魚体完全利用に関する研究 IV. イカ内臓より製造せるフィッシュ・ソリブル飼料 及び二・三魚類内臓の化学成分について (その一)

川田 寛・片谷健一・高橋 喬・栗山英彌
(日本化学飼料株式会社)

Studies on the Complete Utilization of Whole Fish—IV. The Chemical Composition of Some Fish Viscera and the Fish Soluble Feed Made from Cuttle Fish Liver (1)

Hiroshi KAWADA, Kenichi KATAYA, Takashi TAKAHASHI and Hideya KURIYAMA

A good deal of fish viscera or the protein liquid after extracting oil has been abandoned every year.

The authors have studied its utilization and succeeded in the production of a fowl feed - S. P. Feed - in an industrial scale.

In the present paper described the comparative study of amino acid composition and contents of B-group vitamins in the protein of the fish viscera prepared from cuttle fish, octopus, atka mackerel and pollack. In addition above components in the S. P. Feed made from cuttle fish liver, commercial sardine meal and fish soluble (made in U. S. A.) were compared.

The results obtained were tabulated in Table 6, 7 and 8: sixteen amino acids were determined by colorimetric paperchromatography and B-group vitamins by chemical methods except vitamin B₂.

Distribution of amino-acids in the viscera proteins seemed to be relatively uniform in the fish muscle proteins, irrespective of the kind of viscera. It is noticeable that methionine content in these viscera preparations is higher than in the fish muscle protein and others, although there seemed to be some difference in the content of several amino acids.

While the B-group vitamin contents of fish viscera are generally high, those of Cephalopoda are particularly rich in B₂ and B₁₂, and thus the Cephalopoda viscera seems to be a good material for domestic fowl feed.

From the amino acid composition and vitamin contents, the fish soluble feed made from these fish viscera may be superior to sardine meal and so-called fish soluble.

緒 論

年々廃棄せられる魚類内臓は尤大な量に達するが、之が工業的利用としては主としてビタミン油に限られ採油後の廃液の工業的利用については殆どなく、又この廃液蛋白質乃至魚類内臓蛋白質に関する研究についても極めて少い状況である。筆者は先にイカ内臓採油廃液の蛋白質を原料とするフィッシュ・ソリブル飼料の製造法についてその大要を本誌¹⁾に(動物性蛋白質及び A. P. F. を含有する S. P. 飼料と命名し)発表したが、今回はこの種のフィッシュ・ソリブル飼料の対象原料として考慮されるイカ、タコ、ホッケ、スケトウダラの各内臓及び市販イワシフィッシュミールについて其等蛋白質の構成アミノ酸並びにビタミンB群を定量し、イカ S. P. 飼料或は米国製フィッシュ・ソリブルと比較した結果を報告する。アミノ酸の分析方

1955 年 4 月 18 日受理

本報告の一部は 1954 年 11 月名古屋に於ける日本畜産学会年会「動物性蛋白質と A. P. F.」に関するシンポジウムに於て発表された。

法としては FOWDEN²⁾, SMITH³⁾, 丸田等⁴⁾の方法即ちペーパクロマトグラフィに依り分離した各 spot を截取し、アミノ酸を抽出してニンヒドリン比色する方法が最も簡便であり又精度も高いため同法を採用した。又ビタミンの分析は主として化学的比色法に依った。

