

## 大豆粉のタンパク質消化における トリプシンインヒビター活性の影響

### Effect of Trypsin-inhibitor Activity on the Protein Digestibility of Soybean Powder

守 田 律 子

MORITA Ritsuko

#### I. はじめに

大豆は「畑の肉」と呼ばれるほど良質なタンパク質を含む食品であり、比較的保存性もよく、重要なタンパク質食品として世界的に注目されている<sup>1)</sup>。また、大豆はタンパク質生産効率が食品素材の中で最も高く、将来人口増加に伴う食糧難に対処出来得る食料資源であるといわれている<sup>2)</sup>。

世界の大豆生産量は2003年では1億8704万t<sup>3)</sup>と推定され、わが国では、豆腐、味噌、醤油、納豆、きな粉などの馴染み深い伝統食品の原料である<sup>4)</sup>。日本人の供給タンパク質量から見ればその量は10%弱程度しかない。その理由としては、未加工の生大豆は加水して磨り潰すと青臭い臭気が発生し<sup>5) 6)</sup>、口にすると吐き気を催す不快味がある<sup>7) 8) 9)</sup>。これは大豆に含まれるリポキシゲナーゼにより、リノール酸などの不飽和脂肪酸が酸化され、青臭みの主成分であるヘキサノールが生成されるためといわれている。また、生食すると消化不良<sup>10)</sup> や膵臓肥大<sup>11)</sup> などの有害作用があることがあげられる。有害成分の一つとしてトリプシンインヒビターがある。トリプシンインヒビター（以後、TIと示す）は、自己分解を防止し、昆虫などからの食害を防ぐ

などのため、大豆に存在しているのでないかと考えられる。その特徴は、動物が摂取した場合に分泌されるトリプシンと呼ばれるタンパク質分解酵素に特異的に結合し、その活性を失わせてしまう。その結果、タンパク質分解酵素の不足を補うために生の大豆をたくさん摂取するとトリプシンを製造する膵臓の肥大をもたらす。そこで、食べやすくするために、大豆から有効成分のみを抽出した大豆油や豆腐、加熱処理した炒豆や煮豆、消化発酵させた味噌や醤油にされている。また近年は、大豆機能として整腸作用<sup>12)</sup>、高血圧予防<sup>12)</sup>、がん抑制<sup>12)</sup>、動脈硬化防止<sup>12)</sup>、脳内の情報伝達物質での活性化による記憶力、集中力向上<sup>13)</sup> 等があり、このような大豆成分を抽出した健康食品も出来ている。

今回、製造方法が異なる3種類の大豆粉のTI活性及びタンパク質消化率を調べ、TI活性がタンパク質消化に与える影響を明らかにすることを目的とした。また、液性によって、TI活性がタンパク質消化に与える影響に差が出るのかどうか併せて検討した。

## II. 実験方法

### 1. 試料の調製

1) 富山県産大豆エンレイ（平成17年度産）を以下の3通りの方法にて粉末とし、試料に供した。

- ① 生大豆粉：丸大豆を乳鉢で粉碎し、28メッシュのふるいに通した。
- ② 粉末後焙煎大豆粉：生大豆粉をアルミ製トレーに載せ150℃20分間焙煎した。
- ③ 焙煎後粉末大豆粉：丸大豆をアルミ製トレーに豆が重ならないように並べ、150℃20分間焙煎後、乳鉢で粉碎し、28メッシュのふるいを通して試料とした。

