



# 市販チーズの化学組成，機能性ならびに 尿素-ポリアクリルアミドゲル電気泳動図

江澤 真・猪狩敦史・田畑幸子・新呑利州  
松山 惇・清澤 功

## 緒 言

ナチュラルチーズには，その製造条件の相違により風味，組織，機能性などが異なった様々な種類が存在する．その中で，モzzarellaチーズは新鮮でわずかな塩味と酸味を有し，加熱，溶融すると糸を引く特性がある．また，他のナチュラルチーズと異なり，熟成期間が短いこともあり，最近需要の増大とともにこのチーズに関する研究が活発に行われている (Yun *et al.* 1993, 1995, Bertola *et al.* 1996, Guo *et al.* 1997).

チーズの製造は，まず牛乳にスターターおよびレンネットを添加し，形成したカードのカットティングを行う．ついで，攪拌と加温を行い，ホエー排除によりカードが得られる．この後のカード処理は，チーズの種類によって異なるが，モzzarellaチーズではチェダリング後，ミリングと加塩を行い，高温でカードの練圧 (ストレッチング) を行う．著者らは，モzzarellaチーズを製造し，低温で60日間保蔵中の化学的变化を観察した (江澤ら 1999)．それによると，チーズ・パラカゼインの結合性カルシウム/無機リンモル比 (Ca/Pi 比) が，牛乳のカゼインミセルの比率より低下することを認めた．この変化はチーズの機能性とも関係があることを示唆した．

そこで，本研究では，市販チーズの化学組成およびCa/Pi比を求め，さらにチーズの機能性およびカゼインのポリアクリルアミド電気泳動図について観察したので，以下に報告する．

## 実 験 方 法

### (1) 試料

ナチュラルチーズは，市販のモzzarella (MC)，チェダー (CC)，エメンタル (EC) およびグリエール (GC) の4種類，ならびに国産プロセスチーズ (PC) 1種類について，製品番号の異なる3試料を使用した．

### (2) 各態窒素の定量

全窒素 (TN)；試料0.1gを用いて，マイクロケルダール法により定量し，mg/100gチーズとして示した．

粗タンパク質 (TP<sub>r</sub>);  $TN \times 6.38$  (g/100g チーズ) により算出した。

水溶性窒素 (SN); チーズ 10g に温水 (約 50°C) 70ml を加えて、ホモジナイザー [日本精機 (株) AM-8] で 5,000rpm, 10 分間処理し、これを 100ml 定容にした。この懸濁液を 5000rpm, 20 分間遠心分離し、その上澄液 (WSF) の窒素 (mg/100g チーズ) を定量した。

非タンパク態窒素 (NPN); WSF 20ml に 24% トリクロロ酢酸を同量添加、混合した後、30 分間室温放置し、No. 6 東洋濾紙で濾過した。この濾液の窒素 (mg/100g チーズ) を定量した。

不溶性カゼイン (IC<sub>n</sub>);  $(TN-SN) \times 6.38$  (g/100g チーズ) により算出した。

#### (3) 各態カルシウムおよびリンの定量

全カルシウム (TCa) および全リン (TP); チーズ 0.1g に濃硫酸 3ml を添加し、加水分解した後、25ml 定容にした。この溶液の Ca 含量を原子吸光度計 (AA-835 JAPAN JARREEL ASH 社) による 422.7nm の吸光値から測定し、TCa とした。また、同じ加水分解液の P 含量を Fiske-Subbarow 法 (吉川・高橋 1958) により測定し、TP とした。これらはいずれも (mg/100g チーズ) として示した。

水溶性カルシウム (SCa) および水溶性リン (SP); WSF を濃硫酸で加水分解した後、TCa と同様に Ca を測定し、SCa とした。

不溶性 Ca (ICa), 不溶性 P (IP) および不溶性無機リン (IPi);  $ICa = TCa - SCa$  および  $IP = TP - SP$  として算出した。また、IPi は、カゼインのリン含量を 0.8% として不溶性カゼインのエステル P (Po) を算出、 $Pi = IP - Po$  として算出した。

#### (4) 尿素-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE)

Andrews の方法 (Andrews 1983) に準じて行った。濃縮ゲルは 2.66M 尿素および 8% アクリルアミドゲル (pH 6.8), 分離ゲルは 3.93M 尿素および 12% アクリルアミドゲル (pH 8.8) を使用した。電気泳動用試料は、チーズ 0.2g を 0.06M Tris-HCl 緩衝液 (pH 6.8, 8M 尿素を含む) 10ml に溶解し、2-メルカプトエタノール 2 滴を加えた後、40°C, 45 分間攪拌、溶解し、遠心分離して得た上澄液を使用した。

