魚類酵素の耐熱性*

第一報 鹽類の影響について

高 橋 豊 雄

(水産試験場)

The Heat-stability of the Enzyme of the Fish. I
On the Effect of Salt.

T. TAKAHASHI

SYNOPSIS

The discrepancy was observed in the reported optimum temperatures of the enzymes of the fishes and it was seen that the temperature of ambient medium was a factor. On the other hand, it was reported that the optimum temperature varies with the experimental conditions and the same phenomenon was observed on the heat-stability of enzyme which is closely related with the optimum temperature. I prepared the glycerine-extract of pyloric coeca of *Seriola quinqueradiata* and studied the effects of NaCl and Na-phosphate on the heat-stability of the proteolytic enzyme.

From fig. (2~7), it is seen the heat-stability of enzyme is greatest at the certain concentration of salt.

酵素の所謂破壊温度と云ふものは其の至適温度と密接な關係を有し、其の成生因子の重要なものと考へられる。而して魚類酵素の至適温度は魚種により種々異なるものの如く、多くの研究者により種々の温度が報告されてゐる。即ち冷水性なる助宗鱈、鮭、鱒等の如きものの酵素は概して温水性の鰻、鯖、鯰、鰻等の酵素に比して低温に至適温度があるものの如くである¹⁾。然し此の事は此等の結果を報告された各研究者の實驗條件の差異によるものではないかと考へ得られる點も多々あり²⁾、一概に肯定する事は出来ないもののやうである。斯くして破壊温度に於ても此れと全く同様な事が考へられ、事實酵素の耐熱性は酵素の種類によるのみならず、同一酵素に於いても其の純度、濃度及び其の環境條件によつて差異を現すものである。其の鹽類による影響に就いては Ernstström 氏³⁾が ptyalin に食鹽を加へる事により其の耐熱性を増加せしめる事が出来、0.5~0.7% 程度の食鹽を含有する場合特に其の効果が顯著である事を見てゐる。尙又氏は malzamyase に於ては ptyalin に於ける如き食鹽の影響が顯著には見られなかつたと報告してゐる。

私は魚類酵素の耐熱性に對する鹽類の影響を検し、出来得れば其の由つて來たる原因を解明するため研究を進めたいと考へ其の第一歩として鰻幽門垂蛋白分解酵素の耐熱性に對する食鹽の影響につき實驗し、三結果を得たので茲に報告する。

資 料：鰻の幽門垂より附着せる脂肪組織を充分に取り去り、内容物を水洗除去し、細挫し、3 倍量のグリセリンを加へ 15~20°C の室温に約 1 ヶ月放置し、濾過、遠心分離し、固型物、油分を除

去し清澄なる酵素液となし、此れを冷蔵庫中に保存し酵素原液とした。

實驗 I：耐熱性に對する pH の影響

酵素の耐熱性に對する鹽類の影響を検する際に鹽類によつて生ずる pH 價の變化により酵素の耐熱性が變化するはずである。斯くて先づ耐熱性に對する pH の影響を検した。酵素原液を 100 倍に稀釋せるもの 10 cc に種々なる pH 價を有する Sørensen 氏磷酸鹽緩衝液 5 cc を加へ、50°C に 2 時間放置せる後其の 1 cc づつを各々磷酸鹽緩衝液 10 cc、水 4 cc 及び 0.5 % カゼイン液 5 cc を混じたる液（この混液の pH 價は 7.0）に加へ 40°C にて 2 時間消化せしめ、此れに 5 cc の 10 % 三鹽化醋酸を加へ未消化カゼインを沈澱せしめ、濾液中の可溶性窒素量を測定し酵素力を比較した。得た結果は第 1 圖の如くである。

圖に見る如く酵素は pH 6 ~ 6.5 に於て最も耐熱性を表す。酸性側に於ては急激な減少が見られるが、アルカリ性側にては pH 8 程度迄は大なる減少が見られない。

實驗 II：低温に於ける酵素に對する食鹽の影響

酵素の耐熱性に對する食鹽の影響を検する前提として食鹽が低温に於て酵素に對して如何に影響するかを検した。Sørensen 氏磷酸鹽緩衝液 5 cc に種々の濃度の食鹽溶液 8 cc 及び酵素原液を 10 倍に稀釋せるもの 2 cc を混ぜる酵素液をつくり之を 9.5°C に 2 時間放置し、此の後此の酵素液の酵素力を實驗 I と同様に檢し、第 2 圖のやうな結果を得た。

又上記の如き處理を行はない酵素を上記の場合と同様な條件で酵素力を測定した。其の結果は第 3 圖の如くである。

此等の結果は兩者共食鹽濃度の増加と共に酵素力は減少してゐる。而して種々の濃度の食鹽を含有せしめ 9.5°C にて 2 時間放置せる後消化作用を行はしめた場合には斯る處理を行はず消化作用を行はしめた場合に比して食鹽の低濃度にてはやゝ消化作用力が大であるものの如く考へられる。即ち斯る低温にても食鹽は酵素に對して僅少ではあるが影響するものの如く考へられる。

