

# 各種保存条件下での牛乳 $\kappa$ -カゼインの変化

土井裕司・田中満智子・伊吹文男・金森正雄

HIROSHI DOI, MACHIKO TANAKA, FUMIO IBUKI and MASAO KANAMORI

Study on changes of bovine  $\kappa$ -Casein under various preservative conditions.

**要旨** : UHT 滅菌乳の長期貯蔵による沈殿生成やゲル化の機構を解明する予備実験として、牛乳  $\kappa$ -カゼインの各種保存条件下における変化を、安定化能、4.5M 尿素を含むディスクおよびSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により検討した。保存条件としては、温度  $-20, 4, 25^{\circ}\text{C}$  で、溶液 (70mM KCl を含む 10mM イミダゾール塩酸緩衝液 pH7.1, 4.5M 尿素, 蒸留水, 濃度はいずれも 10mg/ml) 中または、凍結乾燥標品の12種を設定し、1, 3, 5, 7ヶ月間の保存状態を検討した。 $-20^{\circ}\text{C}$  では、ほとんど変化せず、いずれも保存状態は良好であった。 $4^{\circ}\text{C}$  では、4.5M 尿素中および凍結乾燥品での保存が良かった。また、 $25^{\circ}\text{C}$  では、凍結乾燥保存を除き、一般的に保存性は悪かった。両電気泳動の結果から、長期保存によって  $\kappa$ -カゼインは高分子化や分解が進んでいることが明らかとなり、同時に、それらの進行と安定化能の低下との間に相関が認められた。

## 緒 言

近年、滅菌技術の発達により、牛乳の長期保存が可能になってきた。UHT (ultra high-temperature) 滅菌無菌充填牛乳、すなわち、長期保存牛乳 (Long Life Milk) の出現により、牛乳の数ヶ月にわたる常温での保存が可能となってきている。また、保存性ばかりでなく、色、風味なども従来の瓶詰滅菌乳に比べ改良されてきている。UHT 滅菌乳 (以下こう略す) においても加熱臭は認められるが、これは、 $\beta$ -ラクトグロブリンの熱変性によるスルフヒドル基の発現によるものであり、製造後24時間もらればなくなる<sup>1)</sup>。

UHT 滅菌乳の主な欠陥としては、貯蔵期間中の沈殿の生成またはゲル化現象がある。この変化は、瓶詰滅菌乳には認められない。沈殿の生成またはゲル化は、たんぱく質、特に牛乳たんぱく質の約80%を占めるカゼイン画分の変化によると考えられる。

濃縮乳を高温で加熱すると、カゼインミセルが凝集する<sup>2,3)</sup> と同時に、一方で、解離も起こり可溶性カゼインが増加する<sup>4)</sup>。加熱により生成した可溶性カゼ

インの約50%は  $\kappa$ -カゼインであるという<sup>5)</sup>。  $\kappa$ -カゼインは、全カゼイン成分の12~15%を占め、カゼインミセルを安定化させている糖たんぱく質である。

著者らは、  $\kappa$ -カゼインの重要性に着目し、その基礎的研究を遂行し、報告してきている<sup>6~9)</sup>。そこで、本研究は、牛乳を長期保存する上で最大の障害となっている沈殿の生成あるいはゲル化の機構を明らかにするための予備実験として、  $\kappa$ -カゼインの長期保存による変化を、 $\alpha_{s1}$ -カゼイン安定化能および電気泳動法により検討したものである。

## 材料および方法

### 1. カゼインの調製

京都市内某牧場のホルスタイン種乳牛の新鮮な常乳を、5000r. p. m. で15分間遠心して脱脂する。更に、チーズクロスにてろ過し、浮遊脂肪を除去する。得られた脱脂乳を、蒸留水にて2倍に希釈し、 $20^{\circ}\text{C}$  とした後、塩酸による pH4.6 での等電点沈殿を2回繰り返す。更に、沈殿を水洗したものを酸カゼインとした。得られた酸カゼインから、Zittle and Custer の方法<sup>10)</sup>

京都府立大学農学部栄養化学研究室

Laboratory of Nutritional Chemistry, Department of Agricultural Chemistry, Kyoto Prefectural University

