

## 酵素を利用したたんぱく資源の高度利用

誌名	研究報告
ISSN	03889181
著者	福田, 和弘 渡辺, 忠美
巻/号	37号
掲載ページ	p. 31-41
発行年月	1989年

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 酵素を利用したたんぱく資源の高度利用

— 酵素法によるチキンエキスの製造 —

(第2報) 骨がら部位別のチキンエキス製造法の検討

福田 和 弘 · 渡 辺 忠 美

Advanced Usage of Protein Resources by Enzyme

—Preparation of Chicken Extract by the Method of  
Enzymatic Hydrolysis—

(Part II) Examination of the Preparation of Chicken Extract from the  
Various Parts of Chicken Bone.

Kazuhiro FUKUTA and Tadaharu WATANABE

前報<sup>1)</sup>では、ブロイラー骨がら(胴がら)を原料として、酵素を用いて天然調味料(ここではチキンエキスと称する)を製造する際の原料の前処理方法および市販たんぱく分解酵素剤のスクリーニング結果を報告した。酵素分解前に原料を1cm目のプレートを使用してミンチした後に熱水抽出法によりチキンボーンエキスを製造すると、窒素回収率の向上および微生物汚染防止に有効であった。また、単一の酵素剤を使用する場合にはプロテアーゼMアマノが最も有効であった。

本年度は、原料の部位別用途を考慮してブロイラー骨がらを3つの部位(首部, 胸部〔以後カッパ部と称する〕, 胴部)に分別し、それぞれを用いた時のチキンボーンエキス並びに酵素分解液製造時の窒素回収率, 微生物および生成遊離アミノ酸の経時変化等について検討したので報告する。

### 実 験 方 法

#### 1 実験材料

平成元年6月に県内I工場で解体処理されたブロイラー(アーパーエーカー種)の骨がらを首部, カッパ部, 胴部に分別し, 材料とした。

#### 2 供試酵素剤

前年度スクリーニングした<sup>1)</sup>プロテアーゼMアマノを用いた。

### 3 微生物数の測定と定性

一般生菌数, 大腸菌群数, 黄色ブドウ球菌およびサルモネラについては, 前報<sup>1)</sup>と同様に行った。

セレウス菌数については, NGKG寒天基礎培地に卵黄液を添加したものを用いて30℃で24時間培養後, 形成したコロニーの下から周囲の培地が白濁し, コロニー周辺が赤変したものを計数した。

なお, 培地はすべて日水製薬製を使用した。

### 4 チキンボンエキスおよび酵素分解液の調製

図1に示した方法に従って各部位のチキンボンエキスおよび酵素分解液を調製した。なお, 酵素分解は, 原料として熱水抽出1時間後の残渣を用いてシャーフェーマンター(オリエンタル酵母工業社製, 10ℓ容)中で50℃, 攪拌速度200rpm, pH無調製(pH6.5~7.1)で一定時間行った。

### 5 分析方法

#### (1) 一般分析

水分, たんぱく質(全窒素), 炭水化物, 脂質および灰分は前報<sup>1)</sup>と同様に行った。また, 無機質成分は試料を灰化した後, リンはバナドモリブデン酸吸光度法, 鉄, ナトリウム, カリウムは原子吸光分析法により測定した。なお, カルシウムはリン酸の影響を考慮し, 塩化ランタンを添加した干渉除去剤添加原子吸光分析法を用いた。

#### (2) 窒素回収率

各部位のチキンボンエキスおよび酵素分解液をそれぞれ経時的にサンプリングし, No.2の濾紙にて濾過した液について前報<sup>1)</sup>と同様に窒素回収率を求めた。

また, 各部位の製造工程における窒素回収率は, 図1に示した工程に従ってチキンボンエキス(熱水抽出1時間), 酵素分解液(分解4時間), 遠心上澄, 沈殿および濾過残渣(骨)についてもとの原料(骨がらミンチ)に対する窒素回収率を求めた。

#### (3) 遊離アミノ酸の定量

チキンボンエキスおよび酵素失活前の酵素分解液10mlに等量の10%(W/V)トリクロロ酢酸水溶液を加えて10分間放置後, 遠心分離(4,000rpm, 10分)を行い, その上澄液をpH2.2クエン酸リチウム緩衝液にて適宜希釈し, 分析試料とした。

