

## 乳泥中の巨大カゼイン・ミセルの研究

吉 田 繁

(広島大学水畜産学部食品工業化学科)

### The studies on Macro-Casein Micelles in Separator Sludge

Shigeru YOSHIDA

*Department of Food Chemistry and Technology, Faculty of Fisheries  
and Animal Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama*

(Tables 1-2, Plates 1-3)

乳泥はいわゆる separator slime 或いは separator seludge と称されるもので、牛乳処理場で遠心分離式の清浄化機又はクリーム分離機のボウル部分に生ずる残渣を指している。

この乳泥は、従来は体細胞の剥離物、白血球、凝固蛋白質、フィブリン、細菌などの微生物、塵芥などと考えられてきたが、搾乳直後の新鮮乳から脱脂乳とクリームを分離するときに生ずる乳泥中に多量のカゼインが存在し、さらに新鮮個乳から実験室で分離した乳泥に相当する沈澱物中にも多量のカゼインが存在することが判った。さらにこの乳泥中に存在するカゼインを電子顕微鏡で観察した結果、直径 300 m $\mu$  から 1000 m $\mu$  におよぶ巨大なカゼイン・ミセルが存在することが判ったのでここに報告する。

尚この研究を行なうに当って森永乳業中央研究所長沢太郎、津田瑞生氏の御協力に対し深甚の謝意を表す次第である。

#### 試 料

乳泥 I は広島大学水畜産学部附属牧場のホルスタイン種の乳牛から Alfa-laval 製ミルクカーで搾乳した牛乳を搾乳後直ちに 10°C に冷却し、岩井酪農機械製作所製 M 6 型クリームセパレーターで 40°C に加温した牛乳を遠心分離してボウル内壁に附着した沈澱物を採取して乳泥 I とした。

乳泥 II は同附属牧場のホルスタイン種の個乳を搾乳後直ちに佐久間製作所製 90 E 2 型遠心分離機を使用して、3000 rpm, 2300 g で 30 分遠心分離し、遠心管底部に沈澱した沈澱物を採取し、これを乳泥 II とした。

#### 実 験 方 法

乳泥 I, 乳泥 II の試料は夫々脱イオン水で懸濁し、必要に応じて N NaOH を添加して pH 6.5~6.7 に調整し、この懸濁液中の蛋白質含量、カゼイン態蛋白質含量、Ca, Mg, P の各含量を定量して乳泥中のそれらの含有量を算出した。蛋白質の定量はマイクロケルダールの常法を、カゼイン態蛋白質の定量は懸濁液を 20°C に保ち、N-HCl で pH 4.6 に調整して生じた沈澱物をマイクロケルダール法で測定した。Ca, Mg はキレート適定法<sup>1)</sup>、P は懸濁液を濃硫酸で湿性灰化したのち Allen の方法<sup>2)</sup>で測定した。水分、灰分の測定は常法に従った。

電子顕微鏡による乳泥中のカゼイン・ミセルの観察に当っては乳泥 II を脱イオン水で懸濁した懸濁液にホルマリンを 0.6% になるように添加し、4°C で一夜固定したのち蒸留水で透析して塩類、糖、過剰

のホルマリンを除去したのち、試料を再蒸留水で50倍に稀釈し、ネブライザーによりコロジオン被膜付シートメッシュ上に噴霧し室温で乾燥した。この試料に Cr-shadowing, carbon coating した。使用した蒸着装置は日本電子製作所製 JEE 4A 型で、電子顕微鏡は日本電子製作所製 JEMT 6S 型であった。

### 実験結果

1. 小型のクリームセパレーターを使用して牛乳から脱脂乳とクリームに分離する際に生ずる乳泥 I の水分、蛋白質、カゼイン態蛋白質、灰分の組成は第 1 表に示す通りである。それによると乳泥 I の蛋白質含量は 18.24% でそのうちカゼイン態蛋白質は 13.14% で、非カゼイン態蛋白質は 5.10% であった。カゼイン態蛋白質と非カゼイン態蛋白質の比は 72 対 28 で、乳泥 I の主な成分は水分を除くとカゼイン態蛋白質であることが判った。

