



Title	水産動物肉蛋白質の變性に関する研究：(第1報) 水溶性蛋白質の熱凝固について
Author(s)	高木, 光造
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 1(1), 28-34
Issue Date	1950-12
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/22673
Type	bulletin (article)
File Information	1(1)_P28-34.pdf



[Instructions for use](#)

水産動物肉蛋白質の變性に關する研究

(第1報) 水溶性蛋白質の熱凝固について

高 木 光 造 (水産食品化學教室)

STUDIES ON THE DENATURATION OF THE MARINE ANIMAL PROTEIN

1. ON THE HEAT-COAGULATION OF WATER SOLUBLE PROTEIN.

Mitsuzo TAKAGI

(Faculty of Fisheries. Hokkaido University.)

In recent years, many investigators have made various studies on the denaturation of the proteins arising from various causes. And the studies on the denaturation of the marine animal protein has been attempted by many investigators, such as W. Shimizu, and so on.

Although the results of those studies are known in some degree, the author has studied the problem from another point of view. That is, the author has studied the heat coagulation of the marine animal proteins (the author used *Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup, *Limanda herzensteini* Jordan et Snyder, *Auxis hira kishinouye*, *Sebastichthys trivittatus* Hilgendorf as samples) and influence of various salts on the heat coagulation (sample: *Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup).

The principal results are summarized as follows:

1) According to the results of the author's study on the heat coagulation curves of the marine animal protein extracted by distilled water, water soluble proteins consists of two kinds of proteins differing at the coagulating point, and the coagulating point and curve of the proteins were discussed in connection with the surrounding temperature and the wideness of range of the marine animals.

2) The author has studied the influence of various salts on the heat coagulation and the change of hydrogen ion concentration. From the experimental results obtained, the author suggested that the denaturation of the protein added with salts by heat will be mainly caused by the exchangeable absorption of electrolytic ions. This absorption took place in the outside of the ionic double layer of protein molecules when the concentration of salt solution is low. And the denaturation will also take place by physical absorption of protein molecules when the concentration of salt solution is high.

1 緒 言

種々の原因により蛋白質はその状態及び性質を變化するがその中熱による變性は最も古くから着目せられ、随つて最もよく研究せられて來た現象である。熱變性の起るのは大體に於て可溶性蛋白質例

えば Albumin, Globulin 等に限られており、これらの蛋白質が變性した場合には水及び稀薄塩類溶液中の溶解力及び膨潤力が失われる。而してこの現象は温度、時間、溶液の反應、水の存在及び溶液中に存在する電解質の性質と濃度等によつて影響せられ、特に水が存在しなければ變性は起らない事は Chick & Martin¹⁾ 兩氏が Egg-Albumin について認めている所である。蛋白質の變性及び凝固に對する溶液の pH 並びに電解質の影響に關しては同じく Chick & Martin¹⁾ 兩氏が結晶 Egg-Albumin に付き、Weber²⁾ 氏は筋肉蛋白質につき報告している。同氏等によると溶液の pH が蛋白質の等電點に相當する pH に於て最も速かに變性し又最もよく凝固したと云う。而して電解質の影響は變性に於てはその存在は變性の速度を緩めるが、凝固に於ては逆にその速度を速め酸性溶液に於ては變性蛋白質粒子は+に荷電し陰イオンにより沈澱せられ、アルカリ性溶液に於ては陽イオンによつて沈澱せられる。而して之等の添加イオンの影響は原子價數によりその作用能力は異なり、價數の増加と共にその影響も大となることが一般に認められている。

水産動物肉蛋白質の熱凝固に關しては清水氏が諸種の水産動物肉蛋白質の稀薄食塩水抽出液につき實驗し、各々凝固點を異にする2種類の蛋白質即ちミオゲン (Myogen) とミオシン (Myosin) より成る事を報告している。加熱による水産動物肉蛋白質の状態の變化を知ることは生理學上並びに各種の水産食品製造上に極めて重要な事であり、而して蛋白質資源の乏しい我が國に於て水産動物肉蛋白質を最も有効に又高度に利用する道を拓くの急務なることは何人も認める所である。そのためには水産動物肉蛋白質に關する基礎的研究が必要であり、その一端として各種水産動物肉蛋白質の熱凝固と熱凝固に對する諸種の塩類の影響を試みた次第である。

