wheat bran, both "*Asp. niger*" NRRL 330 and 337 produce the amylase system of *Asp. usamii* type⁽⁸⁾ and their activities are 6/7 and 1/2, respectively, of that of *Asp. usamii* R-0635. Amylase system of *Asp. oryzae* NRRL 692 belongs to "*Asp. oryzae* type" and its activity is about 7/10 of that of *Asp. oryzae* S-7⁽⁹⁾ and about 1.4 times higher than those of *Asp. oryzae* M 2-1 or S 1-1.

- (1)(2)(5)(7) K. SAKAGUCHI, H. IZUKA and S. YAMAZAKI; *J. Applied Mycology* (Univ. of Hokkaido), 3, 53, 65 (1949)
3, 97, 4, 1 (1950); *J. of Agr. Chem. Soc. Japan*, 24, 138 (1951).
(3)(4) Ch. THOM and K. B. RAFFR: *A Manual of the Aspergilli* (1945).
(6) R. NAKAZAWA *et al.*; *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 12, 931 (1936).
(8) H. OKAZAKI; *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 24, 88 (1950).
(9) K. SAKAGUCHI and K. YAMADA; *J. Agr. Chem. Soc., Japan*, 20, 65 (1944).

孵化鶏卵中の非蛋白態硫黄*

野 並 慶 宣 (東京教育大学農学部農芸化学科)

昭和 28 年 3 月 30 日 受 理

Sulfur in the Nonprotein Fraction of Incubating Eggs.

By Yoshinobu NONAMI

(Dept. of Agr. Chem., Faculty of Agr., Tokyo Univ. of Education.)

孵化鶏卵の卵白、卵黄中の硫黄化合物の形態は、孵化過程 9, 14, 及び 17 日に於いて卵白、卵黄を加熱凝固せしめて分離し分析した結果、大部分 methionine, cystine であることを定量的に明かとした⁽¹⁾。然しこの場合は卵白及び卵黄の全体に就いて分析したのであつて、その硫黄化合物の分解過程は明かとされていない。MARSHALL 等⁽²⁾によると、孵化卵の卵白及び羊水中の各蛋白質相互間の割合は新鮮卵白中のそれと差異なく、又尿膜中の液には全孵化過程を通じ蛋白質は検出されなかつたとされているが、非蛋白態硫黄化合物については報告されていない。貯蔵卵の卵内容物の変化についても多くの報告があり、特に卵白蛋白質の変化はその液状化と関聯して詳細な研究が行われているが、確定的な結論は得られておらず⁽³⁾、その硫黄化合物の分解過程については報告されていない。

ここでは孵化卵硫黄化合物の分解過程を知る一手段としてその内容物、特に卵白を主としてこれの非蛋白態硫黄の定量及び遊離含硫アミノ酸の paper chromatography による検出を孵化過程 7, 14, 17 日に於いて行つた結果を以下に記載する。

実 験 の 部

1. 試 料 孵化卵は白レグ種の卵を平面孵卵器にて孵化し内容物を加熱凝固等の変化を加えずそのまま剖卵供試した。

卵白は新鮮卵のものに比し極めて粘稠な状態にあるものを取り出し、1% 食塩水及び水にて各 1 回洗い、乾燥濾紙にて表面を拭つた後 10~20 個分を 15 分間充分攪拌して泡立て、15 分間放置して泡が大体消失したものに付き分析した。この際血液、卵黄等の混入が認められたものは除外した。孵化 7 日に於ける卵白は粘稠度比較的小で分離は容易でなく、14 日では黄色透明なゲル状をなし容易に分離された。17 日に於いては分離は極めて容易であつたが、卵白は殆ど完全に消失しているものが大部分であつた。

卵黄は 7, 14 日に於いては破れ易く分離不可能であつた故 17 日に於いてのみ卵黄囊のまま取り出し、1% 食塩水及び水にて各数回洗い乾燥濾紙にて表面を拭い約 10 個分の卵黄囊内容物を流出せしめ供試した。

全卵内容物は孵化 7, 14, 17 日に於いて各 10 個を剖卵し胚のみを除き、先ず卵白を充分攪拌して泡立てた後他の部分を加え、更に 30 分間攪拌し、篩にて皮膜、血管等を除去して供試した。

