

1. はじめに

豆腐の絞り粕、油を絞った後の残り粕、コーヒーの絞り粕、酒粕、食肉製造後の残渣肉、チーズの製造後の上澄み液など、食品製造の現場では様々な残渣が生じ、廃棄もしくは粗製品として飼料などに使われている。そこにはかなり多くのタンパク質が含まれ、良質の食品タンパク質も少なくない。

一方、食品業界においては、多くの食品製造に、食品の物性や栄養性、機能性を付与する目的で、様々な食品素材が、混合、添加されている。食品タンパク質もその一つであり、大豆タンパク質、卵白タンパク質などは、重要な食品基材として多方面で利用されている。これらの素材は、様々な用途に対応できるように目的に応じた素材の変換が行われている。無論、食品素材であるゆえに、その方法に制限があるのは当然であるが、これまでの食品科学の蓄積は、様々な合理的手法を編み出し、多くの機能的素材を生み出している。本稿では、低利用食品タンパク質素材として、牛乳乳清タンパク質を取り上げ、その食品科学的手法による高度付加価値化の例を示し、食品製造分野における未利用、低利用資源の有効活用に関し、考察してみたい。

2. 乳清タンパク質とは

牛乳乳清はもともとチーズ製造やカゼイン製造の廃物である。その廃棄が環境汚染を惹起することから、その対策として、乳清からタンパク質や糖成分の回収が始まったとされる。それらは家畜や動物の飼料として利用されていたが、現在は、乳糖、乳清タンパク質のいずれも単離精製され、様々な用途へと利用が進み、食品素材としての地位を確立している。乳清のこれまでの展開は、それらの成分の濃縮に関わる技術の進展にあったと考えて間違いのないであろう。一般に食品タンパク質を、廃物や希薄液の中から回収・濃縮するためには、工程・操作の効率を考え、予め熱処理を施すのが一般的である。熱処理によってタンパク質は通常沈殿し、簡便に回収することができるからである。しかし、加熱処理はタンパク質の変性を引き起こし、性質は変化し、元のタンパク質の特性は当然失われる。それに対して、近年の乳清タンパク質、乳糖の濃縮には膜濃縮法が用いられ、高温加熱は回避されている。すなわち元の状態を保ったタンパク質の回収が可能となる。食品タンパク質は、たいていの場合殺菌等を目的として加熱処理を受けるわけであるから、あえて加熱を避ける単離・濃縮法は重要でないと考えるのは早計である。未変性の状態を保持して工業的にタンパク質を回収できるこの方法は、新たな素材を生み出す可能性を秘めている。ここで示す改質乳清タンパク質調製はその一例である。

一般に、可溶性のタンパク質は加熱すると変性して、分子構造が変化し、分子間凝集反応が生じ、沈殿や白濁状態となる。しかし、素材として様々な目的に利用するためには、加熱をしても可溶性を保った状態のタンパク質があればその方がはるかに用途が広く、かつ使用しやすい。なぜならば、他成分と均一混合しやすいし、外観、物性の調整も容易であり、優

れた製品が得られるからである。ところで、加熱ゲルといえば、卵白ゲルが思い浮かぶ。代表的な食品タンパク質ゲルである。加熱すると白くなるが故に卵白というのであろう。この卵白の主要タンパク質である卵白アルブミン、および卵白の加熱白濁、加熱ゲル化に関して、これまで一連の研究がなされている¹⁻⁸⁾。卵白アルブミンを加熱すると、いわゆる加熱変性を起こして、本来タンパク質分子内部に埋もれていた疎水の領域が分子表面に露出し、その領域間における疎水の相互作用が親和力となって分子凝集が生じる。その一方で、分子表面には電荷が存在し、それらの電荷により反発が生じる。この親和力と反発力の両方のバランスで凝集体の構造が決まる⁹⁾。それゆえに、親和力の強い条件下では、白濁沈殿、白濁ゲルを与えるが、反発力が強く働く条件下では、同じタンパク質濃度であっても、加熱後に透明ゲルや透明液の状態を与える。卵白アルブミンを加熱して得られた透明液に、塩を加えて再び加熱すると、透明で保水性の高いゲルが得られる。この現象は、他のタンパク質においても見出されており¹⁰⁾、食品素材として重要であると考えられる。しかしながら、実用化においては素材毎に解決されねばならない点があり、個々の実用化研究が必要とされる。ここでは、乳清タンパク質の特性、およびその用途について概説したい。

