

酵素を用いた鶏肉加工品の食感改変とその機能性

福田和弘*, 新居佳孝*, 吉本亮子*

Kazuhiro Fukuta, Yoshitaka Nii, Ryoko Yoshimoto

抄 録

高たんぱく質である鶏ササミおよびその加工食品を原料として、パパイン処理による食感の改変並びに生体調節に関わる機能性成分の検索を行い、咀嚼・嚥下機能の低下した高齢者向けの機能性食品開発を検討した。ササミを原形のままで50℃, 1時間の酵素分解を行った場合は、原料を事前に加熱処理した方が硬さの低下が認められるものの、食感の改善効果はあまり認められなかった。加工品(ササミフレーク)を原料とした場合、同条件で対原料0.05%以上の酵素剤添加により、原料の液化が認められた。また、酵素分解物は血圧上昇抑制に関与する強いアンギオテンシンI変換酵素阻害活性を持ち、当該阻害ペプチドの存在が推察された。

一般成分の測定値を表1に示した。

1 はじめに

食材としての鶏ササミやその加工食品は、脂質含量が少なく、たんぱく質を多く含んでいるため、高齢者の栄養補給に適した食品の一つである。一方、咀嚼・嚥下機能の低下した高齢者等には、食感の面で改良すべき点があり、当該者を有する家庭や施設においては、これを考慮したフレークまたはゼリー状に加工した一部の製品や個々に調理した「ミキサー食」が利用されている。本研究では、咀嚼・嚥下困難者を含む高齢者向け機能性食品の開発を目標として、鶏ササミ等高たんぱく食品の食感の改変並びに従来のフードプロセッサー等による「ミキサー食」の調製に代わる加工法を探るべく、酵素剤(プロテアーゼ)の利用を検討した。また、ここでの機能性としては、食品成分による健康維持を目的として、当該酵素分解物中の血圧上昇抑制に関与するアンギオテンシンI変換酵素阻害ペプチド等の有無を検討した。

2 実験方法

2.1 原料

- (1) 鶏ササミ(約50g/本)
- (2) ササミフレーク(和風)(貞光食糧工業(有)社製)*

*: 鶏ササミを調味、加熱処理したものを細切りした製品

表1 ササミフレークの一般成分

項 目	g / 100 g
水分	79.3
たんぱく質	18.6
脂 質	0.7
炭水化物	0.1
灰 分	1.3
食塩相当量*	0.6

*: ナトリウム240mg / 100gより

2.2 酵素剤

可溶性パパイン(MERCK社製, 活性6000USP U/mg)

2.3 酵素分解

2.3.1 ササミの酵素分解

ササミを原形のまま(生)もしくは真空包装して70℃, 10分の加熱処理を行ったものを原料として0.5%~2%(W/W)対原料濃度に調製した酵素溶液を原料と等量加え、真空包装を行い50℃の恒温水槽にて1時間反応させた。反応後、試料は沸騰水中で10分間加熱処理を行い、酵素分解試料とした。なお、対照としては、酵素溶液の代わりに蒸留水を用いて同様の操作を行った。

2.3.2 ササミフレークの酵素分解

原料に対して0.05%~0.2%(W/W)となるように酵素剤を添加し、乳鉢にて混合した後、真空包装したものを50℃の恒温水槽にて1時間放置して酵素分解を行った。さらに、この分解物を沸騰水中で10

分間加熱し、酵素失活処理を行ったものを酵素分解試料とした。なお、以下の分析には、酵素分解試料に等量のミリQ水を加えたものを分析試料とした。

2・4 物性等の評価

ササミ酵素分解試料の物性については、テクスチュロメータ（全研社製，GTX 2 IN型）を用いて、硬さ（剪断力）を測定した。測定は、試料を厚さ12 mmに輪切りし、切断面に対して垂直、V型プランジャー、クリアランス1 mm、出力0.5Vの条件で行い、得られた数値は、生ササミ酵素無添加試料を100として相対比較した。また、熱失活後の各酵素分解試料の重量を測定し、それぞれの試料の重量歩留まりを算出した。

2・5 SDS ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS PAGE)

