のキシロースはグルコース、マンノースよりアルカリに対し強い結合形のものであることは明らかである。

要 約

鶏卵の糖の貯蔵中における変化を検討するため、まず新鮮卵の卵黄の 10% NaCl 溶液および卵白を 5~10 日間透析し、透析性糖をペーパークロマトグラフィーにて検出し、この結果と $38 \pm 1^\circ$ および $0^\circ \sim 5^\circ$ にそれぞれ 21 日および 28 日間貯蔵した鶏卵についておこなった同様の実験結果とを比較検討した。

新鮮卵白、卵黄中の透析性糖としてその存在が推定されたものは、D-グルコース、D-マンノース、D-フラクトース、D-キシロース、および 2 種の未確認の糖化合物のほか、その R_{glucose} 値が D-グルコース-6-硫酸エステルに類似した糖化合物である。これら以外に卵白は L-アラビノースおよび 1 種の多糖類、卵黄は 2 種の多糖類と思われるものを透析性の状態で含み、卵黄の多糖類と推定されるものの 1 種はアミノ糖である。これら透析性糖は一部は遊離して新鮮卵中に存在するが、一部は弱い結合状態にあって、この結合状態にある糖は、鶏卵貯蔵中あるいは卵白黄の 0.1 N NaOH による分解過程において、逐次遊離するものである。またこの逐次遊離するときの状態からみて、結合状態にある糖は、卵白のものは卵黄のものよりその結合状態がより強固なものが多いと考えられる。

おわりに、恩師佐々木林治郎先生、津郷友吉先生の御懇篤なる御指導に対しまして、厚く御礼申し上げます。

(1) H. I. Miller, H. C. Kennett, Jr.: <i>Poultry Sci.</i> , 37, 1259 (1958).	(10) 野並慶宣: 本誌, 33, 681 (1959).
(2) R. E. Feeney et al.: <i>ibid.</i> , 31, 639 (1952).	(11) W. E. Trevelyan et al.: <i>Nature</i> , 166, 444 (1950).
(3) R. E. Feeney et al.: <i>ibid.</i> , 35, 1061 (1956).	(12) R. B. Duff: <i>J. Chem. Soc.</i> , 1949, 1597.
(4) M. Sørensen: <i>Compt. rend. trav. lab. Carlsberg</i> , 20, 1 (1934).	(13) K. S. Dodgson, B. Spencer: <i>Biochem. J.</i> , 57, 310 (1954).
(5) S. V. Rieder: <i>Fed. Proc.</i> , 12, 258 (1953).	(14) 江上不二夫: 多糖類化学, 共立出版, p. 48 (1955).
(6) A. B. Schlesinger: <i>Poultry Sci.</i> , 36, 546 (1957).	(15) C. Rosa, d'Alessino de Carnevale Bonino: <i>C. A.</i> , 47, 4795 C (1953).
(7) 野並慶宣: 本誌, 33, 685 (1959).	(16) 野並慶宣: 本誌, 33, 696 (1959).
(8) 野並慶宣: 本誌, 32, 745 (1957).	
(9) 野並慶宣: 未発表.	

鶏 卵 中 の 硫 酸 態 硫 黄 (第 6 報)*

孵化鶏卵中のグリコスルファターゼ

野 並 慶 宣 (新潟大学農学部)

昭和 34 年 5 月 8 日 受 理

孵化卵内容物各部における硫酸基の分布を検討した結果、尿膜液、羊水においては、それらの乾物中の硫酸態硫黄、特に遊離またはこれに近い不安定なものの含有率が他の部分に比較していちじるしく高いことを明らかにした⁽¹⁾。しかし、この尿膜液、羊水中の硫酸基は胚における物質代謝の終末生成物であって、孵化卵内の生化学的变化に対しあまり意義のないものであるか否かは明らかでない。この点を明らかにするために、尿膜液、羊水における硫酸基変化の機構を検討することは、単にこれら 2 部分における硫酸基の変化のみならず、現在まったく不明である孵化卵全体の硫酸基の移行あるいは変化の機構につき、新しい見解をもたらすものであらうと考えた。

孵化卵内の硫酸基の変化機構としてまず考えられるのはスルファターゼの作用である。鶏卵中のスルファターゼについては、従来まったく報告されていないが、これは、鶏卵中の硫酸基に関する研究が、従来ほとんどおこなわれていなかったため、スルファターゼの存在も考えられなかったためであらう。現在までに知られている

* Sulfate-sulfur in Chicken Egg. Part VI. Glycosulfatase in Embryonated Egg.
By Yoshinobu NONAMI (Faculty of Agriculture, University of Niigata)

