

牛乳透析ノ研究 (第2報)

紫外光線ノ照射LABノ作用並ビニ自然酸

敗ニヨル牛乳透析性窒素ノ變化ニ就テ

(家畜ノ主要生産物ニ關スル蛋白化學的研究 第四回)

齋 藤 道 雄

著者ハ前報ニ於テ新鮮ナル牛乳ヲ羊皮紙ヲ用ヒテ透析スルニ Ninhydrin 反應強キ微量ノ窒素化合物ノ存在スル事ヲ確メ其ノ窒素分布ヲ檢ジ且ツ各種ノ定性反應ヲ調査セリ。亦牛乳ヲ煮沸スル場合ハ Ammonia ヲ比較的多量ニ分解生成スレ共其ノ絶對量ハ極メテ微量ナル故普通ノ方法ニヨリテ此ガ増加ヲ檢ズル事困難ナルニ比シテ透析法ヲ利用スル時ハ極メテ容易ニ之ヲ證明シ得ル事ヲ報告セリ。

本報ニ於テハサラニ牛乳ニ對シ紫外光線ヲ照射シタル場合 Labヲ作用セシメタル場合、牛乳ヲ自然酸敗シタル場合ニ於ケル透析性窒素ノ變化ニツキ調査セリ。透析ノ方法ニ就テハ前報ニ於テ述ベタルヲ以テ之ヲ省略セリ。

1. 紫外光線ノ照射ニヨル牛乳透析性窒素ノ變化

新鮮ナル牛乳 (酸度ハ 0.12%、窒素含量一立中 4.97瓦) 3.5 立ヲ取り其ノ内一立ハ Kontroll トシテ直チニ 3 立ノ蒸溜水ヲ外層トシテ、規定ノ方法ニヨリテ五時間透析セリ (a)。次ノ一立ハ 30 分間人工太陽燈ニヨリテ照射シタル後、同様ニ透析セリ (b)。他ノ一立ハ二時間半同様ニ紫外光線ヲ照射シテ之ヲ透析セリ (c)。照射ノ方法ハ牛乳ヲ薄キ層トナリテ水銀ランプノ周圍ヲ回轉シツ、下部ヨリ上部ニ流ル、様ニナシ、其ノ内部ハサラニ英製コイルヲ用ヒ冷水ガ順環シ絶ヘズ牛乳ヲ冷却スル様ニ仕組ミタリ。裝置ハ全部石英ヲ以テ組立ラレタリ、牛乳ノ流奔スル速度ハ一時間ニ一立ノ牛乳ガ十二回照射サル、様ニ調節セリ。用ヒタル水銀ランプハ 3—4 Ampere, 210 Volt ノモノナリ。

カクシテ透析シタル水液ハ常法ニ從ツテ低温ニ於テ真空蒸發シ 50 c.c. ニ濃縮セリ。此ノ Dialisat 中ノ窒素分析成績次ノ如シ。

- (a) 全窒素 Dialisat 6cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 9.95ccヲ要セリ、N=0.2325%
アミノ態窒素 Dialisat 2cc ハ 750mm, 20°Cニテ N₂ 1.64ccヲ生セリ。N=0.04509%
アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0.3ccヲ要セリ。N=0.0042%
- (b) 全窒素 Dialisat 6cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 10.05ccヲ要セリ。N=0.2350%
アミノ態窒素 Dialisat 2cc ハ 750mm, 20°Cニテ N₂ 1.65c.c.ヲ生セリ。N=0.04637%
アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0.35ccヲ要セリ。N=0.0050%
- (c) 全窒素 Dialisat 6cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 9.95ccヲ要セリ。N=0.2325%

アミノ態窒素 Dialisat 2cc ハ750mm. 20°CニテN₂564ccヲ生セリ。N=0.04609%

アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0.35ccヲ要セリ。N=0.0050%

之ヲ前記ノ方法ニヨリテ牛乳一立中ノ瓦數ニ換算スルニ次ノ如シ。

	新鮮牛乳	30分照射シタルモノ	二時間半照射シタルモノ
牛乳全窒素量	4.9700	4.9700	4.9700
透析性全窒素量	0.1615	0.1633	0.1615
同上アミノ態窒素量	0.0320	0.0324	0.0324
間上アンモニヤ態窒素	0.0029	0.0035	0.0035