分析試料200 μ lに等量のSDS PAGE試料緩衝液（20%グリセリン，4.6%ドデシル硫酸ナトリウムおよび0.002%ブromoフェノールを含む125mM Tris HCl緩衝液（pH6.8））を加えた後、終濃度が10%になるように2-メルカプトエタノールを加え、沸騰水浴中で5分間加熱した。このSDS処理した試料をLaemmliの方法¹⁾に従い、12%平板アクリルアミドゲル（1 mm厚，10×10cm）に20mAの定電流で電気泳動を行った。なお、タンパク質の検出は、Coomassie Brilliant Blue（CBB）染色により行い、ゲル上の各バンドはイメージスキャナー（GT 8700，セイコーエプソン社製）を用いて600dpiの解像度で取得した。

2・6 酵素分解液の逆相カラムクロマトグラフィー

分析試料をモルカットLCC（日本ミリポア社製）により限外ろ過（分子量5000以下）し、このろ液を供試試料としてODSカラム（TSK GEL ODS 80TM（東ソー社製））を用いて、移動相を0.1%トリフルオロ酢酸（TFA）を含む0.05~80%アセトニトリル水溶液にてグラジエント分析を行った。

2・7 人工胃液による消化

分析試料0.5gに10mlの人工胃液（塩化ナトリウム2.0g，ペプシン3.2g，希塩酸24.0mlを精製水で1lに調整したもの（pH1.2））を加え、37℃で1時間振とうした。次に少量の11.2N水酸化ナトリウムで中和後、さらに沸騰水中で10分間加熱処理を行い、人工胃液による消化物とした。

2・8 アンギオテンシン I 変換酵素（ACE） 阻害活性

供試試料は、分析試料の分子量5000以下の限外ろ過液とし、CushmanとCheung³⁾の方法に準じてACE阻害活性を測定した。なお、用いたACE溶液は、精製ACE（1 unit, Sigma社製）より調製した。

また、当該活性は、下記のように算出した阻害率として表した。

$$\text{阻害率}(\%) = (B - A) / (B - C) \times 100$$

（測定波長：228nm）

A：試料液を添加し、反応させたときの吸光度，B：試料液の代わりに蒸留水を加えたときの吸光度，C：あらかじめ1N塩酸を加えて反応させたときの吸光度。

3 結果および考察

3・1 酵素分解による形状等の変化

(1) ササミの酵素分解

表2に生もしくは事前に加熱処理したササミの酵素分解後の重量歩留まりおよび硬さを示した。

表2 ササミの酵素処理

試料* ¹	重量歩留まり(%)	硬さ* ²
HE 0.5	86.2	9.6
HE 1.0	76.6	6.9
HE 2.0	82.7	12.3
HE 0	100	17.3
RE 1.0	100.4	15.3
RE 0	83.5	10.0

* 1 HE；前加熱したササミを原料とした酵素分解試料

RE；生ササミを原料とした酵素分解試料，0~2.0の数字は、対原料の酵素添加%（W/W）。

* 2；RE 0硬さの値を100とした相対値。

今回の条件においては、重量歩留まりは、酵素を添加することにより低下の割合が大きい傾向がみられた。また、前処理として加熱処理を行ったササミを酵素処理することにより、機器測定による数値では、硬さはやや低下する傾向がみられた。一方、生のササミを原料とした場合には、試料数が少ないため結論し難いが、酵素による効果はほとんど認められず、逆に硬さの増加がみられ、重量歩留まりの低下もあって見かけ上収縮した感じであった。

周知されているように、プロテアーゼによるたんぱく質の分解は、熱変性たんぱく質の方が分解し易

いことも大きな要因であると考えられるが、酵素の浸透等の影響も大きく、生のままでは、内部まで浸透され難いことも要因であると考えられた。今回のようにササミをそのまま原料として用いる場合には、物理的に注射器による酵素液の内部注入等を検討する必要がある。

他方、官能的な食感は、硬さにおいて酵素処理の効果による数値上の低下が認められたものであっても、後でスジが残るような感じであった。咀嚼等を考えた場合、たとえ軟らかいものでもスジが残ったり、口中でまとまりが悪いものは嚥下し難いと言われており、これには当該食品の保水性も重要な要因である。酵素分解において、保水性の保持についても当該効果のある副資材等の併用も含め、今後の検討項目であると考えられた。

