魚類内臓酵素の利用に関する研究 (第 1 報) 各種魚類内臓の酵素力に就て

佐々木林治郎, 小田切 敏 (東京大學農學部農藝化學教室)

昭和 25 年 7 月 31 日 受理

Studies on the Utilization of Enzymes in the Internal Organs of Fish.

Part 1. On the Enzyme Activity of Internal Organs.

By R. SASAKI and S. ODAGIRI. (Depart., Chem. Agr., Faculty of Agr., University of Tokyo)

緒 言 水産物の加工工場に於ては、その製造工程中に排出される廃棄物は夥しい量である。それらの廃棄物の利用の中、本研究に於いては、魚の内臓の問題を取り上げ、内臓に含まれている消化酵素の消化力を試験し、且つその酵素を分離して、醫藥或は食品加工の消化劑に利用しようとしたのである。研究の段階として、最初に各種の魚類についてその内臓浸出液を作り、その澱粉、脂肪、蛋白に對する消化力を測定し、これをパンクレアチン製劑と比較した。次にこの酵素を適當な吸着劑に吸着させて分別し、乾燥して保存し得る形にするための諸種の實驗を行った。

實 驗 の 部

魚の内臓を取り出し磨碎して酵素を浸出し一定温度、一定時間に於ける酵素の基質に對する分解力を實驗した。基質の恒數

カゼイン溶液……カゼイン 2 g を稀アルカリに溶解して 100 cc に稀釋した溶液 2 cc を使用した。2 cc 中の窒素はケルダール法により分解蒸溜して 5.2 mg の値を得た。

オリウグ油……粗製オリウグ油をアルカリ精製して使用した。酸價=0, 鹼化價=190.5

内臓酵素浸出液の調製

魚の内臓を胃部と、脾臓、幽門垂、腸、肝臓部の 2 部に分ち、前者には 3 倍量の 3% HCl を加えて乳鉢で加砂磨碎して浸出した後、遠心分離して上澄液を得、これについてペプシン様酵素の消化力を試験した。後者には 3 倍量のグリセリンを加えて同様の處理をして得た上澄液より、アミラーゼ、リパーゼ、トリプシン様の酵素の消化力を試験した。

消化力檢定方法

ペプシン様酵素……カゼイン 2% 溶液 2 cc, 酵素浸出液 1 cc に 0.25 N HCl 2 cc を加えて pH=2 として試験管にとり、40° の湯浴に 2 時間消化した後、その中の 1 cc を採つて、VAN SLYKE 法によりアミノ態窒素の増加を定量し、全窒素に對する % を以て消化率とした。

トリプシン様酵素……カゼイン 2% 溶液 2 cc, 酵素浸出液 1 cc, McILVAIN 緩衝液 (pH=8.0) を 2 cc 加えて、40°C に 2 時間消化した後、1 cc を採つて VAN SLYKE 法によりアミノ態窒素の増加を定量し、全窒素に對する % を以て消化率とした。

リパーゼ様酵素……オリウグ油 0.5 g, 酵素浸出液 2 cc に乳化劑として CaCl₂ 2% 溶液 0.5 cc, アルブミン 3% 溶液 0.5 cc を加え、これに NH₄Cl·NH₄OH 緩衝液 (pH=8.9) 2 cc を加えて、40°C, 5 時間消化した後、アルコール 20 cc 及びエーテル 10 cc に溶解して、0.5 N アルコール性 KOH 溶液で滴定し、脂肪酸の増加量を定量して、鹼化價に對する % を以て消化率とした。

アミラーゼ様酵素……可溶性澱粉 0.1% 溶液 5 cc に McILVAIN 緩衝液 (pH=6.8) 1 cc を加えた試験管 10 本を作り、これに酵素浸出液 1 cc, 0.5 cc, 0.25 cc, ……倍數稀釋……0.004 cc, 0.002 cc を夫々加えて 40° に 1 時間消化した後、沃度反應により、青色から紫色に變色した位置の酵素液の cc 數で消化力を表わした。

以下各種の魚についての實驗結果を掲げる。

Table 1. Enzyme Activities in Mackerel (Autumn)

Enzyme	Substrate	Enzyme soln. cc	pH	Digest. ratio %
Amylase	Starch soln. 5 cc	0.008	6.8	—
Lypase	Olive oil 0.5 g	2	8.9	13.2
Pepsin	Casein 2 cc	1	2.0	13.5
Trypsin	// "	1	8.0	49.8

Table 2. Enzyme Activities in Cuttle fish.

