



Title	スルメイカの生化学的研究：第3報 「スルメイカ」 筋肉の塩基性物質について
Author(s)	吉村, 克二; YOSHIMURA, Katsuji; 柴田, 猛 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 4(1), 54-59
Issue Date	1953-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/22789
Type	departmental bulletin paper
File Information	4(1)_P54-59.pdf



スルメイカの生化学的研究

第3報 「スルメイカ」筋肉の塩基性物質について

吉村 克二・柴田 猛

(水産生物化学教室)

BIOCHEMICAL STUDIES ON "SURUME-IKA" (*Ommastrephes sloani pacificus*)

III. ON BASIC SUBSTANCES IN MUSCLE OF SQUID

Katsuji YOSHIMURA and Takeshi SHIBATA

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

The authors have studied the distribution of nitrogen and the qualitative results of examination by paper chromatography of amino acids and basic substances in the hot water soluble extracts of squid muscle. The results were as follows:

- 1) The non-protein nitrogen contained in the hot water soluble extracts yields 0.8~0.9% against fresh muscle.
- 2) The volatile nitrogen content shows 0.02~0.03%.
- 3) The nitrogen content precipitated by phosphotungstic acid shows 0.4~0.5% contents in histidine, arginine, and lysine fraction are 0.1% against fresh muscle.
- 4) Mono amino nitrogen shows 0.2~0.3%, being less value than basic nitrogen.
- 5) Substances found by paper chromatography are histidine, arginine, lysine, proline, and choline. Lysine also is found by lysine picrate.

緒 言

前報⁽¹⁾⁽²⁾に報告したスルメイカの生化学的研究の一環として筋肉のエキス成分、特に含窒素物質の窒素分布を主とし、二三の塩基物質及びアミノ酸のペーパークロマトグラフによる定性的結果を報告する。

これらの含窒素物質は窒素の含まない有機化合物とアンモニアとの転移置換により、又既につくられている窒素化合物の二次的变化によつて生ずると誤われているが、その生理的意義が、含窒素物質の多様性のために種々様々で、プトメインの中毒作用、特殊アミンの薬物的効果や、エキスとしての臭味に関係すると信ぜられているが、それが、生体自身にとつて、代謝上どれだけの意味をもつかについて二三の物質以外は余り報告されていない。

イカ筋肉の含窒素物について以前に鈴木、吉村両氏⁽³⁾が鰯(*Ommastrephes. sp.*)を使用しベタイン、キサンチン、ヒポキサンチンの存在を報告し、奥田氏⁽⁴⁾は筋肉の非蛋白質の抽出物として、アミンを含めて三十数種の物質の存在を述べている。

スルメイカも例に洩れず、多種のアミンを含み、鈴木、吉村両氏は、温アルコール、水にても分離法を変じて常にも多量のベタインを得るので遊離の状態ではないかと報告しているが、生体内でこの遊離の状態が如何なる役割をするかについては不明で、メチル基の転移に關与し、又トリメチルアミンの発生母体とも考えられ、コリンからもトリメチルアミンが発生することから、この間の関係の究明を目的としてこの研究を行つた。前述の如く色々の種類の含窒素物が存在すると考えられるので、先づ含窒素物質の種類とその数を決定する必要上、Kossel-Kutscherの分離法を採用した。

実験及び考察

試料は函館近郊にて捕獲されたスルメイカ (*Ommastrephes sloani pacificus*) を用いた。イカ筋肉を細切し、皮ごと倍量の水にて十分間煮沸し、更に肉片を肉挽器にかけて二回倍量の水で煮熟抽出する。この抽出液を集め、三塩化酢酸を沈澱が生じなくなる迄加える。パルプ濾過し、透明液を湯浴上にて濃縮シラップにして実験に供した。濃縮物のpHはアンチモン電極にて6.08の値を示した。夏イカ及び秋イカについて全窒素及び熱湯可溶の非蛋白態の窒素を第1表に示した。

Table 1. Nitrogen Content extracted by hot Water.

