

日水研年報 (4): 295-302, 1958.

Ann. Rept. Jap. Sea Reg. Fish. Res. Lab. (4): 295-302, 1958.

コイ肉 SH 基の含量と鮮度による SH 基の消長について

佃 信 夫・野 口 榮 三 郎

A Study on SH-Radical Content in the Meat of Carp and Its Prosperity and Decay According to Freshness

BY

NOBUO TSUKUDA AND EIZABURO NOGUCHI

Abstract

We have traced the change of SH value in the muscle of carp (*Cyprinus carpio*) during storage and the difference in its content by muscle, hepatopancreas, spermary, ovary, kidney, and the gall of the body. SH value is measured by the Ferricyanide method (MORI, 1950).

The results obtained are summarized as follows:

1. The freely reacting SH value of the carp muscle is not different by the anatomical parts of the body but shows a wide contrast by individuals.
2. Of internal organs, the hepatopancreas shows the highest value of freely reacting SH and the majority of its total SH-radical is almost freely reacting.
3. Freely reacting SH value of the muscle increases for a short time after death, hereafter it slowly falls and the minimum value is attained at the full rigor state. After that it increases again with the progress of putrefaction.
4. When the putrefaction progresses in anaerobic condition, the fluctuation in SH value is very small.
5. When the muscle immediately after death is rinsed in water, the freely reacting SH value falls down to the minimum value in a few minutes.
6. The muscle is denaturated more completely by guanidin-HCl than by urea as determined by the released amount of SH-radical in the muscle.

I. 緒 言

蛋白質中の SH 基に関する多くの研究結果から、SH 基は生体活性に本質的な役割を演じていることが明らかにされている。

しかしながらこれ迄の文献では、純粋蛋白を取扱つた研究が多く、特に魚肉蛋白質や、魚肉の生化学的な面からの研究は少ないようである。

最近魚類筋肉のSH基量について鮮度低下にともなうその増量が測定され、鮮度判定の方法となり得る事が報告されているが、SH基の消長については現象的にも機構的にも不明の点が多い。

筆者等は主としてコイ筋肉を使用してSH基の含量や、死直後からの消長、蛋白変性剤の影響等について実験を行い、2～3の知見を得たので報告する。

なお、本研究にたいし種々御教示を頂いた東海区水研石田正男博士および実験の一部を担当した安尻恭子さんに厚く御社申上げらる。

Ⅱ. 材料および実験方法

SH基定量の際、示される還元値をそのままSH基量として認めるか否かについては種々の影響が見られるので疑問の点が多く、その定量方法および結果については十分に吟味することが必要である。しかしこの実験においてはとりあえず、ANSON, MIRSKYの方法を一部改めた森(1950)の方法に準じ、SH-groupをFerricyanideで酸化して, Ferrocyanideとし、之とFerric sulfateとの反応によるPrussian blueをSpectro photometerにより690m μ で測定した。この方法は、420m μ におけるFerricyanide法(堀田, 1954)と比較した結果、感度高く、しかも実験誤差が少ない事を認めた。

試料はすべて断頭死直後の養殖コイ(*Cyprinus carpio*)で特に附記しない場合は背側部の筋肉(背側筋)を使用した。

Ⅲ. 実験結果および考察

1. 各個体および各部位におけるSH基量

各個体による背側筋肉中のSH基量は広い分布を有し、第1表に示すように最低と最高では約2倍の開きがある。この値は表在性のSH基と考えられるが、全体の置かれた生理的條件や環境等により大きく変化するを示している。

第1表 断頭死直後のコイ筋肉のFree SH基量

個 体	SH mg%	Cysteine mg%	個 体	SH mg%	Cysteine mg%
1	26.0	96	7	28.5	104
2	34.3	126	8	43.5	160
3	37.4	137	9	54.6	200
4	51.0	187	10	41.5	152
5	43.0	158	11	39.0	143
6	31.5	116	12	43.9	161

各筋肉の部位による相違については第2表に示すように、背側筋では体の前部、後部に関係なく大体一様の値を示すが、腹側筋は低い様である。腹側筋の低い値は蛋白含量とも関係すると思われるが、筋肉の活動性等から考えて、恐らく蛋白質の質と云う事にも大きな関係があるのかもわからない。

第2表 同一魚体の筋肉部位別Free SH基量

採 取 部 位	SH mg%	Cysteine mg%
頭 部 背 側 筋	41.5	152
中 央 部 "	40.2	148
尾 部 "	41.5	152
腹 側 筋	38.3	140

