上來掲げたる處のみにては、未だ題意に副はざるの嫌なきに非ざれども、實は一般試験法に就ては已に或書に詳なるを以て、今更蛇足を添へるにも及ぶまじとて、他は悉く之を省き、爰に筆を擱くことゝなしぬ。

(完)

○水素イオン含有溶液中の蛋白質に對する鹽類の作用

Verhalten von Eiweiss gegenüber Salzen in Lösungen verschiedener Wasserstoffionenkonzentration.

Compte rendu du XI^{me} congrès international de pharmacie.

Dr. W. E. Ringer. (Utrecht.)

藥學士 石原 絜行 譯

酸と鹽基との關係、蛋白質と鹽類との關係は共に古來多數の研究を存すれども就中蛋白質と鹽類との關係は最近多大の發達を致せる物理化學並びに膠狀化學を俟たざれば理論的研究をなす能はず。

蛋白質は溶液内に於て獨立分子として溶解し且つ分子と溶媒との關係上往々眞性溶液として取り扱ふべき狀態を呈す。同時に膠狀溶液の形を呈することも亦尠からずして兩者の限界を嚴重に區別することは困難なり。

蛋白質は電解質によりて溶液中に於て多大の影響を受くれども非電解質によりては何等特別の影響を受けることなき事實は從來研究せられたるものにして酒精が水溶液等より蛋白を沈澱せしむ

る作用は電氣的見地に關係なくたい酒精類は蛋白質の非溶解物質たると同時に蛋白中に含有せらるゝ水分を吸収して固化せしむるものなりとす。

電解質は稀薄溶液に於て既に蛋白質に對し特異の現象を呈するを以て F. Hofmeister 氏等を初め多數の學者は鹽類の蛋白質に對する關係を詳細に研究せり。Hofmeister 氏はナトリウム鹽類につきてその蛋白沈澱作用の強度に従ひてこれを階級的に列べたりしが後に至りその順序は必しも絶對的の物に非ず酸又はアルカリの微量の存在によりて甚しき差を生ずることを發見せり即ち蛋白質と鹽との間には水素イオン及水酸基イオンの著しき影響を有すること分明せり。

蛋白質は多くの場合に於てアミノ酸の形狀を有するを以て Berthel 氏既に兩性電解質の名稱を與へたり即ち蛋白質は水素及水酸基の兩イオン狀態を以て他の物質と結合し得べく且つ結合せし物をイオンの直接定量より研究するに著しく電導度の減少を證明し得べきことは嘗つて Bugarsky, Liebermann の兩氏によりて發表せられたり。而してこの現象は果して何に源因するやにつきては多數の學者の各々見界を異にせし處にして或る者は化合によると論じ他の者は吸収によると主張せしが、これを前者の化合によるものと考ふれば一定量の蛋白に酸又はアルカリの種々の量を加へ水素イオン濃度を檢するに蛋白の代りに酸又は鹽基を用ひこれにアルカリ又は酸を加へたる場合に生ずるが如き現象と相違するを以て俄に斷定し難くなほまた吸収によるものと考ふる際にはイオン結合の理論上の狀態と稍々甚しき相違を生ずるを以てこれ亦確實なりと斷定すること能はず。加之、蛋白等の如き兩性的電解質は酸枝と鹽基枝とが相互に作用して互にその力を弱められ且つ他の酸、アルカリとの結合は加水分解によりて容易に分解せらるゝを以て多數の學者の熱心なる研究にも關せず今尙は確定せる化合物を抽出する能はず、縱令これを得たりとするも蛋白質、酸、アルカ

りの各の濃度によりて多大の影響を被るべきこと容易に推察せらるべし。而してこれ等結合の状態に關しては Hardy, Moore 兩氏の研究あり、兩氏は一鹽基性強酸に相當量のグロブリンを溶解せしめし場合のグロブリンの量と二鹽基性強酸及び三鹽基性強酸にグロブリンを溶解せしめし時とを比較せしに二鹽基性酸の時は、一鹽基性酸の場合に要せしグロブリンの二倍量を、三鹽基性酸の時は三倍量を要せりと云ふ。この事實より Hardy 氏は、プログリンは酸と分子的結合をなすと發表し、Moore 氏は上記反應の際過剰の酸を滲透作用によりて溶液中より抽出し滲透器外側の遊離酸を定量して Hardy 氏の理論を保證せり。