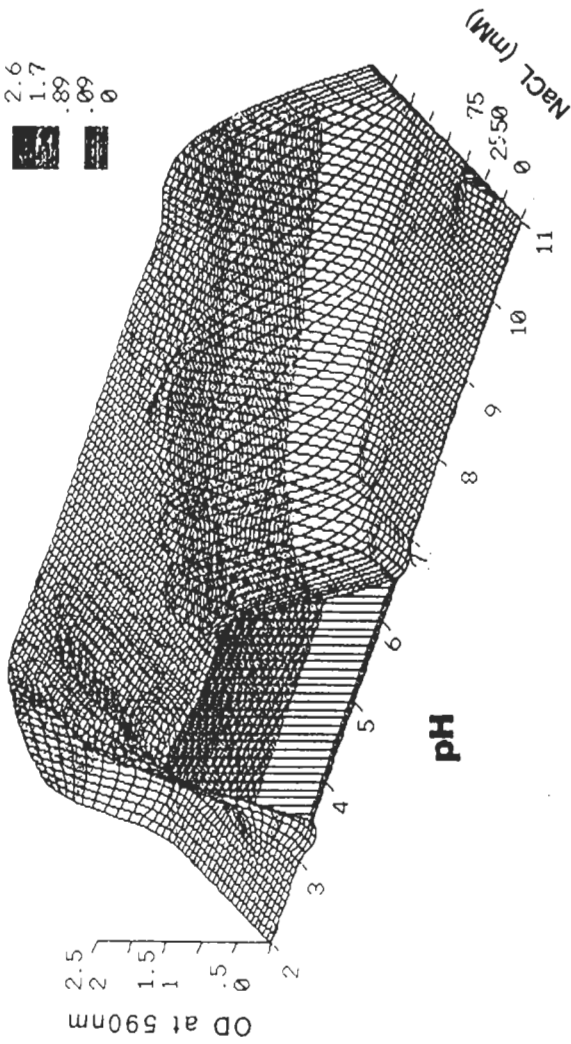
3. 乳清タンパク質の加熱処理

乳清タンパク質は、 β ラクトグロブリン、 α ラクトアルブミン、血清アルブミン、免疫グロブリンなどを含むが、いずれも可溶性の球状タンパク質であり、しかも、等電点が弱酸性側にある。このことは、電気的特性が揃っているという点で素材加工を行う上で好ましいと考えられる。乳清タンパク質を様々な pH、イオン強度に調整して加熱すると、条件にしたがって様々な物性のゲルが形成される。固さを指標にして pH、イオン強度の影響を見ると、図 1 (Hardness) に示すように顕著なピークが複数見出される。これらは、各構成成分のタンパク質の影響を反映したものであると思われる。つまり、乳清タンパク質を加熱すると、pH、イオン強度が極めてわずかに変化することで、大きく物性が変化し、それが構成成分である個々のタンパク質の特性に依存する。図 1-Cohesiveness は凝集性を、図 1-Turbidity は濁度を指標として測定したものである。図 1-Cohesiveness において、山をなしている領域がゲル化しているところである。図 1-Turbidity と合わせて比べると、図 1-Cohesiveness において高い値を示し、図 1-Turbidity において低い濁度値を示す領域は透明なゲルを与える領域である。図 1-Cohesiveness および図 1-Turbidity のいずれにおいても低い値を示す領域、すなわち低イオン強度、中性から塩基性 pH 領域（山でない部分）は、加熱後も透明の液状であることを示す。また、図 1-Adhesiveness に示すように、付着性は中性付近で、塩濃度が高くなるとむしろ低下しているが、これは乳清タンパク質が巨大凝集体を形成し、凝固して、白濁沈殿したためと考えられる。一方、高い付着性を示す領域は、可溶性の線状凝集体が形成されている領域で、透明または半透明のゲルを呈している。

