“なま”および蒸煮蛋白食品のプロテアーゼによる 被分解性について

Enzymic Proteolysis of Raw and Steamed Meat

(昭和 39 年 12 月 15 日 受理)

春日井 愛子
(Aiko Kasugai)

The investigation of the effect of cooking on the degree of proteolysis of various raw meat by several commercial proteinase preparations were investigated and it was found that chopped raw meat was digested by the enzyme preparations more easily than steamed chop meat and, of the meats tested here (12 kinds including seafoods and hen's eggs), the effect of cooking to improve the proteolysis degree was found only with hen's eggs.

緒 言

プロテアーゼは種類が多く、また同一プロテアーゼでも基質蛋白の種類や作用条件などにより、分析生成物や分解度が異なる。

近年酵素化学の発展にともない酵素の食品への利用が広く研究され、種々の酵素剤が市販されるようになった。そこで市販プロテアーゼ剤による、なま並びに蒸煮した蛋白食品の蛋白分解度について試験をおこなった。

一般に蛋白質は天然の状態ではプロテアーゼにより分解され難いか、または全く分解されずに加熱などにより変性してはじめて容易に分解されるといわれている。しかしわれわれは“さしみ”などのように、新鮮な魚介類などを食することがしばしばある。そこで市販プロテアーゼを用い、主に生鮮魚介類、鳥獣肉並びにそれらを蒸煮したときの蛋白分解度について検討した。なお比較のため数種の植物性食品中の蛋白についても同じく検討した。これらの結果について報告する。

試料および方法

I 供試食品

なるべく新鮮な市販魚介類、鳥獣肉類を実験に供した。なお比較のため米、麦および大豆なども実験に供した。

II 供試食品の処理

実験にはすべて可食部 (100 g) を用いた。獣肉は市販のミンチ肉を用い、魚介類 (魚類は皮を、イカは表面のうす皮をはぎとった。) と鳥類はいずれも“Veritas”肉挽機 (プレートの穴の直径 1.6 mm) によりミンチしたのち用いた。このミンチした肉を 2 等分し、その一半

はそのまま (以後これをなまと呼ぶ) 冷所 (10°C) に保ち、他の一半は 5 分間蒸煮した。蒸煮中、水分の侵入を防ぐため、ミンチ肉をビーカーに入れ、その上部を防湿セロファン紙で包んだ後蒸煮した。蒸煮によりミンチ肉は塊となるのでこれを乳鉢内でつぶしたのち、実験に供した (蒸煮肉)。なま鶏卵の場合は卵白と卵黄とに分け、それぞれガーゼ布でろ過したのち実験に供した。一方水煮卵の場合は通常どおり卵を 100°C、15 分間水煮したのち、卵白と卵黄に分け、それぞれうらごしにかけたのち実験に供した。

米麦の場合は、粒をビーカーに入れ、それに等重量の水を加え、40°C、1 時間浸漬したのち、浸漬水とともに乳鉢でまさいした (なま米麦)。蒸煮の場合は同じ条件でビーカー内で水に米または麦を浸漬し、ビーカーの上部を防湿セロファン紙で包んだのち、100°C、30 分間蒸煮した。蒸煮したのち、通常の炊飯の要領で蒸器に入れたままさらに 15 分間放置した (蒸煮米または麦)。なお、蒸煮米または麦は粒のままそれをさらに乳鉢でつぶしたのちについてそれぞれ実験した。大豆の場合は 4 倍量の水に 1 夜浸漬したのち、十分水を切り、得られる吸水大豆を粉砕機で粉砕した (なま大豆)。また粉砕した大豆を 45 分間蒸煮したのち、前記同様さらに 15 分間蒸器内に放置したものを蒸煮大豆として実験に供した。

III 酵素溶液の調製

供試酵素剤は作用最適 pH が酸性側の *Rhizopus niveus*, *Aspergillus niger*, 中性およびアルカリ性側の *Bac. Subtilis*, 微アルカリ性側の Pancreatin の 4 種の酵素剤でこれら酵素剤中に共存する主な他種酵素並びにその酵素力は第 1 表のとおりであった。まずこれら酵素剤を 2

