魚類筋肉の解糖作用に関する酵素学的研究—V. 魚体の部位および鮮度によるフォスフォリラーゼ活力の差異

永 山 文 男

(1961 年 10 月 5 日受理)

ENZYMATIC STUDIES ON THE GLYCOLYSIS IN FISH MUSCLE—V. DIFFERENCES OF PHOSPHORYLASE ACTIVITY DUE TO THE PART AND THE FRESHNESS OF MUSCLE

Fumio NAGAYAMA*

Activity of muscle phosphorylase of seabass was determined on the crude extracts which were prepared from the muscles at different parts of body and from the muscles of different freshness.

The highest enzyme activity was observed in the extract from caudal muscle, and the lowest in the extract from ventral muscle. Change of the enzyme activity due to different freshness of muscle was very slow, but cold storage did not inhibit completely the loss of the enzyme activity.

The enzyme reaction was accelerated by the addition of urethane and sodium chloride of low concentration, and inhibited by nitrofurazone, chlortetracyclin and sodium chloride of high concentration. The crude enzyme solution was found to be comparatively resistant to proteolytic activity of pancreatin.

第 IV 報¹⁾においてスズキの筋肉フォスフォリラーゼの二、三の特性を明らかにしたが、本報では魚体の部位により筋肉フォスフォリラーゼ活力に差異があるか否かについて検討を加え、さらに魚肉の鮮度変化とフォスフォリラーゼ活力との関係を明らかにし、二、三の防腐剤のフォスフォリラーゼに対する影響もあわせて検討した。

実験試料および方法

試料 前報¹⁾までと同様にスズキの活魚を供試した。

酵素液 筋肉 10g を素早く秤取し、冷蒸留水 50ml とホモジナイズした後、冷凍遠心分離器を用い、10,000×g, 30 分遠心分離した上澄液を酵素液とした。

酵素活力の測定 上記の酵素液をシステイングリセロリン酸ソーダ緩衝液で 10 倍に希釈し前報¹⁾と同様に G1P→グリコーゲンの反応を測定した。なお粗酵素液であるから混在するムターゼ等他の酵素の影響を少なくするために反応液の pH は 6.0 とし、反応終了後にいつたん TCA で除蛋白を行なった。

実験結果および考察

魚体の部位と酵素活力 魚体を背、腹、尾の三部に大別考、それぞれの部分の筋肉から抽出した酵素液についてフォスフォリラーゼ活力を比較すると、尾部の酵素活力がもつとも大きく、腹部が小さかった。抽出液 1ml 当りのフォスフォリラーゼ単位は Table 1 に示すように尾部 614, 背部 510, 腹部 471 で、抽出液中の乾物 mg 当りの酵素単位は尾部 39, 背部 33, 腹部 29 であった。

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. of Fish., Shiba Kaigandori 6, Minato-ku, Tokyo, Japan).

Fig. 1. Effect of storage on the muscle phosphorylase of seabass. Dorsal muscle was stored at 25°C. The enzyme activity was expressed as % of inorganic phosphate liberated from G1P. 0, fresh; 1, stored 1 day; 2, stored 2 days.

Fig. 2. Effect of cold storage on the muscle phosphorylase of seabass. Dorsal muscle was stored at 0°C, and the enzyme activity was expressed as % of inorganic phosphate liberated from G1P. 0, frsh muscle; 2, muscle stored 2 days.

Table 1. Variation of phosphorylase activity due to the parts of muscle. The activity was determined at pH 6.0, 30°C.

Part	$k \times 10^3$		
	per ml of extract	per mg of dry matter	per g of muscle
Dorsal	510	32.8	3,060
Ventral	471	29.4	2,830
Caudal	614	39.4	3,680

このように尾部の筋肉が他の部分の筋肉より大きな酵素活力を示すことは、第 III 報²⁾ でみられたグリコーゲン含量の傾向とも一腹するものであり、哺乳動物の後肢ほどでなくとも、魚の尾部筋肉は運動性に富むために、エネルギー代謝の機能も活発であることは容易に想像できる。マグロ類の冷凍品あるいは缶詰製品で、尾部筋肉に変色が起こりやすいといわれているがこのような酵素活力の違いということも一考を要する。

なお第 I 報³⁾ の実験で、筋肉の部位によるグリコーゲン分解反応の差画が不明瞭であつたことは、反応時間が長く、混在する他の反応系の影響がやや大きかつたためと思われる。