5 種類のスルファターゼ⁽²⁾のうち、鶏卵中のスルファターゼとしてここに検討すべきものは、グリコスルファターゼおよびコンドロスルファターゼであると考えられる。これは、前報⁽³⁾までにおいて種々検討した結果より、新鮮卵黄、卵白中の硫酸基の一部は糖または糖蛋白質と密接な関係があると推定され、また、特に新鮮卵および貯蔵卵中には、ペーパークロマトグラム上の R_{glucose} 値が D-グルコース-6-硫酸エステル⁽⁴⁾のそれに類似する透析性糖化合物が認められた⁽⁴⁾からである。しかし、グルコース硫酸エステルのようなグリコスルファターゼの基質となるべきものの天然物中における存在は従来報告されていないといわれている⁽²⁾ゆえ、孵化卵中のスルファターゼは、その基質となるべき糖硫酸化合物とともに検討されるべきであると考えられる。

本研究においては以上のような見地から、まず、新鮮卵、孵化卵各部についてグリコスルファターゼおよびコンドロスルファターゼの定量をおこない、つぎに新鮮卵、孵化卵の卵黄、卵白中の糖硫酸化合物について、主としてペーパークロマトグラフィーにより検討した。

実 験

(1) 試料 試料は前報⁽³⁾に述べたとまったく同様の新鮮卵および凍結分別した孵化卵の各部である。

(2) 孵化卵各部のスルファターゼの定量 凍結分別した孵化卵各部は、各所定孵卵時間において卵 5 個分ずつをあつめ、いずれも $2^{\circ}\sim 5^{\circ}$ において 24 時間以内に解凍し、羊水および尿膜液は解凍後濾紙にて濾過してそのまま供試した。ただし、孵卵 120 時間においては、羊水と胚とを凍結状態において分別することは困難であったため、この両者を一体としてとり出し、漏斗内の濾紙上にて解凍し、その濾液を羊水としたもので、この場合は羊水中に胚の汁液が混入しているものである。胚はいずれの場合も解凍後冷水 ($0^{\circ}\sim 2^{\circ}$) にて水洗し、適当量の冷水を加えて乳針中にて磨砕して濾過した濾液を供試したもので、この供試液の乾物量が 0.5~1% であるようにした。卵黄、卵白、卵黄液および軟卵白は解凍後適当量の水を加えてホモジナイザーにかけ均一としたのち、濾紙にて濾過し、この濾液を供試したもので、この供試液の乾物量が 3~6% であるようにした。

これら各部について Dodgson および Spencer の方法⁽²⁾によりコンドロスルファターゼおよびグリコスルファターゼの定量をおこなった。コンドロスルファターゼ定量の場合の基質には市販のコンドロイチン硫酸ナトリウムを用い、グリコスルファターゼ定量の場合の基質には既報⁽⁴⁾の方法で合成したグルコース-6-硫酸エステルのカリウム塩を用いた。スルファターゼの活力は試料と基質とを 37° に 2 時間保って遊離する硫酸イオンを Dodgson および Spencer の方法⁽²⁾で比色定量することにより測定した。

この結果、上記の試料のいずれについてもコンドロスルファターゼの存在は認められなかった。グリコスルファターゼは孵化卵内容物の一部に認められ、前記測定方法において、試料の乾物 1g あたりが遊離させる硫酸イオンの mg 数をもって各部のグリコスルファターゼの活力を示せば第 1 表のようになる。

第 1 表 孵化卵各部のグリコスルファターゼの分布*

		孵 卵 時 間			
卵 内 容 区 分		120	210	330	400
胚		38	9	8	30
羊 水	水	140**	3	5	0
	膜	—	0	97	0
卵 黄		0	0	0	5
卵 白	黄 液	—	0	—	—
	白	2	0	9	0
軟 卵 白		0	—	—	—

* グリコスルファターゼの活力 (試料乾物 1g が遊離させる SO_4^{2-} mg 数) にて示す。

** 孵卵 120 時間の羊水は胚汁液を含む。

なお比較のため、同様の方法により、新鮮卵の卵黄および卵白につきグリコスルファターゼ、コンドロスルファターゼの定量をおこなったが、これらの存在はいずれも認められなかった。

(3) 糖硫酸化合物の酸およびアルカリ分解 以下に述べる各実験ごとに新鮮卵の卵黄 30g 並びに卵白を 75g 既報⁽⁴⁾のように透析し、この透析膜外液を 40° にて蒸発乾固し、残渣をピリジンにて抽出し、この抽出液を 40° にて 0.5~1 cc に濃縮し、この全量を濾紙上に展開した。このペーパークロマトグラム上の

