[農化 第 35 卷, 第 4 号, p.385~390, 1961]

鶏卵卵白の泡立ちに関する研究 (第 3 報)*

卵白構成蛋白質の起泡力**

中 村 良, 佐 藤 泰 (名古屋大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 10 月 18 日 受 理

緒 言

これまで卵白の泡立ちにおける各構成蛋白質の役割については余り研究がなされていない。僅に Macdonnell らが卵白をアルブミンとグロブリン区分に分けてその泡立ちを調べている報告⁽¹⁾があるのみである。彼等によると卵白のグロブリン区分は起泡力が大きく、このものを添加した卵白においても起泡力の増加が認められている。しかしグロブリン以外の蛋白質については詳しい研究がなされていない。

よって本実験においては、卵白構成蛋白質の起泡力を更に詳細に研究するために、卵白構成蛋白質を分別し、それぞれの蛋白質についてその起泡力の測定を行なった。次にその結果につき報告する。

実験方法及び結果

1. 実験方法

(1) 供試卵 品種一定の産卵鶏の産卵後 24 時間以内の無精卵を用いた。

(2) 試料の調製

(a) 全卵白: 供試卵より卵白を分離し、前報の方法⁽²⁾に従って均質化処理し、このものをもって全卵白の供試料とする。

(b) 卵白構成蛋白質: これまでに報告されている卵白構成蛋白質のうち、その卵白中における含量が微量である avidin 及びその調製法が定まっていない ovomucin を除く全蛋白質を、それぞれ下記の方法に従って全卵白より調製する。得られた各蛋白質試料はチゼリウス電気泳動装置を用いて磷酸塩緩衝液 (pH 7.80, μ 0.15) で電気泳動を行ない、単一な成分よりなることを確認した後実験に供した。

(i) Ovalbumin: Keckwick 及び Cannan の方法⁽³⁾により 3 回再結を繰り返して調製する。

(ii) Ovomucoid: Fredericq 及び Deutsch の方法⁽⁴⁾により調製する。

(iii) Lysozyme: Alderton 及び Fevold の方法⁽⁵⁾により調製する。

(iv) Conalbumin 及び globulin: Rhodes らの方法⁽⁶⁾に基づき調製する。すなわち全卵白を pH 5.5, μ 0.025 の酢酸塩緩衝液に対して透析し、この間に生ずる少量の沈殿は遠心分離により除く。ここに得られた上澄液中の蛋白質をパッチ法によって予め同一緩衝液で洗滌しておいた carboxy-methyl-cellulose に吸着せしめ、次いで pH 7.5, μ 0.025 の磷酸塩緩衝液で溶出せしめ conalbumin 区分を得る。残された CM-cellulose は pH 9.5, μ 0.025 の Menzel の緩衝液で処理し、溶出してくる globulin 区分を得る。この 2 つの蛋白区分は、それぞれ蒸留水に対して透析した後再び上と同様な操作をくり返す。最後に得られた溶出液は、それぞれ蒸留水に対して透析を行なった後凍結乾燥を行なう。このものをもってそれぞれ conalbumin 及び globulin の供試料とする。

(v) Fe-Conalbumin: (iv) で調製した conalbumin より Warner 及び Weber の方法⁽⁷⁾によって調製する。

(c) 卵白と同一蛋白組成の構成蛋白質混合物: 卵白と同一蛋白組成を持ち、炭水化物及び遊離の無機塩類を含みぬ蛋白溶液を調製するため、(b) において調製した各蛋白質をこれまでの卵白の分析結果⁽⁸⁾を基にして混

* Studies on the Foaming Property of the Chicken Egg White. Part III. On the Foaminess of the Protein Fractions of Egg White.

By Ryo NAKAMURA and Yasushi SATO (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Nagoya)

** 一般に泡立ちという起泡力と共に生じた泡沫の安定度をも意味する。しかし、本報告においては起泡力のみについて実験を行い、安定度については考えない。

第1図 希釈卵白の起泡力

(註) 括弧内の数字は卵白の蛋白濃度を10%と考えた場合の各希釈液の蛋白濃度を示す。

第2図 卵白と同一蛋白組成の蛋白混合物の起泡力

第1表 卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす蛋白濃度の影響

蛋白濃度 (%)	蛋白名	Ovalbumin	Globulin	Ovomucoid	Conalbumin	Fe-conalbumin	Lysozyme
	pH	5.1	5.1	4.2	6.0	7.5	4.8*
0.5		12.7	21.0	9.3	13.2	20.5	9.9
0.3		9.0	20.8	9.5	15.2	21.5	3.8
0.2		4.8	19.8	9.0	15.0	18.1	1.5
0.1		≒0	8.3	8.4	11.9	10.4	≒0
0.05		≒0	5.2	≒0	3.1	1.2	≒0

