総 説

大豆タンパク質の研究動向

本 木 正 雄

味の素(株) 食品総合研究所
(〒210 川崎市川崎区鈴木町 1-1)

Recent Research Trends in Soybean Protein

Masao MOTOKI

Food Research & Development Laboratories, Ajinomoto Co., Inc.
(1-1 Suzukicho, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi, 〒210)

はじめに

油糧種子は大豆、ヒマワリ、落花生、菜種、綿実などであるが、油抽出後の副産物を原料として食品タンパク素材が工業的に生産されているのはほとんど大豆である。

大豆は伝統的には丸大豆を出発原料とする各種加工法で、煮豆、黄粉、納豆、みそ(味噌)、しょう(醬)油、豆乳、豆腐、油揚げ、凍豆腐、湯葉など日本の食文化を代表する食品群となっている。主に戦後であるが、大豆が食用油原料、また一時、グルタミン酸ナトリウムの原料となったことから、副産物の脱脂大豆、特にその主成分のタンパク質の理化学的研究が進み、その有用性、経済性が認識され、各種大豆タンパク製品が開発されてきた。しかしながら脱脂大豆の高付加価値化に向けて各界で膨大な研究開発投資がなされている割には、その成果は充分とはいえない。確かに大豆タンパクは“畑の肉”といわれるほど高栄養で、コレステロールの心配のない良質のものではあるものの、それを食品として再構成した場合、肉様加工品などの新食品は、飽食化傾向、美食志向の背景及び食の保守志向の壁などがあり、結局大豆伝統食品の工程改良、ないしは畜肉加工品の増量剤など目立たない業務用商品での利用領域を余り越えていない現状である。しかし各界での研究投資は継続しており、一般消費者には気付かれないまでも各方向に幅広く利用されてきている。そこで本稿では、大豆タンパクの最近のバイオ技術を含めた研究状況と展望について論じてみたい。

1 丸大豆・脱脂大豆・抽出大豆タンパク

各種大豆タンパク製品の品質は、出発原料の丸大豆及び中間原料の脱脂大豆の特性に依存することが多い。輸入の大部分を占める米国産大豆は油脂含量が高く主に製

油用に、またタンパク含量の高い国産及び中国産大豆は主に豆腐などの伝統食品に用いられている。圧倒的に量の多い製油用の大豆は圧ペンされ n -ヘキサンで油抽出後、脱溶剤する過程で飼料用はトリプシン消化阻害物質の失活を目的に高温処理し、食品用の抽出タンパクを製造する場合は低温ですなわちタンパクが未変性状態になるように処理されている。また大豆臭を誘発するリポキシゲナーゼの熱失活処理、くすみなどの色調改善のための脱皮処理などの工夫で、色・大豆臭の課題は著しく改善されている。しかし食品の普遍的素材として用途を拡大しようとした場合完全脱臭が望まれる。大豆臭の大きな原因物質である n -ヘキサナールをアルデヒドロゲナーゼで還元して低減化する方法¹⁾そして微生物で分解脱臭する方法²⁾が報告されている。また喜多村ら³⁾は大豆臭形成にかかわるリポキシゲナーゼの欠損した品種を育種学的に選抜し、無大豆臭に近い大豆の育種に成功している。この大豆は大豆油の品質にも好影響を与えており、実用化が期待されている。また n -ヘキサンによる一連のプロセスは極めて完成度の高いものであるが、研究的には種々の目的からエタノール及び液体二酸化炭素抽出法、また細胞壁を分解する酵素を用いた抽出・分離法などが報告されている。しかし製品の品質、プロセス合理化面で相当の付加価値がつかないと当分実用性は低いものと思われる。しかしながら抽出大豆タンパク製品は脱脂大豆から水抽出、おから分離、酸沈、ホエー分離、中和、スプレードライという工程で製造されるが、水を使わないプロセス開発、またゲル化能の強い11-S-グロブリンを主タンパク成分とした工業的分離法の開発などが望まれている。

一方タンパクそのものを質的に変換しようという遺伝子工学的研究が進行している。内海ら⁴⁾は、栄養性、ゲル化などの機能性の優れているグリシニン(11-S-グロブリン)の構造・機能特性相関解析の研究をベースに遺

