

IDFホームページ／<http://www.fil-idf.org/> ファクトシートより

IDF文書をJIDF事務局が仮訳

IDF ファクトシート 2013年5月

たんぱく質の測定

たんぱく質は、脂肪、乳糖および水と並んで乳の主要な成分です。たんぱく質は、ペプチド結合でつながった個々のアミノ酸から構成されています。大半の生物で普通に見られるアミノ酸は20個あります。異なるたんぱく質の分子は複雑な構造のなかに畳まれて液状乳のなかで様々な機能を発揮します。

たんぱく質は、乳の栄養的な価値という点では重要な成分です。通常、液状乳では約3.5%のたんぱく質が含まれています。相対的な溶解性をベースに、乳たんぱく質はカゼイン（コロイド状のミセルに含まれる）とホエーたんぱく質の二つに分類されます。4つの異なるカゼインたんぱく質 (α s1, α s2, β and κ -caseins)があり、乳たんぱく質全体の 80%を占めています。一方、ホエーたんぱく質は、主要なたんぱく質が4つあり (α -lactalbumin, β -lactoglobulin, bovine serum albumin, immunoglobulins) 乳たんぱく質全体の 20%を占めています。これらの主要なたんぱく質以外にもマイナーなたんぱく質が多数あります。乳および乳製品のたんぱく質測定は、乳製品の国際貿易を支える重要な作業です。

栄養的な目的のためにたんぱく質の品質を測定する方法と化学的に定義されたたんぱく質の品質を測定する方法を区別することは重要です。このファクトシートでは後者のみを扱います。

乳中のたんぱく質測定方法は3つの広いタイプに分かれます。

1. 総窒素の測定
2. 直接的なたんぱく質の測定

IDFホームページ／<http://www.fil-idf.org/> ファクトシートより

3. 間接的なたんぱく質の測定¹

上記の方法はそれぞれ利点と欠点があります。いずれもルーチンで用いられています。

総窒素の測定

窒素はたんぱく質の重要な成分で、個々のたんぱく質は特有の窒素量を含んでいます。1世紀以上も、食品分析者は食品のたんぱく質含量の総窒素を測定し、適切な「窒素係数」を用いてたんぱく質量を計算してきました。この係数はたんぱく質のアミノ酸配列にある窒素量から求められます。総窒素含量を測定する分析法は化学的に消化するか、または検体資料を燃焼し、そのあと得られた物質を、総窒素で測定可能な形に変換する工程となります。

総窒素値は乳たんぱく質の場合は6.38、乳ベースのインファントフォーミュラでは6.25の窒素転換係数を用いて総粗たんぱく質に転換されます。真のたんぱく質窒素は、トリクロロ酢酸で処理した検体の濾過液中の窒素含量を総窒素含量から差し引くことで得られます。結果（真のたんぱく質窒素）は変換係数（6.38）で掛け合わせと真のたんぱく質含量が得られます。

現在、国際的なスタンダードとなっている、いわゆるケルダール法とデュマ法は、それぞれ化学的な消化と燃焼を用います。これらの方針の利点は、両方とも高い信頼性と精度があることです。欠点は、専用の試験器具と専用要員を必要とするので経費と時間のかかる作業と言えます。これらの方法を用いると、乳中の95%の窒素がたんぱく質、残りは尿素のような非たんぱく態窒素として存在していることが分かります。

直接的なたんぱく質測定法

¹ 総窒素量に基づく方法も基本的に、間接法ですが、酪農乳業の試験室で広く受け入れられ用いられていることから、ここでは別タイプと位置付けます。

IDFホームページ／<http://www.fil-idf.org/> ファクトシートより

総窒素量の測定に加えて、特定のたんぱく質の成分を定量することも可能です。たんぱく質成分の測定には様々な方法があります。

- a **色素結合アッセイ**は、特異的にたんぱく質と結合する色素を利用します。たんぱく質の濃度に依存する色素の色の強度を測定することにより、たんぱく質含量を測定します。
- b **クロマトグラフィー法**は、大きさ、電荷または親水性／疎水性といった物理学的な性質に基づき元のたんぱく質を分離した後、各成分の相対的な量を測定します。サイズ排除クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーのような各種のクロマトグラフィー法が利用できます。たんぱく質が各成分に分離されると、そこからは紫外線、蛍光または質量分析法検知器のような様々な方法で測定可能となります。商業的に入手可能なたんぱく質スタンダードでキャリブレーションすることで定量できます。
元のたんぱく質を化学的に消化することで、個々のアミノ酸を定量化することができます。カゼインやホエータンパク質で一般的に観察されるマーカーとなる選抜アミノ酸の構成比率を用いて、乳および乳製品のカゼインとホエータンパク質量を推定することができます。
- c **電気泳動法**は、電場における電荷を用いてたんぱく質を分離します。電場においてアルカリ性または酸性のたんぱく質が同じ方法に遊泳するように、たんぱく質をドデシル硫酸ナトリウム(SDS)下で熱変性させます。SDSは変性により露出したたんぱく質の疎水基と結合し、全ての個々のたんぱく質に対する分子量と負荷がほぼ同じ関係になります。ポリアクリルアミドゲルでは、あらゆるたんぱく質が、電場がかかっている間に分子量により定まる距離をこのように遊泳します。分離された後、個々のたんぱく質の帯が色素結合により定量化されます。
- d **免疫法**は、抗原と抗原に対応する抗体の相互作用を用います。この方法はマイナーなたんぱく質の定量に適しています。

IDFホームページ／<http://www.fil-idf.org/> ファクトシートより

直接的なたんぱく質測定法

質量分析法は生産現場で、低コストで迅速に行うことができます。一貫性を確保するために化学的または参照法によるキャリブレーションに依存します。文献紹介欄に記載したように堅固に確認（バリデート）されたISO／IDFスタンダード法のお蔭で、特定の製品についてバリデートされた参考アッセイに根拠を与えることが可能です。液状乳製品または固体状乳製品について、近赤外線または中赤外質量分析が生産現場や独立した試験所で広く用いられています。

翻訳：JIDF事務局

文献

1. ISO 8968-1/2 | IDF 020-1/2:2001 – Milk – Determination of nitrogen content – Part 1/2: Determination of nitrogen content using the Kjeldahl method.
2. ISO 17997-2 | IDF 029-2:2004 – Milk – Determination of the casein-nitrogen content – Part 2: Direct method
3. ISO 8968-4 | IDF 020-4:2001 – Milk – Determination of nitrogen content – Part 4: Determination of non-protein-nitrogen content.
4. ISO 17997-1 | IDF 029-1:2004 – Milk – Determination of the casein-nitrogen content – Part 1: Indirect method
5. ISO 14891 | IDF 185:2002 – Milk and Milk Products – Determination of Nitrogen Content Routine Method by Combustion According to the Dumas Principle.

編者注：仮訳の正確性、完全性、有用性等についてはいかなる保証をするものではありません。参考資料として扱い、内容に疑義が生じた場合は英文の原文をご確認ください。