蛤アノイリナーゼの調理科学的研究

Influence of cooking on cham aneurinase

(主として食塩の影響)

(Effect of NaCl)

(昭和30年6月13日受理)

小川 政 福 梅 村 和 子 江 原 史 子
(Masayoshi Ogawa) (Kazuko Umemura) (Nobuko Ehara)

I 緒 言

藤田氏¹⁾等はハマグリ、アサリ、シジミ等の貝類を始め、ワラビ等のビタミンB₁含有量を測定し、之等のものにはB₁は証明せられず、且添加したB₁をも消失してう所から、B₁分解酵素の存在を報告しアノイリナーゼと命名した。本酵素の性状について藤田氏等^{2,3)}によれば、芳香族アミノ化合物、異項環状化合物は著るしくアノイリナーゼの作用を促進し、又SH化合物によつても促進される事を示している。

私共が日常の食物として摂取する貝類、魚類、した類の中には相当にアノイリナーゼを含有するものがあり、調理との関係も浅くはないと思われる。依て本報では調理に関して重要な要素である食塩等が蛤アノイリナーゼに如何なる影響を及すかを観察した結果を記載する次第である。

II 実験方法

1) アノイリナーゼ試料の調製 新鮮な蛤の筋肉部を切除し、内臓部を採り、之に醋酸、醋酸曹達緩液(pH 5.6)の10倍量を加え、直ちにホモゲナイザー(2万回転1分間)に附し、上澄部を採り遠沈して常に新に調製した。本報記載の実験は12, 1, 2の3カ月間に亘つて施行したものである。

2) ビタミンB₁の測定 B₁の測定はバームチット法⁴⁾によつた。バームチット(ビタミン学会B₁定量用)のイオン交換反応によりB₁を吸着し、水洗によりB₁以外の言螢光物質を除去し、B₁をKCl-HCl溶液で溶出後、アルカリ性赤血塩にて酸化しチオクロームに代え、ブタノール層に移し、紫外線照射によりて発する碧青色の螢光の強さによりB₁を測定する。

III 実験結果

1) アノイリナーゼに及ぼす食塩の影響 本項に於て

るは食塩の存在が蛤アノイリナーゼに対して如何に影響すかを観察した。即ち10ccの試験管に粗アノイリナーゼとして蛤内臓の10倍浸出液、各濃度の食塩溶液各々1cc宛を容れて混合し55°Cの恒温槽中に予め5分間、或は20分間置きたる後B₁(10γを含む)溶液1ccを添加、以後55°Cに40分間継続作用せしめたるものに就きB₁の残存量を測定し次の第1表の如き結果を得た。

第1表 アノイリナーゼに及ぼす食塩の影響

NaCl 終濃度 (Mol)	予作用 時 間 (分)	B ₁ 添 加 量 (γ)	B ₁ 残 存 量 (γ)	臓器 0.1g が 分解 した B ₁ 量 (γ)
10 ⁻²	5	10	0	10γ 以上
10 ⁻³	5	10	0	10γ 以上
0.2	20	10	5.6	4.4
10 ⁻³	20	10	2.6	7.4
蒸溜水(対照)	20	100	21.9	78.1

上記第1表に示した様に酵素液に食塩溶液を添加せずして代りに蒸溜水を添加した対照に於てはB₁の分解は著明で又、食塩添加後、予め5分間作用したものに於てもB₁の全部が分解消失したが20分間作用せしむる時は食塩終濃度0.2乃至10⁻³Mに於てアノイリナーゼは著るしく阻害せられ、此際食塩濃度の高いもの程影響は著るしい。依て次に酵素浸出1cc液に食塩溶液を添加し予め55°Cに於て20分間作用せしめた後B₁(10γ)溶液1cc宛を添加して食塩終濃度10⁻³Mの下に10乃至120分間継続作用したる結果は次の第2表の如くであつた。

第2表 (NaCl 終濃度 10⁻³M)
(B₁10γを含む溶液1cc)

