水産動物肉に関する研究—XXXX.

魚肉アクトミオシンの種特異性について, その1
粘度とイオン強度との関係

上田侃男・志水 寛・清水 亘

(1963 年 6 月 4 日受理)

STUDIES ON MUSCLE OF AQUATIC ANIMALS—XXXX.

SPECIES DIFFERENCE IN FISH ACTOMYOSIN.

(PART 1). RELATIONSHIP BETWEEN THE
VISCOSITY AND IONIC STRENGTH

Tadao UEDA*, Yutaka SHIMIZU** and Wataru SIMIDU*

Reduced viscosities η_{sp}/C of purified flying-fish actomyosin in aqueous sodium chloride were measured at 10°C as a function of actomyosin concentration C (Ng/100 ml) and NaCl concentration x (ionic strength).

The family of η_{sp}/C vs. C curves obtained for different x was essentially similar to that which had been reported for many other polyelectrolytes such as sodium carboxymethyl cellulose and agar.

The same behavior was found among the several actomyosins prepared from other fishes.

From those data, it was concluded that there was no significant difference in the polyelectrolytic behavior of fish actomyosin from species to species.

骨格筋肉たんぱく質のアミノ酸組成に関する報告¹⁾²⁾から荷電の原因となる種々のアミノ酸が考えられる。塩溶液中ではこれらのアミノ酸の解離によつてミオシン区たんぱくは高分子電解質の挙動を呈していると推察されるが、このような観点から魚肉アクトミオシンの挙動を観察した具体的な実験結果はまだ発表されていない。

本論文は NaCl を添加塩として魚肉アクトミオシンの粘度を種々の塩濃度にわたつて測定した結果をもとにして、魚肉アクトミオシンの高分子電解質的な性格を検討し、魚肉アクトミオシンの種特異性について考察を加えようとするものである。

実験方法

(1) 試料魚 実験に用いた魚はつぎの8種である:

ホウボウ (Sea robin) *Chelidonichthys kum*n (LESSON and GARNOT).

イシモチ (White croaker) *Argyrosomus argentatus* (HOULTUYN).

ウグイ (Fat minnow) *Tribolodon hakonensis hakonensis* (GÜNTHER).

マエソ (True lizard fish) *Saurida undosquamis* (RICHARDSON).

ホシザメ (Star-spotted shark) *Mustelus manago* BLÉEKÉR.

ムシガレイ (Shotted halibut) *Eopsetta grigorjewi* (HÉRZENSTEIN).

* Department of Fisheries, Kyoto University, Maizure, Japan.

** Department of Fisheries, Kinki University, Osaka, Japan.

カワハギ (File-fish) *Stephanolepis cirrhifer* (TÉMMINCK and SCHLÉGEL).

トビウオ (Flying-fish) *Cypselurus agoo* TEMMINCK and SCHLÉGEL.

これらは漁獲後ただちに氷蔵し、3~8 時間後に実験に供した。いずれも硬直中または硬直前の非常に鮮度の良いものであつた。

(2) 試料の調製 うろこ、骨、皮、および血合肉を除き、背肉 10 g をイオン強度 0.05 (pH 6.8) の緩衝液 20 ml とともに 1 分間ブレンダーにかけ、得られた肉糊に 100 ml の塩溶液 ($0.6 \text{ M NaCl} + \frac{\text{M}}{30} \text{ KH}_2\text{PO}_4 + \frac{\text{M}}{30} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$, pH 6.8) を加え、氷水中で 5 時間抽出し、遠心分離 (6000 rpm. 20 min.) を行なつた。その上澄液をイオン強度 0.12 になるまで蒸留水で希釈し、5 時間氷水中に放置したのち遠心分離 (3000 rpm. 10 min.) して沈殿を集め、これをふたたび上記の塩溶液 100 ml に溶解した。この操作をさらにもう一度くりかえし、得られたアクトミオシン沈殿に対して最終塩濃度および pH 値がそれぞれ $0.4 \text{ M NaCl} + \frac{\text{M}}{30} \text{ Na}_2\text{HPO}_4 + \frac{\text{M}}{30} \text{ KH}_2\text{PO}_4$, pH 6.8 になるように塩溶液を加え、三たびその沈殿を溶解させ、1 時間放置後遠心分離 (6000 rpm. 20 min) して上澄液を得、測定に供した。

(3) 粘度測定 上の操作で精製し、 0°C で貯蔵した試料の一定量に $3 \text{ M NaCl} + \frac{\text{M}}{30} \text{ KH}_2\text{PO}_4 + \frac{\text{M}}{30} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ (pH 6.8) を加えて所定のイオン強度に調整し、10~15 分間 0°C に放置したのち、蒸留水で 180 秒 (10°C) の流出時間を持つ Ubbelohde 型粘度計を用いて、個々の測定値のずれが 0.2 秒以内になるように flow time を 2 回測定し、その平均値を測定値とした。測定温度は $10^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$ に調整した。なお DUÉRR J. D., DYER W. T.³⁾ によればタラ肉を食塩水につけた場合、ミオシン区溶解度から考察してイオン強度 1.7 ぐらいの NaCl 濃度で変性がおこるといふ。本報ではイオン強度の範囲を 0.4~2.0 までとして測定を行なつたが測定時間は 30 分以内であるので塩による変性はまずないと考えた。

結果および考察

1. 還元粘度対濃度曲線

Fig. 1 はトビウオ肉から精製したアクトミオシン溶液について 6 段階のイオン強度における還元粘度、

Fig. 1. Reduced viscosity curves of purified flying-fish actomyosin in aqueous sodium chloride at different ionic strength x .

x : Concentration of added NaCl in ionic strength.

