Bull. Korean Fish. Soc. 19(6), 521~528, 1986 韓水誌 19(6), 521~528, 1986

血合肉魚의 組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素

2. 고등어와 정어리 臟器組織에서 抽出한 蛋白質分解酵素의 活性比較

金亨洛・卞在亨・趙鎭虔
釜山水産大學 食品營養學科
(1986년 6월 25일 수리)

Proteolytic Enzymes Distributed in the Tissues of Dark Fleshed Fish

2. Comparison of the Proteolytic Activity of the Tissue Extract from the Internal Organs of Mackerel and Sardine

Hyeung-Rak KIM, Jae-Hyeung PYEUN and Jin-Guen CHO
Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan, Nam-gu, Pusan, 608 Korea
(Received July 25, 1986)

In this paper, proteolytic activity of the tissue extracts from the internal organs such as alimentary canal, pancreas, pyloric caeca, stomach, liver and spleen of mackerel, *Scomber japonicus*, and sardine, *Sardinops melanosticta*, was compared with each other under the optimum reaction condition.

The proteinases distributed in alimentary canal, pancreas, pyloric caeca and spleen were active in alkaline pH range, but those in stomach were shown the activity in acid pH range, furthermore those in liver were exhibited the activity in acid, neutral and alkaline pH range.

The proteinases distributed in the internal organs of both fish were stable at the heat treatment of 45°C for 5 minutes. The proteinases from stomach and pyloric caeca of the two fish and those from pancreas of sardine were less stable than those from any other internal organs of both fish. Whereas the proteinases from spleen and neutral proteinases from liver were shown to be stable by the heat treatment at 55°C for 5 minutes.

The proteinases from pyloric caeca of both fish, and stomach, pancreas and spleen of mackerel were stable during the whole storage days at 5°C, but the other proteinases were slowly inactivated after 14 days of storage. The enzymes were seemed to be more stable in the storage at −15°C than at 5°C.

諸 論

魚類의 臟器中에 分布하는 蛋白質分解酵素에 關하여는 藤井 등[1]이 정어리의 肉, 胃 및 幽門垂에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性最適 pH에 관하여 行한 報告와, 斗ケ澤과 勝又[2,3]의 참치와 가다랭이 幽門垂에 分布하는 蛋白質分解酵素의 性質에 關한 報告가 있으며, 또 北御門과 立野[4]에 의하면 數種 魚類의 臟器別로 粗酵素를 抽出・比較한 結果, 胃에서 抽出한 것은 pH 2.2에서, 幽門垂와 消化管에서 抽出한 것은 pH 9.5에서 活性이 높게 나타난다고 하였다. 森下 등[5]은 養殖産 방어, 겟장어, 무

지개 송어 및 은어의 各 臟器中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性을 測定한 結果, 胃에서 分離한 것은 酸性側에서, 幽門垂와 消化管에서 分離한 것은 알칼리側에서, 肝에서 分離한 것은 酸性, 中性 및 알칼리性의 세 영역에서 높은 活性을 보인다고 하였고, 大西와 村山[6]는 5種의 養殖産 송어의 臟器에 分布하는 蛋白質分解粗酵素의 活性을 分析한 結果, 幽門垂에서 分離한 粗酵素는 種類에 따라 차이가 있으나, 胃에서 分離한 것은 種類에 따라 큰 차이가 없다고 하였다. 安永[7]는 가자미의 消化管에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性을 測定한 結果, 胃에서는 pH 2.0, 消化管과 幽門垂에서는 pH 8.0에서 높은 活性을 나타낸다고 報告하였으며, 大成[8]는 고등어 幽門垂組織中에 分布하는 알칼리性蛋白質分解酵素를 一部 精製하여 그 酵素的 特徵을 報告하였고, 內田 등[9,10,11]은 연어의 幽門垂에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性化와 精製方法에 대하여 檢討・報告하였다.

吉中 등[12]은 메기의 內臟에 分布하는 trypsin 및 chymotrypsin과 이들 酵素의 活性化에 關하여 報告하였고, Murakami와 Noda[13]는 정어리 幽門垂에서 3種의 알칼리性 蛋白質分解酵素를 分離・精製하여 酵素的 特徵을 報告하였다.

本 硏究는 前報[14]에 이어 고등어와 정어리 두 魚種의 各 臟器中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性條件을 實驗・分析하고 耐熱性 및 低溫貯藏에 따른 活性度의 變化 등에 대하여 比較・究明코자 試圖하였다.

材料 및 方法

1. 材料

前報[14]에서 試料로 취한 肉質部 以外에 臟器로부터 各 器管을 區分하여 切取하고 粗酵素抽出을 위한 試料로 하였다.

