牛乳蛋白質に関する最近の研究*

津 郷 友 吉 (東京大学農学部農芸化学科)

蛋白化学の研究分野に電気泳動, 超遠心分離或はアミノ酸分析等の新しい試験方法が導入されて以来, 牛乳の蛋白質については特に多数の研究が行われ, 古くに定義された成分は2種又はそれ以上のものの混合物よりなることが分り, 各成分の名称について新旧混同されることも少くない. よつて先ず牛乳蛋白質の新しい各成分の名称, 分別及び性質について旧名称との関係を明かにし, 更に進んで牛乳の処理加工上最も重要な加熱及び酵素作用によるそれ等の変化についても触れたいと思う. ただし各成分の名称については未だ確定したとはいえない部分もあつて, なお不明な点が少くない. 今後一層の研究を必要とする状態である.

第1表 牛乳の窒素化合物の分布
ROWLAND⁽²⁾ SHAHANI 及び SOMMER⁽³⁾

区 分	ROWLAND ⁽²⁾		SHAHANI 及び SOMMER ⁽³⁾	
	全窒素中%	牛乳中% (N×6.38)	全窒素中%	牛乳 100cc 中 mg
全 窒 素	100.0	3.18	100.0	476
カゼイン窒素	78.5	2.63	79.0	376
アルブミン窒素	9.2	0.31	7.7	36.7
グロブリン窒素	3.3	0.11	4.7	22.3
プロテオース	4.0	0.13	3.6	17.2
ペプトン窒素				
非蛋白態窒素	5.0		5.0	23.8

先ず牛乳の窒素化合物の従来
の化学的分別定量法について今
日最も広く適用されているのは
ROWLAND の方法⁽¹⁾であつて,
氏自身及びそれを用いた最近の
報告にもとづいて多数の常乳の
混合乳について平均値を挙げる
と第1表の通りである.

I. カゼイン

カゼイン (casein) は牛乳中においてはカゼインカルシウム (calcium caseinate) として磷酸カルシウムと複化合物 (complex) を形成して存在することは以前から知られていたが, その磷酸塩は磷酸 3 カルシウム $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ であることが確認された. しかしこの複化合物はカゼインカルシウム 95.20% と $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 4.80% よりなり, 又カゼインカルシウムの部分は 1.18% の Ca を含むという⁽⁴⁾.

1. カゼイン各成分の分離

カゼインは従来は単一の蛋白質として扱われたが, 現在では少くとも3種類の磷蛋白質の混合物であることが明かとなつている. これらは α -, β -, 及び γ -カゼインと呼ばれ電気泳動易動度を異にするので電気泳動図によつて判別される. これ等のうち α - 及び β -カゼインの研究はかなり進んでいるが, γ -カゼインは含量が少く未だ分らないことが多い. なおこれ等の外に δ -カゼインの分離が報告されているが⁽⁵⁾, これはまだ一般に認められていないようである.

カゼインが単一の蛋白質でないことは既に古く LINDERSTRÖM-LANG⁽⁶⁾ がカゼインを酸, アルコールで3つの部分 (α -, β -, γ -) に分けて特に磷含量が異なることを挙げている. しかしこのことが一般に認められるようになったのは, MELANDER⁽⁷⁾ がこの研究に電気泳動の方法を用い始め, ついで 1944 年に WARNER⁽⁸⁾ が溶解度の相異から α - と β - とを分け, 4:1 の割合に存在し, これらが電気泳動図によつて一定の条件で単一であることを確証してからのことである. 即ち蛋白質溶液が単一のものか混合物であるかを決定するのに電気泳動法が用いられるようになってからカゼイン分離法が大いに進歩したのであつて, 用いられた主な方法は次の如くである.

(a) 水に対する溶解度法 この方法は WARNER⁽⁸⁾ が用いたもので, pH 4.4, 温度 2° の条件で β -カゼインの溶解度が高いことを利用して α -カゼインと分離するのである.