R_{glucose} 0.40~0.49 に相当する濾紙をピリジンにて抽出し、この抽出液を 40° にて蒸発乾固した残渣を卵黄並びに卵白中の糖硫酸化合物として次のようにアルカリおよび酸で分解した。アルカリ分解は残渣の全量に 0.1N NaOH 5~10 cc を加え温煎上にて加熱して 3 時間おこなった。酸分解は残渣の全量に 6N HCl 5~10 cc を加え、砂皿上にて加熱して 16 時間おこなった。これらアルカリおよび酸分解液を 40° にて蒸発乾固し、残渣を 0.5~1 cc のピリジンにて抽出し、これらにつきその還元糖を既報⁽⁴⁾のようにペーパークロマトグラフィーにて検出した。その結果アルカリ分解液にあっては R_{glucose} 0.8~0.9 の糖分解物と思われる物質以外還元糖は検出されず、酸分解液にあってはアルカリ分解液中の糖分解物と同様のもの以外に供試した糖硫酸化合物が認められ、さらに、

解されるか否かを検討するために、その試料が比較的容易にまた多量に採取できる。孵卵 330 時間の尿膜液および羊水を用いて次のように卵黄中の糖硫酸化合物を酵素分解した。

酵素液としての尿膜液および羊水は前記スルファターゼ定量に供試したと同様のものを用い、糖硫酸化合物は前記の蒸発残渣全量を醋酸ソーダ-醋酸緩衝液 (pH 5.8) 5 cc にて抽出した。この尿膜液および羊水についてその遊離糖を前述のペーパークロマトグラフィーで検討すると糖硫酸化合物およびグルコースの存在が認められた。それゆえ、糖硫酸化合物の酵素分解液について還元糖の検出をおこなっても、そこに検出されたグルコースが酵素分解生成物であるか否か判定できない。この点を明らかにするため、2 本の試験管に 1.00 cc ずつの糖硫酸緩衝溶液をとり、各試験管にそれぞれ 0.50 および 1.00 cc の酵素液を加え分解し、分解終了後前者に新たに 0.50 cc の酵素液を加え、その還元糖を検出した。酵素分解は 37° にて 2 時間おこない、分解液は電解式脱塩装置 (三田村商店製) により 100~110 V, 0.68~0.15 Amp. にて約 20 分間脱塩したのち 40° にて蒸発乾固し残渣をピリジンにて抽出し、この抽出液につきペーパークロマトグラフィーにより還元糖の検出をおこなった。この結果第 3 図に示すように糖硫酸化合物、グルコースが認められこの両者相互の相対的濃度が、酵素分解にあ

ずかった酵素液量によりいかに変化するかを検討するために、これらペーパークロマトグラムの吸光度曲線をデンストメーターにて測定した。この結果は第 4 および 5 図に示す。

第 4 および 5 図においては、脱塩中に反応液の容積に差を生ずるため、これらを濾紙上に展開させた場合その試料の量は各実験において一様でないから、各ペーパークロマトグラムについて、各成分の濃度の比較は出来ないが、グルコースの糖硫酸化合物に対する相対的濃度は尿膜液、羊水いずれの場合も酵素液の多い方が大であった。

(5) 孵化卵の卵黄、卵白中の透析性糖の変化

卵黄、卵白中の糖類特に糖硫酸化合物が孵化過程においていかに変化するかを知るため、既報⁽⁴⁾の新鮮卵の場合と同様に孵化卵の卵黄、卵白を凍結分別したもののについて、その透析性還元糖を、透析 5 日目およびその後引き続き 5 日間透析した場合において、ペーパークロマトグラフィーにて検出した。その結果は第 2 表に示す通りである。

E F G H

第 3 図 糖硫酸化合物の尿膜液、羊水による分解液中の遊離糖ペーパークロマトグラム

E : 糖硫酸化合物, 羊水 0.50 cc による分解液
F : " " 1.00 cc による分解液
G : " 尿膜液 0.50 cc による分解液
H : " " 1.00 cc による分解液