#### (5) 機能性の測定

溶融性およびフリーオイル (free oil; FO); Bertola らの方法 (Bertola *et al.* 1996) に準じて行った。すなわち、溶融性は、チーズ片 (直径, 高さともに 1.5cm) を東洋濾紙 No. 6 上に置いて、オープン中で 160°C, 3 分間加熱した後、溶融したチーズの直径 (cm) で表した。また、FO は、同条件下でチーズを溶融し、濾紙上に染み出した油の直径 (cm) で表した。

糸引き性: チーズ 10g (2.2cm の立方体) をシャーレに採り、電子レンジ [タイガー電子レンジ KRF-C100 型, タイガー (株)] で 15 秒間加熱し、直ちに取り出した後、室温で 1-2 分以内に糸引き測定機 [協立理工 (株)] により測定した。

かたさ: チーズは直径 5.3cm, 厚さ 1.0cm に切断してサランラップで密封し、流水 (約 19°C) 中で 1 時間浸漬して一定温度に保持した。これを用いて、クリープメーター [レオナー RE-3305, (株) 山電] によりかたさを測定した。

なお、いずれのチーズも 3 試料を分析し、その平均値として示した。

## 実験結果および考察

## 1. 一般成分組成および窒素分布

市販ナチュラルチーズ (MC, CC, GC および EC) およびプロセスチーズ (PC) の水分, タンパク質および脂肪含量を Table 1 に示した. 軟質チーズの水分含量は一般に 45-52% とされているが, MC および PC の水分含量はこの範囲にあった.

各チーズのタンパク質および脂肪含量の本実験と文献値との比較について, MC では適切な文献値がなかったが, CC の文献値ではそれぞれ 26.0 および 33.5% (Scott 1981a), また文献値で食品分析表 (1997) では 25.7 および 33.8% であり, 本市販 CC の脂肪含量はこれらの値より低かった. これは, 現在の市販チーズが低脂肪化の傾向にあるためと考えられる. EC の文献値はそれぞれ 29.1 および 31.4% (Fox 1987), また食品分析表 (1997) では 27.3% および 33.6% であり, 本市販 EC の含量もこれらの値に近かった. さらに, GC ではそれぞれ 26.8 および 32.2% (Fox 1987), PC ではそれぞれ 22.7 および 26.0% (食品分析表 1997) であり, 本市販 GC および PC もこれらに近い値が得られた.

市販チーズの全窒素 (TN), 水溶性窒素 (SN) および非タンパク態窒素 (NPN) 含量を Table 2 に示した. これによると, TN に対する SN の割合は, MC が最も低く, ついで CC, EC および GC の順に高かった. PC では約 40% と最も高かったが, おそらく製造に使用する溶融塩の影響によるものと考えられる. また, NPN の TN に対する割合は, チーズ中で MC が最も低かった. Yun

Table 1 The contents of moisture, protein, and fat in the commercial cheeses

Cheese	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Fat* (%)
MC	46.0	21.4	26.1	48.3
CC	35.8	24.5	25.2	39.3
EC	34.2	26.2	29.0	45.2
GC	35.7	25.1	32.6	50.7
PC	46.1	21.1	25.7	47.7

\* Fat content on dry weight basis.

MC ; Mozzarella, CC ; Cheddar, EC ; Emmental, GC ; Gryere, PC ; processed cheese.

Table 2 Nitrogen distribution of the commercial natural and processed cheeses

Cheese	TN	SN	NPN	TPr (g/100g)	SN	NPN	ICn	
	(mg/100g)*				(%)**		(g/100g)	(%)***
MC	3359	602	97	21.4	17.9	2.9	17.6	82.2
CC	3843	774	304	24.5	20.1	9.9	19.6	80.0
EC	4102	1094	642	26.2	26.7	5.7	19.2	73.3
GC	3931	1219	700	25.1	31.0	17.8	17.3	68.9
PC	3310	2318	273	21.1	39.8	8.2	12.7	60.2

\* ; per 100 g of cheese, \*\* ; % of TN, \*\*\* ; % of total protein,

TN ; total nitrogen, SN ; water-soluble nitrogen, NPN ; non-protein nitrogen, TPr ; total crude protein, ICn ; water-insoluble casein.