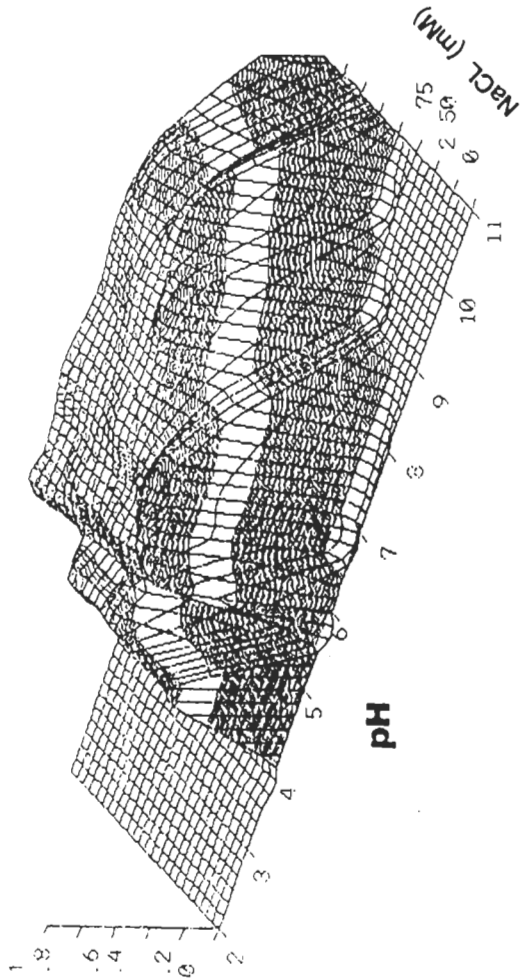
乳清タンパク質は様々なタンパク質成分を含んでいるにも関わらず、特定の領域においては加熱後も透明液である。このような性質は、先にも述べたように球状タンパク質に見出される現象であるが、卵白タンパク質などと比較すると、透明を呈する pH、イオン強度領域が広い。それは、先述のように構成成分のタンパク質の等電点が比較的近接しているためと思われる。加熱変性に伴う構造変化ならびに凝集過程の研究は乳清タンパク質の主要成分である β ラクトグロブリンについて進んでおり、タンパク質分子間ジスルフィド交換反応によ

Acid Whey Protein Isolate(7%w/v)

