

# 生姜汁による牛乳ゲルの形成に及ぼす牛乳種の影響 (第2報)

## Effect of milk from different cattle breeds on milk-gel formation by ginger juice PART 2.

山田 徳広\*

Norihiro Yamada

Milk gels were prepared by incubating a mixture of 1.5 mL ginger juice and 50g milk obtained from Holstein dairy cattle (HM) or Jersey dairy cattle (JM) at 60°C for 60 min. The breaking stress, breaking energy, brittleness, and brittleness energy of the milk gel prepared using milk from JM were approximately 2-3 times higher than those of milk gel prepared using milk from HM. These results suggest that the milk from JM provided a gel that was harder and more brittle than that obtained using milk from HM.

### 緒 言

中国には、加温した牛乳または水牛乳に生姜の絞り汁を加えて固めた薑汁撞奶（キョンジャッゾンナーイ）、薑撞牛奶（キョンゾンアウナーイ）または薑埋奶（キョンマーイナーイ）と呼ばれるデザートがある<sup>1-3)</sup>。このデザートが固まる機構は、牛乳に含まれるたんぱく質が生姜汁に含まれる凝乳酵素の作用によって凝固することであると考えられている。

これまでに、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、L-アスコルビン酸およびethylenediamine tetraacetate (EDTA) が生姜汁による牛乳ゲルの形成能を増強すること、砂糖が同ゲルの形成能を抑制すること、生姜汁による乳凝固活性が60°Cまたは70°Cで最高となること、および新鮮な生姜汁の凝乳活性が-80°Cで長期間保持できることなどが報告されているが<sup>1-6)</sup>、生姜汁による牛乳ゲルの形成機構は十分に解明されていない。前報<sup>7)</sup>において、ホルスタイン牛乳 (HM) またはジャージー牛乳 (JM) を用いて生姜による牛乳ゲルを調整し、ゲルのテクスチャー特性を比較したところ、JMゲルは、HMゲルに比較して、3倍程度硬く、かつ口に付着しやすいゲルを形成した。また、JMは硬くてサクサクした食感のゲル、HMは柔らかくて滑らかな食感のゲルを作る可能性が示唆された。

前報<sup>7)</sup>においてJMは硬くてサクサクした食感のゲル、HMは柔らかくて滑らかな食感のゲルを作る可能性が示唆されたことか、前報<sup>7)</sup>と同じ条件において生姜汁の添加によるHMゲルとJMゲルを作成し、ゲルの破断特性を比較した。

### 実験方法

#### 1. 材料

生姜は、清水物産株式会社より購入した中国産のひね生姜を使用した。牛乳は、小岩井農場3.7牛乳 [特選] (小岩井乳業株) (ホルスタイン種 (HM)) と、蒜山ジャージー牛乳プレミアム

\* 食物栄養学科 准教授

5.0 (蒜山酪農農業協同組合) (ジャー種 (JM)) を使用した。なお、牛乳の一般成分値を表1. に示した。

表 1. 牛乳の一般成分 (/100mL)

成分	HM	JM
たんぱく質(g)	3.4	4.3
脂質(g)	4.1	5.3
糖質(g)	5.0	5.0
ナトリウム(mg)	42	41
カルシウム(mg)	114	137
pH	6.74	6.66

## 2. 試薬

各試薬は、関東化学㈱より特級試薬を購入して使用した。

## 3. 生姜汁の作成

皮を剥かない状態の生姜を約2cm角に切り、低速圧縮ジュースャー (ヘルシオ ジュースプレッソ、SHARP㈱) を用いて搾汁した後、3,000 r.p.m.で10分間遠心分離した。得られた上清をろ紙 No.2でろ過し、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保存したものをを用いた。なお、生姜汁の一般成分値を表2. に示した。

表 2. 生姜汁の一般成分

成分	/100mL
たんぱく質(g)	1.1
脂質(g)	0.2
糖質(g)	1.2
ナトリウム(mg)	5
食塩相当量(g)	0.01
水分(g)	98.3
灰分(g)	0.6
カルシウム(mg)	1
デンプン(mg)	検出せず

## 4. 生姜プロテアーゼによる牛乳ゲルの作成

先行研究において、ゲル強度と嗜好性を総合して牛乳に対して約3%の生姜汁を添加することが適していることが指摘されていることから<sup>2,7)</sup>、牛乳50gに対して1.5 mLの生姜汁を添加することとした。(最終生姜汁濃度2.9%) 反応温度は、生姜プロテアーゼの最適温度である $60^{\circ}\text{C}$ とし、反応時間は予備実験により最も適当な反応時間と思われた60分とした。

