

## あこや貝肉の蛋白分解酵素による分解

田代豊雄・上田真美子・滝本真一\*・藤田悦子  
愛媛大学教育学部食品化学研究室  
(昭和62年10月9日受理)

### Decomposition of muscles of the Pearl Oyster (*Pinctada fucata martensii*) by the Use of Protease

Toyoo TASHIRO, Mamiko UEDA, Shinichi TAKIMOTO\*, Etsuko FUJITA  
*Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Education,  
Ehime University, Matsuyama-shi, Ehime 790*  
(Received October 9, 1987)

Proteolysis of muscles (raw and heated) of the pearl oyster (*Pinctada fucata martensii*) was investigated by the use of proteases. The proteases used in this experiment were those obtained from *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. Total nitrogen, soluble protein nitrogen, peptide nitrogen, and amino acid nitrogen were determined during the reacting process of the muscles and the proteases. The proteolysis of the muscles proceeded remarkably by the application of these proteases. The activity of the protease from *Aspergillus oryzae* was stronger than that from *Aspergillus niger*.

Free amino acids in the muscles were determined before and after the treatment with the protease from *Aspergillus oryzae*. Every free amino acid increased considerably by the activity of the protease. Glycine, alanine, aspartic acid, and glutamic acid, all of which have a strong connection with good taste, were produced abundantly through proteolysis.

A sort of seasoning powder was made from the pearl oyster muscles by decomposing with the protease. It possessed a specific flavor of this shellfish as well as strong deliciousness.

愛媛県宇和海では真珠養殖が盛んである。真珠核入れのために浜揚げ母貝を選別する時に、規格外として投棄されるあこや貝 (*Pinctada fucata martensii*) は年間 200t 以上と推定されている。あこや貝はにおいが強く肉質がかたいことから、一般的な調理方法によって食用に供することは難しい。しかし、貝柱だけは珍味食品、粕漬食品などに加工利用されている。

広島県食品工業試験場では、かき (*Crassostrea gigas*) を蛋白分解酵素によって分解し、かきエキス<sup>1)</sup>の製造条件を検討している。筆者等はあこや貝肉を有効に利用する目的であこや貝肉に

\* 愛媛県水産試験場 Ehime Prefecture Fisheries Experimental Station, Uwajima-shi, Ehime 798

蛋白分解酵素を作用させ、可溶性蛋白態窒素量、ペプチド態窒素量、アミノ酸態窒素量などの増加経過や各種遊離アミノ酸類の生成量を明らかにし、また貝の風味を持つ旨味の強い調味料を試作したのでここに報告する。

## 試料および実験方法

### 1. 試料

宇和島湾で養殖されたあこや貝を浜揚げ直後に脱殻し、そのまま冷凍した。これを適宜解凍し実験に供した。実験に供した貝肉には貝柱は含んでいない。

### 2. 一般成分の分析

水分は乾燥法、蛋白質はマイクロケルダール窒素定量法（窒素係数6.25）、脂質はエーテル抽出法、灰分は直接灰化法など常法によって定量した。糖質は水分、蛋白質、脂質、灰分以外のものとして控除法で算出した。

### 3. 蛋白分解酵素とあこや貝肉の蛋白質の分解

次の市販の二種類の蛋白分解酵素を使用した。いずれもヤクルト薬品工業 KK の製品である。

(1) パンチダーゼ NP-2（酵素力価 40,000PU/g）：麹菌 (*Aspergillus oryzae*) より得られた淡褐色の粉末で、至適温度 40~50℃，至適 pH6~8 である。（以後 NP-2 とする）。

(2) プロテアーゼ YP-SS（酵素力価 100,000PU/g）：黒かび (*Aspergillus niger*) より得られた帯黄色の粉末で、至適温度 50~60℃，至適 pH2~4 である。（以後 YP-SS とする）。

これらの酵素作用によるあこや貝肉の蛋白質の分解の程度は、反応液に三塩化酢酸（以後 TCA とする）を最終濃度 0，1 および 5% に加え、激しく振とうし、30分放置後に遠心分離（10,000rpm，15分）し、上澄液の窒素をマイクロケルダール法で定量し、可溶性蛋白態窒素量、ペプチド態窒素量、アミノ酸態窒素量などで判定した。

なお、1% TCA により蛋白質は沈澱するが、可溶区分には高分子ペプチドからアミノ酸まで含まれており、5% TCA による可溶区分には低分子ペプチドおよびアミノ酸が含まれている。

