

# 蠶 絲 學 雜 誌

## 第 六 卷 第 二 號

昭 和 八 年 十 一 月

### 報 文

#### 家蠶蛹蛋白質及柞蠶蛹蛋白質の化學的 組成の比較研究に就て

井 上 柳 梧  
三 輪 貞 德  
北 澤 孝 一

#### I. 緒 言

家蠶蛹、柞蠶蛹及其蛋白質の含窒素化合物に關する研究業績は少しとせず。

著者の一人<sup>1</sup>は家蠶蛹メ粕を硫酸にて分解して一種の營養素を取り出し其アミノ酸組成を研究し鳩及白鼠を飼育し營養劑として有効なる事を發表せり。

片山越夫氏<sup>2</sup>は蠶蛹の溫湯浸出物中より種々のモノアミノ酸及アデニン(ピクレート)、ヒポキサンチン(ピクレート)、ヒスチデン(鹽酸鹽)、コリン(鹽化金鹽)、プトレツシン(ピクレート)カダベリン(ピクレート)、未知鹽基等のアミノ酸鹽基類を分離せり。

川瀬惣次郎氏<sup>3</sup>は種々なる方法にて蛹油を浸出し其浸出メ粕の各種成分を分析し蠶蛹メ粕の窒素は魚肥に匹敵し、磷酸の含量は大豆粕に近似して加里の含量は魚メ粕に相當し、石灰は最も少きことを報告せり。

三室戸善光氏<sup>4</sup>は蠶蛹中の種々なる磷の形態及レシチンに就て研究し、中根信一氏も同様蠶蛹の變態に伴ふ含磷化合物の變化に就て研究せり。

吉村清尙氏<sup>5</sup>は乾燥蠶蛹を鐵製乳鉢にて粉碎し溫湯にて浸出しチロシン、ヒスチデン(鹽酸鹽)、プトレシン(鹽酸鹽)、アルギニン(ピクリン酸鹽)、コリン(鹽化金複鹽)、バタイン(鹽酸鹽)を分離せり。

關根秀三郎氏<sup>6</sup>は蠶蛹蛋白質を雌雄比較して分析し其窒素の分布狀態を報告せり。

土御門晴善及葛西文造兩氏<sup>7</sup>は蠶蛹及蠶蛹蛋白質の窒素の分布狀態其他の諸成分を研究し蠶蛹は蛋白質、脂肪に富みグリコーゲン、磷酸も相當に多く、蠶蛹蛋白質は一般蛋白質に比し窒素の含量(13.6%)少きことを報告せり。供試蠶蛹は製絲後の蠶蛹を乾燥粉末にしたるもの、供試蛋白質は蠶蛹を0.2% NaOHにて浸出し稀醋酸を以て沈澱したるものなり。

和田咲三郎氏<sup>8</sup>は蠶蛹の油を搾りし粕(有機成分 96.7%, 内蛋白質 63.2%, 中性脂肪 19.9%,

灰分 8.3%) を鹽酸にて加水分解しエステル法によりモノアミノ酸を、硫酸にて加水分解してヒスチジン、アルギニン、リジン、グアニン、アデニン、ハイポキサンチン、コリンを、別にチロシン、シスチン、トリプトファンを分離決定せり。

次に柞蠶蛹に關しては加藤二郎氏<sup>9</sup>は柞蠶蛹の溫水浸出物を作り、アデニン、グアニン、ヒポキサンチン、キサンチン、ヒスチジン、アルギニン、コリン、ベタイン、リヂンを分離し、又10月以後1ヶ月毎に1定量の柞蠶生蛹の乾燥粉末物より尿酸の定量を試みたり。其結果蛹の初期に於ては尿酸の含量少きも蛹期の進むに従ひ他の未知物質と共に増加するものなる事を證明せり。

吉村清尚及無漏田哲雄<sup>12</sup>の兩氏も亦柞蠶蛹の溫湯浸出物よりヒスチジン、コリン、プトレツシン、カダベリン、アムモニヤを分離したり。

著者等は柞蠶蛹蛋白質の化學的成份及營養的價値を知らんとして家蠶蛹蛋白質と比較分析して兩者の窒素の分布及アミノ酸組成を研究し次の結果に到達したり。

## II. 家蠶蛹蛋白質の組成

### 材料の精製

家蠶生繭より生蛹を取り出し乳鉢中に入れ乳棒にて出來得る限り充分に摩碎し生ぜる乳狀液を目の粗き鐵網にて濾し少量の清水を加へて洗滌しキチン質、諸器官等を除く。其濾液(乳濁液)はよく煮沸し蛋白質を凝固せしめ是れをビーカー中にあけ清水を加へよく攪拌する。かくして數時間放置する時は蛋白質は器底に沈み油脂其他の物質は水上に浮ぶ、此の時サイホンにて上部の水を除く時は油脂其他の物質は大部分水と共に除去さる、次に再びビーカーに清水を注ぎ攪拌し蛋白質の沈降を待ちて再び上部の水をサイホンにて除去す。かくの如く數回此の操作を反覆する時は大部分の夾雜物は除去さる。之を濾過して乾燥し「ソックスレット」氏脂肪浸出器にて油脂を除去せり。かくして殆ど純粹の蛋白質を得たり。

