

# 鮎幽門垂のアミラーゼ・マルターゼに就いて\*

武 居 薫

Some Properties of Amylase and Maltase in  
Pyloric Coeca of *Plecoglossus altivelis* T. & S.

By

Kaoru TAKESUE

In an attempt to elarify change of digestive enzyme with growth of the smelt, *plecoglossus altivelis*, peculiar rise and fall of influence of amylase and its abundance in pyloric coeca were put on record in the previous report of the author.

The present paper embodies scrutiny of properties of amylase and maltase in pyloric coeca, as summarized as follows:—

(1) The enzyme was found unstable on acid side but rather stable on alkali side so far as tested at temperatures of 50°, 40° and 90°C. The enzyme has still considerably strong reducing power at 50°C in spite of its unstability around this temperature, a fact which shows its bearability to still higher temperatures.

(2) The optimum pH shifted slightly nearer to neutral point when NaCl was added to the enzyme mixture than without addition of NaCl to it.

(3) Saccharizing power of the enzyme progressed very slowly. When the enzyme was treated with heat and acid so as to be exclusively converted to  $\beta$ -amylase, no reducing power was exerted.

(4) Maltase was found not capable of resisting treatment with heat and acid.

## 緒 言

著者は前報<sup>(1)</sup>で、鮎の成長に伴う消化酵素系の変化を検討し、特にアミラーゼが興味ある消長を示すことと、更に成魚の消化器官特に幽門垂の部分に多量存在することを報告した。本文では幽門垂に存在するアミラーゼ・マルターゼの性状を明らかにしたので報告する。

本文を草するに当り、本報文の御校閲を賜つた本所教授松井魁博士に厚く感謝の意を表すると共に、本研究に御助言を頂いた本所教授藤井実氏に深謝する。又材料の蒐集に尽力された山口県外海水産試験場々長市村要氏を始め場員各位に厚く御礼申上げる。

## 資 料

鮎(平均体長18cm, 体重120g)の幽門垂からそれに附着している脂肪組織を可及的除去し、内容物を水洗、細搥し、アセトン・エーテルで順次脱水・脱脂した乾燥資料を標準篩(100mesh/inch)にかけ、得た粉末を実験の都度3倍量の87%グリセリンを加え、25°C

\* 水産講習所研究業績 第114号

で10時間放置抽出した後、遠心分離し固型物を除去し清澄なる1%酵素液とし実験に供した。

〔実験I〕 各種温度によるアミラーゼの安定性

9°, 40°, 50°C の3組に作用温度を取り1%酵素液5ccに10%, 精製食塩水10cc, 1% (無水物として) 可溶性澱粉75cc,  $\frac{M}{15}$  磷酸塩緩衝液10cc をそれぞれ添加し、最後にトルオール1ccを加えて24時間消化させた後、その消化液20ccに就いてHanes法で還元糖を定量しCu量をもつて表した。

その結果、何れの温度に於いても至適pHに変化なくpH6.0-6.1であつた。又3組共アルカリ性側では比較的安定であるが酸性側では不安定である。寧ろ低温に作用させる方が両性側には比較的安定性を有する様に見受けられる。高温(50°C)では不安定であるが可成りの活力を示している。これに関しては、

高橋<sup>2)</sup>は膵幽門垂蛋白分解酵素の耐熱性を50°Cで試験し、全く同様な現象を認めている。更に低温(9°C)と高温(50°C)との活力の差を見ると遙かに後者が大きい(第1図)。該酵素が50°Cで不安定ながらも、なお、強い活力を有している事から、更に可成りの高温に耐え得ると考えられる。この事はErnström<sup>3)</sup>によると唾液アミラーゼの死滅温度は普通食塩を添加すると51.5-52.0°Cのもので60°Cで1時間熱するとなお10%の力が残存し、又タカアミラーゼは更に高温に耐える事実によつて類証される様である。