蛋白溶液に酸又はアルカリを添加する時は、溶液の粘稠度を増大する事實は重大なる現象にしてその際蛋白は陰性又は陽性の電荷を所有す。近時 Rona, Michaelis の研究によれば蛋白は中性反應を呈する時に於ても微少の電荷を有す。

而して(一)と(+)とは同量に存在す。今、水素イオン濃度を P_H にて示せば攝氏十八度に於て一般の蛋白は $P_H = 7.097$ (Soerensen 氏によれば $P_H = 7.070$) を有し最少電荷即ちイソエレクトロツシの點に於ては Serumalbumin, Serumglobulin は $P_H = 5.509$ od. 5.444, Kasein は $P_H = 4.745$, Oxyhaemoglobin は $P_H = 6.745$ を示す。

譯者附言——Isoelectric の状態とは膠狀溶液に於ていづれの方角に於ける電氣的運動も停止し電解質の極めて少量を加ふるも沈澱を生ずる状態を云ふ。

蛋白質の粘稠度はイソエレクトロツシの場合最少にしてその點を遠ざかるに従ひて増加す、即ち粘稠度は蛋白のイオン化傾向によりて支配せられこの際蛋白は最大の抱水状態にあるを以て酒精又は加熱により沈澱すること最も容易なりとす。のみならず或る種の蛋白に於てはイソエレクトロツ

シの場合には全然不溶解性となるものさへ存在す。故にこの點に於て蛋白分子と溶媒とは關係最も僅少なりと考へ得べく電荷の消失と共に蛋白は析出せんとする傾向を有すべし。

Serumalbumin のイソエレクトリックシの點の關係につきては興味多き事實あり、今、該蛋白を長時間滲透作用によりて電解質を分離せるものに漸次酸を加ふれば最初は粘稠度減少するも暫時の後再び増加し初め、遂に更に減少し初むべし。Pauli, Handowsky 兩氏は 0.016 N の鹽酸溶液を用ひ粘稠度最高の點を研究せり。この最高點の位置は蛋白溶液の濃度に關係すること勿論にして濃度大なれば點の位置も亦高きを普通とす。吾人が實驗せし結果を表示せば次の如し。表中の實驗は溫度攝氏十八度にして毎回二・二四%の Serumalbumin 二十cc に水又は鹽酸水溶液を加へ總容量二十五cc とせるものにして Ostwald 式粘稠計を用ひ實驗せり。

第 壹 表

回 數	鹽酸水溶液定規數		粘稠度(秒間)
	0		
1			121.7
2	0.00864 N		128.0
3	0.01295 "		141.8
4	0.01727 "		157.8
5	0.02158 "		170.3
6	0.02590 "		178.6
7	0.03022 "		185.8
8	0.03454 "		187.6
9	0.03885 "		185.2
10	0.04315 "		181.0

11	0.04749	"	176.2
12	0.05611	"	168.2
13	0.06476	"	162.0
14	0.08633	"	153.2
15	0.1079	"	148.0
16	0.1295	"	144.4
17	0.1727	"	140.0
18	0.2137	"	137.9

粘稠度は○・○三四五定規鹽酸水溶液の際最大の滴數を示す。

粘稠度の測定の一條件として忘るゝからざることは時間の關係なり。第一表第五回の實驗は當時一七〇・三の滴數を示せども二十四時間後に至れば一五九・〇に減少し又第十回に於ては二時間後一七七・四、二十四時間後は一六六・三と減少す。同時に P_H の價にも變化を生じ従つて電導度にも影響す。第二表はこの關係を示す。

第 二 表

0.0194 N 鹽酸水溶液使用

時間後 即 後	粘 稠 度	P_H	電 導 度
2	155.4	3.460	1.322×10^{-3}
4	146.3	—	—
6	142.6	—	—
24	138.1	—	1.319×10^{-3}
	131.1	3.573	—

(酸なき溶液の粘稠度は 124.3)

第二表にりて見るが如く加酸せる蛋白質の粘稠度は短時間内に加酸せざる元來の蛋白質と同様の状態に達せんとする傾向あり、而して酸性の減少、 P_H の増大、粘稠度數の減少は明かに蛋白質の分解せることを示す。十八度、弱酸に於てすら既に著明の分解を示せり。この際溶液は全然透明にして蛋白の析出を認むること能はず。

