

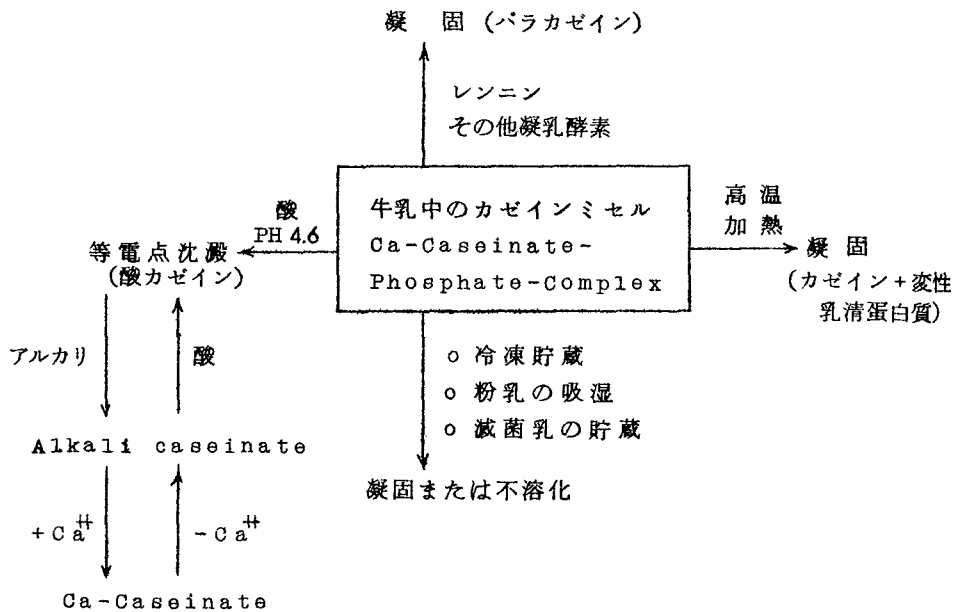
氏 名 (本籍)	い 伊 とう 藤 たか 敏 とし 敏 (愛媛県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 第 3 8 号
学位授与年月日	昭和 4 5 年 4 月 1 6 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
最終学歴	昭和 3 7 年 3 月 東北大学大学院農学研究科修士課程修了
学位論文題目	各種処理による牛乳カゼインの変化と 凝固現象に関する研究

(主 査)  
論文審査委員 教授 中西武雄 教授 志村憲助  
教授 柴崎一雄

# 論文内容要旨

## 序 論

カゼインは牛乳中においては、カルシウムや磷酸と複合体を形成し、カゼインミセルと呼ばれる安定なコロイド粒子として分散しているが、この系は種々の要因によって安定性を失なって凝固する。その変化は第1図に示すような関係にあり、牛乳カゼインの凝固の機構については、特にレンニン作用に関連して研究が進められ、多くの点が解明されてきた。しかし、その他の要因による凝固の機構や、カゼインに生ずる変化についてはまだ十分に知られていない点が多い。



第1図 牛乳凝固の諸相

牛乳を130℃以上の高温で加熱した場合には、加熱凝固を生ずるが、それ以下の温度での加熱においても、カゼインの変化に由来すると考えられる種々の変化が生ずる。牛乳の凝固は、また長期間冷凍したり、あるいは水分含量の高い粉乳を貯蔵している間においてもみることができ、この場合、両者は類似性の高い変化を示す。

本論文では、牛乳カゼインの凝固の諸相の中で、特に牛乳の加工処理法として重要な加熱あるいは冷凍、ならびに粉乳の貯蔵による凝固に関連して、これらの処理によって牛乳カゼインに生ずる物理化学的な変化を調べると共に、これらの変化が牛乳の凝固や安定性の変化とどのような関係にあるかを明らかにするために研究を行なった。

