

## 大豆の加工とトリプシンインヒビター (1)

誌名	食品総合研究所研究報告 = Report of National Food Research Institute
ISSN	03019780
著者	堀井, 正治 宮崎, 基嘉
巻/号	28号
掲載ページ	p. 52-58
発行年月	1973年3月

# 大豆の加工とトリプシンインヒビター

## (第1報) 大豆等および大豆製品中の トリプシンインヒビター量

堀井正治・宮崎基嘉\*

### 緒言

大豆にトリプシンの酵素活性を阻害する因子(トリプシンインヒビター)の存在することが知られたのは1944年のことで、Ham & Sandstedt<sup>1)</sup>、および Bowman<sup>2)</sup>の仕事を始めである。翌年、Kunitz<sup>3)</sup>によって脱脂大豆から阻害因子とみなされるものが分離精製され、次いで結晶化された<sup>4)</sup>。Kunitzの分離したトリプシンインヒビターは安定なグロブリン系タンパク質で、ほぼ等量の結晶トリプシンと結びついて複合体を形成することにより酵素活性を阻害したが、熱には不安定で、適当な加熱処理によって破壊した。その後、Birk<sup>5,6)</sup> Rackis<sup>7,8)</sup>らによってアセトン不溶性のトリプシンインヒビターも分離され、わが国でも山本ら<sup>9)</sup>によって分画精製が進められて、大豆中に数種のトリプシンインヒビターがあることが判ってきた。ところで、大豆を蒸煮するとトリプシンインヒビター活性が減少することは多くの文献にみられるところであるが、加熱条件による違いや、大豆加工品中のインヒビター量についての報文はきわめて少ない。Borchersら<sup>10)</sup>によると、生大豆のトリプシンインヒビターを完全に破壊するには15ポンドの加圧のもとで15分間の蒸煮が必要であるといい、また、湿熱のときより乾熱あるいは高周波加熱(Heintze<sup>11)</sup>)、水分の低い状態での加熱(Albrechtら<sup>12)</sup>)のときの方がインヒビターの失活が少ないという。その他の報文としては、道ら<sup>13,14)</sup>の脱脂大豆の食用化に関するものと、Rackis<sup>15)</sup>の含油大豆およびその分画物を蒸煮したときのインヒビター量の測定例など数報をみるだけである。大豆は古くからわが国の食生活に独得な手法でとり入れられてきた重要な食品でもあり、その加処理中インヒビターの壊れ方および大豆製品中のインヒビターの残存の程度を明らかにしておくことが実際問題として大切であると考え本実験を行

なった。そのためまず、トリプシンインヒビターの測定法を検討し、Anson法<sup>16)</sup>、Kunitz法<sup>17)</sup>、道法<sup>18)</sup>、Rackis法<sup>15)</sup>、Rhodes法<sup>18)</sup>、Ilany-Feigenbaum法<sup>19)</sup>、Wu & Scheraga法<sup>20)</sup>などを参考にして改良を加えたのち、いくつかの大豆製品や豆腐製造中のインヒビターの残存量を測定したので報告する。

### 実験方法

#### 1. 大豆トリプシンインヒビターの測定法

##### (a) 試料の抽出

試料大豆粉 1.4 g (32メッシュ通過、豆腐は磨細物)にリン酸緩衝液(pH 7.6) 70 mlと消泡剤としてシリコンオイル1滴を加え3分間ホモゲナイザーにかけたのち定容(500 ml)にする。この液を共栓三角フラスコに移し、氷室に移してマグネチックスターラーで2時間攪拌ののち2000 r.p.mで10分間遠心分離を行ない上澄液を検液とした。トリプシンインヒビター活性の高い場合は、さらに5~20倍に稀釈して測定に供した。

