

## 酵素の放射線処理

誌名	食品総合研究所研究報告 = Report of National Food Research Institute
ISSN	03019780
著者名	川嶋, 浩二 田中, 芳一 梅田, 圭司
発行元	農林省食品総合研究所
巻/号	30号
掲載ページ	p. 83-85
発行年月	1975年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 酵素の放射線処理

### (第2報) 電子線照射による酵素製剤の殺菌

川嶋 浩二, 田中 芳一, 梅田 圭司

酵素は一般に放射線抵抗性が非常に高く、数メガラッドの放射線照射した後もなお強い活性を示すことが知られている。そのため、放射線殺菌した食品も貯蔵中に酵素的に自己消化し、腐敗はしないがドリップを多量に生成するなどの原因となる。

このことから我々は、酵素活性を低下させることなく酵素中の汚染微生物を殺菌する目的で、アミラーゼ製剤のコバルト60ガンマー線による放射線殺菌を報告したが(1)、今回は、加速電子線により種々の酵素製剤の放射線殺菌を試みた。

#### 実験方法

##### 1. 供試酵素

田辺製薬(株)および味の素(株)より供与された *Rhizopus* 由来の酸性アミラーゼ、*Aspergillus* 由来のナリンジナーゼ、ヘスベリジナーゼ、ラクターゼ、アミラーゼ、中性プロテアーゼ、*Bacillus* 由来のアルカリプロテアーゼの7種の酵素製剤を精製することなくそのまま供試した。これらの酵素はいづれも工場規模で生産された粗酵素標品である。尚アルカリプロテアーゼは粉末状のものと、顆粒状のもの計2種を用いた。酵素標品の水分含量は0.7~7.8%であった。

##### 2. 電子線照射

酵素製剤をポリエチレン袋に封入し、厚さが2~3mmになるように薄くのばして室温下で電子線照射を行なった。放射線処理は、食品総合研究所の Van de Graaff 型加速器(1 Mev, 150  $\mu$ A)を用いて行い、線量率は83.3krad/sec で、0.5, 1.0, 1.5, 2.0 Mrad の照射を行なった。

##### 3. 微生物数の測定

一般細菌数は適当倍に稀釈した試料 1 ml を普通寒天培地(1  $\ell$  中、肉エキス 5 g, ペプトン 10 g, NaCl 5 g

寒天 15 g, PH 7.0) にまぜ、プレート法で37°C 48時間培養後生じたコロニー数から測定した。カビについては、麦芽寒天(1  $\ell$  中、麦芽エキス 25 g, 寒天 20 g, PH 5.0)を用いて22°C に72時間培養して測定した。

##### 4. 酵素活性の測定

###### (1) 酸性プロテアーゼ

0.6%カゼインを基質とし、pH 3.2, M/20 酢酸緩衝液中で40°C 1時間反応させた。濾過液の一部を取りアンソン変法(2)により発色させ吸光度(275nm)を求めた。

###### (2) 中性プロテアーゼ

0.6%カゼインを基質とし、PH 7.5, M/10 ベロナール緩衝液を用いて(1)と同様に行なった。

###### (3) アルカリプロテアーゼ

1.3%カゼインを基質とし、PH 9.5, M/10 ほう酸緩衝液を用いて(1)と同様に行なった。

###### (4) ヘスベリジナーゼ

0.125%ヘスベリジン溶液を基質とし、PH 3.8, M/25 マッセルバン緩衝液中で40°C に30分反応させ生じた還元糖量をソモギー法により測定した。

###### (5) ナリンジナーゼ

0.125%ナリンジン溶液を基質とし、pH 2.8, M/20 マッセルバン緩衝液中で40°C に30分反応させ生じた還元糖量をソモギー法により測定した。

###### (6) アミラーゼ

0.5%馬鈴薯澱粉液を基質に、pH 4.0, M/20 酢酸緩衝液中で40°C 30分反応させ、生じた還元糖量をソモギー法により測定した。

###### (7) ラクターゼ

1%ラクトースを基質とし、pH 5.0, M/20 酢酸緩衝液中で反応させ、生じた還元糖量をソモギー法により測定した。

#### 結果及び考察

##### (1) 殺菌効果

Table 1. Radiosetrilization of microorganisms in various enzyme preparations by accelerated electron.