## 1 実験方法の考案と試料調製法の検討（第1編，第1.2章）

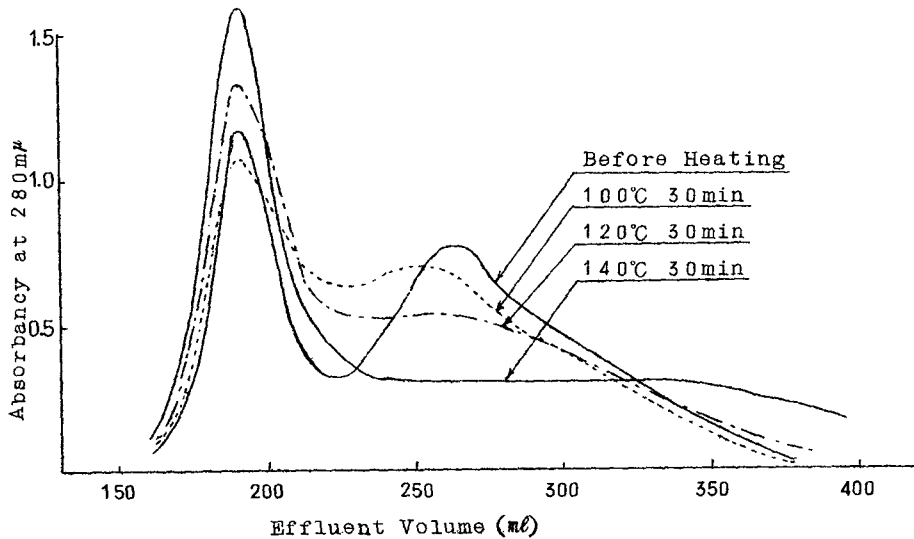
カゼインは普通の溶液中においては，強く会合し合った状態にあるため，このような条件のもとでは，電気泳動的に十分な分画を行なうことができないが，尿素溶液中においては，会合が阻止されて分画が良好になることが知られているので，尿素を含んだ緩衝液を用いて自由界面電気泳動を行なう方法について検討した。7 M 尿素を含んだ緩衝液中では， $\alpha_s$ -と $\beta$ -カゼインは単一峰として泳動するが， $\alpha$ -カゼインは $\alpha_s$ -と $\kappa$ -カゼインに分かれて泳動し， $\kappa$ -カゼインはいくつかの峰に分画され，いずれも不均質な成分であることが明瞭に示された。また，カゼイン溶液を加熱した場合の変化も，従来の方法と比較して明瞭に表われることが認められ，このような方法が，簡便でより解析力の高い方法としてカゼインの研究に使用できることが知られた。

次に本研究を通して使用した $\kappa$ -カゼインの試料は，尿素一硫酸法にしたがって調製したが，この方法が一般的に広く使用されているにもかかわらず，分離された $\kappa$ -カゼインの性質や，その調製法についてくわしく検討された報告がないので，これについて調べた。その結果， $\kappa$ -カゼインは精製過程において過度に攪拌を行なうとゲル化することや，精製を過度にくりかえすことによって， $\alpha_s$ -カゼインに対する安定化作用が低下し，成分の分解をまねくことを知り，これらの結果から，調製のための最適条件を定めた。

## 2 カゼインの加熱変化（第2編，第1章～第4章）

カゼインは比較的熱変化を起こしにくい蛋白質であるが，牛乳を加熱した場合の熱安定性の変化や加熱凝固現象は，カゼインの加熱変化と密接な関係を有しているため，カゼインにおよぼす加熱の影響について調べ，これらの変化と加熱による凝固現象との関係について検討した。

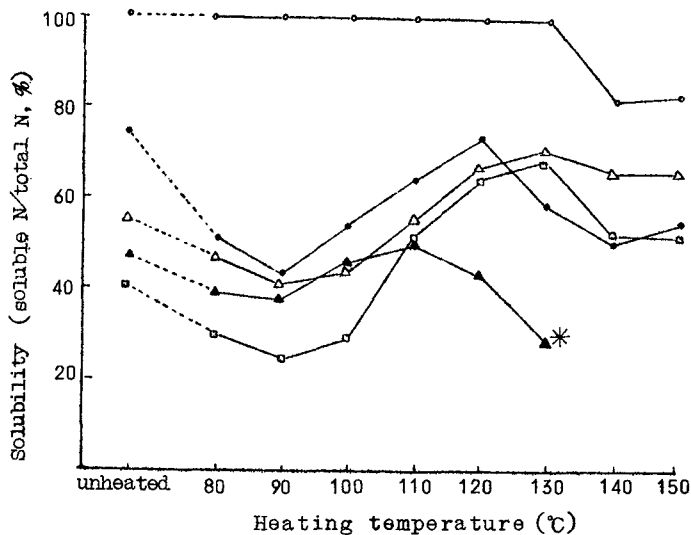
全カゼイン溶液を加熱した場合の変化は，デンプンゲル電気泳動図上では，100℃，30分以上の加熱で認められるようになり，この場合，カゼイン各成分間の境界が不鮮明となって，泳動図が拡散してくる。また，Sephadex G-200によるゲル濾過では，第2図に示すように，加熱によって最初に溶出される高分子区分の割合が増加することから，カゼインは加熱によって凝集するものと考えられた。ラクトースを添加して加熱した場合には，これらの変化は一層顕著となった。高温で加熱した場合には，カゼインは加熱分解を起こすが，このような変化については，アミノ酸組成の変化，非蛋白態窒素化合物，磷酸およびシアル酸の遊離量などの面から，加熱条件との関係において詳細にしらべた。



