

蛋白分解酵素：パパインの利用に関する研究

(そのⅡ) 老鶏への利用について

渡辺隆子・光藤静子

緒 言

植物性たん白分解酵素：パパイんに食肉軟化作用のあることは周知のことで、meat tenderizerとして市販されているし、又老鶏のパパイン処理による肉の軟化が試みられている。我々は、先にパパインの、鯨肉その他の食品に及ぼす影響の基礎的検索を行い、その結果は既に報告したが、今回は老鶏をパパイン処理した場合の効果を、筋肉に於けるニンヒドリン反応陽性物質の量、遊離アミノ酸組成及び組織の面から検べたのでここに報告する。

実験材料及び方法

I 材料

(1) 鶏 白色レグホン、孵化後2年半～3年の産卵を終えた産卵鶏、体重1.2kg程度のもの。対照にはパパイン処理鶏と同一時期に孵化し、同じ養鶏場で飼われたものを選んだ。

(2) パパイン 株式会社：日本ブラッドバンク製「ヘンスパパイン」(1g:750単位*でヘンスパパイン1gに対しNaCl 0.16g添加)を使用した。この粉末ヘンスパパインを注射用蒸溜水で一定量にして用いた。

* 単位の決定はゼラチンホルモール電気滴定法に従い、1単位は、1分間に1マイクロ当量の-COOHを遊離する酵素力価をあらわす。

II 実験方法

(1) 鶏のパパイン処理

試料鶏1羽に対し、パパイン75単位を胸部静脈に注射する。静注後5～10分ではげしくけいれんして死ぬ。死亡後頸動脈放血を行う。(対照は直ちに頸動脈放血を行う。)その後、57°Cに40分間保温し、それから各部分の筋肉(①だき身部分 ②ささ身部分 ③背一帯 ④手羽 ⑤脚上部 ⑥脚下部)を採り、以下の実験に用いた。

(2) ニンヒドリン反応陽性物質の定量

試料肉の各部分を2g秤取し、これに95%エタノール20mlを加え、乳鉢で磨砕したのち、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、反応陽性物質を比色定量した。

・Ninhydrine反応による定量法

前記の上清0.3ml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、これに1:1に稀釈したエタノールを加えて、Erma N-5型光電比色計により、吸光度(filter: 570m μ)を求め、L-leucineを標準液としてアミノ基の定量を行った。尚、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成した³⁾。

Ninhydrine 20g } を 750 ml の Methyl Cellosolve に溶かし, pH 5.5 の酢酸緩衝液
 Hydrindantine 3g } 250 ml を加える。(使用直前に調製する)。

(3) 遊離アミノ酸の検索

遊離アミノ酸の検索はペーパークロマトグラフ法によった。試料の調製は塚田, 佐々木等の方法に従った⁴⁾⁵⁾。即ち先ず試料肉の各部分を 20g 秤取し, これに約 4 倍容の 95% エタノールを加えて, 乳鉢でよく磨砕したのち, 遠心沈澱により上清を分離し, 更に 95% エタノールを加えて残渣を洗滌後, 遠沈上清を前上清とあわせて, これを減圧下加温 (50°C 以下) し, エタノールを溜出した残液に蒸留水を加えて 10ml とし, ほぼ同容のクロロホルムを加えてはげしく振盪後, 3,000 r. p. m. で 10 分遠沈すると 3 層にわかれる。即ち下よりクロロホルム層, たん白層, 及び水層で, この水層の部分を試料として, 濾紙に 0.03 ml つけて展開する。

濾紙: 東洋濾紙 No. 51

展開剤: n-ブタノール: 酢酸: 水 = 2 : 1 : 1

検出

発色剤: 0.1% ニンヒドリン 5% コリジンエタノール溶液

(4) 組織について

供試肉の各部分の小塊を局方ホルマリン 10 倍液に固定し, 70% エタノール溶液に移して保存した。この小塊を更に薄切りとして, 硬化・脱水・透明化・パラフィン浸置などの諸操作を経て, 包埋してのち, マイクロトームを用いて切片を作り, この切片を haematoxylin 及び eosin の染色法により染め, これをバルサムで封じて永久プレパラートを作り, 検鏡して, 組織の変化をしらべた。

(5) 食味について

パパイン処理鶏肉と対照鶏肉とを塩味を加えることなく, 別々にアルミ箔につつんで, 蒸し焼きにし, パパイン処理鶏肉と対照鶏肉の区別がつかないようにして, 10 人に食べさせ, 呈味, 硬さについて感想を求めた。

実 験 結 果

(1) ニンヒドリン反応陽性物質量

表 I ニンヒドリン反応陽性物質量

		mg %	対照に比較して			mg %
パ パ イ ン 処 理 鶏 肉	① だき身部分	813.98	1.3倍	対 照	① だき身部分	619.08
	② ささ身部分	800.74	1.4		② ささ身部分	566.01
	③ 背 一 帯	871.02	1.5		③ 背 一 帯	588.66
	④ 手 羽	797.91	1.4		④ 手 羽	588.66
	⑤ 脚 上 部	873.65	1.3		⑤ 脚 上 部	653.20
	⑥ 脚 下 部	843.38	1.2		⑥ 脚 下 部	734.92