(b) アルコール法 HIPP その他⁽⁹⁾の方法で, カゼインの 50% アルコール溶液から温度, pH 及びイオン強度を色色に変化して沈澱を行うことと水溶液から等電点沈澱を行うことを併用して α -, β - 及び γ -カゼインを分離するのである. α -カゼインが最も溶けにくい. この方法の結果古く OSBORNE 及び WAKEMAN⁽¹⁰⁾ が報

* Recent Studies on Milk Proteins.

By Tomokichi TSUGO. (Dept. of Agr. Chem., Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

告したカゼインの部分から分離されたアルコール可溶性蛋白質なるものは γ -カゼインにほかならないことが認められた。

(c) 尿素法 この方法も HIPP その他⁽⁹⁾の考案したものでカゼインの 6.6 M 尿素溶液に水を加えて尿素の濃度を薄めていつて分けるのである。即ち先ず尿素の濃度を 4.6 M に薄めると α -カゼインが主として沈澱する。その濾液に更に水を加え尿素濃度を 1.7 M にすると β -カゼインが沈澱する。 β -カゼインを分けた濾液に硫酸アンモニウムを加えその濃度を 1.6 M に調節すると γ -カゼインが沈澱する。この方法は 3 法のうち最も簡単のようである。

2. カゼイン各成分の性質

カゼインの各成分の窒素、燐及び硫黄の含量、酸塩基との結合能並びに電気泳動実験による易動度 ($\alpha > \beta > \gamma$ の順に大となる) 及び各成分の割合は第 2 表の如くである^(9,11)。

第 2 表の如くカゼインの各成分の割合は著しく異なるにも拘らず、酸沈澱によつて得られるカゼインの組成が

第 2 表 カゼイン各成分の割合と性状

項 目	α -カゼイン	β -カゼイン	γ -カゼイン
牛乳蛋白質中の割合%	60	17.6	2.4
全カゼイン中の割合%	75	22	3
易動度*	-6.7	-3.1	-2.0
N %**	15.58	15.33	15.40
P %**	0.99	0.55	0.11
S %**	0.72	0.86	1.03
等電点	4.7	4.9	5.8~6.0
酸との最高結合能***	78	66	85
塩基との最高結合能***	198	150	96

* ベロナル緩衝液 pH 8.4, 蛋白質濃度 1%

イオン強度 0.1, cm². volt⁻¹ sec⁻¹ $\times 10^{-5}$

** 無水物固形分中

*** 酸モル数又は塩基モル数/10⁵g カゼイン

第 3 表 カゼイン各成分のアミノ酸組成(%)

アミノ酸	全カゼイン	α -カゼイン	β -カゼイン	γ -カゼイン
グリシン	2.7	2.8	2.4	1.5
アラニン	3.0	3.7	1.7	2.3
バリン	7.2	6.3	10.2	10.5
ロイシン	9.2	7.9	11.6	12.0
イソロイシン	6.1	6.4	5.5	4.4
プロリン	11.3	8.2	16.0	17.0
フェニルアラニン	5.0	4.6	5.8	5.8
シスチオン	0.34	0.43	0.0~0.1	0.0
メチオン	2.8	2.5	3.4	4.1
トリプトファン	1.2	1.6	0.65	1.2
アルギニン	4.1	4.3	3.4	1.9
ヒスチジン	3.1	2.9	3.1	3.7
リジン	8.2	8.9	6.5	6.2
アスパラギン酸	7.1	8.4	4.9	4.0
グルタミン酸	22.4	22.5	23.2	22.9
セリン	6.3	6.3	6.8	5.5
トレオニン	4.9	4.9	5.1	4.4
チロシン	6.3	8.1	3.2	3.7
アミド窒素	1.6	1.6	1.6	1.6
計	115.8	115.7	117.4	113.3

