結晶性カタラーゼに關する研究 (第 7 報) 再び結晶分離法の改良に就て

白 川 正 治 (九州大學農藝化學教室)

(昭和 24 年 9 月 29 日 受 理)

Studies on the Crystalline Catalase. Part VII. On Further Improvement of Method of Isolation of Crystalline Beef Liver Catalase.

By Masaharu SHIRAKAWA

(Laboratory of Agricultural Chemistry, Kyushu University)

カタラーゼは大部分組織細胞に結合したデスモ酵素である。従つてカタラーゼの抽出に際して新鮮な肝臓粥を水で直ちに浸出するのは合理的でなく、適度の自己消化によつてその收量を増加する事が豫想される。併し從來一般に用いられているカタラーゼの結晶分離法⁽¹⁾⁽²⁾では殆ど考慮されていない。嘗て著者も試みたのであるが、自己消化により結晶生成を阻害する物質を生ずるためか成功しなかつた。

新鮮な牛肝臓を粥狀にして等量の水を加え少量のトルオールが存在で 25° で放置すると、時間の経過と共に可溶性アミノ窒素及び酸度が増加する。浸出性カタラーゼの量は始め漸次増加するが、20 時間前後で極大値を示し、以後次第に減少する。20 時間自己消化せしめた場合の浸出性カタラーゼ量の増加は約 40% に達し、浸出液の pH は 5.0、アミノ窒素は全窒素の約 20% となつている。此の浸出液の 1 cc 當りの作用力は 35.6 Kat. f. は 390 であつた。純粋なカタラーゼの Kat. f. を 32,000 とすれば、此の浸出液中の絶對的なカタラーゼ含量は 0.11% となり、牛肝臓 1 kg 中に少くとも 1.1 g のカタラーゼが含有されることになる。著者等の從來の實驗例では牛肝臓 1 kg から再結精製したカタラーゼが約 0.1~0.15 g (乾燥物として) しか得られていない。

自己消化法によつて得られた浸出液は從來のものと異り、薄層では赤褐色透明である。これを前報⁽²⁾の方法で處理しても結晶性カタラーゼは殆ど得られない (僅少の結晶を生ずることがある)。併し pH の調節、グリコーゲンの分解、鹽析濃度の加減等の操作を適當に施すことにより可成り好結果が得られる。現在のところ收量は牛肝臓 1 kg から約 0.15 g 程度であつて、從來の方法と大差ないが、膠狀浮遊物の分解によつて操作が遙かに容易となる。尙詳細に検討すれば收量を更に増加せしめることも可能であると思われる。

實 驗

(1) 自己消化による浸出性カタラーゼ量の変化：新鮮な牛肝臓を肉挽を 3 回通して粥狀にし、同量の水と少量のトルオール (水に對し 0.5%) を加えてよく攪拌し 25° で放置し、數時間毎にその一部を採り、遠心分離して上澄液に就き pH、アミノ窒素及びカタラーゼ作用を測定した。pH はキンヒドロン電極法、アミノ窒素は VAN SLYKE 法、カタラーゼ作用は檢壓法で測定した。檢壓法には WARBURG-BARCROFT の裝置を用い、次の如き反應系を採用した。

M	
15 磷酸緩衝液 (pH 6.8)	3.00 cc
0.10 M-H ₂ O ₂	0.50 cc
酸素液 (1:2,500)	0.10 cc

30°, 3 min.

作用力は 30°, 30 min. で發生する O₂ の cmm. で示した。對照としては煮沸變性せしめた酵素液を用い、全く同様に操作した。尙 Kat. f. の測定は從來の KMnO₄ 法に従つた。測定結果を次表に示した。

Time of Autolysis hrs.	pH	α-Amino-N		cmm O ₂ /3 min.
		mg/cc	"	
0	6.45	1.09	7.5	92
6	6.40	1.24	8.5	98
12	6.02	1.75	12.0	119
18	5.53	2.30	15.7	127
24	5.29	3.06	21.0	128
48	5.00	4.99	34.0	96

Total N=14.6 mg/cc

(2) 結晶性カタラーゼの分離：新鮮な牛肝臓を前述のように處理して 20 時間 25° に保ち遠心分離する。上澄液 (Kat.

