穀類蛋白質の蛋白分解酵素による 分解に関する研究(第2報)

Enzymic Digestion of Cereal Proteins (2)

小麦グルテンおよび大豆グリシニンの熱処理の有無による
アミノ酸遊離度の経時的变化について

Liberation of Amino Acids from Raw and Heated Wheat
Gluten and Soybean Glycinine with Enzymic Preparation

(昭和40年3月11日受理)

星 野 直 司
(Naoji Hoshino)

田 村 真八郎
(Sinpachiro Tamura)

川 端 晶 子
(Akiko Kawabata)

泰 磨 綾 子
(Ayako Taima)

原 春 樹*
(Haruki Hara)

The preceding paper described that the digestibility of casein, defined by the measurement of liberated nitrogen and freed 18 amino acid patterns, increased slightly by heat treatment, and it was superior to that of rice glutelin throughout the varying digesting time periods by both enzymes, pancreatic and pronase.

The present paper reports on the results of the liberation of eighteen kinds of amino acid from wheat gluten and soybean glycinine (with and without heating) through the above described enzymes. As shown in Tables 1 and 2, the digestibility of heated glycinine thus measured was superior to that of wheat gluten, although the measures of both substrates were inferior to that of casein. The manner of increase of the amount of each amino acid according to the digesting time period was not always identical on the kind of amino acid, substrate conducted and the test enzyme used.

前報¹⁾で、米グルテリンおよびカゼインを熱処理しないものと、したもののについて、パンクレアチン(以下P)およびプロナーゼ(以下S)の両種酵素を用いて、in vitro で消化し、両蛋白質の消化性の差異を、18種アミノ酸の遊離度の経時的变化の面から観察した。そして、熱処理の有無に関せず両酵素消化の場合共に、カゼインの方が全般的に消化性は高いが、S消化の場合にはその相違はあまり大きくないことを報告した。また、個々のアミノ酸の遊離化傾向は、蛋白質、酵素の種類によって異なり、熱処理によっても多くのアミノ酸の遊離化に遅速、高低が生ずることも観察した。

本報では、前報と同様の方法を用いて、小麦グルテンおよび大豆グリシニンについて、それらの in vitro の消化性を比較検討したので報告する。

表1. 小麦グルテンおよび大豆グリシニンの熱処理の有無による24時間消化物中の諸形態N($\frac{N}{全N} \times 100$)

基 質		小麦グルテン		大豆グリシニン	
水 分		9.43		5.16	
全 N (乾 物 中)		16.9		14.5	
熱処理		ナシ	アリ	ナシ	アリ
バア消可 溶性 全 N ンチ遊離アミノ酸態 N クン α-M. B* レ化アミノ態 N V. S**	可 溶性 全 N	52.2	50.7	57.9	59.2
	遊離アミノ酸態 N	19.1	8.2	14.4	16.1
	α-M. B*	10.4	5.6	10.5	10.3
	アミノ態 N V. S**	19.3	17.9	21.6	26.4
ブゼ消可 溶性 全 N ロナ遊離アミノ酸態 N α-M. B* 1化アミノ態 N V. S**	可 溶性 全 N	71.8	69.6	91.2	80.3
	遊離アミノ酸態 N	33.5	24.4	61.8	40.1
	α-M. B*	25.6	17.8	45.4	29.9
	アミノ態 N V. S**	29.3	30.3	48.6	42.8

