74. 5142 (1952).
 (12) SHIMIZU, T. : *J. Biochem. (Japan)*, 37, 421 (1950).
 (13) 近藤, 武田: 醸工雑, 30, 103 (1952).

Summary

By shaking culture, several conditions for the production of α -ketoglutaric acid by *Serratia marsecens* No. 18 was studied.

α -Ketoglutaric acid was produced from various simple sugars and other carbon sources — D-glucose, D-galactose, D-mannose; D-xylose, L-arabinose, L-rhamnose; K-gluconate and K-2-ketogluconate; from L-fructose, on the other hand, both α -ketoglutaric and pyruvic acid were produced at the same time. Furthermore, the relation between glucose concentration and yield of the acid were discussed, and then it was clarified that, in general, the more dilute the glucose concentration was, the higher the yield of the acid would be. Nitrogen concentration had a serious influence on the production of the acid rather than the kind of nitrogen source, 0.03% N being optimal for 7% glucose medium. The addition of iron, which optimal concentration were about 1 ppm., was useful to increase the yield of the acid; $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ being the most suitable Fe-source, specific difference was not found between ferrous- and ferric-compounds at this concentration.

As the results of these studies, we obtained 2240 mg of α -ketoglutaric acid per 100 cc broth (yield 49.34%) from the medium. This medium consisting 4.57% glucose, 0.07% urea, 0.05% KH_2PO_4 , 0.01% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.25% CaCO_3 (sterilized separately) and 8 ppm. $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, seemed to be one of the best media.

貯蔵卵卵白蛋白質の変化 (第 1 報)・卵白中の遊離

アミノ酸及び Sponge Cake 試験

野 並 慶 宣, 下津浦浅美, 太 田 昭 (東京教育大学農学部農芸化学科)

昭和 29 年 4 月 6 日 受理

Nonmicrobial Deterioration of Preserved Egg Albumen During the Storage. Part 1.

Free Amino Acids in Albumen and Sponge Cake Test of Preserved Eggs.

By Y. NONAMI, A. SHIMOTSUURU, A. ÔTA.

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

卵白は孵化過程に於いては、孵化日数と共に著しく粘稠となり、その大部分を生鮮状態にて容易に他より分離し得る⁽¹⁾が、貯蔵中に於いては、一般に認められている如く液状化することが最も顕著な変化である。貯蔵卵卵白の液状化については、各種卵白蛋白質の化学的及び生化学的变化が多く研究されている⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾が、その原因並びに機構は確定的ではないとされている⁽⁶⁾。これ等の研究は、一般に行われている卵の貯蔵法を施さない新鮮卵、或いは無菌的に卵白のみ割卵分離したものを、比較的短期間貯蔵した場合について得られたものである。従来行われている各種貯蔵法を施した卵の卵白蛋白質につき、その化学的諸性質を比較し、更にこれ等と加工、調理材料としての卵の品質との関係を研究したものは少い。

ここでは卵白蛋白質の貯蔵中の変化を孵化過程のそれと比較し、又卵白蛋白質の変化に基く貯蔵卵の食品としての品質の低下する過程を明かにする目的にて実験を行つた。先ず卵白蛋白質の貯蔵中に於ける分解の状態を知るために、卵白中の遊離アミノ酸の検出を行い、他方卵の加工に当り重要視されている卵白の泡立ち性を比較するために Sponge cake 試験を行つた。

実 験 の 部

1. 供試卵 ここに供試した貯蔵卵は何れも白色レグホーン種の清浄な新鮮卵に、次の如き比較的簡易な処理を施したものである。

(A). 石灰浸漬卵: 卵を $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 200 g, 水 1 l の石灰乳中に浸漬してガラス鉢に入れ、ガラス蓋をして室温に貯蔵した。

(B). パラフィン塗布卵: 卵に熔融したパラフィンを厚さ約 2~3 mm に塗布し、卵の鈍端を上にしてポー

ル箱につめ室温に貯蔵した。

(C). 防腐剤塗布卵： 卵殻表面を水にて充分洗滌し、乾布にて水分を除き、市販卵用防腐剤（商品名、EiEiLi、発売元 Victory Trading Industrial Establishment in Vaduz, Lichtenstein.）に 5 倍容の水を加えて得た乳液中に 2~3 秒間浸した卵を、直ちに鈍端を上にしてボール箱につめ室温に貯蔵した。

