

2022年8月2日

報道関係者各位

大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構

牛乳のナノサイエンス

～牛乳のミクロ構造が温度に対して敏感に変化することを発見～

本研究成果のポイント

- 牛乳の殺菌温度によってチーズ・ヨーグルトなどの乳製品の加工性（凝固のしやすさ）や物性（味や食感）は大きく変化するが、牛乳の構造自体が明確には分かっておらず、理由が説明できていなかった
- 放射光 X 線小角散乱法を用い、熱変性を起こさない温度範囲で牛乳の主成分であるカゼインタンパク質が作る牛乳のミセル構造をリアルタイム測定したところ、10～40°Cの温度変化でミセル内の構造がダイナミックに可逆変化していることが分かった
- 乳の構造が温度の影響を強く受けることがわかったことで、乳製品の製造の改善や、母牛の体温管理による高品質の牛乳生産につながることを期待される

【概要】

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所の高木秀彰助教、南日本酪農協同(株)の中野智木博士、鹿児島大学の青木孝良名誉教授、山梨大学名誉教授で東京聖栄大学の谷本守正教授の研究グループは共同で、牛乳の主成分であるカゼインタンパク質が作るミセル^{*1}構造が温度に対して敏感に、かつダイナミックに変化することを解明しました。これまでの研究ではミセルサイズを調査した例はありますが、サブミクロンからナノメートルオーダーにわたるミセルの内部構造が温度に対して敏感に、かつ大きく変化するのを発見したのは世界初です。温度などの外部環境は牛乳の加工性に強く影響を与え、また母牛の体調変化による乳の性質変化とも密接に関係があります。本研究の成果は、食品科学や酪農・畜産科学だけでなく、医学や栄養学など多岐にわたる分野に波及することが期待されます。

【背景】

牛乳やその加工品である乳製品を人類は有史以前から利用しており、現代でも世界中で広く飲食されています。牛乳や乳製品は非常に身近な飲食物ですが、現代になっても科学的

には解明されていないことが多くあります。その内の1つが「牛乳の構造」です。牛乳の主要成分はカゼインタンパク質であり、このタンパク質はカゼインミセル^{*2}と呼ばれる直径でおよそ百ナノメートルのミセル状の構造を形成します(図1左側)。牛乳は、水にカゼインミセルが浮いている状態で、白色に見えるのはこのミセルが光を乱反射するためです。牛乳の重要な栄養素であるカルシウムは数ナノメートルのリン酸カルシウムの微粒子として存在し、カゼインミセル内に内包されています。電子顕微鏡観察を始め様々な最新の技術・装置を使ってカゼインミセルの構造を特定するための研究が行われていますが、現代でも詳細な構造は未解明で科学的な論争に決着はついていません[1]。

共同研究グループは放射光 X 線小角散乱(Small-Angle X-ray Scattering, SAXS)法^{*3}を利用してカゼインミセルの構造を研究してきました。構造モデルに基づいた計算から 10 ナノメートル程度の水のドメインが存在するモデルが最も合理的であると結論付け、水ドメイン内包モデル^{*4}(図1右側)を提唱しています[2]。

