

肉蛋白の變質に就て

近 藤 研 究 室

森 茂 樹

A. 緒 言

魚肉又は獸肉が夫等自體の酵素によつて變質すること即ち所謂自己消化の事實は周知の事柄である。變質が著しく進んだ場合には時に有毒の物質を生成し、外觀或ひは嗅覺等により容易に檢識し得られるが、外見上著しい變化を認め得ない場合に於ても變質は刻々に進行して行くのである。勿論、變質は蛋白のみならず肉成分全體の變化を伴ふのであるが、今特に蛋白の變質に因つて起る二三の事項を指摘し、其の原因に就て少しく考察を加へて見ようと思ふ。

B. 實 驗 成 績

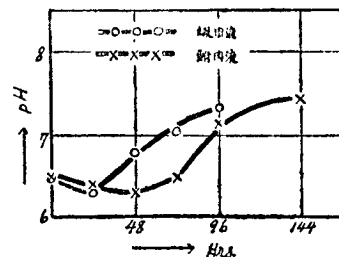
1. 實 驗 材 料

實驗に供用した材料は生鮮を期するために、鮎、蝦及び蟹の3種類を選んだ。鮎は實驗供試直前に刺殺したもので、蝦*（車蝦, *Penaeus canaliculatus* Oliv）及び蟹*（越前蟹, *Chinon-ecetes phalangium* Tabr.）は何れも氷冷してあつたもので漁獲後推定約20時間を経過したものであつたが、外觀及び臭味に於ては新鮮品と見做して差支へないものであつた。之等の材料は夫々鱗片或ひは甲殻及び内臓を除去し、可食肉部のみより後述の目的に應じ、稀薄鹽化加里にて抽出したものを直接實驗に供した場合もあれば、或ひは更に透析其他の方法により精製したものを實驗に供用した場合もある。

2. 抽出液の水素イオン濃度の變化

水或ひは 0.5n KCl を試料の約10倍量加へて抽出した液にトルオールを加へて液面を被覆し、20°C に保ち、一定時間毎に pH 價を測定した。其の結果は第1圖の如くで、抽出當初 pH 6.5 であつたものが時間的經過に伴ひ一時僅かに酸性側に傾き、其後漸次アルカリ性側に移動した。

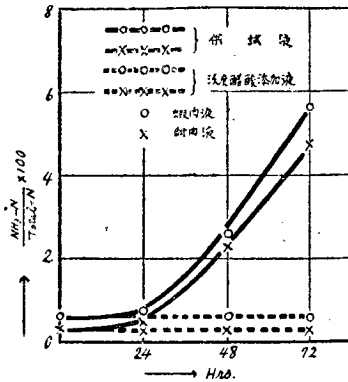
第 1 圖



3. アムモニアの發生

*昭和7年10月京都市錦通市場にて購入した。

第 2 圖



一方上述の抽出液を前記同様の條件に靜置中アムモニアの發生することを檢識した。因つて其の一定量(10cc)を採取し、豫め全窒素量を定量し、同容中に生成したアムモニアを Van Slyke & Cullen⁽¹⁾の方法により一定時間毎に定量し、又それと對照的に同一液同量を探り之に 0.1n 沃度醋酸**一定量(5cc)を加へた溶液につきても同様に時間的にアムモニアを定量して比較對照して見た。其の結果は第1表の通りで、之を圖示すれば第2圖の如くである。

第 1 表

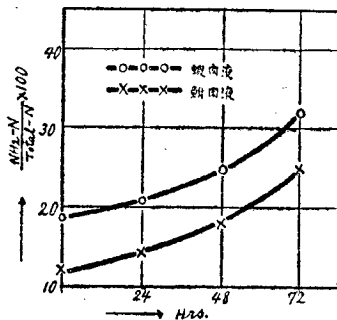
經過 時間	蝦 肉 液※				鮎 肉 液※			
	供 試 液		沃度醋酸添加液		供 試 液		沃度醋酸添加液	
	アムモニア態窒素	アムモニア態窒素 全窒素×100	アムモニア態窒素	アムモニア態窒素 全窒素×100	アムモニア態窒素	アムモニア態窒素 全窒素×100	アムモニア態窒素	アムモニア態窒素 全窒素×100
	Hrs. mg	%	Hrs. mg	%	Hrs. mg	%	Hrs. mg	%
0	0.15	0.58	0.15	0.58	0.09	0.31	0.09	0.31
24	0.19	0.71	0.16	0.59	0.15	0.51	0.09	0.31
48	0.69	2.56	0.16	0.59	0.69	2.34	0.09	0.31
72	1.51	5.61	0.16	0.59	1.41	4.78	0.09	0.31