##### (b) 試薬

- 0.1 M-リン酸緩衝液(pH 7.6)
- トリプシン溶液: ドイツメルク社のトリプシン粉末(20,000 Flud-Groß unit/g)の0.2%溶液(溶媒は0.02 N-HCl)。検液の代りにリン酸緩衝液を用いて測定したときの吸光度( $E_0$ )が0.9~0.94程度になる濃度である。測定当日新たに調製する。
- 1% カゼイン溶液: メルク社ハンマーステンカゼイン1gを約80 mlのリン酸緩衝液に懸濁させ、沸騰水に15分つけて溶かし、冷却後100 mlにする。測定当日調製。
- 5% トリクロール酢酸溶液(以後TCA溶液と略記)。
- トリプシンインヒビター標準液: 米国シグマ社の大豆トリプシンインヒビター結晶(1-S型, 3回再結晶, 表示によると結晶1 mgはトリプシン1.0 mgの活性を阻害する)4.0 mgをリン酸緩衝液100 mlに溶

\*現在国立栄養研究所

かした。

○0.55 N-炭酸ナトリウム溶液

○フェノール試薬：市販品（第一化学製）を水で3倍に稀釈する。

○チロシン標準液：結晶 L-チロシン（味の素）10 mg を 0.02 N-HCl 100 ml に溶かす。

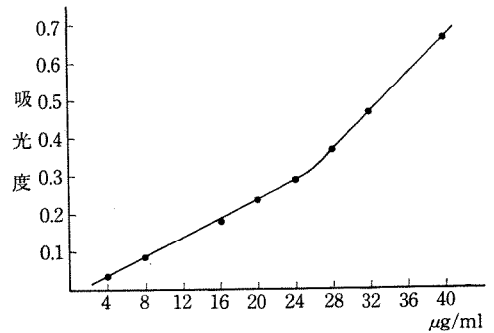
(c) 測定法

検液 0.5 ml とトリブシン溶液 0.5 ml とを共栓試験管にとり、35°C で5分間ブレインキュベイトしたのち、1% カゼイン溶液 2 ml を加えて 35°C で 20 分インキュベイトする。インキュベイト後直ちに 5% TCA 溶液 5 ml を加えて反応をとめ、30 分放置後逕過する（逕液 A）。いっぽう、ブレインキュベイト後 TCA 溶液を先に加え、次いでカゼイン溶液を加えて同様に処理、逕過したものを盲検とした（逕液 B）。

逕液 2 ml に炭酸ナトリウム溶液 5 ml およびフェノール試薬 1 ml を加え 35°C で 30 分反応させる。流水で冷却後日立 FPW-4 型光電比色計を用いて、1 cm セル、フィルター 75 (750 $\mu$ ) で吸光度を測定する。逕液 A と逕液 B の吸光度の差をその試料の吸光度測定値 (Es) とする。別に、使用するトリブシン溶液の力価を同時に測定し (E<sub>0</sub>)、またトリブシンインヒビター標準液の稀釈液を用いてトリブシンインヒビター標準線を作成した。

〔トリブシンインヒビター量の表わし方〕

トリブシンインヒビターは、同じ大豆のものでも抽出法によって得られるものに違いがみられ、数種類の異なったインヒビターが存在していることが知られている。その代表的なものに Kunitz 型とアセトン不溶型とがあり、前者は Kunitz<sup>3,4)</sup>、Wu & Scheraga<sup>20)</sup>、Rackis<sup>8)</sup>、Ozawa & Laskowski<sup>21)</sup>、山本・池中<sup>9)</sup> らによって詳細に調べられたもので、分子量はほぼ 21,500 であり、後者のうち Rackis<sup>8)</sup> の A<sub>1</sub> は分子量が 14,300、山本・池中<sup>9)</sup> の 1.9S は 16,400、Birk<sup>22)</sup> の AA は 24,300、Frattali<sup>23,24)</sup> のものは 8,000 で、さらに Frattali<sup>25)</sup> によるとモノマー、ダイマー、トリマーの平衡関係が存在するともいわれている。このように抽出法によって得られるインヒビターが異なるため、ある一つの抽出精製法で得た結晶を基準にして食品のインヒビター含量を表わした場合、かなりの誤差が生じる危険性もある。しかし、あくまで参考値と考えば、タンパクの中のどれくらいがインヒビターであるのか、重量で表わしてみる試みもなされてよいと考える。この試みは Rackis<sup>16)</sup>、Rhodes<sup>18)</sup>、Feigenbaum<sup>19)</sup> らの報文にもみられる。そこで、本報では、インヒビターを重量単位で表わすと共

