牛乳カゼインミセルに対するリン酸塩の影響*

梁 逸, 中村 隆, 米沢大造
(大阪府立大学農学部食品化学研究室)

昭和 48 年 8 月 13 日 受 理

Effect of Phosphate on Bovine Casein Micelles (Behaviors of Bovine Casein Micelles under Various Conditions Part III)

By I LIANG, Takashi NAKAMURA and Daizo YONEZAWA
*Laboratory of Food Chemistry, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture, Sakai Osaka*

Effects of phosphate on casein micelles were investigated in comparison with those of citrate and glycerophosphate. A critical concentration of added phosphate was found at about 0.06 M, over which binding of phosphate to micelles, rapid increase of their swelling, their intermicellar binding and gelation of skimmilk occurred. The intermicellar binding was not observed with citrate and glycerophosphate. The formation of the intermicellar binding by phosphate was explained by assuming the reversible cleavage of calcium phosphate bridges by phosphate. It was also pointed out that the exposure of the inner structure of micelles induced by the cleavage of calcium phosphate bridges must be a necessary step to the formation of intermicellar binding. (Received August 13, 1973)

牛乳中でカゼインは、カルシウムやリン酸とともにミセルを形成して存在している。カルシウムイオンがカゼインの分子間の結合に重要な貢献をすることはよく知られた事柄であり、カゼインミセルの形成もカルシウムのこのような働きに基づいている。これに対して、無機リン酸がミセルの形成に対して、どのような役割をになっているかについては、あまり明らかにされていない。本報の研究は、脱脂乳に各種の濃度にリン酸塩を添加したときのミセルの挙動を観察することによって、ミセルにおけるリン酸塩の働きを明らかにすることを目的としている。リン酸塩はカルシウムに対し強い結合力を有するので、その作用の重要な部分は、カルシウムとの結合を通じて起こることが予想される。そこで、カルシウムに対し結合力を有するリン酸以外の物質として、クエン酸やグリセロリン酸の作用も併せて観察し、これらと比較することによって、ミセルに対するリン酸塩の作用の特異な点を明らかにしようとした。

実 験 方 法

1. 脱脂乳の調製法 ホルスタイン個牛から採取した牛乳を、16 時間低温で貯蔵後 900×g で 20 分間遠心分離し、布で濾過して脂肪その他のあらい粒子を除き、脱脂乳を調製した。

2. 脱脂乳に対するリン酸塩、クエン酸塩、グリセロリン酸塩の添加 リン酸塩は 3M KH_2PO_4 と 3M K_2HPO_4 とを混合して pH 6.8 としたものを脱脂乳に添加した。クエン酸塩、グリセロリン酸塩はそれぞれクエン酸、およびグリセロリン酸ナトリウムの水溶液の pH をアルカリまたは酸で pH 6.8 に調節し、最終濃度をそれぞれ 1.25 M, 3 M としたものを添加した。用いられた試薬は、すべて和光純薬特級である。グリセロリン酸ナトリウムは α, β の混合物が用いられた。

3. ベレット重量および乳清中の蛋白質濃度の測定 所定の条件を与えて冷蔵庫中に静置した脱脂乳を、30°C に 1 時間保った後、日立分離用超遠心機 55 P-2 型を用いて 50,000 rpm で 1 時間超遠心分離し、遠沈管をさかさまにして 3 分間放置後、遠沈管の底に残ったベレット

* 各種条件下における牛乳カゼインミセルの挙動 (第 3 報)。

を含めて遠沈管の重量を測定し、これより遠沈管の重量を差し引いてペレット重量を求めた。乳清中のタンパク質濃度は、超遠心分離の上澄の一部をとりだし、8M尿素で希釈して島津分光光度計 QV 50 で 280m μ における光学密度を測定することによって求めた。8M尿素による希釈の倍率は、リン酸添加の実験では 26 倍、クエン酸、グリセロリン酸ではそれぞれ 51 倍、16 倍であった。

4. 濁度の測定 0.5 cm の石英セルに厚さ 0.49 cm のスペーサーを入れ、液層の厚さを 0.01 cm として 350 m μ における光学密度を、島津分光光度計 QV 50 を用いて室温で測定することにより濁度を求めた。