※ 供試液10cc中の全窒素量、蝦肉26.9mg、鮎肉29.5mg

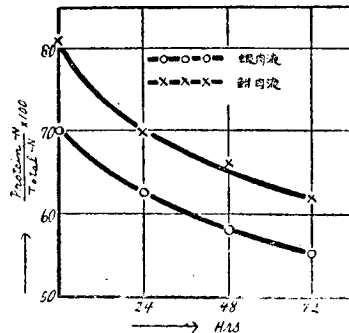
4. 蛋白質の變化

第2圖が示す通り時間的経過に伴ひアムモニアを游離するが、之は蛋白質の部分的分解を意味

第 3 圖



第 4 圖



** 苛性曹達を加へて正確に中和した液を用ひた

森：肉 蛋 白 の 變 質 に 就 て

するもので、其の生成に伴つて蛋白量は當然減少する。其の経過は下記の如くで Formol 滴定によつても、又窒素量を定量しても明瞭に觀察せられる。

(a) Formol 滴定

鮎肉及び蝦肉の 0.2nKCl 抽出液を 20°C に保ち其の一定量(10cc)に就き一定時間毎に Formol 滴定を行ひ游離アミノ基を定量し、供試液の全窒素量に對し百分率を以て算出した結果は第 2 表の通りで、之を圖示すれば第 3 圖の如くである。

第 2 表

経過時間	蝦 肉 液※		鮎 肉 液※	
	供試液 10ccに對する 0.1nNaOH の滴定數	アミノ態窒素 全 窒 素 $\times 100$	供試液 10ccに對する 0.1nNaOH の滴定數	アミノ態窒素 全 窒 素 $\times 100$
		%		%
Hrs.	cc	%	cc	%
0	3.63	18.89	2.58	12.25
24	4.00	20.82	3.05	14.46
48	4.77	24.79	3.79	17.98
72	6.10	31.75	5.27	25.00

※ 供試液10cc中の窒素量、蝦肉26.9mg、鮎肉29.5mg

(b) 蛋白態窒素量

Formol 滴定に供用した供試液を同一條件に保ち、一定時間毎に蛋白態窒素量を定量し、同じく供試液の全窒素量に對し百分率を以て算出した結果は第 3 表及び第 4 圖の如くである。蛋白態窒素量は供試液10ccに對し10%三鹽化醋酸 2.5ccを加へて生ずる沈澱を濾過し、濾液の窒素量(非蛋白態窒素)を Kjeldahl法によつて定量し、計算によつて算出したのである。

第 3 表

経過時間	鮎 肉 液※		蝦 肉 液※	
	供試液10cc中の 蛋白態窒素	蛋白態窒素 全 窒 素 $\times 100$	供試液10cc中の 蛋白態窒素	蛋白態窒素 全 窒 素 $\times 100$
		%		%
Hrs.	mg	%	mg	%
0	23.90	81.01	18.04	70.41
24	20.57	69.80	16.82	62.52
48	19.47	65.98	15.64	58.14
72	18.33	62.14	14.85	55.22

※ 供試液10cc中の窒素量は夫々 鮎肉29.5mg、蝦肉26.9mg

5. 活 性 S H 基 量

次に下記の如き方法に依つて調製した蛋白に就て、異なる水素イオン濃度に於ける、活性 SH 量を定量し、又其の値が變質に因つて速かに變化することを確めた。

(a) 供試蛋白の調製

供試した材料は前掲の鮎、蝦及び蟹の可食肉部であつて何れも Edsall⁽²⁾が Myosin の調製を行つた場合に用ひた方法により、試料に 0.5nKCl を約 10 倍量加へ、冷温 (4°C 以下) に於て抽出し、抽出液に稀薄醋酸を加へて pH6.3 となし、更に水 5 倍量を加へて生ずる沈澱を 0°C に於て透析し、析出した沈澱を遠心分離により分別したる後、一部分は酒精及びエーテルを用ひて脱水、乾燥して粉末となし、後述の如く硫黄量、Cystine、Methionine 及び H₂S の定量に供し、残りの部分には 0.01n NaOH を少量宛滴下して溶解し、pH7.0 の溶液となし、下記の實驗に供用した。

