[農化 第 37 卷, 第 4 号, p.177~181, 1963]

牛乳蛋白質の消化性の改善に関する研究 (第 3 報)*

蛋白分解酵素により蛋白質の軽度の加水分解を行なった牛乳の
消化試験成績ならびに人乳の凝固性に近似させた牛乳の調製

中 井 秀 了 (明治乳業株式会社研究所)

昭和 37 年 6 月 27 日 受 理

前報⁽¹⁾までに牛乳蛋白質の消化性, とくに凝固性に影響する諸種の要因について検討したが, さらにこれらの加工品の消化試験成績を判定するために, 主として乳児の胃内での消化機構に準じた方法にて改めて人乳, 牛乳および牛乳加工品の消化試験成績の再検討を試みた. その結果, 消化試験成績を人乳と近似させることができて, なおその凝固性については人乳に及ばないことを知ったので, 凝固性の改善を試み凝乳酵素の使用によって人乳の凝固性とほとんど同程度の凝固性を有する加工乳を得ることができたので報告する.

実 験 方 法

試 料

1. 牛乳・無糖練乳: 市販のもの.
2. 調製粉乳: ソフトカード L コナミルク.
3. 人乳: 数人の母親より採集 (分娩後 6~9 か月) したものの混合.
4. レンネット.
5. *Bacillus subtilis* のプロテアーゼ (SP と略称).
6. *Streptomyces griseus* のプロテアーゼ.

牛乳, 無糖練乳, 調製粉乳及び人乳の分析値を第 1 表に示す. 4, 5, 6 の酵素試料は第 2 報⁽¹⁾に使用したものと同一.

試 験 法

1. 消化試験法 (A): 第 1 報⁽²⁾のとおり. ただし塩酸ペプシン液のペプシン濃度は 0.2% とし, 添加速度は 30 分毎に 5 ml とした. また蛋白分解度は沈澱試薬 B⁽³⁾を用い, トリクロル酢酸の終濃度 0.05 M にて除蛋白し, 濾液中の窒素化合物の全窒素に対する百分率で表わした. この方法は胃内における分解のように消化初期の分解度の測定に適するといわれている⁽³⁾.

2. 窒素の測定: 前報⁽¹⁾と同じ.
3. pH: 前報と同じ.
4. 一般分析: 前報と同じ.
5. カゼインの測定法: 前報と同じ.
6. 生理学的カードテンション: 前報と同じ. 生理学的に適当な条件において塩酸ペプシンで凝固させたときのカードのかたさ (g).

実 験 成 績

1. 蛋白分解酵素を添加し軽度の分解を行なった牛乳の消化試験成績

第 1 表 牛乳, 無糖練乳, 調製粉乳及び人乳の
分析値

成 分	牛 乳	無糖練乳	調製粉乳	人 乳
水 分	88.48	72.20	2.00	88.48
乳 固 形 分	11.52	27.30	69.85	11.57
蛋 白 質	3.12	7.07	19.60	1.21
脂 肪	3.22	7.87	18.54	3.00
乳 糖	4.49	10.58		7.08
灰 分	0.71	1.68	4.65	0.20
シ ョ 糖	—	—	10.00	

* Study on Improvement of Digestibility of Milk Protein. Part III. The Digestibility of Slightly Hydrolyzed Milk with Proteinase and the Preparation of Milk which has Same Coagulability as Human Milk.

By Shuryo NAKAI (Research Laboratory, Meiji Milk Products Co., Ltd.)

第1図 2/3 乳の濃度に希釈した牛乳
無糖練乳および調製粉乳ならびに
人乳の消化試験成績

— 人乳 (蛋白含量 1.21%)
 --- 希釈牛乳 (蛋白含量 2.07%)
 希釈無糖練乳 (蛋白含量 2.14%)
 - · - 調製粉乳調乳液 (蛋白含量 2.65%)

第2図 試料の蛋白含量を一定にした
場合の消化試験成績

— 人乳 (蛋白含量 1.31%)
 --- 希釈無糖練乳 (蛋白含量 1.24%)
 希釈牛乳 (蛋白含量 1.19%)
 - · - 調製粉乳調乳液 (蛋白含量 1.34%)
 - · - 希釈生牛乳 (蛋白含量 1.24%)