2. 方法

粗酵素液의 抽出, 基質 및 反應混液의 調製, 酵素의 活性, 그리고 蛋白質의 濃度 등 關聯實驗은 모두 前報[14]에 따랐다

結果 및 考察

1. 最適反應條件과 固有活性

고등어와 정어리의 各 臟器組織에서 抽出한 蛋白質分解酵素液을 2% casein 溶液을 反應基質로 하여 pH 1.8에서 pH 11.0까지의 범위에서 pH에 따른 影響을 밝히고, 밝혀진 最適 pH에서 反應溫度를 달리하여 反應시켰을 때 活性에 미치는 溫度의 影響을 조사한 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1에 나타낸 바와 같이 두 魚種의 消化管에서 抽出한 粗酵素의 反應最適 pH는 고등어인 경우 pH 10.0, 정어리인 경우 pH 9.4로 나타났으며 反應最適溫度는 共히 45°C였다. 또한 反應最適條件에서 고등어가 정어리에 比해 固有活性은 1.4배 가량 높게 나타났다. 이 結果는 大西 등[15]이 報告한 잉어 消化管에서 抽出

Table 1. Comparison of optimum reaction condition and specific activity of the tissue extract from the internal organs of mackerel and sardine

Sample fish	Internal organs	Optimum pH	Optimum temperature	Specific activity
Mackeral	Alimentary canal	10.0	45	230.0
Sardine	〃	9.4	45	160.0
Mackerel	Pancreas	9.0	50	65.0
Sardine	〃	9.8	45	360.0
Mackerel	Pyloric caeca	9.4	50	275.0
Sardine	〃	10.0	45	120.0
Mackerel	Stomach	2.2	50	100.0
Sardine	〃	2.4	50	60.0
Mackerel	Liver	2.6	50	1.0
Mackerel	〃	5.4	55	0.9
Mackerel	〃	10.0	50	0.8
Sardine	〃	2.6	55	0.5
Sardine	〃	6.2	55	0.7
Sardine	〃	9.4	50	0.7
Mackerel	Spleen	10.4	50	16.0
Sardine	〃	10.0	50	18.0

한 蛋白質分解酵素의 最適反應條件과 오징어 消化管에서 抽出한 蛋白質分解酵素의 反應最適條件[16] 및 北御門과 立野[4]가 報告한 무지개 송어의 消化管 蛋白質分解酵素의 反應最適條件과 一致하였다.

膵臟에서 抽出한 粗酵素는 고등어인 경우 pH 9.0, 50°C, 그리고 정어리는 pH 9.8, 45°C에서 最大活性을 보였으며, 오히려 정어리의 膵臟에서 抽出한 粗酵素의 活性이 고등어 보다 5.5배 정도 높게 나타났다. 그리고, 魚種間에 따라서 同一 器官에 分布하는 蛋白質分解酵素일지라도 活性은 상당한 차이를 나타내었다. 메기의 膵臟에 分布하는 trypsin[17]과 chymotrypsin[12]은 pH 9.0에서, 오징어 膵臟에서, 抽出한 蛋白質分解酵素[18]는 pH 8.2, 45°C에서 各各 最大活性을 나타내나, 왜 문어 膵臟에서 抽出한 蛋白質分解酵素[19]는 pH 2.5, 45°C와 pH 5.5~6.0, 45°C에서 最大活性을 나타낸다는 報告와는 다소 차이가 있었다.

幽門垂에서 抽出한 粗酵素는 고등어인 경우 pH 9.4, 50°C에서, 그리고, 정어리는 pH 10.0, 45°C에서 最大活性을 나타내었으며, 活性最適條件에서 固有活性은 고등어가 정어리에 比해 2.3배 가량 높게 나타났다. 大城[8]는 고등어 幽門垂에서 分離한 알칼리性蛋白質分解酵素는 pH 9.0, 43°C에서 最大活性을 보이며, 또 養殖産 연어와 송어의 幽門垂에서 抽出한 蛋白質分解酵素는 pH 9.5~10.0, 45°C에서 最大活性을 나타낸다는 大西 등[6]의 報告와 本實驗의 結果와는 類似하였다.

胃에서 抽出한 粗酵素의 最大活性은 고등어인 경우 pH 2.2, 50°C, 그리고 정어리인 경우 pH 2.4, 50°C에서 發現하였으며, 고등어의 固有活性이 정어리보다 1.6배 가량 높게 나타났다. 이는 久保田와 大沼[20]가 가다랭이의 胃에서 分離한 pepsin의 反應最適條件과 일치하였으며, 남극산 크릴에서 精製한 酸性蛋白質分解酵素[21]와 무지개 송어의 胃에서 抽出한 酸性蛋白質分解酵素[4]의 反應最適條件과도 類似한 結果였다.