昭和54年7月17日受理

に従って α<sub>s1</sub>-カゼインを調製した。κ-カゼインは、尿素硫酸法<sup>10)</sup>を一部改良した著者らの方法<sup>6)</sup>によって、酸カゼインから調製され、pH7.0の蒸留水に対し透析し、更に、0.1%2-メルカプトエタノールに透析して還元した後、凍結乾燥された。

2. κ-カゼインの α<sub>s1</sub>-カゼイン安定化能の測定

κ-カゼインの最も重要な性質は、カルシウムイオン共存下において、他のカゼイン成分とミセルを形成してそれを安定化させることである。従って、本研究では、各種条件下に保存された κ-カゼインの、20 mMカルシウムイオン共存下での α<sub>s1</sub>-カゼイン安定化能が、千葉らの方法<sup>11)</sup>に従って測定された。

α<sub>s1</sub>-カゼイン(最終濃度2.5mg/ml)と、その1/10量の κ-カゼインを、70mM KClを含む10mM イミダゾール塩酸緩衝液 pH7.1(以下、緩衝液と呼ぶ)中37°Cで混合し、20分間放置後、小容の濃厚塩化カルシウム溶液を最終濃度20 mMとなるよう素早く添加混合する。その後、37°Cで30分間放置後、2000r.p.m.1分間遠心し、その上清を取り、上清液の9倍容の50 mMクエン酸カリウムを加え、280nmでの吸光度(A)を測定する。別に、塩化カルシウムを加えないで同様の操作を行った時の吸光度(B)、κ-カゼインのみの吸光度(C)をそれぞれ測定する。安定化能は、次式で与えられる。

$$\text{安定化能 (\%)} = \frac{A-C}{B-C} \times 100$$

3. ゲル電気泳動

ディスクゲル電気泳動は、4.5M尿素を含む7.5%

ポリアクリルアミドゲル(pH8.9)に用いて、Davisの方法<sup>12)</sup>に従ってトリス・グリシン緩衝液 pH8.3中で行なわれた。用いられたたんぱく質量は、100μgであった。染色は、7%酢酸にアミノブラック10Bを1%となるように溶かした液中で、20分間行なわれた。

Sodium dodecylsulfate (SDS)-ポリアクリルアミドゲル電気泳動は、Weber and Osbornの方法<sup>13)</sup>に従って、0.1% SDSを含むpH7.2-10%ゲルで行なわれた。50μgのκ-カゼインが、各カラムにアプライされ、7%酢酸中の0.25%クーマジープリリアントブルー R-250にて、2時間染色された。

4. 保存条件

保存条件の因子として、温度、状態(溶液と乾燥物)、時間をとりあげた。温度は、一般家庭での牛乳保存を考慮して、-20°C(a)、4°C(b)、25°C(c)の3段階を設定した。また、溶液としては、牛乳と等イオン強度である緩衝液(1)、水素結合を切断する4.5M尿素(2)および蒸留水(3)の3種で、κ-カゼイン濃度は10mg/mlであった。いずれも防腐目的のため、0.01%の窒化アジドを含んでいた。乾燥物(4)とは、調製直後の凍結乾燥標品である。実験期間は7ヶ月とし、1、3、5、7ヶ月目の保存状態を検討した。各種実験に際しての尿素的除去は、標品使用前日に透析することによって行なった。

実験結果

1. κ-カゼインの α<sub>s1</sub>-カゼイン安定化能

κ-カゼインの α<sub>s1</sub>-カゼイン安定化能を、37°C, α<sub>s1</sub>:

Table. 1. Stabilizing Ability of κ-Casein Preserved under Various Conditions.

