

ゼラチンのゲル形成に及ぼす生パイナップル汁の影響

高柳 茂代, 黒川 理加*, 河村 フジ子*

(国際学院埼玉短期大学, * 東京家政大学家政学部)

平成 3 年 3 月 25 日受理

Effect of Fresh Pineapple Juice on Gel Formation of Gelatin

Shigeyo TAKAYANAGI, Rika KUROKAWA* and Fujiko KAWAMURA*

*Kokusai Gakuin Saitama Junior College, Omiya, Saitama 330*** Faculty of Home Economics, Tokyo Kasei University, Itabashi-ku, Tokyo 173*

The effects of fresh pineapple juice on the physical properties of gelatin sol and gel were investigated. The results obtained were as follows:

(1) The protease activity of the fresh fruit juice obtained from the crown part of pineapple was stronger than those from its center and tail parts.

(2) Immediately after the addition of pineapple juice to 10% gelatin sol at the concentration of 2.5 vol %, the molecular weight of gelatin and the viscosity of the sol decreased remarkably. The addition above 5 vol% resulted in the disappearance of the gel-forming ability of the sol.

(3) When the pineapple juice which had been self-digested at 30°C for 1 hr was added to gelatin sol, the decrease in the viscosity was suppressed.

(4) When the pH of the sol added with pineapple juice was adjusted to 5.0 or 8.0, the viscosity of the sol and the breaking stress of the gel reached to the minimum, while the sufficient gel-forming ability still remained when the pH of the sol was adjusted to 3.0 or 9.0.

(Received March 25, 1991)

Keywords: gelatin ゼラチン, pineapple juice パイナップル汁, protease activity プロテアーゼ活性, sol ゾル, low molecular weight compound 低分子, gel-forming ability ゲル形成能.

1. 緒 言

ゼラチンの低分子化現象はゲル形成能を阻害させる。すでに前報¹⁾では、加熱によるゼラチンの低分子化現象について検討し、pH が酸側にある場合は低分子化が起こりやすいが、無調整の場合は比較的耐熱性があることを報告した。そこで今回はプロテアーゼによる低分子化現象をとりあげた。ゼラチンゾルに果汁、果肉を加えたフルーツゼリーは、さわやかな風味と口あたりが好まれるものであるが、ゼラチンに高いプロテアーゼ活性を有する果汁を加えると、ゼラチンがゼリー化しなくなることが知られている²⁾。これは、酵素によってゼラチンが分解されて低分子化するためと考えられる。著者らは、先にキウイフルーツ生果汁によるゼラチンの低分子化現象について報告した³⁾。そこで本研究では、キウイフルーツと同様にプロテアーゼを含有する⁴⁾生パイナップ

ル汁（以下パイナップル汁）をゼラチンゾルに加えた場合の低分子化現象をとりあげた。

パイナップル中のプロテアーゼはプロメラインと総称され、根茎から得られるものをステムプロメライン、果実から得られるものをフルーツプロメラインと呼ばれている⁵⁾⁶⁾。これらの酵素は、既にパイナップルの各組織から抽出・精製されており、分子量、アミノ酸配列、その他酵素学的特性が明らかにされている^{7)~10)}。そのうち、本研究に関わりをもつフルーツプロメラインの酵素学的特性について山田ら¹¹⁾¹²⁾は、酵素を陰イオン交換体を素通りする塩基性蛋白質と吸着する酸性蛋白質に分けて検討し、変性ヘモグロビンに対する最適 pH は、前者は pH 5.0 と酸性側にあるのに対して、後者は pH 8.0 と塩基性側にあり、それぞれ、ペプチド結合を切断する位置およびその強さが異なると報告している。また、プロ