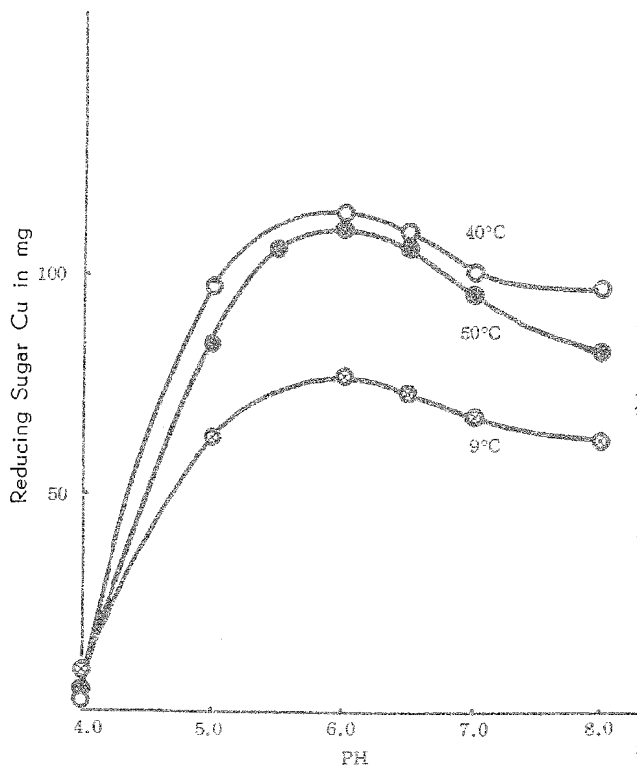


Fig. 1. Showing the stability of Amylase activity at various temperatures.

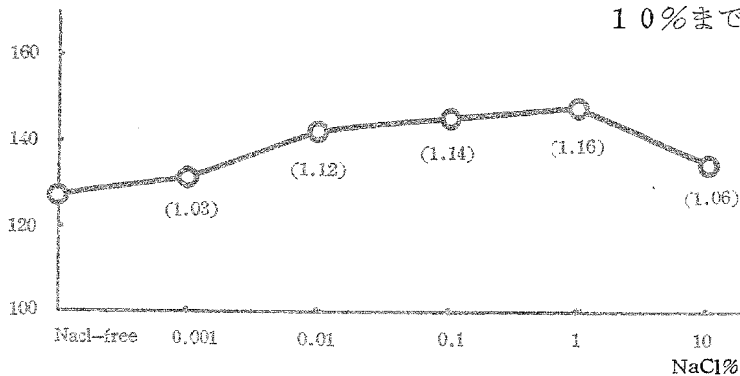


Fig. 2. Influence of adding NaCl on the activity of pyloric coeca-Amylase. Remark: ( ) ... Activation rate without adding NaCl.

〔実験II〕 食塩添加の影響

1. 食塩賦活効果に就いて

膵幽門垂アミラーゼに就いて食塩添加の影響と至適濃度を検べた結果は(第2図)の通りである。即ち食塩添加最終濃度0.001%から10%まで十進稀釈により添加して、その賦活効果を検べたが、

0.001%から0.01%までは、稍々賦活効果が認められたが、0.01%と1%の間は、濃度が増加しても、殆んどアミラーゼ作用に変化なく、1%より10%に濃度増加すれば却つて抑制される。これに関しては、井上・佐藤<sup>4)</sup>が唾液アミラーゼで0.000001%から10%までの種々の濃度で試験

し本結果と同様な傾向を認めているが、その賦活効果は遙かに大きい。最適濃度は1%添加の

場合で、その賦活効果は僅かに1.16倍であつた。これに関しては、石田<sup>(5)</sup>はブダイ肝臓で、食塩濃度に及ぼす影響を認めているが、そのデータを参考すると、食塩濃度が1%のとき最もよく賦活されることを示めし本実験と同値である。高等動物アミラーゼの食塩賦活効果に就いては、一般に0.05—0.5%を最適濃度としているが、魚類では、これよりも高濃度で賦活されると考えられる。然しブダイ肝臓アミラーゼは1%添加により約2倍賦活されている。本種幽門垂アミラーゼは、此等諸酵素の様な効果はなく、麦芽アミラーゼと同様に食塩により殆んど賦活されない。淡水魚の本種が、海産魚のものに比べて食塩賦活作用のない点に関しては、海産魚と淡水魚アミラーゼを比較することによつて今後究明したい。

## 2. 至適 pH に及ぼす影響について

OHLSSON<sup>(6)</sup>の研究によれば植物性アミラーゼの至適 pH は緩衝液の種類及び各種塩類により影響を蒙らない事が明かにされているが、動物性アミラーゼは、WILLSTÄTTER-WALDSCHMIDT LEIZ-HESSE<sup>(7)</sup>が膵臓アミラーゼは食塩添加により影響されないとしているが、西崎・西原<sup>(8)</sup>は食塩が存在すれば pH 6.8, 然らざれば pH 6.0と、中性塩添加の影響を認めている。

鮎幽門垂アミラーゼは前述の如く賦活の面では、殆んど影響が見られないが、果して至適 pH にも影響を及ぼさないものかどうかを見るために次の方法で試験した。

即ち1%酵素液5ccに $\frac{M}{15}$ 磷酸塩緩衝液10cc, 10%精製食塩水10cc, 1% (無水物として) 可溶性澱粉75ccと更にトルオール1ccを加えたものを添加区とし、別に無添加区として10%食塩水10ccの代りに蒸溜水10ccで置換したものに就いて、各々31°C, 24時間消化させた後、その20ccをとり HANES 法で還元糖を定量し Cu を以つて比較した。その結果は第3図に示した通りである。即ち無添加では pH 5.7, 添加すれば pH 6.0—6.1