伝子工学による改質に取り組んでいる。彼らはメチオン含量の多い大豆グリシニンの $A_1\alpha B_{1b}$ 及び A_2B_{1a} サブユニットの完全鎖長の cDNA のクローニング、塩基配列の解析をなし、さらに大腸菌での発現系構築をし、全菌体タンパク質当たり約 20 % という大量発現に成功している。また酵母での発現にも成功しており、大豆グリシニンの本来の好ましい特性は維持し、改変可能部位を特定し、例えばメチオンを挿入したグリシニンの改質に成功している。このようにグリシニンの構造的特徴とそれらの機能特性との関係をベースにして、理論的に改変遺伝子を分子設計し、タンパク質工学的に改変することが可能になろうとしている。すなわちコストの壁の突破、安全性の確立、社会的受容性の確保がなされれば、組み換え微生物を用い、各種機能を有する大豆タンパク群を発酵法で量産することも夢ではない。このように意図的にタンパク質を改質することはプロテインテラーリング⁵⁾とよばれるが、この概念の中には、図-1に示すように酵素及び化学試薬によるタンパク修飾技術が入る。後述するように特に酵素による修飾技術はタンパク質工学技術へのつなぎとして当面位置づけられるものであろう。

2 低分子化技術

丸大豆を蒸煮し発酵・醸造によってしょう油、みそ、納豆などの調味料、伝統食品が古くから食されてきたが、これは大豆の微生物酵素分解により、グルタミン酸

を中心とするアミノ酸にまで低分子化され呈味性が発現したものである。しかし近年アミノ酸レベルまで分解しないで、ペプチドあるいは限定分解大豆タンパクという形で積極的に利用しようという研究がなされている。特に Adibi ら⁶⁾によってジ及びトリペプチドの腸管での吸収速度が同一組成のアミノ酸混合物より速いとの報告、及び食品タンパクの一次構造上に、種々の生理機能を有するペプチド画分が潜在しているので、生理機能訴求食品素材になりうるとの報告などがあり、研究が活発である。一般に大豆タンパクをプロテアーゼで分解すると乳化性、起泡性、溶解性などが向上するが、苦味ペプチドが生成し、食品用素材として難があった。しかし最近エキソ型のプロテアーゼが開発され、苦味の原因とされる末端疎水性アミノ酸を遊離することができ、苦味が軽減されるようになり、呈味上の工夫（マスキング剤の併用等）でようやく食品新素材として受け入れられつつある。松尾⁷⁾は、大豆ペプチドの利用と展開について、図-2のような将来展望をしている。一方低分子のオリゴペプチド領域でなく、高分子ペプチド領域の実用化が、苦味発現等の心配がないこともあり進んでいる。すなわち、大豆タンパクの持つゲル化性などの高分子性に由来する機能をできるだけ維持し、プロテアーゼにより低度分解し、溶解性、乳化性、起泡性などの機能を増大させる素材が、畜肉加工分野で使われはじめている。また豆乳にプロテアーゼ系の凝固作用をもつ酵素を作用させ、大豆ペプチド 13 % を含む植物性チーズなどの末端

図-1 タンパク質の修飾技術 (荒井³⁾, 一部改変)

製品の開発も行われている⁸⁾。

また低分子化技術で特筆されるのは、荒井ら⁹⁾によるプラスティン反応による改質である。大豆タンパクをペプシンなどで水解し、フレーバー、苦味物質などの望ましくない物質を除去した後に、基質濃度を 20~40%，pH を 4~7 に制御することによってプロテアーゼによる逆反応，すなわちプラスティン反応を進行させると人工的に再合成したタンパク質を調製することができる。L-アミノ酸のエステルをタンパク水解物を含む反応系に加えると適当な反応条件のもとでは再合成反応中にプラスティン分子中に組み込むこともできる。このようなプラスティン反応を利用して、制限アミノ酸のメチオンエステルを導入し大豆タンパクの栄養価を改良したり、フェニルケトン尿症治療食素材としての低フェニアラニンプラスティンの調製などに応用されている。しかし酵素のコストが高いこと、またバイオリアクター化が余り進んでいないこと等から、医薬、化粧品分野を除いて一般の食品素材としては普及していない。

3 組織化技術

3.1 物理的・化学的組織化

脱脂大豆、濃縮大豆タンパク、分離大豆タンパクを単独に、あるいは併用した素材を原料とし、水分を 30 % 前後加え調湿した後、エクストルーダーで高温高压下で均一混合し、半熔融状態で均一相を形成させる。これを小さな穴（ダイス）から常圧に、封入された水蒸気と共に押し出すと連続的に膨張すると共に、タンパク質は押し出される方向と平行に配列され、構造化される。これ

