

鈴木文助 教授述

昭和十二年講義

東京帝國大學農學部

生物化學（各論）（三）

「帝大プリント聯盟」發行

4  
3  
2  
1  
0  
9  
8  
7  
6  
5  
4  
3  
2  
1  
0  
18  
70  
m  
mm

始



鈴木文助 教授述

昭和十二年講義

東京帝國大學農學部



生物化學

(各論)

(三)

「帝大・プリント聯盟」發行



鈴木文助 教授

生物 化学 (各論) [一]

目 次

第二十五章	Amino Acid の 分離	---(1)
第二十六章	Polypeptides	---(30)
第二十七章	-----	(37)
第二十八章	-----	(49)
第二十九章	Chemistry of Protein Foods	----- (68)

# 生物化學各論

農學博士 鈴木文助教授述

## 第二十五章 Amino acid の分離

### § 90 加水分解

天然蛋白からそれを構成する各 aminoacid を分離するには、先づその protein を加水分解せねばならぬ。hydrolysis に當り實際の反應に與るものは水である。然し乍ら蛋白そのものに水を加へて加熱するだけでは殆んど加水分解が生じない。pressure を加へ非常に high temperature に加熱すると、可成の變化があるが、 $180^{\circ}\text{C}$  以上では aminoacid も自身が破壊せられるおそれがある。即ち aminoacid を分離するには用ひらるる温度に limit があり、従つて水の作用を促進すべき Catalyser を使用しなければならぬ。之に用ひらるるものには通常次の三種である。

1 蛋白酵素 2 無機酸 3 塩基

a) 酵素

蛋白酵素は色々と存在するが、その type によって区別すると、次の三つに分かれる。

第一は、pepsin type のもので天然蛋白に作用して Peptone Albumose の程度にしか加水分解しない。

第二は、Trypsin type (or Proteinase type) のもので天然蛋白に作用し Amino-acid まで分解する。

第三は、Erepsin type (or Peptase type) のもので天然蛋白を自身には作用し得ず、Peptone の様に或る程度 hydrolysis を受けたものに作用して amino-acid まで変へる。

以上、3 types の Enzyme の作用を見て氣付く如く、Amino acid 分離の目的の時は Trypsin が最も便利で且つ通常使用される。

蛋白溶液を造り  $\text{NH}_4\text{OH}$  で微 alkali 性とし、Trypsin の一定量を加えて適當の防腐

剤 (Toluol & Chloroform) を入れ  $37^\circ\text{C}$  位に保つ。この method は丁度 protein が食物として摂られた時、動物の消化管内で起る加水分解に似たるものである。故に、その分解に無理がなく、最も望ましい方法である。然し次の一通り不便がある。

第一、分解に時間要する。

第二、protein solution もあまり濃くすることが出来ない為、相當量の蛋白処理の場合は多量の solution を取扱はねばならない。

第三、微生物に infect される危険が非常に多い。微生物が繁殖すれば勿論 proteins の hydrolysis 以外の Chemical reaction も進み abnormal な生成物の出来るおそれがある。この微生物の繁殖は余程注意しても絶対に防ぐことは可成り困難で、この方法で amino acid を separate した結果屢々 論争の生じたことがある。

b) 無機酸

種々の無機酸中  $\text{HNO}_3$  は或る特種の場合に使用された例が無いではないか、その用

ふることは殆んどなく通常用ゐるのは HCl or  $\text{SO}_4\text{H}_2$  である。やや古い時代迄は殆んど HCl のみが使用されたが、後新しい amino acid の分離法が考案されて  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を用ひるのが便利な時もある。併つて hydrolysis にあたつて HCl を使用するか  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を使用するかは次に述べる分離法の如何に由つて選択する。

例へば Fischer の "Ester method" を用ゐる時は必ず HCl でなければならず、Dakin の "Butyl alcohol Extraction Method" を使ふ場合は  $\text{H}_2\text{SO}_4$  でなければならぬ。この method は HCl なら conc. HCl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  なら 25% の concentration のものを用ゐる。protein の 5~10 倍量を boil するのである。Hydrolysis は protein の種類に依つて難易があり、それ故分解所要時間は protein に由りことなるが、通常 20 時間位要する。

この酸による Hydrolysis の amino acids 中 Tryptophane を破壊すると言ふ欠点を持つ。Tryptophane は動物栄養上

不可缺の成分である為 Aminoacid を用ひて栄養試験を行ふ時は必ず使用しなければならぬ。その成分が酸で破壊される故、栄養試験等の為蛋白を Hydrolysis する時酸を用ゐるのは可成り不便となる故、通常 Tryptophane のみは別的方法、即ち Enzyme による method で分離し他の Aminoacid を酸加水分解法で求めると様にしてゐる。この欠点を除けば Säure を用ゐる場合には時間を要せず容積も比較的少くすむ等の点が便利である。通常非常に広く用いられる。即ち Protein の Hydrolysis と云ふと、酸による加水分解と考へて差支へない。

### c) 塩基

alkali としては KOH, NaOH, &  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  等が用いられる。大体 base は acid に比較すると Proteins に対する加水分解力が強い。然し base を用ゐる時は殆んど致死的の欠点がある。即ち

一つには、これまでくる Aminoacid は racemize する。protein 中に存在してゐた時の體では出て来ない。

二つは、Diaminoacids, Cystine  
etc の Aminoacids を破壊する。唯此の方法で便利なのは racemize するが、Tryptophane は破壊しない。併せて racemize しても差支へない時は此の方法がつかは出来る。が一般の加水分解法としては殆んどつかはれないので、唯、バリタ水による方法が時々用ゐられるのみ。

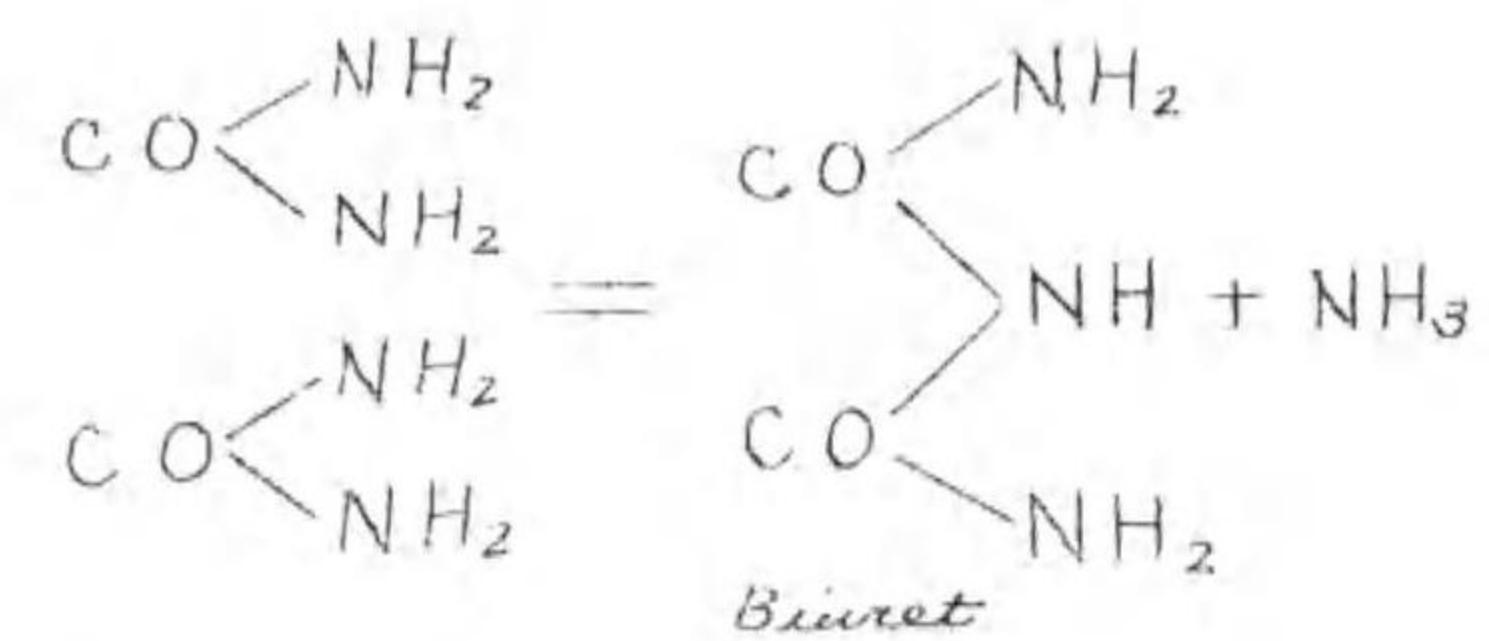
### § 91. 加水分解の程度の検出

protein を加水分解させるには何時でもその分解が何處まで進行したかを追跡し乍ら進行させねばならぬ。Z. B. Enzyme で加水分解する様な緩和な條件に於てさへ必要以上に時間をかけると Tryptophane は破壊される。Säure を用ゐるが如きやや強烈な試薬の場合は行き過ぎること、又不充分いづれもいけない。その為どの程度に分解が進んであるかを見る為には必ず検定して行かねばならぬ。その検定法をあげると次の如きものである。

#### 1. Biuret test

protein を conc. Alkali に溶解して、

1% CuSO<sub>4</sub> solution を滴下すると blue color を呈する。それを蛋白の Biuret test と称して一つの特徴ある反応となつてゐる。加水分解が進行すると、青→紫→赤等の色を経て遂に無色となる。この反応は蛋白及びその加水分解に於ては -CO-NH- なる原子團が二個以上存在する物質があるのでないとこの反応を呈しない。この原子團が多数存在してゐる物質がある場合がある場合ほど濃い。即ち blue に出来るのは非常に多数 -CO-NH- が存在することを示し、赤色は -CO-NH- がやや少い物質にまで加水分解されたことを示し、反応がなくなれば -CO-NH- を二個以上持った物質がないことを示す。



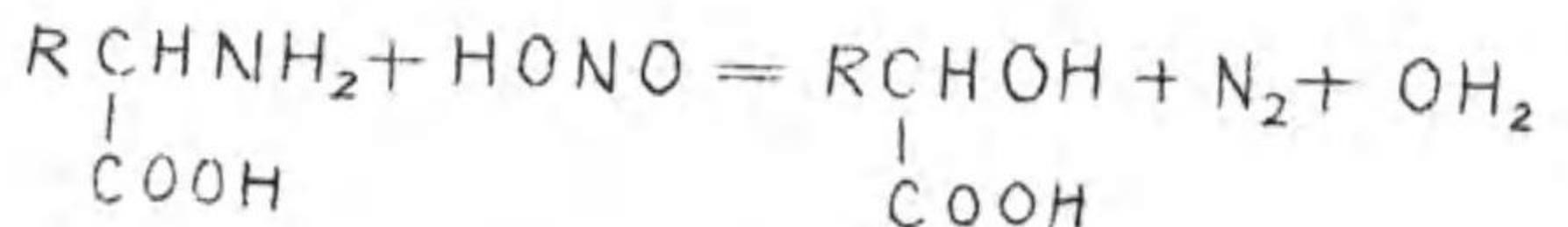
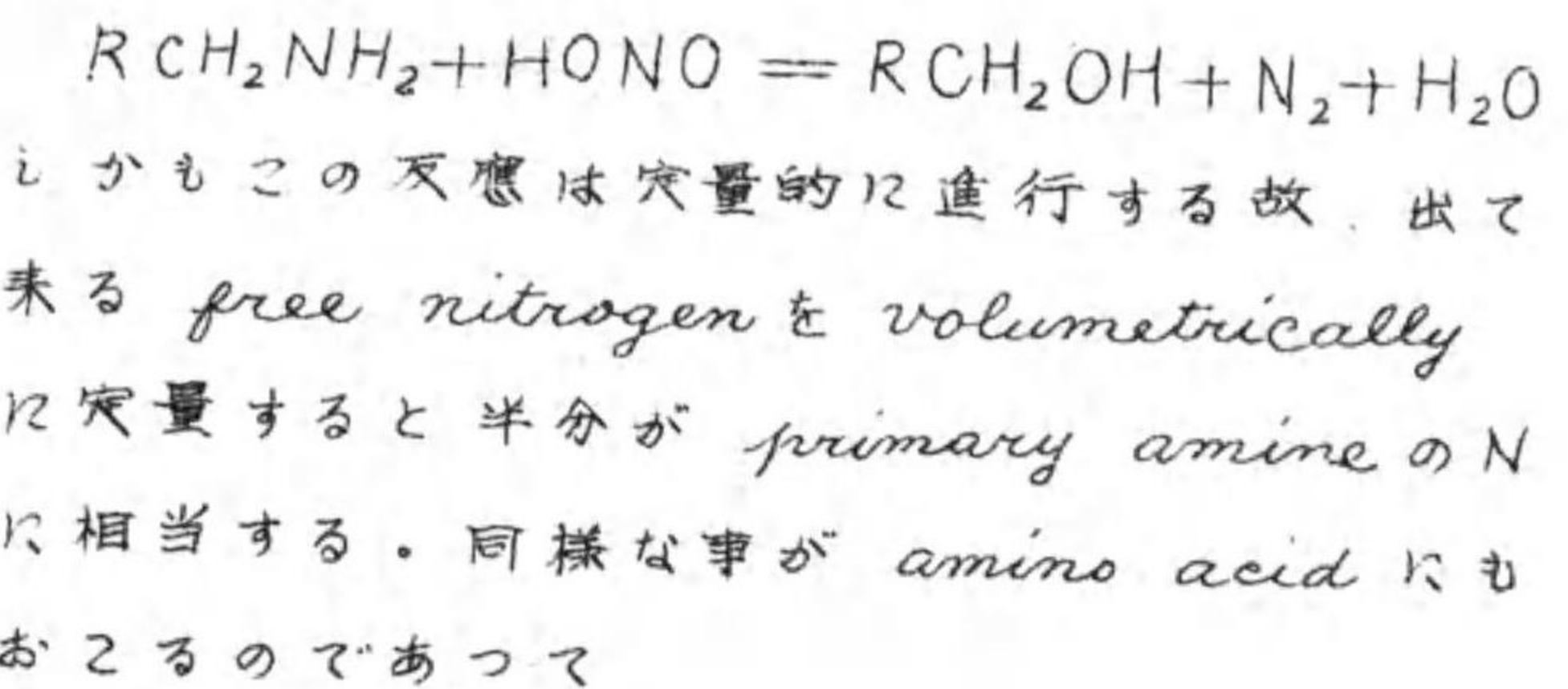
Biuret reaction とは Biuret なる物質がその反応を與へることから出た名である。

Biuret とは Iodamstoff を m. p. まで加熱する時生ずる物質で上の如き構造をもつ。

この反応を以て蛋白の加水分解の進行程度は定性的に知り得るが、定量的でないだけ不精密をまぬかれる。即ち Biuret reaction は必ずしも加水分解の end point を示す筈ではないと言ふことである。

