トウモロコシの浸漬に関する研究 (第1報)

浸漬前後のトウモロコシ蛋白質の変化について

三 輪 泰 造*

(昭和54年5月1日受理)

Studies on Corn Steeping (Part 1)

Differences in Dry and Steeped Corn Proteins

Taizo MIWA

*Nihon Shokuhin Kako Co., Ltd.**(30 Tajima, Fuji, Shizuoka 417, Japan)*

SO₂ steeping is the main process which distinguishes the corn starch industry from the manufacturing of other starches. The effects of SO₂ as the steeping reagent have been reported by many chemists and researchers.

However, no clear evidence has ever been presented to indicate what kinds of protein in the corn undergoes what changes and how it is solubilized and separated from the corn kernels.

The present study was conducted to determine the degradation and behaviour of each corn protein as a result of steeping. The corn proteins were successively extracted from dry corn and from steeped corn with distilled water, a 0.5 M NaCl solution, 70% ethanol and a 0.1 N NaOH solution.

Each fraction was analyzed for its nitrogen content and examined by gel filtration and trichloroacetic acid treatment.

About 20% of the nitrogen in dry corn is usually extracted by the commercial steeping process. Comparing the various extracted fractions of dry corn and steeped corn, the water-soluble and the saline-soluble % nitrogen for both corns do not show much difference. The % nitrogen soluble in 70% ethanol increases greatly as a result of steeping. But the % nitrogen soluble in 0.1 N NaOH decreases greatly as a result of steeping because the 0.1 N NaOH-soluble nitrogen (protein) is gradually degraded to water-soluble, saline-soluble and 70% ethanol-soluble protein and peptides.

The water extract contains 40% or more of the proteins and 50% of the peptides of dry corn, but when using steeped corn, it contains 80~90% of the peptides and a few proteins.

はじめに

コーンスターチの製造が他の穀物澱粉と異なる点は、亜硫酸による浸漬工程にある。トウモロコシを亜硫酸浸漬する目的は、トウモロコシを軟かくすること、澱粉と蛋白の分離を良好ならしめること、雑菌の汚染を防ぐこ

となどである。その工程の良否は、浸漬に続く磨砕・篩別・遠心分離・乾燥の各工程に至るすべての工程に影響を及ぼし、製品の歩留りや品質にも主要な関係をもっている。

亜硫酸の浸漬剤としての効果は、角質胚乳部の不溶性蛋白を小球状に分散させて、澱粉と蛋白との分離を容易にすること^{1,2)}、ツェインの平均分子量を減少させること^{3,4)}などが報告されている。他方、乳酸に関しては胚

* 日本食品化工株式会社研究所 (417 富士市田島30)

乳部の細胞膜を軟かくすること、浸漬中の雑菌汚染を防止すること以外には、澱粉分離に関する明らかな証拠は未だ見だされていない⁵⁾。

これから考えると、浸漬によりトウモロコシの蛋白は解離して低分子化し、その結果、澱粉が分離されやすくなるのであろうが、浸漬工程では、化学的・微生物学的な変化があるにもかかわらず、トウモロコシに含有されている蛋白が浸漬の過程で、どのように変化して可溶化除去されるのかという点については十分な解明がなされていない。それ故に、トウモロコシ胚乳部の澱粉を分離するには蛋白の可溶化除去が必要であるとの観点から、浸漬前後のトウモロコシ蛋白を比較して、浸漬中に蛋白がいかなる変化を受けているかを検討した。

実験方法

1. 試料

ドライコーン（浸漬前のトウモロコシ）は南アフリカ産黄色デントおよびアメリカ産黄色デント No. 2 を用いた。その一般分析値を Table 1 に示す。

ウェットコーン（浸漬終了のトウモロコシ）は上記ドライコーンをそれぞれ標準的な浸漬条件により、実際の工程で浸漬したものをを用いた。ウェットコーンの水分は、南アフリカ産が43.8%、アメリカ産は44.2%であった。