### 一般化學的組成

上記の如くして精製せる家蠶蛹蛋白質の一般化學組成は次の如し。

乾物量	93.78%
水分量	6.22%
灰分	2.17%
乾物 100 g 中	
熱濃鹽酸に可溶物質	97.17 g
” 不溶物質	2.83
全 窒 素	14.57
熱濃鹽酸に可溶窒素	14.34
” 不溶窒素	0.22
アムモニヤ態窒素	1.04
ヒューミン態窒素	0.52
phosphotungstic acid により沈澱せらるる窒素	3.34
phosphotungstic acid にて沈澱せられざる窒素	9.44
シスチン態窒素	0.49
アルギニン態窒素	1.32
リジン態窒素	0.27
ヒスチジン態窒素	1.26

アミノ酸態窒素	0.85
モノアミノ酸態窒素	8.18
非アミノ酸態窒素	1.27

全窒素を 100 として各種形態窒素量を示せば次の如し。

アミド態窒素	7.14%
ヒューミン態窒素	5.08
シスチン態窒素	3.86
アルギニン態窒素	9.06
リジン態窒素	1.85
ヒスチジン態窒素	8.65
モノアミノ酸態窒素	56.14
非アミノ酸態窒素	8.72

### アミノ酸組成

#### a 強鹽酸による全加水分解

前項の精製せる家蠶蛹蛋白質風乾 300 g (乾物として 281.33 g) をとり 900 c.c. の con. HCl を加へて逆流冷却装置に附し 6 時間煮沸 (Biuret 反應の現れざるに至るまで) して全加水分解を行ひ濾過せり。其不溶解物は Ninhydrin の反應なきまで再三蒸溜水を以て洗滌せり。分解液及洗滌液は悉く集め低壓の許に濃縮して水分を去り更に無水酒精を加へて數回低壓低溫の許に蒸發し次に乾燥せる鹽酸瓦斯を通じて飽和せしめ氷と食鹽とを混じて冷却し glycocoll をエチルエステル鹽酸鹽として結晶せしめんとしたるも結晶析出せず。次に該液を低壓低溫の許に蒸發し舍利別状となし無水酒精を加へて再三蒸發し出來得る限り水分及 HCl を除きエステル法によりてアミノ酸をエステル化し常法によりて分別蒸溜を行ひたり。其殘滓は蒸溜水を加へて溶解し低壓低溫の許に濃縮し HCl を加へ生ぜる鹽類を濾別し減壓蒸溜にて濃縮し con HCl を加へ再び逆流冷却器に附して 6 時間煮沸し低溫低壓の許に水分、鹽酸を除き更に無水酒精にて低溫低壓の許に蒸發し水分を除きエステル法によりて第二回分別蒸溜をなしアミノ酸エステルを分溜せり。各操作の終りには窒素の定量を行ひ實驗中に於ける損失の程度を明にせり。其結果は次の如し。

全加水分解液の窒素	40.6526 g
第一回アミノ酸浸出液中の窒素	7.1716 g
内 窒素測定のため損失の窒素	0.1281 g
第一回分溜の Amino ester 中の N	7.0435 g
Amino ester の Ether extract を濾過せし場合の損失窒素量	0.2593 g
第一回エステル法の場合の殘滓に HCl を加へ鹽類を濾別せし場合損失窒素量	0.95g
同 HCl を加へ鹽類を除去せし溶液中の窒素量	28.8452 g
内 窒素測定のため損失窒素量	0.1417 g
即 28.2035 g の窒素量となれり。	
第二回 Amino ester を Ether にて extract し濾別せし場合の損失窒素量	0.0220g
第二回 Amino ester を Ether にて浸出せる殘滓中の窒素量	25.6225g
第二回 Amino ester extract 中の窒素量	2.3988g
内 窒素測定のため損失窒素量	0.0282g
第二回分溜に用ひし Amino ester 中の窒素量	2.3706g

## 第1回 分別蒸溜

分 別 蒸溜區	加熱裝置	蒸溜時間	溫 度		壓 力	アミノ酸エステル 收 量	アミノ酸 收量
			蒸 溜 器 外部	蒸 溜 器 内部			
I	湯浴	45分	65°C	39°C	20 mm	14.8 g	1.3086 g
II	湯浴	27	99	78	20	13.4	6.5346
III	湯浴	20	99	83	40	23.15	15.5358
IV	油浴	50	200	157	40	36.55	33.6339
残滓						30.054	