## 2. Van Slyke's "Amino Nitrogen Method"

primary amine に至硝酸を作用させると次の如き反応が起る。



aminoacid は Oxyacid に変化しその N は至硝酸の N と共に free の状態となつて放出される。故にその nitrogen を定量すること

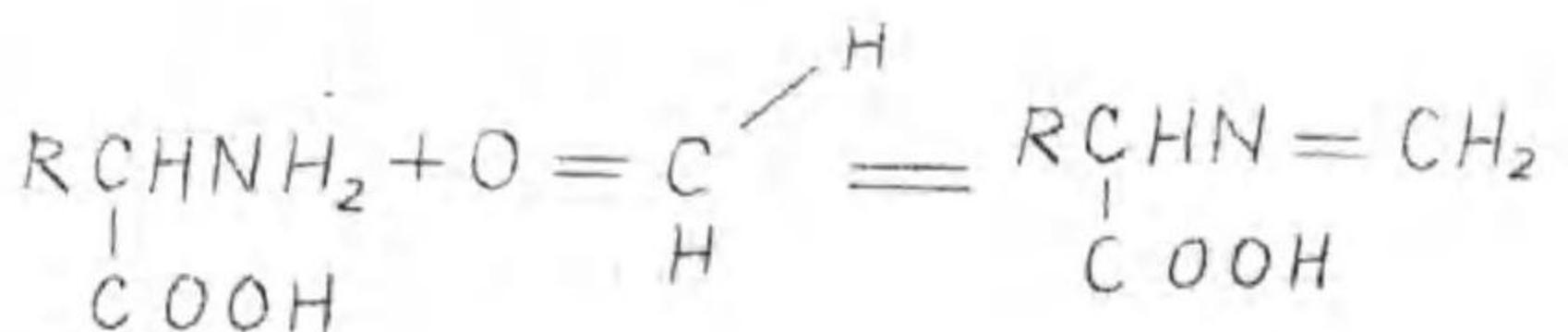
により、Amino acid の分量が決定される。この方法を amino acid に apply して完成したのは Van Slyke で、'Van Slyke's "Amino Nitrogen Method"' として知られてゐる。

之を實際行ふには矢張り Van Slyke によって考案せられた特別の装置があり、一定気圧下にて測定する。方法の詳細は後述する。この方法は前の Biuret Method に比すると定量的であるだけ精密であるが、Biuret test は試薬と一本の試験管があれば出来るが、之は手続しがやや複雑で時間を要する欠点がある。蛋白質には後述の如く  $-CO-NH-$  なる group がすくぶる多數存在する。しかして此の group の N は  $HNO_2$  に犯され、ところが  $-CO-NH- + H_2O \rightarrow -COOH + NH_2-$  加水分解されると free のアミノ基を生ずる。この free の amino 基は  $HNO_2$  に犯される。故に天然蛋白そのものにて Van Slyke's Method を行ふと出て来る Nitrogen の分量は極めて少量であるが、加水分解の進行につれて、free の  $-NH_2$  が増加し、 $HNO_2$  にて

作用される Nitrogen の分量が漸次増加する。そしてある Maximum の点に達し、その後はいちじるしい変化がない。こんな時は分解が完了したものと見て差支へない。

### 3. Sorenson's "Formal Titration Method"

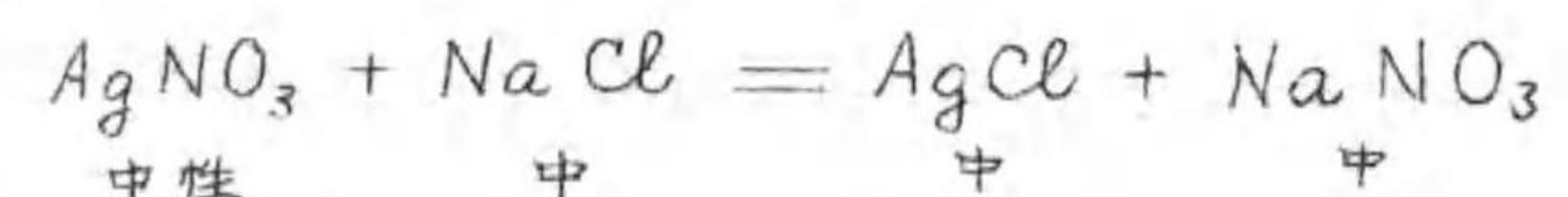
free の Aminoacid に HCHO を作用させると次の変化を起す。



monoamino acid では  $-\text{NH}_2$  と  $-\text{COOH}$  は前述の如く分子内塩をつくるものの如く、その水溶液は殆んど完全に中性である。が之に HCHO を作用せしめると上式の示す如く、N に Methin group が入る。而してこの N Methin group は殆んど塩基性を示さぬ。従って Amino acid はこの状態に於ては、完全な Monobasic acid として作用する。即ち上法に従ひ、alkali 滴定が可能となる。実行するには一方に Amino acid の solution を取り、Phenol phthalein

solution を加へ、酸又はアルカリで中和して置く。他方に Formalin solution の一定量に同じく Phenol phthalein を加へ alkali で中和して置く。両液を合せると mixture は酸性を示す。それを滴定用アルカリ溶液で titrate し、Amino acid の量を alanine としていくら、glycine としていくら等とあらはす。

この方法は定量的なると同時に Titration によるから操作が極めて簡単なる特長がある。が蛋白の加水分解液は通常暗褐色で Indicator を用ゐた時 endpoint が甚だ不明瞭である。故に其の結果は不正確なことをぬかぬといふ欠点がある。その欠点を除去する為 Sorenson は次の如き方法を取つた。即ち Amino acid solution に  $\text{AgNO}_3$  を加へ之に食鹽の solution を加へる。



ここに生じた  $\text{AgCl}$  は極めて微細な粒子で、その表面積は漢大である。故に吸着力が強く

色素の大部分を吸着する。故にその塩化銀の沈殿を濾過すると、Amino acid を含む母液は脱色される。この方法は非常に合理的の様であるが、 $\text{AgCl}$ は色素のみならず、アミノ酸をも同時に吸着する。即ち amino acid の loss による実験誤差を生ずる。従つて、此の方法は非常に便利な方法であるのにかかはらずあまり廣く用ひられない。

以上、three Methodsは何故 Formol titration method に依り Amino acid の進行方法がわかるかは前の Amino Nitrogen の時と全く相似的関係がある。即ち  $-\text{CONH}-$  group は aldehyde group は作用しない。それが free の amino acid の時作用して Monobasic acid の如く行動する。この時も Titration value の Maximum の値を Hydrolysis の完了した点として取るとよい。

以上三つの方法を各孤立させて考へる必要はない。便宜に廢じて組合せて用ひるがよい。モデルの一つは Biuret method と amino Nitrogen method or Formol Titration

method とを組合せる如きである。

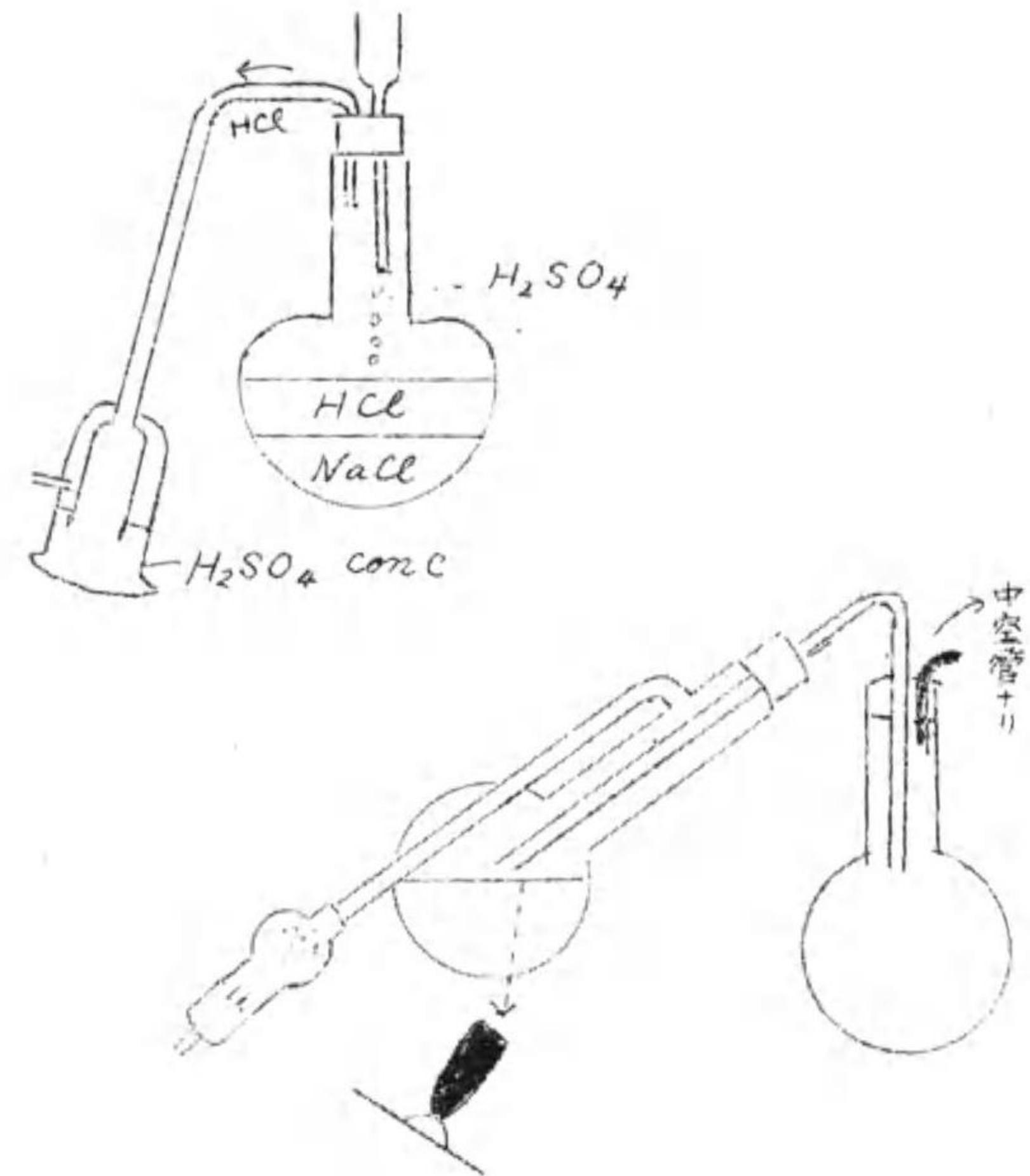
Biuret test が positive の間は Hydrolysis の完了しないことは明な事實であるから 2, 3 の如き複雑な方法を構すべきではない。negative になつた時、定量のいづれか一方を用ゐると目的が達せらるる。

### §92 Fischer's "Ester Method"

Fischer の Ester method が考案されたまでは Amino acid の分離法は何等組織的のものでなかつた。従つて Amino acid の発見もほとんど chance の問題であつた。故に Leucin とか Tyrosin の如き水に insoluble のものが最初に発見された。この方法が提案されてから Amino acids の Separation がやうやく System立てて来たのであつて、以後はこの方法で各種 protein の種々の Amino acids の含有量を比較して protein の異同を知ることが出来る様になり、Protein chemistry の一大躍進を來した。

その方法を要約すれば、Amino-acid の Ester をつくり、それを高度の真空中で分別

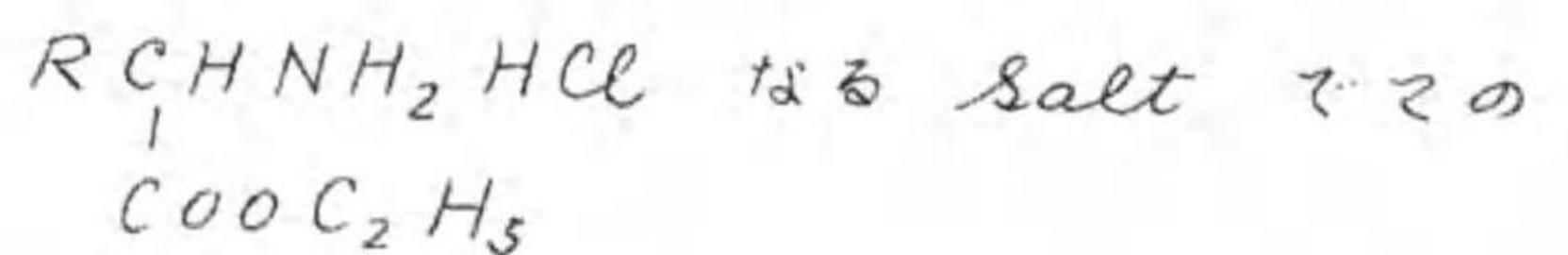
蒸溜し、いくらかの fraction に分ける。そして各 fraction に含まれる数種の amino acids を Cu-Salt 其他を作ることに依り分離すると云ふのである。この方法を行ふに HCl で行ふ方が便利だと言ふことは前述の通り。HCl で Hydrolysis を行った後、低圧蒸溜法を行い volume を  $\frac{2}{3}$  位に濃縮し、それれ dry HCl gas を通じて、HCl を saturate させ、 $0^{\circ}\text{C}$  に冷却して数日放置して置くと、glutamic acid hydrochloride が crystal となって析出する。この析出は定量的とは言ひ難いが、かなり定量的に近く、即ち非常によい收量であるものである。その glutamin säure の結晶を除いた母液は Syrup となるまで煮詰めて、出来るだけ水分を追ひ出し、後 absolute alcohol を加へ。Protein 1 Kg に対し 3 liter 位入れる。よく攪拌しつゝ dry HCl gas を通じ、saturate せしめる。HCl を乾燥せしめるには conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を入れた washing pot を通過せしめる。



Ester を作る場合最も妨害になるのは勿論水である。故に水分が外界より入らぬこと。 Aminoacid の preparation から出来るだけ水を駆逐することが收量をよくする第一の手段である。然るに amino acid mixture を evaporate したものは粘重な鉛状のもので、最も水分を逐ひ出しがたい状態にある。故に alcohol 溶液に HCl gas を飽

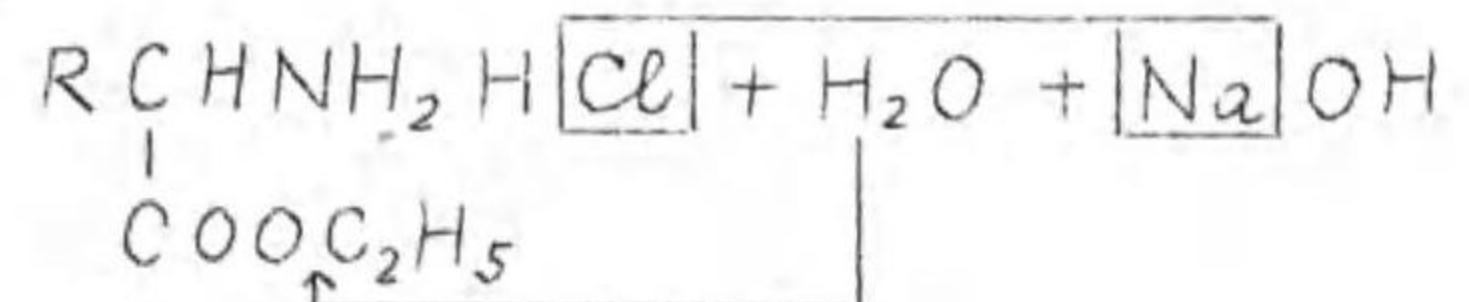
和せしめた後全体を数時間  $100^{\circ}\text{C}$  に加熱し  
低圧蒸溜を行つて alcohol を追ひ出し、洗  
滌して無水酒精を加へ、同じ操作を繰返す。  
ある場合は alcohol を加へ dry HCl  
gas を通じ、 $100^{\circ}\text{C}$  にて乾燥することを三  
回位繰返す必要がある。

