characteristics of cheese spread. *Food Chem.* 2014;157:240-245. doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.127.
65. Lee SK, Klostermeyer H, Anema SG. Effect of fat and protein-in-water concentrations on the properties of model processed cheese. *Int Dairy J.* 2015;50:15-23. doi:10.1016/j.idairyj.2015.06.001.
66. Shabani J, Sarfarazi M, Mirzaei H, Jafari SM. Influence of the sunflower oil content, cooking temperature and cooking time on the physical and sensory properties of spreadable cheese analogues based on UF white-brined cheese. *Int J Dairy Technol.* 2016;69(4):576-584. doi:10.1111/1471-0307.12305.
67. Sharma P, Munro PA, Dessev TT, Wiles PG. Shear work induced changes in the viscoelastic properties of model Mozzarella cheese. *Int Dairy J.* 2016;56:108-118. doi:10.1016/j.idairyj.2016.01.010.
68. Lee SK, Buwalda RJ, Euston SR, Foegeding EA, McKenna AB. Changes in the rheology and microstructure of processed cheese during cooking. *LWT - Food Sci Technol.* 2003;36(3):339-345. doi:10.1016/S0023-6438(03)00012-4.
69. Yoshihiro K. Influence of "creaming" on the properties of processed cheese and changes in the structure of casein during cheese making. *Milchwissenschaft-Milk Sci Int.* 2008;63(2):149-152.
70. Guinee TP. Salting and the role of salt in cheese. *Int J Dairy Technol.*

- 2004;57(2-3):99-109. doi:10.1111/j.1471-0307.2004.00145.x.
71. Jawad M, Schoop R, Suter A, Klein P, Eccles R. Prediction of sensory textural properties from rheological analysis for process cheeses varying in emulsifying salt, protein and moisture contents. *Rev Fitoter.* 2013;13(2):125-135. doi:10.1002/jsfa.
 72. El-Bakry M, Duggan E, O’Riordan ED, O’Sullivan M. Effects of emulsifying salts reduction on imitation cheese manufacture and functional properties. *J Food Eng.* 2010;100(4):596-603. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.05.007.
 73. Banks JM. The technology of low-fat cheese manufacture. *Int J Dairy Technol.* 2004;57(4):199-207. doi:10.1111/j.1471-0307.2004.00136.x.
 74. Guinee TP, O’Callaghan DJ. Effect of increasing the protein-to-fat ratio and reducing fat content on the chemical and physical properties of processed cheese product. *J Dairy Sci.* 2013;96(11):6830-6839. doi:10.3168/jds.2013-6685.
 75. Hennesly PJ, Dunne PG, O’Sullivan M, O’Riordan D. Increasing the moisture content of imitation cheese: Effects on texture, rheology and microstructure. *Eur Food Res Technol.* 2005;220(3-4):415-420. doi:10.1007/s00217-004-1097-9.
 76. Kiziloz MB, Cumhur O, Kilic M. Development of the structure of an imitation cheese with low protein content. *Food Hydrocoll.* 2009;23(6):1596-1601. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.11.006.
 77. Noronha N, O’Riordan ED, O’Sullivan M. Influence of processing

- parameters on the texture and microstructure of imitation cheese. *Eur Food Res Technol*. 2008;226(3):385-393.
doi:10.1007/s00217-006-0549-9.
78. Ong L, Dagastine RR, Kentish SE, Gras SL. The effect of pH at renneting on the microstructure, composition and texture of Cheddar cheese. *Food Res Int*. 2012;48(1):119-130.
doi:10.1016/j.foodres.2012.02.020.
79. Kapoor R, Metzger L. Process cheese: Scientific and technological aspects—A review. *Rev Food Sci Food Technol*. 2008;7(2):194-214.
doi:10.1111/j.1541-4337.2008.00040.x.
80. Gupta S.K., Karahadian C LRC. Effect of emulsifier salts on textural and flavor properties of processed cheese. *J Dairy Sci*. 1984;67:764-778.
81. Lu Y, Shirashoji N, Lucey JA. Effects of pH on the textural properties and meltability of pasteurized process cheese made with different types of emulsifying salts. *J Food Sci*. 2008;73(8).
doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00914.x.
82. Shirashoji N, Jaeggi JJ, Lucey JA. Effect of Trisodium Citrate Concentration and Cooking Time on the Physicochemical Properties of Pasteurized Process Cheese. *J Dairy Sci*. 2006;89(1):15-28.
doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72065-3.
83. Wang F, Zhang X, Luo J, Guo H, Zeng SS, Ren F. Effect of proteolysis and calcium equilibrium on functional properties of natural cheddar cheese during ripening and the resultant processed cheese. *J Food Sci*. 2011;76(3):248-253. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02085.x.

84. Buňka F, Doudová L, Weiserová E, et al. The effect of different ternary mixtures of sodium phosphates on hardness of processed cheese spreads. *Int J Food Sci Technol*. 2012;47(10):2063-2071. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03070.x.
85. Mizuno R, Lucey JA. Effects of Emulsifying Salts on the Turbidity and Calcium-Phosphate-Protein Interactions in Casein Micelles. *J Dairy Sci*. 2005;88(9):3070-3078. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72988-X.
86. Hougaard AB, Sijbrandij AG, Varming C, Ardö Y, Ipsen R. Emulsifying salt increase stability of cheese emulsions during holding. *LWT - Food Sci Technol*. 2015;62(1):362-365. doi:10.1016/j.lwt.2015.01.006.
87. Mizuno R, Lucey JA. Properties of Milk Protein Gels Formed by Phosphates. *J Dairy Sci*. 2007;90(10):4524-4531. doi:10.3168/jds.2007-0229.
88. Awad RA, Abdel-Hamid LB, El-Shabrawy SA, Singh RK. Texture and microstructure of block type processed cheese with formulated emulsifying salt mixtures. *LWT - Food Sci Technol*. 2002;35(1):54-61. doi:10.1006/fstl.2001.0828.
89. Marchesseau S, Gastaldi E, Lagaude A, Cuq J-L. Influence of pH on Protein Interactions and Microstructure of Process Cheese. *J Dairy Sci*. 1997;80(8):1483-1489. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76076-4.
90. Kapoor R, Lehtola P, Metzger LE. Comparison of pilot-scale and rapid visco analyzer process cheese manufacture. *J Dairy Sci*. 2004;87(9):2813-2821. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73409-8.
91. Kapoor R, Metzger LE. Small-Scale Manufacture of Process Cheese

