者等は 2 ケ所の椎茸種菌栽培所から此有害菌を入手して其所屬を調査し、*Trichoderma ligunorum* var. であることがわかつたので、長尾研究所保管の *T. ligunorum* と其性質を比較して報告する。

菌の採取：此菌に汚染した椎茸種菌培養瓶から常法に依り採取分離した。

菌符號 V. I：群馬縣桐生市森産業株式會社産

菌符號 V. A：山梨縣東山梨郡一宮村雨宮氏栽培場産

産菌の特徴：麹汁寒天に平板培養すると發育良好で、菌叢は中央から順次緑色となり輪環を形成する。菌絲に隔膜があり分生芽胞柄は分岐し先端に孢子塊をつける。孢子は V. I. は橢圓、V. A は圓形である。之等の特徴は *Trichoderma ligunorum* と一致するが各多少の差異がある。次に之等の菌の特徴を長尾研究所保管のものと比較して表示する。

菌 株	V. I	V. A	<i>T. ligunorum</i> (長尾研究所)
菌 叢	毛ば立たず、初め灰白色後緑青色となる。平板培養で菌絲環をつくる。孢子の着生する環狀帶の幅がせまい。	前者より毛ば立つ。初め灰白色、後緑青色となる。菌絲環を造る。孢子の着生する環狀帶の幅が廣い。	毛ば立たず、初め白色後緑青色となる。前二者よりも濃色、菌絲環を造る。
裏 面	皺がない。黄色。	皺がある。黄色とならず。	皺がある。黄色とならず。
分生孢子柄	分岐する。 (5.7~15.9 μ) $\times$ 3.4 μ	分岐する。 (6~12 μ) $\times$ 3 μ	分岐する。 (8.84~12.96 μ) $\times$ (1.4~2.8 μ)
孢子塊	あり、孢子少数のようである	あり、徑 7~12 μ	あり、徑 (1.4~2.8 μ) $\times$ (8.84~11.52 μ)
孢 子	橢圓 (2.88~3.16 μ) $\times$ (4.3~5.76 μ)	球形、徑 2.88~3 μ	球形、徑 2.88~3 μ
	滑面	滑面	滑面

總 括 椎茸種菌培養の時侵入して種菌を駄目にする青色の黴を 2 ケ所の種菌培養所からとり研究したところ *Trichoderma ligunorum* var. で各異なる菌株であることを明かにした。

この研究を行うにあたり *T. ligunorum* の原菌を分與された長尾研究所に感謝する。

Summary

The seed culture of *Cortinellus edodes* is often infected and spoiled by blue coloured fungi. The authors researched into these fungi and found them to be varieties of *Trichoderma ligunorum* (containing two strains)

純蛋白質定量に用いる蛋白質沈澱劑に就て (食品及び飼料成分の分析法に關する研究 第 2 報)

神 立 誠、保 井 忠 彦 (東京大學農學部農藝化學教室)

昭和 25 年 2 月 10 日 6 日 受理

On the Protein Precipitant for the Determination of True Protein in Foods and Fodders.

By Makoto KANDATSU and Tadahiko YASUI (Dept. Agr. Chem., Univ. of Tokyo)

緒 言

従來食品及び飼料中の純蛋白質定量に用いる蛋白質沈澱劑及び血液、組織抽出液、尿等の除蛋白劑に付いては

幾多の報告がなされているが、その多くは蛋白質を完全に沈澱させると同時に、非蛋白態窒素化合物-アミン、アミノ酸、プリン鹽基、アルカロイド等又時としては無機アンモニウム鹽-を沈澱させ、純蛋白質定量値は之等の影響によつて當然高い結果を示している。

