

パパイン処理した鶏胸筋肉の 小片化に関する研究

鮫島邦彦*・菊地 敏**・山本克博*

(肉製品製造学研究室)

Studies on the Fragmentation of Hen Breast Muscles Treated with Papain

Kunihiko SAMEJIMA*, Bin KIKUCHI**
and Katsuhiko YAMAMOTO*

(April, 1974)

緒 論

肉の軟かさは肉を利用する際に消費者にとって好まれる重要な因子の一つである。しかしながら肉の軟かさは経験的に動物の種類、品種、性別、部位、死後の経過時間などによって異なっていることが知られている。最近多くの研究者が肉の軟かさに関して屠殺前の因子^{9),10),17),18),20)} (例えば品種、年齢、性別、栄養、運動量など) や屠殺後の因子^{3),4),14),15)} (例えば熟成や凍結処理) について報告している。またいくつかの報告は^{7),8),22)} サーコーマの長さが肉の軟かさに重要な影響を与えていることを示した。

一方、高橋ら²²⁾ や深沢ら⁵⁾ は死後時間がたつにつれて、即ち筋肉が熟成されるにつれて、筋原線維の小片化現象 (fragmentation) が起きることを見出し、fragmentation が筋原線維のZ帯の構造の消失と破壊によっておこり、肉の軟かさに関係のあることを示した。

本実験は以上述べた結果を前提として、最近食肉利用の見地から米国などで使用されている食肉の酵素処理 [いわゆる硬い肉 (老廃牛の肉など) にタンパク質分解酵素を作用させて肉を軟化させる方法] が廃鶏肉の軟かさに与える影響を筋原線維の fragmentation を一つの目安にして調べる目的で行なったものであり、いくつかの知見が得られたので報告する。

* Lab. of Meat Research, The College of Dairying, Nopporo, Hokkaido, Japan

** Present address: Faculty of Agriculture, Yamagata University, Yamagata, Japan

実験方法

試料の調製

白色レグホン種の生後約500日齢(約2kg)のものを試料として供し、刺殺直後 Scalding (63°C 1分間) したものとしないものに向け、直ちに冷水で冷却し正中線で二分割し、胸筋の一方は骨つきのまま、他方は骨をはずして、それぞれを乾燥しないようにポリエチレン袋で包装し4°Cの冷蔵庫中に保存して実験に使用した。

パパイン処理法

本実験に供したタンパク分解酵素は商品名、ヘンスパイン(ミドリ十字製)である。この酵素は1ml中に力価として60単位含んだもので、肉に直接塗布する場合は1kgの肉あたり60単位をすり込んだ、この時の肉塊の大きさは約3×3×4cmである。注射処理をする場合は生体重1kgに対してパパインが60単位になるように翼下静脈に注射し2分後に刺殺し調製し試料とした。なおパパイン処理を行なうものはいずれも Scalding を実施しなかった。

筋原線維の調製

以前に高橋ら²²⁾が行なった方法に従った。すなわち約5gの肉を所定の時間に取り出し、小さく切り0.1M KCl, 39mM borate buffer, 1mM EDTA 溶液100mlで2分間ホモジナイズし Olympus Model EH 型位相差顕微鏡で観察した。

Fragmentation の算出法

筋原線維の fragmentation は高橋ら²²⁾の方法に従って算出された。すなわち視野中に見られる線維や小片化した線維の総数 $[\Sigma]$ に対する、サーコマが1~4個連なった小片 $[F]$ の割合 $([F]/[\Sigma])$ で表わした。測定は少なくとも10視野を観察し、少なくとも300以上の線維と小片化した線維を観察した。

pH の測定

45mlの脱イオン水中に5gの肉を加えホモジナイズして、そのホモジエネートのpHをガラス電極pHメーターで測定した。

結 果

動物の死後枝肉で保存したものと、死後骨をはずして保存した肉とではその軟かさに差のあることが経験的に知られていた。初期の実験で動物の死後直ちに骨をはずした肉は枝肉状態で死後硬直の時期を通過させた肉に比べてはるかに硬いことが報告されている^{8),12),19)}。そこで本実験でもはじめにこの点に留意して実験を行なった。