(2) 遊離アミノ酸の検索

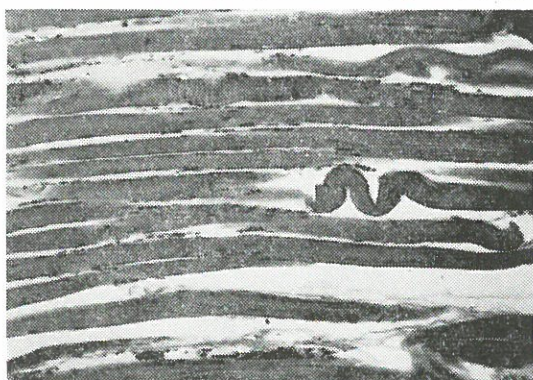
表II 遊離アミノ酸の検索

		アルギニン	グルタミン	グルタミン酸	グリシン	アラニン	バリン	ロイシン イソロイシン	フェニール アラニン
① だき身部分	パパイン処理	+	+	+	卅	+	+	±	卅
	対照	+	+	±	+	-	±	±	±
② ささ身部分	パパイン処理	+	卅	卅	卅	+	+	卅	卅
	対照	+	+	+	+	+	±	+	卅
③ 背 一 帯	パパイン処理	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅
	対照	+	+	+	卅	±	-	+	±
④ 手 羽	パパイン処理	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	対照	+	+	卅	+	+	+	+	±
⑤ 脚 上 部	パパイン処理	+	+	卅	卅	+	卅	卅	卅
	対照	+	±	卅	+	+	+	+	±
⑥ 脚 下 部	パパイン処理	+	+	+	卅	+	+	卅	卅
	対照	+	±	+	卅	-	±	卅	+

卅 極く多量と思われるもの + 少量と思われるもの - 検出されない
 卅 多量と思われるもの ± 極く少量と思われるもの

(3) 組織について

写真にみるように、対照鶏肉の筋繊維と筋繊維の間はみつで、その配列も整であるのに対して、



パパイン処理鶏肉（脚上部）（縦断面）

パパイン処理鶏肉の方には横紋筋繊維の縮少、彎曲、一部断裂・間質の浮腫等がみられる。

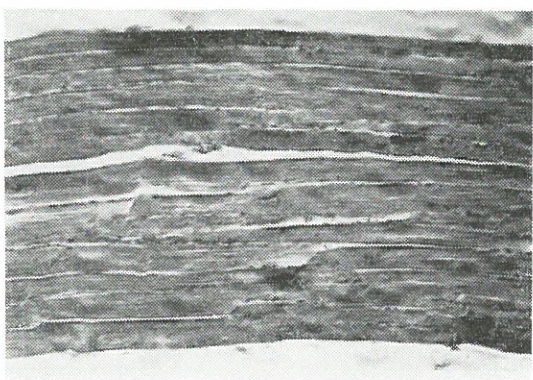
(4) 食味について

10人の被験者の感想をまとめると、ささ身の部分は両者に大差ないが、他の部分はパパイン処理鶏肉の方が相当軟かく、おいしいという結果が得られた。

考 察

。老鶏をパパイン処理すると、ニンヒドリン反応陽性物質及び遊離アミノ酸が増加するが、これはパパインの酵素作用により、肉たん白が分解され、低級ペプチッド及びアミノ酸の生成がされることを意味し、味の点に効果があると思われる。又パパイン処理鶏肉の横紋筋繊維の縮少・彎曲・断裂等も酵素作用によるものと考えられるが、これは肉の軟化の原因となっていると思われる。

。鶏1羽当りのパパイン静注量はブラッドバンクの指示に従い75単位としたが、この75単位が至適量か否かは疑問である。我



対 照（脚上部）

々の先の報告によれば、肉 1g 当り 0.5 単位が至適量であるから、鶏 1羽（肉の量にして 600g 程度）に対しては 300 単位であるが、両者ではパパインの使用条件が異なる。即ち、前回は肉片を酵素液に浸したのであるが、今回は静注するのであるからその効果も大きく、パパイン量は当然少いはずであるが、更に 1羽当りのパパインの静注量の検討が必要である。又酵素作用温度、保温時間についても、ブラッドバンクの指示に従ったのであるが、パパイン量と同様に至適温度・至適保温時間の検討が必要である。

要 約

1. 老鶏 1羽当りパパイン 75 単位を静注したところ、筋肉中のニンヒドリン反応陽性物質の量は対照の 1.2~1.5 倍であった。

2. パパイン処理鶏肉及び対照鶏肉からは、アルギニン・グルタミン・グルタミン酸・グリシン・アラニン・ロイシン又はイソロイシン・フェニールアラニンを検出したが、全体的にパパイン処理鶏肉の方に濃いスポットがみられた。

3. パパイン処理鶏肉と対照鶏肉の組織を顕鏡して比較したところ、対照鶏肉の筋繊維の配列は整で、間げきもみつであるのに対し、パパイン処理鶏肉には、横紋筋繊維の縮少・彎曲、一部断裂・間質の浮腫がみられた。

4. パパイン処理鶏肉と対照鶏肉の食味テストを行ったところ、総体的に、パパイン処理鶏肉の方が軟かくおいしいという結果を得た。

以上の結果より、老鶏にパパインを静注すれば、低級ペプチッド、及びアミノ酸が増加し、組織も縮少、彎曲・断裂等の変化を受け、肉の軟化と味をよくする点に、或る程度の効果が期待できると思われる。

本研究にあたり、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：老鶏から柔い肉を得る方法（1962）。
- 2) 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）。
- 3) Moore S., Stein, W., H.,: J. Biol., Chemist., 211, 893 (1954).
- 4) 塚田・永田：生化学, 33, 51 (1961).
- 5) 佐々木・藤巻・川野：農化誌, 33, 186 (1959).