

# テクニカルレポート： 原料と製品のパフォーマンスにおける 乳由来たんぱく質の役割を理解する



寄稿者：  
Hasmukh Patel  
and Sonia Patel  
*South Dakota State University*

編集者：  
Robert Beausire  
*KaiNutra LLC.*

査読者：  
Shantanu Agarwal  
*National Dairy Council*

## はじめに

たんぱく質は食事における必須成分であり、十分に摂取することが健康的でバランスのとれた食事において極めて重要です。今日、食事によってたんぱく質を摂取することの利点について、消費者は認識を高めつつあり、豊富な知識を持っています。消費者は空腹感のコントロール、エネルギーの維持、パフォーマンスの最大化を支えることにおけるたんぱく質の重要性を認識しているのです。乳製品は高品質で用途の多い、多機能なたんぱく質の重要な摂取源です。食品メーカーや飲料メーカーの多くがその製品にミルクたんぱく質を取り入れようと試みています。ミルクたんぱく質は優れた栄養源であるだけではなく、消費者が求めるクリーンラベルの実現を可能にする他、溶解性、熱安定性、ゲル化作用、起泡性、乳化作用など、幅広い機能特性を最終製品にもたらします。

牛乳は複雑かつダイナミックな栄養システムで、栄養面および機能面で複数の恩恵をもたらします。その特性と食品システムにおける挙動は加工の程度によって変化します。牛乳に含まれるたんぱく質は特に複雑で、乳製品産業および食品産業で用いられる多くの加工条件（例：剪断、熱処理）に影響を受けます。加工によりミルクたんぱく質の構造が変化し、たんぱく質の変性、凝集、相互作用が起こります。たんぱく質相互作用の種類や程度は加工条件（例：時間-温度の組み合わせ）、製品の組成、pH値、たんぱく質濃縮度、イオン強度をはじめとする多くの要因に左右されます。たんぱく質にこれらの変化が起こることで、溶解性、ゲル化作用、熱安定性、乳化作用をはじめとする乳製品原料の機能特性にも影響がもたらされ、最終製品のパフォーマンスにも影響を与えます。一方、ミルクたんぱく質の機能性に加熱によって変化が起こると、ヨーグルト、焼き菓子などの乳製品および食品の官能特性を向上させることにもつながります。そのため、乳由來たんぱく質とその機能性を理解することによって、乳製品原料、そして最終的な乳製品と食品に適した機能特性を持たせることができます。

このテクニカルレポートは食品および飲料の開発者に対し、乳由來たんぱく質の複雑さ、たんぱく質の様々な種類や特徴についての理解と様々な乳由來たんぱく質についての調査結果を提供するものです。また、加工条件がどの様にミルクたんぱく質のパフォーマンスに影響するのかを検討し、新たな食品と飲料を開発するために質を向上させ、乳由來たんぱく質を活用する方法を提案します。このレポートの目次は 16 ページをご覧ください。

## たんぱく質の構造

たんぱく質の構成要素はアミノ酸です。たんぱく質中のアミノ酸の配列によってたんぱく質の構造、コンフォーメーション、特性が決まります。含まれるアミノ酸の種類によってたんぱく質のコンフォーメーションが異なることもあります。様々な分子力がたんぱく質を安定させています。たんぱく質のコンフォーメーションを決定づける分子力は静電相互作用、水素結合、ジスルフィド結合、双極子間相互作用、疎水性相互作用、ファン・デル・ワールス力（図1）です。<sup>1,2,3</sup>

たんぱく質の天然構造には一次、二次、三次、四次の4つの階層があります（図2）。一次構造は共有結合によるポリペプチド鎖に沿った特異的アミノ酸配列です（図2）。アミノ酸側鎖の間に分子力が作られることにより、一次構造は規則正しく折りたたまれ、二次、三次構造を形成し、最小限の自由エネルギーを持つ、固有の折りたたまれた自然構造をもたらします。たんぱく質中にもっとも多く存在する規則的な二次構造は $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ ブリーツシートです。 $\alpha$ ヘリックスはアミノ酸鎖のらせんコイルを通じて生じるもので、ペプチド結合の原子間の水素結合がこれを安定させています。 $\beta$ ブリーツシートはアミノ酸鎖の複数の配列が直線的につながることにより形成されます（図2b）。この構造もストランドの水素結合により安定化されています。

三次構造はたんぱく質中に存在する複数の配列が三次元的に組み合わさったものです。分子間および分子内の相互作用が非常にデリケートな形で均衡し、三次元構造を形成しています。この構造は水素結合、疎水性相互作用、ファン・デル・ワールス力、静電相互作用により維持されています（図2c）。四次構造は個々のたんぱく質分子の超集合体です。これらの四次構造は非共有相互作用による空間的配置により形成され、多量体たんぱく質を成す2つあるいはそれ以上のポリペプチド鎖（図2d）の相互作用の結果生まれるものです。<sup>2,5</sup>

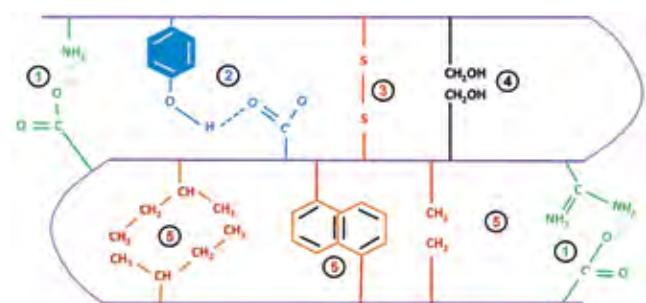


図1. たんぱく質中の安定化力を示す配列図：

1. 静電相互作用；2. 水素結合；3. ジスルフィド結合；
4. 双極子間相互作用；5. 疎水性相互作用<sup>1</sup>

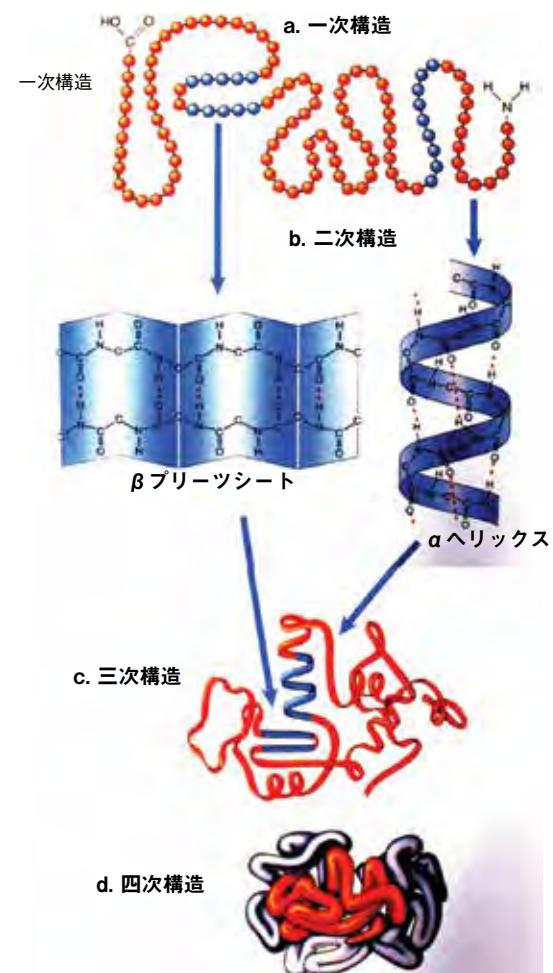


図2. たんぱく質の4つの階層：

- a. 一次構造；b. 二次構造；c. 三次構造；d. 四次構造<sup>4</sup>

## たんぱく質の変性

たんぱく質の変性、またはアンフォールディングとは、天然構造を安定化させる力が壊れること、あるいは変化することです。これによりたんぱく質は天然構造を失うか、または天然構造の折りたたまれた構造が失われます。熱、圧力、剪断、処方条件の変化（例：pH 値やイオン強度）が、たんぱく質が天然構造を失う要因となります。小さな天然たんぱく質分子はほどけ始めて、無秩序でランダムな構造に変わっていくのです（図 3）。処方や加工の条件によって、共有結合（例：ジスルフィド結合）または非共有結合（例：ファン・デル・ワールス相互作用や静電相互作用）をはじめとする分子間結合や分子内結合を通じて繋がったたんぱく質凝集体が生じる可能性もあります。また、指摘しておくべき重要なこととして、変性という一般用語はたんぱく質の変性の多くの形を意味するもので、二次構造の変化を伴わない三次構造のわずかな変化（例：非天然状態）から、二次構造に大きな変化が起きていることにより三次構造にも大きな変化が見られるものまで様々です<sup>1</sup>。

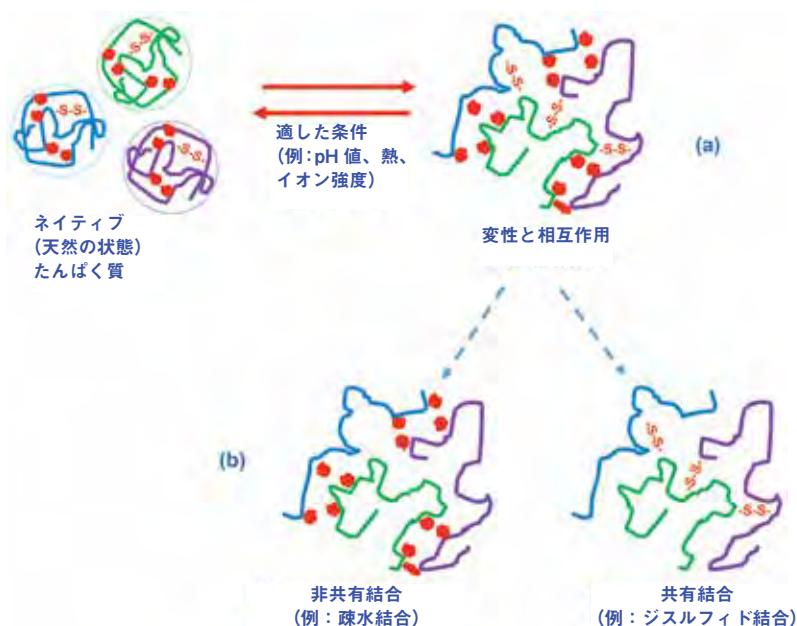


図 3. ネイティブ（天然の状態）たんぱく質の構造の加熱変化  
例：a. たんぱく質の変性と凝集、b. たんぱく質の共有相互作用と非共有相互作用

## ミルクたんぱく質：特定、構造、物理化学的特性

牛乳は水分、脂質、ラクトース、たんぱく質、そしてミネラルを含んだ複雑な生体液です（表 1）。水分は連続相として存在し、その中に他の成分が溶け込んでいるか、または浮遊しています。ラクトースと無機塩の一部は溶液中に存在します。たんぱく質とその他のミネラルはコロイド懸濁液の中に存在しています。

