鯨膵臓の酵素利用について—II.

蛋白消化酵素

篠野雄一・吉原 卓

(1965 年 6 月 9 日受理)

STUDIES ON UTILIZATION OF ENZYMES FROM WHALE'S
PANCREAS—II.
PROTEOLYTIC ENZYMES

Yuichi SASANO and Takashi YOSHIWARA*

It was reported in the previous paper¹⁾ that the proteolytic enzymes in fin whale pancreas are not essentially different in the activity from those in the land mammals after the activation process.

In this paper, proteolysis products in the extracts from sperm whale meat treated with the pancreas activate proteolytic enzymes are described.

The total solid, total N, total protein N and amino N in the extracts treated with the enzymes are given in Figs. 1, 2.

The free amino acid compositions of the extracts treated with the enzymes are given in Table 1. (Incubation temp., 45°C. Time of proteolysis, 60 min. The relative amount of the enzyme added, 1%)

Of free amino acid, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine and arginine were greatly increased in the amount by the enzyme treatment. The enzyme treatment was characterized by production of little bitter taste from meat.

前報で¹⁾ 鯨膵臓の蛋白消化酵素は、抹香鯨のものは力価が低いが長須鯨では高く、活性化が牛、豚などに比較して非常に遅いのが欠点であるので、活性化促進の処理さえ行なえば酵素資源として十分実用し得ることを報告した。本報ではこれの食品加工面への応用として、酵素粉末を鯨挽肉に添加して蛋白質を消化させ分解液成分にどのような変化が見られるかを主としてアミノ酸について調べた結果を報告する。

実験材料及び方法

膵臓酵素粉末の調製

前報の結果に基づき、活性化鯨膵臓酵素を次の如くにして調製した。すなわち南氷洋産冷凍長須鯨膵臓を肉挽機で挽いて粥状とし、これに 1/10 量の豚小腸を同様に粥状として加え、一夜冷室（約 5°C）に放置後凍結乾燥し、エーテルで脱脂して粉末とする。このものは前報¹⁾ にも記した如く日本薬局方のパンクレアチン蛋白消化力測定法にしたがい活性を測ると、局方の 3~4 倍の力価がある。

鯨肉から酵素分解液の調製

鯨肉試料は南氷洋産抹香鯨赤肉を用いた。肉をチョッパーで挽き、これに 1.5 倍量の水を加え、50°C まで徐々に熱を加えた後一時加熱を止め、酵素液（肉に対し一定な割合の酵素粉末を水に溶解懸濁させたもの）を加え、特に pH 調整は行なわず 45°C で一時間酵素を作用させ、再び熱を加え 90°C になつたならば

* 大洋漁業株式会社大洋研究所 (Taiyo Fisheries Co., Ltd. Taiyo Research Laboratory, Tsukishima, Chūō-ku, Tokyo)

止め、汙過により残渣を除き、汙液を濃縮してエキス状とする。酵素を添加せずに同様にして調製したものを対照とした。

試料の分析

総窒素, 蛋白窒素, アミノ態窒素

総窒素は KJELDAHL 法により, 蛋白窒素は STUTZER 試薬の $\text{Cu}(\text{OH})_2$ で沈澱した純蛋白の窒素を KJELDAHL 法で測定して求めた。アミノ態窒素は SPIES²⁾ に依るアミノ酸の銅塩を紫外部 230 m μ の吸収で測定する方法を用いた。

アミノ酸

定性はペーパークロマトグラフィーにより, *n*-ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) および フェノール・水 (5:1) の溶媒を用いて二次元展開を行ない, ニンヒドリン呈色で汙紙上のアミノ酸を判定した。

定量は S. MOORE and W. H. STEIN³⁾ の方法にしたがい, イオン交換樹脂は Amberlite CG 120 Type III を用いた。カラムクロマトグラフィーにより中性酸性アミノ酸と塩基性アミノ酸を別々に溶出し, ニンヒドリンで比色定量した。

実験結果

1. 酵素添加率と分解液成分

鯨肉に対する酵素の添加量を 0.2% から 1% まで 5 段階に分けて増加させた時の分解液中の固型分, 総

Fig. 1. The amount of total solid, total N and protein N in the extracts from 100 g of sperm whale meat treated with the enzyme of different concentrations. Incubation temperature, 45°C. Time of proteolysis, 60 minutes.