* H_2SO_4 によって pH を調整

2. 実験結果

(1) 全卵白の起泡力に及ぼす希釈と溶液の pH の影響： 全卵白を蒸留水で数段階に希釈し、約2時間放置後各希釈液の pH を H_2SO_4 及び NaOH で調整する。酸性側に調整した際に生ずる少量の沈殿は遠心分離により除いた後に各希釈液の起泡力の測定を行なう。測定結果は第1図に示す通りである。

(2) 卵白と同一蛋白組成の構成蛋白質混合物の起泡力に及ぼす蛋白濃度と溶液の pH の影響： 構成蛋白質混合物を蒸留水に溶解し、1%、0.5% 及び 0.2% 溶液を調製する。各溶液の pH は H_2SO_4 及び NaOH で調整し、それぞれの起泡力を測定する。測定結果は第2図に示す通りである。

(3) 卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす蛋白濃度の影響： 卵白構成蛋白質を蒸留水に溶解し、0.5% から 0.05% の蛋白濃度の範囲においてそれぞれの起泡力を測定する。測定結果は第1表に示す通りである。

(4) 卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす溶液の pH の影響： 卵白構成蛋白質の 0.2% 溶液を H_2SO_4 及び NaOH で種々な pH に調整し、それぞれの起泡力を測定する。測定結果は ovalbumin については第3図, globulin については第4図, ovomucoid については第5図, conalbumin 及び Fe-conalbumin については第6図, lysozyme については第7図に示す通りである。

(5) 全卵白及び卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす無機塩の影響： 全卵白及び卵白構成蛋白質の 0.2% 溶液の pH を NaOH で 9.0 に調整し、 NaCl 及び CaCl_2 を添加してそれぞれの起泡力を測定する。測定結果は第2表に示す通りである。また、全卵白及び卵白構成蛋白質の 0.2% 溶液において、それぞれの蛋白質の等電点附近に溶液の pH を調整し、 NaCl 及び CaCl_2 を添加してそれぞれの起泡力を測定する。測定結果は第3表に示す通りである。

合する。従ってこの混合物中には avidin 及び ovomucin が含まれていない。

(3) 起泡力の測定法 前報⁽²⁾でその測定法を規定した送気法によって測定し、平均1分間当りに生ずる泡沫の高さ (cm) をもって表示する。

第 3 図 Ovalbumin の起泡力

第 4 図 Globulin の起泡力

第 5 図 Ovomuroid の起泡力

第 6 図 Conalbumin 及び Fe-Conalbumin の起泡力
..... Fe-Conalbumin — Conalbumin

第 7 図 Lysozyme の起泡力

なお、第 2 表及び第 3 表において、lysozyme 及び Fe-conalbumin については NaCl 及び CaCl₂ のいかなる濃度においても無機塩添加の影響は認められなかった。

考 察

1. 全卵白の起泡力に及ぼす希釈とその溶液の pH の影響について 前報⁽⁹⁾において 2 倍希釈の卵白の起泡力は送気法によると酸性測において連続した泡沫が得られないため測定不能であることが認められた。よって、本実験においては最初にこの点を更に検討する目的をもって種々の希釈率の卵白溶液の起泡力に及ぼす pH の影響の測定を行なった。この場合 pH 2 及

第 2 表 卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす無機塩の影響 (1)

塩類 濃度 (M)	蛋白質 名 塩類名	Ovalbumin		Globulin		Ovomucoid		Conalbumin		卵白(1:50)	
		NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂
0		3.0	3.0	8.9	8.9	≒0	≒0	10.8	10.8	4.3	4.3
0.001		3.2	4.9	—	8.6	≒0	≒0	—	10.4	4.5	—
0.01		—	8.9	—	9.4	—	3.8	—	10.5	8.3	5.4
0.1		4.1	10.0	12.8	11.7	5.9	8.9	8.5	11.4	9.1	10.3

