

魚肉蛋白質に関する物理化学的研究〔Ⅲ〕

魚肉の死後における粘度変化について*

大竹茂夫・山本常治

Physico-chemical Study on Fish Muscle Proteins (III)

On the post-mortem change of viscosity of fish muscle protein solution.

Shigeo OTAKE and Jyoji YAMAMOTO

緒 言

前報¹⁾において魚肉より抽出される蛋白質は死後時間が経過すると共に抽出量は減少し、蛋白の電荷分布も減少することが知られる。所で抽出されて来る窒素物中大部分を占めているものは沈澱剤による沈澱性蛋白質であるから、上述の結果は此の種の蛋白質の構造的な変化にもとづくものではないかと考えられる。但し構造の変化によつては電荷分布の変化をおこすと同時に形状の変化もおこし得る可能性があると考えられる。もし分子の形状に変化がおこるものとすれば、蛋白溶液の粘性にも変化が現われる筈である。

しかし魚肉の抽出液が高粘性を示すことは溶液中における溶質の容積、形状、更に荷電等の複合された結果としておこるものである。殊に蛋白粒子が荷電を有するといふことは此の問題を複雑にする大きな原因であり、又剛体でない高分子物であるので、そのため粘度に関する定量的な関係式が確立されず、更に我々の研究の場合は、種々の蛋白質及び低分子物の複合系であるので、確定的な結論を得ることは不可能に近いが、死後の変化が電荷や形状の変化を来すものとすれば、形状の変化することは粘度測定の結果にも現はれねばならない。

さて分子の形状又はひろがりを知るにはその溶液の Intrinsic viscosity を測定しなければならないが、此の実験の場合は比容積は不明であり、従つて定量的な結果は得られない。そこで此の程度の不確定的な場合には Polson²⁾ の粘度と軸比に関する関係式を用いた方が実験的に簡単である。即ち比粘度と比容積及び蛋白分子の長軸と短軸の比の間には

$$\eta_{sp} = 4.0G + 0.098G \left(\frac{b}{a} \right)^2$$

なる関係式がある。但し G は 1cc. 中の溶質の容積、 b/a は粒子の長軸と短軸との比、 η_{sp} は比粘度である。死後の魚肉について b/a を求めることによつて極めて定性的ではあるが分子形の変化を見ることが出来ると考えた。

又ある液体が粘性を示す原因は、平衡位置にある此の液体の分子に外力が加えられると、その結果分子は次の平衡位置に遷移するが、此の遷移に要するエネルギーが粘性として表現されると考えると、

* 昭和27年9月日本水産学会秋季大会にて講演したものに多少修正を加えた。

$$\eta = Ke \frac{E_{vis}}{RT}$$

なる Andrade の粘度と温度の関係を表現する関係式が理論的に成立する³⁾。但し E_{vis} は活性化エネルギーに相当するもので、此の場合分子相互の結合にもとづくポテンシャル障壁をとびこえるに要するエネルギーに相当する。 T は絶対温度、 R は気体恒数、 K は恒数である。此の E_{vis} の測定から蛋白分子間の粘度現象をおこす原因の種類を推定し得ると考える。

これ等の結果から魚肉蛋白が死後粒子形の変化がおこるものであるかどうかを観察する一つの手段として粘度の測定を行った。

実 験

Intrinsic Viscosity の測定を行ふものでないの、此の場合は Ostwald's Viscometer を用ひてもよいと考えた。(殊に此の実験の目的はあくまで第一近似として論ぜられるので)。

毛细管の太さは 0.1 mm 位のものを用ひ、これに正確に 10cc. の試料をとり、温度調節 $\pm 0.05^\circ\text{C}$ の出来る恒温槽中にて球部内部まで温度が一定となつた後流下速度をストップウォッチで測定した。

試料は生魚の尾部を切断し、10分間流血せしめた後白身肉のみをとり、チョツパーにて細砕後うらごしたものを広口瓶中に貯蔵し、これを温度 20°C . の恒温器に入れておき、一定時間毎にその瓶中から肉を秤取して 0.05N の HCl 又は NaOH 100cc. で抽出した。此の際用ひた肉量は 2~5g であるが、同一系統実験では正確にある決定された重量に一致させてとつた。尙貯蔵瓶は綿栓を施しておいた。