鮮度変化と酵素活力 背部筋肉を 10° または 25° に放置し、1 日ごとにフォスフォリラーゼ活加を測定した (Fig. 1 と Table 2)。10° 放置の試料では、2 日後 55%，3 日後なお 47% の酵素活力が残存した。一方 25° 放置のものも 2 日後 76% の酵素活力が認められた。これは魚の個体により酵素活力に差のあることを示すものではあるが、いずれの場合にも鮮度が低下しても筋肉フォスフォリラーゼの活力は長時間にわたって保たれることは明らかである。

Table 2. Effect of storage on the muscle phosphorylase of seabass. Dorsal muscle was used.

Muscle	$k \times 10^3$		
	per ml of extract	per mg of dry matter	per g of muscle
Fresh	650	40.3	3,900
Stored 1 day at 10~15°	550	38.5	3,300
" 2 days	354	27.2	2,120
" 3 days	307	24.2	1,840

また筋肉を冷蔵しても長時間経過すると、室温放置の場合と同程度の失活がみられた (Fig. 2) ので、放置温度の影響は顕著なものではないと思われる。

一般に酸化還元系の酵素は死後急速に失活することが知られ

富山ら⁴⁾はカタラーゼ、福田⁵⁾はコハク酸脱水素酵素の失活を鮮度判定の尺度として用いることを試みているが、フォスフォリラーゼ活力は鮮度判定の尺度とはなし得ない。

防腐剤その他の影響 魚の麻酔剤として使われるウレタン、防腐剤としての CTC およびフニトロフラゾン、食塩、蛋白分解酵素パンクレアチンなどのフォスフォリラーゼに対する影響をみた。

Fig. 3 に示すように、ウレタンは 0.1% で著しい促進作用をみせ、0.1% CTC, 0.024% ニトロフラゾンは酵素作用をほとんど完全に抑制した。0.125% M の食塩はやや賦活作用を示したが、0.25 M の食塩は酵素作用を全く抑えた。

Fig. 3. Effect of reagents on the muscle phosphorylase of seabass.
C, control; N¹, 0.125 M NaCl; N², 0.25 M NaCl; U, 0.1% urethane; A, 0.1% CTC; F, 0.024% nitrofurazone.

Fig. 4. Effect of pancreatin on the muscle phosphorylase of seabass.
C, control; P¹, in the presence of pancreatin; P², the enzyme solution was digested for 40 minutes with pancreatin before the determination of activity.

反応液中にパンクレアチンを加えて反応を行なわせると、反応時間が進むにしたがい反応速度が小さくなるのが認められた (Fig. 4)。これはフォスフォリラーゼがパンクレアチンにより分解されるためと考えられるが、あらかじめパンクレアチンで 40 分消化した酵素液でも、活力はかなり残っており、60 分消化したものでは完全に失活していた。

このことから、筋肉フォスフォリラーゼはパンクレアチンのような蛋白分解酵素によっても急速に失活しないことが想定される。したがって、鮮度低下によるフォスフォリラーゼ活力の失活が予想外に小さく、腐敗初期にもかなりの活力を保っているのは、魚肉内の自己消化酵素による影響を受け難いことによるものと推定される。

要 約

スズキ肉のフォスフォリラーゼ活力をみると、尾部にもつとも多く、腹部に少なかった。鮮度低下に伴う失活はきわめて緩慢ではあるが、失活は氷蔵によっても完全に阻止できなかった。

フォスフォリラーゼ作用は、ウレタン、低濃度の食塩により促進され、ニトロフラゾン、CTC、および高濃度の食塩により阻害された。またパンクレアチンに対するフォスフォリラーゼの抵抗性はかなり強いもの

のように思われた。

本実験にご指導賜わった九州大学富山哲夫教授，東京水産大学小野豊樹教授，ならびに実験に協力された池上義照氏に感謝の意を表する。

文 献

- 1) 永山文男： 本誌，**27**， 1018 (1961)。
- 2) ———： 本誌，**27**， 1014 (1961)。
- 3) 小野豊樹・永山文男： 本誌，**23**， 260 (1957)。
- 4) 富山哲夫・米 康夫・井出克己： 本誌，**16**， 532 (1951)。
- 5) 福田博業： 本誌，**23**， 486； 490 (1957)。