(註) 蛋白溶液の pH はすべて 9.0 に調整する。

第 3 表 卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす無機塩の影響 (2)

塩類 濃度 (M)	蛋白質 名 pH 塩類名	Ovalbumin		Globulin		Ovomucoid		Conalbumin		卵白(1:50)	
		4.8		5.5		4.2		6.0		4.8	
		NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂
0		10.8	10.8	19.8	19.8	11.5	11.5	15.2	15.2	13.5	13.5
0.01		6.1	4.4	21.0	20.5	14.7	15.0	14.9	15.0	—	13.3
0.1		3.5	4.8	20.5	20.8	15.0	15.4	13.7	14.0	13.5	13.9

しないものと考えられる。

第 1 図において, 15 倍以下の希釈率の場合では酸性及び強アルカリ性側において泡沫は連続せず起泡力の測定は不可能である。しかし 20 倍以上の希釈率の場合ではかかる現象は認められず, すべての pH において起泡力の測定は可能である。ただ 100 倍以上に希釈した場合には卵白の起泡力は極端に減少し, 溶液の pH が強酸性及び強アルカリ性の場合を除いてほとんど起泡性を示さない。また 20 倍から 100 倍の希釈率の場合については, 起泡力は pH 5 附近, 強酸性及び強アルカリ性において大きく, その中間の pH においてはごく小さいことが認められる。かつ, この pH の影響は希釈率が高い程大きいことが認められる。

次に第 2 図において, 卵白と同一蛋白組成の蛋白質混合物の起泡力は, 全卵白の場合と同様に蛋白濃度及び溶液の pH の影響を受けることが認められる。すなわち, 1.0% 溶液については酸性側及び強アルカリ性側において連続した泡沫が得られず, 起泡力の測定は不能となる。また 0.5% 及び 0.2% 溶液についてはすべての pH において起泡力の測定は可能であり, それぞれ pH 5 附近, 強酸性及び強アルカリ性において起泡力が大きいことが認められる。卵白の蛋白質含量はほぼ 10% と考えられるから⁽¹⁰⁾, 20 倍希釈の卵白の蛋白濃度はほぼ 0.5% とみなし得る。よって第 1 図の 20 倍希釈の卵白の場合と第 2 図の 0.5% 混合物の場合とを比較すると, 各 pH における起泡力の値はほぼ一致していることが認められる。

従って第 1 図と第 2 図の結果を併せ考えると, 希釈卵白の起泡力は主として卵白構成蛋白質のみによるもので卵白中に共存する遊離の無機塩類及び炭水化物等の影響はごく小さいものと考えられる。このように考えると, 希釈率が 15 倍以下の卵白の起泡力が酸性及び強アルカリ性において測定できなかったのは, 試料の蛋白濃度が高すぎたことによるものと考えられる。なお, 第 1 図及び第 2 図の値は, 卵白から ovomucin を除いてその起泡力を測定した場合である。Macdonnell らによると, ovomucin は卵白の泡立ちに関係する所が大きいといわれる⁽¹⁾。しかし, これまでに ovomucin の調製法に関する研究は少なく, 各研究者によってその調製法が異なり, またその組成も一定していないと考えられる。よって ovomucin の卵白の泡立ちにおける役割については, 次報においてその調製法の検討を行なった後に改めて実験し報告することとする。

2. 卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす蛋白濃度とその溶液の pH の影響について 第 1 表において卵白構成蛋白質の起泡力を同一濃度において比較すると, ovomucoid と lysozyme は他の蛋白質に比して著しく悪いことが認められる。また ovalbumin については, 0.5% においては conalbumin にほぼ等しいが, 濃度が減少するにつれて急に減少し, 0.1% ではほとんど起泡性を示さなくなる。これに対し conalbumin と globulin は濃度による起泡力の変化も著しくなく, また各濃度における起泡力の値も他の蛋白質の場合に比して充分大きいことが認められる。この globulin については, 卵白を起泡せしめると泡沫中の globulin 含量が増加するという報告⁽¹¹⁾もあり, 前記 Macdonnell らの報告⁽¹⁾を併せ考えると, 卵白の泡立ちに寄与する所が大きいものと考えられる。

上述のように各蛋白質の起泡力は蛋白濃度によって著しい影響を受けるため, 起泡力に対する pH の影響を調

び pH 10 以上の場合を除くと, すべて pH 調節のために加えられた酸及びアルカリの量は 0.001 M 以下であり, 後述の起泡力に及ぼす塩濃度に関する影響の実験結果から明らかな如く, イオン強度の差は起泡力に影響