	Squid in Summer	Squid in Autumn
	% on Fresh Muscle	% on Fresh Muscle
Total-N (1)	2.81	3.10
Non-protein-N (2) extracted by hot Water	0.91	0.87
ratio of (2) to (1)	32.2	28.4

この曲線は蛋白の滴定曲線と同じ傾向を有する。これは抽出物の多様性を示し、カルボキシル基及びアミノ基の解離を示すが、特殊な解離を示す物質はこの曲線よりは見られないと思われる。

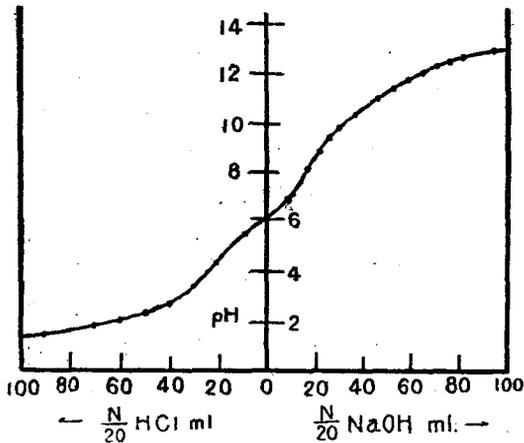


Fig.1 Acid-Base Titration Curve of the Extract.

揮発性窒素は季節による差もなく、唯熱湯可溶性非蛋白態窒素に対する割合だけが変つている。

更に揮発性窒素の定性的分別を行つたために、アルカリ部分中和法⁽⁵⁾により水蒸気蒸溜を行い、pHの差による揮発性成分差を求めた。その窒素分布は第2図に示した。

溶出窒素は季節による相違は余り認められない。

この溶出非蛋白の抽出物には、アミノ酸、アミン等の塩基物質の他にグリコーゲン、その他酸性物質も含まれると考えられるので、酸-アルカリの滴定曲線を求めてみた。結果は第1図に示した。

結果によると、抽出物のpH=6.08でアルカリ滴定の際は、アルカリ添加と共にpHの増加がみられ、pH 6~9までは Δ pH=0.5で上昇し、pH=10以上ではpH上昇がゆるくなつている。酸滴定では、pH 6~3までは、急に減少し、3以下は緩かになり、アルカリ側よりも一層平である。こ

次に揮発性塩基物についての測定を減圧法にて行つた結果は第2表に示した。

Table 2. Volatile Nitrogen Content

	Squid in Summer		Squid in Autumn	
	% on Fresh Muscle	%	% on Fresh Muscle	%
Non protein-N extracted by hot Water	0.91	100	0.87	100
Volatile-N	0.02	2.2	0.03	3.4

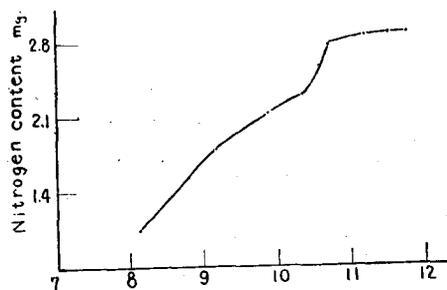


Fig. 2 Volatile-N Difference by Method of Partial Neutralization.

結果よりみれば、pH 10.4~10.6の間でやゝ急激に窒素量が増加するが、以後は左程変化がみられない。各 pH の溜分、及び時間差による各溜分について、脂肪族アミンの定性反応のネスラー反応、カルバミン反応、ニトロプルシッド反応、マイヤー反応等の定性反応を試みたが、第一、第二、第三級アミンの区別がみられず、アンモニヤだけが認められた。アンモニヤを黄色酸化水銀で除去してみたが、相違はみられなかつた。試料が微量なためかも知れない。

アンモニヤを除去した非揮発性残渣より、10%硫酸酸性で燐タングステン酸で塩基性物質を沈澱させ、燐タングステン酸をバリタ及びアミルアルコール-エーテル混合物にて分解し、Kossel-Kutscher の硝酸銀沈澱法による分別を試みた。各区分の窒素分布を第3表に示した。

Table 3. Distribution of Nitrogen Content in each Fraction precipitated by Kossel-Kutscher's Method.

