

牛肝臓成分研究

古川方子*

緒言

肝臓は赤褐色をした軟かい臓器で、無数の肝細胞とその間を縫つて流れる血管の網との集合である。肝細胞は血液より必要な物質な取入れ、不必要になつた物質、あるいは他の臓器にとつて必要な物質に変化させたものを送り出す。肝臓の仕事のうち、古くから知られているものは、胆汁を分泌することであり消化吸収に意義を持つ胆汁酸、色素性成分である bilirubin 及び cholesterol が主成分をなしている。そのほか肝臓は、胃腸等から吸収した栄養分から炭水化物をとつて glycogen として貯える、又必要に応じて一部づつこれを glucose にかえて血液内に送つて栄養を助けている。このように体外より摂取した炭水化物、蛋白質、脂肪、等の高分子の物質を低分子の物質に分解し再び合成し生体に必要な物質を作り又生体にとつて有害な物質はここで変化を受けて無害化される。

Felix 氏の研究によると、門脈系によつて、単糖類 (glucose, fructose, galactose, mannose,)、amino acid 低分子の peptides- が腸内消化の結果運ばれて、代謝の中間物質や経末産物例えば carbon dioxide, lactic acid, acetyl-coenzyme A, keto acid, purine, pyrimidine 塩基も動脈或いは静脈を経て運ばれてくる、又肝臓に於て glycogen、蛋白質の他に heparin, 核酸, lipids, を合成すると発表している。

以上の如く肝臓は動物体の新陳代謝に重大な関係を有するもので生化学、栄養学的に注目されている臓器である。

食物に利用される肝臓のうち牛の肝臓は代表的なもので、暗褐色の蒟蒻状をなし、強靱なる薄膜に覆われ、膜を去ると硬い糊状物となる。

牛肝臓の成分について、Hartley 氏、木村氏、辻本氏等は脂肪物質に関する研究を行い、併せて不飽和物中に cholesterol の存在を報告している。

桜井氏は、有機塩基の分離を行い、牛肝臓乾燥粉末の窒素は、全窒素10.15%、水溶性窒素8.83%、塩基性醋酸鉛にて沈澱しない窒素0.86%を測定し、尿酸, xanthine, hypoxanthine, creatine, creatinine,

adenine, guanine, methylguanidine, choline, carnosine を分離している。又 glutathione の存在をも報告している。

Vitamin A について藤田氏は、生牛肝臓中に 3000 ~ 40000 i.u. 含有していると報告している。従来 vitamin A は酸化されやすいが熱に対して割合安定であると言われ、調理による vitamin A の変化はあまり問題にされなかつた。ただ後藤たえ氏が butter 中の vitamin A の調理加熱による変化の研究を行い、次の如き結果を得て、vitamin A は調理加熱により相当量減少することがわかると報告している。

試料の種類	butter 生の場合の V.A. 量 (i.u.)	butter 200. C に加熱した場合の V.A. (i.u.)
古い butter (購入後半年終過)	1020	420
新しい butter (購入直後)	2000	1100

私は牛肝臓の成分研究に於て、肝臓の循環系の機能と関連する特殊成分の検索を行い、食物としての栄養的検討をこころみた。

一般分析は、水分 71.75%、粗蛋白 21.77%、粗脂肪 4.06%、炭水化物 2.91%、粗灰分 1.16% であつた水分が非常に多いが、栄養素としては、大部分蛋白質より成ることがわかる。

遊離 amino acid としては paper chromatography 二次元上昇法により、leucine, isoleucine, phenyl alanine, valine, tyrosine, proline, histidine, alanine, serine, threonine, arginine, lysine, glycine, cystine glutamic acid, aspartic acid の16種を検出したこのうち6種の必須 amino acid を含有し、しかも遊離状態で検出出来た事は蛋白質として栄養的に良好であると言える。

有機酸、無機酸は paper chromatography 一次元上昇法によつて lactic acid, malic acid, 磷酸、第一磷酸加里を検出した。

creatine, creatinine を Joff 反応を応用し paper-chromatography 一次元上昇法によつて検出した。Creatine は生体に於て glycine と arginine よりその骨格が形成され、動物筋肉中に於て磷酸と結合し新陳代謝に重要な役割を演じているものである。

