

琉球大学学術リポジトリ

パインアップルの副産物利用に関する研究：第3報 システム・ブロメラインの製造について(農芸化学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 当山, 清善 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4544

パイナップルの副産物利用に関する研究

第3報 ステム・ブロメラインの製造について

当 山 清 善*

Seizer, TOYAMA: Studies on the utilization of by-product of pineapple
III. On the production of stem bromelain powder

I 緒 言

パイナップル植物組織に含まれるタンパク質分解酵素はブロメラインと呼ばれ、果汁のみならず葉汁及び根茎汁にもその存在が確かめられている³⁾。根茎汁より得たステムブロメラインの粗酵素標品についての最初の報告は Heinicke らによって行われ、1957年以來村地⁴⁾によりこの酵素の詳細な酵素化学的研究が進められつゝある。また大田ら^{9),10)}は根茎汁及び果汁の氨基酸分析、ステムブロメラインのタンパク化学的性質に関する研究結果から、両汁に存在する酵素は別種のタンパク質からなると報告している。このように現在ブロメラインの酵素化学的研究が盛んに行なわれつゝあり、その利用の開発についての検討も進められている²⁾。最近ブロメラインが抗炎症・抗浮腫作用を示すことが見い出され治療目的に応用されるようになり、日本においても消炎酵素剤として販売されている¹¹⁾。

現在医薬として利用されているブロメラインは根茎汁から得たものである。このステムブロメラインは既にハワイにおいて工業的規模で生産され、日本はその原粉末を輸入して錠剤化している現状である。最近台湾においてもその製造が開始され、年々増産の一途をたどっているとされている⁷⁾。パイナップル産業が琉球の基幹産業として発展した今日、その副産物の利用の一環としてブロメラインの製造を図ることは重要な課題の一つである。

1941年 Balls ら¹⁾は果汁からのブロメラインの工業的生産について報告し、1957年 Heinicke らによってステムブロメラインの製造についての報告があった。しかし工業生産を開始するにあたって問題となる原料果汁或は根茎汁に対するブロメラインの収率等について報告はなかった。沖縄産パイナップル草本中におけるブロメラインの分布¹²⁾、ブロメライン粉末の製造のための条件については既に検討した¹³⁾。そこで本報ではステムブロメライン粉末の根茎からの収率及び得られた標品の酵素活性等について検討したので報告する。

II 実験方法

供試根茎：果梗のない4~5年株草本（スムースカイエン種）で、葉及び根毛などを完全に除去したものである。

根茎汁：根茎をポテトスライサーでスライスした後、ミキサーで微細断後手動式圧搾器で搾汁した。この根茎汁を遠心分離器（4,000 rpm）で不純物を除去して供試汁とした。

* 琉球大学農学部農芸化学科

ステムブロメラインの粉末化：前報¹³⁾で報告した通り、根茎汁の酵素活性はアセトン濃度 30～80% で沈でんする部分にあるので、根茎汁にアセトン濃度が 30% になるように加え、しばらく放置後生じた沈でんを遠心分離して除去した。この遠心分離後の上清汁にアセトン濃度が 80% になるようにアセトンを加え、生じた沈でんをブフナー濾斗で濾過した。この沈でんを 35～40°C で乾燥後粉砕して粉末とした。

ハワイ製ステムブロメライン粉末：商品名は Bromelain Concentrate Takamine で、製造元は Miles Chemical Co. Control No. #32 である。

酵素液の調製：本実験で得られた粉末（沖縄製）及びハワイ製粉末共 0.5 mg/ml を 0.1 M citrate-phosphate buffer (pH6.0) に溶解、不溶物を遠心分離で除去したのを酵素液とした。

酵素活性の測定：活性は前報¹³⁾の方法に従い、Folin 法による次の反応液組成で測定した。2.5% カゼイン 1.0 ml, 0.2 M citrate-phosphate buffer (pH6.0) 2.5 ml, 酵素液 (0.5 mg/ml) 1.0 ml, 0.05 M システイン 0.5 ml, 酵素反応時間は 40°C, 5～15 分である。酵素活性は日立 139 形分光光度計の吸光度 (O. D. 660 m μ) で示した。