抽出してからの経過時間によつて、粘度が極めて長時間に亘り変化しないことは、実験の結果明瞭であつた。

又蛋白濃度と粘度との関係は電荷を有する場合の関係式

$$\Delta\eta = K \frac{1}{V_0 + x}$$

がある⁴⁾。但し $\Delta\eta$ は比粘度、 V_0 は原蛋白質の溶質粒子の全容積、 x は V_0 を稀釈するために加える

水の量、 K は界面動電圧の函数である。 V_0 は我々の場合は窒素の重量の一次函数として計算すると、魚肉が 2~5g/100cc. といふ可成濃い抽出条件の場合についての実験では、第 1 図に見られるように直線的で、稀釈度が増加しても水和と荷電は変化のないことが知られる。従つて測定時における抽出後の時間の影響及び肉 2~5g/100cc. の試料では濃度変化による蛋白粒子の安定度変化つまり荷電変化に原因する粘度変化はないと見ることが出来る。

第 1 表はインダイ (香住町地曳網) についての死後の相対粘度変化及び抽出された全窒素、沈澱窒素並にその比率等を示す。第 2 図はこれを図示したものである。

第 2 表はコイ肉について $15^\circ\text{C} \sim 45^\circ\text{C}$ の間の

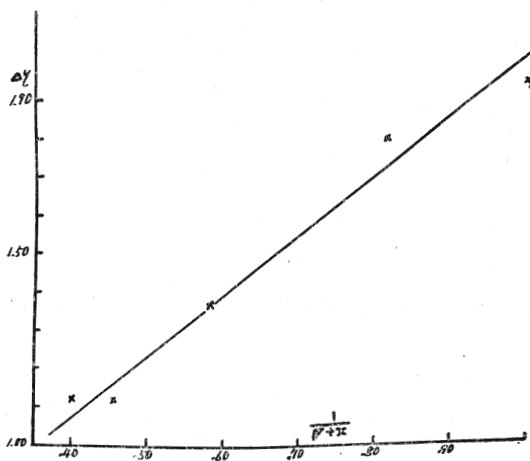


Fig. 1 The relation between viscosity and concentration of fish meat solution.

絶対粘度及び其の他の諸要事項を測定した結果である。

第3表は Polson の式で近似的計算の結果得た b/a の値を示し、第3図は Andrade の式で $\log \eta$ と T とが 35°C 以下では直線的であることを示す図である。第4表は *Evis* の計算値を示す。

Table 1. The change of η/η_0 and other factors. *Oplegnathus fasciatus* At 20°C .

Time (hrs.)	total N mg. %	vol. N mg. %	sol. N mg. %	ppt.N mg. %	η/η_0	ppt.N/sol.N $\times 100$
2.5	3048	9	2554	2312	1.75	90.52
5.0	2973	12	2503	2176	1.71	86.93
7.5	2929	15	2409	2088	1.68	86.67
10.0	2968	11	2305	1952	1.63	84.68
13.5	2966	10	2361	2015	1.61	85.35
17.5	—	49	2270	1969	1.56	86.74
21.5	3002	59	2113	1843	1.48	87.22
25.5	2974	61	2249	2001	1.55	88.97
39.0	—	123	1966	1608	1.37	80.56

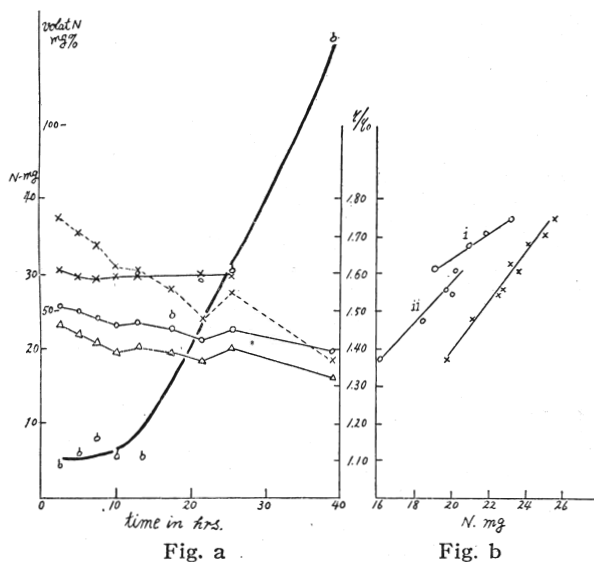


Fig. 2. The change of relative viscosity and its relation to extracted total nitrogen or precipitated nitrogen. (Graphical illustration of table 1.)