栄 養 と 食 糧

第1表 供 試 酵 素 剤 と 酵 素 力

製品名と給源	プロテアーゼ*		共存酵素とその酵素力 単位/g			製造会社名
	単位/g	最適pH	セルラーゼ *** ヘミセルラーゼ	アミラーゼ	リパーゼ	
セルロシン A.P <i>Aspergillus niger</i>	32,000	3.0	2,730	+	—	上田化学工業(株)
サンブローゼ <i>Rhizopus niveus</i>	57,000	3.0	540	グルクアミラーゼ 1,150 (糖化力)	—	阪 急 酵 素 (株)
プロテオリクティファーゼ <i>Bac. subtilis</i>	48,200	7~10	—	α-アミラーゼ 32,000 (リントナー)	—	上田化学工業(株)
パンクレアチン** Pancreatin	52,600	8.6	—	α-アミラーゼ 7,500 (糊精化力)	冊	日本臓器製薬(株)

* 酵素力単位はいずれもそれぞれの最適 pH で Folin 法変法によって測定した値。

** Pancreatin (製造専用) のプロテアーゼ力は局法の4.72倍, アミラーゼ力は局法の3.75倍であった。

*** セルラーゼ, ヘミセルラーゼ力は CMC 分解力で示した。

%水溶液とし (*Aspergillus niger* のみは3%水溶液), 30°C, 30分間放置したのち, その上澄液をさらに水で10倍に希釈したものを酵素溶液とした。

IV 蛋白分解条件とそれの分解度の測定

前記のように処理した食品 (1~3g) を 100 ml の三角フラスコに入れ, それに 20ml の前記酵素溶液を加えて30°C, 1夜 (17~18時間), トルオール存在下で放置した。酵素作用時, 食品の pH は特に調節しなかった (反応液の pH は大体食品の示す pH とほぼ同じであった)。また添加した酵素の酵素力はいずれもこの条件(pH 6.0)

第1図 プロテアーゼによるミルクカゼインの TCA 可溶性化度

ミルクカゼイン 2% 10ml に種々のプロテアーゼ 10ml を加え (pH6.0) 30°C で反応させた。
Asp. niger のプロテアーゼは0.3%, その他のプロテアーゼは0.2%とした。

—x—Pancreatin —□—*Rhizopus niveus*
.....○.....*Bac. subtilis* —△—*Asp. niger*

で食品中の蛋白と等量のカゼインを 1~2 時間内に容易に分解しうる活性であって, そのカゼイン分解の限度は17時間反応後に TCA 可溶性化度で測定した場合, *Rhizopus niveus*, *Bac. subtilis*, Pancreatin の3種の酵素では約 80~90%, *Aspergillus niger* では55%であった (第1図)。酵素反応後, 反応液を 10,000×g で10分間遠沈し, その上澄液につき蛋白の TCA 可溶性化度とアミノ基生成度合とを測定した。

(i) 蛋白の TCA 可溶性化度の測定: 前記食品の酵素反応液の上澄に TCA 混液 (0.66 M CCl₃COOH, 1.32 M CH₃COONa, 1.98 M CH₃COOH) を等量に添加し, 30°C, 30分間後 10,000 g で10分間遠沈した。この上澄液または希釈液 5ml に Folin 氏試薬の5倍希釈液 1ml を加え, 30°C, 30分後発した青色を比色 (660 mμ の吸光度, エルマ光電比色計 N5 型, 吸収セル厚さ 1 cm) し, それをチロシン相当量であらわした。一方供試酵素液, 供試食品それぞれ単独に, 同一条件で処理した場合に得られるチロシン相当量を前記 TCA 可溶性化部分のチロシン相当量から差引いた値を消化部分とした。なお全チロシン量は十分摩砕して供試食品 1~3g に 0.05 N NaOH を含む 0.4 M Na₂CO₃ 20mlを加え, 100°C 30分間加熱した液に直接 Folin 氏試薬を加えて定量した場合の値を 100 とし, これに対する前記 TCA 可溶性消化部分の比をもって TCA 可溶性化度とした。

(ii) 遊離アミノ基の生成度合: 直接前記酵素反応液について生成した遊離アミノ基量をニンヒドリン法により定量した。適宜希釈した反応液 1ml にニンヒドリン液 (ニンヒドリン 800 mg とヒドリン

ダンチン 120 mg にメチルセロソルブ 30 ml を加えてとかし、これに N/10 クエン酸緩衝液 (pH 5.0) 10 ml を加える) 1 ml を加え、15 分間沸騰水中で加熱後水冷し、50%(v/v) アルコール 15 ml を加えて振とうしたのち、それについて 570 m μ で前記と同じ光電比色計 (吸収セル直径 18 mm) を用いて吸光度を測定した。一方全アミノ基の総量は供試食品 100~300 mg に 6 N HCl 2 ml を加え、封管中で 105°C、24 時間加熱分解したのち、HCl を除き、その残渣を溶解し (pH 5.0)、それについて前記同様ニンヒドリン法によりアミノ基量を測定し、これを 100 として前記値と比較し遊離アミノ基生成度を求めた。

