

蛋白分解酵素: パパインの利用に関する研究

(その 1)

鯨肉・牛肉・大豆への利用について

渡辺隆子 光藤静子

緒 言

蛋白分解酵素：パパインは、高等植物の諸組織に分布されているが、特定植物の果実（例えば、熱帯産果実パパイヤ）・樹液・発芽時の種子などには特に多く含まれるものである。最近、パパイヤから得たパパインを主体とした食肉軟化調味料（meat tenderizer）が市販されだしている。この食肉軟化調味料は、これを調理する前の獣肉類や豆類に作用させて、硬いものの軟化、調理時間の短縮、又アミノ酸量を増して味をよくすることと消化性の増加をはかろうというものであるが、酵素が作用する場合には、至適温度、至適濃度、至適時間、至適 pH があるので、他の香辛料や化学調味料のような使い方をしては、酵素を十分に作用させることはできない。そこで、パパインを用いる際の至適温度、至適濃度、至適保温時間、至適 pH を知るために、即ち食肉軟化調味料は、どのような条件のもとで使用すれば、最も効果的であるかを知るために、食肉軟化調味料使用の対象となる食品の代表的なもの、鯨肉・牛肉（ごく硬い部分で、本実験にはちまき部分を用いる）・大豆（黒豆）について実験を行ったので、ここに報告する。

実験材料及び方法

I. 試料

(1) 鯨肉：岡山市内鮮魚店で求めた冷凍鯨肉を氷室より出して、20分後に秤取する。試料鯨肉は南氷洋で捕獲された長須鯨である。

(2) 牛肉：岡山市内肉店で求めた牛肉である。前肢のいわゆるちまきと称される部分でごく硬く、シチュー等に用いられる。

(3) 大豆（黒豆）：岡山市内穀物店で求めた北海道産黒豆で、3粒で大体1gである。

パパインは、株式会社・日本ブラッド・バンク製（1g：500単位）のものである。

II 実験方法

A 実験手技

試料約1g、を正確に秤量し、これに次のごとき標準実験系を加えて、インキュベーションを行った。

試料（鯨肉・牛肉・大豆）	1g.
パパイン酵素液	3.0ml

(1/15M 磷酸緩衝液 (pH 6.9) 30ml にパパイン0.5単位含有するように溶解させる)。

以上を一定温度に60分、インキュベートしたのち、99.5%エチルアルコール7.0mlを加え、反応を停止させ、遠心沈澱により、上清を分離し、その一定量をとって、Ninhydrine 反応を行い、酵素作用により、上清中に増加してくる Ninhydrine 反応陽性物質を比色定量した。

なお、大豆のみは試料を秤量し、前処理として、充分な水を加えて、15分間沸騰を続けて固茹でしてから、酵素液を加えて、一定温度に、60分、インキュベートし、99.5%エチルアルコール7.0mlで反応を停止させ、これを乳鉢で磨砕したのち、遠心沈澱により上清を分離する。以後の操作は鯨肉・牛肉の場合と同様に行う。

B Ninhydrine 反応による定量法

前記の上清、0.1mlを試験管にとり、これにNinhydrine試薬0.5mlを加え、正確に100°Cに30分加温したのち、流水中に放冷し、Erma N-5型光電比色計により、吸光度 (filter: 570m μ) を求め、L-leucineを標準液として、酵素作用により増加したアミノ基の定量を行った。なお使用したNinhydrine試薬はMoore S., Steine. W. H.の方法に従って次のように作製した。