作用時間(分)	B ₁ 発見量(γ)	臓器 0.1g が 分解 した B ₁ 量 (γ)
10	7.7	2.2
30	3.6	6.4
60	3.0	7.0
120	2.3	7.7

食塩によるアノイリナーゼの B_1 分解の阻害は作用後 30 分以後は大体平衡に達する様であるが、次に之に GSH 及び Cysteine-HCl を添加しその影響を観察した。即ち酵素溶液 1cc に食塩溶液 1cc を添加し、55°C 恒温槽中に予め 20 分間作用後 GSH 又は Cysteine-HCl 水溶液 1cc 宛を添加後 継続して 55°C に 20 分間作用せしめ B_1 溶液 1cc (100 γ) を添加後 40 分間継続作用せしめた。この際食塩、GSH、Cysteine 等の終濃度は何れも 10^{-3} M である。(第 3 表)

第 3 表 NaCl のアノイリナーゼ作用抑制に及ぼす GSH、Cysteine の影響

添加賦活 剤終濃度	NaCl 終濃度	B_1 残存量 (γ)	臓器 0.1g が分 解した B_1 量(γ)
GSH 10^{-3} M	10^{-3} M	30.8	69.2
Cysteine 10^{-3} M	10^{-3}	34.5	65.5
0 (蒸溜水)	10^{-3}	52.3	47.4
0 (蒸溜水)	0 (蒸溜水)	29.7	70.3

上表に示す様に食塩の存在により抑制せられたアノイリナーゼの作用は GSH 又は Cysteine の存在に於ては再び恢復した。依て SH^{30} 阻害剤であるモノ沃度醋酸や亜砒酸曹達等の及ぼす影響を観察せんがため、上記酵素液 1cc に、それぞれ 1cc ずつのモノ沃度醋酸又は亜砒酸曹達溶液 (4×10^{-3} M) を加え 55°C に 20 分間置き、次に GSH 又 Cysteine 溶液 1cc ずつを加え 20 分間後に B_1 溶液 1cc (100 γ B_1 を含む) を添加後継続して 40 分間作用せしめた。(第 4 表)

第 4 表 SH 阻害剤のアノイリナーゼ作用抑制に及ぼす GSH、Systeine の影響

阻 害 剤 (終濃度 10^{-3} M)	賦 活 剤 (終濃度 10^{-3} M)	残存 B_1 量 (γ)	臓器 0.1g が分 解した B_1 量 (γ)
CH_2ICOOH	0	44.4	55.6
$NaAsO_2$	0	47.6	52.4
CH_2ICOOH	GSH	32.8	67.2
CH_2ICOOH	Cysteine-HCl	41.9	58.1
$NaAsO_2$	GSH	19.1	80.1
$NaAsO_2$	Cysteine-HCl	36.6	63.4
0	0	23.8	76.2
0	0	21.9	78.1

之によつてモノ沃度醋酸又は亜砒酸曹達等によつても本条件の許ではアノイリナーゼ作用が阻害せられ GSH 又は Cysteine の添加により恢復せられる事が判るが之等が食塩の場合に比して特に著明な影響を変えんとは考えられない。

2) その他の無機塩類が及ぼす影響 前項に於て食塩の存在によつてアノイリナーゼの作用が抑制せられる事

を示したが、本項では主として Na^+ 及び Cl^- を含む之等と類似した無機塩類、例えば Cl , Br , I の如きハロゲン化合物、 Na , K , Li の如きアルカリ金属塩その他が蛤アノイリナーゼに及ぼす影響を観察した。

前述の如く蛤内臓の酢酸、酢酸曹達緩衝液(pH 5.6)による 10 倍浸出液の 1cc に、各塩類溶液 1cc 宛を加え、予め 55°C 恒温槽中に 20 分間作用せしめた後 B_1 溶液 (10 γ を含む) 1cc ずつを添加後、継続して 40 分間作用せしめて残存 B_1 を測定した。但し之等の添加塩類の終濃度は何れも 0.2M である。(第 5 表)