Enzyme	Enzyme soln.	Reaction time	Digest. ratio	Enzyme	Enzyme soln.	Reaction time	Digest. ratio
Amylase	C* 0.016 cc	1 hr.	—	Lypase	B 1.0 cc	10 hr.	14.2%
Pepsin	A* 1.0	2	7.0%	"	" "	24	15.7
Trypsin	B* 1.0	2	22.9	"	" 0.1	5	10.3
"	C 1.0	2	17.2	"	" 0.5	10	11.8
Lypase	B 1.0	1	10.3	"	" 2.0	10	14.7
"	" "	3	11.8	"	C 1.0	5	11.8
"	" "	5	12.7	"	" "	10	11.8
"	" "	6	12.7	"	" 2.0	10	13.3

* A....Extracted solution of stomach.

B....Extracted solution of pancreas.

C....Extracted solution of liver and intestine.

Table 3. Enzyme Activities in Sardine. (Influence of NaCl)

Enzyme	pH	NaCl	Reaction time	Digest. ratio	Enzyme	pH	NaCl	Reaction time	Digest. ratio
Lypase	8.9	0%	5 hr.	13.3%	Trypsin	8.0	2%	2 hr.	42.1%
Pepsin	2.0	0	2	14.1	"	"	5	"	36.8
Trypsin	7.0	0	2	43.8	"	"	10	"	33.4
"	8.0	0	"	45.6	"	"	20	"	19.5
"	"	0	24	64.8					

Table 4. Enzyme Activities in Herring. (Cold storage)

Enzyme	NaCl	Reaction time	Digest. ratio	Enzyme	NaCl	Reaction time	Digest. ratio
Lypase	0%	5 hr.	4.4%	Trypsin	1%	2 hr.	21.5%
Pepsin	0	2	8.1	"	2	"	16.1
Trypsin	0	2	23.7	"	5	"	16.1

Table 5. Enzyme Activities in Mackerel. (Spring)

Enzyme	Substrate	Enzyme soln.	pH	Reaction time	Digest. ratio
Amylase	Starch soln. 5 cc	0.008 cc	6.8	1 hr.	—
Lypase	Olive oil 0.5 g	2	8.9	5	14.7%
Pepsin	Casein soln. 2 cc	1	2.0	2	11.8
Trypsin	" "	1	8.0	2	44.5

Table 6. Enzyme Activities in Yellow-tail. (Influence of pH)

Enzyme	pH	Digest. ratio	Enzyme	pH	Digest. ratio
Lypase	8.9	5.9%	Trypsin	7.6	23.5%
Pepsin	2.0	7.5	"	7.8	31.0
Trypsin	7.2	20.4	"	8.0	35.6
"	7.4	22.5			

Table 7. Enzyme Activities in Mackerel. (Summer)

Enzyme	Reaction time	Digest. ratio	Enzyme	Reaction time	Digest. ratio
Lypase	4 hr.	11.8%	Pepsin	3 hr.	16.3%
"	6	11.8	Trypsin	0.5	39.8
"	24	13.3	"	1	42.6
Pepsin	0.5	11.0	"	2	44.9
"	1	14.1	"	3	45.9
"	2	14.7	"	22	49.1

Table 8. Enzyme Activities in Bonito. (Influence of pH on trypsin)

pH	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0
Digest. ratio %	25.5	26.0	24.9	24.8	29.6	35.3	34.3	34.8	36.8	38.4	38.5

