

もなく、かなり悪い方向へ変化し、成分的にも酸及びアルデヒドの含有が高かった。

両グループ間に、この様な差異を生ぜしめた因子について検討すれば、貯蔵条件が前者グループでは、比較的溫度変化が少なくNo. 3 No. 5 は恒温中に貯蔵し光の影響も少ない。

一方後者ではとくにNo. 4の如きは、日中は直射に露照されると同時に高温に保たれ、夜間は室温にあるという具合に、急激な溫度変化をうけて貯蔵されていたのである。

このような太陽光線、溫度変化等の因子が酸、アルデヒド及び「オリク」の消長に關与し、その程度の差により酒質に変化を生じたのではないかと考えられる。尚多少の差異を示した酸、アルデヒドについてはガスクロマトグラフにより検討中であり、「オリク」についても随時検討するつもりである。

文 献

- 1) : 国税庁所定分析法注解
- 2) : 山田正一、醸造分析法
- 3) : 吉川誠次、食品官能検査法 105
- 4) : 裏西久男その他、統計学解析入門 142

4.2.7 〔題目〕パイナップルから粗製ブロメリンの回収試験

県産果実利用加工試験 (第11報)

東 邦雄 水元弘二

緒 論

最近、蛋白分解酵素の研究が盛んになされ、急速な進展をみている。酵素資源も以前よりよく知られていた動植物を源とする蛋白分解酵素の外に、特に特異性を有する多くの微生物起源の蛋白分解酵素の発見や、その精製技術の進歩による酵素の純化が容易になり、蛋白分解酵素それ自体のもつ多種多様な機能の利用等と、きわめて広い範囲にわたって、その応用面の開拓が進められつつある。

例えばビール醸造における蛋白混濁防止、チーズ熟成への応用¹⁾、肉の軟化剤、家畜飼料等への利用といったような食品工業面、肉腫除去剤、消化剤等への利用としての医薬面や量的には少ないが皮革工業への利用等と多方面の新しい応用面が開拓されつつある。

ところでパイナップル植物にはその果実 (Fruit) のみでなく、根茎 (Stem) 葉にも蛋白分解酵素Proteaseを多く含むことが知られ、この各組織のProteaseの総称としてBromelainという名称が提案され、その起源によってFruit Bromelain, Stem Bromelainなどと呼ばれるようになった。

Fruit BromelainやStem Bromelainの粗酵素は数種のProtease混合物であると報告されている³⁾。

吾々は、このFruit Bromelain (以下Bromelain) をパイナップル固形缶詰製造の副産物を利用して粗製Bromelainとして回収する目的の技術相談をうけ、2.3の検討を行なったので報告する。

実験方法

〔試料〕；本実験には奄美大島産の4～5月頃収穫したスムースカイエンズ種のパイナップルをもちいた。

〔方法〕；Bromelain回収法のアウトラインはFig. 1に示す通りで、本実験ではパイナップル果実をFig. 2に示す通り、各部位に切断し、その各部位個々の収得歩合及び粗製ブロメリン回収、パイナップルの熟度とBromelain回収との関係、その他Bromelain回収阻害防止のためのパイナップルジュース処理法等につき実験を試みた。