実 験

試料の調製： 試料は可及的新鮮なものを函館近辺より入手したものでイカ (1954 年 10 月) は体長 21~23 cm 体重 220~270 g のもの 30 尾, タコ (1954 年 12 月) は 80~100 cm 4~5 kg のもの 10 尾, ホッケ (1955 年 2 月) は 23~25 cm 440~450 g のものを 13 尾, スケトウダラ (1955 年 2 月) は 58 cm 1.5 kg 前後のもの 3 尾を用い、何れも切開後内臓のみを取出して 50~55°C で約 30 分間緩かに攪拌して自己消化せしめて均一な試料を調製し、一部を一般分析及びビタミン分析用試料とした。尚イカ S. P. 飼料は 1954 年 9 月当社製造のもの、イワシフィッシュミールは市販乾燥イワシ粕を粉碎し試料とした。アミノ酸分析用試料は常法通り乾燥物を粉碎しソックスレー抽出装置でエーテル抽出を行ひ完全に脱脂し、得たる蛋白質に 15~20 倍量の 20% 塩酸を加へ常圧 110°C で 16~20 hrs 加水分解し、分解終了後濾過し減圧下に可及的塩酸を除いたものを適宜稀釈してペーパクロマト用試料とした。但しトリプトファン定量用試料としてアルカリ加水分解物は特に調製しなかつた。

各内臓試料の含有する臓器官及び全試料の一般分析は夫々第 1, 2 表の如くであるが、第 1 表の中スケトウダラ内臓試料は特に肝臓を除外して調製した。

Table 1 Details of fish viscera sample.

Kind of fish	Internal organs
ス ル メ イ カ <i>Omnastrephes sloani pacificus</i> STEENSTRUP	Oesophagus, stomach, intestine, liver, pancreas, gonad ink bag
ミ ズ ダ コ <i>Polypus dofieni</i> WÜLKER	ditto
ホ ッ ケ <i>Pleuragrammus azonus</i> JORDAN & METZ	Oesophagus, stomach, pyloric coeca, intestine, Hepatopancreas, kidney gonad, gall bladder, spleen, duodenum
ス ケ ト ウ ダ ラ <i>Theragra chalcogramma</i> (PALLAS)	Oesophagus, stomach, pyloric coeca, intestine, pancreas, kidney, gonad, spleen, gall bladder, duodenum

Table 2 Chemical composition of fish viscera, S. P. feed, sardine meal and fish soluble.

Kind of sample	Moisture	Total-N	Crude fat	Crude ash
Cuttle-fish viscera	49.90 %	2.30 %	31.36 %	1.14 %
Octopus "	77.05	2.50	7.20	1.52
Atka mackerel "	81.53	1.93	3.40	1.16
Pollack "	77.01	2.22	7.49	1.91
S. P. Feed	8.13	5.79	10.40	5.10
Sardine meal	7.05	10.66	7.55	15.99
Fish soluble ¹⁶⁾	50.00	4.80	4.00	14.00

(For 100 parts fresh matter)

分析方法： 1) アミノ酸 ペーパクロマトグラフ操作は通常の如く東洋濾紙 No. 50 (35×35 cm) を用い二次元上昇法に依る。展開溶剤は一次元はフェノール (1%アンモニヤ水 10%及び α -benzoinoxim 0.1% 添加) 二次元は n-ブタノール, 醋酸, 水 (4:1:2 vol.) を使用した。発色には 0.2% ニンヒドリン n-ブタノール溶液に依る。定量操作は上記溶剤で二次元展開後殆ど SMITH³⁾, 丸田等⁴⁾の方法に依った。和光純薬並に味の素 K.K. 製純アミノ酸 16 種について 1~5 r のアミノ窒素を含むアミノ酸溶液 1~2 c.c. にニンヒドリン試薬⁴⁾を加えて発色せしめ島津製 D III 型光電比色計 (フィルター波長 530 m μ , 液槽厚さ 30 mm) で比色し作製した標準曲線を一部第 1~2 図に掲げた。尚上記純アミノ酸既知量 (4 r α -NH₂

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 1, 2, Relationship between color and amino nitrogen.

(I) Valine (II) Glutamic acid (III) Arginine (IV) Phenylalanine
(V) Methionine (VI) Aspartic acid (VII) Alanine (VIII) Serine
(IX) Cystine (X) Proline

Table 3. Recoveries of amino acids by two-dimensional paper-chromatography.