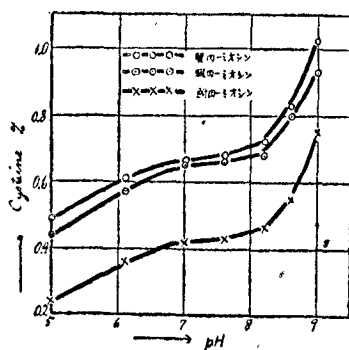
(b) 水素イオン濃度の差異による變化

SH 基の定量は茲に報告したる方法⁽³⁾によつて行つた。そのうち異なる水素イオン濃度に於ける定量値を示せば第 4 表の通りで、之を圖示すれば第 5 圖の如くである。本實驗に於て前

第 4 表

緩衝液	pH	鮎肉—ミオシン Cysteine	蝦肉—ミオシン Cysteine	蟹肉—ミオシン Cysteine
		%	%	%
醋酸鹽	5.9	0.24	0.44	0.49
	6.1	0.36	0.57	0.61
磷酸鹽	7.0	0.42	0.65	0.66
	7.6	0.43	0.66	0.68
硼酸鹽	8.2	0.47	0.68	0.72
	8.6	0.55	0.80	0.83
	9.0	0.75	0.93	1.02

第 5 圖



記供試液一定容に對し醋酸鹽、磷酸鹽或ひは硼酸鹽溶液一定容を加へ反應溶液の pH 價を調製したる後 0.1n 沃度醋酸アミド一定容を加へ、20°C に於て 30 分間反應せしめ、生成した HI の量より Cysteine を定量し、その値を豫め同溶液一定容中の窒素量を定量し、之に係數 6.25 を乗じて求めた蛋白量との比率を百分率を以て表した。

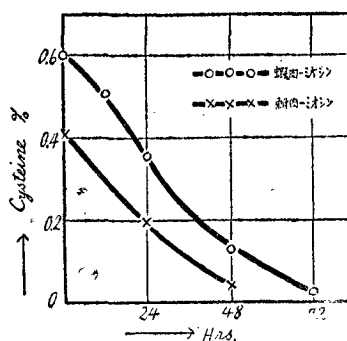
第 4 表の結果に於て、pH7.0 に於ける定量結果は夫々鮎 Myosin 0.42%、蝦 Myosin 0.65% 及び蟹 Myosin 0.66% Cysteine であつた。之等の値を家

兎、比目魚及び蛙等の Myosin に就て既に定量せられた値と對照すれば第5表の如くなる。

第 5 表

供試蛋白	Cysteine	實驗者
	%	
Myosin 家 兎	0.27	Todrick & Walker ⁽⁴⁾
〃 家 兎	0.42	Greenstein ⁽⁶⁾
〃 家 兎	0.7~0.8	Mirsky ⁽⁶⁾
〃 比目魚	0.8	〃 ⁽⁶⁾
〃 蛙	0.7~0.8	〃 ⁽⁶⁾
〃 鮒	0.42	森
〃 蝦	0.65	〃
〃 蟹	0.66	〃

第 6 圖



(c) 蛋白の變質に因る變化

前項に示してある鮒、蝦及び蟹肉の Myosin 中の Cysteine 量は前記の如くに極度に變質を避けた Myosin に就ての定量値である。一般に蛋白は變質すれば、其の程度に應じて Cysteine を減少するのが通例であるが故に著者は鰯肉及び蟹肉の Myosin についてこのことを證明するために上記と同一の Myosin 液を20°Cに保つた場合のSH基を時間的に定量して第6圖の如き結果を得たのである。