遊離アミノ酸の定量は, 高速液体クロマトグラフ(島津社製LC-6Aアミノ酸分析システム)にてリチウム型陽イオン交換樹脂(生体アミノ酸用)カラムを用いて行った。

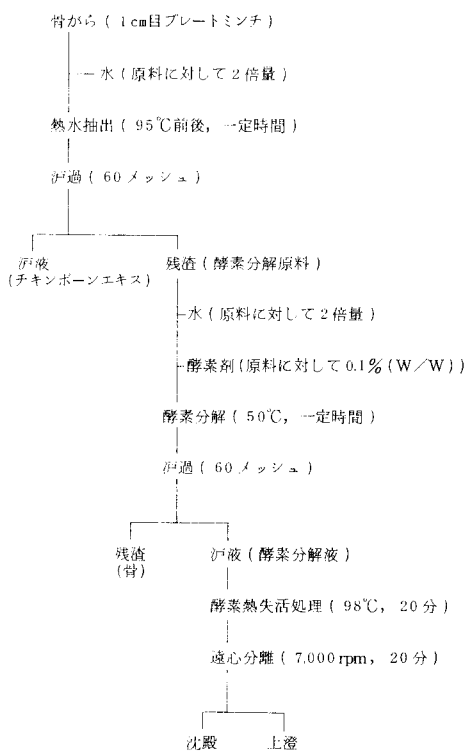


図1 チキンボンエキスおよび酵素分解液の調製法

結果および考察

1 一般成分および微生物数

各部位の一般成分および微生物数を表1に示した。一般成分では、水分は首部、たんばく質はカッパ部、首部、脂質は胴部、灰分はカッパ部が多い傾向であり、各部位に特徴が認められた。

表1 一般成分と微生物数

	首部	カッパ部	胴部
水分 (%)	66.8	60.6	53.0
たんばく質(窒素) (%)	15.6(2.50)	16.3(2.60)	11.8(1.89)
脂質 (%)	11.8	14.1	28.7
炭水化物 (%)	0	0.2	0.5
灰分 (%)	6.0	8.8	6.0
Na (mg/100g)	130	190	150
K (mg/100g)	120	100	90
Ca (mg/100g)	1,300	2,600	1,300
Fe (mg/100g)	2.1	3.6	2.2
リン (mg/100g)	760	1,300	720
一般生菌数 (個/g)	$1.2 \times 10^5$	$4.2 \times 10^4$	$1.7 \times 10^5$
大腸菌群数 (個/g)	$4.0 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^4$
黄色ブドウ球菌	-*	+	+
サルモネラ	-	-	+

\*- ; 陰性 + ; 陽性

微生物数は、各部位とも一般生菌数は  $10^4 \sim 10^5$  個/g、大腸菌群数は  $10^3 \sim 10^4$  個/gであった。また、黄色ブドウ球菌およびサルモネラは、胴部ではいずれも陽性、カッパ部は黄色ブドウ球菌のみ陽性、首部はいずれも陰性であった。胴部は、特に内臓部や肛門部に近いことからこれらの微生物汚染が考えられた。

2 熱水抽出時間の検討

各部位の熱水抽出法による窒素回収率と微生物数の経時変化を表2に示した。

表2 熱水抽出法における窒素回収率と微生物数の経時変化

熱水抽出時間(min)	首部					カッパ部					胴部				
	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120
窒素回収率 (%)	10.0	12.7	15.2	16.6	18.8	9.5	12.2	12.3	13.2	14.6	11.8	12.1	13.1	13.6	14.6
一般生菌数 (個/ml)	$1.4 \times 10^5$	<300	<300	<300	<300	$4.5 \times 10^4$	<300	<300	<300	<300	$5.9 \times 10^5$	<300	<300	<300	<300
大腸菌群数 (個/ml)	$4.7 \times 10^3$	-	-	-	-	$1.2 \times 10^3$	-	-	-	-	$1.2 \times 10^4$	-	-	-	-
黄色ブドウ球菌 (個/ml)	-	-	-	-	-	$5.0 \times 10^2$	-	-	-	-	$1.2 \times 10^3$	-	-	-	-
サルモネラ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
セレウス菌数 (個/ml)	$1.8 \times 10^3$	<30	-	-	-	$2.0 \times 10^3$	<30	-	-	-	$2.0 \times 10^3$	<30	-	-	-

\*- ; 陰性

窒素回収率は、部位により多少異なり、首部は、窒素回収率の経時的な増加が最も高く、次にカッパ部、胴部の順であった。これは、首部のたんぱく質中には他の部位と比較してコラーゲン様たんぱく質が多く、熱水抽出によりゼラチン質として抽出されやすいためと考えられた。