蛋白に酸又はアルカリを結合せしむる際起るべき状態を Hardy, Pauli, Handorsky 等の諸氏は次の如く想像せり。

即ち一般の蛋白質に於ては $-\text{NH}_2$ 基、 $-\text{COOH}$ 基以外の物は酸又はアルカリと反應することなしと結論せり。而して蛋白分子中幾何のこれ等反應性のアミノ基、酸基が存在するかに至りては現時尙ほ詳細なる研究を有せざるを遺憾とす。然れども嘗て述ぶるが如く二三の學者は蛋白と鹽基又は酸との最大結合量を研究せるあり (但しこの際蛋白は分解して結合せるに非ずとす)。Brailsford, Robertson 兩氏は Kasein についでその一瓦は 180×10^{-5} の鹽基當量 (Basenaquivalente) と結合し且つ分子量は大約八八〇〇なるを以てカゼイン一瓦分子は十六倍當量の鹽基と結合せざるべからず、而してカゼインの分子構造は數多の側鎖を有せる $-\text{O}-\text{O}-$ 核より成立せるものな

るべく窒素の僅少部分がアミノ基として存在せるならむと推論せり。この他 Edestin 一瓦は 127×10^{-3} の酸當量 (Säureäquivalente) と結合し分子量は七〇〇〇なるを以て窒素の十%が反應性アミノ基となりて存在せるなるべしと云ふ。然れども Edestin の場合は甚だ實際を距る理論にしてヘキソン鹽基より推論せる蛋白と酸との結合状態を考ふればこの際の強烈なる結合を説明するに甚だ不都合を感ずべし。蓋し Edestin は、Arginin 11.7%、Lysin 1%、Hystidin 1.1% を有し就中アルギニン はアミノ基一個を有せるのみにして到底 Brailford, Robertson 兩氏が單に過大なる酸當量より計算して得たる反應性アミノ基の數は Edestin 中に實在する少數の反應性アミノ基實數を説明するに難かるべし。

Ovalbumin の Erle 氏による酸當量もアミノ基實數に對し甚しく大なりこの物質は一瓦につき 152×10^{-3} の酸當量を要し分子量五四〇〇なるを以て三十五個の反應性アミノ基を有せざるべからず。これ等の理由より Robertson 氏は從來の説明法を變更して蛋白と酸又はアルカリとの結合を左の如く説明せんと試みたり。

Robertson 氏のこの假定は蛋白と酸又は鹽基類との化合物は酸イオンをも(例へば鹽素イオンの如き)亦金屬イオンをも(例へば苛性加里と結合せる際の加里イオン、水酸化カルシウムと結合せる際のカルシウムイオンの如き)遊離存在せしむることなしとの同氏自身の説をも完全に説明すべし。

Vernon 氏は蛋白の加水分解成績體のすべては蛋白その物よりも極めて僅に多量なる鹽基素と結合するに過ぎざることを發表せり。上式の示す如く Robertson 氏の假定せる —C(OH)—NH— なる蛋白の分子部分は酸又は鹽基と反應して C、N を各別に含有する二部分に分裂することは想像し得べきもこれ等が多數のイオンに分解するや否やは今日尙は未定の問題なりとす。この假定はアミノ基以外の窒素が酸又はアルカリと反應し得べきことを示すを以て蛋白中のアミノ基實數が少數なる場合にも大なる酸當量の説明に何等の痛痒を感ずることなし。

飜つて蛋白に對する鹽類の影響を考ふるに Hofmeister, Pauli, Höber 等の諸氏の後を受けて Bugarsky, Liebermann 氏の研究あり、兩氏は理論化學の上に基礎を置きて實驗し蛋白は一般に食鹽によりて化合體を造ることなし換言すればクロールイオンは蛋白と結合することなきを發表せり。然るに Hardy 氏はグロブリンに對する食鹽の作用を研究して兩者間に化學的結合を生ずることを發見せり。即ち水に不溶性のグロブリンは酸、アルカリのみならず鹽の作用を受けて可溶性となることを知り次の如き反應を確信せり。