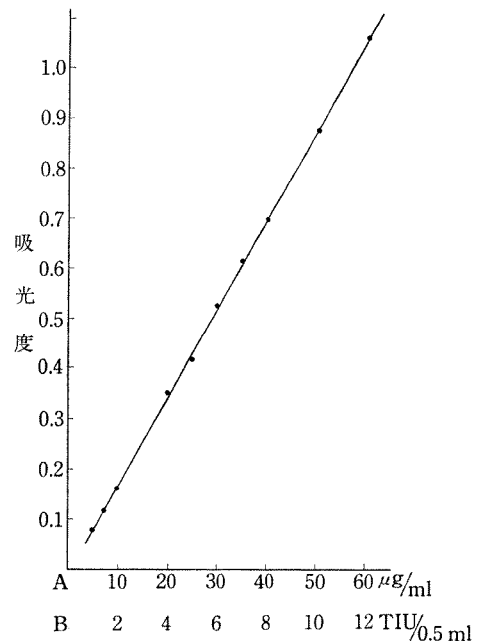


第1図 トリブシンインヒビター標準線

に、従来の単位時間あたりのチロシン遊離度による活性単位（道法<sup>13)</sup>の改良法）でも表わすことにした。まず重量単位であるが、試料について測定した Es をトリブシン力価 E<sub>0</sub> で補正し (E<sub>0</sub>-Es=E)，この E を第1図のトリブシンインヒビター標準線にあてはめて算出した。標準線は E=0.02~0.3 で直線をなすので、検液の濃度は、その E が上記の範囲にくるように稀釈する。表記は試料 1 g あたりの mg 数あるいは窒素 1 mg あたりの mg 数、タンパク 100 g あたりの g で表わした。

〔トリブシンインヒビター活性の表わし方〕

基質にトリブシンを作用させた際、毎分 1 $\gamma$  のチロシン



第2図 トリブシンインヒビター活性算定用 L-チロシン標準線

が遊離する活性度を 1 P.U. (チロシン単位) とし, 1 P.U. に相当するトリプシンが阻害された時のトリプシンインヒビターの活性度を 1 T.I.U. とする<sup>19)</sup>。まずチロシン標準液を適当に稀釈し, フェノール試薬で発色, 比色して第 2 図の標準線を得た。検液について測定した Es をトリプシン力価で補正し ( $E_0 - E_s = E_A$ ), 反応時間と稀釈率により換算して ( $E_A \times 8/2 \times 1/20 = E_B$ ), 第 2 図から検液 0.5 ml 中のインヒビター活性を算出し, タンパク質 1 mg あたりの TIU で表わした。

## 2. 窒素の定量法

総窒素はケルダール法で定量した。水溶性窒素については, 試料粉末を 40 倍量の水に懸濁させ, 消泡剤としてシリコンオイル 1 滴を加えて 3 分間ホモゲナイズしたのを遠心分離し, その上澄液の一部をケルダール法で測定した。

## 実験結果

第 1 表 大豆のトリプシンインヒビター

銘柄	トリプシンインヒビター			TIU/ mg-タンパク	総N	水溶性 N	SPR*
	N 1 mg 当り	タンパク質 100 g 当り	試料 1 g 当り				
Harosoy	0.89	15.6	52.9	42.8	5.97	5.56	93.1
Hawkeye	0.66	11.6	40.7	31.8	6.12	5.69	93.0
三井 No. 1	0.63	11.0	37.6	30.2	6.01	5.61	93.3
Kanrich	0.58	10.2	34.9	28.0	6.06	5.78	95.4
中共東農 1 号	0.51	8.9	32.2	24.4	6.30	5.93	94.1

\* 水溶性窒素比:  $\frac{\text{水溶性窒素}}{\text{総窒素}}$

第 2 表 落花生その他の豆類のトリプシンインヒビター

	トリプシンインヒビター			TIU/mg-タンパク	総N
	N 1 mg 当り	タンパク質* 100 g 当り	試料 1 g 当り		
落花生	mg	g	mg		%
種実部 { 生	0.01	0.2	0.5	0.5	4.83
(胚乳・胚芽) { 煎	0	0	0	0	—
種皮部 { 生	2.32	42.5	47.1	116.6	2.03
{ 煎	1.06	19.4	24.9	53.2	2.35
大正金時	0.99	17.3	33.2	47.5	3.34
小豆	1.02	17.9	34.2	49.0	3.34

