魚肉蛋白に関するポーラログラフ的研究—予報

菊池武昭・平野敏行・岡田郁之助

(東京水産大学化学教室)

Polarographic studies of proteins contained in fish—Preliminary report

Takeaki KIKUCHI, Toshiyuki HIRANO and Ikunosuke OKADA

Many of the papers have been published on the subject of polarographic studies of proteins, but the polarographic characteristics of proteins contained in fish muscle are not known so far. So, in the present paper, the authors tried the application of polarographic protein wave to the studies of proteins contained in fish muscle, blood and internal organs.

The following subjects are preliminary experimented and obtained hopeful results:

- 1) Difference of polarographic protein wave in the species of aquatic animal.
- 2) Difference of polarographic protein wave between common muscle and dark-colored muscle.
- 3) Determination of the freshness.
- 4) Denaturation of protein during the r -ray irradiation.

緒 言

著者等の研究室では以前より水産動植物成分の追求にポーラログラフ法を用いて研究して来たが魚肉蛋白に関する研究もポーラログラフ法によつて行い得ると考えた。ポーラログラフ法によつて蛋白を扱う場合は接触還元波を使用するが、これは一般の無機、有機物を定性、定量する場合と異り特殊の部類に入り基礎的研究も未だ充分には行われて居らぬので、応用面も観察を主体とした結果が得られている程度である。この応用面を少しでも広げ得れば幸と思い水産動物肉蛋白へのポーラログラフ接触還元波の応用を試みた。

接触還元波は Prenatrium wave, 蛋白波, シスチン波の3者に大別されるが Co 塩を含む NH_4Cl , NH_4OH 緩衝液中で現れる後2者を研究の対象とする事が多い。これには癌診断への蛋白波の応用、生体材料中の成分蛋白波及びシスチン波による応用研究¹⁻⁵⁾がある。水産動物肉蛋白を扱った例は全くないが、蛋白波シスチン波を応用すれば魚種により、又魚肉の部位により組成の蛋白質、アミノ酸等が異りその差異がポーラログラムに現れると考えた。又蛋白質が変性を起す場合にもポーラログラムに差異が現れ変性の程度を知るのに役立つであらうとも考え次に記すような題目を研究する事とした。

- 1) 水産動物の種類による差異。
- 2) 水産動物組織肉の部位による差異。
- 3) 鮮度判定への応用。
- 4) 冷凍冷蔵保存中、 r -線による殺菌中等に於ける蛋白の変化。

ここではこれらの研究が可能であるか否かという点を中心に置いて実験を行つた結果について述べる。

実 験 の 部

(1) 水産動物の種類の相異をポーラログラフ波によつて考察する試みは、カツオとハマグリと比較を組織肉の水抽出液について行つた。水抽出液にコバルト緩衝液(0.001M CoCl_2 , 0.1M NH_4Cl , 0.1M NH_4OH 組成)を加えてポーラログラムを求めた結果、図の一部 A, A4 に示す如く両者間に波形の相異を認めた。別に同一条件で行つたマグロ、ブリ、サバ、アジ、サンマの如き一般の魚類においてはカツオと類似の波をアサリ、シジミ、カキ、アカガイ等の貝類においてはハマグリと類似を得た。ここに得られたポーラログラムは組織肉の水抽出液を試料とし CoCl_2 を含む緩衝液を基礎液として用いて求めているので、所謂蛋白波とシ

スチン波が共存し互に干渉し合つた結果が見れている事も考えられるが、このように種類の離れたものについてはその差異が得られるように思う。ここでは一般の魚類間の差異は得られなかつたが適当な手段を講ずればそれらの間の差異も得られるようになるかも知れない。

(2) 水産動物組織肉の部位による相異は血合肉と普通肉の相異を調べて見た。カツオ生肉を用い血合肉と普通肉の部分とを別々に同一条件で水抽出を行つた。この濾液に、コバルト緩衝液 (0.001M CoCl_2 , 0.1M NH_4Cl , 0.1M NH_4OH 組成) を加えて求めたポーラログラムを比較した。その結果は図の一部 A2, A4 に示す如く、血合肉水抽出液の場合は極大を伴はぬ2重波の傾向を有する波を、普通肉の場合は極大を伴う1段波を得た。