各臓器の含量においては第3表に示すように、肝臓が最も高い値を示した。そしてこの場合肝臓に尿素変性をほどこし、全SH基量を測定してみたが、ほとんどSH基の増量を示さない所から、肝臓SH基の大部分は表在性であると思われる。

GREENSTEIN (1938) は兎の肝臓核蛋白のSH基はほとんど表在性であると報告しているが、肝臓の酵素活性機能とあわせ考え興味ある問題である。

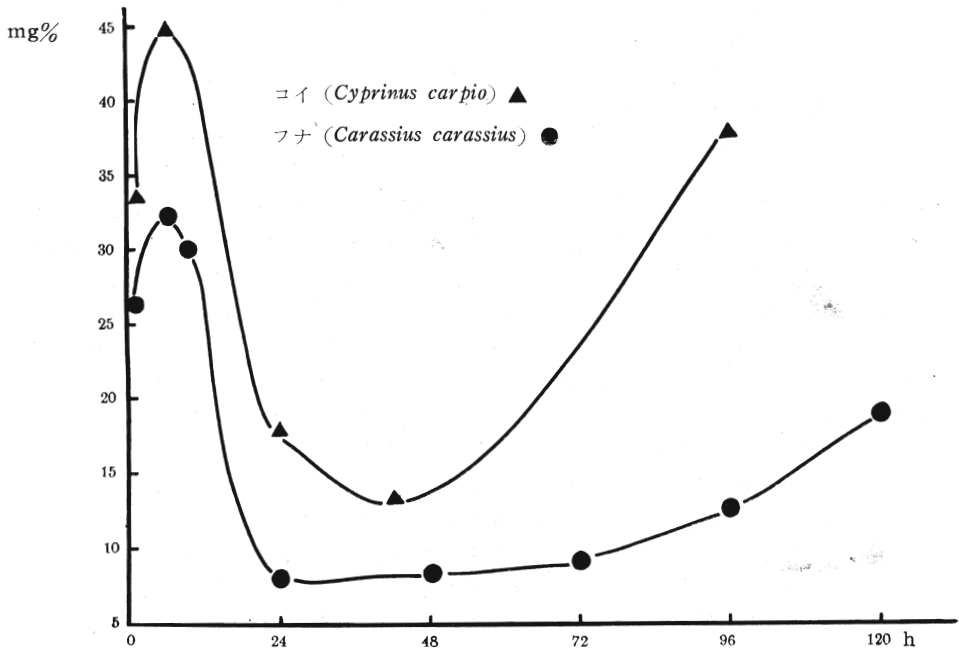
第3表 コイの臓器別 Free SH 基量

類 別	SH mg%	Cysteine mg%	類 別	SH mg%	Cysteine mg%
肝 臓	82.3	302	精 巢	31.1	114
〃	74.5	274	卵 巢	27.2	100
〃	72.0	264	〃	35.5	130
〃	88.1	324	腎 臓	56.2	207
〃	88.5	314	〃	46.5	171
精 巢	34.5	127	膽 の う	56.4	207
〃	48.3	177	〃	41.8	154

2. 鮮度低下とSH基の変化

鮮度低下に伴うSH基の変化については既に森(1956)、齋藤(1956)、著者(1955)等の発表があるが、死後硬直後の増加傾向が、揮発性塩基量の増加と大体比例的関係が認められるので、鮮度判定に応用出来ることが報告されている。

この現象は蛋白の腐敗に伴い、sluggish および masked SH group のむき出し化が行われた結果として Free の SH 基が増量を来たしたものとも思われるが、反対に死後硬直の際には急激に減少する(野口, 1951)。この場合に興味ある事実は第1図に示すように15~20°Cでは断頭死直後よりも、死後3時間位の間でかえって一時含量が高くなる事である。



第1図 コイ、フナ肉貯蔵中のSH基量の変化 (コイ肉 20°C 放置) (フナ肉 15°C 放置)

F. GUBA (1952) によれば, Myosin と Actin から Actomyosin が形成される時には多くの SH 基は反応性が消え, A. T. P. の添加によつて SH 基は再び増加する. 死後硬直の現象が, A. T. P. が減少し Myosin が Actomyosin となり筋肉が収縮するために生じたものであるとすれば, 死後硬直の進行と共に SH 基が Free 型から masked SH 基と逐次転移して減少を示し, 死後硬直の完了と共に最底を示すのであることも考えられるが, 第4表に示すように, 死直後のコイ肉の各区分における全 SH 基(グアエジン変性による)の割合は, Dyer 法による塩溶性区分では全体の80%を示すが, Actomyosin 区分では僅かに40%内外であるので, 死後硬直期における Free SH の減少がすべて Myosin の Actomyosin への変化のみによるものとするにはまだ疑問の余地がある.