Ninhydrine	20g	} を 750ml の Methyl Cellosolve
Hydrindantine	3g	

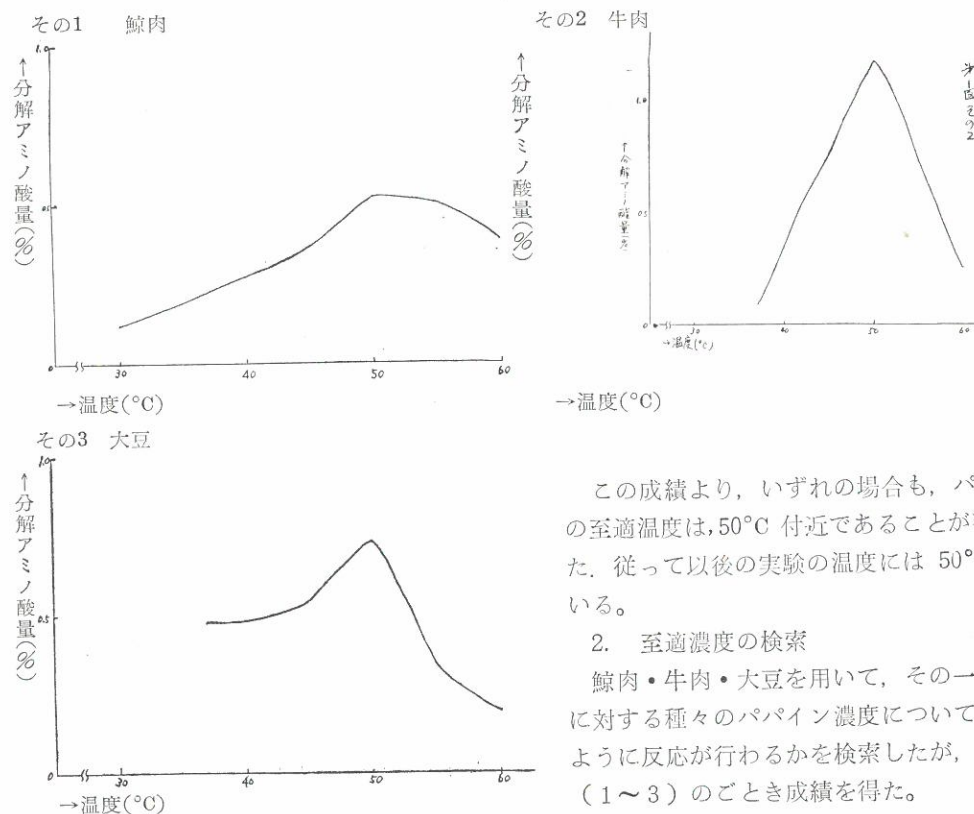
に溶かし、250mlのpH 5.5の酢酸緩衝液を加える。(使用直前に調製する)

実験成績

1. 至適温度の検索

鯨肉・牛肉・大豆を用いて、種々の温度についてどのように反応が行われるかを検索したが、第1図(1~3)のごとき成績を得た。

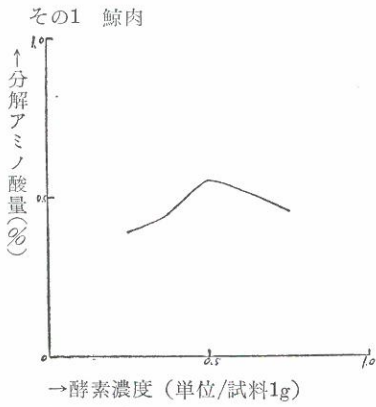
第1図



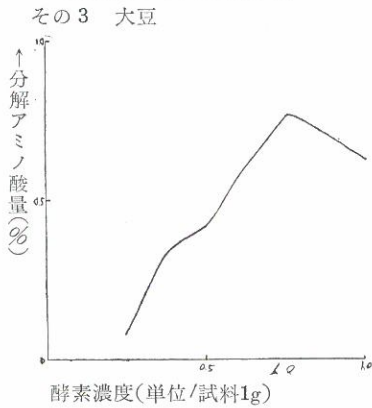
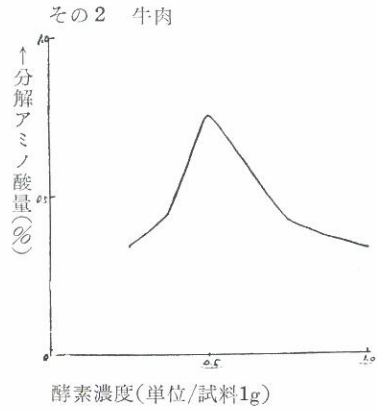
この成績より、いずれの場合も、パパインの至適温度は、50°C付近であることが判明した。従って以後の実験の温度には50°Cを用いる。