* 微生物法での定量値中 Van Slyke 法で定量されるもののみを算出した。

** Van Slyke 法での定量値より算出した。

栄 養 と 食 糧

表2. 各蛋白質1gを消化した際の遊離アミノ酸 mg 数の経時的変化

a. 小麦グルテン

酵 素		パ ン ク レ ア チ ン										プ ロ ナ ー ゼ										蛋 ⁽¹⁾ 白 中										
熱 処 理 時間	ナ	シ				ア						ナ					シ						ア					リ				
		1	2	4	6	24	1	2	4	6	24	1	2	4	6	24	1	2	4	6	24		1	2	4	6	24					
アミノ酸		1	2	4	6	24	1	2	4	6	24	1	2	4	6	24	1	2	4	6	24		1	2	4	6	24					
Arg		1.2	1.0	1.7	1.8	3.8	0.88	0.67	1.2	1.6	7.7	1.4	3.4	4.6	10.	2.1	2.2	6.2	7.8	14.	18.						39					
His		0.29	0.34	0.50	0.44	1.8	0.16	0.13	0.20	1.5	2.2	3.5	3.7	4.0	6.1	8.5	1.1	2.7	4.1	6.8	7.4						16					
Lys		0.71	0.41	0.90	1.3	4.4	0.65	0.60	0.90	2.0	3.8	2.2	2.2	10.	12.	12.	0.70	1.2	3.1	4.6	6.8						20					
Phe		0.69	0.55	1.2	1.8	5.1	0.23	0.33	0.51	1.4	3.0	4.3	7.0	8.0	9.0	17.	3.8	7.2	11.	12.	20.						41					
Tyr		1.0	1.3	2.6	2.7	6.6	0.30	0.40	0.70	1.4	2.4	7.2	9.8	13.	16.	19.	2.1	3.0	10.	11.	11.						29 ⁽³⁾					
Try		0.45	0.66	0.80	1.9	2.7	0.28	0.30	0.65	1.6	1.9	2.9	3.7	5.4	6.4	7.8	1.6	3.1	3.7	5.3	6.5						12 ⁽³⁾					
Pro		0.13	0.46	1.6	4.5	13.	1.7	1.7	2.2	9.0	11.	3.5	6.8	6.8	9.8	31.	5.2	9.6	18.	25.	27.						72					
Cys		0.24	0.33	0.49	0.64	2.1	0.21	0.21	0.37	0.66	1.2	2.0	2.3	5.2	6.4	6.4	0.89	1.6	2.1	2.7	4.0						8.0 ⁽⁴⁾					
Met		0.60	0.75	1.1	1.8	5.2	0.15	0.23	0.40	1.4	2.0	3.8	5.2	7.2	10.	14.	2.0	4.1	6.4	6.6	9.9						16					
Ser		0.96	1.3	1.8	3.4	12.	0.79	0.90	1.5	3.8	4.8	7.5	9.8	19.	20.	22.	2.5	4.7	8.0	9.3	12.						45					
Thr		1.4	1.6	2.9	4.1	13.	1.4	1.7	3.4	5.4	7.8	8.8	9.1	15.	16.	19.	5.6	6.6	16.	19.	22.						40					
I-leu		1.5	1.8	3.3	4.5	17.	1.1	1.3	2.0	4.9	7.3	9.2	18.	29.	32.	44.	8.4	13.	18.	24.	29.						65					
Leu		0.63	1.5	2.6	4.0	13.	1.1	1.2	2.2	5.7	7.7	16.	16.	24.	24.	39.	7.8	16.	25.	26.	33.						72					
Val		1.9	2.3	3.7	6.6	24.	1.0	1.6	3.4	5.2	7.6	12.	17.	33.	37.	37.	5.0	8.1	14.	15.	20.						49					
Asp		0.70	1.3	1.5	3.4	6.5	0.30	0.80	0.70	3.8	6.4	6.4	7.2	11.	22.	28.	3.0	5.7	7.8	9.8	16.						29					
Glu		1.0	2.9	3.6	4.0	11.	1.4	1.6	3.1	5.6	7.0	21.	22.	16.	22.	30.	7.8	13.	15.	18.	27.						312					
Gly		0.80	0.75	1.0	1.4	6.0	0.35	0.45	0.55	1.7	2.7	5.9	6.8	12.	12.	16.	1.6	2.6	4.6	4.9	7.6						35					
Ala		0.70	0.85	1.2	2.4	8.0	0.38	0.50	2.3	2.8	3.3	5.4	5.4	13.	12.	19.	1.9	3.1	4.0	7.8	7.8						24					
計		15	20	33	51	142	12	15	26	60	89	123	156	236	283	391	63	112	179	222	285						924					