第2図 加熱カゼイン溶液のSephadex G-200によるゲル濾過  
 3×7.0cmカラム, PH 7.0 0.02M 磷酸緩衝液で溶出  
 温度 3°C 流速 1.2~1.5 ml/hr

次に、カゼイン溶液の安定性におよぼす加熱の影響を調べるため、Caに対する溶解度の変化と数種の添加物の影響について調べた結果は、第3図に示すとおりであり、加熱温度によって溶解度は特徴ある変化を示した。一方、 $\kappa$ -カゼイン溶液を同様に加熱し、 $\alpha_s$ -カゼインに対する安定化力を調べた結果は、第4図に示すように、全カゼインのCaに対する安定性とほぼ同様な変化を示すことが認められ、特に90°C附近での安定化力の低下は、塩類の添加によって顕著となることが知られた。これらの結果から、 $\kappa$ -カゼインのミセル安定化作用が、加熱条件によって特異的に変化することが、カゼインの安定化を左右し、結局は牛乳の熱安定性の変化と密接な関係を有するものと考えられた。なお加熱凝固を起こすような条件で牛乳を加熱した場合には、 $\kappa$ -カゼインはミセル安定化作用を喪失していると考えられる。

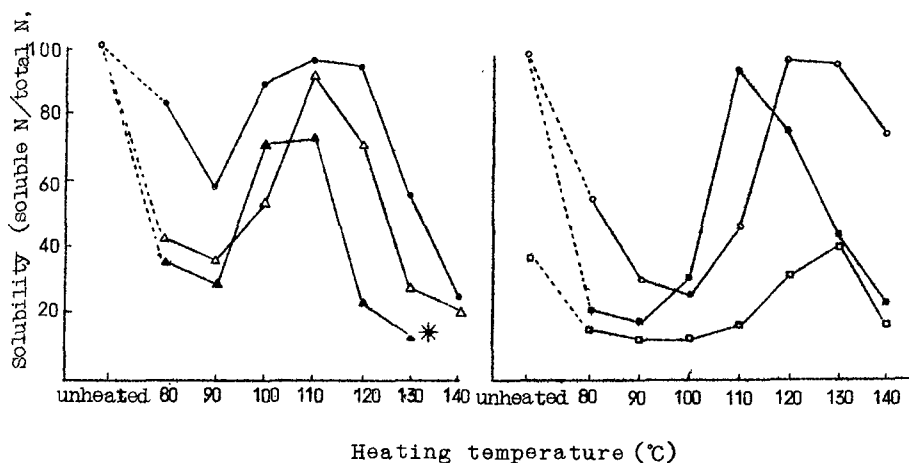
$\kappa$ -カゼインを加熱した場合の変化については、全カゼインの場合と同様に、デンプンゲル電気泳動法や、Sephadex G-200によるゲル濾過法にしたがって調べると共に、非蛋白態窒素や、シアル酸の遊離状態について調べたが、 $\kappa$ -カゼインの加熱変化は、一般に加熱温度の上昇に



第3図 カゼイン溶液のCaイオンによる沈澱におよぼす加熱の影響

(種々の添加物を含むカゼイン溶液を各温度に30分加熱し、  
CaCl<sub>2</sub>を0.022Mになるように添加)

- : 無添加    —○— : 0.01 M クエン酸ナトリウム    —▲— : 5% ラクトース  
—△— : 5% シュクロース    —□— : 0.025 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>    \* : 加熱後凝固



第4図 κ-カゼインのα<sub>S</sub>-カゼイン安定化作用におよぼす加熱の影響

(種々の添加物を含んだκ-カゼイン溶液を各温度に30分間加熱し、  
未加熱のα<sub>S</sub>-カゼインと混合し、さらにCaCl<sub>2</sub>を添加)

