水産動物組織の酵素分解に関する研究 I.

筋肉よりアンモニアの生成 (i)

柏 田 研 一

(鹿児島大学水産学部)

Studies on the Enzymatic Degradation of Aquatic Animal Tissues—I.

Ammonia Formation in Muscle (i)

Ken-ichi KASHIWADA

In the studies reported in this paper, the author dealt with the enzymatic degradation of the aquatic animal muscles with the results summarized as follows.

In the aquatic animal muscles, the formation of ammonia in a considerable amount was perceived when pyloric coeca extracts or proteolytic enzyme were used, while it could hardly be observed when beef and whale meat were used as substrate.

Ammonia was found to be present in the water-extracted residue of muscle immersed in pyloric coeca extract, while it was not found in the extract itself.

Therefore it may be concluded that the ammonia is a decomposition product of muscle protein derived by the enzyme in pyloric coeca.

緒 言

動物体組織から多量の揮発性塩基を生成するのは主として腐敗の場合に限られ、細菌の関与しない揮発性塩基の生成は稀れで、例え生成しても一般にその量は僅少にすぎない。筆者はカツオ幽門垂中に存在する多量のアンモニアの生成機構について研究していたところ、幽門垂酵素又はプロテアーゼを水産動物肉に作用させるとかなり多量のアンモニアを生成するが、牛肉、鯨肉、カゼイン、ゼラチン等を基質とした場合にはアンモニアは殆んど生じない。この点水産動物肉は哺乳動物肉その他と著しい違いがあるという興味ある事実を発見したので、この問題について行つた実験成績を逐次報告して行きたい。以上のような事情であるからこの研究も筆者等継続実施中のカツオ幽門垂の生化学的研究の一部であるが、上記水産動物肉の特異性という点を取上げ、この問題を中心に研究したものであるから表題を変えて発表することとした次第である。

実 験 の 部

試料 肉挽器にかけた生鮮筋肉 50 g に水 190 cc とトルオール 4 cc (この中にチモール 0.2 g 溶存) を加えた後、ホモチナイザーによつて良く混和したものを試料 (基質) として用いた。

酵素剤 (1) カツオ幽門垂に 4 倍量の水を加えてホモチナイザーにかけ、濾紙で濾過した透明溶液を幽門垂酵素液とした。(2) 市販パンクレアチン (大阪、黒石製薬製)。(3) トリプシン (メルク製)。

実験方法 前記試料に幽門垂酵素液 10 cc を加えて 30°C の恒温器内に放置し、24 時間おきに揮発性塩基を減圧蒸溜法によつて定量した。別に対照として試料に水 10 cc を加えたものにつき実験して肉の自家消化による揮発性塩基生成量を測定し、又水 190 cc に酵素液 10 cc とトルオール (含チモール) 4 cc を加えたものについても実験し、これによつて酵素液自体から生ずる揮発性塩基を知り、この値を試験区の値から差引いて筋肉から酵素作用によつて生成した揮発性塩基量を求めた。なお WEBER 及び WILSON 氏法¹⁾によつて試験した結果、この揮発性塩基は総てアンモニアであることが解つた。

酵素剤としてパンクレアチンを用うる場合はその 0.5 g を、又トリプシンは 0.3 g を用い、これらの場

合は反応液の全量を幽門垂酵素の場合に等しくするため別に水 10 cc を加えた。

実験 1 試料動物肉の種類によるアンモニア生成量の比較

魚類としてボラ、サバ、ブリ、ムロアジ、メイタガレイ、タチ、ホウボウの 8 種、甲殻類としてエビ（ヒゲナガモドキ）、軟体動物としてアフリイカの各水産動物、哺乳類としてウシ及びクジラにつき何れもその筋肉のみを用い前記の方法によつて実験した結果、アンモニア態窒素の変化は Fig. 1 の通りであつた。

図に見られるように試料として用いた筋肉のうちエビを除き、自家消化即ち外部から酵素剤を添加しない対照区のアンモニア増加は極めて微量で、試料の違いによる差異も少いが、肉に幽門垂酵素を添加するとウシ、クジラを除き顕著なアンモニアの生成を見る。その生成量は動物の種類によつてかなりの差があり、ボラ、サバ、ブリ、タチは多く、カレイ、ムロアジ、ホウボウ、イカは少く、ボラ、サバに於ては生成量が特に多い。実験例が少いので確かな所は解らないが、本実験の範囲では赤身の肉と白身の肉との間に確然たる差異はなく、白い肉でもタチはアンモニア生成量が多い。肉の腐敗性との関係も特に明らかではないようである。例えばサバは腐敗し易くブリは腐敗し難いと言われているので両者を比較すると、アンモニア生成量は前者がやゝ多くなつてゐるが、果してこのことと肉の腐敗性との関係づけて考えてよいかどうかは今後の研究に俟ちたい。次に魚類の運動性とアンモニア生成量の間にはやゝ関係があつて、一般に運動の活潑な魚の筋肉は然らざるものに較べてアンモニア生成量が多いようであるが、これも断言するまでにはなお充分吟味研究を要する。エビは自家消化によつて多量の揮発性塩基生成し、これに幽門垂酵素を加えるとその生成量はいくらか増加するが対照との差は僅少にすぎない。この二つの点でエビ肉は上述の動物肉とかなり性質の異つてゐることがわかる。次にウシとクジラは一般水産動物肉と著しく異なり、幽門垂酵素を加えても殆んどアンモニアの生成が見られない。これは甚だ興味深い現象で、その理由は今後の研究によつて明らかにしたいが、ここではただ魚肉と哺乳動物肉とが成分又は性状に本質的差異のあることを指摘しておくに止める。