を適当な大きさにカッティングし乾燥し整粒したのが粒状タンパクである。これは含水状態に戻した時、肉組織状の食感を有するためひき肉あるいはブロック肉の代替・増量材として利用されている。最近では二軸エクストルーダーが開発され、高水分、あるいは含油状態でも押し出し成形できるようになり、品質が向上している。さらにタンパク含量 90 % の分離タンパクを高温高压下で水と共に熔融状態にしてこれを細いノズルから大気中に、あるいは水中に押し出して繊維状としたものが構造性タンパクと呼ばれるものである。一方分離状大豆タンパクをアルカリで pH 11~13 にし完全溶解し不溶物はフィルターで除去後、定量ポンプで 0.20 mm の小孔が 15000 個ぐらいある口金を通し酸凝固槽に紡糸し酸凝固で固定し、いくらか延伸を与え、水洗、脱水し製品にしたものが繊維状大豆タンパクである。この方法は米国で 1935~45 年に落花生タンパク、カゼイン、ツェインを紡織して衣料素材として市販された時代に基本的なプロセスが開発されていたもので、その後ゼネラルミルズ社で改良を加え実用化されている。しかしこの方法は酸性浴槽の中で完全にタンパクが回収されず廃水処理が困難で、また工程が極めて複雑でありコストが高つくこと、及びアルカリ処理のためリジノアラニン生成など栄養学的な問題もあり、現在は生産されていない。しかしこのあたかも筋肉の筋原繊維を人工的に作るような紡糸技術が日本に紹介された時のインパクトは大きく、タンパク加工の原点といってもよいものであろう。二軸エクストルーダーでの組織化技術で研究開発が一巡した今日の状況の中で、もう一度原点に立ち返って組織化技術を

図-2 大豆ペプチドの利用と展開〔松尾 (1991)⁷⁾〕

考察してみるのには極めて有意義であろう。

3・2 酵素的改質及び組織化

タンパク質の構造形成性はジスルフィド結合、静電的相互作用、疎水性結合、及び水素結合で一般的に説明されてきたが、食肉など実際の食品系では、 ϵ -(γ -Glu) Lys 結合、デスモシン、アルドール結合など多くの橋かけ（架橋）構造が認められ、強じん(靱)で柔軟な生体組織の形成にかかわっていることが知られている。この中で ϵ -(γ -Glu) Lys 結合はトランスグルタミナーゼという酵素で形成されている。この酵素はタンパク質及びペプチド中の Gln 残基の γ -カルボキシアミド基と各種第一級アミン間でアシル転移反応を触媒する Ca^{2+} 依存性の酵素である。また、ペプチド鎖中の Lys 残基の ϵ -アミノ基がアシル受容体として作用するので、タンパク質間(内)に ϵ -(γ -Glu) Lys 形成による橋かけ反応を進捗させる(図-3)。トランスグルタミナーゼは、表-1にあるように動物の各種臓器、血液のみならず、後述する微生物、魚類、植物などの組織にも広く分布することがわかってきている。

筆者ら¹⁰⁾は当初モルモット肝由来のトランスグルタミナーゼを抽出精製し、大豆タンパクをはじめとする各

種食品タンパク質溶液に加えインキュベートするとゲル化する現象を見いだした。このゲル化法及び生成したゲルの特徴としては、①通常の加熱によってゲル化できないタンパク質をゲル化できる②加熱溶融タンパク(ゼラチン)を非溶融化し耐熱性が付与できる③タンパク質を事前に O/W 型に乳化したり、糖類、食塩等を混入させてもゲル化できる④このゲルを加熱処理するとさらに強固なゲルを形成する⑤ゲル化物は各種タンパク質変性剤

(a) タンパクへの第一級アミン類の結合

(b) タンパク同士の結合

(c) タンパクの Gln 残基の脱アミド化

図-3 トランスグルタミナーゼが触媒するアシル転移反応

表-1 自然界におけるトランスグルタミナーゼの分布

生 物 名		存 在 部 位
高 等 動 物	ヒト	上皮, 脳, 肺, 眼球, 水晶体, 赤血球, 白血球, 血小板, 血しょう, 胎盤
	ウマ	} 肝, 血しょう, 血小板, 毛のう(囊), 鼻表皮, 副じん(腎), 眼球, 大動脈体くう細胞
	ウサギ, モルモット	
	ラット, マウス	} 肝, 腎, 副腎, すい(膵)臓, 前立(腺), 甲状腺, こう丸, 上皮, 脳, 毛嚢, 横隔膜, 筋肉, 精液, 腹膜, 卵巣
	ハムスター	
鳥	ニワトリ, ハト	砂嚢, 赤血球
魚 介 類	シビレエイ	アセチルコリンレセプター細胞膜 [Hucho ら (1986)]
	アメフラシ	細胞内巨大コリン性ニューロン [Ambron (1982)]
	カブトガニ	血液 [岩永ら (1990)]
	クルマエビ, ホタテ	筋肉ホモジネート [岸ら (1990)]
	スケトウダラ	筋肉, [関ら (1990)]
	マサバ, サワラ	} 筋肉 [塚正ら (1990)]
	マダイ, マアジ	
	アユ, ハモ	} 筋肉 [塚正ら (1990), 岸ら (1990)]
	コイ, マイワシ	
	シロサケ, ホッケ	筋肉 [岸ら (1990)]
植 物	アルファルファ	つばみ [Margosiak ら (1987)]
	エンドウ豆	モヤシの先端部 [Icekson ら (1987)]
	ヒマワリ	つばみ [S-Fracassini (1987)]
微生物	<i>Streptovercillum</i> sp.	<i>Stu. sp</i> の培養液 [Ando ら (1989)]