牛肝臓より核酸の分離を行つた。核酸は遊離状態で

*平教授指導 昭和31年度本学卒業生

或いは核蛋白として、蛋白質と結合した状態で現れる高分子物質であり塩基—糖—磷酸なる構造の mono nucleotide より成る一種の polyester である。Miescher 氏が始めて核酸を分離して以来核酸の抽出分離は主として酸沈澱によつていたが Hammarsten 氏により食塩水抽出による胸腺核酸が精製され colloid 化学的研究がなされて以来おだやかな方法で、生体中に存在する状態に近い核酸を抽出する事が出来るようになった。この方法を応用して平田氏が青黴の菌体より核酸を分離しているので私はそれにもとずき核酸の抽出をこころみた。その結果灰白色に着色した alcohol と water に不溶解で alkali で中和すると溶解する粉末を得た。抽出した核酸を塩酸で加水分解し paper chromatography 二次元上昇法によつて molybdic acid 反応で無機磷酸を検出し、次に塩基の検索を行い adenine, xanthine を検出した。更に牛肝油の抽出を行いその物理恒数、化学恒数を測定した。

生牛肝臓の vitamin A 含量について Carr-Price 反応による比色法により定量を行つた。即ち生牛肝臓を鹼化の後 vitamin A を benzol に移行してそれを chloroform 溶液となし三塩化 antimon 溶液を加えて生ずる青色を比色定量するもので、生の牛肝臓100g中 20000i.u の結果を得た。牛の食用に供し得るものの vitamin A 含量は肝臓に最も多い事が明らかになり、vitamin A 含量は調理法によつて著しく減少する事を確認した。

実 験

実験材料

供試牛肝臓は1956年5月及び12月に京都市屠殺場より購入したものについて行つた。

〔I〕一般成分分析

(1) 試料の調製

生牛肝臓を細片とし、乳鉢にてよくすりつぶし減圧 desicator にて48時間乾燥し、再び乳鉢にてよくすりつぶし粉末としたものを試料とした。

(2) 一般分析結果

一般分析を行い第一表の結果を得た。

第一表 一般分析

	*水分	粗蛋白	粗脂肪	炭水化物** (還元糖)	粗灰分
含量(%)	71.75	21.77	4.06	2.81	1.16

* 105°C 加熱乾燥法

** 永原太郎食糧分析 還元糖定量

〔II〕遊離 amino acid の検索

(1) 試料の調製

牛肝臓 100 g を乳鉢にてすりつぶした後90% alcohol 300 cc を加え一昼夜放置後濾過した。同様に alcohol 抽出3回行い、次に alcohol を溜去し ether を加えて分液漏斗にて油液層と水溶液層に分離し、水溶液を濃縮して paper chromatography 用試料とした。

(2) 操 作

二次元 paper chromatography 上昇法

展開液 一次 phenol: water (75:25)

二次 butanol: acetic acid: water (4:1:5)

発色剤 0.2% ninhydrin butanol 溶液

温 度 30°C

濾 紙 東洋濾紙 No.50 (40×40)

(3) 実験結果

二次元 paper chromatography の結果 leucine, ne, isoleucine, phenylalanine, valine, tyrosine, proline, histidine, alanine, threonine, arginine, lysine, glycine, serine, glutamic acid, aspartic acid, cystine を検出した。

〔III〕酸の検索

(1) 試料の調製

牛肝臓粉末 30g に蒸留水 400cc を加えて、蒸気釜で1時間浸出し直ちに濾過し、残渣に蒸留水 200 cc を加えて30分浸出した後濾過し、前の濾液と合せて沈澱が生じなくなるまで飽和塩基性醋酸鉛水溶液を加えて濾過し沈澱に蒸留水 100cc を加え硫化水素を通じて過剰の鉛を沈澱させ濾液を濃縮して paper chromatography 用試料とした。

(2) 操 作

一次元 paper chromatography 上昇法

展開液 butanol: formic acid: water (4:1:5)

発色剤 0.1% brom phenol blue butanol 溶液

温 度 30°C

濾 紙 東洋濾紙 No.50 (40×2)

