[農化 第 36 卷, 第 1 号, p.82~85, 1962]

蛋白質の加水分解による調味料の製造 (第 4 報)*

脱脂大豆の塩酸加水分解におけるアミノ酸の消長

日野哲雄, 角田俊直, 土屋卓児, 成井喜久子, 土屋真希生, 白居敦子 (味の素株式会社)

昭和 36 年 6 月 22 日 受 理

緒 言

脱脂大豆の塩酸加水分解時におけるアミノ酸の消長については、グルタミン酸についてのみ収得量からの比較値が報告^(1,2)されているが、他のアミノ酸についてはペーパークロマトグラフィーによる定量値が報告^(3,4)されているに過ぎない。著者らは先に、半脱皮脱脂大豆の塩酸加水分解過程における窒素の消長、炭水化物の挙動を第 1 報⁽⁵⁾に、アミノ酸と炭水化物の相互反応を第 2 報⁽⁶⁾で報告した。本報においては、第 1 報と同じ加水分解条件でアミノ酸がいかなる消長を示すかについて、微生物定量法によって定量した結果を報告する。

実 験 の 部

1. 試 料 第 1 報に述べた原料を用い、同様の方法で加水分解を行った。分解時間は 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25 時間とし、それぞれ第 1 図に従って定量用試料 A 及び B を調製した。

第 1 図 加水分解と試料の調製

2. 定量法 微生物定量法の常法によったが、次のアミノ酸については若干改良した。() 内は使用菌株を示す。

- グルタミン酸：始発 pH を 6.8 とした。標準線の直線性がよく、酸の生成が多いからである (*Lact. arabinosus* 17-5)。
- セリン：桐村の改良法⁽⁷⁾ (*Leuc. mesenteroides* P-60)。
- グリシン：培養時間を 96 時間とする (*Leuc. mesenteroides* P-60)。
- シスチン：M. J. Horn 法⁽⁸⁾ (*Leuc. mesenteroides* P-60)。
- アラニン：肝臓フラクションを培地に加える (*Lact. arabinosus* 17-5)。

3. 定量結果 定量結果を定量用試料 A 中のアミノ酸濃度で第 1 表に示す。

定量用試料 B については 6 時間までを示し、濃度は定量試料 A と同水準に換算した。

定量用試料 B はタングステン酸処理によりペプチドを除去した試料であるが、塩基性アミノ酸はこの処理によって遊離体のものも 30~50% 沈澱除去されることが実験により確かめられたので、主として定量用試料 A についての測定値に基づいてアミノ酸の消長を比較した。すなわち定量用試料 A について加水分解中の最高値 (* 印) を 100 とし、それに対する比較値を各加水分解時間毎に求め遊離率とし第 1 表に () 内で示した。従ってこの遊離率は定量菌に対して活性のあるペプチド状態のものも加算されている。また加水分解中の最高値 (* 印) を 100g 蛋白 (全窒素 16%) 中の含量に換算して第 1 表の最下段に示した。

* Preparation of Seasonings by the Hydrolysis of Proteins. Part IV. Studies on the Liberation and the Degradation of Amino Acids during Hydrochloric Acid Hydrolysis of Soybean Meal.

By Tetsuo HINO, Toshinao TSUNODA, Takuji TSUCHIYA, Kikuko NARUI, Makio TSUCHIYA and Atsuko USUI (Ajinomoto Co., Inc.)