卵白の pH は分離攪拌後直ちにガラス電極を用い測定した結果、7, 14, 17 日に於いてそれぞれ 7.65, 6.83, 6.23 であつた。

2. 非蛋白態硫黄及び窒素 卵白中の非蛋白態硫黄及び窒素含有量の測定は FRIEDERICQ, 等の ovomu-

* 本報告は鳥卵の硫黄化合物 第 5 報として 1953 年 2 月 28 日、日本農芸化学会東京支部講演会に於いて発表したものの一部である。

coid の分離法⁽⁴⁾ に倣い蛋白質を沈澱せしめ除去したものにつきそれぞれ BENEDICT 氏法及び KJELDAHL 氏法により行つた。即ち卵白約 5g を秤量し、先ず ovomucoid 以外の全蛋白質を沈澱せしめこれを遠心分離し、沈澱を 1% 三塩化醋酸にて洗滌し、上澄液、洗滌液を併わせて 50 cc となし、この 30 cc をとり ovomucoid を沈澱せしめ遠心分離し、その上澄液をとりこれを非蛋白部とした。

以上の処理に於いて孵化 17 日の卵白よりは、ovomucoid に相当する沈澱が得られなかつた。

全卵内容物及び卵黄の非蛋白態硫黄及び窒素は次の如く定量した。即ち試料約 5g を秤量し水 10 cc を加え攪拌して後、20% 三塩化醋酸を滴下して蛋白質を沈澱せしめ、24 時間後にこれを遠心分離し沈澱を 1% 三塩化

Table 1. Nonprotein S and N of Incubating Eggs.

Sample	H ₂ O(%)	Nonprotein	
		S(%)	N(%)
White	7 days old	68.15	0.49
	14 " "	61.57	0.98
	17 " "	61.96	2.82
Total Contents.	7 days old	71.90	0.03
	14 " "	72.46	0.07
	17 " "	72.25	0.05
Yolk	17 days old	49.58	0.12

醋酸にて洗滌し、上澄液、洗滌液を併わせて 50cc となし、これにつき前記卵白の場合と同様硫黄及び窒素を定量した。

以上の結果と常法により求めた水分含有量を、

Table 1 に示す

3. 遊離含硫アミノ酸 前項の如くして得た非蛋白部溶液につき、paper chromatography により遊離の含硫アミノ酸及び全アミノ酸の検出を行つた。含硫アミノ酸の検出は WINEGARD 等

の沃化白金試薬を呈色剤とする方法⁽⁵⁾により、又全アミノ酸は 0.25% ニンヒドリン、ブタノール溶液を呈色剤とする常法の二次元 chromatography によつた。二次元の場合の展開剤は、卵白についてはメタクレゾール及びルチデン、コリデンを、その他の場合はフェノール及びルチデン、コリデンを用いた。以上の結果検出された遊離アミノ酸は Table 2 に示す如きものであつた。

Table 2. Free Amino-acids in Incubating Eggs.

Incubation Age		7 days	14 days	17 days
Sample		Cystine Leucine	Cystine Leucine	Cystine Leucine
		Methionine Phenylalanine	Methionine Phenylalanine	Methionine Phenylalanine
Total Contents	Threonine	?	Threonine	Threonine Serine
	Histidine	?	Histidine	Histidine Glycine
	Ornithine		Ornithine	Ornithine Valine
	Tyrosine		Tyrosine	Tyrosine Lysine
	Arginine		Arginine	Arginine
	Proline		Proline	Proline
				Threonine Arginine
Yolk	—	—	—	Histidine Valine
White	None	None	None	None

考 察

孵化卵卵白中の非蛋白態硫黄は非蛋白態窒素と共に、孵化日数の進むにつれ増加していることは実験結果より明かである。又分離した卵白につき直接その全硫黄及び全窒素を前記同様の方法にて 7 日、14 日、17 日に定量した結果はそれぞれ 1.66, 2.16, 2.93 及び 5.05, 6.02, 6.42% であつて、孵化 17 日に於いて猶残存する卵白はその硫黄及び窒素が大部分非蛋白態である。卵白の非蛋白部はこのように増加するものと見られるに拘らず、この中に遊離アミノ酸の存在が検出されないことは興味あることと考えられ、この場合卵白は分離後洗滌されたものであるが、この操作により遊離アミノ酸が完全に洗い流されたとは考えられない。著者は石灰貯蔵卵等につき、ここに用いたと同様な方法により、卵白中に methionine, cystine を含む数種の遊離アミノ酸を検出し、且その非蛋白態硫黄及び窒素は孵化卵の場合より少いことを明かとした⁽⁶⁾が、これと比較しても孵化卵卵白の分解過程は更に検討を要する。猶 CHAOTÉ LI 等は蛙の卵の発生過程に於いて、その胚のエタノール抽出物中に paper chromatography により検出される遊離アミノ酸は存在しないと報告している⁽⁷⁾。