5. 毛細管粘度計による粘度の測定 松本⁽²⁾により改良された Maron-Belner 型の毛細管粘度計を用い 30°C において粘度を測定した。U 字管両側の液面の落差 h の時間的変化を測定して、 $\log h$ を時間に対してプロットすると、試料溶液がニュートニアンであればプロットは直線となり、その勾配から粘度を求めることができる。また試料溶液が非ニュートニアンであれば、プロットは直線からはずれることになる。

6. 脱脂乳のゲル化に対するリン酸塩の臨界濃度の観測 試験管に採取した脱脂乳に、その効果を調べようとする試薬を添加して暫時冷蔵庫中に放置後、各種濃度にリン酸塩 (pH 6.8) を添加して、さらに 48 時間冷蔵庫中に貯蔵した。これを 30°C に 1~2 時間保温して、ゲル化の有無を試験管をさかさまにしたとき流出するかどうかで判定した。

7. リン酸塩添加脱脂乳の乳清中のリン酸塩濃度の測定 脱脂乳に各種濃度にリン酸塩 (pH 6.8) を添加し、電気冷蔵庫中に 48 時間放置後、30°C に 1 時間保ち、30°C で 50,000 rpm 1 時間超遠心分離して上澄を採取し、Deniges の方法⁽³⁾でリン酸塩濃度を測定した。

結 果

1. ペレット重量による観察

脱脂乳にリン酸塩、クエン酸塩またはグリセロリン酸塩を各種の濃度に添加し、電気冷蔵庫中に 48 時間放置後 30°C に 1 時間保ち、超遠心分離してミセルを沈降させ、遠沈管の底につもったペレットの重量と上澄の蛋白質濃度を測定した。その結果を Fig. 1 に示す。リン酸塩の濃度が増加するにつれてペレットの重量は増加し、ミセルの膨潤を示した。リン酸塩濃度 0.06 M 付近

までゆるい増加がつづくが、それを越すと増加が大きくなる。乳清中の蛋白質濃度は、ミセルからのカゼインの溶け出しによって、リン酸濃度の増加とともに徐々に増加する。しかしリン酸塩濃度 0.10 M でもミセルからの

Fig. 1. Effect of Phosphate, Citrate and Glycerophosphate on Pellet Weight of Casein Micelles and Protein Concentration in Milk Serum.

Solid circles : pellet weights, open circles : serum protein concentrations determined by absorbance at 280 m μ , centrifugation : (a) 30,000 rpm for one hour at 30°C, (b) and (c) 50,000 rpm for one hour at 30°C.

カゼインの溶け出し量はミセルカゼイン総量の約4%にすぎなかった。クエン酸塩の場合は、0.01 M 付近でペレット量の増加がみられた。このとき、ミセルからの蛋白質の溶解はほとんどない。しかし、これよりもクエン

酸塩濃度が高まるにつれて、ミセルカゼインの溶け出しが急速に増加し、それとともにペレット量が減少した。グリセロリン酸塩はクエン酸塩と同じ傾向をしめしたが、ペレット量の極大は0.1 M 付近にあらわれた。これらの観察から、カゼインミセルはリン酸塩、クエン酸塩、グリセロリン酸塩の添加により膨潤するが、クエン酸塩、グリセロリン酸塩では濃度の上昇とともにミセルからのカゼインの溶出が著しくなるのに対し、リン酸塩ではかなりの膨潤が起こっても、ミセルカゼインの溶け出しは少ないことがわかった。

2. 濁度による観察

脱脂乳にリン酸塩、クエン酸塩、グリセロリン酸塩を各種濃度に添加して1夜冷蔵庫中に放置後、液層の厚さ0.01 cm のセルを用いて 30°C で濁度を測定した。その結果を Fig. 2 に示す。濁度はリン酸塩濃度が高くなるにつれて徐々に低下するが、リン酸塩濃度 0.06 M 付近から低下の度合を増している。これは前節ペレット量の測定において、0.06 M 付近をこすとペレット量の増加が大きくなったことと対応しており、ミセルの膨潤がこの濃度をさかいとして著しくなることを示すものである。ミセルの膨潤が濁度の低下をひき起こすことについては、前報⁽¹⁾において述べた。一方クエン酸塩の場合は、濁度はクエン酸塩の濃度の上昇とともに急速に低下した。これはミセルの膨潤とともに、カゼインミセルの溶解が急速に進行するためである。グリセロリン酸の添加による濁度の減少にも、クエン酸塩の場合と同様にミ

Fig. 2. Effect of Phosphate, Citrate and Glycerophosphate on Turbidity of Skimmilk.

