

鯛肉蛋白の分別

波多腰ヤス

A. 緒言

筆者は鯛内に就て部位別、年齢別、雌雄別及び季節別による肉の成分と肉蛋白中の窒素の形態とを研究した結果を既に報告して置いた。⁽¹⁾ 今回は鯛肉蛋白を 6 fractions に分ち其の各々について実験を行ひたれば此處に順を追うて詳細を報告する次第である。

B. 実験成績並に考察

a. 蛋白の分別に用ふる溶媒

魚肉蛋白は Myosin, Myogen 及び Stroma-protein から成りたつて居ることは他の肉蛋白と同様であるが、其のほかに Soluble myogen fibrin 及び Myoproteid を含むことを以て特徴とせられて居るのである。

一般に自然物料から蛋白を單離する場合には従來は溶媒の種類及び濃度は考慮されて居つたが溶媒の容量は考慮されて居らなかつたやうである。けれども一般蛋白の溶解は澱量律⁽²⁾ (Bodenkörpersregel) に従ふのであつて溶媒の容量は蛋白の溶解量に影響を與へるのである。夫故に自然物料から各種の蛋白を單離する場合には溶媒の種類及び濃度と共に容量をも選ぶことが肝要である。

筆者は水、食鹽溶液及び苛性曹達溶液等を用ひて鯛肉から Myogen 及び Myosin 等を單離しようと企てたのであるが、溶媒として用ふる鹽類溶液の最適濃度と最適容量とを決定する爲に次の如き実験を行つたのである。

1. 実験材料

1933年2月15日廣島縣尾道海岸にて漁獲したる活鯛を用ひて第一回の實驗を行ひ

(1) 波多腰：日本化學會誌，53 (1932)，824；54 (1933)，852；54 (1933)，982。

(2) Wo. Ostwald：Koll. Zt.，41 (1927)，163；近藤：日本化學會誌，53 (1932)，880。

鯛 肉 蛋 白 の 分 別

同年3月16日兵庫縣明石海岸にて漁獲したる活鯛を用ひて第二回の實驗を行つた。何れも年齢5歳體重約 1.7—2.3 kg の雌鯛にて漁獲當日實驗直前に刺殺し肉部を細かく切り乳鉢にてよく搗磨して均一となしたる後實驗に供したのである。試みに此の鯛肉の水分と全窒素とを定量した結果を示せば次表の通りである。

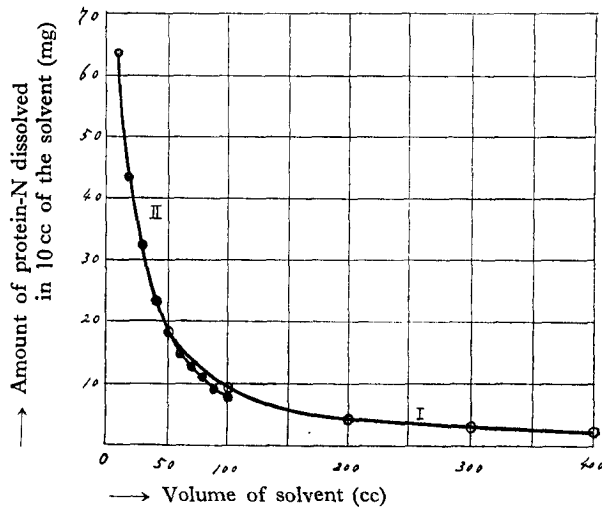
第 一 表

實 驗 番 號	水 分	全 窒 素
I	70.43%	3.89%
II	74.16	3.70

2. 水を溶媒とした場合

第一回の實驗に於ては上記の搗磨肉 10 g 宛 5 個をとり第二回の實驗に於ては 10 個をとり夫々 10—400 cc の蒸溜水を加へ時々振盪しながら室温(5—10°C)にて 24 時間放置したる後重目羽二重にて濾過し濾液 10 cc 中の窒素を定量して第一圖の如き結果を得た。