2 實驗結果並びに考察

1. 水産動物肉蛋白質の熱凝固

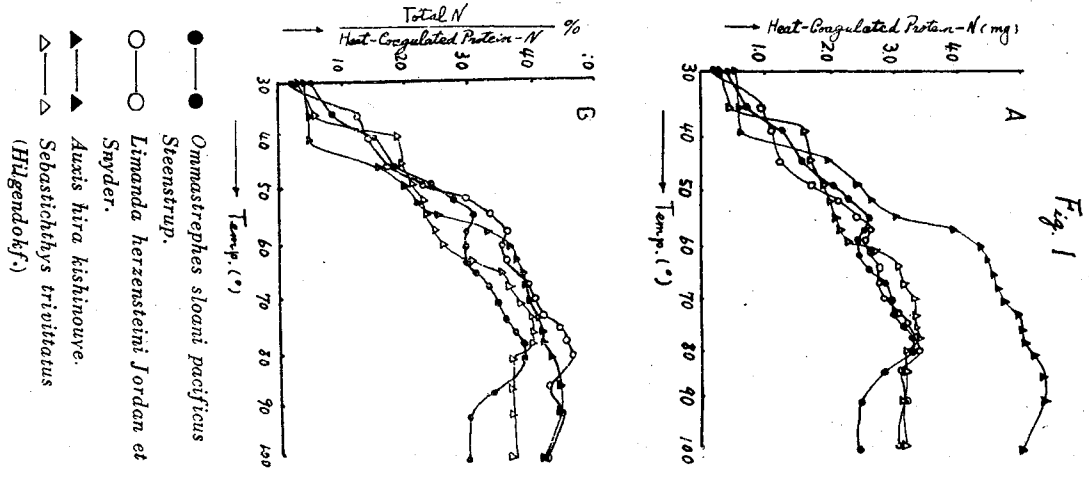
試料：一本實驗に用いた水産動物肉蛋白質は夏季 (7月~8月) 函館近海に於て漁獲せる極めて新鮮なるものを用い、種類としてはイカ (*Ommastrephes sloani pacificus Steenstrup*)、マガレ (*Limanda herzensteini Jordan et Snyder*)、ヒラソウダ (*Auxis hira Kishinouye*)、シマゾイ (*Sebastichthys trivittatus (Hilgendorf)*) の4種を用いた。

實驗方法：一新鮮なる精肉を採取し、其の挽肉 100g につき 400cc の蒸留水を加え、更にトルオールを數滴加えて1時間攪拌した後1cmのバルブ層にて吸引濾過して水溶性蛋白質原液 (嚴密には細胞中の無機物質により極めて稀薄なる塩類抽出液である) を調製した。次いでこれを10cc宛試験管に採り各種温度の温水浴中に振盪しつつ10分間浸漬後直ちに冷水にて冷却、濾過したる濾液5cc中の窒素を定量し原液5cc中の窒素量から減じて凝固せる窒素量を算出した。第1表並びに第1圖はその實驗結果を示したものである。

以上により各種水産動物筋肉水溶性蛋白質中凝固窒素の大部分は55°~65°に於て凝固することが解る。これは Fürth³⁾ 氏により指摘せられた如く筋漿中の3種の蛋白質即ちミオシン (Myosin), ミオゲン (Myogen), 及び可溶性ミオゲンフィブリン (Soluble Myogenfibrin) の中最も多量に存在するミオゲンに相當している事はいう迄もないが、本實驗に於ける水溶性蛋白質 (嚴密には筋肉中の塩類の稀薄水溶液) 中には凝固點の低いミオシンの1部が溶出している事は想像するに難くない。即ち本實驗に於ける水溶性蛋白質の熱凝固は何れも2階段に於て起り「イカ」に於ては第1段は40°附近より始まり55°で終り、第2段は65°附近より始まり80°で終つている。「マガレ」に於ては第1段は3°附近より凝固し始め57.5°で終り第2段は前者と同じく65°附近より始まり80°で終つている。然るに

Table 1.