The optical density was determined at room temperature by using a quartz cell with 0.01 cm light path.

Fig. 3. Effect of Phosphate on Sedimentation of Casein Micelles.

The centrifugation was made at four different rotor speeds, 5,500, 7,000, 9,000 and 13,000 rpm for one hour at room temperature and the optical density of supernatant was determined after 50 times dilution with 8 M urea.

セルからのカゼインの溶出が大きく関係しており, 0.1 M を越すと濁度の減少が著しくなる。

3. 沈降による観察

脱脂乳に各種の濃度にリン酸塩を添加して48時間4°Cで貯蔵した後, 30°C に1時間保って5,500, 7,000, 9,000, 13,000 rpm で1時間遠心分離し, 遠沈管中央部より上液 0.1 ml を採取し, 8 M 尿素 5 ml と混合して

280 m μ の吸収を測定することにより, 上液中に残留するミセルの量を求めた。その結果を Fig. 3 に示す。この結果によると, 0.05 M 以下の濃度のリン酸塩はミセルの沈降に影響を与えないが, 0.05 M を越すとミセルの沈降量が急に増加することが認められる。これはこのリン酸塩濃度をさかいとして, ミセルの集合が起こることを示すものである。集合はリン酸塩濃度がそれより高くなるにつれて進行し, 0.08 M 以上になると5,500 rpm でもほとんどのミセルが沈降するようになり, 上液のタンパク質濃度は一定となる。

4. 粘度による観察

脱脂乳に各種の濃度にリン酸塩を添加して, 電気冷蔵庫中に48時間放置後, 30°C に1時間保って, ウペロードの粘度計を用いて30°C で粘度を測定した。その結果を Fig. 4 に示す。リン酸塩濃度 0.06 M 付近までは粘度の増加は微少であるが, 0.06 M を越すと増加が著しくなる。もっと高濃度のところではゲル化が起こり, 粘度の測定ができなくなった。0.06 M 以下における粘度の増加は, カゼインミセルの膨潤によるものである。リン酸塩濃度 0.06 M から上の粘度の急な上昇は, 前節沈降の結果でも示されたように, 膨潤したミセル間に結合が起こったためと考えられる。ミセルの膨潤とミセル間結合とが進むと, ゲル化に至ることになる。

次に脱脂乳に 0.18 M の濃度にリン酸塩を添加して, 粘度の経時的な変化を毛细管粘度計を用いて観察した。Fig. 5 は液層の落差 h の対数を流下時間に対してプロットしたもので, このプロットから求めた粘度の経時的変化を Fig. 6 に示す。この結果によると100分付近ま

Fig. 4. Effect of Phosphate, Citrate and Glycerophosphate on Viscosity of Skimmilk.

Fig. 5. Log h vs. Time Plots for Skimmilk Treated with 0.18 M Phosphate.

Fig. 6. Viscosity Changes of Skimmilk after Addition of 0.18 M Phosphate and 0.025 M Citrate.

では粘度が徐々に上昇するが、それを越えると粘度の上昇が速やかになる。Fig. 5 のプロットから分かるように、115 分を過ぎると非ニュート的な性質があらわれはじめ、200 分でゲル化した。この変化は、0.18 M のリン酸塩の存在でカゼインミセルがまず膨潤を起こし、膨潤が著しくなった時点でミセル間の結合を生じ、ゲル化に至ったことを示している。一方、ミセルの半分が溶解する程度に (Fig. 1 参照) クエン酸塩を添加して、同様に粘度の経時変化をみると、Fig. 6 に示すように最初から粘度は急速に上昇して短時間で一定値に達し、それ以後ミセル間結合の生成を示すような粘度の上昇は見られなかった。