第 4 図 糖硫酸化合物の尿膜液による分解液中の遊離糖ペーパークロマトグラム吸光度曲線

— 尿膜液 1.00 cc による分解液 A : 糖硫酸化合物
---- " 0.50 cc " B : グルコース

考 察

第 1 表より孵化卵中のグリコスルファターゼは胚およびその周辺組織に比較的明らかに認められるということが出来る。また、一方グリコスルファターゼの基質となるべき糖硫酸エステルが天然物中に存在するという報告はないとされている⁽²⁾が、新鮮卵黄中に存在する、ペーパークロマトグラム上のその R_{glucose} 値がグルコース-6-硫酸エステルのそれに類似する物質が糖硫酸化合物であることは、前記実験 (3) において、この物質を塩酸により分解した場合

第5図 糖硫酸化合物の羊水による分解液中の遊離糖ペーパー
クロマトグラム吸光度曲線

— 羊水 1.00 cc による分解液 A: 糖硫酸化合物
- - - " 0.50 cc " B: グルコース

合、分解液中の単糖は第1図に示すようにグルコースであり、また、この分解液について還元糖と硫酸基とが定量されたことから明らかである。しかし、ここにえた定量結果は前述のように、この物質の組成を明らかにするためには不適當であって、この組成についてはさらに検討を要する。また、この糖硫酸化合物は、前記実験(4)の結果より、尿膜液、羊水中のグリコスルファターゼにより分解されてグルコースを生ずるものであるといふことができる。

第2表 孵化卵卵黄、卵白の透析性還元糖の R_{glucose} 値

試料	孵卵時間	透析日数	遊 離 糖
卵黄	120	0~5	{ アミノ糖 (0.09), 糖硫酸 (0.42), ?(0.82)*, ?(0.89)*, グルコース, マンノース (1.08), ?(1.43).
		5~10	なし.
	210	0~5	{ 糖硫酸 (0.45), ?(0.86)*, ?(0.93)*.
		5~10	{ ?(0.88)*.
	330	0~5	{ ?(0.27), 糖硫酸 (0.43), ?(0.54).
		5~10	{ ?(0.88).
	400	0~5	{ ?(0.27), 糖硫酸 (0.43), ?(0.54), ?(0.88)*, グルコース, ?(1.08)*, ?(1.18)*, ?(1.43).
		5~10	{ ?(0.28), 糖硫酸 (0.45), ?(0.57), ?(0.88)*, グルコース, ?(1.09).
卵白	120	0~5	{ 糖硫酸 (0.43), ?(0.88)*, グルコース, マンノース (1.11).
		5~10	なし.
	210	0~5	{ 糖硫酸 (0.43), ?(0.88)*, グルコース, マンノース (1.11), ?(1.44).
		5~10	なし.
	330	0~5	{ ?(0.83)*, ?(0.89).
		5~10	なし.

* アルカリ性硝酸銀と反応して褐色を呈し、糖分解物と推定される。

以上の糖硫酸化合物に関する実験は、その含有量の多いと思われる卵黄よりえたものについて主としておこなわれたものであるが、卵白中のものも卵黄中のものとまったく同一物質であると考えられる。

また、第2表より卵黄、卵白中の還元糖の変化を検討すると、卵黄中の透析性グルコース、マンノースは孵卵210時間で消失し、330時間でもみられず、透析性還元糖全体の種類も330時間まで減少するが、孵卵400時間では、ふたたびグルコース、マンノースが透析性部に認められ、他の透析性還元糖の種類も増加し、なおかつ、透析10日目にいたっても透析糖が認められることより、その量も増加しているものと思われる。これらの事実より卵黄中の糖化合物は、孵卵330時間以後においてその変化の状態に大きな差異が生ずるものと考えられる。一方、糖硫酸化合物は孵卵210~400時間の間、常に透析性部に認められることにより、このものは孵化過程において逐次遊離して来るものであり、孵化過程における糖あるいは硫酸基の変化過程に意義のある物質と考えられる。卵白中の透析性糖は孵卵210~330時間の間にその種類が減少する。この現象より、既報⁽⁸⁾の卵白中のメチオニンシスチンの孵化過程における変化の検討結果よりいって同様に、卵白は逐次分解して大部分孵卵330時間までに胚により消費されるものであるといふことができる。

孵化過程において、胚およびその周辺組織における硫黄化合物、特に硫酸基の変化はいちじるしいものとした^(1,3,8)が、これらの部分にグリコスルファターゼの存在が認められたことにより、この見解は一層確実であり、また、孵化卵内の硫酸基は大部分遊離硫酸イオンの形で移行し、孵化卵内の生化学的变化に関与するものであるという見解⁽¹⁾もこれにより裏付けされたものと思われる。また、既報^(1,3)のように卵黄中の硫酸基の変化は孵卵後期、すなわち400時間以後にいちじるしいが、この時期には糖化合物の変化もいちじるしいものと考えられるから、孵化卵中の硫酸基と糖の変化は互に密接な関係があり、これよりさかのぼって考えれば、新鮮卵中の硫酸基