(2) ササミフレークの酵素分解

酵素分解したササミフレークの外観等を表3に示した。なお、ここでの酵素添加量は、結果として表していないが、予備試験的に酵素添加量を検討したところ、0.2%以上の酵素剤で十分液化することが分かったため、コストも考慮し0.2%以下の添加量で検討した。

表2 ササミの酵素処理

試料	酵素処理後の状態	食感等
酵素剤0.2%	液状	やや粉状のものが残る。僅かに苦味。
酵素剤0.1%	液状	粉状のものが残る。
酵素剤0.05%	一部液状	固形分と液状のものが混合した感じ。
酵素剤無添加	変化なし	粉状及び繊維状のものが残る。

酵素剤0.05%以上の添加では、いずれの試料も見かけ上は液化しているようであったが、0.05%添加の試料は、未分解部分も少なくなく、食感等においては酵素剤無添加に比べて後に残る感じが強かった。また、0.1%および0.2%添加試料においても、それほど強くはないものの同様に当該たんぱく質の未分解物に起因すると考えられる粒状または粉状のものが感じられた。一方、呈味性については、0.2%添加試料において酵素分解時特有の苦味、渋味がわずかながらも感じられた。このことについては、酵

素添加量0.2%以上の予備試験において分解時間が同じ場合、苦味等もある程度添加量に伴い強くなる傾向であった。

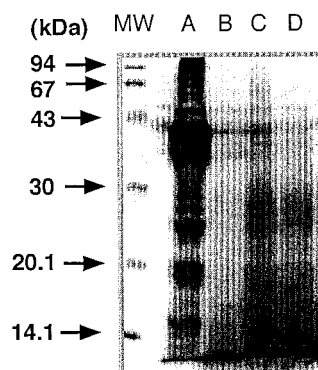


図1 ササミフレーク酵素分解試料のSDS-PAGE

MW: 分子量マーカー, A: 酵素剤無添加, B: 0.05%添加, C: 0.1%添加, D: 0.2%添加

また、たんぱく質の酵素分解を観察するためそれぞれの試料についてSDS PAGEを行った(図1)。酵素剤を添加した試料であるB~Dレーンでは、酵素剤無添加のAレーンと同じ位置のバンドも認められるものの、いずれのバンドも広がって薄く、低分子側であるゲルの下部の方が染色も濃い傾向であった。このことから、今回の酵素分解試料において、完全ではないにしろ原料のササミフレーク中の種々のたんぱく質が低分子に分解されていることが推察された。

従来、重度の咀嚼・嚥下困難者には、食品をミキサーやフードプロセッサ等によって機械的にペースト状にしたミキサー食が利用されているが、食品の種類によってはその調製時に多量の加水が必要である場合もあり、高齢者の摂食量から考慮しても量的および栄養補給の面で通常食より劣っている。今回の実験では、原料をすでに加工済みの製品とし、用いたプロテアーゼも一般に肉類の軟化剤としてよく利用されるパインであったが、0.05%程度の添加量で、液化等形状変化およびある程度の原料たんぱく質の分解が認められた。今後、原料の前処理、使用酵素剤の選定も含めた詳細な酵素分解条件を検討する必要があるが、酵素剤を用いることにより、加水量が少ない「ミキサー食」への展開が期待できる。