(d) 供試 Myosin の全硫黄, Cystine, Methionine 及び H₂S 含量

前掲した如く精製 Myosin を脱水、乾燥して得た粉末を用ひ、既報⁽⁷⁾の方法により全硫黄、Cystine、Methionine 及び H₂S を定量した。即ち充分に乾燥した粉末約1gを採りまづ全硫黄量を定量し、又別に約0.5gを秤量し所定の方法により Cystine、Methionine 及び H₂S を定量し、供試蛋白量に對する百分率を算出し、次に之等の定量値より夫々の S—含量を算出し、全硫黄量中の配分を算出し、併せて定量した各成分量より算出した硫黄量の總和と全硫黄量との比即ち硫黄定量に於ける回收率を百分率を以て表した。其の結果は第6表の通りである。

第 6 表

供試蛋白	全硫黄量	Cystine (SH+S-S)	Methio- nine	H ₂ S	全 硫 黄 量 中			回收率
					Cystine (SH+S-S)	Methio- nine	H ₂ S	
	%	%	%	%	%	%	%	%
鮒 Myosin	1.14	1.76	3.38	0.01	38.6	59.7	0.8	99.1
蝦 Myosin	1.08	1.68	3.18	0.01	38.9	59.3	0.9	99.1
蟹 Myosin	1.15	1.70	3.43	0.02	37.4	60.0	1.6	99.0

C. 考 察

(1) 水素イオン濃度の變化に就て

動物の種類により、又同一種類の動物に於ても筋肉組織の部分によつて水素イオン濃度の極めて微少の差異はある。併し乍ら筋肉組織を破碎して水又は中性鹽による抽出液の水素イオン濃度を生理的酸度と見做せば、其の値は大略 pH 6.5 に限られて居る。此の値は筆者の實驗結果に於ても、亦極めて新鮮なる鯛肉に就て其の體部分⁽⁸⁾、年齢⁽⁹⁾、漁獲季節及び性⁽¹⁰⁾を異にせる肉汁（水抽出液）に就て精査せられた結果に於ても一二の例外はあるが、概ね一致するところである。

然るに時間の経過に隨ひ第1圖の如く一時僅かに酸性に傾き、其後次第にアルカリ性側に移動する。一時僅かに酸性に傾くのは恐らく乳酸の生成に因るもので、この時抽出液は僅かに混濁するか又は沈澱を生ずる。即ちこの事實は所謂死後強直の現象と符合するものである。

次に肉液を放置すればその反應がアルカリ性側に移動する。この事實は曩に鯪肉⁽¹¹⁾に就ても指摘せられた事柄であるが、其の原因は蛋白の部分的分解に因り諸種の有機鹽基の生成に因ることも一因と考へられるが、直接主要の原因はアムモニアの生成に因るのである。アムモニアの生成の過程は第2圖の如くで pH 價の上昇と比較對照して其の相關關係を證するに十分である。

猶て、アムモニアの生成の原因に就て從來の知見に依れば Urease の外に Monoaminoxidase, Diaminoxidase 及び Xanthinoxidase 等の Aminoxidase 等が有力なものとして數へられるが、私が實驗したところでは少くとも Urease の作用は實際的に認め得なかつた。又第1表及び第2圖に示した如くアムモニアの發生は沃度醋酸によつて完全に阻止し得る事實により Diaminoxidase も存在しない⁽¹²⁾ものと思へられるのである。

(2) 蛋白量の變化

以上の如くアムモニアが游離することは蛋白の部分的分解を意味するものであつて、其の生成に伴ひ蛋白量は當然減少する。其の経過は第3圖及び第4圖に示した如く、直接蛋白態窒素量を定量しても、亦 Formol 滴定結果に依つても明瞭である。

本來新鮮肉蛋白に游離アミノ基は或る程度存在するものであつて、其の事實は曩に新鮮なる多くの鯛肉汁に就て別の方法により定量せられた結果^{(8) (9) (10)}に於ても見られる如く、全窒素量に對して大略10%の割合に定量せられた。又筆者が刺殺直後の鯛肉に就て Formol 滴定により定量した結果は略 10~12% であつた。然るに變質の進行に應じ此の滴定値は著しく増加した。此の一事實によつても肉蛋白は次第に水解することは確かである。

