食品中のフォスファターゼに関する研究 (第 2 報)

Studies on Phosphatases in Foods (Part 2)

魚 肉 中 の フォ ス フ ァ タ ー ゼ の 性 質

Properties of phosphatases in fish meat

(昭和 40 年 2 月 9 日 受 理)

戸 田 準 中 谷 弘 実
(Jun Toda) (Hiromi Nakatani)

石 井 清 文 藤 田 栄 一 郎
(Kiyofumi Ishii) (Eiichiro Fujita)

Following the preceding paper, studies were carried out on the properties of phosphatases in the water-soluble fraction of fish meat.

In the water-soluble fraction of fish meat, there are both acid and alkaline phosphatases. The acid phosphatase has similar properties to that of animal meat. The alkaline phosphatase has optimum pH at about 9. The alkaline phosphatase is inhibited by Zn^{++} , but not affected by Mg^{++} , Mn^{++} , Ni^{++} and Co^{++} significantly. This phosphatase acts on 5'-nucleotides, but is less active on 2'(3')-AMP and β -glycerophosphate.

Both acid and alkaline phosphatases are inactivated by heating at 70°C for 5 minutes. The relationship between heating velocity and the degradation of 5'-IMP was discussed.

前報¹⁾において畜肉の水溶性区分に酸性フォスファターゼが存在すること、およびその酵素の二、三の性質について検討した結果を報告した。ひきつづき、魚肉について、畜肉の場合と同様の実験を行なった。魚肉中のフォスファターゼについての研究は少なく、グチ肉のアルカリ性フォスファターゼ²⁾、およびコイ肉のフォスファターゼ³⁾についての報告がみられるにすぎない。本報では主としてカマボコの原料となる自身の魚のフォスファターゼについて、その pH 活性度曲線、金属イオンの影響、熱安定性、基質特異性などを検討し、二、三の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

(1) 実験材料：シログチ、キグチ、コイチ、アカシタ、ササガレイ、ニベを用いた。これらの魚はいずれも大阪中央市場より入手した鮮魚を凍結保存したものである。

(2) 酵素液調製法：前報¹⁾に準じて行なった。

(3) フォスファターゼ活性の測定：前報¹⁾に準じて行なった。

結 果

(1) pH 活性度曲線：シログチ、キグチ、ニベの抽出液について 5'-IMP を基質とした場合の pH 活性度曲線を第 1 図に示す。シログチではアルカリ性フォスファターゼの活性が高く、ニベ、キグチでは酸性、アルカリ性の両方にフォスファターゼが存在する。畜肉の場合には、全体として酸性フォスファターゼの活性が高かったが、魚肉では、酸性フォスファターゼ、アルカリ性フォスファターゼの両者が存在し、前者は至適 pH 5~6 を示し、 Mg^{++} によって活性化される。また後者の至適 pH は 9 前後で、 Mg^{++} (0.01 M) によって阻害される。

(2) 金属イオンおよび EDTA の影響：シログチ、キグチ、ニベについて酸性フォスファターゼおよびアルカリ性フォスファターゼに対する金属イオンの影響を検討し第 1 表のような結果を得た。

酸性フォスファターゼに対しては、 Mg^{++} 、 Mn^{++} 、 Co^{++} 、 Ni^{++} が著しい活性化効果を示すが、アルカリ性フォスファターゼに対するこれらの金属イオンの影響はそれほど顕著ではない。しかし EDTA の、活性におよ

第1表 魚肉フォスファターゼに対する金属イオンおよび EDTA の影響

	シログチ		キグチ		ニベ		アカシタ		ササガレイ	
pH	8.5		5.8		8.5		5.8		9.4	
濃 度 (M)	2×10^{-4} 2×10^{-3}		2×10^{-4} 2×10^{-3}		2×10^{-4} 2×10^{-3}		2×10^{-4} 2×10^{-3}		2×10^{-4} 2×10^{-3}	
Mg ⁺⁺	114	123	136	191	99	123	109	166	111	106
Ca ⁺⁺	95	87	70	87	87	78	94	81	107	97
Ba ⁺⁺	102	93	103	89	98	98	72	91	110	110
Zn ⁺⁺	52	13	87	13	52	8	66	36	45	7
Mn ⁺⁺	126	97	208	154	114	83	172	119	73	70
Ni ⁺⁺	92	95	320	263	90	94	341	225	102	83
Co ⁺⁺	129	128	479	370	112	126	534	377	96	91
EDTA	94	13	129	62	112	0	89	56	117	11
—	100									

基質, 5'-IMP, 10^{-2} M

添加物を加えない場合の活性を 100 として相対値で示した。

第1図 魚肉フォスファターゼに対する pH の影響

はす影響をみると、酸性フォスファターゼよりも、むしろアルカリ性フォスファターゼに対する阻害効果が大い。Zn⁺⁺ は両者をともに阻害する。

(3) 基質特異性：シログチ、キグチ、コイチ、ニベ、アカシタ、ササガレイについて各フォスファターゼの基質特異性をしらべ第2表のような結果を得た。酸性フォスファターゼは、いずれも 5'-IMP, 5'-GMP, 5'-AMP, 2'(3')-AMP, β-グリセロリン酸に対して、ほぼ同