以上ニヨリテ見ルニ紫外光線照射ニヨリテ牛乳透析性窒素ノ量ハ殆ド變化ナカリシヲ示セリ。Ammonia 態ノ窒素ハ僅カニ増加シタル觀アレドモ前表ニヨリテ見ル如ク滴定數 0.30ヨリ 0.35ニ變ジタルノミニテ、之ハ實驗誤差ノ範圍ニ入ル可ク結局牛乳ヲ二時間半紫外光線ヲアテタルモ透析性窒素ニ何等變化ヲ及ボサル事ヲ示セリ、即透析法ニヨリテ檢定スルニ牛乳蛋白ハ紫外光線照射ニヨリテ殆ド化學的變化ヲ起サザルモノナル可シ。

2. Labノ作用ニヨル透ノ性窒素ノ變化

本試驗ニ於テハ牛乳ガ RENNETニヨリテ凝固スル際透析性窒素ヲ増加スルヤ否ヤニツキ檢ジタリ。

即新鮮ナル牛乳 2立ヲ取り (酸度 0.13%全窒素牛乳一立中 5.04瓦) 一立ハ Kontrollトシテ直チニ 3立ノ蒸溜水ヲ用ヒテ之ヲ透析セリ (a)。次ノ一立ノ牛乳ハ 20%ノ Lab溶液 (Dr. Moritz Blumenthal Labferment) 2ccヲ加ヘ5分以内ニ混液ヲ 40°Cニ温メタリ。牛乳ノ凝固ハ三分間ニシテ完全ナル凝塊ヲ生ジ均等ニ固結セリ。凝固セル牛乳ハ直チニ寒冷劑ニ投ジ 0°Cニ冷却セリ。即チ加温凝固及冷却迄全體トシテ約十分以内ニ完了セリ。之細菌ノ影響ヲ防ガンガ爲ナリ。冷却シタル後ハ直チニ前同様三立ノ蒸溜水ヲ用ヒテ透析セリ (b)。尙用ヒタル Lab 溶液ノ透析液ニ及ボス影響ヲ知ランガ爲ニ第二ノ Kontrollトシテ 20%ノ Lab 溶液 2ccヲ一立ノ蒸溜水ニ混ジ三立ノ蒸溜水ヲサラニ外層トシテ透析セリ (c)。各透析液ハ常法ニヨリテ低温低壓ニ於テ濃縮シ 50ccノ Messkolbenニ入レ分析ニ供セリ。

(a) 全窒素 Dialisat 6cc. ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 8.5ccヲ要セリ。N=0.1983%

アミノ態窒素 Dialisat 2cc ハ 755mm 21°Cニテ N₂55ccヲ生セリ。N=0.0424%

アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0.3ccヲ要セリ。N=0.0042%

(b) 全窒素 Dialisat 6cc. ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 7.5ccヲ要セリ。N=0.1750%

アミノ態窒素 Dialisat 2cc ハ 755mm 21°Cニテ N₂54ccヲ要セリ。N=0.03941%

アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc ハ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0.3ccヲ要セリ。N=0.0042%

- (c) 全窒素 Dialisat 6cc. $\times \frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0.3ccヲ生セリ。N=0.007%
 アミノ態窒素 Dialisat 2cc $\times \frac{N}{10}$ H₂SO₄ 21°CニテN₂0.05ccヲ生セリ。N=0.001%
 アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc $\times \frac{N}{10}$ H₂SO₄ 0ccヲ要セリ。N=0.000%

今此ノ成績ヲ前ニ述ベタル Factor ヲ用ヒテ牛乳一立中ニ換算スルニ次ノ如シ。但シ Lab 作用ヲ受ケタルモノハ便宜上 Lab 自身ノ影響ヲ控除センガ爲ニ分析成績 (b) ヨリ (c) ヲ差引キテ算出セリ。

	新鮮乳	Lab ノ作用ヲ受ケタル牛乳
牛乳中全窒素	5.0400	5.0400
透析性全窒素	0.1379	0.1158
同アミノ態窒素	0.0295	0.0269
同アンモニヤ態窒素	0.0029	0.0029