Fig. 1 粗製ブロメリン回収法

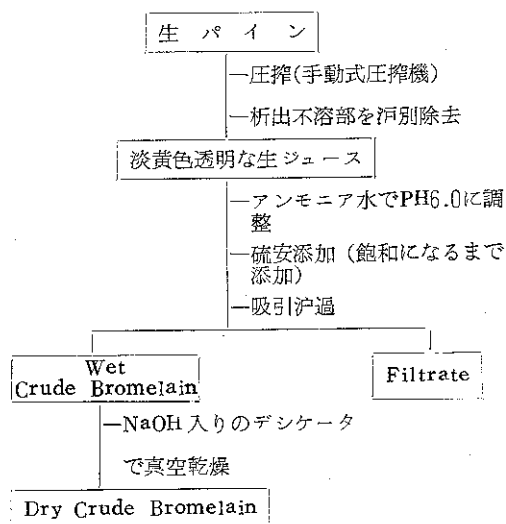
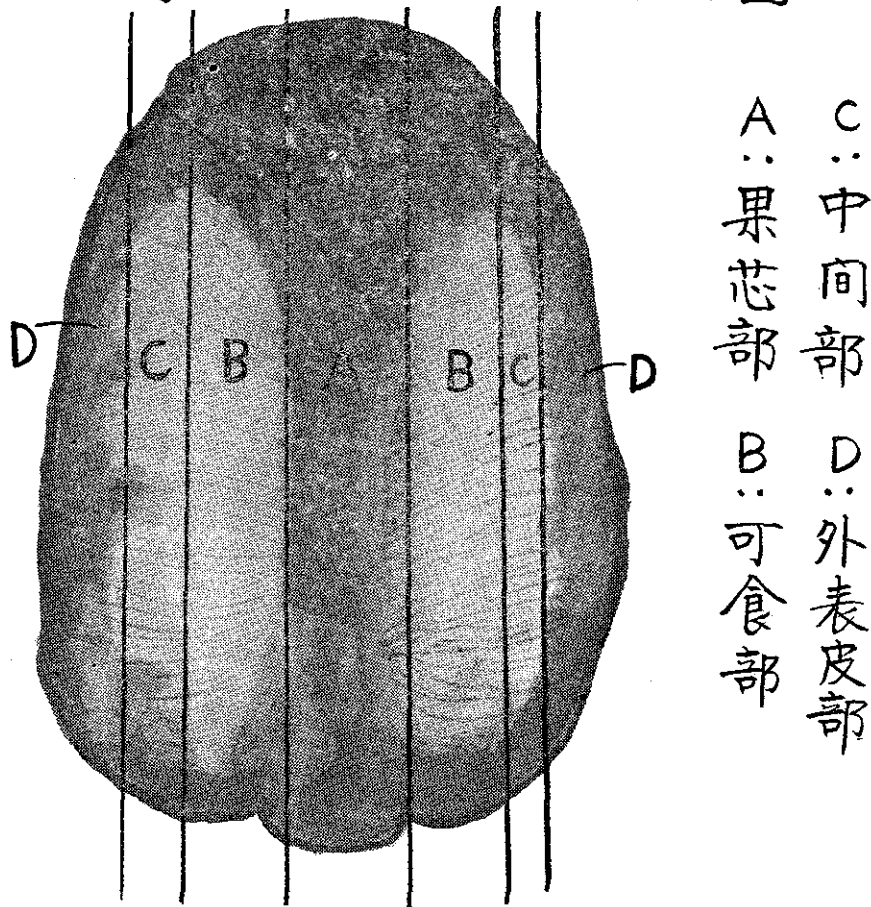


fig.2 パイナップル断面図



〔純度測定〕³⁾；粗製ブロメリンの精製方法にはゲル³⁾濾過法，陽イオン交換クロマトグラフ，その他硫酸再塩析法⁴⁾等が試みられているが，本実験では粗製ブロメリンの収量が比較的になかったために試薬用ブロメリン (Cleveland Ohio 製) の力価より，その純度及びBromelainの量を推定した。

〔力価測定〕⁴⁾；5000ppmのCasein (ハンマーステンカゼイン) 5 ml を試験管にとり，25°C恒温槽に5分間予温後，検液 (500 ppm) 1 ml を加え混合し正確に25分間反応させ，直ちに5% T.C.A. (トリクロロ酢酸) 5 ml を加え激しく振盪し反応を停止せしめ，20分間放置し蛋白を