卵の貯蔵は 1953 年 3 月より 11 月の間実施したもので、上記貯蔵卵 A, B, C の 3 箇月及び 6 箇月貯蔵に於ける変質及び腐敗の割合はそれぞれ 20.8, 70.0, 25.1 及び 33.0, 100.0, 60.0% であった。但しここで変質及び腐敗とは、不快臭、卵白の褐色化及び卵黄の崩壊した場合を指したもので、割卵後の臭気及び外観のみから判定したものである。従つて石灰浸漬 6 箇月貯蔵卵の如く、外観は大体正常であり、不快臭も著しくない場合はここに云う変質及び腐敗の率は低いが、その風味はアルカリ臭味が著しく食用には不適であつた。又ここに云う不快臭とは主として微生物の作用によると考えられる硫化水素様及びスカトール様臭気を指すのであつて、単なる古卵臭は不快臭とはしなかつた。

以下に述べる実験に供試した貯蔵卵は、総て不快臭なく且卵黄、卵白の分離が可能なもののみである。

2. 割卵検査 貯蔵卵の市場卵としての品質を判定するために、卵白 pH、及び比粘度、卵黄係数、卵内容物の外観及び風味の検査を行つた。pH の測定は割卵直後ガラス電極を用いて行い、比粘度はオストワルド粘度計にて測定した。卵黄係数は卵黄を卵白と共にガラス板上に流し 1/10 mm の尺度にて測定した。卵内容物の外観は割卵直後、風味は半熟卵としてそれぞれ新鮮卵と比較して検討した。これ等の結果を Table 1 に示す。

Table 1. Mean Albumen and Yolk Measurements of Preserved Eggs.

Method of preservation	Months of storage	Number of eggs	Albumen pH		Albumen viscosity	Yolk index		Appearance of		Flavor
			Range	Mean		Range	Mean	albumen	yolk	
Ca(OH) ₂	3	12	7.96~8.20	8.07	2.975	0.221~0.289	0.234	clear	dark	old
	6	12	7.28~8.17	7.63	—	—	—	cloudy	dark	alkalin
Paraffin	3	12	6.81~7.54	7.07	2.556	0.236~0.277	0.245	clear	normal	old
	6	8	6.96~7.83	7.55	1.254	—	—	brown, no thick albumen	dark, partly coagulated.	very old
Creamy* emulsion	3	20	7.67~8.80	8.31	2.639	0.208~0.311	0.238	clear	normal	fresh
	6	18	7.23~7.45	7.36	1.898	0.213~0.273	0.233	clear	slightly dark	old

* The creamy emulsion, EiEiLi, was supplied by the Victory Trading Industrial Establishment in Vaduz, Lichtenstein.

3. 卵白中の遊離アミノ酸 以上 3 種の貯蔵卵の各 10 個内外をとり、孵化卵について行つた方法⁽¹⁾に準じ paper chromatography により卵白中の遊離アミノ酸の検出を行つた。又参考のため卵内容物の変化が最も著しいと考えられる食品として市販の皮蛋をとり、これについて遊離アミノ酸の検出を行つた。

皮蛋中の遊離アミノ酸検出は次の如く行つた。即ち凝固した卵白、卵黄の各 1 g をとり、各 20 cc の水を少量宛加えながら磨碎、1 夜放置後 20% 三塩化醋酸を加え除蛋白を行い、以下前記貯蔵卵の場合と同様方法にてアミノ酸を検出した。

以上の結果検出し得た遊離アミノ酸を Table 2 及び 3 に示す。

Table 2. Free Amino Acids in Preserved Egg Albumen.