今日吾々が用いている食品及び飼料中の純蛋白質定量法は古く A. STUTZER⁽¹⁾, F. BARNSTEIN⁽²⁾兩氏によつて研究されて一般に廣く行われている⁽³⁾。この兩法は試薬が安價にそして容易に入手出来ること、及び沈澱操作の簡易なこと等の利點はあるが、他方沈澱の洗滌に長時間を要し、殊に穀物類等の澱粉含有量の高いものでは特に甚だしい。更に又この方法に於ても蛋白質以外に多くの有機非蛋白態窒素化合物をも同時に沈澱する。即ち、H. SCHJERNING⁽⁴⁾氏は STUTZER 法を検討した結果、アスパラギン、ロイシン、チロジン等のアミノ酸の一部、グアニン、アロキサン、尿酸が其の存在量の 30~50% を、アラントイン、クレアチン、キニン及びアルギニン等が極く少量同時に沈澱されること、併し乍らペプトンはこの場合殆んど定量的に沈澱されなかつたことを報告している。BARNSTEIN 氏⁽²⁾は氏の方法によつて中性又は微酸性では純蛋白質は完全に沈澱されるが、同時にアラントイン及び一部アルカロイドが沈澱される。しかしアスパラギン、グアニン、ベタインは全く沈澱されなかつたことを報告している。A. STUTZER⁽⁵⁾氏は本法に於てペプトンも亦一部沈澱されるのではないかと述べている。其の後、F. ALTEN⁽⁶⁾氏等は馬鈴薯蘆及び乾草を用いて、本法を從來完全な蛋白質のみの沈澱劑と云われている 10% トリクロール 醋酸溶液による沈澱法と比較検討した結果、本法は 20~25% 高い値を示し、更にアミノ酸添加沈澱實驗に依つてグルタミン酸及びイソロイシンは沈澱されなかつたが、ロイシン及びアルギニンの一部が沈澱され得ることを報告し、他方トリクロール 醋酸はアルギニンを僅かに沈澱させるような結果を得ている。

今日蛋白質のみの沈澱劑といわれている 5~10% トリクロール 醋酸溶液については古く 1881 年 E. OBERMEYER⁽⁷⁾氏が初めて之を使用して實驗を行つている。其の後、F. GREENWALD⁽⁸⁾氏は血液中の非蛋白態窒素化合物を定量する目的で、その除蛋白劑として本溶液を用いて實驗した結果、全く定量的に兩者が分離され、又常法によるカゼイン鹽酸分解液及び尿素を添加して、之等は全く沈澱されなかつたことを報告した。之等の結果に基づいて前記の F. ALTEN 氏等は植物體中の窒素の形態の追究には純蛋白質沈澱劑としては 10% トリクロール 醋酸溶液が良く、沈澱は稀い本酸溶液で洗滌することを奨めている。

最近 C. NEUBERG⁽⁹⁾氏等は初めて除蛋白劑として 1~2M (10~20%) 過鹽素酸溶液を用いて、之を 10% トリクロール 醋酸溶液と比較して極めて優れた蛋白質沈澱劑であることを報告している。但しオボムコイドは兩沈澱劑のいずれにも沈澱されず、濃厚溶液中よりアルコール、タンニン酸及び磷タングステン酸に依つて沈澱されることを述べている。

以上の研究から、吾々は BARNSTEIN 法の缺點(非蛋白態窒素化合物を可成りに沈澱し、又沈澱を分解する迄に要する長い時間)を除去して簡便に食品及び飼料成分中の純蛋白質を定量し得るような蛋白質沈澱劑を得ようとして、バルンスタイン法、トリクロール 醋酸及び過鹽素酸溶液沈澱法の 3 種について實驗を行つた結果を次に報告する。

實 驗 の 部

I. 試料中の全窒素及び蛋白態窒素定量法.

(a) 全窒素の定量: 通常の KJELDAHL⁽¹⁰⁾氏法によるも、植物體中には大量の硝酸態窒素を含有することがあるので、ニトロン定性法によつて硝酸鹽を定性し、その反應著しいものについては GANNING 氏變法⁽¹¹⁾によつた。本實驗の場合には大根葉のみこの方法に依つた。但し其の粗蛋白質量は通常の KJELDAHL 法に依つて得た窒素の値に 6.25 を乗じた値である。

(b) BARNSTEIN 法: 常法による⁽³⁾。

(c) トリクロール 醋酸溶液及び過鹽素酸溶液沈澱性窒素定量法: 兩方法共に BARNSTEIN 法に準じて試料を採取處理し、冷却後夫々同容量の 10~12% CCl_3COOH , 20% HClO_4 溶液を加えて良く攪拌し、2 時間以上放置後 (多くは 12 時間前後)、沈澱を數回傾斜洗滌後、沈澱を全部濾紙上に移し、更に良く洗滌し、其の後 KJELDAHL 法に依つて窒素を定量した。この場合沈澱の洗滌液・酸濃度については後に詳しく述べる。