第8表の鰹の實驗ではトリプシン様酵素の作用と pH の関係を見たが、その消化力は pH が 2~4 と 8 の 2 ケ所に於いて高さを示している。これは、酵素浸出液が種々のプロテアーゼを含んでいるためであるか、又は一つのトリプシンにこの様な性質があるのかは、未だ検討してないが、前に BODANSKY^{1), 2), 3)}, SAVIANO⁴⁾, 石田⁵⁾

氏等によつて報告されていることと同様のことを示している。

比較としてパンクレアチン製剤の酵素力を検定したが、この試験に供したパンクレアチン製剤は製造後かなり年月の経つたものと認められるものであるが、参考のために実験した結果は第9表の如くである。

Table 9. Enzyme Activities of Pancreatin.

Enzyme	Substrate		Pancreatin	pH	Reaction time	Digest. ratio
Lypase	Olive oil	0.5 g	0.5 g	8.9	5 h	67.9%
Protease	Casein 2% soln.	2 cc	0.1	7.2	2	38.3
"	"	"	"	7.4	"	40.1
"	"	"	"	7.6	"	42.7
"	"	"	"	7.8	"	44.7
"	"	"	"	8.0	"	44.4

各種魚の内臓に就て前記の消化力検定方法に規定してある條件に於ける消化力を比較すると次の如くなる。

Table 10.

Fish	Amylase	Lypase	Pepsin	Trypsin
Mackerel (autumn)	0.016	13.2	13.5	49.8
Cuttle fish	0.016	11.8	7.0	17.2
Sardine	0.016	13.3	14.1	45.5
Herring (cold storage)	0.032	4.4	8.1	23.7
Mackerel (spring)	0.008	14.7	11.8	44.5
Yellow-tail	—	5.9	7.5	35.6
Mackerel (summer)	—	11.8	14.7	44.9
Bonito	—	8.9	9.7	38.5
(Pancreatin)	—	67.9	—	44.4

要 約

各種魚類の内臓についてペプシン、トリプシン、リパーゼ及びアミラーゼ様酵素の酵素力を試験した結果は、鯖、鰹及び鰯の内臓に於いてトリプシン様酵素の消化力が最も強いことを認めた。よつて魚類内臓を酵素原料とする場合は、鯖、鰹又は鰯の内臓がトリプシンの原料として利用価値あるものとする。

(附記) 本研究は文部省科学試験研究費補助によるものである。

- 1) BODANSKY : *Amer. J. Physiol.*, 62, 473 (1922).
- 2) BODANSKY : *Amer. J. Physiol.*, 62, 482 (1922).
- 3) BODANSKY : *Amer. J. Physiol.*, 67, 547 (1923).
- 4) SAVIANO : *Arch. Sci. biol. Napoli.*, 22, 205 (1936).
- 5) 石田壽老 : 動物雑, 47, 694 (1935).

Summary

The activities of pepsin-, trypsin-, lipase- and amylase-like enzymes were examined on various sorts of fishes. It resulted that the internal organs of mackerel, bonito and sardine are the most suitable as raw materials of trypsin among fishes used in these experiments.

魚類内臓酵素の利用に関する研究 (第2報)

魚類内臓よりプロテアーゼの分離に就て

佐々木林治郎, 小田切 敏 (東京大学農学部農薬化学教室)

昭和25年7月11日受理

Studies on the Utilization of Enzymes in the Internal Organs of Fish.

Part 2. On the Separation of Protease from the Internal Organs of Fish.

By R. SASAKI and S. ODAGIRI (Depart., Chem. Agr., Faculty of Agr., University of Tokyo)

魚類内臓酵素の消化力に関して、第1報でアミラーゼ、リパーゼ、プロテアーゼの消化力についての実験結果を報告した。またその利用価値については、プロテアーゼが最も有用であると思われた。そこでこのプロテアー