\* 窒素-タンパク質換算係数は, 落花生 5.46, 大正金時・小豆 6.25 を用いた。

## 1. 各種大豆のトリプシンインヒビター

輸入大豆の代表的な 5 点についてインヒビターを測定し第 1 表の結果を得た。品種, 銘柄によりインヒビター含量にかなりの幅があり (0.5~0.9 mg/mg-N, 24~43 TIU/mg-タンパク) タンパク含量が高いものの方がインヒビター含量は低い傾向がみられた。水溶性窒素比 (SPR) には大きな差はみられないが, タンパク含量が高くなるにつれて SPR も大きくなる傾向があった。

## 2. 落花生およびその他の豆類のトリプシンインヒビター

大豆以外のものに含まれるトリプシンインヒビターを大豆のインヒビター結晶を基にして定量することは問題もあるが, 大豆と比較する指標と考えることにして同様に測定した (第 2 表)。落花生にはインヒビターが存在しないという説もある。しかし, 胚乳胚芽部分にはきわ

第3表 各種大豆加工品のトリプシンインヒビター

	総N	トリプシンインヒビター		TIU/ mg- タンパク
		N mg 当り	製 品 1 g 当り	
もめん豆腐 A	1.47	0.024	0.35	1.2
〃 B	1.32	0.036	0.48	1.7
〃 C	1.27	0.022	0.28	1.1
〃 D	1.43	0.030	0.43	1.4
〃 E	1.36	0.024	0.33	1.2
プロトン豆腐 (袋入り)	1.07	0.018	0.19	0.9
凍豆腐	9.16	0.012	1.08	0.6
きなこ	6.11	0.020	1.20	1.0

\* いずれも市販品を小売店から購入

めて少ないが (0.01 mg/mg-N, 0.5 TIU/mg-タンパク), 種皮には 2.3 mg/mg-N (117 TIU/mg-タンパク) も含まれており, 煎った皮にもなお 1 mg/mg-N (53 TIU/mg-タンパク) 残存していた。また, 大正金時, 小豆は生大豆よりインヒビター活性が強かった (約 1 mg/mg-N, 48~49 TIU/mg-タンパク)。

### 3. 大豆製品中のトリプシンインヒビター

市販のもめん豆腐5点, 袋入り豆腐, 凍豆腐, きなこ, みそ (信州, 八丁), 納豆についてそれぞれのトリプシンインヒビター含量を測定した。その結果を第3表に示すが, みそ, 納豆については, 試料自体に含まれるプロテアーゼのため吸光度  $E_s$  の値が  $E_0$  より高くなって, ここで用いた測定法では測定できなかった。凍豆腐の窒素定量に際しては, 秤量した粉末試料を乾熱してアンモニアガスを除いてから分解に供した。トリプシンインヒビ

ターは, もめん豆腐に窒素 1 mg あたり 0.022~0.036 mg (1.1~1.7 TIU/mg-タンパク) 残存しており, 袋入りプロトン豆腐も同じ程度であった。きなこは生大豆粉を 120°C で1時間乾熱したときと同程度のインヒビター活性をしめした。

### 4. 豆腐製造工程中のトリプシンインヒビターの減少

当研究所内の豆腐工場で製造したもめん豆腐, 絹ごし豆腐, 袋豆腐について, 製造工程中のトリプシンインヒビターの損失をみた (第4表)。まず生ごの段階ではインヒビターの損失はなく, 窒素 1 mg あたりのインヒビター量は原料大豆と全く同じ (0.65 mg) であった。豆乳製造工程においては, 加熱 (100°C 蒸気を 2~3 分吹込む) によってインヒビターの損失が大きく, 窒素 1 mg あたり 0.12~0.13 mg に減少する。これは原料大豆のインヒビター量の 18~20% にあたる。豆乳から豆腐を凝固させる段階でもインヒビターの損失がおこり, 豆腐は窒素 1 mg あたり 0.069~0.077 mg のインヒビターを含む。これは豆乳のインヒビター量の約2分の1であり, 原料大豆のインヒビター量の 11~12% にあたる。豆腐の種類による差はほとんど認められなかった。なお, おからおよび“ゆ”のインヒビター量は窒素 1 mg あたり 0.063~0.077 mg で, 豆腐のインヒビター量とほとんど同じであった。以上より豆腐製造中のインヒビターの損失は, 豆乳製造工程および凝固工程においておこることが判った。

