

缶詰ミルクコーヒーにおけるゲル状凝固物の発生

田邊 利裕, 青山 好男, 中西 律子*, 村井 恵子*

The Gel-Like Coagulation in the Canned Milk Coffee Products

Toshihiro Tanabe, Yoshio Aoyama,
Ritsuko Nakanishi* and Keiko Murai*

The gel-like coagulation occurred in canned milk coffee products. The characteristics of the beverage was high coffee extract content in milk coffee. Judging from the appearance, the coagulation was different from acid-coagulation of casein. The analytical data of the coagulation suggested that it was a combined substance of α - and β -casein with calcium. It was guessed that the casein micelle became unstable by generating the combination of κ -casein with β -lactoglobulin. We succeeded the reproduction of the coagulation in the test tube. We also observed the change in milk coffee in test tube during heat-sterilization using our retort with the peeping device. It was confirmed that the coagulation occurred at the initial stage in heat-sterilization process.

Key words : milk coffee, coagulation, milk protein, calcium, canned beverage.

缶詰ミルクコーヒーにおいて、凝固物や沈殿物が発生するという問題は、以前より種々のパターンが知られている。恐らく、最もよく知られている凝固物は、殺菌後のpH低下に伴うカゼインの等電点沈殿物であろう。その他にも、多糖類が核となって発生する沈殿物や、カルシウムが多量にあることにより発生するミルクタンパク質の凝固物などが知られており、さらにリン酸カルシウムのような無機物性の沈殿物の発生もあり得ると思われる。

ところで、缶詰ミルクコーヒー製品の近年の傾向の一つとして、コーヒー感をより強くするためか、コーヒー濃度を高くした製品が上市されるようになってきている。しかしながら、例えばコーヒーを Brix 1.8 というような濃い処方とすると、製品の殺菌後にゲル状の凝固物(Fig. 1)が発生する場合があります。ミルクコーヒーに対して適用できる濃度に上限があることが知られるようになってきた。このゲル状凝固物は、カゼイン等電点沈殿物と同じものと思われがちであったが、よく観察すると外観からも性状の異なるものであり、今までになかったタイプの凝固物のようであった。この凝固物は、飲用しても官能的にはほとんどわからないものではあるが、製品の外観において重大な問題となり得る。しかしながら、コーヒー濃度に制限を設ければとりあえず回避できたためか、その実体や防止手段など、あまり多くの研究がなされてこなかったようである。

そこで今回、このゲル状凝固物について詳細に調査することとし、最終的にその発生防止法を考案することを目標とした。本報では、まず、凝固物そのものが何であるのか、そしてその再現方法について検討した。その結果、 α -および β -カゼインがカルシウムと結合したものがその

* : 元研究所職員



Fig. 1 The gel-like coagulation in the canned milk coffee products

主成分であり、試験管レベルで十分に再現試験が実施可能であることを見出したため、その詳細を報告する。

実験方法

1. 凝固物に関する調査

1) 一般食品成分分析

サンプルとして、缶詰ミルクコーヒーにおいて凝固が発生したものについて、ステンレス製のふるいで濾した残渣（ゲル状凝固物）およびその上清液を使用した。また、対照として、凝固物が発生していない正常品も使用した。分析項目は、水分、粗タンパク質、粗脂肪、灰分で、一般食品成分分析法に準じた定法で実施した。

2) 元素分析

サンプルは、1) 項同様のものを使用した。

分析は、日立製作所に依頼し、走査電子顕微鏡-エネルギー分散形X線分析装置（SEMS-3500N-EMAX7000）により実施した。

3) SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

後述するが、一般食品成分分析結果で、凝固物がミルクタンパク質由来であることが示唆されたため、電気泳動法でさらに詳細に検討することとした。

缶詰ミルクコーヒーにおいて凝固が発生したものについて、遠心分離を行い（回転数及び時間は任意）、得られた沈殿物（最初の上清液は別途使用）を純水にて懸濁し再度遠心分離することによる洗浄を3回繰り返して、凝固物を得た。この凝固物を、任意の量の8 mol/l 尿素水溶液中に懸濁・溶解させ、適宜希釈し、2-メルカプトエタノールで還元処理したものをサンプルとした。

一方、最初の上清液について、クエン酸を適量添加し、等電点沈殿を発生させ、この沈殿物を上記同様に、遠心分離・洗浄・溶解・還元処理したのももサンプルとした（上清酸沈殿物）。

対照として、シグマ社製のミルクタンパク質標品（ α 、 β 、 κ -カゼイン、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン）、バイオラッド社製の分子量マーカーおよび牛乳（雪印乳業社製の成分無調整の UHT 殺菌乳）を使用した。

