

畜産未利用資源からの有用成分の抽出

岸 敦*、大澤 純也*

数種の市販プロテアーゼ（タンパク質分解酵素）を用いて畜肉加工残滓に対する分解力を測定し使用酵素を選択した。選択した酵素の至適分解条件を検討し酵素の使用量、反応温度、反応時間等の諸条件を決定した。種々の試料（畜肉加工残滓）について検討した反応条件に従い分解を行い分解度の違いを検討した。本研究の目的にはNovo Nordisk社のフレーバーザイムが適当であり、これを用いることによりほぼ限界までの分解が可能であった。

キーワード：プロテアーゼ、畜肉加工残滓、分解度

Studies on Extraction of Available Components from Meat Processing Waste

KISHI Atushi and OHSAWA Junya

We examined the the degree of hydrolysis about several proteases and chose the best one(Flavorzyme of Novo Nordisk) for our study, preparation of seasonings from meat processing waste. From the studies for optimal working conditions for the Flavorzyme, the best enzyme dosage of Flavorzyme was determined.

key words: degree of hydrolysis, protenase, meat processing waste

1 緒 言

畜肉加工の際に生じる骨、血液、一部の内臓等はほとんど利用されず廃棄物扱いされているが、組成的にはタンパク質を多く含むものもあることからアミノ酸へと変換することにより調味液として利用することができる。調味液の生産法は抽出法と分解法に大別される。現在ハム、ソーセージ等に添加されている市販調味液は熱抽出法（煮出汁）によるものがほとんどであり、この方法では巨大な釜、熱源、濃縮装置が必要である。分解法については塩酸による酸分解が簡便でありかつ分解度も高いが、極微量の有害物質が産生される。酵素分解法は特別な施設を必要とせず、使用酵素も動植物または、発酵工業用微生物由来であり安全であるが、酸分解法に比べ分解度が低いため、呈味性が劣る、苦味ペプチドを生じる

等の欠点があった。今日、食品の安全性志向、自然食品志向から酵素分解法による調味液が求められ始めている。そのため以前は食品の軟化处理などが主な使用法であったが、現在は、ペプチドまで分解する力を持つ酵素が開発されつつある。

本報は、畜肉加工残滓を原料として、酵素分解により、調味液を調製することを目的とし、使用酵素の選択とその反応条件の設定について検討した。

2 実験方法

2-1 原材料

原料は、牛ハツ（牛心臓）、トリクズ（プロイラーくず肉）、牛頭（牛頭肉）、牛背骨、牛肋骨を(株)岩手畜産流通センターから供与していただいた。

* 応用生物部

2-2 各種酵素の分解能の測定

フレーバーザイムL、フレーバーザイムPlus (LタイプとPlusタイプの違いについては本稿2-4-a参照のこと)、アルカラゼ (Novo Nordisk 社)、パパン (BICON 社)、アロアーゼ AP-10、パンチダーゼ NP-2 (ヤクルト薬品) について以下に記す図1の方法で牛ハツを分解し、分解度を比較した。各社プロトコールに従いフレーバーザイムLについては、始めにアルカラゼ (酵素1) を2時間反応させた後に酵素2として加え反応させ、パンチダーゼ NP-2については、始めにアロアーゼ AP-10 (酵素1) を2時間反応させた後に酵素2として加え反応させる複数酵素分解法を用いた。その他の酵素は単独で使用した。反応温度については至適温度が50℃と55℃のものがあるために、それぞれの温度について合計6×2通りの実験 (実験50A~F、55A~F) を行った。