2. 前処理

ドライコーンはウィレー式粉碎機で粉碎した後、5倍量のヘキサンを加え、1時間ゆるく攪拌して遠心機にかけ、その沈降部を再度5倍量のヘキサン処理を繰り返し脱脂した。

ウェットコーンはヘキサン5倍量を加えてホモゲナイザーで粉碎し、そのまま1時間ゆるく攪拌して、以下ドライコーン同様に処理した。

3. 蛋白質の抽出

水抽出 脱脂処理した試料に、5倍量の蒸留水を加えて、マグネチックスターラーで1時間ゆるく攪拌抽出後、12,000 rpm で15分間遠心分離して上澄を分離した後、残渣を再度5倍量の蒸留水で同様に抽出処理を繰り

返し、その上澄を合して所定量に定容した。

0.5 M NaCl 抽出 水抽出の残渣を用い、0.5 M NaCl を5倍量加え、水抽出の場合と同様に2回抽出処理した。

70%エタノール抽出 0.5 M NaCl 抽出の残渣を用い、70%エタノールを5倍量加え、同様に2回抽出処理した。

0.1 N NaOH 抽出 70%エタノール抽出の残渣を用い、0.1 N NaOH を5倍量加え、同様に2回抽出処理した。

4. 分析法

マイクロケルダール窒素の測定 径 15 mm×150 mm の硬質試験管の座部をナス型にふくらませた小型分解ビンを用い、分解剤として2 N H₂SO₄ 100 ml 中に K₂SO₄ 1 g, CuSO₄·5H₂O 0.025 g, SeO₂ 0.011 g を溶解した試薬を用い、インドフェノール法で発色させて、625 nm の吸光度を測定した⁶⁾。

ゲル透過 Sephadex G-100, G-75 および G-200 カラムにより、溶出溶剤には 0.1% NH₄OH (pH 10.8) または 0.05 N NaOH (pH 10.9) を用いて室温で処理した^{7,8)}。ピークは280 nm の吸収を測定した。

TCA 処理 トリクロル酢酸（試薬特級）の10% 溶液をつくり、抽出蛋白推定量の約30倍になるよう大過剰に加え、室温で1時間静置の後、12,000 rpm で15分間遠心分離して上澄と沈澱とを分け、マイクロケルダール法で窒素を測定した。

実験結果および考察

1. 試料および各抽出画分の蛋白

ドライコーン2種類およびこれを浸漬したウェットコーン2種類について、それぞれ無水物換算で約10 g を秤取りし、各溶剤で順次抽出を行い、抽出液はそれぞれ100 ml に定容してマイクロケルダール法で窒素を定量した。

試料コーンの蛋白質は通常のケルダール法で窒素を定量し、各溶剤による抽出画分の窒素をこれに対する%で Table 2 に示した。

Table 1. Chemical composition of dry corns.

Corn	Moisture (%)	Protein (%)	Oil (%)	Starch (%)
South Africa Yellow Dent	10.96	8.23(9.19)	3.72(4.18)	66.09(74.23)
U. S. A. Yellow Dent No. 2	14.31	8.57(10.00)	4.29(5.01)	62.55(73.00)

(): Moisture free basis.

Table 2. Protein contents in corn sample and percent of the protein extracted with various solvents.

Corn	Protein content ^{a)}	Protein extracted					
		H ₂ O	0.5 M NaCl	70% EtOH	0.1 N NaOH	Total	Residue
South Africa	Dry Corn	8.94%	6.9%	11.5%	17.4%	34.8%	70.6%
	Wet Corn	6.96	26.3		33.5	21.8	81.6
U. S. A.	Dry Corn	9.82	15.0	8.0	17.0	33.9	73.9
	Wet Corn	7.80	15.2	6.4	31.6	22.7	75.9
Analysis by Dry Corn J. A. Boundy ⁹⁾		—	10.9	6.6	22.6	26.6	66.7
							33.3

^{a)} Moisture free basis.