*et al.* (1993) は 4℃, 3-50 日間保蔵した MC では 1.0-3.3% であったと報告している。著者らが調製した MC では, 調製 1 日目で 0.6-1.99%, 30 日目で 1.4-3.5% であり, 牛乳へのレンネット添加時の pH, チーズの貯蔵条件などによって変化した (江澤ら 1997)。CC, EC および GC は熟成期間が長いので, NPN 含量は約 4-6 倍高い。全タンパク質中の沈降性カゼイン (ICn) 含有率は, NPN 含有率の低いナチュラルチーズほど高かった。これは熟成中のタンパク質の加水分解度と関係していることが考えられる。

## 2. パラカゼインのカルシウムおよびリン結合性

チーズの全カルシウム (TCa) 含量は, 各チーズで顕著な差異がみられた (Table 3)。すなわち, MC の TCa 含量は最も低く, GC は MC の 2.5 倍と最も高かった。EC および GC では, 製造の際にレンネット反応を促進するため, 牛乳への塩化カルシウム添加を行うが (香川 1997), このために Ca 含量が高くなるものと考えられる。一方, 全リン (TP) 含量は, ナチュラルチーズ間で顕著な差異はなかった。しかし, PC の TP 含量はナチュラルチーズの約 1.7 倍であった。

PC 原料に使用するチェダー, ゴーダ, エダム, エメンタールなどのナチュラルチーズの TP/N 比は 0.12 であるという (乳製品試験法 1984)。本試料では MC, CC および EC では 0.15 であり, GC では 0.16 となり, いずれも高い値を示した。しかし, PC の TP/N 比は 0.32 であり, ナチュラルチーズの約 6 倍であった。

ついで, カゼインのリン含量を 0.79% として (McKenie 1971), 各チーズの沈降性カゼイン (ICn, パラカゼイン) のリン含量を算出し, IP からカゼイン P を差し引いて無機リン (IPi) を求めて, パラカゼインの Ca/Pi モル比を算出した (Table 3)。これによると, MC のパラカゼイン 1g あたりの Ca 結合量は 12.4mg であり, ナチュラルチーズの中で最も低かった。ナチュラルチーズの Pi 結合量は Ca ほど変動しなかった。カゼインミセルの Ca/Pi モル比は約 1.6 であるが (van Hooydonk *et al.* 1986 b), CC および EC ではこの比率よりやや低く, GC ではやや高かった。また, MC では 0.9 であり, PC ではさらに低かった。著者らが調製した MC の Ca/Pi モル比は, 調製時には 1.24 であったが, 低温度保蔵 15 日間で 0.91 に低下した (江澤ら 1997)。この場合, 保蔵期間が長くなるとさらに低下したが, この比率が市販 MC でも 1.0 以下であり, チーズの機能性と何らかの関係があると考えられる。

**Table 3** The contents of total and insoluble calcium and phosphorus in the commercial cheeses, and the amounts of binding calcium and inorganic phosphorus to insoluble paracasein

Cheese	TCa (mg)*	ICa (mg)	Ca (mg/g)**	TP (mg)	IP (mg)	IPi (mg)	Pi (mg/g)	Ca/Pi (mol.ratio)
MC	601	218	12.4	496	330	191	10.9	0.9
CC	748	447	22.8	574	421	266	13.6	1.3
EC	1176	502	26.1	600	429	277	14.4	1.4
GC	1262	575	33.2	623	381	244	14.1	1.8
PC	643	78	6.1	1057	571	471	37.1	0.1

\* ; per 100g of cheese, \*\* ; per 1g of paracasein.

TCa ; total calcium, ICa ; insoluble calcium, TP ; total phosphorus, IP ; insoluble phosphorus, IPi ; insoluble inorganic phosphorus.

## 3. パラカゼインの尿素-ゲル電気泳動図

各チーズの尿素-PAGE を行い、Fig. 1 に示した。これによると、いずれのチーズも  $\alpha_{S1}$ -カゼインおよび  $\beta$ -カゼインの主要バンドが確認されたが、 $\alpha_{S1}$ -バンドの染色強度（以下バンド強度と略す）がチーズ間で明らかに異なった。MC の  $\alpha_{S1}$ -バンド強度は、酸カゼインより低かったが、他のナチュラルチーズよりも高かった。また、各チーズの  $\alpha_{S1}$ -バンド強度の低下とともに、 $\alpha_{S1}$ -I バンド強度が増加したが、さらに  $\alpha_{S1}$ -I バンドよりも移動の速いバンドの出現も認められる。

$\alpha_{S1}$ -カゼインがレンニンの加水分解を受けると、 $\alpha_{S1}$ -I バンドより移動度の速い数本のバンドが現れることが知られている (Mulvihill and Fox 1977)。