- Using a Rapid Visco Analyzer. *J Dairy Sci.* 2005;88(10):3382-3391.
doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)73022-8.
92. Metzger, L.E.; Kapoor, R; Rosenberg, L.A.; Upreti P. RVA : Process cheese manufacture. *Aust J Dairy Technol.* 2002;57(2):136.
93. Weiserová E, Doudová L, Galiová L, et al. The effect of combinations of sodium phosphates in binary mixtures on selected texture parameters of processed cheese spreads. *Int Dairy J.* 2011;21(12):979-986.
doi:10.1016/j.idairyj.2011.06.006.
94. Sádĺíková I, Buňka F, Budinský P, Barbora V, Pavlínek V, Hoza I. The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese. *LWT - Food Sci Technol.* 2010;43(8):1220-1225.
doi:10.1016/j.lwt.2010.04.012.
95. Bennett RJ, Trivedi D, Hemar Y, Reid DCW, Illingworth D, Lee SK. The effect of starch addition on the rheological and microstructural properties of model processed cheese. *Aust J Dairy Technol.* 2006;61(2):157-159.
96. Benaouadj, F; Zianne-Zafour, A.H., Rebiha M. Effects of modified starch and fat on the rheological characteristics of newly formulated processed cheese: Use of experimental design method. *J Dispers Sci Technol.* 2017;38(5):693-698.
97. Gampala P, Brennan CS. Potential starch utilisation in a model processed cheese system. *Starch/Staerke.* 2008;60(12):685-689.
doi:10.1002/star.200800011.
98. Noronha N, Duggan E, Ziegler GR, Stapleton JJ, O'Riordan ED,

- O'Sullivan M. Comparison of microscopy techniques for the examination of the microstructure of starch-containing imitation cheeses. *Food Res Int.* 2008;41(5):472-479. doi:10.1016/j.foodres.2008.02.008.
99. Trivedi D, Bennett RJ, Hemar Y, Reid DCW, Lee SK, Illingworth D. Effect of different starches on rheological and microstructural properties of (II) commercial processed cheese. *Int J Food Sci Technol.* 2008;43(12):2197-2203. doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01850.x.
100. Ye A, Hewitt S. Phase structures impact the rheological properties of rennet-casein-based imitation cheese containing starch. *Food Hydrocoll.* 2009;23(3):867-873. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.05.004.
101. Ye A, Hewitt S, Taylor S. Characteristics of rennet-casein-based model processed cheese containing maize starch: Rheological properties, meltabilities and microstructures. *Food Hydrocoll.* 2009;23(4):1220-1227. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.08.016.

7 著書及び投稿論文

「食品ハイドロコロイドの開発と応用Ⅱ」、「第四編 第五章 タンパク質・多糖類混合ゲルの開発と応用」、付惟、中村卓、2015、224-229、（株式会社シーエムシー出版）

「Effects of starches on the mechanical properties and microstructure of processed cheeses with different types of casein network structures」, Wei Fu, Takashi Nakamura, Food Hydrocolloids, in press

「Effects of pre-cooked cheeses of different emulsifying conditions on mechanical properties and microstructure of processed cheese」, Wei Fu, Yurika Watanabe, Keita Inoue, Natsumi Moriguchi, Kazunao Fusa, Yuya Yanagisawa, Takaaki Mutoh, Takashi Nakamura, Food Chemistry, 245(2018), 47-52

「Explaining the texture properties of whey protein isolate/starch co-gels from fracture structures」, Wei Fu, Takashi Nakamura, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2017, 81(4), 839-847

「Effects of emulsifying conditions on creaming effect, mechanical properties and microstructures of processed cheese using a rapid visco-analyzer」, Wei Fu, Yurika Watanabe, Hayaka Satoh, Keita Inoue, Natsumi Moriguchi, Kazunao Fusa, Yuya Yanagisawa, Takaaki Mutoh, Takashi Nakamura, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, in press

8 謝辞

本研究を進めるにあたり、ご指導教授を担当して頂いた明治大学農学部農芸化学科食品工学研究室の中村卓教授先生から、終始ご指導と激励を賜りましたことと、研究だけでなく、複眼や目的意識などの考え方に関する薫陶を受けましたこと、心より深く感謝申し上げます。

所属研究室の同期であり、現味の素株式会社の青山博明様には、研究を進める過程においても生活面も含めて、ご助言を頂き、感謝致します。また、食品工学研究室の先輩、同期、後輩の皆様に感謝の意を表します。

学位論文審査において、ご指導とご助言を頂く川端博秋准教授、鈴木博実准教授に感謝申し上げます。

また、公益財団法人ロータリー米山記念奨学会高津地区から、2015 年度～2017 年度の二年間に、ロータリー米山記念奨学金を頂いて、心より深く感謝申し上げます。

最後に、日本の大学院博士コースまで精神面や経済面など多方面のご支援とご激励を頂いた両親に深く感謝し御礼申し上げます。