Respiration の結果出来るものは、



Ester hydrochloride は Salt なる為  
蒸溜することが出来ない。故に free の  
Ester にするには alkali を用ゐねばな  
らぬ。そうすると Ester が破壊される。これ  
は矛盾した実験方法で最も困難であるが。  
Fischer は次の如くして実行し得た。即ち  
Ester を取つてそれを Äther で cover し  
よく冷却して一方よく冷却した conc.  
Alkali Solution を豫めつくつてゐたもの  
を加へ、同時によく振盪すると、出来た free  
Ester が Äther へ移る。その Äther  
Layer をヒリ Solid の無水  $\text{K}_2\text{CO}_3$  の入  
った Kolben へ移す。この操作を必要回数

繰返す。そうすると最後に

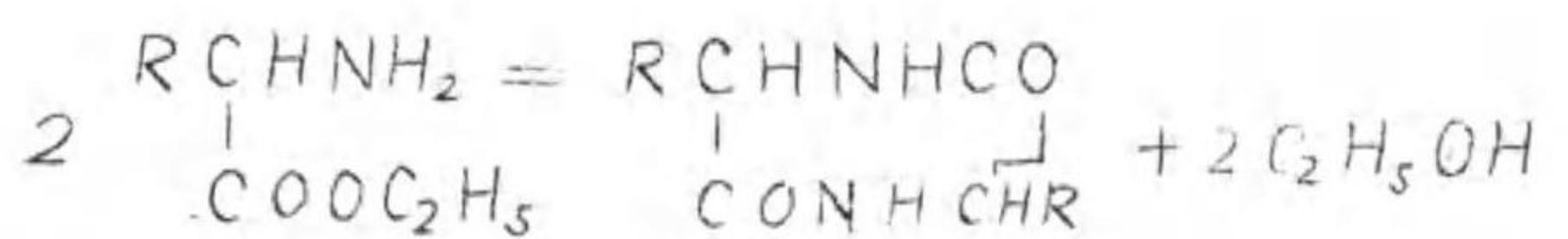


Aminoacid Ester の Äther solution  
が得られる。その Äther を追ひ出し、低圧  
蒸溜にかける。fraction をいくつつくる  
かは場合に応じて異なるわけであるが。  
Fischer が行った方法によると次の如き 4  
fraction に分けたのである。

	Temp	Press	Esters of Amino acid
Fract. I	$60^{\circ}$	10 mm.	Glycine. Alanine. Leucine Proline
II	$60 \sim 90$	"	Valine. Leucine Proline
III	$100$	0.5	Leucine. Proline
IV	$100 \sim 160$	"	Phenylalanine. glutamic acid. Aspartic acid Serine

斯の如く fractions に分け、その fraction

中の Amino acids 数を出来るだけ減少し、  
後各 fraction より各 Amino acid の特徴  
を利用して分離する。Amino acids の  
free Ester は condense する傾向を持つ。  
即ち



このものは蒸溜して出て来るから多量生成す  
ると收量に影響する。故に free Ester を  
つくりて fractionate し各 fraction か  
ら amino acid を free にするまではす  
こぶる手早くやらねばならぬ。故に Ester  
を free にする前に destillation その他準備  
をととのへしがる後 fractionate する。

### §93 Dakin's "Butyl alcohol Extraction Method."

Fischer の Ester method の最大欠点  
は水を完全に除去し得ず、Ester の收量が悪い  
と言ふ点である。もし amino acid の  
mixture を粉末状態に出来るとこの欠点が除

かれるわけで、この方法もその一つである。  
Dakin's Method は要するに amino  
acids mixture を次の 5 fractions に分  
ける所にある。

- 1) The Monoaminoacids, extracted by butyl alcohol, but not in absolute ethyl alcohol.
- 2) Proline, extracted by butyl alcohol and soluble in ethyl alcohol.
- 3) Diketopiperazine, extracted by butyl alcohol but sparingly soluble in alcohol + H<sub>2</sub>O.
- 4) Dicarboxylic acid not extracted by butyl alcohol.
- 5) Diamino acids, not extracted by butyl alcohol separated from 4) by precipitation with phosphotungstic acid.

実行する要領を schematisch に示すと

— 20 —

Protein

Boil for 10 to 16 hrs with 10 times its weight of 25%  $H_2SO_4$

Amino acids mixture

Dilute & neutralize with  $Ba(OH)_2 \rightarrow BaSO_4$ .  
Filter, concentrate moderately — Tyrosine  
Filter again to remove tyrosine

Filtrate

Neutralize to litmus, concentrate till leucine begins to separate. Remove to extraction flask. Extract for 36 hrs.

Residue (4.5)      Extract (1.2.3)

acidify with  $H_2SO_4$

Group 3 separates slowly

add phosphotungstic acid (P.T.A.)      on Standing  
    Filter to remove group 3

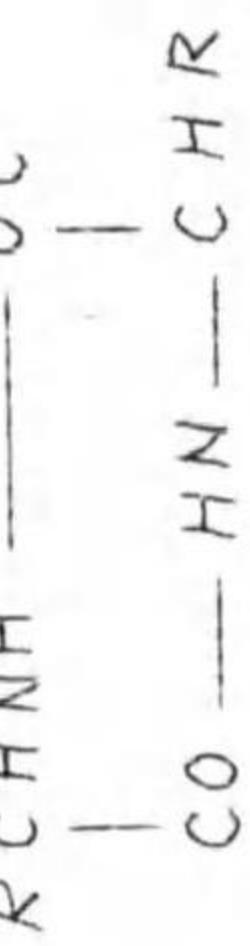
Extract (1.2.)

Precipitate Nicarbo = Mother  
nic diamino acid liquid

Extract (Group 2)      Residue  
    (Group 1)

Ester method

Aminocarbo  $\xrightarrow{RCHNH}$  butyle alcohol  $\xrightarrow{H_2O}$   $\xrightarrow{\text{ester}}$  monovamino acid  $\xrightarrow{CO}$   $\xrightarrow{HN-CHR}$  butyl



Diketopiperazine

— 21 —

その他 Foreman's Lead salt Method  
( Biochem. J. 1919, 13 378 )

Kingston & Schryver's Carbamate  
Method

( Biochem. J. 1924, 18, 1070 )

Plimner's Cu-Salt Method ( 1930 )

年以後の Biochem. J.

#### § 94 Distribution of N in Proteins

蛋白質の特性を決定する時、その組成成分の種々の aminoacids を定量的に分類して比較するが最もよい。然し分離法が不完全な為定量的といふことが出来ない。よし定量的に分離することが可能としても手数と時間を要する。そこでそれより不完全な方法でも手早く各種蛋白の特性を決定する方法が必要なわけで、その方法として現在最も広く用いられるのは Van Slyke の考案した Amino-Nitrogen Method を利用して N の分布を決定する方法である ( J. of Biol. Chem. 1911, 9, 185 )

その方法の原理は前に加水分解の程度を知る

と共に  $\text{HNO}_2$  を加へる方法で、Amino type の Nitrogen を free N として定量す。その方法を利用し蛋白の total Nitrogen を 7 groups に配布して決定するのである。

I Amide N (1)

Humin N (1')

II Diamino - N  
+ Cystine

Cystine N (2)  
Arginine N (3)  
Histidine N (4)  
Lysine - N (5)

III A Monoamino - N (6)

( Monoamino acids + Dicarboxylic acids +  $\frac{1}{2}$  Tryptophane )

B Non Amino - N (7)

Proline, Oxyproline  $\frac{1}{2}$  Tryptophane

之を実行するには、第一に protein を acid 通常 HCl で hydrolysis し、完了した後、低圧蒸溜でなるべく HCl をおひ出して試用に供す。

- 1) 分解物の Total Nitrogen を Kjeldahl's Method で決定する。
- 2) Fract. I 加水分解物をとりそれに  $MgO$  を加へて微アルカリ性とし、 $NH_3$  を蒸溜して規定酸液に吸収せしめ、back titration を行って  $NH_3$  の量を決定する。その時蒸溜フラスコ中には黒色の不溶性の沈殿が残る。之を filter paper に集め、その Nitrogen を Kjeldahl 法で決定すると Idamin Nitrogen が決定される。
- 3) Amide Nitrogen & Idamin Nitrogen を取り去った filtrate を酸性とし、phosphotungstic acid を加へると、Diamino acid が沈殿する。前表の Group II, Group III が区分される。即ち Group II は phosphotungstic acid と沈殿し、Group III は filtrate に来る。
- 4) Group II の中 phosphotungstic acid の沈殿を適当に処理した後、Cystin 以下の四つの Amino acids の Nitrogen を定量する。

Argine N (a) 之は Group II の一部分

になつてゐる。之に conc. alkali を加へ、boil すると Arginine Nitrogen の  $\frac{1}{2}$  が  $NH_3$  となり蒸溜する。その  $NH_3$  の量を決定して N を 2 倍すれば Arginine の Nitrogen となる。

- 5) Cystine Nitrogen は Sulphur の量を定量し、そ此から換算する。(C) S を定量するには Denis の方法 (J. of Biol. Chem. 1910, 8, 401—403) を用ゐる。分解液に酸化剤  $\sim NaNO_3, HNO_3 \sim$  を加へ S を  $H_2SO_4$  として定量する。
- 6) 分解液の一部を取り Amino Nitrogen を Van Slyke の方法で定める。

Amino Nitrogen (d)

- 7) Group II の Total Nitrogen を Kjeldahl 法で定める。(t) そうすると  $t - d = \text{non amino nitrogen of Group II.}$

Idistidine  $N \frac{2}{3}$  Arginine  $N \dots \frac{3}{4}$

(Group II)	Amino Nitrogen	Nonamino-nitrogen
Cystine	1.0	0

Histidine	$\frac{1}{3}$	$\frac{2}{3}$
Arginine	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$
Lysine	1.0	0

$$t - d - \frac{3}{4} \alpha = \frac{2}{3} \text{ dist. N (h)}$$

$$\frac{3}{2} h = \text{Histidine N (g)}$$

$$t - a - g - c = \text{lysine N.}$$

$$\text{Total N of group II} = \text{Cyst} + \text{Arg.} + \text{Hist.} \\ + \text{Lys.}$$

phosphotungstic acid の沈澱した  
filtrate, -group III の一部をとつて、

Total N を、他の一部をとつて amino N  
を決定する。これは前の (6) の N である。

$$\text{Total N} - \text{Amino N} = \text{Non amino N}$$

この方法は比較的容易に実行されるのみならず、diamino acid の含量は、ほぼ定量的に決定出来る。しかして食物として非常に大切な amino acid は大体 diamino acid である。故に食物の價値を amino acid の方から決定するにはこの方法と Tryptophane 定量の方法を用ゐるとほぼよろしい。即ち食物の價値を化学的に決定する

には便利有效なものであるが、いろいろの欠点もある。Z. B. 1) Aminoacids 中 S を持つものは Cystine のみではない。それと Cysteine として計算するのは無理である。2) Lysine は全く計算から出る。故に前の a. g. C. の決定の実験的誤差が全部 Lysine のところに表れる。がこの方法を精密に行ふと全Nの 98% ~ 99% 位まで 7 groups に配布することが出来るので、通常の時は Amino acids の分離を行はず、この方法で N 分布の状態を見て protein の特性をきめるのである。

### § 95. Amino acids derivatives

Ester Method で種々の fraction をつくった後各 fraction から各の amino acid を分離するにはいろいろの誘導体をつくる。且つそれらの誘導体は各 Aminoacids の Identification にも必要である。その主なものは  
1) Capher Salt

比較的水に insoluble で solution から amino acid を回収するに適する。之を造

3) には solution r.  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  を加へて熱  
し温かいうちに濾過して滤液を煮つめる。或  
時は溶液に硝酸銅を加へてつくる。

2) Lead Salt.

Leucine Valine etc. は同じ fraction  
に来るが、その mixture の Lead salt  
をつくると Leucine の Salt が遙に水に  
insoluble の爲この性質を利用して区別し得  
る。

3) Hydrochloride salt.

glutamin 酸の塩酸塩は conc. HCl に難溶性である。protein を HCl で加水分解し、それには HCl gas を送って saturate せしめると glutamin-Säure の塩酸塩が出来る。之が glutamin-Säure 分離の最もよい方法である。次に glycine の Ester hydrochloride は alcohol に難溶性である。故に amino acids mixture を Ester としそれに dry HCl gas を通すと析出して来る。

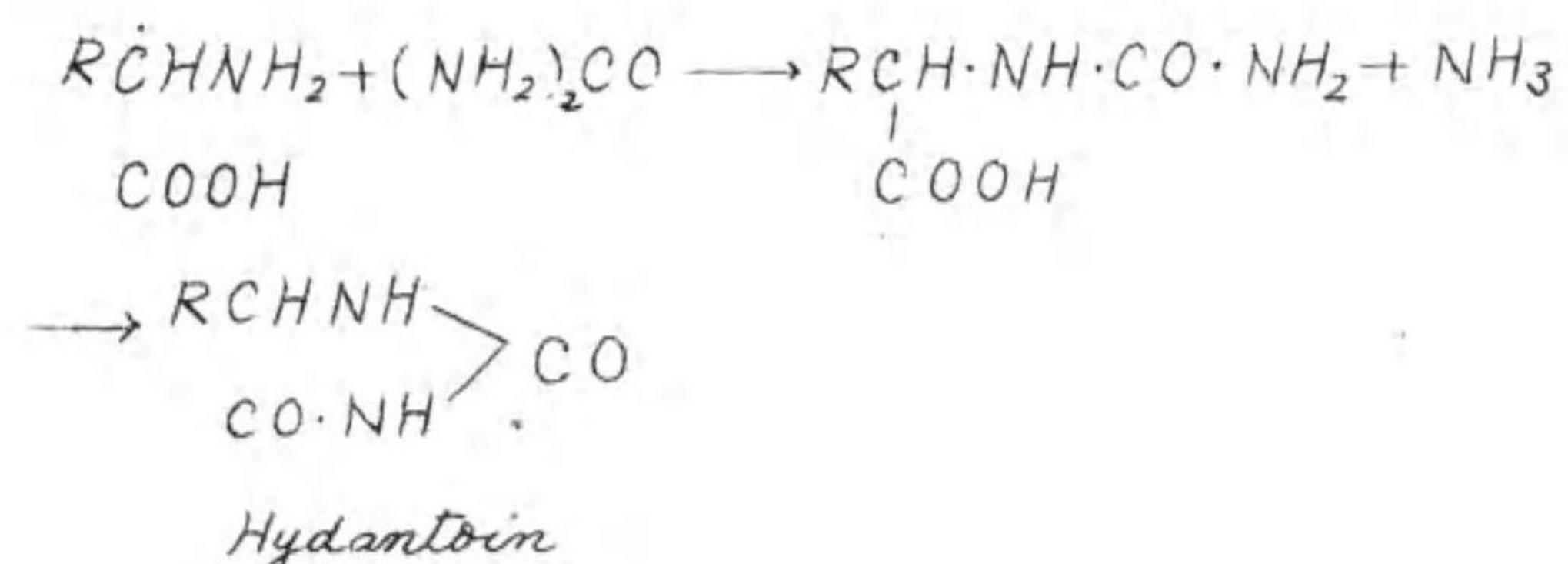
#### 4) Hg-Salt

Amino acids mixture n.  $HgSO_4$

solution を加へると Tryptophane, Cystine, Methionine 等が沈殿する。之の三者は沈殿を生ずる時の酸性反応の強弱に依つて区别する。Tryptophane は  $H_2SO_4$  5% 以上の concentration に於ても沈殿し、Methionine は中性になつた時はじめて沈殿する。Tryptophane + Methionine の発見は  $HgSO_4$  を使用したおかげである。