各ナチュラルチーズの  $\beta$ -バンド強度も低下傾向を示した。脱脂乳にレンニンを作用すると、 $\beta$ -バンドよりもやや移動の速い  $\beta$ -I バンドが現れるが (Fox and Guiney 1973)、EC および GC では、このバンドが出現している。ナチュラルチーズの  $\gamma$ -カゼインに相当するバンドは、とくに  $\gamma_2$ -および  $\gamma_3$ -バンド強度が増加した。 $\gamma$ -カゼインは、牛乳の  $\beta$ -カゼインにレンニンを作用してもこの

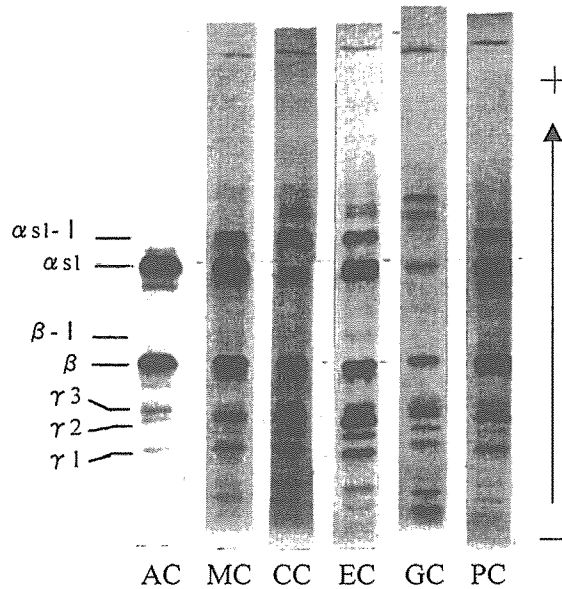


Fig. 1 Urea-polyacrylamide gel electrophoretic patterns of casein from commercial cheeses. AC; acid casein, MC; Mozzarella, CC; Cheddar, EC; Emmental, GC; Gryere, PC; Processed cheese.  $\alpha_{S1}$ -I,  $\alpha_{S1}$ ,  $\beta$ -I,  $\beta$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_1$ ; casein or parcasein

Table 4 The stringiness, meltability, freeoil and hardness of commercial cheeses

Function	MC	CC	EC	GC	PC
Stringiness (cm)	76	22	39	45	0
Meltability (cm)	3.1	2.7	3.1	3.0	1.8
Free oil (cm)	3.1	3.3	3.4	3.6	1.5
Hardness	309	1265	1173	930	677

MC ; Mozzarella, CC ; Cheddar, EC ; Emmental ,GC; Gryere , PC ; processed cheese.

バンドは出現しないので (Fox and Guiney 1973), スターターなどの細菌プロテアーゼによるものであると考えられる。

PC の場合,  $\alpha_{S1}$ -および  $\beta$ -バンド強度はナチュラルチーズよりも高かった。PC は数種のナチュラルチーズを溶融してつくられるので, ナチュラルチーズと厳密な比較はできない。ナチュラルチーズの場合, NPN 含量はカゼインの加水分解度または熟成度の指標に用いられるが, 尿素-PAGE のバンドの変化は NPN 含量の変化と関係していることが推察される。

#### 4. 機能性

チーズの糸引きは MC が最も高く, ついで GC, EC の順であり, PC では糸引きほとんど認められなかった (Table 4)。PC の製造では, 数種のナチュラルチーズの配合とともにリン酸イオン濃度がきわめて高い, これが糸引き性に影響していると考えられる。一方, MC では, 製造の最終段階において高温でカードのストレッチングを行う。このため, パラカゼインの結合性 Ca および Pi の変化が, 他のチーズと異なり, 糸引き性が高くなるものと考えられる。

チーズの溶融性および FO は, ナチュラルチーズ間では大差なかった。しかし, かたさは糸引きの高かった MC で最も低かった。MC の糸引きが 1m 以上を保持するには, チーズの pH が 5.1-5.4 であることが必要であるという (Scott 1981b)。カゼインの結合性 Pi はこの pH 範囲ではきわめて低下するという (van Hooydonk *et al.* 1986a)。MC ではかなり残存している糸引き性とパラカゼインの Ca および Pi 結合性との関係について, さらに検討する必要がある。