常にほぼ一定であるというのは著しい現象である。これは即ち牛乳においてカゼイン中各成分の割合に変動がないこと及び各成分の分離の困難なことを示すものである。

次に全カゼイン及び各成分のアミノ酸組成(%)を第 3 表に示す^(12,13)。

次にカゼインの各成分の比較について著しいことは、酵素に対する反応が異なることである。即ちペプシン⁽¹⁴⁾又はトリプシン^(15,16)によつて α -カゼインは β -カゼインよりも速やかに分解されるという。また α -カゼインは膵腺ホスファターゼにより pH 5.6~6.6 の範囲で容易に脱リン酸 (dephosphorylate) されてそのリンの約 42% を放つのに対し、 β -カゼインは影響を受けない⁽¹⁷⁾。その他レンニンの作用については後に記すことにする。

秦⁽¹⁸⁾はカゼインのポーラログラフによる研究を行い塩化アンモニウム、アンモニア緩衝溶液中にて α -カゼインは 2 段の蛋白波を示すが β -カゼインは蛋白波を示さないと報告した。

カゼインの成分のうち α -カゼインは初めは単一であると見られたが実はそうでないことが認められている。即ち CHERBULIEZ 及び BAUDET⁽⁶⁾ は 2 つの区分が存在することを示し α_1 -及び α_2 -カゼインと称した。近藤その他⁽¹⁹⁾も又 α -カゼインはイオン強度 0.1 の磷酸緩衝液中では単一蛋白質として泳動するが、グリシン塩酸塩等を用いイオン強度等を変化させると不均一性を示すことを認めた。

II. 乳 清 蛋 白 質

乳清蛋白質 (別名ホエー蛋白質 milk serum protein 又は whey protein) は牛乳の全蛋白質の約 20% を占める。このうち牛乳の加熱処理により変性され易く pH 4.6 で酸凝固性になる部分を熱凝固性乳清蛋白質 (heat-labile milk serum proteins) という。この部分は加熱しないときは牛乳を pH 4.6 でカゼインを沈澱させた後の濾液に含まれているから牛乳の可溶性蛋白質 (soluble proteins) とも称されることがある。この部分の蛋白質は従来ラクトアルブミン (lactalbumin) 及びラクトグロブリン (lactoglobulin) といわれ全乳清蛋白質の約 80% を占める。

乳清蛋白質の電気泳動法により分けられた各成分の易動度及び割合を示すと第 4 表の如くである (SMITH その他)⁽²⁰⁾。またその電気泳動図は第 1 図に示す通りである。これ等のうち成分 I, II はラクトグロブリンの区分に

第 1 図 乳清蛋白質の電気泳動図

第 4 表 乳清蛋白質各成分の電気泳動易動度と割合

成 分	易動度*	全蛋白質中割合 (%)	乳清蛋白質中割合 (%)
乳 清 蛋 白 質		20	100
成分 I オイグロブリン	-1.7	1.2	6
成分 II プソイドグロブリン	-2.5	0.8	4
成分 III	-3.6	3.6	18
成分 IV α -ラクトアルブミン	-4.2	2.4	12
成分 V β -ラクトグロブリン	-5.1	11.0	55
成分 VI 血清アルブミン	-6.4	1.0	5

* ベロナル緩衝液 pH 8.4, 蛋白質濃度 1%, イオン強度 0.1, $\text{cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec}^{-1} \times 10^{-5}$

ロブリン (immune globulin) といわれ pH 6.0 で硫酸アンモニウム 0.4 飽和によつて共に分けることができる。そのアミノ酸組成も明かにされている⁽²¹⁾。

2. ラクトアルブミンの区分

乳清蛋白質のうち中性硫酸アンモニウム半飽和又は硫酸マグネシウム飽和にて可溶の部分である。ROWLAND の化学分析⁽¹⁾においては乳清を pH 4.75~4.80 で加熱して沈澱する部分のうち硫酸マグネシウム飽和で可溶の部分として定量される。第 1 図の成分 III~VI はこの区分に属する。