2. 至適濃度の検索

鯨肉・牛肉・大豆を用いて、その一定基質に対する種々のパパイン濃度について、どのように反応が行われるかを検索したが、第2図(1~3)のごとき成績を得た。



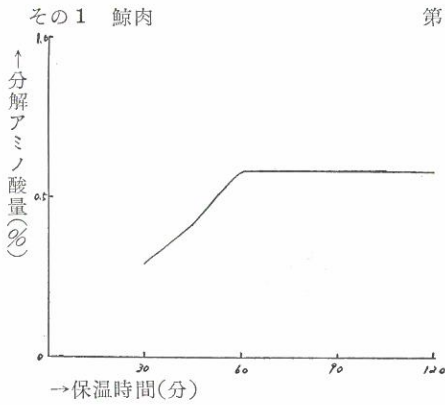
第 2 図



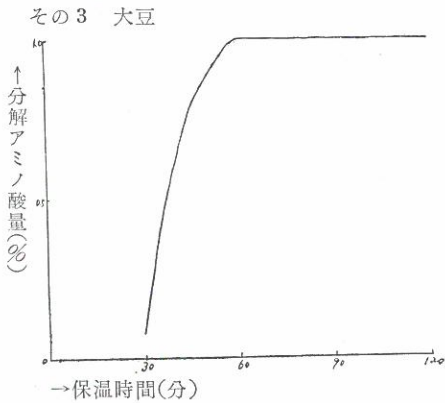
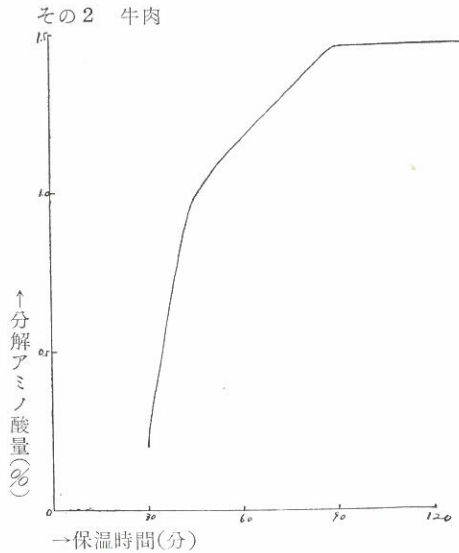
この成績よりパパインの至適濃度は、鯨肉、大豆の場合には、1g に対し 0.5 単位、牛肉の場合には、0.75単位であることが判明した。従って、以後の実験の酵素濃度には、鯨肉、牛肉の場合には、1g に対し 0.5 単位、大豆の場合には、1g に対し 0.75 単位を用いる

3. 至適保温時間の検索

鯨肉、牛肉、大豆を用いて、種々の保温 (50°C) 時間について、どのように反応が行われるか検索したが、第 3 図 (1~3) のごとき成績を得た。



第 3 図



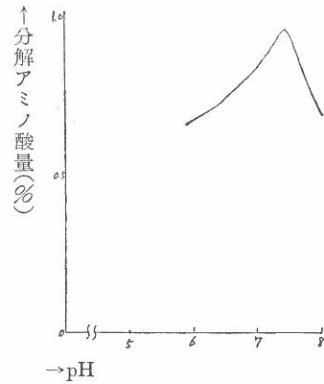
この成績よりパパインの至適保温時間は、鯨肉・大豆の場合は60分、牛肉の場合は、90分であることが判明した。従って、以後の実験の酵素作用時間は、鯨肉・大豆の場合は60分、牛肉の場合は90分とする。

4. 至適 pH の検索

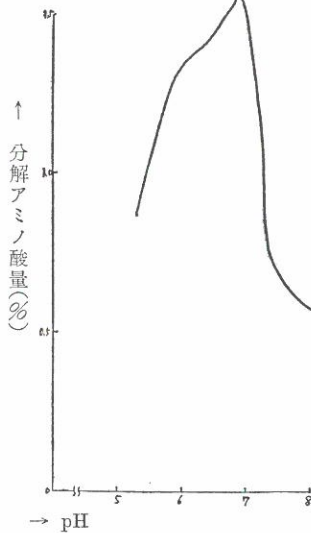
鯨肉・牛肉・大豆を用いて、酵素液の pH をいろいろ変えた場合、どのように反応が行われるか検索したが第4図(1~3)のごとき成績を得た。