## 5) Urea derivatives

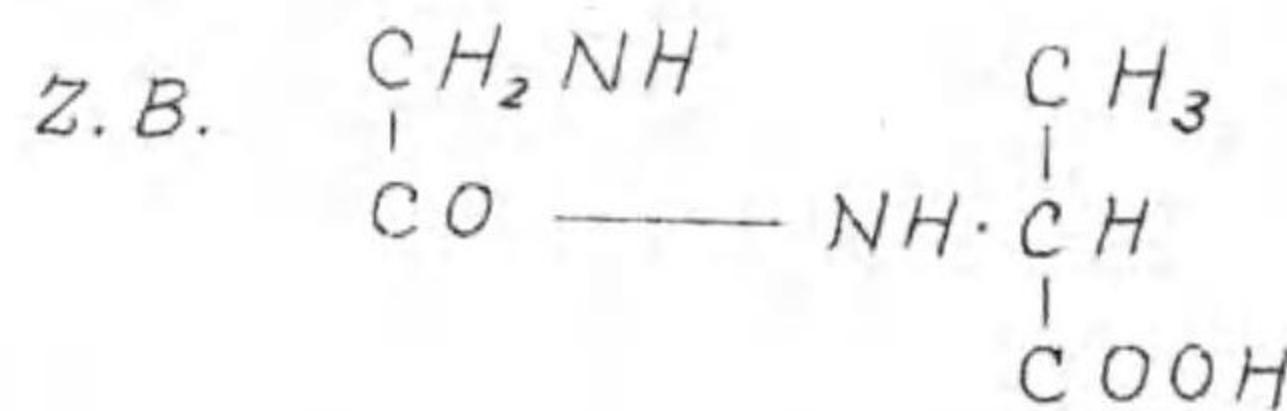
Amino acid は Urea と結合して  
Uraminoacid をつくる。之を dil.  
inorganic Acid で加熱すると Idyda-  
ntoin となる。之は Aminoacid の  
Identification に最も屢々 つくれられる化合  
物の一つである。その chemische Reak-  
tion は



## 第二十六章 Polypeptides

### §96 Polypeptides

Amino acids 二分子以上が Acid amide 様に結合したものを peptide と称する。そして Amino acid の数に従ひ Dipeptide, Tripeptide 一般に polypeptide と称する。その際 Amino acid が同一の場合すなはち Simple peptide 及異種の Amino acids の時即ち Mixtpeptide の時がある。之を命名する時は Acyl group の結合してゐるもの最先端呼ぶ。



Dipeptide 以上の場合はこの算法に従ひ、順次 Amino acid の名をつけるとよろしい。

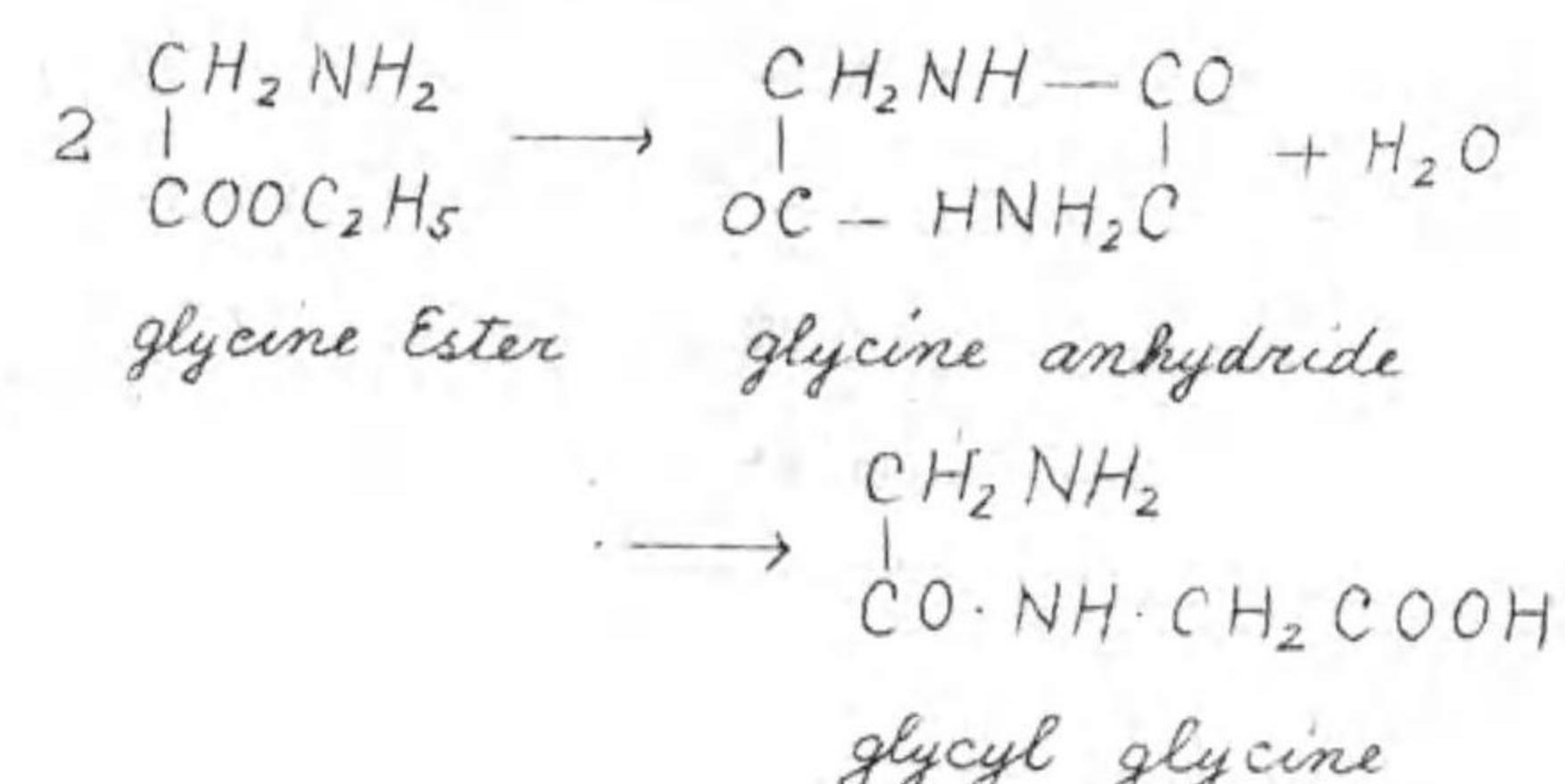
Z. B. Leucyl-alanyl glycine と言ふ如し。然し同じ Acyl group が繰返される場合、例へば glycine 4 molecules から出来てゐる

時は少しまとめて Triglycyl glycine と言ふ。この Polypeptide は後に proteins の構造の時述べる如く、protein 中 amino acid の大部分はこの polypeptide の結合をなす。故にこの構造の研究には極めて重要な化合物である。

### §97. 製 法

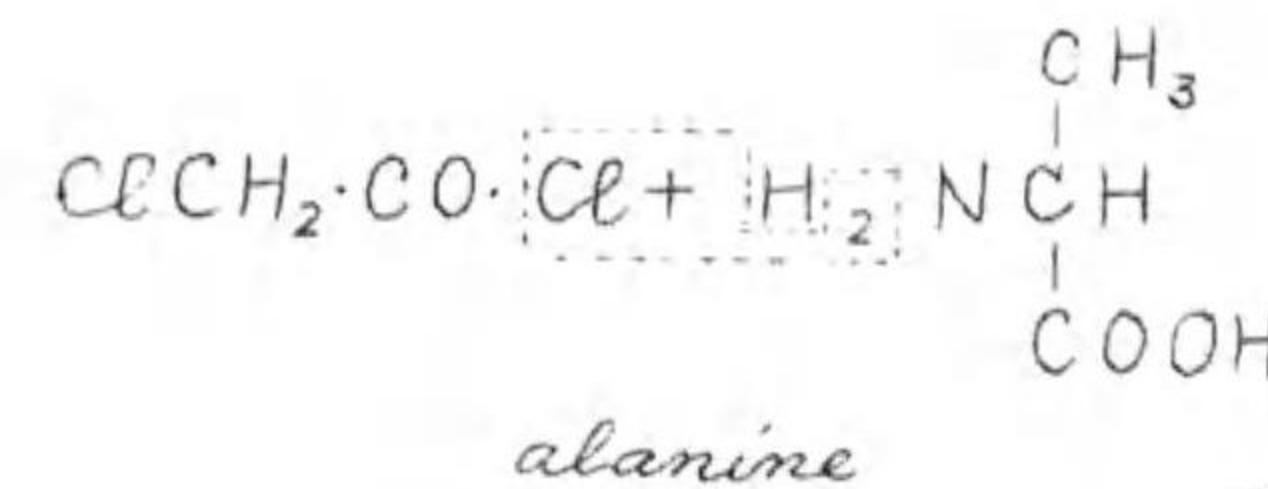
3 Methods が存在する。

1) Aminoacid Ester を加熱することに依り Amino acid anhydride 即ち Diketopiperazine を造る。その anhydride を partially 酸で hydrolyze する。Z. B. Glycine Ester を加熱すると、glycine anhydride となり之を部分的に加水分解すると glycyl glycine となる。

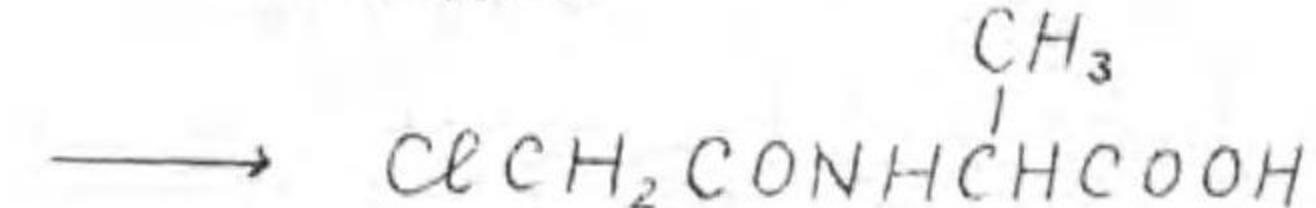


然し Aminoacid Ester が anhydride となるのは Amino acid の種類に依つて非常に難易がある。Glycine Ester は加熱に依つて anhydride となるが、他の amino acids 中にはより困難なのがあるのみならず、一旦、anhydride となると、Hydrolysis が容易に行はれないのである。故にこの方法は如何なる Aminoacid の peptide を製するにも適してゐるわけではない。のみならず Dipeptide やは此の方法は適してゐるが、Tripeptide 以上は此の方法では出来ない。

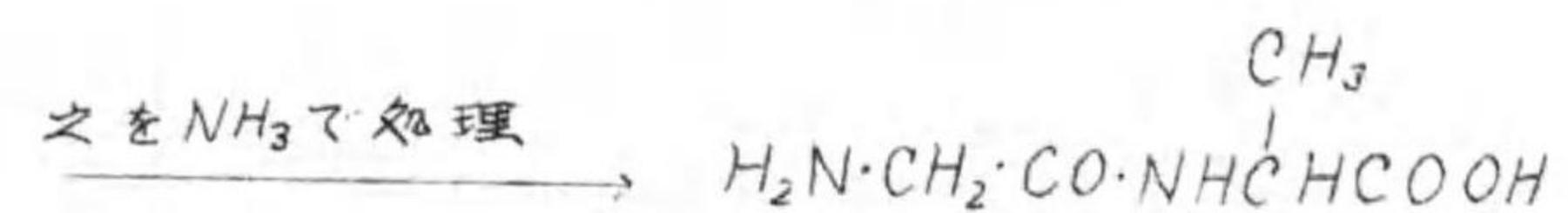
2) Halogen acyl compound を用ひる法。  
之は前回 Amino acid 合成の時使用した方法とよく似てゐる。Z. B. Glycineを結合付ける場合には Chloracetyl chloride  $\text{ClCH}_2\text{COCl}$  を用ひる。Amino acid の alkali solution に之の Halogen acyl chloride を觸かせると、次の如く amino acid と結合する。



alanine



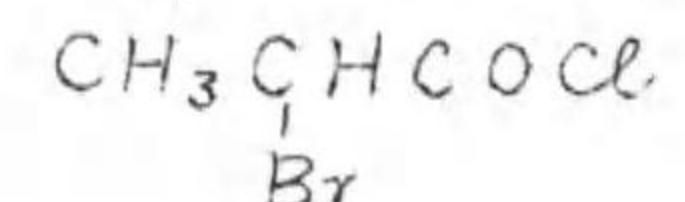
Chloracetyl alanine



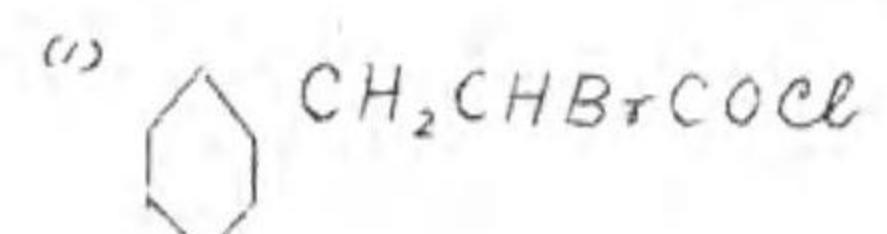
Glycyl alanine

問題は適當な Halogen acyl chloride が得らるかどうかであるが、今までに使はれたものをあげると glycyl を入れるには

Cholor acetyl chloride alanyl



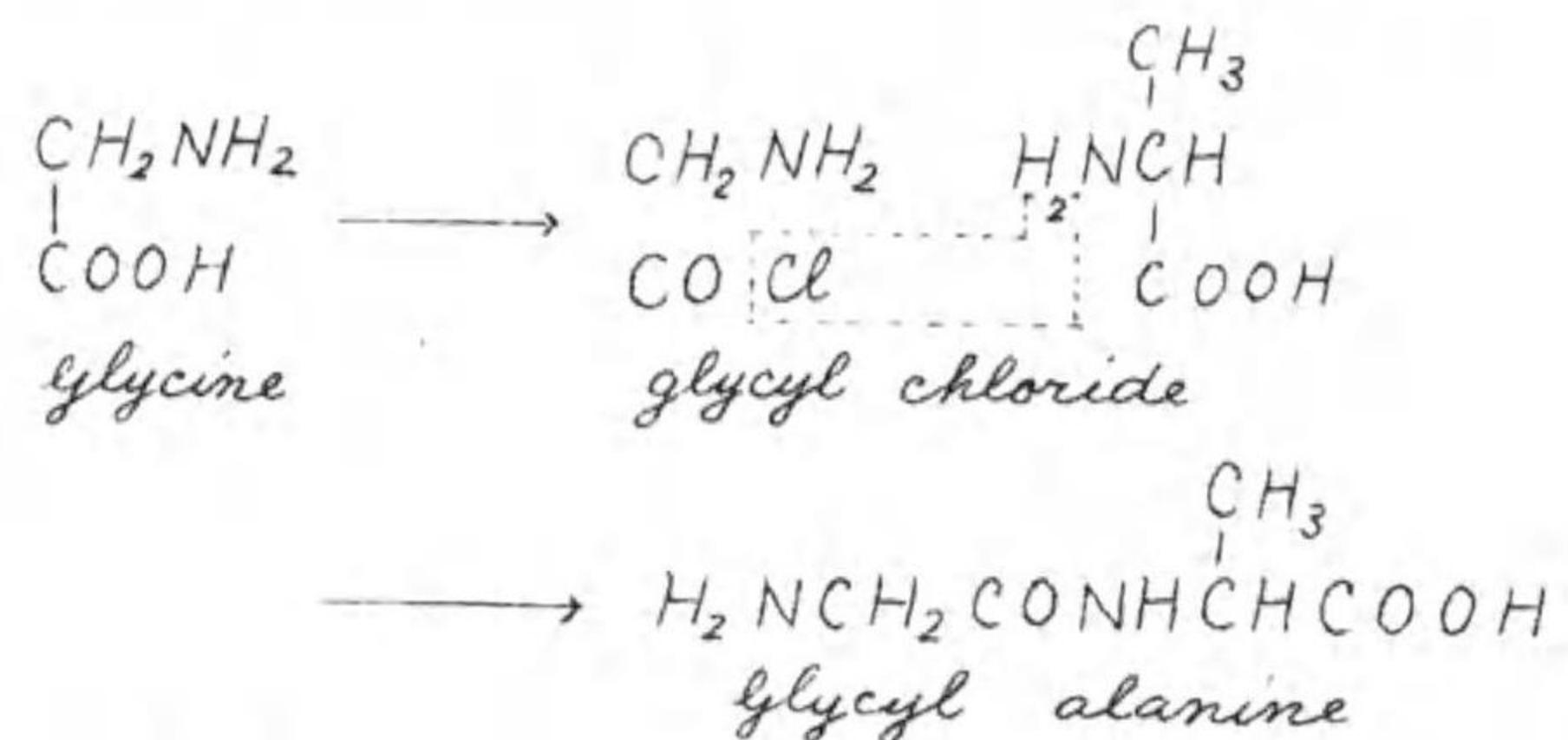
を入れるには  $\alpha$ -Bromopropionyl chloride  
 $\alpha$ -alanyl ———  $\alpha$ - $\alpha$ -Bromopropionyl chloride  
 Leucyl ———  $\alpha$ -Brom-isocapronyl chloride  
 phenyl alanyl -  $\alpha$ -Bromohydrocinnamyl chloride<sup>(1)</sup>



