牛乳および乳蛋白質に及ぼす γ 線照射の影響 (第 2 報) γ 線照射によるカゼイン溶液の粘度変化とゲル化について

梅本 弥一郎, 青木 孝良, 佐藤 泰

(名古屋大学農芸化学科)

昭和 43 年 1 月 10 日 受 理

Effects of γ -Ray Irradiation upon Milk and Milk Proteins
Part II. Changes in Relative Viscosities and Gelation of
Casein Solutions Irradiated with γ -Rays

By Yaichiro UMEMOTO, Takayoshi AOKI and Yasushi SATO

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Nagoya University

(1) Relative viscosities of casein solutions irradiated with γ -rays showed anomalous changes. For 1% casein solutions irradiated up to 2.5 Mrads, viscosities increased considerably, but they decreased gradually up to 5 Mrads. 1.5 per cent casein solutions were gelled at above 1.6 Mrads. Changes in viscosities were remarkably dependent on casein concentrations, in particular, and these solutions of over 1.5% gelled at 2.5 Mrads. The relationships between casein concentrations and doses indicated that 3 to 4% gave the minimum dose required to gel (2.9 Mrads).

(2) Relative viscosities tended to decrease with increasing doses, by adding suitable amounts of lactose. For non-irradiated solutions, viscosities increased with increasing lactose (1 to 5%), but they were lower than for solutions not containing lactose. When small amounts of lactose were added (below 0.3%), they were higher than for non-irradiated, lactose-containing solutions. Particularly, these solutions gelled at 5 Mrads.

(3) Relative viscosities and pH of non-irradiated casein solutions containing appropriate amounts of CaCl_2 lowered together. For 1% casein solutions containing 4 mM CaCl_2 , viscosities tended to lower at below 0.8 Mrad, and increased considerably at above 0.8 Mrad. Lactose in solutions had more remarkable effects on viscosities by coexistence of lactose with CaCl_2 . At 0.8 and 1.6 Mrads, minimum viscosities were obtained at 6 and 4 mM CaCl_2 added, respectively. Addition of 6 and 12 mM Na_2HPO_4 increased noticeably their viscosities with increasing doses. Gelation of casein solutions was accelerated by existence of both Na_2HPO_4 and CaCl_2 during irradiation.

(Received January 10, 1968)

緒 言

牛乳の放射線照射に関する研究は、実用化を直接の目的としてかなり行なわれてきた。しかし、照射にともなう牛乳成分の変化、好ましくない臭の発生、牛乳の物理的・化学的性質の変化など、多くの解決しなければならない問題が指摘されている。したがって、これらの問題が解決されるための基礎として、照射にともなう牛乳成分の物理的および化学的变化を詳細に究明することはきわめて重要である。

著者らは前報において、牛乳の主要蛋白質であるカゼインの γ 線照射による物理化学的諸性質の変化をしらべた⁽¹⁾。McArdle と Desrosier⁽²⁾ は γ 線照射による 2% カゼイン溶液の物理化学的諸性質の変化をしらべ、とくに線量 $0.5 \times 10^6 \text{ rep}^*$ のとき相対粘度が対照に比しわずかに低下し、線量が $1.5 \times 10^6 \text{ rep}$ ではかなり上昇することを報告している。また、並木ら⁽³⁾ も低線量照射の場合に同様の結果をえている。しかし、2 Mrad 以上の高線

* $10^6 \text{ rep} = 0.93 \text{ Mrad}$

量照射の場合のカゼイン溶液の相対粘度の変化については、ほとんど報告されていない。著者らは 2.0~5.0 Mrad の線量を照射するとカゼイン溶液の相対粘度が異常な変化を示し、乳糖が共存すると、線量とともに相対粘度が徐々に低下していくことを前報において報告し⁽¹⁾, 2, 3 の考察を行なった。本報では、このような相対粘度の変化をさらに詳細に究明することを目的として、諸種の実験を行なったので、その結果を報告する。

実験方法

1. 全カゼインおよび照射用カゼイン溶液の調製 :