第 1 表 各加水分解時におけるアミノ酸の定量値 (g/dl) I

アミノ酸 分解時間 試料	グリシン	アラニン	バリン	ロイシン	イソ ロイシン	プロリン	フェニ ルアラニ ン	チロシン	トリプ トファ ン
0.5 { A	0.120 (80)	0.051 (42)	0.099 (64)	0.136 (59)	0.048 (32)	0.092 (58)	0.095 (56)	0.085* (100)	0.0
0.5 { B	0.085	0.038	0.085	0.121	0.032	0.054	0.068	0.048	
1 { A	0.139 (93)	0.078 (65)	0.121 (78)	0.198 (86)	0.077 (51)	0.105 (66)	0.120 (71)	0.085 (100)	0.0
1 { B	0.118	0.065	0.122	0.165	0.059	0.089	0.095	0.061	
2 { A	0.149* (100)	0.088 (69)	0.125 (80)	0.218 (94)	0.109 (72)	0.110 (69)	0.131 (78)	0.083 (97)	0.0
2 { B	0.126	0.079	0.135	0.203	0.088	0.099	0.112	0.064	
4 { A	0.148 (100)	0.100 (78)	0.145 (93)	0.226 (98)	0.124 (82)	0.130 (82)	0.138 (81)	0.078 (92)	0.0
4 { B	0.125	0.098	0.142	0.219	0.110	0.112	0.132	0.066	
6 { A	0.144 (97)	0.111 (87)	0.150 (96)	0.228 (98)	0.134 (88)	0.140 (88)	0.145 (86)	0.077 (90)	0.0
6 { B	0.123	0.107	0.155	0.210	0.115	0.128	0.140	0.069	
8 A	0.136 (91)	0.120 (94)	0.152 (97)	0.229 (98)	0.138 (91)	0.137 (86)	0.148 (87)	—	0.0
10 A	0.132 (89)	0.120 (94)	0.149 (95)	0.232* (100)	0.141 (93)	0.134 (84)	0.147 (87)	0.072 (85)	0.0
15 A	0.129 (87)	0.121 (94)	0.151 (97)	0.220 (94)	0.146 (96)	0.137 (86)	0.152 (90)	0.070 (82)	0.0
20 A	0.128 (86)	0.128* (100)	0.152 (97)	0.218 (94)	0.146 (96)	0.138 (87)	0.164 (97)	0.066 (78)	0.0
25 A	0.121 (81)	0.120 (94)	0.156* (100)	0.216 (93)	0.152* (100)	0.159* (100)	0.169* (100)	0.065 (77)	0.0
A の最高値を N 16% に換算	4.8	4.1	5.0	7.4	4.9	5.0	5.4	2.7	—

*印は最高値, () は *印の値を 100 とした比較値

各加水分解時におけるアミノ酸の定量値 (g/dl) II

アミノ酸 分解時間 試料	セリン	スレ オン	シスチン	メチ オン	アル ギン	ヒス チン	リジ ン	アスパ ラギ ン酸	グル タミン 酸
0.5 { A	0.144 (67)	0.087 (72)	0.012 (38)	0.014 (45)	0.137 (62)	0.040 (50)	0.079 (39)	0.128 (35)	0.205
0.5 { B	0.123	0.075	0.012	0.011	0.025	0.009	0.043	0.097	0.163
1 { A	0.176 (82)	0.095 (79)	0.020 (63)	0.021 (68)	0.167 (76)	0.063 (79)	0.123 (60)	0.186 (51)	0.305 (57)
1 { B	0.179	0.094	0.025	0.020	0.028	0.011	0.068	0.164	0.281
2 { A	0.209 (96)	0.101 (84)	0.026 (81)	0.025 (78)	0.182 (83)	0.073 (91)	0.153 (75)	0.250 (69)	0.428 (80)
2 { B	0.210	0.106	0.031	0.027	0.039	0.016	0.087	0.234	0.410
4 { A	0.215 (99)	0.104 (86)	0.032* (100)	0.028 (88)	0.190 (87)	0.076 (94)	0.161 (79)	0.316 (91)	0.490 (91)
4 { B	0.212	0.123	0.035	0.030	—	0.020	0.099	0.309	0.473
6 { A	0.218* (100)	0.106 (89)	0.032 (100)	0.029 (90)	0.195 (89)	0.077 (96)	0.171 (84)	0.332 (91)	0.533 (99)
6 { B	0.213	0.117	0.033	0.030	0.064	0.023	0.126	0.309	0.530
8 A	0.215 (99)	0.118 (98)	—	0.031* (100)	0.192 (88)	0.077 (96)	0.190 (93)	0.365* (100)	0.538 (100)
10 A	0.203 (93)	0.121* (100)	0.030 (94)	—	0.199 (91)	0.077 (96)	—	0.354 (98)	0.540* (100)
15 A	0.189 (87)	0.121 (100)	0.028 (88)	0.030 (97)	0.201 (92)	0.077 (96)	0.204* (100)	0.338 (93)	0.535 (99)
20 A	—	0.118 (98)	—	0.029 (90)	0.212 (96)	0.077 (96)	0.195 (96)	0.332 (91)	—
25 A	0.166 (76)	0.120 (100)	0.022 (69)	0.021 (68)	0.220* (100)	0.080* (100)	0.191 (94)	0.317 (87)	0.520 (97)
A の最高値を N 16% に換算	7.0	3.9	1.0	1.0	7.1	2.6	6.5	11.7	17.3

*印は最高値, () は *印の値を 100 とした比較値

結 果 考 察

大豆蛋白質のアミノ酸は先人によって各種発表されており, Block, Weiss, Bolling のアミノ酸組成表⁽⁹⁾にまとめられた値及び永原, 杉村⁽¹⁰⁾の値があるが, それらと本報の加水分解条件で加水分解中に示した最高値と比較すると遊離と同時に分解してしまうトリプトファンを除いて比較的よく一致する. ただし後に述べるようにチロシン, シスチン, メチオニンの分解が激しいので本報の値は低く出ていると考える. またアスパラギン酸の11.7%, グリシンの4.8%は文献値のどの値よりも高いが, 両アミノ酸とも最高値に達してから数時間で10%近く減少することからこの値を採るべきである. このように加水分解中のアミノ酸の消長は蛋白質からの遊離とアミノ酸自体の分解が重なってあらわれるので, この二つの面から考察してみる.