symbol	condition		period (month)			
	state (solvent)	temp.	1	3	5	7
1-a	solution (buffer)	-20°C	92.8%	89.2%	88.9%	84.0%
2-a	solution (4.5M urea)	-20	97.6	88.2	83.3	80.2
3-a	solution (water)	-20	94.7	91.6	89.4	72.0
4-a	lyophilized material	-20	93.3	88.8	84.4	82.2
1-b	solution (buffer)	4°C	94.0%	11.6%	8.1%	4.0%
2-b	solution (4.5M urea)	4	94.2	82.4	78.5	72.0
3-b	solution (water)	4	90.4	8.3	3.8	2.0
4-b	lyophilized material	4	93.3	92.3	74.0	72.1
1-c	solution (buffer)	25°C	9.6%	5.2%	0 %	0 %
2-c	solution (4.5M urea)	25	23.1	5.5	0.6	0
3-c	solution (water)	25	18.1	1.0	0	0
4-c	lyophilized material	25	91.1	64.9	63.8	51.9

Native κ-casein had 96.9% of stabilizing ability

$\kappa=10:1$  で、20mM カルシウムイオン共存下で検討した結果を、Table 1 に示す。本実験に際し用いられた  $\alpha_{s1}$ -カゼインは、常に90%以上の沈殿性を有していた。調製直後の  $\kappa$ -カゼインの安定化能は、96.9%であった。

-20°C 保存では、溶液および乾燥物保存のいずれの条件下にあっても、5ヶ月目まで80%以上の、7ヶ月目まで70%以上の安定化能を維持していた。この結果は、-20°C 保存では、長期間にわたって native  $\kappa$ -カゼインの状態を保持していることを推察させるものであり、後に述べる2種の電気泳動の結果も、そのことを支持している。

4°C 保存では、保存期間1ヶ月までは、いずれの条件下にあっても安定化能を有していたが、3ヶ月目では、緩衝液および蒸留水中保存の標品は、安定化能を失っていた。しかし、同じ温度であっても、4.5M 尿素溶液中あるいは乾燥物保存の  $\kappa$ -カゼインは、7ヶ月目にも70%以上の安定化能を有していた。これらの結果は、固体として、あるいは尿素により、たんぱく質間の相互作用を抑制することが、安定化能を維持させるのに有効であることを示している。

25°C 保存では、乾燥物保存を除く全ての溶液保存標品において、1ヶ月目までにほとんどの安定化能が失われており、3ヶ月目には、完全に安定化能を失っていた。また、乾燥物保存の場合には、実験期最終の7ヶ月目で、約半分の安定化能を有していた。

これらの結果は、たんぱく質間相互作用の大きい保存方法が、 $\kappa$ -カゼインの安定化能の消失を導いていることを示している。そこで、保存によって  $\kappa$ -カゼインがどのように変化したかを検討し、更に、その  $\kappa$ -カゼインの変化と安定化能の消失との間の相関関係の存在を検討するため、以下の二種の電気泳動を行った。

## 2. ゲル電気泳動

### i) 4.5M 尿素を含むディスクゲル電気泳動

カゼイン成分は、中性付近の pH においては、モノマーでは存在せず、 $\alpha_{s1}$ -カゼインは、分子量約10万のテトラマーとして<sup>14</sup>、 $\kappa$ -カゼインは、更に大きくて、分子量60~100万のポリマーとして存在する<sup>16, 14~16</sup>。従って、通常は、尿素共存下での電気泳動を行なって、モノマーを検知する。本研究においても、4.5M 尿素を共存させ、 $\kappa$ -カゼインモノマーの変化を検討することにした。

Figure 1 は、新鮮乳より調製された直後の  $\kappa$ -カゼインのディスクゲル電気泳動パターンである。この結果は、本研究に用いられた  $\kappa$ -カゼインが、電気泳動的

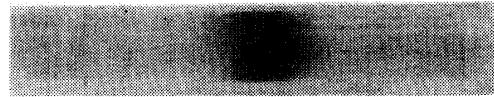


Fig. 1. Disc Gel Electrophoretic Pattern of  $\kappa$ -Casein. Electrophoresis: pH 8.9-7.5% gel containing 4.5M urea. 100  $\mu$ g of protein.