3.2 酵素分解によるペプチド等の生成

各酵素分解試料について、それぞれ分子量5000以下の画分をHPLCによりODSカラムを用いてグラジエント分析を行い、生成したペプチドの様相を検討

した。図2は、酵素剤0.05%添加試料と0.2%添加試料(1)並びに酵素剤無添加試料(2)との逆相カラムクロマトグラムの比較を示した。

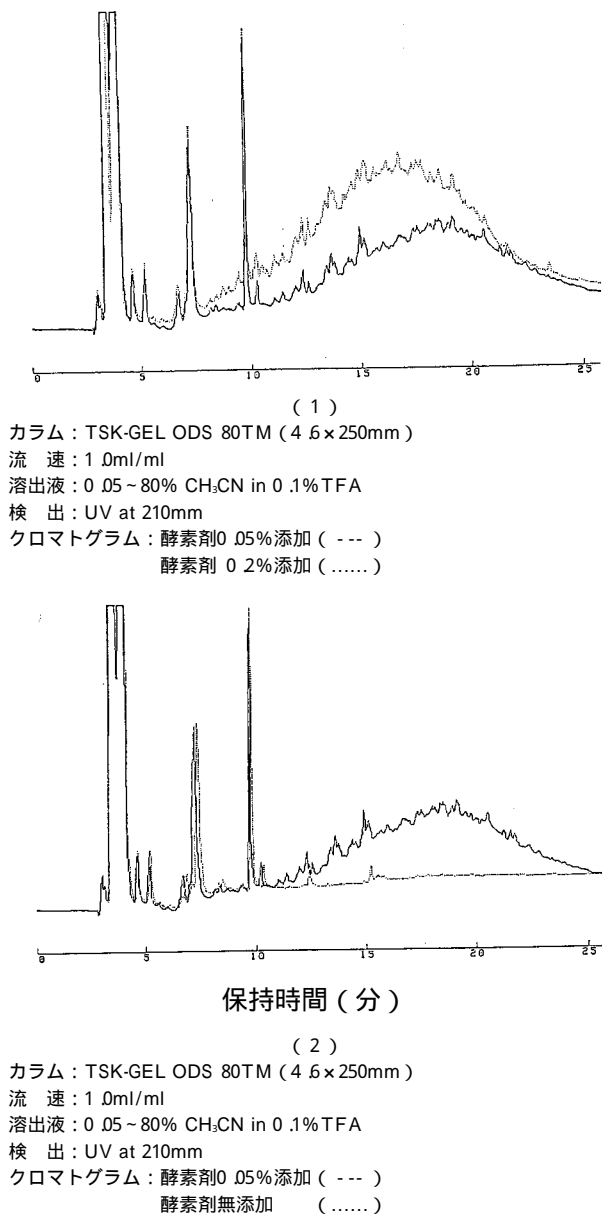


図2 各酵素分解試料(分子量5000以下)の逆相カラムクロマトグラムの比較

酵素剤無添加試料では、通常ペプチド検出に用いられる210nmでは試料由来の該当するピークは認められず、当該試料の分子量5000以下の画分において、使用したODSカラムに保持されるペプチドはほとんど無いと推察された。

一方0.05%および0.2%の酵素剤添加試料では、種々のピークが検出され、原料たんぱく質の分解により生成したペプチドが多数(多種類)あることが示唆された。さらに、酵素剤添加試料の比較(図2(1))では、酵素剤添加量に比例し検出ピークも

高くなる傾向が認められた(酵素剤0.1%添加試料は0.2%と0.05%の間)。また、ピークの保持時間も多少異なり、0.2%添加試料の方が全体的に保持時間が短い側(疎水性の低い側)に移動する傾向も認められた。

3.3 ACE阻害活性

ACEは、生体内で不活性なペプチドであるアンギオテンシンIのカルボキシル基末端からジペプチドを切断し、血管収縮などの強い血圧上昇作用を有するアンギオテンシンIIへの変換を触媒するジペプチジルカルボキシペプチダーゼである。また、同一酵素は動脈弛緩物質であるブラジキニンの分解にも関与し、これらのことから本酵素の阻害物質は血圧降下作用を示すことが知られている。本酵素の阻害活性については、in vitroでの測定も比較的簡便であるため、近年、食品由来の阻害物質が数多く報告され、その中でも様々な食品たんぱく質由来のペプチド性阻害物質⁴⁾⁻⁷⁾が見出されつつある。今回、原料とした鶏肉についても用いた酵素剤、分解条件等は異なるもののその酵素分解物中より数種の当該ペプチドが報告されている⁸⁾。

そこで、前述した酵素分解による食感の改変だけではなく、他の付加価値として酵素分解時に生成するペプチドの生体調節に關与する機能性、特に、ACE阻害活性を検討した。図3に各酵素分解試料のACE阻害活性を示した。