## 第2回 分別蒸溜

分 別 蒸溜區	加熱裝置	蒸溜時間	溫 度		壓 力	アミノ酸エステル 收 量	アミノ酸 收量
			蒸 溜 器 外部	蒸 溜 器 内部			
I	湯浴	20分	60°C	39°C	28mm	9.1 g	0.5433 g
II	湯浴	15	99	78	10	8.0	3.7009
III	湯浴	20	99	83	3	3.0	2.5679
IV	油浴	40	200	165	3	6.2	2.9219
残滓						4.2	

斯の如くして得たる各蒸溜區中第1區第2區及第3區は水を加へて逆流冷却裝置を附しアルカリ性を呈せざるまで加水分解を行ひ濃縮し分別結晶により glycocoll, alanine 及 leucine を分離せり。proline は無水物に無水酒精を加へ數回浸出して分離せり。又 leucine, alanine の混合物は銅鹽となして分離せり。第4區は少量の水を加へ振湯し乳濁せしめ Ether を加へて再三浸出し phenylalanin を分離せり。phenylalanin の Ether 溶液は低壓低温の許に Ether を蒸發し次に con HCl を加へて低壓低温の許に蒸發し鹽酸鹽として結晶せしめ分離したり。Ether に移行せる phenylalanin を分離したる後の水溶液は Ba(OH)<sub>2</sub> の濃溶液を加へて逆流冷却器に附し加水分解を行ひ次に硫酸を加へて精密に Ba(OH)<sub>2</sub> を除去し無水酒精を加へて低壓低温の許に蒸發して水分を除去し無水酒精を以て proline を分離し後水に溶かし分別結晶により aspartic acid 及 serine を分離し次に鹽酸瓦斯を通じて glutamic acid を鹽酸鹽として分離せり。蒸溜残滓は Ba(OH)<sub>2</sub> を加へて煮沸して加水分解を行ひ硫酸により精密に Ba(OH)<sub>2</sub> を除き濾過し其濾液を濃縮して tyrosine を得たり。かくして分離したるアミノ酸の收量は次の如し。

	收量	無水蛋白質100g中 收量
Glycocoll	0.4040 g	0.1462 g
Alanine	10.4165	3.7962
Leucine	16.6341	6.0434
Aspartic acid	7.2072	2.6084
Glutamic acid	4.7063	1.7033
Serine	?	?
Phenylalanine	21.6218	7.8367
Oxy-proline	2.1274	0.6354
l-Proline	1.7982	0.6521

分離したるアミノ酸の決定

Glycocoll 窒素及銅鹽として銅の定量により決定せり。

N%	計算數	$C_2H_5O_2N$ として	18.67%
	實驗數		18.53%
Cu%	計算數	$(C_2H_4O_2N)_2Cu \cdot H_2O$ として	27.68%
	實驗數		27.35%

Alanine 結晶形、甘味、窒素及銅鹽の定量により決定せり。

N%	計算數	$C_3H_7O_2N$ として	15.73%
	實驗數		15.55%
Cu%	計算數	$(C_3H_6O_2N)_2Cu$ として	26.52%
	實驗數		26.59%

Leucine 窒素及銅鹽の定量により決定せり。

N%	計算數	$C_6H_{13}O_2N$ として	10.68%
	實驗數		10.70%
Cu%	計算數	$Cu(C_6H_{12}NO_2)_2$ として	19.64%
	實驗數		19.58%

Aspartic acid 窒素及銅鹽の定量により決定せり。

N%	計算數	$C_4H_7O_4N$ として	10.53%
	實驗數		10.40%
Cu%	計算數	$CuC_4H_5NO_4 + 3H_2O$ として	25.56%
	實驗數		25.39%

Glutamic acid 銅鹽として銅の定量により決定せり。

Cu%	計算數	$CuC_5H_7NO_4$ として	30.47%
	實驗數		30.41%

尙鹽酸鹽として分離せるものは窒素及鹽素の定量を行ひ決定せり。

Cl%	計算數	$C_5H_{10}O_4NCl$ として	19.32%
	實驗數		19.19%
N%	計算數	$C_5H_{10}O_4NCl$ として	7.63%
	實驗數		7.63%

Phenyl alanine 鹽酸鹽として分離し鹽素の定量により決定せり。

Cl%	計算數	$C_9H_{11}O_2NHCl$ として	17.59%
	實驗數		17.53%

Oxy-proline 銅鹽として銅の定量により決定せり。

Cu%	計算數	$(C_5H_8O_3N)_2Cu$ として	19.64%
	實驗數		19.91%

Proline 銅鹽として銅の定量により決定せり。

Cu%	計算數	$(C_5H_8O_2N)_2Cu$ として	21.79%
	實驗數		21.63%

#### b. Tyrosine の 分 離

前記の如き蠶蛹蛋白質 50 g (乾物として 46.89 g) をとり 25%  $H_2SO_4$  150 c.c. を加へ逆流冷却器に附して (Biuret 反應を呈せざるまで) 16 時間煮沸して加水分解を行ひ之を稀釋して濾過し殘滓はよく洗滌し其濾液及洗滌液を合し  $Ba(OH)_2$  を加へて精密に硫酸を除去し大