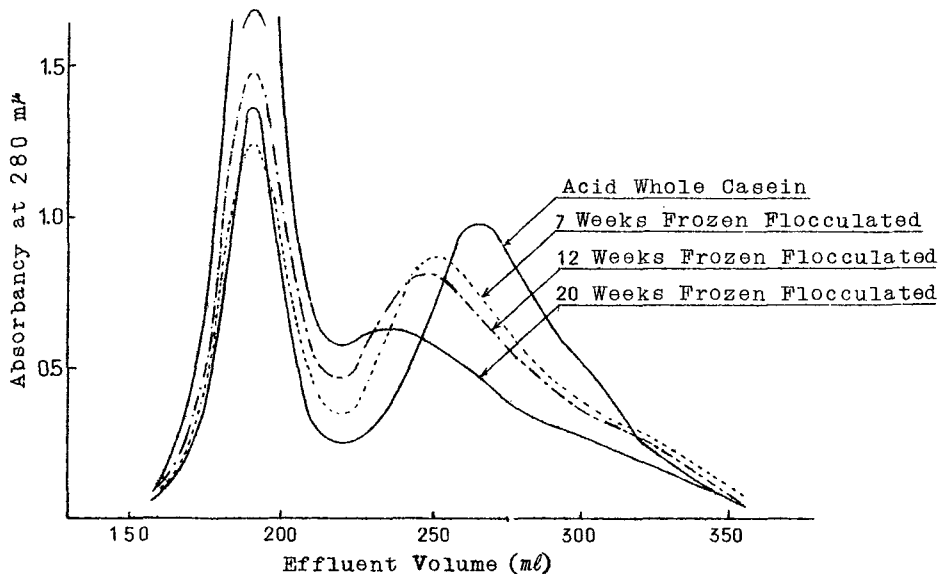
- : 無添加    —○— : 0.01 M クエン酸ナトリウム    —▲— : 5% ラクトース    —△— : 5% シュクロース  
—■— : 0.02 M NaCl    —□— : 0.02 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>    \* : 加熱後凝固

したがって顕著になるものであり、その変化には、レンニン作用による場合のような特異性は見だされなかった。

一方、カゼインの加熱分解によって生成する低分子成分のなかには、牛乳や乳製品の風味成分と関係有する揮発性成分の含まれることが考えられたので、140℃で60分加熱したカゼイン溶液より、水蒸気蒸留によって得られる揮発性カルボニル化合物について検索を行ない、エタナール、プロパナール、2-メチルプロパナール、3-メチルブタナールおよび2-メチルブタナールの存在を確認し、メタナール、アセトン、クロトナールの存在を推定した。これらの成分は、カゼインより加熱分解によって生成する風味成分として考慮しなければならない。

### 3 牛乳の冷凍による不溶化と、粉乳の吸湿による不溶化現象 について (第3編, 第1章~第3章)

牛乳を冷凍している間に生ずる不溶化物についてデンプン電気泳動を行なった結果、この主成分はカゼインであることが確かめられ、牛乳中のカゼインミセルとほぼ同量のCaやPを含んでいることから、カゼインミセルが不溶化したものと考えられた。しかし、7M尿素を含んだ緩衝液を用いての自由界面電気泳動図では、不溶化物は4~5個の峰に分画され、またSephadex G-200によるゲル濾過の結果では、第5図に示すように、不溶化の進行にともなって最初に溶出さ

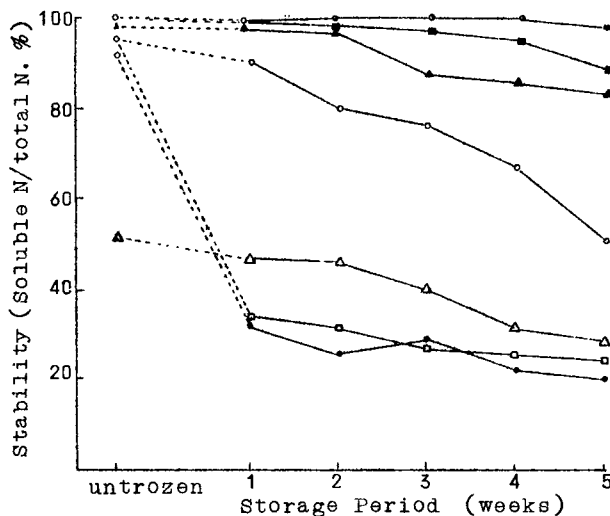


第5図 牛乳の冷凍によって生じた不溶化蛋白質のSephadex G-200によるゲル濾過  
3×70cmカラム使用, PH 7.0 0.02M 磷酸緩衝液で溶出  
温度 3℃ 流速 12~15ml/hr