実験に供した全カゼインおよび照射用カゼイン溶液は、前報に記載した方法⁽¹⁾にしたがって調製した。なお、 CaCl_2 、 Na_2HPO_4 あるいは乳糖を添加したカゼイン溶液は次のようにして調製した。すなわち、所定濃度のカゼイン溶液に 1 M CaCl_2 、0.5 M Na_2HPO_4 の水溶液および乳糖粉末を所定量加えてのち、pH を 7.0 に調整して照射実験に供した。なお、対照となる塩を加えないカゼイン溶液は、塩溶液と同容量の水を添加し pH を調整して用いた。本実験でカゼイン溶液中の CaCl_2 および Na_2HPO_4 の濃度はいずれも最終濃度で表示した。

2. γ 線照射の条件 : 前報記載の条件⁽¹⁾と同じ条件で照射した。なお、線量率は線源より 15 cm のところで 1.2×10^5 rad/hr であった。

3. 相対粘度の測定 : カゼイン溶液の相対粘度は前報記載の方法⁽¹⁾によって測定した。照射後の溶液の pH は調整せずそのまま測定した。

4. カゼイン溶液のゲル化に要する線量の測定 : 所定濃度のカゼイン溶液を所定の線量で照射するとゲル化をおこし、照射中に生成した気泡がゲル中に固定されるようになる。したがって、この気泡がカゼイン溶液の入った容器をさかさにしても肉眼的に移動しなくなることを認めるまで照射したときの線量をもってゲル化に要する線量とした。

実験結果

1. 1% カゼイン溶液の γ 線照射による相対粘度の変化

1% カゼイン溶液および乳糖の共存する 1% カゼイン溶液の照射による相対粘度の変化を示す結果は前報⁽¹⁾に報告した。本実験では 1% カゼイン溶液に 1 Mrad 以下の低線量を照射したときの相対粘度の変化についてもしらべ、またカゼイン濃度を 1.5% としたときの照射による相対粘度の変化もしらべた。これらの結果は Fig. 1

Fig. 1. Changes in Relative Viscosities of Casein Solutions During γ -Ray Irradiation at Various Doses.

Relative viscosities were measured at 30°C with Ostwald viscometer, and expressed as the ratio's of time of falling casein solution to that of water in capillary tube. Radiation doses were expressed as megarads (Mrads).

△.....△ 1.5% casein solution
●——● 1% casein solution
×——× 1% casein solution containing 1% lactose

Fig. 2. Changes in Relative Viscosities of Casein Solutions at Various concentrations During γ -Ray Irradiation.

に示すとおりである。

Fig. 1 において、1.5% カゼイン溶液では 2.5 Mrad

以上の線量を照射するとゲル化した。

2. 所定の線量照射したときのカゼイン濃度と相対粘度との関係

各種濃度のカゼイン溶液を調製し, 所定の線量照射したときの相対粘度の変化は Fig. 2 に示すとおりである。

3. カゼイン溶液のゲル化に要する線量とカゼイン濃度との関係

カゼイン濃度が 1.5~5.0% の溶液を所定の線量照射すると溶液はゲルを生成する。そのときのカゼイン溶液のゲル化に要する線量とカゼイン濃度との関係を Fig. 3 に示した。

Fig. 3. Relationship between Casein Concentrations and Radiation Doses Required for Gelation.

Radiation doses required for gelation at a given concentration had some ranges of variation as indicated in the Figure.

Fig. 3 において, カゼイン濃度が 1.5% 以下の溶液では 5.0 Mrad 以内の照射線量でゲル化しなかった。カゼイン濃度 5% 以上の溶液については実験を行なわなかった。

4. 2% カゼイン溶液に添加した乳糖濃度と相対粘度との関係

2% カゼイン溶液に所定量の乳糖を添加して照射したあとの相対粘度の変化は Fig. 4 に示すとおりである。

Fig. 4 において 2.5 Mrad 照射の場合, 2% カゼイン溶液の相対粘度は乳糖濃度が 0% のとき 1.94 であり, 5 Mrad 照射のときはゲル化した。

また, 添加した乳糖濃度が 0.05~0.3% のときの 2% カゼイン溶液の照射による相対粘度の変化は Table I に示すとおりである。

Fig. 4. Changes in Relative Viscosities of 2% Casein Solutions Containing Lactose During γ -Ray Irradiation.