(3) 実験結果

一次元 paper chromatography の結果 lactic acid, malic acid, 磷酸, 第一磷酸加里を検出した。これらの Rf 値は第二表の如くである。

第二表 有機及び無機酸

酸	Sample Rf	Standard Rf
lactic acid	0.758	0.753

malic acid	0.523	0.523
磷 酸	0.202	0.203
第一 磷 酸 加 里	0.125	0.126

〔Ⅳ〕 creatine 及び creatinine の検索

(1) 試料の調製

生牛肝臓 100g を細片とし乳鉢にてよくすりつぶし乳状とした。それに蒸溜水 100cc を加えて 50°C に15分加熱した後濾過し残渣に再び蒸溜水を加えて浸出し浸出液を合せて煮沸冷却後凝固蛋白を濾別し、濾液に過剰の塩基性醋酸鉛を加えて醋白を沈澱させ濾液に硫化水素を通じて鉛を濾別し濾液を減圧下に濃縮して paper chromatography 試料とした。

(2) 操 作

一次元 paper chromatography 上昇法
 展開液 butanol: 95%alcohol: water (4:1:1)
 温 度 30°C
 濾 紙 東洋濾紙 No50 (40×2)
 発色剤及び方法

乾燥展開濾紙に 0.5N H₂SO₄ を spray し1時間 100°C に熱した。次に 1.3% picric acid 95% alcohol 溶液とその発容の10% NaOH を使用前に混和し前と同様に spray した。

(3) 実験結果

一次元 paper chromatography の結果黄色の地に、orange spot として creatine, creatinine を出した。これらの Rf 値は第三表の如くである。

第三表 creatine 及び creatinine

塩 基	Sample Rf	Standard Rf
creatine	0.27	0.27
creatinine	0.60	0.56

〔Ⅳ〕 核酸の研究

〔i〕 核酸の抽出

(1) 試料の調製

生牛肝臓 750g を細片とし90% alcohol に24時間浸出した後濾別し、更に同濃度の alcohol で2時間加熱した後濾別し乾燥した、これを粉末として用いた。

(2) 操 作

粉末試料 100g に95% alcohol 200cc 加え2時間加熱した後吸引濾過し alcohol 臭がなくなるまで乾燥した。それに10% NaCl 水 1l 加えて75~80°C の恒温器中にて96時間放置後吸引濾過し、濾液に

HCl を加えて PH 2 とした。*液はにごつてきた。一昼夜放置後遠心分離し核酸の沈澱を得た、これを50% alcohol で洗滌し更に95% alcohol で、次に ether で洗滌し、desicator にて乾燥し 126mg の灰白色粉末を得たこれは alcohol 水に難溶であり、alkali で PH 7 にすると Na 塩になつて溶解した。*Na 塩になつて溶けていたものが HCl によつて遊離状態になり沈澱したものである。

〔ii〕 核酸分解物の検索

(1) 試料の調製

乾燥核酸 50mg を硝子管 (150×5mm) 中に取り 6N. HCl 1cc. を加え管を封じ 120°C の油浴中で2時間加水分解した後 HCl を溜去し蒸溜水を加え 2cc としたものを paper chromatography 用試料とした。

(2) 操 作

一次元 paper chromatography 上昇法
 展開液 butanol: acetic acid: water (4:1:5)
 温 度 30°C
 濾 紙 東洋濾紙 No. 50 (40×2)
 発色剤及び方法

A 無機磷の検出

乾燥展開濾紙に perchloric acid 5cc, IN-HCl 10cc 4% (NH₄)₂MoO₄ 25cc, water 60cc を混和した濾液を spray し濾紙を 80°C に3分加熱した後紫外線を 10 cm のところで5分照射した。

B Purine の検出

105°C で20分間加熱した展開濾紙に硝酸第二水銀を 0.5N-HO₃ に 0.25 M の濃度に溶解した溶液を spray した。この濾紙を 0.5N-HNO₃ に浸しその中に水のゆるい流れを注いてあふれさせ、*完全に洗滌した後硫化 ammon 溶液に浸した。

*洗滌が完全か否かは別の小濾紙片に Hg(NO₃)₂ を spray し同じ溶液の中で同時に洗滌し時々その一つを取出して硫化 ammon 溶液につけて黒変するかどうかで判定した。