## 考 察

### 1. 測定法について

第4表 豆腐製造工程中のトリプシンインヒビター量の変化

	総N	トリプシン・インヒビター*			総N	トリプシン・インヒビター*	
		N 1 mg当り	残存率			N 1 mg当り	残存率
原料大豆	6.12	0.65	100	原料大豆	6.12	0.65	100
生ご (10倍加水)	0.68	0.65	100	生ご (6倍加水)	1.43	0.65	100
豆乳	0.55	0.13	20	豆乳	0.73	0.12	18
もめん豆腐	1.55	0.069	11	絹ごし豆腐	0.83	0.077	12
おから	0.68	0.074	11	袋豆腐	0.73	0.074	11
ゆ	0.46	0.077	12	おから	0.78	0.063	10

\* 活性単位 (TIU/mg-タンパク) で表わすと, 原料大豆・生ごで 31.2, 豆乳で 5.9~6.2, 豆腐で 3.3~3.7 となる。

トリプシンインヒビターの測定に従来用いられてきた方法は、基質とトリプシンの混合溶液をインキュベイトしたとき遊離するチロシンと、さらにインヒビターを含む試料を加えてインキュベイトしたとき遊離するチロシンとの量的な差を比色法で測ることを基にしている。基質としてヘモグロビン、カゼインなどが用いられるが、ヘモグロビンは純度のせいから市販のものは不適である。しかし、測定のと度血液から精製するものもめんどうであり、再現性もおちる。いっぽう、カゼインはメルク社のハンマーステンを用いたところ、再現性もよく、基質として良好であった。その他のトリプシンおよびトリプシンインヒビターの測定法としては Rhodess 法<sup>18)</sup> と Ilany-Feigenbaum 法<sup>19)</sup> とがある。前者は、p-トルエンスルフォニルアルギニンメチルエステルとトリス緩衝液と m-ニトロフェノールとの混合液をトリプシンおよびインヒビターを含む試料の溶液に作用させ、吸光度の変化によって酸生成物を定量するのであるが、恒温セルを取付けた比色計を必要とし、試薬溶液を添加してちょうど1分後に吸光度を読みとるという点に問題がある。また後者は、ある種の色素(カルミン-フィブリン粉末)を基質とする方法であるが、この色素が入手しにくい。そこで以上の中からハンマーステンカゼインを基質とするチロシンの比色法をトリプシンインヒビターの測定法としてとりあげることとした。チロシンの比色法にも2通りある。280 m $\mu$  における吸収をみる Kunitz 法<sup>17)</sup> と、フェノール試薬で発色させて可視部で測定する Anson 法<sup>16)</sup> とである。前者は吸光度の差を単位として表わすもので、麻生ら<sup>20)</sup> はこれによっている。しかし、紫外部の測れる光度計が必要であり、かつインヒビターを量でみようという本実験には不向きである。後者は道ら<sup>19)</sup> の用いている方法であり、単位時間に遊離してくるチロシン量( $\mu$ g)を単位として 660 m $\mu$  における吸光度が測られている。しかし、われわれの実験によると、チロシンとフェノー

ル試薬の反応で生じる青色物質溶液は 750 m $\mu$  に極大吸収がみられるため、本実験では測定波長を 750 m $\mu$  (フィルター 75) に設定した。活性単位を算出するためのチロシンの標準線は第2図のように吸光度が1を越しても直線をなすが、インヒビターの標準線が吸光度0.3付近で大きく折れ曲ってくるため、トリプシンインヒビターの活性の算出にあたってはチロシン標準線は吸光度の差が0.3以下の部分しか利用出来ない。なお、試料からのトリプシンインヒビターの抽出に際しホモゲナイザーにかけたのちスターラーで攪拌する時間とイとヒビターの抽出度をみたのが第5表であるが、2時間の攪拌で十分であった。