f. 390) に 0.8 容のアセトンで冷却攪拌しながら徐々に注下し生ずる沈澱を分離し、0.25 容 (始めの抽出液に對し) の水に溶解物を除去する。溶液を更に 0.8 容のアセトンで處理し、沈澱を始めの抽出液の約 0.1 容の水

に溶解せしめ、少量の唾液を加えて1夜放置し $\frac{M}{10}$ 磷酸緩衝液 (pH 7.2) を加え pH 6.8 に調節する。次で硫酸を加えて 0.43 飽和となし、遠心分離して得られる沈澱をなるべく少量の水に溶解し、速やかに遠心分離 (3~4 分間) して不溶解物を除去する。數分内にカタラーゼが結晶し始め、1夜氷室に放置すれば完結する。

牛肝粥 1 kg より遠沈 (5,000 R. P. M., 15分) 沈澱物として約 1.9~2.0 g の粗結晶が得られる。4回再結して約 1.4 g の濕結晶が得られる。

終りに臨み種々適切な御助言を頂いた大島康義教授及び實驗の一部に従事された佐々木勝男君に感謝する。尙本研究は文部省科學研究費によるものであることを附記し併せて謝意を表する。

(1) J. B. UMNER, A. L. DOUNCE : *J. Biol. Chem.*, 121, 417 (1937).

(2) 北川松之助, 白川正治 : 日農化, 22, 115 (1948).

Summary

Changes of the amount of extractive beef liver catalase by autolysis were studied. After 20 hours' autolysis of beef liver at 25°C increases the amount of extractive catalase by about 40 per cent. On this basis, an improved method of isolation of crystalline catalase was described.

アルギン酸に関する研究 (第2報) アカモク・トゲモクを原料とせる アルギン酸の精製法及び其の應用に就て

富安行雄, 原 毅, 三宅正人 (九州大學水産化學教室)

昭和24年9月12日受理

Studies on Alginic Acid.

Part II. On the Purification and the Utilization of Alginic Acid prepared from *Sargassum Horneri* (TURN.) AG. and *Sargassum micracanthum* YENDO.

By Y. TOMIYASU, T. HARA and M. MIYAKE.

(Dept. of Fisheries Chem., Faculty of Agr., Kyushu Univ.)

緒言 アルギン酸の精製法に就ては下記の諸氏の報告がある。即ち, HOAGLAND & LIEB⁽¹⁾ は透析法により, 厚木・友田⁽²⁾ は溶解, 沈澱の反覆法により, SCHMIDT & VOCKE⁽³⁾ は二酸化鹽素を用い, 越智・高橋⁽⁴⁾ は鹽素法, NELSON & CRETCHER⁽⁵⁾ は鹽酸後處理法, 大島⁽⁶⁾ は新パルプ濾過法, 三宅・林⁽⁷⁾ は硫酸銅及び骨炭法によつて精製を試み, それぞれ成績を報告している。

著者等はパルプ濾過反覆法, 硫酸銅處理法, 鹽素精製法, 鹽基性醋酸鉛處理法, 鹽酸後處理法, 三鹽化醋酸處理法をそれぞれ同一原料に就いて實施し製品の收量, 比粘度, 全窒素, 灰分等を比較検討した結果, 鹽酸後處理法が最も簡單で且つ良好である事を認めた。

又アルギン酸の應用に就ては古く STANFORD⁽⁸⁾, TRESSLER⁽⁹⁾ の記載があるが, 最近高橋⁽¹⁰⁾ によつて詳細に紹介された。著者等も新しい用途を見出すべく研究した結果, 美術模様の塗料, 曇硝子用塗料, 家具用塗料として利用し得る事を認めた。

實 驗 の 部

A. アルギン酸の精製法

1% 鹽酸に浸漬して水洗風乾したトゲモクを 20 g 秤取して 1% 炭酸ソーダ溶液 1 L にトルオール 5 cc を加えたものに浸漬して時々攪拌しながら 7 日間室温に置いた後, 浸出液を木綿袋で濾過して, 更に水及び少量の炭酸ソーダ溶液で十分に洗滌した濾紙パルプを厚く敷いた濾過瓶で濾過した液に就いて, 下記のような方法を実施した。