	Squid in Summer		Squid in Autumn	
	% on Fresh Muscle	%	% on Fresh Muscle	%
Non-protein-N extracted by hot water	0.91	100	0.87	100
Basic fraction-N precipitated by phosphotungstic acid.	0.52	57.1	0.41	47.0
Histidine-fraction-N	0.12	12.9	0.09	10.0
Arginine-fraction-N	0.13	14.0	0.13	15.2
Lysine-fraction-N	0.15	16.6	0.10	11.5
Mono-amino-N	0.26	29.2	0.20	23.3

この場合も、季節による変化は生原料に対しては認められない。燐タングステン酸によつて沈澱するジアミノ態の部分の窒素が半ば近くの分布を示す。清水、竹田両氏⁽⁶⁾によると、その量はカツオ、マグロに匹敵し、この点でイカのエキス窒素の性格が赤色肉類に類似するとの事である。又イカの甘味はモノアミノ酸によると言われるが、窒素分布よりみればさして大きな量的位置を示さない。試料にしたスルメイカが他の種類のイカより甘味が乏しいとされているが、量的関係より成立するかも知れないが、質的な面よりみれば、一概には言えないだろう。

ジアミノ区別の分別による窒素分布は三区ともさして差はみられない様であるが後述のペーパークロマトグラフによればリジン区分が可成りの物質を含んでい

る様に思われる。清水氏の言うフミン窒素も可成り多い。更にヒスチジン区分にはプリン塩基が含まれるので、pH3.5で硝酸銀による分別を行つた。結果は第4表に示す。

Table 4. Nitrogen Contents of Purin Base in Histidine Fraction

	Squid in Summer		Squid in Autumn	
	% on Extract-N	%	% on Extract-N	%
Histidine-fraction-N	12.9	100	10.0	100
Purin Base-N	2.0	15.5	1.7	17.0
Filtrate-N	5.5	42.1	3.6	36.0

前表と同様に、こゝでも脱銀による窒素損失が抽出物窒素の0.2~0.5%に及ぶ。

又ヒスチジン区分について硝酸銀によ

リイミダゾール区分の分別を行つた結果が第5表になる。

Table 5. Distribution of Nitrogen Content precipitated by Mercury Sulfate in Histidine Fraction

	Squid in Summer		Squid in Autumn	
	% on Extract-N	%	% on Extract-N	%
Histidine-fraction-N	12.9	100	10.0	100
Mercury sulfate precipitate-N	4.1	32.0	2.6	26.0
Mercury sulfate filtrate-N	7.3	56.3	5.7	57.0

硫化水銀による窒素の損失はこゝでも0.3~0.5%に及ぶ。どの形態の窒素が損失するか判明しない。

更にも上記区分についてヒスチヂンを定

量的に測定するために、Paulyのジアゾ法⁽⁷⁾を用いて、ヒスチヂンを定量した。結果は第6表に示した。

Table 6. Histidine Content in Histidine Fraction

	Squid in Summer	Squid in Autumn
	mg. % on Fresh Muscle	mg. % on Fresh Muscle
Total-Histidine Content	3.6	4.9
Histidine Content in Fraction precipitated by HgSO ₄	2.1	2.6

結果によると、ジアゾ呈色物質中60%だけがヒスチヂンとして測定される。ヒスチヂン窒素はこの区分の全窒素の23%前後に相当することになる。残りの窒素はイミダゾールの1の位置に置換基をもつ

た誘導体か又は芳香族の含窒素化合物になる。硫酸水銀沈澱区分以外にも呈色物質が含まれ、すべて呈色物質をヒスチヂンと考へても、ヒスチヂン窒素はこの区分の全窒素の10%しかしめさない。それで芳香族の窒素化合物も相当多量に含まれているのではないだろうか。後述のペーパークロマトグラフによるとヒスチヂン以外のスポットもみられる。

次にアルギニン区分について坂口反応によるアルギニンの定量⁽⁸⁾を行つた。結果は第7表に示す。

Table 7. Arginine Content in Arginine Fraction

	mg. % on Fresh Muscle	Arginine-N / Arginine fraction-N × 100
	Squid in Summer	3.85
Squid in Autumn	4.92	120.0

