

魚類プロテアーゼに関する研究（第6報）

鮪幽門垂プロテアーゼの酵素化学的性質
並びに胃液のpHに就いて*

藤 井 実

Studies on the Protease of Fishes (6)

On the Enzymatic and Chemical Properties of the Enzyme in Pyloric
Appendage and pH of Stomach-juice of albacore (*Thunnus alalunga*).

By
Minoru FUJII

The optimum pH of the proteolytic enzyme in the pyloric appendage of albacore is about pH 8.5 and the optimum temperature of it is about 40°C.

The percentage of the proteolytic enzyme extracted with water from powder of pyloric appendage of albacore was 76% and this extraction rate is greatly influenced by pH of added solution, namely a very large value at pH 8.5, but smaller one at acidic. The pH of stomach-juice of albacore is neutral or slightly alkaline (pH 6.8~7.3).

結 言

魚類プロテアーゼの研究試料として今日迄主として鱈を使用してきたが之は当地に於いて容易に且豊富に得ることの出来る材料としては鱈が主であつて大型魚である鮪、鰹の類は入手難のためである。従つて小型魚プロテアーゼの酵素化学的性質が大型魚の夫に其の儘適用し得るものか否かに就いてはやはり一応確めて置くべきである。幸にも本年1月中旬頃ビンナガマグロの幽門垂を入手出来たので常法に従つて粉末試料を調製し其の酵素化学的性質に就いて実験を行うことを得た。又当所練習船俊鰲丸が29年末より本年2月末頃迄印度洋に於いて鮪漁場調査及び鮪捕獲実習を行つたので乗船者製造学科助手田川昭二氏に鮪胃液のpHの調査を依頼したが其の結果も報告する。此の報告を行うに当り鮪材料を分与して下さつた清水食品株式会社森山保・阿部金吾の両氏、試料の採取及び調製に協力していただいた静岡水産試験場技官下田雄四郎氏、終始実験に協力された富田技官、及び田川昭二氏の勞に対し厚く謝意を表す。

実 験 の 部

材料：昭和30年1月中旬清水食品株式会社清水工場に入荷中のビンナガマグロから採取し常法に従つてアセトン・エーテル処理を施した後乾燥し持帰つたものである。

1) 至適水素イオン濃度に就いて

* 水産講習所研究業績 第176号。

粉末試料0.1gに蒸留水を添加し抽出を行い全液を50ccとなしその5ccを基質カゼインに添加作用させた後常法の通りに非蛋白態水可溶性窒素及びアミノ態窒素を求めた。防腐剤として飽和フラスキン液を反応液に添加することは従前通りである。尙基質カゼイン液は5%のものを5cc添加することに改めた。得た実験結果の一例を示すと第1表の通りである。

Table 1. Opt. pH of proteolytic activity of pyloric appendage of albacore (Thunnus alalunga). (Condition of temp. : 35°C. Period of react. : 1.5 hrs. Substrate : Casein)

pH	7	8	8.5	9
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	8.4	16.0	18.0	12.1
Non-protein soluble-N. (mg) × 10 ⁻³	3570	3668	3675	3650

第1表の示す様に非蛋白態水可溶性窒素及びアミノ態窒素の値はpH 8.5に於て最大値を示している。従つて至適水素イオン濃度は約pH 8.5である。

2) 至適温度に就いて

粉末試料0.5gの水抽出を行い50ccとなしその2cc宛を酵素試料とし反応液のpHを8.5, 反応時間を1時間30分として夫々異なる温度に於て作用力を測定し第2表を得た。

Table 2. Opt. temp. of proteolytic activity of pyloric appendage of albacore (Thunnus alalunga). (pH of solution : 8.5 Period of react. : 1.5hrs, Enzyme : 20mg (as powder), Substrate : Casein.)

Temp. (°C)	35	40	45
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	11.6	22.0	21.0
Non-Protein soluble-N. (mg) × 10 ⁻³	4635	5265	5005

次に反応液のpHを8, 反応時間を2時間とし, 夫々異なる温度に於ける作用力を測定して第3表の示す通りの結果を得た。又0°から60°Cの広範囲の温度間の成績を示すと第4表の通りである。

Table 3. Opt. temp. of proteolytic activity of pyloric appendage of albacore (Thunnus alalunga). (pH of solution : 8) (Period of react. : 2hrs. Enzyme : 20mg (as powder), Substrate : Casein.)

Temp. (C°)	35	40	45
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	10.0	15.0	12.0

Table 4. Opt. pH of proteolytic activity of pyloric appendage of albacore (Thunnus alalunga). (pH of solution : 8.5, Period of react. : 4hrs.)

Temp. (C°)	C~0.5	10	20	27	43	50	60
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	1	2.6	9.4	14	18.6	16	5
Non-Protein soluble-N. (mg) × 10 ⁻³	325.7	721.7	986.7	1171.7	1431.7	1381.7	931.7