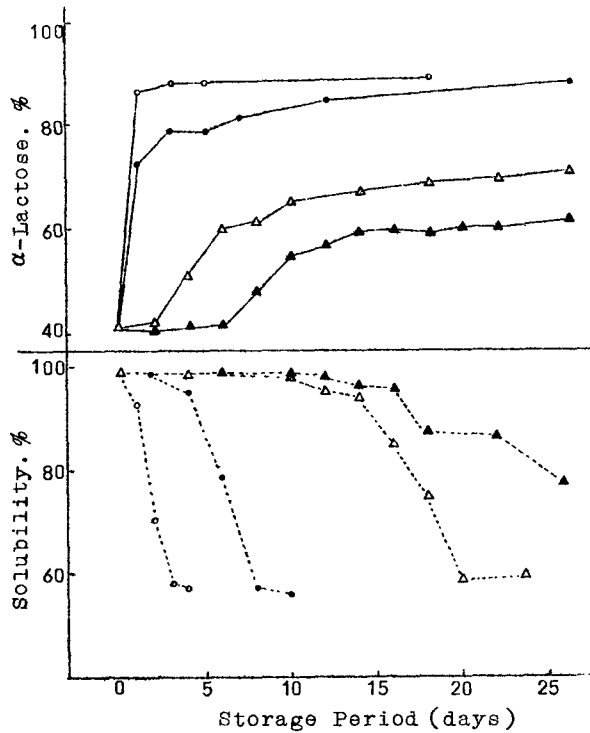
れる高分子区分の割合が増加する傾向を示した。これらの結果から、不溶化の過程において、カゼインは新たな会合または凝集を起こすことが考えられた。

不溶化の機構をしらべるために、 $\kappa$ -カゼイン単独溶液を冷凍して $\alpha_S$ -カゼインに対する安定化力の変化を調べた結果では、冷凍によって安定化作用が低下するようにはなかった。しかし $\alpha_S$ -と $\kappa$ -カゼイン混合溶液の安定性が温度によって変化し、冷凍することによって失なわれることなどから、牛乳カゼインの冷凍による不溶化の機構について推論した。 $\alpha_S$ -と $\kappa$ -カゼイン混合溶液の冷凍中における安定性に対する添加物の影響をしらべた結果では、ヘキサメタリン酸、クエン酸ナトリウムおよびラクトースが不溶化防止に有効であることが認められた(第6図)。

粉乳の貯蔵中における溶解度の低下は、第7図に示すように、水分含量の高いほど早く現われるが、ラクトースの結晶化をともない、特に溶解度の低下に先立ってラクトースが結晶化するという関係にあることが認められた。不溶化物はデンブengel電気泳動の結果、冷凍乳の不溶化物と同様に、カゼインが主成分であり、またほぼ同量のCaやPを含んでいることが認められた。さらに7M尿素を含んだ自由界面電気泳動図や、Sephadex G-200による溶出曲線の変化も、冷凍乳の不溶化物と同じ傾向の変化を示したことから、両者は、同じ機構によって生ずる現象であろうと考えられた。但し、粉乳を貯蔵した場合には、同時に褐色化現象が進行するため、それともなって蛋白質に生ずる変化は多少異なっている。



第6図 Caイオンを含んだ $\alpha_S + \kappa$ -カゼイン溶液の冷凍に対する安定性と添加物の効果  
 (種々の添加物を含んだ $\alpha_S + \kappa$ -カゼイン溶液 ( $\alpha_S : \kappa = 5 : 1$ ) を $-8^\circ\text{C}$ で冷凍  
 —○—: 0.02M CaCl<sub>2</sub>, —○—: 0.02M CaCl<sub>2</sub> + 5%ラクトース, —△—: 0.02M  
 CaCl<sub>2</sub> + 0.2%ヘキサメタリン酸, —▲—: 0.02M CaCl<sub>2</sub> + 0.01Mクエン酸ナトリウム  
 —△—: 0.02M CaCl<sub>2</sub> + 0.025M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, —▲—: 0.02M CaCl<sub>2</sub> + 0.01Mクエン酸  
 ナトリウム + 5%ラクトース —□—: 0.02M CaCl<sub>2</sub> + 0.02M NaCl