微生物数は、各部位とも30分抽出後に一般細菌数300個/g以下、大腸菌群数は陰性となった。一方、芽胞菌であるセレウス菌は1時間抽出後に陰性となった。

以上のことより、熱水抽出時間は、部位により窒素回収率に多少の差違が認められるが、微生物の動向やこの抽出残渣を原料として酵素分解を行う以後の製造工程を考慮すると、いずれの部位も1時間程度が適当と考えられた。

### 3 酵素分解時間の検討

各部位の酵素分解時間を検討するため、窒素回収率の経時変化(図2)および微生物の経時変化(表3)を測定した。

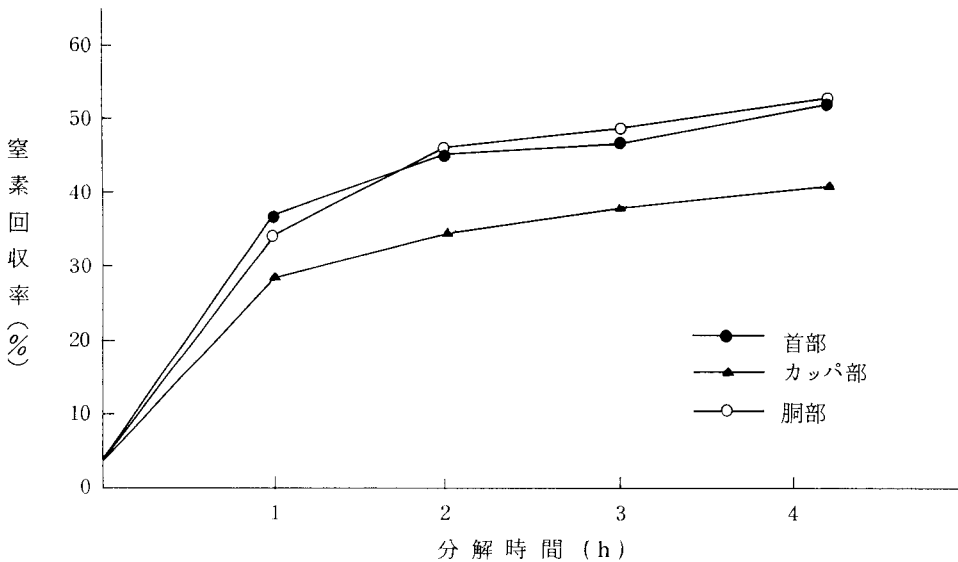


図2 各部位の酵素分解時の窒素回収率経時変化

表3 酵素分解時における微生物数の変化

分解時間 (h)	首部					カッパ部					胴部				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
一般細菌数	50	$1.1 \times 10^2$	$1.2 \times 10^2$	$1.7 \times 10^3$	$2.3 \times 10^3$	<30	<30	38	53	$35 \times 10^2$	<30	$1.1 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$	$2.5 \times 10^3$	$4.5 \times 10^3$
大腸菌群数	-	<30	<30	$1.3 \times 10^2$	$2.5 \times 10^2$	-	-	-	-	-	-	<30	<30	$1.1 \times 10^2$	$2.0 \times 10^2$
黄色ブドウ球菌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サルモネラ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
セレウス菌数	-	-	<30	80	$2.3 \times 10^2$	-	-	-	-	<30	-	<30	91	$1.2 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$

\* - ; 陰性

窒素回収率は、部位により差が認められ、カップ部が最も低かったが、経時的な窒素回収率はいずれの部位も同様な傾向を示し、分解時間2時間程度ではほぼ一定に達し、その後の窒素回収率の増加は小さかった。

微生物数は、3時間を過ぎる頃より徐々に増加したが、4時間程度であれば変敗するまでには至らなかった。

以上の結果より、酵素分解時間は各部位とも2時間程度で充分であり、できるだけ窒素回収率を上げる場合には、4時間程度までであれば微生物汚染の面からも問題はないと考えられた。

#### 4 工程別窒素回収率

各部位のチキンエキス製造工程における窒素回収率を表4に示した。なお、ここでは酵素分解工程で最も窒素回収率が高い場合を設定し、分解時間を4時間とした。

表4 製造工程における窒素回収率(%)

	首部	カップ部	胴部
チキンボーンエキス(熱水抽出1h)	15.4	12.6	13.9
酵素分解液*遠心上澄	43.6	32.6	41.1
酵素分解液沈殿	26.9	30.7	24.3
汙過残渣(骨)	11.9	20.0	13.4
計	97.8	95.9	92.7