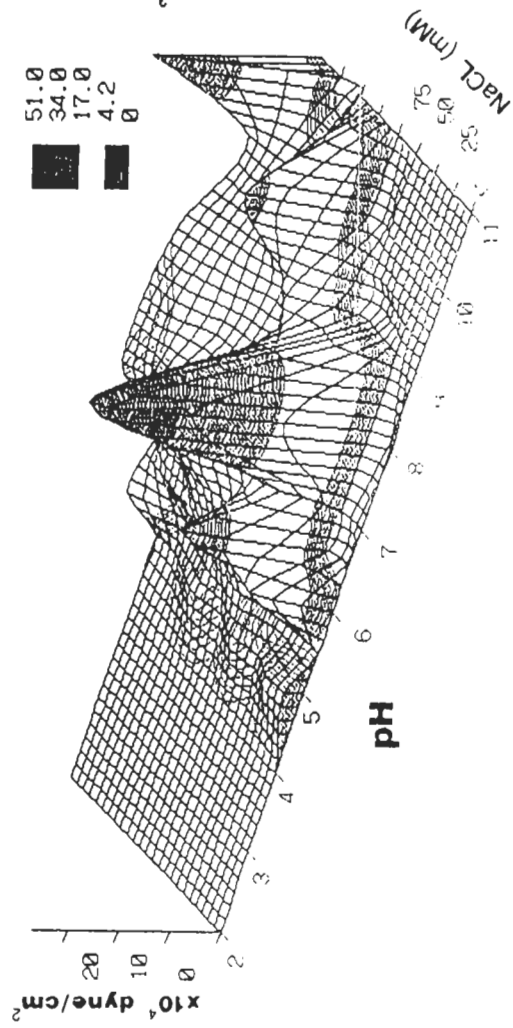
Turbidity



Cohesiveness



Hardness



Adhesiveness

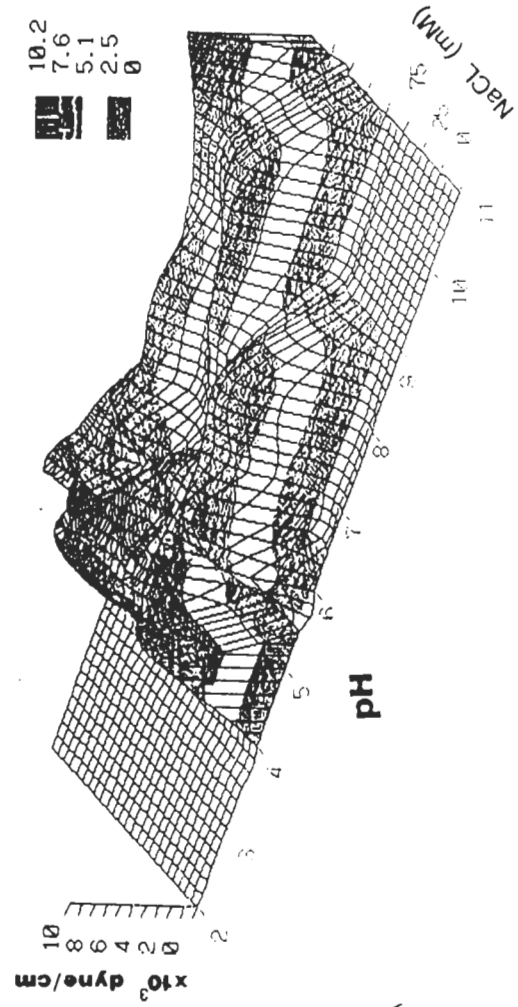


図1. 加熱乳清タンパク質ゲルの濁度(Turbidity)、固さ(Hardness)、凝集性(Cohesiveness)、付着性(Adhesiveness)のpHおよび塩濃度依存性。分離乳清タンパク質(7%)を用いる。

て凝集体が形成されると思われる。

透明性は単に外観上の問題だけではなく、タンパク質が可溶性の状態で存在していることを意味しているものであり、時間とともに白濁が生じたり、沈殿が生成したりせず、均一かつ安定な状態を保ちうるのである。つまり、混合や分散操作が容易であり、貯蔵・保存において安定であり、操作性に極めて優れているのである。しかしながら、上記透明性を示す領域は限られている。食品の加工で頻繁に用いられる中性もしくは弱酸性領域では白濁する。また、食塩などの塩を含む場合も白濁するため、実用上困難な面がある。そこで、それを改良したのが改質乳清タンパク質である。

4. 改質乳清タンパク質の特性

乳清タンパク質を中性付近、塩を含まない条件で加熱した乳清タンパク質は上記のように透明な液体状態を維持する。この状態の乳清タンパク質は、元の乳清タンパク質や他の食品タンパク質と極めて異なった機能特性や消化・栄養性を有する。本タンパク質は改質乳清タンパク質 (Process Whey Protein; PWP) と命名され、新規な食品素材としての利用・検討が進んでいる。このタンパク質の特性ならびに食品素材としての利用、その可能性について述べる。

4.1 pH と塩濃度の影響^{1) - 12)}

加熱処理を行っていない乳清タンパク質 (Whey Protein Isolate; WPI) と PWP を食品加工の操作に良く用いられる pH6.5 において、塩を添加し加熱すると、WPI は塩濃度が高くなるに連れて濁度が上昇し (図 2 - Turbidity)、ゲルの破断エネルギーは低下するが (図 2 Breaking strength)、PWP は、より透明性が高く、かつ弾力性の高いゲルを形成する。この現象は卵白タンパク質の場合においても認められ、これら透明性の高いゲルを形成するタンパク質凝集体構造は球状を保った変性タンパク質分子が数珠状に連なった可溶性線状凝集体からなると考えられる。

pH を 2 から 11、塩濃度を 0 から 200mM に調整した WPI と PWP を加熱すると、WPI は中性付近を中心として広い範囲で半透明から白濁したゲルが得られる。一方、PWP では WPI よりも広い範囲で透明なゲルやゾルが形成する。また酸性領域においてもゲルを形成する。各々のゲルの特性は異なり、PWP で調製したゲルのゲル強度は高く、しかも弾力性もある。WPI と比べると、より広い pH と塩濃度範囲で得られる。加工食品中に存在する種々の塩類の存在下で加熱を行うと、WPI がゲルを形成し得ない条件でも、ゲル形成が可能である¹³⁾。これらの現象は、PWP を構成する可溶性凝集体が塩存在下で線状凝集体の構造を保ちつつ、さらにそれらが相互作用して、より巨大な線状凝集体構造に至ることを示している。