b. 大豆グリシニン

酵 素		パ ン ク レ ア チ ン										プ ロ ナ ー ゼ										蛋 ⁽¹⁾ 白 中												
熱 処 理		ナ				シ				ア				リ				ナ					シ				ア				リ			
時間		1	2	4	6	24	1	2	4	6	24	1	2	4	6	24	1	2	4	6	24		1	2	4	6	24							
アミノ酸		Arg	3.0	4.0	4.2	8.4	9.8	0.85	1.8	1.9	2.0	21.	8.2	11.	20.	24.	45.	7.0	12.	20.	25.	29.						76						
	His	0.50	0.41	0.51	0.56	2.5	0.03	0.17	0.28	1.9	2.9	3.6	3.9	6.0	7.7	13.	2.0	3.6	5.2	8.2	8.9						14							
	Lys	1.2	1.0	1.9	2.2	3.2	0.70	1.0	1.4	4.4	8.2	3.7	10.	19.	25.	34.	0.8	1.2	2.8	11.	22.						59							
	Phe	0.13	0.19	0.36	1.1	6.5	0.45	0.74	0.70	2.7	7.3	1.1	16.	27.	27.	28.	6.3	11.	13.	22.	46.						45							
	Tyr	1.0	2.0	3.9	4.7	5.0	0.35	0.65	0.90	2.8	3.8	7.6	12.	20.	22.	28.	2.2	3.1	7.3	10.	14.						33 ⁽²⁾							
	Try	0.52	0.54	0.89	1.4	1.6	0.25	0.43	0.52	1.4	2.8	3.4	4.9	5.8	6.4	7.1	5.6	8.4	5.5	7.7	11.						12 ⁽³⁾							
	Pro	1.1	1.8	2.0	4.9	18.	1.1	1.7	2.0	9.8	20.	5.5	9.5	15.	28.	47.	4.5	9.4	14.	19.	21.						49							
	Cys	0.19	0.15	0.22	0.56	1.4	0.21	0.29	0.44	0.90	1.8	1.7	2.3	6.4	6.6	8.0	1.4	2.4	2.8	4.4	5.4						8.3 ⁽⁴⁾							
	Met	0.23	0.30	0.45	0.94	2.2	0.20	0.30	0.40	2.1	3.1	0.84	7.3	11.	12.	13.	3.3	4.7	5.6	6.9	8.9						14							
	Ser	0.33	0.40	0.60	1.5	5.6	0.85	1.1	1.9	4.2	6.7	6.3	14.	24.	31.	31.	3.7	7.2	9.6	13.	14.						55							
	Thr	1.2	1.4	2.7	3.8	4.5	1.2	2.1	2.7	5.0	5.6	3.4	17.	24.	25.	34.	4.4	4.8	11.	16.	25.						34							
	I-leu	0.28	0.45	0.90	2.3	16.	1.0	1.4	2.3	8.0	18.	2.2	33.	57.	51.	69.	14.	19.	29.	32.	49.						80							
	Leu	0.10	0.25	0.40	2.2	11.	1.1	1.9	2.8	7.6	16.	0.80	30.	47.	51.	60.	12.	23.	30.	35.	45.						85							
	Val	0.16	0.40	1.2	2.0	8.4	1.6	2.0	2.2	2.6	12.	15.	22.	40.	50.	60.	7.4	13.	16.	23.	26.						42							
	Asp	0.60	0.80	0.75	2.4	7.0	0.85	1.4	3.0	5.4	11.	1.2	17.	35.	41.	51.	4.4	13.	19.	23.	29.						61							
	Glu	0.45	2.2	1.8	2.4	4.5	1.9	1.6	2.1	5.8	8.2	6.6	33.	46.	55.	69.	10.	16.	16.	28.	35.						204							
	Gly	0.53	0.70	1.2	1.4	3.5	0.36	0.53	0.72	2.5	4.0	3.9	12.	19.	18.	22.	2.9	5.3	6.3	9.6	11.						31							
	Ala	1.1	1.7	3.9	5.0	19.	0.25	0.68	1.0	4.2	5.6	6.4	15.	18.	19.	20.	5.4	8.2	8.4	12.	15.						41							
計		13.	19.	28.	48.	130.	13.	20.	27.	73.	158.	81.	270.	440.	500.	639.	97.	165.	222.	316.	415.						943							

(1) 各蛋白質の塩酸乃至アルカリ水解物中のアミノ酸量 (mg/g)

(1)(2)(3)(4) それぞれの加水分解条件は本文中に示した。

実 験 方 法

1. 基質：小麦グルテンは米国産マニトバ種（硬質）の前年度産精白小麦粉を、適量の水でよく混和後、流水でよく洗滌し、えられたグルテンをさらに脱イオン水で

洗滌した後、凍結乾燥を行なった。大豆グリシニンは米国産のヘキサソ脱脂脱皮大豆（前年度産）を、80メッシュ篩を通るまで細粉し、これを Van Etten ら⁵⁾の方法に従って、脱イオン水および pH 8.0 の苛性ソーダ水溶液で抽出し、硬質用紙でそれぞれろ過してえた上清を合