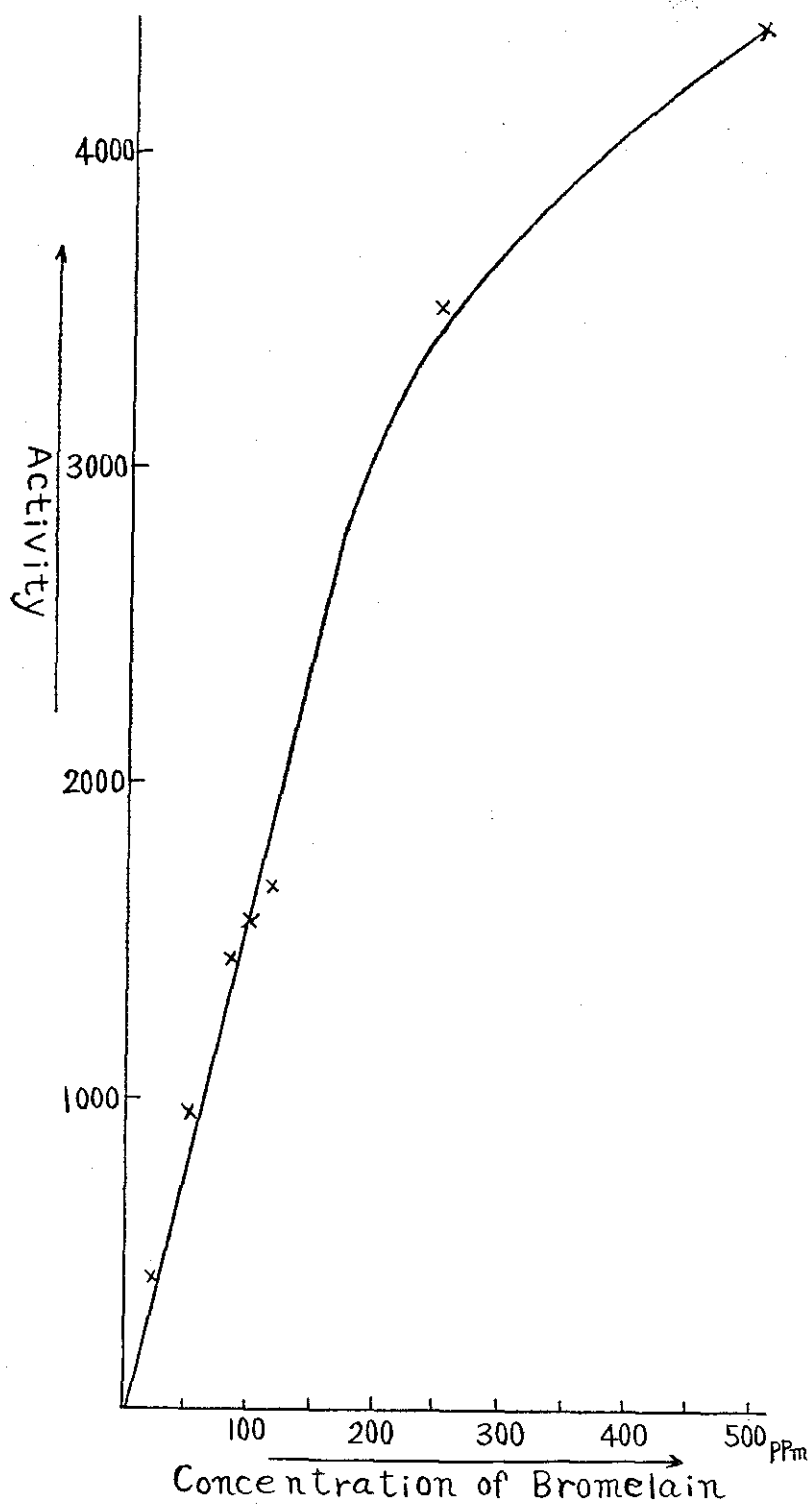
完全に沈澱させ 濾過し，蒸留水を対照として 280m μ (日立EPU-2型) の吸光度を測定する。その力価計算は下記の公式で力価を表示し，その1単位とは上記分析法に於ける吸光度が1分間に 1×10^{-5} を増加せしめる効力を示す。