窒素, 蛋白窒素の増加の状態は Fig. 1 の如く, この間ではほとんど直線的に増加した。

2. 酵素作用時間とアミノ態窒素生成量

鯨肉に対し酵素粉末を 0.2% 添加し, 45°C で消化させた際の分解液中のアミノ態窒素の増加状態を経時的に求めると Fig. 2 の如くであつた。

3. 酵素分解液の遊離アミノ酸

鯨肉に対し酵素粉末を 1% 添加し, 45°C で 1 時間消化させた時の, 分解液中の遊離アミノ酸を定量した結果は Table 1 の如くであつた。酵素処理を行なつたものは対照の無処理のものと同様 17 種類のアミノ酸が認められ, 種類の増加はなかつたがメチオニン, イソロイシン, ロイシン, チロニン, フェニルアラニン, アルギニンの量的増加が顕著であつた。トリプトファンとヒスチジンは酵素作

Fig. 2. Amino N in the extracts from 100 g of sperm whale meat treated with the enzyme for different periods. (See the text for the procedures of preparing the extracts.) Incubation temperature, 45°C. The relative amount of the enzyme added, 0.2%.

用によりほとんど増加しなかつた。

なお分解液を除いた蛋白残渣に水を加え前記と同様に酵素を1時間作用させると、遊離アミノ酸として、アラニン、メチオニン、バリン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニンの生成が顕著であるのが認められた。

考 察

鯨脾臓の蛋白消化酵素は鯨肉に良く作用し、酵素の至適 pH であるアルカリ側に調整しなくても、鯨肉に水を加えた自然の状態で広範囲のアミノ酸生成が認められ、中でも前記 5, 6 種類のアミノ酸生成が顕著である。これらは脾臓酵素に含まれるトリプシン、キモトリプシン、その他のペプチダーゼの総合作用によるもので基質特異性の強いトリプシン、キモトリプシン単独の場合の分解状態とはかなり異つた分解力を示すわけである。細菌性プロテアーゼやプロメルリン、パパインを鯨肉に作用させた場合も同じような広範囲の分解力を示すが、鯨脾臓酵素の利点として、他のプロテアーゼに見られる酵素分解液につく苦味がほとんどなく、これは生成ペプチドの差によるものと考えられる。

酵素添加量の増加と共に分解液中の固型分は直線的に増加するが、水溶性蛋白、ペプチド、アミノ酸もほとんど並行して増加する。

今回の実験には抹香鯨肉を用いたが、長須鯨肉ではエキス成分に違いがあり⁴⁾⁵⁾⁶⁾、多量の β -alanyl peptide (balenine) が長須に存在する。したがって酵素分解液中のアミノ酸にもかなりの違いが出てくるのではないかと推定する。

脾臓酵素処理エキスと無処理エキスを塩酸加水分解してアミノ酸含量を調べるとエキス一定量中の含量が前者の方が非常に高く脾臓酵素処理により栄養源としても優れたエキスができることが認められる。

要 約

1. 抹香鯨肉に長須鯨脾臓から製造した蛋白消化酵素を作用させ pH 調整を行なわない自然の状態での分解液の固型分、総窒素、蛋白窒素の増加の状態を調べた。
2. 同様条件でアミノ態窒素の消化時間による経時変化の状態を調べた。
3. 酵素分解液中の遊離アミノ酸を調べ 17 種の存在を確認した。酵素処理しない対照にも 17 種のアミノ酸が認められ種類の増加はなかつたが、量的にはメチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、アルギニンの増加が顕著であつた。
4. 分解力は細菌プロテアーゼ、パパインなどと似ているが酵素分解液に苦味のほとんどないのが特長で、これは食品加工上の利点と考える。

終わりに臨み御鞭撻を賜つた作間恒生研究所長に謝意を表します。

Table 1. Free amino acid of the extract from sperm whale meat (calculated as mg of amino acid per 100 g of meat)

amino acid	Extract* from meat not treated with enzyme	Extract* from meat treated with enzyme (adeed 1%)
Asp.	0.45	8.14
The.	1.87	22.80
Ser.	2.15	26.88
Glu.	1.67	20.36
Pro.	0.58	1.19
Gly.	6.70	10.59
Ala.	24.11	61.89
Val.	4.15	65.56
Met.	0.35	47.64
I-Leu.	2.32	53.34
Leu.	3.96	279.34
Tyr.	1.21	57.01
Phe.	trace	159.62
Try.	49.89	49.50
Lys.	103.79	216.22
His.	60.82	63.98
Arg.	5.58	192.20
Ammonia N	9.20	21.20
Total amino acid	269.60	1336.26

* See the text for the procedures of treating with the enzyme and of preparing the extract.

文 献

- 1) 篠野雄一・大田道子: 本誌, **30**, 424 (1964).
- 2) J. R. SPIES: *J. Biol. Chem.*, **195**, 65 (1952).
- 3) S. MOORE and W. H. STEIN: *J. Biol. Chem.*, **192**, 663 (1951).
- 4) 日下部寛男・小島喜久・片山敏子: 理研報告, **38**, 106 (1962).
- 5) T. NAKAI, N. TSUJIGADO and S. AKIYA: *J. Biochem.*, **54**, 541 (1963).
- 6) K. G. CRUSH: *J. Sci. Fd. Agric.*, **15**, 550 (1964).