表 1：生の牛乳の平均的な組成<sup>6</sup>

成分	牛乳に含まれる割合 単位：% (W/W)
水分	87.30
ラクトース	4.60
脂肪	3.90
たんぱく質	3.30
カゼインたんぱく質	2.60
ホエイたんぱく質	0.70
ミネラル	0.70
有機酸	0.20

牛乳には1キログラム当たり30～35グラムのたんぱく質が含まれており、カゼインとホエイたんぱく質の2つに分類されます。<sup>6,7</sup> カゼインは主にコロイド状態で存在し、ホエイたんぱく質は可溶型で存在しています。カゼインとホエイたんぱく質は水溶液中における状態と構造によって異なる機能特性をもたらし、異なる役割を果たします。

カゼインとホエイたんぱく質は構造が全く異なるため、乳製品や食品の製造の基盤を成す物理化学的特性も異なっています。表2にカゼインとホエイたんぱく質の特性の比較をまとめました。この表に示されたカゼインとホエイたんぱく質の特性に基づくと、食品中のこれらの成分の挙動はミルクたんぱく質の特性に影響されることがわかります。一般的な例としては、カゼインの沈殿が挙げられます。発酵や直接酸化により牛乳のpH値を下げると、ヨーグルトやカッテージチーズなどの製品がもたらされます。カッパーカゼイン( $\kappa$ -CN)とレンネットの凝析によりチーズがもたらされます。

カゼイン分子には4つのタイプがあり、 $\kappa$ -CNの他、アルファs1カゼイン、アルファs2カゼイン、そしてベータカゼインがあります。アルファカゼインとベータカゼインはカルシウムにより急速に沈殿する疎水性たんぱく質です。 $\kappa$ -CNは全く異なる分子で、カルシウムにより沈殿することはありません。カゼインは分泌されるにつれて、自己会合し、ミセルと呼ばれる凝集体になります。ミセル中にはアルファカゼインとベータカゼインが $\kappa$ -CNとの相互作用により沈殿しないように保たれています。つまり、 $\kappa$ -CNは通常、ミルクたんぱく質の大部分を可溶性に保ち、自然に凝固することから防いでいるのです。

表2：カゼインとホエイたんぱく質が持つ一部の物理化学的特性の比較<sup>8</sup>

特性	カゼイン	ホエイたんぱく質
構造	はっきりとした二次、三次、四次構造がない。 ランダムコイル構造を持つ。	はっきりとした三次、四次構造を持つ
アミノ酸組成	含硫アミノ酸が少ない； プロリンが多い	含硫アミノ酸が比較的多い； プロリンが少ない
物理的状態	カゼインミセルと呼ばれる 大きなコロイド凝集体として存在する	pH値によって単量体あるいは8量体の 球状たんぱく質として存在する。
pH4.6での可溶性	pH 4.6では不溶性	pH 4.6では可溶性
熱安定性	熱安定性が非常に高い (滅菌、超高温熱処理(UHT)、 レトルト加工などの過酷な熱処理にも耐える)	熱に弱い (完全に変性してしまう可能性がある。 特に温度が90°C以上の場合)
制限タンパク分解 またはエタノールによる凝固	固有の制限タンパク分解(例:レンネット凝固) やエタノールによって凝固する	酵素や制限タンパク分解、 エタノールでもすぐには凝固しない

## カゼイン

カゼインは牛乳に含まれる主なたんぱく質です。牛乳に含まれる窒素性物質のおよそ80%を占めています。カゼインは牛乳の中にカゼインミセルとして存在しています。1969年に初めてレポートが発表されて以来、カゼインミセル構造の様々なモデルが提案されています。<sup>9</sup> カゼインは両親媒性であるため、優れた界面活性特性と乳化特性を持っています。カゼインは比較的電荷が高く、プロリン残基を多く含んでいますが、システイン残基はほとんど含んでいません。<sup>10</sup> カゼインミセルの構造と特性についての詳細な概要が発表されています。<sup>11</sup>

カゼインは二次および三次構造が少なく、そのため高い温度に対しても優れた安定性を示します。しかし、過酷な熱処理に晒されるとカゼインは脱リン酸化やたんぱく質分解をはじめとする変化を起こします。縮合反応(例:メイラード反応)やリジノアラニンの形成などの結果、カゼインの重合が起こることもあります。熱処理によるカゼインミセルの変化には流体力学直径の増加、ゼータ電位と水和性の低下、ミセルからのカゼインの乖離<sup>12,13</sup>などがあります。これらについては詳細なレビューが行われています。<sup>14,11</sup>

加工条件、pH 値、イオン環境によってカゼインミセルの会合と解離が起こる可能性があります。これはカゼインミセルの重要な特性であり、ヨーグルト、チーズ、カゼイン酸ナトリウムをはじめとする様々な製品や機能性乳製品原料の基盤を成しています（図 4）。

熱安定性、レンネット凝固性やレンネットゲルの強度と離水特性をはじめとする技術的に重要な牛乳の特性の多くがカルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) により強く影響を受けます。 $\text{Ca}^{2+}$  のカゼインへの結合は主にポスホセリル残基を通じて、またカルボン酸側鎖を経て起こります。

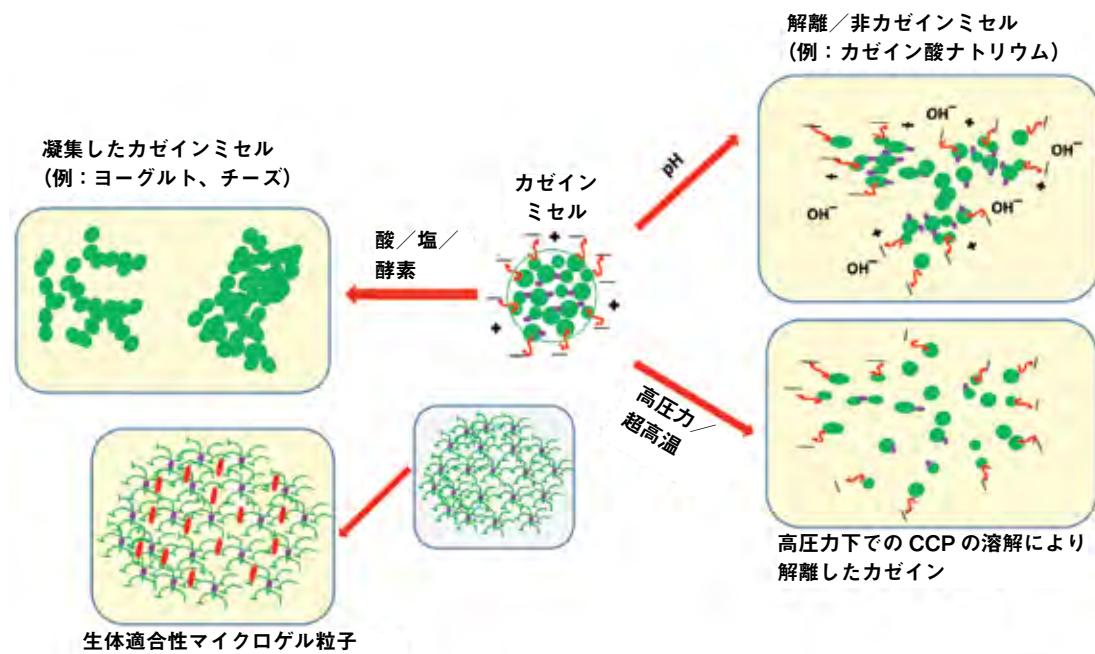


図 4. ミルクたんぱく質の機能性を変化させるための様々なアプローチ。<sup>15</sup>  
加工条件と処方条件の変化により影響を受けたカゼインミセルの変化

### ホエイたんぱく質

ホエイたんぱく質 (Whey or Milk Serum Protein) は酸性ホエイを製造するために pH 値 4.6、20°C でカゼインを等電沈殿させた後、または甘性ホエイを製造するためにレンネットで制限たんぱく分解をおこなうことによりカゼインを凝固させた後、可溶性を維持するたんぱく質です。<sup>16,17</sup> 表 3 にこれら 2 つの種類のホエイの一般的な組成を示しています。

ホエイたんぱく質は牛乳中の窒素性物質全体の約 20%（例：1 リットル当たり 5～7 グラム）を占めています。主なホエイたんぱく質は  $\beta$  ラクトグロブリン ( $\beta$ -LG)、 $\alpha$  ラクトアルブミン ( $\alpha$ -LA)、ウシ血清アルブミン (BSA)、免疫グロブリン (Igs) で、前者から順にホエイたんぱく質の濃度が低くなっています。<sup>3</sup> ホエイたんぱく質は主に球状で、カゼインとは対称的にポリペプチド鎖に沿って疎水性／親水性のアミノ酸がかなり均一に分布しています。