と中性塩の存在によつて移動する。移動範囲の小さいのは該酵素が食塩によつて殆んど影響されない為と考える。

### 〔実験III〕 幽門垂アミラーゼの糖化力

本魚は一定の大きさに成長すると遡河し逐次消化器系統を整えつつ底着性食餌、主に植物食に移るものである。

そこで今少しアミラーゼの性質を細かく知るために普通処理酵素液と酸熱処理酵素液とに分け試験した。

#### 1. 酵素液の調製

乾燥粉末 0.5g に3倍量の87%グリセリンを加え25°Cで10時間浸出、濾過分離し清澄なグリセリン液を正確に50ccに満し1%酵素液とし、使用の都度稀

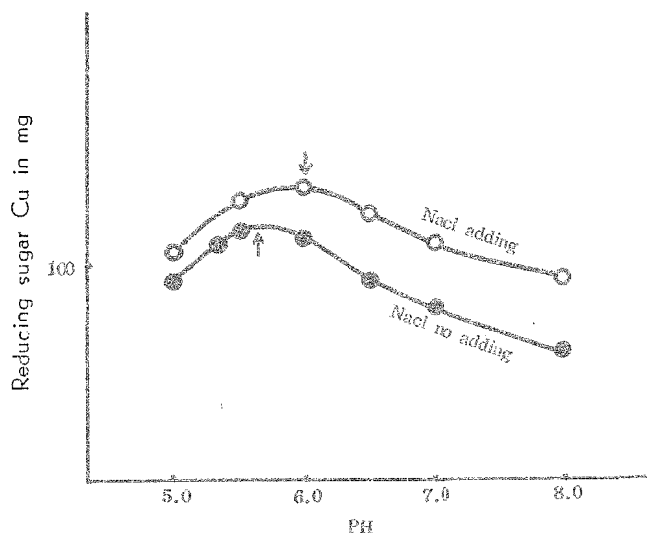


Fig. 3. Showing the change of optimum pH according to whether NaCl added or not.

積して0.2%液とした。

#### 2. 酸熱処理酵素液の調製

OHLSSON<sup>(6)</sup>の変法徳岡法により0.2%酵素液25ccをとり0.1N HClでpH2.6とし、40°Cで30分間処理した後、直ちに $\frac{M}{5}$  Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>でpH6.0に戻し之を正確に

50 cc に満たした。

3. 酵素作用の配合と定量

第1表に示した配合により糖化力を試験し一定時間おきに一定量 (5 cc) を採り出し、直ち

Table 1. Composition of Amylase test.

	Normal	Attacked
1% soluble starch solution	100cc	100cc
Mcllvaine buffer solution	10cc	10cc
Normal enzyme solution	20cc	—
Attacked enzyme solution	—	40cc
Distilled water	20cc	—
Toluol	1cc	1cc

にフェーリング液の中に移し酵素作用を停止し HANES 法で還元糖を定量し、Rm%で表わした。別に3分間毎に反応液から1.0 ccを採り出し2 ccの水に  $\frac{N}{100}$  沃度液3滴を混ぜた沃素液を混合し澱粉沃度反応により反応液の澱粉が消失し紫色となる時は直ちに前述の方法によりフェーリング液に一定量 (10 cc) を入れ生成麦芽糖量を定量し Rm%で表わした。

この結果 (第2表) 糖化曲線を吟味すると生成麦芽糖量が約20%に達するまでは、ほぼ比

Table 2. Decomposition rate by amylase of both normal and attacked enzyme solution.

Time	Rm %	
	Normal enzyme solution	Attacked enzyme solution
0 hr.	0 %	0 %
0.5 ʘ	9.8 ʘ	
1 ʘ	17.2 ʘ	
2 hrs.	25.0 ʘ	
3 ʘ	28.0 ʘ	
5 ʘ	33.0 ʘ	
10 ʘ	38.0 ʘ	
1 day	45.0 ʘ	
3 days	60.0 ʘ	
5 ʘ		
9 ʘ	77.0 ʘ	0 %

例的關係が見られるが、このあたりで彎曲し、それ以後は時間の経過と共に極めて僅か増加するに過ぎない。澱粉消化時間は45分でその時のRm%は11.2%であつた。之に関して、PURR<sup>9)</sup>、BLOM<sup>10)</sup> は種々のアミラーゼに就いてその消失点の生成麦芽糖量を測定した結果、動物性アミラーゼはRm% 20—10であるが植物性アミラーゼはRm% 104—85となる事を観察している。本実験結果もこれと同様であることから本種該酵素は唾液アミラーゼ等と同様に $\alpha$ アミラーゼだけと考える。更に酸熱処理酵素液は全く還元糖を生成しないので $\beta$ アミラーゼは存在しないのであろう。