II. BARNSTEIN 法とトリクロール 醋酸溶液沈澱性窒素量の差異.

前述の如く F. ALTEN⁽⁶⁾氏等に依れば、兩方法には沈澱性窒素量に著しい差異が見られたので、吾々は先ず大根葉を用いて之を追試した。其の結果は第 1 表の如くである。

Table 1. Proteinous Nitrogen determined by BARNSTEIN's Method and 5% CCl_3COOH Method.
Material: Leaves of Japanese radish (Total Nitrogen=4.62%)

BARNSTEIN's Method			5% CCl_3COOH Method			
Substance(g)	Precipitated N. (mg)	%	Sub. (g)	Precipitated N. (mg)	%	% for BARNSTEIN's
0.5263	11.032	2.10	1.0265	16.583	1.62	78.2
0.5917	11.178	2.06	1.0275	16.595	1.62	78.2
1.0807	21.942	2.03	1.0484	16.855	1.61	78.0
1.1020	21.924	2.08	1.1227	18.047	1.61	78.0
average	—	2.07	average	—	1.62	78.1

以上の如く、大根葉を用いた實驗結果は、F. ALTEN 氏等と全く同一の結果が得られ、兩方法に依つて著しい差異が認められたので、次に試料を前述の如くに先ずトリクロール醋酸溶液沈澱法に依つて純蛋白質を沈澱させた濾液について、之を微酸性迄 dil. NaOH にて中和後、BARNSTEIN 法に依つて沈澱する窒素を定量した。その結果は第 2 表の如くである。

Table 2. Precipitable Nitrogen Determined by BARNSTEIN's Method in the Filtrate Separated the Precipitate by 5% CCl_3COOH . Material: Leaves of Japanese radish (True protein nitrogen by BARNSTEIN's method=2.07%)

Substance (g)	Precipitable nitrogen by 5% CCl_3COOH solution(mg)	%	Precipitable nitrogen in the filtrate by BARNSTEIN's method (mg)	%	Total %	Difference with 2.07%
1.0265	16.583	1.62	4.280	0.42	2.04	-0.03
1.1227	18.048	1.61	5.264	0.47	2.08	+0.01
1.5204	25.177	1.65	6.706	0.44	2.09	+0.02
2.1166	34.036	1.61	7.288	0.35	1.96	-0.11
2.1319	34.452	1.62	7.411	0.35	1.97	-0.10
2.2059	36.378	1.65	10.701	0.48	2.13	+0.06
2.2359	36.248	1.60	7.542	0.33	1.93	-0.14

以上の結果より兩方法に依る沈澱性窒素量の總和は直接試料を BARNSTEIN 法に依つて沈澱せしめた値にほぼ一致した。云い換えれば、トリクロール醋酸沈澱法に依つて純蛋白質を沈澱させた濾液中には尙 BARNSTEIN 法に依つて沈澱され得る窒素化合物がある。結果にやや振れの有るのは濾液量の多寡、沈澱生成時の pH の差異等に依るものと思う。

III BARNSTEIN 法に於ける供試量と沈澱劑量との關係。

通常 BARNSTEIN 法にあつては供試料 1~2g(蛋白質含有量多いものは 0.5~1.0 g)に CuSO_4 溶液(60 g/l) 25cc と NaOH 溶液(12.5 g/l) 25 cc を加えて蛋白質を沈澱せしめているが、供試料の増加と沈澱劑量との關係を比較し、又 5~10% トリクロール醋酸溶液沈澱性窒素量とも比較した。その結果は第 3 表の如くである。

Table 3. The Weight of the Sample and Influences of the Volume of CuSO_4 aq. on the Determination of Precipitable Nitrogen by BARNSTEIN's Method and CCl_3COOH Method.