$$X = \frac{S - B}{T \times W \times 10^{-5}} \times 100$$

S；検液の吸光度 B；Blankの吸光度
T；反応時間 (min) W；検体の秤量 (mg)
X；検体 1 mg 中の単位

本実験にもちいた試薬用ブロメリン (Cleveland Ohio 製) の濃度と，その力価との関係を Fig 3 に示す。

fig.3 檢量曲線



実験結果及び考察

〔1〕パイナップル果実より各部位及び粗製ブロメリン回収 (Table 1 参照)

- (1) パイナップル固形缶詰製造の副産物 (本実験でいうなら可食部を除いた部位に相当する。) は 50 % 前後とされているが本実験で 59 ~ 73 % という高収得歩合が得られたのは、実際の缶詰製造の副産物からこれに附着している可食部の果実を取る操作がなされなかった為であろう。
- (2) パインジュース生成歩合は各部位とも 70 ~ 80 % 前後であるが、外表皮部においてはその組織と硬度の点で他の部位と差異があるためにジュース歩合が低いのであろう。
- (3) 粗製ブロメリンの回収 (ジュース量に対する歩留 w/v %) は果芯部を除いて 0.3 ~ 0.5 % の歩留を得た。
- (4) 各部位から調整した粗製ブロメリンの力価から fig 3 をもちいて、それぞれ純粋なブロメリンとの相対純度をもとめ、純品の収得歩合を推定すると、食用部より得られた粗製ブロメリンはかなり高純度で、また食用部にブロメリンの存在が高いのではな

いかと推測された。

Table 1 各部位におけるブロメリン及び各部位の収得歩合

項 目	部 位	外表皮部	中間部	食用部	果芯部
各部位の収得歩合 (%)		20 ~ 35	18 ~ 22	27 ~ 41	12 ~ 15
ジュース生成歩合 (v/w) %		39 ~ 43	62 ~ 78	68 ~ 70	82 ~ 85
粗製ブロメリン生成歩合 (w/v) %		0.37 ~ 0.55	0.29 ~ 0.52	0.26 ~ 0.38	0.16 ~ 0.18
Bromelain mg/100ml juice		60 ~ 100	50 ~ 70	140 ~ 195	12 ~ 22

〔2〕熟度とBromelain回収との関係

パイナップルの収穫時期は夏冬の 2 回である従って気候の影響を受け、その成分も相当差異がある。また果実の熟度においても同様な成分差異がみられる。そこで奄美大島で摘果後 2 ~ 3 日経過したパイナップルを外観 (色香) 官能 (PH 測定, 唼味等) によって、便宜上その実を未熟, 完熟とに選別し, その両者についてブロメリン回収の差異を検討した結果を Table 2 に示す。

Table 2 パインの熟度との関係

	外表皮部		中間部		食用部		果芯部	
	未熟	完熟	未熟	完熟	未熟	完熟	未熟	完熟
各部位の収得歩合 %	25.8	20.8	23.3	17.8	35.1	40.7	13.9	12.3
ジュース生成歩合 (v/w) %	39.4	39.7	62.2	78.8	69.9	67.5	82.6	85.1
パインジュース initial PH	3.20	3.45	3.15	3.42	3.22	3.50	3.30	3.50
粗製ブロメリン収量 (w/v) %	0.458	0.556	0.285	0.525	0.262	0.355	0.17	0.159
Bromelain mg 数 / パインジュース 100ml	64.0	54.1	50.2	69.2	187.6	139.4	21.9	14.6

