

大豆乳清たん白質の栄養価の改善

IMPROVEMENTS OF THE PROTEIN QUALITY OF SOYBEAN WHEY

岸 恭一・寺井幸子・志塚ふじ子・木戸康博（徳島大学医学部）
井上五郎（甲子園大学）

Kyoichi KISHI¹, Sachiko TERAJ¹, Fujiko SHIZUKA¹,
Yasuhiro KIDO¹ and Goro INOUE²

¹Department of Nutrition, School of Medicine, The University of Tokushima,
Tokushima 770

²Koshien University, Takarazuka 665

ABSTRACT

In the previous paper we reported that the digestibility of soybean whey protein (pH 4.5 supernatant of soybean meal) heated at 168°C for two minutes was lower than that of soy protein isolate (SPI) in rats and human. In the present study we investigated the digestibility and the efficiencies of utilization of soybean whey protein (SWP) in mice in relation to the temperature and time of heating, water content of SWP, browning reaction, the activities of trypsin inhibitor (TI) and hemagglutinin (HA), dialysis treatment and amino acid supplementation. Mice fed untreated SWP lost weight and died at 3 to 7 days of feeding. TI activity and the digestibility of SWP were about 800 mg/g of crude protein and 50%, respectively. Heating of SWP destroyed TI and HA to the same extent as SPI and improved the digestibility but not as good as SPI. The inactivation of TI and the improvement in digestibility were less by dry heating than by moist heating. And browning reaction was more evident in dry heating. Proper heat treatment of SWP brought about better growth than SPI in mice. SWP caused hypertrophy of the pancreas, the small intestine and large intestine. Dialysis by ultrafiltration membrane (molecular weight cut-off; 14,000 and 50,000) had no effect on the digestibility of SWP. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 70-75, 1987.

脱脂大豆の水抽出液から酸沈澱により、分離大豆たん白質 (SPI) を分離した残りの上清は、脱脂大豆ミール固形分の約30%を占める。この大豆ホエーはアルブミン、非たん白質性窒素化合物、少糖類、塩類、フィチン酸塩などが含まれる。生物活性を持つたん白質として、トリプシンインヒビター (TI)、ヘマグルチニン (HA)、 β -アミラーゼ、酸性フォスファターゼ、リボキシゲナーゼ、その他が存在する¹⁾。SPIが大豆たん白質の約60%を占めるのに対し、ホエーたん白質は7~9%と少ない²⁾。しかし、そのアミノ酸組成について見ると、SPIに不足している含硫アミノ酸が多く²⁾、よ

り良質と考えられる。それにもかかわらず、大豆ホエーたん白質 (SWP) は、SPI に比べ、ほとんど利用されていない。

大豆中に含まれる栄養阻害物質³⁾の大部分が大豆ホエー部分に高濃度に集まるため、未処理の SWP を動物に与えると、消化吸收を障害し、体重は減少する⁴⁾。従って、SWP をそのまま食用として用いることはできない。しかし、豆類の毒性物質は一般に加熱により失活する³⁾。我々は前報において⁵⁾大豆ミールの pH 4.5 上清を分画分子量 40,000 のフィルターを用いて3回限外濾過し、瞬間殺菌器により 168°C、2 分間加熱処

理した SWP について、ラット及びヒトにおける栄養価を調べた。その結果、SWP を与えられたラットの成長は、メチオニン添加 SPI 群及びカゼイン群とほぼ等しく、メチオニン非添加 SPI 群よりも有意に大であった。また、ヒトにおいても、SWP 群と SPI 群の間に窒素出納の差は見られなかった。しかしながら、SWP の消化吸収率は幼若ラットで87%、成人で92%に過ぎず、SPI のそれぞれ93及び99%より低値を示した。

上で用いた SWP の TI 活性は市販の SPI (Fujipro R) とほぼ同じで、非常に活性は低かった。しかし大豆ホエーには少糖類が多量に含まれており、高温加熱処理したため、明らかに褐変していた。従って、前回報告した SWP サンプルの消化吸収率が低かったのは、TI や HA によるよりも、むしろ Maillard 反応物質のためであると考えられる。そこで今回は、大豆ホエーの加熱条件をいろいろ変えて、加熱条件と TI 及び HA 活性、褐変度並びにマウスにおける消化吸収率及び栄養価との関係について調べた。また、透析の影響、アミノ酸添加効果についても一部検討した。

