

# 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・プ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, Toyama, Seizen メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/4544">http://hdl.handle.net/20.500.12000/4544</a>

# パインアップルの副産物利用に関する研究

## 第3報 ステム・プ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

パインアップル植物組織に含まれるタンパク質分解酵素はプロメラインと呼ばれ、果実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<sup>3)</sup>。根茎汁より得たステムプ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 年以来村地<sup>4)</sup>によりこの酵素の詳細な酵素化学的研究が進められつつある。また大田ら<sup>5,10)</sup>は根茎汁及び果実汁のアミノ酸分析、ステムプ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。このように現在プロメラインの酵素化学的研究が盛んに行なわれつつあり、その利用の開発についての検討も進められている<sup>6)</sup>。最近プ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<sup>11)</sup>。

現在医薬として利用されているプロメラインは根茎汁から得たものである。このステムプ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言われている<sup>7)</sup>。パインア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プ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<sup>12)</sup>は果実汁からのプロメラインの工業的生産について報告し、1957 年 Heinicke らによってステムプ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実汁或は根茎汁に対するプロメラインの収率等について報告はなかった。沖縄産パインアップル草本中におけるプロメラインの分布<sup>13)</sup>、プ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<sup>13)</sup>。そこで本報ではステムプ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

ステムプロメラインの粉末化：前報<sup>13)</sup>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で乾燥後粉碎して粉末とした。

ハワイ製ステムプロメライン粉末：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0.5mg/mlを0.1M 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<sup>13)</sup>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1.0ml, 0.2M citrate-phosphate buffer(pH6.0)2.5ml, 酵素液(0.5mg/ml)1.0ml, 0.05Mシスティン0.5ml, 酶素反応時間は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. 660mμ)で示した。

タンパク質濃度の測定：酵素液(0.5mg/ml)0.4ml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. 750mμ)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プロメライン粉末の収率

ステムプ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

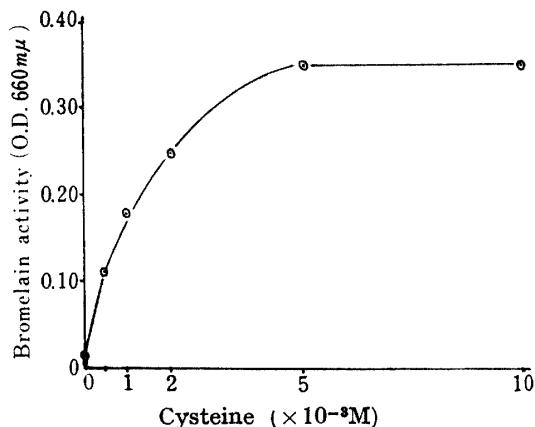


Fig. 1 Effect of cysteine concentration on bromelain activity.

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。

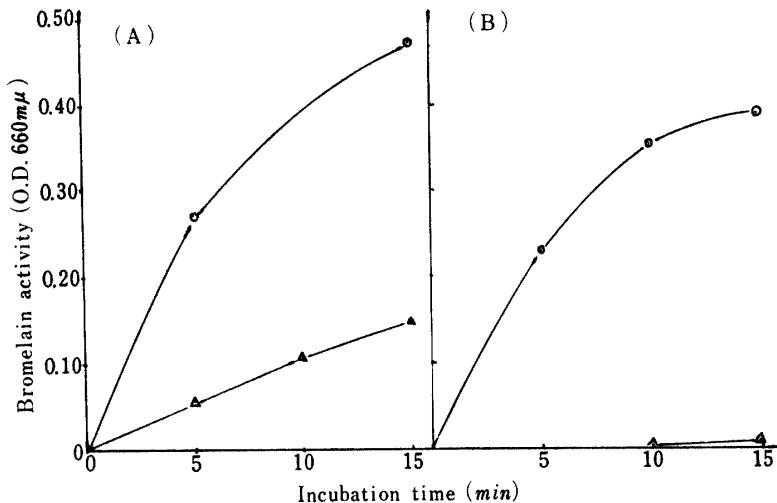


Fig. 2 Comparison of bromelain activity of Okinawan and Hawaiian stem bromelain powder.

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

##### 5) ステムプ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、先づステムプロメラインの量及びチロシンの量と吸光度 (O. D.  $750 m\mu$ ) 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。ステムプ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

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、プロメラインは 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プロメライン粉末の活性の強さを調べた。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プ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

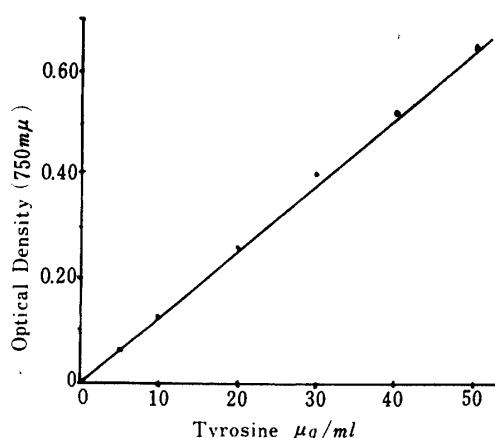


Fig. 3 The relationship between the concentration of tyrosine and its optical density.

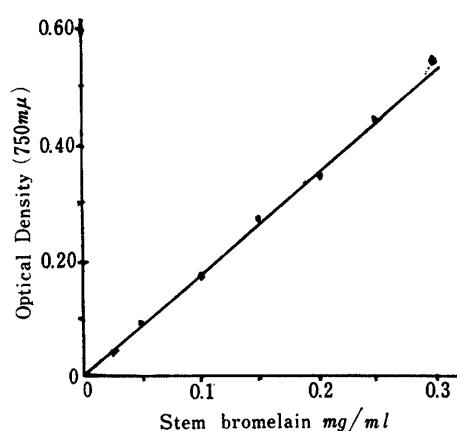


Fig. 4 The relationship between the concentration of stem bromelain powder and its optical density.

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、ステプ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

プ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プ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<sup>4)</sup>、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% のプロメライン粉末が得られた。このことから粉末 1 斎を製造するために要する根茎量は約 152 斎である（第1表、第2表）。

プ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プ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。システィ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プロメライン粉末が製造できると考えられる。

ステムプ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ーの蓄積、薬理作用機構の解明を待たなければならぬと言わわれている<sup>6)</sup>。またプ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<sup>7)</sup>、日本ではまだその段階に到っていない。

## V 要 約

本報ではパインアップル根茎からステムプロメライン粉末の製造を行い、その酵素活性を調べ次の結果を得た。

- 1) ステムプロメラインは根茎汁にアセトンを加え沈殿する部分を乾燥して製造した。
- 2) 根茎汁に対するステムプロメライン粉末の収率は約1.7%であった。
- 3) 得られたステムプ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。

供試パインア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。またハワイ製プロメライン粉末を提供して下さった琉大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. ステムプ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, 篠田恵美 1968. パインアップルのステム, ストーカ, 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. 「プロメリソーム」文献集.
- 12) 当山清善 1963. プロメリソームの性質について 沖縄農業 **2**(1): 22~25.
- 13) 当山清善 1965. プロメリソームの有機溶剤及び硫安による分別 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 bromelian of stem juice was precipitated with aceton, and then the precipitate formed was dried and made into powder.
- 2) The yield of the stem bromelian powder from stem juice was about 1.7%.
- 3) The enzyme activity of the stem bromelian powder obtained compared favorably with that of the Hawaiian powder.