タンパク質濃度の測定：酵素液 (0.5 mg/ml) 0.4 ml について前報の通り Lowry 法で測定し、タンパク質量は吸光度 (O. D. 750 m μ) をもって示した。

III 実験結果

1) 根茎汁の収率

根茎からの根茎汁の収率は細断及び圧搾条件によって異なるが、本実験では第1表に示す通りであった。表から明らかのように根茎汁の収率は 41～47% の範囲にあり、平均 43% であった。

Table 1. The yield of stem juice from pineapple stem.

Stem	Weight of stem (kg)	Stem juice (L.)	Yield (%)
A	0.704	0.305	43.3
B	4.190	1.673	40.5
C	4.040	1.655	41.5
D	1.000	0.465	46.5
Average	—	—	43.0

2) 根茎汁からのステムブロメライン粉末の収率

ステムブロメライン粉末の収率を調べるために用いた根茎汁はパインアップル草本株を異にした根茎から搾汁したものである。第2表は各根茎より得られた粉末の量を示したものである。粉末の収率は 1.5～2.0% の範囲にあり、平均 1.7% である。

Table 2. The yield of stem bromelain powder from stem juice.

Stem juice (ml)	Bromelain powder (g)	yield (%)
1,200	19.36	1.61
150	2.57	1.71
220	3.19	1.45
400	7.84	1.96
Average	—	1.68

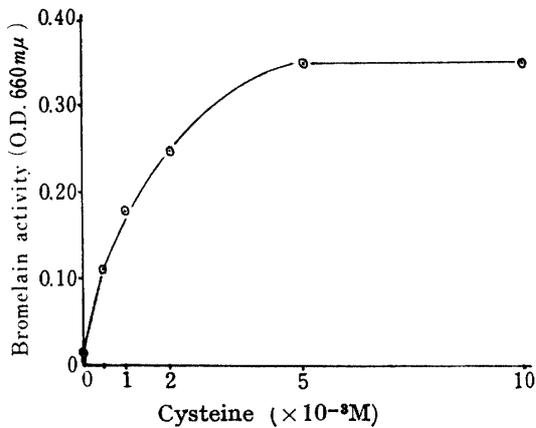


Fig. 1 Effect of cysteine concentration on bromelain activity.

3) 酵素活性に及ぼすシステイン濃度の影響
 パパインの場合と同じく、ブロメラインはSHプロテアーゼであり、その活性を100%に保つためにはSH化合物のような還元剤の共存を必要とする。そこで本実験で得られたステムブロメライン粉末の活性の強さを調べるため、システイン濃度と活性との関係を調べた。実験にはハワイ製粉末を使用した。その結果は第1図に示す通り、システイン濃度が $5 \times 10^{-3}M$ で活性は100%になることが判った。

4) 沖縄製及びハワイ製ステムブロメライン粉末酵素活性の比較

第2図は本実験で得られた粉末とハワイ製粉末についてその酵素活性の比較を示したものである。ハワイ製はシステインを酵素反応液に添加しないとほとんど酵素活性を示さないが、沖縄製は活性があった。システインを加えると両標品共たかい酵素活性を示したが、その強さは沖縄製の方がハワイ製に比したかい値を示した。