程度の活性を示すが、アルカリ性フォスファターゼはアカシタの例を除くと、5'-ヌクレオチドに対する活性にくらべて 2'(3')-AMP, β-グリセロリン酸に対する活性がきわめて低い。

第2表 魚肉フォスファターゼの基質特異性

	シログチ	キグチ	コイチ	ニベ	アカシタ	ササガレイ
pH	8.5	5.8	8.5	5.8	8.5	5.8
Mg ⁺⁺ (M)	0	10^{-2}	0	10^{-2}	0	10^{-2}
5'-IMP	100	100	100	100	100	100
5'-GMP	59	82	53	87	56	81
5'-AMP	56	45	54	134	63	50
2'(3')-AMP	17	42	8	31	3	8
β GP	6	93	6	71	7	16

基質濃度 10^{-2} M

5'-IMP に対する活性を100として相対値で示した。

(4) 熱安定性：キグチについて、その酸性フォスファターゼとアルカリ性フォスファターゼの熱安定性をしらべ第2図のような結果を得た。すなわち、いずれも 70°C, 5分間の加熱で、ほぼ完全に失活し、Mg⁺⁺ の共存により熱安定性がよくなる傾向は畜肉の場合と同様である。酸性フォスファターゼとアルカリ性フォスファターゼの熱安定性には、顕著な差は見出だせなかった。他の魚のフォスファターゼも 70°C, 5分間の加熱で失活する。

(5) 加熱速度と 5'-IMP 分解量の関係：5'-IMP を食品中で安定に保つには、食品を一度加熱した後に 5'-IMP を添加することが望ましいが、食品によっては加熱後、5'-IMP を加えることが困難な場合がある。このよ

第 2 図 キグチフォスファターゼの熱安定性

第 3 図 加熱速度の 5'-IMP の分解に対する影響 (ニベ)

うな場合には、5'-IMP を添加した後、可及的速かに食品を加熱処理する必要があるが、その加熱速度と 5'-IMP の分解の間に何らかの関係があるものと予想される。そこで酵素液と基質である 5'-IMP を予め混合した後、種々の加熱速度で 70°C まで加熱し、その間の 5'-IMP の分解を検討した。その結果を第 3 図(A)に示す。この結果から、最終温度を酵素失活温度以上にすると 5'-IMP の分解はある一定値に達しそれ以上分解されないこと、しかもそのときの分解量は加熱速度の速いほど少なく加熱速度のおそいほど多いことが明らかになった。すなわち加熱前に食品に加えた 5'-IMP の、酵素による分解を防止するには酵素が失活する温度以上に可及的速かに加熱することが望まれる。第 3 図(A)の結果から加熱速度と 5'-IMP の分解量の関係を求めると第 3 図(B)が得られるが、これから加熱速度の逆数と 5'-IMP の分解量が比例することが判る。

考 察

魚肉の酸性フォスファターゼは基質特異性、金属イオンの影響など畜肉の酸性フォスファターゼと類似した性質を示す。これに対して魚肉のアルカリ性フォスファターゼは、これらの酸性フォスファターゼとはかなり異なった性質を示す。すなわち、魚肉のアルカリ性フォスファターゼは 5'-ヌクレオチドに対する活性が高く、2'

(3')-AMP、 β GP に対する活性は低い。また金属イオンおよび EDTA の効果も興味深い。すなわち魚肉のアルカリ性フォスファターゼは EDTA によって阻害されることから金属イオンが活性発現に関係しているものと推定されるが、Mg²⁺ などの金属イオンを添加しても顕著な活性化を受けない。この事実からアルカリ性フォスファターゼは金属イオンとかなり強固に結合しており純水に対して透析しても取り除くことができないものと考えられる。この金属イオンが何であるかは現在のところ不明であるが、今後の問題として興味を持たれる。

終わりに発表の機会を与えられた工業技術研究所間次郎所長および実験材料入手にご協力下さった食品事業部開発部中井裕司氏に深謝する。

(本報告は昭和 39 年 11 月 21 日第 3 回日本栄養・食糧学会近畿支部研究発表会において発表した。)

文 献

- 1) 戸田準, 中谷弘実, 石井清文, 藤田栄一郎: 栄養と食糧, 18, 60 (1965)
- 2) 小原正美, 小杉直輝, 青山武: 日本農芸化学会昭和 39 年度大会講演要旨集, p. 164 (札幌)
- 3) 山本喜男, 門脇蓉子, 橋本慶子, 遠藤金次: 第 16 回日本家政学会総会発表 (東京, 1964)

(武田薬品工業株式会社)