Method of preservation	Months of storage	Flavor of sample.	Free amino acids	
			Free amino acids	
Ca(OH) ₂	3	Slightly old	Methionine, Valine, Histidine, Glycine, Threonine(?)	
	3	Off-flavor	Yellow spot, Purple spot.	
	6	Alkaline	Methionine, Valine, Yellow spot, Purple spot.	
Paraffin	3	Old	Methionine, Valine, Histidine, Glycine, Two yellow spots	
	6	Very old	Methionine, Valine, Glycine, Threonine(?)	
	6	Very old	Yellow spot, Purple, spot, Three red-purple spots.	
Creamy emulsion	3	Fresh	Methionine, Valine, Histidine, Glycine, Two yellow spots.	
	6	Slightly old	Methionine, Valine, Histidine, Glycine, Arginine (?)	
	6	Old	Threonine Yellow spot.	
			Methionine, Valine, Histidine, Glycine, Arginine. Yellow spot.	
			Methionine, Valine, Histidine, Glycine, Arginine. Yellow spot.	

Table 3. Free Amino Acids in Pidan.

Free amino acids.	
Albumen	Methionine, Valin, Histidine, Threonine, Arginine, Lysine, Phenylalanine.
Yolk.	Methionine, Valine, Histidine Threonine, Arginine, Lysine, Alanine, Phenylalanine.

4. **Sponge cake 試験** 上述の 3 種の貯蔵卵並びに比較のため、白色レグホーン種新鮮鶏卵及びベキン種新鮮鴨卵につき Sponge cake 試験を行つた。但し石灰処理 6 箇月貯蔵卵は、その風味の変化著しく、cake としても食用に不適と思われるものが大部分であつたので供試しなかつた。

各種供試卵はそれぞれ毎回 3 個宛とり、これより sponge cake 2 個を作り試験した。Cake の製法及びこれについての試験方法は NASH 等の方法⁽⁷⁾ と大体同様で、割卵直後の卵白 pH, cake 捏粉泡立て後の容積、焼き上り後の cake の重量、高さ、volume index, 組織及び風味を比較した。

Cake 捏粉の組成は最初 NASH 等の“標準法”同様として焼いたが、この場合冷却後の cake の収縮が著しく製品の比較が困難で sponge cake 試験に不適當であつた。これは恐らくここに用いた小麦粉が NASH 等の用いた cake flour と異なるためと考え次の如くした。即ち全卵 70 g, 製菓用小麦粉 (“旭”) 56 g, 蔗糖 63 g, 水 17 g, 食塩 0.5 g である。ここに用いた貯蔵卵の貯蔵中に於ける水分含有量の変化は何れの場合も僅少であつたので、cake とする場合、卵は水或いは卵粉の添加等の補正を行わずそのまま用いた。鶏卵は何れも新鮮時の重量 55~60 g, 鴨卵は 75~80 g のものを用いた。

Cake の製法は次の如くである。卵 3 個分の全卵をよく攪拌しその 70 g をとり、最大容積に達する迄約 5~10 分間手動泡立て器にて充分泡立て、なお泡立てつつ蔗糖、食塩、小麦粉の順に加え、然る後充分泡立てて最大容積に達せしめその容積を測定し、直ちに 100 g 宛パラフィン紙にて内面を覆つた一定の cake 用 pan に秤量し、そのまま 170~180° にて 13~14 分焼き放冷した。

Fig. 1. Grain and general appearance of center cut of sponge cakes made with fresh eggs and eggs stored for three or six months by three methods.

A- fresh hen; B- fresh duck; C- creamy emulsion, 3 months; D- paraffin, 3 months; E- $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 3 months; F- paraffin, 6 months; G- creamy emulsion, 6 months.

Cake の高さ及び volume index は前記 NASH 等の行つた方法により測定した。Sponge cake は同一種供試卵につき 3 回行い、ここに得た 6 個宛の cake につき測定した諸結果の平均値を Table 4 に示す。

Table 4. Measurements of Sponge Cakes made with Preserved and Fresh Hen Eggs and Fresh Duck Eggs.

