

豆腐類のトリプシンインヒビター活性の測定

Measurement of Trypsin Inhibitor Activity of Different Type of Tofu

新城澄枝・宮城裕子・西田涼子・上江洲香代子・島田勝政・山本 茂
(琉球大学地域医療研究センター)

高松清治・山本孝史(不二製油株式会社開発本部)

Sumie SHINJO¹, Yuko MIYAGI¹, Ryoko NISHIDA¹, Kayoko UEZU¹,
Kiyoharu TAKAMATSU², Takashi YAMAMOTO², Katsumasa SHIMADA¹
and Shigeru YAMAMOTO¹

¹ Research Center of Comprehensive Medicine, University of the Ryukyus,
Okinawa 903-01

² Applied Research Institute, Fuji Oil Co., Izumisano 598

ABSTRACT

In previous studies, the beneficial effects of trypsin inhibitor (TI) on the inhibition of cancer induced in animals were evident. However, intake of it in human is not recognized, because it is assumed to be hazardous. In this experiment, we tried to find the TI activity of commercially available "tofu" as the first step to find the actual intake of TI in our daily life. Average TI activity of dried raw soybean (n=4) was 4811 unit/100 g. Average retention of TI in comparison to the dried raw soybean was : "Momen-tofu", 2.3% (n=7) ; "Yushi-tofu", 3.0% (n=5) ; "Kinugoshi-tofu", 4.4% (n=5) and "Jyuten-tofu", 5.6% (n=1). The result indicates that we have been consuming active TI in our daily life. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **16**, 124-127, 1995.

大豆ホエイたん白質は、全たん白質の約8%を占め、各種の生理活性物質を含んでいる。そのうち最も多いのはトリプシンインヒビター (TI) であるが、トリプシンの活性を阻害することから「抗栄養因子」と考えられている^{1,2)}。一方、TIや大豆ホエイが制癌作用を持つことを、幾つかの研究グループおよび我々は動物実験で観察した³⁻¹⁰⁾。しかし、ホエイおよびTIが持つ決定的な問題は、「安全性が低い」である。それ故、これまで我々はTIを摂取すべきでなく、また現実の摂取は無いと考えてきた。

しかし、これまでの研究で我々は、TI活性の高い大豆ホエイたん白質の摂取でも、ラットやマウスは食欲・成長および臓器に障害を起こさず、化学発癌剤による皮膚癌や消化器癌 (主に肝臓癌) を抑制することを観察した⁸⁻¹⁰⁾。このことは、TIの摂取は、我々が常識

的に考えているよりも障害の程度が小さいことを示唆している。一方、豆腐・豆乳の製造過程で行う熱処理は比較的低温で (75~100°C)、時間もそれほど長くないことは我々の食する豆腐・豆乳には活性型TIが残っていることを示唆している。中には、加熱を低く抑える製法もある。もしこれが事実なら我々は、長年月に渡り日常的に活性型TIを摂取している可能性がある。摂取量を明らかにすれば、TIの安全性や制癌作用について、我々の生活から実証できるであろう。その為には、豆腐・豆乳のTI活性、調理による変化、現実の摂取量などを明らかにする必要がある。本実験では、初めての試みとして市販の大豆および豆腐製品のTI活性を調べた。

実験方法

乾燥生大豆(米国産3, 国産1), 市販木綿豆腐(沖縄産5, 岡山, 福岡産各1), 市販ゆし豆腐(沖縄産5), 市販絹ごし豆腐(沖縄産5), 市販充填豆腐(沖縄産1)の計22食品をTI分析用試料として用いた。これらの製品の主な違いは, “ゆ抜き”の程度すなわち, “ゆ”の含有量の差である。大豆中のTIは, そのほとんどが乳清区分に移行する。そこで, 豆腐類も“ゆ”の部分にTIが多く存在するのではないかと考え, ゆし豆腐を用いて, “ゆ”と“固形分”についてもTI活性を測定した。食品からのTI抽出は希塩酸を用いた(終濃度 10^{-3} M HCl)。TI活性の測定はBenzoyl-arginine-p-nitroanilide-hydrochlorideを基質とするBAPA法(Kakadeらの方法)によった¹¹⁾。Trypsin標準試薬としてSigma type XIを用いた。吸光度は島津製作所製,