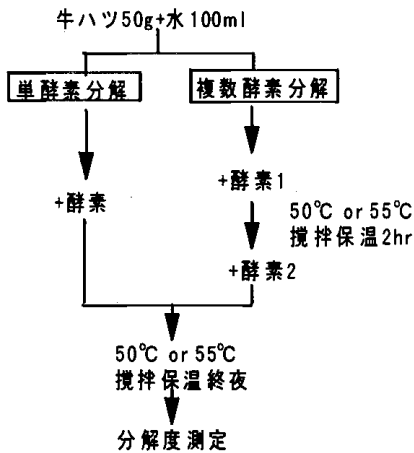


図1 酵素分解手順

各実験での酵素の使用量、酵素活性を表1に示した。使用酵素量は製造会社の薦めるプロトコールに従った。

表1 使用酵素量及び反応温度における酵素活性

(A) 実験番号及び使用酵素名(基質1gに対する使用酵素量)	
50A,55A	アルカラゼ(2mg)、フレーバーザイムL(7.5mg)
50B,55B	フレーバーザイムPlus(7.5mg)
50C,55C	アロアーゼAP-10(1mg)、パンチダーゼNP-2(2mg)
50D,55D	アロアーゼAP-10(7.5mg)、パンチダーゼNP-2(7.5mg)
50E,55E	パパン(7.5mg)
50F,55F	パパン(10mg)
(B) 50℃における酵素活性	
アルカラゼ(75%)、フレーバーザイムL(Max)	
フレーバーザイムPlus(Max)	
アロアーゼAP-10(60%)、パンチダーゼNP-2(Max)	
パパン(75%)	
(C) 55℃における酵素活性	
アルカラゼ(90%)、フレーバーザイムL(90%)	
フレーバーザイムPlus(90%)	
アロアーゼAP-10(90%)、パンチダーゼNP-2(70%)	
パパン(88%)	

2-3 分解度測定

分解度は分解により遊離したアミノ酸の量をオルトフタルアルデヒド(OPA)複合体を形成させ、Serを定量する方法^{1,2,3}により測定した。

2-4 フレーバーザイムの至適反応条件の検討

a タイプ別分解能の比較

フレーバーザイムにはアルカラゼとの複数酵素反応を行うタイプ (フレーバーザイムL) と、単独使用するタイプ (フレーバーザイムPlus) がある。それぞれのタイプの分解能を酵素量を変化させ測定し、比較した。実験手順は図2に示す通りである。

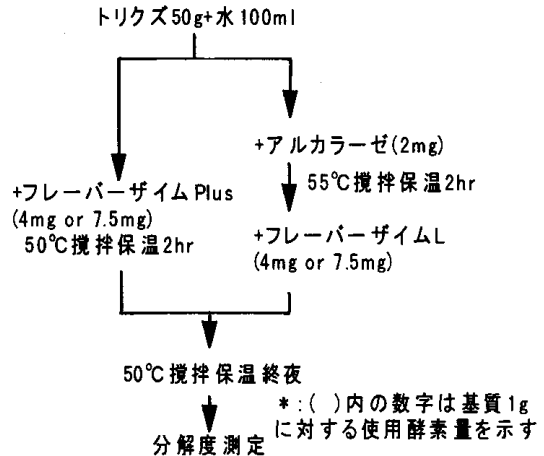


図2 フレーバーザイムタイプ別分解能の比較

b 殺菌方法が分解度に与える影響について

オートクレーブ処理(121℃、15min)、10%(W/V)NaCl添加、18%(W/V)NaCl添加の殺菌法による分解度への影響を検討した。実験手順は図3に示す通りである。

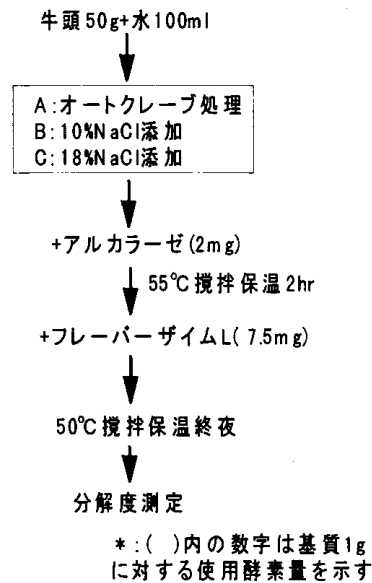


図3 殺菌方法が分解度に与える影響

3 結果

3-1 各種酵素分解能の比較

各酵素による分解度は図4に示したとおりである。もっとも分解度が高いものは50Aであり、フレーバーザイムLの至適反応温度である50℃で反応させたものである。フレーバーザイム Plus はフレーバーザイムLとアルカララーゼの複合酵素剤であり、単独でフレーバーザイムLとアルカララーゼの複数酵素反応と同等の分解能を持つとされている。本実験からも50Aには劣るものの50B、55Bで非常に高い分解能を示した。

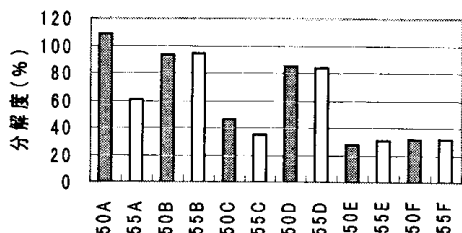


図4 各種酵素の分解能

パンチダーゼ NP-2はアローゼ AP-10を始めに補助的酵素として使用した。製造元で薦める使用量は基質1gに対し2mgである。この条件で行った50C、55Cの分解度は非常に低い。50D、55Dに示したように使用量をフレーバーザイムと同量まで増やしてもその分解能は低い。一方、パピインは非常に分解度が低かった。