肝에서 抽出한 粗酵素는 다른 臟器의 酵素와는 달리 酸性, 中性 및 알칼리性의 세 영역에서 酵素活性을 나타내었으며, 反應最適溫度는 50~55°C로서 消化器管에 分布하는 酵素에 比해 다소 높은 傾向을 나타내었고, 固有活性은 상당히 낮게 나타났다. 高橋[18]는 오징어 肝에는 pH 2.5와 pH 5~6부근에서 높은 活性을 나타내는 2種의 蛋白質分解酵素가 存在한다고 報告하였으며, 왕게의 肝에서, 抽出한 中性蛋白質分解酵素[22]는 pH 6.0, 50~55°C에서, 그리고 왜문어의 肝에서 抽出한 酸性 및 中性蛋白質分解酵素[19]는 pH 6.0, 45°C에서 最大活性을 나타낸다고 報告하였는데, 이들 報告는 本 實驗의 結果와는 多少 差異를 보였다.

脾臟에 分布하는 蛋白質分解酵素는 고등어인 경우 pH 10.4, 50°C에서, 정어리는 pH 10.0, 50°C에서 最大活性을 나타내었으며, 두 魚種間의 固有活性의 차이는 없었으나, 消化管, 膵臟, 幽門垂 및 胃 등의 消化器管에서 抽出한 酵素에 比해 상당히 낮은 活性을 나타내었다. 大西 등[15]은 잉어의 脾臟에서 抽出한 蛋白質分解酵素는 pH 10.0에서 最大活性을 나타내며, 南과 卞[23]은 두툽상어와 말쥐치의 脾臟에서 抽出한 蛋白質分解酵素는 各各 pH 8.3, 45°C와 pH 8.0, 50°C에서 最大活性을 나타내고, 本 硏究의 結果와 같이 消化管과 膵臟에 比해 낮은 蛋白質加水分解能을 나타낸다고 報告하였다.

結論的으로 고등어와 정어리의 各 臟器中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 反應最適條件에서 固有活性을 比較한 結果, 肝과 脾臟에서 抽出한 粗酵素에 比해 消化器管인 消化管, 膵臟, 幽門垂 및 胃에서 抽出한 粗酵素의 活性이 상당히 높게 나타났으며, 同一 魚種의 各 臟器間, 그리고 同一 臟器의 魚種間에 상당한 活性의 차이를 나타내고 있었다. 특히 消化器管에 分布하는 蛋白質分解酵素들은 生存時 攝取한 食餌의 消化作用에 關與하는 酵素[11,12,13,17,24] 들인 pepsin, trypsin 및 chymotrypsin系 酵素들이 多量存在함으로서 固有活性이 높게 나타난 것으로 추정된다.

2. 加熱에 의한 安定性

고등어와 정어리의 各 臟器組織에서 抽出한 蛋白質分解酵素液을 30°C에서 70°C까지의 溫度에서 5分間 熱處理한 後 各 酵素의 反應最適條件(最適 pH, 最適溫度)에서 殘留活性을 測定하였다.

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 고등어와 정어리의 消化管에서 抽出한 粗酵素는 45°C까지의 熱處理에 의해 活性이 變하지 않았으나, 50°C의 熱處理에 의해 고등어는 60%, 정어리는 50% 가량 失活하였으며, 60°C의 熱處理에 의해 共히 90% 정도 失活하였다. 따라서 두 魚種의 消化管에 分布하는 蛋白質分解酵素의 耐熱性은 거의 비슷한 것으로 나타났다. Su 등[25]은 보구치의 消化管에서 抽出한 알칼리性蛋白質分解酵素는 40°C까지의 處理에 의해 50%, 60°C의 處理에서는 대부분이 失活하였다고 報告하였으

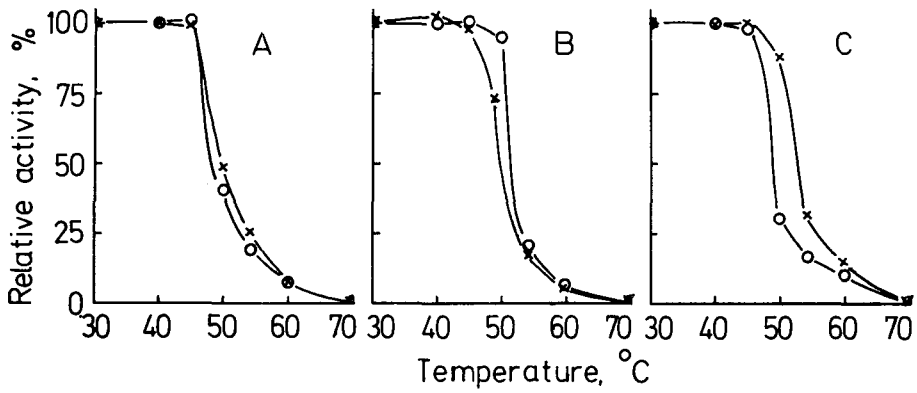

Fig. 1. Thermal stability of the proteinase of the tissue extract from the alimentary canal(A), pancreas (B) and pyloric caeca(C) of mackerel(○) and sardine(×). Preheating is performed for 5 min at various given temperature and proteolytic activity is determined under optimum reaction condition.