Method of preservation	Months of storage	Albumen pH	Volume of 100g of batter	Weight of sponge cake	Height of sponge cake	Index of volume. *
Fresh (hen)		7.60	266 cc	85.5 g	4.0 cm	17.6 cm ²
Fresh (duck)		7.73	237	87.4	4.2	18.7
Creamy emulsion {	3	8.43	252	89.2	4.0	18.0
	6	7.86	268	90.0	3.6	18.0
Ca(OH) ₂	3	8.27	298	91.1	4.1	20.1
Paraffin {	3	7.48	223	87.8	4.1	18.8
	6	7.50	254	92.8	4.5	23.5

* Area of center cut.

Cake の組織は volume index を測定した断面を写真にとり比較した。同時に焼いた cake の断面像を Fig. 1 に示す。

Cake の風味は新鮮卵を用いた cake を標準として、以上の諸測定の後についで比較した。風味は3箇月貯蔵防腐剤処理卵のものが新鮮卵のものと同様で最もよく、石灰卵、パラフィン卵のものはやや濃厚であり、この傾向は6箇月貯蔵のものは3箇月のものに比して大であつた。特に6箇月貯蔵パラフィン卵を用いた cake は微かに異臭を呈した。

考 察

ここに供試した貯蔵卵の市場卵としての品質を割卵試験の結果より比較すると、これ等3種の貯蔵法の中、防腐剤処理が最も効果ある卵の貯蔵法と考えられる。

卵白中の遊離アミノ酸は新鮮卵及び孵化卵中の生鮮状態にて分離し得る部分には検出されなかつた⁽¹⁾⁽⁸⁾が、貯蔵卵にあつてはその存在が認められた。この遊離アミノ酸の種類は貯蔵条件により差があるが大体 methionine, valine, histidine, glycine であつた。6箇月貯蔵の場合の卵白中の遊離アミノ酸は、同一条件下の3箇月貯蔵の場合のそれに比して増加していることはなく、むしろ減少している。又卵の品質に相当差があることが認められる場合に於いても、遊離アミノ酸の種類に大差なく、3箇月貯蔵石灰卵にあつては風味の損われたものが却つて遊離アミノ酸が少く、6箇月パラフィン卵の如く卵白の褐色化及び液状化が著しい場合も遊離アミノ酸は3箇月貯蔵のものより減少している。

以上の卵白中の遊離アミノ酸検出の結果より見て、変質の程度の大なる貯蔵卵卵白の変化は、遊離アミノ酸を生成せしめないような変化過程を主とするものか、或いは生成された遊離アミノ酸が更に分解変化して消失するか、何れにしても卵白中の遊離アミノ酸により貯蔵卵の品質を定めることは困難であると考えられる。

卵白の貯蔵中に於けるその泡立ち性の変化については、HUNT 及び St. JOHN⁽⁹⁾ は卵白泡雪の容積は濃厚卵白を用いた場合、液状卵白を用いた場合より小であると報告し、又前記 NASH 等は Sponge cake 試験に於いて標準 cup 中の捏粉の重量を測定し、5種の貯蔵卵中4種のものから得た捏粉は、新鮮卵のそれに比して一定容積の重量が減少したと報告している。

ここでは各貯蔵卵の濃厚及び液状卵白の定量は行わなかつたが、石灰卵以外貯蔵卵の捏粉の容積が新鮮卵のそれより大であると云うことは出来ない。然し同一貯蔵卵では6箇月貯蔵のものは3箇月のものより捏粉の容積が大であり、又新鮮鶏卵は新鮮鴨卵より捏粉の容積が小であつたことは、ここに用いた捏粉にあつてもその泡立てた容積は卵白がより液状である程大となることを示すものと考えられる。

Cake の volume index は貯蔵卵のものは何れも新鮮卵のものより大であつたが、各の場合を比較すると捏粉の容積の大小と volume index の大小とは一致しない。このことは3箇月貯蔵石灰卵及び6箇月貯蔵パラフィン卵の場合に於いて明かである。

Cake の内部組織及び風味を比較した前記の実験結果は、特定の方法に従つて得た数量的なものではなかつたが、組織の優劣と捏粉の容積の大小とは相反する傾向があると思われる。又 cake の風味が劣る程変質した卵を用いた場合も、cake の組織はそれ程劣る結果とはならない。