Dose (Krad)	Sample A		Sample B		Sample C	
	Bacteria	Mold	Bacteria	Mold	Bacteria	Mold
0	10 <sup>4</sup> ※	20	2200	80	10 <sup>5</sup>	60
50	170	0	10	0	50	0
100	0	0	0	0	0	0
150	0	0	0	0	0	0
200	0	0	0	0	0	0

※microorganisms per gram of sample  
 A ; Acid protease  
 B ; mixtures of Hesperiginase and lactase  
 C ; mixtures of Naringinase, amylase and neutral protease.

Table 2. Radiosterilization of bacteria in alkaline protease by accelerated electron.

Dose (Krad)	Powdered preparation	Glanular preparation
0	5 × 10 <sup>9</sup> ※	4 × 10 <sup>3</sup>
250	1 × 10 <sup>9</sup>	2 × 10 <sup>3</sup>
500	9 × 10 <sup>8</sup>	50
1000	5 × 10 <sup>7</sup>	0

※microorganisms per gram of sample

試料 A. B. C. およびアルカリプロテアーゼについて電子線照射による殺菌効果を表1および2に示す。尚、試料Aは酸性プロテアーゼ、試料Bは、ヘスペリジンナーゼおよびラクターゼの混合物試料Cは、ナリンジンナーゼ、アミラーゼ、中性プロテアーゼの混合物である。

この結果、試料A. B. C.については、100krad程度の照射で 10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup>/g の汚染微生物を容易に殺菌することが出来た。これらの汚染微生物は比較的放射線抵抗性が低いものと思われる。一方アルカリプロテアーゼについてみると顆粒状プロテアーゼは、500krad でほぼ完全に殺菌が出来ているが、粉末状プロテアーゼ製品は1000 krad 照射で10<sup>2</sup>/gの殺菌効果しかあげられず D<sub>10</sub>=500 krad と異常に高い値を示した。通常どこにでも存在する微生物で放射線抵抗性の高いのは、Bacillus subtilisなどの芽胞形成菌であり、アルカリプロテアーゼ中の細菌も高い放射線抵抗性から芽胞菌と思われる。前報で示したように芽胞菌のガンマー線に対する D<sub>10</sub>値はほぼ260~330 krad のはずである。今回は加速電子線により照射を行っている点が前報と異なるが、線質が異なっても加速電子線とガンマー線は、線量が同じなら殺菌効果

も同じと考えられている。但し、加速電子線は透過力が弱いので、厚さ3mm程度にして照射しても、部分的に3mm以上になっている個所では十分放射線が到達せず、従って、殺菌不十分となって処理後の細菌数が高いままになった可能性も考えられる。

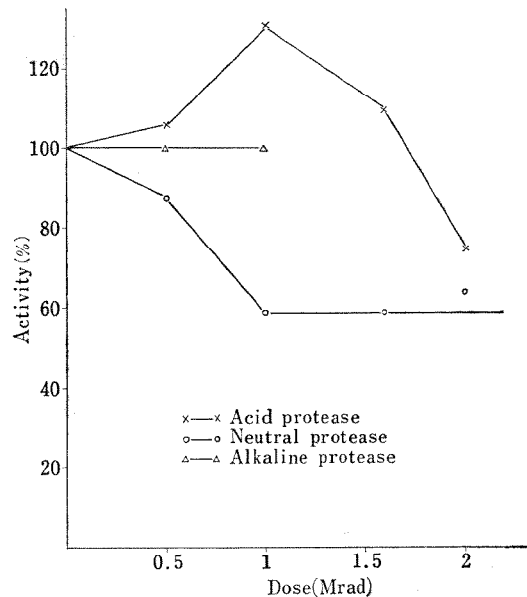


Fig. 1. Effect of irradiation with accelerated electron on the retained activities of various enzyme preparations.