第 5 表 アノイリナーゼに及ぼす無機塩類の影響

添加塩類	残存 B_1 量 (α)	臓器 0.1g が分 解した B_1 量(γ)	比 率
Na_2SO_4	8.0	2.0	100
$NaCl$	5.6	4.4	227
$NaBr$	5.5	4.5	229
$NaNO_3$	4.5	5.5	283
NaI	3.6	6.4	324
$KSCN$	3.6	6.4	324
$LiCl$	6.4	3.6	184
NaF	3.2	6.8	345
KCl	2.4	7.6	384
$MgCl_2$	7.6	2.4	121
Na_2HPO_4	5.6	4.4	227
$NaAsO_2$	4.5	5.5	280

之を観ると塩類添加によるアノイリナーゼの阻害の傾向は大体、陰イオンに関しては $SO_4^- \rightarrow Cl^- \rightarrow Br^- \rightarrow NO_3^- \rightarrow I^- \rightarrow CNS^-$ 、又陽イオンに関しては $Li^+ \rightarrow Na^+ \rightarrow K^+$ の順序に従つてそれぞれ添加 B_1 の残存率が高い。この事は、これ等の塩類イオンがアノイリナーゼの蛋白部即ちアポ酵素を阻害する事を推測せしめる。

3) 簡単な調理操作が蛤アノイリナーゼに及ぼす影響

本項に於ては実際の調理操作に於てアノイリナーゼが B_1 の分解に及ぼす影響を観察するため、次の様な 3 項目の簡単な基本的操作を行つた。

1) a) 新鮮な蛤の貝殻を除去し、可食部分を採り、その 10g を B_1 50 γ を含む 1% 食塩溶液 (約 0.2M で實際上の味付けの場合の濃度に匹敵する) の 100 cc 中に容れビーカー中にて除々に加熱し 60 分間にて沸騰するに至らしめ、その間次表の如く溶液を採取して B_1 残量を定量する。

b) 上述の場合食塩を含まざる B_1 溶存蒸溜水にて同様に操作し残存 B_1 量を定量する。

第 6 表に示す様に、食塩水、及び水溶液中では何れも実験の初期に B_1 の 70% 前後が分解する事が判るがそれ以後に於ては食塩溶液の方が水に比し B_1 の分解が抑制せられる様で、食塩溶液に於ては 30 分間後水温 60°C

第6表 食塩水又は水にて蛤を加熱した時の B_1 残存量 (B_1 添加量 50 γ)

溶液の種類	加熱時間 (分)	試料採取時 温度 ($^{\circ}\text{C}$)	B_1 発見量 (γ)	10gの蛤が分 解した B_1 量
食塩溶液	直後	15(水温)	13.3	36.7
同上	其後約10	約30	11.1	38.9
同上	" 約30	" 60	7.3	42.7
同上	" 約60	" 100	0	50以上
蒸溜水	直後	15(水温)	16.7	33.3
同上	其後約10	約30	0	50以上

でも B_1 の約15%が残存し、加熱60分間後100 $^{\circ}\text{C}$ 附近に至つて凡ての B_1 が消失したが水溶液では10分間経過後30 $^{\circ}\text{C}$ に達する頃には B_1 は全部消失して了つた。

2) 本項では少量の新鮮な蛤を使用して次の a) b) c) の調理を施行した。而してこれ等の場合何れも加熱時間数は1分30秒に限定した。

a) 焼いた場合 貝殻を除去し可食部を瓦斯直火で金網上にて焼く。但し片面を45秒焼き裏返えて45秒焼く。

b) いためた場合 小型フライパンを加熱し貝と等量のバターを溶かした中に殻を除いた蛤を容れ箸にて攪拌しつつ1分30秒いためた。

c) 殻附のまま直火にて片面各々45秒間金網上に蒸し焼きした。但し操作中殻が開くと内容が浸出するので両殻の基部をナイフにて切断し加熱中殻の開くのを防いだ。

以上3種のものに就きそれぞれ秤量後、そのまま(筋肉及び内臓を分離しないで)、醋酸、醋酸曹達緩衝液(pH 5.6)の10倍容を加え、ホモゲナイザーに附し遠心沈殿後上澄液を濾過し、濾液1ccを採り、 B_1 (100 γ を含む)1ccを加え、55 $^{\circ}\text{C}$ に40分間作用後 B_1 の残存量を測定した。(第7表)