第一圖 水を溶媒とした場合



此の結果によれば溶媒の量が少なきに従つて濾液中の肉蛋白の溶解度は増加する。けれども濾液の收得容量を算入すれば溶解度が高い場合に於て必ずしも溶解量が多く

鯛肉蛋白の分別

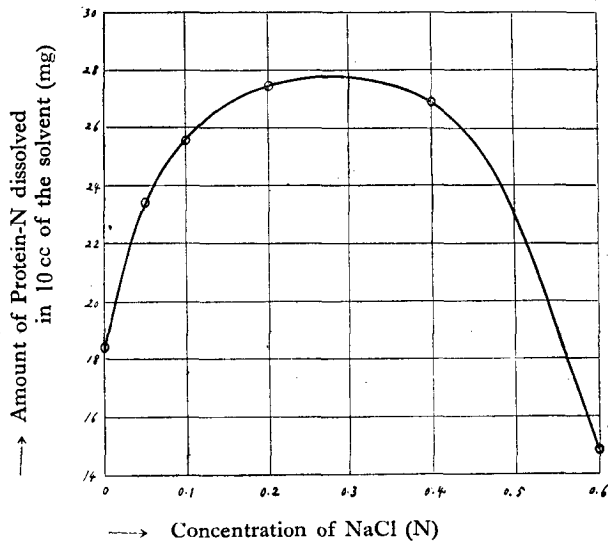
ならない。溶解量の多きを望み且つ濾過操作の容易を主眼とすれば搗磨肉 10 g に対し 50 cc の蒸留水が最適容量となるのである。夫故に鯛肉から水溶性の蛋白を分別するに當つては鯛肉と蒸留水との割合を以上の如くしたのである。

3. 食鹽溶液を溶媒とした場合

第一回の實驗に於ては搗磨鯛肉 10 g に濃度を異にする食鹽溶液(0.05—0.6 N)を夫

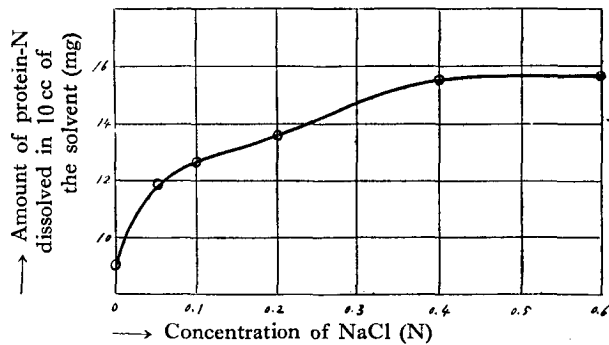
第 二 圖

搗磨肉 10 g に対し食鹽溶液 50 cc を用いた場合



第 三 圖

搗磨肉 10 g に対し食鹽溶液 100 cc を用いた場合

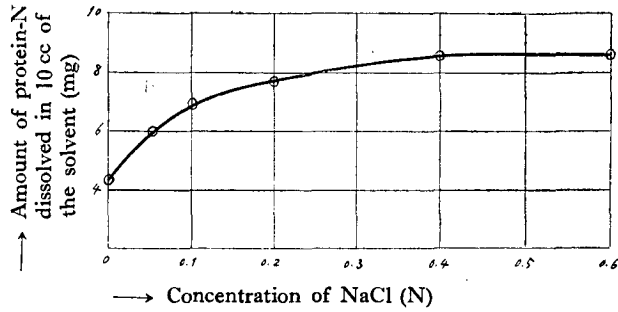


鯛肉蛋白の分別

夫ちがつた容量 (50—400 cc) に於て加へ時々攪拌しながら室温に於て 24 時間放置したる後重目羽二重にて濾過したる時の濾液 10 cc 中の窒素量を定量した。今其の結果の一部を圖示すれば第二圖乃至第四圖の通りである。