実験方法

大豆ホエーサンプル

大豆ミールの pH 4.5 上清を中和後、分画分子量 40,000 のフィルターを用いて限外濾過し、約20倍の濃縮ホエーを得た。これをスプレッドライヤーで乾燥し、以下の大豆ホエーサンプルとして用いた。なお、このサンプルは、不二製油株式会社研究所に調製して頂いたものである。

大豆ホエーサンプルの一般組成を SPI のそれと対比して Table 1 に示す。大豆ホエーの粗たん白質含量は、SPI の約90%に比べ、約50%と低く、炭水化物量は逆に約40%と多い。脂質はどちらにも含まれていない。

Table 1. Composition of soybean whey protein (SWP) and soy protein isolate (SPI) (%)

Component	SWP	SPI
Protein (N×6.25)	51	88
Fat	0	0
Carbohydrate*	38	7
Ash	11	5

*Calculated by difference.

加熱条件

Maillard 反応及び生理活性物質の失活は水分含量

並びに温度条件により異なるので、乾燥大豆粉末をそのまま、あるいは10% (w/v) 懸濁液にして、以下のような加熱を行った。粉末の場合；105℃/5分、120℃/10分及び120℃/30分。10%溶液の場合；80℃/30分、95℃/10分、105℃/10分、105℃/20分、110℃/1分、110℃/10分、120℃/1分及び120℃/10分。100℃以下の加熱は各温度の水浴中で行い、それ以上の加熱にはオートクレーブを用いた。加熱時間はそれぞれの温度に達してから時間である。また加熱とは別に、低分子栄養阻害物質の除去並びに糖質除去による Maillard 反応の抑制の目的で、透析処理を行った。透析には分画分子量14,000及び50,000の透析チューブを用い、4℃の水道水で2日間透析した。50,000で透析したサンプルは120℃/10分加熱処理した。さらに、粉末120℃/10分処理サンプルは、たん白質に対しリジン4%、メチオニン1%、アルギニン3%及びトリプトファン1%を添加し、非添加サンプルと同様の動物実験を行った。

動物実験

それぞれの条件で加熱処理した大豆ホエーサンプルを凍結乾燥し、それを唯一のたん白質源として10% (N×6.25)たん白質食を作製した。これらの実験食を3週令の ddy 系雄マウス各群6匹に自由に与えて2週間飼育した。体重及び摂食量は毎日測定し、実験期末3日間の窒素出納を観察し、消化吸収率、生物価等を算定した。対照群には、カゼイン、SPI (Fujipro R) あるいはアミノ酸添加 SPI (メチオニン3%、スレオニン2%及びリジン2%)をたん白質源とした10%たん白質食を与えた。また、無たん白質食群を別に設けた。飼育期間終了後屠殺し、内臓重量を測定した。

測定法

凍結乾燥したそれぞれの加熱処理ホエーサンプルの褐変度は、日本電色工業製の測色色差計を用いて測定した（不二製油株式会社研究所に測定をお願いした）。TI 活性の測定は Kakade らの方法⁶⁾、HA 活性は Liener の方法⁷⁾によった。

結 果

体重の経時的変化を Fig. 1 に示した。未処理 SWP 群の摂食量は1.1 g/日と少なく、これは無たん白質食群の半分以下、カゼイン群の約1/5に過ぎなかった。体重減少も無たん白質食群よりも著しく、3日目より死に始め、1週間以内に全例死亡した。分画分子量14,000あるいは50,000の膜で透析しても、体重減少量は未処理のものと変わらず、また同様の期間に死亡した。

粉末120℃/10分加熱により体重増加が見られたが、

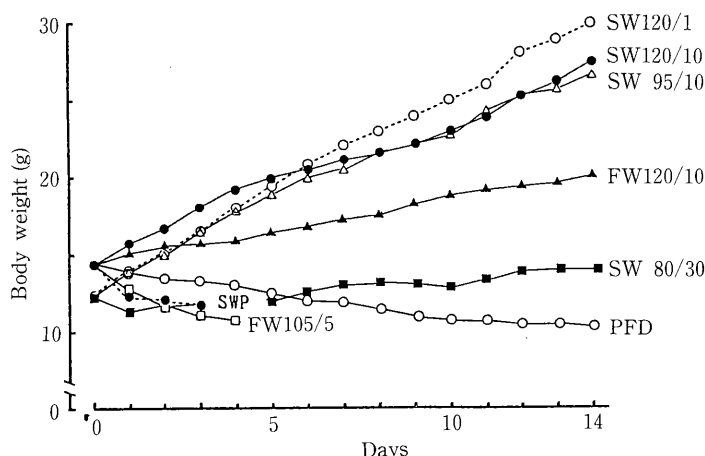


Fig. 1. Changes of body weight in mice fed heated or unheated soy whey protein diet.