には十分均一性の高い標品であったことを示している。

各種保存条件下におかれた  $\kappa$ -カゼインの、保存開始後1ヶ月目(A)、3ヶ月目(B)、5ヶ月目(C)、7ヶ月目(D)のディスクゲル電気泳動パターンは、Fig. 2 に示されている。全期間を通じて、-20°C 保存では、ほとんど電気泳動的挙動の変化は認められなかった。ただ、7ヶ月間緩衝液中保存標品で、わずかにではあるが、濃縮用ゲル上端に染色されるたんぱく質のバンドが認められた。保存  $\kappa$ -カゼインのディスクゲル電気泳動上での挙動がほとんど変化せず、また、安定化能も失われていなかったことは、この -20°C での保存の有効性を示している。

4°C 保存では、3ヶ月目で、緩衝液および蒸留水中保存の  $\kappa$ -カゼインに、たんぱく質の高分子化が見られ分離用ゲル上端で移動が止まっていた。この傾向は、保存期間の経過とともに著しく、5ヶ月目には、濃縮用ゲル上端で移動が停止しているたんぱく質の方が多いように見える。7ヶ月目には、両保存の場合、分離用ゲル中にほとんどたんぱく質が認められなくなった。これは、後述するように、たんぱく質の高分子化と分解のためと考えられる。一方、4.5M 尿素溶液中保存標品および乾燥物は、同じ4°C でも、実験期間を通じてディスクゲル電気泳動上では大きな変化は見られず、native  $\kappa$ -カゼインの状態を維持しているようであった。

保存温度を上げて、25°C とした時には、1ヶ月目に緩衝液および蒸留水中保存標品で、4°C 保存では3ヶ月目に見えられたような、たんぱく質の高分子化が認められた。一方、尿素溶液中で保存された標品では、1ヶ月目には、易動度を大きくしていた。乾燥物の場合、この温度でもほとんど変化はみられなかった。

いずれの標品においても、4.5M 尿素を含むディスクゲル電気泳動上での挙動に変化をきたす時期と、安定化能を消失する時期とは、極めてよく一致していた (Table 1 and Fig. 2)。

### ii) SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

本電気泳動法は、モノマーの分子量を決定するのによく用いられている。すなわち、SDS をたんぱく質に結合させ、たんぱく質自体の荷電を無視できるようにし、分子篩効果によって、たんぱく質の大きさに従

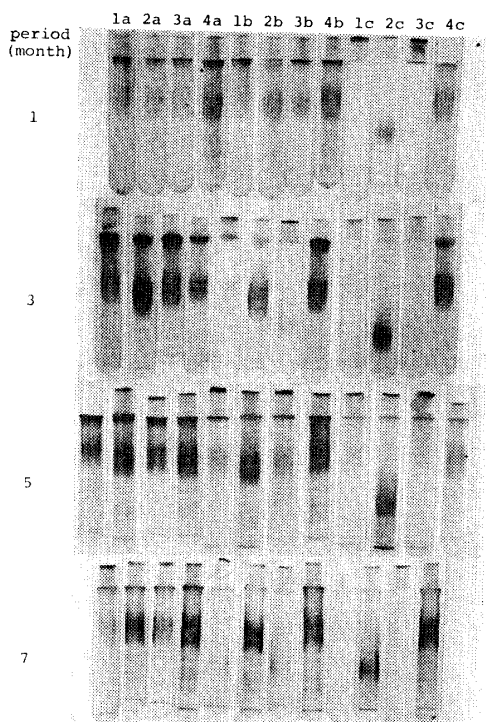


Fig. 2. Disc Gel Electrophoretic Patterns of  $\kappa$ -Casein Stored under Various Conditions. Electrophoresis: pH 8.9-7.5% gel containing 4.5M urea. 100  $\mu$ g of protein. Preservation: 1; 10 mM imidazole-HCl buffer, pH 7.1, containing 70 mM KCl, 2; 4.5 M urea, 3; distilled water, 4; dry material. a; -20°C, b; 4°C, c; 25°C