(a) α -ラクトアルブミン

GORDON 及び SEMMETT⁽²²⁾ は乳清のラクトアルブミン区分から次にのべる β -ラクトグロブリンの外に結晶性の蛋白質をつくりこれが電気泳動的に単一であり、先に SVEDBERG⁽²³⁾ が超遠心分離によつて分離した α -ラクトアルブミンと沈降定数及び拡散定数が一致することを認め、又電気泳動易動度から SMITH の成分 IV (第 1 図, 第 4 表) に相当すると報告した。ところがその後 LARSON 及び JENNESS⁽²⁴⁾, LARSON 及び ROLLERI⁽²⁵⁾ は α -ラクトアルブミンは成分 III に相当するのであつて、成分 IV は実はアルブミンではなくプロテオース・ペプトン (後記) に相当することを証明した。この結果の前の報告との矛盾について最近アメリカの牛乳蛋白質命名委員会⁽²⁶⁾は α -ラクトアルブミンの易動度は -4.2 であるが、乳清蛋白質混合物中ではその易動度は -3.6 になるのであると説明している。

(b) β -ラクトグロブリン

β -ラクトグロブリンは塩類塩析法によつて分けられるラクトアルブミンの区分の 1/2 以上を占め乳清蛋白質のうち含量最も多くまた最もよく研究されている。この蛋白質は PALMER⁽²⁷⁾ が最初にラクトアルブミンの区分から結晶状に得てそれを溶かすのに微量の塩類を必要とするところからこのものはグロブリンであるとして命名したものである。PALMER は塩酸でカゼインを除いた乳清の pH を 6.0 にし、それに硫酸アンモニウムを 0.5 飽和してラクトグロブリン (旧称) を除きその濾液に硫酸アンモニウムを飽和し沈澱した部分 (即ち旧称ラクトアルブミン区分) を水に再溶解し pH 5.2 で長時間透析して結晶を得たのである。その後低温でアルコールによる β -ラクトグロブリンを単離する方法が提案されている⁽²⁸⁾。そのアミノ酸組成も明かにされている⁽²¹⁾。

最近結晶 β -ラクトグロブリンの溶液は浸透圧、超遠心分離及び電気泳動法により不均一であることが確かめられた^(29,30)。そしてその不均一なのは電気泳動的に易動度の異なる 2 つの成分 (β_1 -及び β_2 -ラクトグロブリン) の存在によるものであるという⁽³⁰⁾。また牛はある場合には β_1 -又は β_2 -ラクトグロブリンのみを分泌することが認められた⁽³¹⁾。

属し、成分 III~VI はラクトアルブミンの区分に属するものである。

次に乳清蛋白質の従来の名称と新しい名称との関係について順次挙げることにする。

1. ラクトグロブリンの区分

この区分は乳清蛋白質のうち中性硫酸アンモニウム半飽和又は硫酸マグネシウム飽和の条件で不溶の部分である。ROWLAND の化学的分析⁽¹⁾においては乳清を pH 4.75~4.80 で加熱して沈澱する部分のうち硫酸マグネシウム飽和で不溶の部分として定量される。

SMITH⁽²⁰⁾ は乳清の硫酸マグネシウム飽和沈澱部分即ちラクトグロブリンの部分から出発して硫酸アンモニウム 0.3 飽和及び 0.4 飽和によつて生ずる沈澱を集め、この两部分を透析して電気泳動的に単一なオイグロブリン (euglobulin) 及びプソイドグロブリン (pseudoglobulin) を得た。この両者は今日免疫性グ

(c) 血清アルブミン

POLIS その他⁽³²⁾はラクトアルブミンの区分から更に別の結晶性アルブミンを単離し、これは SMITH の成分 VI に電気泳動的に一致することを認めた。この部分は物理化学的性質が血清のアルブミンと極めてよく一致するので血液から移行した蛋白質と見なされる。