Amino acid	Mean percentage measurements (five results)	Standard deviation
Arginine	92	5.6
Aspartic acid	102	2.3
Glutamic acid	95	4.0
Glycine	101	3.8
Methionine	105	4.5
Tyrosine	100	2.2
Valine	96	3.4

-N) について二次元展開後同様操作に依り回収率を測定したが、その結果を一部第3表に掲げた。同表より回収率は92~105%で本法は α -アミノ窒素として1~5%のアミノ酸が $\pm 5\%$ 以内の測定誤差で充分定量する事が出来る。

2) ビタミン B₁ はヂェスターゼ加水分解液をバームチットに吸着させて不純物を分離し、⁵⁾⁶⁾ 7)後 25% KCl 塩酸溶液で B₁ を脱着してヂェゾ化した p-aminoacetophenone と反応させて生ずる紫紅色を波長 510 m μ で比色した⁸⁾⁹⁾。(前記光電比色計使用。以下同じ) ビタミン B₂ は試料の硫酸浸出液の共存色素を KMnO₄ で分解除去し残った黄色色素を波長 450 m μ で比色する方法に依った³⁾¹⁰⁾。ニコチン酸はシアン臭素と反応して生成する γ -ピリジニウム化物の誘導体を芳香族アミンと抱合させて比色する所謂 K³ING 反応に依る方法を採用したが¹¹⁾¹²⁾、芳香族アミンとしては呈色度が高く又呈色時間も長い p-aminoacetophenone を使用した。ビタミン B₆ は主として福井¹³⁾の方法に依る。即ち活性白土に吸着した B₆ を GIBBS 反応に依り生成するインドフェノールを比色する方法を採用した。コリンの定量は異項環アミン及び4級アンモニウム塩がライネック酸アンモニウムに依り定量的に沈澱する事を応用する György²⁾ 及び JACOBI¹⁴⁾の方法に依った。ビタミン B₁₂ はユーグレナ菌を用いる微生物定量法³⁾に依り培地は酸性改良培地

を標準品は武田製「フレスミン」を用い、試料の調製は凡て熱水抽出法に依った。

実験結果及び考察

各アミノ酸分析試料について二次元ペーパークロマトグラフィに依った結果第4表の如く16種のアミノ酸を認めた。イソロイシンも含有されると思ふが筆者等の方法ではロイシンとは明確に分離し得なかつた。

Table 4. Rf values of amino acids in fish viscera, fish meal and S. P. feed.

Amino acid	Rf value			
	Phenol (with NH ₄ OH added)		n-Butanol acetic acid water (4:1:2 vol)	
	Control	Sample	Control	Sample
Alanine	0.55	0.52	0.40	0.40
Arginine	0.75	0.71	0.31	0.30
Aspartic acid	0.06	0.06	0.29	0.27
Cystine	0.11	0.12	0.18	0.17
Glycine	0.32	0.29	0.32	0.34
Glutamic acid	0.22	0.22	0.33	0.33
Histidine	0.74	0.73	0.32	0.32
Leucine	0.76	0.72	0.63	0.60
Lysine	0.60	0.60	0.20	0.26
Methionine	0.73	0.72	0.53	0.56
Proline	0.86	0.80	0.42	0.42
Phenyl alanine	0.78	0.76	0.62	0.61
Serine	0.24	0.23	0.27	0.28
Threonine	0.34	0.36	0.33	0.36
Tyrosine	0.46	0.49	0.50	0.48
Valine	0.76	0.72	0.63	0.60

Table 5. Rf value of glutathione in the cuttle fish liver and S. P. feed.

Sample	Rf value		Color
	Phenol	Butanol acetic acid water	
Cuttle-fish liver	0.010	0.150	Purple
S. P. feed	0.013	0.152	„
Pure glutathione	0.010	0.160	„
Pure cystine	0.110	0.180	„

特にイカ内臓及びイカ S. P. 飼料の水抽出液については第5表の如くグルタチオンの存在を確認した。ペーパークロマトグラフィに於ては通常グルタチオンの Rf 値はシスチンのそれと極めて近似し誤り易いが明確に分離し得た。

