

テトラ乳清比重法による牛乳の加水試験の検討

片岡 啓・川瀬兼三・中江利孝

An Evaluation of the Tetra-Serum Hydrometric Method for Detecting Added Water in Milk

Kei KATAOKA, Kenzo KAWASE and Toshitaka NAKAE

The Tetra-serum hydrometric method as the official routine test for detecting added water in milk was evaluated with special reference to its accuracy and detailed procedure.

In experiments with raw milk samples collected in the southern region of Okayama prefecture, it has been shown that the faultiness of turbid serum occurred frequently in the case of the official method is due to an insufficient concentration of acetic acid for preparing milk serum. This fault was improved not by the technical modification for separating milk serum, but by the use of 35% acetic acid instead of 20% in the official method.

From 41 samples of normal milk serum prepared by the modified method, the average value and standard deviation of the specific gravity were calculated. The value is 1.0304 ± 0.00132 . Regression equation of the specific gravity of milk serum on added water ratio was obtained from the experiment of adding water to authenticated milk samples. It was concluded that milk serum samples having specific gravity not over 1.0260 may possibly contain more than 10 per cent of added water.

緒 言

生乳が市乳または乳製品工場に搬入される段階で、しばしば井戸水や水道水を不当に加える問題が起っている。この加水の有無を検出する方法は古くから研究され、一部実施されているが、その主な検出法には、テトラ乳清比重法¹⁾をはじめ、氷点降下測定法、²⁾³⁾ 硝酸塩試験法、⁴⁾ 化学的組成による方法、⁵⁾⁶⁾ などがある。

氷点降下測定法³⁾ はアメリカの公定法として鋭敏かつ正確な方法であるが、測定装置の取扱や価格の面でふつうの規模の集乳所または製乳工場の日常試験として適用するには難点がある。硝酸塩試験法⁴⁾ は鋭敏さに欠け、化学的組成による方法⁵⁾ も加水量推定式の基礎になる、正常乳の無脂固形分含量の数値のとり方や、供試乳の定量操作などによって誤差を生じやすい。一方、テトラ乳清比重法¹⁾ は操作が比較的簡単な上、確実性もあるという点で日常試験として適しているものと考えられ、わが国の食品衛生検査指針にも採用されている。その実施法の概要は次のとおりである。

「検乳200mlを250ml三角フラスコにとり純四塩化炭素20mlを加え、十分に混ぜ合せ、さらに20%酢酸4mlを加えてはげしくふり混ぜた後、濾過または遠心分離によって乳清を分離し、その比重を測定する。乳清の比重が、1.026以下のものは加水の疑いがある。」

しかしながら、上記の方法で実際に行なうと乳清が時折白濁して比重の測定値に少なからぬ誤差を生ずることがある。

著者らはそこで、このテトラ乳清比重法の操作法が実状に合ったものであるか否かに検討を加え、操作の細目、とくに使用する酢酸の濃度の影響を調べて、標準法の修正とそれによる加水試験の評価を行なった。以下その結果を報告する。

I. 実験方法

1. 検乳試料

岡山県南の牧場の個乳と集乳所または製乳工場に集められた牛乳缶からの合乳で、1967年10月より1968年2月までの間に採取したホルスタイン種乳牛の乳汁を試料とした。なお、検乳はあらかじめ比重とpHを測定した。

2. 乳清の調製

(1) 標準法による調製

標準法どおり、四塩化炭素と酢酸を添加し、乳清分離は3,000 RPM, 3分間の遠心分離条件で行なった。また、この前処理条件を変えて濾過、遠心分離速度と時間および加熱処理の影響を比較検討した。なお、調製試薬はすべて一級品を用いた。

(2) 各種酢酸濃度における調製

標準法における酢酸濃度20%を30%, 35%, 40%および45%に変え、5種の異なる濃度の酢酸を用いて、同一試料の検乳から乳清を調製した。

3. 乳清比重、pH および白濁有無の測定

調製した乳清の比重は浮秤式標準比重計で15°C下に測定した。pHはガラス電極pHメーターを使用した。また、白濁の有無は肉眼的に観察し、透明、半透明および白濁不透明の3区分に分類した。

4. 加水実験

上記の実験結果に基いて標準法を修正し、その条件下の乳清比重を、加水の疑いのない牛乳試料を用いて測定する一方、その試料に人為的に4%, 8%, 12%および16%加水した場合の乳清比重を測定し、加水率と乳清比重との関係を回帰直線の作成によって検討した。

