

蛋白質原料の酸分解に於けるアミノ酸類の生成過程に就て

青山虎彦・浅川幹次

On the Process of Amino Acid Formation during the Hydrolysis of Protein Materials by Mineral Acids.

TORAHIKO AOYAMA and KANJI ASAKAWA.

蛋白質原料を鉱酸によつて加水分解すると各種アミノ酸類の混合物を生成するのであつて、所謂アミノ酸液として直接に又は醤油原料として液体調味料に利用せられている。而して微生物を利用して其の enzyme の作用によつて分解した場合に比べて分解の程度は相当に進んでいることも事実である。然しながら尙且単分子の個々のアミノ酸に完全に分解されているとは言えない場合がある。又各種アミノ酸は夫々蛋白質構成分子となつているが其の結合の組合せや状態に就ては未だ明らかでない。又其の結合の組合せや状態によつて簡単に分離するものもあろうし、又仲々分離し難いものもあろう。此等の現象の一端を説明する一例としては、坂口・角田・石塚氏等の研究⁽¹⁾による醸造醤油の Bioassay によるアミノ酸の分析成績を見ても明らかである。説明の爲再録すると第1表の如くである。

第1表によれば enzyme による大豆蛋白質の加水分解

第 1 表

アミノ酸種類	醬油 (%)	醬油の加水分解物 (%)	想定値 (%)
L-arginine HCl	0.660	0.639	0.678
DL-aspartic acid	0.326	0.523	0.676
cystine	0.026	0.093	0.078
L-glutamic acid	1.208	2.336	2.290
glycine	0.290	0.415	0.441
L-histidine	0.142	0.162	0.229
DL-isoleucine	0.388	0.384	0.504
L-leucine	0.678	0.704	0.776
L-lysine HCl	0.368	0.567	0.521
DL-methionine	0.095	0.035	0.103
DL-phenylalanine	0.370	0.345	0.510
L-proline	0.697	0.687	0.727
DL-serine	0.480	0.567	0.504
DL-threonine	0.306	0.301	0.349
DL-tryptophane	0.030	0.007	0.139
L-tyrosine	0.072	0.096	0.159
DL-valine	0.493	0.521	0.507

註 想定値は文献値より計算したものである。

の場合と、此の分解物を更に塩酸によつて加水分解した場合とに於けるアミノ酸の分解生成結果が示されている。

即ち aspartic acid, cystine, glutamic acid, glycine, lysine 等は enzyme の作用 (一般醤油製造過程に於ける) では尙 monomer になつていないのが酸分解によつて更に monomer に分離された事実を示している。一方では生成したアミノ酸を更に分解減少する場合もあるが之は本論の問題外であるから省略する。

此等アミノ酸類の分解過程に於てアミノ酸類が如何なる順序によつて分離されていくか、分離され難い結合と分離され易い結合とはどうなつているか等の点に就ては全くわかつていない。

将来の蛋白質分解物を利用した調味料等の研究に於ては此の間の問題を明確ならしめることにより飛躍的な成果を期待することが出来るであろう。

著者等は蛋白質原料を酸類で加水分解する場合の分解過程を先ず定性的に確認する目的で大豆蛋白質を塩酸で分解した場合の分解過程に就て研究したので茲に報告する。

実験の部

1. 試料

抽出脱脂大豆を使用した。

total nitrogen 7.19%
total reducing sugar 17.28%

2. 実験方法

1m 硝子管付 1l 丸底 flask を使用し抽出脱脂大豆 150g に HCl 450cc (16%) を添加し、砂浴上で加熱し分解した。煮沸を開始してから 1, 3, 5, 7, 11, 13 時間毎に内容物を 60~70cc 宛採取し、直ちに glass filter で濾過し濾液に就て下記の操作を実施し paper chromatography 及び一般分析の試料とした。

(1) 1~2cc を採り NaOH 溶液で大略中和し 3 倍になる程度に稀釈し、paper chromatography の試料とした。

(2) 5cc を 100cc の mess flask に採り NaOH 溶液で大略中和し total nitrogen (Kjeldahl method), NH₂-

nitrogen (Van Slyke method), reducing sugar (Bertrand method) 等の定量の試料とした。

(2) 40cc を採り NaNO₂ 10g を少量宛約1時間を費して添加して脱アミノし其の 30cc に 40% (g/cc) HCl 10cc を加え 50cm 硝子管付 100cc 三角 flask 中で 4~5 時間煮沸加水分解し、分解終了後 Na₂CO₃ で中和し之を濾過した後 2倍に稀釈して paper chromatography の試料とした。(NaNO₂ を添加すると油状物質が浮上するが之を濾別する)