1. 人乳と牛乳および乳製品の消化試験成績 人乳と牛乳および乳製品の消化性の相異を比較するために、消化試験法(A)の消化条件を検討しながら改めて消化試験を行なった。

1) 試料: (i) 牛乳; 育児用に普通用いられる 2/3 乳の濃度 (牛乳 2 容に水 1 容を添加) に希釈した。 (ii) 無糖練乳; 2/3 乳に相当する濃度に希釈した (とくに蛋白濃度が (i) と同じようになるように無糖練乳 100 g に水 230 ml を添加して希釈した)。 (iii) 調製粉乳; 生後 3 か月の乳児に対する調乳法に準じ、50 g に 320 ml の水を加えて溶解した。 (iv) 人乳。

2) 2/3 乳の濃度に希釈した牛乳、無糖練乳および調製粉乳ならびに人乳の消化試験成績: 試験成績は第1図のとおりである。

3 時間消化後の TCA 可溶性蛋白質の総量だけから見ると人乳が最も多く、無糖練乳、牛乳、調製粉乳の順に少なくなる。牛乳に比し無糖練乳および調製粉乳の消化開始前の TCA 可溶性蛋白質量が少ないのは、牛乳の加工工程中の加熱処理によって乳清部分が変性したためと考えられる。従ってこの値を差引いて TCA 可溶性蛋白質の増加分のみ比較すると、無糖練乳、人乳、調製粉乳、牛乳の順となる。しかしこの際 3 時間消化後の消化液の pH に注意する必要がある。すなわち人乳は、他の乳製品に比し著しく低い pH を示している。この理由はいろいろあるが、1 つは試験乳の蛋白濃度の差であり、他の 1 つは牛乳の緩衝力が人乳より強いためであろうと考えられる。

3) 蛋白含量を一定にした試料の消化試験成績: 次に全試料の蛋白含量を一定に揃えて消化試験を行なった。その成績は第2図のとおりである。

第2図の成績を第1図の成績と比較するとわかるように、試験時の蛋白濃度は消化試験成績に対してかなり大きい影響があり、牛乳および無糖練乳と調製粉乳の値は人乳と差が少なくなった。さらに TCA 可溶性蛋白質の増加量を比較しても、むしろ人乳より牛乳および乳製品の方がよいくらいの成績である。しかし実際に乳児に与えられる調乳の濃度は第1図のごときものであるが、その際のように蛋白濃度がおおの異なるときにも、牛乳に対する胃液の分泌量が人乳の場合と変わらないものであるかどうかは疑問である。しかし、もし胃液分泌量が同じであるとして第1図のような成績が得られたとしても、蛋白濃度が高いために牛乳の方が悪い値を示すこともあると考えられるので、この成績のみで牛乳蛋白質そのものの消化性が人乳蛋白質に著しく劣るとは必ずしもいえないものと考えられる。従って蛋白質間の消化性の比較を行なう際は、比較蛋白質間の濃度差をなくして行なう必要があるものと考えられる。

4) 消化試験中の pH の変化を一定とした場合の消化試験成績:

第2図からわかるように、蛋白濃度を一定に揃えても、なお人乳と牛乳群の間には、たとえば 3 時間消化後の pH がかなり異なるように試験

条件に差がある。そこで 3 時間後の pH が一定になるように塩酸濃度を変えて消化試験を行なった。すなわちペプシンの濃度は変えないで、塩酸の濃度のみを別に測定した各試料の滴定値から算出した濃度に規定して添加した。すなわち無糖練乳では 0.132 N、調製粉乳では 0.14 N、牛乳では 0.138 N、生牛乳では 0.136 N の塩酸をそれぞれ用い、塩酸ペプシン液を 100 ml の各試料に対し、30 分毎に 5 ml の速度で添加した。その成績は第3

第 3 図 pH の変化を一定とした場合の消化試験成績

— 希釈人乳 (蛋白濃度 1.31%)
 - - 希釈無糖練乳 (蛋白濃度 1.24%)
 希釈牛乳 (蛋白濃度 1.19%)
 - · - 希釈生牛乳 (蛋白濃度 1.24%)
 - - - 調製粉乳調乳液 (蛋白濃度 1.34%)