部分の水を蒸發して一晝夜放置し Tyrosine の結晶を析出せしめたり。此の結晶せる Tyrosine を濾別し其殘液は再び蒸發して濃縮し一晝夜放置し Tyrosine を析出せしめたり。此の如く數回反覆して Tyrosine を析出せしめ最後に最早 Tyrosine の結晶析出し得ざるに至りて母液中に少量殘留せる Tyrosine を比色法によりて定量せり。斯くして得たる Tyrosine の收量は次の如し。

分離し得たるもの	1.7382 g
比色により得たるもの	0.2728
總收量	2.0110
無水蛋白質 100 分中	4.29

Tyrosine の決定は結晶化學反應及窒素の定量により決定せり。

全窒素 計算數	$C_9H_{11}O_3N$ として	7.74% N
實驗數		7.63% N

### III. 滿洲産柞蠶蛹蛋白質の組成

#### (A) 材料の精製

上田蠶絲専門學校にて特別の方法により煮繭繰絲せる後の柞蠶蛹を集め清水にて洗ひ家蠶蛹の場合と同一の方法にて材料を精製せり、即柞蠶蛹を乳鉢に入れ出來得る限り丁寧に磨碎し少量の清水に懸垂し粗い鐵網にて濾しキチン質其他の諸器官等を除去したる後濾液を煮沸しビーカー中に入れ多量の清水を加へ攪拌して放置し數時間の後全蛋白質が器底に沈澱し油脂其他の夾雜物が水上に浮びたる時サイフォンにより水と共に上部の油脂其他の夾雜物を除去する、次に再び清水を加へ攪拌し蛋白質の沈降を待ちて上部の水を除去する、此の如く再三洗滌を繰り返す時は大部分の夾雜物を除去し得、此の洗滌せる蛋白質を濾過し乾燥してソックスレット氏脂肪浸出器により油脂を除去する時は殆ど純粹の蛋白質を得、かくして得たる蛋白質は家蠶蛹蛋白質に比し幾分黄色味を帶びたり。

#### (B) 一般化學的組成

上記の如くして得たる柞蠶蛹蛋白質の一般化學組成は次の如し。

乾物量	85.24%
水分量	14.76%
灰 分	1.55%
乾物 100 g 中	
全窒素	15.17 g
熱濃鹽酸に可溶窒素	14.60
不溶窒素	0.57
アムモニヤ態窒素	0.8970
ヒューミン態窒素	0.8984
燐タングステン酸により沈澱せらるる窒素	4.3913
燐タングステン酸にて沈澱せられざる窒素	8.4183
シスチン態窒素	0.0505
アルギニン態窒素	1.9328
リジン態窒素	0.2565
ヒスチジン態窒素	2.1515

モノアミノ酸態窒素	7.1644%
非アミノ酸態窒素	1.2539
全窒素を 100 として各種形態窒素量を示せば次の如し。	
アミド態窒素	5.91%
ヒューミン態窒素	9.68
シスチン態窒素	0.33
アルギニン態窒素	12.74
リジン態窒素	1.69
ヒスチジン態窒素	14.18
モノアミノ酸態窒素	47.23
非アミノ酸態窒素	8.27

## (C) アミノ酸組成

## (イ) 強鹽酸による全加水分解

前項の如き柞蠶蛹蛋白質 500 g (乾物として 426.2 g) に con HCl 1500 c.c. を加へ逆流冷却装置に附し Biuret 反應を呈せざる迄煮沸して全加水分解を行ひ其不溶解物は充分に蒸溜水を以て洗滌せり、分解液及洗滌液は集めて低壓の許に濃縮して水分を去り次に無水酒精を加へて低壓低温の許に數回蒸發し最後に乾燥鹽酸瓦斯を通じて HCl を飽和せしめ氷と食鹽とにて冷却し glycocoll をエチルエステル鹽酸鹽の結晶として析出せしめんとせるも家蠶蛹蛋白質と同様析出せず、更に該液を低壓低温の許に蒸發し無水酒精を加へて再三蒸發し出來得る限り水分鹽酸を除きエステル法によりてアミノ酸をエステル化し常法により分別蒸溜を行ひたり。残滓は蒸溜水を以て溶し低壓低温の許に濃縮し生ぜる鹽類を濾別し更に濃厚なる鹽酸を加へて再び逆流冷却装置を附して六時間煮沸し、更に蒸發して舍利別狀となし無水酒精を加へて更に乾燥せる鹽酸瓦斯を通じて飽和せしむ、かくして再びエステル化し前記と同様エステル法により第二回遊離エステルを造り分別蒸溜を行ひアミノ酸を分離せり。各操作の終りに於て窒素の定量を行ひ實驗中の損失程度を測定し次の様な結果を得たり。