結 果

I 魚介類について

(1) 食品の蒸煮、切り方などと蛋白分解率との関係:

新鮮な魚介類は“さしみ”などにしてなまのまま食用に供している。そこで新鮮魚介類 (なまの状態の蛋白質) に対し、プロテアーゼがどの程度まで作用するかを検討するため、次の実験を行なった。かみそり刃で切片 (約 1 cm $\times$ 4 mm $\times$ 2 mm) にした魚肉 (マグロ)、それと蒸煮したものにと多量のプロテアーゼ (*Bac. subtilis*) を加え、径時的にその分解度を調べた。なお比較のためミンチしたマグロについても同じ条件で試験した。マグロの蛋白分解の状態は TCA 可溶性化度と遊離アミノ基生成度合とで測定した (第 2 図)。すなわちなまの方が切片の場合でもミンチした場合でも蒸煮した方より、いずれの測定でも分解度が高かった。いいかえればミンチしたものでも切片の場合と同様なまと蒸煮との差が明らかに示された。以後の実験においては供試食品の均一性を得るためミンチしたものを使用することにした。

(2) 種々魚介類の場合: 魚類ではイボダイ (一名ウオ

第 2 図 食品の蒸煮、切り方とプロテアーゼによる蛋白分解率との関係

ぜ), アジ, タイ, ハマチ, マグロ, 介類ではアワビ, その他スルメイカおよびエビ (シラサエビ) の計 8 種を選んだ。ミンチしたこれら魚介類をなまと蒸煮とに区別し、それらに 4 種のプロテアーゼをそれぞれ加え、30°C で 1 夜 (17~18 時間) 作用させたのち、その分解度を測定した (第 3 図その 1, 第 4 図その 2, 第 5 図その 1, 第 6 図その 2)。その結果 TCA 可溶性化度によってみると、供試食品のほとんどは明らかになまの方が蒸煮の

それよりもよく分解し、*Asp. niger* のプロテアーゼを除いてその分解度は 60~95% に達した。*Asp. niger* のプロテアーゼによる場合では、なまのイボダイ, タイ, エビではむしろ蒸煮の方がややよかった。遊離アミノ基生成度合についてもやはりなまがよく分解し、その度合はその条件で 5~10% に達し、イカの如きはどのプロテアーゼについても 35% 以上に達し、なまの方が蒸煮した場合よりもはるかに分解された。

第3図 魚介類のプロテアーゼによる分解 (その1)
(TCA可溶性化度)

供試食品 1 g に種々プロテアーゼ 20ml を加えて 30°C, 1 夜, 分解
 A = *Aspergillus niger*
 B = *Rhizopus niveus*
 C = *Bac. subtilis*
 D = Pancreatin

第4図 魚介類のプロテアーゼによる分解 (その2)
(遊離アミノ基生成度合)

プロテアーゼによる分解液は第3図と同一のもの
 A = *Aspergillus niger*
 B = *Rhizopus niveus*
 C = *Bac. subtilis*
 D = Pancreatin

第 5 図 魚介類のプロテアーゼによる分解 (その 1)
(TCA 可溶性化度)

供試食品 1 g に種々プロテアーゼ 20ml を加えて 30°C, 1 夜, 分解
A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niteus*
C = *Bac. subtilis* D = Pancreatin

第 6 図 魚介類のプロテアーゼによる分解 (その 2)
(遊離アミノ基生成度合)

プロテアーゼによる分解液は第 5 図と同一のもの
A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niteus*
C = *Bac. subtilis* D = Pancreatin

第7図 鳥獣肉類とプロテアーゼ (その1)
(TCA 可溶性性度)

供試食品1gに種々プロテアーゼ 20ml を加えて30°C, 1夜, 分解
 A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niveus*
 C = *Bac. subtilis* D = *Pancreatin*

第8図 鳥獣肉類とプロテアーゼ (その2)
(遊離アミノ基生成度合)

プロテアーゼによる分解液は, 第7図と同一のもの
 A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niveus*
 C = *Bac. subtilis* D = *Pancreatin*