第 四 圖

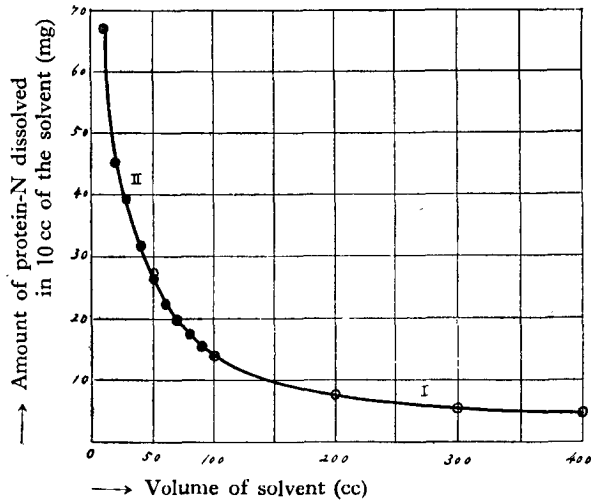
搗磨肉 10 g に対し食鹽溶液 200 cc を用ひた場合



以上の實驗結果によれば第二圖に於て知り得る如く搗磨肉 10 g に対し 0.2 N 食鹽溶液 50 cc を溶媒とした時に鯛肉蛋白の溶解度は最も高い。但し其の場合にも溶媒の容量を減ずれば濾液中の蛋白の溶解度は益々増加することは第五圖が示す通りである。けれども水を溶媒とした場合と同様に溶解量の多きを望み且つ實驗操作の容易を期す

第 五 圖

0.2 N 食鹽溶液を溶媒とした場合



鯛肉蛋白の分別

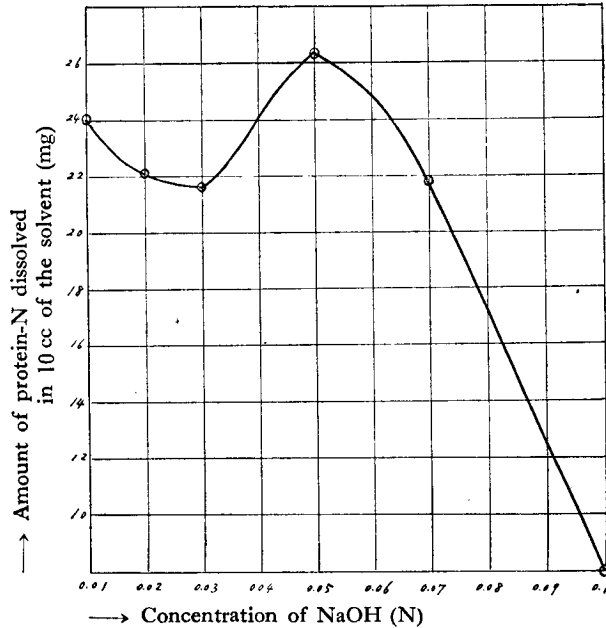
れば搗磨肉 10 g に對し 0.2 N 食鹽液 50 cc が目的に添ふ溶媒であると結論し得るのである。夫故に鯛肉から食鹽液可溶性蛋白を分別する際には 0.2 N 食鹽液を搗磨肉 10 g に對し 50 cc の割合に用ふることにした。

4. 苛性曹達液を溶媒とした場合

鯛肉からアルカリ可溶性蛋白を分別する場合に溶媒として用ふる苛性曹達の最適濃度と最適容量とを決定する爲に次の如き實驗を行つた。即ち搗磨肉 10 g に夫々ちがつた濃度の苛性曹達液をちがつた容量宛加へて前述の場合と同様な要領にて肉蛋白の溶解度を測定して見た。其の時の實驗結果の一部を示せば第六圖乃至第八圖の通りである。

第 六 圖

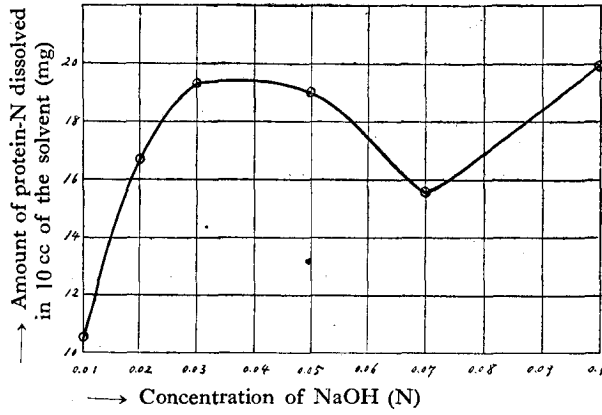
搗磨肉 10 g に對し苛性曹達液 50 cc を用ひた場合



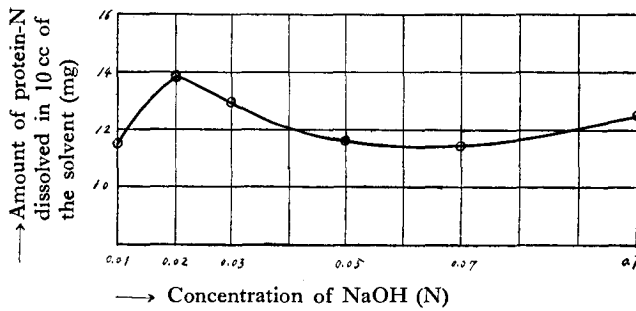
此の結果によれば 0.05 N 苛性曹達液を 50 cc 用ひた時が溶解度は最高であるけれども濾過困難にして濾液の收量は著しく少ない。然るに 0.03 N 苛性曹達液を用ふれば何れの實驗に於ても溶解度は相當に高く又濾過操作も容易であつた。もとより此の