電気泳動法としては、市販の濃度勾配タイプのポリアクリルアミドゲル（アトー社製パジェル NPG520L：ゲル濃度5～20%）を使用し、アトー社のカタログに記載されている Laemmli 法により SDS 変性による方法で行い、CBB 染色によりタンパク質バンドを確認した。

2. 凝固物の再現試験

1) 材料と処方

コーヒー豆は、市販の焙煎されたブレンド豆を使用した。

コーヒーの抽出については、豆を抽出直前にセラミックミルにて粗挽きし、直径4 cmのガラスカラム内に80 gを量り入れ、任意の量のイオン交換水を沸騰させた湯を注ぎ入れ、攪拌後、吸引濾過（約10分間）し、おおよそ Brix 5 の抽出液約350 mlを得て、必要に応じてイオン交換水にて希釈して試験に供した。

牛乳は、雪印乳業社製の成分無調整の UHT 殺菌乳を使用した。

砂糖は、市販のグラニュー糖（メーカー不詳）を使用した。

乳化剤は、シヨ糖脂脂肪酸エステル(SE)P-1570(三菱化学フーズ社製)を使用した。

炭酸水素ナトリウム(重曹)は、和光純薬社製の食品添加物グレードのものを使用した。

ミルクコーヒーの処方は調合後の最終濃度として、コーヒー濃度 Brix 2、牛乳10%、砂糖6%、重曹0.2%、SE0.05%とした。なお、調合は攪拌のみで、ホモゲナイズまでは行わなかった。

2) 評価方法

容量約15 mlのガラス製ネジ口試験管に、ヘッドスペースがおおよそ1 ml残るよう、調合されたコーヒー液を充填し、ヘッドスペース部を窒素で置換しながら密封した。

この試験管サンプルを、レトルト殺菌釜ののぞき窓から見える位置へ試験管ラックに立てた状態で設置した。

殺菌処理は、熱水一定圧方式で行った。熱水のボイラータンク初期温度を90℃とし、カムアップタイムを20分設定で、殺菌温度を121℃とした。

レトルト殺菌釜ののぞき窓より、熱水温度の1℃上昇毎および121℃到達時以降は、30～60秒おきに写真撮影することで、凝固物の発生の様子を観察した。

結 果

1. 凝固物に関する調査

1) 一般食品成分分析

凝固物には、タンパク質が比較的多く含まれていることが認められた(Table 1).

Table 1 Contents of components

	%			
	Moisture	Protein	Lipids	Ash
Coagulation	90.0	2.01	0.52	0.53
Supernatant	91.6	0.54	0.31	0.44
Control	91.6	0.45	0.33	0.45

2) 元素分析

凝固物には、カルシウムとリンが特徴的に多く含まれていることが認められた(Fig. 2).

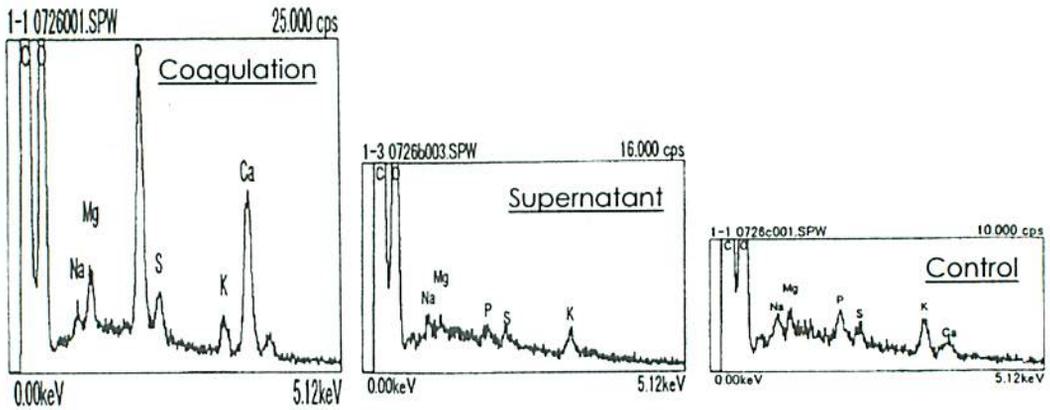


Fig. 2 Profiles of the elemental analysis

3) SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

代表的な結果を Fig. 3 に示す。

牛乳のバンドとミルクタンパク質標品との比較同定結果は、図右部注釈に示した通りであった。

これによれば、ゲル状凝固物では、 α -および β -カゼインのバンドが明瞭に認められるが、 κ -カゼインのバンドはほとんど認められなかった。一方、上清酸沈殿物では、 α -および β -カゼインのバンドも認められるが、特に κ -カゼインのバンドおよび乳清タンパク質である β -ラクトグロブリンのバンドまでもが明瞭に認められた。

