研究ノート

焙焼たん白質のたん白分解酵素 による消化性

早瀬文孝, 加藤博通, 藤巻正生
東京大学農学部

Digestibility of Roasted Proteins by Proteolytic Enzymes

Fumitaka HAYASE, Hiromichi KATO,
Masao FUJIMAKI

The *in vitro* digestion of lysozyme and casein roasted at 180–250°C was investigated by use of pancreatin, trypsin, papain and pronase. Lysozyme roasted at 180°C for 20 min was digested completely by proteases within 24 hr. On roasting lysozyme over 210°C for 20 min, however, the residue became water-insoluble in a ratio over 70% and the digestibility extremely decreased. Similarly, on roasting casein over 210°C its digestibility decreased to almost the same degree as in the case of lysozyme. It is considered that such decreases in the digestibility are partially based on the decomposition and racemization of amino acid residues on lysozyme and casein.

(Received October 29, 1974)

食品に含まれるたん白質を適度に加熱すると、熱変性や消化酵素阻害物質の破壊などにより、栄養価の向上が認められる¹⁾。さらに過熱した場合 (85–150°C) に、リジン、メチオニン、トリプトファンなどのアミノ酸残基が損失するという多くの報告がなされている^{2)–4)}。しかし焙焼条件でのたん白質の変化に関する研究は、ほとんど行なわれていない。最近著者らは食品の調理や加工工程にみられる焙焼温度 (150–250°C) でカゼイン、リゾチームを加熱し、そのとき生成する揮発性⁵⁾ および不揮発性成分⁶⁾ について報告した。また、焙焼残渣のアミノ酸残基にラセミ化が起きていることを報告した⁷⁾¹⁰⁾。

本報告ではたん白質として、単純たん白質グロブリンであるリゾチームおよびカゼインを用い、この焙焼残渣について、*in vitro* でのたん白分解酵素による消化性について検討した。

実験方法

たん白質としてリゾチーム (生化学工業, 6回結晶) およびカゼイン (Hammarsten, メルク) を用いて行な

った。リゾチーム 1 g を焙焼器中で⁶⁾ 180–250°C, 20 分間、焙焼し、その焙焼残渣を水抽出して、可溶区分と残渣とに分け、残渣は濃縮、乾固、乾燥した。この試料に対して、パンクレアチン (関東化学), トリプシン (Miles), パパイン (Difco Lab.), プロナーゼ (科研化学) を用い、酵素消化率を水可溶、すなわち酵素消化後の残渣の重量により測定した。一方リゾチームの焙焼残渣の水可溶区分について、パンクレアチンで消化し、その消化率をトリクロル酢酸による濁度法⁸⁾ で測定した。

またカゼイン 1 g を同様に焙焼し、焙焼残渣 200 mg をパンクレアチンによって酵素消化したのち、5% トリクロル酢酸 30 ml を混和し、上澄液の窒素をマイクロケルダール法で測定し、消化率を算出した。

酵素反応条件は以下のとおりである。反応液の pH はパンクレアチン、トリプシンを用いた場合は pH=8.1, パパイン、プロナーゼは pH=7.5 で行なった。酵素基質比 1:25, 基質濃度 1% で 24 時間、またパンクレアチンのみ 1 週間反応を行ない、反応温度はすべて 37°C でインキュベートした。

実験結果

焙焼リゾチームを水抽出した残渣について、パンクレアチン、トリプシン、パパイン、プロナーゼを用い、酵素消化を行なった。結果を Table 1 の a) に示した。リゾチームを 180°C に加熱すると残渣の色調は変化せず、ほとんどが水に可溶であった。0.1% の水不溶残渣について酵素消化を行なったところ、100% 消化された。しかし焙焼温度が上昇すると、水不溶区分が増加し、210, 230°C で褐色、250°C で黒褐色を呈し、250°C に焙焼したものは、94% が水不溶残渣として残った。また長時間での酵素消化率を調べるために 2 日に 1 回の割合で、計 3 回パンクレアチンをリゾチームに対して 1% 補充して 1 週間、焙焼リゾチームに対して酵素消化を続けた。この結果も Table 1 の a) に記した。酵素の種類によって焙焼リゾチームの消化率には、有意差が認められないが、各種酵素によって、210°C 以上の水不溶焙焼残渣の酵素消化率は著しく減少した。しかし 1 週間、パンクレアチン消化を続けると 24 時間インキュベートの場合とは異なり、210°C で 100%, 250°C においても 35% の消化率を示した。いずれにせよ、230°C まで加熱すると消化率は極端に減少する。また、リゾチーム焙焼残渣の水可溶区分について酵素消化性を調べた。Table 1 の b) に水可溶区分について、パンクレアチン消化を 24 時間行なったときの消化率を示した。リゾチームを 210°C に加熱後の水可溶区分は、パンクレアチンによって 24 時間ではほぼ消化されるが、230, 250°C の場合、消化率は著しく減少した。