(d) プロテオース・ペプトン

プロテオース・ペプトンは乳清を pH 4.75~4.80 で加熱して沈澱しない蛋白質として ROWLAND によつて定量的に明かにされた⁽⁴¹⁾。LARSON 及び ROLLER⁽²⁵⁾ は最近これを電気泳動的に証明した。即ち牛乳を 96° に 30 分間加熱処理し pH 4.6 でカゼインと共に変性乳清蛋白質を除去した後に得られる乳清中の蛋白質を電気泳動にかけると、アルブミン及びグロブリンは全部なくなり泳動図に現われるものは II と III の間、IV、及び VI より僅か易動度の大きい所の 3 カ所に低い峰が残るのみとなる。これ等の易動度はそれぞれ -3.0, -4.6 及び -7.9 であつて、プロテオース・ペプトン成分と認められる。但しこの証明法は牛乳をかなり高温に加熱して行つたのであるから、他の乳清蛋白質を単離証明した場合のように確定的のものとはいえないかもしれない。

III. リポ蛋白質

牛乳の脂肪球に吸着されている物質については古くから研究されてきたが、PALMER 等⁽³³⁻³⁵⁾の研究によりこの物質は蛋白質と磷脂質（主としてレシチン）の複化合物であることが確かめられた。この物質は即ちリポ蛋白質 (lipoprotein) であつて、これが牛乳かクリーム中の脂肪粒子の周囲に安定な薄膜を生成し牛乳のエマルジョンを安定とする乳化剤の役目をなしている。この複化合物を形成する蛋白質については JENNESS 及び PALMER⁽³⁶⁾は牛乳中のこれまでに明かにされている蛋白質とは異つた一種の蛋白質—磷脂質—グリセリド 複化合物であると称した。ところが TROUT⁽³⁷⁾ はラクトグロブリン又はそれに類似のものであると報告している。また佐々木等^(38,39) は最近牛乳 1 l からこの蛋白質約 0.025 g を単離し電気泳動法及び放射性 Ca^{45} caseinate を用いる実験を行つた結果、この皮膜蛋白質にはカゼインは全く含まれないこと及びそれは乳清蛋白質の 1 部（乳清蛋白質のうち易動度の小さいグロブリンの部分）か又はそれに類似したものと推定している。

IV. 牛乳蛋白質の加熱による変化

牛乳の加工に共通した処理法は加熱であつて牛乳の加熱による変化は加工上重要な問題が多い。そのうち蛋白質の変化は特に重要で牛乳の熱凝固或は各種乳製品の品質に関係が深いものである。

1. カゼインの変化

カゼインは正常な牛乳を 100° 以下の温度に加熱した場合化学的には何等の変化を受けない。100° 以上に加熱する場合は 140° にて初めて凝固する。120° 以下の温度ではホルモル滴定によるカルボキシル基はいくらか増加するがアミノ窒素には殆ど変化がない。よつて 120° までの加熱温度ではカゼインの化学的变化はあつても僅かに過ぎないと考えられる⁽⁴⁰⁾。

これらのことは電気泳動研究によつても大体同様である。例えば志賀⁽⁴¹⁾によれば純粹カゼインでは 125° に 30 分加熱してもその電気泳動的变化は殆どなく、140° 30 分で初めて変性が見られた。脱脂乳では 125° 30 分加熱によりカゼインの泳動図が低く平らになつた。

しかしカゼインの物理的性質は牛乳の加熱によつて著しい影響を受けるもので、特に酸及びレンネットによる凝固性即ちカードの性質の変化は牛乳加工上重要である。これ等については新しい研究法によつて再検討を要する問題が多くある。

2. 乳清蛋白質の変化

乳清蛋白質の大部分を占めるアルブミンとグロブリンの区分は共に熱に対して不安定で、それ等の熱凝固性については多数の研究報告がある。その代表的な例を挙げると ROWLAND⁽⁴²⁾によれば牛乳を加熱するときアルブミンとグロブリンが完全に凝固性となる条件は 80° 60 分、90° 30 分、95° 10~15 分、100° 5~10 分である。最近 RAMSDALL 及び WHITTIER⁽⁴³⁾は脱脂乳を 100° に 10 分間加熱した後超遠心分離法を適用してアルブミンとグロブリンはカゼイン複化合物が沈降する条件では沈降しないことを示した。即ち加熱はアルブミンとグロブリンを変性し酸により凝固し易くするが、カゼイン複化合物と同程度まで粒子を凝集させるのではないことが明らかになつたのである。更に前述の LARSON 及び ROLLER⁽²⁵⁾が牛乳を 56~96° に 30 分間加熱して pH 4.6 でカゼインと共に変性乳清蛋白質を除いた後の乳清の蛋白質につき電気泳動して研究した結果によれば免疫性グロ