この際食鹽溶液の電導度は僅に二・四%以内の減少を示す、こは非電解質によりてイオン運動を妨害せらるゝによると考へたり。この結合反應は濃溶液に於ても尙は行はると云ふ。グロブリン一瓦は 10×10^{-5} のアルカリ當量を要し 1000×10^{-5} od. 2000×10^{-5} の食鹽當量を要す。

吾人は嘗つて水素イオン、水酸イオンによりて蛋白質は粘稠度を増加することを記述せり。今中性蛋白溶液に中性鹽類を加ふる際には粘稠度に何等の變化を認むること能はず、但し濃度大なる際に

は却て粘稠度の低下を來すこれ沈澱を析出する原因なり。加之、中性鹽溶液中にては蛋白は何等の電荷をも得ざること酸溶液、アルカリ溶液の際と異なる處なし。この際に於て粘稠度の低下は同時に蛋白の電荷を多少減少す而して電荷を失へる蛋白はアルコール、加熱等によりて容易に沈澱すべし。かゝる現象より考察せば蛋白と鹽との間には特別の化學的結合を有せざる様に考へらる。然れども Hardy, Pauli, Handovsky 等の諸氏は化學反應説を主張す。その原因とする處は蛋白と酸との結合せる物に鹽類を加ふれば酸性の増加を來すに理由せるものにして式にて示せば次の如し。

(Nach Hardy.)

(Nach Pauli e. Handovsky.)

而してアルカリ蛋白結合體に中性鹽を加ふるもアルカリ性を増加することなしとす。而して上式の如く二次反應を終了せる換言すれば最後の化合物は電解的性質と粘稠性とを併せて低下すべし。酸性の増加に關する問題は電氣的方法によりては到底證明不可能なるも Sørensen 氏によれば標示藥によりては明かに證明し得べしと云ふ。

同様の研究をなしたる Chick, Martin 兩氏によればグリココールと酸との溶液に中性鹽を加ふるも酸性の増加を來すことなく却つて低下を生すべし蛋白と酸との溶液の場合も同様なりと論ぜり、且つ兩氏は蛋白とアルカリとの溶液に鹽を加ふればアルカリ性は減少し中性に近づくことを發見せ

りその理由に至りては尙ほ説明の道なし。
B. Robertson 氏はこれ等の事實に附するに次の如き理論を以てせり。

1). Alkali-eiweiss + Salz:—

2). Säure-eiweiss + Salz:—

第二式による時は Hardy, Pauli, Handovsky, 三氏の實驗による酸蛋白結合體溶液に中性鹽を加ふる時は酸性反應の増加を生ずる説明容易なるべく第一式による時はアルカリ蛋白結合體溶液に中性鹽溶液を加ふる時はアルカリ性の増大を來すことなく中性に傾く説明を得べし。Schrjver 氏が Globulin につきて鹽の關係を研究し鹽はグロブリンの溶解度を増加する性質を有すと發表し Hardy 氏はこれを兩者間の化學反應によると論歸せり。

次いで Pauli, Samet 兩氏は蛋白の鹽に對する反應を研究し蛋白はアルカリ鹽類の溶解度を増大せざれども重金屬鹽類の溶解度を著しく増大することを知りこの際蛋白は鹽類の Schutzkolloid として

て働くものならむと論ぜり。

譯者曰、Schutzkolloid とは膠狀液を調製するに當り物質に膠性を與へこれに永久性を與ふるため添加する物質にして多くはアラビヤゴム等を使用す。

この他 Pfeiffer, Modolski 兩氏も蛋白と鹽との結合を研究し Aminosäure, Polypeptide 等より LiCl , CaCl_2 等々の化合物を得たり。

Pauli 氏は長時間滲透せる蛋白質につきて研究したり。この際に於ては滲透作用によりて電解質を殆ど含有せず殆どイソエレクトリックの狀態にありこの物はアルカリ鹽の濃厚溶液によりて沈澱を生ず、而して滲透作用を受けざる一般蛋白(通常の蛋白質は中性か又は微アルカリ性なり後者の場合には僅少の陰電荷を有す)と相違して二價金屬 $\parallel$ 亞鉛、水銀、鐵、鉛 $\parallel$ の稀薄溶液によりては沈澱を生ずることなし。蓋し、イソエレクトリックの點即ち電荷最少の場合に於ては二價金屬鹽よりもアルカリ金屬鹽の方一層不鋭敏なり、蛋白に電荷を與ふれば鹽に對する反應は變化す。蛋白に對するアルカリ鹽類の沈澱作用は陽電荷(酸を添加して)の際も陰電荷(アルカリを加へて)の際も大差なく共に増加す。