全加水分解濾液中の全窒素	57.1427g
第一回アミノ酸エステルの浸出液中の窒素	2.0854
第一回アミノ酸エステルの浸出後の残渣中の窒素	53.9878
第二回アミノ酸エステルの浸出液中の窒素	13.2365
第二回アミノ酸エステルの浸出後の残渣中の窒素	35.8315
最後に Ba(OH) <sub>2</sub> を加へて分解するも尙ほ分離し得ざる窒素	2.2024

## 第1回分別蒸溜

分別蒸溜區	加熱裝置	蒸溜時間	溫度		壓力	アミノ酸エステル收量	アミノ酸收量
			蒸溜器外部	蒸溜器内部			
I	湯浴	30分	60°C	23°C	15mm}	9g	4.9430g
II	湯浴	20	99	78	15		
III	湯浴	20	99	78	5		
IV	油浴	25	180	82	3	10.3	8.0250
残滓						10.5	

## 第2回分別蒸溜

分 別 蒸溜區	加 熱 裝 置	蒸 溜 時 間	溫 度		壓 力	アミノ酸エステル 收 量	アミノ酸 收量
			蒸 溜 器 外 部	蒸 溜 器 内 部			
I	湯浴	40分	60°C	45°C	30mm	65.5g	16.7811g
II	湯浴	30	99	72	30	31.5	9.9138
III	湯浴	45	99	80	10	41.7	12.6042
IV	油浴	55	190	152	5	76.5	56.6051
残滓						89.2	3.8542

斯くして得たる各蒸溜區は家蠶蛹蛋白質の場合と同様の操作によりアミノ酸を分離せり。即第1區、第2區及第3區は水を加へて逆流冷却装置を附しアルカリ性反應の消失する迄加水分解を行ひ分解後濃縮して分別結晶法により Glycocoll, Alanine 及 Leucine を分離せり。Proline は是等の各蒸溜分區の無水物を無水酒精にて數回浸出して分離せり。第4區は少量の水及 Ether を加へて再三振盪し Phenylalanine ester を Ether に移行せしめて分離し Ether 部は低壓低温の許に Ether を蒸發し濃鹽酸を加へて低壓低温の許に蒸發し Phenylalanine を鹽酸鹽として分離せり。水溶部は  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  の濃溶液を加へて逆流冷却器を附し加水分解を行ひ後硫酸を加へて精密に  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  を除去し濃縮し分別結晶法により Aspartic acid, Serine 及 glutamic acid を分離せり。Leucine と alanine との混合物は銅鹽として分離せり。以上の如くして得たるアミノ酸の收量は次の如し。

	收量	物乾
Glycocoll	3.7146 g	0.871%
Alanine	10.7625	2.525
I-Leucine	1.0028	0.235
Iso-Leucin	23.2171	5.447
Aspartic acid	2.0100	0.471
Glutamic acid	23.9920	5.629
Serine	trace	trace
Phenylalanine	40.6381	9.534
Oxy-proline	6.7933	1.593
Proline	0.0512	0.012

#### 分離したるアミノ酸の決定

Glycocoll 融點、窒素及銅鹽の定量により決定せり。

融點	220 °C	
N %	計算數 $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$ として	18.67%
	實驗數	18.51%
Cu %	計算數 $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{N})_2\text{Cu}\cdot\text{H}_2\text{O}$ として	27.68%
	實驗數	27.31%

Alanine 結晶形、甘味、融點、窒素及銅鹽の定量により決定せり。

融點	291 °C	
N %	計算數 $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ として	15.73%
	實驗數	15.23%
Cu %	計算數 $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2\text{N})_2\text{Cu}$ として	26.52%
	實驗數	26.49%

Leucine 融點及窒素の定量を行ひ決定せり。



融點	285 °C	
N%	計算數 $C_6H_{13}O_2N$ として	10.69%
	實驗數	10.60%

銅鹽を作り Methyl alcohol によりて l-Leucine 及 Iso-Leucine に分離せり。

l-Leucine 銅鹽によりて決定せり。

Cu%	計算數 $Cu(C_6H_{15}NO_2)_2$ として	19.64%
	實驗數	19.21%

Iso-Leucine 銅鹽の定量によりて決定せり。

Cu%	計算數 $Cu(C_6H_{12}NO)_2$ として	19.64%
	實驗數	18.97%

Aspartic acid 窒素及銅鹽の定量によりて決定せり。

融點	241 °C	
N%	計算數 $C_4H_7O_4N$ として	10.53%
	實驗數	10.85%
Cu%	計算數 $CuC_4H_5NO_4$ として	32.66%
	實驗數	32.63%

