

水産物の有機酸に関する研究— V

魚介類のコハク酸脱水素酵素活性について

長田 博光・後藤 郁子・大塚 滋

Studies on the Organic Acids in Marine Products - V

On the activity of succinic dehydrogenase of various fishes and shells.

HIROMITSU OSADA, IKUKO GOTO and SHIGERU OTSUKA

In the result of study on the distribution of organic acids in various fishes and shells it was explained that succinic acid was contained in short-necked clam and ark-shell, on the other hand it was scarcely found in sea bream, cuttlefish and prawn.

For the purpose of investigating the cause that the amount of succinic acid was specially accumulated in the valve, the activity of succinic dehydrogenase of various fishes and shells was estimated by the colorimetric method using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride.

The results were that the reaction rate of succinic dehydrogenase of short-necked clam and ark-shell was slower than that of other fishes, that the activity of succinic dehydrogenase of short-necked clam and ark-shell was almost similar to that of other fishes, with the exception of rock-trout, sand eel, prawn, cuttlefish and octopus, that this activity of prawn was the highest among various fishes examined, being about 10 times as high as that of clams, and that this activity of octopus, cuttlefish and rock-trout was about 3—4 times as high as that of clams.

魚介類の有機酸の分布¹⁾を調べた結果アサリ、カキ、赤貝などの二枚貝にはコハク酸が非常に多く含まれていることを認めた。これに反してタイ、イカ、クルマエビなどにはコハク酸はあまり含まれておらず乳酸が非常に多く含まれていることを認めた。

このように二枚貝にのみ特異的にコハク酸が蓄積していることは生化学的、あるいは食品化学的見地から非常に興味のあることである。

何故に二枚貝にコハク酸が多量蓄積するか、その原因として次の二つが考えられる。即ち第1の原因は二枚貝の持っているコハク酸脱水素酵素の活性が他の魚介類に比べて著しく弱いことに起因する。もう一つの原因は malonate のようなコハク酸脱水素酵素の活性を阻害する物質が二枚貝に含まれていることに起因すると思われる。そこで本報では第1の原因と考えられるコハク酸脱水素酵

素の活性の強弱を調べるために数種の魚介類のコハク酸脱水素酵素の活性を測定して二枚貝のそれと比較した。なお生体組織中のコハク酸脱水素酵素の活性を測定する方法として Warburg 検圧法²⁾、赤血塩を還元して生ずる Prussian blue を比色する方法^{3,4)}、2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) による比色法⁵⁻⁷⁾、あるいは 2,6-Dichlorophenolindo-0-Chlorophenol を用いる比色法^{8,9)}、Methylene blue の褪色度を比色する方法¹⁰⁾があるが本報では TTC による比色法を用いた。

実 験 方 法

1. Formazan の合成と検量線の作製

Formazan の合成は 2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) 2 g を少量の水に溶かし、ハイドロサルファイト 4 g を加えて還元し、生成した Formazan を n-ブタノールで抽出し、このブタノール溶液を減圧濃縮乾涸する。次にエチルアルコールを加えて残渣を溶解し、濾過する。濾液は再び濃縮乾涸、水を加えて結晶を作る。更に再結を二回くり返し行なった後デシケーター内にて乾燥する。

このようにして得られた結晶の融点並びに吸収極大は Table 1 に示した如くである。

この Formazan を用いて検量線を作製した。その結果は Fig. 1 に示した如くである。

Table 1 Melting point and maximum wave length of crystal

	M.P (°C)	λ max. ($m\mu$)
Reference value	173.5	490
Experimental value	173.5	488—490

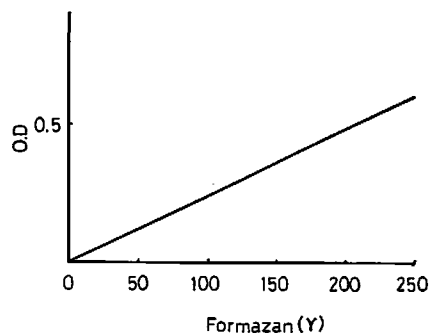


Fig. 1 Calibration curve for formazan.