第2図は本実験で得られた粉末とハワイ製粉末についてその酵素活性の比較を示したものである。

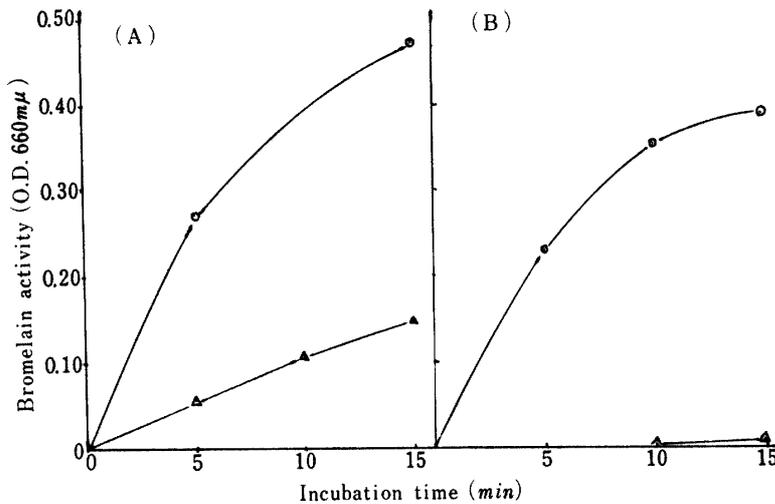


Fig. 2 Comparison of bromelain activity of Okinawan and Hawaiian stem bromelain powder.

A : Okinawan powder
 B : Hawaiian powder
 ○—○ +cysteine
 △—△ -cysteine

5) ステムブロメライン粉末の比活性

一般に酵素活性を比較する場合には使用した酵素タンパク質量に対する活性の割合、即ち比活性を調べる必要がある。タンパク質量の測定にはLowry法を用い、先づステムブロメラインの量及びチロシンの量と吸光度(O. D. 750 mμ)の関係を調べた。その結果は第3図及び第4図に示す通りである。ステムブロメライン及びチロシン量と吸光度の値が比例関係にあった。従って第3表に示した比活性

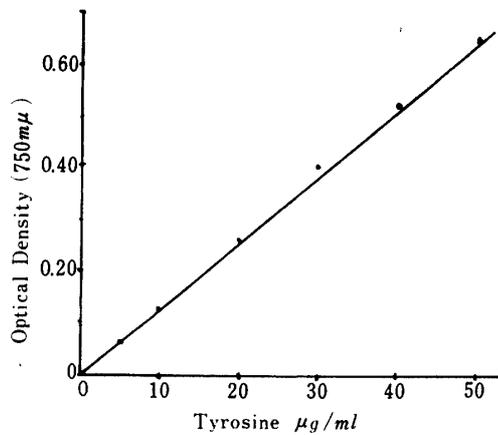


Fig. 3 The relationship between the concentration of tyrosine and its optical density.

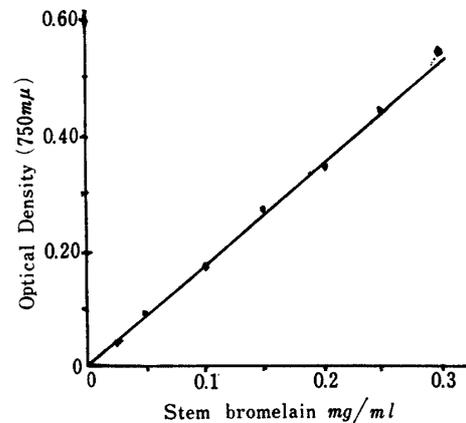


Fig. 4 The relationship between the concentration of stem bromelain powder and its optical density.

Table 3. Specific activity of stem bromelain powder.

Bromelain powder	Activity (O.D. 660 $m\mu$)	Protein (O.D. 759 $m\mu$)	Specific activity
Okinawa A	0.191	0.306	0.624
B	0.204	0.292	0.701
C	0.232	0.329	0.705
D	0.164	0.277	0.592
Hawaii	0.214	0.327	0.575

値はタンパク量を示す吸光度に対する酵素活性を示す吸光度の比率である。第3表から明らかのように、ステブロメラインの粉末ロットにより比活性値がいくらか異なるが、沖縄製はいずれもハワイ製よりたかい値を示した。

IV 考 察

ブロメラインはパインアップル草本の果実汁及び葉汁中にも存在するが、根茎汁から得たステムブロメラインが一般に利用されている。この理由として根茎汁の固形成分の約50%が酵素タンパクといわれ⁴⁾、その製造も容易なためであろう。本実験で根茎汁から約1.7%のブロメライン粉末が得られた。このことから粉末1屯を製造するために要する根茎量は約152屯である(第1表、第2表)。