メラインは SH-プロテアーゼに属し、システインなどの還元剤で活性化される¹²⁾¹³⁾ことも明らかにされている。以上のような精製された酵素の諸特性が実際の調理においてどのように表われるかに注目して本研究を進めた。調理では、パイナップル汁を天然物の形で用いるので、これらの各酵素と他の成分との相互作用が起きました。調理操作法によってもプロテアーゼ活性は異なってくると考えられる。そこで、パイナップル汁を諸条件のもとでゼラチンゾルに加えた場合のゼラチンの粘度と分子量および諸物性を測定して、パイナップルをゼラチンゼリーに用いる場合の要領を明らかにしたので報告する。

2. 実験方法

(1) 実験材料

1) ゼラチン

ゼラチンは牛骨より抽出されたアルカリ処理ゼラチン(新田ゼラチン製、熱水による抽出順位は第6段階、JIS規格表示が pH 5.58, 粘度: 25.8 mps, ゼリー強度: 109 bloom のもの)を用いた。

2) パイナップル汁

新鮮な市販パイナップル(フィリピン産 pH 3.4~3.5)を頭部、中央部、尾部および芯部の部位に分け、沈澱物の混入を避け、かつ、短時間に果汁にするために、剥皮後 1 cm の角切りにし、二重にした綿布で濾して試料とした。部位差を検討する実験以外は中央部の果汁を用いた。

(2) 試料の調製

1) ゼラチンゾルの調製

ゼラチン 10 g を精秤して 200 ml 容のガラス製ビーカーに入れ、30 g の蒸留水(水)を加えて 20 分間膨潤させた。次に 20 g の水を加えて湯浴(60°C)上で定速(60回/min)攪拌し、50°C で 5 分保持後、40°C の水を加えて全量を 100 g にしたものを対照ゾルとした。パイナップル汁の添加は、ゼラチンを同様に膨潤、溶解した後、次のように行った。

① パイナップルの部位によるプロテアーゼ活性の差異の実験では、搾汁直後のパイナップル汁をゾル全量の 5%(w/w)になるように加えて全量を 100 g にし(その間の操作時間は約 1 分とする)試料とした。

② パイナップル汁の添加量の影響の実験では、ゾル全量の 2.5~20%(w/w)のパイナップル汁を加えて、100 g にし、40°C(40°C で保持したのは予備実験により 40°C におけるゾルの粘度が最低値になった事からプロテアーゼ活性が最大値を示すことを確認して決定した)

で 0~120 分間放置して反応させたものを試料とした。

③ パイナップル汁の自己消化の影響の実験では、パイナップル汁を 30°C で 0~60 分振とうした後、ゼラチンゾルにゾル全量の 5%(w/w)ずつ添加して同様に反応させたものを試料とした。

④ ゼラチンゾルの pH の影響の実験では、ゼラチンゾルに 1 N クエン酸、1 N クエン酸ナトリウム液および 0.1 N 水酸化ナトリウム液でゾルの pH を pH 3.0~9.0 に調整し、パイナップル汁をゾル全量の 5%(w/w)添加して同様に反応させたものを試料とした。

2) ゼラチンゲルの調製

上記①、④の各ゾルを 40°C にして内径 32 mm, 高さ 15 mm のペトリ皿に分注し、5°C の恒温水槽中で 1 時間冷却してゲルを調製した。

3) pH の測定

pH メーター(堀場製作所製, F-11)を用いて測定した。

4) 粘度の測定

粘度はオストワルド粘度計を用いて 20°C における水との相対粘度で示した。

5) 分子量の測定

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による測定: HPLC は、各ゼラチンゾルを 200 倍に希釈し、電子レンジで 1 分間熱処理(内部温度: 75~80°C)した後、次の条件で行った。すなわちポンプ, Shimadzu SPD-6 A; カラム, Asahipak GS-620 M および GS-620 H 連結カラム(7.6 mm ID×35 cm); 移動相, 0.1 M リン酸緩衝液(pH 6.8); 流速, 1.0 ml/min; 検出 Shimadzu SPD-6 A による 220 nm の吸光度; 試料負荷量, 0.05%ゼラチン液を 20 μl とした。クロマトグラムの記録およびピーク面積の算出は、自動記録装置(島津製作所製, C-RIB)を用い標準物質は前報¹⁾と同様にプルランを用いた。