直径48mmの円形容器に牛乳50gを入れ、生姜汁1.5 mLを添加して攪拌した後、直ちに $60^{\circ}\text{C}$ の恒温水槽に入れて60分間反応させた。反応終了後、直ちに氷冷水中に入れて反応を停止させた。ゲルの破断特性はゲル形成後約12時間 $4^{\circ}\text{C}$ で保存し、測定の前日に冷蔵庫から取り出して測定した。最終的なゲルの形状は直径48mm×高さ25.26mmの円柱形とした。

## 5. 破断特性の測定

レオメーター RE-3305 (株山電) を用いて破断応力、破断歪み率、破断エネルギー、脆さ応力、脆さ歪み率および脆さエネルギーを測定した。プランジャーは直径16 mmの円形のものを用い、圧縮速度1 mm/sec、クリアランスは試料の高さの75%とした。なお、測定値は、9回の平均値とした。

## 6. 生姜プロテアーゼの活性

生姜プロテアーゼの活性は大山らの方法<sup>8)</sup>を改良して実施した。1%カゼイン溶液 (pH7.0) 500  $\mu$ Lに生姜汁10  $\mu$ Lを添加し、60°Cで30分間反応させた後、4.0Mのトリクロロ酢酸 (TCA) 500  $\mu$ Lを添加して酵素反応を停止させた。室温で30分以上放置した後、20,000 $\times$ gで15分間遠心分離した上清を280 nmで吸光度を測定することによってプロテアーゼ活性を評価した。

## 7. 統計処理

測定結果は平均値 $\pm$ 標準誤差で表した。統計処理は、分散の正規性を検定し、正規性が認められない群との比較は、Mann-Whitney-U-test、正規性が認められたが、母分散が等しいと認められなかった2群間の比較は、Welche' s t-test、正規性が認められ、かつ母分散が等しいと認められた2群間の比較は、Student' s t-testを用いて検定した。有意水準は1% ( $p < 0.01$ ) とした<sup>9)</sup>。

## 実験結果

### 1. 生姜汁のプロテアーゼ活性

生姜汁のプロテアーゼ活性は、280 nmにおいて $\Delta 0.467 \pm 0.005$  (n=5) であった。

### 2. HMゲルとJMゲルのテクスチャー特性の比較

ゲルの破断応力[kPa]はHMゲルで $0.63 \pm 0.00$ [kPa]、JMゲルで $1.42 \pm 0.08$ [kPa]と、JMゲルにおいて約2.3倍の高値を示した。(図1.) 破断ひずみ率[%]はHMゲルで $12.5 \pm 0.1\%$ 、JMゲルで $14.5 \pm 0.3\%$ と、JMゲルにおいて約16%の高値を示した。(図2.) 破断エネルギー [ $J/m^3$ ]はHMゲルで $43.8 \pm 1.1$ [ $J/m^3$ ]、JMゲルで $111.7 \pm 0.5$ [ $J/m^3$ ]と、JMにおいて約2.3倍の高値を示した。(図3.) 脆さ応力[Pa]はHMゲルで $24.8 \pm 2.1$ [Pa]、JMゲルで $79.0 \pm 17.0$ [Pa]と、JMゲルにおいて約3.2倍の高値を示した。(図4.) 脆さひずみ率[%]はHMゲルで $2.59 \pm 0.20\%$ 、JMゲルで $2.26 \pm 0.26\%$ と、両者に有意な差は認められなかった。(図5.) 脆さエネルギー [ $J/m^3$ ]はHMゲルで $16.0 \pm 1.2$ [ $J/m^3$ ]、JMゲルで $30.1 \pm 3.4$ [ $J/m^3$ ]と、JMにおいて約2倍の高値を示した。(図6)