\*酵素分解時間4時間

窒素回収率は、汙過残渣に含まれる窒素量等から、首部が最も高く、カップ部が低い傾向であった。また、酵素分解中には、プロテアーゼMアミノで可溶化されずに遠心分離によって沈殿する区分があり、その窒素量は、カップ部が最も多く、酵素分解液中の窒素量の約 $\frac{1}{2}$ 、他の2つの部位では約 $\frac{1}{3}$ であった。このことは、通常のプロテアーゼで分解されにくいエラスチンやケラチン等の硬質たんばくが骨がら中に存在しており<sup>2)</sup>、特にカップ部には多く含まれているためと考えられた。また、一般にこのような沈殿成分は天然調味料の成分として不適なので沈殿残渣の再分解または他の利用法について検討する必要がある。

#### 5 チキンボーンエキスおよび酵素分解液中の遊離アミノ酸組成

各部位のチキンボーンエキス中の遊離アミノ酸組成について図3～5に示した。

遊離アミノ酸量は、たんばく質構成アミノ酸類においてカップ部は首部、胴部に比べて少ない傾向であった。また、たんばく質構成アミノ酸以外のアミノ酸およびジペプチド類で各部位に特徴が認められ、首部はタウリン、カップ部はカルノシン・アンセリン、胴部は $\beta$ -アラニンが比較的多かった。

各部位の酵素分解液については、たんばく質構成アミノ酸類の経時的な遊離の様相を測定し、これらの結果と比較のためチキンボーンエキス中の遊離アミノ酸組成をあわせて図6～8に示した。