之ニヨリテ見ルニ Lab 作用ヲ受ケタル場合ハ透析液中ニ窒素ノ量ヲ却ツテ減少シタリ。之ハ察スルニ牛乳凝固ニヨリテ透析性窒素ノ一部ハ吸着セラレタル爲ナル可シ。

3. 自然酸敗ニヨル牛乳透析性窒素ノ變化

牛乳ヲ放置スレバ各種ノ乳酸菌繁殖シ乳酸醱酵ヲ起スモノナレバ其ノ醱酵ノ過程ヲ知ルニハ純粹ノ乳酸菌ヲ培養シ検定スルニ非レバ其ノ真相ヲ確定スル事ヲ得ズ。而シテ乳酸菌ノ中ニハ蛋白質ヲ分解スル作用ノ比較的強キモノアリ。例ヘバ *Streptococcus cremoris* ノ如キハ其ノ一ナリ (⁽²⁾Barthel)。亦 (⁽³⁾Gorini) ハ蛋白ヲ分解スル乳酸菌二種ヲ近時發見シ、一ハ *Mammococcus* ト爲シ、一ハ *Bacillus acidificaus presamigenes casei* ト稱セリ。然レ共同氏ハ強力ナル酸性ニ於テ蛋白ヲ分解スル細菌ヲ分離スル事ハ極メテ難事ナリト附記セリ。本試験ニ於テハ第一歩トシテ牛乳ガ自然ニ酸敗シテ行ク際如何程迄牛乳ノ蛋白ガ分解サレ行クカヲ檢センガ爲ニ行ヒタルモノナレ共、豫想ニ反シ強力ナル乳酸醱酵ヲ起シタル場合ハ Biuret 反應ヲ呈スル如キ Peptone 狀ノ物質ヲ生ゼザル事ヲ知レリ。然レ共新鮮牛乳中ニ存在セン不明ノ透析性含窒素物ハ全ク遊離ノアミノ態及アンモニア態ノ窒素ニ分解セラレ、結合セル窒素基ヲ有セザルニ至レル事ヲ知レリ。

即生牛乳4.5立ヲ取り窒素含量之ヲ一立宛四個ノ殺菌セル壺ニ入レタリ。1立ハKontroll トシテ直チニ常法ニヨリテ透析セリ(a)。次ノ一立ハ24時間38°Cノ恒温器ニ入レ酸敗センメタル後之ヲ透析セリ(b)。他ノモノハ夫々3日間(c)、及9日間(d)、同様ナル状態ニテ28°Cニ保チ酸敗センメタル後之ヲ透析セリ。透析ニハ常ニ3立ノ蒸溜水ヲ用ヒタリ。透析後ハ45—50°Cニテ低壓濃縮シ50ccノ Messkolbenニ入レテ分析ニ供セリ。

- (a) 全窒素 Dialisat 6cc $\times \frac{N}{10}$ Semi-micro-Kjehldahl 法ニテ $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 6.8ccヲ要セリ。N=0.1583%
 アミノ態窒素 Dialisat 2cc $\times \frac{N}{10}$ H₂SO₄ 190°Cニテ N₂0.93ccヲ生セリ。N=0.02415%

- アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 3.4ccヲ要セリ。N=0.0476%
- (b) 全窒素 Dialisat 6cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 7.9ccヲ要セリ。N=0.1843%
- アミノ態窒素 Dialisat 2cc \times 760mm 19°CニテN₂ 1.5ccヲ生セリ。N=0.04185%
- アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 5.4ccヲ要セリ。N=0.0756%
- (c) 全窒素 Dialisat 6cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 9.0ccヲ要セリ。N=0.2100%
- アミノ態窒素 Dialisat 2cc \times 760mm 19°CニテN₂ 1.8ccヲ生セリ。N=0.0514%
- アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 6.6ccヲ要セリ。N=0.0944%
- (d) 全窒素 Dialisat 6cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 10.6ccヲ要セリ。N=0.2460%
- アミノ態窒素 Dialisat 2cc 760mm 19°CニテN₂ 2.8ccヲ生セリ。N=0.0800%
- アンモニヤ態窒素 Dialisat 10cc $\times \frac{N}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ 9.8ccヲ要セリ。N=0.1372%

之ヲ前報ニ述ベタル因子ヲ用ヒテ牛乳一立中ノ瓦數ニ換算スレバ次ノ如シ。

	新 鮮 乳	一 日 後	三 日 後	九 日 後
牛 乳 中 全 窒 素	瓦 5.1800	瓦 5.1800	瓦 5.1800	瓦 5.1800
透 析 性 全 窒 素	0.1164	0.1282	0.1460	0.1661
同 ア ミ ノ 態 窒 素	0.0168	0.02910	0.0358	0.0556
同 アン モ ニ ヤ 態 窒 素	0.0331	0.0525	0.0676	0.0954
附				
原牛乳ノ酸度ノ増加 (乳酸トシテ)	% 0.14	% 1.00	% 1.63	% 2.23