UV-1600分光光度計を用い, 波長410 nmで測定した。

Trypsin活性は, BAPAを基質として1分間に1 μ molのp-nitro-anilineを生成する量を1 unit (U) とする。また, TI活性はTrypsin 2Uを50%阻害する量を1Uとした。回収率は94.9%であった。

結 果

乾燥生大豆および豆腐類のTI活性量をTable 1に示した。各食品に付してある番号は産地または製造業者の違いを示している。値は各食品100 g当たりのTI活性含有量(U)ならびに乾燥生大豆100 gからの製品総出来高中の総TI活性含有量(U)で示した。なお, 総TI活性含有量については, 生大豆100 gから木綿豆腐290 g(本土産は400 g), ゆし豆腐811 g, 絹ごし豆腐530 g, 充填豆腐560 gの製品が出来上がるものとして算出した。乾燥生大豆1~3は米国産, 大豆4は日本・九州

Table 1. T.I. activity in soybean and different type of tofu

Food item	Trypsin inhibitor			
	Total amount (g)* ¹	U/100 g* ²	U/Total amount * ³	
Dry soybean	(U.S.A) 1	100	5581	
	(//) 2		5326	
	(//) 3		5523	
	(Japan) 4		2813	
Momen-tofu	(Okinawa) 1	290	29	85
	(//) 2		14	41
	(//) 3		15	44
	(//) 4		42	122
	(//) 5		91	264
	(Okayama) 6		102	408
	(Fukuoka) 7		23	92
Yushi-tofu	(Okinawa) 1	811	31	254
	(//) 2		12	98
	(//) 3		12	98
	(//) 4		9	75
	(//) 5		31	252
Kinugoshi-tofu	(Okinawa) 1	530	14	76
	(//) 2		31	164
	(//) 3		64	338
	(//) 4		46	245
	(//) 5		65	345
Jyuten-tofu	(Okinawa) 1	560	51	269

*1. Total amount (g) made from 100 g of dry soybean.

*2. T.I. activity in 100 g of food item.

*3. T.I. activity / total amount of the food product made from 100 g of dry soybean.

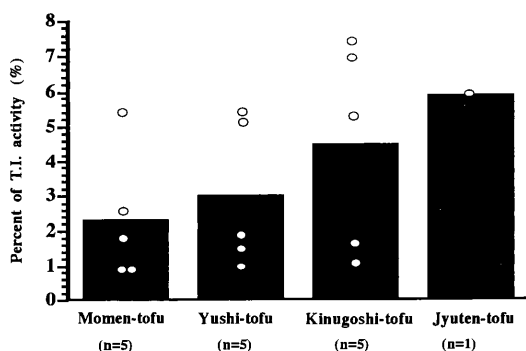


Fig. 1. Percent T.I. activity of "tofu" against that of dry soybean.

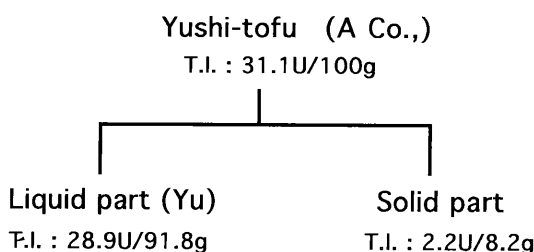


Fig. 2. Contents of T.I. activity in liquid (Yu) and solid parts of yushi-tofu.