며, 이는 本 實驗의 結果와 類似하였다. 南極産 크릴에서 抽出한 알칼리性蛋白質分解酵素의 카제인分解能은 50°C 까지는 安定하였으나, 60°C의 處理에 의해 20% 정도 失活되었다는 關 등[26]의 報告는 다소 耐熱性이 強한 酵素인 것으로 생각된다.

膵臟에서 抽出한 粗酵素의 耐熱性은 45°C 까지의 處理에 의해 安定하였으나, 50°C의 處理에 의해 고등어는 5%, 정어리는 30% 가량 失活하였으며, 60°C의 處理에서는 두 魚種 共히 90% 가량 失活하였다. 따라서 정어리에 比해 고등어의 膵臟組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 耐熱性이 다소 強한 것으로 판단되었다.

幽門垂에 分布하는 蛋白質分解酵素의 熱安定性은 45°C의 處理에서는 活性이 거의 變하지 않았으나 50°C의 處理에서는 고등어는 65%, 정어리는 20% 정도가 失活하였으며, 55°C의 處理에서는 고등어는 80%, 정어리는 65% 가량이 失活하였다. 따라서 고등어 보다는 정어리의 幽門垂에 分布하는 蛋白質分解酵素의 耐熱性이 강한 것으로 추정되었다. 정어리의 幽門垂에서 精製한 3種의 알칼리性蛋白質分解酵素는 55°C에서 5分間 熱處理에 의해 各各 35%, 58% 및 68%가 失活하였다는 Murakami와 Noda[13]의 報告는 本 實驗의 結果와 비슷하였으나, 연어 幽門垂에서 精製한 2種의 anionic trypsin은 45°C의 處理에 의해 각각 20% 및 50%가 失活하였다는 內田 등[11]의 報告는 本 實驗의 結果와 다소 차이가 있었다.

胃에서 抽出한 酸性蛋白質分解酵素의 熱安定性을 測定한 結果(Fig. 2), 50°C 까지의 處理에 의해 酵素活性의 變化가 없었으나, 55°C의 處理에서는 고등어는 85%, 정어리는 50% 가량이 失活하였으며, 60°C의 處理에서는 大部分이 失活하였다. Noda와 Murakami[24]는 정어리의 胃에서 精製한 2種의 酸性蛋白質分解酵素를 60°C에서 5分間 處理한 結果, 90%가 失活하였다고 報告하였으며, 이는 本 實驗의 結果와 類似하였다.

肝에서 抽出한 中性蛋白質分解酵素의 熱安定性은 55°C까지의 處理에서는 安定하였으나, 60°C의 處理에서는 고등어는 25%, 정어리는 75% 가량이 失活하였다. 따라서 정어리 보다는 고등어의 肝에서 抽出한 中性蛋白質分解酵素의 耐熱性이 強한 것으로 추정되었다. 高橋[16]는 오징어 肝에서 抽出한 酸性 및 中性蛋白質分解酵素는 40°C의 熱處理에 의해 活性의 變化가 없었으나, 50°C의 處理에 의해 50% 정도 失活하였으며, 60°C에서는 90% 정도 失活하였다고 報告하였다. 이들 報告는 本 實驗의 結果와는 다소 차이가 있었다.

脾臟에서 抽出한 粗酵素의 熱安定性은 50°C 까지의 處理에 의해 두 魚種의 酵素活性은 變하지 않았으나, 55°C의 處理에 의해 10% 정도가 失活하였으며, 60°C의 處理에서는 85% 정도 失活하였다. 따라서 고등어와 정어리의 脾臟에 分布하는 蛋白質分解酵素의 耐熱性은 비슷한 것으로 나타났다.