之ニヨリテ見ルニ牛乳ハ強力ナル乳酸醱酵ヲ爲シ既ニ一日後ニ於テ酸度ハ乳酸トシテ1%ニ達シ、九日目ニハ2.23%ニ及ベリ。而シテ透析液中ニ現ハル、窒素ノ量ヲ見ルニ日ヲ經ルニ從ヒ次第ニ増加シ來レリ。然レ共其ノ増加量ハ牛乳一立中0.116瓦ヨリ0.166瓦ニ増加シタルノミニテ牛乳ノ全窒素ニ較ブレバ甚ダ僅小ナル割合ノ増加ニ過ギズ。之ハ察スルニ牛乳ノ強キ酸醱酵ニヨリテ Pepton 化細菌ノ繁殖ヲ妨ゲ蛋白ノ分解ヲ止メタル爲ニシテ、只アル種乳酸菌ノ僅カナル分解作用アリタルノミナル可シ。

カクノ如ク酸醱酵ニヨリテハ高分子ノ窒素化合物ノ分解セラル、事甚ダ遅クアレ共 Pergamentpapier ヲ通過スル低分子ノ窒素化合物ハ比較的高速度ニテ分解セラレ、九日目ニハ表ニ示ス如ク透析性全窒素ノ0.1661瓦ハ殆ド全部 Amino 態窒素ト Ammonia 態窒素ニ分解セラル、ニ至レリ。就中 Ammonia ノ生成量ハ極メテ大ナリ、尙本試験ニ於テハ透析液ノ Ninhydrin 反應ハ常ニ positiv ナレ共 Biuret 反應ハ九日目ニ至ルモ現ハレテ來ラズ、全ク Peptone 様ノ物質ヲ立證スル事能ハザリキ。三日目及九日目ノ乳汁ニツキ細菌ノ検査ヲ行イタルニ大部分ハ連鎖球菌ニシテ Streptococcus Lactis ナル可キ事ヲ知レリ。尙少量ノ桿狀菌モ發見シタリ、Streptococcus lastis ハ極メテ微ニカゼインヲ分解スル事ヲ認メラシガ、牛乳中ニ於ケル其ノ分解量ハ化學的ニ檢定シ得ル程度ニ大ナルモノニ非ズトセラル。BARTHEL氏(5)ハ過量ノ炭酸石灰ヲ増加シ三ケ

月目ニ於テ初メテ其ノ分解量檢ジ得タリト云フ。而シテ Streptococcus lactis ハ Casein ヨリモムシロ簡單ナル化合物タル Peptone ノ如キモノノ方分解スル力大ナル故蛋白分解性能力アル Bac, Subtilis ヤ Bacteriam casei ノ如キモノト共生スル事ニヨリ本菌ノ牛乳中ニ於ケル繁殖ヲ増進スト MARSHALL⁽⁶⁾ 氏等ハ云フ。本實驗ニ於テ Peptone ノ生成ヲ證明シ得ザリシハ或ハ此ノ理ニヨリ生成セラレタル Peptone カ直チニ消費セラレタトシモノカト考フル者ナリ。要スルニ普通ノ強力ナル乳酸酸酵ニ於テハ蛋白ノ分解作用極メテ微弱ナルニ反シ (但シ透析法ニヨリテハ明カニ之ヲ檢出シ得) 低分子ノ窒素化合物ハ急速度ニ分解セラレテ主トシテアンモニヤニ變化スル事ヲ知レリ。單一ナル細菌ニヨル變化ニツイテハ別ニ調査ス可シ。

4. 新鮮牛乳中の透析性窒素含量比較

前報(1)並ビニ本報ニ於テ行ヒタル各種實驗ニ使用セル新鮮牛乳ノ透析性窒素含量ヲ此處ニ總合シ百分比トシテ比較スルニ次ノ如シ。

	新 鮮 牛 乳 一 立 中				
	材 料 1	材 料 2	材 料 3	材 料 4	材 料 5
牛 乳 中 全 窒 素	4.9000	5.0400	4.9700	5.1800	5.0400
透 折 性 全 窒 素	0.1104	0.1119	0.1615	0.1164	0.1377
同 ア ミ ノ 態 窒 素	0.0207	0.0186	0.0320	0.0168	0.0295
同 アンモニヤ態窒素	0.0024	0.0010	0.0029	0.0331	0.0029

新鮮乳五種ノ材料ニヨリテ見ルニ牛乳一立中約五瓦内外ノ全窒素ヲ含有シ其ノ大部分ハ Casein, Albumin, Globulin 等ノ非透析性窒素化合物ナレ共其ノ内約 0.1—0.15 瓦ノ透析性窒素ヲ含有ス。今之ヲ牛乳全窒素百分中ニ換算スルニ次ノ如シ。

	牛 乳 全 窒 素 百 分 中				
	材 料 1	材 料 2	材 料 3	材 料 4	材 料 5
牛 乳 中 全 窒 素	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
透 析 性 全 窒 素	2.25	2.22	3.23	2.25	2.76
同 ア ミ ノ 態 窒 素	0.42	0.37	0.69	0.32	0.58
同 アンモニヤ態窒素	0.05	0.02	0.06	0.63	0.05