### 2. TI 活性測定<sup>14)</sup>

- 1) 各大豆粉（生大豆粉、粉末後焙煎大豆粉、焙煎後粉末大豆粉）0.5 g を三角フラスコに入れ、純水50ml加えた。
- 2) 37℃ウォーターバス中で120rpm、30分間振とう混和しTIを溶出した。
- 3) 溶出液それぞれ5mlにCaCl<sub>2</sub>添加トリス緩衝液5mlを加えた。
- 4) 3) の液をそれぞれろ過し、試料原液とした。
- 5) 試料原液を20倍、又は10倍の希釈液各1mlを試験管に取った。BAPA液 2 mlをそれぞれ加えた。
- 6) 37℃ウォーターバス中にて、それぞれの試験管にトリプシン液0.5ml加えた。
- 7) 10分後、それぞれの試験管に30%酢酸0.5ml加え、酵素反応を止めた。
- 8) 光電比色計（波長410nm）にて吸光度を測定し、次式によりTIU/mgを求めた。

$$\text{TIU/mg}^{*1} = (\text{空試験OD}^{*2} - \text{試料OD}^{*2}) \times \text{希釈倍数} \times 100^{*3} \times \text{加水量 (ml)} \times 2^{*4} \div \text{試料重量 (mg)}$$

\*1 TIU：TI単位

\*2 OD：吸光度

\*3 100：TI 1単位は空試験のODと試料のODの差0.01に相当する。このOD差をTIUに換算するための係数

\*4 2：CaCl<sub>2</sub>添加トリス緩衝液添加時の希釈倍率

### 3. タンパク質消化率の測定

- 1) 生大豆粉、粉末後焙煎大豆粉、焙煎後粉末大豆粉の3種類の大豆粉を各100mg遠沈管に入れた。
- 2) 遠沈管にそれぞれ1mg/mlのトリプシン液を0 ml、1 ml、2 ml、3 ml加えた。
- 3) 0.05Mリン酸緩衝液<sup>15)</sup>（pH7.6）を4ml加え、更に純水を加えて全量を20mlとし、防腐のためにトルエンを1滴加えた。
- 4) 遠沈管を37℃、20時間保温し消化後、20%トリクロロ酢酸5mlを加えて、未消化タンパク質を沈殿凝固した。
- 5) 3000回転、5分間遠心分離し、遠沈管の沈殿区分を未消化タンパク質、上澄区分を消化タンパク質区分とした。

7) ケルダール法<sup>16)</sup>にて各々窒素量を求め、窒素量からタンパク質量を算出した。

$$\text{タンパク質 (\%)} = \text{滴定値 (ml)} \times 0.0014^{*1} \times 5.71^{*2} \times 100 \div \text{試料量 (g)}$$

\*1：N/10H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 mlに相当する窒素量（g）

\*2：大豆・枝豆のタンパク質換算係数

8) 次式にて消化率を算出した。

$$\text{消化率(\%)} = \frac{\text{上澄区分全量中のタンパク質量}}{\text{上澄区分と沈殿区分の合計タンパク質量}} \times 100$$

### Ⅲ. 実験結果および考察

#### (1) 製造方法の異なる大豆粉の TI 活性

TI活性の測定方法は、国内では、Kakade氏らの方法<sup>17)</sup>を用いた測定値の報告が多いが、今回の測定には、Liu氏らの方法<sup>14)</sup>を用いて測定した。

生大豆粉、粉碎後焙煎大豆粉、焙煎後粉碎大豆粉のTI活性を表-1、図-1に示した。生大豆粉のTI活性は $141 \pm 13$ 単位、粉碎後焙煎大豆粉は $124 \pm 7$ 単位と殆ど等しいTI活性を維持した。焙煎後粉碎大豆粉は $6.6 \pm 0.7$ 単位と生大豆粉の1/20までTI活性は失活した。この結果から、乾燥丸大豆を粉碎しないで $150^\circ\text{C}$ に焙煎したものと粉碎後焙煎した大豆粉とではTI活性には大きな差が見られた。粉碎後焙煎大豆粉は $150^\circ\text{C}$ で焙煎しているが、においや味も生大豆粉に近かった。大豆粉は粉体であるので空気にさらされやすくなっており、大豆組織の中心まで速やかに