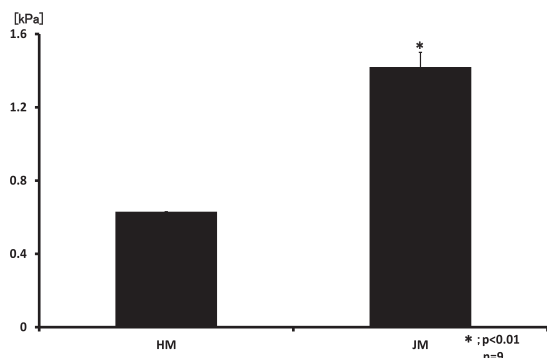


図1. HMゲルとJMゲルの破断応力

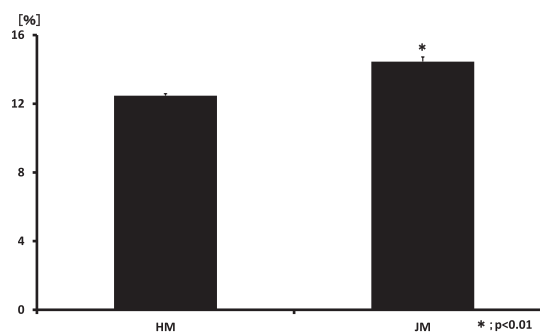


図2. HMゲルとJMゲルの破断歪率

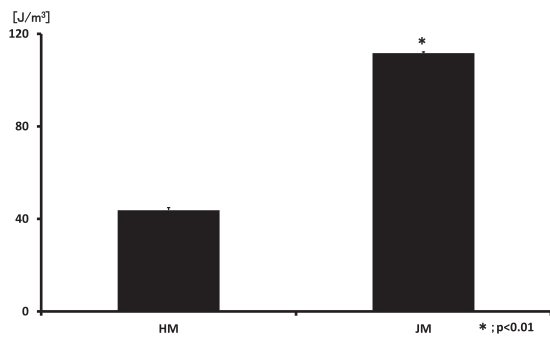


図3. HMゲルとJMゲルの破断エネルギー

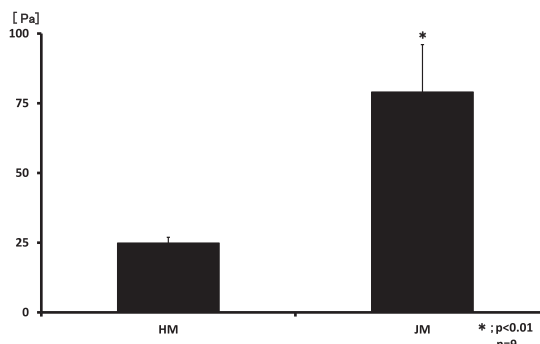


図4. HMゲルとJMゲルの脆さ応力

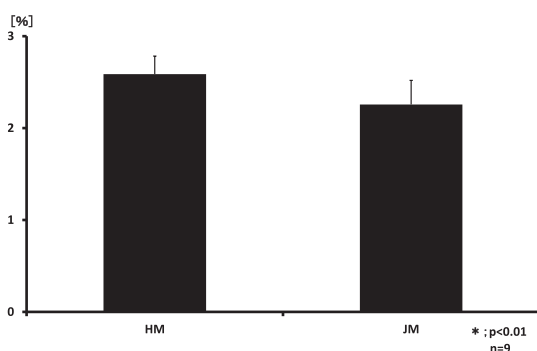


図5. HMゲルとJMゲルの脆さ歪率

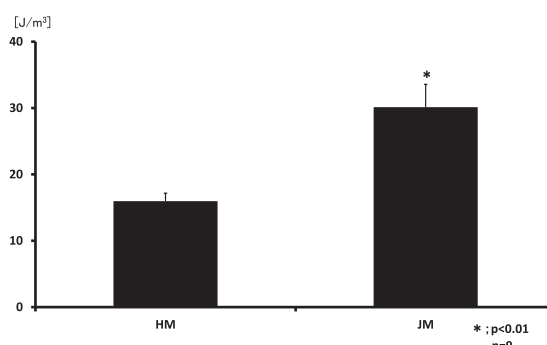


図6. HMゲルとJMゲルの脆さエネルギー

## 考 察

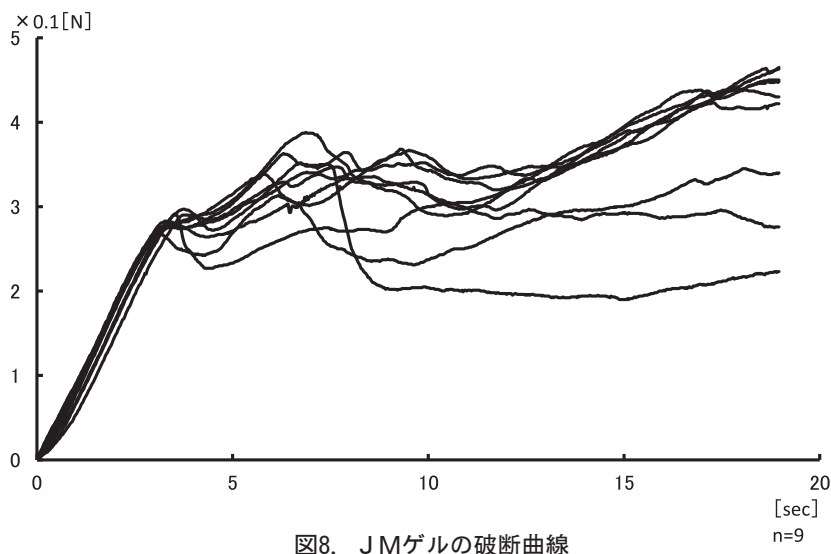
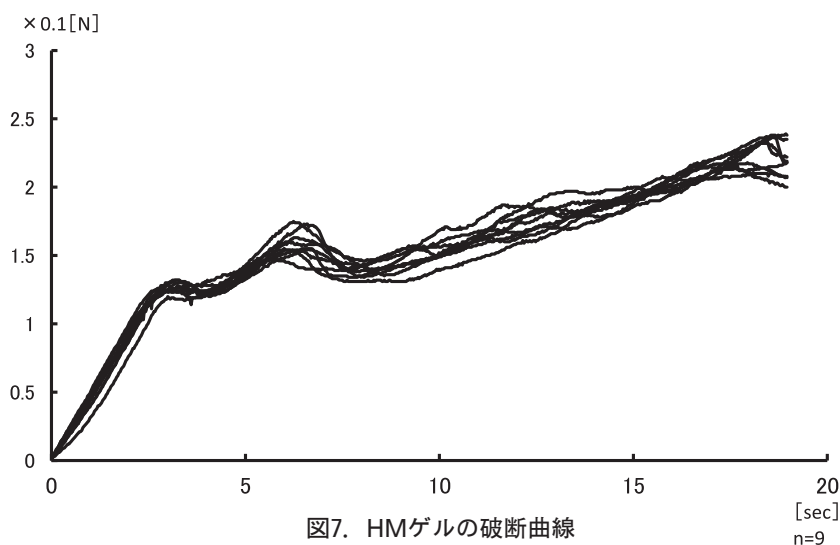
生姜汁による牛乳ゲルの形成に関する研究は、ゲルの形成機構に不明な点が多いことから、データが蓄積されきっているとは言いがたい。