Fig. 1 は骨付のもの、骨を除去したものの死後の pH の変化と fragmentation の変化を示したものである。死後時間がたつにつれて pH は次第に低下し、6 時間後に最低値となり以後死後 48 時間までは変化を示さない。しかし fragmentation の割合は死後 6~10 時間後迄急激に増大し、その後も徐々に上昇した。骨付きと骨を除去したもので pH の変化に差が認められないにもかかわらず、fragmentation の増大する割合は骨付きで冷蔵したものの方が大きな値を示している。この結果は fiber bundle で実験した高橋ら²²⁾ の報告した結果とよく似ている。しかもこの結果は前述した肉の軟かさと fragmentation とは大いに関連のあることを明確にしている。

Fig. 2 は刺殺直後 Scalding を行ない冷却をした後 Fig. 1 と同じ操作をしたものの結果である。pH の変化に関しては Scalding の影響は見られないが fragmentation の割合は Scalding 処理をしないもの (Fig. 1) に比べて、骨付き及び除骨したものとにも低い値を示している。しかしながら Fig. 1 の結果と同様に死後 6~10 時間後位まで fragmentation の増加が顕著でありその後徐々に増大している。

Fig. 3 はパバインを肉表面に塗布したものの結果を示している。死後直ちに除骨したものをパバインで処理すると死後 3 時間以内すなわち硬直中に fragmentation の増加が著しくむしろ骨付きのものよりも高い程度の fragmentation を示した。pH の変化は Fig. 1, 2 に比べて死後の pH がいく分低い値を示しているが最終 pH には変化はない。しかし除骨したものの pH の低下は著しく、刺殺後 3 時間ですでに最終 pH にまで達していた。パバインは pH 5~7 の間で最も安定性を示し、しかもタンパク分解作用もこの pH 範囲で最も強いことが知られている (pH 7 の方が pH 5 よりも強い)¹³⁾ ので、この実験条件下での pH

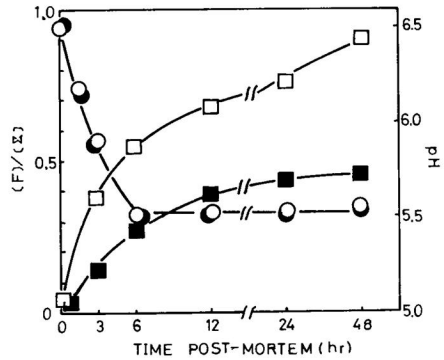


Fig. 1. Changes in fragmentation and pH value of hen breast muscles without scalding during aging.

Open symbols refer to muscles attached to skeleton until sampled, and solid symbols refer to those of muscles excised immediately postmortem.

□, ■: fragmentation; ○, ●: pH value

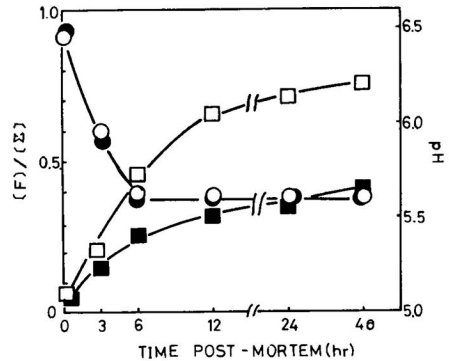


Fig. 2. Changes in fragmentation and pH value of hen breast muscles with scalding during aging.

Symbols are the same as in Fig. 1.