Material: Leaves of Japanese radish (True protein nitrogen by BARNSTEIN's method=2.07%)

BARNSTEIN's method (standard)				BARNSTEIN's method *)				5 or 10% CCl_3COOH method			
Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%	for standard	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%	for standard	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%	for standard
0.5263	11.032	2.10	—	—	—	—	—	1.0265	16.583	1.62	—
0.5917	11.178	2.06	—	—	—	—	—	1.0275	16.595	1.62	—
1.0807	21.942	2.03	—	—	—	—	—	1.0484	16.855	1.61	—
1.1020	22.924	2.08	—	—	—	—	—	1.1227	18.047	1.61	—
average	—	2.07	100.0	—	—	—	—	average	—	1.62	78.1

2.0029	41.067	2.05	—	—	—	—	—	2.1166	34.036	1.61	—
2.0127	40.292	2.01	—	—	—	—	—	2.1319	34.452	1.62	—
—	—	—	—	—	—	—	—	2.2059	36.304	1.65	—
average	—	2.03	98.1	—	—	—	—	average	—	1.63	78.7
3.0000	57.549	1.92	—	3.0140	63.905	2.09	—	—	—	—	—
3.0109	58.186	1.93	—	3.0274	62.326	2.08	—	—	—	—	—
average	—	1.93	93.2	average	—	2.09	100.0	—	—	—	—
3.9964	73.958	1.85	—	—	—	—	—	3.9616	65.291	1.65	—
4.0074	73.573	1.84	—	—	—	—	—	⊗	—	—	—
average	—	1.85	89.4	—	—	—	—	4.0522	66.486	1.64	—
5.4389	97.610	1.79	—	5.0171	102.463	2.04	—	5.5143	90.167	1.63	—
5.7837	104.605	1.80	—	5.0533	103.080	2.04	—	5.8223	92.718	1.60	—
average	—	1.80	87.0	average	—	2.04	98.6	average	—	1.62	78.2
7.9982	141.128	1.77	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8.0692	138.672	1.73	—	—	—	—	—	—	—	—	—
average	—	1.75	84.5	—	—	—	—	—	—	—	—

(*) The concentration of reagents used is 3 times as much as in the common method.

⊗ In this case a 10% CCl_3COOH solution was used and in the other cases a 5% CCl_3COOH solution was used.

以上の結果より供試料が増加する時、5~10% トリクロール醋酸溶液沈澱性窒素量は變化がないが、BARNSTEIN 法では沈澱性窒素量が減少して來た。この點は表に明らかなように $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 量を増加することに依つて除去された。即ち蛋白質を完全に沈澱させる $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 量が不足する爲であろう。従つて BARNSTEIN 法に於て常法にあつては供試量と沈澱劑量との量的關係は問題ないが、供試量が相當多量に必要とされる場合には加える $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 量を適當に増加することが必要である。

IV. トリクロール醋酸溶液沈澱法に於ける酸溶液の濃度.

通常 5~10% 溶液 (時としては 2.5% 溶液を用いることもある) が用いられているが、前述の如き操作後純蛋白質沈澱に用いる酸溶液の濃度と沈澱性窒素量とを 5% 及び 10% 溶液を用いて比較した。その結果は前表中に示してある如く、兩者に殆んど差異は認められなかつたので、通常の分析には供試液に同容量の 15% トリクロール醋酸溶液を加えて沈澱操作を行った。

V. トリクロール醋酸溶液に依る沈澱の洗滌方法の比較.

多くの場合血液、組織抽出液、消化液等の除蛋白劑としてはトリクロール醋酸溶液を加え、遠心分離後、上清液又は沈澱の窒素を定量しているが、本方法では沈澱を BARNSTEIN 法に準じて洗滌する方法を取つたので、洗滌液として水を用いた場合と、3% トリクロール醋酸溶液を用いた場合とを比較した。尙第 1 表にも見られる如く、之が BARNSTEIN 法より可成り低い値を示すのは、一度沈澱された蛋白質が、水及び稀酸溶液のいずれにも大量に再溶解されるのではないかと考えられたので、別に大根葉を用いて、上清液を傾斜後、沈澱をそのまま全部分解して沈澱性窒素を測定した結果を同記した。その結果は第 4 表の如くである。

Table 4, Comparison of the Methods of Washing the Precipitate by the 7.5% CCl_3COOH Method.