Abbreviations are : SWP, unheated soy whey protein ; SW 120/1, SWP heated in water suspension at 120°C for 1 minute ; FW 120/10, SWP heated in dry powder at 120°C for 10 minutes.

10%液 120°C/1分加熱群より明らかに劣っていた。また、粉末 120°C/10分加熱サンプルにアミノ酸を添加すると、摂食量は変化しなかったが、体重増加量は2倍となった。80°Cでは30分加熱しても体重はわずかな増加にとどまった。これに対し、10%液 95°C/10分の加熱により、10%液 120°C/10分加熱群と同じ体重増加を示した。

SPIのTI活性は30 mg/g たん白質以下であったが、未処理 SWP のそれは約800と高かった (Table 2)。粉

末 105°C/5分の加熱ではTI活性は約700となり、わずかな低下が見られたに過ぎなかったが、粉末 120°C/10分以上の加熱ではSPIと同様の低値となった。10%懸濁液にして加熱すると、80°C/30分のTI活性が約150と高かったのを除き、95°C以上の加熱条件ではすべてSPIと同程度にまでTIは失活した。なお、HA活性は100°C/5分の加熱により完全になくなった。褐変の程度は、未処理 SWP の色を1として表わすと、10%溶液として加熱したサンプルでは1.2~1.7であったが、粉末加熱においては105°Cで2.4、120°Cでは約5となり、著しい褐変が見られた (Table 2)。

SPIに比べ、未処理 SWP 群の肝、腎及び脾の重量は有意に低く、またTI活性の高かったその他の加熱処理群においても同様の傾向が見られた (Table 3)。これに対し、脾重量はTI活性の高い群で大きかった。小腸重量もTI活性の高い群で低い群よりも大きい傾向にあった。大腸重量は、今回の加熱処理条件の範囲ではいずれもSWP投与群において、SPI群よりも大きく、特に粉末加熱群では未処理 SWP 群と同程度に大きかった。

加熱処理と消化吸収率の関係をTable 4に示した。未処理 SWP 群は1週間以内に全例死亡したもので、その消化吸収率の算定はSWP投与後数日間以内に限られたが、その結果は約50%と見積られ、SPIの90%に比べ著しく低かった。10%液として加熱すると、いずれのサンプルも約80%にまで改善された。これに対し、粉末 120°C/30分の加熱では70%どまりであった。また、粉末 120°C/30分の加熱によりTI活性はSPIと

Table 2. Effect of heat treatment on trypsin inhibitor and color density of soybean whey protein (SWP)

	Trypsin inhibitor (mg/g protein)	Color density (%)	
SWP	797	100	1.0
SPI	27	3	1.0
FW 105/ 5	717	90	2.4
FW 120/10	19	2	4.9
FW 120/30	16	2	5.2
SW 80/30	148	19	1.2
SW 95/10	21	3	1.7
SW 105/10	18	2	1.3
SW 105/20	26	3	—
SW 110/10	23	3	—
SW 120/ 1	21	3	1.3
SW 120/10	14	2	1.7

For abbreviations see Fig. 1.

Table 3. Organ weight in mice fed heated soybean whey protein

(% Body weight)

	(n)	Liver	Pancreas	Spleen	Kidney	Intestine	
						Small	Large
SPI	(6)	4.77 [*]	0.93 [*]	0.34 ^{**}	1.81 [*]	6.06	1.05 ^{**}
SWP	(4)	4.02 [']	1.64 [']	0.14 [']	1.46 [']	8.34	1.93 [']
FW 105/ 5	(5)	4.17 [']	1.79 [']	0.25 [']	1.55 [']	8.98 [']	1.93 [']
FW 120/10	(6)	4.48	0.89 ^{**}	0.28 ^{**}	1.67	6.44	1.79 [']
FW 120/30	(6)	4.72	0.93 ^{**}	0.29	1.73 [']	5.82	1.97 [']
SW 80/30	(6)	4.25	1.28 ^{**}	0.24 [']	1.52	10.92 [']	2.21 [']
SW 95/10	(6)	4.95	0.89 ^{**}	0.49 [']	1.86 [*]	6.33	1.31 ^{**}
SW 105/10	(6)	5.41 ^{**}	0.95 ^{**}	0.46 [']	1.72	5.84	1.34 ^{**}
SW 120/ 1	(6)	5.31 ^{**}	0.97 ^{**}	0.48 [']	1.65	6.19	1.34 [']
SW 120/10	(6)	5.60 ^{**}	0.75 ^{**}	0.43 [']	1.63	6.47	1.31 [']

['] p<0.05, ^{*} p<0.01: Significantly different from SPI. ['] p<0.05, ^{**} p<0.01: Significantly different from SWP. For abbreviations see Fig. 1.