Appropriate amounts of lactose were added to 2% casein solutions before irradiation.

Table I. Changes in Relative Viscosities of 2% Casein Solutions During γ -Ray Irradiation when Small Amounts of Lactose were added.

Lactose concentration (%)	Radiation doses (Mrads)		
	0	2.6	5.0
0.00	1.57	4.10	Gelation
0.05	1.65	4.76	Gelation
0.10	1.67	2.46	Gelation
0.30	1.68	1.96	2.37

5. CaCl_2 を添加したカゼイン溶液の照射による相対粘度の変化

所定濃度のカゼイン溶液に CaCl_2 を添加すると乳濁し, 同時に pH が低下する。添加した CaCl_2 濃度と pH 低下の関係および低下した pH を稀水酸化ナトリウム溶液で 7.0 に再調整したあとのカゼイン溶液の相対粘度と CaCl_2 濃度との関係はいずれも Fig. 5 に示した。

つぎに, 4 mM の CaCl_2 を含む 1% カゼイン溶液および 4 mM CaCl_2 と, 1% 乳糖の共存する 1% カゼイン溶液に, 所定の線量照射したのちの相対粘度の変化は Fig. 6 に示すとおりである。

また, カゼイン溶液に添加した CaCl_2 濃度と 0.8,

Fig. 5. Changes in Relative Viscosities and pH's of 1% Non-irradiated Casein Solutions when Appropriate Amounts of CaCl₂ were added to those Solution.

The relative viscosities shown in this Figure were the values measured after readjustment of pH at 7.0.

x.....x pH
o——o Relative viscosities

Fig. 7. Changes in Relative Viscosities of 1% Casein Solutions During Irradiation when Appropriate Amounts of CaCl₂ were added to those Solutions.

Concentration of CaCl₂ is final in casein solution.

Fig. 6. Changes in Relative Viscosities of 1% Casein Solutions During γ -Ray Irradiation when CaCl₂ and Lactose were added to those Solutions at Final Concentrations of 4mM and 1%, respectively.

o——o 1% casein solution
x——x 1% casein solution+4mM CaCl₂
△——△ 1% casein solution+1% lactose
+4mM CaCl₂

Fig. 8. Changes in Relative Viscosities of 1% Casein Solutions During Irradiation when Appropriate Amounts of Na₂HPO₄ were added to those Solutions.

Concentrations are final in casein solutions.

△——△ 12mM Na₂HPO₄
x——x 6mM Na₂HPO₄
o——o 0mM Na₂HPO₄

1.6 Mrad の線量を照射したのちのカゼイン溶液の相対粘度との関係は Fig.7 に示すとおりである。

6. Na_2HPO_4 を添加したカゼイン溶液の照射による相対粘度の変化

Na_2HPO_4 を 6, 12 mM それぞれ添加したカゼイン溶液に所定の線量を照射したあとの相対粘度の変化は Fig.8 に示すとおりである。

つぎに CaCl_2 が 6 mM 共存するカゼイン溶液に Na_2HPO_4 を 6, 12 mM 添加したカゼイン溶液の照射による相対粘度の変化は Table II に示した。

Table II. Changes in Relative Viscosities of 1% Casein Solutions in the Presence of 6 mM CaCl_2 During Irradiation when Appropriate Amounts of Na_2HPO_4 were added

Radiation doses (Mrads)	Na_2HPO_4 concentration (mM)*		
	0	6	12
0.0	1.08	1.08	1.10
1.0	1.09	1.23	1.26
2.5	1.50	—	Gelation
5.0	Gelation	Gelation	Gelation

* Expressed as final concentration.

