牛乳類に対するペプシンの凝固作用について

On the Clotting of Milks by Pepsin

(昭和 34 年 6 月 4 日受理)

森 日出男
(Hideo Mori)

There are many reports on the relationship between the time necessary for clotting of milk *in vitro* by pepsin, papain, or rennin and the firmness of curd formed *in vivo*, and also on the fact that the longer this time is, the better the digestibility of the curdis.

The influence of various preparations or additives on the clotting time of dried skimmed milk solution by pepsin was investigated.

Following results were obtained:

- 1) clotting time was lengthened by a longer mixing or boiling time.
- 2) the addition of saliva to liquid milk lengthened the clotting time, the addition of salts, on the contrary, shortened, sugar did not show the decided results.

緒 言

rennin や pepsin などは牛乳類を凝固することは古くから知られていることであり¹⁾, その *in vitro* の凝固に要する時間は *in vivo* に胃の中で形成される curd の tension と大きな相関があることも既に多くの研究がある²⁾。

学校給食用には乾燥脱脂ミルクが古くから使用されているが、液体乳に調製する際のミキサーの処理時間、加熱時間、砂糖または食塩の添加などについて一定のものが無いが、これらの差異は凝固時間にいかなる差を生ずるかを Pepsin を用いて各々相対値を測定し併せて市乳も材料として測定し参考に供した。

実 験

Pepsin: 使用した Pepsin は黒石製薬製。淡黄色でやや特異の臭あり、著しく吸湿性。その蛋白分解力価は Gross 法³⁾ で 667 であった。使用した Casein は広瀬薬品製。Pepsin 溶液は牛乳類により大いに差があるが大略 5~30 分程度で凝固がおこるよう 0.001~0.01g/cc の溶液としその液を 0.5~1.0cc 使用した。

測定方法: 測定温度は体温に近い点及び従来の文献など⁴⁾ により 35°C にした。100cc 容量のエrlenmeyer フラスコに供試乳 10cc をとり予め 35°C 以上の水温* の水槽に 30 秒間浸して振とう、後とり出して Pepsin 液 1~0.5cc 注加して 35°C の水槽に浸し時々振とうしながら肉眼で明らかに凝固したと認められるまでの時間を測定した。

乾燥脱脂ミルク液の調製法: 文部省の指導は 22g を溶解して 180cc にするのであるが、実際に学校では 22g に水 180cc を加える場合が多い。(この際、液は全量 194~197cc 程度になる。) この実験においては前者の例により、試料 30.56g を溶解して 250cc とし逆流冷却器を付して沸騰水中に 10 分間漬けたちに流水中で冷却して供試した。

参考実験

(イ) Pepsin 溶液の濃度及び処理温度による凝固力の差異について

市乳を材料とした場合の Pepsin 液の濃度と処理温度による凝固状態の変化は第 1 図のようであつた。時間測定は、2 回数値が合えばその値をとり、そうでないときは 3 回行いその平均値をとつた。

(ロ) 各種牛乳類の凝固時間

各種牛乳類を前記方法で凝固時間を測定したが材料により全く多種多様であつた。その例をあげると㉔、㉕のごとくである

この酸度は常法により乳酸として算出。水分は 100~102°C 3.5hrs 加熱における減量を以つてした。

学校給食用乾燥脱脂ミルクは殆んどその大半が輸入品

* 35°C 以上の水温というのは予熱水槽の水温であり、そこから取り出してビュレットで Pepsin 液(室温)を 0.5~1cc 注加したとき(約 8~10 秒を要す)試験牛乳が丁度 35°C になるように予熱水槽の温度を定める。例えば室温 15°C、水温 12°C (Pepsin 液温度) 位であれば予熱水槽の水温を約 42°C にしておく。

第1図

(イ)は75°C 15 秒処理市乳 酸度 1.92cc

(ロ)は75°C 15 秒処理市乳(ホモ) " 2.21cc

(酸度は10ccの牛乳を中和するのに必要な N/10 NaOH の cc 数) (ペプシン液はいづれも 1cc)

④ 市乳の例

Pepsin 液 0.5cc (0.01g/cc)

事 項	凝固時間	処理場における処理方法	酸度
処理業者名			
A 社	60分でno	62~65°C30分	1.82cc
B 社	60分でno	75°C15秒(加工乳)	2.00
C 社	39分	75°C15分(ミネラル強化)	1.91
B 社	18秒	75°C15秒	1.82
C 社	5分20秒	75°C15分(Jersey)	2.27
B 社	35秒	75°C15秒(ホモビタ)	2.10
C 社	10分	75°C15分(ホモ)	1.91

であり関税定率法により衛生試験以外の理化学試験のために採取使用することは禁止されているのでややまとまった数量の試料が調達できないので本実験においては主として国産品を使用した。上記のように各市乳類につい

⑤ 乾燥脱脂ミルクの例

銘 柄	凝固時間	ペプシン液	水分	酸度
1 国内産	50分	1cc (0.5g/100cc)	7.41%	1.92%
2 輸入品	17分30秒	0.5 (0.05/100)	4.67%	2.32%
3 "	40分でno	0.5 (0.05/100)	3.77%	2.21%
4 "	4分30秒	0.5 (0.05/100)	2.93%	1.60%

て数字が区々まちまちであり、又乾燥脱脂ミルクも輸入品はメーカーは数十種にも及ぶのであるが同一のものを使得比較相対値を測定することは支障はない。

(I) 食塩添加

精製塩を用い最高の濃度は 1cc に 0.2g を含むようにして種々の濃度のものを作り、その 1cc を添加して凝固時間を測定した。

(イ) 市 乳

食塩濃度 (食 塩 水 1cc 中の食塩の瓦数)	第 1 例 Pepsin 液 0.5cc 市乳75°C 15秒処理 (0.5g/100cc) 酸度 1.98cc	第 2 例 Pepsin 液 0.5cc 市乳75°C 15秒処理 (0.1g/100cc) 酸度 1.92cc
0	分 秒 2.10	分 秒 7.06
0 (水のみ 1cc 注加)	4.27	13.00
0.02		9.30
0.04	1.25	
0.05		8.00
0.07		6.12
0.1	2.01	11.10
0.14	1.55	
0.2	2.07	

(ロ) 乾燥脱脂ミルク

国内産 水分 7.41% 酸度 1.92%

食塩水は 1cc 添加

Pepsin 溶液は 1cc 注加 (0.5g/100cc のもの)

食塩濃度(食 塩 水 1cc 中の食塩の瓦数)	凝 固 時 間
0	50分 0 秒
0 (水のみ1cc注加)	90. 0でno
0.04	23. 30
0.1	2. 35
0.14	2. 13
0.2	1. 37

(II) 加 熱

牛乳類は加熱時間を長くすれば soft curd milk になるといわれるが、乾燥脱脂ミルクを用いて種々の時間沸騰水中に浸し、後すぐに水冷して測定に供した。供試粉

乳は (I) の (ロ) と同じ。

Pepsin 液 1cc (1g/100cc)

加 熱 処 理 時 間		凝 固 時 間	
		食塩水 1cc 添加 (1cc 中 0.2g の 精製塩を含む)	
分	秒	分	秒
2	37		37
5	42		38
10	50		39
15	1 時間 22		50
30	2. 03		1 分 30
45			11. 10
60			19. 02
90	2. 20		1 時間 7. 00

(III) ミキサー処理時間

学校給食で使用する場合は、少量の微温湯に粉乳を入れミキサーで攪拌して濃厚乳液を作りそれを釜の熱湯中に注入するのであるが、この実験においては前記したような方法で液体液に調製した後種々の時間 mixer にかけて凝固時間を測定した。供試粉乳は輸入品。水分 4.67% 酸度 (乳酸として) 2.32% のもの。Pepsin 液は 1cc (0.1g/100cc) mixer は National 製品高速 13,000r.p.m.

mixer 処理時間	凝固時間	mixer 処理時間	凝固時間
0	分 秒	6 分	分 秒
30 秒	4.03	7	6.50
60	4.47	10	7.25
2 分	5.45	11	10.00
4	6.25	12	10.01
5	6.40		10.01
	6.45		

砂 糖 濃 度 (添加した砂 糖の瓦数)	凝 固 時 間		
	第 1 例	第 2 例	第 3 例
0	分 秒	分 秒	分 秒
0 (水のみを添加)	7.06		2.30
0.03	14.54	5.19	3.35
0.06	21.30		
0.075			4.02
0.105	17.25		
0.12	17.25		
0.15			3.30
0.18	14.50		
0.24			3.45
0.3		5.21	3.38
0.35			3.30
0.6		5.40	

(IV) 砂糖添加

(イ) 牛乳類に砂糖溶液を添加しその凝固時間の差異を測定した。精製糖を用い最高濃度は 1cc に 0.6g の砂糖を含む液を作った。

Pepsin 液は 1cc (0.5g/100cc) 砂糖液は (第 1 例) (第 2 例) は 1cc (第 3 例) は 0.5cc を添加。供試市乳は何れも 75°C 15 秒処理。酸度は各々 1.92cc, 1.98cc, 1.93cc であった。

(ロ) 乾燥脱脂ミルク液を作り砂糖を溶液とせず固形砂糖を添加した例を示す。供試粉乳は輸入品。水分 4.67% 酸度 (乳酸として) 2.32% Pepsin 液 0.5cc (0.05g/100cc)

添加砂糖量瓦	凝固時間	添加砂糖量瓦	凝固時間
0	17 分 30 秒	1.2	36 分 06 秒
0.3	20. 02	2.4	48. 40
0.6	26. 31		

(V) 唾液添加

牛乳類を飲用するときは一息に飲まずゆっくり味わって飲むのがよいといわれるが、唾液が混合することは凝固時間にどんな変化を示すかを調査した。

水	唾液	(イ) 牛乳 (57°C 15 秒処理 酸度 1.92cc)		(ロ) 乾燥脱脂ミルク実験 (1) の (ロ) と同一のもの Pepsin 1cc (0.01g)	
		Pepsin 1cc (0.01g)	Pepsin 1cc (0.0025g)	食塩水 1cc (0.3g) 添加	食塩水 1cc (0.06g) 添加
滴	滴	秒	分 秒	秒	分 秒
0	0	15	3	58	9
20	0	23	3.10	66	12.25
15	5	37	3.10	66	10.10
10	10	38	3.30	68	10.45
5	15	37	3.55	73	9.20
0	20	38	3.35	77	9.23

考察及び要約

凝固時間の長い牛乳が胃の中で soft curd を作り消化吸収がよいといわれているが、学校給食において使用する乾燥脱脂ミルクを液体乳に調製する際の mixer 処理、加熱処理時間、砂糖、食塩、唾液添加などにより Pepsin による凝固時間にいかなる差異を生じるかを実験した。

予備実験として市乳を材料として種々の濃度の Pepsin 溶液と処理温度による凝固力の差異について実測しその結果を第 1 図に示したが、

(イ) 一定温度において Pepsin 濃度と凝固時間とは必ずしも直線関係を示さなかつた。

(ロ) 処理温度、Pepsin 濃度及び凝固時間の間には法則性が見いだされない。温度が高いときは、低温では凝固が起り得る低い Pepsin 濃度において凝固が起り難いか又

は起らないという現象がある。Pepsin の蛋白分解力と凝固力の温度による競合という点は将来検討したい。

各種市販牛乳を材料として凝固時間を調査したが各処理場により頗る大きな差がある。乾燥脱脂ミルクと市乳では前者の方が凝固時間が長いこれは加熱、乾燥という製造過程が原因であり⁵⁾ 性質が異なるので比較対することは妥当でないが、市販乳においてもこのように差が甚しく単に酸度による差のみが原因とは考えられない。従つて処理場の異なる牛乳を凝固時間のみを以て消化吸収の良否を断定することは未だ検討の余地があると思われる。

実験 (I) において食塩添加による変異を調査したがこの場合は殆んど例外なく凝固時間が短縮された。但し濃度の増加と時間の短縮は比例的な関係でなく、ある特定の濃度においては、それより低い食塩濃度の際よりも却つて凝固時間が長くなるという点があつた。食塩添加の場合の凝固の状態は他の場合と明らかに異なりきれいな Paste 状になる。

実験 (II) において加熱による変化を実測した。従来より加熱は Ca イオンの減少を来して soft curd になることが知られているがこの実験においても明らかに凝固時間が増加することが認められる。90分加熱した場合乳液がやや茶色に着色した事例があつた。

mixer 処理については実験 (III) で取り上げたがよく mix するということは凝固時間を長くする。この実験においては約10分間の mixer 処理で最大値に達する。元来、乾燥脱脂ミルクは液体乳に調製する方法によつては不安定なものであり、例えば、液体乳に調製する際、沸騰水に浸漬する時間を 2~3 分間位で止めれば、調製直後の乳液の凝固時間と30分以上放置したものとは相当に凝固時間が異なる。後者の方が凝固時間が遅い。肉眼

では鑑別できない「真の溶液」と「偽溶液」との差であろうと思われる。

実験 (IV) において砂糖添加の影響を実測した。従来より砂糖は soft curd にする効力があるといわれるが、本実験においては、乾燥脱脂ミルクの場合に非実用的に多量の砂糖を添加して凝固時間が長くなつた事例をあげたが、市乳の場合は不定である。引用した事例以外にも「どちらともいえぬ」という場合の実験例が3例、凝固時間が長くなつた事例が2例、逆の事例が1例あつた。

実験 (V) は唾液添加の効果を調べた。牛乳類はよく口の中で嚙んで飲むといわれ唾液中の Mucine が消化吸収を助けるといわれるが、本実験においては顕著な延長は認められなかつた。唾液を添加してから実測にかかる迄の時間については将来検討してみたい。

終りに Pepsin 剤を贈与下さつた黒石製薬鳴宮治三氏実験室を提供され種々便宜を計つて下さつた西宮市所在兵庫栄養学園に深く感謝の意を表す。

文 献

- 1) 例えば
N. J. Berridge: *Advances in Enzymology*.
15. 423. (1954)
- 2) Rowland. S. J. & Soulides. D.:
J. Dairy Res. 13. 85. (1942)
Mattick. E. C. V. & Hallet, H. S.:
J. Agr. Sci. 19. 425. (1929)
- 3) 津郷友吉: レンネットの製造に関する研究
(佐々木, 前野編: 畜産物の科学 II 合併号 162
(1951))
- 4) 津郷友吉: *ibid*
佐々木, 津郷, 最明: 栄養と食糧 11. 196 (1958)
- 5) 佐々木, 津郷: 乳の化学 (1958)
(兵庫県教育委員会体育保健課)

栄養失調幼児の尿中クレアチニン排泄量

K. L. Standard, V. G. Wills, J. C. Waterlow *Am. J. Clin. Nutr.* 7. 271 (1959).

尿中へのクレアチニン排泄量は筋肉の量に比例するといわれるが、栄養失調で体重が標準よりはるかに少ない患児を病院に収容して、体重の回復、クレアチニンの排泄量を測定すると、2ヶ月の間に後者はほとんど二倍に増加し、前者の増加度を上回る結果を得た。このこと

から、入院時における筋肉の消耗度は、体重の減少度よりもはげしいものであつたことが考えられる。

入院当初にクレアチニンの排泄量が激変することがしばしば経験されたが、浮腫がとれる時期に排泄量が増す傾向があつた。しかし変動の原因をよく説明することのできないケースもあつた。

(小 池)