第 4 表 コイ背側筋の各蛋白区分における窒素量と SH 基量
SH 基量

蛋白質の区分	SH 基の種類	断頭直後肉 mg%	筋肉中の Total SH 基に対する %
背側筋	Freely SH	38.3	47.3
	Total SH	81.0	100
水溶性区	Freely SH	14.5	17.9
	Total SH	20.1	25.0
塩溶性区	Freely SH	34.0	42.0
	Total SH	66.0	81.3
アクトミオシン区	Freely SH	12.7	15.7
	Total SH	31.3	38.6

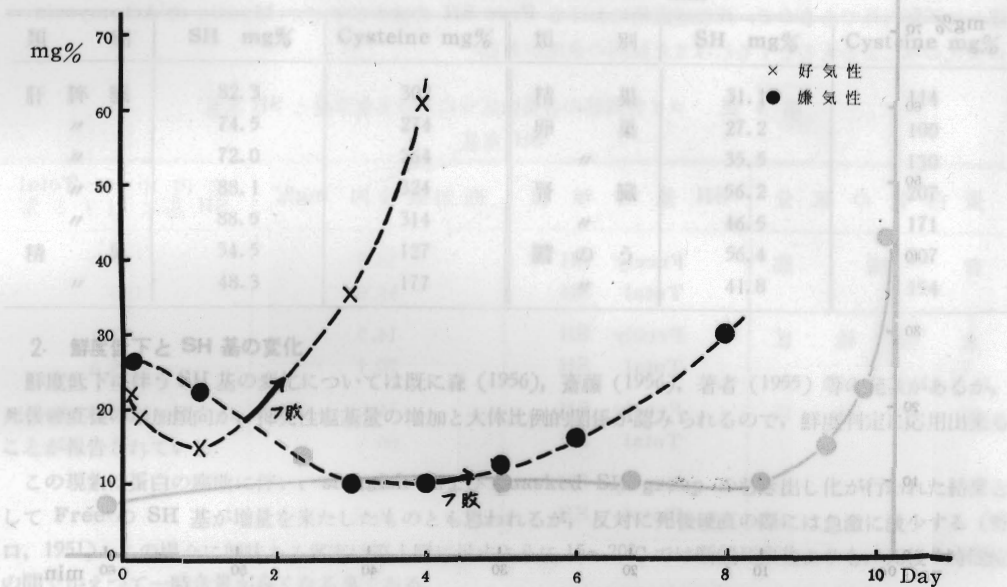
窒素量

種類	断頭直後肉 mg	全窒素量に対する %
全窒素	3,054	100
水溶性区窒素	986	32.0
塩溶性区窒素	2,646	88.2
アクトミオシン区窒素	1,709	56.0