浸漬前後におけるトウモロコシ中の蛋白%は、南アフリカ産が8.94%から6.96%へ、アメリカ産が9.82%から7.80%へ、約2%の減少が認められた。これを蛋白のみについて考えると、南アフリカ産は22.1%、アメリカ産では20.6%が浸漬により除去されることがわかる（実際の除去される%は浸漬前後の全溶出量を考慮して補正しなければならない）。

トウモロコシ蛋白質を水溶性画分（アルブミン）、塩可溶性画分（グロブリン）、アルコール可溶画分（ツェイン）およびアルカリ可溶画分（グルテリン）に順次抽出した結果、ドライコーンの合計%は Boundyら⁹⁾ の66.7%より多い70.6%、73.9%を得た。また、ドライコーンおよびウェットコーンの合計%の差は、南アフリカ産とアメリカ産とで違いがあるけれども、これは主として水溶性および塩可溶性蛋白画分の差によるもので、トウモロコシ胚乳部組織や収穫後の乾燥方式の違いに基づくものであろう¹⁰⁾。この両画分の合計%は、南アフリカ産のトウモロコシでは浸漬前18.4%から浸漬後26.3%に増加した。またアメリカ産では23.0%から21.6%にやや減少したが、それでも20%以上がウェットコーン中に存在した。

トウモロコシから浸漬中に溶出するものは、水溶性・塩溶性蛋白画分と考えられ、その溶出量は前述のとおり約20%またはそれ以上であるが、その蛋白が浸漬液中に溶出除去された後のウェットコーン中には、なお20%以上の同画分が認められる。

70%エタノール可溶蛋白画分は、ドライコーンが17.4%、17.0%であったが、浸漬後のウェットコーンでは33.5%、31.6%にそれぞれ増加した。

0.1 N 苛性ソーダ可溶蛋白画分は、ドライコーンが34.8%、33.9%であったが、浸漬後のウェットコーンでは21.8%、22.7%にそれぞれ減少した。

残りの未溶解蛋白についても、浸漬前後の比較ではアフリカ産が29.4%から18.4%に減少し、アメリカ産は26.1%から24.1%に減少の傾向を示した。

浸漬前後における上記各蛋白画分の変化は、アルカリ可溶蛋白画分と残りの未溶解蛋白が浸漬により減少し、アルコール可溶蛋白画分が増加する。また水溶性・塩可溶性蛋白画分も、浸漬液中に溶出する約20%以上のものを加えると、浸漬により著しく増加することが認められた。

2. 各抽出画分のゲル濾過

浸漬前後のトウモロコシ蛋白画分の量的変化をゲル濾過により検討した。その結果は Fig. 1~5 に示すごとくである。G-100, G-75, G-200 の void volume は blue dextran で測定したところ、それぞれ 30 ml, 105 ml, 105 ml, bed volume はそれぞれ 90 ml, 310 ml, 310 ml

Fig. 1. Elution diagram of H₂O-extracted protein fraction on Sephadex G-100 column.

●—● dry corn

Fig. 2. Elution diagram of H₂O-extracted protein fraction on Sephadex G-200 column.

●—● wet corn

Fig. 3. Elution diagrams of 0.5 M NaCl extracted protein fraction on Sephadex G-100 column.

(a) ●—● dry corn; (b) ○---○ wet corn

であった。

Fig. 1 から Fig. 5 の各抽出画分のピークは、いずれも主なものが void volume 付近と bed volume 付近の二つに限られていた。ただ Fig. 4 の 70% エタノール抽出区分のみに、溶出液量 75 ml 付近に第 3 のピークが、ドライコーン、ウェットコーンのいずれにも現われていたが、非常に小さいピークであった。void volume のピークは分子量 150,000 以上の蛋白、bed volume のピ

Fig. 4. Elution diagrams of 70% ethanol extracted protein fraction on Sephadex G-100 column.

(a) ●—● dry corn; (b) ○---○ wet corn

Fig. 5. Elution diagrams of 0.1 N NaOH extracted protein fraction on Sephadex G-75 column.