NishimuraとGoto<sup>3)</sup>は、生姜汁5mLに70℃に温めた牛乳50mLを加えて45で60分保持するという条件で牛乳ゲルを調整し、SS結合合成阻害剤であるヨードアセドアミドがゲルの形成を抑制することおよびEDTAとL-アスコルビン酸がゲル強度を増強させることを発見し、このゲルの形成にシステインプロテアーゼが関与していることを示した。ZHANG Han-bingら<sup>1)</sup>は、塩化カルシウムまたは塩化ナトリウムの添加でゲルの強度が増すこと、山本ら<sup>2)</sup>は砂糖の添加でゲルの強度が低下することを報告している。山本ら<sup>2)</sup>はまた、抗酸化作用があるL-アスコルビン酸がシステインプロテアーゼの活性中心にあるチオール基の酸化を防ぐことによって生姜プロテアーゼの活性を長時間持続させるのではないかと指摘している。前報<sup>7)</sup>において、JMゲルはHMゲルに比較して硬さ、付着性およびガム性の値が2～3倍の高値を示した。このことから、JMゲルは、HMゲルに比べて、3倍程度硬く、かつ口に付着しやすいゲルであると考えられた。また、テクスチャプロファイル曲線の形状において、JMゲルは、途中で大きく破断していたのに対し、HMゲルは余り破断していなかった。このことからJMゲルは硬くてサクサクした食感、HMゲルは柔らかくて滑らかな食感であることが予想された。