考 察

1. カゼイン溶液の照射にともなう相対粘度の変化について

前報⁽¹⁾および本実験の結果から、カゼインの水溶液に高線量の γ 線を照射するとカゼインの性質はかなり変化することが明らかとなった。まず Fig.1 において、1% カゼイン溶液および 1% の乳糖が共存する 1% カゼイン溶液の照射にともなう相対粘度の変化は、前報⁽¹⁾と同じ傾向を示した。また 1% カゼイン溶液に 0.25 Mrad の線量を照射すると、未照射のそれより相対粘度が低下し、0.5 Mrad 以上の線量では粘度が上昇する結果となった。この結果は McArdle と Desrosier⁽²⁾ および並木ら⁽³⁾ の結果とも一致する。McArdle と Desrosier は低線量照射での粘度低下の原因としてカゼインが照射により分解され、高線量照射では主として重合反応がおこることを示唆している。

全カゼインは α_s - κ - β 複合体として存在し、その量比もほぼ 55 : 15 : 25 の関係にあるといわれており⁽⁴⁾、 α_s -カゼインも β -カゼインも溶液中では単分散の形では存在せず、多分散の状態となっており、それぞれのモノマー分子が会合して存在するものと推定されている^(5,6)。

これらの知見から、本実験における低線量照射での粘度低下は α_s - κ - β 複合体の一部が γ 線照射により変化をうけ、複合体の多分散状態が変化したためと考えられる。

カゼイン中の S 含量は他の蛋白質に比し少なく (シスチンとして 0.4% 以下)⁽⁷⁾、S-S 結合の SH への解裂や SH から S-S への再結合の可能性は照射した場合でも僅かであると考えられるから、粘度低下に及ぼす影響は少ないといえる。

1% 以上のカゼイン濃度では、照射による溶液の相対粘度は著しい増加を示した (Fig.2)。未照射カゼイン溶液の相対粘度はカゼイン濃度が高くなるとともに増加し、これらの溶液に 1 Mrad の線量を照射しても、未照射の溶液に比し僅かに相対粘度が増加するにすぎない。2.5 Mrad を照射すると、0.25~1.0% のカゼイン濃度ではあまり大きな粘度変化はみとめられなかったが、カゼイン濃度が 1.5~4% のとき相対粘度は著しく増加した。1.5% 以上のカゼイン濃度で 3~5 Mrad の高線量を照射すると、溶液はゲル化した。これらの結果から、カゼイン溶液の照射による粘度変化は α_s - κ - β 複合体の変化によるもので、カゼイン濃度の増加とともに溶液中に生じたラジカルによる間接作用⁽⁸⁾をうけやすくなり、この傾向は線量が増すと著しくなるものと考えられる。

つぎに、カゼイン濃度が 1.5~5% の範囲での γ 線照射にともなうゲル化現象は Fig.3 から明らかのように、きわめて異常な変化を示した。すなわち、Fig.3 でカゼイン濃度が 3~4% のとき、ゲル化に要する線量の最小値がえられた。1.5~3, 4~5% では、ゲル化に要する線量は 3~4% のときより高くなった。この結果は、Charlsby ら⁽⁹⁾ が γ 線照射により poly vinyl pyrrolidone モノマーの濃度とゲル化に要する線量との関係を求めた結果とほぼ同じ傾向を示した。彼らはこのような結果から、放射線照射により高分子物質の分子間および分子内に架橋結合が生成し、低濃度のときは分子内で、高濃度のときは分子間で架橋結合したことを示すと推論している。本実験で用いたカゼインでも、照射によって合成高分子と類似の架橋結合、すなわち α_s - κ - β 複体内でおよび複合体間で架橋結合が生成し、これらの結合はカゼイン濃度が 3~4% のとき最も起こりやすく、これらの結合ができたためにゲル化したものと考えられる。

2. 各種成分を添加したカゼイン溶液の照射にともなう粘度変化について

乳糖を添加したカゼイン溶液の照射にともなう粘度変

化は、前報⁽¹⁾および Fig. 4, Table I の結果から明らかのように、無添加カゼイン溶液の場合とかなりことなり、照射量の増大とともに相対粘度の低下をきたした。前報⁽¹⁾では 1% カゼイン溶液を用いて実験したが、本実験ではカゼイン濃度が 2% のときの添加の効果をしらべた。すなわち、Table I の結果から、照射量が 2.6 Mrad のとき、添加した乳糖の濃度が 0.05% では相対粘度が無添加カゼイン溶液の 116% に増加し、0.1% 乳糖のとき 60%, 0.3% 乳糖のとき約 48% に減少した。しかし、乳糖を 0.05, 0.1, 0.3% 濃度としたとき未照射カゼイン溶液の相対粘度をそれぞれ 100 とすると、2.6 Mrad 照射した溶液の相対粘度はそれぞれ 288, 147, 117 となり、未照射カゼイン溶液のそれより低くならなかった。一方、5 Mrad を照射すると、乳糖添加量が 0.05, 0.1% ではカゼイン溶液がゲル化し、0.3% ではゲル化はおこらなかった。これらの結果から、添加した乳糖の濃度が低い場合には、カゼイン溶液の粘度低下に及ぼす照射の影響は少なくなるものと考えられる。