結果よりみれば、窒素分布と同様に秋イカに多く表われている。アルギニンとして計算すると、アルギニン区分の全窒素以上になるので、アルギ

ニンより窒素含量の少ない呈色物質が含まれることになる。ペーパークロマトグラフでもアルギニン以外のスポットがみられる。

更に確認するためにアルギニン区分について、非水溶液にて滴定を試みた。水溶液と異なり、弱いアミンでも塩酸の如き強酸にて滴定される。⁽⁹⁾ アルギニン区分をpH3.5にバリタで中和し、濃縮し、窒素に対して0.02モルに相当する量を氷酢にとかし、飽和甘汞電極にて電位差を0.1規定過塩素酸を滴定して測定する。第3図に滴定曲線を示した。

第3図より判断すると、アルギニン区分には、二つの変曲線がみられるので、解離恒数の異なつた二種の

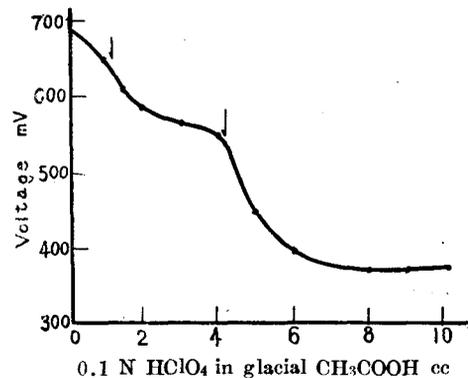


Fig. 3 Titration Curve of Arginine Fraction in Glacial Acetic Acid.

窒素化合物が存在すると思われる。定量的滴定と正確な pH 値を得なかつたので、この二点に由来する解離恒数が決定出来ず従つて物質の存在の可能性を得たが、確認が出来なかつた。ヒスチジン、リジン区分の滴定曲線については目下研究中である。

以上の如き窒素分布だけではどんな種類の物質が含まれるか決定出来ないために、各区分についてペーパークロマトグラフによる定性的研究を試みた。試料は苛性ソーダにて中和し、濃縮し、アルコールにて無機塩を除去しイソプロピールアルコール溶液にとかしたものを使用した。温度は 30°C の恒温槽にて行つた。溶剤はブタノール、ルチジン、フェノール等を用いた。

イ) 熱湯抽出物の加水分解物について

熱湯抽出物を三塩化酢酸で脱蛋白をしたが、尙低分子のペプチドを含む可能性があるので塩酸加水分解物についてペーパークロマトグラフを行つた。図を第 4 図に示す。判明したスポットは 6 個で 3 個の尙未確定のスポットが存在する。そのスポットがどんなものに相当するかは未だ研究中である。

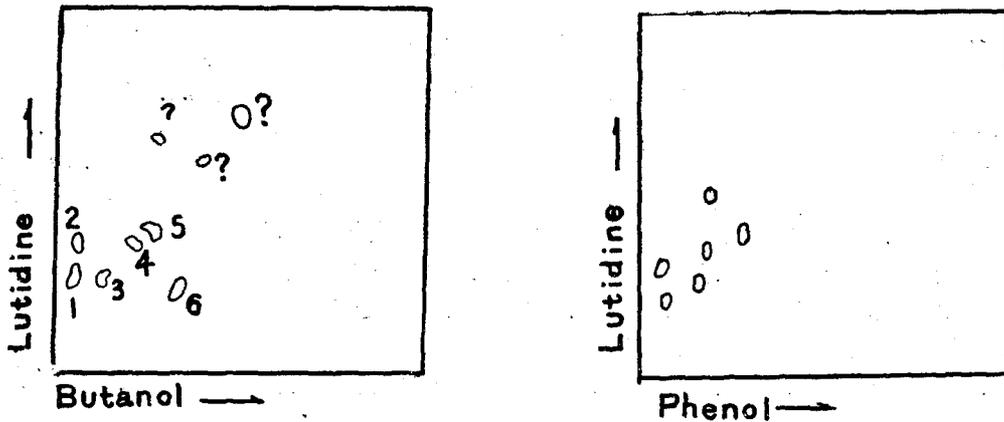


Fig. 4 Paper Chromatography of the hydrolysed Extracts.

