酵素処理タンパク質の栄養に関する研究(第2報)

Studies on Nutrition of Various Enzyme-Treated Proteins (Report 2)

(昭和43年2月23日受理)

外 川 嘉 子*
(Yoshiko Sotokawa)

The nutritional experiments have been made with the use of partially hydrolyzed products of casein with acid or alkaline proteases.

1) The rats given acid protease-treated casein showed slower growth rate than those given untreated one. On the contrary, it showed better growth in the case of alkaline protease.

2) From the quantitative analyses on the free amino acids, it was shown that casein partially hydrolyzed with alkaline protease contained more essential amino acids such as tryptophan, lysine, arginine, methionine etc. than acid protease treated casein and amino acid composition of untreated casein.

さきに著者は種々なタンパク質の酵素分解物(部分分解, 以下略)を用いて動物実験をし, タマゴタンパク質では未処理のものに比べて, はるかに優勢な成長を示し, ダイズタンパク質がこれについてよい成績を示したが, グルテンは酵素分解物の方が成長が悪く, カゼインも未処理のものに比べて下回るという結果を示した¹⁾。しかるにその後の実験でカゼインの成績の悪かったのは酸性プロテアーゼを用いて分解した場合で, 後にアルカリプロテアーゼを用いて実験したところ, 未処理カゼインよりむしろよい成績を示すことがわかった。また酸性プロテアーゼでも分解の度を低くすると対照とほぼ一致した成績を示す。すなわち, タンパク質の酵素分解物の栄養価はタンパク質の種類, 分解の程度, および用いたプロテアーゼの種類によって異なると思われる。今回著者は分解の度の異なるカゼインを用いて成長実験をし, ついでこの分解タンパク質の組成を検討することによってその栄養価の変化の原因の一端を知ることができたので, ここに報告する。

実験方法

動物は Wister 系のラット 50~60g のもの 10 匹を 1 グループとして 1 匹ずつ別々のケージで飼い, タンパク質分解物を与えて体重増加を記録した。飼料の組成は第1報の如くである¹⁾。但し酸性プロテアーゼ分解物, アルカリプロテアーゼ分解物および未処理カゼインの3

種類共N量を測定し, その結果から3食餌のN量を等しくしたため, 18.5~21.0%とタンパク質量は幾分異なっている。日数は2週間から3週間で, エサの量は全部のラットが残さないで食べ切る量, すなわち pair-feeding とした。

用いたカゼインの酵素分解物のうち一方は黒麹菌の酸性プロテアーゼ (Panprosin という製品になっている) を酵素量として 0.02%用い, pH2.6, 40°C で8~15時間作用, 他方は Bacteria (枯草菌の一種, 製品名サーモアーゼ) のアルカリプロテアーゼを用い, pH7.0, 40°C で作用, その後両方とも加熱して酵素作用を失活させ, 濃縮, 減圧乾燥したものである。プロテアーゼの種類と共に分解の度も変え, 第1表は高度分解, 第2表は低度分解の分析結果であり, いずれも対照として未処理のカゼインを用いてある。なお分解率は一応遊離アミノ酸の量であらわした。表中 Total N は Kjeldahl 法, アミノ態 N は Formol の滴定法, 水溶性タンパク質量は Biuret の比色法を用いて測定したが, 可溶性タンパク質はおそらく大小のペプチドになっていると思われる。未処理のカゼインはアミノ態Nも可溶性タンパクも測定にかからなかった。

遊離アミノ酸の定量は日立のアミノ酸分析装置を用いた。即ち pH 2.2 のクエン酸 buffer で試料中の遊離アミノ酸を抽出, これを pH5.28 の 15cm カラムで塩基性アミノ酸, pH 3.25 および 4.25 の 150cm カラムで酸性および中性アミノ酸を溶出分離して定量をした。

* 名古屋大学医学部

第1表 カゼイン分解物の分析結果（高度分解）

	酸性プロテアーゼ分解物	アルカリプロテアーゼ分解物	未処理カゼイン
Total N (mg/g)	14.6	14.8	14.6
分解率 (%)	21.8	20.3	—
タンパク区分 (%)	13.0	2.0	95.3
非タンパク区分 (%)	87.0	98.0	4.7
水分 (%)	5.1	4.8	5.3

第2表 カゼイン分解物の分析結果（低度分解）

	酸性プロテアーゼ分解物	アルカリプロテアーゼ分解物	未処理カゼイン
Total N (mg/g)	124.7	140.9	130.0
0.05M TCA可溶N (mg/g)	80.8	118.9	2.5
アミノ態N(mg/g), 分解率(%)	6.3 (3.9%)	14.3 (8.9%)	—
タンパク区分 (%)	35.2	15.6	98.1
非タンパク区分 (%)	64.8	84.4	1.9
水溶性タンパク (mg/g)	427.0	575.0	—
水分 (%)	7.4	2.1	10.6

実 験 結 果

最初カゼインの高度分解物，すなわち酸性プロテアーゼ21.8%，アルカリプロテアーゼ20.3%の分解率のものをを用いて別々に実験したところ，結果は第1図および第2図の如くである。いずれも10匹ずつの平均であるが酸性プロテアーゼ21.8%分解では分解した方が劣っていて，14日間で5.6g，21日間で9.1gの差があった。