鯛肉蛋白の分別

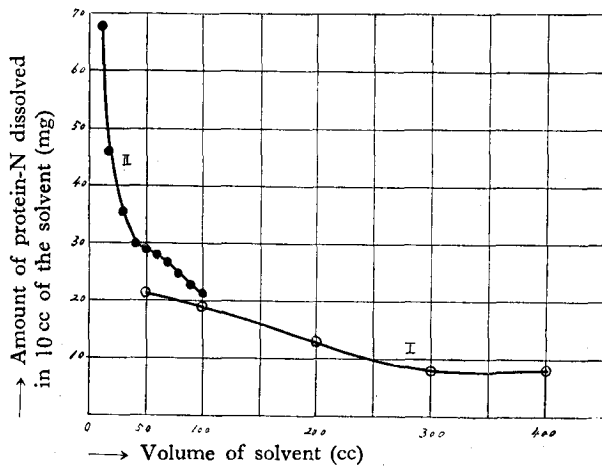
第七圖 搗磨肉 10 g に対し苛性曹達液 100 cc を用いた場合



第八圖 搗磨肉 10 g に対し苛性曹達液 200 cc を用いた場合



第九圖 0.03 N 苛性曹達液を溶媒とした場合



場合も溶媒の容量を減すれば第九圖が示す通り濾液中の蛋白の溶解度は増加する。けれども溶解度が増せば濾過操作が困難となり従つて蛋白の收得量も減する。そこで溶解度が高く而も濾過操作を容易にして蛋白の收量を高める爲には播磨肉 10 g に對して 0.03 N 苛性曹達液 100 cc を以て最適溶媒であると決定したのである。

b. 鯛肉蛋白の分別

上記の實驗結果によつて鯛肉蛋白を次の如くにして分別して見た。1933年4月26日兵庫縣明石海岸にて漁獲したる雄鯛、年齢8歳體重約 2.3 kg のものを刺殺後直ちに採肉し之を乳鉢にてよく搗りつぶしたるもの 300 g に 1.5 L の水を加へてよく攪拌し約 20 時間の後重目羽二重にて濾過し更に濾紙を用ひて濾過す。この残渣に 1 L の水を加へ約 1 時間放置したる後前同様に濾過し濾液を全部集めて (1) 水溶性蛋白液となす。而して其の残渣には 0.2 N NaCl 1 L を加へて約 1 時間後水の場合と同様に濾過し更に此の操作をくりかへして 0.2 N NaCl 液可溶性蛋白を殆んど全部溶出せしめたる後全濾液を集めて (2) NaCl 液可溶性蛋白液とした。次に其の残渣を水洗後 0.03 N NaOH 液 1 L を加へ 1 時間乃至數時間毎に濾過する操作を反復して終に残渣がこの溶媒に不溶性のもののみとなるに至らしめこの濾液を全部集めて (3) NaOH 液可溶性蛋白液となす。その残渣は水洗濾過をくりかへし Alcohol, Ether にて處理して (4) 不溶性蛋白となした。かくして得たる三種溶液中の窒素量を夫々定量して別に定量しおきたる播磨肉中の全窒素量と比較して鯛肉を組成して居る蛋白の窒素が溶媒の種類と割合によつて如何なる割合に溶解したかを算出して第二表に併記した。

(1) 水溶性蛋白液は帶褐色透明液である。之には主として Myogen が溶存して居るわけであるが筆者は此の Myogen を硫酸添加によつて析出するものとせざるものに分ち更に前者を凝固温度の差異によつて二分したのである。即ち水溶性蛋白液に飽和硫酸溶液を徐々に加へて全液を 2/3 飽和硫酸溶液となし一晝夜放置して析出沈澱したる蛋白を濾過洗滌した。この沈澱を 1 L の水に浮遊せしめ Water-bath 上にて加温すれば 40—50°C にて蛋白は凝固する。依て之を 1 時間 50°C に保ちたる後其の沈澱を濾過し硫酸がなくなるまで充分に水洗して (1)' となした。其の濾液及び洗滌液全部を集め再び Water-bath 上にて加温すれば、70°C に至り再び白色沈澱を生じた。