産である。国産大豆は米国産大豆に比べて豆腐の出来高(収率)が悪いといわれているが、TI含有量もかなり低いようである。また、Table 1より各食品の種類ならびに製造者の違いによりTI含有量にかなりのひらきがあることがわかる。次に、乾燥生大豆100g中の平均TI含有量(4811U)を基に、大豆100gから出来上がるそれぞれの製品総量中のTI活性残存率を求めFig. 1に示した(沖縄産のみ)。縦軸にTI活性残存率(%)を示し、それぞれのバーの高さは各食品のTI活性残存率の平均値を、また、図中の○印はそれぞれの分散を示した。それぞれ平均残存率は、木綿豆腐2.3%、ゆし豆腐3.0%、絹ごし豆腐4.4%そして充填豆腐が5.6%であった。Fig. 2に“ゆ”と“固形分”中のTI活性含有量を示した。A社のゆし豆腐は100g中に31.1UのTIを含んでいるが、その93%に相当する28.9UのTI活性は“ゆ”に在ることが認められた。

考 察

大豆は日常の食生活ではよく煮炊きをし、また豆腐

をはじめとする大豆加工品はその製造工程中に熱処理を施すため、TIのような酵素類は失活し、その害作用が防がれていると考えられてきた。しかし今回の我々の測定結果では、豆腐類のTI活性残存率は、木綿豆腐0.9~5.5%(平均2.3%)、ゆし豆腐0.9~5.3%(3.0%)、絹ごし豆腐1.0~7.2%(4.4%)、充填豆腐が5.6%であった。

豆腐類のTI活性は、製品の種類ならびに業者による差があった。差の原因の1つに“ゆ”の捨てこぼしが考えられる。言い換えれば“ゆ”の多い食品でTI残存率が高かった。それは、Fig. 2に示した結果とも一致する。豆腐類の製造法は、まず一晩水に漬けて十分にふやかした原料大豆を加水しながらグラインダーで磨砕して「ご」を作り、それを濾過して豆乳をとる。残ったカスがオカラである。ゆっくり加熱した豆乳に凝固剤を加えて凝固物と液(ゆ)ができる。そのままを食するのが「ゆし豆腐」、凝固物と“ゆ”を速やかに金属箱に詰めて固めたものが「絹ごし豆腐」、凝固物を木綿の濾布をしいた穴のあいた木製の型箱に盛り込み、重しをして、水切り(ゆ抜き)をしたものが「木綿豆腐」である。また、「充填豆腐」は豆乳と凝固剤をパックに入れシールをし、全体をゲル状に固めたものである。すなわち、充填豆腐、ゆし豆腐、絹ごし豆腐は、この水溶液を利用しているが、木綿豆腐ではかなり捨てる。この上澄み液の利用の割合が、製品のTI活性の差になっていると考えられる。

製品の種類ならびに業者によるTI活性残存率の差の原因としては、製造工程中の熱処理法も考えられる。しかしながらTIは、他のたん白質に比べて熱には比較的安定なようである。堀井は¹²⁾大豆粉を乾熱器に入れて加熱した場合、100°Cで5時間後も80%のTI活性が保たれ、120°Cに温度を上げて30分後で20%程度の活性を保ち、また生大豆抽出液を常圧下で30分加熱しても10~20%の活性が残存することを報告している。大豆乳清たん白質の栄養価の改善を目的として、種々の条件下でTIの失活を試みた岸らの報告^{13,14)}からは、Maillard反応などの問題もあり、TI活性の100%失活の難しさをうかがいしることができる。大豆中には、Bowman-Birk InhibitorとKunitz Inhibitorが多くふくまれているが、中でもBowman-Birk Inhibitorは他の一般たん白質とは非常に異なったアミノ酸組成を示し、トリプトファン、グリシンをまったく含まず、シスチン含量が約20%で、S-S結合を多く作り、非常に安定な三次元構造を保っているため、水溶液で100~105°Cで加熱しても変性を起こさない¹⁵⁾。このようにTI活性が熱に比較的安定な上に、豆腐製造過程で