3-2 フレーバーザイムの反応至適条件の検討

a フレーバザイムLの量と分解度の関係について検討した。表2に示すように酵素量を変化させ分解度を測定した。それぞれの分解度は図5に示す通りである。フレーバーザイムL及びフレーバーザイム Plus の標準使用量は基質1gに対し約2mgであるが、7.5mgまで増量すると高い分解度が得られた。

表2 酵素量と分解度：基質1gに対する酵素使用量

実験番号	アルカララーゼ	フレーバーザイムL	フレーバーザイムPlus
A	2mg	4mg	
B	2mg	7.5mg	
C			7.5mg

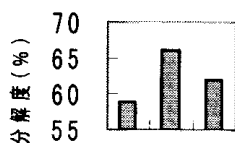


図5 フレーバーザイムの酵素量と分解度

したがって、最小の酵素量で高分解度を得るには基質1gに対しアルカララーゼ2mg、フレーバーザイムL7.5mgの組み合わせがよいとの結論に達した。

b 殺菌方法による分解度への影響を検討した。使用酵素量は基質1gに対しアルカララーゼ2mg、フレーバーザイムL7.5mgである。図6に示したようにオートクレーブ処理(A)は分解に影響を与えない。NaCl添加量が多くなるにつれて (B、C)分解度が低下している。

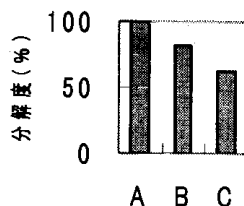


図6 殺菌法が分解度に与える影響

4 考察

各酵素の分解能を比較検討した結果、タンパク質をアミノ酸レベルまで分解するには図4の50Aに示したようにフレーバーザイムLとアルカララーゼの複数酵素反応が最適であるとの結論を得た。フレーバーザイムLの至適反応温度から外れた55Aでは50Aに比べ分解度が低いことからアルカララーゼは分解力はほとんど無く補助的な酵素であり、分解の主力はフレーバーザイムLであることが解る。フレーバーザイム Plus は単独で十分使用に耐え、その簡便さから工業化に際して有効であると考えられる。パンチダーゼ NP-2は使用量をフレーバーザイムと同量まで増やしてもその分解能は低いことからさらに大量の酵素量を必要とし実用的ではないと判断される。パピインはアミノ酸液を調製する目的に関しては全く使用できなかった。

図5から高分解度を得るためには基質1gに対しアルカララーゼ2mg、フレーバーザイムL7.5mgの組み合わせが最良であるとの結果を得た。また予備実験からもアルカララーゼは標準使用量の3倍に相当する6mgまで増量しても分解度は上昇しないこと、フレーバーザイムL及びフレーバーザイム Plus を10mgまで増量しても分解度にほとんど変化は見られないことが明らかとなっている。

図6からオートクレーブ処理によるタンパク質の過激な熱変性による分解度への影響は、本酵素では見られなかった。予備実験からは90℃、30minの穏やかな加熱殺菌や非加熱よりもオートクレーブ処理した方が分解度は若干ながら高い傾向が見られた。またCにおける18%と

若干ながら高い傾向が見られた。またCにおける18%というNaCl添加量は醤油醸造で雑菌の繁殖を抑えるために使用される量と同量であり、添加量としてはほぼ限界量であるにもかかわらず62%の分解度を維持していることから、本酵素は非常に耐塩性が高いことが明らかとなった。

5 結 語

今回の実験結果から、畜産未利用資源から調味液調製を目的としてアミノ酸レベルまで分解できる酵素フレーバーザイムLが選択された。本酵素は、本稿には記さなかったが、骨などの難分解性組織を除き肝臓、腎臓、肺、小腸等の種々の組織の分解に良好な結果を示している。また調製した調味液を実際にハム、ソーセージ等に添加した際の製品としての味について、試作品を通して検討する予定である。

本研究を実施するに当たり、原料を提供して下さった共同研究者(株)岩手畜産流通センター、酵素を試供して下さったNovo Nordisk社、BICON社、ヤクルト薬品に感謝いたします

文 献

- 1)J. Adler-Nissen, Enzymic Hydrolysis of Food Proteins. Elsevier Applied Science, New York., (1986)
- 2)K. Pommer, % DH Determination Based on TNBS Analysis. EF9415317/KPo, Novo Nordisk A/S. DK., (1994)
- 3)C. Dambmann, Protenase Determination using Casein as a Substrate . CPU-Determination. AF 228/1-GB, Novo Nordisk A/S. DK., (1988)