変化 (pH 6.5~5.4) 以内ではパペインはその活性を完全に保っていることがわかる。

Fig. 1, 2 の場合には fragmentation の最大を示すのに少なくとも 48 時間以上を必要とするが Fig. 3 の結果から, 明らかに肉にパペインを塗布すると 3~6 時間以内で最大に達することがわかる。

Fig. 4 はヘンスパペイン 120 単位を蒸留水 2 ml で溶かし翼下静脈に注射して 2 分後に刺殺し同様の操作をして得られた結果である。pH の変化は骨付きも除骨したものもパペインを塗布したもの (Fig. 3) の骨付きと同じ変化を示している。しかしながら fragmentation の変化は異なっていた。すなわち刺殺後 6 時間で骨付のものでは最大の値になり Fig. 3 に示した骨付のものと同じ結果を示したが, 除骨したものでは刺殺後 12 時間で最大に達した。この場合の fragmentation もパペインを塗布した場合と同じように自然に熟成させたもの (Fig. 1, 2) に比較して速やかに最大の fragmentation に達し, しかも筋原線維がホモジナイズされることによってより小さな fragment (サーコマが 1~2 個のもの) になり易いことが観察された。

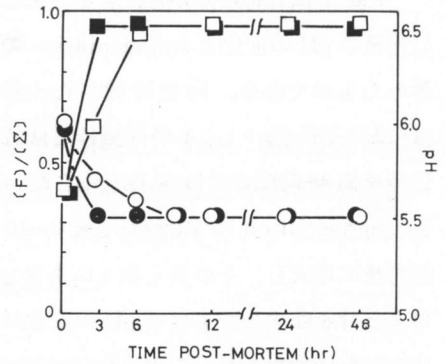


Fig. 3. Effect of papain application on fragmentation and pH value of hen breast muscles.

Symbols are the same as in Fig. 1.

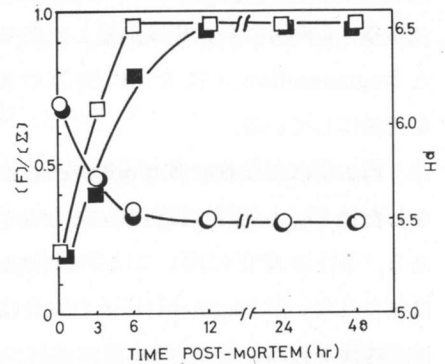


Fig. 4. Effect on papain injection on fragmentation and pH value of hen breast muscles.

Symbols are the same as in Fig. 1.

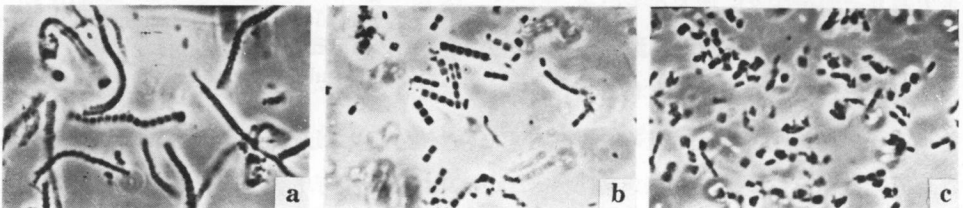


Fig. 5. Morphological changes of the myofibrils. Magnification $\times 1,300$.

- Immediately post-mortem.
- 48 hr post-mortem.
- 6 hr after papain injection.

Fig. 5 は位相差顕微鏡観察による結果を示している。死後直後の筋原線維は Fig. 5 (a) に示すようにサーコーマが長く連なっていた。しかしながら、死後 48 時間後には Fig. 5 (b) に示すように 1~4 個のサーコーマが連なったものしめる割合が増加しているのが明らかである。この変化は丁度 Fig. 1 に示されている死後 48 時間後に fragmentation が約 90% になる点に対応している。一方パペインを注射して骨付のまま保存して実験に使用したものは死後 6 時間で筋原線維のほとんどが小片化していた (Fig. 4), これに対応するものは Fig. 5 (c) に示してある。Fig. 5 (c) の結果は像が明確ではないが明らかに 1~2 個のサーコーマが大部分を占めていることを示している。