また、中性、高塩濃度域の白濁ゲルにおいても、WPI では付着性が低いのにに対して PWP のゲルは高く、同じ白濁ゲルでも両者の物性は異なる。

4.2. 温度の効果¹⁴⁾

PWP は液体であり、可溶性凝集体からなるので粘度は WPI に比べれば高い値を示すが、常温で放置しても粘度が上昇することはほとんどない。それ自身の粘度は温度の上昇に伴って低下する。これは通常の高分子液においてみられるところである。ところが、塩を添加した場合、25℃までの温度上昇では粘度低下が認められるが 30℃以上の領域では粘度の上昇が見られる。これは塩濃度に依存し、低温下でも塩添加後放置するだけで粘度の上昇が見られる。

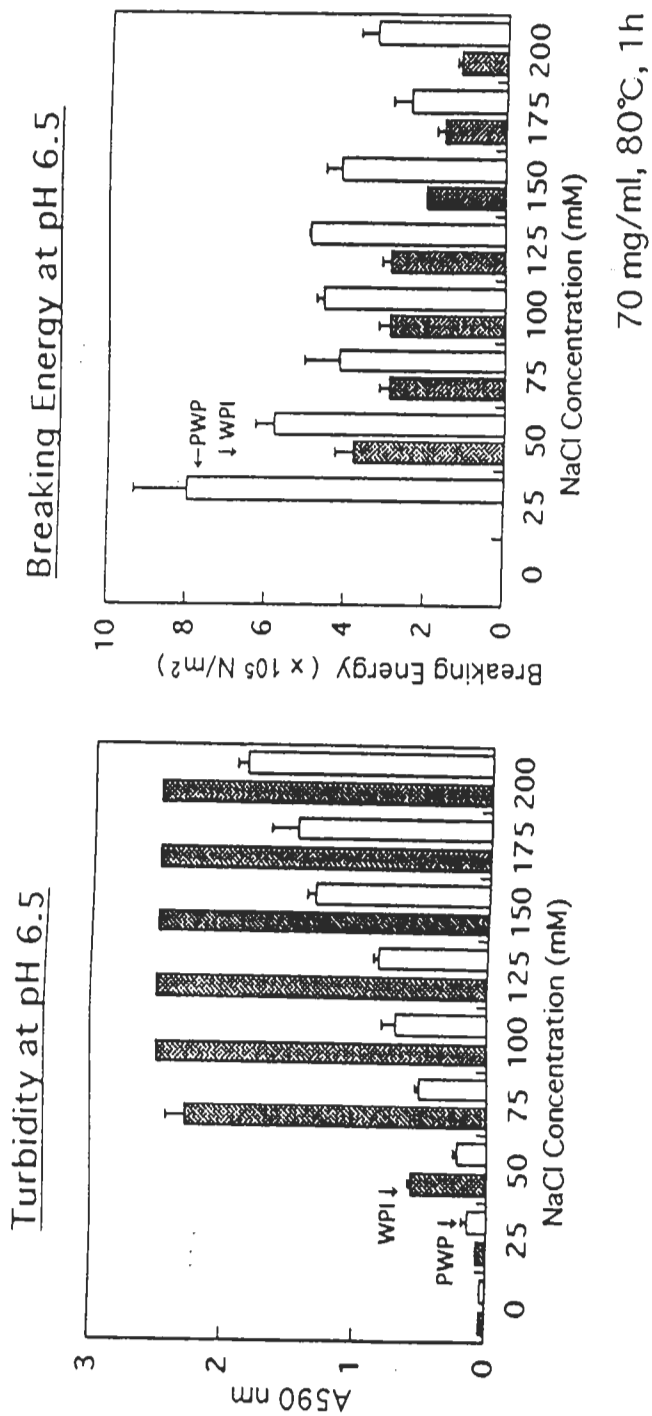


図2. 乳清タンパク質 (WPI) および改質乳清タンパク質 (PWP) を加熱したときの濁度 (Turbidity) ならびに破断強度の塩濃度依存性。pH 6.5、タンパク質濃度 70 mg/ml、80°C で 1 時間加熱をおこなう。