II. 実験結果および考察

1. 標準法による試験結果

検乳10例について、標準法によって得た乳清および元の牛乳の比重、ならびに乳清の透明度は第1表のとおりである。

完全に透明な乳清が得られた試料は10例中2例のみであり、他の8例は白濁不透明な上に、透明な2例よりも高い乳清比重値を示した。このことから、標準法では乳清が白濁して比重測定値に誤差を生ずることが推定される。

さらに、前処理条件を種々変えて調製した乳清の白濁有無は第2表に示すごとく、検乳4例において東洋濾紙No. 5Bおよび5Cによる濾過では透明な乳清は得られず、標準法の3,000 RPM, 3分の遠心分離条件を最高6,000RPM, 5分に変えても透明な乳清は得られなかった。一方、標準法の遠心分離条件であらかじめ85°C, 10分の加熱処理を行なうと、ほとんど透明な乳清を調製できた。したがって、遠心分離前に適当な加熱処理を行なわない限り、遠心分離

第1表 標準法による乳清比重と透明度

検乳No	検乳比重	乳清比重	透明度
1	1.0319	1.0311	○
2	1.0333	1.0353	×
3	1.0309	1.0340	×
4	1.0306	1.0342	×
5	1.0298	1.0332	×
6	1.0364	1.0441	×
7	1.0314	1.0350	×
8	1.0298	1.0281	○
9	1.0317	1.0379	×
10	1.0290	1.0320	×

(注) ○印：透明のもの，×印：白濁不透明のもの。

第2表 乳清の透明度に及ぼす前処理条件の影響

前処理条件	検乳No.			
	1	2	3	4
濾過 東洋濾紙 No. 5B No. 5C	×	△	×	×
遠心分離	3000 RPM 3分	△	△	×
	3000 RPM 5分	△	△	×
	4000 RPM 5分	△	△	×
	6000 RPM 5分	△	△	△
	85°C 10分加熱後 3000 RPM 3分	○	○	○

(注) ×：白濁不透明，△：半透明，○：透明。

または濾過だけで透明な乳清を調製することは難しいことがわかる。

2. 乳清の性状におよぼす酢酸濃度の影響

上述の結論から、標準法における遠心分離条件を変えずに透明な乳清を得るためには、酢酸濃度を高めて牛乳のpHをカゼインの等電点(pH 4.6)以下にし、カゼインを完全に沈澱させることが要求される。そのために標準法の酢酸濃度20%をさらに高め、最高45%濃度までの酢酸による乳清の白濁、pHおよび比重への影響を調べた。

第3表に示すごとく、標準法の20%酢酸では26例中21例、30%酢酸では同じく4例が乳清の白濁を示し、35%酢酸濃度ではじめて全供試乳が透明となった。また、乳清のpHは20%酢酸で全試料ともpH 4.6以上であり、35%濃度以上の酢酸ではじめてpH 4.6以下となった。したがって、pH 4.6の限界点と乳清白濁の限界点はおおむね一致し、白濁の原因がpH低下の不足によるという強力な証拠が得られた。また、白濁した乳清の比重は同一試料の透明な乳清の比重よりも明らかに高い値を示し、第1表の結果と同様、乳清の白濁が比重測定に誤差を与えることを意味している。

第3表の結果から、透明な乳清を得るためには35%濃度以上の酢酸を使用することが望ましいが、表の各試料および平均値が示すごとく、40%および45%酢酸濃度では再びわずかに乳清比重が上昇する傾向が認められた。この原因には酢酸溶液自体の比重の増加とpHの過度の低下に伴うカゼインの再溶解が考えられる。

以上のことから、従来のテトラ乳清比重法における乳清の白濁とそれに伴う測定誤差を改善するためには、原法通りの試薬を用いる場合に酢酸濃度20%を35%に変えることが望ましいと結論できよう。

3. 乳清比重と加水率の関係の修正

(1) 35%酢酸使用時の乳清比重測定結果

前述の26例の検乳を含めて、全部で41例の牛乳試料(ただし、確実に加水の疑いのないもの)について、乳清比重を測定した。その結果、最高値1.0333、最低値1.0273、平均値1.0304、標準偏差±0.00132であった。したがって、出現確率95%で示す標準偏差の2倍の範囲では、乳清比重が1.0278以下のものは加水の疑いがあると考えられる。