### 4. 生あこや貝肉の蛋白分解酵素による分解

生のあこや貝肉 25~50 g のもの 3 つ (No.1, 2, 3) とり、腐敗防止のためと自己消化をさせる意味で、それぞれに 20% に塩化ナトリウムを添加した。No.1 は塩化ナトリウムの添加だけとし、No.2 には貝肉重量に対し 5% に蛋白分解酵素 NP-2 を加え、No.3 には酢酸にて pH3.0 に調整後に 5% に蛋白分解酵素 YP-SS を加えた。

これらの酵素反応液を 25℃ に保持し、7日後に遠心分離（10,000rpm，15分）により上澄液を得た。これらの上澄液について前述の TCA(0, 1, 5%) 添加法により可溶性蛋白態窒素量、ペプチド態窒素量、アミノ酸態窒素量などを求めた。

### 5. 加熱あこや貝肉の蛋白分解酵素による分解

(1) あこや貝肉を 121℃，15分間加熱し、浸出液とともに乳鉢にて磨砕した。

この磨砕物(25~50g)に酵素 NP-2 を 5% に加え、45℃ にて 2 日間保った。また別に、磨砕物を酢酸にて pH3.0 に調整後に酵素 YP-SS を 5% に加え、55℃ にて 2 日間保った。

これらのものについてアミノ態窒素をフォルモール滴定法により定量した。

(2) 前記の加熱あこや貝肉の磨砕物(25~50g)に McIlvaine 緩衝液(pH6.0)を同量加え、これに酵素 NP-2 を貝肉に対し、0, 1, 5% に個別的に添加して 45℃ に保った。これらについて、経時的(0~48時間)に前述の TCA(0, 5%) 添加法により全窒素量、可溶性蛋白態窒素量、ペプチド態窒素量、アミノ酸態窒素量を求めた。

## 6. 加熱あこや貝肉の蛋白分解酵素による生成遊離アミノ酸類の定量

加熱あこや貝肉の磨砕物に酵素 NP-2 を 5% に加え、45℃ にて 2 日間保った。この酵素作用前後のあこや貝肉について常法により遊離アミノ酸類を定量した。すなわち、試料に 75% エチルアルコールを加えて加熱し、遊離アミノ酸類の抽出を繰り返し行った。その抽出液を濃縮し、エチルエーテルにて脱脂した後、減圧乾固した。その乾固物を 1/100N 塩酸に溶解し、アミノ酸分析に供した。各アミノ酸の分離・定量は日立製液体クロマトグラフ(034形)を使用し、日立イオン交換樹脂 2611 のワンカラムを用いる自動分析法によって行った。

## 7. あこや貝肉を原料にした調味料の製法

加熱あこや貝肉磨砕物に酵素 NP-2 を 5% に、塩化ナトリウムを 10% に加え、また別に、pH3.0 に調製後に酵素 YP-SS を 5% に加え、それぞれを 25℃ にて 5 日間放置した。ついで、YP-SS の方は水酸化ナトリウムにて中和した。これらを目の荒いガーゼで濾過した後、酵素処理液に対し澱粉またはデキストリンを 1 対 0.2(V/W) の割合で加え、真空凍結乾燥し、淡黄色ないし淡褐色の粉末調味料を得た。

# 結果および考察

## 1. 一般成分の含有量

あこや貝肉の一般成分の分析結果を表 1 に示した。

Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate	Ash
81.0	13.0	1.2	1.5	2.9

13.0% で、一般の貝類の蛋白質含量 10% 前後に比べて、幾分値が高い。そのほかの成分値は一般の貝類と相似である。

一般に貝類の可食部の水分は 85% 前後であるが、この実験のあこや貝肉は、脱殻して冷凍したものを解凍後供試しているので、水分が 81% で多少低い値になっている。粗蛋白質は

## 2. 生あこや貝肉の蛋白分解酵素による分解

生あこや貝肉の蛋白分解酵素による各種形態の生成窒素量を表 2 に示した。

生あこや貝肉に塩化ナトリウム(20%)のみを加えたものは 1 週間後も液化せず、上澄液は僅少であったが、酵素を添加したものは 1 昼夜で液化が著しく進んだ。表 2 から分かるように、

Table 2 Amounts of nitrogen of various forms produced from muscles (raw) of pearl oyster with the treatment of proteases (g/supernatant 100ml)

Samples	Nitrogen forms	Soluble protein, peptide, amino acid N Supernatant after 0% TCA addition	Peptide, amino acid N Supernatant after 1% TCA addition	Low molecule peptide, amino acid N Supernatant after 5% TCA addition
	NaCl 20% addition, after reaction of 7 days at 25°C		0.56	0.27
NaCl 20%, NP-2 5% addition, after reaction of 7 days at 25°C		1.32	1.27	—
NaCl 20%, YP-SS 5% addition, after reaction of 7 days at 25°C		1.06	1.02	1.02