の加熱は比較的穏やかであるため、我々は日常的に活性型TIを摂取しており、その量は何ら健康上の問題を起こすことなく、むしろ制癌作用のようなある種の生理機能を発揮していることを期待させる。特に伝統的な“生しぼり法”は、加熱温度が最高80°C程度で時間も30分程度である。この方法は、大豆特有の匂いが残り、また味の点からも好む者が多い。一方、近代的な装置を使った“煮とり法”では加熱温度は高く、TI活性も低いと考えられる。また、以上のことは、TI活性の高い豆腐類を任意に製造できることを示すものである。今後、使用原料豆すなわち大豆の選別、熱処理の方法、pH、凝固剤の種類、消泡剤使用の是非、“ゆ”抜きの程度などとTI活性の関係を明らかにする必要がある。また、人々の現実の摂取量およびその制癌効果についても明らかにしてゆきたいと考えている。

文 献

- 1) Liener IR (1962) : Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am J Clin Nutr*, **11**, 281-298.
- 2) Hooks RD, Hays VW, Speer VC and McCall JT (1965) : Effect of raw soybeans on pancreatic enzyme concentrations and performance of pigs. *Fed Proc Am Soc Exp Biol*, **24**, 894.
- 3) Troll W, Wiesner R, Shellabarger CJ, Holtzman S and Stone JP (1980) : Soybean diet lowers breast tumor incidence in irradiated rats. *Carcinogenesis*, **1**, 469-472.
- 4) McGuinness EE, Morgan RG, Levison DA, Frape DL, Hopwood D and Wormsley KG (1980) : The effects of long-term feeding of soya flour on the rat pancreas. *Scand J Gastroenterol*, **15**, 497-502.
- 5) Troll W, Belman S, Wiesner R and Shellabarger CJ (1979) : Protease action in carcinogenesis. In: *Biological Functions of Proteinases*. Holzer Z and Tschesche H, eds., Springer-Verlag, Berlin. pp.165-170.
- 6) Birnboim HC (1982) : DNA strand breaks in human leukocytes exposed to a tumor promoter, phorbol myristate acetate. *Science*, **215**, 1247-1249.
- 7) Corasanti JG, Hobika GH and Markus G(1982) : Interference with dimethylhydrazine induction of colon tumors in mice by ϵ -aminocaproic acid. *Science*, **216**, 1020-1021.
- 8) 山本 茂, 上江洲香代子, 安里 龍, Limtrakul PN, Suttajit M (1992) : 大豆ホエイたん白質がマウスの皮膚癌に及ぼす影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **13**, 76-79.
- 9) Limtrakul PN, Suttajit M, Semura R, Shimada K and Yamamoto S (1993) : Suppressive effect of soybean milk protein on experimentally induced skin tumor in mice. *Life Sci*, **53**, 1591-1596.
- 10) 勢村利恵, 島田勝政, 加藤克幸, 大城吉秀, 新城澄枝, 山本 茂(1994) : 大豆ホエイたん白質が肝臓癌に及ぼす影響. 大豆たん白質研究会会誌, **15**, 130-133.
- 11) Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE and Puski G (1974) : Determination of trypsin inhibitor activity of soy proteins : A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem*, **51**, 376-382.
- 12) 堀井正治(1990) : 米食文化と大豆食品. 食の科学, **144**, 30-37.
- 13) 岸 恭一, 寺井幸子, 大栗幸子, 志塚ふじ子, 山本 茂, 井上五郎(1987) : 大豆乳清たん白質の栄養価の改善. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **8**, 70-75.
- 14) 木戸康博, 多田文子, 寺井幸子, 志塚ふじ子, 井上五郎, 岸 恭一(1988) : 大豆乳清たん白質の加熱条件と消化率. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **9**, 49-53.
- 15) 村地 孝, 浅田敏雄, 藤井節郎(1980) : 蛋白分解酵素と生体制御. 学会出版センター, 東京, PP. 187-202.