処理を行っても可溶化されない、などが挙げられる。これらの特徴は、膜形成、糸状物形成、などにも応用できるので組織化には有用である。しかし実用化するには当然トランスグルタミナーゼの量産化が課題となった。そこで筆者ら¹¹⁾は天野製薬と共同で微生物からの探索を行い、微生物起源のトランスグルタミナーゼを見いだした。この酵素は分子量3.8万、活性発現に際し Ca^{2+} 依存性を示さない等の知見から、既知動物組織由来のものとは全く異なる新規酵素であることがわかった。またこの微生物は菌体外に酵素を分泌するので、量産化しやすいものであった。本酵素も各種タンパク質を橋かけ高分子化しゲル化する¹²⁾ことや、通常のタンパク質系食品の製造フローに添加するだけで充分に物性改良効果を発現することが確認されている。また希薄基質濃度で本酵素を作用させ、乾燥粉体になると、部分橋かけ形成のため粉状タンパクのゲル化能、乳化性などの溶液特性、吸水性などを制御できることが明らかにされている。さらに性質の異なったタンパク同士のハイブリッド化も可能で、両方のタンパクの特性を併せ持つような素材の創出の例が報告されている¹³⁾。このようにトランスグルタミナーゼによる酵素の組織化は、従来の組織化、構造化技術と融合させると図-4に一例を示したように相当広範な利用が展望される。さらに付記するならば、本酵素は、アミノ酸、ペプチドを意図的に導入したタンパクの創出ができる¹⁴⁾し、また反応条件を整えばタンパクのグルタミン残基をグルタミン酸残基に変換することでも

きる¹⁵⁾。橋かけ高分子化以外のこれらの機能の利用も大きな可能性があり、期待される分野である。このトランスグルタミナーゼの例の他に、タンパクの組織化の可能性のある酵素としては、ジスルフィド結合にかかわるプロテインジスルフィドイソメラーゼ、リシンを介したアルドール結合形成にかかわるリシルオキシダーゼ、橋かけを形成させるジアルデヒド生成、及びシステイン残基を酸化する因子の生成を触媒するリポキシゲナーゼなどが考えられている¹⁶⁾。

4 今後の展望

日本の食文化そのものである“大豆”の生産をほとんど海外に依存するようになって久しい。また最近では、ミールまで輸入されるようになり、さらに近い将来製品輸入まで進展するかも知れない状況である。原料を持たないのだから、まず国内消費向けにさらなる利用技術の開発そして高度技術に裏打ちされた輸出も可能な製品開発に一層力点を置かざるを得ない状況である。各論でも述べたが、有害成分あるいは有害イメージ成分の選択的除去、製造プロセスの抜本的見直しなどをベースに他タンパク、多糖体等の融合化、ペプチド領域の技術開発、さらに食用に適用可能な各種酵素による意図的改質などの研究を深掘りするのが当面の課題と思われる。

〔平成4年(1992年)4月22日受理〕

図-4 橋かけ高分子化反応の利用

文 献

- 1) 佐々木隆造, 千葉英雄, 化学と生物, 21, 536 (1983)
 - 2) H. Kobayashi *et al.*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 530 (1992)
 - 3) 喜多村啓介, 化学と生物, 21, 221 (1983)
 - 4) 内海成, “機能的食品タンパク質工学ハンドブック” サイエンスフォーラム, (1991) p. 181
 - 5) 荒井綜一, 農化, 61, 475 (1987)
 - 6) S.A. Adibi, E. Phillips, *Clin. Res.*, 16, 446 (1968)
 - 7) 松尾高明, 食品と開発, 26 (2), 3 (1991)
 - 8) 牧野順一 (編集部), 食品と開発, 26 (2), 32 (1991)
 - 9) 渡辺道子, 荒井綜一, “食品・医薬品分野における蛋白質テラリング” 学会出版センター, (1988) p. 58
 - 10) N. Nio, M. Motoki, *Agric. Biol. Chem.*, 49, 2283 (1985)
 - 11) H. Ando *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2613 (1989)
 - 12) M. Nonaka *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2619 (1989)
 - 13) M. Motoki, N. Nio, *J. Food Sci.*, 48, 561 (1983)
 - 14) K. Ikura *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, 45, 2587 (1981)
 - 15) M. Motoki *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3025 (1986)
 - 16) J.R. Whitaker, “食品蛋白質—化学的・酵素的修飾による改良” 学会出版センター, (1979) p. 106
-