表 3：甘性ホエイと酸性ホエイのたんぱく質構成<sup>18,19,17</sup>

たんぱく質	総ホエイたんぱく質の大よその割合 (%)	
	酸性ホエイ	甘性ホエイ
$\beta$ ラクトグロブリン	54	45
$\alpha$ ラクトアルブミン	23	18
ウシ血清アルブミン	6	5
免疫グロブリン	6	5
カゼイン由来ペプチド	2	20
酵素	2	2
リン脂質たんぱく質複合体	5	5

ホエイたんぱく質はカゼインの単量体サブユニットが持ち、固有の機能特性の多くをもたらす特徴である両親媒性に欠けています。<sup>18</sup> ホエイたんぱく質分子はプロリン含有量が非常に少ないため、ヘリックス含有量の多い球状コンフォーメーションが生じます。これも熱による変性を非常に起こしやすい原因となっています。<sup>20</sup>

ホエイたんぱく質は粉末ホエイ、濃縮ホエイたんぱく質（WPC）や分離ホエイたんぱく質（WPI）などの食品原料や栄養成分として市販されています。WPCとWPIは食品産業においては価値の高い原料です。その理由は、非常に優れた栄養価に加え、乳化能力、可溶性、そして熱または圧力をかけることでゲル化する能力など、重要な機能特性を持っていることがあります。<sup>21,22</sup> 市販されているWPCの製品の組成は様々で<sup>23,24</sup> 濃度、季節的変動、ホエイの種類（ホエイの原料）、そしてWPCの製造の際に用いられた加工方法をはじめとする様々な要因に影響を受けます（表4）。

ホエイたんぱく質の変性は水素結合、疎水結合、あるいは共有結合が影響を受けた時に起こります。<sup>18</sup> これは通常は天然の三次元構造内に埋もれている疎水性アミノ酸側鎖を顕在化するが多く、そのため、これらグループの反応性が高まります。スルフヒドリル-ジスルフィド交換反応と疎水性相互作用を通じて、変性たんぱく質分子は互いに会合し凝集体（図3）を形成することができます。この凝集体はサイズが大きくなるにつれて不溶性になります。高温での熱処理により他のたんぱく質分子との相互作用が起こり、その結果、分子間会合と凝集が起こり、たんぱく質濃度、加熱・冷却速度、pH値、イオン強度といった複数の要因によって最終的に沈殿あるいはゲル化を起こします。<sup>25,26,18,2,14,3</sup> 考えられるミルクたんぱく質の加熱変化の解説を表4に示します。

表4：考えられるたんぱく質の加熱変化についての解説<sup>27</sup>

たんぱく質の変性は二次、三次および四次コンフォーメーションにおける修飾で、一次構造に関与しているペプチド結合の分解を伴わないものです。変性後の最終的なコンフォーメーションは全体的（ランダムコイル）あるいは部分的に変性したポリペプチド構造と一致する可能性があります。	凝集または重合：凝集または重合、沈殿、凝固、軟凝集という言葉は分子量の高い大きな複合体の形成につながる不特定のたんぱく質間相互作用を指します。	ゲル化は天然たんぱく質、および／または（部分的に）変性したたんぱく質の規則的な凝集で、三次元網目構造を形成します。この構造中ではたんぱく質間相互作用とたんぱく質-溶媒間相互作用が均衡しており、大量の水分を保持することのできる非常に秩序だったマトリックスをもたらします。
--	---	--

## ミルクたんぱく質の構造と機能の関係

ミルクたんぱく質の構造と機能の関係は、最終製品におけるミルクたんぱく質の役割を決定づけます。牛乳はコロイド状のシステムです。外部要因と内部要因がたんぱく質内、たんぱく質間の相互作用に影響を与えます。分子レベルの変性、凝集およびたんぱく質間相互作用の程度に影響する外的要因としては、温度、たんぱく質濃度、pH値、イオンの強度と種類、加工条件、剪断などの外的エネルギー、熱、高圧力、超音波処理などが挙げられます。内的要因は疎水性、静電相互作用、ジスルフィド結合、分子量、アミノ酸組成などです（図5）。<sup>28</sup>

外的要因	内的要因
温度	アミノ酸組成
圧力	分子量
pH値	疎水性
たんぱく質濃度	静電相互作用
イオン強度	ジスルフィド結合と遊離スルフヒドリル基の数
塩基のタイプ（一価、二価）	

図5. たんぱく質間相互作用に影響する要因<sup>28</sup>

食品の構造は最終製品の外観、コク、テクスチャー、官能特性、生体利用効率、栄養価を決定づけます。従って、特定の処方や加工条件を用いて、特定のたんぱく質間相互作用を生み出すことができ、最終的に異なる構造の食品の開発につながります。たんぱく質間相互作用のタイプは食品システムにおける環境に左右されます。これについては図6にまとめてあります。そのため、特定の機能を持った乳製品原料の開発と最終的な食品と飲料の開発に、たんぱく質構造とたんぱく質間相互作用についての知識が活かされているのです。

構造と機能の関係、たんぱく質間相互作用、機能特性についての知識を組み合わせ、ミルクたんぱく質の変性と凝集の経路などの加工の結果を変化させられる可能性があります。例えば、ミルクたんぱく質は優れた安定性、保水性、乳化特性をっています。クリーンラベル食品の開発のために、これらの特性を最適化することができるのです（例：安定剤や乳化剤の使用量の最小化）。要件に合わせた食品構造を実現するには、たんぱく質の物理化学的特性と加工パラメタと処方パラメタの相互作用についての知識を組み合わせる必要があります。

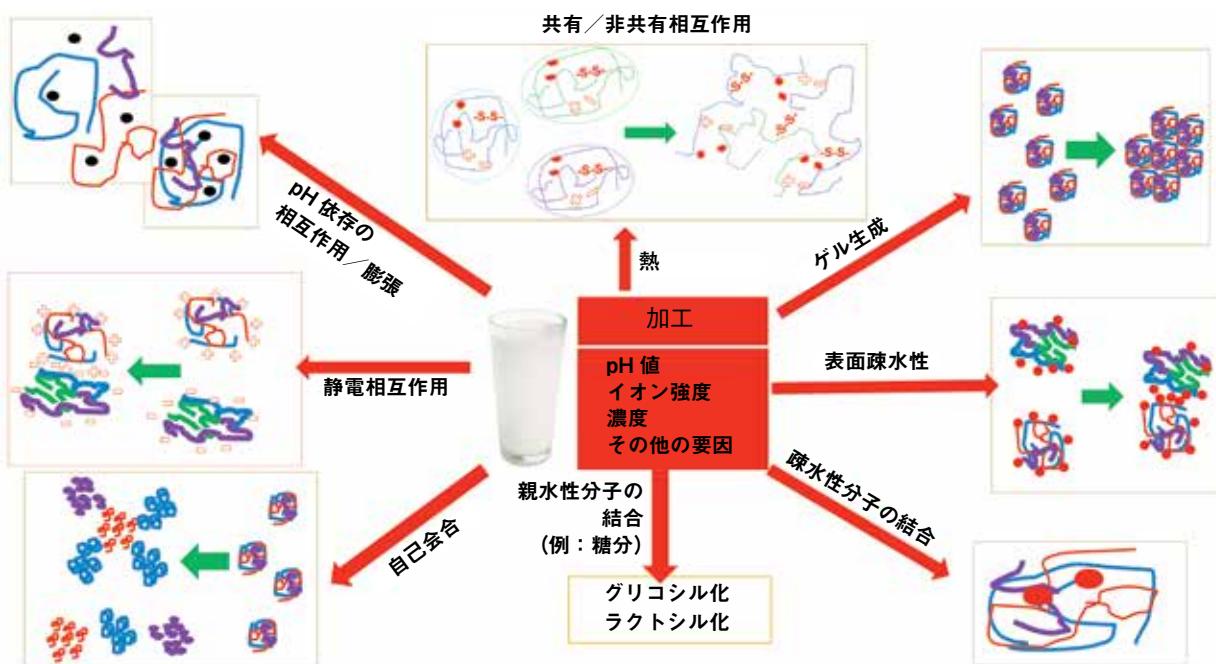


図6. 様々な加工パラメタと処方条件に影響を受けた、たんぱく質相互作用をコントロールすることについての可能性<sup>29</sup>

たんぱく質の構造とたんぱく質間相互作用の変化、そしてたんぱく質と食品システム中の他の成分との相互作用が最終製品のテクスチャー特性と機能特性（例：ゲル化、粘性）に寄与します。たんぱく質は他のたんぱく質、あるいは食品システム中の他の成分（例：炭水化物、脂質、ミネラル）と相互に作用します。これにより食品システムは複雑さを増しますが、これまでにないテクスチャーを持った製品を開発する機会をもたらしてくれます。例を挙げると、粒子サイズの分布幅の狭い、脂肪を含有した小さな脂肪球の存在下では、たんぱく質ゲルのテクスチャーは滑らかになり、ゲル強度も高まることが報告されています。<sup>30</sup> これは食品システム中のたんぱく質と脂質の相互作用を操作することで最終製品のテクスチャーと滑らかさをコントロールできる可能性があることを意味しています。

pH値によってたんぱく質分子がどのような電荷を帯びるかも重要です。たんぱく質の静電反発力と相互作用に影響を与えるためです（図7）。<sup>31,32</sup> 反発力はたんぱく質溶液のpH値を変えること、あるいは、イオンまたは塩をたんぱく質溶液に加えることで変化させることができます。これにより要件に合わせたたんぱく質間相互作用が実現できるのです。

これがイオン強度の上昇に伴い、静電反発力が低下する理由のひとつです。<sup>33</sup> 塩の種類（例：一価塩 vs 二価塩）もたんぱく質間相互作用と形成されるゲルのタイプに影響を与えます。ゲルの微細構造を変えるために必要な塩濃度は、ホフマイスターーシリーズにおける塩の位置に左右されます。<sup>34</sup>