(3) 実験結果

A 発色剤 spray 直後無機磷酸の黄色の spot を検出し、紫外線照射後黄色の spot は緑青色に変色し無機磷酸の存在を確認した。

B 発色剤により黒色の spot 2個検出し、adenine, xantine, の Rf 値と一致した。

Rf 値は第四表の通りである。

第四表 Purine

purine	Sample Rf	Standard Rf
adenine	0.475	0.48
xantine	0.27	0.27

〔V〕牛 肝 油

〔i〕牛肝油の抽出

生牛肝臓 750g を細片とし乳鉢にてよくすりつぶし 90% alcohol 2l 加えて一昼夜放置後濾過し同様 alcohol 浸出 5 回行つた。次に alcohol を溜去し残渣に ether を加えて分液漏斗に入れ ether 層を分離した。これに無水硫酸 Na を加え一昼夜放置後濾過し ether を溜去し肝油を得た。新鮮牛肝臓 750g から 26.25g の肝油を得収量率は 3.5 であつた。

肝油は黄褐色の一様な軟塊であり 15°C 以下になると結晶性物質を含む塊になり、特異の海藻臭があり日がたつにつれて褐色を帯びてきた。

〔ii〕肝油の実験

(1) 物理恒数

第五表 物理恒数

屈折率	$n_D^{20^\circ}$	1.493
比重	$d_4^{20^\circ}$	0.957

(2) 化学恒数

第六表 化学恒数

酸価	87.98
鹼化価	128.69
沃素価	64.18

(3) 呈色反応

肝油 1g を 60cc 共栓試験管に入れ、5% KtH alcohol で溶解し 75°C に 15 分熱し急冷後水 30cc benzol 15cc を加え benzol 層を残し、60% methyl alcohol で 3 回洗滌し次に蒸溜水で 2 回洗滌し benzol を溜去し残渣を chloroform に溶解し *三塩化 antimon 試薬を加えると濃紫色を呈した。

*三塩化 antimon 試薬

三塩化 antimon 6g を chloroform 20 cc に溶解し無水醋酸 7 滴を加えた。

〔VI〕牛肝臓 Vitamin A の研究

〔i〕Vitamin A の比色定量

(1) 装置

第一図、第二図に示した如くである。

(2) 試 薬

1. methanol
2. benzol
3. 5% KOH ethylalcohol
4. 60% methyl alcohol
5. chloroform
6. 三塩化 antimon
7. 無水醋酸
8. antimon 試薬

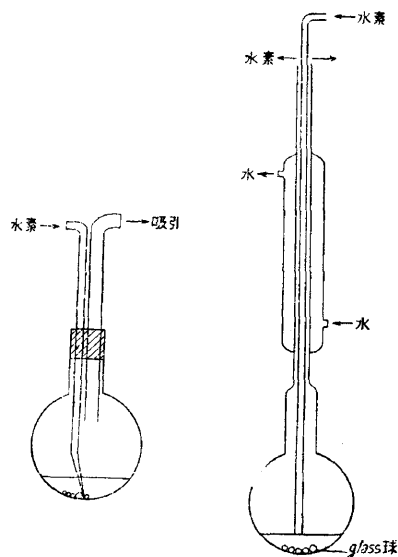
褐色三角 flask に三塩化 antimon 6g を入れこれに chloroform 20 cc を加え更に無水醋酸 7 滴加え CaCl₂ 管をつけた栓をし、40°C 湯浴でよく振盪し溶解後直射日光を避けて室温に置いた

9. 水 素

Kipp の装置に純亜鉛を入れ硫酸: 水 (1:4) を作用させ、水素を発生させ 1.2% KMnO₄ 液、2. 昇汞飽和液、3. 10% KOH 液、の洗滌瓶を通過させた。

第二図

第一図



〔ii〕Vitamin A の標準曲線

(1) Carr-Price 反応

Vitamin A chloroform 溶液に三塩化 antimon 試薬を加えると青色になり、青色調は時間的に褪色した。

(2) 標準試液の調製

*肝油標準液は ampule 1g 中に 10000i.u. vitamin A を含有している溶液である、それを chloroform で稀釈して 1 cc 中にそれぞれ 50, 40, 30, 20, 10, 5 i.u. 含有するようにした。