焙煎温度に達すると考えられたが、結果は逆となった。この理由として、粉体で有るため空気が熱の伝導を阻止して焙煎温度の上昇を困難にしたのでないかと思われた。

以上から、焙煎してから粉碎した焙煎後粉碎大豆粉はTIが熱失活することがわかった。しかし、先に粉碎し、組織を破壊してから焙煎するとTIは熱失活しないことがわかった。

#### (2) 焙煎が消化に与える影響

焙煎が消化に与える影響を調べた。大豆粉、粉末後焙煎大豆粉、焙煎後粉末大豆粉の3種類の大豆粉の結果は、水分を測定し、乾物あたりに換算して表-2、図-2に示した。生大豆粉のタンパク質の消化率は23%と低い値を示した。生大豆粉を $150^\circ\text{C}$ 20分焙煎した粉末後焙煎大豆粉の消化率も生大豆粉と大差なく、消化率の向上は見られなかった。しかし、丸大豆のまま $150^\circ\text{C}$ 20分焙煎し、粉碎した焙煎後粉碎大豆粉では30%と消化率が少し向上していた。

トリプシンの量が消化に与える影響は、3種類の大豆粉ともトリプシンの添加量が増すごとにタンパク質消化率は向上の傾向を示した。特に焙煎後粉碎大豆粉はトリプシンを1mg添加することで消化率の向上が著しく、トリプシン無添加消化率の2倍以上になっていた。その後2、3mgとトリプシン量が増えると83%まで消化率が上昇した。しかし、トリプシン量を3mg添加しても生大豆粉は60%、粉碎後焙煎大豆では65%まで消化率は向上した。焙煎の温度や時間が同じでも、焙煎をいつ行なうかによって消化率に差が現れた。つまり、粉碎してから焙煎した大豆粉は丸大豆を焙煎し粉碎した大豆粉とは異なり焙煎による消化の向上は期待されないことを示した。消化が良くない理由として考えられるのは、大豆を粉碎して破壊すると、大豆の油脂顆粒が破壊され、この油脂が溶出して大豆タンパク

表-1 製造過程の違いによるTI活性値

	生大豆粉	粉碎後 焙煎大豆粉	焙煎後 粉碎大豆粉
TIU	$141 \pm 13$	$124 \pm 7$	$6.6 \pm 0.7$

(n=3)

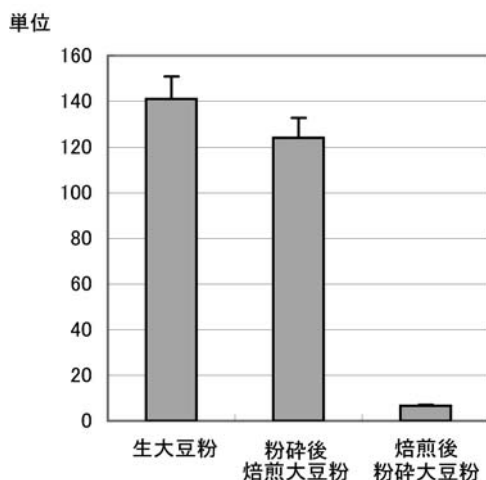


図-1 製造過程の異なる大豆粉のTI活性

表-2 トリプシン量とタンパク質消化率との関係

調理方法	区 分	トリプシン量 (mg/ml)			
		0	1.0	2.0	3.0
生大豆粉	消化区分	9.42	13.95	19.53	27.20
	未消化区分	32.26	27.38	22.67	17.79
	タンパク質計	41.68	41.33	42.20	44.99
	消化率(%)	22.60	33.75	46.28	60.46
粉碎後 焙煎大豆粉	消化区分	9.68	15.97	25.00	29.04
	未消化区分	29.85	24.36	15.97	15.34
	タンパク質計	39.53	40.82	40.97	44.38
	消化率(%)	24.49	39.12	61.02	65.43
焙煎後 粉碎大豆粉	消化区分	12.26	29.82	35.10	36.46
	未消化区分	28.69	11.93	9.54	7.75
	タンパク質計	40.95	41.75	44.64	44.21
	消化率(%)	29.93	71.43	78.63	82.47