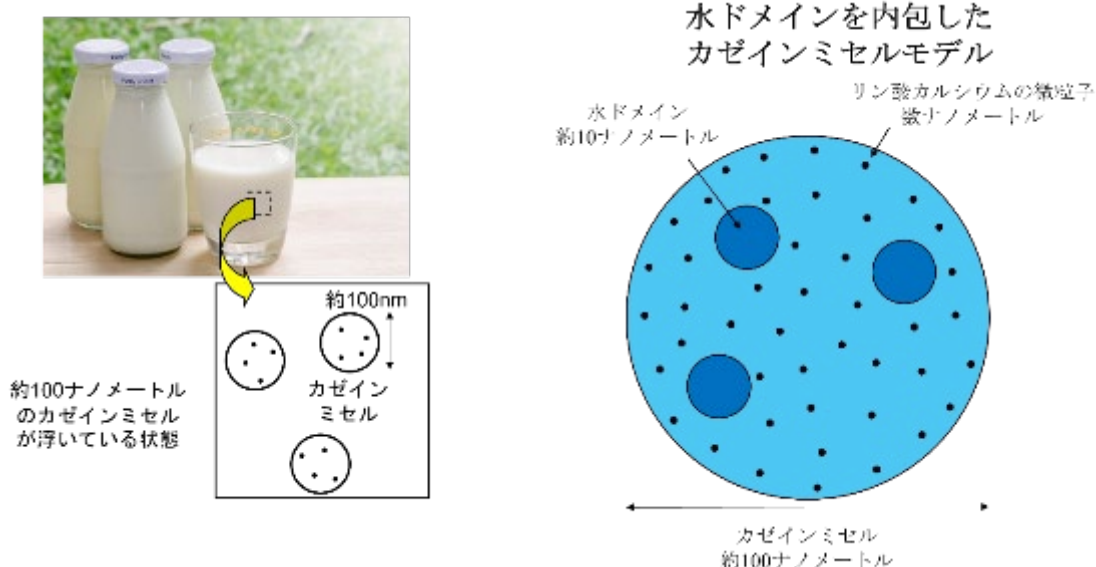


図1 左図は牛乳内のカゼインミセルの模式図。牛乳は約 100 ナノメートルのミセルからなる。右図は本研究グループが提唱する水ドメインを内包したカゼインミセルモデル。ミセルの内部には数ナノメートルのリン酸カルシウムの微粒子と十ナノメートル程度の水ドメインが内包された構造モデル。

放射光 X 線は非常に明るく、またビームの発散が小さいため、放射光を使って得られたデータはラボ機と比較して各段にきれいです。そのため放射光 SAXS 実験は、散乱ピークが不明瞭なミセルの実験には最適です。脱脂した牛乳を厚み 0.01mm で直径 2mm の石英製のキャピラリーに詰め(図 2 左側写真)、試料部に温調装置を設置して加熱冷却実験を実施しました(図 2 中央写真)。ラボ機では 1 時間近く X 線を照射しないと得られないデータが、

放射光施設ではわずか数十秒で、かつ散乱像のにじみ(ラボ機のビームは太く、また発散角も大きいので、散乱データはその分にじんでいます)がほとんどないきれいな散乱データが得られます(図 2 右図)。得られたデータを構造モデルから計算した理論式で解析することで構造の情報(サイズ、分布など)を得ることができます。

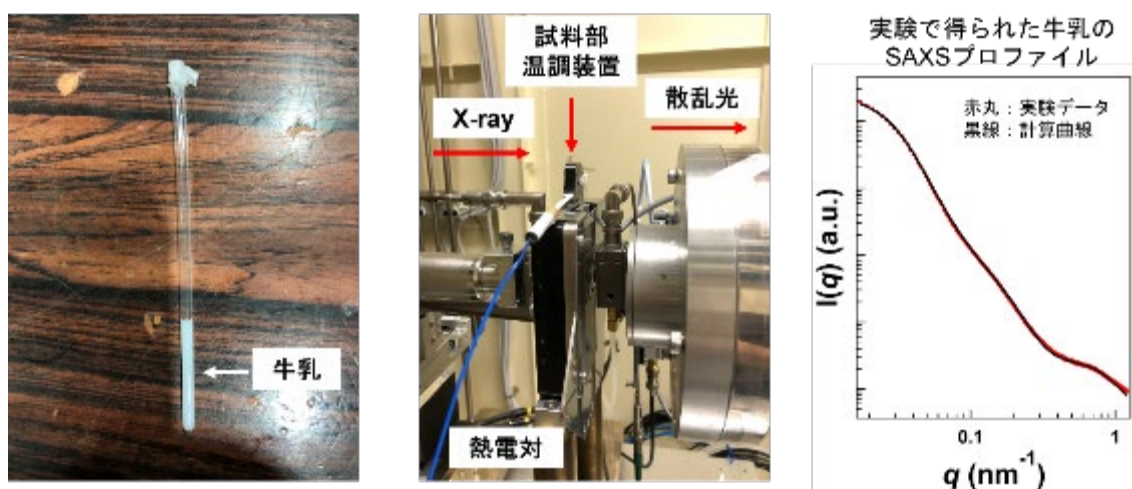


図2 左図は厚み 0.01mm で直径 2mm の石英製キャピラリーに牛乳を詰めた写真。下部の白い部分が牛乳。中央図は試料部の写真で、黒い筐体が温調装置を示す。矢印の上部から石英キャピラリーを入れ、温度を一定に保った状態で、X線を照射し、散乱光を計測する。右図は牛乳から得られた SAXS プロファイル(赤丸)を示し、計算した曲線(黒線)とよく一致していることが分かる。