ブリンが耐熱性最も弱く、 α -ラクトアルブミンは最も大で、 β -ラクトグロブリンと血清アルブミンはその中間に位した。

牛乳を 80° 近くまで加熱すると特有の加熱臭（これを cooked flavor という）を生じ、これが牛乳のスルフヒドリル基（SH）の発生と関連があることは前から分つていたが、最近乳中の SH 基の殆ど総ては乳清蛋白質中に存在し⁽⁴⁴⁾、更にそれは主として β -ラクトグロブリンによることが確かめられた⁽⁴⁵⁾。

加熱牛乳の加熱の程度の判定法には従来主として酵素の有無による方法が用いられているが、その他残留乳清蛋白質の含量に基づく方法も提案されている⁽⁴⁶⁾。このことに關し最近また加熱牛乳の乳清の濾紙電気泳動図から加熱程度の判定の可能なことが示された⁽⁴⁷⁾。

V. 牛乳蛋白質のレンニンによる変化

凝乳酵素レンニン（rennin）の牛乳蛋白質に及ぼす作用については従来多数の研究が行われてきた⁽⁴⁸⁾。そのうち特に問題となつていたのはレンニンに蛋白質分解作用があるか否かの点にあつた。従来カゼインが凝固するときに生ずるといわれた少量の非蛋白態窒素はレンニンの不純品（この製剤をレンネットという）に混在するペプシンによるものであつて、純粋のレンニンを用いれば生じなくなるのではないかと考えられた。それが1943年に初めてレンニンが結晶として純粋に得られ、以後順次研究が続けられ新しい事実が次第に明かになりつつある。即ち NITSCHMANN 及び VARIN⁽⁴⁹⁾は比較的多量の結晶レンニンを用いるときはカゼインは加水分解されることを認めた。更に佐々木等⁽⁵⁰⁾はカゼインナトリウムを基質として結晶レンニンの量を通常実用される程度の効力相当量用いて作用後 15 分にして僅かではあるが既にトリクロル酢酸可溶性非蛋白態窒素が増加することを観察した。1 時間後における非蛋白態窒素の増加割合は 1.5% であつた。次に NITSCHMANN 及び KELLER⁽⁵¹⁾は α -カゼインの方が β -カゼインよりもレンニンの作用による非蛋白態窒素の生成が速やかであり且つ多いことを報告している。

次にレンニンによるカゼインの変化が電気泳動的に研究されている。初めに NITSCHMANN 及び LEHMANN⁽⁵²⁾はレンネットを用いてカゼインの電気泳動図においてその α -カゼインが 2 つの峰に開裂することを見出した。 α_1 -及び α_2 -成分の易動度はそれぞれ 9.55×10^{-5} 及び 8.83×10^{-5} （もとの α -カゼインは 9.30×10^{-5} ）であつた。その後レンニンを用いて同様のことが観察された⁽⁵³⁾。更に最近佐々木等⁽⁵⁰⁾はレンニン作用 15 分にして α -カゼインが開裂すること、並びに長時間作用させると β -カゼインも開裂することを認めた。 γ -カゼインについては量が少いためその変化を観察し難いが CHERBULIEZ 及び WOLF⁽⁵⁴⁾によればパラカゼインから分離した γ -カゼインと酸カゼインとの間に差を認め難いというので、おそらく著しい変化は受けないものと思われる。