塩化ナトリウムのみ加えたものは、その上澄液の可溶性蛋白態窒素量、ペプチド態窒素量、アミノ酸態窒素量は酵素添加のものに比べ著しく少ない。また、塩化ナトリウムのみ加えたものの上澄液では可溶性蛋白態窒素とアミノ酸態窒素の量がほぼ等しいが、酵素添加のものでは、生あこや貝肉の不溶性および可溶性の蛋白質の分解が進み、上澄液中の窒素はほとんどがアミノ酸態窒素である。これらのことから、あこや貝肉では自己消化がほとんど行われないと推定される。なお、酵素の生あこや貝肉に対する蛋白質分解力は NP-2 の方が YP-SS よりも強い。

### 3. 加熱あこや貝肉の蛋白分解酵素による分解

加熱あこや貝肉磨砕物に蛋白分解酵素を作用させることによって生成するアミノ態窒素量を表3に示した。

Table 3 Amounts of nitrogen of amino acid form produced from muscles (heated and smashed) of pearl oyster with the treatment of proteases (mg/muscle 100g)

Samples	Nitrogen form	Amino acid N
No addition of enzyme		2
NP-2 5% addition, after reaction of 2 days at 45°C		213
YP-SS 5% addition, after reaction of 2 days at 55°C		35

酵素 NP-2 および YP-SS のいずれの場合も2日間の酵素作用によって貝肉蛋白質の分解は著しく進んだ。NP-2 の方が YP-SS に比べ蛋白質分解力は強大で、NP-2 では酵素作用によってアミノ態窒素量が当初に比し100倍にも増加した。

また、加熱あこや貝肉の蛋白態、ペプチド態、アミノ酸態などの窒素量を表4に、加熱あこや貝肉の蛋白分解酵素による各種形態の生成窒素量を表5および6に示した。さらに、加熱あこや貝肉の蛋白分解酵素による分解経過を図1に示した。

これらの表および図から分かるように、

Table 4 Amounts of nitrogen of various forms in muscles (heated and smashed) of pearl oyster

Nitrogen forms Sample	Total N (g/muscle 100g)	Soluble protein, peptide, amino acid N (g/supernatant 100ml)	Low molecule peptide, amino acid N (g/supernatant 100ml)
Muscles (heated,smashed)	2.55	1.10	0.68

Table 5 Amounts of nitrogen of various forms produced from muscles (heated and smashed) of pearl oyster with the treatment of protease, in the case of NP-2 1% addition at 45°C

Nitrogen forms Reaction time of enzyme (hrs.)	Total N (g/muscle 100g)	Soluble protein, peptide, amino acid N (g/supernatant 100ml)	Low molecule peptide, amino acid N (g/supernatant 100ml)
0	2.55	1.10	0.68
4	—	1.84	1.68
12	—	2.06	—
24	—	2.10	2.16
48	—	2.42	—

Table 6 Amounts of nitrogen of various forms produced from muscles (heated and smashed) of pearl oyster with the treatment of protease, in the case of NP-2 5% addition at 45°C

Nitrogen forms Reaction time of enzyme (hrs.)	Total N (g/muscle 100g)	Soluble protein, peptide, amino acid N (g/supernatant 100ml)	Low molecule peptide, amino acid N (g/supernatant 100ml)
0	2.55	1.10	0.68
4	—	2.36	2.18
24	—	2.44	2.36
48	—	2.44	2.44

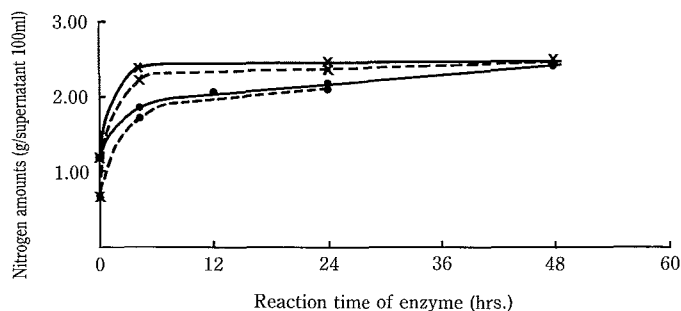


Fig. 1 Decomposition of muscles of pearl oyster with the treatment of protease

- NP-2 1% addition, nitrogen of soluble protein, peptide, amino acid
- -○- - NP-2 1% addition, nitrogen of amino acid
- x— NP-2 5% addition, nitrogen of soluble protein, peptide, amino acid
- -x- - NP-2 5% addition, nitrogen of amino acid

加熱あこや貝肉に酵素 NP-2 を pH6.0 , 45℃ にて作用させた場合、添加酵素量が 1% および 5% のいずれであっても、数時間にて不溶性蛋白質および可溶性蛋白質が急速に分解された。