第 9 図 鶏卵とプロテアーゼ (その 1)
(TCA 可溶性化度)

卵黄 1.5g 卵白 2g に種々プロテアーゼ 20ml を加えて 30°C, 1 夜, 分解

A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niveus*
C = *Bac. subtilis* D = *Pancreatin*

第 10 図 鶏卵とプロテアーゼ (その 2)
(遊離アミノ基生成度)

プロテアーゼによる分解液は第 9 図と同一のもの
A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niveus*
C = *Bac. subtilis* D = *Pancreatin*

第11図 米, 麦, 大豆とプロテアーゼ (その1)
(TCA 可溶性化度)

米 3g, 麦 2g, 大豆 1g に種々プロテアーゼ 20ml を加えて 30°C, 1 夜, 分解

A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niveus*
C = *Bac. subtilis* D = Pancreatin

第12図 米, 麦, 大豆とプロテアーゼ (その2)
(遊離アミノ基生成度合)

プロテアーゼによる分解液は第11図と同一のもの

A = *Aspergillus niger* B = *Rhizopus niveus*
C = *Bac. subtilis* D = Pancreatin

II 鳥獣肉類について

ニワトリ、牛、豚について魚介類と同じ条件で試験した（第7図その1、第8図その2）。これら結果についてまず TCA 可溶性化度によってみると、やはりなまの方が蒸煮よりもよく分解し、50～95%であった。しかしなまと蒸煮との差は魚介類の場合ほど顕著ではなかった。またなま肉の場合 Pancreatin と *Bac. subtilis* とのプロテアーゼを用いると、その分解は極めて高かった。またアミノ基生成によってみた場合 *Asp. niger* のプロテアーゼを例外として、いずれもやはりなまの方が蒸煮より分解がよかった。

III 鶏卵について

前記同様条件で鶏卵について試験した結果（第9図その1、第10図その2）、魚介類、鳥獣肉の場合とはかなり異なり、TCA 可溶性化度によってみると、すでに明らかにされている如く、なま卵白はどのプロテアーゼでも殆んど分解されなかった。しかし水煮すると分解された。遊離アミノ基生成によってみてもやはり同様の結果であった。

IV 米、麦および大豆について

前記生鮮魚介類、鳥獣肉類など動物蛋白食品と比較するため、米、麦および大豆についても検討した。蒸煮米麦では粒のままとそれをさらにつぶしたものについて試験した（第11図その1、第12図その2）。その結果米と麦について TCA 可溶性化度によってみると、生鮮魚介類や鳥獣肉と異なり、なまと蒸煮との差は極めて少なく、むしろ逆に蒸煮の方がかえって良好な蛋白分解を示した。また同じ蒸煮米麦では粒をすりつぶした方がややその蛋白分解が大で、その分解率は約60～90%に達した。大豆でもなまは米、麦と同様に蒸煮した方がよかった。特に Pancreatin プロテアーゼではそれが顕著であった。遊離アミノ基生成によってみても、TCA 可溶性化度とはほぼ同様の関係がみられた。

考 察

蛋白質を含む食品のプロテアーゼによる分解率は、加熱処理によりなまのそれよりかえって不良になるものがあることがわかった。一般にプロテアーゼによる蛋白の分解は天然の状態ではうけ難く変性すべしうけやすいこと、そのため酵素蛋白のような球状蛋白の変性は枯草菌のプロテアーゼによる分解度で定量しうることが報じ¹⁾られている。この事実は大豆²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾や鶏卵⁶⁾では加熱により消化率ならびに栄養価がよくなることと一致する。

しかし魚介類、鳥獣肉類について本実験ではこれと全く異なる結果が得られた。繊維蛋白質を主成分とする魚介類や肉類の酵素による蛋白分解についての研究は軟化

7)8)9)に関する研究以外はきわめて少なく、またいわゆるなまの状態の繊維蛋白の消化¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾もあまり明らかにされていない。供試魚介類や肉類のなまの状態の筋肉は、いわゆるミオシンの如き繊維蛋白質から構成されているが、しかし本実験でいわゆるなまと述べた状態の蛋白は生きているときのそれとはかなり相違し、プロテアーゼでアタックされやすい状態に蛋白分子の主体構造がある程度くずされているとみなされる。蒸煮はこの状態にまで変性した魚介類や肉類をさらに収縮凝固させるため密になり、そのためプロテアーゼの攻撃がなまよりうけにくくなったと考えられる。

