Myoglobin に関する研究

II 分光化学的観察並びに各種家畜の筋肉中の myoglobin 分布

安 井 勉

(北海道大学農学部畜産学科)

Studies on myoglobin

II Spectro photometric observations and distribution of myoglobin in muscles of domestic animals

TSUTOMU YASUI

(Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

緒 言

前報¹³⁾において myoglobin 結晶の精製を行なったので、この方法による myoglobin を試料として分光光度計による観察及び筋肉中における myoglobin 分布を検討した。

実験並びに考察 I

蟻酸と濃硫酸を使用して CO を発生せしめ、濃厚 KOH 液を2回通過させて、過剰の $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ で還元した myoglobin を飽和すると(1/15M Phosphate buffer pH = 6.9 の溶液) 桃色の CO-myoglobin を得る。これを日立製 Spectrophotometer で波長 600~490 m μ にわたって吸光度を測定し、その吸光像を描くと第1図のように

なる。

次に馬、牛、豚、の血液を脱繊維し2,000~3,000回転で赤血球を集め、生理的食塩水で洗液が無色となるまで洗滌し、同溶のアルミナクリーム及び1/4容の toluol を加えてよく振盪後1夜冷室に放置し、翌日 3,000回転で遠沈後得られた明澄な液をピペットで吸い取り、過剰したものを haemoglobin 試料¹¹⁾とし、前記 myoglobin と同様に CO-haemoglobin としてその吸光像を第2図に示した。

各家畜の CO-myoglobin はその最高値を 577m μ , 540~541m μ に有し、最低値を560m μ に示す。これは BOWEN¹⁾の詳細な研究に完全に一致する。BOWEN は馬結晶 myoglobin を試料としてこの研究を行なっているが、著者によれば、各家畜ともその CO-myoglobin の示す吸

Fig 1 Spectral curves of CO-myoglobin

Figure 2 Spectral curves of CO-haemoglobin

光像はほとんど同じである。

WATSON⁸⁾ は豚の muscle haemoglobin は他の動物に比しその吸収帯の位置が4~5 Å 紫色端にずれる事を指摘しているが、本研究ではその程度の微細な差は見出されなかつた。

この myoglobin の500, 540, 560, 577m μ における夫々の mM-吸光係数は第1表のように算出され、この値はBOWEN¹⁾、津島、岡崎¹²⁾らの記載とかなりよく一致する。なお myoglobin 濃度は CN-met-myoglobin の540m μ における mM-光係数11.3 (DRABKIN³⁾) を採用して計算した。haemoglobin については、DRABKIN⁴⁾の完全な研究に示されるように、その最大吸収を570m μ 、539~540m μ に有し、最低は555m μ に存する吸光像を各家畜のCO-haemoglobin は示している。

しかしてその最高値の間には(第1と第2の) CO-myoglobin の吸光像が示すような差が存しない。

Fig. 3 Spectral curves of horse CO-myoglobin and horse CO-haemoglobin.

Table 1 Comparison of mM-extinction coefficient of CO-myoglobin.

Wavelength m μ	Horse			Cattle		Hog
	W. J. BOWEN ¹⁾	TSUSHIMU ETAL ¹⁰⁾	This author	This	author	
500	5.64~5.14	5.7	5.3	5.7	5.7	
540	15.0~14.62	14.6	14.8	15.3	14.7	
560	10.7~10.4	11.02	10.7	11.3	10.4	
577	13.15~12.72	12.75	12.8	13.5	12.7	

実験並びに考察 II

実験Iより、CO-myoglobin と CO-haemoglobin の吸光像において、各家畜間には差が認められないが、これら二つの CO-haemoprotein の間には明瞭な差が認められる事が判明した。そこで馬 CO-myoglobin、CO-haemoglobin の吸光像より第3図を描くと575.5, 552, 541m μ に夫々 Isosbestic point が認められるから、こ

の中 575.5m μ を用い、これと任意の波長、570, 560, 580m μ との比(第2表)を出して Nomogram を作成した(第4図)。

Fig. 4 NOMOGRAM

(I) $E_{570}/E_{575.5}$ (II) $E_{560}/E_{575.5}$ (III) $E_{580}/E_{575.5}$

各家畜の各部の筋肉を約10g取り、12,000回転のホモジェナイザーで少量の蒸留水とともに10-20秒細切し、

Table 2 Ratios* of $E/E_{575.5}$

		Hb	Mb
I	$E_{570}/E_{575.5}$	1.18	0.92
II	$E_{560}/E_{575.5}$	0.99	0.84
III	$E_{580}/E_{575.5}$	0.71	0.99

Ratios of extinction coefficients at the wavelength of 570, 560 and 580m μ to that of 575.5m μ . (Isosbestic point)