6) 破断試験

レオメーター(山電製, RE-3305)を用い、測定条件はプランジャーの直径: 11 mm, 圧縮設定: 11 mm, 試料の高さ: 15 mm, 試料台の速度: 1 mm/sec とした。破断曲線の記録および解析は、自動解析装置(山電製, CA-3305-16)を用い、破断応力、破断歪を求めた。

3. 結果および考察

(1) パイナップルの部位によるプロテアーゼ活性の差異

パイナップルは経験上、部位によって食味が異なるよ

ゼラチンのゲル形成に及ぼす生パイナップル汁の影響

表 1. パイナップルの部位によるプロテアーゼ活性の差異

項目	無添加 対照	パイナップル汁 5% 添加			
		頭部	中央部	尾部	芯部
ゾル					
pH	5.56	5.18	5.25	5.24	5.40
粘度*	—	4.16	4.30	6.17	—
分子量**	80,000	30,000	32,000	34,000	78,000
ゲル					
破断応力*** ($\times 10^4$ Pa)	54	—	1.3	4.9	46
破断歪*** (cm/cm)	0.69	—	0.42	0.55	0.65

— 測定不能. * 40°C で 10 分保持時点の 20°C における相対粘度, ** 果汁添加後 40°C で 10 分保持時点の分子量, *** 50°C のゼラチンゾルに果汁添加後 20 秒攪拌し, 直ちに 5°C で 1 時間保持したゲル

うに思う。したがって、部位によってプロテアーゼ活性にも差異があるのではないかと考えて適熟の果実の頭部、中央部、尾部および芯部の果汁をゼラチンゾルに加え、ゾルの pH, 粘度, 分子量およびゲルの破断特性を調べた。その結果を表 1 に示す。

表 1 より、頭部の果汁の添加によってゼラチンの粘度および分子量は著しく低下し、ゲル形成能を失うことから、頭部はプロテアーゼ活性が最も強い部位と思われる。次いで、中央部、尾部の順に活性は弱まり、部位によりかなり差があることがわかった。芯部には、プロテアーゼ活性はほとんどみられなかった。しかし、これらの活性には、同一の傾向を示すものの明らかな固体差が認められた。たとえば中央部では、パイナップル汁 5% 添加ゾルの特性で示すと、pH は 5.20~5.35, 粘度は 4.16~10.01 となった。可食部については、各部ともゲルの破断応力は低く、破断歪も小さく、やわらかくてすぐにくずれるゲルであり食用には不相当だと思われる。なお、ゲルの破断応力と粘度、分子量との間には正の相関関係(破断応力とゾルの粘度との相関係数は、0.81, 分子量との相関係数は 0.65) が認められたので、ゲル化しない場合には、粘度、分子量の変化でパイナップル汁の影響を検討することにした。

(2) パイナップル汁添加量の影響

10% ゼラチンゾルの粘度に及ぼすパイナップル汁の影響をみるために、ゾル全量の 2.5~20% のパイナップル汁を添加して 40°C で 0~120 分保持した場合の粘度を調べた。その結果を図 1 に示す。