これらの抽出液中には蛋白波 (又はシスチン波) に干渉する物質が含まれているように思われたので典型的な蛋白波を示すアルブミン溶液に少量の抽出液を加えてポーラログラムを求めたところ、図 A1, A3 の如くアルブミン蛋白波波形が崩れ、波高が減少する事が観察された。この傾向は普通肉の場合強く現れるようであつた。この干渉の原因は不明であるが或種のアミノ酸はシスチン波を妨害する事が知られているので⁶⁾、それらの影響によるのではないかと思う。普通肉における極大を伴う1段波、血合肉における極大を伴はぬ2重波の傾向を有するポーラログラムは、含有される蛋白質の中ポーラログラムに現れるものの量的な差が原因するものか、又は両者共所謂蛋白波の2重波が現れるべきところを普通肉の方が干渉する物質を多く含むため結果としては1段波を生ずるという2つの考え方があると思うが、ここでは吟味を行つていないのはつきりした事は云えない。数多くの試料について基礎液を変え、方法を変えて実験を行えば、普通肉と血合肉の含有蛋白の性質、量、ポーラログラム波に干渉する物質の性質、量等を究明する手段に利用出来るのではないかと思う。

(3) 鮮度判定への応用の試みは鮮度低下に伴う SH の変化をポーラログラムに求める事を目的とした。ここでは生イカ肉を試料とし、その水抽出液について“濾液反応”の操作により、0.1.3.5 日後 (放置温度 $7 \sim 12^\circ\text{C}$) のポーラログラムを求めて比較考察した。“濾液反応”は概ね標準法に従つた。即ち生イカ肉50倍水抽出液 5.0cc に1N KOH 1.0cc を加え 20°C に正しく30分間放置、後20%スルフォサリチル酸溶液2.0cc を加え 20°C に正しく10分間放置して部分的に除蛋白し、その濾液に5倍量の基礎液を加えてポーラログラムを求めた。試料の蛋白濃度が低いので基礎液の NH_4OH 濃度を高くするのが通常である。ここでは0.001M Luteo 塩, 0.1M NH_4Cl , 0.8M NH_4OH 組成のものを使用した。

鮮度低下によるポーラログラムの変化は図の一部 B0~B5 に示した。この場合基礎液に Luteo 塩を使用しているので、シスチン波を示すような低分子の物質は現れるから、イカ肉蛋白による波と考えてよいと思う。鮮度低下に伴つてこの蛋白波高は増加している。2重波を第Ⅰ波、第Ⅱ波にわけて見ると、鮮度低下に従つて第Ⅱ波の著しく増加する事が判る。癌の診断では血清の蛋白波を濾液反応によつて求め、第Ⅰ波及び第Ⅱ波の波高よりその比率Ⅱ/Ⅰによつて臨床的診断に好結果を得、その原因を患者の血清に於ける SH の変化によると説明しているが、鮮度低下における場合も同様な解釈をしてもよいように思われる。蛋白波高の増加、第Ⅰ波と第Ⅱ波の比率によつて鮮度の良否を決定する事が出来るようになるかも知れない。

(4) γ -線照射蛋白の変性についての試みは、魚肉その他蛋白含有物の広い意味での変性をポーラログラムによつて研究したいという著者等の希望の一端である。

γ -線照射による蛋白の変性をとりあげたのは、この研究例が少い事、 γ -線による蛋白の変性が著しくポーラログラムとして現す場合その差異が容易に現れるであろうと考えたからである。それが可能であれば他の変性度の少い例についても手を伸したいという希望である。

ポーラログラム法によつて蛋白の変性を扱つた例は比較的多く、紫外線⁷⁾³⁾⁹⁾、レントゲン線¹⁰⁾ 照射による変性の研究がある。 γ -線に関する報告はないが、その研究法は紫外線レントゲン線の場合とほぼ同様に行えば可能であると考へた。