Glutamic acid 融點、窒素及銅鹽の定量により決定せり。

融點	201 °C	
N%	計算數 $C_5H_9O_4N$ として	9.52%
	實驗數	9.54%
Cu%	計算數	30.46%
	實驗數	30.49%

Phenylalanine 鹽酸鹽として分離し鹽素及窒素の定量により決定せり。鹽素は Voshard's Method に依る。

Cl%	計算數 $C_9H_{11}O_2N \cdot HCl$ として	17.59%
	實驗數	17.53%
N%	計算數 $C_9H_{11}O_2N \cdot HCl$ として	6.95%
	實驗數	7.02%

Oxy-proline 銅鹽として銅及窒素を定量し決定せり。

N%	計算數 $C_{10}H_{16}O_6N_2Cu$ として	8.65%
	實驗數	8.45%
Cu%	計算數 $C_{10}H_{16}O_6N_2Cu$ として	19.64%
	實驗數	19.46%

l-proline 銅鹽として銅及窒素を定量して決定せり。

N%	計算數 $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu$ として	9.60%
	實驗數	9.52%
Cu%	計算數 $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu$ として	21.79%
	實驗數	21.57%

#### (α) Tyrosine の分離

前項記載の柞蠶蛹蛋白質風乾 100 g (乾物として 85.24 g) を採り 25%  $H_2SO_4$  300 c.c. を加へ逆流冷却器に附し 16 時間 (Biuret 反應を呈せざる迄) 煮沸し蒸溜水にて稀釋して濾過

せり。残滓は蒸溜水にて充分洗滌する、其濾液及洗滌液は集めて  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  を加へ精密に  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を除き次いで蒸發濃縮して 1 晝夜放置せり。ここに析出せる Tyrosine は濾別し其濾液は再び濃縮して放置し Tyrosine を分離せり。かくして Tyrosine の結晶析出し得ざる迄此の方法を反復し最後に比色法によりて定量せり。此の如くして得たる Tyrosine の収量は次の如し。

結晶として分離し得ざるもの	4.1230 g
比色法により定量せるもの	0.7644 g
總収量	4.8874 g
乾物 100 分中の収量	5.7337%

Tyrosine は結晶形、化學反應、窒素及銅鹽の定量により決定せり。

N%	計算數	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$ として	7.74%
	實驗數		7.82%
Cu%	計算數	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_2\text{Cu}$ として	15.00%
	實驗數		15.04%

#### (ハ) 柞蠶蛹蛋白質の鹽基性アミノ酸の分離

柞蠶蛹より分離したる風乾蛋白質 50 瓦 を 25% 硫酸 150 珎 を加へて逆流冷却装置の許に 14 時間分解し後水にて薄めて濾過し其濾液にバリタを加へて硫酸を除き其沈澱を濾過したる後更に硫酸を加へて約 5% になる様になし更に燐タングステン酸を加へて鹽基性アミノ酸を沈澱せしむ、全く沈澱の生ぜざるに到りて燐タングステン酸の注下を止め二晝夜放置したる後吸引濾過す。

##### (a) ヒステジンの分離

燐タングステン酸の沈澱物は是れを乳鉢に移し水酸化バリウムを加へて乳棒によりて能く混合し水を少量加へて攪拌し燐タングステン酸の沈澱を分解せしめ是れを濾過する。此操作を反復して其濾液を盡く集め炭酸瓦斯を通じてバリウムを除き炭酸バリウムの沈澱の濾液に第二水銀の溶液を加へてヒステジンを沈澱せしむ、かくして得たる沈澱を水に懸垂せしめて更に硫化水素を通じ硫化水銀を沈澱せしめ其濾液を低壓の許に蒸留して舍利別狀となし是を乾燥器中に放置して置く時にヒステジンは鹽酸鹽となりて析出する。

##### (b) アルギニンの分離

鹽化第二水銀よりの沈澱の濾液は硫化水素を通じて水銀を除き濾液に數時間空氣を通じて過剰の硫化水素を驅逐して低壓蒸留を行ひたる後硝酸銀を加へて鹽素を取り其の濾液に水酸化バリウムと硝酸銀を同時に加ふる時は褐色の沈澱物が得られる。是を水に分散して硫化水素を通じて銀を取り此の濾液に硫酸を加へて最密に中性となして真空蒸留する。然る時に硝酸アルギニンが出来る。

##### (c) リジン、コリン及ベタインの分離

アルギニン銀の濾液に鹽酸を加へて銀を除き更に硫酸を加へてバリウムを除去し且少しく過剰に硫酸を加へて 5% として燐タングステン酸を加える、沈澱物を濾過し 5% 硫酸にて洗滌し燐タングステン酸の沈澱物を常法に従ひて水酸化バリウムにて分解し過剰のバリタは硫酸を以て精密に除去し此の際生じたる硫酸バリウムの沈澱を濾過し其の濾過は低壓にて濃縮し乾涸せしめ濃厚なる鹽酸を加へて飽和せしめて後蒸發する時はリジン、コリン及ベタインの鹽酸鹽を生ず。是れを最初に冷アルコールにて浸出しコリン鹽酸を溶解しこのものを蒸發乾涸し水に