図 1 より、パイナップル汁 2.5% 添加で、添加直後から粘度は低下し、5% 添加では、さらに粘度低下は顕著

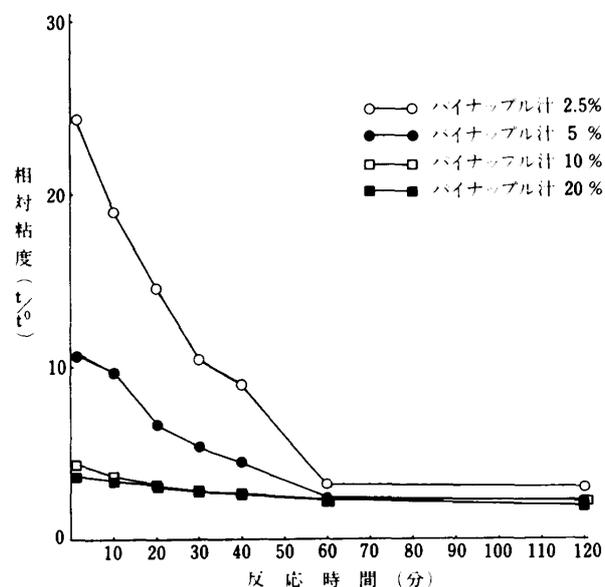


図 1. ゼラチンゾルの粘度に及ぼすパイナップル汁添加量の影響

保持温度: 40°C, 20°C-5 分保持後測定

となった。いずれも 60 分間で平衡に達し、見かけの加水分解反応が完了すると考えられた。添加量が 10% 以上になると添加直後に分解は完了した。また、ゲル形成能をみると、2.5% 添加のものでは添加直後はかろうじてゲルを形成するが、10 分経過後はゲル化しなかった。5% 以上の添加では、添加直後からゲル形成能は全くなり、ゾル状態のままであった。以上のことは、パイナップル汁中のプロテアーゼ活性はかなり強く⁴⁾、ゼラチン分子の加水分解が比較的短時間で進行することを示している。

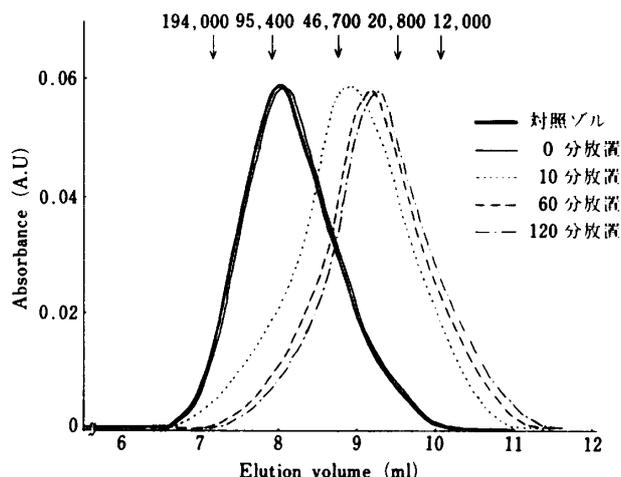


図 2. 2.5%パイナップル汁添加ゾルの液体クロマトグラム

図中の数字は標準物質（プルラン）による分子量

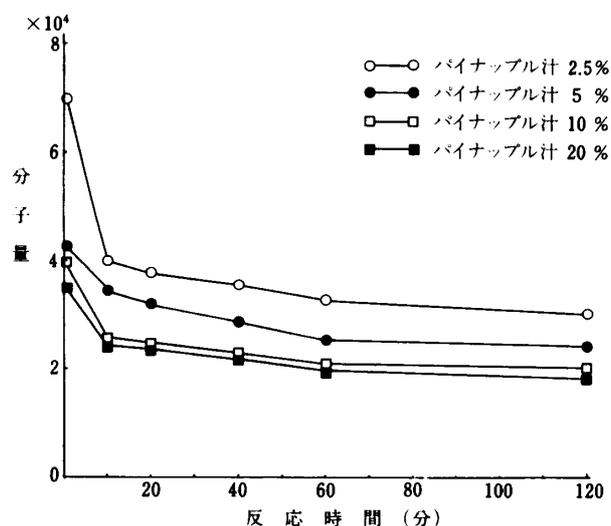


図 3. セラチンの分子量に及ぼすパイナップル汁添加量の影響

保持温度：40℃

次にセラチンの分子量分布の面から検討した。すなわち、10%セラチンゾルにパイナップル汁を全ゾル量の2.5~20%添加し、40℃で0~120分保持した場合の分子量分布をHPLCで測定した。そのパイナップル汁2.5%添加ゾルのクロマトグラムの結果を図2に、セラチンの分子量に及ぼすパイナップル汁添加量の影響を図3に示す。