洗滌済過(蒸留水使用)して100ccとした液をCOで飽和して、前記 Nomogram を使用して筋肉抽出液中の myoglobin % (関係濃度) を算出する。この結果は第3表に示す。

前記抽出液作成の際、比較的筋繊維の細かい肉の抽出液は混濁するのでアルミナクリームを用いる。

抽出液中の全色素量の算出は mM-吸光係数11.3 を使用し、一応全部を myoglobin とし、分子量17,300⁹⁾ を使用して計算した。

獣肉中の赤色々素は第3表より、馬、牛、綿羊、豚の順で減少している。同一個体では、各筋肉によつてかなりの差を有することが判る。本事実も橋本、安井¹¹⁾が

Table 3 Distribution of myoglobin in various muscles of domestic animals.
(all values expressed as g. of total haemoprotein per 100g. of fresh tissue)

Species	No.	<i>M. deltoideus</i>		<i>M. longissimus. dorsi</i>		<i>M. semitendineus</i>		Unknown	
		Total haemo-protein	Mb%*	Total haemo-protein	Mb%*	Total haemo-protein	Mb%*	Total haemo-protein	Mb%*
Hog	1	0.1832	65	0.1027	60	—	—	0.2325	65
	2	0.1933	56	0.0415	42	—	—	0.1088	51
	3	0.4007	83	0.2486	68	0.1564	55	—	—
	4	0.2700	74	0.0957	68	—	—	0.3033	86
	5	0.2455	68	0.0565	—	—	—	0.1532	—
Horse	1	0.7065	79	0.6578	76	0.5675	74	0.4484	—
	2	0.3935	76	0.3979	93	0.3108	76	0.3907	—
	3	0.5358	92	0.6288	80	0.4044	77	—	—
	4	0.5701	68	—	—	0.5068	72	0.2779	—
	5	0.6378	83	0.5322	71	0.3873	75	—	—
Sheep	1	0.2175	75	0.1262	60	0.0785	48	—	—
	2	0.3538	73	0.2294	65	—	—	0.2720	67
Cattle	1	0.4156	79	0.4703	84	0.3228	79	—	—

$$* \frac{\text{Mb}}{\text{Total haemoprotein}} \times 100$$

筋肉中の Fe 分布を検した報告と一致する。赤色物質中の myoglobin 量は色調の濃いもの程多く、淡色になるにつれて減少するようである。

筋肉中の myoglobin 量については, SHENK⁷⁾, WATSON⁸⁾ が夫に myoglobin 及び haemoglobin の吸光像の差により検討行ない, DRABKIN³⁾, GINGER⁵⁾ らは 3M 磷酸塩により haemoglobin を除去した筋肉抽出液より myoglobin 定量を行なっている。さらに WEISER⁹⁾ らは, 牛の骨付きのままの腿肉にオーレマイシンを含む生理的食塩水を血管を通じて加圧注入し, いわゆる deep spoilage 防止の研究をした中で, この操作を行なつたものと無処置の対照との間の Total haemoprotein (Hb+Mb) 量の比較をしている。第3表に示された Total haemoprotein 量は, これらの研究者の成績とよく一致している。しかしその中に占める myoglobin の % は, SHENK らが牛について行なつた結果の $\frac{\text{Mb}}{\text{Total hemoprot.}} \times 100 = 90\%$ 内外よりかなり低い値である。これは SHENK らが全試験牛を完全放血した後, さらに頸動脈から生理的食塩水を加圧注入し, 流出液が無色となるまで灌流操作を続けている事から, 筋肉内血管の血液残留量が非常に少なくなつたためと考えられる。WEISER らの実験においても, 腿肉にその重量の 10% の生理的食塩水を注入しただけで $\frac{\text{Hb} + \text{Mb}}{\text{肉 100g}} \times 100$ の値は平均 0.58 から 0.48 に減じている。即ちこの操作で脈管内の残留血液が排出される量は, 大体当初の Total haemoprotein 量の 18% 位 (注入操作により増加する肉の水分含量を考慮に入れない) になるというのである。

著者の場合は, 一般と畜場においてと殺解体した家畜の肉を材料としたために, 放血量に差があり, 従つて筋肉内の $\frac{\text{Mb}}{\text{Total haemoprot.}} \times 100$ の値に差を生じたものと思われる。