然し大多数の Amino acids に対しては必ずしも適當な Acyl chloride が存在するわけではない。故に此の方法に依つて作り得る polypeptide の種類には自ら限界がある。しかしこの方法は次から次と acyl group をふやして行く方法で、理論的に言へば、無限に鎖を伸し得るのであるが、實際は solubility その他の困難があつて、長い chain をつくるのはさう容易ではない。

### 3) Amino acid の Acyl chloride を使用する方法。

之は上法の如く phosphorous pentachloride を用ひ、Amino acid の acid chloride を作り、alkali 性で溶解せる他の Amino acid と結合させる。乙、B.



之の方法が polypeptide をつくる方法とし

て最もよい。その理由は、

- ① Amino acid の Acid chloride はどの Amino acid でも使用しうる。
- ② 前の場合は optically active のものをつくるのはわざうはしい。この時は Amino acid それ自身を用ひるから得られるのは active である。
- ③ 最も大切なことはこの方法は polypeptide にも用ひ得る。今つくれた glycyl alanine に Cl を入れ、之に glycyl alanine を作用せしめると、glycyl-alanyl-glycyl-alanine 即ち Tetrapeptide が得られる。之に同じ method を繰返すと Octapeptide が得られる道理である。實際かくの如くして Fischer は Aminoacids 18 個の peptide をつくりてゐる。それは次のものである。

Leucyl-triglycyl-leucyl-triglycyl-leucyl-Octaglycyl-glycine.

### §98 天然蛋白よりの Polypeptide

polypeptide が天然蛋白の部分的加水分解より取り出されることは、protein の構造上最も重要な事の一つである。それをとり出すには系統的方法が無い。一例は 1907 年 Fischer & Abderhalden が絹の Fibroin を冷所で conc HCl を用ひて二三日 treat し、その分解液に phosphotungstic acid を加へて出来る沈殿を取り除き濁液から excess の phosphotungstic acid を除去しそれに  $\beta$ -Naphthalen sulfochloride を作用させたら一結晶が得られ、検べて見たら  $\beta$ -Naphthalen - sulfoglycyl - d-alanine であった。その後になって Fischer & Abderhalden は phosphotungstic acid の沈殿物からも種々の polypeptide を取り出してゐる。今日迄に silk fibroin から取り出された polypeptides は

glycyl - d - alanine - anhydride

glycyl - d - alanine

glycyl - l - tyrosin - anhydride

d - alanyl - l - serine - anhydride

なほ一つの Tetrapeptide が取り出され二分

子の glycine、一分子の alanine、一分子の tyrosine から出来てゐるが、順序は分らない。

## 第二十七章

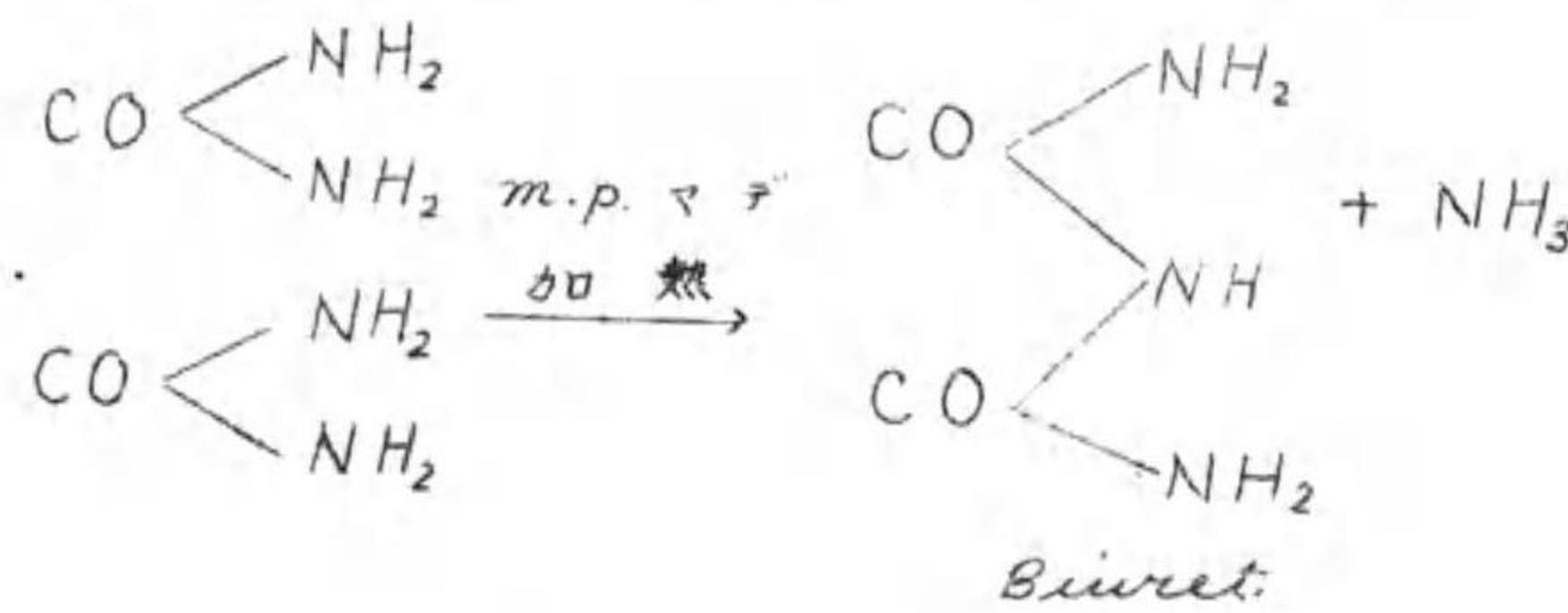
### §98. Color tests of Proteins

蛋白の呈色反応と称せられるのが數個あげられる。が吟味して見ると、蛋白自身の呈する着色反応は、第一にあげる Biuret reaction だけで他のものはすべて protein それ自身ではなく蛋白を構成してゐる特殊の Amino acid の存在に基く。故にその Amino acid が存在しない場合には天然蛋白で試みても反応は negative となる。然し Amino acid は生物体内に於ては主として protein の構成物質でたまにその分解物として見られるものである故、之等の反応の大部分を與へる物質に出会つたらそれはほどんど蛋白それ自身もしくはその derivative である。が、る意味で以下あげるのは protein の呈色反応と言つても差支へ

ない。

### 1. Biuret test

蛋白を比較的 conc NaOH (10%位) にとかし  $\text{CuSO}_4$  の dilute solution (通常 1%) を加へると紫色を呈する。然し protamine の如く構造の極めて簡単な protein & peptone の如き derived protein の場合には赤色を呈する。



### 2. Xanthoprotein reaction

protein に conc  $\text{HNO}_3$  を加へて煮沸すると yellow となる。又此に alkali を加へて alkali 性になると brown になる。この反応は Benzol 核に特有な反応である。故に amino acids 中 Benzol 核を有するもののみがこの反応を呈する。即ち Phenyl alanine, Tyrosine & Tryptophane である。この内 Tyrosine & Tryptophane を

持たぬ protein は天然にあるが phenyl alanine は amino acids 中最も分布の廣いもので、殆んどすべての protein に含まれる。それ故殆んどすべての protein がこの反応に対して positive である。

### 3. Millon's test.

protein の solution or 水の suspension に Millon's reagent を加へて boil すると red brick color の solution or 沈殿を生ずる。Millon's reagent とは  $\text{Hg}$  に conc.  $\text{HNO}_3$  を加へて温め、之を溶解すれば出来る。但し  $\text{HNO}_2$  の存在を必要とする。もし  $\text{HNO}_2$  が不足してゐる時には極く少量の  $\text{NaNO}_2$  を加へるとよい。

この反応は phenyl group に特有な反応で、併せて amino acid では Tyrosine がこの反応を呈する。

### 4. Adamkiwicz's reaction.

protein の水溶液或は protein に自身に水酼酸を加へ、更に conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を静に落すと  $\text{H}_2\text{SO}_4$  と水酼酸の境の面に紫の

ring を生ずる。之は Tryptophane 特有の反応である。故に Tryptophane を含まぬ Amino acid はこの反応を呈しない。この反応は実は水酼酸が開発するのではなく、水酼酸の中に不純物として極く微か含まれる Glyoxylic acid  $\text{CH}_2\text{COOH}$  の存在にもとづくものであつて次へのべる Hopkins & Cole's reaction と全く同一のものである。水酼酸があまりに純粋で、glyoxylic acid を含有しない時はこの反応を呈しない。

#### 5. Hopkins & Cole's reaction.

protein solution 及び glyoxylic acid or Cole's reagent を加へて conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を静に滴下すると界面に紫色が出る。Cole's reagent は oxalic acid を Sodium Amalgam で reduce して製する。

#### 6. Ehrlich's reaction.

protein solution 及び p-dimethyl-aminobenzaldehyde を加へ conc. HCl で強酸性とし、boil すると紫の美濃な色が出る、色を出した後重曹で中和すると、

$\text{Cu(OH)}_2$  を NaOH でとかした如き色とな

る。故に其の色と比較することで依り、Tryptophane を定量することが出来る。英國の Rose が protein を  $\text{Ba(OH)}_2$  で加水分解し、それによつて此の方法を行つて Tryptophane の定量をしてゐる。この教室でも松山助教授が protein 及び reagent を加へ acid で加水分解し、比色法に依り Tryptophane を定量する方法を研究してゐる。

#### 7. Voisnet's reaction

少量の  $\text{HNO}_3$  の存在で Formaline の少量を加へ conc. HCl を加へて熱すると、矢張り紫の色が出る。之は Milk 及び formaline を加へた不正品を検べるのに便利な反応である。即ち Milk 中には Casein が入つてゐるから、HCHO が入つてゐる時は  $\text{HNO}_2$  を加へ conc. HCl を加へて色が出れば不正品である。以上、Adamkiwicz's reaction よりのちの反応を見るに、reagent 及び aldehyde が入つてゐることが特徴である。一般に Tryptophane は酸の存在で aldehyde と色素をつくることを特長とする。故に大抵の aldehyde が試薬になり得るわけである。そ

此なのに特殊の aldehyde がつかはれるのは  
特にきれいな色を出すのを検定されて試薬に  
なつてゐるゆけである。

8. Sakaguchi's reaction.

Arginine 特性によい反応である。 Hy-  
POCHLORITE ( $\text{NaOH}$  に  $\text{Cl}_2$  gas を通すとよ  
い) と 75% alcohol に 1% の  $\alpha$ -Naphthol  
をとかしたものと加へた二つの reagent を  
用ゐる。 protein の solution をとつて  
 $\alpha$ -Naphthol solution を加へる。そして  
HypoChlorite を加へる。

9. Sulphur reaction.

蛋白に S-haltige amino acid が存在  
すれば protein solution に conc.  
alkali を加へ更に醋酸鉛を加へ boil する  
と真黒の硫化鉛の沈殿を生ず。

10. Morisch's reaction.

protein solution に  $\alpha$ -Naphthol の  
alcohol solution を数滴加へ、 conc..  
 $\text{H}_2\text{SO}_4$  を静に試験管壁を通して落すと、  
reddish violet が界面に出る。  $\alpha$ -Naphthol  
の試薬はなるべく新しくつくる。之は前回

carbohydrate の時述べた如く本来は  
Carbohydrate の反応である。然るに蛋白  
中には Carbohydrate group を持つものが  
ある。そんな protein ではこの反応が  
positive である。如何なる protein が  
carbohydrate を持つかは議論の分れる所で  
あるが、蛋白では ovovitelin ではなく  
mucoid substance には確かに carbohydrate  
が存在する。 albumine を結晶状態  
にしても出てくるが、それが albumine の本  
來の性質か、 mucoid がまだ contact して  
ゐる結果出るのか確定しない。

11. Jaffer's reaction.

protein solution に picrinsäure ad.  
の solution を加へ  $\text{NaOH}$  を入めて加热  
する。 reddish orange color が出る。之  
は protein 中に Ring structure の存在  
することを示すものと言はれ、 protein の  
構造に非常にやかましい議論の元となつた反  
応である。

12. Dinitrobenzene reaction.

protein solution に Dinitrobenzene

と NaOH を加へると、pink colour が  
出る。之も protein 中に ring structure  
が存在する鳥と称せられる。

### § 99 Precipitation test.

1. 漸 alkali 性 solution 及重金屬塩類を加  
へると protein は沈殿する。普通用ひらる  
るのは醋酸鉛、昇汞、塩化鉄、硫酸銅、或は  
硫酸亜鉛である。又漸酸性溶液に於て、  
amino acid は錯アミノを持ったいろいろ  
の酸に依つて沈殿する。E. B. Phospho-  
tungstic acid. Phosphomolibdic acid,  
Tannic acid, picric acid 等所謂  
alkaloid reagent に依り沈殿する。之  
等の沈殿を生ずる理由は protein の  
colloidal molecule の凝集の結果沈殿を  
生ずるのである。

2. Protein の solution は中性鹽の conc  
solution を加へることに依り沈殿する。そ  
の為  $MgSO_4$  ( $NH_4$ ) $_2SO_4$  の Natuated  
solution が使用される。此の反応は一つの  
protein の脱水作用で、この作用の結果、

蛋白質の Molecule が凝集して solubility を  
減じ沈殿する。之は可逆反応である。

3. protein solution 及 alcohol を加へ適  
當の濃度にすると、沈殿を生ずる。この反応  
も又一つの dehydration である。且つ沈殿  
作用を  $0^{\circ}C$  附近で行ふと reversible で水を  
加へると再びとける。が常温では化学変化を  
起し、denaturation をおこして、水を加  
へても再び溶解せぬ。即ち deresible であ  
る。

### § 100. Systematics.

protein の化学的研究は今日なほ不完  
全の域を脱しない。故に systematics も  
universal のものはない。然し比較的穩当と  
思はれるのは英國生理學會及米國生物化學會で  
定めたものであらう。この二つはほとんど同じ  
で、ただすこし異なつてゐるに過ぎぬ。今、

U. S. A. の system をあげると、

#### I. Simple protein

- a) Albumin c (英國で)
- b) Globulin d. c) Glutelins e

d) Protamins f (英國では alcohol soluble proteins) e) Histones b  
f) Protamins g) Phosphoproteins

II. Conjugated proteins; 蛋白と他の group との結合せるもの。

a) Chromoproteins

色素と蛋白の結合せるもので血液中の Haemoglobin タコ、イカ等の Haemocyanin &c.

b) Glycoproteins.