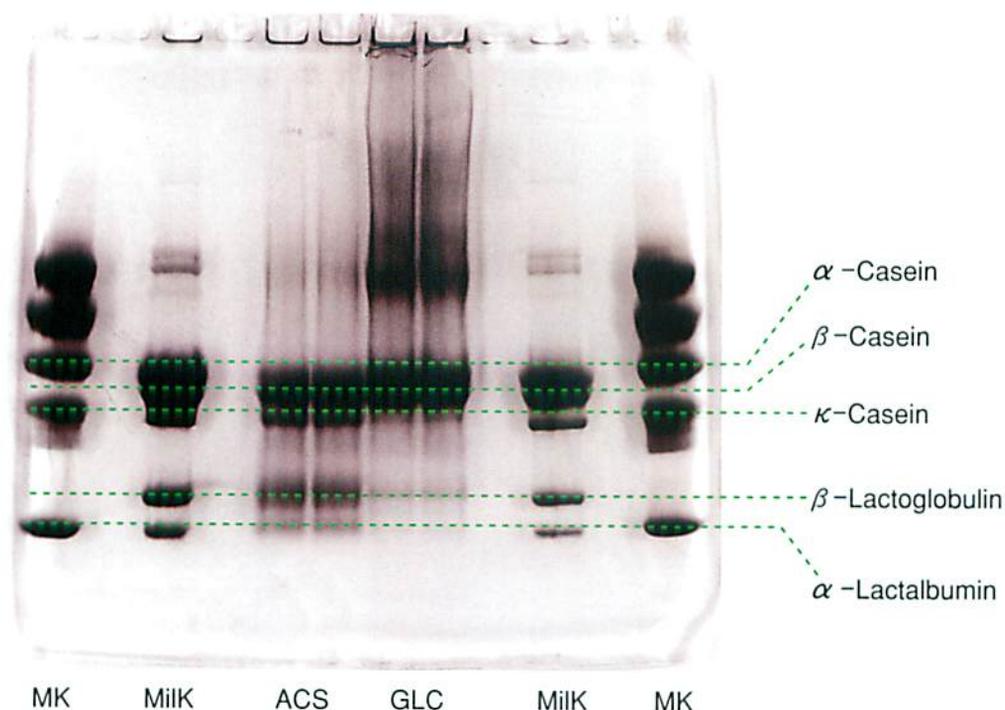


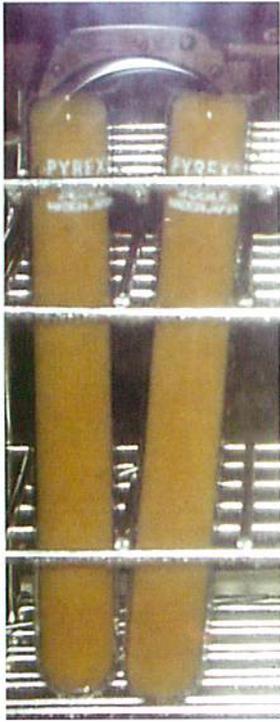
Fig. 3 The electrophoretic profile of coagulations and milk
 ACS : The acid coagulation from supernatant
 GLC : The gel-like coagulation
 MK : Molecular weight markers