Table 1. Composition of Separator Sludge Prepared with Cream Separator

Water	74.67%
Total Proteins	18.24%
{ Casein	13.14%
{ Non-casein Proteins	
Ash	3.02%
Other Substances	4.07%

2. 実験室において遠心分離機を用いて脱脂乳を調製するときにガラス遠心管底部に沈澱する沈澱物を乳泥 II とし、その水分、蛋白質、カゼイン態蛋白質、非カゼイン態蛋白質、灰分含量及び蛋白質 1gr 当りの Ca, Mg, P 含量を測定した結果は第 2 表に示す通りであった。それによると乳泥 II の蛋白質含量は 17.63% でそのうちカゼイン態蛋白質 12.86%、非カゼイン態蛋白質 4.77% であり、さらに灰分は 2.57% であった。この乳泥の水分は 76.19% であったので水分を除くとカゼインが乳泥中の主成分であり、カゼイン態蛋白質と非カゼイン態蛋白質の比は 73 対 27 であった。さらに乳泥中の蛋白質 1gr 当りの Ca, Mg, P 含量は Ca 35.73 mg, Mg 4.79 mg, P 20.64 mg であった。

Table 2-1. Composition of Separator Sludge Prepared with Centrifugator

Water	76.19%
Total Proteins	17.63%
{ Casein	12.86%
{ Non-casein Proteins	
Ash	2.57%
Other Substances	3.61%

Table 2-2. Ca, Mg and P Contents of Separator Sludge Prepared with Centrifugator

Ca	35.73 mg per 1 gram of protein
Mg	4.79 mg per 1 gram of protein
P	20.64 mg per 1 gram of protein

3. 新鮮個乳の脱脂乳及びその乳泥すなわち乳泥 II の電子顕微鏡による観察の結果は第 1 図から第 6 図に示した。第 1 図から第 3 図までは乳泥部分の電子顕微鏡写真 (2 万倍) を示し、第 4 図から第 6 図に脱脂乳部分の電子顕微鏡写真 (2 万倍) を示した。脱脂乳中にみられるカゼイン・ミセルは 200~250 m $\mu$

以下の直径を有しているがそれ以上の大型のカゼイン・ミセルは認められなかった。乳泥部分の電子顕微鏡写真によるとそのほとんどが 300 m $\mu$  以上の巨大なカゼイン・ミセルで、特に大型のものでは 500 m $\mu$  から 700 m $\mu$  におよぶ粒子が存在し、さらに数個の粒子が会合したように見える 1000 m $\mu$  をこえる巨大な粒子も認められた。

## 論 議

正常乳から分離される乳泥は従来は乳汁中に混入してきた異物であると考えられてきたが、この実験結果によると乳泥の主成分は蛋白質で、しかもカゼインであることが判った。すなわちクリームセパレーターで分離した乳泥 I においてはその組成のうち水分を除いた全固形分のうちカゼインの占める割合は 51.9% であり、さらに遠心分離機で分離した乳泥 II の試料においてはその組成のなかの水分を除いた全固形分のうち 54.1% がカゼインであることから乳泥の主成分はカゼインであると云えよう。乳泥 I, 乳泥 II の両試料ともその蛋白質中に占めるカゼインの割合はいずれも 72.0% と 72.9% であったが、著者の他の各種個乳から得た乳泥中のカゼインの含有量は 81~85% と云う値を得ている<sup>3)</sup>。さらにこの蛋白質を D. E. A. E. セルローズカラムクロマトグラフィーで検討したところ乳泥の主成分がカゼインであることを確認している<sup>3)</sup>。

