

# でん粉廃液の有効利用に関する研究 (平成8年度)

研究開発課 大内理奈、大庭 潔  
宮坂春生\*

## 1. 研究の目的と概要

十勝における馬鈴薯の用途別作付け割合は生食用が26%、加工原料用が34%、でん粉原料用が30%、種馬鈴薯が10%というように全体の約3割をでん粉原料用が占めている。また、十勝管内におけるでん粉工場も現在5カ所あり相当量の廃液が排出されていると想像される。そんな中で廃液から有用物質の回収(ポテトプロテイン)を行っているのは十勝管内のでん粉工場では1カ所のみである。この回収されたポテトプロテインは現在芽室町のコスモ食品株式会社北海道工場において酵素処理、脱色等の精製工程を取ることにより調味エキスとしている。本試験研究はこの精製された調味エキスの付加価値向上をはかるためコスモ食品株式会社との共同研究により含まれるタンパク質の生理活性物質の探索を行い1つの知見を得たので報告する。

## 2. 試験研究の方法

### (1) でん粉廃液からのポテトプロテインの精製

本試験研究に供したポテトプロテイン(No.6-187)は、でん粉工場から得られた廃液中に含まれるタンパク質をコスモ食品株式会社が酵素処理及び脱色工程等を経ることにより製品化した調味エキスであり、粗タンパク質量としては50数%となっている。

### (2) 消化酵素処理試験(ペプシン及びトリプシン処理)

ペプシン(シグマ社製)処理の場合には0.1M HCl・KCl緩衝液(pH2.0)を、トリプシン(シグマ社製)処理の場合には0.1M リン酸カリウム緩衝液(pH8.0)を用いてポテトパウダー(No.6-187)を溶解し、そのタンパク質濃度を1.0%とした溶液50mlに、同じ緩衝液に溶解した0.2%酵素液5mlを加え、37℃で24時間放置した。その後、沸騰水浴中で5分間加熱し、酵素を失活させアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性を測定した。

### (3) ACE阻害活性を有するポテトペプチドの精製

ポテトプロテイン(No.6-187)5g蒸留水50mlに溶解した後、セントリプラス-10(アミコン)で簡易遠心分画を行うことにより分子量10,000以下の画分を集めてきた。

この画分をSephadex LH-20(ファルマシア)を充填したカラムに供し、250mlの水で洗浄し、その後それぞれ250mlの10%エタノール、30%エタノール及び50%エタノールを順次通し、濃縮することによりそれぞれの画分を得、ACE阻害活性の測定を行った。次に、活性画分をSP-Sephadex C-25(ファルマシア)を充填したカラムに通し、ギ酸アンモニウム製のステップワイズグラジエントで溶出し、活性画分を集めて濃縮し脱塩後、高速液体クロマトグラフ(HPLC:東ソー製、カラム:東ソー製 TSK gel ODS-120T)に供し、ACE阻害ペプチドを得た。

### (4) ACE阻害活性の測定

ACE阻害活性はACE(東京農業大学:ウサギ肺アセトンパウダーより抽出)3.9mU、(株)ペプチド研究所合成基質(Bz-Gly-His-Leu H<sub>2</sub>O)125mMを用いて、Cushman-Cheungの測定法に準じて測定した。すなわち、合成基質にACE活性が作用することにより、Bz-Gly(馬尿酸)とHis-Leuが合成されることから、その中の馬尿酸を酢酸エチルにて抽出し、228nmの吸光度を測定した。

試料とともにあらかじめ反応停止液を加えたときの吸光度をA、試料の吸光度をB、試料の変わりに水を加えさらに反応停止液を加えたときの吸光度をC、試料の代わりに水を加えたときの吸光度をDとして、

$$\text{阻害率}(\%) = \{ 1 - (B - A) / (D - C) \} \times 100$$

で表した。試料間のACE阻害活性の比較は、上式により得られる阻害率が50%を示す反応液中のタンパク質濃度としてIC<sub>50</sub>で示した。なお、タンパク質量はNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-TNBS法により測定した。

(5) ACE阻害ペプチドのアミノ酸組成分析

塩酸加水分解後、HPLCを用いてのNBD-F法アミノ酸分析により行った。

### 3. 試験研究の結果

(1) 精製ポテトペプチドのACE阻害活性

本試験研究に供したポテトペプチド(No.6-187)に含まれる粗タンパク質量(係数6.25)は約60%であった。このポテトペプチドを水に溶解し、タンパク質濃度がおよそ1.0%となるように溶液を調整しACE阻害活性を測定した。その結果IC<sub>50</sub>は125 µg/mlであった。

(2) 消化酵素処理試験(ペプシン及びトリプシン処理)

ACE阻害活性がin vitroでは確認されたが、食品素材として経口での利用を考えた場合、消化酵素に対する耐性が問題となる。そこで代表的な消化酵素であるペプシン及びトリプシンを用いてポテトペプチドを処理し、ACE阻害活性を測定した結果、活性への影響はほとんど見られなかった。

(3) ACE阻害活性を有するポテトペプチドの精製

ポテトペプチド(No.6-187)をタンパク質濃度が1.0%となるように水に溶解し、簡易遠心分画(セントリプラス-10)を行い、分子量10,000を通過した溶液(IC<sub>50</sub>:52.7 µg/ml)をSephadex LH-20に供することにより水画分にACE阻害活性を持っていた。さらにこの水画分を濃縮し、Sephadex C-25に供しギ酸アンモニウムによるグラジエントを行った結果、ACE阻害活性を持つ2つの画分を得た(IC<sub>50</sub>:12.5 µg/ml、36.9 µg/ml)。さらにこの画分をそれぞれ脱塩、濃縮し、HPLCに供することにより、ACE阻害活性を持つ3つの画分を得た(IC<sub>50</sub>:0.5 µg/ml、0.7 µg/ml)。

(4) ACE阻害ペプチドのアミノ酸組成

得られた3つの画分のアミノ酸組成を分析した。その結果、未だ様々なアミノ酸が検出されていることから精製度合いが不十分であると考えられる。しかし、アミノ酸組成には特定の傾向が見られ2つの画分においてバリンが大きなウエイトを占めていた。

### 4. まとめ

(1) 本試験に供された精製ポテトパウダーには血圧上昇を抑制するペプチドが数種含まれていた。また、これらの活性はこれまで報告されたペプチドの活性と同等以上のものであった。

(2) 血圧上昇を抑制する画分の2つについてはバリンが構成アミノ酸の主体を占めていた。もう1つの画分の構成アミノ酸はチロシンを主体としてアスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン酸及びバリンが主であった。

(3) 本試験に供された精製ポテトパウダーにはかなり高いACE阻害活性を有するペプチドが含まれていた。従って、本精製ポテトパウダーそれ自体において生理活性を持つ食品として利用できる可能性が示唆された。

\* : コスモ食品株式会社北海道工場取締役工場長