以上과 같이 고등어와 정어리의 各 臟器에서 抽出한 蛋白質分解酵素의 熱安定性을 檢討한 結果, 消化管, 膵臟, 幽門垂 및 胃 등의 消化器管에 分布하는

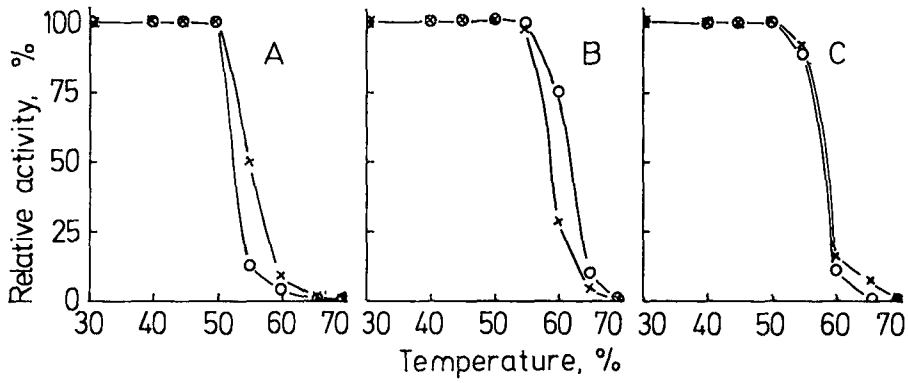

Fig. 2. Thermal stability of the proteinase of the tissue extract from the stomach(A), liver(B) and spleen(C) of mackerel(○) and sardine(×). Preheating is perfomed for 5 min at varions given temperature and proteolytic activity is determined at optimum reaction condition.

蛋白質分解酵素의 耐熱性에 比해 肝과 脾臟에 分布하는 蛋白質分解酵素의 耐熱性이 強한 것으로 나타났다. 이러한 耐熱性의 차이는 물론 組織中에 分布하는 酵素의 特性差에 起因하지만, 한편으로는 肝과 脾臟에서 抽出한 粗酵素가 消化器管에서 抽出한 粗酵素보다 蛋白質濃度가 100배 가량 높음으로서 熱處理時 變性保護效果[27,28]로 因해 熱變性이 抑制됨으로서 다소 耐熱性이 強하게 나타난 것으로도 추정된다.

3. 貯藏溫度에 따른 酵素의 安定性

고등어와 정어리의 各 臟器組織에서 抽出한 蛋白質分解粗酵素液을 5°C와 −15°C에 貯藏하면서 酵素의 低溫安定性을 檢討하였으며, 5°C 貯藏인 경우 防腐劑로써 sodium azide를 最終濃度가 10 *ppm*이 되도록 添加한 것과 添加하지 않은 酵素液을 調製하여 實驗하였다. 그리고, 全體組織에서 酵素를 抽出한 직후 各各의 反應最適條件에서 보인 活性을 對照로 하여 貯藏中에 測定한 活性을 相對的으로 比較·檢討하였다.

두 魚種의 消化管, 脾臟 및 幽門垂에서 抽出한 粗酵素의 貯藏期間에 따른 活性度 變化를 Fig. 3 및 4에 나타내었다. Fig. 3에 나타낸 바와 같이, 5°C 貯藏인 경우, 두 魚種의 消化管에서 抽出한 粗酵素는 貯藏 14일까지 活性度에 變化가 없었으나, 그 이후부터 급격히 失活하여 貯藏 20日까지 고등어는 35%, 정어리는 30%가 失活하였으며, sodium azide의 添加에 의한 活性度 變化는 나타나지 않았다. 脾臟에서 抽出한 粗酵素의 貯藏期間에 따른 活性度도 역시 貯藏 14日까지 그다지 큰 變化가 없었으나, 그 以後부터 정어리脾臟酵素의 活性은 급격히 低下하여 貯藏 28日에는 30%까지 失活하였으며, 고등어는 變化가 없었다. 따라서 정어리보다 고등어 脾臟에서 抽出한 酵素가 安定性이 높은것으로 나타났으며, 두

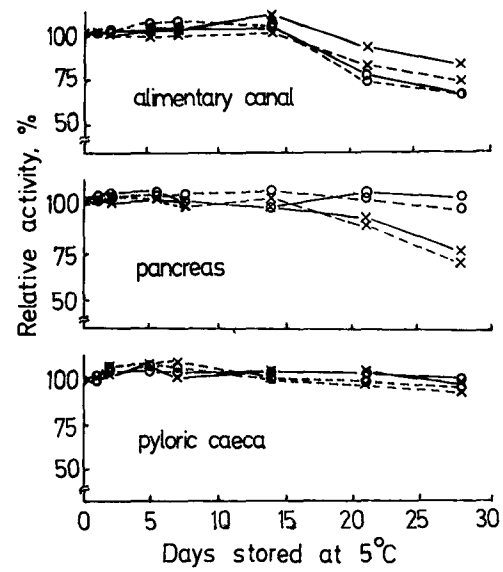

Fig. 3. Changes of proteolytic activity of the tissue extract from the internal organs of mackerel(○) and sardine(×) during storage at 5°C.
——, without sodium azide.
……, with sodium azide.