カゼインの定義は「乳中の蛋白質で pH 4.6, 20°C で沈澱するリンを含んだ蛋白質である」と American Dairy Science Association で定めている<sup>4)</sup>。それ故に牛乳を遠心分離して得られた沈澱物すなわち乳泥を蒸留水に懸濁し、必要に応じて N-NaOH を添加して溶解したのち pH 4.6, 20°C で得られた沈澱物は牛乳中のカゼイン蛋白質であると同定してよいと思われる。

乳泥中の Ca, Mg, P について検討したところ乳泥中の蛋白質 1gr につき Ca 35.73 mg, Mg 4.79 mg, P 20.64 mg と云う値が得られたがこの値はカゼイン・ミセルがミセル中のカゼイン蛋白質 1gr につき Ca 30~35 mg, Mg 2.6 mg, P 20~24 mg と云う数値<sup>5)</sup> と近似している。

電子顕微鏡による観察の結果は 300 m $\mu$  から 700 m $\mu$  或いは 1000 m $\mu$  にも達する球形の粒子が存在することが確認されたので、乳泥中存在するカゼインは Ca, Mg, P の含有量からミセルの状態で存在していると説明出来るが、さらに電子顕微鏡写真によると粒子を形成しているので乳泥中のカゼインはミセルの状態であり、しかも非常に巨大な粒子であると考えられる。

カゼイン・ミセルは牛乳中では普通 30~300 m $\mu$  の直径の球状を呈していて 40~160 m $\mu$  の大きさがもっとも多いと云う報告<sup>6)</sup> や 20~200 m $\mu$ <sup>7)</sup>, 20~240 m $\mu$ <sup>8)</sup> の範囲であると云う意見が多いが、牛乳中のカゼイン・ミセルの最大のものは 800 m $\mu$  に及ぶものがあると云う報告<sup>9)</sup> もある。

牛乳中存在するカゼイン・ミセルはこのように 20~800 m $\mu$  にも及ぶ広範囲な大きさの直径を有しているがコロイド粒子の安定な分散力を保つためには小型のカゼイン・ミセルの方が適していると考えられ巨大なカゼイン・ミセルは牛乳から脱脂乳を分離する程度の遠心力の場ですら容易に沈澱してしまうし、さらにこれに不安定なカゼイン・ミセルも同様に沈澱して乳泥を形成すると考えられる。

脱脂乳中にある小型のカゼイン・ミセルと大型のカゼイン・ミセルとの関係や、球形のカゼイン・ミセルと数個の粒子が会合したように見えるカゼイン・ミセルとの関係については今後の問題に残し度い。

## 要 約

ホルスタイン種の牛乳から分離した乳泥を検討した結果は次の通りである。

- (1) 乳泥の主成分はカゼインで、全固形分のうち 52~54% がカゼインであった。
- (2) 乳泥中の Ca, Mg, P 含量はカゼイン・ミセルの含量と近似していて、蛋白質 1gr 当り Ca 35.73 mg, Mg 4.79 mg, P 20.64 mg であった。
- (3) 乳泥の電子顕微鏡写真によると直径 300 m $\mu$  以上で、700 m $\mu$  から 1000 m $\mu$  にも達する巨大なカゼイン・ミセルが存在した。このカゼイン・ミセルは粒状に単独で存在するミセルと、いくつかが凝

集している状態のミセルが存在した。

#### 引用文献

- 1) KAMEL, T. H.: *J. Sci. Food Agric.*, **8**, 157, (1960)
- 2) ALLEN, R. J. L.: *Biochem. J.*, **34**, 858, (1940)
- 3) 吉田 繁: 未発表
- 4) THOMPSON, M. P. TARASSUK, N. P. JENNESS, R. LILLEVIK, H. A. ASHWORTH, U. S. and ROSE, D.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 159, (1965)
- 5) 吉田 繁: 広島大学水畜産学部紀要, **6**, 499, (1966)
- 6) NITSCHMANN, H.: *Helv. chim. acta.*, **32**, 1258, (1949)
- 7) 遊佐孝五: 日畜会報, **27**, 197, (1957)
- 8) 齊藤善一: 北海道大学農学部紀要, **54**, 117, (1964)
- 9) HOSTETTLER, H. and IMHOF, U. K.: *Milchwiss.*, **18**, 2, (1963)

#### SUMMARY

Macro-casein micelles were observed in the separator sludge, prepared from raw milk, using electron microscope. The size of these casein micelles were about 300 m $\mu$  to 1000 m $\mu$  in diameter.