ここに分離して供試した卵白の pH は、孵化過程の進むに従い減少しているが、これは RAO 等の測定結果と一致するもので、同氏等は卵白の pH は孵化 36 時間で最大値 9.5 を示し以後漸減するもので、これは孵化卵中の代謝の進むにつれて CO₂ が卵白中に蓄積するためであるとしている⁽⁸⁾。

胚を除く孵化卵全内容物中の遊離アミノ酸検出の結果より見て、鶏卵の孵化分解過程に於いては cysteine の有無は不明であるが、cystine, methionine 以外の含硫アミノ酸は生成せられないと思われる。又その卵白、卵黄は一部分宛分解されて胚に吸収されるが、最も分解の著しく行われる部位は分離し得る状態にある卵白、卵黄の外にあるものと考えられる。

孵化 17 日に於ける卵黄中の非蛋白態硫黄及び窒素、並びに遊離アミノ酸を孵化直後の雛腹腔内卵黄について得た結果⁽⁹⁾と比較すると、非蛋白態硫黄及び窒素含有量は大差ないが、腹腔内卵黄には cystine, methionine を含む 10 種の遊離アミノ酸が見られるのに対し、前者では遊離アミノ酸は 4 種で且つ含硫アミノ酸は認められない点異なる。

要 約

加熱凝固せしめた孵化卵の卵白、卵黄中の硫黄化合物は大部分 methionine, cystine であることを定量的に確めたので、此处では孵化 7、14、17 日の卵につき卵白を主とした卵内容物中の非蛋白態 S 及び N の定量並びに遊離アミノ酸の paper chromatography による検出を行い、次の結果を得た。

1. 卵白は孵化過程の経過と共に非蛋白態 S 及び N が増加するが、遊離アミノ酸は検出されない。
2. 胚を除く全卵内容物中には cystine, methionine 以外の含硫アミノ酸は検出されない。
3. 孵化 17 日の卵黄を初生雛腹腔内卵黄と比較すると、非蛋白態 S 及び N 含量は大差ないが、検出され得る遊離アミノ酸は少く、且つ含硫アミノ酸は検出されない。

終りに臨み日頃御指導、御鞭撻を賜わる恩師佐々木林治郎先生、津郷友吉先生に感謝の意を表する。猶本研究の費用の一部は文部省科学研究費により補助せられた。

(1) 野並 1951 年 4 月、農芸化学会大会にて講演	<i>Science</i> , 108, 506 (1948).
(2) M. E. MARSHALL <i>et al.</i> : <i>J. Biol. Chem.</i> , 185, 115 (1950).	(6) 野並 : 1953 年 2 月、農芸化学会東京支部講演会にて講演
(3) R. E. FEENEY <i>et al.</i> : <i>Poultry Sci.</i> , 31, 639 (1952).	(7) CHAOTÉ LI and E. ROBERTS : <i>Science</i> , 106, 425 (1949).
(4) E. FRIEDERICQ and H. F. DEUTSCH : <i>J. Biol. Chem.</i> , 181, 499 (1949).	(8) K. S. RAO <i>et al.</i> : <i>Proc. Natl., Inst. Sci. India</i> , 16, 5 (1950).
(5) H. M. WINEGARD and G. TOENNIES :	(9) 野並 : 1952 年 5 月、農芸化学会東京支部講演会にて講演

Summary

The author had made quantitative observations on the sulfur compounds in the heat-coagulated white and yolk of incubating eggs and had revealed that the sulfur compounds were almost only cystine and methionine. Here, he conducted the experiments to determine the sulfur and nitrogen of nonprotein fraction in the contents, mainly in the white of incubating eggs at 7-, 14-, and 17-days periods and also to detect free amino-acids, especially free sulfur-containing amino-acids in these materials by paper chromatography.

The results of these experiments were as follows ;

1. The nonprotein sulfur and nitrogen of the white increased with the incubation age, but no free amino-acid could be detected in the white. The pH of the white was 7.65, 6.83, and 6.23 respectively after 7, 14, and 17 days of incubation.
2. In the total contents of the eggs, except chick embryos, no other sulfur-containing amino-acids were detected than methionine and cystine.
3. The yolk, after 17 days of incubation, contained as much nonprotein sulfur and nitrogen as the unabsorbed yolk in hatched baby chicks, but the former contained much less free amino acids and no sulfur-containing amino-acid.