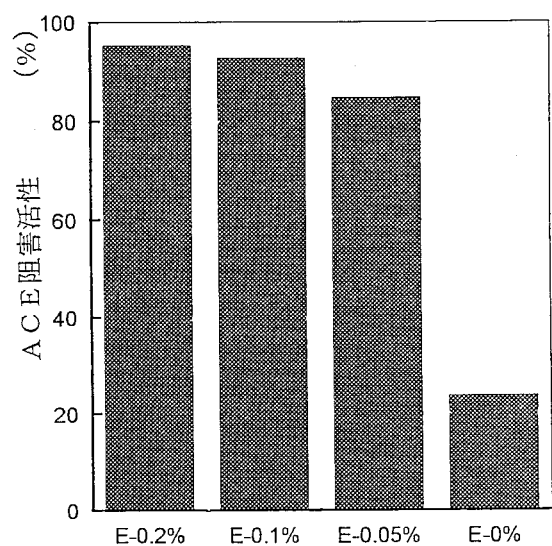


図3 各酵素分解試料のACE阻害活性

E-0.2% : 酵素剤0.2%添加試料
 E-0.1% : 酵素剤0.1%添加試料
 E-0.05% : 酵素剤0.05%添加試料
 E-0% : 酵素剤無添加試料

酵素剤を添加（酵素分解）することにより，強い阻害活性が認められ，さらに酵素剤の添加量が多いほど阻害活性も強い傾向を示した．このことについては，実際のペプチド量に関して定量を行っていないが，前述のHPLCによるクロマトグラムの結果からも検出ピークの数量と阻害活性の強さとは，正に相関していると考えられた．

また，鶏肉由来の阻害ペプチドの中には，ACEの基質となるペプチドの存在やある種のペプチドにおいては消化酵素による分解，または分解によってさらに阻害活性が増強されるとの報告⁸⁾もあることから，各酵素分解試料について人工胃液での消化を検討した．

ここでは示していないが，各酵素分解試料とも高い阻害活性を維持し，むしろ，阻害活性の増強が認められた．このことについては，トリプシン消化も含めて再度検討を加える予定である．

以上のことから，原料のササミフレークのパパイソ分解物中には，強いACE阻害活性を示す物質の存在が明らかとなり，当該物質は酵素分解時に派生するペプチドであると推察された．

4 まとめ

ササミ及び鶏肉加工品であるササミフレークを原料として，酵素剤（パパイソ）を用いて食感の改変を検討するとともに，その他の付加価値として酵素分解物中の機能性ペプチド（ここではACE阻害ペプチド）の有無等を検討し以下の結果を得た．

- (1) ササミをそのまま原料とした酵素分解では，前処理として加熱処理を行った方が硬さの低下が認められたものの，食感の改善効果はあまり認められなかった．
- (2) ササミフレークを原料とした酵素分解では，原料に対して0.05%（W/W）以上のパパイソを添加し，50℃，1時間反応させることにより液化等形状の変化，原料タンパク質の低分子化が認められた．
- (3) 酵素剤の添加量を増加させることにより著しい液化が認められるが，苦味の生成も強くなる傾向であった．
- (4) 酵素剤の添加量に伴い，派生するペプチド数量も増加する傾向であった．
- (5) 酵素分解物は，強いACE阻害活性を示し，その強さは酵素剤添加量に相関して高くなる傾向で，

阻害物質としては分解時に生成するペプチドであると推察された．

なお本研究は，（財）徳島県地域産業技術開発研究機構（現在，（財）とくしま産業振興機構）の平成11年度および12年度高度技術研究開発事業「機能性高齢者食の開発」において行ったものである．

参考文献

- 1) Laemmli, U.K. et al.: Nature 277, 680 (1970).
- 2) 第7改正日本薬局方注解，第1部，分冊1, 456 (1962)，南江堂（東京）
- 3) Cushman, D.W., Cheung, H.S., Sabo, E.F. and Ondetti, M.A.: Biochemistry, 16, 5484 (1977).
- 4) 河村幸雄：食品工業 33, 20 (1990)
- 5) 受田浩之，松田秀喜，黒田浩之，箆島克裕，松藤寛，箆島豊：農化 65, 1223 (1991).
- 6) Matumura, N., Fujii, M., Takeda, Y. and Shimizu, T.: Biosci. Biotech. Biochem. 57, 1743 (1993).
- 7) 箆島豊：魚肉由来の機能性ペプチド「食品の生体調節機能」（千葉英雄編），112 (1992)，学会出版センター（東京）.
- 8) 吉川正明：化学と生物 31, 342 (1993).