Materials	Washed by a 3% CCl_3COOH solution			Washed by water			Not washed		
	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%
Rice	1.4236	14.734	1.03	1.5032	14.830	0.99			
	1.4376	14.825	1.03	1.5332	15.273	0.99			
	average	—	1.03	average	—	0.99			
Cake of soya-bean	0.6844	48.098	7.06	1.4478	101.693	7.03			
	0.7311	51.430	7.03	1.5917	110.602	6.95			
	average	—	7.05	average	—	6.99			

Dried beef (powder)	0.4759	53.131	11.17	0.5246	56.278	11.20		
	0.5415	66.811	11.23	0.5770	70.980	11.13		
	average	—	11.20	average	—	11.17	—	—
Sardine (powder)	0.7555	66.453	8.79	0.5436	49.430	9.09		
	0.8244	72.291	8.79	0.6680	60.122	9.01		
	average	—	8.79	average	—	9.05	—	—
Leaf of radish	1.5204	25.177	1.65	2.1319	34.452	1.62	2.1502	35.777
	1.8320	29.892	1.63	2.2059	36.378	1.65	2.4013	40.338
	2.2859	36.248	1.60	2.1166	34.036	1.61		
	average	—	1.63	average	—	1.63	average	1.67
Leaf of spinach	0.9105	34.978	3.85	1.1599	44.241	3.81		
	0.0928	42.063	3.84	1.3239	50.282	3.80		
	average	—	3.85	average	—	3.81	—	—

以上の結果を総合すると、兩法共に大差はないが、3% トリクロール 醋酸溶液に依る洗滌法が大體少し高い値を示しているからこの方法が良いと思われる。但し魚粉の場合には逆に水洗値の方が高い値を示したこと及び肉粉にて2連の値の不一致が甚だしかつたことについては後日の検討に譲る。洗滌に依つて蛋白質が再び溶解されるのではないかという懸念については、上表の結果から見ても、洗滌による著量の溶解は全く認められなかつた。

VI. 10%過鹽素酸溶液による沈澱の洗滌方法の比較.

(V) と同様に 10% 過鹽素酸溶液に依る沈澱を同濃度の酸及び水にて洗滌した場合の結果は第5表の如くである。

Table 5. Comparison of the Methods of Washing the Precipitate by the 10% HClO_4 Method.

Materials	Washed by 10% HClO_4 solution			Washed by water		
	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%	Substance (g)	Precipitable nitrogen (mg)	%
Rice	1.2500	12.517	1.00	1.5837	14.969	0.95
	1.4243	13.973	0.98	1.6282	15.239	0.94
	average	—	0.99	average	—	0.95
Cake of soya-bean	1.1198	76.812	6.86	1.6715	111.092	6.65
	1.2471	84.165	6.83	1.7992	119.104	6.62
	average	—	6.85	average	—	6.64
Cake of rape seed	1.3908	40.147	2.88	1.3471	44.503	3.30
	1.4591	43.198	2.89	1.3782	45.736	3.32
	average	—	2.89	average	—	3.31
Leaf of radish	1.1421	15.193	1.33	1.0478	15.436	1.47
	1.6726	21.147	1.27	1.4126	20.316	1.44
	average	—	1.30	average	—	1.46
Leaf of spinach	1.1953	49.305	4.11	1.2316	45.999	3.74
	1.2673	51.614	4.07	1.4134	53.084	3.76
	average	—	4.09	average	—	3.75

以上の結果を総合すると大體に於て、同濃度の酸洗滌法に比較して水洗法は著しく低い値を示し、10%過鹽素酸による沈澱は同濃度の酸液よりも水に溶け易い事を示している。又第6表よりも見られるようにトリクロール 醋酸沈澱を洗滌した値よりも可成低い。この理由については各種の試料について過鹽素酸による蛋白質の沈澱性が異なるのか、又洗滌時の pH と非蛋白態窒素化合物の滲出性との間の関係の差異に依るものか等の理由が考えられ、更に検討を要する。併し菜種油粕、大根葉等は、水洗値よりも酸洗滌値の方が更に低い値を示した。これについては、蛋白質が過鹽素酸によつて完全に沈澱されないのか、又は沈澱が水にも過剰の酸にも更に良く溶解するのか等の理由が考えられるが、上述の結果から見て、いずれにしても過鹽素酸溶液による沈澱方法では一般的