ブロメラインの工業的規模での製造には沈でん剤として一般にアセトンが使用されている。本実験で採用したアセトン濃度80%は根茎汁に対して約1:5である(96%アセトンとして)。予備実験の結果では1:4の比率でアセトンを加えても粉末の収量に大きな影響はなかった。

本実験で得られたステムブロメライン粉末はハワイ製に比し着色(褐色味)が少なく、水に対する不溶分の量も少なかった。システインを添加しないで沖縄製とハワイ製粉末の酵素活性を比較した場合、沖縄製がたかい活性を示した(第2図)。また両粉末の比活性を比較すると、いずれの製造ロット共沖縄製の方がたかい値を示した(第3表)。このことから本実験で採用した製造方法でハワイ製粉末に遜色のないステムブロメライン粉末が製造できると考えられる。

ステムブロメラインが内服により抗炎症効果のあることが明らかになり、最近日本でも製剤化され

たのであるが、その需要については今後の臨床実験データの蓄積、薬理作用機構の解明を待たなければならぬと言われている⁹⁾。またブロメラインの食品工業への利用についてはアメリカで一部実用化されているが⁹⁾、日本ではまだその段階に到っていない。

V 要 約

本報ではパイナップル根茎からステムブロメライン粉末の製造を行い、その酵素活性を調べた結果を得た。

- 1) ステムブロメラインは根茎汁にアセトンを加え沈でんする部分を乾燥して製造した。
- 2) 根茎汁に対するステムブロメライン粉末の収率は約1.7%であった。
- 3) 得られたステムブロメライン粉末の酵素活性はハワイ製のそれと比較して遜色なかった。

供試パイナップル根茎を提供し、本研究費の一部を負担して下さった名護罐詰工業に感謝します。またハワイ製ブロメライン粉末を提供して下さった琉大家政学科尚弘子助教授、実験に際し、種々便宜を図って下さった琉大農化鎮西忠茂教授、宮里興信助教授に感謝します。

参 考 文 献

- 1) Balls, A. K., Thompson, R. R. 1941. Bromelin. Properties and Commercial Production. *Ind. Eng. Chem.* **33**: 950.
- 2) Barton, R. R., Land, C. E. 1961. Utilization of Enzymes for Food Processing. *Food Eng.* **33**: 85.
- 3) 村地 孝 1966. 植物起源のプロテアーゼ. *蛋白質・核酸・酵素* **11**: 335.
- 4) 村地 孝 1967. ステムブロメラインの構造と活性. *日化* **88**: 899.
- 5) 村地 孝 1969年2月 私信.
- 6) 村地 孝 1968. 蛋白質分解酵素の医薬的利用 *化学と生物* **6**: 651.
- 7) 中本太郎 1968年11月 私信.
- 8) Neurath, H., Murachi, T. 1960. Fractionation and Specificity studies on stem Bromelain. *J. Biol. Chem.* **235**: 99.
- 9) Ota, S. 1968. Autodigestion of the Proteolytically Active component of the Stem Bromelain. *J. Biochem.* **63**: 494.
- 10) 太田尚志, 萩野房子, 堀江久美子, 箕田恵美 1968. パインナップルのステム, ストック, フルート中に含まれる遊離アミノ酸について *生化学* **40**: 785.
- 11) 三共 KK 1968. 「プロメリン錠」文献集.
- 12) 当山清善 1963. プロメリンの性質について *沖縄農業* **2** (1): 22~25.
- 13) 当山清善 1965. プロメリンの有機溶剤及び硫酸による分別 *沖縄農業* **4** (2): 22~28.

Summary

The present work was carried out to produce stem bromelain powder from pineapple tissue (root and stem) and to investigate the enzyme activity of the powder. The results obtained were as follows;

- 1) Stem bromelain of stem juice was precipitated with acetone, and then the precipitate formed was dried and made into powder.
- 2) The yield of the stem bromelain powder from stem juice was about 1.7%.
- 3) The enzyme activity of the stem bromelain powder obtained compared favorably with that of the Hawaiian powder.