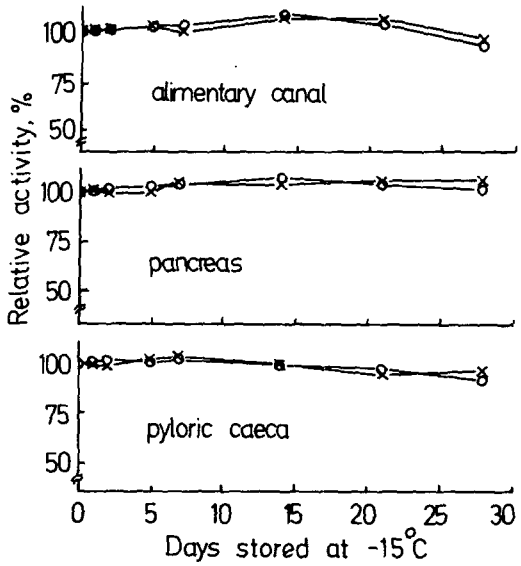

Fig. 4. Changes of proteolytic activity of the tissue extract from the internal organs of mackerel(○) and sardine(×) during storage at −15°C.

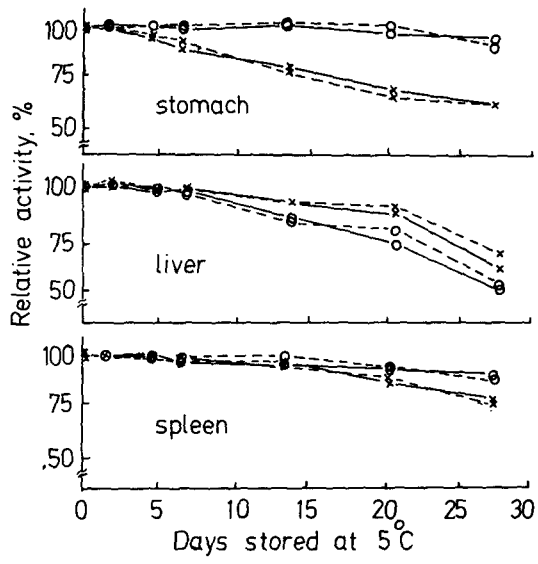

Fig. 5. Changes of proteolytic activity of the tissue extract from the internal organs of mackerel(○) and sardine(×) during storage at 5°C.
——, without sodium azide.
……, with sodium azide.

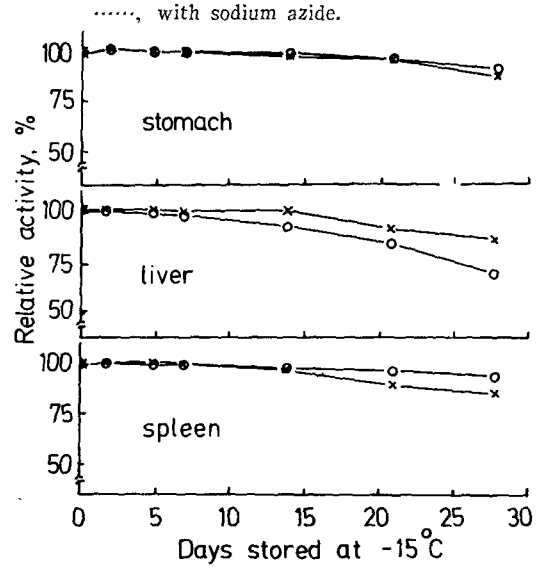

Fig. 6. Changes of proteolytic activity of the tissue extract from the internal organs of mackerel(○) and sardine(×) during storage at −15°C.

魚種 共히 貯藏 22日부터 sodium azide의 影響에 의해 活性度가 다소 낮게 나타났다. 幽門垂에서 抽出한 粗酵素의 活性은 貯藏 28日까지 變化가 없었으며, 消化管 및 膵臟에 分布하는 알칼리性蛋白質分解酵素보다 安定性이 보다 높은 것으로 나타났다.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 消化管, 膵臟 및 幽門垂에서 抽出한 粗酵素를 −15°C에서 貯藏한 경우, 貯藏 28日까지 活性變化는 거의 없는 것으로 나타났다. 趙[29]에 의하면 개불의 消化管組織에서 抽出한 알칼리性蛋白質分解酵素는 貯藏溫度가 낮을수록 活性의 變化가 적었는데 本 實驗에서도 같은 結果가 確認되었다.