以上の如き變化は勿論溫度並びに経過時間等の條件によつて其の程度が支配せられるのであるが、刻々に進む蛋白の部分的崩壊と共に其の區分形態にも變動を生ずることは想像に難くない。

之等の經驗を綜合して推察するに、曩に當研究室に於て、數種の鯪肉⁽¹¹⁾に就て周到なる注意の下に行はれた蛋白抽出試験の結果に於て、各種間に著しい差異が現れて居るのは、種類による相違の外に、遠隔の地方に於て漁獲輸送せられたものであるために、各蛋白自體の變質の程度に差異があつたことにも起因すると考へられるのである。

(3) 活性SH基量

自然状態の筋肉蛋白には相當量の活性SH基が存在することは既知の事實^{(6) (9)}である。而してこの量は水素イオン濃度に應じて變動し、又變動の様様は蛋白の種類によつて多少特異的であるが、筆者が定量した第5圖の結果はMirsky⁽¹⁸⁾等の結果と略々同様であつた。

又この實驗に於て pH7.0に於ける定量値を他の實驗者が夫々異なる方法によつて定量した結果と比較すれば第5表の如くで、Myosinの活性SH基の含量は Cystine として大略 0.4~0.8%の間にあると言へやう。

本來之等肉蛋白の硫黄の形態は筆者の分析したところでは第6表に示すが如くで、肉蛋白中の Cystine(SH+S-S) 含量に對し pH7.0に於ける Cystine(SH型) 量との比率を算出すれば第7表の如くで約20~40%である。

第 7 表

供 試 蛋 白	Cystine (SH+S-S)	Cystine (pH7.0に於て)	Cystine Cystine ×100
	%	%	%
鮪肉—ミオシン	1.76	0.42	23.9
蝦肉—ミオシン	1.68	0.65	38.7
蟹肉—ミオシン	1.70	0.66	38.8

但しこの比率 $\frac{\text{Cystine}}{\text{Cystine}}$ も蛋白の變質に従つて漸次減少し遂に消滅することは第6圖に示す通りである。其の原因は組織内呼吸反應の結果、恐らく $\text{SH} \rightarrow \text{S-S}$ の方向に變化したためであると考へられる。

以上の如く肉蛋白は夫れ自體の酵素により、凍冷の状態に保たれざる限り極めて速かに著しい變質をする。この事柄は肉蛋白の調製上嚴に注意すべき事柄である許りでなく、其の利用、加工及び貯藏上にも考慮すべき問題であると思ふ。

D 要 約

(1) 新鮮なる鮪、蝦及び蟹肉蛋白の自然變質の結果、水素イオン濃度、游離アムモニア量及び蛋白量等が時間的に變動することを示し、(2) 精製した Myosin に就て活性SH量を定量し、又其の値が變質により消滅する事實を指摘し、(3) 其の原因に就て考察を加へた。

終りに臨み本研究を行ふに當り終始御懇篤なる御指導を忝ふせし恩師京都帝國大學教授近藤金助先生に謹んで感謝の意を捧げる次第である。尙本研究は文部省科學研究費の補助により遂行し得たのである。記して以て深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) D. D. Van Slyke & G. E. Cullen : J. Biol. Chem., **19**, 211(1914)
- 2) J. T. Edsall : J. Biol. Chem., **89**, 289(1930)

- 3) 森 : 農化., 18, 41(1942)
- 4) A. Todrick & E. Walker : Biochem. J., 31, 232(1937)
- 5) J. P. Greenstein & J. T. Edsall : J. Biol. Chem., 133, 337(1940)
- 6) A. E. Mirsky : J. Gen. Physiol., 19, 559(1935—1936)
- 7) 森 : 農化., 18, 151(1942)
- 8) 波 多 腰 : 日化., 53, 824(1932)
- 9) 波 多 腰 : 日化., 54, 852(1933)
- 10) 波 多 腰 : 日化., 54, 982(1933)
- 11) 近藤及山本 : 農化., 17, 901(1941)
- 12) E. A. Zeller : Helv. Chim. Acta, 21, 1645(1938)
- 13) A. E. Mirsky & M. L. Anson : J. Gen. Physiol., 19, 439(1935—1936)