η_{sp}/C 対たんぱく濃度 C の関係を示したものである。この直線群の一般的傾向はこれまで多くの研究者によつて報告されている⁴⁾⁵⁾⁶⁾線状高分子電解質のそれと相似である。

本実験での pH 値 (pH 6.8) はアクトミオシンの等電点よりアルカリ側に存在するため、溶液中のアクトミオシンは負に帯電していると推察される。このような条件では Na^+ がそれらの負電荷に働き、アクトミオシン内部の静電的な反撥力を減少させ、粘度減少をひきおこすことが予想される。Fig. 1 はこの傾向を示している。すなわち、塩濃度の増大につれて粘度は減少しており、さらに高塩濃度においてはたんぱく濃度の増大に対して η_{sp}/C の値はほとんど増加せず、たんぱくの電荷が中和され、非電解質のごとき挙動をとっていることが考察される。

2. 固有粘度とイオン強度の関係

Fig. 1 の各直線を $C \rightarrow 0$ に外挿して固有粘度 $[\eta]$ を求め、 $[\eta]$ とイオン強度の関係を Fig. 2 に示した。これによるとアクトミオシン分子は明らかに溶液相の塩濃度によつてその形状を変えていることがわかる。すなわち、イオン強度 0.4~0.8 の範囲で急激な粘度低下がみられるが、この範囲においては伸張状態のアクトミオシン分子が粘度低下をひきおこすような形状 (球状) に変化しつつあることがうかがえる。(イオン強度 0.4 以下の塩濃度ではアクトミオシンは沈殿を生ずるため粘度測定を行なうことはできない。)

ここでもしアクトミオシン分子に種特異性が存在するならば、塩濃度によつておこるこのような変化のよ

Fig. 2. Intrinsic viscosity of purified flying-fish actomyosin plotted against the salt concentration.

Table 1. Intrinsic viscosity of purified actomyosin showed against the salt concentration among several species of fishes.

Species	α	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.5	2.0
Sea robin		2.60	2.20	2.10	2.00	1.90	2.00	1.80
White croaker		2.70	2.30	2.00	2.00	1.90	1.93	1.90
Fat minnow		2.83	2.36	2.10	2.00	1.96	1.96	1.93
True lizard fish		2.67	2.21	2.16	2.03	1.98	1.90	1.90
Star-spotted shark		2.84	2.46	2.20	2.13	2.00	1.93	1.93
Shotted halibut		2.80	2.41	2.15	2.10	2.13	2.10	2.10
File-fish		2.63	2.24	2.13	2.00	1.90	1.96	1.95
Flying-fish		2.50	2.25	2.13	2.10	2.06	2.03	2.03

α : Ionic concentration.

うすになんらかの差異を生じ、おのずから $[\eta]$ とイオン強度の関係は魚種によつて異ならなければならないと考えられる。そこで8種類の鮮度のほぼ同じ試料から得たアクトミオシン溶液についてその $[\eta]$ とイオン強度の関係を求め、比較検討した。その結果を Table 1 に示す。ここに選んだ魚肉は種類によつてその肉質が相当異なっているにもかかわらず、その精製したアクトミオシンの塩に対する挙動には種特異性はまったくといってよいほど見られない。これらの事実からアクトミオシンが塩溶液として存在する場合、その荷電数、 Na^+ の付着する位置等がこれらの魚種間にはたいした相違がないように推察される。さきに著者ら⁷⁾は8種類の新鮮な魚肉から同一条件で抽出精製したアクトミオシンの固有粘度の価を比較して大差のないことを知つたが、その結果とも一致している。

このような結果から水産ねり製品を作るにあたつて経緯される種特異性は、たんぱく自身の種特異性によると考えるよりも、肉に含有されている種々物質の相乗的な効果によつて影響されると考えるべきであろう。

要 約

魚肉アクトミオシンの高分子電解質的な挙動を粘度測定値から調べ、つぎの結果を得た。

- (1) 魚肉アクトミオシンはその食塩溶液において、他の高分子電解質と類似した挙動をとる。
- (2) 魚肉アクトミオシン塩溶液の固有粘度は塩濃度の上昇によつて降下し、塩濃度の減少により増大する。
- (3) 魚肉アクトミオシン塩溶液の固有粘度と塩濃度の関係を8種類の魚種について比較したが大差なく、アクトミオシン塩溶液の固有粘度と塩濃度の関係には種特異性は見られなかつた。

感 謝

本研究を行なうにあたり多くの助言をたまりました京都大学農学部水産学教室岸本昭助教授に感謝の意を表します。

文 献

- 1) KOMINZ, D. R., HOUGH, A., SYMONDS, P., and LAKI, L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **50**, 148 (1954).
- 2) BAILEY, K.: *Biochem. J.*, **43**, 271 (1948).
- 3) DÉURR, J. D., and DYER, W. T.: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **8**, 325 (1952).
- 4) PALS, D. T. F. and HERMANS, J. J.: *Rec. trav. chim.*, **71**, 433 (1952).
- 5) たとえば FUOSS, R. M. and STRAUSS: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 836 (1949).
FUJITA, H. and HOMMA, T.: *J. Polymer Sci.*, **15**, 277 (1955).
- 6) 坂本道太郎・岸本 昭: 本誌, **26**, (1), 25 (1960).
- 7) 上田侃男・志水 寛・清水 亘: 本誌, **28**, (10), 1010 (1962).