Table 1. Degree of digestion of roasted lysozyme by enzyme.

a) Water insoluble fraction

		Roasting temperature (°C)			
		180	210	230	250
Water insoluble fraction (%)		0.1	70	89	94
Digestion ratio (%) by enzyme	pancreatin				
	24 hr	100	21	19	18
	1 week	100	100	43	35
	Trypsin 24 hr	100	12	13	10
	Papain 24 hr	100	8	10	9
	Pronase 24 hr	100	17	12	12

b) Water soluble fraction

		Roasting temperature (°C)			
		180	210	230	250
Water soluble fraction (%)		99.9	30	11	6
Digestion ratio (%) by pancreatin for 24 hr		100	95	27	0

Table 2. Degree of digestion of roasted casein by pancreatin.

		Roasting temperature (°C)			
		180	210	230	250
Digestion ratio (%) by pancreatin		97	16	16	16

一方カゼインを焙焼した残渣について、パンクレアチンによる酵素消化を調べたところ、Table 2 の結果を得た。リゾチームの場合と同様に、210°C 以上の焙焼によって消化率は著しく減少した。

考 察

食品を過度に加熱すると、一般に栄養価は減少する。たとえばラスクをつくるために 130°C、40～60 分間トーストすることによって PER が 3.5 から 0.8 に減少し²⁾、またモデル系としてカゼイン-グルコース混合物を 121°C、2 時間、オートクレーブすると、トリプシンやパパンによって消化されにくくなったという報告がある⁹⁾。

本実験の結果からも、たん白質単独を加熱した場合の酵素消化率は、高温で焙焼した場合に低下すると考えられる。Table 1 および 2 の結果から考察すると、リゾチームやカゼイン単独の焙焼では 180°C では、ほとんど酵素消化率の低下は起こらないが、210°C を越えると急激な消化率の低下が起こることを示している。酵素消化率

が低下する理由としては、従来からいわれてきたように、高温での加熱によって、アミノ酸残基の分解率が高くなること²⁾⁻⁴⁾⁶⁾ によると考えられる。しかしながら先に報告したように、リゾチームおよびカゼインの 230°C での焙焼における各アミノ酸残基の残存率は、64～89% となっており¹⁰⁾、この残存率から予想される酵素消化率としては Table 1 および 2 の結果（焙焼残渣の消化率、10～19%）はかなり低いのではないと思われる。その理由の一つとしてアミノ酸残基の分解とともに、アミノ酸残基に一部ラセミ化が起こり⁷⁾¹⁰⁾、酵素消化率が著しく低下することが考えられる。

文 献

- 1) Bender, A. E.: *J. Food Technol.*, 7, 239 (1972)
- 2) Block, R. J., Cannon, P. R., Wissler, R. W., Steffee, C. H. Jr., Straube, R. L., Frazier, L. E. and Woolridge, R. L.: *Archiv. Biochem.*, 10, 295 (1946)
- 3) Taira, H., Sugimura, K. and Sakurai, Y.: *Agr. Biol. Chem.*, 29, 1074, 1080 (1965)
- 4) Bjarnason, J. and Carpenter, K. J.: *Br. J.*

- Nutr.*, 24, 313, (1970)
- 5) Kato, H., Hayase, F. and Fujimaki, M.: *Agr. Biol. Chem.*, 36, 951 (1972)
 - 6) Fujimaki, M., Kato, H. and Hayase, F.: *Agr. Biol. Chem.*, 36, 416 (1972)
 - 7) Hayase, F., Kato, H. and Fujimaki, M.: *Agr. Biol. Chem.*, 37, 191 (1973)
 - 8) Yamashita, M., Arai, S., Matsuyama, J.,

- Gonda, M., Kato, H. and Fujimaki, M.: *Agr. Biol. Chem.*, 34, 1484 (1970)
- 9) Lowry, J. R. and Thiessen, R.: *Archs. Biochem.*, 25, 148 (1950)
 - 10) Hayase, F., Kato, H. and Fujimaki, M.: *J. Agr. Food Chem.*, in press.