- (1) 粗製ブロメリン収量は完熟のパイナップルの方が高いが、その回収した粗製ブロメリンの純度を Fig 3 を用いて推定すれば、未熟なパイナップルより回収したものが高く、純粋のブロメリン量に換算しても、その含有が高いことが推測された。
- (2) パイナップル果実が熟化するに従って PH 及び糖の含有の上昇とは逆に Brome-

lain は変性し、その含有は減少するものと推考される。

〔3〕パイナップルジュース処理による Bromelain の回収

私信によると、パイナップルを切開して、手速く (約 1 ~ 2 時間以内) 処理しないと酵素回収阻害がみられるという情報を受けたので、ジュース処理による Bromelain 回収並に処理時間

による影響を見た。ジュース処理法については

Table 3に示す。

Table 3 ジュース処理によるBromelainの生成

Pine juice						
adjusted pH 6.00 with 2% NH ₄ OH sol.						
500ml	PH-処理	Control	KCN-処理	H ₂ S-処理	K ₂ CrO ₄ 処理	
Standard	adjusted pH 7.00 with 2% NH ₄ OH	Kept over night at Room Temp	added 1M-KCN ml per 100ml juice	added H ₂ S Kept over night	added 10% K ₂ CrO ₄ 2.5ml per 100ml juice	
-Salting out with (NH ₄) ₂ SO ₄	-Salting out	-Salting out	-Kept over night at Room Temp	-Salting out	-Kept over night	
1.665 g	1.404	1.737	1.339	1.157	2.331	Crude Bromelain
331 mg	198.4	267.4	215.6	199.1	46.6	Bromelain
66.2 mg	39.7	53.5	43.1	39.8	9.3	juice 100ml 中 Bromelain mg
0.333%	0.281	0.348	0.268	0.231	0.466	粗ブロメリン 収得率%

Table 4 パイナップルジュースの灰分組成

要 約

元 素	百 分 率 ⁵⁾	定 性 分 析
灰 分	0.340	—
カ リ ウ ム	0.148	卅
ナ ト リ ウ ム	0.0012	+
カ ル シ ウ ム	0.0132	卅
マ グ ネ シ ウ ム	0.0122	卅
鉄	0.0002	±
マ ン ガ ン	0.0006	±
銅	0.00004	±
磷	0.0075	±

- (1) Control及びPH処理はPH6.0 PH7.0で酵素機能をブロックする目的で行なったが、Standardに対して、Controlが約80%，PH処理は約60%の回収率であった。
- (2) KCN処理、H₂S処理により他の酵素（例えば oxidase, Peroxidase etc）とBromelainの拮抗作用を軽減し、Bromelain回収の容易化を試みたが、むしろ回収阻害がみられた。
- (3) パイナップルジュースの灰分成分を定性試験したがTable 4に示すように、とりわけ酵素阻害となるような重金属(Hg⁺Ag⁺etc)はみられなかった。

- (1) スムースカイエン種のパイナップルより、ジュースの収得歩合は65~80%で粗製ブロメリン回収は対ジュース当り0.36~0.52%であった。
- (2) 回収した粗製ブロメリンの純度は10~20%位であろうと推定された。
- (3) Bromelain回収の塩析条件を若干検討した結果、回収向上条件は見いだされなかったがジュースをPH6.0に調整することはかなり重要な因子のように思われた。
- (4) パイナップルの熟度とブロメリン回収とに相関関係があるように思えた。

終りに臨み本実験の試料を供与して下さった大島鳳梨産業株式会社社長 都野知足氏、ブロメリン関係資料をいただいた互栄商事の本地川雅弘氏、ならびにパイナップル灰分の分析を援助された当試験場の西寛明研究員に深謝します。

文 献

- 1) : 堀江雄, プロテアーゼ利用に関するテキスト, 129 (1965)
- 2) : 鶴田文三郎, 同上
- 3) : Shoshi Ota, S. Moore and Stein, W. H., Journal of Biochem.
- 4) : 私信
- 5) : 尾崎準一, 果汁ハンドブック (上巻) 369