2. 凝固物の再現試験

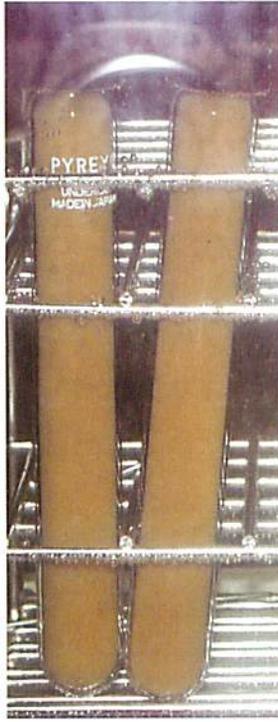
観察された結果の代表的なものを、Fig. 4 - 5 に示す。

凝固物が、121°C到達時頃から発生し始め、121°C - 5分頃にはほぼ全て出尽くすことがわかった。

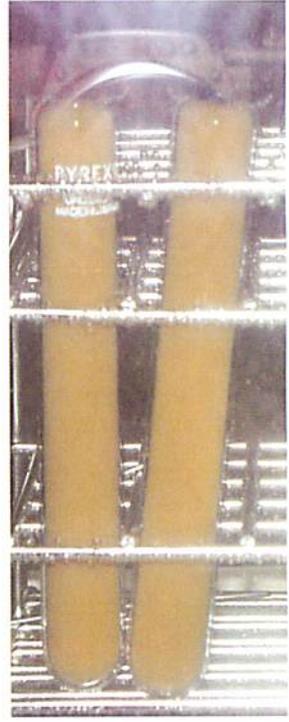
したがって、この試験により、実験室のテーブルテストでも凝固物を十分に再現させることができることが確認され、その発生タイミングは殺菌処理の比較的早い時期であることがわかった。



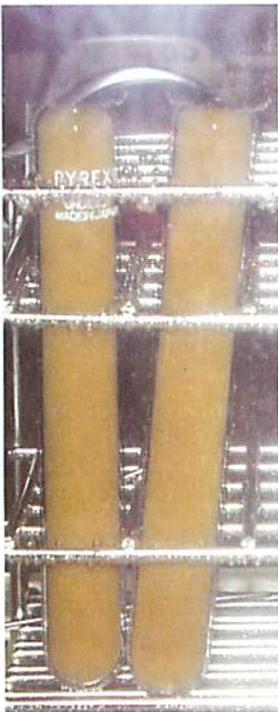
102°C



110°C



120°C



121°C - 0 min



121°C - 1 min



121°C - 2 min

Fig. 4 Changes in the milk coffee during retort sterilization process (1)