第7表 調理とアノイリナーゼ(添加 B_1 100 γ)

調理の方法	B_1 残存量	0.1gの蛤が分解 した B_1 量 (γ)	比 率
焼いたもの	6.66	33.4	45.1
いためたもの	37.5	62.5	85.1
殻付にて蒸し焼	27.8	72.2	97.6
生のまま	26.0	74.0	100.

以上の結果では焼いたものが最も残存 B_1 量が多くアノイリナーゼは破壊せられるが、いためたもの之に次ぎ、殻付のまま蒸し焼きしたものは殆ど生のものに近い程度のアノイリナーゼを残存する。

3) 酢酸及び醤油が及ぼす影響 通常調味料として酢及び醤油が用いられるのでそれ等のアノイリナーゼに及ぼす影響を観察した。西洋酢の酢酸濃度は通常5~7%附

近にある故、酵素作用時の濃度が7%となる様に水酢酸を稀釈して使用した。又醤油の食塩濃度は約15%附近にあり、調味に際しては適宜之を稀釈又はそのまま、使用する故、本実験の場合、蒸溜水にて之を次の第8表の様に稀釈した。即ち既に行つた様に蛤内臓の10倍浸出酵素液を作りその1ccに酢酸又は醤油の1cc宛を添加し55 $^{\circ}\text{C}$ に20分間作用後、 B_1 溶液1ccを添加し更に40分間継続作用後 B_1 の残存量を測定した。(第8表)

第8表 酢酸溶液及び醤油が及ぼす影響

調味料及終濃度	B_1 添加量 (γ)	B_1 残存量 (γ)	0.1gの蛤が分解 した B_1 量 (γ)
醤油 30倍稀釈	10	2.9	7.1
" 6 "	10	3.7	6.3
" 3 "	10	5.9	4.1
酢 7 %	10	0	10 γ 以上
" 7 %	100	35.7	64.3
酵素液のみ(対照)	100	25.0	75.0

上表に示す様に醤油を添加したものはアノイリナーゼによる B_1 の分解は可成り抑制せられ、醤油の濃度が大きくなる程抑制の程度も増大する。これは醤油中の食塩がアノイリナーゼ作用を抑制するためであろう。又酢酸の場合に於ては酵素液のみの対照に比しわずかに残存 B_1 量が多いが著明ではない様に思われる。

IV 総 括

蛤アノイリナーゼの B_1 分解作用に及ぼす食塩の影響を観察し次の様な結果を得た。

1) 蛤の粗アノイリナーゼ液に予め食塩を作用せしめて置くと、 B_1 分解作用は抑制せられるが、この時間が55 $^{\circ}\text{C}$ で20分間以上の際に抑制は特に著しい。

2) モノ沃度醋酸、亜硫酸曹達が蛤アノイリナーゼに及ぼす影響は食塩の場合に比し特異的であるとは思えない。

3) 之等の抑制作用は Cysteine, GSH の添加によつて恢復するようにも思われる。

4) ハロゲン化合物、アルカリ金属その他の存在は、蛤アノイリナーゼの作用に影響を与えるが、之等の塩類はアノイリナーゼの補酵素部ではなく、アポ酵素即ち蛋白部に影響を変えるのではないかとされた。