之等の結果から反応液の pH が 8 及び 8.5 のいづれに於ても両反応生成物は 40°C に於て最大値を示すから至適温度は約 40°C であると考えられるが、此の結果は大谷・原田氏等¹⁾ のアリ・サバの幽門垂に於ける実験結果と略一致している。そして鱈類²⁾ の夫よりも高温に至適温度が存在するということは鮪の棲息している場所の水温が一つの原因を成しているものと考えることが出来るがそれがどの様な因子に依つて特性づけられるものであるか否かに就いては改めて検討したい。而して温度の変化に対する非蛋白態水可溶性窒素とアミノ態窒素の増減の程度は同一でなくアミノ態窒素は 25°C 或は 60°C に於て作用力は相当に弱くなり 10°C 附近では作用力は殆んど無くなる。之に反し非蛋白態水可溶性窒素は前者程の変化を示さず高温 60°C に於ても尙相当の作用力を示し 0~10°C の間に於ても可成りの作用力の存在することを示している。勿論酵素力は温度の高低及びその持続時間の長短に左右されるわけであるから之等の因子が試料の蛋白酵素群に夫々異つた影響を与える為めに此の様な結果を招くものであらうと考える。

3) プロテアーゼの抽出量と抽出時間に就いて

粉末試料 0.05g に約 10cc の蒸留水を添加して常温に 1 時間時々振盪しながら放置し次に遠心分離を行つて上澄液及び固形部を分ち夫々を酵素試料としてカゼインに作用させ第 5 表の結果を得た。

Table 5. The percentage between the water-soluble-protease and the so-called absorbed protease. (Enzyme : 50 mg (as powder) Period of extraction : 1 hr, Period of react. : 7 hrs. Temp. of react. : 35°C)

Sample	Liquid-portion	Solid-portion
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	50.0	16.0
Activity (%)	76	24

次に 0.05 g の粉末試料 4 個に夫々 10cc の蒸留水を加えて 30, 60, 90 及び 120 分間プロテアーゼ抽出を行い夫々の抽出液をカゼイン液に作用させて得た結果は第 6 表の通りである。

Table 6. The relation of the enzyme-quantity to the extraction-time. (Condition of temp. : 35°C, Period of react. : 7 hrs. Enzyme : 50 mg (as powder)).

Period of extraction (minutes)	30	60	90	120
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	48.4	51.0	51.0	50.4

第 5 及び 6 表の結果から水抽出プロテアーゼ量は約 76% であつて尙固形部に 24% 程度のプロテアーゼ作用力が残存していることになる。而して常温で溶出される酵素量は 1 時間の抽出で一定値に達する。

4) 各種水素イオン濃度水溶液に依るプロテアーゼの抽出に就いて

水を抽出剤として使用した場合其の溶液の pH は約 6 である。従つて pH の異なる溶液を抽出剤として使用した場合酵素の抽出量に差異を生ずるか否かを知るため各種 pH の緩衝溶液 (CLAR & LUBS の磷酸加里一苛性曹達, 硼酸一苛性曹達混液使用) の一定量を固形試料に

添加して1時間抽出を行い次に遠心分離に依り上澄を分液離しその上澄液から一定量を取つて夫々カゼイン溶液に添加し反応液の pH を 8.5 に調製して作用力を測定した。此の場合添加した緩衝液の塩類の種類及びその濃度が抽出に及ぼす影響も考えるべきであるがこゝでは単に pH の関係のみを考慮することにした。得た結果は第7表の示す通りである。

Table 7. The extraction of protease by solution of different pH. (Period of extraction : 1 hr, Period of react. : 2hrs. : Enzyme 25mg as powder).

pH	4.8	6.8	8.5	8.9
NH ₂ -N. (cc) × 10 ⁻²	18.4	21.0	23.4	21.0

第7表から明かな様に pH 4.8 の様な酸性に於ては抽出量少くアルカリ性になるにつれて多くなり pH 8.5 で最大抽出量を示している。之は鯛²⁾の場合とよく一致する。

5) 鮪胃液の pH に就いて

pH の測定方法は小型魚の場合と同じく胃部を切開してその内壁に東洋濾紙株式会社製の pH 試験紙を押しあてて pH を見る方法では第8表の様な結果を得た。

Table 8. The pH of stomach-juice of yellow fine tuna.

Kind of fishes	Weight(Kg)	Length (cm)	pH (Stomach juice)	Condition of fishes
Yellow fine tuna (Kihada) (♂)	65.3	146	7.3	20 minutes after killed, almost empty
♂ (♂)	25.1	115	6.3	20 minutes after killed, squids o : half-digestive.
♂ (♂)	58.0	147	7.6	Saury pike 1.

第7表の結果から鯛の様な大型魚の胃液 pH は死直後の場合明かに微酸性或はむしろ微アルカリ性に傾いていることが判る。尙此の表に示していないが死後の経過時間の比較的長いと思われる鯛の胃液 pH は殆んど 6.2~6.4 の間にあつた。此の事実は小型魚の場合とよく一致するもので大型魚の胃消化も中性乃至微アルカリ性消化であることは明らかである。

総 括

鮪幽門垂プロテアーゼの酵素化学的性質及び胃液の pH に就いて検討した。

- 1) 鮪幽門垂プロテアーゼの至適水素イオン濃度は約 pH 8.5 である。
- 2) 該酵素の至適温度は約 40°C である。
- 3) アセトン・エーテルで処理した粉末試料から水抽出を行う場合抽出酵素量は約 76% であつた。又抽出水溶液の pH が 8.5 の時酵素量は最大となり酸性側では少い。
- 4) 鮪胃液の pH は鯛、フグ、ベラ等の様な小型魚の胃液の夫と同じく中性乃至微アルカリ (pH 6.8~7.3) である。

文 献

- 1) 大谷武夫・富士川 溍：1937. 魚類の化学, 492.
- 2) 藤井 実・富田輝雄・江良至徳：1952. 水産講習所研究報告 2, 58~62.