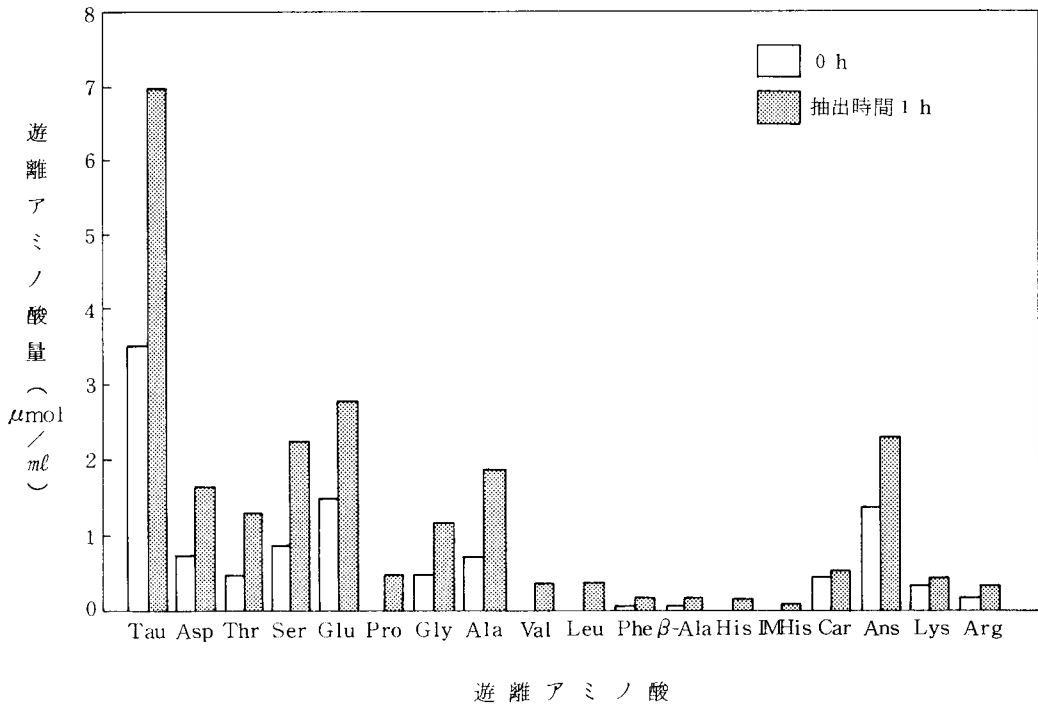


図3 首部チキンボーンエキス(熱水抽出法)中の遊離アミノ酸組成

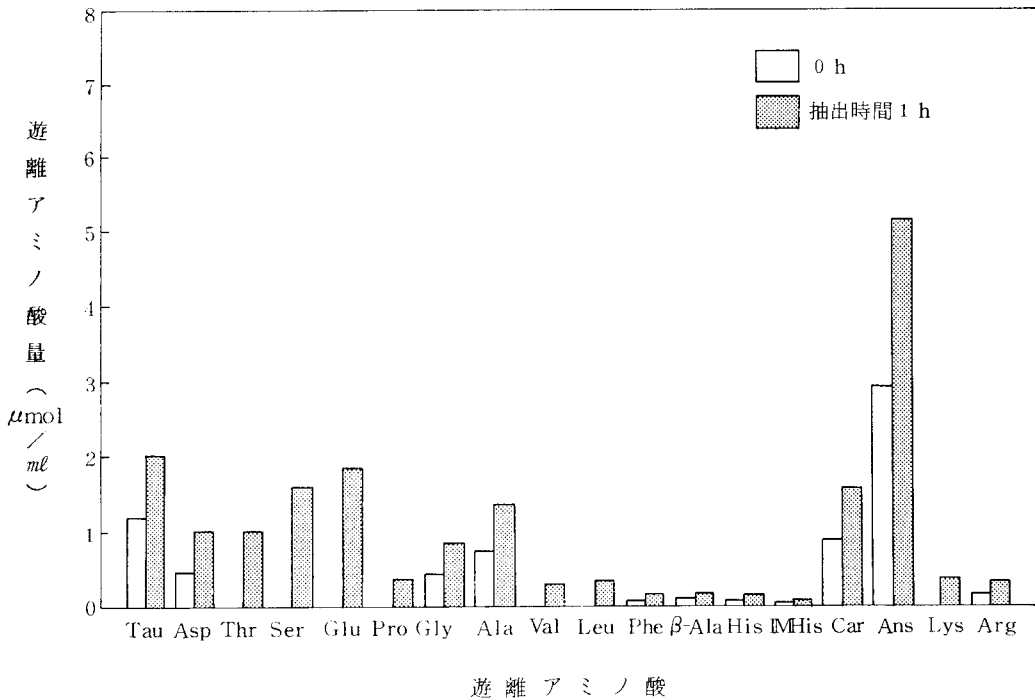


図4 カップ部チキンボーンエキス(熱水抽出法)中の遊離アミノ酸組成

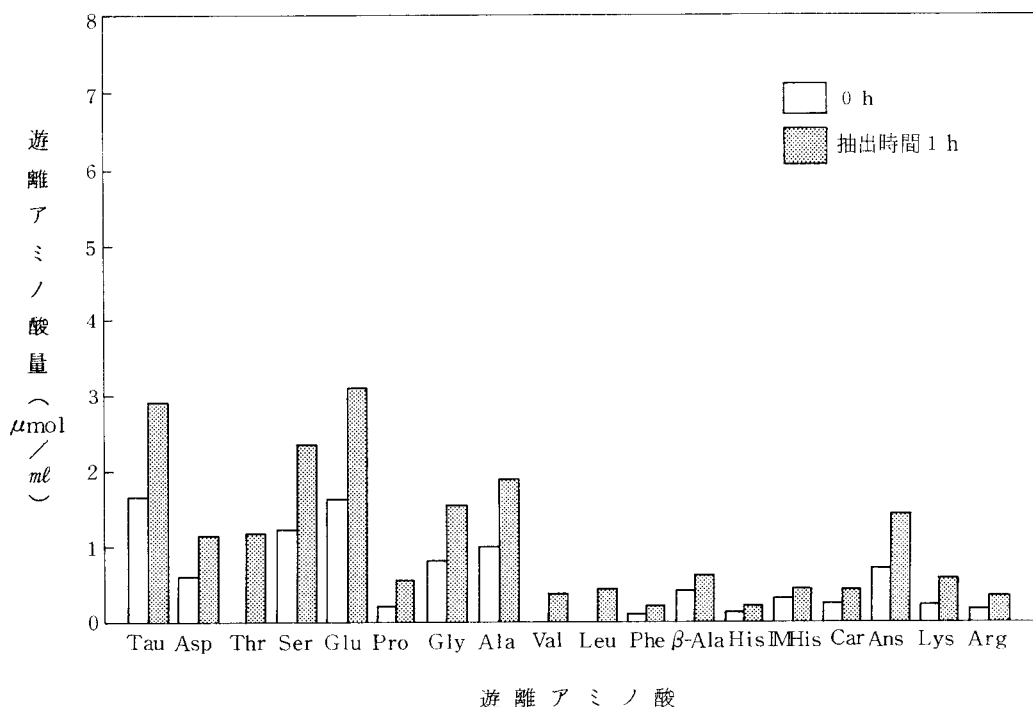


図5 胴部チキンボーンエキス(熱水抽出法)中の遊離アミノ酸組成

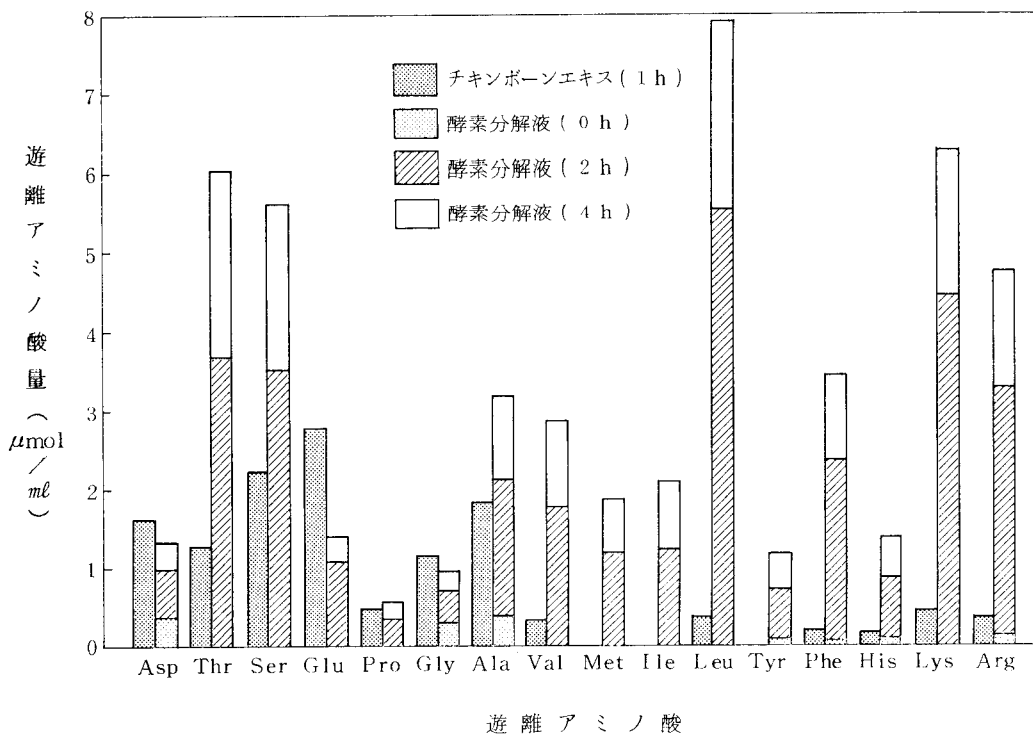


図6 首部チキンボーンエキスおよび酵素分解液の遊離アミノ酸組成と生成量