つぎに、乳糖添加量が 1~5% のときは Fig. 4 に示すように、照射前に添加した乳糖濃度が照射後のカゼイン溶液の相対粘度に著しい影響を及ぼしていることは明らかである。すなわち、未照射の場合、1% 以上の乳糖添加によりカゼイン溶液の相対粘度は約 1.1~1.2 倍に増大する。このものに 1 Mrad の γ 線を照射すると約 0.11~0.16 の粘度低下を示すが、乳糖濃度の増加とともに粘度は増加する傾向を示した。つぎに、2.5 Mrad を照射すると乳糖添加量が 2% のときかなり低い相対粘度を示し、3~5% では乳糖濃度の増加とともにやや上昇する傾向を示した。さらに 5 Mrad 照射のときも 2% で著しい粘度低下を示し、3~5% では相対粘度の濃度依存性は少なくなった。とくに、乳糖濃度が 5% でも相対粘度は 1% のときのそれより低くなった。乳糖を含まないカゼイン溶液の場合でも、5 Mrad 照射のときは粘度が低下する傾向にあった (Fig. 1)。したがって、Fig. 4 の結果から乳糖が照射によるカゼインの粘度上昇を抑制することは明らかで、その低下割合は乳糖濃度に依存することが示された。

つぎに、カゼイン溶液に CaCl_2 を添加すると Fig. 5 に示したように pH は低下し、相対粘度も低下した。すなわち、 CaCl_2 の最終濃度が 8 mM 以下では pH は約 0.7 低下し、相対粘度も約 0.2 だけ低下した。 CaCl_2 が 12, 16 mM ではカゼイン溶液の pH および相対粘度はと

もに僅かな変化を示すだけであった。一般に、カゼイン溶液に CaCl_2 を添加したとき pH が低下することはよく知られており、これは、 Ca^{2+} とカゼインの結合によりカゼイン中の H^+ が遊離してくるためと考えられている。また、pH 変化と平行して相対粘度も低下することは、カゼインが Ca^{2+} と結合してカゼイン・ミセルを形成して α_s - κ - β のカゼイン複合体の形状が変化し、このものは溶液中でカゼインナトリウムとはことなった広がりをもつために相対粘度の変化を示すものと考えられる。このように、 Ca^{2+} を添加するだけで粘度変化を示すカゼイン・カルシウム溶液に γ 線を照射すると、Fig. 6, 7 のように、カゼインナトリウム溶液とはことなった相対粘度の変化を示した。Fig. 6 の結果から 4 mM の CaCl_2 を含むときは、低線量照射 (0~0.8 Mrad) で僅かに相対粘度は低下し、照射量が 0.8 Mrad 以上では相対粘度はかなり増加する傾向を示し、とくにその傾向は 1.6 Mrad 以上で著しくなることが示された。しかし、このカゼインカルシウム溶液に 1% 乳糖が共存すると粘度は増加せず、逆に低下する傾向を示した。これらの結果から、低線量照射のときカゼインカルシウムの複合物は、溶液中で照射により生成したラジカルの作用をうけて僅かに分解または解裂したために粘度が低下する傾向を示し、0.8 Mrad 以上の照射では、ラジカルの攻撃をうけた複合物間での重合により速やかに粘度を増加していくものと考えられる。一方、Fig. 7 の結果から 0.8, 1.6 Mrad を照射したとき、添加した CaCl_2 の濃度がそれぞれ 6 mM, 4 mM で粘度は最小値を示し、1.6 Mrad を照射したとき CaCl_2 が 8 mM でゲル化した。また添加した CaCl_2 の各濃度において照射量の増大とともに粘度は高くなった。