(2) 加水率に対する乳清比重の回帰

第3表 乳清の白濁, pH および比重に及ぼす酢酸濃度の影響

検乳 No.	各種酢酸濃度で分離した乳清比重				
	20%	30%	35%	40%	45%
1	1.0412	1.0392	1.0332	1.0331	1.0334
2	1.0368	1.0324	1.0317	1.0321	1.0325
3	1.0309	1.0313	1.0313	1.0314	1.0317
4	1.0358	1.0304	1.0304	1.0307	1.0308
5	1.0402	1.0367	1.0326	1.0327	1.0327
6	1.0298	1.0299	1.0303	1.0303	1.0304
7	1.0331	1.0309	1.0303	1.0301	1.0302
8	1.0305	1.0302	1.0304	1.0304	1.0306
9	1.0327	1.0307	1.0310	1.0312	1.0315
10	1.0356	1.0361	1.0317	1.0319	1.0323
11	1.0292	1.0290	1.0290	1.0292	1.0292
12	1.0336	1.0280	1.0293	1.0287	1.0289
13	1.0304	1.0302	1.0301	1.0301	1.0303
14	1.0307	1.0313	1.0312	1.0314	1.0312
15	1.0274	1.0283	1.0283	1.0284	1.0283
16	1.0289	1.0286	1.0286	1.0288	1.0289
17	1.0366	1.0319	1.0314	1.0316	1.0318
18	1.0365	1.0315	1.0316	1.0320	1.0323
19	1.0353	1.0310	1.0309	1.0308	1.0312
20	1.0298	1.0290	1.0306	1.0304	1.0308
21	1.0297	1.0293	1.0298	1.0298	1.0298
22	1.0291	1.0295	1.0294	1.0299	1.0301
23	1.0333	1.0300	1.0292	1.0297	1.0299
24	1.0293	1.0292	1.0298	1.0295	1.0305
25	1.0354	1.0299	1.0302	1.0306	1.0310
26	1.0274	1.0279	1.0280	1.0281	1.0283
平均	1.0327	1.0308	1.0304	1.0305	1.0307

(注) ——— 実線より右側は透明な乳清, 左側は白濁した乳清を示す。
 点線より右側は pH 4.6 以下, 左側は pH 4.6 以上を示す。

上述の牛乳試料を例にとり, 人為的に 4, 8, 12 および 16% 加水して後, 35% 酢酸によって調製した乳清比重値を求め, 加水率 (X) に対する乳清比重の数値 (Y) (ただし, 比重値の小数点以下 2 ~ 4 位の数値) の回帰式を算出した。

すなわち、

$$Y = 303.4 - 3.175X$$

その回帰直線は第1図のとおりであり、推定誤差 $S_y = 12.71$ である。図に示すごとく、推定誤差を考慮に入れば、乳清比重1.0260以下のものは10%以上の加水の疑いがあると推定される。実験例をさらに多くしてより正確な回帰直線を作成することが要求されるが、第1図を用いて、岡山県南周辺の牛乳未知試料における加水の有無と加水率を、かなり高い精度で検査し得るものと考えられる。

Ⅲ. 総 括

牛乳の加水試験の簡便法としてのテトラ乳清比重法について、その標準法の欠陥と細目の操作法に検討を加えた。

岡山県南周辺の牛乳を試料とした試験において、標準法によって得られる乳清がしばしば白濁して比重測定に誤差を生ずることを認め、その原因が乳清調製時の酢酸濃度の不足にあることを明らかにした。この欠陥は酢酸添加後の濾過や遠心分離条件の変更によっても改良されず、標準法における20%酢酸濃度を35%に修正することによって解消された。

それに基づく改良法において、検乳41例の乳清比重の平均値と標準偏差は 1.0304 ± 0.00132 であり、実際の加水実験から加水率に対する乳清比重の回帰式を得た。その回帰直線から、乳清比重1.0260以下のものは10%以上の加水の疑いがあると推定される。

文 献

- 1) 厚生省編 (1959) : 食品衛生検査指針 (I) III, 25.
- 2) W. F. SHIPE (1956) : The use of Thermistors for Freezing Point Determinations. *J. Dairy Sci.* 39 916.
- 3) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1960) : Standard methods for the Examination of Dairy Products 11th Ed. 302—305.
- 4) 東京大学農学部農芸化学教室 (1954) : 実験農芸化学, 下巻 604 朝倉書店.
- 5) 佐々木林治郎, 津郷友吉 (1957) : 乳の化学, 212 地球出版.
- 6) 福島正次 (1954) : 乳漿比重, 乳清比重の計算図表. 日大農獣医学報 3, 54—60.

第1図 加水率に対する乳清比重の回帰直線と推定誤差