これに反して二價金屬鹽類の場合には蛋白に陰電荷を有せしむる際にのみ沈澱を生ず。故に通常蛋白又は長時間滲透作用を施行せるアルブミン溶液に痕跡のアルカリを加へ陰性電荷を與へ昇汞を加ふれば甚だ僅少量を加へたる場合にも著しき沈澱を生ずされども蛋白溶液を醋酸の少量にて陽電荷を與へ昇汞の多量を加ふるも沈澱を生ずることなし。但し鹽のアニオン基が強大なる沈澱作用を有する際——例へば SO_4 基を有する場合には特別の現象を呈す。加熱によりて變性せるアルブミンに陽電荷を與ふれば CuCl_2 によりては沈澱することなく CuSO_4 , K_2SO_4 によりて沈澱す、然

れども陰電荷を與ふる時は CuCl_2 によりては沈澱せず K_2SO_4 等によりては沈澱することなし。

かくて上記の數例を通論するに蛋白の鹽による沈澱作用は大體に於て二種に分類し得べし。一はイオン關係より他は鹽の脫水作用に原因す、而して第一の場合も第二の場合も共に各々二つの相に更に分類し得べく一相は蛋白多量、水分少量の時他の一相は水分多量、鹽多量の場合なり。一般に第一のイオン關係による際は第二の場合よりも沈澱硬質なりとす。

昔時より一般に使用せられたる蛋白沈澱劑、Phosphorwolframsäure, Ferrocyankali, ピクリン酸、ピクリン酸鹽、膠性水酸化鐵、カオリン等に於て水酸化鐵以外の物は全部陰性沈澱劑とも命名すべきものにして、フオスフォルウオルフラム酸イオン、 $\text{Fe}(\text{CN})_6$ イオン、ピクリン酸イオン、陰性カオリン等は單に陽性蛋白を結合する物なるを以て酸性液中にて反應せしむるを要す。膠狀水酸化鐵のみは陰性蛋白を取る。

Höber, Pauli 兩氏は如斯電氣的見地より發達せる蛋白と鹽との關係を利用し嘗つて試みられたる蛋白沈澱力の多少に従ひ鹽を順列せんとせる方法を再び研究し理論と實際とが殆ど一致することを確信せり、これによれば陽性電荷を有せしめられたる蛋白が Anion によりて沈澱する程度は $\text{CH}_3 \vee \text{COO} \vee \text{Cl} \vee \text{NO}_3 \vee \text{Br} \vee \text{I} \vee \text{SCN}$ の順序に従ひ陰電荷を有するものはこの逆に配置せらる。Kation の時も同様の事實存在す。

最後に吾人は尙ほ他の現象——殊に重金屬鹽に於て著しき——を論せん。グロブリンの弱アルカリ性溶液に僅少の硫酸銅を加ふれば著明の沈澱を析出し硫酸銅の量を漸次増加するに従ひて沈澱は消失しこれに更に硫酸銅の多量を加ふれば再び沈澱を生ず、この現象は恐らく先づ第一に鹽によりて蛋白のイオン性減少し沈澱を生じ鹽の漸増によりて蛋白はイオン性を回復して溶解し沈澱消失

し鹽の濃度更に大となれば蛋白質は再びイオン性を消失し同時に鹽の脫水的作用によりて沈澱を生ずるなるべし。Robertson 氏はされども次の如き反應式を考出せり。

中等濃度の蛋白透明溶液に於て——

非常に稀薄なる溶液に於ては——

濃度甚だ大なる溶液中にては次の如き不溶解性無水物を形造るならむ——

以上は一種の鹽の存在に於ける蛋白質の反應を論せるものなるが多數の鹽の混在する場合には一層複雑なる反應を呈すること明なり。かくて次の如き結論に達すべし。

一、蛋白と鹽との交互作用は水溶液中に於て蛋白の電氣的性質に關係す。

二、イソエレクトリックシの點に於ては蛋白と鹽との交互作用は絶無なるか又は殆ど零に近きものとす。只、鹽の濃度大になる時に蛋白は物理的に鹽析せらる。

三、電氣的性質を有する蛋白と鹽とは交互作用を營む。