(n=3)

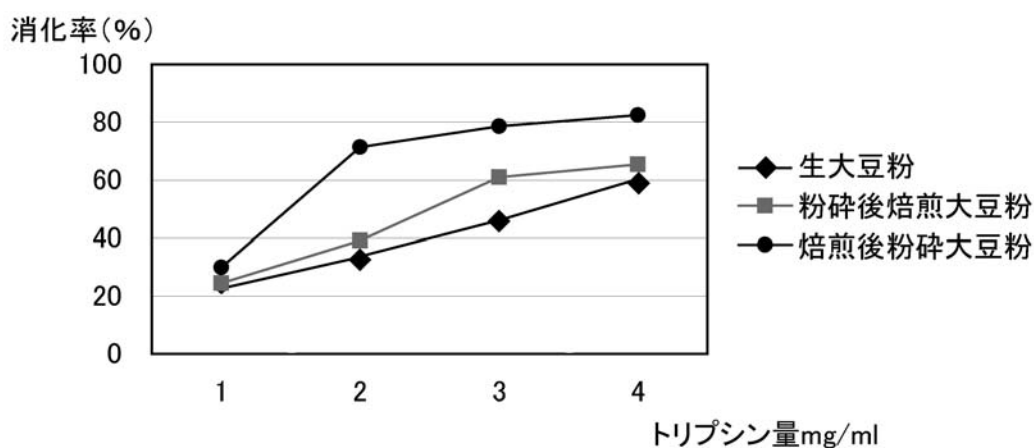
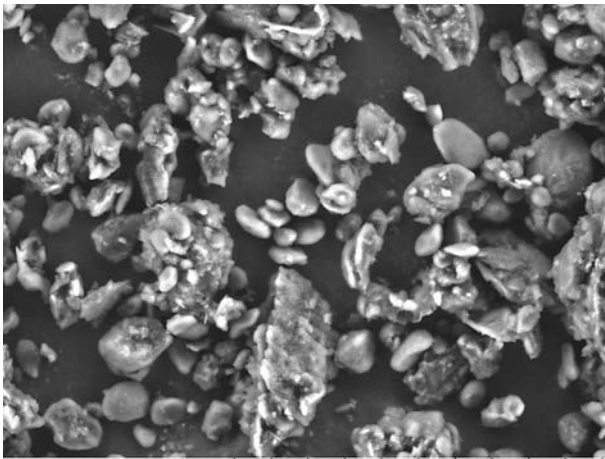


図-2 トリプシン量とタンパク質消化率

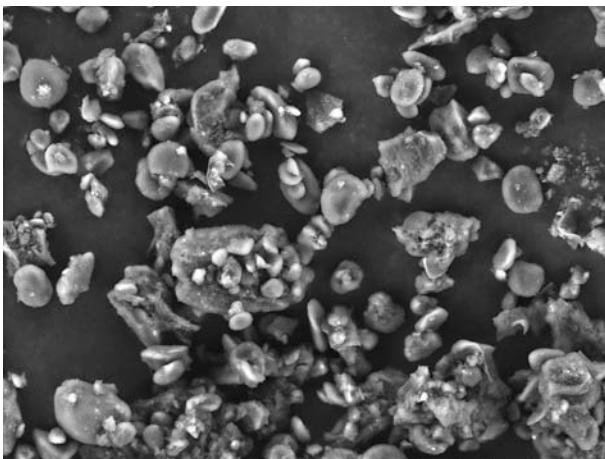
を包み皮膜を作り、消化酵素のトリプシンとの接触が出来ないことが影響していると考えられる。また、焙煎してから粉碎した大豆粉では粉碎後焙煎大豆粉に比べるとプロテインボディにはあまり脂肪体がついていないようにみられた。そのため、トリプシンがプロテインボディと接触し、消化を良くしたものと思われる。走