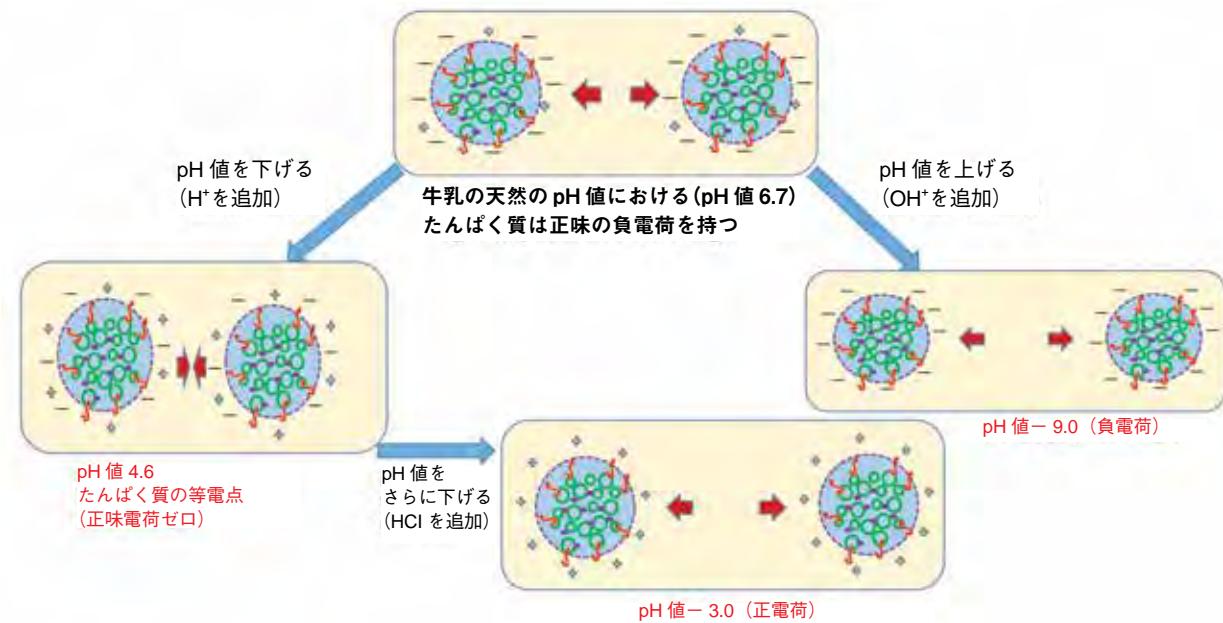


図7. 正味の負電荷：pH値がたんぱく質分子の電荷とたんぱく質相互作用に与える影響<sup>35</sup>

### ミルクたんぱく質の機能性

ミルクたんぱく質は優れた栄養源であるだけではなく、最終製品に望ましい機能特性をもたらすことにおいて重要な役割を担っています。乳製品原料は食品業界における幅広い用途において、機能性原料として用いられています（表5）。全脂粉乳（WMP）、脱脂粉乳（SMP）、濃縮ミルクたんぱく質（MPC）、WPC、WPIなどの原料は栄養飲料や食事代替飲料、あるいは還元牛乳製品の処方に用いられています。

多くの場合、これらの食品や飲料に対しては保存可能期間を長くしたり、人間による消費における食の安全性を確保するために、高温熱処理（UHT）やレトルト殺菌などの極高温処理が行われます。従って、レディ・トゥ・ドリンク（RTD）飲料の場合のように、可溶性を維持できるたんぱく質システムを必要とする食品や飲料に使用することを意図した乳製品原料は、熱安定性を持っている必要があります、一般的に行われている極高温処理に耐えられるものでなければなりません。

熱安定性とはたんぱく質が加工処理中、あるいは加工の直後に過度な懸濁や粘性の上昇、相分離、沈殿、ゲル化などの有害な変化を起こすことなく極高温処理に耐える能力を指しています。<sup>41</sup> 牛乳の熱安定性はたんぱく質の安定性がもたらす機能です。<sup>42</sup> 热を加えることで様々なレベルの変性や凝集が起こり、混合物の濃縮あるいはゲル化が起こる可能性があります。<sup>43</sup> 热安定性が求められる一部の例では、ホエイたんぱく質の変性と凝集が有害となる可能性があります。熱安定性が不足していることによる加工処理中に起こりうる現象としては以下のようない例があります。

- 加工が可能な固体（全固体物）の濃縮が制約される。
- 加工効率が低下する。
- 加工処理中の時間及び温度への耐性が低下する。

そのため、熱安定性は食品や飲料の製造に用いる原料を選択する際に、加工処理に関して考慮すべき最も重要な事項の一つなのです。

特にホエイたんぱく質の場合、熱による変性、凝集、ゲル化が起こる可能性があります（図8）。食品中に求められる官能特性とテクスチャー特性を実現するための加熱ゲルを生じる能力は、ホエイたんぱく質が持つ重要な機能特性の一つです。これらのゲルは外観、微細構造、レオロジー特性に基づき「微細鎖」と「粒状」に分類されます。構造の種類によって最終製品に異なるテクスチャー特性がもたらされます。ホエイたんぱく質の凝集とゲル化が起こっている間に、非共有性（主に疎水性）のたんぱく質凝集とジスルフィド結合のたんぱく質凝集が起こる可能性があります。<sup>44,45,46</sup>

表5：乳製品原料の一部の機能特性と最終製品におけるその用途<sup>36,37,38,39,40</sup>

NO.	特性	解説	用途の例
1	保水作用	製品の成分と相互に作用し、高い水分保持能力をもたらす。	肉製品 ベーカリー製品 菓子類 模造チーズ 冷凍デザート 加工調理済み食品
2	粘性	製品の他の成分との相互作用。 濃度、たんぱく質構造、熱処理の全てが寄与する。	スープおよびソース ヨーグルト プリン 飲料
3	乳化作用	2つの不混和性の液体（例：水と油）を安定した乳濁液に保つ力。	コーヒー用クリーム アイスクリーム サラダ用ドレッシング ソーセージ（肉のエマルジョン） スープ、ソース、ディップ マヨネーズ プロセスチーズ
4	起泡性	空気 - 水界面に安定した気泡をもたらし、優れた気泡力をもたらす。 (例：製品中に空気を含ませ保持する力)	アイスクリーム 冷凍デザート ホイップクリームおよびトッピング 曝気菓子 (例：ヌガーやマシュマロ) ケーキやムース メレンゲ菓子
5	ゲル化作用	架橋たんぱく質により食品に物理的構造をもたらす；特定の用途における口あたりを向上させる。	ヨーグルト ベーカリー製品 カスター 菓子類 肉製品 加工調理済み食品
6	溶解性／熱安定性	pH値、ミネラル量、熱処理の変化などの条件の変化や、様々な加工条件や濃度においても溶体を保つ能力。	還元牛乳、UHT牛乳、殺菌牛乳 スープおよびソース 乳児用・臨床用栄養食 コーヒー用クリーム スポーツ飲料 たんぱく質強化果汁飲料
7	濁度／透明度	飲料の懸濁から酸度の高いスポーツ飲料の透明性まで、視覚的特徴をもたらす。	強化乳飲料 たんぱく質スポーツ飲料 チョコレート 菓子類／キャラメル ソース ドレッシング
8	香味／発色	通常はメイラード反応と関連しており、均一な焦げ目やキャラメル風味などの特徴をもたらす。	菓子類／キャラメル ソフトスイーツや菓子のコーティング 焼き菓子 (生地、ケーキ、マフィン、クラッカー) ソース／スープ

従来より、たんぱく質のゲル化は加熱によって行われてきましたが、その他の物理的プロセスや化学的プロセスを用いることもできます。<sup>47</sup> 加圧も物理的プロセスの1つです。化学的な方法としては酸性化や酵素的架橋、塩の利用なども挙げられます。これらの方針によりたんぱく質構造の修飾と溶液中のたんぱく質間相互作用、およびたんぱく質とその他の成分との相互作用が起こります。各ゲルの特徴はたんぱく質の濃度や、pH値、温度、イオン強度および／または圧力によって起こった変性の度合いなどの要因に左右されます。<sup>48</sup> たんぱく質間相互作用とたんぱく質と溶液の相互作用もたんぱく質のゲル化に影響を与える要因に左右され、ゲルのタイプや特性に影響を与えることが報告されています。<sup>49,51</sup>

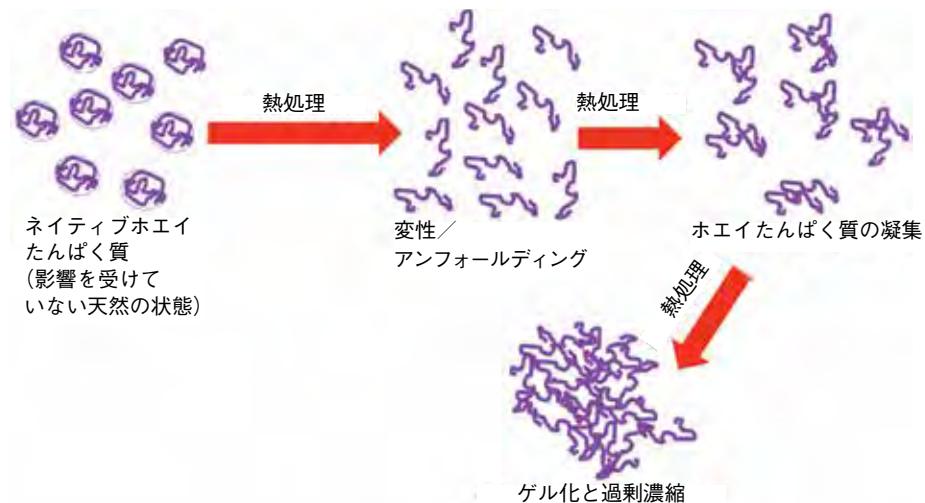


図8. 過酷な熱処理による影響 — ホエイたんぱく質溶液のUHTやレトルト殺菌など。ホエイたんぱく質溶液の過酷な熱処理はホエイたんぱく質の変性、凝集、ゲル化、あるいは過度な濃縮に繋がる可能性がある。