第 4 図 蛋白分解酵素により軽度に加水分解した牛乳の消化試験成績

x---x 濃縮乳 SP 100 p.p.m. 処理 (蛋白 1.23%)
 ●---● 濃縮乳 SP 60 p.p.m. 処理 (蛋白 1.38%)
 ▲---▲ 荒煮 SP 50 p.p.m. 処理 (蛋白 1.23%)
 ●---● 人乳
 ○---○ 調製粉乳

図のとおりである。

すなわち、牛乳群はさらに消化後の TCA 可溶性蛋白量が増加した。従ってこの条件ではもはや牛乳より人乳の方が消化性がすぐれているとはいえない。おそらく実際の胃ではこうした順応性があるて、高蛋白質食には多量の胃液（ペプシンと胃酸）を分泌して消化が進行するものと考えられる。牛乳蛋白質の効率の低いことの一つの原因は高蛋白質濃度で与えられることにもあるものと考えられる。ただしこの消化試験に使用している酵素が乳児のものではないことに注意する必要があるし、また腸内における消化および吸収をも考慮に入れなければならないこともいうまでもない。

2. 酵素を用いた蛋白分解加工乳の消化試験成績 前項において消化試験法の再検討が終ったので、ついで蛋白分解酵素を添加して蛋白質を軽度に加水分解した牛乳の消化試験を行った。

1) 酵素処理乳の調製法： 現在市販に供されており、しかも純度の高い製品を入手し得る *Bacillus subtilis* のプロテアーゼ（長瀬産業製「Biopraxe conc」アルカリ性プロテアーゼ 5 万長瀬単位、中性プロテアーゼ 10 万長瀬単位）を使用した。

(i) 濃縮後 SP 60 p.p.m. 処理乳： 牛乳に 1.6% の蔗糖を添加後、80°、10 分間荒煮殺菌し、フラスコを用いた実験室的真空濃縮装置にて 40~50° の温度で固形分 35% まで濃縮する。濃縮乳に原乳当り 0.05% のヘキサメタリン酸ナトリウムと SP を 60 p.p.m. 添加し、70° まで徐々に加温する。10 分間その温度に保持後（酵素の大部分を不活性化する）冷却し消化試験に供した。

(ii) 濃縮後 SP 100 p.p.m. 処理乳： 処理法は (i) に同じ。SP のみ 100 p.p.m. 使用した。

(iii) 荒煮 SP 50 p.p.m. 処理乳： 牛乳に 1.6% の蔗糖、0.05% のヘキサメタリン酸ナトリウム SP 50 p.p.m. を添加し、60° まで加温し、10 分間保持後 80° に加熱して酵素を破壊した。

2) 消化試験成績： 上記の各種の酵素による処理乳の消化試験成績を第 4 図に示す。第 4 図の成績によれば、蛋白質のペプシンによる分解度はいずれの方法によっても、人乳よりもよかった。

これほどまで酵素で蛋白質を分解しなくても充分目的が達せられるものと考えられる。TCA 可溶性蛋白質の増加量が余り多くないのは、消化後の可溶性蛋白量が 100% に近くなったために、分解度勾配がゆるやかになったためであろうと考えられる。

このように蛋白分解酵素による軽度の加水分解によって、牛乳蛋白質のペプシンによる消化性は大いに改良されるが、その凝固性についてみると、濃縮後 SP 60 p.p.m. 処理のもの、牛乳、無糖練乳、調製粉乳いずれもまだ人乳とは差がありかなりの凝塊を有していた。従って凝固性の点においてはなお改善の余地があるといつてよいものと考ええる。

II. 牛乳の凝固性を人乳に近似させる方法について これまで牛乳の諸種の加工処理法が牛乳の蛋白質の消化性に及ぼす種々の影響について検討し、消化試験の結果、人乳と同等またはそれ以上の成績を有するものを作ることができた。しかし人乳カゼインの凝固性はカル