두 魚種의 胃, 肝 및 脾臟에서 抽出한 粗酵素의 貯藏期間에 따른 活性變化를 Fig. 5 및 6에 나타내었다. Fig. 5에서 알 수 있는 바와 같이 5°C貯藏인 경우 고등어의 胃에서 抽出한 酸性蛋白質分解酵素는 貯藏 28日까지 活性의 變化가 없었으나, 정어리 胃에서 抽出한 粗酵素는 38%가 失活하였다. 따라서 정어리보다는 고등어 胃에서 抽出한 粗酵素의 貯藏에 따른 安定性이 더욱 높은 것으로 판단되었다. 肝에서 抽出한 中性蛋白質分解酵素는 다른 內藏酵素에 比해 安定性이 상당히 낮은 것으로 나타났으며, 貯藏 28日에 고등어는 45%, 정어리는 25%가 失活하였다. 또 胃에서 抽出한 酸性蛋白質分解酵素는 정어리에 比해 고등어가 安定性이 높게 나타났다. 脾臟에서 抽出한 粗酵素는 貯藏 28日까지 고등어는 10%, 정어리는

20%까지 失活하였으며 防腐劑에 의한 影響은 나타나지 않았다.

Fig. 6에서 볼 수 있는 바와 같이 胃, 肝 및 脾臟에서 抽出한 粗酵素를 −15°C에 貯藏 했을때는 活性의 變化는 거의 없는 것으로 나타났다.

結論的으로 防腐劑의 影響은 臟器의 種類에 따라 차이가 있었으며, 5°C에서 보다는 −15°C에서 보다 安定하였다.

要　　約

고등어와 정어리의 各 臟器組織에 分布하는 蛋白質分解酵素의 最適活性條件을 分析·比較하고, 熱安定性과 低溫貯藏中의 活性의 變化 등을 檢討한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 고등어와 정어리의 各 臟器에서 蛋白質分解酵素를 抽出하여 pH에 따른 蛋白質分解能을 分析한 結果, 消化管, 膵臟, 幽門垂 및 脾臟은 알칼리性에서, 胃는 酸性에서, 그리고 肝은 酸性, 中性 및 알칼리性의 세 영역에서 各各 蛋白質分解能이 있음을 알았다. 그리고, 消化器管인 胃, 膵臟, 및 幽門垂에서 抽出한 粗酵素는 活性이 높았으나, 肝 및 脾臟에서 抽出한 粗酵素는 活性이 아주 낮았다.

2. 各 臟器에서 抽出한 蛋白質分解酵素의 熱安定性을 分析한 結果, 두 魚種의 胃와 幽門垂 및 정어리의 膵臟에서 抽出한 酵素의 耐熱性이 가장 약했으며, 脾臟과 肝에서 抽出한 中性蛋白質分解酵素는 耐熱性이 強한 것으로 판단되었다.

3. 各 臟器에서 抽出한 粗酵素의 貯藏性을 檢討한 結果, 5°C 貯藏時 두 魚種의 幽門垂와 고등어의 膵臟·胃 및 脾臟에서 抽出한 酵素는 安定性이 높았으며, 그 以外의 組織에서 抽出한 酵素는 貯藏 28日까지 많은 失活이 일어났다. 또한 防腐劑 sodium azide에 의한 影響은 魚種과 組織에 따라 미미한 차이를 보였으며, −15°C에서 貯藏한 경우가 5°C에 貯藏한 경우보다 酵素의 失活이 더욱 컸다.