図2より、対照セラチンは、分子量約80,000をピークとしてその前後に広範囲に分布している。これにパイナップル汁を2.5%添加した場合、添加直後でも約70,000となり、放置時間が10分では顕著に、60分では

さらに低分子化するが、それ以上放置時間を延長してもほとんど変化はみられない。また、パイナップル汁添加セラチンの分子量分布パターンは、対照と同一パターンである。このことから、パイナップル中のプロメラインは、短時間にセラチン分子のペプチド結合を一定位置で切断¹⁰⁾¹¹⁾し、分子量の異なるポリペプチドの混合物を生成すると考えられる。

図3より、パイナップル汁の添加量が5%以上になると、添加直後でもセラチンの分子量は40,000前後に減少し、その後10分放置で急速に低分子化が進み、以後の変化が些少となり、セラチンゾルの粘度変化とよく対応している。したがって、セラチンゾルの粘度の低下は、セラチン分子の酵素による低分子化によると結論される。

(3) パイナップル汁自己消化の影響

パイナップル汁を30℃で0~60分間振とうしてから10%セラチンゾルにゾル全量の5%になるように添加(図1で用いたパイナップル汁と同一のものではない)し、セラチンの粘度低下に及ぼす影響を調べた。その結果を図4に示す。

図4より、搾汁直後の果汁を添加すると、果汁中のプロテアーゼによって粘度は急激に低下し、先の傾向を再確認した。これに対して10, 30, 60分間自己消化したパイナップル汁を添加した場合は、いずれの反応時間においても搾汁直後の場合の粘度より高かった。しかも自己消化時間の長いものほどセラチンの粘度を維持する効果が高かった。したがって、果汁ゼリーにパイナップル汁を使用する場合、果汁を自己消化させた後に用いるとゲル形成能が損なわれにくいと考えられる。