シウムを添加した濾紙電気泳動の成績⁽⁴⁾からもわかるように、牛乳カゼインとは本質的に性質が異なるカゼインであるため凝固性が低く、牛乳に対し現在まで牛乳蛋白質の消化性を改善するため加えられた各種の加工処理を応用してもなお完全に人乳カゼインの凝固性とは等しくならなかった。

そこで牛乳の凝固性を人乳に近似させるために著者は次の方法を採用した。すなわち加熱するか、またはイオン交換を行ったり、キレート化合物の添加などによってカルシウムイオンの一部を除去または閉鎖し、カゼインの凝固性を低下しておき、これに凝固力をもっている酵素、すなわちレンネットまたは各種のプロテアーゼを添加する。次に酵素の破壊のために加熱すると、この時凝固性の強いカゼイン区分が先に凝固してくるので、これを濾過または遠心分離を行なって除去すると、比較的凝固力の弱いカゼインを残すようになる。以下その成績についてのべる。

1) 加工法 1 : 生牛乳 2 l を 75° に加熱し、直ちに 37° まで冷却する。これに Hansen 社製レンネット錠の 5% 液を 1 ml 添加し、7 分間放置後 75° まで加熱して 10 分間保持殺菌し 1,000 r. p. m. で 1 分間軽く遠心分離して上澄液をとり、約 1.5 倍の濃度になるように濃縮した。この加工乳の分析値は第 2 表のとおりである。生理学的カードテンションは完全に 0 g で人乳と全く同様の凝固性を示した。

第 2 表 凝固性改善加工乳 1 の成分分析値

成 分	原料牛乳	加工乳 1	人乳*
水分 (%)	89.15	87.56	88.2
固形分 (%)	10.85	12.44	11.8
脂 肪 (%)	2.75	3.58	3.1
蛋白質 (%)	3.06	1.33	1.4
カゼイン	2.58	0.59	
非カゼイン蛋白質	0.48	0.74	
乳糖 (%)	4.48	6.88	7.1
灰 分 (%)	0.51	0.60	0.2

* 日本食品標準成分表 (1954)

第 3 表 凝固性改善加工乳 1 の消化試験成績
消化開始前 3 時間消化後

試 料	蛋白濃度 (%)	TCA 可溶性蛋白量 (%)	TCA 可溶性蛋白量 (%)	同増加量 (%)	pH
人 乳	1.18	22	52	30	2.72
加工乳 1	1.30	23	61	38	4.00

第 4 表 凝固性改善加工乳 2, および 3 の成分分析値

成 分	原料牛乳	加工乳 2	加工乳 3
水分 (%)	88.47	90.56	89.72
固形分 (%)	11.53	9.44	10.28
脂 肪 (%)	3.81	3.19	3.26
蛋白質 (%)	2.64	1.20	1.91
カゼイン	2.06	0.64	0.15
非カゼイン蛋白質	0.58	0.56	1.76
乳糖 (%)	4.28	4.55	4.51
灰 分 (%)	0.74	0.50	0.58

添加 5 分放置後、75° に加温し、遠心沈澱したもの、生理学的カードテンションは完全に 0 g で粗い凝固は認められなかった。成分分析値は第 4 表のとおりであった。人乳の成分組成に近づけるためには加工法 1 のように濃縮する方法がよく、牛乳の成分とくにカゼインをなるべく残して利用し凝固性のみ改善しようとするためには加工法 2, または 3 がよいものと考えられる。

考 察

人乳蛋白質は牛乳蛋白質より消化性がよいといわれているが、一方反対に牛乳蛋白質の方が消化性がよいと述べている研究も少なくない。本報告でものべているように消化試験条件を全く人乳と同様にすると牛乳蛋白質の消化試験成績も、乳清蛋白質の少ないために TCA 可溶性蛋白質の最初の量が少ないだけで、決して悪くはない。

消化試験法 (A) による成績は第 3 表のとおりであり、消化後のカードの状態は人乳と同様の凝固状態であった。加工の際にカゼインの除去率が足りないと、生理学的カードテンションを測定したときのカードが粗大となり、除去率を上げるに従いカードは微細となるが、余りカゼインを除きすぎるとカゼイン残存率が少なくなり、乳清蛋白質のみとなる。適当な除去率は用いる牛乳の品質によってかなり変動するので、少量の牛乳を用いてあらかじめ酵素の作用時間を種々かえてカゼインを除去しておき、生理学的カードテンション試験を行なった上で酵素の作用時間をあらかじめ決めておく必要がある。