#### 熱処理とミルクたんぱく質：機能性への効果

熱処理は乳製品産業で製品を微生物学的に安全なものとし、保存可能期間を長くし、乳製品の機能特性を修飾するために用いられている不可欠な単位操作です。<sup>17,14,44,50,51</sup> 表6に乳製品の加工に用いられるもっとも一般的な熱処理をまとめました。<sup>17,14</sup>

表6：牛乳と乳製品の商用加工に用いられている一般的な熱処理<sup>17,14</sup>

熱処理	温度／時間の条件
サーミゼーション	65° C で 30 秒
低温殺菌	72° C で 15 秒
粉乳製造のための予備加工処理	80 ~ 120° C で 2 ~ 10 分
ヨーグルト製造のための予備加熱処理	90° C で 5 ~ 10 分
UHT 殺菌	140° C で 3 ~ 20 秒
殺菌／レトルト加工 (パッチ／コンテナ)	110 ~ 120° C で 5 ~ 20 分

これらの熱処理はすべて様々なレベルのたんぱく質の変性、凝集、および相互作用につながります。<sup>50,52,53</sup> 免疫グロブリン、ラクトフェリン、BSAはサーマル加工に敏感に反応します。これらのたんぱく質の部分的な変性は商業的に行われる低温殺菌により引き起こされます。 $\beta$ -LGと $\alpha$ -LAは粉乳の製造に用いられる予備加熱処理や、UHT処理において大幅に変化します。熱処理の程度によって、ジスルフィド結合による高分子量凝集、あるいは疎水性結合凝集を様々な割合で引き起こします。また、 $\beta$ -LG、 $\alpha$ -LA、およびBSAの二量体と三量体をはじめとする可溶性の凝集体の形成に加え、カゼイン ( $\kappa$ -CNと $\alpha_{s2}$ -CN)とホエイたんぱく質のジスルフィド結合複合体が形成されます。<sup>50,54,52</sup> このようなプロセスにより引き起こされる相互作用は特定の機能特性と関連付けることができます。

カゼインとホエイたんぱく質の双方を含んでいる牛乳を加熱すると、ホエイたんぱく質がカゼインミセルと相互作用を起こし、カゼイン-ホエイたんぱく質複合体を形成します（図9）<sup>55,56,52,53</sup> ほとんどの研究において、分子間ジスルフィド結合の形成につながるチオール／ジスルフィド交換反応が、 $\beta$ -LG の加熱凝集と、カゼインをはじめとする他のたんぱく質との相互作用において重要な役割を果たすと結論付けられています。また、分子間共有結合（ジスルフィド）に加え、非共有相互作用（疎水性相互反応、あるいはイオン相互反応など）による凝集もミルクたんぱく質の加熱相互作用に関与しているとも報告されています。 $\beta$ -LG と  $\kappa$ -CN の相互作用は多くの乳製品の機能性にとって非常に重要であると考えられています。 $\beta$ -LG の天然構造にある 2 つのジスルフィド架橋と 1 つの遊離スルフヒドリル基が、 $\kappa$ -CN との加熱相互反応において重要な役割を果たしています（図9）。<sup>57,14,58,59,52</sup>

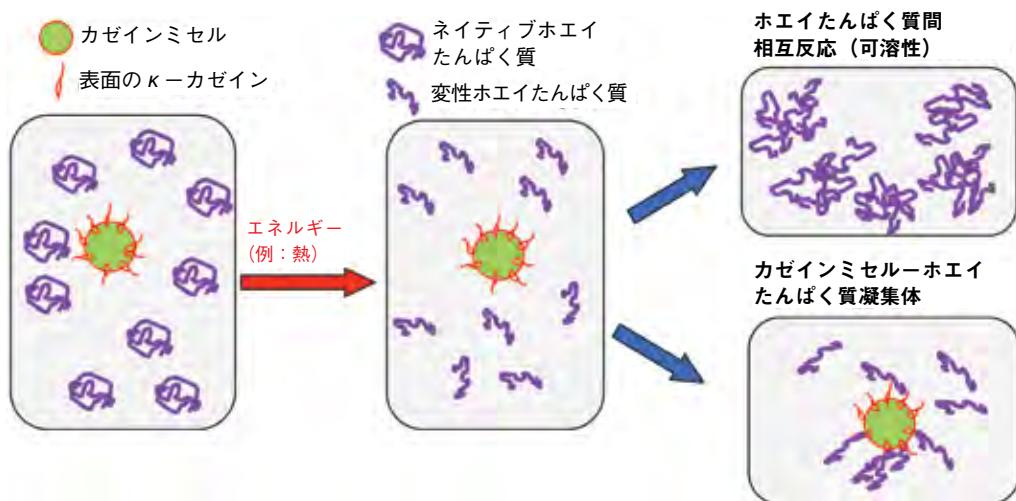


図9：熱処理した牛乳システムにおいて起こりうるたんぱく質の相互作用

加熱により引き起こされるミルクたんぱく質の機能性の有益な効果としてよく知られているのは、ホエイたんぱく質の加熱ゲル化、<sup>3</sup> 粉乳、濃縮乳、殺菌乳製品の熱安定性を高めるための予備加熱処理、<sup>60,61</sup> 粉乳の機能特性の向上、<sup>62</sup> そしてヨーグルトのテクスチャーの向上<sup>63</sup> などがあります。このトピックについては詳細なレビューが行われています。<sup>52</sup>

#### 熱処理とホエイたんぱく質：機能性への効果

加熱によりホエイたんぱく質は変性し、システム内の他のホエイたんぱく質との相互作用により可溶性の凝集体あるいは不溶性の凝集体（ゲル）を形成します（用語の解説については表5を参照）。<sup>64,65,66,67,68,69,70,46,71,72,73</sup> 特に、ホエイたんぱく質の種類によって、コンフォーメーション変化、結合パターンの変化、ジスルフィド結合交換を通じたたんぱく質間凝集体の形成や疎水性会合の変化の点で、熱処理に異なる反応を示します。個々のホエイたんぱく質の変性挙動には明確な違いがあります。これはホエイたんぱく質の種類によって、熱転移温度が異なるためです（表7）。ホエイたんぱく質システムは不均質なものであり、個々のたんぱく質が熱に対して異なる反応を示すため、総ホエイたんぱく質の熱変性と凝集は構成たんぱく質の集団的な反応を反映したものとなります。<sup>74</sup>

表7：ホエイたんぱく質の熱変性温度とエンタルピー<sup>25,75,17</sup>

ホエイたんぱく質	TD (°C)	TTR (°C)	ΔH (kJ/Mol)
$\beta$ -LG	78	83	311
$\alpha$ -LA	62	68	253
BSA	64	70	803
Ig	72	89	500

TD = 初期変性温度；TTR = 示差走査熱量測定のピーク最大値における温度； $\Delta H$  = 変性のエンタルピー

## たんぱく質の機能性に関する熱処理の商業的用途の例

### 1. ヨーグルト

ヨーグルト製造に使用する牛乳には予備加熱（例：90°Cで10分）が一般的に行われており、これによりヨーグルトのテクスチャー、微細構造、および流動学的特性が向上すると報告されています。<sup>76,77</sup> スルフヒドリルージスルフィド交換による $\beta$ -LGと $\kappa$ -CNの加熱相互作用がヨーグルトのテクスチャーの向上の中核をなしていると考えられています。<sup>14,52</sup> また、予備加熱乳から製造されたヨーグルトは加熱していない牛乳から作られたヨーグルトと比較して、ゲル化におけるpH値が高く、遙かに硬いゲルをもたらします。<sup>76,63,56,78</sup>

### 2. 粉乳

粉乳の製造においては、特定の機能特性を持った粉乳を製造する目的で、牛乳に対して様々な予備加熱が行われます。脱脂粉乳には大きく分けて低温、中温、高温粉乳があります。この分類は通常、粉乳中の未変性ホエイたんぱく質の量を示すホエイたんぱく質態窒素含有量 (WPNI)に基づいています。これは粉乳製造の段階、特に予備加熱、蒸発および乾燥の段階で用いられた特定の熱処理の結果生じたホエイたんぱく質の変性に関連しています。<sup>51</sup> 変性ホエイたんぱく質とカゼインミセルの相互作用は最終的に粉乳の機能性に影響します。これらのたんぱく質相互作用は蒸発や乾燥などの追加加工処理の段階におけるカゼインミセルの挙動にも影響します。<sup>79</sup> 蒸発処理の段階ではカゼインミセルのサイズは主にミセルの凝集、あるいはホエイたんぱく質とミセルの会合により大きくなります。

高たんぱく質粉乳の製造においては、乾燥処理前の限外濾過、特に透析濾過による牛乳の濃縮が膠質状リン酸カルシウムの溶解を引き起こし、その結果、カゼインミセル構造の弛緩やカゼインミセルの膨張が起こる可能性があります。濃度を上げることによって、ミセル構造が完全なミセルから膨張し拡散したミセルへと段階的に崩壊し、最終的に小さなミセル構造の断片となります。カゼインミセルのこのような変化により、牛乳システムは噴霧乾燥の段階において更なるたんぱく質間相互作用を起こしやすくなり、その結果、原料の機能性に影響を与えます。<sup>79,80,81</sup>