The constituents of separator sludge were 76.19% water, 17.63% protein (12.86% casein and 4.77% non casein protein), 2.57% ash and 3.61% other materials. This separator sludge contained 35.73 mg Ca, 4.79 mg Mg and 20.64 mg P per 1 gram of the protein. Casein was the principal component in the protein of this separator sludge or in the sludge itself except water.

Casein must exist in raw milk as micelles of various size distribution and only large size micelle removed to separator sludge by centrifugation of cream separator.

#### EXPLANATION OF PLATES

##### Plate 1

Fig. 1. Electron micrograph of macro-casein micelles in separator sludge. ( $\times 20000$ )

Fig. 2. The same as Fig. 1

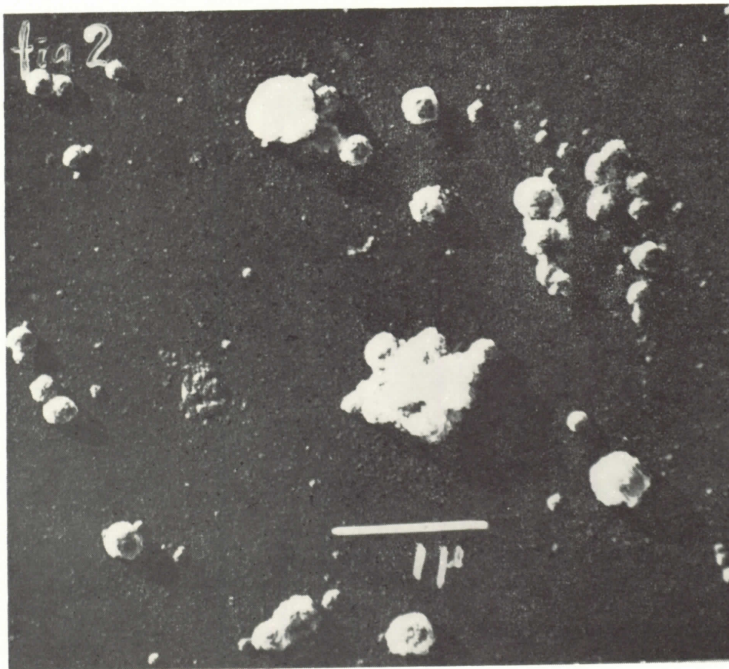
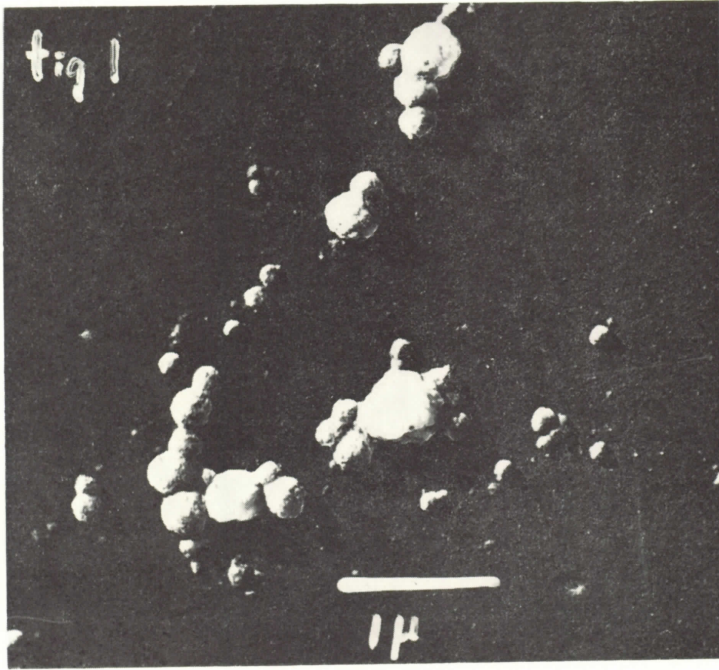