レンニンによるカゼインの凝固は酵素による変性即ちパラカゼインへの変化とカルシウムイオンの存在による凝固即ちパラカゼインカルシウム（calcium paracaseinate）への変化として従来証明されているが⁽⁵⁵⁾、その他に最近 α -カゼインと β -カゼインの相互の保護作用によるという説がある。即ち CHERBULIEZ 及び BANDET⁽⁵⁶⁾によればカゼインの成分のうち α -カゼインのみがレンニンにより変化を受け β -及び γ -カゼインはカルシウム塩の存在にて変化しないで、変性 α -カゼインと共に沈殿するという。よつてこの場合は α -カゼインがその他の成分を保護していたものが、変化を受けて保護作用を失いカゼイン全体の凝固を生ずると説明される。これに対し PYNE⁽⁵⁷⁾によれば以上のような保護作用は $20 \sim 25^\circ$ 以上の温度において起るのであつて、この温度範囲以下では β -カゼインが酵素変性 α -カゼインに対して保護コロイドとして作用するという。この場合は α -カゼインのカルシウム塩溶液は比較的低いカルシウムイオンの存在において 0° までの低い温度にてもレンニンによつて容易に凝固されるにも拘らず混合カゼインの場合にそのような低温でレンニン凝固が起らないのは β -カゼインの保護作用によるものと説明される。しかしこれ等の説明のみによつてカゼインの凝固を総て説明することはできないのであつて、今後なお一層の研究の集積を要するものと考えられる。

- (1) S. J. ROWLAND: *J. Dairy Research*, 9, 42 (1938); 東大農学部農芸化学教室: 実験農芸化学 下巻 600 (1952).
- (2) S. J. ROWLAND: *ibid.*, 9, 47 (1938).
- (3) K. M. SHAHANI, H. H. SOMMER: *J. Dairy*

- Sci.*, 34, 1010 (1951).
- (4) G. A. RAMSDELL, E. O. WHITTIER: *Biol. Chem.*, 154, 413 (1944); E. O. WHITTIER, B. H. WEBB: *Byproducts from Milk*, 6 (1950).