Carbohydrate & Protein の結合せるもので動物の粘質物は之、即ち Mucin, Mucoid &c.

c) Phosphoproteins

磷酸と protein の結合せるもの、牛乳中の Casein、卵中の Vitellin 等。

d) Nucleoprotein

Nucleinsäure & Eiweiss の結合せるもの。

e) Lecithoprotein

Lecithin & Protein の結合せるもの Lecithoprotein なるものが果して存在す

うか否かは未だ議論がないわけではない。  
が存在すると言ふ説が漸く有力となりつつある。

III. Derived Protein; 蛋白が多少なり分解して生じたものである。

1 Proteans }  
2 Proteose &c }

等々々々てあるが境界がすぐぶる曖昧である。

#### Biological Classification

A. Vegetable proteins

I. Intracellular Proteins

1) Albumins }  
2) Globulins } Cytoplasma protein  
3) Gliadins  
4) Glutelins  
5) Nucleoprotein

#### Food reserve in Seeds

B. Animal Proteins

I. Intracellular Proteins

- 1) albumins } Cytoplasma protein
  - 2) Globulins }
  - \* as food reserve for young
  - 3) Histones --- Present in gland cells & immature generative cells
  - 4) Protamins --- Present in mature generative cells
  - 5) Nucleoproteins --- cell nucleus
- II. Extracellular Proteins
- (d) Connective tissue protein
    - a) Collagens & Gelatin
    - b) Reticulin
    - c) Elastin

Supportion or Skeletal material

- (B) The epidermal Proteins
- a) Keratins ( Hair, Wool &c.)
  - b) Silk

Protective material

- (C) mucoproteins (Glucoproteins)

- a) Mucin } Slimy material
  - b) Mucoid } lubricating function
- (S) Pigment carrying Proteins
- a) Haemoglobin }
  - b) Haemocyanins }
- Material with a respiration function.
- (E) Food Proteins for young
- Phosphoproteins --- Present in milk & egg yolk

## 第二十八章

### § 101 Protamins

之は成熟した動物の Spermcell 中に特有な蛋白でなほ細胞核中の Chromatin はこの protein と Nucleinsäure の結合したものと如く思はれる。この protein の N 含量は 25 ~ 30 % で振群に多い。S-frei である。即ち Cystin or Methionine &c の Amino

acid を含まない。この protein は conc. alkali を加へて  $CuSO_4$  solution を下すと, pink colour を呈する。即ち, 天然蛋白中構造が簡単な様に思はれる。塩基性が強く、ラクムスを青変する。又空中の  $CO_2$  を吸収して Carbonate をつくる。水には可溶性, alcohol, ether 等に不溶性で加熱に依って凝固しない。斯の如く簡単な構造と思はれるが, semipermeable membrane を通らない。Inorganic acids と stable の化合物をつくり、多數のものは結晶性である。Pepsin は作用しないが Trypsin & Polypeptidase は之を加水分解する。この種に属するものに、いろいろあるが一番よく研究されてゐるものに異類の Protamins がある。その主なものは

#### 1. Salmin

Salmon の sperm の protamin で最もよく研究されてゐる。composition は  $C_{81} H_{155} N_{45} O_{18}$ , N 含量 30.80 %, optical rotation  $-81^\circ$ . 加水分解すると 87.4 % の alginine, 11 % の Proline, 7.8 % の Serin, 4.3 % の Amino

valerianic acid 等となり、之を M.W. で除すと 10 分子 Alginine, 2 分子 Serin, 2 分子 Proline, 1 分子 Amino valeric acid となる。

#### 2. Clupein.

ニシソの sperm から得られるもので Salmin と殆んど同じ構造である。全 Nitrogen の 88 - 89 % が alginine で、それ以外には Alanine Serin, Prolin & Amino valeric acid のみ。この結果から見ると Salmin と Clupein の差は Salmin の Serin の 1 分子が Clupein では Alanine に置き換へられてゐる様に見える。

#### 3. Sterin.

テウザメの sperm 中の protamin で色々の三つの amino acids 全部を含有する。即ち、Total Nitrogen の 84 % が diamino acid の N で alginine 58.2 %, histidin 12.9 %, Lysine 12.9 %. 他のものは Leucin & Alanine である。

#### 4. Scombrin.

Mackerel の sperm 中にある。之が恐らくは protamin 中でも最も簡単なものらしい。普通は只三つの Amino 酸しか持たぬ。即ち全 N の 88.8 % が Alginin 3.8 % か Proline、残りが Alanin である。

この Protamin の類には特別の生理作用があるので興味がある。之等の蛋白を動物の静脈内に注射すると急速に血圧が亢進し、呼吸頻数減少し微量で動物が倒れる。Z.B. 10 Kg の大口 Clupein を注射すると 0.15 ~ 0.18 g で死に到る。Sturin 0.20 ~ 0.25 g で死ぬ。致死量以内の注射は前記の徴候が 30 分間以上続く。注射後徴候が消滅した後又致死量以内注射しても、同じ徴候を呈し、antigen とはならぬらしい。且つ protamin を注射すると血液は非常に凝固し難くなる。又白血球がすこぶる減少する。

Protamin は Diamino acid 特に Alginin に富む。故に之等の生理作用が或は Alginin によるかも知れぬといふ疑が起るが、Diamino acid そのものではその徴候がない。即ち特種の生理作用はない。

Diamino acid の結合に由りはじめて之等の作用が出てくるものと考へねばならぬ。

### §102. Histones.

Histones は protamins に次いで簡単な物質である。矢張 Diamino acid に富んでゐて、N 含有量が 17 ~ 20 % で普通の protein よりは多い。Diamino acid が多いから塩基性は有するが protamin に比すると非常に弱い。この種の protein は各種の gland cell に多いが、その他、いろいろの protein と結合し、いはゆる Conjugated Protein を成す。Z.B. Haemoglobin は globin なる一つの Histone と Haemochromogen との結合せるものである。又細胞核質物の主成分なる Nucleoprotein は Nucleinsäure と夫々の Histone の結合せるものである。

### §103. Albumin.

Pure water 可溶性の protein でその代表的のものは Egg albumin

\* Serumalbumin である。この protein は塩基性と酸性とがほとんど平均的 protein の代表的種類である。故に Albumin と言ふ言葉は Protein 全体を示す場合にも用いられる。この内最も精製し易いのは Eggalbumin で Sörensen は次の方法で之を立派な Crystall とすることに成功した。即ち卵の白味一容を取り  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  の saturated solution を same volume 加へ、mixture を硝羅に慮過し、なほ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  の saturated solution を滴下して行くと滴の周囲に沈澱が出来る。攪拌して消える間は加へて消えぬ点に違する。この時 0.2 N の  $\text{H}_2\text{SO}_4$  Solution をつよく攪拌し乍ら滴下すると  $\text{H}_2\text{SO}_4$  が滴下され毎に沈澱が生ずる。之は攪拌に由つて消えるがだんだん解けがたくなる。最後の 1 drop で沈澱が解けなくなる。此後で試薬を加へることを止め、冷所に放置すると、1～2時間後結晶はじめ数日後完成する。

この種の Albumin の外に Lactoalbumin がある。植物には種子其他にも非常に分布が多い。かくの如く purify した Albumin でも

Morisch の反応を與へる。即ち Carbohydrate group が存在する。實際 10 kg の Albumin から 10 g 以上の Osazone が得られるが、之が本当に albumin の molecule の形成に與ってゐるか、それとも Egg 内の粘質物の混合を除ききれずに残つてゐるのか未解決の問題である。

#### 植物質 albumin のうち

Leucosin は小麦、大麦、ライ麦中に、 Legumelin はソラマメ、マハズエンンドウ、大豆、小豆等に Phaselin は隱元豆に、 Ricin は蓖麻子に存在する。

#### § 104. Globulin.

Globulin は neutral salt 可溶性でとり出すに通常 10% NaCl 水が用いられる。動植物の細胞内蛋白として albumin と共に最も重要な且つ分布の廣い蛋白である。植物性蛋白の中には、結晶状態で得られるものが少くない。結晶をとり出すにいろいろの方法があるが、例へば Globulin の中性塩溶液の Dialyse を行ふことによつて得られる。場合

如依ると脱脂した麻の実の Edestin の如く  
3% 食塩水を 60°にて extract すると冷却  
するにつけ Edestin の crystall がとれる。  
動物質 Globulin の主なものは Fibrinogen  
(Blood)。血液が凝固するのは Fibrinogen  
が Fibrin となるからである。

Myosin (Muscle), Serumglobulin,  
Lactoglobulin (milk) 植物性 globulin は  
非常に多いが有名なのは  
Edestin (大麻), Cucurbitin (南瓜の種子),  
Legumin (ソラマメ), Glycinin (大豆),  
Excelsin (Brazil-nut)。

結晶状にとられるのは豆麻の実, 菓麻子、  
Cocoa-nut, 胡麻の実, 棉実, 向日葵, 大  
根, カラシナノ実, ソバ, トマト, 小豆等から。

### § 105. Prolamins

Prolamin と言ふのは 60~80% の  
可成強い alcohol 可溶性なる特性を有す  
るものであるからこの protein を分離するこ  
とは比較的容易である。成分上から云へば、こ  
の種の protein は Proline と amid N 及

富んでゐる。又は Dicarboxylic acid 特に  
glutaminsäure に富み diaminoo acid に乏  
しい。この protein は植物特有のもので代表  
的のものは Gliadin (wheat), Zein  
(Maize), Hordein (Barley), Sorghumin  
(芦粟), Kefirin (Kefir) 等である。  
Diamino acid に乏しい故栄養價值が極めて  
少い蛋白で之等の protein を主成分とする穀  
物を主食とすると栄養不良となる。以上の如く  
之等の蛋白は何れも禾穀類に最も多いが、例外  
は米である。Idoffman は米の中にも Prolamin  
が存在すると述べてゐるが、甚だ疑はしい。若  
し含有されてゐるとしても微量である。

Osborne & Wakeman は milk の  
protein 中に alcohol soluble のものが  
存在すると言つてゐるが、その protein を分  
析すると Amide N が非常に少い。故に本當  
の Prolamin に属するか否か疑はしい。故に  
此の例を例外とすると動物からは未だ此の種の蛋白  
は発見されてゐない。

### § 106. Glutelins

この glutelins に属する protein は中性溶媒には溶けず、唯酸及 alkali に溶解する性質を持つてゐる。之も亦植物に特有な蛋白で禾穀類に豊富に含有されてゐる。代表的のものをあげると、

Glutenin (wheat), Oryzenin (rice), Maize glutelin etc.

#### § 107. Scleroproteins (Albuminoids)

この種の蛋白は今まで述べて来た蛋白とはその性質が著しく異なる。solvent には全く insoluble 且つ glutelin に属する protein は intracellular のもので cell の形成に與るか、幼動植物の食物となる。然るに Scleroprotein はその生理的作用は全く機械的のもので、体組織の保護及支柱となるものである。而して動物界に存在が限られる。同じ様なものが植物界には未発見である。この種に属するものをあげると、

##### 1. Silk.

Silk は二種の protein から出来てゐる。Sericin & Fibroin である。Sericin

は生の繊維の外部を被ふ蛋白で比較的水に溶ける性質を持ち精練の際大部分取り去られる部分である。その Sericin にかこまれる内部の纖維を fibroin と名づけ、絹織の纖維としての主体は之である。両方共 glycine, alanine, Tyrosine を主成分としてゐる。

##### 2. Keratin.

毛髪、爪、蹄、角、甲等を形成する主な蛋白で solvent にとけず、pepsin にも作用されぬ。故に此の種の蛋白を取り出すには、いろいろの solvent で treat し最後に不溶に残るのを keratin とする。Amino acid としては Cystine に富むのを特徴とする。

##### 3. Gelatin.

生の革若しくは骨等を熱水で抽出する時得られる。母体を Collagen と言ふ、熱水で処理すると Gelatin となる。

Tryptophane, Cystin, Tyrosin 等が無く Glycine に富む。独立しても殆ど栄養價值はない。gelatin の生理的特徴は外の protein と頗る異なる。即ち外の proteins

は血清学的に *Antigen* となる性質を持つ。Z. B. それらの protein の極微量を血管中に注射して必要な間隔を置き必要回注射すると、血清に *Antibody* が出来る。即ち同じ protein を沈殿させたり (Precipitation reaction) or Anaphylactic shock を起す物質が出来る。Antikörper を生ずる元となるものを *Antigen* と云ふ。Gelatin には此の性質が無い。即ち膠の solution は安全に血管内に注射し得ると言ふわけである。負傷等に依り血液の多量を失つた時 Ringer solution を注射する。その時或種の Colloid を加へるが結果がよい。大戦當時負傷者に初めは Ringer solution や Arabia rubber を加へて注射してゐたが後 Gelatin に代へてよい結果を得幾万の人命が救はれた報告がある。

#### 4. Elastin.

軟骨、腱、結組織等に含まれ、成分として Glycin Leucin 等を多量に含む。

#### 5. Spongin.

海绵中の特種の蛋白で Jodgarjosäure を含

ものを特徴とする。

### § 108. Chromoprotein

#### 1. Haemoglobin

脊椎動物の赤血球に特有な protein で Haemochromogen なる色素と globin と言ふ一つの Idistone から出来る。Haemoglobin は Fe を中核として 4 個の Pyrrol 核が連結せる構造を持つ。動物の種類に依り Haemoglobin が異なるか否かは永い間の問題で今なほ決定しがたい事項だが、少くとも Haemochromogen は動物に依り差が無い様である。然し、protein は栄養上極めて不完全で、その欠点は主に Cystin の少々こと  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -oxybutyric acid の欠けてゐることである。

#### 2. Haemocyanin.

頭足類、腹足類等の血球に含有される一つの色素で、O<sub>2</sub> を失つた時には無色であるが酸化されると青色を呈する。この作用は Haemoglobin の脊椎動物に於けると同じである。此の色素は未だ深く研究されてないが

一番興味のあることは *Haemoglobin* が Fe を中核とせるに対し、之は Cu を中核とせることである。なほ *Haemoglobin* は容易に色素と protein に分けることが出来るが、*Haemocyanin* はそれのが困難で、色素と protein の結合の模様も両者に於て異なると考えられる。

#### 3. *Pinnaglobin*.

Griffith の研究に依ると、熱帯に産する一種の海綿 *Pinna squamosa* の中は Mn を 0.18% 含む血色素が存在すると言ふ事である。

#### 4. *Phycoerythrin*.

海藻中に存在する色素で *Chlorophyll* と共に存在する。*Chlorophyll* は Phytyl alcohol と色素の結合した一つの Ester である。*phycoerythrin* は色素と蛋白と結合してゐる。この奥で *Chlorophyll* と化学的に著しく異なる。

*Phycoerythrin* の吸収帯をしらべると、*Chlorophyll* に依り吸収されぬ光線が吸収される様になる。即ち *Chlorophyll* を助け