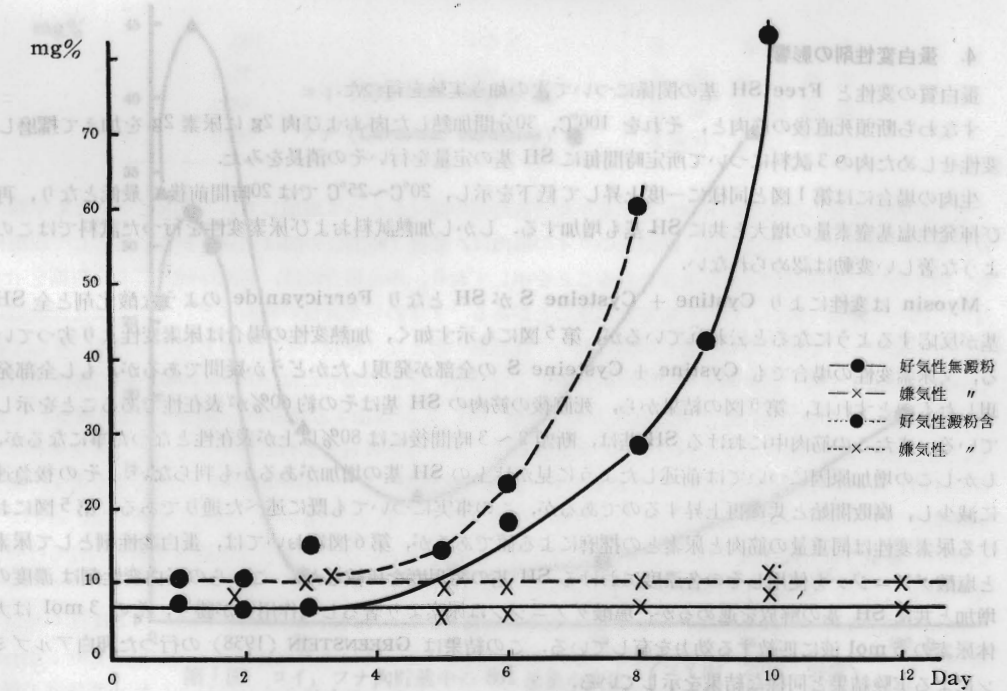
また断頭死直後の筋肉中の Free SH 基が死後数時間の間はかえつて増加している原因についても不明の点が多い. 15°C内外の気温では, 断頭死のコイの筋肉は, 死後3時間位の間は充分に刺戟に感応して収縮伸長し得るので, 筋肉細胞はまだ生きておることを示しており, ある場合には, 筋肉は硬直による短縮を示さないうち伸長(野口, 1957)をさえ示すことがある. すなわち死直後の筋肉はどちらかと云えば刺戟によつて収縮しているが, その後暫くの間は却つて休息筋の形となり伸長している事も考えられる. そして若し筋肉が収縮する際, Myosin は Actomyosin となるが, 休息の場合には Actomyosin から再び Actin と Myosin になるとすれば, 死直後よりも Free SH 基が増加する理由の一原因ともなり得る. しかし, また筋肉細胞が生きている場合には, 無酸素状態における呼吸現象が行われていることも考えられる. GIOLITTI (1942) は両棲類の胚の研究結果から, 酸素の代用系として Glutathion の酸化型を考え, 無気の状態となるとこれが徐々に還元型となりながら使用されると述べているので, 筋肉の場合にも, このように体内に蓄積された酸化源で暫く代謝が行われるとすれば, あるいはこのような無酸素状態における呼吸現象の結果として, 見かけ上の SH の増加が見られたのかも判らない.

次に好氣的条件下と嫌氣的条件下に筋肉を放置した場合には, 嫌氣的条件下では Free の SH 基の増減の曲線は極めてゆるやかであり(第2図), 更に嫌氣的状態においては当然死後硬直現象が完了したと思われる後においても, 尚 Free SH 基の減少が見られている. またスケトウダラを原料とした市販蒲鉾の様

加熱肉の場合には特に SH 基増加の速度は一層ゆるやかで (第 3 図), 殆んど腐敗による増加を示しておらない. この原因は恐らく嫌気的狀態に放置した場合には, 揮発性塩基窒素の発生は少ないが揮発性酸が増加し, また筋肉の色は生鮮時と同様か或いはそれ以上に鮮明な淡紅色を示して酸化され難い状態を示しており, 空气中に放置した場合と異った腐敗過程を示すので, このような腐敗生産物や腐敗過程の差とゆうものが Free SH 基の差異として現われたものと思われる. この原因については今後の研究にまたなければならぬが, 嫌気的に腐敗が行われた場合にはこの方法による鮮度判定は困難であることを示している.