Fig. a. change of viscosity and related factors.

- x — total N.
- o — ext. N.
- Δ — ppt. N.
- x η/η_0
- o — volat. N.

Fig. b. Relation between viscosity and extracted N and ppt. N.

- i; Before 10hrs.
- ii; after 10hrs.
- o — ppt. N.
- x — ext. total N.

Table 2. The change of absolute viscosity and related factors.

a. related factors.

time (hrs)	Acidic solvent					Alkaline solvent				
	3	10	16	27	40	3	10	16	27	40
Total N mg/g	30.17	31.29	32.13	32.27	34.30	30.17	31.29	32.13	32.27	34.30
Sol. N mg/g	25.4	25.8	24.4	23.1	21.9	27.2	28.3	27.4	22.8	28.2
Ppt. N mg/g	21.5	18.8	19.6	19.8	—	23.0	—	18.6	19.8	—
spgr. (S)	1.0010	—	1.0004	1.0007	1.0003	1.0021	1.0016	1.0023	1.0013	—

b. Viscosity

Time (hrs)	Acidic solvent					Alkaline solvent				
	3	10	16	27	40	3	10	16	27	40
Temp. °C.										
15	2.95	2.81	2.89	2.76	2.58	2.91	2.95	2.80	2.80	2.81
20	2.33	2.33	2.27	2.14	2.11	2.57	2.39	2.32	2.29	2.30
25	1.93	1.89	1.92	1.86	1.76	1.82	1.94	1.80	1.80	1.80
30	1.53	1.51	1.38	1.48	1.41	1.53	1.54	1.29	1.53	1.50
35	1.25	1.19	1.17	1.21	1.18	1.29	1.27	1.14	1.26	1.27
45	0.93	0.92	0.93	0.87	0.87	1.04	0.94	0.98	0.93	0.98

Table 3. The values of b/a calculated from the Polson's equation.

Time (hrs.)	3	10	16
Temp. °C			
15	8.2	7.7	7.4
20	7.0	7.1	6.2
25	6.2	6.2	5.6
30	4.7	5.0	2.0
35	3.0	3.3	—
45	—	2.0	—

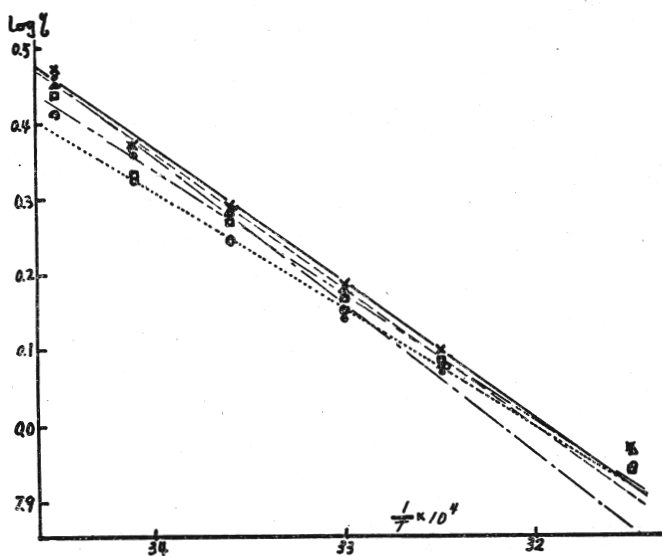


Fig. III. Graphical illustration of Andrade's equation for cap meat.

- × — 3 hrs.
- △ 10 hrs.
- ● 16 hrs.
- □ 27 hrs.
- ○ 40 hrs.