査顕微鏡写真1、2、3からも粉碎することにより、脂肪体が油滴の状態になっており、粒径の大きさも生大豆では6.3 $\mu$ m、焙煎することにより、焙煎後粉碎大豆粉7.9 $\mu$ m、粉碎後焙煎大豆粉では9.8 $\mu$ mと凝集して大きな塊となっているため、トリプシンと接する面が少ないため消化しにくいものと思われる。



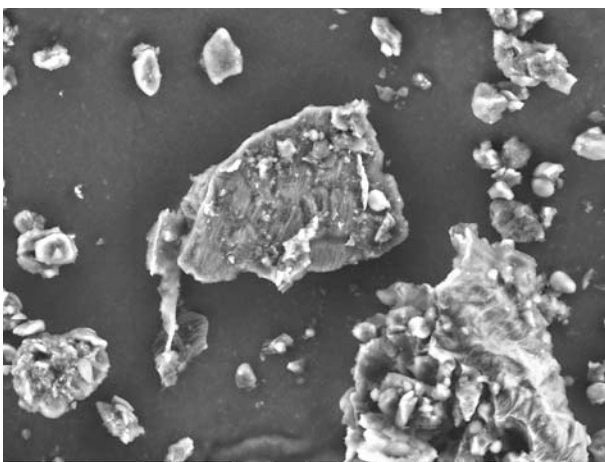
TM-1000 L 100 um

写真1 生大豆粉の走査顕微鏡写真



TM-1000 L 100 um

写真2 粉碎後焙煎大豆粉の走査顕微鏡写真



TM-1000 L 100 um

写真3 焙煎後粉碎大豆粉の走査顕微鏡写真

以上の結果から、焙煎後粉碎した大豆粉のようにTI活性が失活すると大豆タンパク質はトリプシンでよく消化されるようになり、粉碎後焙煎した大豆粉のようにTI活性が多く残存しているとタンパク質消化は生大豆粉と同じで良くないことが判った。

### (3) 乾燥丸大豆の酸・アルカリに対する安定性

酢大豆は昔から家庭で作られており、最近ではダイエットや疲労を回復するだけではなく、身体の働きを活発にし、消化吸収を良くするなどのさまざまな効果があるといわれている<sup>18)</sup>。そこで酸・アルカリに対する安定性をTIとタンパク質消化率について調べた。

酸は日常よく使用している食酢の成分である酢酸を4%にして使用した。アルカリは、豆腐などの製造に用いるにがりを使用した。乾燥大豆を粒形態のまま酢及びにがりに浸漬し1日目、5日目に取り出し粉碎、抽出し、TI活性とタンパク質の消化率を測定した。TI活性の結果は、図-3に示した。水膨潤のTIは42.6単位、酢1日目は49.3単位とあまり差がなかったが、酢5日間浸漬は26.7単位と1日目のTI活性の約半分になっていた。にがりに浸漬した大豆のTI活性は1日目、5日目とも70単位と変わらなかった。

以上のことから大豆のTI活性の酸・アルカリに対する安定性は、酸性条件下において低下することがわかり、にがりのようなアルカリ性条件下では殆ど変わらないことが確認された。

酸・アルカリ性の条件下のタンパク質消化率は、表-3、図-4に示した。水膨潤の消化率は38%であったが、酢1日目は30.8%と殆ど変わらなかった。しかし、浸漬5日目には1.5倍の47.7%まで向上していた。また、にがりの1日目は32.7%、5日目は33.4%とにがり浸漬時間に関係なく33%の消化率で、水膨潤の消化率の85%と低かった。今回使用した酢のpHは2.5、にがりのpH

表-3 液性とたんぱく質消化率 (%)