SHENK らの完全放血及び灌流操作の牛肉中の Mb % (約 90%) を一応, 残留血液を筋肉内より除いた場合のものとする, WEISER らの示す約 18% の損失をこれより差し引いたものが (対乾物量になおすと約 5% 位) 一般獣肉中の Mb % と思われ著者の得た値は馬肉及び牛肉についてはこの値とほぼ一致する。豚肉など色調の薄い肉については, Mb% の値はさらに低くなる。筋肉中の Mb 量は年齢及びその筋肉の運動等に大いに左右され, 若齢又は運動しない筋肉中にはその量も少ない⁶⁾。従つてそのような Mb 量の少ない筋肉にあつては, と殺時の放血の如何によつて残留血液が筋肉中に残存した場合,

$\frac{\text{Mb}}{\text{Total haemoprot.}}$ の値に影響を受けやすく, その結果この値が減少する事が充分考えられる。しかし著者がこれらについて得た値は, WATSON が犬, 豚及び綿羊の心筋中の Hb 及び Mb 分布を検討した研究によつて支持される。

本研究において, 馬肉の haemoprotein 含有率が極めて高いことが明きらかとなつたが, 肉製品製造上色調の点で馬肉が劣るのはこの理由によるものと判断される。

総 括

前報¹¹⁾の方法によつて得た馬, 牛, 豚, の myoglobin の CO-誘導体を使用し, 各家畜の肉中の myoglobin 吸光像間に差のないことを認め, 同様に haemoglobin についてもその事実を認めた。

myoglobin はその最大吸収を 577, 540~541m μ 最低を 560m μ に有し, 一方 haemoglobin は最大吸収を 570, 539~540 m μ 最低を 555 m μ に有する。このように, myoglobin, haemoglobin の吸光像には差が存するのでこの差を利用して各動物の筋肉中の赤色々素量と同時に myoglobin % を検した。その結果, 筋肉の赤色々素量は

Myoglobin

動物間では馬、牛、緬羊、豚の順で減少し、各個体間では筋肉によつてかなりの差を有することが判明した。又 myoglobin が筋肉内赤色素物質中に占める量は、全色素物質が多いほど、即ち肉の色が濃いほど増加することが明らかとなつた。

本研究は文部省科学研究助成補助金の交付を受けて実施された。

(1956. 1. 27. 受付)

文 献

- 1) BOWEN, W. J. J. Biol. Chem., 176: 747, (1949)
- 2) BOWEN, W. J. J. Biol. Chem., 179: 235, (1948)
- 3) DRABKIN, D. L. J. Biol. Chem., 182: 317 (1950)
- 4) DRABKIN, D. L., and AUSTIN, J. H. J. Biol. Chem., 112: 51, (1935~36)
- 5) GINGER, I. D., WILSON, G. D., and SCHWEIGERT B. S. J. Agr. Food Chem., 2: 1037, (1954)
- 6) LAURIE, R. A. Nature, 170: 122, (1952)
- 7) SHENK, J. H., HALL, J. L., and KING, H. H. J. Biol. Chem., 105: 741, (1934)
- 8) WATSON, R. H. Biochem. J., 29: 2114, (1935)
- 9) WEISER, H. H., GOLDBERG, H. S., CAHILL, V. R., KUNKLE, L. E., and DEATHERAGE, E. E. Food Technol., 7: 495, (1953)
- 10) 赤堀四郎 アミノ酸及び蛋白質, 576, (1944)
- 11) 橋本, 安井 日畜会報, 29: 77, (1955)
- 12) 津島, 岡崎 生化学, 26: 232, (1954)
- 13) 安井 勉 日畜会報, 26: 217, (1956)

Résumé

The CO-derivative of myoglobin obtained by the method described in the previous report and that of haemoglobin were observed spectrophotometrically.

Light absorption spectra of these two typical haemoproteins showed no difference in various species of animals.

However, there was a considerable difference between light absorption spectra of CO-myoglobin and those of CO-hemoglobin, since in the former the maximum was recorded at 577, 540~541 $m\mu$ and the minimum at 560 $m\mu$, while in the latter the maximum was recorded at 570, 539~540 $m\mu$ and the minimum at 555 $m\mu$.

A nomogram was made (Fig. 4) by means of this

difference between CO-myoglobin and CO-haemoglobin, and by using this nomogram, myoglobin contents of muscles of different species of amounts of total red pigments in the meat were determined.

It has been proved that the amount of total red pigments in the meat decreases in horse meat, beef mutton and pork in this order and that a considerable difference exists among different muscles of the same individual.

The myoglobin content of the red muscle pigment increases with the increase of total pigments, in other words, the deeper the red color of meat, the more myoglobin is contained in the meat.