Table 4. Calculated values of E_{vis} with the Andrade's equation.

time (hrs)	acidal side		alkaline side	
	E _{vis} Kcal.	log A	E _{vis} Kcal.	log A
3	7.68	— 5.373	7.97	— 5.553
10	7.59	— 9.080	7.74	— 5.406
16	8.44	— 5.953	—	—
27	15.37	— 11.033	7.44	— 5.200
40	7.23	— 5.073	7.09	— 4.950

考 察

I 第1表より抽出され得る全窒素量及び沈澱窒素量と相対粘度との相関を求めた結果、1%以下の危険率で相関の有意性が認められた。ところが沈澱窒素量と相対粘度との関係を詳細に検討すると、第2図 b. から知られるように、沈澱窒素量と相対粘度との関係は10時間を界として異なる傾向にあるものようである。これは粘度を左右する因子が単に溶解量の大小ばかりでなく、蛋白の分子形又は大きさによるものと考えられる。次に第1図の結果から、 4η と $1/v+x$ とが直線となることが知られるが、これは界面動電圧の函数であるKが恒数となることを示し、従つて此の報告の実験条件である2~5gの肉を100cc. 溶媒で抽出する範囲では、濃度差による蛋白溶液の安定度変化は認められないことになり、粘度変化が水和度の変化又は電荷の変化が濃度の若干の相異によつておこることに全面的に帰することが出来ない。このことは又 pH の変化と粘度の関係からも知られる。

即ち pH と粘度との関係を実験した結果、死後早期において同一溶媒を以て同一重量の魚肉を抽出したのものにおいては、pH 値を1単位かえても粘度には顕著な変化を示さなかつた。従つて η/η_0 の変化は粒子形の変化に可成大きく左右されはしないかと考えられる。

II 第2表から Polson の式で第3表の b/a を出す近似的方法は、 S を比重とし $c = \text{gr./liter}$ で表はした濃度とし、 $G = S/c$ として表現して行つた。但し重量 (gr) は窒素量に 6.25 を乗じて出した。魚肉を抽出してからその同じ試料を $15^\circ \sim 45^\circ \text{C.}$ の異なる温度で粘度を測定した結果、各温度共粒子形は死後時間の経過と共に変化する。従つて魚肉蛋白粒子の軸比が変化するかも知れないことは此の近似計算の結果からは考えられることになる。尙温度が上昇する場合も著しく軸比が変化することになる。

III 第3図から 35°C. 以下では $\log \eta$ と $1/T$ とは直線的であることが知られ、従つて Andrade の式が適用出来るとして *Evis* を計算すると第4表に示すものとなる。所で一次結合のエネルギーは (Covalent 又は Ionic) 50~100 Kcal で水素結合又は *Van der Waels* 力等の結合エネルギーは 1~7 Kal, 熱運動によるものは 0.5 Kcal 位であるから、上の結果は 1~7 Kcal で代表される水素結合に相当するものであると考えられる。

摘 要

1 魚肉の死後の相対粘度変化と沈澱性窒素量との相関は、 20°C. 10時間位を界として異なる相関を示すもののように観察された。

2 Polson の粘度式より近似計算により魚肉蛋白の死後の軸比の変化を求めた所、死後軸比が減少することを観察した。

3 Andrade の式から粘度現象をおこす原因と考えられるものは、水素結合に相当する程度のエネルギーの結合ではないかと考えられた。

4 以上の結果より魚肉蛋白質は、魚類の死後において形状等の変化をおこすと考えた。

本実験遂行にあたり御指導を賜つた、日本海区水産研究所利用部長野口栄三郎技官実験結果の批判、検討を賜はつた東海区水産研究所理学博士右田正男技官、松本重一郎技官に深謝の意を表す。

文 献

- 1) 大竹・山本：本誌
大竹・尾藤：本誌
- 2) POLSON：('39)
赤堀・谷：蛋白質 p. 187 ('50)
- 3) 中川鶴太郎：現代膠質学の展望
第二集 p. 67 ('50)
- 4) 秀村・佐々木：同 第一集 p. 307 ('49)

Synopsis

It was concluded in the previous report¹⁾ that charge of the fish muscle proteins decreased continuously in earlier stage of post-mortem, and was inferred to give rise to the structural change of the protein. If it has been true, there will be the change of the shape and/or the binding property of the particle. It was intended in the present report to give a general picture of the shape change in the cause of post-mortem of fish muscle by virtue of viscosity measurement.

The post-mortem change in the specific viscosity (η/η_0) was followed as in table 1, and fig. 2; η/η_0 was minimum at 20 hrs. storage. b/a which was axial ratio of protein particle, was calculated roughly by using the Polson's equation indicating diminution in the earlier stage.