考 察

パペインを使用して肉の軟化をはじめて試みた Balls²⁾ はこのタンパク分解酵素が肉に作用して肉の結合組織や筋肉線維にも働き、タンパク質を分解して肉が軟かさを増したことを報告した。その後、西尾¹⁶⁾ や伊藤ら¹¹⁾ の研究結果でもパペインが結合組織のタンパク質に効果を及ぼし肉の軟化に影響を与えることが明らかにされている。

一方、ASHLEY ら¹⁾、STROMER ら²¹⁾、GOLL ら⁶⁾ によるとタンパク分解酵素のトリプシンが筋原線維の Z 帯を容易に切断することを報告しているが、本実験でもパペインで処理された筋原線維の fragmentation の様子 (Fig. 5 (c)) は不明確ではあるが、やはり Z 帯近辺で切断されているように観察された。しかしながらこのことはパペインが直接 Z 帯を構成しているタンパク質に働いているものかどうかは即断できない。

パペインを肉に塗布した時 (Fig. 3) または血管に注入した場合 (Fig. 4) で fragmentation の起こりかたが本実験では同一であるかのように見かけ上観察されたが、若干の疑問が残されている。すなわち肉にパペインを塗布した場合にはホモジナイズの最中にパペインが筋原線維のいたるところに働きかけて Z 帯近辺の弱い結合部分もしくは特異的にパペインに影響を受け易い部分を切断している可能性も考えられる。注射したものにおいても血管中に残っているパペインが攪拌処理中に同様な効果を及ぼす可能性も考えられる。しかし廃鶏や老廃牛の屠殺前にパペインを血管注射した肉は軟かさを増大する^{11), 16)} ことから考えると、パペインが血管を通して筋原線維にもその効果を与えているものと考えられる。

もう一つの疑問はパペインで処理された場合、死後硬直中 (6 時間以内)、すなわちサーコーマが収縮の状態²²⁾ にある時にすでに fragmentation が最大に達している事実である。この時点での fragmentation の様子がいかなるものであるか (サーコーマが静止状態であるのか、収縮状態にあるのか、弛緩状態か)、本実験では明らかではないが将来さらに検討が加えられる必要があるであろう。

要 約

廃鶏(約500日齢)を使用して死後の胸筋肉の変化を筋原線維の小片化現象(fragmentation)とpHの変化で観察した。普通の肉の熟成条件下(4°C)で骨付き肉のfragmentationは死後6時間後で55%, 48時間後では90%であったが骨を除去したものでは6時間後で30%, 48時間後では45%であった。

一方, パパインで処理されたものではfragmentationが急速に起こり死後硬直中(3~6時間)にすでに90%以上にも達していた。しかもパパイン処理された筋原線維の小片化の様子は, 処理されなかったものに比べて単一のサーコマの割合が圧倒的に多く観察された。

本論文をまとめるにあたり, 九州大学農学部, 深沢利行教授。北海道大学農学部, 安井勉教授にご校閲をいただいた。記して深謝の意を表す。

文 献

- 1) Ashley, C. A., K. R. Porter, D. E. Philpott and G. M. Hass, 1952. Observation by electron microscopy on contraction of skeletal myofibrils induced with adenosinetriphosphate. *J. exp. Med.*, **94**: 9-20.
- 2) Balls, A. K., 1941. Protein-digesting enzymes of papaya and pineapple. U. S. D. A. Circular No. 631. December.
- 3) Davey, C. L. and K. V. Gilbert, 1967. Structural changes in meat during aging. *J. Food Technol.*, **2**: 57-94.
- 4) Davey, C. L. and M. R. Dickson, 1970. Studies in meat tenderness. 8. Ultrastructural changes in meat during aging. *J. Food Sci.*, **35**: 56-60.
- 5) Fukazawa, T., E. J. Briskey, F. Takahashi and T. Yasui, 1969. Treatment and Post-mortem aging effects on the Z-line of myofibrils from chicken pectoral muscle. *J. Food Sci.*, **34**: 606-610.
- 6) Goll, D. E., W. F. H. M. Mommaerts, M. K. Reedy and K. Seraydarian, 1969. Studies on α -actinin-like proteins released during trypsin digestion of α -actinin and of myofibrils. *Biochim. et Biophys. Acta*, **175**: 174-194.
- 7) Gothard, R. H., A. M. Mullins, R. F. Boulware and S. L. Hansard, 1966. Histological studies of postmortem changes in sarcomere length as related to bovine muscle tenderness. *J. Food Sci.*, **31**: 825-828.
- 8) Herring, H. K., R. G. Cassens, G. G. Suess, V. H. Brungardt and E. J. Briskey, 1967. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. *J. Food Sci.*, **32**: 317-322.
- 9) Howard, A. and R. A. Lawrie, 1956. Studies on beef quality. Part 2. Physiological and biochemical effects of various pre-slaughter treatments. CSIRO Australian Div. Food Preserv. Tech. Paper No. 2.
- 10) Howard, A. and R. A. Lowrie, 1957. Studies on beef quality. Part 5. Further observa-

