

煎り大豆の消化性について（第3報）

——大豆の粉碎・圧扁処理に伴うトリプシン・インヒビターの熱安定化に関する研究——

Digestibility of Parched Soybeans (Part 3)

——Thermal Stabilization of Trypsin Inhibitor by Crushing-Flaking of Soybeans——

盛 永 宏太郎

MORINAGA Koutarou

筆者はトリプシンによる焙煎大豆タンパク質の消化を調べて、大豆を無傷の丸大豆の状態では焙煎したときのタンパク質の消化は良いが、粉碎後に焙煎した大豆のタンパク質は消化が非常に悪いことを見出した^{1, 2)}。そしてこの原因として、無傷の大豆に存在するトリプシン・インヒビター（以後TIと記す）は焙煎により容易に熱失活するのに対して、破碎大豆のTIは加熱安定性を増して焙煎処理では熱失活しなくなることを見出した^{3, 4)}。

この理由は、TIが外敵に対する防御成分であるという説⁵⁾に従えば容易に理解できるように思われた。すなわちTIは大豆組織中では不活性、且つ非耐熱性のチモーゲンとして存在し、大豆が捕食などの組織破壊を受けたときに活性化して、且つ耐熱性を有するようになるように思われた。そこで、大豆組織をどの程度破壊するとTIの耐熱性が増すかなどについて調べて、興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

丸大豆；市販完熟乾燥丸大豆（平成10年度・栃木県産：タチナガハ）を購入し、無傷で健全なものを選別して使用した。

破碎大豆；丸大豆をブレンダーで粒径1mm以下にまで破碎して実験に供した。また、別に破碎して、粒径5mm～2mmのもの、2mm～1mmのもの、1mm～0.6mmのもの、0.6mm以下のものに篩別し、実験に供した。

圧扁大豆；丸大豆の厚みの4分の3に圧扁したもの（縁に亀裂が生じる程度）、4分の2に圧扁したもの、4分の1に圧扁したもの（油分が浸み出る程度）の各圧扁大豆を作成した。

2. 焙煎処理

筆者は先に、150℃で焙煎した大豆のタンパク質の消化は良好であるが、120℃では加熱温

もりなが こうたろう（生活科学科）

度が不足して消化が良くないこと、および180℃では加熱後5分までタンパク質の消化は急激に向上するが、その後は褐変などの影響により時間の経過と共に消化が悪くなることを報告した。^{1, 2)}

そこで、大豆の各試料は150℃に調整した熱風循環式定温乾燥機に入れて20分間加熱した。なお加熱が均一になるように、丸大豆や圧扁大豆は互いに重ならないようにし、また破碎大豆は大豆1粒の厚さより厚くならないようにして、バットに入れて加熱した。加熱後、乳鉢に移して微粉になるまで磨碎して実験に供した。またはさらにエーテルを用いて脱脂した後に実験に供した。

3. TI 活性測定

焙煎破碎脱脂大豆粉末100mgに40℃に加熱したClark-LubsのpH緩衝液(pH7.6:以後CL液と記す)10mlを加えてホモジネート化し、40℃で1時間振とうしてから遠心分離し、この上澄液を試料原液とした。

TI活性値はN- α -benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilideを用いるKakadeらの方法⁶⁾で求めた。

4. トリプシン消化試験

焙煎破碎脱脂大豆粉末を100mg遠沈管に取り、所定量のトリプシンを含むCL液25ml加えて懸濁した。防腐のためにトルエンを1滴加えた後、37℃で20時間放置して大豆中のタンパク質を消化した。消化後、20%トリクロル酢酸5ml加えて遠心分離し、沈殿区分を未消化大豆タンパク質、上澄液区分を既消化大豆タンパク質と見なして、各々の窒素量をケルダール法で求めた。

実験結果及び考察

1. 焙煎破碎大豆のTI活性

破碎の程度を変えた各破碎大豆を焙煎してTI失活の程度を調べ、その結果を表1に示した。

大豆を無傷の丸大豆の状態では焙煎するとTIはよく失活して、TI活性値は生大豆の約20分の1までに低下することはすでに報告した。³⁾

焙煎した破碎大豆のTIは、破碎の程度が増すほど熱安定性を増して失活しなくなった。粒径を2mm以下にまで破碎して焙煎した中粒以下の破碎大豆はTIはほとんど熱失活せず、その値は生大豆のTI活性値の約80%に相当した。