鯛 肉 蛋 白 の 分 別

依て之を1時間70°Cに保ちたる後其の沈澱を濾過洗滌して(1)''となした。此の濾液は更に80°C以上95°Cまで熱するも沈澱を生ずることなきを以て廢棄した。前の濾液即ち硫酸にて生じたる沈澱を除きたる硫酸濾液はWater-bath上にて65°Cに1時間加温し蛋白を凝固せしめて濾過洗滌し(1)'''となした。洗滌は何れも攪拌器を用ひて數回行ひ硫酸を完全に除去した。

(2) NaCl液可溶性蛋白液は半透明無色液である。之には主としてMyosinが溶存して居るのである。此のMyosinを沈澱せしめる爲に此の蛋白液に飽和硫酸液を加へて2/3飽和液となして一晝夜放置するも白濁不透明となるのみであつて沈澱は出來ない。そこで稀硫酸を加へて液のpH價を調節し、更に硫酸を加へて飽和せしめたが蛋白は析出しなかつた。依てWater-bath上にて75°Cに約1時間加温して蛋白を凝固せしめて之を濾過し充分に洗滌して硫酸を除いた。

(3) NaOH液可溶性蛋白液は帶褐色の粘稠液である。之に0.025N醋酸を1.5倍容加へて蛋白を析出せしめ其の沈澱を濾過して再び0.03N NaOHに溶かし濾過後醋酸を加へて蛋白を析出せしめた。其の沈澱はなほ同様の操作をくりかへして白色の沈澱を得た。

以上の蛋白沈澱(1)'(1)''(1)'''(2)(3)は各、Methyl alc.につけおき遠心分離器にて處理すること4回、次にEtherにて同様に處理し、眞空鍋中に4時間45°Cに保

第 二 表

	全溶液及び殘渣中の窒素量	新鮮鯛肉 300g 中の全窒素 9.801g を 100とした時の窒素	調製したる蛋白量	蛋白の含窒素量	調製全蛋白中の窒素量	全溶液及殘渣中の窒素量と調製全蛋白中の窒素量との比
	g	%	g	%	g	%
(1)水溶性蛋白	2.168	22.12	(1)' 4.424	15.691	0.694 計 0.909 0.038 0.177	41.93
			(1)'' 0.255	14.775		
			(1)''' 1.196	14.794		
(2)NaCl液可溶性蛋白	0.702	7.16	3.371	15.277	0.515	73.36
(3)NaOH液可溶性蛋白	4.215	43.01	13.265	15.742	2.080	49.54
(4)不溶性蛋白	0.310	3.16	1.780	17.414	0.310	100.00
計	7.395	75.45	24.291		3.822	51.82

鯛 肉 蛋 白 の 分 別

ちて Ether を放逐したる後 110°C に 4 時間乾燥して夫々の無水蛋白を得た。かくの如くして不溶性蛋白 (4) を合すれば鯛肉蛋白を 6 種に分別し得たわけである。今各種調製蛋白の量及び其の窒素量等を示せば第二表の通りである。

これによれば新鮮鯛肉全窒素量の 75.45 % が各種溶媒及び残渣中に存在し 24.55 % は濾過洗滌等の操作中に失はれたのである。又調製蛋白中の窒素量は更に減じて約 52 % になつてゐる。之は溶存蛋白を沈澱せしめる時に流出した蛋白があることを示すわけであつて換言すれば吾人は鯛肉から更に別な蛋白を分別採取し得ることを示すのである。而して分別採取し得たる蛋白のうち NaOH 液可溶性蛋白の收量最大にして水溶性蛋白中硫酸にて析出し 50°C にて凝固したる蛋白及び NaCl 液可溶性蛋白は之に次ぎ他の 3 種は一層少量である。

c. 鯛肉蛋白の灰分と窒素の形態

上記の如くにして分離した 6 種の鯛肉蛋白のうち 3 種に就て其の特異性を明らかにする爲に灰分量と窒素の形態とを吟味することとした。近藤及森兩氏⁽¹⁾の報告によれば殆んどすべての蛋白は鐵、銅及び磷を含んで居る。そこで筆者も同氏等の方法に従つて (1) の水溶性蛋白 (2) の NaCl 液可溶性蛋白及び (3) の NaOH 液可溶性蛋白の 3 種を電氣爐内 (600°C) にて灰化したる後鐵は Leo Lorber 氏法⁽²⁾ により磷は Bell & Doisy 氏法⁽³⁾ により又銅は Supplee & Bellis 氏法⁽⁴⁾ により夫々比色定量を行つて第三表の如き結果を得た。