5) 簡単な調理操作が蛤アノイリナーゼに及ぼす影響を観察した。それによれば、蛤を焼いた場合に最もアノイリナーゼ作用は破壊損失せられ、いためたもの之に次ぎ、殻付きのまま蒸し焼きしたものは殆ど生のものに匹敵する程度にアノイリナーゼを保有していた。又、煮た場合に於ても食塩の存在するものの方が然らざるものに比しアノイリナーゼ作用は抑制せられる傾向を示し B_1

の残存量も多い。

6) 調味料の中で醤油の添加によりアノイリナーゼによるの B₁ 分解は抑制せられるが、食酢の場合は殆んど認べき抑制作用はない様に思われた。

本実験を施行するに当り名古屋大学教授堀田一雄先生の御助言を得た事に対し深謝する。

参 考 文 献

- 1) 藤田・他：生化学，17，156 (1943)
- 2) " ビタミン，7，1 (1954)
- 3) " J. Biol. Chem., 196，289 (1952)
- 4) 東大農化編：実験農芸化学(上) 昭和 27 年)
- 5) 藤田・他：生化学，22，206 (1950)

(相山女子大家政科学部)

幼 児 の 食 餌

イギリスの 10 地方に居住する生後 6~12 カ月，1，2，3，4 才の各幼児合計 461 名を Cray & Corlett (1950) の方法により被験者として選定し，1951 年 4 月に幼児の食物消費量，カロリーと各栄養素の摂取量を 1 週間に亘つて調査し，又調査期間中に幼児の社会的特性とカロリー及び栄養素の摂取状態との関係を知ろうとして，父親の収入，職業，家族数，母親が労働に従事しているか否か，福祉センターへの出席頻度等に就いての報告をあわせ集めた。

食物消費量は可成り大きな個人差があるが，ミルク，砂糖，野菜，スープ，肉汁を除いた全食物の 1 週間平均消費量は，年齢の増すに従つて多くなつた。ミルク消費量は，1 才未満の 91 oz. から 4 才の 77 oz. と減少している。

カロリーの 1 日平均摂取量は，1 才未満の 1080 Cal. から 4 才の 1730 Cal. と年齢と共に増加し，男子は女子より 1 日平均 130 Cal. 多く摂取している。1 才及びそれ未満の幼児ではミルクが最大のカロリー源であり，全カロリーの 33% をしめているが，年長幼児ではパン，ケーキ，ビスケットが全カロリーの 28~32% を供給し最大給源となつた。

動物性蛋白質の 1 日平均摂取量は，全年齢を通して殆んど差がなく 25~28g であるが，植物性蛋白質は，1 才未満の 10g から 4 才の 23g と増加した。脂肪は 1 才未満

の 46g から 4 才の 76g，炭水化物 131~214g，鉄 6.7~9.0mg，ビタミン A 2160~2380 単位，ビタミン B₁ 0.58~0.77mg，ニコチン酸 2.7~6.6mg，ビタミン C 14~28mg と年齢の増加と共に多くなるが，ビタミン B₂ は年齢によつて変化せず約 1.0mg であり，カルシウムは，1 才未満の約 1g から 4 才の約 0.75g と減少している。

一般に，大家族中か，母親が仕事に従事しているところの男子，又低収入家族中の男子は平均よりもカロリー及び各栄養素の摂取量が大となる傾向にあるが，女子，一人児，或いは母親が仕事に従事していないところの幼児は，殆んど各栄養素の摂取量が平均よりも低い傾向を示した。

1 才未満乃至 4 才までの各幼児のカロリー，鉄，ビタミン A (補足値を含む)，ビタミン B₁，B₂，C (補足値を除く) の摂取量は，平均して British Medical Association で推薦した数値を超過していた。2~4 才の蛋白質摂取量は標準値より 9~18% 低く，1~4 才のカルシウム摂取量は約 25%，1 才未満及び 1 才のニコチン酸摂取量は，各々約 15%，約 5% 標準より低下していた。

(佐藤民雄)

The Diets of Young Children

By E. R. BRANSBY and J. E. FOTHERGILL

Brit. J. Nutr., 8, (3) 192~204 (1954)