変性を扱う場合は試料の吟味が必要であるが、ここでは容易に多量入手し得る屠殺直後の牛生血清を用いた。屠殺直後の血清を50倍量迄水で稀釈し、アンプルに封じ科学研究所の Co^{60} 100C を線源として γ -線を照射し (322,000r)、照射稀釈血清を(3)項に述べた濾液反応の操作によつてポーラログラムを求め、照射前及び照射のものと同一条件に置いた未照射のものと比較を行つた。図の一部 C1~C2 に示す如く γ -線照射のものは特異な蛋白波の増加を見た。対照との差が大きく、照射時間中 γ -線以外についての変化は、この条件で

Fig. Polarographic protein wave (representative)

A, A4, difference in the species of aquatic animal. A, extractives of *Meretrix meretrix lusoria* (Gmelin); A4, extractives of *Katsuwonus pelamis* Linne.

A1-A5, Comparison of common muscle and dark colored muscle of *Katsuwonus pelamis* Linne. A1, extractives of dark colored muscle + 0.2% albumin soln.; A2, extractives of dark colored muscle; A3, extractives of common muscle + 0.2% albumin soln.; A4, extractives of common muscle; A5, 0.2% albumin soln.

The electrolytic soln. was prepared by the addition of 0.001M CoCl_2 , 0.1M NH_4Cl , 0.1M NH_4OH buffer soln.

B0-B5, Change of the protein wave height with the freshness, 0, 1, 3, 5 are the number of days elapsed at 7~12°C. The water extracts of cuttle fish meat was used for this experiment, and applied the filtrate reaction technique.

C1-3, effect of γ -ray radiation to the dil. serum. C1, initial; C2, Control; C3, irradiated 322,000r. These polarograms were applied the filtrate reaction technique.

見られないので、蛋白波の増加は r -線による蛋白の変性によつて起つたと考えてよいように思う。

r -線照射量による蛋白波の変化、稀釈血清と未稀釈血清に於ける r -線照射の影響の差異等も研究し得るように思われたが、これらはまとめて後に報告したいと考えている。牛血清でこのような差異が得られるので魚肉を殺菌の目的で r -線を照射した場合の蛋白の変性、更に進んで冷凍、冷蔵中、加熱加工中の蛋白の変性も追求出来るのではないかと推察している。

以上の如く本報では簡単に魚肉の研究にポーラログラフ蛋白波の応用を試みた例について述べたが、魚肉を扱つて蛋白波を求める測定条件その他に吟味すべき点が多く残されているので、次報に蛋白波の測定条件についての実験結果を述べ、順次各項目についての詳細な結果を報告したいと考えている。

摘 要

- 1) ポーラログラフ接触還元波を魚肉蛋白の研究に応用する事を試みその可能性を認めた。
- 2) 予備実験の結果、ポーラログラフ接触還元波により、水産動物の種類による相異、魚肉の部位による相異、鮮度判定への応用、蛋白の変性等の研究が可能である事が認められた。

終りに臨み本研究を行うに当り御懇篤な御指導を賜つた京都大学教授館勇博士、有益な御忠言を頂いた本学助教授小坂部勇博士、東海区水産研究所松本重一郎氏、実験に御援助を頂いた大貫晃、美濃島宏治の諸氏に深甚の謝意を表す。本研究の一部は文部省科学研究費によつた。附記して謝意を表する。

文 献

- 1) 秦：食研報告 No.6, 45 (1951).
- 2) Sticks, W. and Kolthoff, I.M.: International Polarography Congress, Prague, 1, 386(1951).
- 3) Hamamoto, E: Monatschrift f. Kinderheilkunde, 91, 37 (1942).
- 4) Tropp, C. et al: Z. Physiol. Chem, 262, 210 (1939).
- 5) Tropp, C. et al: ibid, 275, 80 (1942).
- 6) 例えば、館勇：ポーラログラフイー P.392 岩波書店 (1954).
- 7) Wenig, K. and Jirovec, O.: Biochem. Z. 295, 405 (1938).
- 8) Schmidt, H.W.: ibid, 306, 167 (1940).
- 9) Fiala, S.: Chem Listy, 40, 82 (1946), Biochem.Z., 318, 67 (1947).
- 10) Heeren, J.P. and Seuberling, O.: Strahlentherapie, 67, 130 (1940),