以上を総括すると、普通処理酵素液は糊精化力強く、糖化力の極めて弱いもので、恐らく $\alpha$ アミラーゼと考える。なお $\alpha$ アミラーゼだけとすると、分解率が77.0%、或はそれ以上の値を示す事は不思議であるが、恐らく、これはマルターゼが作用したものと思われる。最

鮎幽門垂のアミラーゼ・マルターゼに就いて

近糖化型  $\alpha$ アミラーゼという様なアミラーゼも提唱されているところからすれば、これに相当するものかも知れないがこの点に関しては今後究明したい。

〔実験 IV〕 マルターゼの抵抗性

アミラーゼの諸性質の中で、マルターゼの抵抗性がよく問題とされている。そこで第 1 表の 1% 可溶性澱粉の代りに、1% 麦芽糖液を用いて酵素作用を試験し、HANES 法で還元力の測定を行い、その生成葡萄糖量を%で表示した結果は第 3 表の通りである。

Table 3. Decomposition rate by maltase of both normal and attacked enzyme solution.

Time	Rf %	
	Normal enzyme solution	Attacked enzyme solution
0 day	0 %	0 %
1 〃	17.3 〃	7.5 〃
3 days	37.6 〃	—
6 〃	64.9 〃	10.0 〃

即ち鮎幽門垂マルターゼ作用は矢張り緩慢で、而も酸熱処理によりその作用力は減じ非抵抗性マルターゼである。

摘 要

鮎幽門垂アミラーゼに就いて (1) 各温度に対する安定性 (2) 食塩添加の影響 (3) 糖化性試験 (4) マルターゼの抵抗力等を試験し次の結果を得た。

〔1〕 種々の温度に対する安定性を 50°C, 40°C, 9°C で各々試験した結果何れも酸性側では不安定であるが、これに反してアルカリ性側では稍々安定である。又該酵素は 50°C にもなるに甚だ不安定であるにも拘らずなお成りの還元力を有することよりこれ以上の温度にも耐え得るものとする。

〔2〕 作用混液に食塩を添加してその賦活作用を試験した結果、本種該酵素は殆んど賦活されない。至適食塩濃度は 1% である。

食塩添加 (1%) により無添加のものに比べてその至適 pH は 5.7 から 6.0—6.1 へと僅かながら中性に移動する。

〔3〕 該酵素の糖化力を試験した結果、非常に糖化の伸びが悪い。一方酸熱処理を行つた所謂  $\beta$ アミラーゼだけのものでは全然還元力を示さない。

〔4〕 マルターゼの抵抗性に就いて試験した結果、酸熱処理に対しては全然非抵抗性であつた。

文 献

- 1) 武居 薫：1954. 鮎の成長に伴う消化酵素系の変化について。水講研報, 3 (3), 55—60.
- 2) 高橋豊雄：1948. 魚類酵素の耐熱性。(1) 塩類の影響について。日水誌, 13(5), 199—202.
- 3) ERNSTROM, E.: 1922. Über den Temperaturkoeffizienten der Stärkespaltung und die Thermostabilität der Malzamyase und des Ptyalins. Z. Physiol. Chem., 119, 190—263.
- 4) 井上・佐藤：1919. 酵素の作用方法に就て。(6) 「アミラーゼ」賦活・抑制・破壊及保護作用に就て。東京医学雑誌, 33(9), 471.
- 5) 石田寿老：1935. 魚類 Amylase の最適温度について。動雑, 47(565), 717—728.

- 6) OHLSSON, Erik : 1930. Über die beiden Komponenten der Malzdiastase, besonders mit Rücksicht auf die Mutarotation der bei der Hydrolyse der Stärke gebildeten Produkte. Z. Physiol. Chem., **189**, 17—63.
- 7) WILLSTÄTER, RICHARD, Ernst Waldschmidt-Leiz und ALBERT R. F. Hesse : 1923. Über Pankreas-Amylase. Dritte Abhandlung über Pankreaseenzyme. Z. Physiol. Chem., **126**, 143—168.
- 8) 西崎・西原 : 1929. 動物性アミラーゼの Acidität optimum に就て, 衛生試験所報告, **35**, 1—8.
- 9) Arnulf Purr : 1934. The Influence of vitamin C. (ascorbic acid) on Plant and Animal amylase. Biochem. J., **28**, 1141—1148.
- 10) BLOM, T. BAK, A. & BRAAE, B. : 1936. Untersuchung über den enzymatischen Abbau der Stärke. Z. Physiol. Chem., **241**, 273—287.