第 4 図

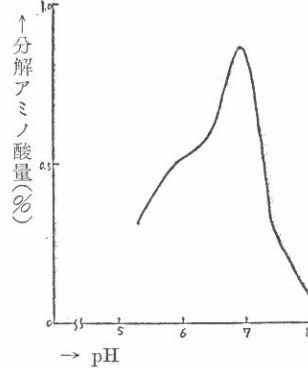
その 1 鯨肉



その 2 牛肉



その 3 大豆



この成績よりパパインの至適 pH は、鯨肉の場合は、pH 7.4 牛肉・大豆の場合は pH 6.9 である。従ってパパインの至適 pH は7.0付近であることが判明した。

考 察

○ 植物性蛋白分解酵素：パパインに香辛料を配合した食肉軟化調味料は、調理前に獣肉類・魚肉・豆類にふりかけておいて、普通の調理で硬いものを軟かくし、味もよくし、消化性を増して、その栄養分を充分に吸収させることを目的としているのであるがその使用法は経験だけから、云々されているのであって、食肉軟化調味料使用の際の至適温度、至適濃度、至適保温時間、至適 pH に関する基礎的研究はなされていない。例えば、保温温度にしても、50°C~70°Cとか60°Cとか言われているが、本実験によれば、パパインの至適温度は50°C付近で、60°Cにも加温すれば、酵素は不活性化され、Ninhydrine 反応陽性物質は少なくなっている。本実験の場合、試料は1g だったから、試料の内部温度と外部温度との差がないが、一般の調理の場合、食品の大きさに注意して、パパインをふりかけた後、保温温度が内部、外部とも50°C付近になるようにしなければならない。

○ 鯨肉の Ninhydrine 反応陽性物質の量が牛肉・大豆に比較して少ないのは、冷凍鯨肉で水分

含量が高いためと考えられる。

○ 牛肉が保温時間を長く要するのは、用いたちまき部分は牛肉でも、ごく硬い部分なので、酵素作用が進みにくいのではないかと考えられる。冷凍鯨肉は加温すれば組織はゆるみ、大豆は固茹でしてあるから幾分組織がゆるんでいるので、牛肉に比較すれば作用しやすいと考えられる。

○ 鯨肉・牛肉・大豆のいずれの場合も酵素濃度が一定以上になれば Ninhydrine 反応陽性物質は減少する。この原因は、はっきり判らないが、使用パパインには、ある程度の不純物が含まれており、酵素濃度が高くなれば、不純物も増加し、この不純物が酵素の活性度を低下させるのではないかと考えられるが、これは今後に残された問題である。

○ 本実験によれば、パパインの至適 pH は 7.0 付近であるから、食肉軟化調味料を食品に用いる際は、食品に食酢のような酸性物質や木灰汁などのアルカリ性物質を用いていない限り、特に pH のことを考慮する必要はないと考えられる。

要 約

1. パパインは鯨肉、牛肉、大豆の場合 50°C 付近で作用させると最も効果がある。
2. パパインの使用濃度は鯨肉・牛肉（ごく硬い部分）では食品 1g に対し酵素 0.5 単位、又大豆では、食品 1g に対し酵素 0.75 単位使用するのが最も効果的である。
3. パパインの作用は、鯨肉・大豆の場合は 1 時間、牛肉の場合は 1 時間半で最大に達する。
4. パパインの至適 pH は、7.0 付近である。

本研究にあたり終始御指導を賜わった岡山県立短期大学森昭胤先生に深く感謝の意を表します。また、パパインの試料を恵与された日本ブラッドバンクに深謝します。

参 考 文 献

1. 株式会社 日本ブラッド・バンク学術部：万能的な蛋白分解酵素パパインについて（第2版）（1961—2—11）
2. 株式会社 日本ブラッド・バンク：老鶏から柔い肉を得る方法（1962）
3. Moore S., Stein, W., H., : J. Biol., Chemist., 211, 893 (1954)