Table 6. Total Nitrogen (Crude protein) and Precipitable Nitrogen (True protein)

Materials	Total nitrogen (%)	Crude protein (N×6.25) (%)	BARNSTEIN's meth do		
			Precipitable nitrogen (%)	True protein (N×6.25) (%)	% for total nitrogen
Rice	1.07	6.69	1.06	6.63	98.6
Wheat flour	1.42	8.88	1.34	8.38	94.4
Cake of soya-bean	7.62	47.63	7.23	45.20	94.8
Miso	2.84	17.75	1.98	12.38	69.6
Carrot(dried matter)	1.45	9.06	0.71	4.44	49.0
Beef(dried matter)	12.60	78.75	11.52	72.00	91.4
Sardine(dried powder)	10.23	63.94	9.59	59.94	93.7
		24.44			
Leaf of radish	4.62	(3.91×6.25)	2.07	12.94	45.0
Leaf of spinach	5.00	31.25	4.22	26.38	84.3
Stone-beek	1.84	11.44	1.18	7.38	64.5
Rice-bran	2.31	14.44	2.14	13.38	93.1
Wheat-bran	2.62	16.38	2.23	13.91	85.0
Mixed-fodder	3.40	21.25	2.98	18.63	87.7
Oil-cake of rape seed	5.10	31.88	4.42	27.63	86.6
Hay (barley)	1.89	11.81	1.21	7.56	64.0
Hay (Leaf of rye)	3.87	24.19	2.81	17.56	72.8
Red clover	2.67	16.69	2.36	14.75	94.4

に純蛋白質は定量し得ないことは明らかである。

VII. BARNSTEIN 法, トリクロール醋酸法, 過鹽素酸法による定量結果の比較.

以上述べた 3 方法に依つて, 主なる食品及び飼料 17 種について純蛋白質を定量した結果を總括して第 6 表に示す

以上の結果を綜合すれば, BARNSTEIN 法は常に他の 2 方法に比して高い値を示した。殊に人蔘, 大根葉, 米糠, 麵, 油粕, 青刈大麥にあつてはその差異が著しかつた。そしてその差異は非蛋白態含窒素の量の多いものに著しい。この事は BARNSTEIN 法は非蛋白態含窒素化合物をも沈澱させる事を豫想させるものであつて, 實驗 II, 第 2 表に示すように大根葉ではトリクロール醋酸溶液沈澱の濾液中には, BARNSTEIN 法に依つて沈澱する窒素化合物があつて, この兩者の和が直接 BARNSTEIN 法で沈澱した値に一致するという點からも確實と思われる。従つて綠色植物, 幼植物, 米糠, 麵等の窒素の形態の追究には蛋白質は 5~10% トリクロール醋酸溶液で沈澱させ, 沈澱の洗滌は同濃度の本酸溶液で洗つた方が良い事になる。

過鹽素酸法は魚粉, 牛肉粉のようにトリクロール醋酸法の値によく一致するものもあるが, 又ホウレン草, ネギ, 青刈大麥のように, それより高いものもある。併し大體に於てトリクロール醋酸法より可成低く, 又大根葉油粕のように水洗値より酸洗滌値が低く, いずれもトリクロール醋酸法よりはるかに低いものがある。この結果と NEUBERG⁽⁹⁾の結果と併せ考えれば恐らく動物性蛋白質の場合にはトリクロール醋酸と同様に用いられるのであろう。

以上 II~VII の實驗結果を總括すると食品及び飼料の純蛋白質定量には BARNSTEIN 法はトリクロール醋酸法よりも高い値を示し, 殊に莖葉類ではその差異が著しく, 非蛋白態含窒素化合物の沈澱も考えられるので, 安全性を考慮して, トリクロール醋酸法に依るがよい。併し飼料では窒素の形態を追究する場合には蛋白質除去にはトリクロール醋酸に依らねばならないが, 家畜ではアミド類も利用しようと云われているから, 一般分析の場合には BARNSTEIN 法でも差支えないであらう。

綜 括

食品及び飼料中の純蛋白質を定量する場合の BARNSTEIN 法, トリクロール醋酸法及び過鹽素酸法を比較實驗した結果次のような結果を得た。

determined by Three Methods of Main Foods and Fodders.