### ミルクたんぱく質の機能特性の非加熱修飾

粘性、ゲル化、乳化など、ミルクたんぱく質が持つ安定特性と機能特性は、ミルクたんぱく質の物理化学的修飾（例：熱の利用、剪断、高圧処理、超音波処理、pH値、イオン強度、電荷操作）を通じて、または酵素修飾（例：たんぱく質のトランスグルタミナーゼ (TGase) 架橋結合）を通じて、あるいは化学的修飾（例：サクシニル化、ラクトシル化、リガンド結合）を通じて変化させることができます。このようなアプローチは顧客の要望に応えるミルクたんぱく質の機能特性を実現するためには用いることができます。

TGase を通じたミルクたんぱく質の酵素的架橋と修飾により、ゲル強度、保水能力<sup>83</sup>、酸性ゲルの粘性の向上をはじめとするミルクたんぱく質の機能特性<sup>82</sup>を向上させることができます。これにより増粘剤<sup>86</sup>を添加することなく低脂肪ヨーグルトを製造できる可能性がもたらされ、温度変化あるいは物理的影響により起こる乳清分離やシネレシスを回避することができます。ミルクたんぱく質の TGase 処理により、ミルクたんぱく質の熱安定性を高めることもできます。<sup>87,88,89</sup> 酵素修飾もミルクたんぱく質の表面活性と乳化特性を向上させることができます。<sup>90</sup>

サクシニル化<sup>91</sup>など、ミルクたんぱく質を化学的に修飾することで、正味の正電荷を持ったアニオン性天然たんぱく質とたんぱく質導体の静電的に安定した複合体の形成を通じて、新たな製品を開発することができる可能性があります。段階的転移を通じて薄膜の層を形成するカゼイン酸ナトリウムサブミセルのミクロ層化は食品エマルジョンの安定性において重要な役割を果たす可能性があります。<sup>92,90</sup>

昨今、ミルクたんぱく質の二酸化炭素処理は、特定のニーズに合わせたコクとテクスチャー、風味を持ったヨーグルトの製造に用いる牛乳のミセルカゼインと非ミセルカゼインの比率を最適化するために使われています。この方法はMPCとミセルカゼイン濃縮物 (MCC) の機能特性（可溶性、乳化作用、熱安定性）を高めるためにも用いられています。<sup>93</sup>

もう1つのアプローチとしては、食品の保存や、食品の機能特性を変化させることをはじめとする、食品の様々な側面の修飾を行うための高圧加工 (HPP) の適用が挙げられます。<sup>94,95,96,97,98</sup> この方法はたんぱく質修飾の物理的ツールとして報告されており、そのため、修飾されたテクスチャーと機能特性を持つ新たな乳製品を製造できる可能性があります。

微生物学的に安全で、栄養価が高く、クリーンラベルで、「新鮮そう」で、十分な保存可能期間を持った食品に対する消費者からの需要の高まりを背景に、HPP は食品の加工と保存に取り入れられるようになってきています。<sup>99,94,95,96</sup> HPP はたんぱく質の天然構造を安定させる結合間の繊細な均衡を変化させることでたんぱく質の変性、凝集、ゲル化を起こします。<sup>100,101,102,103,104</sup> インパクトは熱によるものとは異なり、たんぱく質の種類、pH 値、イオン強度、用いられた圧力と加圧温度、加圧処理の時間によって変化します。<sup>105,102,106,107</sup> 不安定化は、凝集挙動、ホエイたんぱく質のゲル生成特性、物理特性、流動学的特性、微細構造特性などの圧力誘導による特性に影響を与える可能性があります。<sup>108,109,110,111</sup> HPP がミルクたんぱく質にもたらす効果について総合的にまとめた章をレビューすることができます。<sup>53,112,51,113</sup>

食品や乳製品の用途における新たな技術として超音波処理があります。超音波とは、人間が聞き取ることのできる周波数を超える音波を指しています (>18kHz)。超音波が液体を通り抜けると、気泡合体と調整拡散によって液体中の気泡核が成長します。気泡が臨界サイズに達すると、断熱に近い条件下 (熱の利得も損失もなし) で気泡が壊れ、周囲の液体に強い剪断力、乱流、マイクロストリーミングをはじめとする極限の状態を生み出します。これは音響キャビテーション<sup>114</sup> と呼ばれており、これらの物理的効果が食品の加工に用いられています。超音波により引き起こされる物理的効果は乳製品の加工において用途が拡大しています。その例としては、ホエイの限外濾過の強化<sup>115</sup>、製品の粘性の低下<sup>116</sup>、乳脂肪球の均質化、発酵特性の変化<sup>117</sup>、超音波によるラクトースの結晶化<sup>118</sup>、ブロック状のチーズのカッティング<sup>119</sup> が挙げられます。

超音波システムを通じた効果的かつ大型の連続流の有用性が高まっていることにより、これらのプロセスは研究室にとどまらず、欧州や米国における商業的な事業において利用することが可能になりました。<sup>120</sup> 超音波加工は重要な食品加工技術として定着しつつあり、カゼインとホエイの双方の乳由来たんぱく質の機能を活かした用途を改良する大きな可能性を持っています。大きな商業的スケールへの展開と高い資本投資効果の可能性を持っているのです。<sup>120</sup>

## 結論

牛乳、特にミルクたんぱく質は自然が作り上げた魅力的で複雑なシステムです。栄養価が高く、美味しい多くの食品や飲料に加工することができます。フードサイエンスと技術の発展により、優れた栄養特性と機能特性をもたらすミルクたんぱく質の可能性を食品の開発とマーケティングに活かすこと方法を学び続けています。今日、食品の消費者はますます洞察力を高め、シンプルで明確な原料表示がされた新たな製品、そして改良された風味とテクスチャーを求めています。牛乳、そして特に乳製品原料はフードサイエンティストが顧客の期待に応え、期待を超える可能性を広げ続けるユニークな位置づけに置かれています。

乳製品原料のリサーチについてのさらなる情報は、ThinkUSAdairy.org または USDAiry.com でご覧いただけます。乳製品原料を使用した新たな製品、または改良製品については Dairy Technical Support (techsupport@ThinkUSAdairy.org) にお問い合わせください。