5. ゲル化による観察

上述の実験において、リン酸塩を添加した脱脂乳を冷蔵庫中に 2 昼夜放置した後 30°C に保持すると、添加リン酸塩濃度 0.07~0.1 M 以上 (この濃度は使用した脱脂乳によって変動する) でゲル化が起こることが観察された。そこで、このゲル化に対するリン酸塩の臨界濃度が、リン酸塩の添加に先立って加えられた添加物により、どのような影響をうけるかを調べてみた。その結果を Table I に示す。Table I のクエン酸塩添加の影響をしらべた結果によると、クエン酸塩を添加してない対照はリン酸塩濃度 0.105 M でゲル化したのに対し、あらかじめクエン酸塩を 5×10^{-4} M の濃度に添加したものでは、リン酸塩の臨界濃度が 0.09 M に低下した。一方、クエン酸塩濃度をもう少し高めていくと、臨界濃度は逆に対照よりも高くなった。この結果によると、クエン酸塩の存在はゲル化を

Table I. Effect of Citrate, Glycerophosphate, Sodium Chloride and Calcium Chloride on Gelation of Skimmilk by Phosphate

	Phosphate(M) × 100									
	0	3.0	4.5	6.0	7.5	9.0	10.5	12.0	13.5	15.0
Citrate (M)										
0	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
5×10 ⁻⁴	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
1.5×10 ⁻³	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
5×10 ⁻³	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
1.5×10 ⁻²	—	—	—	—	—	—	±	+	+	+
5×10 ⁻²	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±

	Phosphate(M) × 100									
	0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	12.0	14.0
Glycerophosphate (M)										
0	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
5×10 ⁻³	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
10 ⁻²	—	—	—	—	—	—	—	±	+	+
5×10 ⁻²	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
10 ⁻¹	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+

	Phosphate(M) × 100									
	0	6.0	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0	11.0
Sodium chloride (M)										
0	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
2.5×10 ⁻²	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
6.25×10 ⁻²	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+
1.25×10 ⁻¹	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
2.5×10 ⁻¹	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+

	Phosphate(M)×100										
	0	3.0	4.0	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	
Calcium chloride (M)											
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
5×10 ⁻³	—	—	—	—	—	—	—	±	+	+	
10 ⁻²	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+	
2×10 ⁻²	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+	
3×10 ⁻²	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4×10 ⁻²	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

The positive sign indicates the occurrence of gelation.

阻害するが、低濃度に存在するときは反対にゲル化を促進することになる。

クエン酸塩の場合と同じ方法で、グリセロールリン酸塩や食塩の添加の影響を調べた。グリセロールリン酸塩の場合も食塩の場合も、リン酸塩の臨界濃度の低下が見られた。これらの塩の濃度を高めてもクエン酸塩のような臨界濃度の上昇はみられず、高濃度では離液を起こした。

次に、塩化カルシウムの添加の影響を調べた。この場合は、pH の変動を防ぐために pH 6.8 のイミダゾール

Fig. 7. Change of Phosphate Concentration in Milk Serum by Addition of Phosphate.

Solid line: observed concentration of inorganic phosphate in separated serum, broken line: Calculated concentration of inorganic phosphate based on the assumption of homogeneous distribution of added phosphate in whole skim milk.

緩衝液を 0.04 M の濃度に含ませた脱脂乳にまずリン酸塩を加えて 1 夜電気冷蔵庫中に放置し、ついで塩化カルシウムを添加してさらに 1 夜放置後、ゲル化の状態を 30°C で観察した。Table I に示すように、カルシウムの添加は著しくリン酸塩の臨界濃度を低下させることが観察された。

6. 添加リン酸塩の挙動

脱脂乳にリン酸塩を各種の濃度に添加し、電気冷蔵庫中に 48 時間放置後、30°C で 50,000rpm 1 時間遠心分離し、上澄のリン酸塩濃度を定量した。その結果を Fig. 7 に示す。Fig. 7 において、破線は添加したリン酸が脱脂乳中に均一に分布した（すなわち乳清にもミセル内にも同じ濃度で分布した）と仮定したときの乳清のリン酸濃度である。この結果によると、添加リン酸濃度が 0.06 M 付近になるまでは乳清のリン酸濃度は破線と一致し、それを越したときにはじめて破線よりも低い値を示すようになる。このことは添加したリン酸塩のカゼインミセルへの結合が、0.06 M 付近をさかいとして顕著なることを示している。

考 察

上述の実験において、リン酸はカゼインミセル間の結合をひき起こす点で、クエン酸やグリセロリン酸とは異なる特殊な働きをすることが観察された。カゼインミセル間の結合に無機リン酸が関与することについては、