べるに当っては各蛋白質の起泡力の測定値が余りフレない最小の濃度である0.2%について行なった。第3図から第7図において Fe-conalbumin を除くすべての蛋白質について共通な傾向が認められる。すなわち 50 倍希釈の全卵白の場合と同じく、溶液の pH が強酸性又は強アルカリ性の場合、或いはその蛋白質の等電点附近にある場合に起泡力は大きくなり、この中間の pH では起泡力が小さいことである。このことはこれまでに行なわれた ovalbumin, alpha soybean protein 等の蛋白質についての実験結果^(12,13)と良く一致している。しかし Fe-conalbumin の起泡力は他の蛋白質の場合に比して充分大きく、かつその起泡力に及ぼす pH の影響はほとんど認められない。Warner 及び Weber⁽¹⁴⁾によると、conalbumin に Fe が結合する際には同時に CO_2 が CO_3^{--} 又は HCO_3^- として結合するといわれている。この CO_2 が卵白の起泡力を高めることは著者らも認めている⁽²⁾ので、本実験において認められた Fe-conalbumin の起泡力が大きいことは、Fe と共に結合した CO_2 によるものと推定される。

また第4図及び第5図において、globulin 及び ovomucoid はその溶液の pH を強アルカリ性にしても起泡力増加しないことが認められる。このことはこの2種の蛋白質が他の蛋白質と異なる性質をもつことによると考えられるが、これまでこの2種の蛋白質の性質に関しては余り詳しい研究がなされていない。しかし両蛋白共に糖蛋白であるといわれている^(4,9)ので、この強アルカリ性によって起泡力が増加しない原因はこれら蛋白質と結合している糖成分の影響によるものと考えられる。

3. 全卵白及び卵白構成蛋白質の起泡力に及ぼす無機塩の影響について 第2表において conalbumin を除くすべての蛋白質の pH 9.0 における起泡力は無機塩の添加によって増加することが認められる。しかも、この起泡力の増加の影響は無機塩の種類及び濃度によって異なっている。すなわち、0.001M 以下の場合にはその影響がほとんど認められず、また 0.01M 以上の場合においては CaCl_2 では NaCl よりその影響が大きいことである(ただ ovalbumin については 0.001M CaCl_2 の添加により起泡力は僅に増加している。しかし起泡力が7以下の場合はその測定値がフレやすい。よってこの値は特に考慮しない)。

また第3表において、等電点附近における塩類の影響は第2表におけるアルカリ性の場合程大きくないことが認められる。しかも、この場合はその影響が蛋白質の種類によって異なり、globulin と全卵白の場合はほとんど影響が無く、ovomucoid の場合は増加し、ovalbumin の場合は減少することが認められる。更にアルカリ性側における場合と異なる点は、等電点附近の場合においては NaCl と CaCl_2 との間の相異がほとんど認められないことである。

このアルカリ性側における場合と等電点附近における場合とで無機塩の影響が異なる理由についてはアルカリ性側においては陽イオンが、等電点乃至はこれより酸性側においては陰イオンが、それぞれ蛋白質と結合してその性質を変えると考えると良く説明ができる。実際、Groter ら⁽¹⁶⁾によると蛋白質が水と空気との界面に拡がる性質は、等電点と強酸性及び強アルカリ性側において最も大きいことが認められており、この性質はアルカリ性側では陽イオンにより酸性側では陰イオンにより、それぞれ強められることが認められている。またアルカリ性側における陽イオンの影響については、陽イオンの原子価が増す程その影響も大きくなるといわれており⁽¹⁷⁾、本実験の結果と良く一致している。

要 約

卵白の泡立ちにおける構成蛋白質の役割を知る目的をもって、卵白構成蛋白質を分離調製し、それぞれの構成蛋白質の示す起泡力に及ぼす蛋白濃度、pH 及び無機塩の影響を測定した。実験に供した蛋白質は ovalbumin, globulin, ovomucoid, conalbumin, Fe-conalbumin 及び lysozyme の6種である。