(昭和49年10月29日受理)

油脂の自動酸化に及ぼすビタミン B₂ 酪酸エステルの影響について

戸谷洋一郎, 戸谷永生, 松尾 登
成蹊大学工学部工業化学教室

Effects of Riboflavin-2', 3', 4' 5'-Tetrabutryrate on the Autoxidation of Oils and Fats

Yōichirō TOTANI, Nagao TOTANI,
Noboru MATSUO

Department of Industrial Chemistry, College
of Technology, Seikei University, Musashinoshi,
Tokyo

- 1) When B₂-butyrate was added to fish oil or linseed oil fatty acid methyl ester, maximum peroxide value was lower than when B₂-butyrate was not mixed.
- 2) When B₂-butyrate was added to autoxidized ester, peroxide value went lower in proportion to the amount of the addition.
- 3) It seems that active oxygen contained in autoxidized ester made B₂-butyrate decompose and at the same time, peroxide of autoxidized ester decomposed itself.

(Received September 20, 1974)

ビタミン B₂ 酪酸エステル (B₂ 酪酸エステルと略す) は、リボフラビンのリビトール基の4個のアルコール性水酸基に酪酸をエステル結合させたものであって、リボフラビン-2', 3', 4', 5'-テトラブチレートに当たり、エチルアルコールより再結晶すると橙黄色の柱状結晶となり、融点は145~147°Cである。天然の B₂ と異なる点は油溶性を有すること、天然の B₂ が光によって著しく分解されるのに対して、このものは光の直接的作用では分解しないことである。この B₂ 酪酸エステルは八木ら¹⁾²⁾によって合成され、大量使用しても毒性は認められず、天然の B₂ を投与したよりも白ネズミにおける実験によれば、

いっそう発育が良好である。したがって食品や医薬方面への利用も広い。

八木ら³⁾は、リノール酸過酸化物に B₂ 酪酸エステルを添加したところ、過酸化物量が減少したことを TBA 法を用いて確認し、またこの作用は、白ネズミの肝ホモジネートを 37°C に放置したものに B₂ 酪酸エステルを加えた場合についても同様に認められたという。

著者らは、油脂その他の脂肪酸エステルの自動酸化に対してこの B₂ 酪酸エステルがどのような影響を与えるか、過酸化物量の減少と添加量との関係などについて明らかにするために実験を行ない、二、三の知見を得たので報告したい。

実験および結果

1. 実験 I 魚油の自動酸化に及ぼす B₂ 酪酸エステルの影響

Table 1 のごとき性状を有する魚油 (イカ油) を試料とした。

Table 1. Chemical properties of fish oil.

n_D^{20}	I. V. (Wijs)	S. V.	A. V.	P. O. V. (meq/kg)
1.4824	190.2	177.9	1.5	2.0

この試料油 100 g を内径 14.5 cm, 深さ 3.1 cm のシャーレに入れ、B₂ 酪酸エステル (東京田辺製薬製) をそれぞれ 1.4×10^{-5} mole/kg, 1.4×10^{-4} mole/kg, 1.4×10^{-3} mole/kg, 1.4×10^{-2} mole/kg あて添加し、未添加のものをコントロールとして、室温 (15.5~35.2°C) で自動酸化させた。

実験開始後 14 日目、コントロールおよび各濃度の実験試料の過酸化物価はいっせいに上昇していった。 1.4×10^{-2} mole/kg 添加のものにおいては、22 日目 (過酸化物価約 650 meq/kg) ころから過酸化物価がコントロールに比べて経時的に減少し、 1.4×10^{-3} mole/kg 添加のものにおいては、26 日目 (過酸化物価 1040) ころよりコントロールと比べて、経時的に過酸化物価の減少がみられるようになった。 1.4×10^{-4} mole/kg, 1.4×10^{-5} mole/kg 添加のものにおいては、コントロールとさして異なりはなかった。