ロ) 各区分に於けるペーパークロマトグラフ

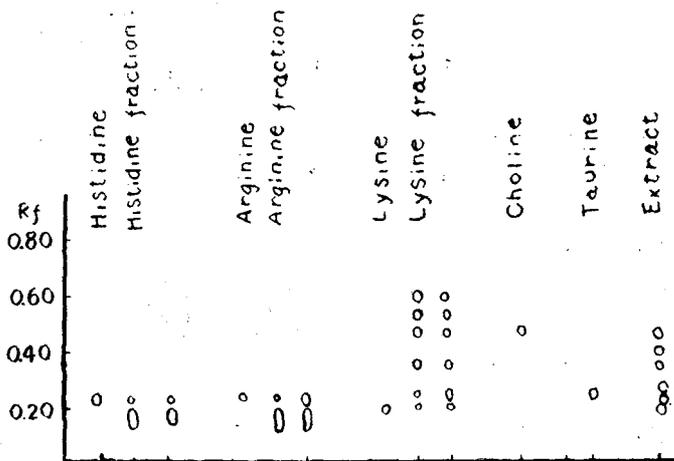


Fig. 5 Paper Chromatography of the Extract.
Solvent : Butanol-Acetic acid
Spray reagent : Ninhydrin

各区分に於けるクロマトグラフは第 5 図に示した。結果によるとヒスチジン区分には、二点のスポットがみられ、一個はヒスチジンと一致する。アルギニン区分ではアルギニンのスポットと未確認のスポットが、1 個あり、ヒスチジンのスポットに相当するらしく、Bussit の報告した如く、銀塩によるアルギニン・ヒスチジンの分離の困難性を示すのか、又ヒスタミンがアルギニン区分に表われるという報告もあるので⁽¹⁰⁾ ヒスタミンかも知れない。偶然 Rf がヒスチジンと一致する。第 3 図の変曲点

の一つがこのものに由来するかどうかは研究中である。リジン区分がスポットが一番多く、リジン、コリン、プロリンが確認出来たが他の4個は確認中である。コリンとプロリンのスポットは一致し、赤と黄色が混合した状態になった。又エキス中でみられなかつたスポットがこゝで表われている。尚モノアミノ酸区分では4個のスポットが認められた。他のスポットは標準物質が得られなかつたので、認定出来ず唯数だけを知るのみである。尙確認法を研究中である。リジンはリジン区よりピクラーとして完全分離出来たから、リジンの存在が確認出来る。

要 約

スルメイカ筋肉の熱湯抽出物の含窒素物質の窒素分布とペーパークロマトグラフによる二三の定性的結果を報告した。結果によれば、

- 1) 熱湯可溶性非蛋白態窒素は生原料に対して0.8~0.9%である。
- 2) 揮発性窒素は0.02~0.03%である。
- 3) 燐タングステン酸にて沈澱する区分の窒素は新鮮肉に対して0.4~0.5%を示し、ヒスチジン、アルギニン、リジンの各区分の窒素は各々0.1%である。
- 4) モノアミノ酸の窒素は0.2~0.3%で塩基性の窒素より少い。
- 5) 各区分のペーパークロマトグラフによると、全エキスには6個、アルギニン区分、ヒスチジン区分は2個、リジン区分には6個のスポットを認めた。ヒスチジン、アルギニン、リジン、プロリンとコリンを認め得た。

文 献

- 1) 吉村・久保(1952): 北海道大学水産学部研究彙報、第3巻、第3号、205頁
- 2) 吉村・柴田(1952): 同 誌 第3巻、第3号、211頁
- 3) 鈴木・吉村(1908): 東京化学会誌、第30巻、913頁
- 4) 奥田・植松(1921): 農学会報、200号
- 5) 松本 (1948): 薬学誌、2巻、1号、94頁
- 6) 清水・竹田(1952): 日水誌、18巻、6号、1頁
- 7) R.J. Block (1951): "Amino Acid Composition of Proteins and Foods. Analytical Methods and Results" 2nd Ed. Charles. C. Thomas U.S.A. p.51.
- 8) R.J. Block (1951): *ibid.*, p. 40.
- 9) N.F. Hall (1930): J. Am. Chem. Soc., 52, 5115-28.
- 10) M. Guggenheim (1932): "Die biogenen Amine" p. 405.

(水産科学研究所業績 第162号)