文　　獻

1. 藤井 實·廣瀨 治澄·江良 至德. 1951. 魚類プロテアーゼに關する研究-1. 鰹體プロテアーゼの分布及び幽門垂プロテアーゼに及ぼす水素イオン濃度及び溫度の影響. 日水誌. 16(12), 37—39.
2. 斗ケ澤 宜久·勝又 悌三. 1959a. 幽門垂蛋白質分解酵素に關する研究-Ⅱ. イオン交換樹脂による鮪幽門垂蛋白質分解酵素の精製. 日水誌. 25(5), 402—407.
3. 斗ケ澤 宜久·勝又 悌三·石川 雅司. 1959b. 幽門垂蛋白質分解酵素に關する研究-Ⅲ. 鰹幽門垂蛋白質分解酵素の結晶分離. 日水誌. 25(6). 470—472.
4. 北御門 學·立野 新光. 1960. ニジマス消化酵素の研究-Ⅱ. Proteases. 日水誌. 26(7), 685—690.
5. 森下 達雄·野田 宏行·北御門 學·高橋 喬·立野 新光. 1964. 養殖魚の消化酵素について. 三重大學水產學部紀要. 6(2), 239—246.
6. 大西 登史良·村山 繁雄. 1969. 養殖マス類における酵素化學的研究-1. Protease, amylase, arginase, GPTおよびGOT活性の魚種別比較. 東海水研報. 59, 111—119.
7. 安永 義暢. 1972. 魚類の消化機能の研究-Ⅲ. 2, 3の異體類の消化酵素活性について. 東海水研報. 71, 169—175.
8. 大城 善太郎. 1971. 魚類幽門垂プロテイナーゼに關する研究-Ⅱ. 精製サバ幽門垂プロテイナーゼの諸性質について. 日水誌. 37(2), 145—148.
9. 内田 直行·小幡 猛·齋藤 恒行·1973. シロサケ幽門垂たんぱく分解酵素前驅體の存在. 日水誌. 39(7), 825—828.
10. 内田 直行·塚山 貴以子·西出 英一. 1984a. シロサケ幽門垂トリプシンの精製と 2, 3の性質. 日水誌. 50(1), 129—138.
11. 内田 直行·塚山 貴以子·西出 英一. 1984b. シロサケ幽門垂に存在する2種の主要アニオニックトリプシンの性質. 日水誌. 50(2), 313—321.
12. 吉中 禮二·佐藤 守·池田 靜德. 1981. ナマズの膵臟トリプシノーゲンおよびキモトリプシノーゲンの活性化. 日水誌. 47(11), 1473—1478.
13. Murakami, K. and M. Noda. 1981. Studies on proteinases from the digestive organs of sardine. Purification and characterization of three alkaline proteinases from the pyloric caeca. *Biochim. Biophy. Acta.* 685, 17—26.
14. 卞 在亨·金 亨洛·趙 鎭虎. 1986. 血合肉魚의 組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素 1. 고등어와 정어리肉組織中의 蛋白質分解酵素의 活性比較. 韓水誌. 19(5), 469—476.
15. 大西 登史良·村山 繁雄·竹内 昌昭. 1973. コイ消化酵素活性の攝食後の經時變化-Ⅱ. 消化管,

肝膵臟, 膽のうおよび脾臟におけるチモーゲン量の變化. 東海水研報. 75, 33—38.

16. 高橋 喬. 1963. スルメイカ内臟の酵素に關する研究. 三重大學水產學部紀要. 5(3), 384—411.
17. Yoshinaka, R., T. Suzuki and M. Sato. 1983. Purification and some properties of anionic trypsin from the catfish pancreas. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 49(2), 207—212.
18. 高橋 喬. 1960. イカ内臟の生化學的研究-Ⅱ. 蛋白質分解酵素について. 日水誌. 26(3), 500～503.
19. 森下 達雄. 1978. マダコの蛋白消化酵素に關する研究. 三重大學水產研報. 5. 197—282.
20. 久保田 穰・大沼 昭彦. 1970. カツオペプシンに關する研究-Ⅱ. ペプシンの酵素的性質. 日水誌. 36(11), 1152—1156.
21. Kimoto, K., V. V. Thanh and K. Murakami. 1981. Acid proteinases from antarctic krill, *Euphausia superba*. Partial purification and some properties. J. Food Sci. 46, 1881—1884.
22. Ito, Y. and T. Saito. 1963. Studies on proteolytic enzyme of liver of king crab, *Paralithodes camtschatica*(Tilesius)-Ⅱ. Effect of temperature, pH and various chemical reagents. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 29(10), 942—947.
23. 南 澤正・卞 在亨. 1983. 魚類의 組織中에 分布하는 알칼리性 蛋白質分解酵素의 活性條件. 韓水誌. 16(2), 147—154.
24. Noda, M. and K. Murakami. 1981. Studies on proteinases from the digestive organs of sardine. Purification and characterization of two acid proteinases from the stomach. Biochim. Biophy. Acta. 686, 27—34.
25. Su, H., T. S. Lin and T. C. Lanier. 1981. Investigation into potential sources of heat stable alkaline protease in mechanically separated atlantic croaker, *Micropogon undulatus*. J. Food Sci. 46, 1654—1664.
26. 關 伸夫・酒谷 博史・小野澤 鐵彦. 1977. 南極產オキアミの蛋白質分解酵素について. 日水誌. 43(8), 955—962.
27. Dixon, M. and E. C. Webb. 1979. Enzymes. 3rd ed. Longman Group Ltd. London. pp. 30—31.
28. Makinodan, Y. and S. Ikeda. 1969. Studies on fish muscle protease-Ⅱ. Purification and properties of a proteinase active in slightly alkaline pH range. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 35, 749—757.
29. 趙 得文. 1984. 개불의 消化管에서 抽出한 알칼리性 蛋白質分解酵素의 活性에 關하여. 釜山水產大學大學院 碩士學位請求論文.