例えば4℃においても時間とともに粘度が上昇し、ゲル化に至る。

上記の性質は、食品加工上極めて興味深い特性である。乳清タンパク質のゲルは加熱することによりゲル化するいわゆる加熱誘導型のゲルでありながら、PWP の上記のゲルはゲル化温度を4℃まで下げうるのである。また、油脂を含む乳化食品の場合、加熱すると乳化が不安定になり、油分の分離が生じる場合があるが、PWP で乳化した後、塩を添加すると加熱なしでゲル化が生じるため安定な乳化状態を保ったままエマルジョンゲルを調製することができる。仮に加熱を行った場合でも、油の分離以前にゲル化が進行して、油滴を取り囲んだPWPのゲル網目構造が、油滴を固定化して安定な状態を作り出す。これらの性質は様々な用途があるものと思われる。

4.3. 消化性¹⁵⁾

乳清タンパク質の栄養性が悪いとの報告はこれまでにない。しかし乳清タンパク質の主要成分であるβラクトグロブリンは胃の消化酵素であるペプシンの作用を受けにくいとの報告があった。そこで、様々なpH下でペプシンを作用させて調べたところ、未変性のβラクトグロブリンはペプシンの至適pH領域であるpH2付近においても全く作用を受けず、還元剤添加のSDS電気泳動においても、単一バンドに全く変化を認められない。しかもCD測定などによっても変化はない。すなわち未変性のβラクトグロブリンはペプシンの作用を全く受けないのである。未加熱の乳清タンパク質の場合、βラクトグロブリン以外のタンパク質はことごとくペプシンの作用を受け、直ちに低分子に加水分解されてしまう。著者らはこの性質を利用して、βラクトグロブリンの大量精製法を開発した¹⁶⁾。すなわち乳清タンパク質にペプシンを作用させ、膜分離などで低分子ペプチドを除去し、タンパク質を濃縮すると純粋なβラクトグロブリンのみを短時間内に大量に調製することができるのである。ペプシンは粗製のものを用いても何ら問題がなかった。恐らく、他のプロテアーゼ類が、ペプシンで分解されてしまっているため、混入してくる可能性が低いのであろう。

ところで、乳清タンパク質の主成分であるβラクトグロブリンが胃の消化酵素のペプシンによる消化を受けないということは、乳清タンパク質の栄養性が悪いとの報告がこれまでにない」という事実と整合しない。一般にペプシンとして用いられる標品は豚ペプシンであり、著者らもはじめは市販のそれを使用していた。また、通常栄養評価試験に用いる実験動物はラットであること、そして用いる乳清は牛のものであり、牛の乳にはβラクトグロブリンが多く含まれているが、ヒトの乳にはβラクトグロブリンが極めて少ない。したがってヒトを含む牛以外の動物のペプシンβラクトグロブリンを本来消化できず、牛のペプシンのみβラクトグロブリンを消化することができるのではないかという仮説が生じた。そこで、豚以外の動物についても、それらのペプシンの作用を調べた。ラットのペプシンは入手が困難であるので、ラットからゾンデを用いて直接胃液を採取し、精製βラクトグロブリンに作用させ、ペプシンの特異的阻害剤であるペプスタチン添加実験を並行して行うことにより、ペプシンの作用を調べた。その結果、ラットのペプシンも豚のものと全く同じくβラクトグロブリンに作用しないことが明らかになった。本当に胃の中でもβラクトグロブリンは消化されていないのかどうか、βラクトグロブリンを直接ラットの胃の中に投与して、しばらくしてから胃の内容物を取り出して調べると、確かに消化を受けていないことが明らかになった。それに対して加熱したβラクトグロブリンは上記の *in vitro*, *in vivo* の実験のいずれでも十分に消化されていたので、本質的にβラクトグロブリンの一次構造がペプシン消化を受けるこ