## 要 約

市販ナチュラルチーズのモザレラ (MC), チェダー (CC), エメンタール (EC) およびグリエール (GE), ならびにプロセスチーズ (PC) の化学組成および窒素分布について観察した。MC の 12% TCA 可溶性窒素含量は最も低く, ついで PC, CC, EC, GC 順に高かった。パラカゼインのカルシウム/無機リンモル比は, ナチュラルチーズの中で MC が最も低かった。尿素-アクリルアミドゲル電気泳動図における CC, EC および GC の  $\alpha_{S1}$ -バンド強度は,  $\alpha_{S1}$ -I バンドの出現とともに著しく低下した。各チーズの加熱時の糸引き性は, MC > GC > EC > CC の順に高かったが, PC は糸引きを示さなかった。

## 引用文献

- Andrews, A. T. 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins, *J. Dairy Res.* 50 : 45-55
- Bertola N. C., A. N., Califano, A. E., Bevilacqua, and N. E. Zaritzky, 1996. Effects of freezing conditions on functional properties of low moisture mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 79 : 185-190.
- 江澤真・小堀貴子・渡辺純子・乳井晶子・松山惇・清澤功. 1997. レンネット添加時のpHの相違によって調製したモッツアレラチーズの組成ならびに物性. 玉川大学農学部研究報告 37 : 11-20.
- 江澤真・植芝由香・関寛・宮山伸二・松山惇・清澤功. 1999. 異なる加塩法で製造したモザレラチーズの貯蔵中の化学的性質と機能性の変化. 日畜会報 70 : J189-J197.
- Fox, P. F. 1987. *Cheese : chemistry, physics and microbiology*. Vol. 2, Elsevier Applied Science. pp. 94.
- Fox, P. F. and J. Guiney, 1973. Casein micelle structure : susceptibility of various casein systems to proteolysis. *J. Dairy Res.* 40 : 229-234.
- Guo, M. R., J. A. Gilmore, and P. Kindstedt. 1997. Effect of sodium chloride on the serum phase of Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 80 : 3092-3098.
- 香川綾監修. 1997. 四訂食品成分表. 女子栄養大学出版部. 東京. pp. 200.
- Mckenzie, H.A. 1971. *Milk Proteins*, Vol. II Academic Press, New York. pp. 87.
- Mulvihill, D. M. and P. F. Fox, 1977. Proteolysis of  $\alpha$ s1-casein by chymosin : influence of pH and urea. *J. Dairy Res.* 44 : 533-540.
- 日本薬学会編. 1984. 乳製品試験法・注解. 金原出版(株). 東京. pp. 183.
- Scott, R. 1981a. *Cheesemaking practice*. Applied Sci. Publishers. pp. 23.
- Scott, R. 1981b. *Cheesemaking practice*. Applied Sci. Publishers. pp. 435.
- van Hooydonk, H. G. Hagedoorn, and I. J. Boerringer, 1986a. pH-induced physico-chemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. 1. Effect of acidification on physico-chemical properties. *Neth, Milk Dairy J.* 40 : 281-296.
- van Hooydonk, H. G. Hagedoorn, and I. J. Boerringer, 1986b. The effect of various cations on the renneting of milk. *Neth. Milk Dairy J.* 40 : 369-390.
- Yun, J. J. D. M. Barbano, and P. Kindstedt, 1993. Mozzarella cheese : impact of milling pH on chemical composition and proteolysis. *J. Dairy Sci.* 76 : 3629-3638.
- Yun, J. J. D. M. Barbano, L. Kiely, and P. S. Kindstedt, 1995. Mozzarella cheese : impact of rod coccus ratio on composition, proteolysis, and functional properties. *J. Dairy Sci.* 78 : 751-760.

## Summary

Chemical Compositions, Functional Properties, and  
Urea-Polyacrylamide Gel Electrophoretic Patterns of Commercial Cheeses  
Makoto Ezawa, Atushi Igari, Sachiko Tabata, Risyu Niinomi,  
Jun Matsuyama and Isao Kiyosawa  
(Fac. Agric. Tamagawa Univ., Machida-shi, Tokyo 194-8610)  
*Bull. Fac. Agric. Tamagawa Univ.* No. 40: 61-68



The chemical composition and nitrogen distribution of the commercial natural cheeses [Mozzarella (MC), Cheddar (CC), Emmental (EC) and Gruyere (GC)], and the processed cheese (PC) were investigated. The content of 12% TCA-soluble nitrogen in MC was lowest, followed in order by PC, CC, EC, and GC. The molar ratio of calcium / inorganic phosphorus of paracasein in MC was lowest among the natural cheeses. The intensity of  $\alpha_{S1}$ -band in urea-polyacrylamide gel electrophoretic patterns in CC, EC, and GC decreased appreciably with the appearance of  $\alpha_{S1}$ -I band. The springiness of each melted cheese decreased in the order MC, GC, EC, and CC, but was not noticed in PC.