Temp. (°)	[<i>Ommastrephes sloani pacificus</i> Steenstrup] pH; 6.2, Total-N; 8.373mg		[<i>Limanda herzensteini</i> Jordan et Snyder] pH; 6.4, Total-N; 7.219mg		[<i>Auxis hira</i> Kishinouye] pH; 5.8, Total-N; 11.983mg		[<i>Sebastichthys trivittatus</i> (Hilgendorf)] pH; 6.4, Total-N; 8.604mg	
	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	Heat-coagulated Protein-N % Total-N	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	Heat-Coagulated Protein-N % Total-N	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	Heat-Coagulated Protein-N % Total-N	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	Heat-Coagulated Protein-N % Total-N
30.0	0.422	5.0	0.212	2.9	0.531	4.4	0.377	4.3
35.0	0.715	8.5	0.917	12.7	0.605	5.0	0.450	5.2
40.0	1.301	15.5	1.100	15.2	0.605	5.0	1.660	19.2
45.0	1.565	18.6	1.283	17.7	1.997	16.6	1.697	19.7
50.0	2.034	24.2	1.723	23.8	2.437	20.3	1.843	21.4
52.5	2.328	27.8	2.162	29.9	2.661	22.2	1.990	23.1
55.0	2.621	31.3	2.445	33.8	3.097	25.8	2.063	23.9
57.5	2.510	29.9	2.603	36.0	3.976	33.1	2.136	24.8
60.0	2.474	29.5	2.529	35.0	4.343	36.2	2.283	26.5
62.5	2.474	29.5	2.603	36.0	4.489	37.4	2.649	30.7
65.0	2.621	31.3	2.749	38.0	4.563	38.0	3.016	35.0
67.5	2.841	33.9	2.822	39.0	4.636	38.6	3.162	36.7
70.0	2.914	34.8	2.896	40.1	4.709	39.2	3.382	39.3
72.5	2.987	35.6	3.042	42.1	4.929	41.2	3.382	39.3
75.0	3.160	37.7	3.188	44.1	4.988	41.6	3.382	39.3
77.5	3.207	38.3	3.262	45.1	5.002	41.8	3.382	39.3
80.0	3.207	38.3	3.334	46.1	5.149	43.0	3.162	36.7
85.0	2.767	33.0	3.042	42.1	5.296	44.2	3.162	36.7
90.0	2.474	29.5	3.178	44.0	5.296	44.2	3.162	36.7
100.0	2.474	29.5	3.042	42.1	4.929	41.2	3.162	36.7



「ヒラウダ」に於ては前二者と異つて凝固點が高く第1段は45°附近より凝固し始め65°附近で終り第2段は70°より凝固し始め90°附近で終つてゐる。又「シマゴイ」に於ては凝固の2階段は明確には見ることを得ず、即ち40°附近より凝固し始め70°附近で終つてゐる。これを總括するに各種水産動物筋肉水溶性蛋白質中には凝固點を異にする2種類の蛋白質質群の存在する事が知られる。この事は清水氏¹⁾の實驗結果とよく一致するものであ