本実験の結果明らかとなった点は次の通りである。

(1) 卵白の起泡力は、ほとんどその構成蛋白質のみが示すもので共存する無機塩及び炭水化物等の影響はない。

(2) 同一濃度において構成蛋白質の起泡力を比較すると $\text{Fe-conalbumin} > \text{globulin} > \text{conalbumin} > \text{ovalbumin} > \text{ovomucoid} > \text{lysozyme}$ となる。

(3) Fe-conalbumin を除きすべての構成蛋白質の起泡力は等電点及び強酸性、並びに強アルカリ性において大きくなる。

(4) アルカリ性において無機塩を添加すると、すべての構成蛋白質の起泡力は増加する。

(本報告は昭和35年10月日本農芸化学会中部支部例会で講演した)。

- (1) L. R. Macdonnell et. al. : *Food technol.*, 9, 49 (1955).
- (2) 中村 良, 佐藤 泰 : 本誌, 34, 746 (1960).
- (3) R. A. Kekwick, R. K. Cannan : *Biochem. J.*, 30, 227 (1936).
- (4) E. Fredericg, H. F. Deutsch : *J. Biol. Chem.*, 181, 499 (1949).
- (5) G. A. Alderton, H. L. Fevold : *ibid.*, 164, 1 (1946).
- (6) M. B. Rhodes et al. : *ibid.*, 230, 399 (1958).
- (7) R. C. Warner, I. Weber : *ibid.*, 191, 173 (1951).
- (8) R. H. Forsythe, J. F. Foster : *ibid.*, 184, 377 (1950).
- (9) 中村 良, 佐藤 泰 : 本誌, 35, 13 (1961).
- (10) A. L. Romanoff, A. J. Romanoff : *The Avian Egg*, p. 320 (1949), John Wiley and Sons Inc., N. Y.
- (11) 玉置 文 : 日本家政学会誌, 9, 235 (1958); 10, 1 (1959).
- (12) W. C. Thuman et al. : *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 3129 (1949).
- (13) J. M. Perri, F. Hazel : *J. phys. and Colloid Chem.*, 51, 661 (1947).
- (14) R. C. Warner, I. Weber : *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 5094 (1953).
- (15) H. Neurath, K. Bailey : *The Proteins*, II p. 473 (1954), Academic Press N. Y.
- (16) N. K. Adam : *The Physics and Chemistry of Surfaces*, p. 87 (1941).
- (17) J. J. Bikerman : *Foams*, p. 79 (1953), Reinhold Pub. Corp., N. Y.

〔農化 第35巻, 第4号, p. 390~394, 1961〕

微生物懸濁液の光散乱 (II)*

光散乱スペクトルについて

藤田 暉通, 古賀 正三 (東京大学応用微生物研究所)

昭和35年10月19日受理

1. 緒 論

微生物懸濁液の光散乱現象について, 先⁽¹⁾に筆者等は自作の実験装置を用いた細光束透過測定から光散乱断面積を求め, 別に細胞の平均直径と細胞内屈折率を求めて, 光散乱の理論式と比較検討を行なった。その結果微生物

第1図 濁度-波長曲線 (*Saccharomyces cerevisiae*)

1 : $N = 4.6 \times 10^8 (\text{ml}^{-1})$	2 : $N = 2.3 \times 10^8 (\text{ml}^{-1})$
3 : $N = 1.3 \times 10^8 (\text{ml}^{-1})$	4 : $N = 9.3 \times 10^5 (\text{ml}^{-1})$
5 : $N = 7 \times 10^5 (\text{ml}^{-1})$	6 : $N = 4.6 \times 10^5 (\text{ml}^{-1})$

細胞による濁度は Rayleigh-Gans (以下 RG とかく) と Hart-Montroll (以下 HM とかく) の式を併用すればかなり良く説明できることがわかった。本報では散乱の波長による変化, いわゆる光散乱スペクトルの測定を行なって, その利用法を示し, 更にその応用について述べることにする。

2. 装置の検討

光散乱スペクトルの測定に市販の溶液吸収用の分光光度計がそのまま使用できれば便利であるが, 一般にはこれらの装置は前報に述べた細光束条件を必ずしも満足していないから, 使用試料中直径の最大なものに対して, その近似度を検討しておく必要がある。そこで *Saccharomyces cerevisiae* について前報で述べた細光束透過光側定装

* Studies on the Light Scattering by Cell Suspensions. Part II. Light Scattering Spectra.

By Teruyuki FUJITA and Shozo KOGA (Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo)