

# 将来の食糧資源の確保と利用に関する研究

## 研究分担者

堀津 圭佑, 神野 節子, 宇高 京子, 木元 幸一

Studies on Holding and Utilization of Food Materials in Future

Keisuke HORITSU, Setuko KANNO, Kyoko UDAKA, Koiti KIMOTO

### はじめに

第2年次にあたり、各分担者は分担課題について実験を行ない、その成果も蓄積されつつあり、第3年次の節目を目標に研究の総括へ努力している。その間、研究分担者は、将来の食糧資源と利用に関する研究に向けて、5回討論と

3回のseminarを行なった。seminarの内容は以下の通りである。

1. 氷温貯蔵に関して
2. 食糧事情と大豆蛋白質の利用に関して
3. Subfreezing Point法による化学的成分の変動に関して

(堀津記)

### 1. 食糧資源の適切な貯蔵・保蔵に対する化学的改良、又新たな食品加工法に関する研究(第1の2報)

堀津 圭佑

#### 序 言

生活科学研究所における研究には、独創的学術的方法に基づき基礎研究と応用研究の2種が先ず考えられる一方、社会への貢献度の高いものであることが望ましいものと考え研究を始めた。

本研究は上記の基礎研究の部分に産業化という社会貢献面にも力点をおいた応用研究ともいえよう。また、多種の目的が併置され、その部分的成果の集合として最終目的が達成されるものと考え、その部分的成果の一部を報告する。

物質の最高利用という当然の理に従い、その適切な貯蔵期間を決定する目的で、相対密度法

によった適切な貯蔵期間の推論の妥当性を今回は重量、相対密度、pH、酸度、屈折率、糖度、遊離および全還元性物質の変化を測定し、それらの測定値より確めた。なお実験対象物はリンゴとした。

他方、本研究の特徴の一部である物理的方法(非破壊性)により一部は直接的に、一部は間接的に品質変化を機械計算し、上記の適切な貯蔵期間の決定をよりよく妥当性をもたせしめるために、基礎的方法も検討し始め、その一例として計算上の流れ図を示した。

下記に示す実験以外にまだ加えるべき諸実験が残されているので、漸次完成へ進展させるが研究条件の制約もあるため、可能な部分から着手している。

前回の中間報告を第1の1報とする。

## 実験および結果

A) 実験材料：千葉大学園芸学部附属農場産 delicious。昭和58年11月収穫。

B) 実験対象区分；a, b, c：分譲全試料から代表的と考えられる実験対象試料を，相対密度法（本研究の独創法の1つ）により今回は146個（近似二項分布曲線で両端区分を除く，第1区分）を選別し，それらを3区分化（45個ずつ3区，第2区分）し，それらから代表的部分（中央区分，第3区分）を各区分当り15個選別（a, b, c）し，各第3区分ごとに平均値を算出し，区分ごとにその平均値を示した。

C) 貯蔵条件；X, Y, Z：収穫・輸送後約4℃の貯蔵庫に5日間貯蔵された試料を本学へ輸送後直ちに4.5℃±0.5℃（80%±8%相対湿度）に貯蔵した。Xは1.1月間，Yは5.2月間，Zは品質の経時測定により，4.5℃±0.5℃を8月間継続後，貯蔵温度を0.5℃±0.5℃（75%±8%相対湿度）に設定し，貯蔵期間の延長実験を試み，通算9.6月間の連続貯蔵を行なった。

D) 重量変化：4.5℃±0.5℃または0.5℃±0.5℃の貯蔵室内で電子天秤（本実験から）で測定した。

E) 相対密度変化：4.5℃±0.5℃または0.5℃±0.5℃の貯蔵室内で再蒸留水を標準液とし，試料とともにその温度平衡の状態に維持し，電子天秤を用い測定した。測定中，室温，使用標準液温，試料温度を経時的に確認し，特に標準液は試料10個ごとに新温度平衡標準液に取換えた。水の比重0.9999<sup>7</sup>より軽量の物質測定法によったが，誤差の僅少化のため0.015mmのstainless針金製支持器を自作使用した。基準相対密度は4℃と5℃の平均値0.9999<sup>7</sup>とした。

F) pH変化：試験管用細管複合硝子電極を用い，果皮下20~22mmの部位を10.0℃±5℃において試料が温度平衡に達した条件下で，赤道面の対称位置4部位のpHを測定し，それらを平均し，1個当りのpH値とした。

G) 酸度変化：試料5個からの最終総採取量75

.0gを各個体の相対密度を基準とした各個体当りの採取量を算出し，その1/4量を各個体の赤道面の対称位置からそれぞれ採取し，合計20部位を集め，それら細片された試料75.0gに脱塩蒸留水45.0mlを加え，homogenizer（回転上昇速度を3,000r.p.m./10secとし，20秒間を1,2000r.p.m.に保持するようにして，全過程を1分間）で均質化した。この間試料温度上昇を避けるため外側を冷却し，20.0±0.5℃の定温条件を保持した。均質化後，2.5時間で改良大型漏斗を使用し，汁液2.0mlをえた。次にその1.0mlを採り，脱塩蒸留水で20.0mlに稀釈し，CO<sub>2</sub>吸収防止装置付micro buretteで0.01N NaOH（f=0.998<sup>2</sup>計算上）により滴定し，酸度を測定した。

H) 屈折率変化（d<sub>4</sub>）：酸度測定と同様に，各個体の赤道面の対称位置4部位から一定量（測定用汁液が最終的に0.3mlあれば十分）の¼に相出す細片を採取し4細片を集めて加圧汁過し，汁液の屈折率を屈折計を用い，5個1組の各個体について下記の点に注意し測定した。脱塩蒸留水を基準溶液とし，温度補正を行ないつつ屈折率を測定算出し，既知濃度のNaCl<sup>2)</sup>溶液で温度補正の下で目盛校正をした。

I) 糖度変化(%)：屈折率測定時と平行して同様の実験過程でえた加圧汁液を自動温度補正式糖度計を用い測定した。なお，脱塩蒸留水と既知濃度のα-D-glucose<sup>3)</sup>水溶液で目盛を校正した。

J) 遊離還元物質変化：試料溶液（酸度測定用と同じ汁液）2.0mlにSomogyi試薬<sup>4,5)</sup> 5.0mlを加え，蒸発防止器をつけ15分間（加熱時間は正確に，誤差は0~5秒以内）沸騰水浴で加熱後，直ちに流水道水で反応溶液を急冷し，冷却確認（25~30分）後CO<sub>2</sub>吸収防止装置付semi micro buretteで，0.02N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>（f=0.997<sup>3</sup>計算上）により滴定し，遊離還元物質を測定した。なお，呈色還元時間は40~43秒と決め，洗滌用脱塩蒸留水も4回に分け総量12~15mlに決めて行ない，呈色状態を一定にした。

K) 全還元物質変化：試料溶液（酸度測定用と同じ溶液）2.0mlに2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5mlを加え，蒸

将来の食糧資源の確保と利用に関する研究

FIG. 1 CHANGE OF WEIGHT (%)

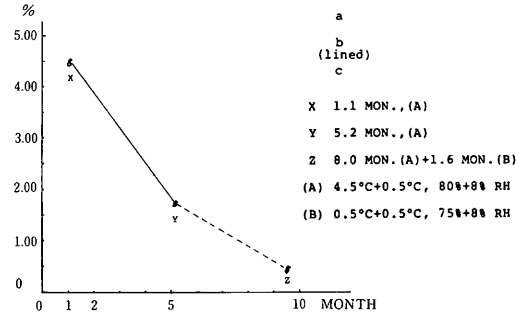


FIG. 5 CHANGE OF REFRACTION ( $d_4^t$ )

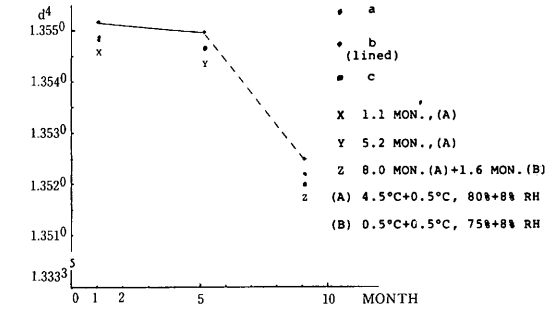


FIG. 2 CHANGE OF RELATIVE DENSITY (%)

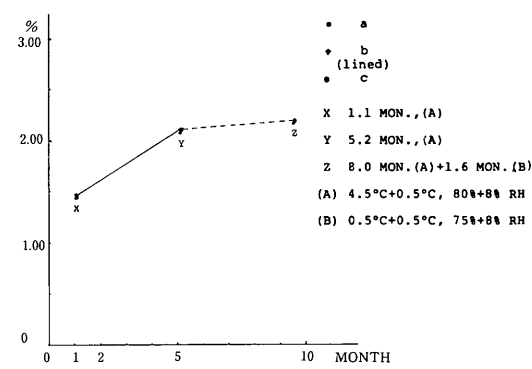


FIG. 6 CHANGE OF SACCHAROSE (%)

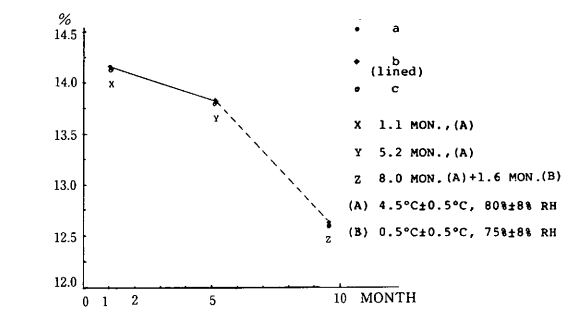


FIG. 3 CHANGE OF pH

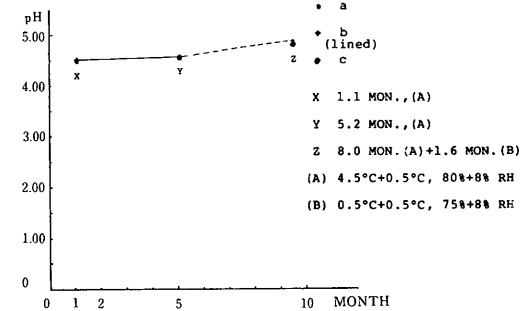


FIG. 7 CHANGE OF FREE REDUCED SUBSTANCE (ml)

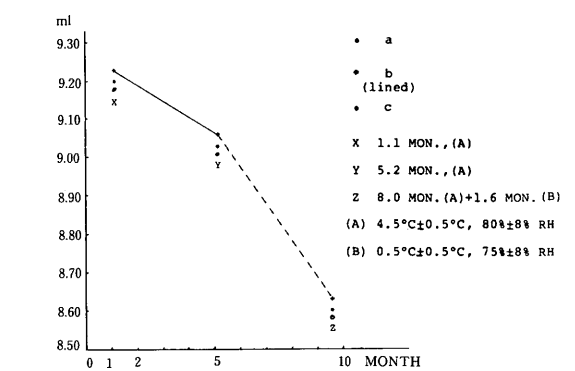


FIG. 4 CHANGE OF ACIDITY (ml)

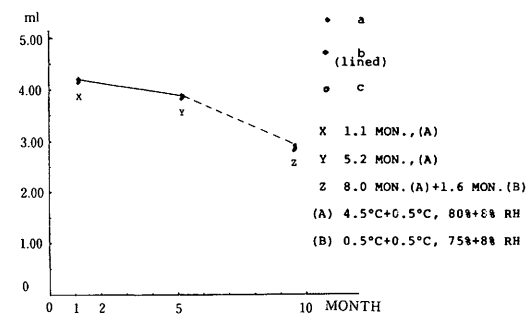


FIG. 8 CHANGE OF TOTAL REDUCED SUBSTANCE (ml)

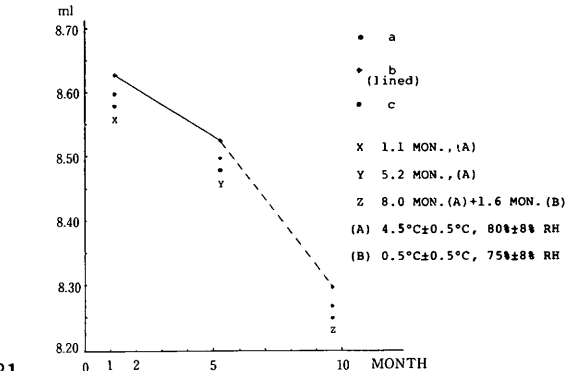
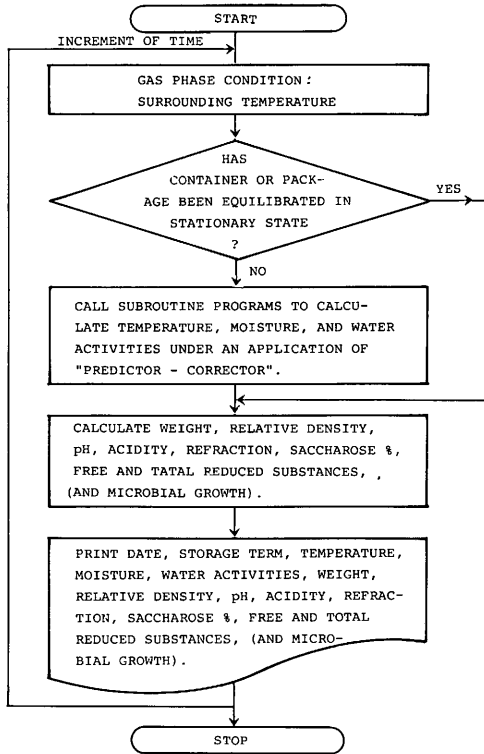


FIG. 9 THE FLOW CHART OF THE SIMULATION MODEL



発防止器をつけ、45分間（加熱時間は正確に、誤差は0～5秒以内）沸騰水浴で加熱後、直ちに流水水道水で反応溶液を急冷し、冷却確認（25～30分）後 2N NaOH で中和後、遊離還元物質定量操作と全く同じ過程で操作を行ない、前記の 0.02N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> で滴定した。

L) 測定値有効桁数と測定回数：測定機器の精度に支配される関係で原則的に3桁に留めた（平均値算出で1桁増加後四捨五入した）ので、僅少差化の傾向を示した。一部には測定単位の都合で4桁もある。他方、全測定過程において測定は最低2回を行ない、試料に余裕ある時は原則として3回を行なって測定誤差の減少と客観性を高めた。

M) 直径：赤道面で最長部の直径と最短部の直径をそれぞれ経時的にnoniusを用いて測定し、さらにそれらの平均値を算出した。

N) 高さ：赤道面に垂直で最長部の高さと同じく最短部の高さをそれぞれ経時的にnoniusを用いて測定し、さらにそれらの平均値を測定した。

第1～8図の貯蔵条件で(A)は4.5°C±0.5°C, 80%±8%相対湿度, (B)は0.5°C±0.5°C, 75%±8%相対湿度であり、貯蔵期間はXでは1.1月間(A)の条件で、Yでは5.2月間(B)の条件で、Zでは8.0月間(A)の条件でさらに1.6月間(B)の条件で連続9.6月間貯蔵した。各図において品質の変化をそれぞれの項目において測定し図示した。結点線は重り合うので1本だけにした。

第9図には模擬型の流れ図を示した。

## 考 察

前回の中間報告（第1の1報）を基に、上記の諸条件を現在可能な条件の考慮の下に設定し、実験結果は測定値差僅少のため数値表示よりも敢えて理解し易い図示化した。測定時の試料数や経時測定数の増加は正確さを向上させるが、著者1人ではこれでも多過で諸条件が制約されるため、現条件での上限値である。しかし、天然農産物に対する諸結論付への最低限の条件は十分と考える。以下各項関連要素を記した。

A：他品種、生育条件、収穫時期、試料取扱いなど多種考えられるが、これらが現状の最大範囲である。

B：第1区分では使用測定機器の精度の関係が主となり、秤量機器が2機種か3機種必要となるが、現条件可能の1機種での最大効果を求めた。他方、遺伝子頻度の関係も考慮した。

C：第一に本学附属園場の存在が最好条件であり、その代り第二に本来は千葉大学園芸学部附

属農場で収穫し(直ちに温度設定冷蔵庫に入れ)設定温度平衡輸送が好ましいが、これらの2条件は不可能であるため、可能の限りこの条件に近接した。次にZでは、 $4.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ の貯蔵条件での長期間貯蔵(8日間)で品質劣化速度が増加する傾向になることが推論しえたので、この条件の継続よりはより実験意義のある条件として $0.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ の設定とした。

今回の実験結果では $4 \sim 5^{\circ}\text{C}$ は生食用として5月間程度の貯蔵期間が品質保持上の限度であると推論された。勿論それ以上の長期貯蔵は可能であるが品質の劣化現象が明瞭になってくると推定されるので、もし5月間以上を求めるならば、温度を下げ、 $0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ にするとその要求にある期間は満足されうる。さらに延長を求められれば、細胞氷結点より極僅か高い温度( $0.01^{\circ}\text{C}$ でもよい、リンゴの場合、細胞氷結点は $-1.89^{\circ}\text{C}$ といわれているが、安全上 $-1.8^{\circ}\text{C}$ が利用限界と考える。なお、この点は品種により多少異り、未測定のため後日確認実験を行なう。他方、細胞氷結点温度維持には気相や液相のみ、あるいは気相と固相の3種類が考えられ、これらについても実験室規模から産業化規模への基礎実験を行ないつつある)が適切である。このように $4 \sim 5^{\circ}\text{C}$ よりは $0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ 、 $0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ よりは $-1.8^{\circ}\text{C}$ がより適した貯蔵温度の設定であることは容易に推論されるが、規模拡大、産業規模となると例え $1^{\circ}\text{C}$ といわれても維持経費の増加や逆に過冷却(冷気吹出附近は過冷却気味でない)と全体をその設定温度に保持できないし、貯蔵生物体の代謝による影響や断熱材料の限界も考慮しなければならぬ)などの考慮は不可欠の重要点である。そこで、設定温度の $0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ か $0 \sim -1^{\circ}\text{C}$ ( $-1.5^{\circ}\text{C}$ )の決定は後者が確実に細胞氷結を起さない(氷結させると生食用には不適切のため加工用とする。高感度感知器とそれ相当の装置が必要)ならば後者になる。本学では設備の関係でやっと次年から前者の条件の実験が可能になった。そこで $0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ の最大効用限界を検討している。一方、貯蔵条件には温

度要因だけでない。多くの場合考慮外におかれがちな湿度要因が不可欠であり、改めてこの点を強調したい。その他代謝による気体・液体・固体物質の影響も非常に重要である。これらの点は多くの過去の実験から本実験の当初より十二分に考慮されており、その報告や実験は後日に譲るが、今回は設定温度飽和(平衡)湿度である。(温湿度任意設定実験施設が必要であり、この種の実験には不可欠である。)

後記のように、一面においては細分化の実験も必要であるが、現条件下の実験を先ず行わねばならない。一般に可能の限り少数の試料や測定回数に、可能な限り多数の要因を代表する実験項目の合理的組合せを含む実験方法がより合理的であると考察するので、その一例を前報との関連において行なった。相対密度分別法を実施し、温度要素として千葉大学園芸学部貯蔵庫温度( $4 \sim 5^{\circ}\text{C}$ )を今回は基準とし、以後一連の貯蔵を続け、品質変化速度の測定により、第1条件の $4.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ を一定期間後打切り、第2条件の $0.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に切換え、貯蔵期間の延長を計り、その延長期間中の品質変化速度を測定し、適切な貯蔵期間を推論したが、第1条件あるいは第2条件の単一化連続貯蔵は設備上今回は不可能で、その組合せ条件下で推論を展開した。このように温度にいつでも2要素が混在するため、解析は容易でないが、主要傾向は十二分に推論可能である。設備改善により2~3種の単一化連続貯蔵により測定精度を上げ、本報の結論を裏付けせんとする。

D：低温室内で測定時間の短縮化と精度を考慮し、以前使用の分銅・弾性併用機種に代りに電子天秤を用いたが、一長一短があり、また1機種しかなく測定範囲が制約され、試料は市販品より多少小形を選ばざるをえなかった。

E：試料1個ごとの新標準液交換が適切であるが、諸条件が許されず10個ごととした。相対密度と品質の関連は生理障害との関連であり、前報の通りであり、本研究の独創点でもあり、適切貯蔵期間の決定に貢献し、生食用か加工用か

を選択し、経済性の高い適切な時期において市場が開かれ、安定した供給・所得・消費が維持できる結果となり、社会経済上にも有意義である。

F：使用した複合電極はneedle型と比較実験し、使用上は後者より不便であるが感度は後者より良く精密測定に適したので前者を使用した。

G：試料1個当りの測定は全対象試料が多数のため現条件では不可能である。そこで5個を1組と考え、その平均値をもって1個に対する代表的測定値とした。さて、1個につき赤道面の対象位置4部位から相対密度に基づいた算出採取量を均等に採取し、それらを均質化してその1個当りの測定値とするが第一段階として考えられる。しかし赤道面上と子后線上の対称位置を考え赤道面と子后線の交点を除く赤道面の4部位と、1子后線上の2部位で1個当り12部位から一定量ずつ採取しそれらを均質化する方法（4赤道2子后）よりも8赤道4子后がより不遍性があると考え。このように考えると、全部>12赤道6子后>8赤道4子后>8赤道2子后>6赤道2子后>4赤道2子后>4赤道1子后など考えられたし、予備実験で硝子製穴あけなどにより採取を一部試みたが現条件では4赤道0子后を行なうより方法はなかった。ただし、全部は他の同時測定が不可能のため4赤道2子后が適切と推定する。

他方、例えば5個の平均をとる時、多くの場合5個から適当にとり、均等に総採取量まで採取することがあるが、これらは全く非合理であるので、本独創的新採取法を考慮し実施した。

すなわち、分析装置など能力に基づき、5個1組当りの一定量の総採取量を決定し、各個体の相対密度↓個体は固・液・気体成分から構成され、これらが経時的に一定とは考えられず、採取時にはその変化を考慮しなければならないので、合理性のない個体当りの採取量であっては定性準位で、定量化となると本相対密度法が適切と考えられる一方、多くの場合のように単なる一定重量を根拠とする方法であっては一般

的準位の考慮に留まり、不十分であり、改良が求められ、本課題の化学的改良に矛盾を生じる。記述のとおり、本研究は他にも幾つかの根本的改良点がある↓に従って配分し、各個体から採取量が決定され、その採取された試料を集め均質化し、5個1組とした平均値で、平均化した1個当りの代表的測定値とし、質量的要素の平均値とみることができよう。

改良大型漏斗は皿部分が分離可能で内側の洗滌容易は従来型使用の不安を一掃できる。本来は減圧式でなく加圧式（不活性気体）汙過が適切であるが購入できず漏斗の改良に留ったが後日購入せんとする。しかし、前記の通り、温度、減圧度、汉過面積、汉過時間などを一定にしたが気化性物質による測定誤差は現条件で含まれている（多くの場合、この点は無視されているのが普通である。高速低温遠心分離法が考えられるが、目下予算もない一方、膠質物質の十分な沈降が非常に困難の場合も経験済みでもある）が、同一方法で可能的限りの分析を行なっているので、これらの無考慮の場合とは異なり、相対的比較と質的に優位であることは述べるまでもない。

H：多くの場合汉液をうるのに減圧法を用いるが、合目的でなければならず、今回は少量である点や気化性物質の消失などを考慮すると前記のように加圧法が適切であることが理解されるので、当然ながら加圧汉過液により試料をえた後屈折率を測定したので、酸度測定の場合と異なり、附加的要素の加わった測定法と解釈できよう。なお、小型加圧汉過器などは市販品をすぐ応用使用できるものである。考察方法、実施方法から生ずる測定精度とか測定の意味を十分に認識していれば、多くの場合、かなり多くの点で気がつき誤差を避けうるものであり、改良点となる。

I：自動温度補正式の有用な機器が製作され誤差は減少したが校正は各自確認実施しなければならない。

J：試薬調整時には微生物の混入・発生防止の

ため、容器を加熱滅菌し、buretteも溶液滅菌し、CO<sub>2</sub>の吸収防止などに注意し、Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>溶液も安定後試薬として用い、これら長期間の試薬の安定化に十二分の考慮を払った。多くの場合このような考慮や処置を経ないが、このような試薬調整時の十分な考慮によってこそはじめて長期間の安定化された経時的測定が可能になる点を強調したい。

K：注意事項はJに示した通り、諸点に注意を払わねばこれら相対測定値はえられない。

L：実験の再現性、実験誤差の可能な限りの減少化、客観性・相対性などの考慮の結果で、特に天然農産物は十二分の注意と個体差を除かねばならない。

M：物理的方法の品質管理としての意味の容積分別法（一般的方法で形質の形に対しては有効でも本実験の主要目的の1つである質に対してはその有効性は少い）には必要であるが、多数の数値群のため、今回はそれらを記載しなかった。長期間の貯蔵においてはその変化は明瞭に表われたが、重量変化より僅少である。

N：Mと同意義をもつ測定で、MとNで形質の形が測定され、容積分別法の基本になる（従来の1箱何個入の表示で、等級別に用いる）のでこの点においては必要である。多数の数値群のため、今回はそれらを記載しなかった。Mと同様に長期間貯蔵においてはその変化は明瞭化するが、MとNとではMの方が明瞭化の度は大きい傾向にある。重量変化より僅少である。

こうして考察すると長期間の貯蔵に対して、容積分別法より重量分別法がより合理性に富み、さらに重量分別法より相対密度分別法〔質量と体積(重量と体積)〕がより合理性に富んでいる。単一要素による決定より複数要素による決定の方がそのものの特性をより表示しうるものと考ええる。

O：本研究の特徴である物理的方法により品質管理する目的でその品質変化の劣化閾値すなわち適切な貯蔵期間の推論を計出できないものかと考え、計算の流れ図を示した。先づ相対密度

法で果実を容器{木・紙(波形原紙)・合成樹脂箱}、包装(合成材料製)に区分け詰入れし、貯蔵庫中に積別し、その容器または包装の表面部(一般の場合)または内部(特定の場合)に検出器を附着か密着挿入し、遠隔的に計測し、変化過程を解析し、より確定された適切な貯蔵期間を予測し、決定せんとするもので、後日行なう計測に当り、先づ流れ図、関係式(熱力学的関係式を含む)を第1次近似において考察検討し、一応その流れ図を示した。これらの関係式には今回の測定値が基礎資料となっている点は述べるまでもない。この計測は間接的方法であって、上記の諸測定値と検出値の関係を関連づけることが当然ながらprogrammingには必要条件で、検出し易い温度・湿度・熱伝導性、水活性などを基本関係式として、組立てみた。

P：試料には表皮、がく、つる(一般には表面、時には果肉内にも進入する)に菌類など微生物が繁殖する(前報<sup>1)</sup>の洗滌法によるとこれらの微生物の繁殖を完全とはいかないが不完全ながら防ぐことが可能である)のが一般的であるので、この要素も考慮しなければならない。

Q 感応試験：感応試験に属する外部的特性(表皮色、がく片附近の変色度と変色、打音、表皮の張力、つるの新鮮度と附着度など)、内部的特性〔中・内果皮の色、内部褐変の有無と状況(内部褐変の発現はもはや生食用不適で品質劣化が増加し、低程度なら加工用に、高程度なら廃棄になる)、粘弾性|硬さ(歯ごたえ)、軟かさ(歯ざわり)〕、香|果実の香気、長期間貯蔵すると昔は木箱、おがくづ、もみなどの臭、貯蔵庫(各種の貯蔵物や材料)の異物臭があったし、時には現在でもある}、酸味、甘味、水分(水気)、苦味、渋味など〕を評定しなければならず、特に客観的評定のため、既知の無機物や有機物との類似性表示が要求される。勿論、一部は精密測定機器(gas chromatographなど)による非感応的手段に置換可能でその特性を非感応の数値表示により客観性が生じ評定には有益であるが、生食用は感応的要素を要求するので、同時

に感応的表示も必要と考える。この点は見落とし易いので注意を払う必要があるが、感応試験は10年単位の経験が少くとも必要で著者程度の訓練者でなければ余り意味がなく、その期待は目下不可能で今後も困難であろう。

R 代表的成分区分：酸度変化の項で示したが、従来の多くの場合の不明確な非表示的試料採取に対し、より代表的部位からより適切な試料部分を採取すべきと考える。また一方、1個1個をこのような方法で分割採取することはより良いが、この実施は100個単位の試料が必要であり、少くとも現条件では不可能であるので、この点をもう少し集団化し分析する方法を考察した結果、今回の方法の試みとなった。試料1個単位の分析は上記の理由で不可能で、最少限の数を5個とし、5個1組で5個の各個体の特性の合計の平均値を算出し、各1個の特性を5個1組の特性に代表させた点である。この主要の複数の目的に合致させるために、5個からの一定の必要（分析上の条件を満足する）量（総採取量）を決め、その量を5個に対し、1個ごとの相対密度から1個当りの採取量を算出し、その1個当りの採取量を決め、その採取量を赤道面の対称位置（圃場実験では、その対称位置の基点となる第1番目の部位は試料自身を枝から採取する時に決まる。すなわち、南側を基点として、記をつけ、そこから対称位置を360度の $\frac{1}{4}$ （4赤道0子后の場合、前記の通りである）の間隔で決め、それぞれの4個所の部位からその1個当りの採取量の $\frac{1}{4}$ なる一定量を採取する）から採取する。現在の条件では上記の実験は不可能であるがこの方法に可能の限り接近させた。すなわち、試料は南面の記もなく任意に収穫され、輸送され、区分別が不可能のため、これに対し、第1番目の基点は果皮の最赤色部位とし、前記の採取を行ない測定した。

前記の赤道数は赤道面での対称の等分数で（その部位から定義の採取を行ない）子后数は子后線上で両極と赤道面との交点と子后数の合計数の対称の等分数から子后線上で両極と赤道面と

の交点の数3を減じた数でその部位から定義の採取を行なう。このような採取法は独創的で同種の試料分析には有効であり、質面と量面を考慮した本課題の改良法の1例である。

実験課程で測定時の間隔の短縮化や各種設定の条件付貯蔵の多区分化や各種分析数の増加などはより詳細な実験結果をえ、より精密さの推論が可能であるが現在不可能である。

温度変化も15~16℃から0~1℃、さらに細胞氷結温度より極僅の高温度、急速極低温凍結（特殊の場合は急速解凍で生食用となるが普通の場合は加工用に適し非経済性である）などの温度要素効果とその影響、さらに湿度要素効果（重要であるが実験は一般的でない）とその影響も詳細に実験を重ねねばならない。果実も凍結など行なわないと代謝しやがて自己消化するが水分は不可欠で湿度は品質保持には重要である。一般に低湿度化の影響による品質劣化に対し歯止めが必要である。目下は温度飽和平衡湿度の貯蔵で定温定湿貯蔵は予算上不可能で当分望めないが実験の必要性がある。Controlled Atmosphere StorageでCO<sub>2</sub>の水吸収法は湿度を温度飽和平衡で水不足は一応おさえられるため貯蔵物は水不足をある期間保持するのに有効であるが使用水量が莫大でその取水条件、経済性も相当に重要である。またNaOH溶液、Ca(OH)<sub>2</sub>吸収法は飽和蒸気圧の関係で後者は前者よりかなり低湿化を示すが、吸着後の利用は大差をもって有利であり、このような諸点までを考慮しなければならない。経済性・廃棄（公害性）・再利用・効率（水は意外に維持費がかかる）その他、多数の実験項目がある。

酵素化学的測定（加水分解・代謝・呼吸などの関連酵素の特性の測定。一部は実験中）も当然必要である。

保蔵効果の向上として、薄膜附着法、Polyethylene包（気体透過特性を利用する方法、一部は実験済あるが、特種輸送・保蔵容器も基本設計は終了済で産業化を期待している）も実験項目に入れる必要がある。



第1の1報に示した相対密度法により、適切貯蔵期間が推論できたので、その結果を応用し、今回は適切貯蔵期間決定に目的をしぼり、品質の経時変化に重点をおき、近似的適正貯蔵期間の推論を試みた。

品質劣化傾向の大きい試料は相対密度が大きい区分（所謂密入りで美味である）に認められたので、生鮮食品とくに生食用としてその価値を保持するには、品質劣化速度↓貯蔵は代謝の関係で完全凍結以外は品質劣化を当然伴うものであるが、劣化程度をどの程度にまで許容するかが意味の有りどころである。一般に品質を良化することは不可能で劣化を留めたり、抑えたりする方法しか前述の特例以外にはありえない。この点、本実験の目的である貯蔵前に貯蔵物をその特性に基づいて区分別することが最大重要条件であり、それに対しては本相対密度法が1方法であり、独創的でもある。そこで、当初の区分別後、劣化速度の不連続的増加発生直前点すなわち劣化閾値（新しい表示）を見出せばよいことになる↓の測定に依存することが身近な得策であり、有効手法である。従って、品質劣化を化学的手段（対象試料を破壊するので不適切な方法である）によらないで、物理的手段（対象試料を非破壊的にその特性に応じ測定が可能のため、適切な方法である）によることが必要条件となる。その1例としての本方法は低経費であり、併存的利点もあり、本質的には品質変化を生じない。その併存的利点として、附着農薬の洗滌・脱着（食品への公害防止）を兼ね合せたもので、本相対密度法は比類のない適切な方法といえよう。他にこの利点について2種以上の方法も基礎的実験に組入れ、規模拡大に対する基礎的測定も試みつつある。これらの課題に対しては、先ずその物質の特性を十分認識してから初めて諸取扱が可能となることを取って述べておきたい。

前述のとおり、当初の推論とおり、適切な（有意義な）貯蔵期間の決定にあたり、貯蔵前の試料選別により有効な貯蔵期間が決定可能である

という1例として結論づけられるものと考えられる。

## 結 論

本実験の特徴である相対密度法により試料（リンゴ、delicious）を貯蔵開始以前に予め区分別し、相対密度（0.85以上、所謂蜜入り）の試料は生食用（最高度の利用）として、 $4.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $80\% \pm 8\%$ 相対湿度で約5月間（ $0.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $75\% \pm 8\%$ 相対湿度の場合は多少貯蔵期間が延長可能である）までが適切な貯蔵期間の限度であった。なお、品質変化の測定には、重量、相対密度、pH、酸度、屈折率、糖度、遊離還元物質、全還元物質の変化を対象として、上記の推論を検証した。一方、物理的方法により上記の適切な貯蔵期間を間接的（一部は直接的）に検出・機械計算化するためのsimulation modelのflow chartを示した。

## 参 考 文 献

- 1) 堀津圭佑：東京家政大学生活科学研究所研究報告 7, 48 (1984)
- 2), 3), 4) 和光純薬株式会社 試薬特級
- 5) Somogyi, M: J. Biol. Chem. 195, 19 (1952)

## 2. セルロース分解微生物について

分担研究者 神野 節子

### I はじめに

セルロースは植物の細胞壁膜物質の主成分をなし、その量は植物体の $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{1}{4}$ を占めている。木材、紙類、綿および綿繊維製品、もみ殻、わらそしてバガスなどはすべてセルロースである。

これらの廃資源は大量に産出されているが殆んど利用されることもなく朽ち、焼かれあるいは埋められる。埋められたものは土壤中のセルロース分解菌によって無機物へと還元される。そこで、限りのある資源の中で、これらの廃資源中のセルロースを利用して食料・飼料・化学原料や燃料用アルコールを得るために、セルロース分解菌を利用して糖源に変え、これに酵母などを培養してたんぱく質源に転換するとか、エタノールやその他に変えるための基礎研究や応用技術の開発が望まれている。

反面、木綿やその製品、建築資材などを攻撃損傷するセルロース分解微生物の生育防止が問題となっている。

このように廃資源の利用や資源の保護の観点から、セルロース分解微生物についての関心は次第に高まって来ている。

1928年以降約90種類のカビのセルロースについての研究が報告されており、一応基礎研究や基礎試験は終わっているように思えるが、今後の課題としては、さらに強力なセルロース分解微生物を変異により、あるいは遺伝子の組合せにより造り出すか、新たに土壌、紙、繊維や壁などから探し出し、これを効率よく利用する応用技術を開発することであろう。

筆者は、繊維製品や建築内装材から汚染カビを分離して手許に沢山の菌株を持っているので、この中から、今までに研究されていない強力なセルロース分解菌を見つけることを目的として、第1段階は、セルラーゼ活性のある菌を選択し

た。今回はその選択菌の一部について報じる。

## II セルロース分解菌の選択

### 1. 方法

#### 1) セルロース分解菌選択培地

組成

NaNO <sub>3</sub>	3.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
KCl	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.001 g
麦芽エキス*	0.5 g
粉末寒天	15.0 g
蒸留水	1,000ml

\*注 綿糸と綿布の試験用には抜く。

#### 2) 供試セルロース

- ① セルロースパウダー (whatman)
- ② 汙紙 2×5cm (東洋汙紙No.2)
- ③ 綿布 5×5cm
- ④ 綿糸 未加工綿糸 長さ10cm 10本

#### 3) 調整

① セルロースパウダーは培地に混入して常法により滅菌して平板とした。

② 汙紙は試験管に入れて乾熱滅菌しておいた。培地は中試験に約15mlずつ分注して滅菌後平板とし、凝固後汙紙を無菌的にその上に接紙した。あるいは斜面寒天上に汙紙をおいた。

③ 綿布は0.2%濃度の中性洗剤で30分沸騰煮沸後、充分水洗して、汙紙上で乾燥させ、培地とは別に高圧蒸気滅菌した後、調整した平板培地上に接布した。

④ 綿布はアセトンで洗浄→乾燥→消毒用エタノールで洗浄→汙紙上で乾燥→高圧蒸気滅菌したものを綿布と同様に平板培地上に並べて接糸した。

#### 4) カビの接種・培養

麦芽汁寒天斜面に培養しておいたバティック (Batik) あるいは各国各地からの分離菌を、次のように、各々に接種し、25℃で培養した。

- ① セルロースパウダー混入平板は倒置し

て下から白金鈎で3点、点培養。

② 平板に、写真2に示した通り沔紙2枚を接紙した上から直角に1白線沔紙中央に画線した。

③ 綿布と綿糸：あらかじめ、防菌防霉加工の有無を *Staphyrococcus aureus* 209-P を用いて、ハローテストで試験して、この菌の阻止帯のないことを確認して供試した。この試験に用いたシャーレーは直径12.5cm、不足分は普通に使用する9cmを用いた。分離カビを1白金耳10mlの生理滅菌水に入れて孢子懸濁液をつくり径12.5cmシャーレーには2ml、径9cmのシャーレーには1ml、滅菌メスピペットで注入後約45°Cの培地を注加混釈凝固した。その上に試布あるいは試糸をおいた。

### III. セルロース分解菌についての試験結果

バティック(Batik)、繊維、各地各国の壁から分離したカビのうち、上記の試験方法により、セルロース分解菌であることが判明した菌株のうちの一部を表及び写真で示した。

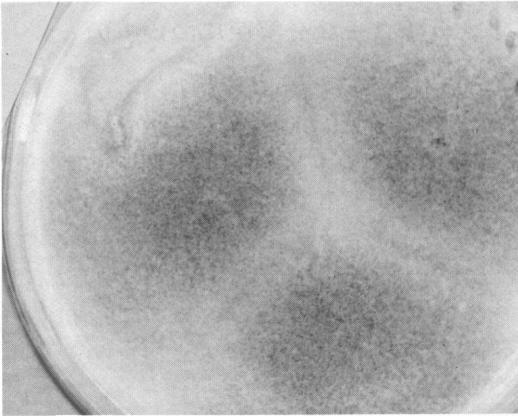
表1は、バティックおよび壁から分離した63菌株について試験して、セルロースに生育した主要菌株についてまとめ、またそのうちの一部については、写真1~6に示した。

表1 セルラーゼ試験成績

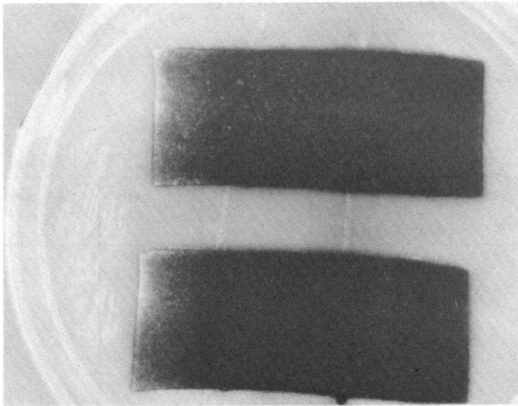
No.	菌名	分離場所	C.M.C. コロニーの 大きさ(mm)	25°C, 培養14日		
				沔紙 G	綿布 G	綿糸 G
1×	<i>Aspergillus versicolor</i>	Batik ロウ上	0.9~2.6	+	+	—
2	<i>A. ustus</i> group	Batik	1.7~3.6	+	+	+
3	<i>A. flavus</i> group	Batik	全面	+	+	+
4×	<i>Acremonium</i>	沖繩柳沢家浴室	5.0	+	+	+
5×	"	米子グランドホテル浴室	—	+	+	+
6×	"	千葉豊四季団地浴室	2.0	+	+	+
7	<i>Alternaria</i>	沖繩団地南西室	—	+	+	+
* 8	<i>A. sp.</i>	軽井沢部屋	—	+	+	+
9×	<i>Calcarisporium</i>	柏 窓硝子	0.9	+	+	+
* 10	<i>Chaetomium globosum</i>	Batik	3.6	+	+	+
11	<i>Cladosporium</i>	東京若木団地便所	1.6	+	+	+
12	<i>C. cladosporioides</i>	綿布	0.2	+	+	+
* 13	<i>Curvularia</i>	K-124 壁	3.5	+	+	+
* 14×	<i>Doratomyces</i> Coda	Batik	全面	+	+	+
15	<i>Fusarium</i>	浜見平 K-301	3.3	+	+	—
16	<i>F.</i>	Batik	1.8	+	+	—
17×	<i>Gliomastix</i>	モップ	1.3	+	+	+
18	<i>Phoma</i>	山百合荘浴室	—	+	+	+
19×	<i>Scopulariopsis</i>	沖繩凱美壁	3.0	+	+	+
* 20	<i>Stachybotrys atra</i>	K大農学部ボイラー室	3.8	+	+	+
21	<i>Trichoderma</i>	白河院	3.5	+	+	+
22	<i>T.</i>	学生会館天井	全面	+	+	+
* 23×	<i>Ulocladium</i>	K-141 壁	全面	+	+	+

注1) \*写真でも示した。

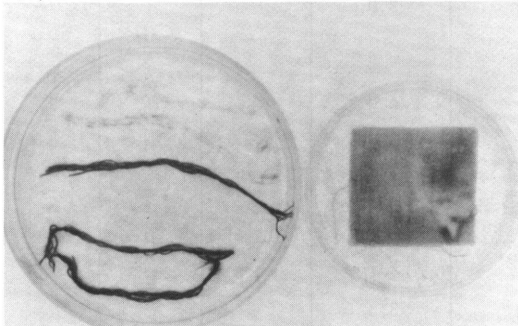
注) G: 菌の生育  
 — 菌生育せず  
 + 僅少生育(1/3以下)  
 ++ 約半分生育  
 +++ 全面に生育



1-1)



1-2)

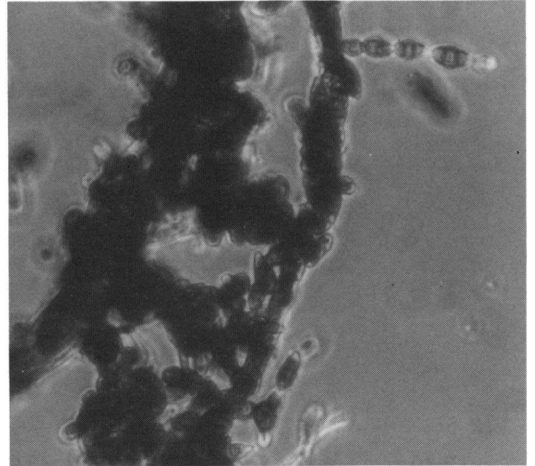


1-3)

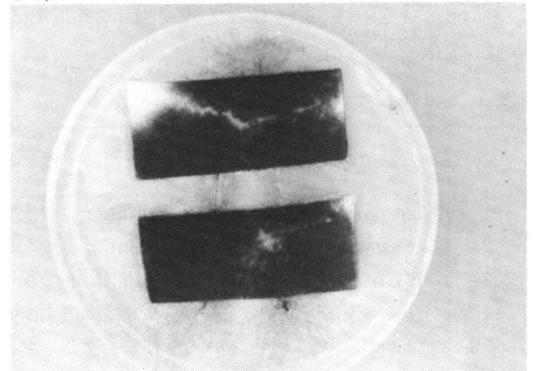
写真1 *Ulocladium*の生育したセルロース培養25°C, 14日

- 注 1)セルロースパウダー混入平板に点培養  
2)平板寒天上の沱紙に画線培養  
3)無機培地にカビを混積平板上に接糸(左), 接布(右)

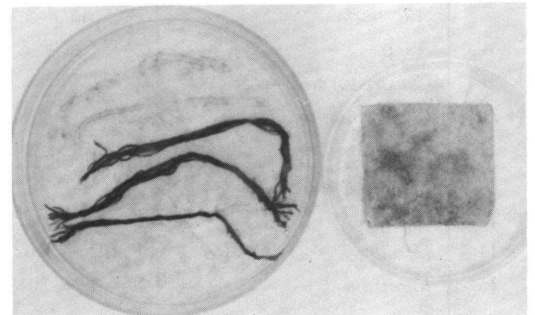
(神野原図)



2-1)



2-2)

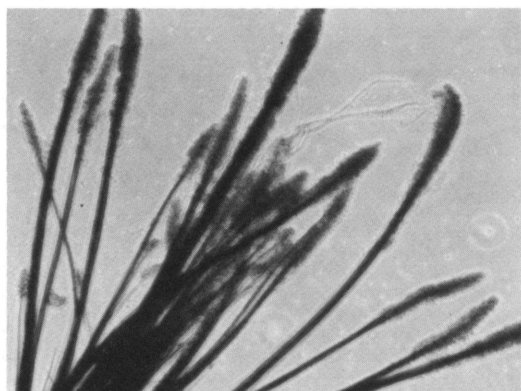


2-3)

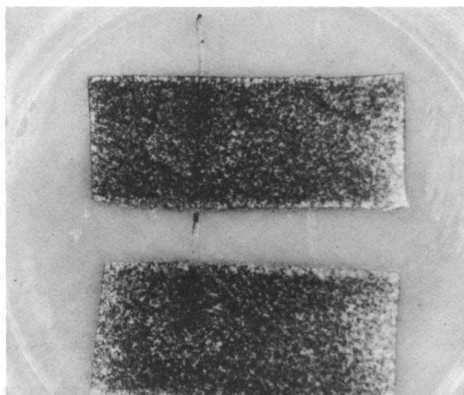
写真2 *Alternaria*の生育したセルロース培養25°C, 14日

- 注 1)綿糸に生育した*Alternaria*(顕微鏡)  
2)沱紙  
3)左綿糸, 右綿布

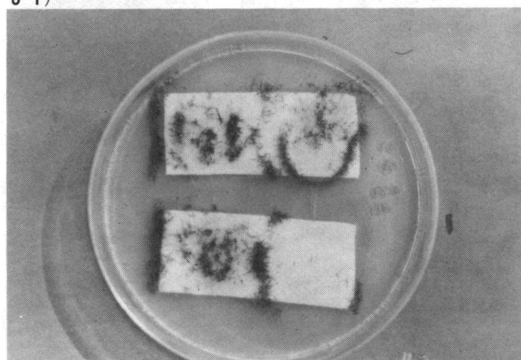
(神野原図)



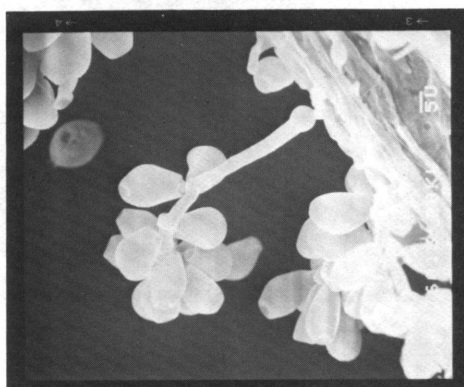
3-1)



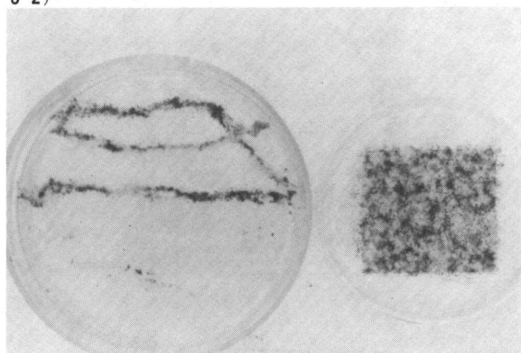
4-1)



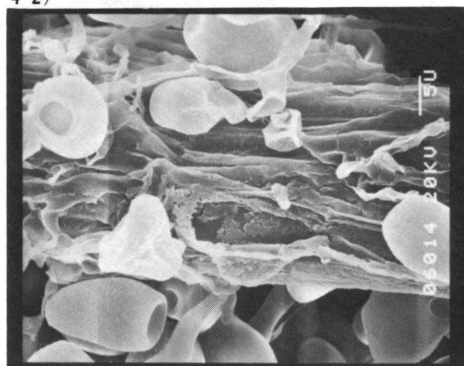
3-2)



4-2)



3-3)



4-3)

写真3 *Doratomyces Corda* の生育したセルロース

培養25℃, 15日

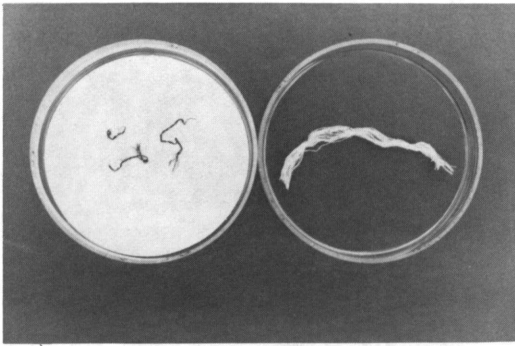
- 注 1) *Doratomyces Corda* (顕微鏡)  
 2) 沓紙  
 3) 左 綿糸 右 綿布

(神野原図)

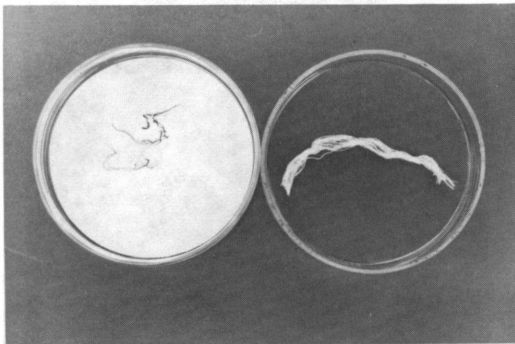
写真4 *Curvularia* の生育したセルロース

- 注 1) 沓紙に生育  
 2) 綿糸上  
 3) 綿糸を崩壊 } 走査顕微鏡

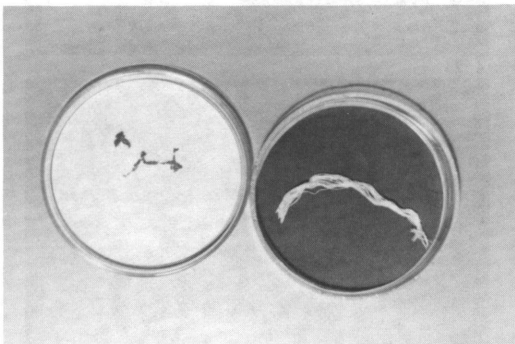
(神野原図)



5-1)



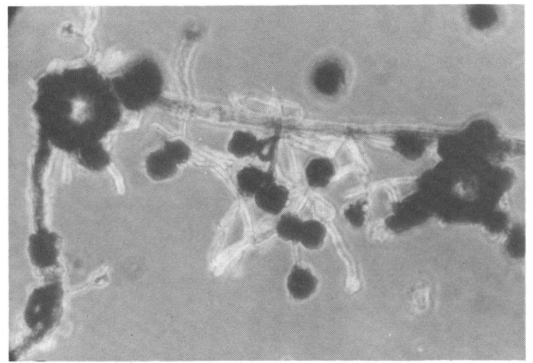
5-2)



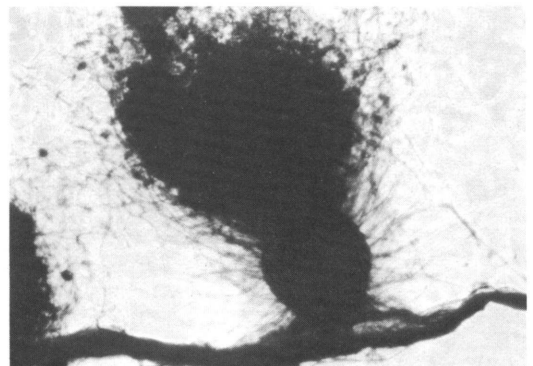
5-3)



6-1)



6-2)



6-3)

写真5 カビによって崩壊した綿糸  
培養25°C, 14日後

- 注 1) *Ulocladium* K-141  
2) *Stachybotrys atra*  
3) *Chaetomium globosum*

(神野原図)

写真6 綿糸に生育したカビ(顕微鏡下)  
培養25°C, 14日

- 注 1) *Ulocladium* K-141  
2) *Stachybotrys atra*  
3) *Chaetomium globosum*

(神野原図)

表2 *Aspergillus* 属及び *Penicillium* 属のセルラーゼ

No.	菌名	分離源	沱紙	増殖 (°C) 温度 至適	pH
1×	<i>Aspergillus emericella</i>	壁 K-950	卅	25~43<(30)	3~12
2×	<i>A. foetidus</i>	壁 K-656	+	25~43<(30)	3~12
3×	<i>A. flavipes</i>	壁 K-961	卅	25~43 (30)	2~12
4×	<i>A. japonicus</i> 5菌	壁 今治他(H)-516~520	十~卅	25~43<(37)	2~12
5×	<i>A. ochraceus</i> group	壁 K-561	+	25~37 (25)	3~12
6	<i>A. sydowii</i> 4菌	壁 (H)	十~卅	25~43 (25)	3~10<
7	<i>Penicillium citrinum</i> 3菌	壁 (土, 塩ビ, セメント)	卅	25~37 (25)	2~12
8×	<i>P. frequentans</i> 5菌	壁 (木, セメントなど)	卅	5~30 (25)	2~12
9	<i>P. sp.</i>	壁 (塩ビ)	卅	25~35 (25)	3~12
10×	<i>P. likaedman</i>	壁 (しっくい)	卅	25~30 (25)	2~11
11×	<i>P. restrictum</i> 2菌	壁 (ITK)	卅	25~30 (25)	2~11

セルロースパワーを用いた培地では分解されると透明になるが、培地の底に沈澱して、表面に点培養した菌には利用しがたいものもあり、沱紙を培地表面にのせた方が利用された。供試63菌株のうち同じ属のもので分離源は異なってもほぼ同じ様な成績のものをまとめて表1に23菌株表示した。

×印の *Aspergillus versicolor*, *Acremonium*, *Calcarisporium*, *Doratomyces* Corda, *Gliomastix*, *Scopulariopsis*, *Ulocladium* については従来のセルラーゼ研究に用いられていない。

沱紙、綿布および綿糸を用いた試験に於て、写真に示した通り、試験カビは殆んど培地には増殖しないで、培地上のこれらのセルロースに集まり、栄養源として利用し増殖するのが見られた。

試験菌のうちセルロース源によく増殖した菌は次の通りであった。

*Acremonium*, *Alternaria*, *Chaetomium globosum*, *Curvularia*, *Doratomyces* Corda, *Gliomastix*, *Stachybotrys atra*, *Ulocladium* であった。

そのうち、写真5に示した下記3菌は綿繊維25°C、14日培養でぼろぼろに崩壊した。

*Chaetomium globosum*, *Stachybotrys atra*, *Ulocladium* K-141。

表2は壁から分離した *Aspergillus* 属と *Penicillium* 属のセルラーゼについて沱紙による選択を行い、併せて増殖至適温度と増殖温度域ならびに増殖可能PH域について調べた結果を表示した。

表中×印の菌についての従来のセルラーゼ研究報告は見ないように思う。

*Aspergillus* のうち、温度の高い高知の温泉、あるいは真夏ハバロフスクのホテル壁を汚染していた菌 *A. sydowii* は43°Cでも増殖したが、四国今治の浴室壁他からの分離菌は43°C以上でも増殖し、一般のカビは増殖しにくい37°Cが至適温度であった。

*Aspergillus* 属の供試菌のうち、特に沱紙によく生育したのは、*A. emericella*, *A. flavipes* であった。また *A. japonicus* 5菌株のうちの1種 *A. sydowii* 4菌株中の1種も沱紙によく生育した。

高温で安定な酵素活性を持つ菌が探されている折柄、次の3菌株は43°Cで増殖した。しかも現在までにセルラーゼについての報告例を見ないように思うので今後検討してみたい。

*A. emericella*, *A. foetidus*, *A. japonicus*

これらの菌のうち *A. flavipes* と *A. sydowii* は、特にアルカリに強い菌であった。

*Penicillium* 属の供試菌のうちでは、沱紙上で

最もよく増殖したのは *P. frequentans* (5図のうち特に1菌株), *P. likaedman*, *P. restrictum* であった。従来これらの菌についてのセルラーゼの研究も見ないように思うので、今後検討したい。

一般に *Penicillium* の増殖最高温度は30°C付近にあり, *P. citrinum* が37°Cで増殖した。*Aspergillus* 属の至適温度が30°C, 37°Cのものがあったが, *Penicillium* の供試菌は30°Cより低い25°Cが増殖適温であった。

さらに *Ulocradium* 属, *Alternaria* 属, *Cladosporium* 属, *Acremonium* 属, *Trichoderma* 属他からもセルラーゼ産生菌の選択を行っている。

今回は中間報告なので、一応ここまでとする。

セルラーゼ活性の強い菌については、さきはこの東京家政大研究報告第6集で述べた、酵素レベルの実験方法により、試験を行って、利用可能性のある菌を探しているので次の機会に報告する予定である。

本研究にあたり、教示を賜っている西澤一俊博士、ならびに *Aspergillus* と *Penicillium* の同定をいただいた千葉大学、生活活性研究所堀江義一技官に謝意を表します。

#### 参考文献

1. 西澤一俊：セルラーゼの研究 南江堂 (1974)
3. 神野節子：東京家政大、生活科学研究報告  
6, 99 (1983)
2. 西澤一俊：セルラーゼの最近の問題 蛋白質 核酸  
酵素 22 (7) 960 (1977)



### 3. 将来の食糧資源の確保に関する研究

研究分担者 木元 幸一

私の分担は、将来の食糧資源の確保の手段として、酵素化学的な方法を用いてアプローチする事である。大きく分けてそれには2つの方法がある。一つは、現在の食品材料に酵素化学的な処理を行なう事により、新しい食用可能な物質とするか、もう一つは、新しい生物資源を見出した場合、それを利用加工する時や保存する時、その生物が持っている酵素的、生化学的変動の実態をとらえる事により、加工利用、保存上、障害となる条件を取り除いたり、逆に、有益となる条件を助長したりする事である。

生物の、エサに対する固体効率（蛋白生産効率）光合成を営む植物が断然高く、次いで魚貝類、哺乳類の順となる。クロレラ等の蛋白合成食を家畜のエサに供給しても、期待ほどには、蛋白転換率はよくない。吉田昭作によれば、ブリやマスなどの高級魚は、10%くらい、イワシやサンマで、数十%台、一番高いタコの場合、エサの蛋白質の70~75%を自分の身体の蛋白質に転換してしまう。このように魚は、資源効率としては悪くない。また日本は、四方を海に囲まれており、昔から魚とは馴れ合っているわけで、食品としての利用も、その魚類の製品としての種類の多さも、世界一であろう。魚の調理方法始め、その化学的性質や、成育や繁殖についても、他国とくらべてよく研究されている。魚類の場合、微生物を使うよりはるかに食べやすい蛋白質の形になっていると考えても良いようである。

このような状況の中で、南極産オキアミは、人類最後の蛋白栄養源といわれている。約30億トンといわれる膨大な未利用資源であり、オキアミを含む食物連鎖に悪影響を与えない量としては、毎年7,000万トンという数字が算出されている。我国の魚獲高が現在1,000~1,500万トンという数字が算出されている事を考えると、

なんと魅力的な数字であろうか。オキアミの栄養価は、牛肉、アジ、クルマエビなどに比較しても劣らず、一般の魚貝類に比較しても、高い方である。（別表I）脂肪、ビタミンAも多い。またオキアミは、植物プランクトンを餌としており、植物蛋白質を動物蛋白質に転換している事になる。オキアミは、他の魚類や、家畜の餌料としてもよく、勿論人間の食糧としても、充分使用し得る。オキアミは、すでに、種々利用されており、生冷凍品、ボイル治凍品、姿身肉、有用色素（ビタミンA）、すり身、フィッシュブロック、塩溶性蛋白（ミオゼリー）、カニ肉用色素などである。日本以外の国でも、ソ連、東ドイツ等では、ペースト、水産練り製品として試作検討されている。

表I 栄養価の比較表

			栄 養 価
全	卵	タンパク	100
煮熟オキアミ		〃	87
魚	肉	〃	80
牛	肉	〃	80
	カ	ゼ イ ン	77

農林省産業研究成果発表（1978） 三輪勝利

オキアミの食品加工利用上の大きな障害は、その蛋白分解酵素による自己消化が原因と思われる。オキアミ蛋白質の損失と、鮮度の低下である。私は、南極産オキアミ中の蛋白分解酵素を種々精製し、それらが非常によく蛋白質を分解し、動物の消化管中の酵素とは異なるタイプの酵素である事をつきとめた。

南極産オキアミの蛋白分解活性を調べると、次のようになる。Fig. 1より明らかなように、ヘモグロビンをよく分解する酸性プロテアーゼ、カゼインを分解する中性プロテアーゼ、ベンゾイルアルギニン-P-ニトロアニリドを分解するトリプシントタイプのプロテアーゼなどの存在が見出された。

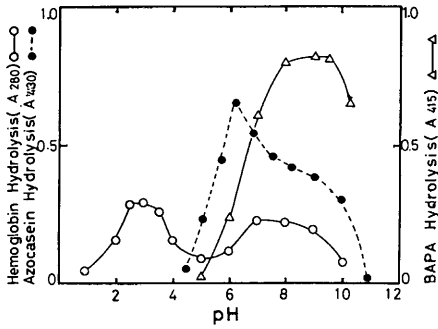


Fig. 1

酸性プロテアーゼAとBが精製された。その分子量は、酸性プロテアーゼAは、45,000、酸性プロテアーゼBは、64,000と決定された。その酵素的性質は、Table. I のとおりである。

Table. I Enzymatic properties of acid proteinase A and B

	Acid proteinase A	Acid proteinase B
Optimum pH	2.5-3	2.5-3
Optimum temperature	40°C	40°C
pH stability*	2.5-6	2.5-6
Thermo-stability**	0-30°C	0-30°C
Substrate specificity***		
Hemoglobin	100%	100%
Casein	66	52
Bovine serum albumin	5	8

\* The enzyme solution after Sephadex G-100 left standing at 4°C and various pH for 24 hr. After that, the residual activity was measured for pH stability.

\*\* Thermo-stability was measured after the enzyme solution left standing for 20 min at pH 3.0 and various temperature.

\*\*\* Acid proteinase was assayed at pH 3.0 as described in "Materials and Methods", using 1X concentration of each substrate.

中性プロテアーゼについては、数種のプロテアーゼの存在が見出され、プロテアーゼA<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B, Cが単離された。プロテアーゼのA<sub>2</sub>は、ベンゾイルルアルギニン-P-ニトロアニリドで分解せず、カゼインを分解する。また、キモスタチンで限定される事より、キモトリプシンの酵素であると思われる。プロテアーゼA<sub>2</sub>の

酵素的性質は、Table. II に示す。

Table. II Properties of Proteinase A<sub>2</sub>

Proteinase A<sub>2</sub> was left standing at 37°C and various pHs for 30 min. After that, the residual activity was measured as to pH stability. Thermo-stability was measured after the enzyme solution had been standing for 20 min at pH 7.0 and various temperatures. The isoelectric point was determined by the procedure used for column electrophoresis as described by Vesterberg and Svensson<sup>11)</sup>.

Optimum pH	
towards azocasein	pH 6.0
towards casein	pH 8.0
Optimum temperature	45°C
pH-stability	5.5-9.3
Thermo-stability	0-40°C
Isoelectric point	3.0

プロテアーゼA<sub>1</sub>, B, Cについては、ベンゾイルルアルギニン-P-ニトロアニリドをよく分解し、大豆トリプシンインヒビター、DFP, Leupeptin, Antipairで阻害される事より、トリプシンの酵素であると確認された。しかし、哺乳類のトリプシンと違って、酸性では不安定であった。その酵素的性質をTable IIIに示す。

Table III Properties of Proteinases A, B and C

The proteinases B and C left standing at 4°C and various pH for 24 hr. After that, the residual activity was measured for pH stability.

Thermo stability was measured after the enzyme solution standing for 20 min at pH 6.0 and various temperature.

Proteinases A, B and C					
Optimal pH	8.0				
Optimal temperature	55°C				
pH-stability	5.5-9.5				
Thermo-stability	0-45°C				
Molecular weight	<table border="0"> <tr> <td>    { gel filtration</td> <td>28,000</td> </tr> <tr> <td>    { electrophoresis</td> <td>30,000</td> </tr> </table>	{ gel filtration	28,000	{ electrophoresis	30,000
{ gel filtration	28,000				
{ electrophoresis	30,000				
Isoelectric point	2.6				

以上のプロテアーゼは、何れもエンドタイプのプロテアーゼであるが、エキソタイプのプロテアーゼについてもその存在が予測され、アミノペプチターゼの存在を見出し、それを単離、精製し、その酵素的性質を決定した。分子量は140,000と決定された。阻害剤の影響は、Table IVのとうりであるが、EDTAで阻害される事より、メタルエンザイムである事が予測された。金属の中では、 $Co^{++}$ によって最もよく活性化された。また、アラニンペプチドをよく分解する事より、アラニンアミノペプチターゼの一種であると思われる。

南極産オキアミは、その身肉部を原料としての加工食品を作る事が有用であるが、身肉部の蛋白質が他の魚とくらべて非常にもろく、加工利用上の大きな障害となっている。また身肉部における蛋白分解に関わると思われるプロテアーゼについての報告はまだない。そこで、私は、南極産オキアミを身肉部と頭胸部に分割して、その身肉部中のプロテアーゼについて研究を進

めた。まず、Table Vに示したのは、頭胸部と身肉部のプロテアーゼ活性の比較である。ベンゾイルアルギニン-P-ニトロアニリドを分解するトリプシントイプのプロテアーゼは、身肉部には、見出されなかった。酸性付近で、ヘモグロビンを分解する酵素と、pH6付近でアゾカゼインを分解する酵素の存在が見出された。この酵素を精製し、プロテアーゼI、II、IIIが得られた。それらの酵素的性質は、プロテアーゼIは、pH4でヘモグロビンを、pH5でアゾカゼインをよく分解した。また、Table VIで示したように、leupeptinなどで阻害され、ペプスタチンで阻害されない事より、カテプシンLタイプのアミンプロテアーゼと確認された。プロテアーゼIIは、pH6でアゾカゼインをよく分解したが、強い阻害剤は見出されなかった。プロテアーゼIIIは、pH3でヘモグロビンを分解し、ペプスタチンで阻害される事より、カテプシンDタイプのプロテアーゼと確認された。

Table IV Effects of Various Inhibitors

0.2 ml of enzyme solution(0.004 mg protein) in 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.5, was preincubated with 0.02 ml of each inhibitor at 37°C for 15 min. The remaining activity was assayed by using L-leucyl-p-nitroanilide. The concentrations of inhibitors show the final concentration of the preincubation mixture.

Inhibitors	Concentration	Remaining Activity
Amastatin	$5 \times 10^{-5}$ M	9 %
Bestatin	$1 \times 10^{-4}$ M	36 %
PCMB	1 mM	90 %
PMSF	1 mM	100 %
Phosphoramidon	$5 \times 10^{-4}$ M	100 %
Monoiodoacetic acid	1 mM	100 %
EDTA	10 mM	9 %
HgCl <sub>2</sub>	1 mM	15 %

Table V Proteinase Activities of Cephalothorax and Abdomen Parts E. Superba.

Substrate	pH*	Cephalothorax part	Abdomen Part
hemoglobin	3	6.2 units/ml/hr.	1.2 units/ml/hr
azocasein	6	6.6 units/ml/hr.	0.17 units/ml/hr
BAPA	8	7.3 units/ml/min.	0

\*This indicates the pH values in the proteinase assays.

Table VI Effects of Inhibitors on Proteinase Activities

0.2 ml of Enzyme solution was preincubated with 0.02 ml of each inhibitor at 37°C for 15 min. The remaining activity was assayed. The concentrations of all inhibitors were 1 mM in the preincubation mixture except for STI(soybean trypsin inhibitor)which was 1 mg/ml.

Inhibitors	Proteinase I		Proteinase II	Proteinase III
	at pHs 3.0 and 5.0*			
PMSF	98 %	96 %	80 %	92 %
DFP	94	95	97	99
STI	97	90	73	95
pepstatin	90	100	61	6
antipain	17	40	80	95
leupeptin	10	30	81	40
chymostatin	2	41	84	92
monoiodoacetic acid	31	56	93	88
TLCK	17	47	100	86
TPCK	98	99	96	100
PCMB	40	50	83	81
EUTA	100	100	95	94
dithiothreitol	100	100	100	100

\*Proteinase I was assayed by using hemoglobin at pH 3.0 and azocasein at pH 6.0.