1. 遊離速度について 加水分解初期における遊離速度を1時間後における遊離率から3つのグループに分けると次の通りである.

- A. 80% 以上の遊離率を示すアミノ酸: チロシン, グリシン, スレオニン, セリン, ロイシン
- B. 65~80% の遊離率を示すアミノ酸: バリン, メチオニン, プロリン, フェニルアラニン, アルギニン, ヒスチジン
- C. 65% 以下の遊離率を示すアミノ酸: アラニン, シスチン, リジン, イソロイシン, アスパラギン酸, グルタミン酸

オキシアミノ酸の遊離が早いことは Desnuelle⁽¹¹⁾ らにより認められており, グリシンについてはグリシンが含まれるジペプチドが加水分解速度の早いことを Syngé⁽¹²⁾ が報告して本報の結果と一致している.

しかし Partridge⁽¹³⁾ らの弱酸分解においてアスパラギン酸, グルタミン酸が最初に遊離するという報告, 青山⁽⁴⁾, 市川⁽⁸⁾の脱脂大豆塩酸加水分解初期にグルタミン酸とアスパラギン酸のみが認められたという報告とは一致しない.

以上の報告はいずれもペーパークロマトグラフィーを主とした観察であって, 比較的含有量の多いこれらの酸性アミノ酸が加水分解の初期に認められたものと考えられ, 著者らのように遊離率から考えると酸性アミノ酸は比較的遅い群に属する. アスパラギン酸, グルタミン酸は最初の1時間では遊離率が65%に達しないが, その後はかなり急速に遊離が進み8時間で殆んど100%に達し, イソロイシン, フェニルアラニン, プロリン, アルギニン, バリンが15時間以降も徐々に遊離率が増加するのは遊離の仕方が異なるようである. これは蛋白中におけるアミノ酸の結合位置の違い, 或いは低級ペプチドになってからの加水分解速度の差にあると考えられる.

成田⁽¹⁴⁾はペプチド結合の近くに $\text{CH}_3\text{C}-$, $\text{CH}_3\text{C}-$ 基を持つバリン, イソロイシンからなるペプチドは, 水素イオンをペプチド結合に近づけ難いので加水分解が遅いとしており, Gordon ら⁽¹⁵⁾も塩基性アミノ酸を含むペプチドがグアニジル基, イミダゾール基のために同じ理由で中性アミノ酸に較べて遊離が遅いとしているが著者らの結果と矛盾しない.

小幡⁽¹⁶⁾によって脱脂大豆塩酸加水分解液中にバリンとイソロイシンから成るジケトピペラジンが見出されているが, 両アミノ酸とも加水分解20時間以降遊離率が増加していることから説明できる.

2. アミノ酸自体の変化について いちばん分解の激しいのはトリプトファンでシスチン, チロシン, メチオニン, セリンも変化が顕著に認められる. またグリシン, アスパラギン酸, アラニン, スレオニン, リジン, グルタミン酸, ロイシンも加水分解が進むにつれて減少が認められる. この結果は第2報で述べた糖類とアミノ酸とを強塩酸中で加熱し CO_2 の発生, ヒューマス態窒素の生成, アンモニア窒素の生成からアミノ酸の変化を比較したモデル実験の結果とよく一致している. ただフェニルアラニン, アルギニン, ヒスチジンがモデル実験では分解が比較的多かったのに対しアミノ酸の消長からは減少を示さなかったが, これは遊離と分解が或る分解時間からは釣合って減少を示さないからだと考えられる. アミノ酸自体の変化は第一に第2報で述べた Strecker 分解が考えられ, この反応によって各アミノ酸から生じたカルボニル化合物については第5報以後で述べる. その外的変化反応としては第3報で述べたグルタミン酸から脱水によってピログルタミン酸になる反応, メチオニンがメチル化してメチオニンメチルスルホニウム塩を形成する反応, ラセミ化する反応等があり続報する予定である.