粒径1mm以下に破碎した大豆を顕微鏡で観察すると、細胞顆粒は散乱していて、大豆種子の組織細胞は壊滅的に破壊されていた。

このことから、大豆種子中のTIは大豆が無傷の状態では存在する場合は熱失活しやすいが、組織破壊を受けるとその程度に応じて熱安定性を増すことを認めた。この理由については、次項の2の結果と合わせて次項で考察する。

日本の伝統食品であるキナコや炒り豆は無傷の丸大豆を焙煎したものである。従ってこれらのTIは熱失活するので、そのタンパク質の消化は良い⁷⁾と思われる。しかし、あらかじめ破碎した大豆は、本報の結果から見て、焙煎してもTIは熱失活せず、消化が非常に悪い⁸⁾ことが予測される。従って脱脂大豆などを利用する

表1 焙煎破碎大豆のTI活性値

試料		TI (単位/g)
焙 煎	丸大豆	$(4.6 \pm 0.7) \times 10^3$
	粗粒 (5~2mm)	$(3.9 \pm 0.3) \times 10^4$
	中粒 (2~1mm)	$(6.2 \pm 0.8) \times 10^4$
	細粒 (1~0.6mm)	$(6.1 \pm 0.7) \times 10^4$
	微粉 (<0.6mm)	$(6.7 \pm 1.2) \times 10^4$
対照 (生大豆)		$(7.5 \pm 0.8) \times 10^4$

ときは、TIを熱失活するために加水後に加熱する⁹⁾などの特別の処置を行う必要があると思われた。

2. 焙煎圧扁大豆のTI活性

組織破壊とTIの加熱安定性の関係を調べる目的で、圧扁の程度を変えた各圧扁大豆を焙煎して、TI活性値を測定し、その結果を表2に示した。

大豆組織を丸大豆の厚みの3/4~1/4に押し潰した後に焙煎加熱すると、TIはその圧扁の程度に応じて熱安定性を増し、TIは熱失活しなくなった。

この結果は前項の焙煎破碎大豆と同じく、大豆種子の組織破壊と共にTIが熱安定化することを示している。

Carmerらは¹⁰⁾ TI分子内に存在するSS結合のブリッジを還元した後、再び元にもどすと、このTIは活性を取り戻すと報告し、またDiBellaらは¹¹⁾ TI分子内に存在する2個のSS結合の内の1つのはTIの活性維持に不可欠であると報告している。

これらの文献から本報の結果を考察すれば、健全無傷の大豆TIはその分子中のSH基が還元型で存在する。SH基が還元型であるためにTIは不活性でありチモーゲンとして存在する。大豆が組織破壊を受けると、その程度に応じてTIはSS結合のブリッジを形成して活性化し、また安定化してTIは耐熱性を増す。本報の結果はこのようなTIの変化を示唆するものよう

表2 焙煎圧扁大豆のTI活性値

試料 (厚み)	TI (単位/g)
丸大豆 (4/4)	2.7×10^3
圧扁大豆 (3/4)	1.0×10^4
圧扁大豆 (2/4)	2.3×10^4
圧扁大豆 (1/4)	3.4×10^4
対照 (生大豆)	7.5×10^4

に思われた。

3. 焙煎大豆タンパク質のトリプシン消化

焙煎破碎大豆に含まれるタンパク質のトリプシン消化率を調べ、その結果を図1に示した。

トリプシンで大豆のタンパク質を消化する場合、添加するトリプシン量が、本報の1の結果から算出した、焙煎大豆の残存TI単位量以下であっても、トリプシンの添加量に応じて大豆タンパク質は消化されて消化率は徐々に向上した。そしてトリプシン添加量が丁度残存TI単位量に等しくなったとき、大豆タンパク質の消化率は約50%になった。

その後も添加したトリプシン量が残存TI単位量の約2倍に達するまでは、トリプシン添加量に応じて大豆タンパク質の消化率は向上した。その後も過剰に添加すると消化率はわずかずつ良くなった。