第6表に各試料蛋白質のアミノ酸含量を掲げたがプロリンはニンヒドリン試薬に依る発色操作に難点があったため省略した。同表から各内臓蛋白質とも肉蛋白質と殆ど同量アミノ酸を含有する許りでなくメチオニン含量の高い事が著しい特徴であつた。筆者等¹⁵⁾は既にイカ内臓中に多量の deoxyribosenucleoside 及び同 nucleotide を確認しているが、之等内臓蛋白質は主として細胞内に於て核酸成分と関連して重要な生理に関与していると考察されるが、そのアミノ酸構成より核蛋白質も比較的簡単なプロタミン、ヒストンのみならず更に複雑な配列構造をもつ高級蛋白質の存在が予想される。イカ及びタコ内臓蛋白質はホツケ内臓のそれとアミノ酸含量に於て少しく異なる傾向が窺はれたが、その大部分を肝臓が占めるイカ、タコ内臓の蛋白質組成に若干差異があるためと考へられるが、この特異性については更に検討の要があらう。尙第6表に於てイカ S. P. 飼料と従来から動物性蛋白飼料として重要なイワシ・ミールと米国製フィッシュ・ソリブルの各アミノ酸を比較したがイカ S. P. 飼料はフィッシュ・ソリブルに優る事は勿論であるがイワシミールとは大差なく、必須アミノ酸であるメチオニン、セリン、ロイシン、フェニールアラニン含量に於て優りバリン、スレオニン、リジン含量に於て稍劣る結果を得た。

第7, 8表には B₁ 以下6種の B ビタミンの定量結果を一括したが、一般に各内臓は多量のビタミンを含有するが肝臓を除いて調製したスケトウダラ内臓試料は稍々劣り、特にイカタコ内臓試料の B₂, B₁₂ 含

量は著しく高く好箇の飼料原料と認められた。又イカ S. P. 飼料は各ビタミン含量に於てイワシ・ミールを凌駕する事が明かとなった。

Table 6. Amino acid composition of S. P. feed, sardine meal and fish viscera proteins.

Amino acid	Cattle-fish viscera	Octopus viscera	Atka mackerel viscera	Pollack viscera	S. P. Feed	Sardine meal	Fish ¹⁶⁾ soluble
Alanine	7.5%	7.0%	8.5%	8.6%	6.6%	6.0%	—%
Arginine	10.3	10.0	6.8	7.0	9.5	8.0	4.5
Aspartic acid	7.7	10.0	10.5	6.2	5.4	7.8	—
Cystine	1.5	1.5	0.8	trace	1.6	trace	—
Glycine	5.2	5.0	6.5	5.5	3.6	4.4	12.7
Glutamic acid	4.7	4.5	5.4	4.7	3.2	6.0	5.1
Histidine	2.4	2.4	3.2	4.7	3.9	3.0	3.4
Leucine	5.0	4.7	6.9	7.7	9.2	8.6	3.5
Lysine	5.3	5.5	4.5	6.6	4.3	13.3	4.1
Methionine	5.0	5.2	4.2	2.9	3.4	2.0	0.9
Phenylalanine	2.4	2.7	3.7	4.2	3.7	2.0	1.2
Serine	5.1	5.0	4.8	4.7	4.8	2.5	—
Threonine	3.0	2.0	2.2	1.8	2.9	3.3	1.3
Tryptophan	—	—	—	—	—	—	0.2
Tyrosine	0.8	0.7	1.9	trace	2.7	2.0	—
Valine	3.7	3.0	4.7	5.1	5.1	6.8	1.8
NH ₃ -N	13.8	11.7	16.6	16.6	13.1	12.0	—

(Percentage of amino acid nitrogen of the total nitrogen in the protein sample)

Table 7. B-vitamine contents of fish viscera

Kind of viscera	Thyamine (B ₁)	Riboflavin (B ₂)	Pyridoxine (B ₆)	Niacin	Choline	Vitamine B ₁₂ activity
Cattle-fish viscera	0.9 r/g.	89.5 r/g.	133.0 r/g.	194.7 r/g.	11.3 mg./g.	3.0 r/g.
Octopus "	1.2	101.9	177.2	232.2	19.0	3.3
Atka mackerel "	5.4	39.7	183.3	147.4	24.4	2.5
Pollack "	1.0	21.9	117.3	134.7	27.1	1.6