- tions on biochemical and physiological responses to pre-slaughter treatments. CSIRO Australian Div. Food Preserv. Tech. Paper No. 4.
- 11) 伊藤 安・三浦弘之・石田義夫, 1963. Papain による肉の軟化試験. (I) 屠殺前注射による老廃牛肉の軟化. 北海道栄養食糧学会誌, **9**: 50-51.
 - 12) Koonz, C. H., M. I. Darrow and E. O. Essary, 1954. Factors influencing tenderness of principal muscles composing the poultry carcass. Food Technol., **8**: 97-100.
 - 13) Lineweaver, H. and S. Schwimmer, 1941. Some properties of crystalline papain: Stability toward heat, pH and urea; pH optimum with casein as substrate. Enzymologia, **10**: 81-86.
 - 14) Locker, R. H., 1960. Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. Food Res., **25**: 304-307.
 - 15) Locker, R. H. and C. J. Hagyard, 1963. A cold shortening effect in beef muscles. J. Sci. Food Agric., **14**: 787-793.
 - 16) 西尾重先, 1965. パパイン酵素による老廃鶏肉の軟化について. 食肉研究会講演.
 - 17) Palmer, A. Z., 1963. Relation of age, breed, sex and feeding practices on beef and pork tenderness. Pro. Meat Tenderness Symposium. p. 161, Campbell Soup Company, Camden. N. J..
 - 18) Purchas, R. W., 1972. The relative importance of some determinants of beef tenderness. J. Food Sci., **38**: 341-345.
 - 19) Ransbottom, J. M. and E. J. Strandine, 1949. Initial physical and chemical changes in beef as related to tenderness. J. Anim. Sci., **8**: 398-410.
 - 20) Ransey, C. B., J. W. Cole, B. H. Meyer and R. S. Temple, 1963. Effects of type and breed of British, Zebu and dairy cattle on production, palatability and composition. 2. Palatability differences and cooking losses as determined by laboratory and family panels. J. Anim. Sci., **22**: 1001-1008.
 - 21) Stromer, M. H., D. E. Goll and L. E. Roth, 1967. Morphology of rigor-shortened bovine muscle and the effect of trypsin on pre- and post-rigor myofibrils. J. Cell Biol., **34**: 431-445.
 - 22) Takahashi, K., T. Fukazawa and T. Yasui, 1967. Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. J. Food Sci., **32**: 409-413.

Summary

Post-mortem changes of hen (about 500 days in age) breast muscles were observed on morphological and pH changes of myofibrils during 48 hr storage at 4°C. The degree of fragmentation in muscles attached to the skeleton until sampling without scalding reached 55% after 6 hr and 90% after 48 hr. However, in muscles excised immediately after post-mortem the value was only 30% after 6 hr and 45% after 48 hr.

On the other hand, the degree of fragmentation in muscles treated with papain reached 90% within 6 hr after death. In addition, more single sarcomere were observed in papain treated muscles than in papain untreated muscles.