第三表 無水蛋白中の灰分、鐵、銅及び磷の含量

蛋白の種類	灰分	鐵	銅	磷
水溶性蛋白	3.7	0.008	0.290	0.167
NaCl 液可溶性蛋白	7.4	0.010	0.095	0.047
NaOH 液可溶性蛋白	4.6	0.027	0.027	0.143

(1) 近藤, 森: 日本化學會誌, **54** (1933), 966.

(2) Lorber: Biochem. Z., **181** (1927), 391.

(3) Bell & Doisy: J. Biol. Chem., **44** (1920), 55.

(4) Supplee & Bellis: J. Dairy Sci., **5** (1922), 455.

鯛肉蛋白の分別

又此の3種の蛋白について前報に於ける記載の方法に従つて窒素の形態を測定した。其の結果を示せば第四表の通りである。

第四表 鯛肉蛋白中の窒素の形態

	水溶性蛋白		NaCl液可溶性蛋白		NaOH液可溶性蛋白	
	A*	B*	A	B	A	B
Total-N	15.575	%	15.162	%	15.417	%
Insoluble in HCl N	0.067		0.067		0.069	
Soluble in HCl N	15.508	100.00	15.095	100.00	15.348	100.00
Ammonia-N	1.008	6.50	0.893	5.91	1.061	6.91
Humine-N	0.192	1.24	0.172	1.14	0.158	1.03
Total-N in form of bases	4.595	29.62	4.480	29.68	4.595	29.94
Amino-N in bases	3.035	19.57	2.753	18.24	3.160	20.59
Arginine-N	1.780	11.48	1.623	10.75	1.884	12.27
Histidine-N	0.345	2.22	0.765	5.07	0.033	0.22
Lysine-N	2.395	15.44	2.035	13.48	2.611	17.01
Cystine-N	0.075	0.48	0.057	0.38	0.067	0.44
Tryptophane-N	0.294	1.89	0.252	1.67	0.156	1.02
Total-N in filtrate from bases	9.794	63.15	9.535	63.17	9.496	61.87
Amino-N in non bases	9.765	62.96	9.469	62.73	9.489	61.82
Sum.*	15.589	100.51	15.080	99.90	15.310	99.75

* 表中“A”は供試無水蛋白中に存在する各種形態の窒素含量を示し“B”は同上中の熱鹽酸可溶性窒素を100とした時の各種形態の窒素含量を示したのである。又“Sum.”はAmmonia-N, Humine-N, Total-N in form of bases及びTotal-N in filtrate from basesの合計である。

第三表に於て見る如く、3種の鯛肉蛋白の灰分は何れも鐵、銅及び磷等を含有して居る。此等の金屬類は近藤及森兩氏等⁽¹⁾の考への如く蛋白の恒成分であつて其の一部は蛋白基成分のうちに有機的結合をなして存在するか或は蛋白基成分の相互を結合す

(1) 前出。

鯛肉蛋白の分別

る役目をなして存在するのであつてこのことは柴田桂太氏⁽¹⁾の蛋白の構造に關する所説によつても合理的に了解し得ることと思はれる。

又第四表によれば此の3種の蛋白は Lysine, Histidine 及び Tryptophane の含量に於て顯著なる差異があるけれども、他の形態の窒素量に於ては著しい差異を見出し得ない。此のことは此の3種の蛋白が溶媒に對する態度並びに鐵、銅及び燐等の含量が相違して居ることに對照して興味あることと思ふ。