- (5) E. CHERBULIEZ, P. BAUDET : *Helv. Chim. Acta*, 33, 398 (1950).
- (6) K. LINDERSTRÖM-LANG : *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, S'er. chim.*, 17, No. 9 (1929).
- (7) O. MELLANDER : *Biochem. Z.*, 300, 240 (1939).
- (8) R. C. WARNER : *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 1725 (1944).
- (9) N. J. HIPPI, M. L. GROVES, J. H. CUSTER, T. L. MCMEEKIN : *J. Dairy Sci.*, 35, 272 (1952).
- (10) T. B. OSBORNE, A. J. WAKEMAN : *J. Biol. Chem.*, 33, 243 (1918).
- (11) N. J. HIPPI, M. L. GROVES, T. L. MCMEEKIN : *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 4822 (1952).
- (12) W. G. GORDON, W. F. SEMMETT, R. S. CABLE, M. MORRIS : *ibid.*, 71, 3293 (1949).
- (13) W. G. GORDON, W. F. SEMMETT, M. BENDER : *ibid.*, 75, 1678 (1953).
- (14) H. MATTENHEIMER, H. NITSCHMANN : *Helv. Chim. Acta*, 38, 687 (1955).
- (15) A. LEMBKE, W. KAUFMANN : *Kieler Milchwirtschaft Forsh. Ber.*, 5, 173 (1953).
- (16) L. R. CHRISTENSEN : *Arch. Biochem. Biophys.*, 53, 128 (1954).
- (17) G. E. PERLMANN : *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 3191 (1952).
- (18) 秦忠夫 : 京大食糧科研報告 No. 6, 45 (1951).
- (19) 近藤金助, 米沢大造, 森田雄平 : 京大食糧科研報告 No. 3, 40 (1950).
- (20) E. L. SMITH : *J. Biol. Chem.*, 165, 665 (1946); H. NEURATH, K. BAILEY : *The Proteins*, Vol II. 392 (1954), Academic Press.
- (21) M. L. ANSON, J. T. EUSALL : *Advances in Protein Chemistry*, Vol V, 218 (1949), Academic Press.
- (22) W. G. GORDON, W. F. SEMMETT : *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 328 (1953).
- (23) T. SVEDBERG : *Nature*, 139, 1051 (1937).
- (24) B. L. LARSON, R. JENNESS : *J. Dairy Sci.*, 28, 313 (1955).
- (25) B. L. LARSON, G. O. ROLLERI : *ibid.*, 38, 351 (1955).
- (26) R. JENNESS, B. L. LARSON, T. L. MCMEEKIN, A. M. SWANSON, C. H. WHITNAH, R. McL. WHITNEY : *ibid.*, 39, 536~541 (1956).
- (27) A. H. PALMER : *J. Biol. Chem.*, 104, 359 (1934).
- (28) J. A. BAIN, H. F. DEUTSCH : *Arch. Biochem.*, 16, 221 (1948).
- (29) O. SMITHIES : *Biochem. J.*, 55, 57 (1953).
- (30) O. SMITHIES : *ibid.*, 58, 31 (1954).
- (31) R. ASCHAFFENBURG, J. DREWRY : *Nature*, 176, 218 (1955).
- (32) D. POLIS, H. W. SHMUKLER, J. H. CUSTER : *J. Biol. Chem.*, 187, 349 (1950).
- (33) H. F. WIESE, L. S. PALMER : *J. Dairy Sci.*, 15, 371 (1932); 17, 29 (1934).
- (34) L. S. PALMER, H. F. WIESE : *J. Dairy Sci.*, 16, 41 (1933).
- (35) L. S. PALMER : *ibid.*, 27, 471 (1944).
- (36) R. JENNESS, L. S. PALMER : *ibid.*, 28, 611, 653 (1945).
- (37) J. M. TROUT : *Food Research*, 18, 454, 463, 469 (1953).
- (38) 佐々木林治郎, 小山進, 西川三千雄 : 本誌, 29, 827 (1955).
- (39) 佐々木林治郎, 小山進 : 本誌, 29, 831 (1955).
- (40) 津郷友吉 : 畜産物の科学, 3, 139 (1952).
- (41) 志賀勝治 : 日畜会報, 24, 163 (1954).
- (42) S. J. ROWLAND : *J. Dairy Research*, 8, 1, 6 (1937).
- (43) G. A. RAMSDALL, E. O. WHITTIER : *J. Dairy Sci.*, 36, 437 (1953).
- (44) G. ZWEIG, R. J. BLOCK : *ibid.*, 36, 427 (1953).
- (45) J. T. HUTTON, S. PATTON : *ibid.*, 35, 699 (1952); R. JENNESS : *J. Agr. Food Chem.*, 2, 75 (1954).
- (46) J. G. DAVIS, F. J. MACDONALD : *Richmond's Dairy Chemistry*, 5th ed. 422 (1953) Charles Griffin and Co. Ltd., London.
- (47) K. E. SCHULTZ, F. MÜLLER : *Milchwissenschaft*, 10, 270 (1955).
- (48) J. B. SUMNER, K. MYRBÄCK : *The Enzymes, Chemistry and Mechanism of Action*, Vol. I Part 2, 1083 (1951) Academic Press.
- (49) H. NITSCHMANN, R. VARIN : *Helv. Chim. Acta*, 34, 1421 (1951).
- (50) 佐々木林治郎, 津郷友吉, 山内邦男 : 本誌, 30, 240 (1956).
- (51) H. NITSCHMANN, W. KELLER : *Helv. Chim. Acta*, 38, 942 (1955).
- (52) H. NITSCHMANN, W. LEHMANN : *Experientia*, 3, 153 (1947).
- (53) E. CHERBULIEZ, P. BAUDET : *Helv. Chim. Acta*, 33, 1673 (1950).
- (54) E. CHERBULIEZ, B. WOLF : *ibid.*, 36, 1174 (1953).
- (55) 佐々木林治郎, 津郷友吉, 中井秀了 : 本誌, 29, 292 (1955).
- (56) E. CHERBULIEZ, P. BAUDET : *Helv. Chim. Acta*, 33, 1673 (1950).
- (57) G. T. PYNE : *Chem. & Ind., Lond.*, 171 (1951).