實驗 III：酵素の耐熱性に對する食鹽の影響（磷酸鹽緩衝液を含有する場合）

次に本研究の主目的である酵素の耐熱性に對する食鹽の影響を検した。磷酸鹽緩衝液 5 cc、種々なる濃度の食鹽溶液 8 cc、20 倍に稀釋せる酵素液 2 cc を混合し各々を 50°C に 2 時間放置せる後其の酵素力を試験した。其の結果は第 4 圖の如くである。即ち Ernstrøm 氏の結果と同様な傾向が私の實驗にも認められた。而して Ernstrøm 氏の結果も自分の結果も若しも此の結果の由つてくる原因が食鹽のみによるもので他の影響なしとの證明が得られるまでは其の酵素液中加入した緩衝液の磷酸鹽が共存する事に注意しなければならないと思ふ。Ernstrøm 氏の酵素液は第一磷酸カリが 0.6 % が含有され、私のものには第一磷酸カリと第二磷酸ソーダとが當量づつにて合計 0.3 % 含有されてゐる。此の比較的少量に含有される磷酸鹽の影響が明にされないうちは食鹽が何%含有する場合に酵素の耐熱性が最大になる等といふ事は出来ない。

實驗 IV：酵素の耐熱性に對する食鹽の影響（他種鹽類を含有せざる場合）

次に緩衝液等の如き鹽類溶液を加へず鹽類としては食鹽のみを含有する酵素液の耐熱性を檢した。即ち種々の濃度の食鹽水 13 cc に 10 倍に稀釋せる酵素液 2 cc を混じ之れを 50°C に 2 時間放置し、其の 1 cc につき前同様に酵素力を測定した。其の結果は第 5 圖の如くである。

圖に見る如く他種鹽類の存在せざる場合にも食鹽は酵素の耐熱性に對し實驗 III に於いて認めたと同傾向の結果が得られた。即ち食鹽濃度の増加と共に急激に耐熱性を増大し、2 % 濃度附近にて大約最高となる。約 15 % までは變化せず、其れ以上にての濃度にては逆の影響が認められる。

而して此の結果は酵素の耐熱性に對する食鹽の影響と酵素の消化作用に對する食鹽の影響といふ二つの現象の綜合結果であり更に又含有食鹽の濃度の差異により生ずる pH 價の變化による影響も加へて

考へるべきだと思ふ。

酵素の消化作用に対する食鹽の影響は實驗 III の第 3 圖に見る如く消化反應液の食鹽濃度が 0~1.5% (之は熱處理酵素液の食鹽濃度 0~30% に相當す。) に於いては食鹽の濃度の増加と共に酵素力は

Fig. 1. Relation between pH and heat-stability of enzyme.

Fig. 2. Effect of NaCl on stability of enzyme in buffer sol. (at 50°C)

Fig. 3. Effect of NaCl on heat-stability of enzyme in buffer sol. (at 50°C)

Fig. 4. Effect of NaCl on heat-stability of enzyme in buffer sol. (at 50°C)

Fig. 5. Effect of NaCl on heat-stability of enzyme in buffer sol. (at 50°C)

Fig. 6. Effect of NaCl on heat-stability of enzyme in buffer sol. (at 50°C)

Fig. 7. Effect of NaCl on heat-stability of enzyme in buffer sol. (at 50°C)

● Enzyme activity
○ pH

減少する。従つて耐熱性に對する食鹽の影響については此等の影響は常に正の効果を生ずるのみである。更に種々なる濃度に食鹽を含有する熱處理酵素液の pH 價は第 5 圖（圖中の○印が pH 價）に見る如くである。此の變化は僅少で 6.7 ~ 6.4 の範圍にある。之も亦實驗 I の第 1 圖より見る如く餘り影響のあるものとは思はれない。

斯くて第 5 圖に見られる如き齶幽門垂蛋白分解酵素の耐熱性に對する食鹽の影響は食鹽其れ自身の性質に由來するものである事が解る。

實驗 V： 酵素の耐熱性に對する磷酸ソーダの影響

次に磷酸鹽が食鹽と同様の影響を表すのではないかと考へ食鹽と同様の實驗を行つた。得た結果は第 6 圖、第 7 圖の如くである。

第 6 圖は耐熱性に對する影響。第 7 圖は消化作用に對する影響である。第 6 圖中の○印は各濃度の磷酸ソーダを含有する酵素液の pH 價である。

前實驗に於けると同様此等の圖の結果より磷酸ソーダも亦食鹽と同様な性質を有する事が解る。従つて Ernström 氏の實驗及び自分の第 4 圖の結果は食鹽と磷酸ソーダの和が表れてゐるものである。

さて此等一連の結果より次の事が考へられる。即ち Ernström が Ptyalin につき認め、又私が齶幽門垂蛋白分解酵素につき報告した酵素の耐熱性に對する食鹽の性質は相當多數の中性鹽に見られるものではないであらうか。今後は先づ此等の點につき實驗を進めたいと思ふ。

終りにのぞみ終始御助言を賜つた大谷武夫博士、右田正男博士の兩氏に對し深謝の意を表す。

文 献

- 1) 大谷武夫・中井甚二郎： 日本水産學會誌 6 (1), 45~48, 1937.
- 2) 石田壽老： 動物學雜誌, 47, 717~728, 1937.
- 3) E. Ernström: Z. physiol. Chem., 119, 190~263, 1922.