## 2. 測定値について

生大豆中のトリプシンインヒビター含量は大豆の種類・銘柄によって異なり、試料1gあたり32~53mgとかなりの幅があるが、Rockis<sup>19)</sup> によると生大豆フレークで40mgであり、値がよく一致している。また、活性単位で表わすとタンパク質1mgあたり24~43TIUとなるが、道ら<sup>19)</sup> の報文では未変性脱脂大豆で88となっている。これは大豆の種類の違いの他に、道らの用いた標準線のBの値が理論値の2倍になっていることに起因するのではないかと考えられる。

豆腐の製造工程を通してインヒビターの減り方をみると2段階で減少がおこっていることが判った。第1は豆乳製造工程であり、このとき6倍加水の生ご(絹ごし、袋豆腐用)で2分間、10倍加水の生ご(もめん豆腐用)で3分間蒸気を吹き込むわけであるが、この操作で約80%のインヒビターが破壊される。次は凝固の段階であって、ここでさらに半分近くに減っている。今回用いた凝固剤は硫酸カルシウムであるが、これら凝固剤の影響が考えられる。豆腐の種類による差はほとんどないが、詳細に3点を比べてみると、“ゆ”としてインヒビターの一部が除去されるもめん豆腐の方が、豆乳をそのまま固める絹ごし豆腐よりインヒビター含量が約10%少なくなっている。袋豆腐の場合、6倍加水の豆乳をいったん冷やして袋づめし、凝固剤を加えたのち90°Cで40分間加熱する操作があるが、この際のインヒビターの減少はきわめて少なく、絹ごし豆腐より4%弱低くなるだけであった。

## 要 約

1. 大豆および大豆製品に含まれるトリプシンインヒビターの測定法を検討し、Kunitz法で抽出精製したインヒビター結晶(シグマ社製1-S型)を標準品とした定

第5表 攪拌時間と抽出度

攪拌時間* (hr)	吸光度 (E <sub>0</sub> -E <sub>s</sub> )	トリプシンインヒビター		
		$\mu$ g/tube	mg/g-試料	mg/mg-N
0.5	0.140	12.4	46.5	0.78
1	0.152	13.3	49.9	0.83
2	0.161	14.0	52.5	0.88
12	0.161	14.0	52.5	0.88

\* 氷室においてマグネチックスターラーで攪拌

量法を試みた。いっぽうチロシン遊離量によるインヒビターの活性値も同時に算出した。

2. 大豆の種類銘柄によりトリプシンインヒビター含量にはかなりの幅があり、窒素 1 mg あたり 0.5~0.9 mg (24~43 TIU/mg-タンパク) で、タンパク質含量の高い試料ほどインヒビター含量は低い傾向がみられた。

3. 落花生の種実(胚芽・胚乳)にはトリプシンインヒビターは微量しか存在しないが、種皮には高濃度に含まれ(117 TIU/mg-タンパク)、タンパク質の 40% 以上がインヒビターに相当した。これは食用としてちょうどよい程度に煎った場合でも半減したにすぎなかった。

4. 豆腐製造に際しては、トリプシンインヒビターの減少は 2 段階でおこるが、豆腐中にも生大豆の 11~12% にあたるインヒビターが残存していた。減少の第 1 段階は生ごに蒸気を吹き込んで豆乳をつくる際で、インヒビターは約 20% に減少する。次は凝固させる段階で、このことから凝固剤によるトリプシンインヒビターの変性作用が推測される。