今回、ゲルの破断応力[kPa]はJMゲルにおいてHMゲルに比べて約2.3倍の高値を示し、脆さ応力[Pa]はJMゲルにおいてHMゲルに比べて約3.2倍の高値を示した。このことから前報<sup>7)</sup>において予想された、JMは硬くてサクサクした食感ゲル、HMは柔らかくて滑らかな食感のゲルを作ることが数値の上からも実証された。HMゲルとJMゲルの破断曲線を図7. と図8. に示した。HMゲルとJMゲルは共に、1回破断した後に、2回目の破断を起こした。このことから、HMゲルもJMゲルほどではないものの、サクサク感のあるゲルを作ることが分かった。HMゲルは9回

の繰り返しサンプルにおいてほぼ同じ形の破断曲線を描いた。その一方で、JMゲルは、どのサンプルも破断点まではほぼ同じ曲線を描いたが、破断後の波形にばらつきが見られた。このことから、JMゲルは破断される時の破壊のされ方が一定していないものと考えられた。また、JMゲルはHMゲルに比べて脆さ応力の標準誤差が非常に大きくなった。(図4.) これらの結果から、JMはHMに比べて硬くて脆く、破壊のされ方が一定していないゲルを作るものと考えられた。

今回用いた2種類の牛乳の成分組成を比較すると、JMはHMに比べてたんぱく質、脂質、カルシウムの濃度がそれぞれ1.26倍、1.29倍、1.2倍と、高い値であった。たんぱく質分解酵素キモシンを用いて牛乳を凝固させる場合、牛乳中たんぱく質であるカゼインを保護しているκカゼインがキモシンによって分解されることにより、カゼインがカルシウムイオンと結合して凝集することが凝固のメカニズムとなっている<sup>10)</sup>。このことから、JMのたんぱく質とカルシウムの濃度が高かったことが今回の結果の一因であると考えられた。

本研究は生姜汁による牛乳ゲル形成におよぼす牛乳種の影響を検討することを目的として、HMまたはJMを用いて牛乳ゲルを作成し、ゲルの破断特性であるゲルの破断応力、破断ひずみ率、破断エネルギー、脆さ応力、脆さひずみ率および脆さエネルギーを比較した。実験の結果、前報<sup>7)</sup>において予想された、JMは硬くてサクサクした食感ゲル、HMは柔らかくて滑らかな食



感のゲルを作ることが実証された。また、JMはHMに比べて硬くて脆く、破壊のされ方が一定していないゲルを作るものと考えられた。

## 文献

- 1) Han-bing Z, Fei W, Le-kai W (2005) Study on making cheddar cheese with the compounds of pepsin and ginger juice (in Chinese) . *Food Ferment. Industries.*, **31** (10) , 57-59.
- 2) 山本誠子, 杉内麻里子, 矢作有貴, 為積沙奈絵, 松岡博厚 (2010) 良質の乳カード形成に向けての生姜搾汁の牛乳凝固性についての研究 (第2報), 十文字学園女子大学人間生活学部紀要 **8** ,29-38.
- 3) Nishimura K, Goto M (2010) Identification of the Protease Involved in and the Effects of Vitamin C on Gel Formation in Ginger Milk Pudding (Jiang Zhi Zhuang Nai) .*J. Home Econ. Jpn.*, **61** (8) , 463-471.
- 4) 山本誠子, 奥村麻里, 大場智美 (2009) 良質の乳カード形成にむけての生姜搾汁の牛乳凝固性についての研究, 日本調理科学会誌 **42** (5), 309-314.
- 5) Su HP, Huang MJ, Wang HT, (2009) Characterization of ginger proteases and their potential as a rennin replacement. *J Sci Food Agric* ., **89** (7) , 1178-1185.
- 6) Hashim MM, Mingsheng D, Iqbal MF, Xiaohong C (2011) Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease. *Phytochemistry*, **72** (6) , 458-464.
- 7) 山田徳広 (2014) 生姜汁による牛乳ゲルの形成に及ぼす牛乳種の影響, 帝塚山大学現代生活学部紀要 10:49-56
- 8) 大山秀夫, 榎本俊樹, 光永伸一郎 (1997) キウイ果実プロテアーゼの多様性とコラーゲン分解活性, 日本栄養・食糧学会誌 **50** (1) : 57-62.
- 9) 市原清志 (1990) バイオサイエンスの統計学 (南江堂, 東京), pp.72-89.
- 10) 一島 英治 編 (1983) 食品工業と酵素 (朝倉書店, 東京), pp.