(Defatted dry matter)

Table 8. B-vitamine contents of S. P. feed, sardine meal and fish soluble

Kind of sample	Thyamine (B ₁)	Riboflavin (B ₂)	Pyridoxine (B ₆)	Niacin	Choline	Vitamine B ₁₂ activity
S. P. feed	6.4 r/g.	33.8 r/g.	60.9 r/g.	50.2 r/g.	2.9 mg./g.	2.0 r/g.
Sardine meal	1.2	9.0	31.1	47.4	2.6	0.4
Fish soluble ¹⁶⁾	4.1	18.8	11.5	320.8	4.1	0.5

(Defatted dry matter)

総 括

水産廃棄物であるイカ、タコ、ホッケ、スケトウダラ各内臓及びイカ S. P. 飼料、イワシ・ミールについて各蛋白質構成アミノ酸をペーパークロマトグラフに依る微量比色定量法により定量すると共に B ビタミン含量を定量し、水産未利用資源の飼料化をはかる上に、原料的な優劣を有効成分の観点から検討した。又イカ S. P. 飼料、イワシ・フィッシュミール及び米国製フィッシュ・ソリブルを同様な観点から比較したが、その要旨は以下の通りである。

- (1) 前記試料蛋白質は 16 種のアミノ酸を含有する。特にイカ内臓及びイカ S. P. 飼料についてグルタチオンの存在を認めた。
- (2) 魚類内臓蛋白質はアミノ酸含量に於て魚肉蛋白質に遜色なく寧ろ数種の必須アミノ酸に於て優り、就中メチオニン含量の高い事を明かにした。
- (3) 魚類内臓の B ビタミン含有量は一般に高く家畜飼料原料として価値の高いものであり、又イカ S. P.

飼料は米国製フィッシュ・ソリブル及びイワシ・ミールに比べ B₂, B₆, B₁₂ 含量に於て特に優ると認められた。

本研究に当り御指導御鞭達を賜った日本化学飼料株式会社取締役社長竹井俊郎氏、同常務取締役小山精一氏に感謝の意を表すると共に、ユーグレナ菌を分与された慶大上田研究室に対し厚く御礼申し上げる次第であります。

文 献

- 1) 川田, 高橋 : 日水会誌, **18**, 536 (1953).
- 2) L. FOWDEN : *Biochem. J.*, **48**, 327 (1951).
- 3) A. M. SMITH A. H. AGIZA : *Analyst*, **76**, 623 (1951).
- 4) 丸田, 鮫島, 田中 : 農化, **28**, 775 (1954).
- 5) 八木 : "ビタミン定量法", 医歯薬出版社 (1954).
- 6) 藤原, 喜田村 : ビタミン B 群の定量法, 国民科学社 (1949).
- 7) 西尾, 藤原, 喜田村 : ビタミン, **1**, 232, 283 (1948).
- 8) D. MELNICK FIELD Jr : *J. Biol. chem.*, **127**, 505, 515, 531 (1939).
- 9) P. GYORGY : "Vitamine Methods", Vol. 1 Academic Press Publishers Inc. New York (1950).
- 10) 斎藤, 高田 : 醸学, **20**, 327, **21**, 102 (1943).
- 11) 藤田 : ビタミン, **1**, 123 (1948).
- 12) 桂, 榎田 : ビタミン, **6**, 904 (1953).
- 13) 福井 : 醸酵工誌, **26**, 20 (1948).
- 14) H. P. JACOBI : *J. Biol. Chem.*, **138**, 571 (1941).
- 15) 川田, 片谷 : 未発表.
- 16) PHILIP R. PARK, Inc. Cal. U. S. A. 発行のパンフレット.