筆者は鯛肉蛋白を6種に分別したわけであるが各種の溶媒に於ける溶解度又は凝固温度の相違等によつて更に幾種かに分別し得られることと思ふ。斯くの如くにして分別し得られる蛋白は何れも鯛肉蛋白の基成分である。此の基成分蛋白は條件によつて更に分別されやうが又會合力により或は金屬イオンの力によつて相結合して種々の蛋白となり、それが更に相集合して肉蛋白となるのである。従つて筆者が分別した6種の蛋白は固定的なものではなくして分別に用ひた溶媒の種類又は濃度の差異によつて幾通りにも變異し得るものである。之と同様に鯛肉蛋白の構成に當りても種々なる條件に應じて基成分の集合離脱に差異を生ずるわけである。夫故に前報に於て記述した如くに環境、性、年齢及び季節等の差異によつて鯛肉蛋白も他の自然蛋白と同様に彷徨變異をなすことは當然なことと思ふ。

d. 鯛肉蛋白の熱凝固と溶解性

鯛肉蛋白を加熱凝固せしめた時の變化を知らんと欲し次の如き實驗を行つた。新鮮鯛肉の片身 312 g をとり之を搗磨して對照材料となし先づ其の水分と全窒素量とを定量した。

又前記と同一の新鮮鯛肉の他の片身 307 g をとり金串にさし電氣ストーブ内にて約 220°C にて 20 分間焙焼した。その時の肉量は 251 g に減じた。之は水分其他の揮發成分の蒸發に原因するのである。此の焙焼肉を搗磨して供試材料となした。其の 8.2 g は新鮮肉 10 g に相當するのである。そこで供試材料を 8.2 g 宛とり又對照材料を 10 g 宛とつて之に各種の溶媒を 50 cc 宛加へて時々攪拌しながら 24 時間放置したる後濾液 10 cc 中の窒素量を定量して次表の如き結果を得た。

(1) 柴田：日本化學會誌，54 (1934)，9 號附録，151。

鯛肉蛋白の分別

第五表

	供用鯛肉の成分		供用量	溶媒の用量	溶媒 10 cc 中に溶解したる窒素量		
	水分	窒素量			H ₂ O を溶媒とした時	0.2 N NaCl を溶媒とした時	0.03 N NaOH を溶媒とした時
新鮮鯛肉	% 74.72	% 4.08	g 10	cc 50	mg 21.202	mg 29.305	mg 32.038
焙焼鯛肉	66.99	4.88	8.2 新鮮肉 (10 g に 相當す)	50	9.046	9.046	9.046

第五表の結果によれば新鮮肉蛋白の溶解度は溶媒の種類によつて相違して居るが焙焼肉にあつては溶解する窒素量は著しく少なく而も溶媒の種類如何に拘はらず溶解する窒素量は相等しい。此のことは焙焼によつて鯛肉蛋白が熱凝固して水、0.2 N NaCl 又は 0.03 N NaOH に不溶性の蛋白に變質したことを示すのであつて各溶媒に少量宛溶解して居る窒素量は鯛肉中に存在する非蛋白態の窒素量を示すものである。

C. 要 約

- (1) 鯛肉蛋白を分別するために用ふる溶媒について實驗を行ひ次の結果を得た。
 - (a) 水溶性蛋白を分別するには鯛の搗磨肉 10 g に對し水 50 cc が適量であること。
 - (b) NaCl 液可溶性蛋白を分別するには搗磨肉 10 g に對し 0.2 N NaCl 液 50 cc が適當であること。
 - (c) NaOH 液可溶性蛋白を分別するには搗磨肉 10 g に對し 0.03 N NaOH 液 100 cc が適當であること。
- (2) 上記の實驗結果によつて鯛肉から水溶性蛋白、NaCl 液可溶性蛋白及び NaOH 液可溶性蛋白並に不溶性蛋白を分別し更に前者を3種に分別した。
- (3) 鯛肉蛋白から分別した6種の蛋白のうち、3種につき各種形態の窒素量及び灰分、鐵、銅並に磷の定量をなし、その結果について、鐵、銅、磷等の意義を明らかにし併せて鯛肉蛋白も種々の條件に應じて彷徨變異をなすことを明らかにした。
- (4) 鯛肉を調理の時の程度に焙焼すれば水分を失つて約2割の重量を減じ又特に其の際肉蛋白は凝固して普通の溶媒に溶解し難くなることを實證した。

終りに此の研究を行ふに當り終始御懇篤なる御指導を賜りし恩師近藤金助先生に對し謹みて感謝の意を表し併せて同實驗室の森茂樹氏から多大の御助力を得たことを深謝す。(第6回京都講演會に於て發表)