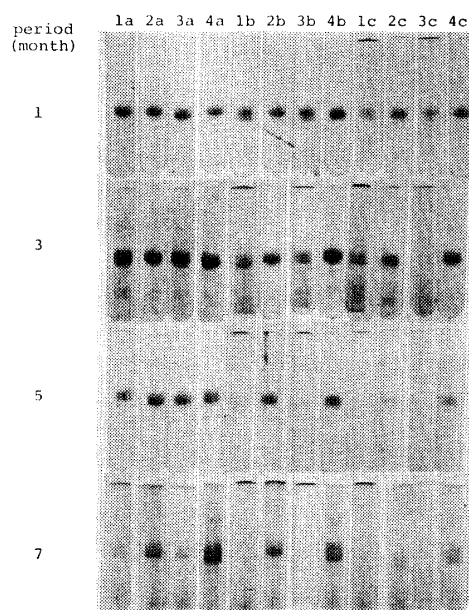


Fig. 3. SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoretic Patterns of  $\kappa$ -Casein Stored under Various Conditions. Electrophoresis: pH7.2-10.0% gel containing 0.1% SDS. 50  $\mu$ g of protein. Preservation: The same conditions as described in Fig. 2.

って分離する。

Figure 3 は、各種保存条件下の  $\kappa$ -カゼインの SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンを示している。-20°C 保存では、いずれの保存方法によっても、全期間を通じてほとんど変化がなかった。しかし、4°C では、保存開始後 1 ヶ月目で、緩衝液および蒸留水中保存標品で、native  $\kappa$ -カゼインのバンドの下に、新たなバンドが現われ、わずかではあるが、たんぱく質の分解が起こっていることが認められた。3 ヶ月目になると、この両保存標品での分解が更に進み、5 ヶ月目には、ゲル中にバンドが見られなくなるまで進行してしまっただ。これらの変化と、安定化能の消失とは、時期的によく一致している。

25°C 保存になると、1 ヶ月目で、緩衝液および蒸留水中保存標品の分解だけでなく、たんぱく質がゲル中へ入らないで、高分子化も起こっていた。この高分子化は、UHT 滅菌乳の長期貯蔵における沈殿の生成と関連するものと考えられる。

3 ヶ月目には、4°C 以上の溶液保存標品のいずれに

も、分解と高分子化という変化が生じており、これらは、長期保存になるほど著しかった。たんぱく質の高分子化は、一つには、長期保存による  $\kappa$ -カゼイン中のシステイン残基の酸化が考えられ、また、尿素溶液中保存では、尿素的分解により生ずるシアン酸の影響などが考えられるが、詳細については、今後の研究に待たねばならない。

## 考 察

UHT 滅菌乳の長期貯蔵による沈殿の生成またはゲル化の機構を解明するためには、乳たんぱく質の大部分を占めるカゼイン画分の変化を検討する必要がある。中でも、カゼインミセルの安定化に最も大きく寄与している  $\kappa$ -カゼインの変化が、乳たんぱく質の変化、更には、牛乳全体の形状変化に発展していくものと考えられる。しかしながら、保存中の  $\kappa$ -カゼインの変化を検討している報告は極めて少なく<sup>17)</sup>、不明な点が多い。

沈殿生成やゲル化の機構解明には、貯蔵中の個々の成分の変化および成分間相互作用の検討の両面から追

求しなければならないが、過去の研究報告はいずれも UHT 滅菌乳そのものを研究対象としているのが多い。Murthy ら<sup>18)</sup>は、UHT 滅菌乳を保存し、カゼイン画分の挙動を電気泳動的に検討し、 $\beta$ -カゼインが分解していくことを示した。川西ら<sup>19)</sup>は、遊離アミノ酸類の増加や、新しいニンヒドリン反応陽性物質の出現を報告している。これら現象面での観察以外に、Wheelock ら<sup>20)</sup>は、長期間にわたる貯蔵のため、 $\kappa$ -カゼイン中の炭水化物が減少することが、ゲル化の一要因であると示し、一方、Samel ら<sup>21)</sup>は、ゲル化とたんぱく質の分解とは相関しないと報告している。

本研究で採りあげた $\kappa$ -カゼインの安定化能は、沈殿生成や、ゲル化とは、極めて関連性の深いものであると考えられる。安定化能は、 $-20^{\circ}\text{C}$  では、実験期間中ほとんど低下せず、電気泳動観察による保存状態も良好であった。 $4^{\circ}\text{C}$  では、尿素溶液中および乾燥物での保存が、 $25^{\circ}\text{C}$  では、乾燥物保存が良好であった。