(3) 比色定量

Cell (10mm) に標準試液 0.3 cc 三塩化 antimon

試薬 3cc を pipette で加え、試薬添加 15秒後に比色定量を行つた。盲験には蒸溜水 3cc を用いた。光電管比色計, filter No.12 で測定した測定結果は第七表, 第三図の如くである。

第七表 標準液の濃度と吸光度

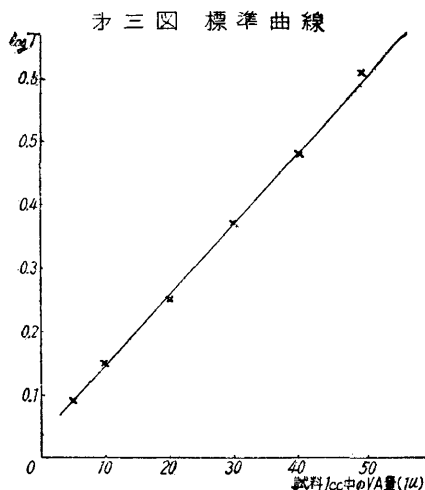
試料 lcc 中の V.A.含量 (i.u.)	吸光度 log T
5	0.09
10	0.15
20	0.25
30	0.37
40	0.48
50	0.61

*肝油標準品 vitamin A 検定用

〔iii〕生牛肝臓の Vitamin A の定量

(1) 浸出及び比色

生牛肝臓を細片とし乳鉢でよくすりつぶしその5g を 100 cc の *丸底 flask に入れ, 更に直径 3mm の glass 球10個を加えこれに 5% KOH ethyl alcohol 15 cc を加え水素を通じながら 75°C の water bath につけ管底に沈澱しないように時々振盪した。(*第一図参照) 30分で組織は崩れ更に10分加温をつづけた後急激に冷却し, 水 30cc を加え更に benzol 15cc を加え水素を通じて30分静置した。benzol 層と水溶液層に分れた, benzol 層を残して水溶液を pipette で除き, 次に 60% methyl alcohol 30cc を加えて2回洗滌し更に蒸溜水 30cc にて2回洗滌した。洗滌の際も常に水素を通じながら行つた。次に



benzol を *減圧で 40°C の water bath 中で加温しながら溜去した後残渣を 40 cc の chloroform に溶解した。その 0.3cc を 10 mm cell に入れ三塩化 antimon 試薬 3cc を pipette で加えな15秒後に比色定量を行つた。盲験には蒸溜水 3cc を用い光電管比色計, filter No.12 で測定した。

(2) 測定結果

吸光度 0.32 であり標準曲線から vitamin A を求め生牛肝臓 100g 中 20000 i.u. を得た。

〔Ⅹ〕牛各食用部の vitamin A 含有量比較

(1) 浸出及び比色

〔iii〕の vitamin A の定量方法に準じて行つた。

(2) 測定結果

第八表の如くである。

第八表 Vitamin A 含有量比較

	100g 中 VA 含有量 (i.u.)	藤田氏の実験値
肝 臓	20000	3000~40000
心 臓	0	0
肉 (多脂)	+	200
肉 (普通)	0	0~50

〔Ⅶ〕調理方法と Vitamin A との関係

(1) 試料の調製

○ 生の場合

〔iii〕の生牛肝臓 vitamin A 定量に準じた。

○ 焼いた場合

生牛肝臓 13.3g (縦 6cm, 横 3cm, 厚さ 1cm) を鉄板上で焼きその重量 10.3g となつた。これを乳鉢にてよくすりつぶし生牛肝臓 5g に換算した 3.87g を餾化試料とした。

○ 煮た場合

生牛肝臓 15.25g (縦 6 cm. 横 3 cm. 厚さ 1 cm) を 200 cc の beaker に水 30 cc と共に入れ浮き上るまで煮沸した。肝臓を引き上げ, その重量 9.2g となつた。これを乳鉢でよくすりつぶし生牛肝臓 5g に換算した 3g を餾化試料とした。