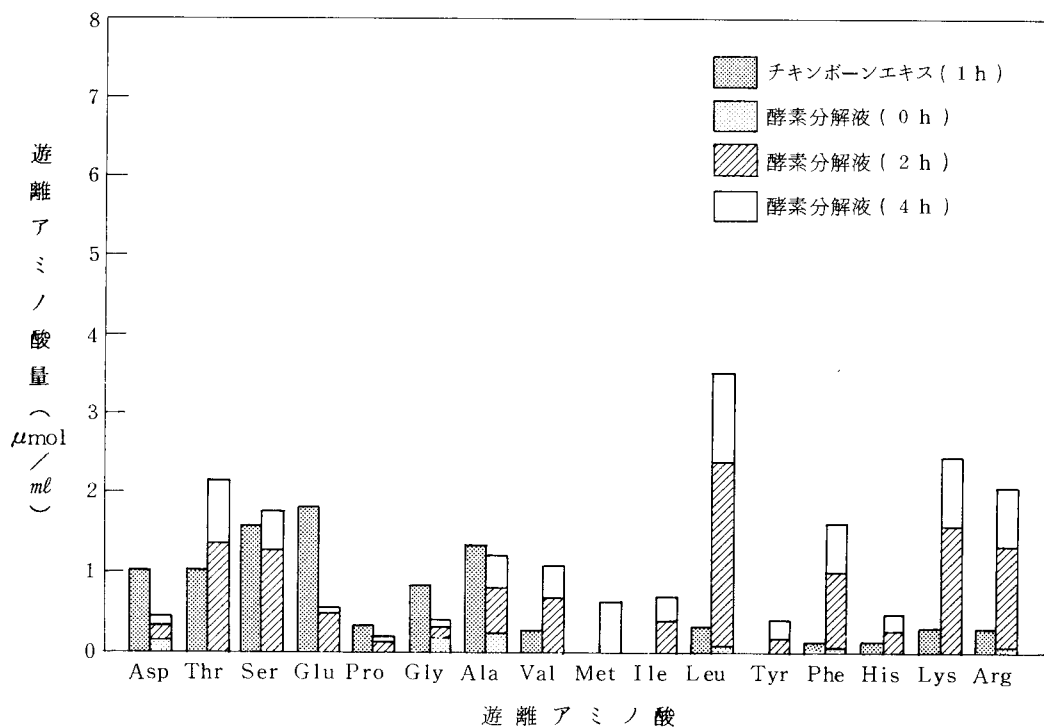


図7 カッパ部チキンボーンエキスおよび酵素分解液の遊離アミノ酸組成と生成量

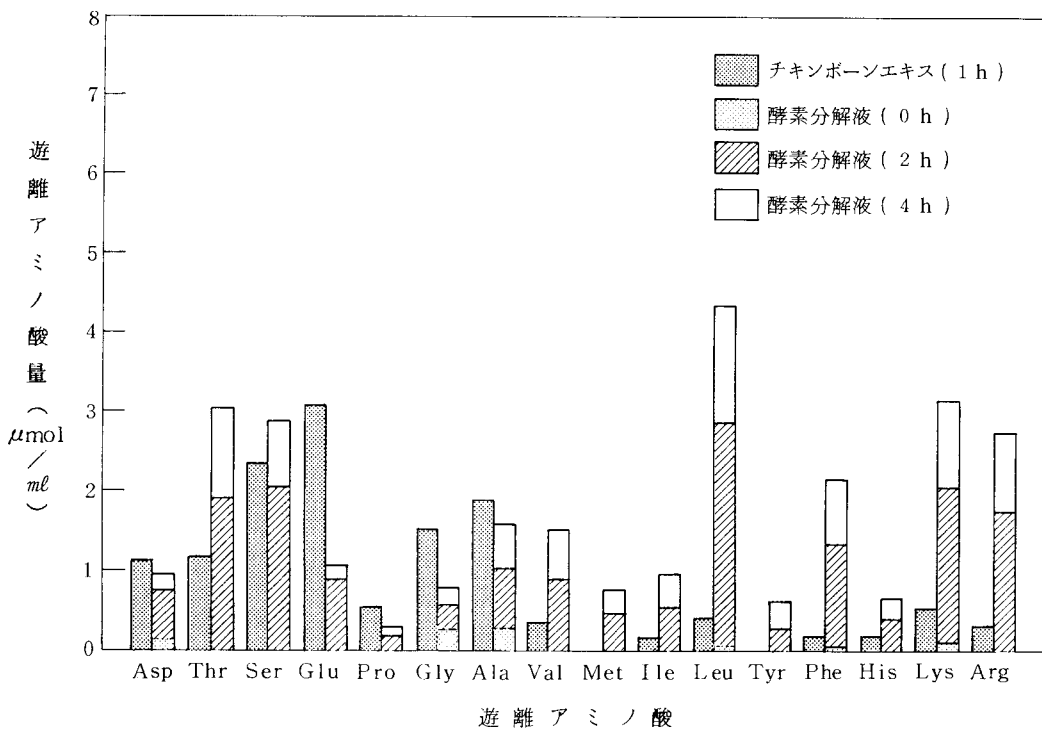


図8 胸部チキンボーンエキスおよび酵素分解液の遊離アミノ酸組成と生成量

酵素分解液中の遊離アミノ酸量は、チキンボーンエキスと同じくカッパ部が最も少なく、首部が最も多かった。経時的なアミノ酸の遊離の様相は、いずれの部位も同様なパターンを示し、ロイシン、スレオニン、セリン、リジン、アルギニン、フェニルアラニン、バリン、イソロイシン等がよく生成され、それらの中には苦味を感じるアミノ酸類が多い傾向であった。また、チキンボーンエキスと比較した場合、特にグルタミン酸、グリシン等のうま味、甘味等を感じるアミノ酸の生成量が少ない傾向であった。なお、官能的には酵素分解時間2時間でも苦味が感じられ、以後苦味は強くなる傾向であった。これには、苦味ペプチドの存在も大きく関与しているものと考えられた。この苦味を柔らげ、呈味性を改善するには、石田ら<sup>2)</sup>も報告しているように、熱水抽出で得たチキンボーンエキスを酵素分解液にブレンドするのが効果的であるが、その他に野菜等の添加および酵素分解液をさらに微生物等により醗酵調味料化する方法も考えられるので検討したい。