とができない構造であるのではない。すなわち β ラクトグロブリン分子にはペプシンの作用部位が十分あるが、それらは構造的要因でペプシンの作用を忌避する状態にあると考えられる。未加熱、未変性ならば消化を受けないのである。それではヒトの場合はどうか。胃から胃液を取り出して実験せざると得ないかと思われたが、ヒトのペプシンのペプシノーゲンと同じ性質を有するウロペプシノーゲンという試薬を入手することができたのでこれを用いて実験を行った。やはり上と全く同じ結果であった。つまりわれわれヒトも β ラクトグロブリンを消化できないのである。さらに、牛のペプシンならば β ラクトグロブリンを消化することができるであろうと考え、牛のペプシンに対応するレンネットを作用させたが、やはり反応しなかった。一方、PWPならびに加熱を施した β ラクトグロブリンは容易に、いずれの動物のペプシンの作用も受け、低分子へと消化される。未加熱、未変性の状態で摂取する乳の成分タンパク質が胃で消化されないということは、乳が乳児の唯一の栄養源であり、しかも乳タンパク質が本来食されるために作られるタンパク質であるとする、極めて奇妙な現象である。近年タンパク質構造上の特性から β ラクトグロブリンの脂肪酸結合能が示唆され、最近になり β ラクトグロブリンと必須脂肪酸や脂溶性ビタミンとの結合や相互作用が確認されてきた。これは β ラクトグロブリンがこれらの脂溶性物質を郵送するために存在するのであるとする「 β ラクトグロブリン担体説」としての生理的機能が持ち上がって来ているが、上記の結果はこれを裏付ける。ちなみに未変性 β ラクトグロブリンは確かに *in vivo* でも消化を受けないのであるが、腸に入ると消化されることを確認している。つまり乳清タンパク質の β ラクトグロブリンは腸で消化されるのである。であるから栄養性に問題が生じないのであると解釈しているが、胃においてPWPは消化をすでに受けるのであるから未加熱の乳清タンパク質と加熱乳清タンパク質で、消化栄養性が全く同じであるとは考えられない。加熱乳清タンパク質すなわちPWPの方が、消化性に優れることは当然である。事実、加熱処理した β ラクトグロブリンと未加熱 β ラクトグロブリンを一ヶ月間ラットに唯一のタンパク質源として与え、成長を比較したところ、加熱処理した β ラクトグロブリンを与えた群のラットの方が成長が良いと言う結果を得ている。動物実験に精製した純粹の β ラクトグロブリンを与え続けることができたのは、先の大量調製法があったからである。さもなければ電気泳動的に均一な β ラクトグロブリンを何十匹のラットに一ヶ月も与え続けることはできない。

さらに β ラクトグロブリンが分解されて生じるペプチドにも加熱処理 β ラクトグロブリンと未加熱 β ラクトグロブリンでは違いがあると考えられるが、その効果については結論に至っていない。目下、検討を行っている。上記の哺乳動物以外に魚の鯉でも同様な結果を得ており、PWPの利用範囲を広げるものと考えられる。

5. 改質乳清タンパク質食品素材の利用

PWPは液状、粉体の素材としての利用が進んでいるが、いずれの形態でも素材として同じ機能を保ちうるが、液状の素材は、他の素材との混合が容易であり、再溶解などに伴う問題が回避される。PWP液への塩添加による粘稠化はドレッシングやスープへの利用、また増粘剤、栄養飲料、経腸輸液などへの可能性もある。さらにPWPはpH 4以下の酸性領域でも透明かつ保水性、弾力性に富むゲルが形成され、熱安定性も高い。これらの性質は、畜肉、水産加工品、惣菜類の物性改良、加工適性の改良を目的として用いられる。また、麺類、澱粉食品、豆腐などには、延びや老化防止の可能性が考えられており、この分野での展開もある。凍結

処理やレトルト加熱に伴う品質劣化の防止の可能性も予備テストながら認められている。さらに保存性、機能性を高めたデザート、レトルト・冷凍・インスタント食品、ソフトカプセルや錠剤の基材としての優れた特性を示すことが明らかになっている。

PWPで調製した乳化物は、中性から酸性領域において安定であり、しかも加熱に対しても安定性が高い。乳化物に塩を加えて加熱すると、油滴を包含したまま熱安定性の高い乳化ゲル（エマルションゲル）が得られる。これらの特性は、耐熱性ドレッシング、ゲル状マヨネーズ、乳加工品、フラワーペースト、フィリングやヨーグルトなどに利用される。また加熱安定性に優れた泡は、ハンペン、パン、デザートなどに利用される。

PWPは胃液や胆汁により速やかに消化され、高い栄養性を示す。この特性は、消化能力の低い乳幼児や高齢者向け食品、医療・介護食の素材として極めて有効である。さらにPWPの特性は、ペットフード、釣り餌、化粧品、医薬品などへの利用も図られている。