丸大豆を焙煎するとTIの大部分が失活してその活性値が極端に小さくなることは前項の1で示した。そのためにトリプシンを少量添加す

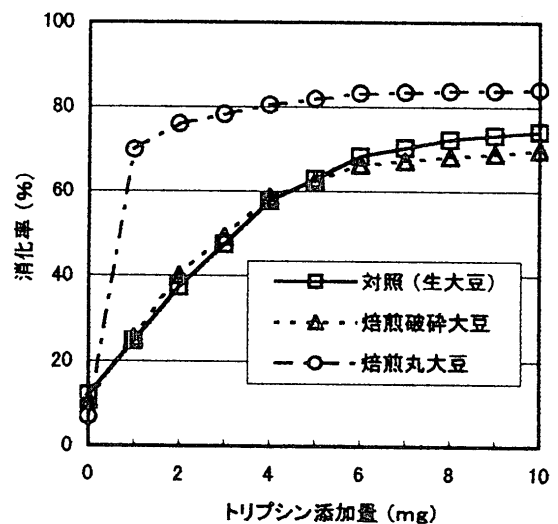


図1 トリプシン添加量と焙煎大豆中タンパク質の消化率

脱脂大豆試料100mgを20mlの緩衝液に懸濁し所定のトリプシンを添加して37°C20時間消化

るだけでそのタンパク質は良く消化されるようになった。しかし、トリプシン濃度が希薄なために、トリプシンを残存するTI単位量添加しても消化率は50%程度であった。TIの2倍の単位量を添加してようやく消化率は約80%になった。

生大豆のタンパク質と焙煎破碎大豆のタンパク質はTI活性値が高いことは前項の1に示した。それでその大豆のタンパク質を良く消化するには残存するTIの単位量以上のトリプシンを必要とした。また、トリプシンをその2倍量以上に過剰に添加しても、焙煎丸大豆ほどには消化率が向上せず、生大豆と焙煎破碎大豆の消化率は共に約70%程度であった。

一般には、水中で加熱した場合のように大豆をより細かく破碎して加熱した方がTIが良く失活して、その大豆のタンパク質の消化は良くなる^{1,2)}ように思われた。しかし、焙煎処理では破碎大豆の方が消化が悪く、これを消化させるには生大豆の消化に必要なトリプシン量に匹敵する多量のトリプシンを必要とした。

これは前項の1, 2の結果が示すように、大豆の組織破壊とTIの熱安定化が関係して、この大豆に含まれるタンパク質の消化にも重大な影響を及ぼしたものと思われた。

すなわち、乾燥大豆は発芽可能な環境条件になるまでは休眠状態にあるので、この結果も前項の2に記したようにチモーゲンとして休眠状態で存在することを示唆するものではないかと思われた。このように考えれば乾燥大豆は無傷なものはタンパク質の消化が良く、破碎が進むほど消化が悪くなるという現象が容易に理解できるように思われた。

4. 焙煎したとき大豆TIの経時変化

丸大豆及び破碎大豆を120℃, 150℃, 180℃

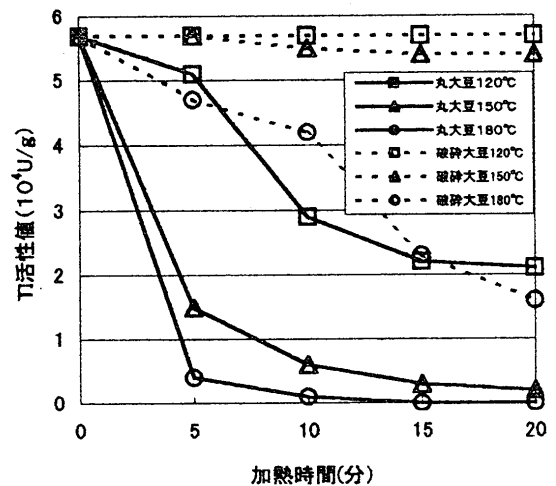


図2 焙煎時大豆TI活性の経時変化

で焙煎してTI活性値の経時変化を調べその結果を図2に示した。

120℃の加熱では、比較的容易に熱失活する無傷の丸大豆でもTIは充分には失活せず、20分間加熱でTI活性はわずかに1/3程度の減少であった。破碎大豆はこの温度ではまったく失活しなかった。