即透析性窒素ノ量ハ牛乳全窒素ノ約 2—3%ニ相當セリ、而シテ透析性窒素ノ約 $\frac{1}{5}$ ハ遊離ノ Amino 基ヲ含有ス。Ammonia ノ含量ハ新鮮乳ニ於テハ常ニ極メテ微量ニシテ殆ド痕跡ニ過ギズ。

總 括

以上ニヨリ前報並ビニ本報ニ於テ得タル成績ヲ總括スルニ次ノ如シ。

1. 牛乳ヲ Schnellialisator ニ入レ透析シ其ノ透析液ヲ濃縮スルニ Ninhydrin 反應ヲ強ク有スル不明ノ窒素化合物ヲ檢出シ得可シ。本態ハ明ナラザレ共 Biuret 反應ヲ有セズ、其他一般ノ蛋白呈色反應ヲ呈セズ燐タングステン酸ニヨリテ沈澱セラル。
2. 新鮮乳ノ各種ニツイテ檢ズルニ透析性窒素ノ量ハ牛乳全窒素ノ約2%—3%ニ相當ス。游離ノ Amino 基ハ僅カ其ノ約 $\frac{1}{5}$ ヲ表ハスニ過ギズ。亦新鮮乳中ニ存スル游離ノ Ammonia ハ極メテ微量ナリ。
3. 牛乳ヲ100°Cニ加熱スルニ游離ノ Ammonia 量ヲ其ノ透析液中ニ増加ス。而シテ此ノ際 Ammonia ノ増加量ハ割合大ナリ。
4. 牛乳ニ一定時間紫外光線ヲ照射スルニ透析液ノ 窒素含量及窒素分布ニ變化ヲ與ヘズ。
5. 牛乳ニ自然酸敗ヲ行ハシムルモ透析液ニ窒素ノ増加スル量ハ割合ニ遅々タリ。然レ共透析性ノ窒素ハ自ラ分解セラレテ Amino 基ヲ游離セシメ大部分ハ Ammonia ヲ生成ス。尙新鮮乳及酸敗乳ノ透析液ニハ Peptone 狀ノモノヲ檢出シ得ズ。
6. 牛乳ニ Labヲ作用セシムレバ透析性窒素ノ一部ハ吸着セラル。

文 獻

- (1) 齊藤道雄：牛乳透析ノ研究（第一報）日本農藝化學會誌 第六卷 十二冊（1930）
- (2) BARTHEL：Report of World's Dairy Congress, 1928.
- (3) GORINI：Report of World's Dairy Congress, 1928.
- (4) MONVOISIN；Le Lait et les Produits Derivés p. 232. (1925)
- (5) BARTHEL：Medd. Centralanstalt. forsokvasendet jordbruks, 171, 23 (1918) cit. Rogers, Fundamentals of Dairy Science.
- (6) MARSHALL：Journ. Dairy Science 3, 413, (1920.)

ON THE DIALYZABLE NITROGEN OF FRESH MILK

by MICHIO SAITO

When milk is dialysed through parchment paper by means of a rapid dialyzer and the resulting dialyzate is concentrated into syrup in vacuum at low temperature, some unknown nitrogenous substances can be obtained. They can be precipitated by phosphotungstic acid. They show strong ninhydrin reaction, but no biuret reaction and ordinary protein reactions. The amount of these unknown substances found in the dialysate are almost constant showing 2.3—2.8% of total nitrogen in milk. One fifth of this diffusible nitrogen exists in amino-form and the remaining nitrogen exists in a combined form. Very small amount of free ammonia can be also detected accurately in this dialysate, which is, when calculated in original milk, 0.02—0.06% of total Nitrogen of fresh milk. When milk is heated at boiling temperature for thirty minutes, the ammoniacal nitrogen increases relatively in a large amount, which can be detected easily by this method of dialysis. When milk is subjected to a lactic fermentation, the amount of the diffusible nitrogen increases at a very slow rate, but the nitrogen distribution is completely changed in the dialysate; the combined portion of nitrogen disappears and is decomposed into both ammoniacal and amino nitrogen. Although milk is radiated with ultra-violet rays for $2\frac{1}{2}$ hours, the diffusible nitrogen does not change both its amount and its distribution. This will prove that the nitrogenous compound in milk will not be decomposed by the irradiation. When milk is coagulated by rennet solution, a part of its diffusible nitrogen is absorbed in the coagulum.