6. おわりに

もともとチーズ製造後の廃棄物であった乳清は、乳糖と乳清タンパク質の回収と言う形で素材化され、利用されていた。しかしそのタンパク質の利用範囲は、必ずしも広くなかったが、ここで示したような方法改良により、その用途は飛躍的に拡大した。その改良に用いた手法は、至って単純なものであるが、そこに至るには、食品科学分野の多くの研究成果の蓄積が必要であった。1980年代に入り、タンパク質食品の物性を分子レベルで捕らえる研究が進み、これにより物性変換が、合理的、科学的に行うことが可能になってきた。本来、食品科学は応用科学であったが、基礎的な研究が広範に展開し、これにより、食品素材の応用研究のウイングが拡大したといえる。従来、個々の食品会社の開発研究に依存していた領域に、多くの大学や研究機関の研究者が参入したことにもよる。この展開は今後も絶えることなく進展することが望まれる。今一度新たな視点を導入し、わが国の食料問題もさることながら、地球規模で問題となっている食糧危機に関しても、産官学、知恵を絞っていかねばならないであろう。また、またその知恵の出し合いが、科学者、技術者の楽しみにもなるであろう。

参考文献

- 1) Doi E. and Kitabatake N.: Structure of glycinin and ovalbumin gels. Food Hydrocolloids, 3, 327-337 (1989).
- 2) Kitabatake N., Shimizu A. and Doi E.: Comparison of transparent gels with turbid gels prepared from egg white: Creep analysis of gels. J. Food Sci., 54, 1209-1212 (1989).
- 3) Kitabatake N., Tani Y. and Doi E.: Rheological Properties of Heat Induced Ovalbumin Gels Prepared by Two-step and One-step Heating Methods. J. Food Sci., 54, 1632-1638 (1989).

- 4) Kitabatake N., Indo K. and Doi E: Limited Proteolysis of Ovalbumin by Pepsin. J. Agric. Food Chem., 36, 417-420 (1988).
- 5) Kitabatake N., Shimizu A. and Doi E. : Preparation of Transparent Egg White Gel with Salt by Two-step Heating Method. J. Food Sci., 53, 735-738 (1988).
- 6) Kitabatake N., Shimizu A. and Doi E. : Preparation of Heat-induced Transparent gels from Egg White by the Control of pH and Ionic Strength of the Medium. J. Food Sci., 53, 1091-1095 (1988).
- 7) Kitabatake N., Hatta H. and Doi E. : Heat-induced and Transparent Gel Prepared from Hen Egg Ovalbumin in the Presence of Salt by Two-step Heating Method. Agric. Biol. Chem., 51, 771-778 (1987).
- 8) Hatta H., Kitabatake N. and Doi E. : Turbidity and Hardness of a Heat induced Gel of Hen Egg Ovalbumin. Agric. Biol. Chem., 50, 2083-2089 (1986).
- 9) Doi E. and Kitabatake N. : Improvement of Protein Gel by Physical and Enzymatic Treatment. Food Rev. Int., 9: 445-471 (1993).
- 10) Kitabatake N. and Fujita Y. : Functionality of Dialyzed Soybean Extract. J. Amer. Oil Chem. Soc. 77 (4) 441- 446 (2000).
- 11) Kinekawa Y., Fuyuki T., Kitabatake N. : Effects of Salts on the Properties of Sols and Gels Prepared from Whey Protein Isolate and Process Whey Protein. J. Dairy Sci. 81, 1532-1544 (1998).
- 12) Kitabatake N., Doi E. and Kinekawa Y. : Simple and Rapid Method for Measuring Turbidity in Gels and Sols from Milk Whey Protein. J. Food Sci., 59, 769-772 (1994).
- 13) Kinekawa Y. and Kitabatake N. : Turbidity and Rheological Properties of Gels and Sols by Heating Process Whey Protein. Biosci. Biotech. Biochem., 59, 834-840 (1995).
- 14) Kitabatake N., Fujita Y. and Kinekawa Y. : Viscous Sol and Gel Formation from Process Whey Protein Below 25°C. J. Food Sci., 61, 500-503 (1996).
- 15) Kitabatake N. and Kinekawa Y. : Digestibility of Bovine Milk Whey Protein and β -Lactoglobulin in Vitro and in Vivo. J. Agric. Food Chem. 46, 4917-4923 (1998).
- 16) Kinekawa Y. and Kitabatake N. : Purification of β -Lactoglobulin from Whey Protein Concentrate by Pepsin Treatment. J. Dairy Sci., 79, 350-356 (1996).