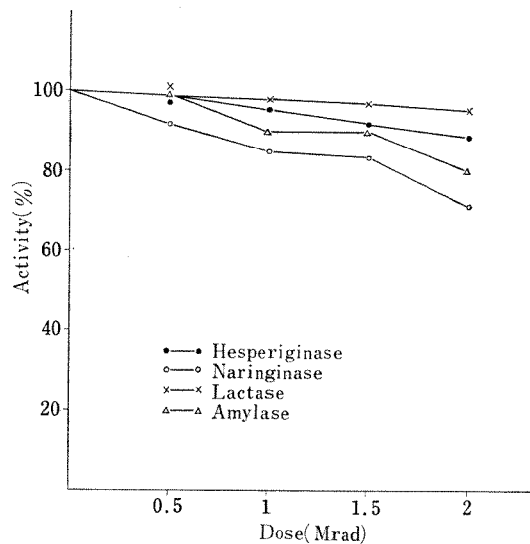


Fig. 2. Effect of irradiation with accelerated electron on the retained activity of various enzyme preparations.

## (2) 酵素活性

電子線照射後その保持活性を測定し、非照射試料と比較した結果を図1, 2に示した。

殺菌線量は前報から0.75~1 Mrad と考えられるが、今回供試した7種の試料の内1 Mrad 照射後6種までが90%以上の活性を保持した。

最も活性低下の著しかったのは中性プロテアーゼで1 Mrad 照射ではほぼ60%に下った。

コバルト60のガンマー線でアミラーゼ製剤を照射した場合(1), 10種中7種までが1 Mrad 照射後も90%の活性を保持したが、今回の結果もほぼそれと同じで、粗酵素製品が放射線照射に抵抗性の高いことを裏づけている。前報と大きく異なる点は、図1の酸性プロテアーゼが照射処理により活性が増大した点である。照射により酵素活性が賦活されるのは、例えばみかんのフェニールアラニン、アンモニアース活性が増大する(3)ように *in vivo* での例は多く知られているが、単離した酵素では、あまり例がない(4)。この点さらに他の酵素についても検討する必要がある。

## 要 約

**Irradiation Treatment of Enzyme Preparation  
(Part 2.) Radiosterilization of Enzyme Preparation  
by Accelerated Electron**

Koji KAWASHIMA, Yoshikazu TANAKA and Keiji UMEDA

Following enzymes were irradiated by accelerated electron with up to two million rad (1 Mev dose rate 83.3 krad/sec), naringinase, hesperiginase, amylase, lactase, acid-, neutral-and alkaline-protease.

Three to five log reduction of microorganisms

ナリンジナーゼ、ヘスペリジナーゼ、アミラーゼ、ラクターゼ、プロテアーゼ(酸性、中性、アルカリ性)の7種類の酵素に2 Mrad までの加速電子線を照射した(加速電圧1 Mev, 線照率83.3 krad/sec)。

1. ほとんどの場合0.5 Mradまでの照射で $10^3 \sim 10^5$ /g試料の殺菌が可能であった。
2. 0.75~1 Mradの照射で、供試した7種中6種が90%以上の活性を保持した。
3. 酸性プロテアーゼは、照射により活性の増大が見られた。

## 文 献

- (1) 川嶋浩二, 南郷幸仁, 土井達, 梅田圭司; 日本食品工業学会誌. 20, 9, (1973)
- (2) 長瀬産業株式会社  
長瀬酵素レポートA-4 (1970)
- (3) Monsolise, S.P., Riou, J. and Kahan, R.S.; *Enzymological aspects of food irradiation*, IAEA, Vienna, p.71, (1969)
- (4) Coelho, R.; *Radiation Research*, 31, 408 (1967)

was achieved by the radiation treatment of 0.5 Mrad. Six out of seven enzymes which were irradiated with 0.75 to 1.0 Mrad retained more than 90% of their original activities. Acid protease showed accelerated activity by the irradiation.