	酢 1日目	酢 5日目	にがり1日目	にがり5日目
消化区分	13.27±1.21	22.59±0.67	12.65±2.81	14.09±0.42
未消化区分	29.89±2.31	24.74±1.43	25.82±1.08	28.17±0.83
総たんぱく質	43.16±1.11	47.41±2.18	38.46±1.90	42.27±0.72
消化率	30.80±3.63	47.67±2.25	32.7±5.74	33.35±1.14

(n=3)

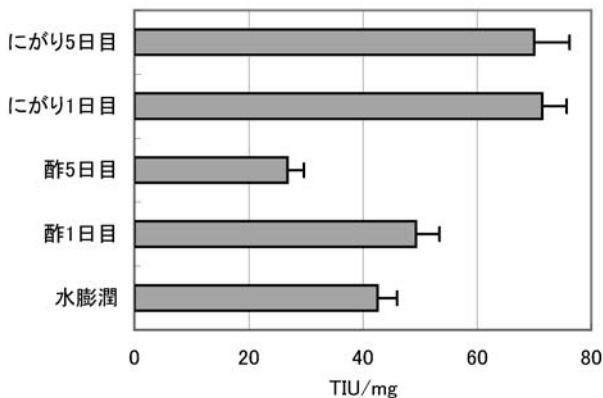


図-3 液性によるTI安定性

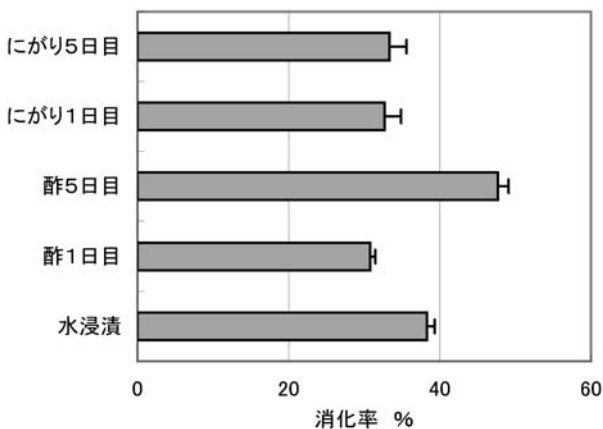


図-4 液性によるタンパク質消化率

は8.5であった。酵素には最適 pHがあり、タンパク質はpHの変化を受けやすいため、酢よりにがりに影響がでたのではないかと推測される<sup>18)</sup>。

平成20年のわが国の平均寿命は、女性が86.05才、男性が79.29才と世界で最も高い水準とな

り、日本人は長寿国とされている。高齢者人口も増えてきているが、健康という高齢者は極めて少ない。高齢者の健康指標は生活機能の自立度で「交通機関による移動」「余暇活動」ならびに「社会交流」など独立した生活を営むために、求められる高次の生活機能の維持が高齢者の栄養管理の目的になる。普遍的かつ連続的に進行する老化を遅延させるものでなければならぬ<sup>19)</sup>。そのためにも加齢とともに消化吸収能力が衰え、低栄養状態になりやすい高齢者にとって、加工方法により、大豆製品が消化しやすく、摂取しやすいタンパク質となり、栄養改善につながると考えられる。

#### IV. 結論

食品タンパク質の栄養効果は消化・吸収が良く、体タンパク質に合成される割合が多いことがよいタンパク質であり、反対に質の悪いタンパク質は消化・吸収が悪く、体タンパク質に組み込まれることが少ない。タンパク質は脂質・糖質に殆ど含まれていない窒素を含んでいることから、タンパク質消化率の測定方法は、大豆粉にトリプシン消化させたあと、消化液にタンパク質沈殿剤を加えて遠心分離し、沈殿区分を未消化タンパク質、上澄区分を消化タンパク質とみなしてケルダール法により消化率を求めた。