Plate 2

Fig. 3. The same as Fig. 1

Fig. 4. Electron micrograph of casein micelles in skim milk ( $\times 20000$ )

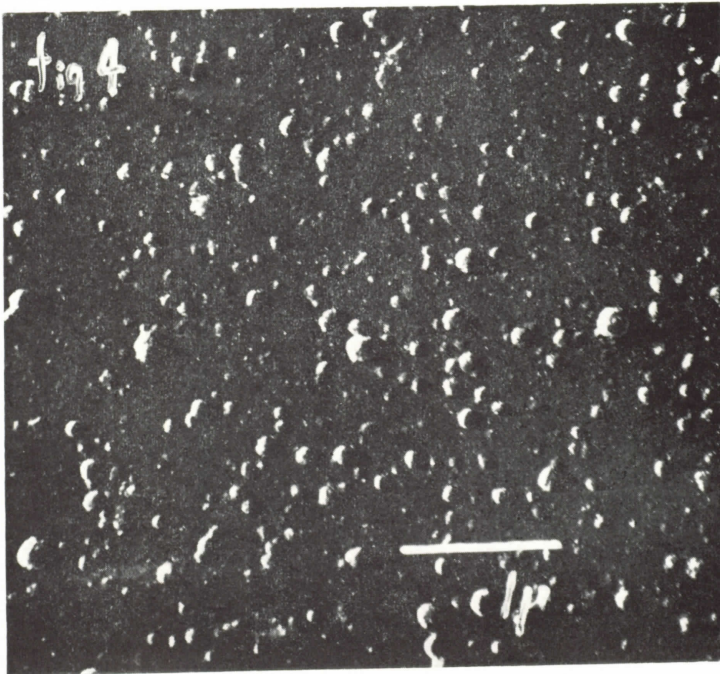
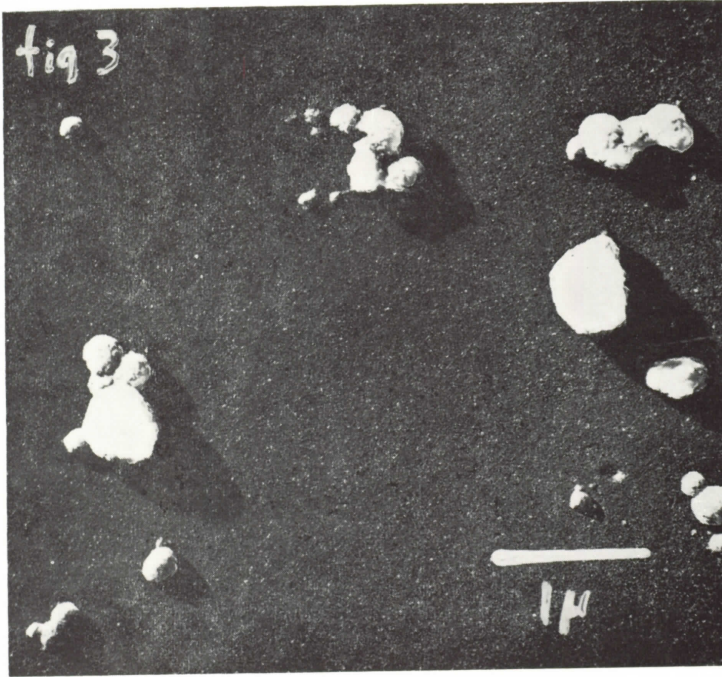




Plate 3

Fig. 5. The same as Fig. 4

Fig. 6. The same as Fig. 5