Table 4. Effect of heat treatment on digestibility and net protein utilization (NPU) of soybean whey protein

	Digestibility	NPU
	%	
SPI	90± 1 ^{**}	32± 4
SWP	(47±13 ['])	—
FW 105/ 5	—	—
FW 120/10	68± 4 [']	23± 2 [']
FW 120/30	23±31 [']	—
SW 80/30	76± 4 [']	12± 9 [']
SW 95/10	81± 1 [']	38± 4 [']
SW 105/10	78± 2 [']	38± 5 [']
SW 105/20	80± 2 [']	38± 2 [']
SW 110/ 1	75± 2 [']	38± 4 [']
SW 110/10	81± 3 [']	38± 2 [']
SW 120/ 1	78± 3 [']	44± 3 [']
SW 120/10	80± 2 [']	32±12

['], ^{*}: Significantly different from SPI (p<0.05, p<0.01). ['], ^{**}: Significantly different from SWP (p<0.05, p<0.01). For abbreviations see Fig. 1.

同程度にまで失活したにもかかわらず、強い Maillard 反応を起こし、消化吸収率は平均23%と非常に低下した。

考 察

主要な結果のまとめを Table 5 に示した。マウスは未処理 SWP 食をほとんど食べず、著しい体重減少をきたし、3～7 日目に全例死亡した。摂食量の低下並びに体重減少量は無たん白質食群より大であった。無たん白質食投与では14日間1例の死亡も見られず、ま

た、マウスを絶食にしても3日で死ぬとは考えられないので、未処理大豆ホエー中に強い栄養阻害物質が存在していることは明らかではある。未処理ホエー及び TI 活性の高いサンプルを投与したマウスの脾、小腸及び大腸の重量は、SPI 群、カゼイン群等と比べ、有意に大となった。また、それらの群においては消化吸収率が低い傾向にあった。

TI 活性は、ホエー粉末 120℃/10分以上あるいはホエー懸濁液 95℃/10分以上の加熱でほとんど失活した。また HA 活性は、TI が失活するような加熱条件では全く活性を示さなかった。加熱処理により TI 活性が SPI と同程度の低値を示したホエーサンプルにおいても、その消化吸収率は80%にとどまり、SPI の90%には達しなかった。生大豆摂取時の成長阻害並びに脾肥大の約40%は TI によると言われるが⁸⁾、残りの60%の原因については十分に分かっていない。その原因の1つは、大豆たん白質そのものが加熱処理をしないと酵素反応を受けにくいことによるのであろう。HA も毒性を発揮するが、加熱すると TI よりも容易に失活し、また HA を除去しても大豆の栄養価はほとんど改善されない⁹⁾。Schingoethe らは¹⁰⁾、大豆ミールの pH 4.4 上清中の成長阻害因子を分画し、成長阻害の40%は分子量5,000以上の成分に基づき、残りの60%の大半は1,500～800の成分によると報告している。しかし今回、大豆ホエーを分画分子量14,000及び50,000の膜を用いて2日間透析し、糖質は1/5～1/7に、また Na は1/25以下に低下したサンプルを用いてマウスの成長を観察したが、未処理ホエーと同様の体重減少を示し、透析の効果は全く認められなかった。本実験に用いた種々の加熱条件では、SWP の消化吸収率は80%にまでしか改善されなかったが、これは加