り、而して魚種により夫々凝固点を異にするは各々棲息の環境温度に適合した結果に由来するものでなからうか。即ち「ヒラソツダ」は「マガレ」「シマゾイ」に比し環境温度は高く随つて低温度にて凝固する窒素の割合は少く又凝固点も高かつたと推論し得られる。尙近藤氏⁵⁾及び共同研究者によれば蛋白質は同種類間に於ても多数の基成分團の集合であつて環境により蛋白質の組成が常に一定するものでなく彷彿變異することが認められてゐるが「ヒラソツダ」の如く廻游性の魚類にありては環境に対する温度の適應範圍は狭く、随つて凝固曲線の傾斜は比較的急であつたが「マガレ」「シマゾイ」の如く沿岸に棲息する魚類にありては四季を通じて漁獲され環境に対する温度の適應範圍は廣く、随つて凝固曲線の傾斜は比較的緩かであつた。「イカ」に於ては廻游性の動物であるが北海道に於ては6月から12月の6ヶ月間に互り漁獲され環境温度に対する適應範圍も甚だ廣く、随つて凝固曲線の傾斜は比較的緩かであつたように思われる。この事も今後の實驗に於て更に究明したいと考えてゐる。

II 水産動物肉蛋白質の熱凝固に対する諸種塩類の影響

試料及び實驗方法：一本實驗に使用した試料は秋季(9月~10月)函館近海に於て漁獲された「イカ」のみを用い前記同様の處理をして得られた水溶性蛋白原液 5cc に種々なる濃度の塩類溶液 2.5cc を加えて 60° の温水浴中に前記同様處理して凝固せる窒素量を算出した。而して實驗に用いた塩類は NaCl, Na₂SO₄, Na₃-Citrate, CaCl₂ であり、pH は比色法により測定した。

1. 蛋白溶液が等電點 (pH: 5.30) よりアルカリ側にある場合

A. 陽イオンの影響

陽イオンの影響を比較するために使用せる塩類は NaCl, CaCl₂ の如き塩化物を用いた。第2表及び第2圖はその實驗結果を示したものである。

Table 2. Influence of Cation.

[*Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup]

pH; 6.2, Temp.; 60°

Total-N in 5c.c.; 6.015 mg.

Concentration(N)	NaCl		CaCl ₂	
	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH
0	1.251	6.4	1.251	6.4
0.1	1.251	6.3	1.544	6.1
0.2	1.397	6.3	1.838	5.8
0.3	1.544	6.2	1.983	5.4
0.4	1.691	6.2	1.691	5.3
0.5	1.838	6.1	1.544	5.2
0.6	1.983	6.1	1.397	5.2
0.7	2.055	6.0	1.397	5.2
0.8	1.397	6.0	1.397	5.2
0.9	1.397	6.0	1.397	5.2
1.0	1.397	6.0	1.397	5.2

B. 陰イオンの影響

陰イオンの影響を比較するために使用せる塩類は NaCl, Na₂SO₄, Na₃-Citrate の如き Na-塩を用いた。第3表及び第3圖はその實驗結果を示したものである。

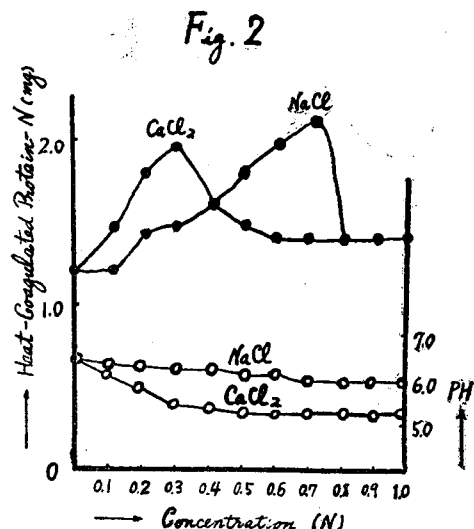
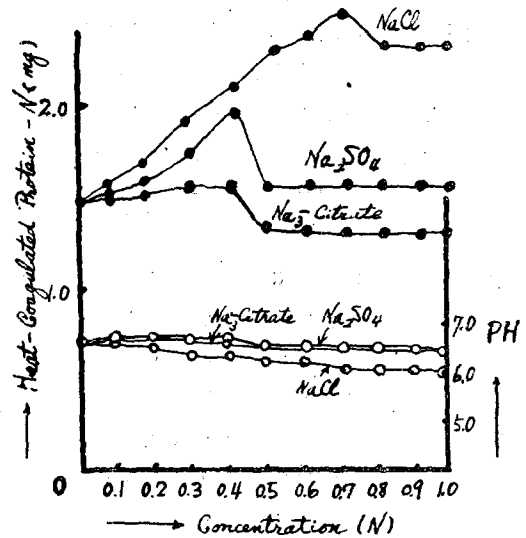


Table 3. Influence of Anion.