て、*Chlorophyll* の吸収せぬ光線を吸収する。生理的性質は不明であるが、海藻の如き光線に乏しい生活様式には光線を十二分に利用する為、この種の色素が存在するかと思はれる。*phycoerythrin* の化学的研究は殆んど行はれてゐない。

#### § 109. *Nucleoprotein*.

*Nucleoprotein* と言ふのは *Nuclein* + protein の結合したもので *Nuclein* とは Nucleic acids + protein である。この種の蛋白は細胞核質物の主成分となるが、今日迄では蛋白の側の化学的研究は殆んど爲やれず、研究の主力は Nucleic acid に向ひ、之は可成よくわかつてゐる。

#### § 110. *Phosphoproteins*.

之は protein と phosphoric acid の結合したもので英國の分類法に従ふと、Conjugated Protein に編入されてゐるが、U. S. A. では Simple protein に入る。Phosphoric acid は protein と Ester 状に

結び付いたものらしい。代表的のものは Milk 中の Casein, Egg 中の Ovovitellin である。之等はいづれも幼動物の食物となる protein で幼動物が grow up した動物と栄養上最も異なる一つは骨の形成と言ふ事である。骨には Phosphoric acid と Calcium が多量に要る。が天然は幼動物の栄養物の最も大切なものは Phosphoric acid を結び付けて供給す。そして天然にある Casein そのものは Phosphoric acid と protein が結びつきそれらが更に Ca-Salt を爲す。動物の方と同じ様な考へから植物の種子にも恐らくは phosphoprotein が廣く分布してゐるであらうと想像されてゐるが、それは必ずしも事實と一致せぬ様である。ただ大豆の如きものには Phosphoprotein が存在する様であるが、まだ詳しくは研究されてゐない。

### § 111. Glycoproteins.

之等は今の如きでは動物に特有な protein と書いて差しつかへがない。然し石井淳二郎氏の研究に依ると、ヤマノイモの粘質

物は類似の蛋白と言ふ事であるが、研究が不完全で果して左様かどうかは不明である。この種の蛋白には二種類ある。即ち Mucin & Mucoid である。この二者の主な差は Mucin の方は Chondroitin Schwefelsäure を含むが、Mucoid は Mucoid Schwefelsäure を含むと言ふことである。

### § 112. Preparation

Protein を製するには先づその溶液を得ねばならぬ。その溶液を得るに二つの方法がある。一つは適当の solvent に溶解する。他の一法は生の動植物の組織を破壊圧搾して汁液をとる。その中から蛋白を分離する方法である。然し普通の方法は前のことである。その solvent として普通 Water, neutral salt-solution, Dilute acid or alkali & 60~80% alcohol を用ゐる。

protein は非常に変質し易い不安定の物質なる故取扱には細心の注意をせねばならぬが、どの Solvent を用ゐる場合にも共通な注意は次の如し。

1. 即ち事情の許す限り低温で行ふこと。それは acid or alkali を用ゐる時特に必要である。然らばアルカリは変質する危険が非常に大きい。又蛋白溶液には微生物が繁殖し易い。

Toluol, Chloroform 等の防腐剤を加へても infect されぬと言ふ保証は付け難い。その点からも低温で行ふことが望ましい。

2. Acid, Alkali を使用する時は場合の許す限り dilute のものを用ゐること。 conc. のものを用ゐると直ちに変質して全く性質の異なつた Protein へ移行するからである。

3. 必要以上の時間をかけないこと。 Dialyse の為 Kollodion 膜をつくる。

Rona; Praktikum der physiologischen Methode, Fermentmethoden.

前述の如く、いろいろの solvent で蛋白の solution をつくる。それから蛋白を沈澱せしめるにいろいろの方法がある。

1. Z. B. Glutelins の様に acid or alkali にのみ可溶性で其他のものには不溶の時は Solution をつくつてその acid or

alkali を中和すると、protein が沈澱する。

2. Dialyse を行ふ。 globulins の様な neutral salt にとける場合に溶液について Dialyse を行ふと、Salt が膜を通して除かれ膜の内部に Globulin の結晶を生ずる。

3. Dilution; globulins の如き中性塩にとけるものの様な中性溶液若しくは Prolamins の如き比較的濃厚な alcohol にとけるものの溶液は各々を水で稀釀することに依り沈澱する。

4. Protein solution に  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  の conc. solution を加へると沈澱する。例へば Albumin solution に  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  を saturate させると沈澱し、 Globulins の大部分は半分飽和させると沈澱する。 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  のかわりに  $\text{MgSO}_4$  を用ゐる場合もある。

第二十九章 Chemistry of Protein Foods

§ 113. The Synthesis of Amino acids

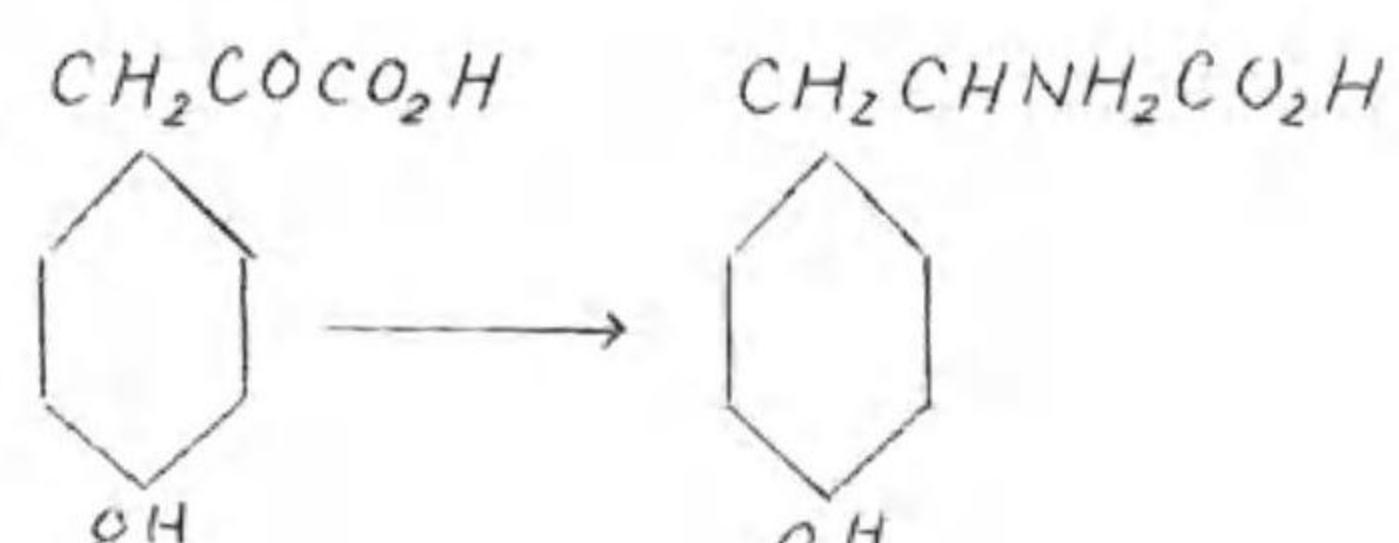
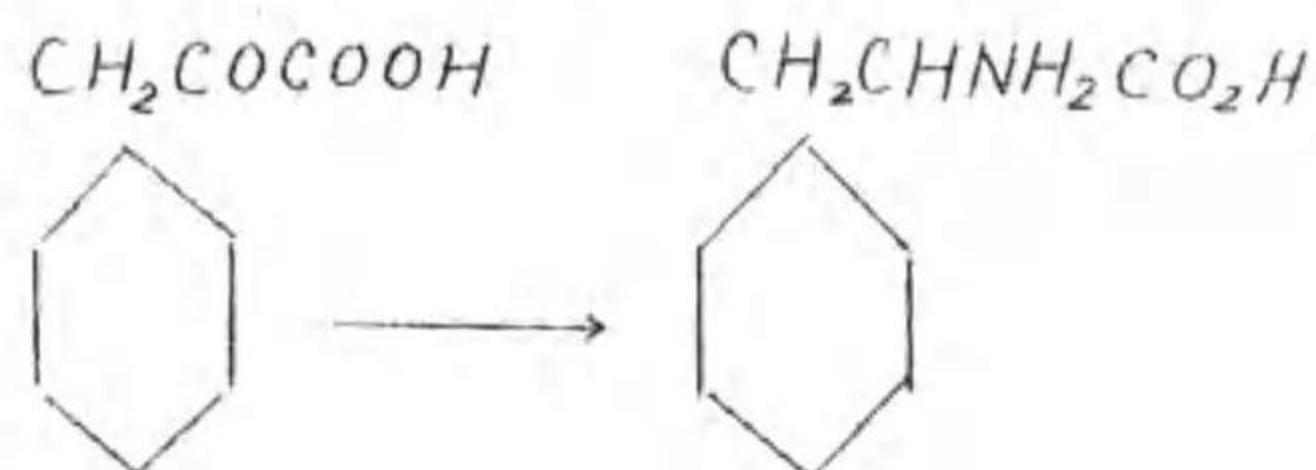
動物は絶対に安静の状態に保つ時でも一定の窒素物を体外に排泄する。その他爪、皮膚、毛髪等は伸びるか或は剥落して行く為、其等のNの損失は食物として補はねばならぬ。食物中Nの損失を補ひ得るのは Protein 若しくはその分解物である。動物は植物に比すと合成力 Anabolism が發達してゐないか、合成力を全く欠けばその種に特有な体物質を維持することが出来ないわけである。それならば Aminosäure を合成し得るかと言ふて次の実験がある。

Emden u. Smits (Biochem. Z.

1910, 29, 243 Biochem. Z.

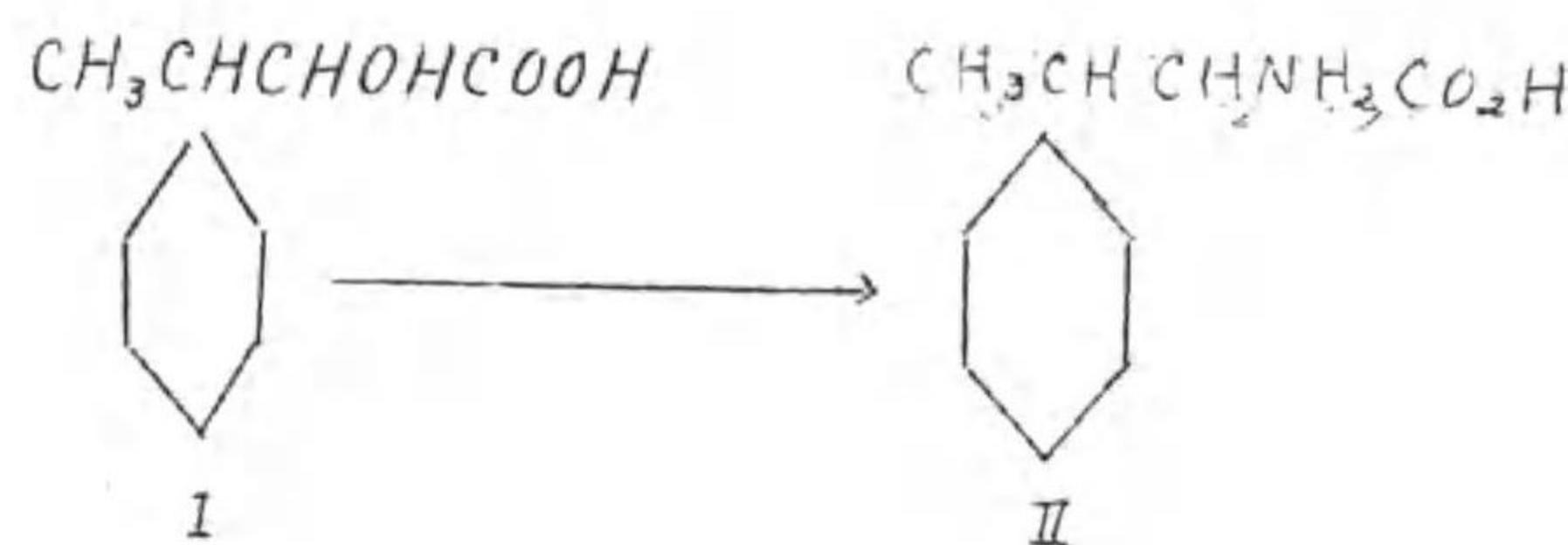
1912, 38, 373) の二人は Idund の肝臓をとり出し、その生きてゐる間に phenyl pyruvic acid (phenyl Traubens-

säure) を浸潤させたところ、Phenyl alanine の生成を見た。又  $\mu$ -hydroxy-phenyl pyruvic acid を同じく処理したら Tyrosin の合成を見た。即ち、



之は実験室でも出来るとして、Keton に Ammonia を作用させ、触媒の下に還元させると aminosäure となる。斯の如き摺觸還元作用は動物体内でも旺んに行はれるもので、諸に掲げた動物体内の合成作用も同じ mechanism に依ると想像される。Emden 等のこの研究は興味があるが大きな欠点がある。即肝臓を母体から切り離すと言ふ様な非常に abnormal condition にて実験されたものである。そこで、Knoops & Kertess (Z. physiol. Chem. 1911, 71, 252) は生活

する動物のそのままを用ひて、実験した。それは  $\beta$ -phenyl-d-hydroxy butyric acid を皮下注射で與へ、尿を検したら、 $\beta$ -phenyl-d-amino butyric acid の排泄されるのを見た。



この実験にも欠点がある。I も II も動物の normal の成分ではない (Körperfremde なり)。然しこの際動物体に特有な成分を用ひて試験することは不可能である。即ちそんな物質を與へると、その動物の正常な生理的変化の cycle 中に入つて変化がわからぬからである。然しこの Experiment に依つて或る種の形の有機酸から動物が Amino acid を合成する力をもつてゐることが分明するゆけである。

然らば動物はすべての Amino acid を合成し得るかいかないか、合成しうるとがハヘぬ。例へば Mc Ginty, Lewel & Marvel (J.

of Biol. Chem. 1924, 62, 75) は動物に  $\alpha$ -hydroxy- $\epsilon$ -amino caproic acid  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\overset{\alpha}{\text{C}}\text{H}_2\overset{\epsilon}{\text{C}}\text{HCO}_2\text{H}$  を與へた  
 $\text{NH}_2$   $\text{OH}$

が、それから lysine が生成されなかつた。そうすると次の如き重要な結論を下し得る。即動物は適當な母体から Amino acid を合成し得る。がその能力は限定されたもので、或種のものは合成し得、ある種のものはし得ぬ。

#### § 114. The Synthesis of Protein.

動物体を組織する蛋白は少くともその species については特有なものがあると考へられる。而して食物として摂るものは異種蛋白である。そらすると何等かの機構に依り他の Eiweiss から自己に特有な Eiweiss をつくることは自明の理である。又食物の Eiweiss の消化管内に於ける変化を考へて見る。胃及小腸に於て食物の Eiweiss は Amino acid にまで加水分解され、それが腸の粘膜に依り吸収され、過半は肝臓に於て他の変化を受け、残りの

部分が血液に依つて運ばれ、種々の組織に到達し、その組織に特有な蛋白を合成する材料となる。その実からも動物の組織に蛋白を合成する力のあることがうなづけるが、問題は、我々が食物として要求するものが protein を自身か、それ自身を構成する Amino acid かと言ふことである。若し Amino acid であつたら protein を摂る必要はない。必要な Amino 酸を供給すれば充分である。この問題は昔から非常に多數の人々に依り研究されたが、ごく最近になり、完全に解決された。古い実験によると、protein の Enzyme による分解物を與へると、動物が完全に生育する。然るに protein の酸加水分解物を與へたのでは成功しない。それはその後になって、酸加水分解による Tryptophane の様な大切な Amino acid が破壊せられるに由ると言ふ事がわかつた。故に酸加水分解物に Tryptophane の如きものを補ふと動物が normal に生長する。之を見てみると、動物が必要とする Amino acid を適宜に配合して與へると、栄養上障害がないと言ふことがわかる。即動物の要求するのは蛋白