以上の sponge cake 試験の結果を見ると、捏粉の容積、volume index 及び内部組織は単に原料卵卵白泡雪の容積の大小のみに関係するものでなく、泡雪の安定度等によつても左右されるものと考えられる。この泡雪の容積及びその安定度等は、室温貯蔵の如く卵白の変質が著しいと思われる場合は、単にその液状化の程度により定

められるのではなく、卵白蛋白質の変化の更に詳細な検討をして後に説明されるべきものである。従つて卵白蛋白質の変化を研究する場合、ここに行つた方法による Sponge cake 試験は、この変化を比較する際に参考となるべきものと考えられる。

要

約

貯蔵卵卵白蛋白質の変化を検討するに当り、先ずその分解過程を比較するために遊離アミノ酸の検出を行い、次に泡立ち性を比較して卵白液状化の程度を知るために Sponge cake 試験を行い、併せて貯蔵卵の品質を比較するために割卵試験を行い、卵白の pH 及び粘度、卵黄係数、卵内容物の外観及び風味を比較した。貯蔵卵は石灰、パラフィン及び市販防腐乳剤にて処理した 3 種のものを、室温に保存して 3 及び 6 箇月経過したものである。

卵白中の遊離アミノ酸の種類は、割卵試験の結果から卵の変質が著しいと思われる場合も増加するものでなく、卵の市場卵としての品質をこれにより判定することは出来ない。

Sponge cake 試験に於いて測定した捏粉の容積、volume index 及び内部組織は、単に卵白液状化の程度により左右されるものでない。卵白泡雪の容積、安定度等の比較に Sponge cake 試験は有効な方法であつて、従つてこの試験は卵白蛋白質の変化を検討するに当り、参考となるべき手段であると考えられる。

終りに日頃御指導、御鞭撻を蒙り恩師佐々木林治郎先生、津郷友吉先生並びに Sponge cake の作製につき特に御指導を蒙った本学小原哲二郎教授及び朝日ペーカリー加治屋氏に厚く御礼申し上げる。

(1) 野並慶宣：農化，27，529 (1953).	(6) R. E. FEENEY <i>et al.</i> : <i>Poultry Sci.</i> , 31, 639 (1952).
(2) H. J. ALMQUIST and F. W. LORENZ : <i>U. S. Egg and Poultry Mag.</i> , 38, 20 (1932).	(7) Sister A. M. NASH <i>et al.</i> <i>ibid.</i> , 32, 275 (1953).
(3) E. G. HILL <i>et al.</i> : <i>Poultry Sci.</i> , 28, 862 (1949).	(8) L. F. LACOUR and R. DREW : <i>Nature</i> , 159, 307 (1947).
(4) J. R. HAWTHORNE : <i>Biochem. et Biophys. Acta</i> , 6, 28 (1950).	(9) L. W. HUNT and T. L. St. JOHN : <i>U. S. Egg and Poultry Mag.</i> , 38, 46, 60 (1932).
(5) F. LANNI <i>et al.</i> : <i>J. Biol. Chem.</i> , 179, 1275 (1949).	

Summary

To obtain information as to the causes and mechanism of thinning of albumen during the storage of eggs, the free amino acids in albumen of preserved eggs were detected by paper chromatography and the whipping and baking properties of the eggs were determined by the quality of sponge cake made with preserved hen eggs.

Three methods of preservation were studied: $\text{Ca}(\text{OH})_2$, paraffin and creamy emulsion.

Fresh hen and duck eggs, and pidan were used as controls. The eggs were stored at room temperature from March to November and at the end of three and six months, besides detection of free amino acids and sponge cake test, the following qualities were determined pH and viscosity of albumen, yolk index and appearance and flavor of whole contents of shell eggs.

When the mean of the quality ratings and free amino acids in albumen were considered, it was found that the more deteriorated eggs, eggs with off-flavor or six months preserved eggs sometimes contained less free amino acids in the albumen.

The sponge cake test revealed that volume of batter was not always increased by the thinning of albumen and the cakes made with batter of large volume had not always large volume index. In our estimation, the sponge cake test, carried on here, was one of the useful measures to study the deterioration of albumen proteins during storage of eggs.