## 参考文献

- 1 Privalov PL, Gill SJ. Stability of protein structure and hydrophobic interactions. *Adv Protein Chem.* 1988;39:191-234.
- 2 Paulsson M. *Thermal denaturation and gelation of whey proteins and their adsorption at the air/water interface*. Lund: Lund University, Sweden; 1990.
- 3 Singh H, Havea P. Thermal Denaturation, Aggregation and Gelation of Whey Proteins. In: Fox PF, McSweeney PFH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:1257-1283.
- 4 Nishiura J. Lecture 2: Structures and Properties of Biological Molecules: Proteins. Retrieved from Brooklyn College Biology 4: [http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/3d\\_prot.htm](http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/3d_prot.htm).
- 5 Considine T, Patel HA, Anema SG, Singh H, Creamer LK. Interactions of milk proteins during heat and high hydrostatic pressure treatments — A Review. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2007;8(1):1-23.
- 6 Walstra P, Jenness. *R. Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley & Sons, New York; 1984.
- 7 Fox PF. Milk Proteins: General and Historical Aspects. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:1-48.
- 8 O'Mahony JA, Fox PF. Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. In: McSweeney PLH, Fox PF, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1A, Proteins: Basic Aspects*. 4th ed. New York, NY: Springer Science+Business Media; 2013:43-85.
- 9 Huppertz T. Chemistry of caseins. In: McSweeney PLH, Fox PF, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1A: Proteins: Basic Aspects*. 4th ed. New York, NY: Springer Science+Business Media; 2013:135-160.
- 10 Swaisgood HE. Chemistry of the caseins. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:139-201.
- 11 de Kruif CG, Holt C. Casein Micelle Structure, Functions and Interactions. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:233-276.
- 12 Fox PF. Heat-induced coagulation of milk. In: Fox PF, ed. *Developments in Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. London, England: Applied Science Publishers; 1982:189-228.
- 13 Singh H, Creamer LK. Heat stability of milk. In: Fox PF, ed. *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins*. 2nd ed. London, England: Elsevier Applied Science Publishers; 1992:621-656.
- 14 Singh H. Heat-induced changes in casein, including interactions with whey proteins. In: Fox PF, ed. *Heat-induced Changes in Milk*, 2nd ed. Brussels, Belgium: International Dairy Federation; 1995:86-104.
- 15 Huppertz T, Smiddy MA, de Kruif CG. Biocompatible Micro-Gel Particles from Cross-Linked Casein Micelles. *Biomacromolecules.* 2007;8(4):1300-1305.
- 16 Donovan M, Mulvihill DM. Thermal Denaturation and Aggregation of Whey Proteins. *Ir J Food Sci Tech.* 1987;11(1):87-100.
- 17 Jelen P, Rattray W. Thermal denaturation of whey proteins. In: Fox PF, ed. *Heat-induced changes in milk*. 2nd ed. Brussels, Belgium: International Dairy Federation; 1995:66-85.
- 18 Mulvihill DM, Donovan M. Whey Proteins and Their Thermal Denaturation - A Review. *Ir J Food Sci Technol.* 1987;11:43-47.
- 19 Pearce RJ. Thermal denaturation of whey protein. *Int Dairy Fed Bull.* 1989;238:17-23.
- 20 Sawyer L.  $\beta$ -Lactoglobulin. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:319-386.
- 21 de Wit JN. Thermal Stability and Functionality of Whey Proteins. *J Dairy Sci.* 1990;73(12):3602-3612.
- 22 Mulvihill DM. Production, functional properties and utilization of milk protein products. In: Fox PF, ed. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1, Proteins*. London, England: Elsevier Applied Science; 1992:369-404.
- 23 Morr CV, Foegeding EA. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates: a status report. *Food Technol.* 1990;44(8):100-112.
- 24 Huffman LM. Processing of whey for use as a food ingredient. *Food Technol.* 1996;50(2):49-52.
- 25 de Wit JN. Functional properties of whey proteins in food systems. *Neth Milk Dairy J.* 1984;38:71-89.
- 26 de Wit JN. *The use of whey protein products. A review*. Ede, Neth: NIZO; 1989.
- 27 Messens W, Van Camp J, Huyghebaert A. The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends Food Sci Technol.* 1997;8(4):107-112.
- 28 Phillips LG, Whitehead DM, Kinsella J. Protein Gelation. In: Phillips LG, Taylor SL, eds. *Structure—Function Properties of Food Proteins*. San Diego, CA: Academic Press, Inc.; 1994:179-204.
- 29 Livney YD. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Curr Op Colloid Interface Sci.* 2010;15(102):73-83.
- 30 Sikorski ZE. *Chemical and functional properties of food components*. 2nd ed. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, Inc.; 1997:119-160.
- 31 Kinsella JE, Rector DJ, Phillips LG. Physicochemical properties of proteins: Texturization via gelation, glass and film formation. In: Yada RY, Jackman RL, Smith JL, eds. *Protein Structure-Function Relationship in Foods*. New York, NY: Springer Science+Business Media; 1994:1-21.
- 32 Zayas JF. *Functionality of Proteins in Foods*. Berlin: Springer-Verlag; 1997:310-365.
- 33 Foegeding EA, Bowland EL, Harding CC. Factors that determine the fracture properties and microstructure of globular protein gels. *Food Hydrocolloids.* 1995;9(4):237-249.
- 34 Bylund G. *Dairy processing handbook*. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB; 1995.
- 35 Mulvihill DM, Kinsella JE. Gelation of  $\beta$ -Lactoglobulin: Effects of Sodium Chloride and Calcium Chloride on the Rheological and Structural Properties of Gels. *J Food Sci.* 1988;53(1):231-236.
- 36 Huppertz T, Patel H. Advances in Milk Protein Ingredients. In: Ghosh D, Das S, Debasis B, Smart RB, eds. *Innovation in Healthy and Functional Foods*. London, England: CRC Press; 2012:363-386.
- 37 Morr CV. Functional properties of milk proteins and their use as food ingredients. In: Fox PF, ed. *Development in Dairy Chemistry*. London, England: Applied Science Publishers; 1982:375-379.
- 38 DairyGood website. [dairygood.org](http://dairygood.org). Accessed June 24, 2015.
- 39 Canadian Dairy Commission website. <http://www.milkingredients.ca/>. Accessed June 24, 2015.
- 40 Patel H. Prepared Food Application of Milk Powders and Dairy Ingredients. In: Lagrange V, ed. *Reference Manual for U.S. Milk Powders: 2015 Revised Edition*. Arlington, VA: US Dairy Export Council; 2015.
- 41 Burrington KJ, Agrawal S. *Technical Report: Whey Protein Heat Stability*. Arlington, VA: US Dairy Export Council; 2012.
- 42 Singh H. Heat stability of milk. *Int J Dairy Technol.* 2004;57(2-3):111-119.
- 43 Singh H, Fox PF. Heat stability of milk: pH-dependent dissociation of micellar K casein on heating milk at ultra high temperatures. *J Dairy Res.* 1985;52(4):529-538.
- 44 Patel HA, Singh H, Anema SG, Creamer LK. Effects of Heat and High Hydrostatic Pressure Treatments on Disulfide Bonding Interchanges among the Proteins in Skim Milk. *J Agric Food Chem.* 2006;54(9):3409-3420.
- 45 Havea P, Singh H, Creamer LK, Campanella OH. Electrophoretic characterization of the protein products formed during heat treatment of whey protein concentrate solutions. *J Dairy Res.* 1998;65(1):79-91.
- 46 Havea P, Singh H, Creamer LK. Heat-induced aggregation of whey proteins: comparison of cheese WPC with acid WPC and relevance of mineral composition. *J Agric Food Chem.* 2002;50(16):4674-4681.
- 47 Aguilera JM. Gelation of whey proteins. *Food Technol.* 1995;49(10):83-89.

- <sup>48</sup> Totosaus A, Montejano JG, Salazar JA, Guerrero I. A review of physical and chemical protein-gel induction. *Int J Food Sci Tech.* 2002;37(6):589-601.
- <sup>49</sup> Hermansson, AM. Aggregation and denaturation involved in gel formation. In: Pour-El A, ed. *Functionality and Protein Structure*. ACS Symposium Series 92. Washington, DC: American Chemical Society; 1979:81-103.
- <sup>50</sup> Patel HA, Anema SG, Holroyd SE, Singh H, Creamer LK. Methods to determine denaturation and aggregation of proteins in low-, medium- and high-heat skim milk powders. *Lait.* 2007;87(4-5):251-268.
- <sup>51</sup> Patel HA, Carroll T, Kelly AL. Nonthermal Preservation Technologies for Dairy Applications. In: Chandan RC, Kilara A, Shah NP, eds. *Dairy Processing & Quality Assurance*. Ames, IA: Wiley-Blackwell; 2008:465-482.
- <sup>52</sup> Anema SG. The whey proteins in milk: thermal denaturation, physical interactions and effects on functional properties of milk. In: Thompson A, Boland M, Harjinder S, eds. *Milk Proteins: From Expression to Food*. 1st ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc.; 2009:239-281.
- <sup>53</sup> Patel HA, Creamer LK. High pressure-induced interactions involving whey proteins. In: Thompson A, Boland M, Singh H, eds. *Milk Proteins: From Expression to Food*, 1st ed. Food Science and Technology: International Series. New York, NY: Elsevier Inc.; 2009:205-227.
- <sup>54</sup> Considine T, Patel HA, Singh H, Creamer LK. Influence of binding of conjugated linoleic acid and myristic acid on the heat- and pressure-induced unfolding and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin B. *Food Chem.* 2007;102(4):1270-1280.
- <sup>55</sup> Anema SG, Li Y. Further Studies on the Heat-induced, pH-dependent Dissociation of Casein from the Micelles in Reconstituted Skim Milk. *Lebensm Wiss Technol.* 2000;33 (5):335-343.
- <sup>56</sup> Anema SG, Li Y. Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. *J Dairy Res.* 2003;70(1):73-83.
- <sup>57</sup> Jang HD, Swaisgood HE. Characteristics of the interaction of calcium with casein submicelles as determined by analytical affinity chromatography. *Arch Biochem Biophys.* 1990;283(2):318-325.
- <sup>58</sup> Corredig M, Dalglish DG. The mechanisms of the heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk - effect of protein concentration at pH 6.75 and 8.05. *Int Dairy J.* 1999;9(3):233-236.
- <sup>59</sup> Cho Y, Singh H, Creamer LK. Heat-induced interactions of  $\beta$ -lactoglobulin A and  $\kappa$  casein B in a model system. *J Dairy Res.* 2003;70(1):61-71.
- <sup>60</sup> O'Connell JE, Fox PF. Heat-Induced Coagulation of Milk. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:879-945.
- <sup>61</sup> Nieuwenhuijse JA, van Boekel MAJS. Protein Stability in Sterilised Milk and Milk Products. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:947-974.
- <sup>62</sup> Kelly AL, O'Connell JE, Fox PF. Manufacture and Properties of Milk Powders. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:1027-1061.
- <sup>63</sup> Lucey JA, Singh H. Acid Coagulation of Milk. In: Fox PF, McSweeney PLH, eds. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. 3rd ed. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003:1001-1026.
- <sup>64</sup> McSwiney M, Singh H, Campanella OH. Thermal aggregation and gelation of bovine  $\beta$  lactoglobulin. *Food Hydrocolloids.* 1994;8(5):441-453.
- <sup>65</sup> McSwiney M, Singh H, Campanella OH, Creamer LK. Thermal gelation and denaturation of bovine  $\beta$ -lactoglobulins A and B. *J Dairy Res.* 1994;61(2):221-232.
- <sup>66</sup> Gezimati J, Creamer LK, Singh H. Heat-induced Interactions and Gelation of Mixtures of  $\beta$ -Lactoglobulin and  $\alpha$ -Lactalbumin. *J Agric Food Chem.* 1997;45(4):1130-1136.
- <sup>67</sup> Prabakaran S, Damodaran S. Thermal Unfolding of  $\beta$ -lactoglobulin: Characterization of Initial Unfolding Events Responsible for Heat-Induced Aggregation. *J Agric Food Chem.* 1997;45(11):4303-4308.
- <sup>68</sup> Manderson GA, Hardman MJ, Creamer LK. Effect of Heat Treatment on the Conformation and Aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin A, B, and C. *J Agric Food Chem.* 1998;46(12):5052-5061.
- <sup>69</sup> Manderson GA, Creamer LK, Hardman MJ. Effect of heat treatment on the circular dichroism spectra of bovine  $\beta$ -lactoglobulin A, B, and C. *J Agric Food Chem.* 1999;47(11):4557-4567.
- <sup>70</sup> Havea P, Singh H, Creamer LK. Characterization of heat-induced aggregates of  $\beta$  lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin and bovine serum albumin in a whey protein concentrate environment. *J Dairy Res.* 2001;68(3):483-497.
- <sup>71</sup> Schokker EP, Singh H, Pinder DN, Norris GE, Creamer LK. Characterization of intermediates formed during heat-induced aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin AB at neutral pH. *Int Dairy J.* 1999;9(11):791-800.
- <sup>72</sup> Schokker EP, Singh H, Creamer LK. Heat-induced aggregation of  $\beta$  lactoglobulin A and B with  $\alpha$ -lactalbumin. *Int Dairy J.* 2000;10(12):843-853.
- <sup>73</sup> Hong Y-H, Creamer LK. Changed protein structures of bovine  $\beta$  lactoglobulin B and  $\alpha$ -lactalbumin as a consequence of heat treatment. *Int Dairy J.* 2002;12(4):345-359.
- <sup>74</sup> de Wit JN, Klarenbeek G. Effects of Various Heat Treatments on Structure and Solubility of Whey Proteins. *J Dairy Sci.* 1984;67(11):2701-2710.
- <sup>75</sup> Kinsella JE, Whitehead DM. Proteins in Whey: Chemical, Physical, and Functional Properties. *Adv Food Nutr Res.* 1989;(33):343-438.
- <sup>76</sup> Lucey JA, Singh H. Formation and physical properties of acid gels: a review. *Food Res Int.* 1998;30(7):529-542.
- <sup>77</sup> Tamime AY, Robinson RK. *Yoghurt: Science and Technology*. 2nd ed. Boca Raton, FL: Woodhead Publishing Ltd. and CRC Press LLC; 1999.
- <sup>78</sup> Anema SG, Li Y. Effect of pH on the Association of Denatured Whey Proteins with Casein Micelles in Heated Reconstituted Skim Milk. *J Agric Food Chem.* 2003;51(6):1640-1646.
- <sup>79</sup> Singh H. Interactions of milk proteins during the manufacture of milk powders. *Lait.* 2007;87(4-5):413-423.
- <sup>80</sup> Patel H, Huppertz T. Effects of High-pressure Processing on Structure and Interactions of Milk Proteins. In: *Milk Proteins: From Expression to Food*. 2nd ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc.; 2014:243-267.
- <sup>81</sup> Patel H, Patel S. *Technical Report: Milk Protein Concentrates: Manufacturing and Applications*. Arlington, VA: US Dairy Export Council; 2014.
- <sup>82</sup> Nonaka M, Tanaka H, Okiyama A, et al. Polymerization of Several Proteins by  $Ca^{2+}$ -Independent Transglutaminase Derived from Microorganisms. *Agric Biol Chem.* 1989;53(10):2619-2623.
- <sup>83</sup> Kuraishi C, Yamazaki K, Susa Y. Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *Food Rev Int.* 2001;17(2):221-246.
- <sup>84</sup> Faergemand M, Sorensen MV, Jorgensen U, Budolfsen G, Qvist KB. Transglutaminase: effect on instrumental and sensory texture of set style yoghurt. *Milchwissenschaft.* 1999;54:563-566.
- <sup>85</sup> Bonisch MP, Huss M, Weit, K, Kulozik U. Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *Int Dairy J.* 2007;17(11):1360-1371.
- <sup>86</sup> Yüksel Z, Erdem YK. The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt. *Int J Dairy Technol.* 2010;63(1):86-97.
- <sup>87</sup> O'Sullivan MM, Kelly AL, Fox PF. Effect of Transglutaminase on the Heat Stability of Milk: A Possible Mechanism. *J Dairy Sci.* 2002;85(1):1-7.
- <sup>88</sup> O'Sullivan MM, Kelly AL, Fox PF. Influence of transglutaminase treatment on some physico-chemical properties of milk. *J Dairy Res.* 2002;69(3):433-442.
- <sup>89</sup> Mounsey JS, O'Kennedy BT, Kelly PM. Influence of transglutaminase treatment on properties of micellar casein and products made therefrom. *Lait.* 2005;85:405-418.
- <sup>90</sup> Kralova I, Sjöblom J. Surfactants Used in Food Industry: A Review. *J Dispers Sci Technol.* 2009;30(9):1363-1383.
- <sup>91</sup> Ibel K, May RP, Kirschner K, Szadkowski H, Mascher E, Lundahl P. Protein-decorated micelle structure of sodium-dodecyl-sulfate--protein complexes as determined by neutron scattering. *Eur J Biochem.* 1990;190(2):311-318.
- <sup>92</sup> Dickinson E, Golding M, Povey M. Creaming and Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Caseinate. *J Colloid Interface Sci.* 1997;185(2):515-529.
- <sup>93</sup> Marella C, Salunke P, Biswas AC, Kommineni A, Metzger LE. Manufacture of modified milk protein concentrate utilizing injection of carbon dioxide. *J Dairy Sci.* 2014;98(6):3577-3589.