本実験で豆腐製造に際し御援助いただいた渡辺篤二、山崎貞男の両氏に謝意を表します。なお、本報告の一部は、第 21 回栄養食糧学会総会(昭和 42 年)で発表した。

## 文 献

- 1) Ham, W. E. & Sandstedt, R. M.: *J. Biol. Chem.*, **154**, 505 (1944). *ibid.*, **161**, 635 (1945).
- 2) Bowman, D. E.: *Pro. Soc. exptl. Biol. Med.*, **57**, 139 (1944). *ibid.*, **63**, 547 (1946).
- 3) Kunitz, H.: *Science*, **101**, 668 (1945).
- 4) Kunitz, H.: *J. Gen. Physiol.*, **29**, 149 (1946).
- 5) Birk, Y.: *Biochem. Biophys. Acta*, **54**, 378 (1961).
- 6) Birk, Y., Gertler, A., Khalef, S.: *Biochem. J.*, **87**, 281 (1963).
- 7) Rackis, J. J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 6265 (1959).
- 8) Rackis, J. J.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **15**, 230 (1964).
- 9) Yamamoto, M. & Ikenaka, T.: *J. Biochem.*, **62**, 141 (1967).
- 10) Borchers, R.: *Poultry Sci.*, **27**, 601 (1948).
- 11) Heintze, K.: *Z. Lebensn. Unters. Forsch.*, **91**, 100 (1950).
- 12) Albrecht, W. J., Mustakas, G. C., McGhee, J. E.: *Cereal Chem.*, **43**, 400 (1966).
- 13) 道喜美代, 飯塚美知子: 栄養と食糧, **15**, 62 (1962).
- 14) 道喜美代, 長谷川好亮, 大上清治: 農化, **37**, 21 (1963).
- 15) Rackis, J. J.: *Food Tech.*, **20**, 1482 (1966).
- 16) Anson, M. L.: *J. Gen. Physiol.*, **22**, 79 (1949).
- 17) Kunitz, H.: *J. Gen. Physiol.*, **30**, 291 (1947).
- 18) Rhodes, M. B., Hill, R. M., Feeney, R. E.: *Anal. Chem.*, **29**, 376 (1957).
- 19) Ilany-Feigenbaum, J.: *Food Tech.*, **94**, 884 (1964).
- 20) Wu, Y. V. & Scheraga, H. A.: *Biochemistry*, **1**, 698 (1962).
- 21) Ozawa, K. & Laskowski, M.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 3955 (1966).
- 22) Birk, Y.: *Annals of the New York Academy of Science*, **146**, Art II, 388 (1968).
- 23) Frattali, V. & Steiner, R. F.: *Biochemistry*, **7**, 521 (1968).
- 24) Frattali, V.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 274 (1969).
- 25) Miller, D. B. S., Willick, G. E., Steiner, R. F., Frattali, V.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 281 (1969).
- 26) 麻生和衛: 日畜会報, **36**, 252 (1965).

## Studies on Trypsin Inhibitor Alteration in the Processes of Treatment of Soybean (Part 1)

### Trypsin Inhibitor Contents of Soybeans. Other Beans, and Soy-Products.

Masaharu HORII, Motoyoshi MIYAZAKI

1. Analytical methods of trypsin inhibitor contained in soybeans and soy-products were investigated, and trypsin inhibitor was determined quantitatively by the colorimetric determination using the crystal trypsin inhibitor (Sigma's product, 1-S type) as standard. On one hand, trypsin inhibitor activity was calculated from liberation of tyrosine.

2. Trypsin inhibitor contents were different according to the kind and the brand of soybeans. Soybeans contained trypsin inhibitor from 0.5mg to 0.9mg per 1mg of nitrogen (24-43 TIU per mg-protein). It was observed that protein contents and trypsin inhibitor contents in soybeans had a tendency to be an inverse ratio.

3. There is a very small amount of trypsin inhibitor in the seed of peanuts (germ and endosperm), but trypsin inhibitor was contained richly

in the seed-coat (117 TIU per mg-protein). More than 40% of protein of the seed-coat is correspond to trypsin inhibitor. When peanuts were parched moderately for edible, trypsin inhibitor in the seed-coat was reduced merely by half.

4. Trypsin inhibitor was remained in "Tofu" at a level of 11-12% of raw soybean. Destruction of trypsin inhibitor is performed in the following 2 steps during "Tofu" production. At the first step, when hot steam was jetted to "Go" (raw solution of soybean protein) and "Soy milk" was produced, trypsin inhibitor was reduced to a level of 20% of original protein. Next step is coagulation-process, from this fact, it was supposed that there is denaturation of trypsin inhibitor by coagulant.