(a) ●—● dry corn; (b) ○---○ wet corn

ークは分子量数千程度のペプチドであろうと考えられる。

Fig. 1 はトウモロコシ中に存在する水溶性蛋白（アルブミン）とペプチドが、そのまま抽出されたものである。試量は蛋白として 1.8 mg を用いた。

Fig. 2 はウェットコーンの水溶性蛋白画分 1.6 mg の結果であるが、Fig. 1 と比較すると、高分子区分が非常に少なく、反対に低分子区分が著しく多くなって、ここに浸漬の影響が現われている。

Fig. 3 は 0.5 M 食塩水可溶蛋白画分（グロブリン画分）である。ドライコーンの画分は蛋白 3.2 mg、ウェットコーンは 4 mg を用いた。その結果、ウェットコー

ンでは Fig. 2 と同様にそのほとんどがペプチドであった。これはトウモロコシを SO_2 浸漬すると、凝集していた高分子区分が崩壊しやすくなる結果であると考えられる。

Fig. 4 は 70% エタノール可溶蛋白画分 (ツェイン画分) である。試量は蛋白としてドライコーン 10.5 mg, ウェットコーン 11 mg を用いたが、両者のピークの形はほぼ同様であり、そのいずれも低分子区分は高分子区分のピークに比較して著しく少なかった。

Fig. 5 は 0.1 N アルカリ可溶蛋白画分 (グルテリン画分) で、試量は蛋白としてドライコーンが 3.4 mg, ウェットコーン 5.1 mg を用いた。この画分も浸漬前後によるピークの形はほぼ同様であった。

Fig. 1~5 の結果では水溶性・塩可溶性画分に浸漬の影響が認められたが、アルコール可溶画分およびアルカリ可溶画分のピークの形からはその影響が認められなかった。

3. SDS 処理の影響

Fig. 1~5 のゲル透過では、いずれも void volume および bed volume の二つの位置にピークがあるだけで、その他に特徴あるピークはとくに認められなかった。それ故ドデシル硫酸ソーダ (SDS) 処理をして蛋白分子を解離させ^{10,11)}、中間のピークが現われるかどうかを検討した。その結果を Fig. 6 および Fig. 7 に示した。

Fig. 6 は水溶性画分の蛋白量に対し SDS を 1% になるように加え、1 時間室温で攪拌の後、G-100 のカラムを用いてゲル透過を行った結果である。試量は蛋白としてドライコーン 3.6 mg, ウェットコーン 2.4 mg であった。

Fig. 6 においてもピークは、Fig. 1 および Fig. 2 と同様に、高分子区分と低分子区分の二つのピークしか現われなかった。ドライコーンの場合にはその高分子区分 (アルブミン) は減少し、低分子区分 (ペプチド) が増加して、その中間には第 3 のピークは認められなかった。ウェットコーンの場合には Fig. 2 とまったく同じピークの形を示した。

次にアルカリ可溶画分を抽出する時に、SDS を用いてそのフラクションを検討した。抽出方法は前述と同じく蒸留水・食塩・エタノール可溶の各画分を抽出した後、0.1 N 苛性ソーダを用い、これに蛋白推定量の 1% になるよう SDS を加え、この画分を G-200 カラムでゲル透過した。その結果は Fig. 7 に示すように、この場合も高分子区分 (グルテリン) および低分子区分 (ペプチド) の二つのピークが得られたのみであった。そして、

Fig. 6. Elution diagrams of H_2O -extracted protein fraction with SDS treatment on Sephadex G-100 column.

(a) ●—● dry corn; (b) ○---○ wet corn

Fig. 7. Elution diagrams of 0.1 N NaOH extracted protein fraction with SDS treatment on Sephadex G-200 column.

(a) ●—● dry corn; (b) ○---○ wet corn

SDS の作用により、ドライコーン、ウェットコーンのいずれも低分子区分が著しく多かった。

4. 水溶性蛋白質の抽出とトリクロル酢酸処理

ドライコーンおよびそのウェットコーンについて、それぞれ無水物換算で約 10 g を秤取し、蒸留水で抽出して 100 ml に定容し、TCA 処理を行い、マイクロケルダール

Table 3. Nitrogen of the fractions extracted with H₂O and their sub-fractions treated with TCA.

Corn	Fractions extracted with H ₂ O (mg)	TCA soluble N	TCA precip. N	Total N (%)
		N extracted with H ₂ O (%)	N extracted with H ₂ O (%)	
Exp. 1 Dry Corn	18.7	53.5	42.8	96.3
Wet Corn	23.0	92.2	1.7	93.9
Exp. 2 ^{a)} Dry Corn	11.9	53.8	37.0	90.8
Wet Corn	16.3	81.0	0.6	81.6

^{a)} Corn samples of Exp. 2 were not treated with hexane before H₂O-extraction.