Table 5. Nutritive value of soybean why protein in mice

Diet	(n)	Food intake	Weight gain	Digest-ibility	PER	NPU
		g/day	g/day	%		
SWP	(6)	(1.1±0.1 ['])	(-0.8±0.9 ['])	(47±13 ['])	—	—
FW 120/10	(6)	4.9±0.5	0.4±0.1 [']	68±4 [']	0.8±0.1 [']	23±2 [']
FW+AA ¹	(5)	5.0±0.5	0.8±0.3	68±5 [']	1.5±0.6	37±14
SW 120/1	(6)	4.9±0.7	1.3±0.1 [']	78±3 [']	2.3±0.2 [']	44±3 [']
SPI	(6)	5.4±0.5	0.7±0.1 [']	90±1 [']	1.3±0.1 [']	32±4 [']
SPI+AA ²	(6)	5.0±0.5	1.1±0.1 [']	89±1 [']	2.3±0.1 [']	45±3 [']
Casein	(6)	5.1±0.3	0.9±0.1 [']	93±2 [']	1.7±0.2 [']	44±12 [']

['] p<0.05, ^{''} p<0.01: Significantly different from SPI. * p<0.05, **p<0.01: Significantly different from casein.

¹ FW+AA; SWP heated in dry powder at 120°C for 10 minutes supplemented with 4% lysine, 1% methionine, 1% tryptophan and 3% arginine.

² SPI+AA; SPI supplemented with 3% methionine, 2% threonine and 2% lysine.

熱条件が適当でなかったためか、あるいは熱安定性のプロテアーゼ・インヒビターが存在しているためかも知れない¹¹⁾。

乾燥ホエー粉末をオートクレーブで加熱すると明らかな Maillard 反応が見られたが、水懸濁液として加熱すると褐変は軽度であった。また、TI 活性も、乾燥粉末よりも水を加えて加熱した方がより低い温度で失活した。粉末 120°C/30 分の加熱では強い褐変を示し、TI 活性は SPI と同程度に低下したにもかかわらず、消化吸収率は 23% と著しく低下した。このように、過度の加熱では逆に消化性を低下させる。Maillard 反応で利用性が低下するアミノ酸は、主にリジン、トリプトファン、メチオニン及びアルギニンであるので、粉末 120°C/10 分加熱サンプルにそれらの 4 種類のアミノ酸を添加すると、摂食量や消化吸収率に変化は見られなかったが、体重増加量は約 2 倍となった。

以上のように、SWP の消化吸収率は加熱により明らかに改善されるが、SWP の消化性並びにたん白質利用効率を最大にするには、さらに詳しく加熱条件を検討する必要があると共に、他の処理方法についても考えねばならない。

文 献

- Smith, A. K. and Wolf, W. J. (1961): Food uses and properties of soybean protein. II. Physiological and chemical properties of soybean protein. *Food Tech.*, **15**, 12-31.
- van Etten, C. H., Hubbard, J. E., Mallan, J. H., Smith, A. K. and Blessin, C. W. (1959): Amino acid composition of soybean protein fractions. *J. Agric. Food Chem.*, **7**, 129-131.
- Liener, I. E. (1962): Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am. J. Clin. Nutr.*, **11**, 281-298.
- Rackis, J. J., Smith, A. K., Nash, A. M., Robbins, D. J. and Booth, A. H. (1963): Feeding studies on soybeans. Growth and pancreatic hypertrophy in rats fed soybean meal fractions. *Cereal Chem.*, **40**, 531-538.
- 岸 恭一, 寺井幸子, 大栗幸子, 志塚ふじ子, 山本 茂, 井上五郎 (1986): 大豆乳清たん白質の栄養価. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **7**, 47-52.
- Kakade, M. L., Rackis, J. J., McGhee, J. E. and Puski, G. (1974): Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.*, **51**, 376-382.
- Liener, I. E. (1955): The photometric determination of the hemagglutinating activity of soyin and crude soybean extracts. *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 223-231.
- Kakade, M. L., Hoffa, D. E. and Liener, I. E. (1973): Contribution of trypsin inhibitor to the deleterious effects of unheated soybeans to rats. *J. Nutr.*, **103**, 1772-1778.
- Turner, R. H. and Liener, I. E. (1975): The effect of the selective removal of hemagglutinating activity from soybean meal on the nutritive value of the meal for rats. *J. Nutr.*, **105**, 177-184.

- lutinins on the nutritive value of soybeans. *J. Agric. Food Sci.*, **23**, 484-487.
- 10) Schingoethe, D. J., Tidemann, L. J. and Uckert, J. R. (1974) : Studies in mice on the isolation and characterization of growth inhibitors from soybeans. *J. Nutr.*, **104**, 1304-1312.
- 11) Deshpande, S. S. and Nielsen, S. S. (1978) : In vitro digestibility of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: The role of heat-stable protease inhibitors. *J. Food Sci.*, **52**, 1330-1334.