さらに、 Na_2HPO_4 を添加したカゼイン溶液の照射後の粘度は、Fig. 8 に示すように照射量とともに著しく増大し、とくに Na_2HPO_4 が 12 mM のとき照射線量を 1 Mrad 以上にすると、照射後の粘度増加は著しくなり、また 6 mM 添加の場合でも 2.5 Mrad を照射すると粘度は著しく上昇した。添加した CaCl_2 が 6 mM 共存するときの Na_2HPO_4 の添加効果は Table II に示すように、照射によって粘度上昇が促進される傾向にあった。これらの結果から Na_2HPO_4 の共存により、カゼインが照射によるゲル化を促進されやすくなるものと考えられる。

要 約

(1) カゼイン溶液の相対粘度は、照射にともなって

きわめて異常な変化を示した。1% カゼイン溶液に γ 線を 2.5 Mrad まで照射すると相対粘度は増加していき、2.5 Mrad のとき最大値を示し、3 Mrad 以上では粘度は低下した。また 1.5% カゼイン溶液は 1.6 Mrad 以上の照射でゲル化した。つぎに照射にともなう相対粘度の変化はカゼイン溶液の濃度に著しく依存し、濃度 1.5% 以上のカゼイン溶液は照射量が 2.5 Mrad をこえるとゲル化した。また、カゼインの濃度をかえてゲル化に要する線量を求めた結果は 3~4% カゼインのとき最小の線量 (2.9 Mrad) を示した。

(2) 乳糖をカゼイン溶液に添加すると、照射量とともに相対粘度は低下する傾向を示した。添加する乳糖濃度を高くする (1~5%) と、未照射のときは相対粘度が増大し、照射により無添加カゼイン溶液のそれより低くなった。乳糖の添加量が少ないときは (0.3% 以下) 相対粘度が未照射の値より高くなり、5 Mrad を照射するとカゼイン溶液はゲル化した。

(3) CaCl_2 添加により未照射カゼイン溶液の相対粘度と pH はともに平行して低くなった。4 mM の CaCl_2 を含む 1% カゼイン溶液の相対粘度は照射量が 0.8 Mrad 以下でやや低下する傾向を示し、0.8 Mrad 以上の照射ではかなり高くなった。 CaCl_2 と乳糖の共存する溶液では粘度に及ぼす乳糖の影響が大きくなった。 CaCl_2 の添加量をかえて 0.8, 1.6 Mrad 照射すると、それぞれ 6, 4

mM CaCl_2 のとき粘度が最低の値を示した。

Na_2HPO_4 を 6, 12 mM 添加したときのカゼイン溶液の粘度は照射量とともに著しく増大した。 Na_2HPO_4 と CaCl_2 が共存すると照射中にカゼイン溶液のゲル化が促進される傾向にあった。

本報の結果は昭和 41 年度日本農芸化学会大会で講演報告したものの一部である。なお、本実験を行なうにあたり森永奉仕会研究奨励金の助力をうけた。同会に謝意を表する。

- (1) 梅本弥一郎, 伊藤秀夫, 佐藤 泰: 農化, **40**, 271 (1966).
- (2) F. J. McArdle and W. Desrosier: *Food Tech.*, **9**, 527 (1955).
- (3) 並木満夫, 吉田真紀子, 松山 晃: 昭和 37 年度日農化大会講演報告要旨集, p. 62 (1962).
- (4) B. Lindqvist: *Dairy Sci. Abst.*, **25**, 257, 299 (1963).
- (5) T. A. J. Payens: *Biochim. Biophys. Acta*, **46**, 441 (1961).
- (6) R. A. Sullivan *et al.*: *Arch. Biochem. Biophys.* **55**, 455 (1955).
- (7) N. J. Hipp *et al.*: *Am. Chem. Soc.*, **75**, 1678 (1953).
- (8) Z. M. Bacq and P. Alexander: *Fundamentals of Radiobiol.*, Pergamon Press, 1961, p. 45.
- (9) A. Charlsby and P. Alexander: *J. Chim. Phys.*, **52**, 699 (1955).