この実験に用いた幽門垂酵素はその冷水浸出液であるから種々の酵素が存在すると思われるが、従来の研究によつてプロテアーゼの作用が最も優勢と信ぜられる。そこで別に酵素剤としてパンクレアチンとトリプシンを作用せしめた場合を試験した訳であるが、その結果は前図に見られるように、これらのプロテアーゼによつても同様に筋肉からアンモニアを生成する。酵素量が等しくないので比較はできないが、これらの酵素剤によるアンモニア生成量は動物の種類によつて異なり、魚肉に於ては幽門垂酵素を作用せしめた方がパンクレアチン、トリプシンの場合よりもアンモニア生成量が多いが、ウシとクジラではこの逆で、ここにも亦魚肉と哺乳動物肉との違いがある。

実験 2 プロテアーゼによつて生ずるアンモニアの前駆物質の検索

実験 1 では生鮮筋肉を基質とし、これに幽門垂酵素又はプロテアーゼを作用せしめたところアンモニアが生じたので、その前駆物質は恐らく筋肉蛋白であろうと考えられるが、このことを確かめるため筋肉を次のように処理又は分別し、これを基質として前と同様の方法によつて実験した。

試料 1 充分磨砕したカジキ鮮肉を硫酸紙の袋に入れ、トルオールを加えて防腐しつゝ室温に於て水道水で数日間透析し、その中にニンヒドリン呈色の認められなくなった後遠心分離によつて固形部を取り、更に蒸留水で数回洗滌を繰返したものを水に懸濁して基質とした。

試料 2 磨砕したカジキ鮮肉にその数倍量の 0.6% 食塩水を加え更に充分磨砕浸出した後濾過し、濾液に結晶硫酸アンモニアを加えて飽和せしめ、析出した肉蛋白を濾別し、水を以て硫酸紙の袋に洗い移した後トルオールを加えて防腐しつゝ水道水で透析し、水にアンモニアの反応の認められなくなるのを待つて析出した肉蛋白を遠心分離によつて集め、蒸留水で数回洗滌したものを水に懸濁して基質とした。

試料 3 磨砕したサバ鮮肉に適量の水を加えホモジナイザーにかけ、50°C に 10 分間加熱した後遠心分離して上澄液を傾瀉し、残渣に水を加え攪拌した後再び遠心分離する。この操作を数回反覆した後水不溶の固形部を取り水に懸濁して基質とした。

試料 4 試料 3 調製の際傾瀉して得た上澄液を集めて濾過した透明溶液を基質とした。

以上四種の試料に前と同様幽門垂酵素を作用せしめてアンモニアの生成を見た結果は次の通りであつた。透析によつて魚肉からアミノ酸その他の低分子化合物を除いたものに幽門垂酵素を作用せしめると明かに

Fig. 1. Ammonia formation in muscle by pyloric coeca extract (—○—), pancreatin (---○---) and trypsin (···○···), control (without adding enzyme) (---○---).

Table 1. Formation of ammonia from fish muscle by pyloric coeca extract. ($\text{NH}_3\text{-N}$, mg%)

Days of storage	Dialysed muscle	Muscle protein by salting out	Fish muscle	
			Water-extracted residue	Extract
0	6.5	6.2	0.0	14.4
1	16.5	8.5	5.2	14.1
2	22.5	9.7	10.5	14.3
3	26.5	10.4	15.8	14.7
4	27.5	11.3	21.6	15.3

アンモニアを生ずる。次に筋肉蛋白分離の方法を応用し塩析によつて分別した魚肉蛋白を基質とした場合も同様にアンモニアの生成が認められる。又筋肉を肉基質部とエキス部に分別すると、前者からは明瞭なアンモニア生成を見るに反し後者を基質とした場合にはアンモニアは生成しない。これらの結果から見るとアンモニアの前駆物質は筋肉蛋白で、エキス成分中には前駆物質は存在しないものと推察される。

摘 要

1. 揮発性塩基は主として腐敗生産物で自家消化の際の生成物としてはあまり注目されなかつたが、水産動物肉に幽門垂酵素又はプロテアーゼを作用せしめると、かなり多量のアンモニアを生ずることを発見した。
2. 併し牛肉や鯨肉ではこのような現象は認められず、この性質に於て水産動物肉は特異的である。
3. アンモニアの生成量は動物の種類によつて異なり、ボラ、サバ、ブリ、タチの肉はムロアジ、ホウボウ、カレイ、イカの肉よりも多量のアンモニアを生成した。
4. エビ肉は自家消化によつて多量の揮発性塩基を生じ、幽門垂酵素による生成量は比較的少ない。
5. 上記のアンモニアは筋肉の固形部、透析した魚肉、塩析分離した魚肉蛋白から生成され、肉エキス部からは生成しないので前駆物質は筋肉蛋白と推察される。

この研究に要した経費は主として昭和 29 年度文部省科学研究費から支辨した。

文 献

- 1) F. C. WEBER and J. B. WILSON: *J. Biol. Chem.*, **35**, 385—410 (1918).