今回は、乾燥丸大豆から大豆粉を製造する際

に、焙煎の有無、焙煎の時期など製造過程の異なる大豆粉（生大豆粉、粉碎後焙煎大豆粉、焙煎後粉碎大豆粉）の3種類を調製し、TI活性やたんぱく質消化率を調べ、以下のことが分かった。

1. 焙煎後粉碎大豆粉のTIは生大豆粉の1/20まで失活し、粉碎後焙煎大豆粉は生大豆粉と殆ど同じ値を示した。組織を破壊して焙煎した大豆のTIは失活しないということがわかった。
  2. 焙煎後粉碎大豆粉のタンパク質消化率は高く、粉碎後焙煎大豆粉は生大豆粉と同じく低い消化率であった。
  3. 焙煎後粉碎大豆粉のようにTI活性が失活するとタンパク質はトリプシンでよく消化されるようになり、粉碎後焙煎大豆粉のようにTI活性が多く残存しているとタンパク質消化は生大豆粉と同じく消化率は低いことがわかった。
  4. 酸・アルカリに対する安定性は、TI活性は酸性条件下では低下することがわかり、にがりのようなアルカリ性条件下では殆ど変わらないことが確認された。なお、消化率もTI活性と同じ傾向を示した。
- 2) 山内文男 大久保一良：シリーズ「食品の科学」大豆の科学、（朝倉書店）p.183-185（1992）
  - 3) 農林水産省：世界の大豆需給状況2003年
  - 4) 添田孝彦：日本のもめん豆腐（幸書房）p.3-7（2004）
  - 5) 盛永宏太郎：大豆粉の焙煎によるトリプシンインヒビターの失活並びにたんぱく質の不溶化、日本食品科学工学会誌、46（5）、352-355（1999）
  - 6) 藤巻正生、荒井綜一：大豆のフレーバー、食品工業、10（16）、48-52（1967）
  - 7) 喜多村啓介：大豆の用途拡大のためのリポキシゲナーゼ低下大豆の育種、日食工誌、31、751-758（1984）
  - 8) 守田律子：生大豆粉の焙煎温度と不快味との関係、富山短期大学紀要 39、63-68（2004）
  - 9) 盛永宏太郎：生大豆の不快な後味について、日本食品工業学会第34回大会講演集、81（1987）
  - 10) 林寛、有山恒：大豆蛋白質の消化度に及ぼす加熱の影響、栄養と食糧、10、134-137（1957）
  - 11) 麻生和衛：大豆トリプシンインヒビターについて、食品工業、10（16）、65-73（1967）
  - 12) 加藤保子、中山勉：食品学 I 食品の化学・物理と機能性、（東京化学同人）p.156-158（2003）
  - 13) 本田京子、根元幸夫、伊田喜光：体に効く食品を全網羅 食の医学館、（小学館）p.420-421（2002）
  - 14) Liu,K.and Markakis,P., An improved colorimetric method for determining antitryptic activity in soybean products. Cereal Chem.,66,415-422（1989）

## 謝辞

本実験を実施するにあたり、貴重なご助言を賜りました本学盛永宏太郎名誉教授に深謝いたします。なお、低真空SEMをお借りいたしました富山県食品研究所に御礼申し上げます。

## 文献

- 1) 渡辺篤二 齊尾恭子 橋詰和宗：大豆とその加工 I の1、（建帛社）p.1-5（1992）

- 15) 化学便覧基礎Ⅱ (改定4版) p.338
  - 16) 文部科学省、独立法人、国立印刷局、五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル、p.12 (2005)
  - 17) Kakade,M.L.,Simoms,N.and iener,LE.,An Evaluation of national vs.synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. Cereal Chem. 46,518-526 (1969)
  - 18) 落合敏：酢をおいしくたっぷり食べるレシピ、(成美堂出版) p.10-24 (2007)
  - 19) 熊谷修：自立高齢者の老化そのものに着目した栄養管理、Geriatric Medicine.45,No3, 301-305 (2007)
- (平成21年10月30日受付、平成21年11月9日受理)