結 括

微生物定量法により脱脂大豆の塩酸加水分解における各アミノ酸の消長を測定し, 次の結果を得た.

(1) 加水分解初期におけるアミノ酸の遊離度はアミノ酸の種類によって差があり, 比較的遊離速度の早いもの(1時間の遊離率 80% 以上)としてはチロシン, グリシン, スレオニン, セリン, ロイシン, 比較的遊離速度の遅いもの(遊離率 65% 以下)としてはシスチン, アラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, リジン, イソロイシンがあげられる。

(2) 遊離したアミノ酸自体の変化は遊離と共に完全に分解してしまうトリプトファンが最も激しく, シスチン, チロシン, メチオニン, セリンも減少が顕著である。これらの結果は第 2 報で述べたアミノ酸と糖類とを強塩酸中で加熱したモデル実験の結果とよく一致する。

終りに臨み御指導を戴いた東大名誉教授坂口謹一郎先生, 東大教授桜井芳人先生並びに味の素株式会社故堀信一常務取締役に厚く感謝の意を表します。

なお本報告の一部は昭和 31 年 4 月日本農芸化学会大会において発表した。

(1) 六所文三, 田中理七, 斎藤 裕: 本誌, 13, 916, 923, 936 (1937).	Publisher, 1956, p. 320.
(2) 神津得一郎: 本誌, 31, 80 (1957).	(10) 永原太郎, 杉村敬一郎: 栄養と食糧, 6, 33 (1954).
(3) 市川邦介, 吉永敏英: 醸工, 30, 34(1952).	(11) P. Desnuelle, A. Casal: <i>Biochim. et Biophysique Acta</i> , 2, 64 (1948).
(4) 青山虎彦, 鈴木守郎, 高林政敏: 茨城大学農学部学術報告, 3, 15 (1955).	(12) R. L. M. Synge: <i>Biochem. J.</i> , 39, 351 (1945).
(5) 堀 信一, 加藤二郎, 日野哲雄, 溝口直正: 本誌, 31, 17 (1957).	(13) S. M. Partridge, H. F. Davis: <i>Nature</i> , 165, 62 (1950).
(6) 堀 信一, 加藤二郎, 日野哲雄, 溝口直正: 本誌, 31, 19 (1957).	(14) 成田耕造, 土岐克之, 花房秀三郎: <i>The Protein</i> , 3, 107 (1952).
(7) 桐村二郎: ビオアセイ集談会誌, 1, 25(1954).	(15) A. H. Gordon, A. J. Martin, R. L. M. Synge: <i>Biochem. J.</i> , 35, 1369 (1941).
(8) M. J. Horn, A. E. Blum: <i>Cereal Chem.</i> , 33, 18 (1956).	(16) 小幡弥太郎, 水谷純也: 昭和 32 年 4 月, 昭和 33 年 4 月の日農化大会にて講演.
(9) R. J. Block, K. W. Weiss, D. Bolling: "Amino Acid Handbook", C. C. Thomas	

[農化 第 36 卷, 第 1 号, p. 85~91, 1962]

蛋白質の加水分解による調味料の製造 (第 5 報)*

脱脂大豆塩酸加水分解液中の中性カルボニル化合物の検索について

日野哲雄, 君塚明光, 伊東克己, 小笠原 武 (味の素株式会社川崎工場)

竹西忠男 (味の素株式会社中央研究所)

昭和 36 年 6 月 22 日 受理

緒 言

第 1 報~第 4 報⁽¹⁻⁴⁾で, 著者らは脱脂大豆の塩酸加水分解における各種成分の消長について報告したが, このとき, 炭水化物の分解産物が遊離してくるアミノ酸の一部と相互反応し, 複雑な生成物を生ずることが認められた。これらの中には有臭成分が含まれ, 予備実験の結果は, カルボニル化合物と含硫化合物がその主な成分であった。

大豆の有臭成分⁽⁵⁾, 或いは醤油の香氣成分については多くの報告があるが, 脱脂大豆の塩酸加水分解によって生ずる有臭成分については, 新式二号式の弱酸分解液に関して上野, 延原⁽⁶⁾の報告があるのみで, 強塩酸による加水分解に関しては未だ発表されていない。

* Preparation of Seasonings by the Hydrolysis of Proteins. Part V. Research of Neutral Carbonyl Compounds in the Hydrochloric Acid Hydrolysate of Soybean Meal.

By Tetsuo HINO, Akimitsu KIMIZUKA, Katsumi ITO, Tadao TAKENISHI and Takeshi OGASAWARA (Ajinomoto Co., Inc.)