Rose⁽⁴⁾ や Zittle⁽⁵⁾ もそれぞれの実験結果に基づいて考察を加えている。しかし彼らは、リン酸を単にミセル間架橋を構築する材料として取扱っている。著者らはリン酸の働きはもっと動的なものであると考えるので、上述の実験結果と照合しつつ以下にその作用機構を考察することにする。このような考察を行なうことは、カゼインミセル内におけるリン酸の働きを理解する一助ともなうかと思う。

牛乳のカゼインミセルの中には、カルシウムと無機リン酸が原子比にして 3 対 2 の割合で存在しており⁽⁶⁾、また無機リン酸の約 3/4 量に相当するカゼインリン酸が存在している⁽⁷⁾。カゼインミセル内におけるカルシウムや無機リン酸の存在様式については多くの説が出されているが⁽⁶⁻⁹⁾、カルシウムを中心として、これに無機リン酸およびカゼインリン酸が結合して複合体を形成し、最も簡単な形で示せば、(1)式に例示するようにカゼイン分子間に架橋を生じ、ミセル構造の維持に貢献していると

考えられる。このような架橋構造は、ミセル内に存在する遊離のリン酸イオンによって置換をうけ、(2)、(3)に示すような平衡関係が成立すると考えられる。リン酸

塩の添加により、ミセル内の遊離のリン酸イオン濃度が高められるにつれて、反応は全体として架橋が切断される方向に進み、カゼイン分子間の結合がゆるめられる結

果として、ミセルの膨潤をひき起こすことになる。

ペレット重量、濁度、粘度の測定を通じてカゼインミセルの膨潤を調べた結果によると、添加したリン酸塩の濃度が 0.06 M 付近までは膨潤の進み方が目立たないが、これを越えると急に著しくなる傾向が見られた。一方前述の置換反応により、添加したリン酸塩の消費が起こるはずであるが、Fig. 7 の実験結果によると、このような消費はリン酸塩濃度が 0.06 M 付近になるまではほとんど認められない。このことは、ミセル構造が保持されている間は、置換反応の進行が抑制されることを示している。添加リン酸塩濃度が 0.06 M を越すとリン酸塩の消費も活発になり、ミセルの膨潤も進行するので、0.06 M 付近がミセル構造に変化の起こる臨界濃度とみなされる。

沈降、粘度測定、およびゲル化の実験に示されたように、ミセル間に結合が生ずるのも、ちょうど上述の臨界濃度付近からである。このことはミセル間結合の生成に、ミセル内部結合の破壊が前提となっていることを強く示唆している。(2) および (3) の反応は可逆的であるから、架橋は切断されてもまた復活する可能性を蔵している。ミセル構造が保持されている間は架橋の復活はミセル内で起こるが、架橋の切断が進んでミセルの内部構造が露出されるようになると、架橋の復活はミセル間でも起こるようになり、ミセルの会合やゲル化が起こることになる。このようにミセル間結合は、カルシウム架橋のつなぎかえによって起こるものであり、その第一段階は、リン酸によるカルシウム架橋の切断に始まっている。これに対しクエン酸塩やグリセロリン酸塩を添加したときは、ミセルの膨潤は見られるがミセル間の結合は全く認められず、添加濃度を高めていくとミセルは溶解消失してしまう。その理由は、次のように説明されよう。ミセル内またはミセル間でカルシウム・リン酸複合体の架橋が再生される反応の中心はカルシウムであって、架橋の形成はカルシウムの濃度に比例して起こると考えられる。クエン酸のようなものがミセル内に侵入してカルシウムに結合すると、カルシウム・リン酸複合体からカルシウムを切り離し、独立した錯イオンを形成してミセル外へ逸出するので、ミセルは架橋形成に有効なカルシウム濃度を低下して、ミセル間結合を起こすことなく溶解消失に至るのである。換言すれば、リン酸塩の添加ではミセル内のカルシウムは架橋形成能を保持しているが、クエン酸の作用をうけたカルシウムは架橋形成

能を喪失するところに、両者の差異が存在することになる。

ミセル間結合にカルシウム複合体が関与していることは、リン酸塩添加によるゲル化の実験において、クエン酸を 10^{-2} M 程度以上に添加するとゲル化が起こりにくくなることから明らかである。またカルシウムリン酸複合体がミセル間結合の生成に関与するものとする、ミセル内における複合体の濃度を高めてやれば架橋反応が促進され、ミセル間に結合を生じやすくなるはずであるが、このことはゲル化に対するカルシウム添加の影響をしらべた Table I の結果に示されている。