図 1 小麦グルテンおよび大豆グリシニンの熱処理しないものを消化した際の 2 次元ペーパークロマトグラフィ

注) 展開試料液量は、いずれも同量を用いた。

せた後、酢酸で pH 4.4 として一夜放置した。上清を捨て、沈澱蛋白質をセロファン膜を用いて流水中で透析し、遠沈した後、凍結乾燥を行なった。これら凍結乾燥粉末を乳鉢でよく細粉としたものを用いた。加熱処理は前報¹⁾同様に 1.05 kg/cm² で 30 分間オートクレーブした。

2. 酵素、消化方法、諸成分の定量用試料調製および定量方法などは、いずれも前報²⁾に準じた。

結 果 と 考 察

1. 24時間消化物中の熱水可溶性 N、18種遊離アミノ酸態 N (微生物法で定量した遊離アミノ酸態 N の総和) および α-アミノ態 N の各遊離度 (基質全 N 量に対する各態 N の百分率) についての比較 (表 1) : P 消化について観察すると、加熱しない場合は両蛋白質間にあまり差異はないが、熱処理によって大豆グリシニンの消化性は幾分高まり、小麦グルテンでは遊離アミノ態 N の遊離度が低下するので、両蛋白質間の差異が明らかとなる。S 消化の場合には、熱処理の有無に関せず、大豆グリシニンは小麦グルテンより高い消化性を示した。なお、熱処理によって両蛋白質共に、各態 N の遊離度は低下した。

これらの成績を、前報¹⁾のカゼイン、米グルテリンについての成績と比較すれば、P、S 消化、熱処理による変化を通じて、カゼインの消化性は最もよく、次いで大豆グリシニンがよく、米グルテリンと小麦グルテンについては P、S 消化共に各態 N の遊離度また熱処理による

それらの低下など類似した消化性が認められる。そして熱処理によって消化性の高まる、大豆グリシニンの P 消化はカゼインの場合と類似するが、トリプシン阻害物質の有無も関与するので、その原因は同一とは考えられない。

2. 各基質 1 g 当たりから遊離してくる 18 種アミノ酸の経時的变化 (表 2-a, b)

(1) 18 種遊離アミノ酸の総和量については、2 表下欄に示したように経時の変化を通じて P および S 消化共に前述 1 項と同様の傾向を認めた。

(2) 個々のアミノ酸については、各基質の P および S 消化物共に、各アミノ酸相互では遊離化に遅速があり、その様相は基質、酵素の種類で異なる。概略すれば、前報のカゼイン、グルテリンの場合と同様に、消化初期 (4 時間目位まで) に急激に、その後徐々に遊離化するもの、初期は徐々に、その後急に遊離化するもの、および、終始はば一定の割合で遊離化するものに類別される。そして、各基質共に各アミノ酸量の遊離化の程度は、必ずしも蛋白中のアミノ酸量の多少と関係せず、特に熱処理物について、その差異は大きい。

熱処理によって、大豆グリシニンの P 消化では、経時の変化を通じて Tyr, Ala を除いて、いずれも遊離化の程度は高まり、既往の諸知見^{3)~7)}とも符合するが、その程度は消化条件に差異があるので比較できない。この熱処理による変化は、カゼイン¹⁾の場合と類似するが、トリプシン阻害物質の有無、またカゼインの場合 His, Lys,

Tyr, Ser, Gly などが低下する点に差異がある。小麦グルテンのP消化では、熱処理によって遊離化が高まるものではなく、特に24時間消化物で多くのアミノ酸の低下が著しく、他の蛋白質と相違する。S消化の場合にはグリシニンでは Phe, Try のみやや遊離化が高まり、その他のものは Arg, His を除いて、いずれのアミノ酸も低下が明らかとなる。グルテンでは Lys, Tyr, Cys, Ser, Val, Asp, Gly および Ala は低下し、他はやや高まるか、変わらない。これらの点はカゼイン、米グルテリンのS消化の場合、各アミノ酸共に全般的に低下するのと比較して相違する。