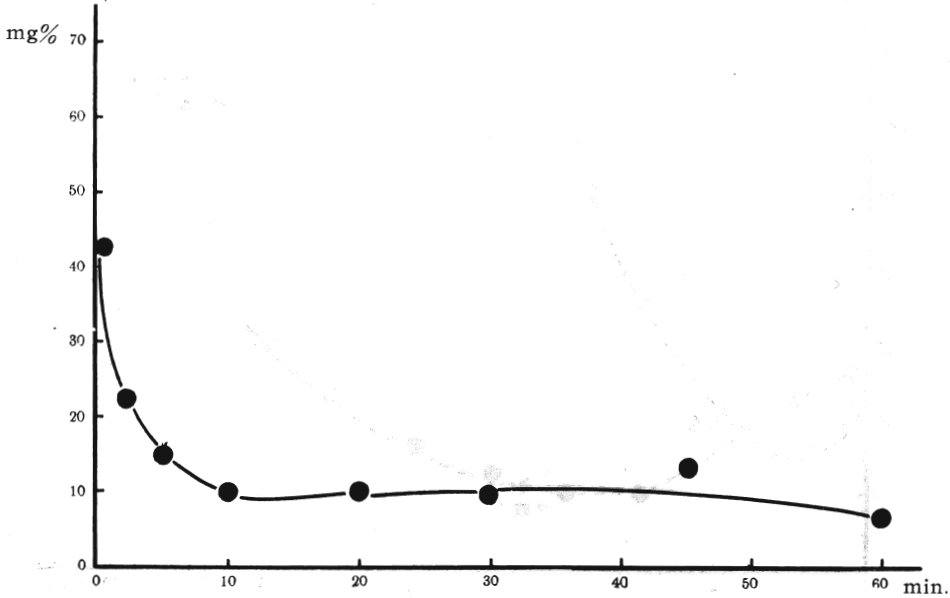
第 2 図 コイ肉の好気, 嫌気別放置と SH 基量の変化



第 3 図 カマボコの SH 基量の変化

3. Free SH 基に対する水漬けの影響

断頭死直後のコイ精肉を採取して小片とし、20°Cの水10cc中に肉2gを浸漬し、所定時間毎に肉片を取り上げ、SH基を測定した。結果は既に報告したと同じく(野口, 1957), 第4図に示される如く筋肉のFreeのSH基は急速に減少する。そしてこの際筋肉は“洗い”の現象が見られ、収縮の完了と共にSH基の変化は殆んどみられない。



第4図 鯉肉を水漬した場合のSH基量の変化

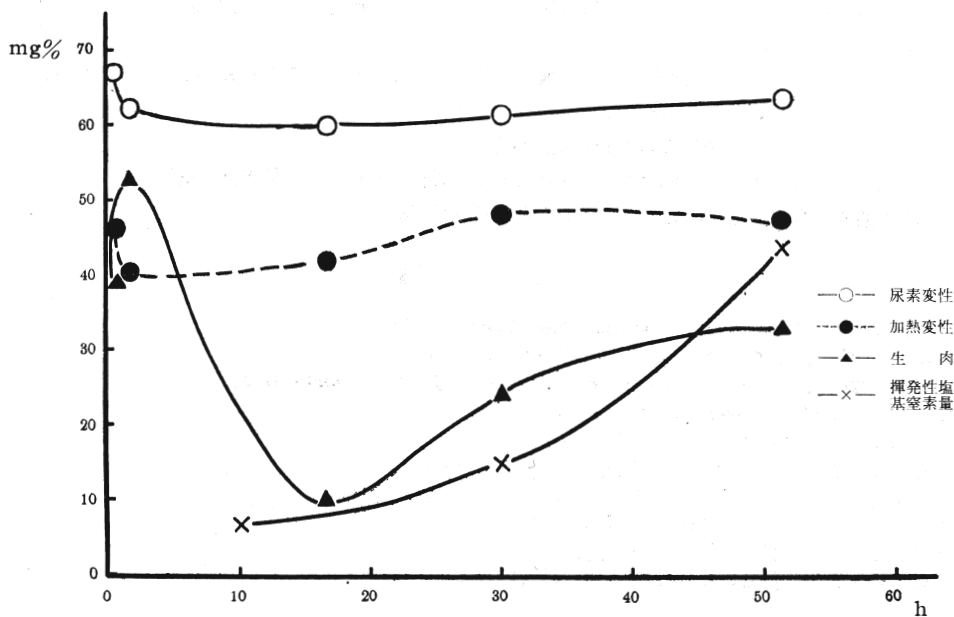
4. 蛋白変性剤の影響

蛋白質の変性とFree SH基の関係について次の如き実験を行った。

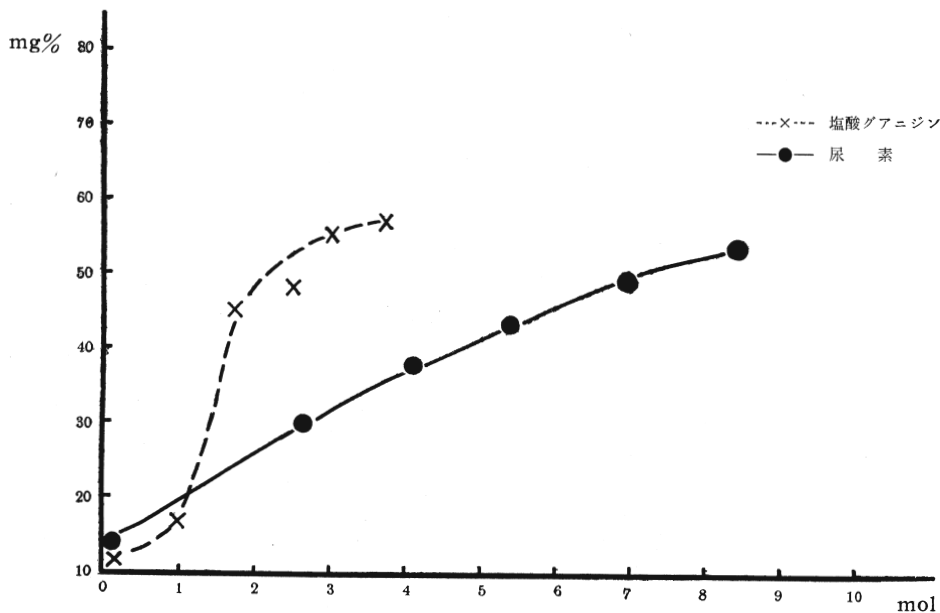
すなわち断頭死直後の筋肉と、それを100°C、30分間加熱した肉および肉2gに尿素2gを加えて攪磨し変性せしめた肉の3試料について所定時間毎にSH基の定量を行いその消長をみた。