[*Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup]
pH; 6.2 Temp; 60° Total-N; 5.668 mg.

Concentration (N)	NaCl		Na ₂ SO ₄		Na ₃ -Citrate	
	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH
0	1.491	6.4	1.491	6.4	1.491	6.4
0.1	1.637	6.3	1.549	6.4	1.520	6.4
0.2	1.784	6.3	1.667	6.4	1.564	6.4
0.3	1.930	6.2	1.784	6.4	1.564	6.4
0.4	2.076	6.2	1.933	6.4	1.564	6.3
0.5	2.222	6.1	1.637	6.3	1.344	6.3
0.6	2.369	6.1	1.637	6.3	1.344	6.3
0.7	2.517	6.0	1.637	6.3	1.344	6.3
0.8	2.268	6.0	1.637	6.3	1.344	6.3
0.9	2.268	6.0	1.637	6.3	1.344	6.3
1.0	2.268	6.0	1.637	6.3	1.344	6.3

Fig. 3



以上より一般に塩類の添加により熱凝固の速度は速められるが、蛋白溶液が等電点よりアルカリ側に於ては変性蛋白粒子は-に荷電し陽イオンによつて沈澱せられ塩類溶液の濃度が低濃度(0-0.4N)に於てはCa²⁺>Na⁺の順で2價の陽イオンは1價の陽イオンより沈澱能が大であつたが高濃度(0.5N以上)に於てはこの関係は逆轉している。即ちCaCl₂の沈澱能は60°に於ては0.3Nの濃度にて最大となるがNaClの沈澱能は0.7Nの濃度にて最大値を示し、何れにおいても凝固窒素は一旦減少して以後恒量を保つに至つてゐる。又pHの變化は蛋白質の沈澱が最大値を示す點迄は徐々に變化するが、その後は一定となつた。而してCaCl₂の場合にはNaClの場合よりpHの變化は著しかつた。

陰イオンの沈澱能は蛋白溶液のpHが等電点よりアルカリ側にあるときはCl⁻>SO₄²⁻>Citrate³⁻の順でありNa₃-Citrateの場合には凝固窒素は反つて減少している。而してpHの變化は殆んど起らなかつた。

これを要するに蛋白溶液が等電点よりアルカリ側に於ては蛋白質はAcidoidとして行爲し(Cationによつて沈澱せられろが稀釋溶液に於けるCationの吸着は界面に於けるイオンの複層の外側の可動層に於ける交換吸着機作によるものが支配的であると見られ、溶液の濃度が漸く濃厚となり吸着媒の解離傾向が抑壓される頃から吸着媒の同極性部分のイオンに對する物理的吸着が支配的意義を示すに至ると思われる。随つてpHの變化はイオンの複層の外側の可動層に於ける陽イオンの交換吸着が行われる迄は徐々に變化するが物理的吸着が行われるに到り一定となることが了解し得られる。同様に蛋白溶液が等電点よりアルカリ側に於てはイオンの複層の可動層に於ける陰イオンの交換吸着は殆んど行われず、随つてpHの變化も殆んど見られなかつたのではなからうか。而してCaCl₂の場合には濃度の増加と共に蛋白粒子の荷電に變化を及ぼし凝固窒素の一部が再び分散せられたものと解せられる。之等の點はpHの變化より見て推察される所でありChick & Martin兩氏もEgg-Albuminについて觀察している所である。