2) 加工法 2 : 生理学的カードテンションを 0 g の範囲にとどめるようにして、レンネットの作用時間をできるだけ長くし、なるべくカゼインを残すように加工したときの加工乳の成分組成は第 4 表のごとくであった。加工法は 1 と同様であったが、レンネットの作用時間は用いた牛乳では 25° において 8 分間であった。

3) 加工法 3 : 次に *Streptomyces griseus* の蛋白分解酵素を用いた例をあげると次のごとくである。

牛乳 300 ml を 80° に加温直ちに冷却し 37° とし、5% ヘキサメタリン酸ナトリウム液 3 ml と 5% のプロテアーゼ (科研化学製「プロナーゼ」AS) 0.9 ml を

もちろん人のペプシンと豚のペプシンの特異性も当然問題とされねばならず、著者もまたそれを認めたが⁽⁵⁾、宮尾ら⁽⁶⁾の如く人乳を人のペプシンおよびトリプシンで分解すると、きわめて消化率のよい成績ができるといっている例もあるが、また一方人の胃腸液を用いても牛乳の方が消化がよかったとのべている例⁽⁷⁾もある。要するに結論はまだはっきりは出ていないが、両者に大差はないものといえる。しかしその凝固性については大いに異なるのであって、この凝固性の差が直ちに蛋白分解酵素による分解性と関係があるとは、本報告の成績からのみではいえないが、牛乳の蛋白質に変化を与えることによってその消化性を改良し、その結果凝固性もそれに伴って改善されることが望ましいのであり、凝固性のみを改善しようとすることは、高蛋白難消化性の牛乳蛋白質を胃内において充分消化しないで通過させることを意味し、乳児の蛋白栄養上好ましいこととはいえない。この点から著者らの牛乳蛋白質の凝固性を改善する加工法は牛乳に蛋白分解酵素を作用させ、牛乳蛋白質を軽度に加水分解して消化性も改善し、その上牛乳蛋白質の凝固性をも人乳に類似させることができた点で、前記の考えにかなう方法であると考えられる。

要 約

(1) 消化試験法を検討し、試料の蛋白濃度および塩酸ペプシンの添加による pH の変化が消化率に大きい影響のあることがわかった。蛋白濃度と pH の変化を人乳と一致させると牛乳および乳製品と人乳の消化性の差は著しく小さくなることがわかった。

(2) *Bacillus subtilis* のプロテアーゼを用い消化性の良好な製品を作ることができた。しかしなお生理学的カードテンションを 0 g にすることはできず、消化試験後のカードの状態は粗く、人乳とは異なっていた。

(3) カルシウムイオンの作用を閉鎖した後、凝乳酵素または蛋白分解酵素を作用させ、加熱してカゼインを部分凝固させて凝固したカゼインを除去し、凝固性の少ないカゼイン区分のみを残して生理学的カードテンションを 0 g とし、かつカゼインと非カゼイン蛋白質の比を人乳に近づけた製品を作ることができた。

本研究の実施に当り、御指導を賜った明治乳業株式会社研究所前所長今戸正元博士、ならびに本研究の発表を許可された国生義夫社長に深謝する。

- (1) 中井秀了, 宮沢久七 : 本誌, 37, 126 (1963).
- (2) 中井秀了 : 本誌, 37, 119 (1963).
- (3) 赤堀四郎編 : 酵素研究法, 第 2 巻, 朝倉書店, p. 241 (1956).
- (4) 今戸正元, 中井秀了, 土屋文安, 宮沢久七 : 日畜会報, 30, 248 (1959).

- (5) 中井秀了, 河合勝一 : 日畜会報, 33, 329 (1962).
- (6) 宮尾益英, 石原幸男 : *Tokushima J. Exp. Med.*, 6, 19, 25 (1959).
- (7) J. G. Kennedy, E. R. Spence, F. W. Benhart : *J. Dairy Sci.*, 38, 1307 (1955).