様々な温度環境下に置かれる牛乳にとって、温度は重要です。例えば、殺菌する際には加熱され、冷蔵庫などの低温で保管されます。また母牛内では体温に保たれ、病気などによって平熱よりも高い状態に置かれる場合もあります。従来の研究では、熱処理した後に室温に戻し、様々な物理化学的分析から熱処理の効果を調査した例がほとんどです。従って、実際の温度下で牛乳の構造がどのような状態になっているかはほとんど分かっていませんでした。

【研究成果】

研究グループは非破壊でその場測定が得意な SAXS を利用し、タンパク質の熱変性を起こさない 10-40°Cの温度範囲で牛乳の構造を“その場”測定しました。その結果、実験で得られた SAXS プロファイルは温度に対して敏感に変化することを発見しました。詳細を分析するために水ドメイン内包モデルを用いて SAXS プロファイルを解析しました。解析によって、サブミクロンオーダーのミセルのサイズは温度に対して大きく変化しないことが分かりました。さらに、内部構造である 10 ナノメートルオーダーの水ドメインは加熱によ

って膨張し、ミセル外に存在するカルシウムと無機リンはミセル内部に取り込まれ、新たなリン酸カルシウムの微粒子を形成していることが分かりました(図3)。一方で、40°Cから冷却すると全て元に戻ることが分かり、牛乳内のマイクロなミセル構造が温度に対してダイナミックに変化していることが解明されました。

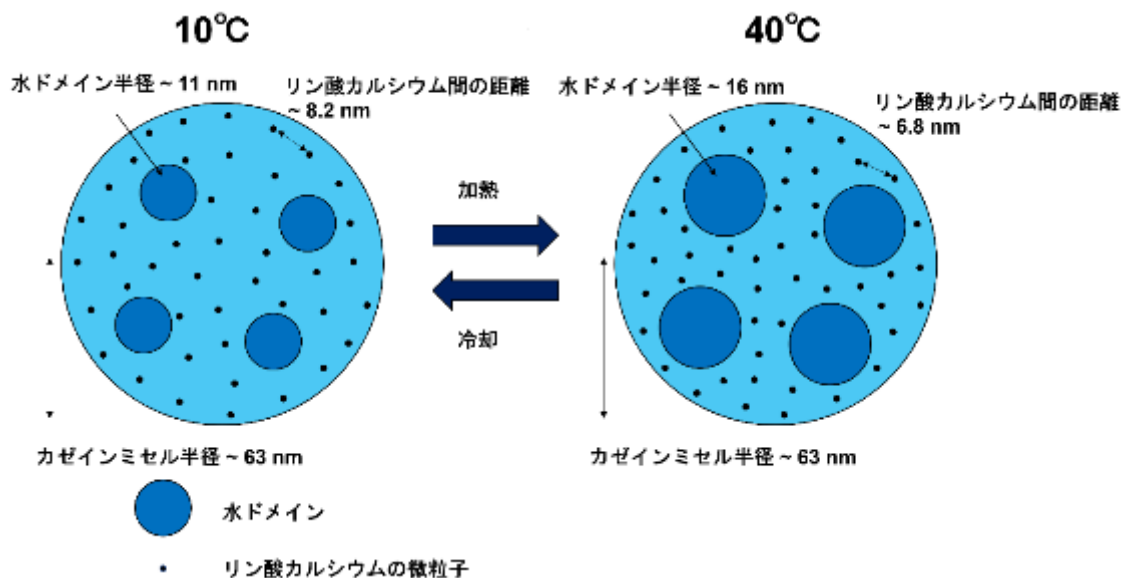


図3 10-40°C間の加熱冷却時におけるカゼインミセルの構造変化の模式図。加熱によって水ドメインは膨張し、リン酸カルシウム微粒子の数の増加によって距離が減少する。冷却時は全て元に戻ることが分かった。

【今後の展開】

牛乳にはまだ謎がいくつも残っています。温度に関する謎として殺菌温度の効果があります。牛乳内の菌の増殖を抑えるために加熱して殺菌しますが、この殺菌する温度によってその後の乳製品の加工性に強く影響を与えます。例えば牛乳にレンネットと呼ばれる酵素を加えるとチーズができますが、高い温度で殺菌した牛乳を使うとチーズにしづらくなります。この現象について膨大な量の研究が行われ、様々な説が提唱されていますが、科学的に決着はついていません。その場観察が得意な放射光 X 線を利用すれば、チーズの形成過程を直接追跡でき、そこから新たな知見が得られる可能性があります。