山内ら<sup>22)</sup>は、加糖練乳貯蔵中には、 $-S-S$  結合による高分子化が認められると報告しており、更に、UHT 滅菌乳の貯蔵では、アミノカルボニル反応による高分子化をも示唆している<sup>23)</sup>。 $\kappa$ -カゼインは、モノマー当り 2 残基のシステインを有し、また、カゼイン成分中では唯一の糖たんぱく質である。従って、本研究で観察された高分子化の要因としては、 $-S-S$  結合によるものと、アミノカルボニル反応によるものとの両者が推定される。この点に関しては、更に詳細な検討を加える予定である。

低温中での保存は、物質の変化や相互作用を抑える。また、尿素は、水素結合を開裂させ、 $\kappa$ -カゼイン間の相互作用を妨げる。本研究での結果は、たんぱく質間相互作用を抑制するような保存方法の有効性を示している。本研究においては、たんぱく質間相互作用を抑制した結果、高分子化を防ぎ、native な状態の維持が可能となり、比較的長期間安定化能が維持されていた。

一方、たんぱく質の分解については、先にあげた Murthy ら<sup>18)</sup>および山内ら<sup>23)</sup>も、UHT 滅菌乳の長期貯蔵中に観察しており、川西ら<sup>19)</sup>の遊離アミノ酸類の生成も、この範ちゅうに属するものである。分解要因としては、UHT 滅菌乳での場合には、わずかに残された酵素活性によるものと考えられている<sup>22)</sup>。本研究において用いられた標品には、酵素活性の残存による考えとは別な要因を考えねばならないであろう。

本研究から得られた安定化能に関する結果と、2 種の電気泳動の結果とを併せ考えると、保存中にたんぱく質の高分子化または分解が起こっていた標品では、その安定化能も失なわれており、電気泳動上での挙動

の変化と安定化能の消失との間に相関関係の存在することが明らかとなった。保存による $\kappa$ -カゼインの変化、すなわち、安定化能の消失は、牛乳の安定性に深く関わるものであるから、UHT 滅菌乳の長期貯蔵による沈殿生成あるいはゲル化の一因として、 $\kappa$ -カゼインの高分子化や分解が考えられる。

今後は、 $\kappa$ -カゼインの高分子化や分解に関する要因を明らかにするため、更に詳細な検討を進める予定であり、また、Turner ら<sup>24)</sup>が検討しているように、乳糖など他の乳成分との相互作用をも考慮する必要があると考えている。

### 引用文献

- 1) 津郷友吉 (1974) : 無菌牛乳の発展・畜産の研究, **23**, 207-212.
- 2) Carroll R. J. and M. P. Thompson (1971) : Gelation of concentrated skimmilk: Electron microscopic study. *J. Dairy Sci.*, **54**, 1245-1252.
- 3) Wilson H. K. (1971) : Large protein particle changes in ultra high-temperature sterilized concentrated skimmilk. *ibid.*, **54**, 1122-1128.
- 4) Aoki T., H. Suzuki and T. Imamura (1974) : Formation of soluble casein in whey protein-free milk heated at high temperature. *Milch-wissenschaft*, **29**, 589-594.
- 5) \_\_\_\_\_ (1975) : Some properties of soluble casein in heated concentrated whey protein-free milk. *ibid.*, **30**, 30-35.
- 6) Doi H., F. Ibuki and M. Kanamori (1979) : Heterogeneity of reduced bovine  $\kappa$ -casein. *J. Dairy Sci.*, **62**, 195-203.
- 7) \_\_\_\_\_ (1979) : Interactions of  $\kappa$ -casein components with  $\alpha_{s1}$ - and  $\beta$ -caseins. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1301-1308.
- 8) \_\_\_\_\_ N. Kawaguchi, \_\_\_\_\_ (1979) : Susceptibility of  $\kappa$ -casein components to various proteases. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **25**, 33-41.
- 9) \_\_\_\_\_ (1979) : Minor components of reduced bovine  $\kappa$ -casein. *ibid.*, **25**, 95-102.
- 10) Zittle C. A. and J. H. Custer (1963) : Purification and some of properties of  $\alpha_s$ -casein and  $\kappa$ -casein. *J. Dairy Sci.*, **46**, 1183-1188.
- 11) Chiba H., H. Doi, M. Yoshikawa and E. Sugimoto (1976) : Deterioration of casein compo-

- nents by malonaldehyde. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1001-1010.
- 12) Davis B. J (1964) : Disc electrophoresis II. Method and application to human serum proteins. *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 404-427.
- 13) Weber K. and M. Osborn (1969) : The reliability of molecular weight determination by dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406-4412.
- 14) Kaminogawa S., S. Dosako and K. Yamauchi (1974) : Studies on molecular properties of  $\alpha_{s1}$ - $\kappa$ -casein complex by the hydrodynamical methods. *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 2337-2341.
- 15) Swaisgood H. E., J. R. Brunner and H. A. Lillvik (1964) : Physical parameters of  $\kappa$ -casein from cow's milk. *Biochemistry*, **3**, 1616-1623.
- 16) Pepper L. (1972) : Casein interactions as studied by gel chromatography and ultracentrifugation. *Biochim. Biophys. Acta*, **278**, 147-154.
- 17) Nakai S., H. K. Wilson and E. O. Herreid (1966) : Effect of alkalization, oxidation, reduction, and storage on elution patterns of  $\kappa$ -casein obtained by gel filtration. *J. Dairy Sci.*, **49**, 1331-1337.
- 18) Murthy L., E. O. Herreid and R. McL. Whitney (1958) : Electrophoretic properties of casein from sterilized milk stored at different temperature. *J. Dairy Sci.*, **41**, 1324-1341.
- 19) 中西悟生・西川 勲・斉藤健輔 (1968) : 滅菌牛乳の保存中における遊離アミノ酸類の変化, 日畜会報, **39**, 422-425.
- 20) Wheelock J. V. and E. J. Hindle (1971) : The effect of ageing on heat-sterilized milk. *J. Dairy Res.*, **38**, 145-149.
- 21) Samel R., R. W. V. Weaver and D. B. Sammach (1971) : Changes on storage in milk processed by ultra-high-temperature sterilization. *ibid.*, **38**, 323-332.
- 22) 山内邦男・司城不二・上野川修一 (1976) : 加糖練乳貯蔵中のカゼイン複合体の変化, 日畜会報, **47**, 704-710.
- 23) ———・上野川修一・広崎裕子 (1978) : UHT処理無菌充てん牛乳の貯蔵中における蛋白質の変化, 農化大会要旨 (名古屋) p. 153.
- 24) Turner L. G., H. E. Swaisgood and A. P. Hansen (1978) : Interaction of lactose and proteins of skim milk during ultra-high-temperature processing. *J. Dairy Sci.*, **61**, 384-392.

### Summary

The formation of precipitate and the gelation of ultra high-temperature sterilized milk have been observed during the long storage. As the preliminary experiments to make clear the mechanism of these phenomena, the effects of various preservative conditions on bovine  $\kappa$ -casein were investigated by the stabilizing ability test for  $\alpha_{s1}$ -casein in the presence of calcium ion, disc gel electrophoresis containing 4.5M urea and sodium dodecylsulfate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis.  $\kappa$ -Casein was stored at  $-20^{\circ}$ ,  $4^{\circ}$  and  $25^{\circ}\text{C}$  as the solution dissolved in 10mM imidazole-HCl-70mM KCl buffer (pH7.1), 4.5M urea and distilled water

and as the lyophilized material for 1, 3, 5 and 7 months. When  $\kappa$ -casein was stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  at various states, the stabilizing ability was maintained and the behaviors on both electrophoreses were not different from those of native one, though the samples at  $25^{\circ}\text{C}$  lost the ability quickly. The preservation at  $4^{\circ}\text{C}$  in 4.5M urea solution did not affect on the properties of  $\kappa$ -casein. The lyophilized material was stable at every tested temperatures through the experimental period. It was considered that the loss of stabilizing ability of  $\kappa$ -casein was due to the polymerization and the degradation from the results of disc and SDS gel electrophoreses.