食品の蛋白分解度を酵素別にみると、*Asp. niger* のプロテアーゼ以外の供試プロテアーゼはいずれも約80～90%の分解度を示している。Pancreatin や *Bac. subtilis* のプロテアーゼは蛋白分解度合が比較的大であることが知られており、事実本実験におけるごとく食品に対して十分多量に酵素を使用した場合、蛋白はほとんど供試酵素の分解限度近くまで進むことがみられた。

なお、本実験に用いた *Asp. niger* のプロテアーゼは魚介類や肉類においては他のプロテアーゼより分解度が少ないにもかかわらず、米や麦においてはむしろ大であった。これはこのプロテアーゼの特異性によるよりもこのプロテアーゼ剤中に含まれるヘミセルラーゼ、セルラーゼが米や麦などの組織に作用し、そのためプロテアーゼの浸透がよくなったためこのような結果になったと思われる。

要 約

数種市販プロテアーゼ剤による種々生鮮食品の蛋白分解について検討した。

1. 生鮮鳥獣魚介類のプロテアーゼによる分解度はなまミンチ≫蒸煮ミンチであった。
2. しかし鶏卵とくに卵白は蒸煮によって初めて分解されるに至った。
3. 米、麦、大豆の蛋白質も蒸煮によって蛋白分解性がいくぶん増加した。

本研究に当たり種々ご指導いただいた、大阪市立大学理学部福本教授、山本助教授に深謝いたしますとともに酵素を供与された上田化学工業(株)社長、阪急酵素(株)社長、日本臓器製薬(株)研究部長に厚くお礼申し上げます。なお、この報文の一部は、第18回本学会総会において講演した。

文 献

- 1) 奥貫一男, 萩原丈二, 外 3 名: 酵素化学シンポジウム第 9 集, 1 (1954)
- 2) 林 寛, 有山 恒: 本誌, 10, 37 (1957); 13, 11 (1961)
- 3) 道喜美代, 飯塚美和子: 本誌, 15, 62 (1962)
- 4) 道喜美代, 長谷川好亮, 大上清治: 農化, 37, 21 (1963)
- 5) 乙坂ひで: 家政学雑誌, 11, 7 (1960)
- 6) 近藤美千代: 本誌, 8, 40 (1955); 8, 5 (1956)
- 7) 福本寿一郎, 山本武彦, 市川和宏: 農化, 32, 375 (1958)
- 8) 別所秀子, 黒沢祝子: 本誌, 15, 27 (1963); 16, 36 (1963)
- 9) Tuomy J. M. Lechnir R. J. Millert: *Food Technol.*, 17, 119 (1963)
- 10) 伊東きぬゑ: 家政学雑誌, 9, 221 (1958); 10, 171 (1959)
- 11) 三浦勇吉: 農化, 32, 486 (1958)
- 12) 大高文男: 本誌, 12, 33 (1959)

(大阪女子大学)

米の理化学的性質およびアミノ酸組成

16品種の梗米（インディカ 12 品種，ジャポニカ 4 品種）について一般成分の分析を行ない，品種と成分間の相関をみた。試料は各品種のもみ米，玄米，白米について行なった。一般的にいえば，インディカはジャポニカよりも理化学的品質においてはばがあるといえる。また白米については種々の調理適性試験を行ない，化学成分との相互関係を検討した。おもな測定項目は糊化温度，アルカリテスト，ヨード青価である。

白米 16 種，玄米 3 種について，アミノ酸の分析を行なった。測定はアミノ酸自動分析計によった。白米のタンパク含量とアミノ酸含量との間には，リジン，メチオニン，スレオニンについては負の相関がみられ，チロシン，アルギニン，ロイシンについては正の相関がみられた。白米のアミノ酸組成（タンパク中平均，%）は，ア

ラニン 6.28，アルギニン 8.94，アスパラギン酸 10.88，シスチン 1.12，グルタミン酸 23.19，グリシン 5.10，ヒスチジン 2.58，イソロイシン 4.69，ロイシン 9.47，リジン 4.00，メチオニン 1.98，フェニルアラニン 6.06，プロリン 5.34，セリン 5.72，スレオニン 3.99，チロシン 3.65，バリン 6.16 であった。（表 8）

Studies on the Physicochemical Properties of Rice.

by Juliano, B. O., Bautista, G. M., Lugay, J. C., Reyes, A. C., :

J. Agr. Food Chem., 12, 131~138 (1964)

(宮崎)