150℃に加熱すると、丸大豆は加熱5分間でTI活性が1/5にまで急激に減少した。その後も活性値は減少して加熱20分後のTI活性値は生大豆の1/20になった。破碎大豆のこの温度でのTI失活は前項の1でも示した通り、わずかであった。

180℃にまで加熱温度を上げると、丸大豆のTIは15分でほぼ完全に活性を失った。しかしこの温度の加熱では、加熱5分で大豆はすでに褐変していて、以後も時間と共に褐変がより進行して焦げた状態になった。そしてこの大豆のタンパク質のトリプシン消化は、基質タンパク質の過度の加熱による変性のために、加熱時間が長いほど悪くなることはすでに報告した。^{1,2)}

180℃加熱の破碎大豆は、20分加熱後にTI活性値は約1/3にまで減少した。しかしこの破碎大豆は過度の加熱で焦げた状態になりタンパク

質も不消化性になる。それ故にTIが失活しても180℃焙煎破碎大豆のタンパク質のトリプシン消化は良くない^{1, 2)}。

5. 加水加熱したときの大豆TIの経時変化

大豆を水中で加熱すればTIは容易に失活することは知られている⁹⁾。しかし加水加熱したときに丸大豆と破碎大豆の間で、TIの熱失活率が異なるという文献は見当たらない。そこで加水加熱した場合でも本報の焙煎加熱の結果と同じように丸大豆と破碎大豆の間でTIの熱失活に差異が生じるか否かを調べて、その結果を図3に示した。試料大豆はあらかじめ20時間吸水させてから用いた。

丸大豆と破碎大豆を沸騰水中で加熱すると、加熱初期の2～3分は、丸大豆よりも熱伝導のよい破碎大豆の方が急激にTIが熱失活した。Rackis^{1, 2)}はこの点を詳細に調べて報告している。そして加熱5分後には、両者のTI活性値は共に未加熱時の約1/10になった。

しかし、図3はその後も加熱を続けるとこのTI熱失活の関係が逆転することを示した。例えば、丸大豆のTI活性値は100℃加熱の10分後に、未加熱時の100分の1以下（大豆1g当たり数100ユニット）にまで容易に減少したのに対して、破碎大豆のTIは容易には減少せず、100℃20分加熱後でも、なお大豆1グラム当たり1000ユニット以上の活性を持続した。丸大豆は100℃20分加熱でTIは完全に活性を失った。

これは焙煎に限らず、蒸煮のような湿式加熱加熱に於いても大豆TIは破碎処理の影響を受けて熱安定性を増すことを表している。

日本料理に用いられる煮豆は、消化性と食味を良くするために、加圧加熱するなどして十分に煮熟し、大豆組織を柔らかくしている。しかし単に大豆のタンパク質の消化を良くするので

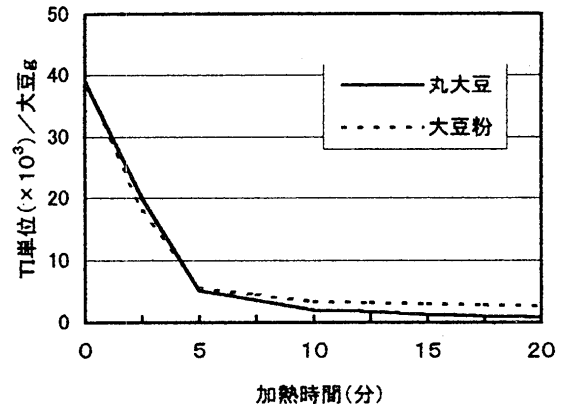


図3 煮沸時間とTIの失活

あれば、本報の結果から見て、常圧10～20分間の煮沸加熱で充分である。また、大豆をすりつぶした後に加熱して製造する豆乳は、TIが乾物1g当たり数1000単位残存し、完全にTIを失活させるのは困難であると思われた。

要約

(1) 乾燥丸大豆を破碎後に焙煎して、TI活性の変化を調べたところ、無傷の大豆のTI活性値は熱失活して20分の1程度に低下したが、破碎して微細になった大豆ほどTIは熱安定性を増して熱失活しなくなった。粒径1mm以下に破碎した大豆のTI活性値は未加熱大豆のTI活性値に近い高い値を示した。