溶かして 10% の鹽化金のアルコール溶液を加へて放置しコリン鹽化金複鹽を得。冷アルコールの不溶物に温アルコールを加へてベタイン鹽酸鹽を溶解しリヂン鹽酸鹽を分つ。ベタイン鹽酸鹽はコリン同様に鹽化金複鹽として分離す。

以上の方法に依りて分離したる有機鹽基の量は次の如し。

アルギニン硝酸鹽	1.2748 瓦
ヒスチヂン塩酸鹽	1.7050 瓦
リヂン塩酸鹽	0.5345 瓦
コリン鹽酸鹽	4.4096 瓦
ベタイン鹽化金複鹽	1.1683 瓦

上記の結果より各種の窒素化合物を計算して無水材料に對する % を以て表はす時は次の如し。

アルギニン	2.115%
ヒスチヂン	2.847
リヂン	1.004
コリン	2.893
ベタイン	2.778

#### (d) 各種アミノ酸の決定

アルギニン 硝酸鹽として分離し其の硝酸を Nitron 法によりて測定せるに。

硝酸數	實驗數	26.73%
	理論數 ( $C_6H_{14}N_4O_2HNO_3$ )	26.55%

硝酸鹽より常法に依りて銅の複鹽を作りたるに針狀結晶にして融點は  $118^\circ$  にして銅含有量は

實驗數	11.74%
理論數	$((C_6H_{14}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2)$ 11.86%

ヒスチヂン 鹽酸鹽として分離し其の鹽酸含有量及バウリ氏反應及ビュレット反應に依りて確定す。

實驗數	鹽素數	31.35
	窒素數	18.38
理論數	鹽素數	31.14
	$(C_6H_9N_3O_2, 2HCl)$ 窒素數	18.42

リヂン 本品はリヂン鹽酸鹽として分離したるものを分析し尙その誘導物を作りてリヂンたる事を確定する。

鹽酸鹽 無色柱狀の結晶にして  $202^\circ$  にて溶融する。

實驗數	鹽素數	32.75
	窒素數	12.65
理論數	鹽素數	32.27
	$(C_6H_{14}O_2N_2, 2HCl)$ 窒素數	12.79

リヂンピクレートは黃色柱狀の結晶束狀集合をなし  $248^\circ$  にて分解する。

Cholin 鹽化金複鹽として分離し黃色粒狀の結晶にして冷水に溶け易く  $234^\circ$  にて黑變分解する。

## 鹽化金複鹽

金數

實驗數

44.31%

理論數 ( $C_5H_{14}NO, Cl, AuCl_3$ )

44.49

ピクリン酸鹽

冷水に溶解し易き黄色粒狀の結晶にして 233° にて黑色となり分解す。

Etain

鹽化金複鹽として分離し絹絲光澤を有する黄色柎狀の結晶にして冷水に溶解し難く 251° C にて融解せり。

金數

實驗數

42.89

理論數 ( $C_{15}H_{11}NO_2HCl, AuCl_3$ )

43.14

ピクリン酸鹽

黄色柎狀の結晶にして冷水に溶解難く 176° にて溶解す。以上

## IV 結 論

家蠶蛹蛋白質と滿洲産柎蠶蛹蛋白質との化學組成を比較研究せり。今分析結果を比較して舉ぐれば次の如し。

乾物 100 分中

	家蠶蛹蛋白質 14.57%	柎蠶蛹蛋白質 15.17%
全窒素		
全窒素を 100 として各種形態窒素を示せば		
Amide-N	7.14	5.91
Humine-N	5.08	9.68
Cystine-N	3.36	0.33
Arginine-N	9.06	12.74
Lysine-N	1.85	1.69
Histidine-N	8.65	14.18
Mono Amino acid-N	56.14	47.23
Non amino acid-N	8.72	8.29

アミノ組成

	對無水蛋白質 100 g	
	家蠶蛹蛋白質	柎蠶蛹蛋白質
Glycocoll	0.1462 g	0.871 g
Alanine	3.7962	2.525
L-Leucine	} 6.0434	0.235
Iso-Leucine		5.447
Aspartic acid	2.6084	0.471
Glutamic acid	1.7033	5.629
Serine	?	trace
Phenylalanine	7.8367	9.534
Oxy-proline	0.7767	1.593
Proline	0.6521	0.012
Tyrosine	4.2886	5.734
Arginine		2.115
Histidine		2.847

Lysine	1.004
Choline	2.893
Betain	2.778

上表に見る如く兩蛋白質共に 15% 内外の全窒素あり、家蠶蛹蛋白質は 91.06%、柞蠶蛹蛋白質は 94.81% の粗蛋白質となる。アミノ酸組成中 Phenylalanine, Leucine, Tyrosine, alanine 等多く Aspartic acid, Proline は家蠶蛹蛋白質に多く Glycocoll, Glutamic acid, Oxypoline は柞蠶蛹蛋白質に多く其他の成分には變化なし家蠶蛹蛋白中よりは原料僅少なりし塩基性アミノ酸に分離する事が出来なかつた。柞蠶蛹蛋白質は實質的に家蠶蛹蛋白質に比し優るとも劣る事なく營養劑として價值あるべきものなり。  
(於上田蠶絲專門學校)