2. 蛋白溶液が等電点(pH: 5.3)より酸性側にある場合

前記の如くして調製せる抽出液 300cc に對し $1/10$ NHCl 50c.c. を加えた。然る時は pH4.0 なる蛋白原液を得たのでそれを使用した。

A. 陽イオンの影響

陽イオンの影響を比較するため前記同様 NaCl, $CaCl_2$ の如き塩化物を用いた。第 4 表及び第 4 圖はその實驗結果を示したものである。

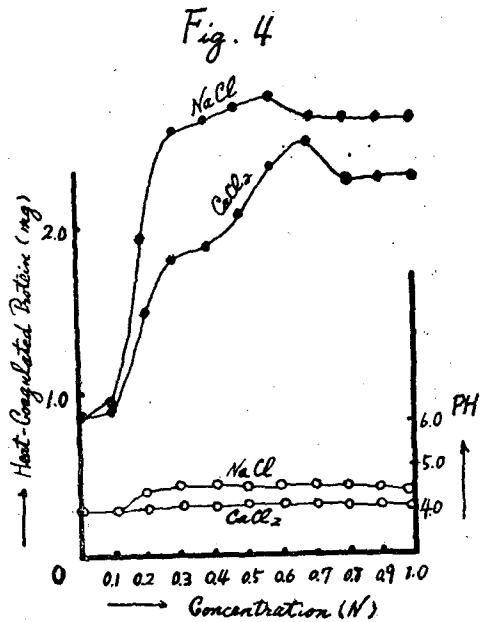
Table 4. Influence of Cation

[*Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup]

pH; 3.95, Temp; 60°,

Total-N in 5 c.c.; 5.077 mg.

Concentration (N)	NaCl		$CaCl_2$	
	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH
0	0.827	4.0	0.827	4.0
0.1	0.973	4.0	0.827	4.0
0.2	1.925	4.4	1.560	4.1
0.3	2.511	4.6	1.706	4.2
0.4	2.657	4.6	1.852	4.2
0.5	2.730	4.6	2.044	4.2
0.6	2.803	4.6	2.336	4.2
0.7	2.657	4.6	2.482	4.2
0.8	2.657	4.6	2.263	4.2
0.9	2.657	4.6	2.263	4.2
1.0	2.657	4.6	2.263	4.2



B. 陰イオンの影響

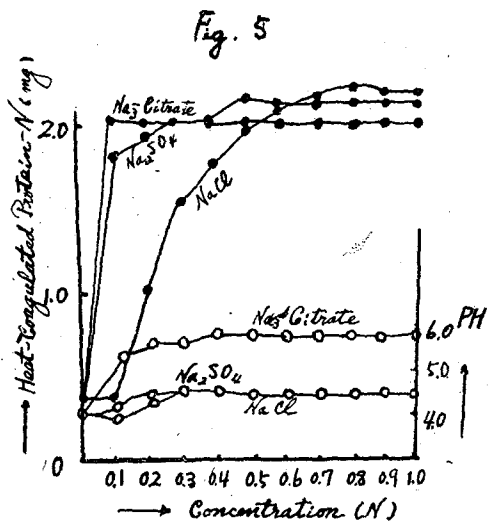
陰イオンの影響を比較するため前記同様 NaCl, Na_2SO_4 , Na_3 -Citrate の如き Na-塩を用いた。第 5 表及び第 5 圖はその實驗結果を示したものである。

Table 5. Influence of Anion.