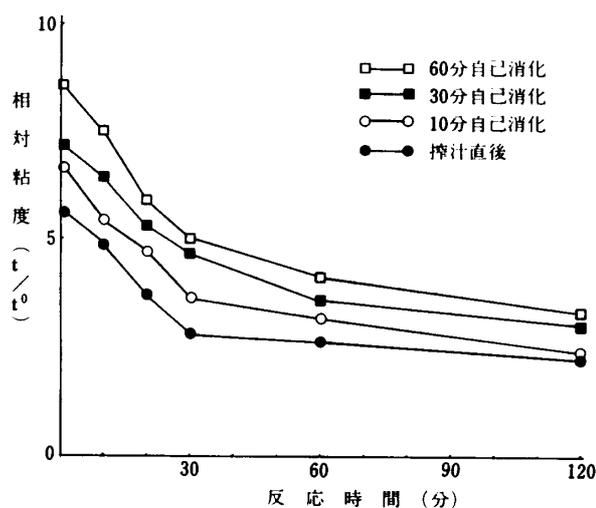


図 4. セラチンの粘度低下に及ぼすパイナップル汁の自己消化の影響

保持温度：40℃、20℃-5分保持後測定

ゼラチンのゲル形成に及ぼす生パイナップル汁の影響

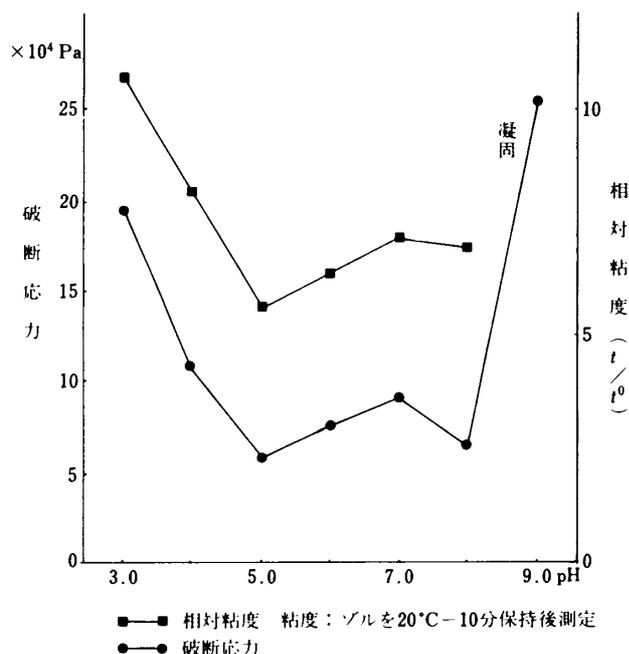


図 5. パイナップル汁添加ゼラチンゾルの物性に及ぼす pH の影響

(4) ゼラチンゾルの pH の影響

pH 3.0~9.0 に調整した 10%ゼラチンゾルにパイナップル汁を 5%添加し、1分放置した場合の混合ゾルの粘度と破断応力の変化を図 5 に示した。

図 5 より、パイナップル汁を含むゼラチンゾルの粘度およびゲルの破断応力は、pH 5.0 および pH 8.0 で最低を示した。これは、パイナップル汁のプロテアーゼの最適 pH は、pH 5.0 および pH 8.0 にある¹²⁾ためと考えられる。しかし、これより酸性側およびアルカリ性側では、粘度および破断応力は急激に上昇し、pH 3.0 および pH 9.0 では、プロテアーゼの作用を受けにくいことが認められた。したがって、実際の調理では、レモン汁などの果汁を用いて pH を下げてから使用すると、ゲル形成能が保持できると思われる。

4. 要 約

ゼラチンゾルにパイナップル汁を添加したゾルおよび

ゲルの特性について検討した結果を要約すると次の通りである。

(1) パイナップルの頭部は、中央部、尾部に比べて、プロテアーゼ活性が強い。

(2) 10%ゼラチンゾルにパイナップル汁を全ゾル量の 2.5%添加した場合でも、添加直後よりゾルの粘度が低下する。5%以上添加では、ゲル形成能は全く消失する。

(3) ゼラチンゾルに、あらかじめ放置したパイナップル汁を添加すると、ゾルの粘度低下が抑制された。

(4) ゼラチンゾルの pH を 5.0 または 8.0 にしてパイナップル汁を添加すると、ゾルの粘度およびゲルの破断応力は最低となるが、ゼラチンゾルの pH を 3.0 または 9.0 にすると、十分なゲル形成能を維持し得た。

引用文献

- 1) 河村フジ子, 高柳茂代: 家政誌, **41**, 825 (1990)
- 2) 河田昌子著: お菓子「こつ」の科学, 柴田書店, 東京, 228 (1987)
- 3) 松本睦子, 河村フジ子: 東京家政大研究紀要, **28**, 123 (1988)
- 4) 曾田 功, 金子美穂, 佐藤隆英, 中川弘毅, 小倉長雄: 日食工誌, **34**, 36 (1987)
- 5) Chittenden, R.H.: *Trans. Connecticut Acad. Sci.*, **8**, 281 (1892)
- 6) Heinicke, R.M. and Gortner, W.A.: *Econ. Botnyll*, 225 (1957)
- 7) Husain, S.S. and Lowe, G.: *J. Biochem.*, **116**, 53 (1968)
- 8) Ota, S., Horie, K., Hagino, F., Hashimoto, C. and Date, H.: *J. Biochem.*, **71**, 817 (1972)
- 9) Takahashi, N., Yasuda, Y., Goto, K., Miyake, T. and Murachi, T.: *J. Biochem.*, **74**, 355 (1973)
- 10) 黄 書琅, 山田富美子, 村地 孝: 生化学, **46**, 434 (1974)
- 11) 山田富美子: 名古屋市立大医学会誌, **24**, 250 (1973)
- 12) 山田富美子, 村地 孝: 別冊蛋白質核酸酵素, 共立出版, 東京, 217 (1976)
- 13) Yasuda, Y., Takahashi, N. and Murachi, T.: *Biochemistry*, **10**, 2624 (1971)