は糖と密接な関係を保って存在するものとする事ができる。

要 約

孵卵 120~400 時間の孵化鶏卵内容物各部について、グリコスルファターゼ、コンドロスルファターゼを定量した結果、コンドロスルファターゼは認められなかったが、グリコスルファターゼは胚、羊水、尿膜液に比較的明らかに認められた。また、新鮮卵中に存在する、そのペーパークロマトグラム上の R_{glucose} 値がグルコース-6-硫酸エステルに類似する物質を酸、アルカリ、孵化卵グリコスルファターゼで分解した結果、この物質は糖の成分としてはグルコースのみよりなり、これに硫酸基が結合しているもので、孵化卵グリコスルファターゼにより分解されるものであることを明らかとした。孵化卵の卵黄、卵白の透析性還元糖の変化をペーパークロマトグラフィーで検討した結果、卵黄中の糖化合物の変化は、硫酸基の変化のいちじるしくなる孵卵 330 時間以後にいちじるしいものであることを明らかとした。以上の結果より孵化卵中の硫酸基の変化は糖の変化と密接な関係にあるものと考えられる。

おわりに、恩師佐々木林治郎先生、津郷友吉先生の御懇篤なる御指導に対しまして厚く御礼申し上げます。

(1) 野並慶宣 : 本誌, 33, 696 (1959).	55, 436 (1953).
(2) K. S. Dodgson, B. Spencer : Methods of Biochem. Analysis, Intersci. Pub. Inc. Vol. IV, (1957).	(6) 日本化学会編 : 実験化学講座, 丸善, Vol. 23, p. 413 (1957).
(3) 野並慶宣 : 本誌, 33, 700 (1959).	(7) 江上不二夫 : 多糖類化学, 共立出版社, p. 312 (1955).
(4) 野並慶宣 : 本誌, 33, 997 (1959).	(8) 野並慶宣 : 本誌, 33, 155 (1959).
(5) K. S. Dodgson, B. Spencer : <i>Biochem. J.</i> ,	

酸酵乳に関する研究 (第 4 報)*

果汁添加酸酵酸乳飲料の安定剤の研究 (その 4)

凝集機構並びに各種安定剤の安定効果

大 木 豊 三 (カルピス食品工業株式会社研究所)

昭和 34 年 6 月 27 日 受理

最近酸酵乳、または牛乳に天然果汁を加えた飲料の研究が盛んに行われるようになった。この種の飲料の研究で、まず逢着する問題は、乳蛋白質 (主としてカゼイン) と果汁中の懸濁粒子が結合して凝集を起こすことである。この現象は飲料の外観を甚しく損ずるので、是非とも解決しなければならない問題である。

さきに第 1~3 報において、以上の凝集防止の安定剤としてプロピレングリコールアルギネイト (以下 P.G.A と略) を使った実験の結果について報告した⁽¹⁾が、その後、凝集の 1 原因が静電気的のものであるように思えたので、凝集機構と凝集防止の理論の解明を意図して、酸酵酸乳、果汁、および P.G.A. を含めて 13 種類の安定剤について電気泳動法による泳動図を検するとともに、これ等の 13 種類の安定剤を使用して果汁添加酸酵酸乳飲料 (以下果汁加酸乳飲料と略) を試作し、その効果を検討した。その結果を報告する。

実 験

(1) 果汁加酸乳飲料の試作および保存試験 果汁加酸乳飲料の安定剤として P.G.A., Na-alginate, ローカストビーンガム, アラビアガム (Acacia), トラガカントガム, ゼラチン, 寒天, ペクチン, メチルセルローズ-A (以下 MC-A と略), メチルセルローズ-B (以下 MC-B と略), sodium carboxy methyl cellulose (以下 C.M.C. と略), polyvinyl pyrrolidone A (以下 P.V.P-A と略), および polyvinyl pyrrolidone B (以下 P.V.P-B と略) の 13 種類の物質を選んだ。これらのものの内大部分は乳化剤あるいは増粘剤として普通に

* Studies on the Fermented Milk. Part IV. Studies on Stabilizers of the Sour Milk Drink containing Natural Fruit Juice (IV). On the Mechanism of the Coagulation and on the Stabilizing Effect of Various Stabilizers.

By Toyozo OOKI (Research Institute of Calpis Food Industry Co., Ltd.)