[*Ommastrephes sloani pacificus* Steenstrup]

pH; 4.0, Temp; 60°, Total-N in 5c.c; 5.668 mg

Concentration (N)	NaCl		Na_2SO_4		Na_3 -Citrate	
	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH	Heat-Coagulated Protein-N (mg)	pH
0	0.318	4.0	0.318	4.0	0.318	4.0
0.1	0.318	4.0	1.843	4.4	2.077	5.6
0.2	1.051	4.4	1.930	4.5	2.004	5.8
0.3	1.535	4.6	2.004	4.6	2.004	5.8
0.4	1.784	4.6	2.007	4.6	2.004	5.9
0.5	1.960	4.6	2.224	4.6	2.004	5.9
0.6	2.150	4.6	2.164	4.6	2.004	5.9
0.7	2.224	4.6	2.164	4.6	2.004	5.9
0.8	2.297	4.6	2.164	4.6	2.004	5.9
0.9	2.224	4.6	2.164	4.6	2.004	5.9
1.0	2.224	4.6	2.164	4.6	2.004	5.9



以上から蛋白溶液が等電點より酸性側に於ては ion 的複層の外側の可動層に於ける陽イオンの交換吸着は殆んど行われず、陰イオンが吸着され、随つて pH はアルカリ側に移動している。而して陽イオンの沈澱能は $\text{Na}^+ > \text{Ca}^{++}$ の順で 1 價の陽イオンは 2 價の陽イオより沈澱能が大なることが認められ一方陰イオンの沈澱能は塩類溶液が低濃度 (0~0.4N) に於ては Citrate^{'''} > SO_4^{--} > Cl^- の順であるが高濃度 (0.5N 以上) に於てはこの関係は逆轉している。尙 $\text{Na}_3\text{-Citrate}$ の場合には pH は著しく變化し等電點よりアルカリ側に移行しているがこれは云ふ迄もなく塩基性塩 ($\text{Na}_3\text{-Citrate}$) の存在によるものと思われる。

然しもとより斯の如き中性塩によるイオンの影響はこれらの塩類が水溶液中で必ずしも中性の溶液をつくるとは限らないものであつて Loeb⁹⁾ 氏が強調してゐる如く pH の一定なる場合に於てのみ蛋白溶液に對する各種イオンの沈澱能の大小を比較出来るのである。即ち之等塩類の添加により pH の變化が起る場合には pH の變化による蛋白質の析出沈澱とも見做し得るのである。

これを要するに蛋白質の熱凝固に對する塩類の影響は溶液の pH, 原子價並びにイオンの特異作用をも併せ考えねばならないものである。

3 總 括

以上實驗結果を要約すると次の如くである。

1. 各種水産動物肉を水で抽出せる蛋白溶液に就て加熱凝固曲線を求めた結果夫々凝固溫度を異にする 2 種の蛋白群の存在を認めた。而して蛋白質の凝固溫度と凝固曲線を魚類の環境溫度と廻游性との關係の下に考察した。

2. 水産動物肉蛋白質の熱凝固に對する諸種塩類の影響を實驗した。併せて pH の變化を觀察し、以上の實驗結果を蛋白粒子のイオンの複層の外側に於けるイオンの交換吸着、並びに物理的吸着によるものと示唆した。

本研究は文部省科學研究費によりて遂行し得たのである。記して文部省に對して謝意を表す。又終りに臨み本報告の御校閲を賜つた本學部教授農學博士、醫學博士村田喜一先生に深甚なる謝意を表する次第である。

4 文 献

- (1) Chick, H. & Martin, C. J. (1910, 1911, 1912, 1913) : J. Physiol., vol. 40, pp. 404, vol. 43, pp. 1, vol. 45, pp. 61, *ibid.*, vol. 43, pp. 1, Kolloid. Chem. Beihefte, vol. 5, pp. 49
- (2) Weber (1925) : Biochem. Z., vol. 158, pp. 443.
- (3) Fürth, O. V. (1895) : Arch. f. Exper. Pharm. u. path., vol. 36, pp. 231
- (4) 清水 亘 (1943) : 日水誌 第 12 卷、第 3 號
- (5) 近藤金助 (1933) : 日 化 第 54 卷、386 頁、399 頁、486 頁、904 頁
- (6) Loeb (1924) : "Proteins and the Theory of Colloidal Behaviour".

(水産科學研究所業績第 42 號)