第7図 吸湿した粉乳の貯蔵中における溶解度およびラクトース結晶量の変化  
 ○：水分含量9.71%，●：9.28% △：8.24% ▲：7.57%

### 総括

牛乳を加熱あるいは冷凍したり，粉乳を貯蔵した場合に生ずる安定性の変化や凝固現象に関連して，これらの処理にともなってカゼインに生ずる変化について研究を行なった。

カゼインの加熱変化については，加熱条件にしたがって種々の面から検討を加えた。一般的には，加熱温度の高いほど，また加熱時間の長いほど，その変化は顕著となるが，特にκ-カゼインのミセル安定化作用は，加熱温度によって特異的な変化を示すことが知られ，κ-カゼインのこのような性質が，牛乳の凝固や熱安定性の変化などと密接な関係を有しているものと考えられた。

牛乳の冷凍あるいは吸湿した粉乳の貯蔵中に生ずる不溶化物は，カゼインであることが認められ，また両者の性質は類似していることが知られた。このような処理によって牛乳が不溶化する原因は，いずれもκ-カゼインのミセル安定化作用の喪失によるものではなく，ラクトースの結晶化などのために，カゼインミセルが塩類の影響を直接こうむって，コロイドとしての安定性を失なうようになるためと考えられた。カゼインはまた，このような処理によって不溶化する過程において，新たな会合あるいは凝集を起こすことが認められた。



## 審査結果の要旨

本研究は牛乳の加熱による凝固，熱安定性の変化と冷凍または粉乳の吸湿による不溶化現象に関連して，牛乳カゼインに生ずる物理化学的变化を調べ，それらの変化が凝固とどのような関係を有するかを明らかにしたものである。

第1編においては，7 M尿素を含む自由界面電気泳動法を考案し，その応用結果を検討してこの方法がカゼインの研究に効果的に応用できることを確認した。また，K-カゼインの性質を調べ，その尿素-硫酸法による分離法の最適条件を定めた。

第2編においては，先づ，カゼインの単独溶液の加熱による変化をしらべ，加熱温度とカゼインの変化との関係を明らかにし，またカゼインの加熱によるアミノ酸組成の変化，非蛋白態窒素，シアル酸，磷酸の遊離についても調べた。次に，カゼイン溶液の安定性に及ぼす加熱の影響を調べるため，Ca に対する溶解度の変化と添加物の影響について調べたが，加熱温度によって溶解度は特徴ある変化を示し，一方K-カゼイン溶液を加熱し， $\alpha_s$ -カゼインに対する安定化力を調べた結果，全カゼインのCa に対する安定性と同様の変化を示し，特に90℃付近での安定化力の低下は塩類の添加により顕著となることを認めた。これらの結果から，K-カゼインのミセル安定化作用が加熱条件によって特異的に変化することが，カゼインの安定性を左右し，結局牛乳の熱安定性と密接に関係し，加熱凝固を生じた場合は，K-カゼインはミセル安定化作用を喪失していると考えた。カゼインを140℃60分加熱した場合生ずる揮発性カルボニル化合物をも検索した。

第3編においては，牛乳の冷凍貯蔵中に生ずる不溶化物はデンプンゲル電気泳動により主成分はカゼインであることが確かめられ，7 M尿素を含む緩衝液による自由界面電気泳動で不溶物は4～5個の峯に分画され，Sephadex G-200 によるゲル濾過の結果不溶化の進むに伴い最初に溶出される高分子区分が増加し，不溶化の過程でカゼインの会合または凝集を生ずると推定した。

粉乳の貯蔵中における溶解度の低下は水分含量の高いほど早く現われるが，乳糖の結晶化を伴い，特に溶解度の低下に先立って，乳糖が結晶化することが認められた。不溶化物はカゼインが主成分であり，凍結乳の不溶化物と同じ機構によって生ずると推定した。

以上，本研究は牛乳を加熱，凍結あるいは粉乳を貯蔵する場合に生ずるカゼインの安定性の変化と凝固現象の起る機構について明らかにし，新知見を得たもので，酪農科学の発展に寄与するとともに乳業に貢献するところ大であり，博士の学位を授与するに充分に価値あるものと判定した。