酵素量 1% の作用では、24時間にて上澄液中の可溶性窒素量は 2 倍に増加し、その窒素量は 2.1% であり、ほとんどが低分子ペプチド態窒素およびアミノ酸態窒素である。さらに、徐々にではあるが 48 時間まで酵素作用すなわち貝肉蛋白質の分解は進行する。

酵素量 5% の作用では、1% の場合に比べ貝肉蛋白質の分解は急速に進み、数時間で上澄液の可溶性窒素量は 2 倍以上に増加し、その窒素量は 2.4% に達し、ほとんどがアミノ酸態窒素と推定される。酵素量 5% では 1 昼夜で貝肉蛋白質の分解は頂点に達し、その後はほとんど進行しない。

#### 4. 加熱あこや貝肉の蛋白分解酵素による遊離アミノ酸類の生成量

加熱あこや貝肉およびそれに蛋白分解酵素を作用させた後のものの遊離アミノ酸類の含量を表 7 に示した。

Table 7 Contents of free amino acids in muscles of pearl oyster before and after the application of protease (mg/100g)

Amino acids	No addition of enzyme	NP-2 5% addition, after reaction of 2 days at 45℃
Taurine	116	215
Aspartic acid	35	248
Threonine	17	546
Serine	15	311
Glutamic acid	83	500
Proline	15	177
Glycine	88	231
Alanine	42	279
Cystine	—	—
Valine	13	344
Methionine	5	143
Isoleucine	10	325
Leucine	13	538
Tyrosine	7	105
Phenyl alanine	13	281
Lysine	22	558
Ammonia	2	7
Histidine	4	90
Arginine	57	784
Total*	555	5675

\* excluding ammonia

あこや貝肉には、遊離アミノ酸類のうちでは特にタウリンが多量で、120mg% も含まれている。また、グリシン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニンなどが比較的が多い。

酵素 NP-2 の 5% 添加、45℃、2 日間の作用で、貝肉蛋白質の分解は急速に進み、すべての遊離アミノ酸類が著しく増加した。特にスレオニン、グルタミン酸、ロイシン、リジン、アルギニンの含量が 500mg% 以上に達した。

グリシン，アラニン，アスパラギン酸，グルタミン酸などの呈味に大きく関与するアミノ酸類が，酵素作用によって著しく増加し，あこや貝肉から作られる調味料に強い旨味を付与している。

#### 5. あこや貝肉を原料にした調味料

作製された調味料は淡黄色ないし淡褐色の粉末で，いずれも貝特有の良好な香りを持っており，また旨味が強かった。酵素 NP-2 による方は塩化ナトリウムを加えているので塩味も比較的強かった。今回の実験では作用温度が 25℃ であったので，腐敗防止のため塩化ナトリウムを加えたが，今後は酵素の作用温度を 45℃ に上げて塩化ナトリウムを添加しない方がよいと思われる。

酵素処理液に澱粉またはデキストリンを適量加えることにより，真空乾燥による粉末化が容易に行われた。

あこや貝肉を原料にしたこれらの調味料は，種々の食品加工や調理において，貝の風味を付与するのに有効に利用し得るであろう。

## 要 約

(1) あこや貝肉（生および加熱）に麹菌および黒かびから得られる蛋白分解酵素を作用させ，その過程の全窒素，可溶性蛋白態窒素，ペプチド態窒素，アミノ酸態窒素を定量した。これらの酵素作用によって貝肉蛋白質の分解は著しく進行した。あこや貝肉に対しては，麹菌の蛋白分解酵素の方が黒かびのそれに比べ，蛋白質分解力は強大であった。

(2) 加熱あこや貝肉に麹菌の蛋白分解酵素（力価 40,000 単位/g）を pH6.0，45℃ にて作用させた場合，添加酵素量 1% で可溶性窒素量が急速に増加し，そのほとんどがアミノ酸態窒素と推定された。

(3) 加熱あこや貝肉および麹菌蛋白分解酵素を作用させたものについて遊離アミノ酸類を定量した。この酵素作用によりすべての遊離アミノ酸類が著しく増加し，呈味に関与するグリシン，アラニン，アスパラギン酸，グルタミン酸などが多量に生成した。

(4) 加熱あこや貝肉に蛋白分解酵素を作用させ，貝特有の香りを持つ旨味の強い粉末調味料を試作した。

なお，本研究の概要は昭和61年度日本水産学会中国・四国支部 8 月例会（下関市水産大学校）において発表した。

## 文 献

- 1) 未利用カキの加工技術開発研究，広島県食工試報告書（昭和57年）