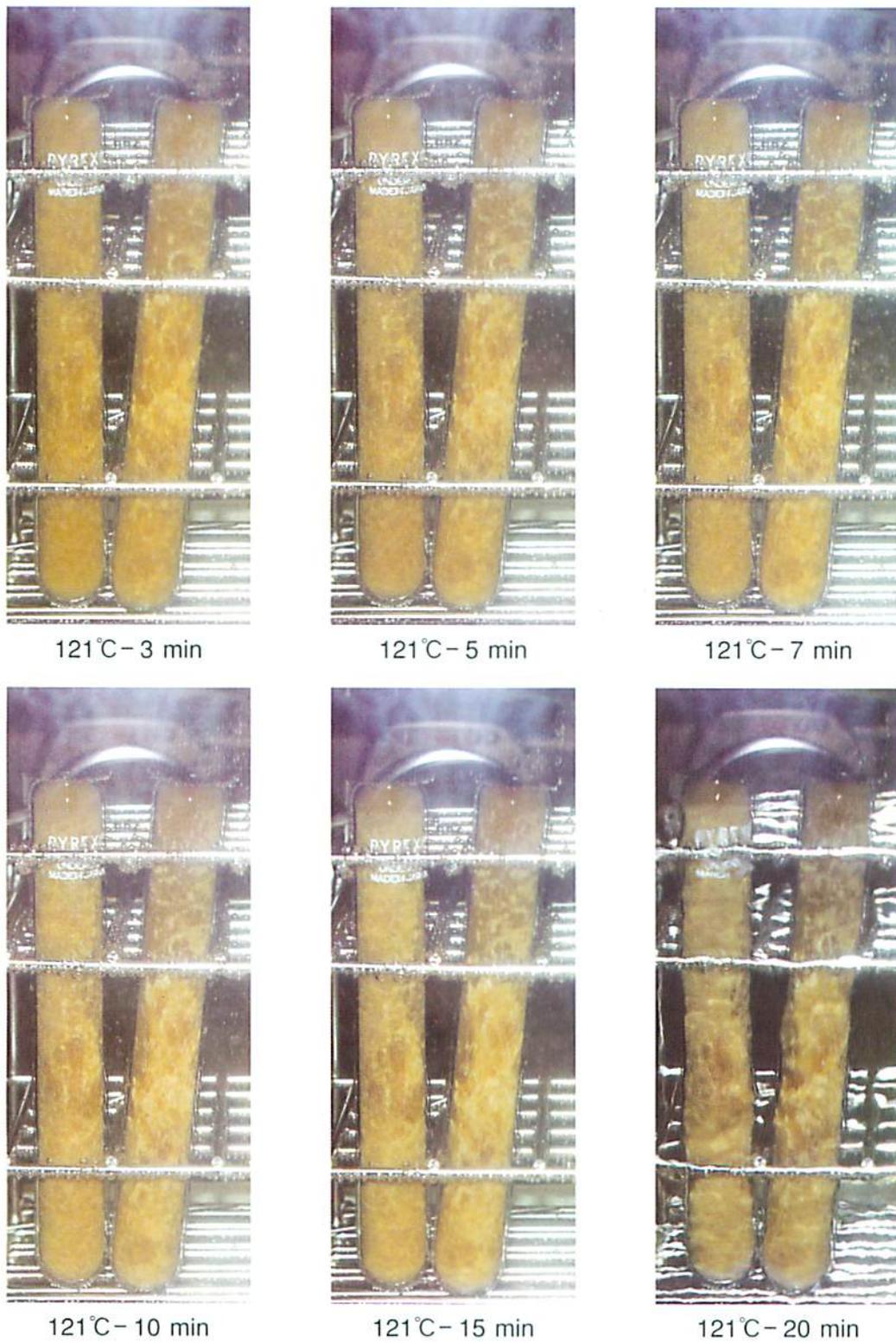


Fig.5 Changes in the milk coffee during retort sterilization process (2)

考 察

一般食品成分分析結果より、このゲル状凝固物は、(水分以外で)タンパク質を主成分とするものであることが示唆されるが、それがミルクタンパク質由来であることが容易に推察できる。そして、SDS-PAGEの結果より、そのタンパク質が α -および β -カゼインであることが認められた。一方、元素分析結果より、無機成分としてリンおよびカルシウムが含まれていることがわかった。リンについては、リン酸化されたセリン残基をもつ¹⁾ α -および β -カゼイン由来であろうし、これらのカゼインはカルシウムと結合し沈殿することが知られている¹⁾。以上のことをまとめて考えると、このゲル状凝固物は、 α -および β -カゼインがカルシウムと結合し沈殿したものである可能性が高いと推察できる。

ここで、上清酸沈殿物のSDS-PAGE結果に注目したい。 β -ラクトグロブリンは乳清タンパク質の一つで、本来酸で沈殿することはないが、上清酸沈殿物の中に含まれていたのである。このことは、ゲル状凝固物が発生したサンプル中において、カゼインに対し β -ラクトグロブリンが何らかの理由により結合し、それが上清に残っていたことを示唆している。 β -ラクトグロブリンは、分子内に遊離のチオール基を1つ持つ¹⁾。一方、 κ -カゼインは、カゼインミセル内でジスルフィド結合により多量体を形成し、カゼインミセルのカルシウムに対する安定化の役割を担うとされている¹⁾。さらに、 β -ラクトグロブリンと κ -カゼインは、高温加熱条件でチオール-ジスルフィド交換反応により結合することも知られている¹⁾。

以上のことを考え合わせると、ミルクコーヒーの中で β -ラクトグロブリンと κ -カゼインが結合することで κ -カゼイン多量体が開裂し、カルシウムに対し普段は安定なカゼインミセルが不安定化され、カゼインミセル内の α -および β -カゼインがカルシウムと接触する機会を与え、これらが結合・沈殿したというメカニズムが考えられる。また、 α -および β -カゼイン分子は、ランダム構造が主であり¹⁾、これらの分子鎖が絡み合って凝集したと考えれば、ゲル状となって凝固していることの説明となるだろう。ただし、データは示さないが、牛乳だけをいくらレトルト殺菌してもこのゲル状凝固物は発生しなかった。つまり、その発生は、コーヒー抽出液由来の何らかの成分に影響されているはずである。この点に関しての検討は、次報にて記述する。

一方、2項の実験により、実験室レベルで凝固再現試験を実施できることが確認された。

レトルト殺菌時の比較的早い時期に凝固物が発生したことは、殺菌後の保存の必要がなく、直後の外観観察で凝固物発生の有無が判別できることを示している。このことは、レトルト殺菌機の代わりに、オートクレーブでも10分以上殺菌すれば充分観察できることを示唆している。そして、缶詰ではなく、試験管でも充分であることを示している。それゆえ、以後の試験では、試験管を使用しオートクレーブで試験を行うこととした。

要 約

缶詰ミルクコーヒーにおいて発生したゲル状凝固物について種々調査した結果、凝固物は、 α -および β -カゼインがカルシウムと結合したものが主成分であることが示唆された。 β -ラクトグロブリンと κ -カゼインの結合が発生し、カゼインミセルが不安定化されたことが、その原因と推察した。一方、凝固物の再現について、試験管レベルでも十分に可能であることが認められた。また、凝固物の発生タイミングは、殺菌工程の比較的初期であった。

参 考 文 献

- 1) 山内 邦男・横山 健吉 編：ミルク総合事典，(株)朝倉書店，東京（1992）。