- <sup>94</sup> Datta N, Deeth HC. High pressure processing of milk and dairy products. *Aust J Dairy Technol*. 1999;54(1):41-48.
- <sup>95</sup> Datta N, Deeth HC. High pressure processing. In: Roginski H, Fuquay JW, Fox PF, eds. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. London, England: Academic Press; 2003:1327-1333.
- <sup>96</sup> Huppertz T, Kelly AL, Fox PF. Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *Int Dairy J*. 2002;12(7):561-572.
- <sup>97</sup> Trujillo AJ, Capellas M, Saldo J, Gervilla R, Guamis B. Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2002;3(4):295-307.
- <sup>98</sup> Claeys WL, Indrawati O, Van Loey AM, Hendrickx M. Review: are intrinsic TTIs for thermally processed milk applicable for high-pressure processing assessment? *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2003;4(1):1-14.
- <sup>99</sup> Balny C, Masson P. Effects of high pressure on proteins. *Food Rev Int*. 1993;9(4):611-628.
- <sup>100</sup> Balci AT, Wilbey RA. High pressure processing of milk - the first 100 years in the development of new technology. *Int J Dairy Technol*. 1999;52(4):149-155.
- <sup>101</sup> Tedford L-A, Kelly SM, Price NC, Schaschke CJ. Interactive Effects of Pressure, Temperature and Time on Molecular Structure of  $\beta$ -Lactoglobulin. *J Food Sci*. 1999;64(3):396-399.
- <sup>102</sup> Fertsch B, Müller M, Hinrichs J. Firmness of pressure-induced casein and whey protein gels modulated by holding time and rate of pressure release. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2003;4(2):143-150.
- <sup>103</sup> Patel HA, Singh H, Anema SG, Creamer LK. Effects of heat and high hydrostatic pressure treatments on the aggregation of whey proteins in whey protein concentrate solutions. *Food New Zealand*. 2004;4(3):29-35.
- <sup>104</sup> Patel H, Patel S. Major Characteristics of Milk Powders and Test Methods. In: Lagrange V, ed. *Reference Manual for U.S. Milk Powders: 2005 Revised Edition*. Arlington, VA: US Dairy Export Council; 2005.
- <sup>105</sup> Messens W, Van Camp J, Huyghebaert A. The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends Food Sci Technol*. 1997;8(4):107-112.
- <sup>106</sup> Huppertz T, Fox PF, Kelly AL. High pressure treatment of bovine milk: effects of casein micelles and whey proteins. *J Dairy Res*. 2004;71(1):97-106.
- <sup>107</sup> Huppertz T, Fox PF, Kelly AL. High pressure-induced denaturation of  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin in bovine milk and whey: a possible mechanism. *J Dairy Res*. 2004;71(4):489-495.
- <sup>108</sup> Walkenström P, Hermansson A-M. High-pressure treated mixed gels of gelatin and whey proteins. *Food Hydrocoll*. 1997;11(2):195-208.
- <sup>109</sup> Van Camp J, Feys G, Huyghebaert A. High Pressure Induced Gel Formation of Haemoglobin and Whey Proteins at Elevated Temperatures. *Lebensm Wiss Technol*. 1996;29(1-2):49-57.
- <sup>110</sup> Van Camp J, Messens W, Clément J, Huyghebaert A. Influence of pH and Calcium Chloride on the High-Pressure-Induced Aggregation of a Whey Protein Concentrate. *J Agric Food Chem*. 1997;45(5):1600-1607.
- <sup>111</sup> Arias M, López-Fandiño R, Olano A. Influence of pH on the effects of high pressure on milk proteins. *Milchwissenschaft*. 2000;55:191-194.
- <sup>112</sup> Patel HA, Huppertz T. Effects of High-pressure Processing on Structure and Interactions of Milk Proteins. In: *Milk Proteins: From Expression to Food*. 2nd ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc.; 2014:243-267.
- <sup>113</sup> Patel HA, Carroll T, Kelly AL. Nonthermal Preservation Technologies for Dairy Applications. In: Chandan R, ed. *Dairy Processing and Quality Assurance*. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2015.
- <sup>114</sup> Ashokkumar M, Mason TJ, Sonochemistry. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2007. doi:10.1002/0471238961.915141519211912.a01.pub2.
- <sup>115</sup> Muthukumar S, Kentish SE, Ashokkumar M, Stevens GW. Mechanisms for the ultrasonic enhancement of dairy whey ultrafiltration. *J Membrane Sci*. 2005;258(1-2):106-114.
- <sup>116</sup> Zisu B, Schleyer M, Chandrapala J. Applied ultrasound to reduce viscosity and control the rate of age thickening of concentrated skim milk. *Int Dairy J*. 2013;31(1):41-43.
- <sup>117</sup> Wu H, Hulbert GJ, Mount JR. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2008;1(3):211-218.
- <sup>118</sup> Zisu B, Sciberras M, Jayasena V, Weeks M, Palmer M, Dincer TD. Sonocrystallisation of lactose in concentrated whey. *Ultrasonics Sonochem*. 2014;21(6):2117-2121.
- <sup>119</sup> Arnold G, Leiteritz L, Zahn S, Rohm H. Ultrasonic cutting of cheese: Composition affects cutting work reduction and energy demand. *Int Dairy J*. 2009;19(5):314-320.
- <sup>120</sup> Patist A, Bates D. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2008;9(2):147-154.

## 目次

章	ページ
はじめに	1
たんぱく質の構造	2
たんぱく質の変性	3
ミルクたんぱく質：特定、構造、生理化学的性質	3
カゼイン	4
ホエイたんぱく質	5
ミルクたんぱく質の構造と機能の関係	6
ミルクたんぱく質の機能性	8
熱処理とミルクたんぱく質：機能性への効果	10
熱処理とホエイたんぱく質：機能性への効果	11
たんぱく質の機能性に関する熱処理の商業的用途の例	12
ミルクたんぱく質の機能特性の非加熱修飾	12
結論	13
参考文献	14