(2) 浸出及び比色

〔iii〕の vitamin A の定量方法に準じて行つた。

(3) 測定結果

第九表の如くである。

第九表 調理方法と Vitamin A

	第一回 実験結果		第二回 実験結果	
	重量 (g)	VA 含有量 (i.u.)	重量 (g)	VA 含有量 (i.u.)
生	100	19200	100	20000
焼	77.5	13600	68.75	12100
茹	60.3	8000	—	11200

総括及び考察

- (1) 一般分析の結果牛の肝臓は水分を除けば、大部分蛋白質より成り、蛋白質 21.77% 脂肪 4.06%、炭水化物 2.81%、灰分 1.16% であつた。
- (2) Paper chromatography により遊離 amino acid は leucine, isoleucine, phenylalanine, valine, tyrosine, proline, histidine, alanine, threonine, arginine, glycine, aspartic acid, serine, glutamic acid, cystine 及び lysine の 16 種を検出した
- (3) 酸は paper chromatography により有機酸として lactic acid, malic acid を検出した。malic acid が検出出来た事は、肝臓筋肉の諸種細胞に於ける物質代謝の主要経路を成している TCA cycle (Krebs cycle) と関連して考える時に citric acid → cis-aconitic acid → isocitric acid → oxalosuccinic acid → αketoglutaric acid → succinic acid → fumaric acid → malic acid → oxalacetic acid の最後に fumaric acid より fumarase の作用で malic acid に変るがこれと、関係があるのではないかと思う。無機酸は磷酸、第一磷酸加里を検出した。
- (4) 有機塩基として creatine, creatinine の存在を確認した。
- (5) 牛肝臓より核酸の分離を行い、抽出した核酸を加水分解して paper chromatography により purine 塩基の adenine, xanthine を検出した。
- (6) 牛肝油の抽出を行い、物理恒数、化学恒数は屈折率 $n_D^{20} = 1.493$, 比重 $d_4^{20} = 0.957$, 酸価 87.98 鹼化価 128.69, 沃素価 64.18 であり、三塩化 antimon 呈色反応は紫色であつた。この呈色反応は青

色に於て vitamin A が存在するのでありこの肝油中の vitamin A はすでに酸化したためと思う。

- (7) Vitamin A の定量を三塩化 antimon 比色法によつて行い生牛肝臓 100g 中 20000 i.u. の結果を得た。序でに牛の心臓や普通肉は Carr-Price 反応を現はさないで vitamin A を含有しない事を認めた。

調理により vitamin A が減少する事を確認した以上の如き vitamin A に関する結果を得たが、vitamin A 含有量は同種のものに於てもまた個体によつてもかなり相違する場合があります、ことに肝臓は年令、体長、季節、肝油量等によつて著しく変化するものであるから、この結果から直ちに生牛肝臓の vitamin A 含有量とする事は出来ないが、他の臓器に比して著しく多く、又調理と牛肝臓の vitamin A 含有量との関係は調理により水分、脂肪等の減少が大きいため vitamin A の減少が直ちに、加熱のためと言う事は出来ないが、調理による減少はまぬがれない事がわかつた。

調理と vitamin A との関係は今後に残された問題である。

参考文献

1. Kurt Felix: Felix 教授講演集 73
2. P. Hartley: J. Physiology 1907, 36, 17
3. 木村包介: 東工試 21 [6] 41
4. 辻本満丸: 肝油の研究
5. 桜井芳人: 農芸化学会誌 vol. 9, 120
6. 藤田秋治: 医学と生物 5 (10) 613, 619,
7. 後藤たへ: 調理科学実験指導書
8. 永原, 若尾: 食糧分析
9. R. J. Block, etc.: A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis
10. Hammarsten: E. Biochem 2 144, 383 (1924)
11. 平田義正: 特許公報 昭25. 4208
12. Hans: Nature 164 1107 (1949)
13. 江上不二夫: 核酸及び核蛋白上巻 155
14. 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法
15. 藤田秋治: ビタミン化学的定量法

食塩の防腐効果に就いて

緒 論

食塩は栄養的にも、又調理上にも日常欠く可らざる

* 本学教授 ** 本学昭和31年度卒業生

足 立 晃 太 郎*
金 馬 マ チ 子**

ものであるが、一方食品貯蔵の面からもその防腐剤として古くから用いられている。これは食品貯蔵法とし