7.5% CCl ₃ COOH solution's method						10% HClO ₄ solution's method		
Washed by 3% CCl ₃ COOH solution				Washed by water		Washed by 10% HClO ₄ solution		Washed by water
Precipitable nitrogen (%)	True protein (N × 6.25) (%)	% for total nitrogen	% for BARNSTEIN'S method	Precipitable nitrogen (%)	% for the former	Precipitable nitrogen (%)	% for the CCl ₃ COOH solution's method	Precipitable nitrogen (%)
1.03	6.44	96.3	97.2	0.99	96.7	0.99	96.1	0.95
1.16	7.25	81.7	86.6	0.97	83.5	1.06	91.3	0.93
7.05	44.06	92.5	97.5	6.99	99.1	6.85	97.1	6.64
—	—	—	—	1.62	—	—	—	1.59
0.53	3.31	36.4	74.6	—	—	0.51	96.2	—
11.20	70.00	88.9	97.2	11.17	99.7	11.14	99.5	10.62
8.78	54.88	85.8	91.6	9.05	103.0	8.77	100.0	8.78
1.63	10.19	34.8	78.7	1.63	100.0	1.30	80.0	1.46
3.85	24.06	77.0	91.2	3.81	99.0	4.09	106.3	3.75
0.76	4.75	41.3	64.4	0.84	110.5	1.24	163.1	—
1.76	11.00	76.2	82.2	1.82	103.4	1.84	104.7	1.71
1.64	10.25	62.9	73.6	1.68	102.4	1.56	95.2	1.52
2.56	16.00	75.3	86.0	2.46	96.5	2.38	93.0	2.25
3.54	22.13	70.0	80.1	3.48	98.3	2.89	81.6	3.31
0.99	6.19	52.4	81.8	0.94	94.9	1.06	107.0	0.91
2.52	15.75	65.1	86.1	2.48	98.4	2.66	105.5	2.36
2.24	14.00	84.0	95.0	2.19	97.8	2.10	93.8	2.11

(a) BARNSTEIN 法は蛋白質以外の含窒素化合物を同時に沈澱するから、その値が實際よりも高くなり、蛋白質の變化を研究するような場合には不適當である。

(b) トリクロール醋酸法は實驗の結果から見て一番良く、5~10%溶液で沈澱させ、同濃度の酸溶液で沈澱を洗滌する必要がある。

(c) 過鹽素酸法は廣く食品及び飼料成分の分析に用いるには不適當である。

(昭和 24 年 5 月、第 101 回日本農藝化學會東京支部講演會に於て發表)

- (1) A. STUTZER : *J. f. Landw.*, **28**, 114 (1891)
- (2) F. BARNSTEIN : *Landw. Vers.-Stat.*, **54**, 327 (1900)
- (3) 改訂農藝化學分析書, 上卷 152 (1948)
- (4) H. SCHJERNING : *Z. anal. Chem.*, **39**, 545 (1900)
- (5) A. STUTZER : *J. f. Landw.*, **54**, 237 (1906)
- (6) F. ALTEN : *Bodenkunde u. Pflanzenernähr.*, **8**, 335 (1938)
- (7) F. OBERMEYER : *Wiener Med. Jahr.*, **3**, 375 (1888); *Zentralblätte* (1889-II) 268
- (8) J. GREENWALD : *J. Biol. Chem.*, **21**, 61 (1915); **34**, 97 (1918)
- (9) C. NEUBERG : *Arch. Biochem.*, **4**, 101 (1944)
- (10) 改訂農藝化學分析書, 上卷 151 (1948)
- (11) 同 上, 上卷 47 (1948)

Summary

We designed to study the relation among the results obtained by the BARNSTEIN's method, trichloroacetic acid and perchloric acid method for the determination of true protein in foods and fodders. Our results indicate that (1) the BARNSTEIN's reagent precipitates some non-proteinous nitrogen compounds in foods and fodders, especially in hay and rice bran, and so it is not suitable for the purpose; (2) trichloroacetic acid method is the best of all the three by our results, and we should use the 5~10% CCl₃COOH solutions and wash the precipitation by the same solution; and (3) perchloric acid method is not applicable generally in the protein determinations of foods and fodders.