Fig. 8. Elution diagrams of TCA soluble part in H₂O extracted protein fraction on Sephadex G-200 column.

(a) ●—● dry corn; (b) ○---○ wet corn

法で窒素を測定した。その結果は Table 3 のごとくである。

実験(1)は蒸留水抽出処理前にヘキサンで脱脂処理をしたもの、実験(2)は同じ試料であるが脱脂処理をせず、直接に蒸留水抽出を行ったものである。ヘキサンの脱脂処理をした実験(1)は脱脂処理をしない実験(2)より、水溶性画分窒素は多く、抽出されやすくなる傾向であった。

ドライコーンとウェットコーンとの比較では、水溶性窒素量はウェットコーンの方が多かったが、TCA 処理による可溶部と沈澱部の窒素率は非常に異なっていた。浸漬前のドライコーンでは水溶性窒素の53%強が TCA 可溶成分(ペプチド)であるのに対し、浸漬後のウェッ

トコーンでは、92%強がペプチドであり、TCA 沈澱成分(蛋白)の窒素は1.7%まで減少した。すなわち、浸漬前に40%以上を占めていた高分子区分(蛋白)は、浸漬後には1~2%程度にまで低下することが認められた。

この変化は Fig. 1, Fig. 2 から考えられることであるが、実験(1)の TCA 可溶部をゲル濾過した結果は Fig. 8 のとおりで、そのピークは bed volume 付近にのみ認められた。ゲル濾過の低分子区分は、TCA 可溶成分と一致した。

要 約

コーンスターチ製造の浸漬工程において、蛋白質の変化とその可溶化の過程を検討して次の諸点を明らかにした。

1) トウモロコシの蛋白は通常9~10%の含有量であるが、亜硫酸浸漬によりその約20%強が溶出される。浸漬後のトウモロコシ中に残る蛋白を浸漬前と比較すると、水溶性画分および塩可溶性画分にはとくに大きい変化はなかった。しかしアルコール可溶性画分は著しく増加し、反対にアルカリ可溶画分と残りの未溶解蛋白は著しく減少した。

2) 水溶性画分および塩可溶性画分を浸漬前後について比較すると、その高分子区分(蛋白)が非常に減少し、低分子区分(ペプチド)が著しく増加した。浸漬前のトウモロコシの水溶性蛋白画分では約43%が蛋白、約54%がペプチドであるが、浸漬後では蛋白が約1.7%に減少し、ペプチドは約92%に増加した。

3) いずれの蛋白画分でも、ゲル濾過によるピークは高分子区分と低分子区分の二つが主要な成分であり、その中間のピークは認められなかった。この結果は SDS でサブユニットに解離しても同様であった。

終りに、熱心にご指導いただいた東大名誉教授中村道徳先生に厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) S. A. WATSON and E. H. SANDERS: *Cereal Chem.*, **38**, 22(1961).
- 2) M. J. COX, M. M. MACMASTERS and G. E. HILBERT: *Cereal Chem.*, **21**, 447(1944).
- 3) J. A. BOUNDY, J. E. TURNER, J. S. WALL and R. J. DIMLER: *Cereal Chem.*, **44**, 281(1967).
- 4) J. E. TURNER, J. A. BOUNDY and R. J. DIMLER: *Cereal Chem.*, **42**, 452(1965).
- 5) R. L. WHISTLER: in "Starch," Academic Press, p. 32(1967).
- 6) 勝又一郎: 千葉医学会誌, **29**, 207(1953).
- 7) P. ANDREWS: *Biochem. J.*, **91**, 222(1964).
- 8) P. ANDREWS: *Biochem. J.*, **96**, 595(1965).
- 9) J. A. BOUNDY, J. H. WOYCHIK, R. J. DIMLER and J. S. WALL: *Cereal Chem.*, **44**, 160(1967).
- 10) J. S. WALL, C. JAMES and G. L. DONALDSON: *Cereal Chem.*, **52**, 779(1975).
- 11) P. S. MISRA, E. T. MERTZ and D. V. GLOVER: *Cereal Chem.*, **53**, 705(1976).