2. 測定試料

測定に供した魚介類は兵庫県明石魚市場に入航した魚船より生きているものを入手し、直ちにドライアイスにて凍結して実験室に持ち帰り融解せずにそのまま用いた。

3. 酵素液の調製並びに活性度の測定

コハク酸脱水素酵素液は凍結した魚介類の頭部、尾部、皮を除去し、細碎し、そのうちより 20 g 秤取して 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 80ml 加え、ワーリングブレンダーにて 30 秒間ホモジナイズし、そのホモジネートを二重ガーゼで濾して調製した。そしてこの酵素液を直ちに測定に供した。

活性度の測定は Thunberg 管の主室に 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 2 ml, 酵素液 1 ml, 側室に 0.1M コハク酸ナトリウム溶液 1 ml, 0.5% TTC 溶液 0.2 ml 注入し、2 分間真空ポンプで

脱気した後 40°C の浴槽に入れ 3 分後両者を混合し、0.5, 1, 2, 3, 4 時間それぞれ反応させた後アセトン 10 ml 加え、乾燥濾紙で濾過し、濾液を 490 m μ にて比色定量した。

結果と考察

以上の実験結果は Fig. 2~6, Table 2 に示した如くである。即ち貝類ではアワビのコハク酸脱水素酵素が最も早く活性を示した。しかしその活性の最高値はアサリ、赤貝のそれよりも低かつ

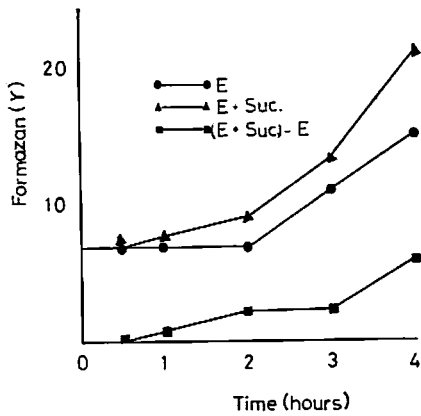


Fig. 2 Activity of succinic dehydrogenase of *Venerupis japonica* "Asari".

E = Enzyme
Sus = Succinic acid

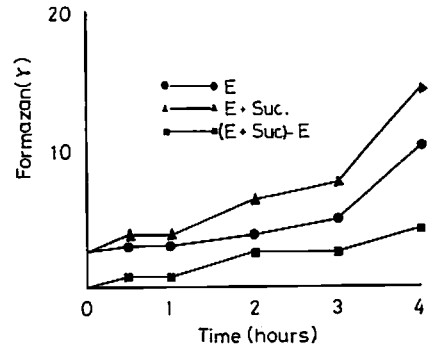


Fig. 3 Activity of succinic dehydrogenase of *Evynnis japonica* "Chidai".

E = Enzyme
Suc = Succinic acid

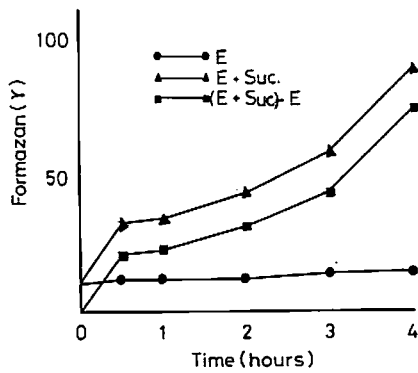


Fig. 4 Activity of succinic dehydrogenase of *Penaeus japonicus* "Kurumaebi".

E = Enzyme
Suc = Succinic acid

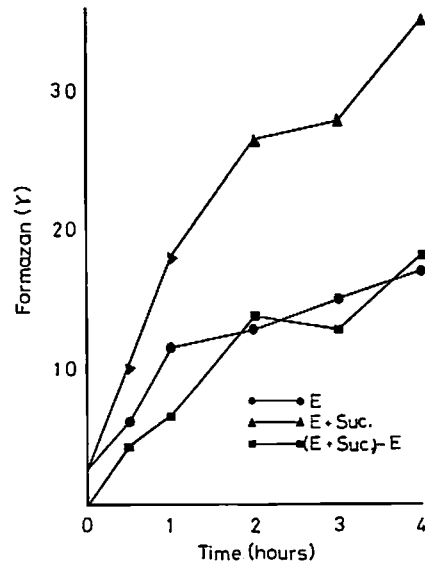


Fig. 5 Activity of succinic dehydrogenase of *Octopus fangsiao* "Iidako".