また本成果から母牛内の温度変化によって乳の構造が変化していることが示されました。一般的に病気の母牛から得られる乳の質は低下しており、その原因を構造学的な観点から解明できる可能性があります。また人乳も同じように構造が変化する可能性があることから、乳の性質の変化が子の発育へ与える影響について新しいマイクロな視点から研究が進むと期待されます。

以上のことから、本成果は食品科学や酪農・畜産科学だけでなく、医学や栄養学など多岐の分野に波及することが期待されます。

X線と同じ量子ビームの仲間である中性子は水素を見るのが得意なビームです。牛乳は水(H₂O)を多く含んでおり、従って水素(H)をたくさん含んでいます。牛乳は脱脂して水を抜くことで脱脂粉乳にすることができ、この粉乳を重水素(D)から成る重水(D₂O)で戻すことが簡単にできます。普通の水と重水の割合を変えた混合水を使うことで、ミセル内部の散乱コントラストを自在に変化させることが可能です。そのため、中性子小角散乱実験を利用すれば、ミセル内部のさらなる構造情報が得られることが期待されます。今後研究グループは試料を中性子実験施設に持ち込んで中性子散乱実験を実施する予定です。このように、牛乳はX線や中性子といった複数の量子ビームを上手く活用することで多くの構造情報を取得できるマルチプローブ観察に適した試料であると言えます。

【論文情報】

雑誌名：Food Chemistry

論文タイトル：Temperature dependence of the casein micelle structure in the range of 10–40°C: An in-situ SAXS study.

著者：高木秀彰*1、中野智木*2、青木孝良*3、谷本守正*4,*5

*1 高エネルギー加速器研究機構 (KEK) 物質構造科学研究所

*2 南日本酪農協同株式会社 商品開発部基礎研究課

*3 鹿児島大学名誉教授

*4 山梨大学名誉教授

*5 東京聖栄大学 食品学科

DOI：https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133389

2022年6月9日オンライン掲載

【研究プロジェクト】

本研究は、ミルクサイエンス研究助成の支援によって行われました。

【参考文献】

1. 青木ら, Milk Science, 66, 125-143 (2017)
2. Takagi, H. et al, Milk Science, 71, 10-22 (2022)

【用語説明】

*1 ミセル

ミセルとは分子が集合して作る小さな粒子(分子集合体)を指し、コロイドの一種である。代表的なものとして、界面活性剤(洗剤)がある。

*2 カゼインミセル：

カゼインタンパク質には α_{s1} -カゼイン、 α_{s2} -カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼインがあり、これらのタンパク質とミネラル成分であるリン酸カルシウムの微粒子が複合化してミセル構造を形成する。ミセルが主にカゼインタンパク質から成るためにカゼインミセルと呼ばれる。

*3 放射光 X 線小角散乱(Small-Angle X-ray Scattering, SAXS)法：

X 線小角散乱法とは、物質に X 線を照射し、物質から散乱した X 線の散乱角がおおよそ 1° 以下の小さな領域を測定する手法。大きな構造の情報は小さな散乱角に存在するために、サブミクロン～ナノメートルオーダーのナノ構造体を評価するのに適した手法である。試料を非破壊で測定できる。また非常に明るい光である放射光 X 線を利用すると数秒～数十秒で測定データを得ることが可能となり、温度などを変化させながら数秒～数十秒間隔で刻々と構造が変化していく様子を容易に追跡できるその場観察が可能である。

*4 水ドメイン内包モデル：

カゼインミセルの有力な構造モデルとして、サブミセルモデルとナノクラスターモデルが提唱されている。様々な研究結果から、特に海外ではナノクラスターモデルが支持されることが多い。最新の研究では、カゼイン研究の世界的権威である Holt 博士によって、カゼインタンパク質がリン酸カルシウムの微粒子をコーティングして、それらが凝集してミセル構造を形成するコート-コアモデル(ナノクラスターモデルの発展形)が提唱された[Holt, C., *European Biophysics Journal*, 50, 847-866 (2021).]. 我々の研究グループは SAXS 法を利用した研究から、ナノクラスターモデルの発展形としてミセル内部に 10 ナノメートル程度の大きさの水のドメインを内包したモデルを提唱している。