生肉の場合には第1図と同様に一度上昇して低下を示し、20°C~25°Cでは20時間前後で最低となり、再び揮発性塩基窒素量の増大と共にSH基も増加する。しかし加熱試料および尿素変性を行った試料ではこのような著しい変動は認められない。

Myosinは変性によりCystine + Cysteine SがSHとなりFerricyanideのような酸化剤と全SH基が反応するようになると云われているが、第5図にも示す如く、加熱変性の場合には尿素変性より劣っている、又尿素変性の場合でもCystine + Cysteine Sの全部が発現したかどうか疑問であるが、もし全部発現したものとすれば、第5図の結果から、死直後の筋肉のSH基はその約60%が表在性であることを示している。またこの筋肉中におけるSH基は、断頭2~3時間後には80%以上が表在性となつた事になるが、しかしこの増加原因については前述したように見かけ上のSH基の増加があるかも判らない。その後急速に減少し、腐敗開始と共に再上昇するのであるが、この事実についても既に述べた通りである。第5図における尿素変性は同重量の筋肉と尿素との攪磨による値であるが、第6図においては、蛋白変性剤として尿素と塩酸グアニジンを使用しその各濃度におけるSH基の発現度を比較した。これらの蛋白変性剤は濃度の増加と共にSH基の解放を進めるが、塩酸グアニジンは尿素より著るしく作用力が勝り、その3molは大体重量の8mol液に匹敵する効力を有している。この結果はGREENSTEIN(1938)の行った卵白アルブミンによる実験結果と同様な結果を示している。



第 5 図 生肉，加熱肉，尿素変性肉の SH 基の時間的变化



第 6 図 蛋白変性剤による SH 基の解放度

IV. 摘 要

1. 主としてコイ肉について SH 基の含量とその存在状態に関して実験を行った。
2. 各個体間では表在性 SH 基含量に相当差が見られるが，筋肉部位別では著明な変化はない。
3. 各臓器別では肝臓が最も含量が高く，その殆んどが表在性である。

4. 筋肉貯蔵中においては断頭死後1時増量を示すが、死後硬直完了と共に最低値を示し、その後再び増加する。
5. 嫌気的条件下では好気的条件下に比し増減共にかんまんであり、この方法は嫌氣的腐敗の場合には鮮度判定法としての使用は困難である。
6. 水漬けにより表在性 SH 基は急速に反応性を失う。
7. コイ筋肉の SH 基中その約60%が表在性であり、蛋白変性剤として尿素液と塩酸グアニジン液による SH 基解放度を比較した結果は塩酸グアニジン液の作用力が著るしい。

文 献

- GIOLITTI, G. (1942). *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 16, 729.
GREENSTEIN, J. P. (1938). *J. Biol. Chem.*, 125, 501.
GREENSTEIN, J. P. & JENRETTE, W. V. (1940). *J. Natl. Cancer Inst.*, 1, 91.
GUBA, F. (1952). *Chem. Abstr.*, 46, 1952 C.
梶田昭彦 (1954). 生化学, 26 (5): 547-551.
森高次郎・秦 満夫 (1950). 日水会誌, 15 (8): 407-411.
野口栄三郎・山本常治 (1955). 日水会誌, 20 (11): 1020-1022.
野口栄三郎 (1957). 日水研報告, (5): 55-57.
斎藤 要・日高富男 (1956). 日水会誌, 21 (9): 1027.
斎藤 要・日高富男 (1956). 日水会誌, 21 (10): 1082-1085.