#### 6 チキンエキス（濃縮物）の一般成分、微生物数および遊離アミノ酸組成

一般にエキス系の天然調味料製品は、濃縮、液状の形態で販売されている。そこで、本試験においても各部位の酵素分解液の濃縮を行い、一般成分、微生物および遊離アミノ酸組成を測定した。

（表5、6）

表5 チキンエキス（濃縮物）一般成分および微生物数

	首部	カッパ部	胴部
水分 (%)	59.7	60.7	63.5
たんぱく質（窒素） (%)	36.7 (5.867)	35.8 (5.728)	33.1 (5.296)
脂質 (%)	2.3	2.0	1.9
灰分 (%)	1.3	1.5	1.5
Na (mg/100g)	220	240	280
K (mg/100g)	390	340	330
Ca (mg/100g)	21	25	27
Fe (mg/100g)	0.3	0.4	0.4
リン (mg/100g)	130	100	78
一般生菌数 (個/g)	<30	<30	<30
大腸菌群数 (個/g)	—*	—	—

\*—；陰性

表6 チキン: 表6 チキンエキス(濃縮物)遊離アミノ酸組成(mg/ml)

遊離アミノ酸	首	カッパ	胴
A s p	4.18	2.02	1.79
T h r	14.16	6.66	7.51
S e r	9.99	4.74	5.48
G l u	2.88	1.61	2.05
P r o	1.54	0.18	0.70
G l y	1.80	0.85	1.31
A l a	7.00	3.08	3.60
V a l	8.09	3.95	4.51
M e t	6.77	2.52	3.11
I l e	5.92	2.60	3.18
L e u	18.34	10.51	11.36
T y r	4.77	1.54	2.59
P h e	12.44	7.16	8.23
H i s	5.13	3.35	1.36
L y s	24.63	13.06	10.85
A r g	20.07	11.30	11.09
T o t a l	147.71	75.13	78.78

なお、ここでは各部位の酵素分解液遠心上澄(分解時間2時間、遠心分離7,000 rpm、20分)をロータリーエバポレーターにて水分60%前後に濃縮したものをチキンエキスとして分析に供した。

一般成分では、熱水抽出前の原料には胴部に脂質が多く含まれていたが、チキンエキスでは各部位ともほぼ同等の値を示した。これは、熱水抽出により脂質の大部分がチキンボンエキスに移行したためと考えられた。また、遊離アミノ酸組成は、首部、カッパ部でロイシン等の割合が減少しているが、これは濃縮操作により、含有量が多い疎水性のアミノ酸は溶解度が下がり、多少不溶性化したためと推察された。

今後は、チキンエキス特有の臭や色の脱臭、脱色の方法および野菜等の副資材の利用や酸酵調味料化等について検討を加える予定である。

要 約

ブロイラー骨がらを首部、胸部（カップ部）、胴部に分別し、各部位を原料としたチキンボーンエキスおよび酵素分解液製造工程中の窒素回収率、微生物の動向および生成遊離アミノ酸組成の経時変化について検討し、次のような結果を得た。

- (1) 各部位の一般成分含有率を比較すると、水分は首部、たんぱく質はカップ部、首部、脂質は胴部、灰分はカップ部に多い傾向があり、微生物汚染は胴部、カップ部、首部の順に高かった。
- (2) 熱水抽出時間は窒素回収率および微生物数より、各部位とも1時間程度が適当であった。
- (3) 酵素分解時間は窒素回収率および微生物数より、各部位とも2時間程度で充分であった。また、酵素分解液中には使用酵素で可溶化されないたんぱく質が窒素量でカップ部は $\frac{1}{2}$ 、その他の部位は約 $\frac{1}{3}$ 含まれた。
- (4) 生成遊離アミノ酸は、チキンボーンエキスで各部位に特徴がみられ、首部はタウリン、カップ部はアンセリン、カルノシン、胴部は $\beta$ -アラニンが多い傾向であった。また、酵素分解液では、いずれの部位も同様に遊離アミノ酸の生成パターンを示し、ロイシン、スレオニン、セリン、リジン、アルギニン、フェニルアラニン、バリン、イソロイシン等がよく生成され、官能的には、分解時間2時間でも苦味を感じられた。
- (5) チキンエキス（濃縮物）の一般成分は、各部位ともほぼ同等の値を示し、遊離アミノ酸ではロイシン等の疎水性アミノ酸が濃縮操作により多少減少した。

文 献

- 1) 福田和弘・渡辺忠美：徳島食品試報，**36**，11（1988）
- 2) 石田賢吾・鍛冶義延・山本 淳：日食工誌，**26**，168（1979）