また、乾燥大豆を圧扁してから焙煎してそのTI活性の変化を調べたところ、破碎の場合と同様に、薄く圧扁した大豆のTIほど熱失活せずTI活性は高い値になった。

これは破碎または圧扁処理により、大豆細胞が破壊されたためにTIが熱安定性を増したものと思われた。

(2) 生大豆および焙煎丸大豆、焙煎破碎大豆のタンパク質をトリプシンで消化したところ、共にトリプシン量が残存するTI単位量以下の

少量であっても、そのトリプシン添加量に応じて消化率は向上し、TI単位量に達したときには消化率は約50%になった。その後もトリプシンの添加量に比例して消化率が向上した。添加トリプシン量がTI単位量の約2倍以上になったときに消化率は最大になった。

また、焙煎丸大豆のタンパク質はTI活性値が低いので少量のトリプシン量で良く消化するのに対して、生大豆と焙煎破碎大豆はTI活性値が高いために消化が悪く、多量のトリプシンを加えないと消化率は良くならなかった。

(3) 焙煎大豆のTI失活に及ぼす焙煎温度と時間の影響を調べたところ、120℃加熱では温度が低く、無傷の丸大豆でもTI失活は不充分であった。破碎大豆TIはまったく失活しなかった。150℃加熱の丸大豆は加熱10分後にTI活性値は1/10に減少し、20分後には1/20になった。150℃加熱の破碎大豆のTIは20分後でもわずかに10%減少だけだった。180℃加熱の丸大豆は加熱5分でTI活性値が1/10に減少した。しかしこのとき大豆は褐変が進んでいた。破碎大豆のTIは180℃加熱でもなお幾分活性を持続し20分後の値は生の約1/5を示した。

(4) 破碎大豆を加水加熱した後にTI活性の変化を調べたところ、沸騰水加熱約5分間で破碎大豆と無傷の吸水丸大豆は共にTI活性値は生の約1/10に激減した。丸大豆のTIはその後も減少して20分後にほぼ完全に活性を失った。破碎大豆は加熱5分以後のTI活性の減少は緩慢で、加熱20分後であってもなお大豆1グラム当たり1000ユニット以上の活性を持続した。この結果より湿式加熱においても破碎処理の影響を受けてTIは加熱安定性を増すことを認めた。

(5) 以上の(1)～(4)の結果は健全な大豆種子中のTIは熱に不安定なチモーゲン態で存在して、そして大豆の組織が破壊されるとTIは活性化して耐熱性を有するようになると思われた。このTIの変化の過程はCarmerら⁴⁾が解明した、SH基が相互に結合してSS結合のブリッジを形成するとTIは活性化するという報告が示唆しているように思われた。

参考文献

- 1) 盛永宏太郎：食科工，44，219 (1997)
- 2) 盛永宏太郎：本学紀要，28，136 (1993)
- 3) 盛永宏太郎：食科工，46，352 (1999)
- 4) 盛永宏太郎：本学紀要，35，21 (2000)
- 5) 渡辺篤二，柴崎一雄：大豆タンパク質 p138 建帛社 (1974)
- 6) KAKADE, M.L., SIMONS, N. and LIENER, I.E.: Cereal Chem., 46, 518, (1969)
- 7) 渡辺篤二，海老根英雄，太田輝夫：大豆食品，光琳書院，東京，p204 (1971)
- 8) 林寛，有山恒：栄養と食糧，10，134, (1957)
- 9) ALBRECHT, W.J., MUSTAKAS, G.C., and McGHEE, J.E.: Cereal Chem., 43, 400, (1966)
- 10) CARMER, N., and BOHAK, Z.: Israel J. Chem., 6, 1, (1968)
- 11) DIBELLA, F.L., and LIENER, I.E.: J. Biol. Chem., 244, 2824, (1969)
- 12) RACKIS, J.J.: Food Technol., 20, 1482, (1966)
- 13) 棚橋勝道，高野克己，松本信二，鴨居郁三，小原哲二郎：日食工誌，35，541，(1988)