## 文 獻

1. 井上柳梧、岩岡末彦、工業化學雜誌 Vol. XIX No. 214 1915.
2. 片山越夫、蠶業試驗場報告 Vol. II No. 4 1917.
3. 川瀬惣次郎、加美好男、須田圭二 農學會報 No. 189 1918.
4. 三室戸善光 農學會報 No. 204 1919.
5. 吉村清尙、無漏田哲雄 日本農藝化學會誌 Vol. III No. II 1919.
6. 關根秀三郎、馬場三郎 日本農藝化學會誌 Vol. V No. 8 1928.
7. 土御門晴善、葛西文造 日本蠶絲學雜誌 Vol. II No. 1 1931.
8. S. Wada Acta. Achol. Med. Kyoto. 1931.
9. 加藤二郎 日本農藝化學會誌 Vol. II No. 5 1926.
10. 加藤二郎 滿鐵中央試驗場報告 第10輯 1926.
11. 加藤二郎 日本農藝化學會誌 Vol. III No. 5 1927.
12. 吉村清尙、無漏田哲雄 日本農藝化學會誌 Vol. V No. 4 1929.

(昭和八年八月卅一日受理)

## On the Amino-acids-composition of the Protein of the Chrysalis of the Domesticated and Tussah Silkworm.

Ryūgo INOUE, Teitoku MIWA and Kōichi KITAZAWA

(Received August 31, 1933).

### Résumé

- 1) The method of the separation of the protein from the chrysalis.

The fresh pupae taken out by cutting cocoons, were crushed with a pestle in a mortar and extracted with water, and then filtered in order to separate the skins of the pupae and other impurities. The filtrate was then boiled and the protein was made to coagulate. After standing for several hours the protein was made to precipitate down in the bottom of the beaker, and the oils and the like substances became to float on the surface of the

water. The oils and the like substances were removed off by decantation. The raw protein thus obtained was then extracted with ether to remove the fat and oil still remained in it, and purified from mixtures.

## 2) The general chemical composition of the pupa-protein.

The general chemical constitution of the protein of the pupae was determined with the following results.

Dry matter	93.78%
Water	6.22
Ash	2.17

In 100 parts of dry matter.

Substances soluble in hot con. HCL	97.17
Substances insoluble in hot con. HCL	2.83
Total nitrogen	14.57
Nitrogen in the substances soluble in hot con. HCL	14.34
Nitrogen in the part insoluble in hot con. HCL	0.22
Ammonia nitrogen	1.04
Humine nitrogen	0.52
Nitrogen precipitated by phosphotungstic acid	3.34
Nitrogen not precipitated by phosphotungstic acid	9.44
Cystin nitrogen	0.49
Arginine nitrogen	1.32
Lysine nitrogen	0.27
Histidine nitrogen	1.26
Amino nitrogen	0.85
Mono amino nitrogen	8.18
Non amino nitrogen	1.27

In 100 parts of the total nitrogen.

Amino nitrogen	7.14
Humine nitrogen	5.08
Cystine nitrogen	3.36
Arginine nitrogen	9.06
Lysine nitrogen	1.85
Histidine nitrogen	8.65
Mono amino nitrogen	56.14
Nonamino nitrogen	8.72

## 3) Amino acid composition.

The protein (300 grammes in the air dry state) was boiled with 900 cc. of con. HCL for 6 hours under a reverted cooler, and the hydrolysate thus obtained was distilled under reduced pressure. The distillation was repeated several times in order to remove hydrochloric acid, with distilled water added.

Finally amino acids were separated by the ester method of E. Fischer. The results obtained were as follows:

	In 100 g. of dry protein	
	The protein from the pupae of domesticated silkworm.	The protein from the pupae of Tussah silkworm.
Glycocoll	0.1462	0.871
Alanine	3.7962	2.525
Leucine	6.0434	5.682
Aspartic acid	2.6084	0.471
Glutamic acid	1.7033	5.629
Serine	?	trace
Phenylalanine	7.8367	9.534
Oxyproline	0.7767	1.593
Proline	0.6521	0.012
Tyrosine	4.2886	5.734
Arginine	—	2.115
Histidine	—	2.847
Lysine	—	1.004
Choline	—	2.893
Betain	—	2.778

From the above results, the amino acids composition of the protein from the pupae of the tussah silkworm is in general like to that of the protein from the pupae of the domesticated silkworm, except that glutamic acid is much in quantity and aspartic acid less. It may be thought that the protein of the pupae of Tussah silkworms is nutritious like as that of the protein of the domesticated silkworms.

(The Imperial College of Sericulture and Silk-industry Uyeda, Japan.)