それ自身でなく、 amino acid なることがわかる。

食物として大事なことはいかなる Amino acid がどれだけ含まれるかと言ふことで、それにより Eiweiß の栄養價值が定まる。斯の如く蛋白の如水分解物で動物が生育することがわかつたが、それらの如水分解物はいろいろの Amino acids の mixture あるひはその中に従来発見されなかつた Amino acid が存在するかも知れぬ。それを発見する為各 Amino acids を分離し、それらの Amino acids を mixt して、動物をやしなつたところ、初のうちはそれには成功しなかつた。その後 amino-β-hydroxy butyric acid をおきなふと、動物が差し支へなく生育することがわかつた。即今日では適當な Amino acid の適當な配合に依り何の差し支へなく生育することが確定した。即食物として要求するのは Amino acid で protein でないことが確定された。

### § 115. Special Units.

前二節に於て我々は動物体の要求するものは蛋白それ自身ではなく、それを構成する Amino acid なること、第二、適當の材料を與へると或種の Amino acid は動物体内で合成されるがその作用は限定されたもので、動物体で合成され得ない Amino acids のあることを知った。故に合成され得ぬ Amino acid が動物に不可欠とすると、それは食物として供給せねばならぬ。即 Amino acid 中には食物成分として不可欠のものと、他の Amino acid で代用されるもの、或は Amino acid 以外のものから合成されうるものに區別される。その食物中に不可欠のもの、即食物成分として不可欠のものを special units とされる。それらをあげると

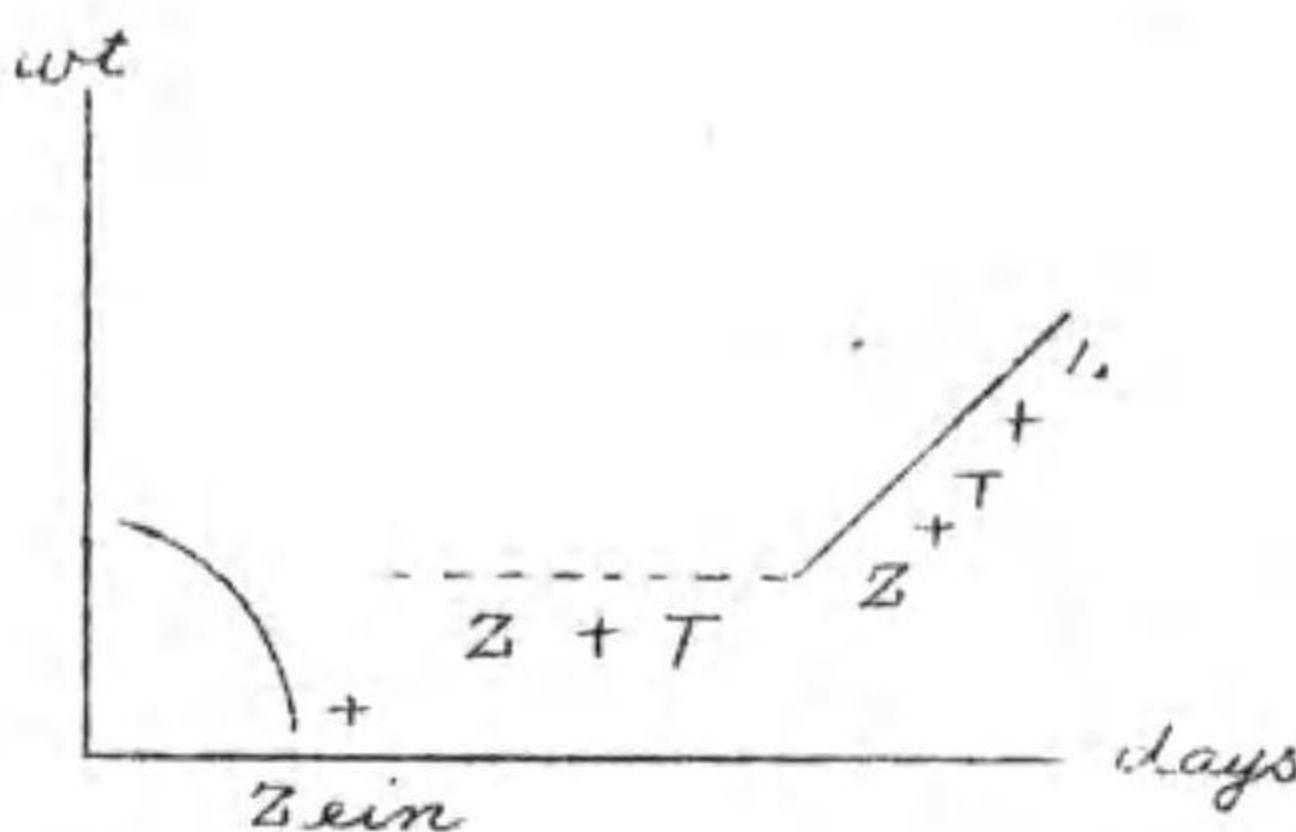
#### 1. Tryptophane & Lysine.

Willcock & Hopkins (J. Physiol.

1907, 35, 88) は廿日鶏を Zein を蛋白給源として養つたが、急撃に体量の減少を来し、遂に斃死するに到つた。Zein は Tryptophane & Lysine を全く含有しな

い。故に栄養上の欠陥は此の二成分を含有せぬことにもとづくものではなからうかとは當然疑はれる。兩氏は此の 2 amino acids を Zein R 添加してやつたら normal な生長することを観察した。同じ様な実験は Osborne & Mendel (J. Biolo. Chem. 1915, 20, 851) が Zein R Tryptophane のみ、或は Lysine のみ補って試験したら、共に良好な結果を得ぬ。両者を補った時はじめて正常な発育をとげる。同じ実験は多数の人々依つて繰返され Tryptophane & Lysine が食物として不可欠の成分なることは確定された問題である。

Osborne 等の時代までは Tryptophane は生命維持に必要で Lysine は体量の増加の為必要なることが唱へられたが、かゝる確然たる区別はなく、たしかに言ひ得るところは両方とも不可欠の成分であると言ふことである。Tryptophane & Lysine が体中で何か特種の function を發揮するか、或は生活体にとつて不可欠の物質の合成の材料にならかは未だわからぬ。即何故に必要か生理的根據



はまだやからぬ。古武氏らの研究に依ると Tryptophane を含むすると Hæmoglobin の生成を促す。即 Tryptophane は Hæmoglobin の pyrrol 体の形成の材料となる。Hæmoglobin の pyrrol 体が何から来るかは未だ決定されぬが、もし古武氏の研究が眞相を傳へるなら Tryptophane が不可欠な理由が明となるわけである。

## 2. Cystine

Osborne & Mendel (J. Biol. Chem. 1915, 20, 351) に従ふと、

Cystine も亦動物栄養上不可欠の成分である。milk 中の Casein は比較的 Cystine を乏しい protein である。その Casein を protein source として Albino rat を飼育すると 15% の特正常な発育を遂げるが

9% ではまだ不完全と言ふ事である。所がその 9% の casein に適量の Cystine を補ふと正常に発育する。即 cystine が適量に存することに依りはじめて動物が normal に発育する。即 Cystine が不可欠の成分なることがわかる。

Cystine が生理的に必要であると言ふこともすべて判然したとは言へぬが、cystine の reduced form である

$\text{CH}_2\text{SHCHNH}_2\text{COOH}$  cystein が O 化されると  $\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$  Cysteinsäure なる  
 $\text{CHNH}_2$   
 $\text{COOH}$

sulfonsäure となり、De  $\text{CO}_2$  作用をうけて  $\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$  Taurin となる。之は膽汁  
 $\text{CH}_2\text{NH}_2$

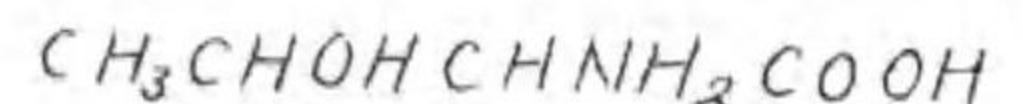
酸の主要な成分であるところの Tauchocolic acid の成分で、その Tauchocolic acid は fat の吸収に欠くべからざる成分である。又組織内には glutathion と称する組織の酸化に不可欠の成分のあることは前述の通りである。その glutathion の酸化された form は Cystine を、還元された形は

Cystein を含む。單に此の二つから見ても Cystine の不可欠なることが証明される。

3.  $\alpha$ -amino- $\beta$ -hydroxy butyric acid

動物の必要とするものが Amino acid と仮定し、その必要な Amino acid が既に発見されつくしたとすると、動物は既知のいろいろの Amino acid の適當の配合物でやしなって完全な發育を遂げねばならぬ。がその企てはことごとく失敗した。所が protein の蛋白酵素に依る加水分解物或は酸加水分解物に Tryptophane を補ふと完全に發育する。そうすると未知の Amino acid で動物の生育に不可欠のものがあるとせねばならぬ。

そこでその Amino acid の探索に従つたら Butyl alcohol 可溶の Mono amino acid に属することがわかった。そしてその有効な fraction を Cu-Salt とし、CH<sub>3</sub>OH で treat すると Cu-Salt が CH<sub>3</sub>OH にとける性質を利用し、Amino acid をしらべたら  $\alpha$ -amino- $\beta$ -hydroxy



butyric acid なることがわかつた。之を含有せぬ amino acids mixture では動物が生育しないから之も不可欠のものである。

4. Arginine & Histidine.

Amino acids mixture から之等をのぞいて動物を飼育すると生長しない。それを補つた時はじめて生長する。故にこの成分も不可欠のものとおもはれる。然し Tryptophane & Lysine の場合のやうにはつきりは出ない。何故に必要かと言ふと、研究者に依るとこの二つの Amino acids は Nucleinsäure 合成の材料となると言ふ事である。Nucleinsäure は細胞核質の主成分なる故、その説が正しければこの二成分が不可欠といふことも肯定されるわけである。

5. Phenyl alanine, Tyrosine & Proline.

Phenyl alanine & Tyrosine は二つの所謂 Special units に分けられるが、いづれか一方があれはよいらしい。大体動物は B<sub>2</sub> Kern を合成する力をもたぬ。然るに Adrenalin Thyroxine 等のものはゆる

Hormone は phenyl alanine, or Tyrosine... を母体とすると考へられる。故に此の二つのいづれか一方が必ず存在すべきことも頷かれる。proline が果して special units の一つと数へらるべきか否か、不確実であるが、proline R とほしい Edestine で動物をやしないと生長しない。Edestine は Cystine Lysine & Proline に乏しい。その Edestine に Cystine & Lysine を加へてやつても生長はすらか、正常とは言ひがたい。Proline を補ふとはじめて完全に生長する。故に proline はおそらく special units の一種ならんと考へられる。

以上の special units の List を見るともつともいちじるしい点はいはゆる Diamino acid がいづれもそらそらたることである。

故に protein を含有する食物の栄養價を考へる時 Diamino acid の含量がすくぶる大切なことになるわけである。

### § 116. Biological value of Proteins.

我々は既に動物の食物として要求するものは結局 Eiweiss そのものではなく、amino acid である。而してその中に必要不可欠のものと然らざるもののあることを学んだ。又一方 protein の種類に依り、含有する Amino acid の種類、量、特に所謂 Special unit の含量に差があることを学んだ。故に當然 protein は種類に依り biological value を異にする。昔はどの蛋白でも同じ biological value をもつと考へたが、近來の研究はそれが誤りで、いろいろの proteins は特有の栄養價値をもつことが明となつた。即この栄養上の價値を biological value となづける。既に栄養上の差があるとすればそれを数字であらはせるヒ一眼瞭然で非常にのぞましい。企てた人も少くない。それらの数字は食物として取った protein の N を 100 とし体内に蓄積された N の割合を出す。然し protein の栄養價値はそのとり扱ひ方、或は他の protein の有無に依ってちがふ、実際には一致せぬ数字

が得られる。即現在のところでは数字であらはす企ては理想的だが困難である。今 protein の Biological value を決定するのに影響する factor をあげると

### 1. Digestibility 消化率。

食物として取った蛋白中消化されたもののみが栄養上役に立つ、不消化の部分は吸收されることはなしに糞に出る。消化とは胃及小腸に於て種々の蛋白酵素が作用し、Albumose, Pepton 等の process を経て Amino acid まで加水分解せられ、腸壁から吸收せられ直に血液に入つて利用されるから、吸收される形にまで加水分解されるのを消化率と言ふ。消化率が protein に依つてちがひ消化されがたいのとされやすいのとある。即蛋白酵素にて加水分解を受けやすいのと、にくいのとある。この digestibility も protein そのもののみで論することが出来ず、処置方法如何で異なる。蛋白の部分は生のものは却く消化しがたいけれども、boil するか alcohol で凝固させた後典へると非常に消化されやすくなる。食品料理の意義の一つは

かくて消化を助けさせる為にあると見うる。

### 2. Compensation.

蛋白は單独に用ゐられた場合と、他の protein と組合せて用ゐられた時とで biological value がことなる。その最もいちじるしい例は gelatine<sup>1)</sup>、之のみを動物に與へたのでは全く役に立たぬが、他の蛋白を組合せて用ゐるといくらか役に立つ。ある種の蛋白が biological value に乏しいと言ふことは必要な Amino acid を含まぬか含んでも少量と言ふことで決定される。故に何等かの方法でその不足を補ふと完全な栄養價值を發揮するは当然である。故に二種以上の蛋白を mix して各の欠点を補ふと、單独に用ゐるより栄養價值が高まるのは当然である。概して禾穀類の蛋白に豆菽類の蛋白を混ぜると栄養價值を増し、更に動物性蛋白を加へるとさらに効力が發揮される。

### 2. B. gliadin + gelatin

### 3. Minimum & Maximum Quantity.

以上のことから見ると動物の栄養を正常に維持するに必要な minimum がある。即

それ以下では栄養状態が悪くなる。その量で  
辛うじて通常の状態を保つ限界がある筈であ  
る。その *minimum quantity* はいろいろ  
の *proteins* で動物試験がなされてゐるが、  
人間の場合に普通の食物についてそれが決定  
せる域に達してゐない。

蛋白の *excess* はあるべき障害を惹起  
し、その弊害は除かねばならぬが、*excess*  
の実験も困難である。何となれば *excess*  
に與へると先づ吐瀉して実験が出来ぬ。鼠は  
この現象がない。鼠での実験に依ると、蛋白  
が飼料の 30% 存在すると危険である。それ  
が我々にも当該るとすると蛋白は少くとも  
30% 以下に保たねばならぬ。

4. 蛋白の栄養價值が與へかたに依つてことな  
る。総量は同じでも *intermittent* に與へる  
のと、平均して與へるのとでは效力が頗る異  
つてくる。

¥0.60

特211

789

昭和十二年九月十日印刷  
昭和十二年九月十五日發行

發行所 「帝大プリント聯盟」

東京市本郷區森川町七十四番地  
振替 東京一一三五五七番

編輯兼  
發行者 坂井十二郎

印刷所 帝大プリント聯盟印刷部

【製 複 許 不】

終