2次元ペーパークロマトグラフィによる両種蛋白の熱処理しないものの4および24時間消化物についての成績(図1)も、前述の如く蛋白、酵素の種類によって各アミノ酸の遊離化に差異が観察された。そして、各アミノ酸マップを見比べれば、両酵素消化物を通じて、グリシニンよりグルテンの方がやや良い消化性が認められ、上述した結果とやや異なる。これは、ペーパ法では遊離態アミノ酸量が少ないため未確認のアミノ酸が存在し、また、微生物法では定量用乳酸菌に対する低級ペプチドの活性に、Van Slyke 法では NH_3 態 N の定量値への影響などが主因しているものと考えられる。

(3) 各基質蛋白中の各アミノ酸全量(加水分解物中の量)に対する遊離態量の百分率を求め、この遊離度の面から観察すると、前報¹⁾のカゼイン、グルテリン同様、両種蛋白を通じて Glu が特に悪いのを除くと、基質の種類が大きく影響する。両酵素間の差異は、使用した酵素の力価に差異があるので論考できないが、野本⁹⁾の報告で指摘されているS酵素の広範な基質特異性も関与していると考えられる。なお、大豆グリシニンをS消化した際の各アミノ酸遊離度については、すでに野本⁹⁾が、40°C、72時間消化した際の結果について報告しているが、これと本報での24時間消化物とを比較すると、消化条件および基質のアミノ酸組成も若干異なるが、ほぼ符合した遊離化傾向が認められる。

要 約

小麦グルテンおよび大豆グリシニンを加熱処理(1.05 kg/cm² 30分間オートクレーブした)したもの、しないものを基質としてパンクレアチン(以下P)乃至プロナーゼ(以下S)の両蛋白分解酵素で in vitro で消化し、両蛋白質の消化性の差異を18種アミノ酸の遊離度の

経時的变化(1, 2, 4, 6, 24時間)の面から観察した。アミノ酸の定量は微生物法を用い、各基質の24時間消化物については諸形態N量も測定した。また、熱処理しないものの4および24時間消化物について2次元ペーパークロマトグラフィで定性的な観察を行なった。

その結果、18種遊離アミノ酸の総和量および各態Nの遊離度で、両蛋白質の消化性を比較すると、P消化物の熱処理しないものではほぼ一致するが、熱処理物ではグリシニンの方が高く、S消化物では熱処理の有無に関せずグリシニンの方が高い。熱処理によってグリシニンのP消化ではその消化性は高まり、そのS消化およびグルテンのP、S消化では低下する。個々のアミノ酸については(表2)、蛋白の種類、熱処理の有無および酵素の種類で、それぞれ遊離化の様相を異にする。ペーパークロマトグラフィでの観察でも、ほぼ同様な傾向が認められる。両蛋白質の24時間消化物ではGlu-NH₂、Asp-NH₂がそれぞれ若干観察される(図1)。

稿を終わるに臨み、本研究の実施に当たり、終始ご懇篤なご指導をいただいた東京大学農学部教授、元食糧研究所長桜井芳人博士に深甚の謝意を表する。また、本研究の費用の一部は、味の素株式会社研究基金によったことを付記して謝意を表すると共に、プロナーゼを譲与していただいた科研化学株式会社の方々、並びに供試大豆および小麦を分与していただいた食糧研究所太田、安永両技官に厚く感謝する。

文 献

- 1) 星野, 田村, 川端, 泰磨, 原: 栄養と食糧, 16, 377 (1964)
 - 2) Van Etten, C. H., Hubbard, J. E., Mallan, J. M., Smith, A. K., & Blessin, C. W.: *J. Agr. Food Chem.*, 7, 129 (1959)
 - 3) Evans, R. J., McGinnis, J., & St. John, J. L.: *J. Nutrition*, 33, 661 (1947)
 - 4) Riesen, W. H., Clandinin, D. R., Elvehjem, C. A. & Cravens, W. W.: *J. Biol. Chem.*, 167, 143 (1947)
 - 5) Melnick, D. & Oser, B. L.: *Food Technol.* 3, 57 (1947)
 - 6) 林, 有山: 栄養と食糧, 10, 134 (1953)
 - 7) 高橋, 野村: 栄養と食糧, 12, 203 (1959)
 - 8) Nomoto, M. & Narahashi, Y.: *J. Biochem. (Japan)* 48, 906 (1960)
 - 9) 野本, 奈良橋, 村上: 理研報告, 35, 154 (1959)
- (農林省食糧研究所*現在は日清製油株式会社研究所)