E = Enzyme
Suc = Succinic acid

Table 2 Activity of succinic dehydrogenase of various fishes

Sample fish	Time (hours)	Yield of formazan (r)				
		0.5	1	2	3	4
<i>Venerupis japonica</i> "Asari"	0	0.8	2.2	2.3	6.0	
<i>Anadara broughtonii</i> "Akagai"	0	0	1.7	6.5	3.8	
<i>Haliotis gigantea</i> "Awabi"	0.8	4.8	4.3	4.8	1.7	
<i>Evynnis japonica</i> "Chidai"	0.8	0.8	2.6	2.6	4.3	
<i>Oplegnathus fasciatus</i> "Ishidai"	1.6	2.6	3.0	7.9	7.0	
<i>Lateolabrax japonicus</i> "Suzuki"	0.8	3.4	3.8	7.4	7.4	
<i>Halichoeres poecilopterus</i> "Kiyusen"	4.2	5.2	3.0	2.5	6.2	
<i>Sebastes inermis</i> "Mebaru"	0.8	0.8	2.0	2.2	8.0	
<i>Konosirus punctatus</i> "Konosiro"	3.6	4.2	6.2	9.0	11.2	
<i>Pleuronichthys cornutus</i> "Meitagarei"	1.4	2.1	2.2	4.2	5.3	
<i>Hexagrammos otakii</i> "Ainame"	2.0	3.0	3.4	25.3	25.3	
<i>Astroconger myriaster</i> "Maanago"	0.4	1.6	3.1	7.6	9.0	
<i>Ammodytes personatus</i> "Ikanago"	4.4	7.5	9.5	13.9	10.0	
<i>Penaeus japonicus</i> "Kurumaebi"	21.0	22.6	31.5	44.6	74.1	
<i>Sepia esculenta</i> "Kouika"	4.6	5.6	6.2	11.2	18.9	
<i>Octopus fangsiao</i> "Iidako"	4.2	6.5	13.7	12.8	18.2	
<i>Octopus variabilis</i> "Tenagadako"	0.4	2.6	2.6	3.0	4.3	

た。魚類のコハク酸脱水素酵素の活性はアサリ、赤貝のそれよりも早く現われたが、チダイ、メバル、マアナゴの酵素活性はインダイ、キューセン、コノシロのそれに比べて比較のおそく現われた。またその活性の強さはコノシロ、イカナゴがやや強く、アイナメが最も強かった。一方他の魚類の酵素活性は貝類のそれとあまり変らなかった。また他の魚介類のコハク酸脱水素酵素の活性はクルマエビが非常に強く30分目ですでに 21r の Formazan を生成し、4時間目にはアサリ、赤貝の約10倍の Formazan を生成した。またコウイカ、イイダコの酵素活性も強かった。しかしテナガダコの酵素活性は貝類のそれと殆んど変らなかった。

以上の結果の如くアサリ、赤貝のコハク酸脱水素酵素の活性は一部の魚類、あるいはクルマエビ、イイダコのそれに比べて弱い、他の魚介類の酵素活性とほぼ同じ強さを持っていることが認められた。それにもかかわらずアサリ、赤貝のコハク酸含量が他の魚介類に比べて多いのはコハク酸脱水素酵素の活性の強弱によるのではなく、アサリ、赤貝などの二枚貝にコハク酸脱水素酵素の活性を阻害する物質を含んでいるのではないかと考える。

要 約

1. アサリ、赤貝などの二枚貝にはコハク酸が非常に多く含まれている。一方他の魚介類にはコハク酸はあまり含まれていないが、この相違がコハク酸脱水素酵素の活性の強弱に起因するかどうかを明らかにするためにこの研究を行なった。
2. アサリ、赤貝のコハクの酸脱水素酵素はアワビのそれよりも活性を示すのがややおそい、しか

しその活性の最高値はアワビのそれよりも高かった。

3. 魚類のコハク酸脱水素酵素はアサリ、赤貝のそれに比べてやや早く活性を示したが、チダイ、スズキ、メバル、マアナゴの酵素活性はインダイ、キューセン、コノシロのそれに比べて比較的小さく現われた。またその酵素活性の強さはコノシロ、イカナゴがやや強く、アイナメは最も強かった。しかし他の魚類の酵素活性は貝類のそれとあまり変らなかった。
4. 他の魚介類のコハク酸脱水素酵素の活性はクルマエビが最も強く、アサリ、赤貝の酵素活性の約10倍であった。またコウイカ、イイダコも比較的小さかった。しかしテナガダコも酵素活性は貝類のそれと殆んど変らなかった。

文 献

- 1) 長田博光：東洋食品工業短大。東洋食品研究所研究報告，7，271 (1966)
- 2) Schneider, W. C. and Potter, V. R. : J. Biol. Chem., 149, 217 (1943)
- 3) Slater, E. C. and Bonner, W. D. : Biochem. J., 52, 185 (1952)
- 4) Kuffl, E. L. and Schneider, W. C. : J. Biol. Chem., 206, 677 (1954)
- 5) Straus, F. H., Cheronis, N. D. and Straus, E. : Science, 108, 113 (1948)
- 6) Kun, E. and Abood, L. G. : Science, 109, 144 (1949)
- 7) Glock, E. and Jensen, C. D. : J. Biol. Chem., 201, 271 (1953)
- 8) Neufeld, H. A., Scott, C. R. and Stotz, E. : J. Biol. Chem., 210, 869 (1954)
- 9) 福田博業：日水誌，23，547 (1958)
- 10) Lardy, H. A., et. al. : "Respiratory Enzymes", 115 (1950)