リン酸塩添加によるゲル化の実験において、クエン酸塩の添加はゲル化を阻害したが、 5×10^{-4} モルという微量のクエン酸塩の添加では、かえってゲル化の促進が見られた。これはクエン酸が、ミセルの内部結合の破壊を助けたことによるものとして説明されよう。同じようなゲル化の促進が、グリセロリン酸塩や食塩の添加でも見られた。これらの試薬は、いずれもカルシウムによる内部結合を破壊する作用をもつものであるが、クエン酸と異なりかなり高濃度に添加しなければならない。従って、これらの試薬を用いた場合は溶媒のイオン強度がかなり高くなるのであって、このイオン強度の上昇もタンパク質分子間の静電的反発をおさえてゲル化の促進に貢献することになる。このようなイオン強度の上昇によるゲル化促進効果は、リン酸塩だけによるゲル化の場合にも働いていることと思われる。

以上の考察に基づき、カゼインミセル内における無機リン酸の働きを要約すると、カルシウム・リン酸複合体としてミセル間の架橋を固定的に構成しているだけでなく、遊離のリン酸イオンとして架橋の可逆的な切断に与かり、ときには架橋のつなぎかえをおこなう機能をもっていることが考えられる。

要 約

(1) 脱脂乳に各種の濃度にリン酸塩を添加して、30°C でカゼインミセルに対する影響をクエン酸塩、グリセロリン酸塩と比較して調べた。

(2) ペレット重量、濁度、および粘度の測定の結果、リン酸塩の添加により、ミセルが膨潤を起こすことが観察された。この膨潤は、添加リン酸塩濃度 0.06 M 付近から急に著しくなる。

(3) 添加リン酸塩のミセルに対する結合をしらべた

結果, 0.06 M 付近から結合が認められるようになり, このリン酸塩濃度がミセルの構造に大きい変化が起こる臨界濃度に相当することが認められた。

(4) 沈降による観察の結果, リン酸塩濃度 0.05 M 付近からミセル間結合が起こり始めることが観察された。粘度測定の結果も, このことを裏書きしている。

(5) クエン酸塩, グリセロリン酸塩の添加では, ミセルの膨潤は起こるけれどもミセル間結合の生成は認められず, ミセルからのタンパク質の溶出が著しかった。

(6) リン酸塩の添加により脱脂乳はゲル化を起こすが, ゲル化の起こり始めるリン酸塩濃度は 0.07~0.1 M であった。このゲル化の臨界濃度は 5×10^{-4} M のクエン酸塩の添加で低下し, 10^{-2} M 以上の添加で上昇した。グリセロリン酸塩および食塩の添加でも, 臨界濃度は低下した。塩化カルシウムの添加も, 著しくゲル化を促進した。

(7) 以上の観察に基づき, 添加リン酸塩によるミセル間結合の生成機構について考察し, カルシウムリン酸

複合体によるカゼイン分子間の架橋が, リン酸イオンにより可逆的な切断を受け, ミセル構造の変動による内部構造の露出に伴って, ミセル間結合を形成するという仮説を提案した。

- (1) 梁 逸, 松本幸雄, 米沢大造: 食品工誌, **20**, 304 (1973).
- (2) S. Matsumoto: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **38**, 554 (1965).
- (3) 京都大学農学部農芸化学教室編: 農芸化学実験書, 第 1 巻, 産業図書, 1957, p. 103.
- (4) D. Rose and H. Tessier: *J. Dairy Sci.*, **42**, 989 (1959).
- (5) C. A. Zittle: *ibid.*, **53**, 1013 (1970).
- (6) "Fundamentals of Dairy Chemistry," ed. by Byron H. Webb and Arnold H. Johnson, The Avi Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut, 1965, p. 384.
- (7) G. T. Pyne: *J. Dairy Res.*, **29**, 101 (1961).
- (8) D. Rose and J. Ross Colvin: *J. Dairy Sci.*, **49**, 351 (1966).
- (9) C. V. Morr: *ibid.*, **50**, 1744 (1967).