3. 各時間毎の試料の分析値

各時間毎に採取した試料に就て分析した結果は次の如くである。

時間	T. N	NH ₂ -N	$\frac{NH_2-N}{T. N} \times 100$	reducing sugar
1	1.74	0.74	42.5	2.25
3	1.85	1.04	56.2	1.55
5	1.92	1.16	60.4	0.84
7	1.92	1.20	62.5	0.73
11	—	1.34	—	0.14
13	1.95	1.36	69.7	0.04

4. Paper chromatography

- 濾紙 東洋濾紙 No. 50 35×35cm
- 展開剤 15% 水添加 phenol
n-butanol : acetic acid : water (4:1:1)
- 発色剤 0.2% ninhydrin water, saturated with n-butanol soln.
- 展開温度 7~15°C
- 試料滴下量 0.1cc mess pipette にて 0.005cc

5. Paper chromatography の実験成績

Paper chromatography の結果を一表とすると第2表の如くである。表中+は存在を確認するもの。土は存在明瞭でないもの。-は存在しないもの。

6. 考察

① 蛋白質の加水分解に於て其の構成アミノ酸分子を比較的容易に遊離せられるものと然らざるものがある。glutamic acid, aspartic acid, glycine, alanine, serine, histidine 等は分解開始後1時間までに既に分離せられる。

② 蛋白質の加水分解に於て其の構成アミノ酸分子の分離が比較的遅れるものがある。arginine, proline, valine 又は methionine, leucine 又は isoleucine, phenylalanine 等は分解開始後1時間では分離されない。

③ 蛋白質構成分子の完全に free になるものと13時間後まで完全に free にならぬものがある。

11時間又は13時間後に殆ど完全に free となるものに

第2表

amino acids	1		3		5		7		11		13	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
arginine	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	±
histidine	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
lysine	±	+	+	+	+	-	+	+	+	±	+	±
glutamic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
aspartic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
glycine	+	+	+	+	+	±	+	±	+	±	+	±
alanine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	-
valine & methionine	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
leucine & isoleucine	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
proline	-	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
phenylalanine	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
serine	+	+	+	±	+	±	+	±	+	±	+	±
threonine	±	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
tyrosine	-	+	+	+	+	±	+	-	+	+	+	+
cystine	+	±	+	±	+	±	+	+	+	+	+	+

註 A : 前記実験方法の項(1)に記載した試料を paper chromatography によつて分析した成績。
B : 同上(3)に記載した試料に就て paper chromatography によつて分析した成績

は arginine, histidine, lysine, alanine, phenylalanine, serine, threonine, tyrosine 等がある。特に phenylalanine, serine, threonine 等は3時間後既に殆ど free となり、tyrosine はこれよりやや遅れて5時間後殆ど free となる。之に反し glutamic acid, alanine 又は methionine, leucine 又は isoleucine, proline 等は本実験の時間内では最後まで完全に free とはならない。

此等の結果から蛋白質構成分子の結合には比較的強固なものと然らざるものがあつて其の差異が分解の難易となつて現れるものと想像せられる。

④ 比較的速かに amino acid molecule を free にするに拘らず13時間後にも尚且つ分子結合を完全に解かぬものがある。glutamic acid はこの例である。glutamic acid は醤油の旨味成分として最も重要な element であるが、上述の如く enzyme による醤油諸味中の分解では殆ど半量が free となるに過ぎない。此等の事実と併せ考えるに glutamic acid と結合せる他の amino acid molecule 又は其他の molecule との関係に於て恐らく異つた分子結合が行われている為に比較的切れ易い結合のものは酸分解の早期に切れるが固く結合しているものは最後まで残るのではないかと思推せられる。

文 献

- (1) 坂口・石塚・角田：醤油と研究(日本醤油協会編)、上巻、pp. 56 (1951)

Summary

According to the result of paper chromatogram, which applied to the analysis of amino acid formation on the hydrolysis of soy bean protein by hydrochloric acid, some of amino acids are easily hydrolyzed and some others are not easily hydrolyzed.

Glutamic acid is separated at the first step of hydrolysis and yet not completely separated even at the end of this experiment.

From this result, we consider that glutamic acid is combined tightly with some amino acids and also combined loosely with some others.