第1図 カゼイン食と酸性プロテアーゼ分解物食との成長の比較（高度分解）

第2図 カゼイン食とアルカリプロテアーゼ分解物食との成長の比較（高度分解）

第3図 カゼイン食と酵素分解物食との成長の比較（低度分解）

第2図はアルカリプロテアーゼ20.3%の分解率を用いた場合であるが，14日間で5.4gの差で，これは前と反対に分解した方が成長が良くなっている。次にこの2つの分解物の分解の度を低くしたのを用いた場合が第2表と第3図で，この分解率は酸性，アルカリそれぞれ3.9%と8.9%であるが，これを用いた実験では21日間で対照と殆んど差がない。つまり酸性プロテアーゼ分解カゼインは分解の度を高くすれば成長成績は悪くなり，アルカリプロテアーゼの方は分解の度を高くした方が成績がよくなるという結果を示している。いままでの成長成績を表にしてまとめると第3表の如くである。

なお興味のあるのは遊離アミノ酸で酸性プロテアーゼ分解物とアルカリプロテアーゼ分解物とは全く遊離するアミノ酸のパターンが異なっている。第4表の数字はタンパク質100g中のmgで，%というのはそれぞれTotal遊離アミノ酸に対する各アミノ酸の比率である。カゼイン中の遊離アミノ酸の測定結果はアンモニアが32.36あるのみであとは全部測定にかからない。比較としてカゼインのアミノ酸組成を%であらわしたものを記

第3表 酵素処理カゼインを用いたラットの体重増加量

	カゼイン	分解率%	体重増加量g	
			14日間	21日間
高度分解	酸性プロテアーゼ処理	21.8	27.8±3.9	45.9±3.1
	未処理	—	33.4±5.7	55.0±4.6
	アルカリプロテアーゼ処理	20.3	44.1±4.1	
低度分解	未処理	—	38.7±4.1	
	酸性プロテアーゼ処理	3.9	40.4±5.8	61.1±6.9
	アルカリプロテアーゼ処理	8.9	41.0±4.0	63.4±4.5
未処理	未処理	—	38.2±3.9	58.1±3.7

第4表 カゼイン分解物中の遊離アミノ酸組成

Amino acids	酸性プロテアーゼ分解物 mg/100 g		アルカリプロテアーゼ分解物 mg/100 g		カゼイン %
Tryptophan*	102.11	3.7	386.95	5.4	1.3
Lysine*	241.51	8.8	1130.71	15.8	7.2
Histidine*	9.20	0.3	10.75	0.2	2.7
Ammonia	110.18	4.0	65.59	0.9	
Arginine*	103.13	3.7	1087.63	15.2	3.5
Aspartic acid	26.54	1.0	101.16	1.4	5.9
Threonine*	4.49	0.2	39.22	0.5	3.8
Serine	76.93	2.8	67.90	0.9	5.7
Glutamic acid	165.08	6.0	45.25	0.6	19.4
Proline	6.85	0.2	—	—	11.0
Glycine	46.77	1.7	29.39	0.4	0.4
Alanine	77.78	2.8	33.02	0.5	2.8
Cystine	231.65	8.4	157.50	2.2	0.4
Valine*	51.31	1.9	91.46	1.3	6.5
Methionine*	66.40	2.4	309.92	4.3	2.9
Isoleucine*	7.52	0.3	72.93	1.0	5.2
Leucine*	806.70	29.3	1093.31	15.3	10.5
Tyrosine	156.19	5.7	1251.33	17.5	5.4
Phenylalanine*	459.23	16.7	1192.14	16.6	5.5
Total	2749.57		7166.16		

Casein 中の free-amino acid は ammonia が 32.36 あるのみ

しておいた。これによると酸性プロテアーゼ分解物の方は酸性アミノ酸が多く、アルカリプロテアーゼの方は塩基性および中性アミノ酸が多い。また後者は必須アミノ酸の遊離が速く、トリプトファン、リジン、アルギニン、メチオニン、ロイシン、フェニールアラニンの量が多い。* 印はラットにおける必須アミノ酸であり、下線を引いたのは対照のカゼインの組成に比して量の多いアミノ酸である。

考 察

われわれがタンパク質の栄養価を論ずる場合、問題になるのはもちろん構成アミノ酸の量と質であるが、それ以外に消化を含めてのアミノ酸の体内における利用が問題であると思う。同じようなアミノ酸組成のタンパク質でも栄養価が同じであるとは限らない。これは例えば、とうもろこしのタンパク質カゼインは少し分解すればイソロイシンの利用がよくなると Harper その他²⁾は述べておりまた消化酵素で一定時間後に遊離するアミノ酸の比率はタンパク質の種類によって異なるという Denton 他³⁾の文献にもあるように、タンパク質の栄養価は遊離するアミノ酸の質と量およびその速度にも関係があると思われる。第4表は酸、アルカリそれぞれ 2749.57 mg/100 g prot., 7166.16 mg/100 g prot. 程度の分解であるが、酵素反応を進めれば大体この表の割合でアミノ酸も遊離して行くと思われる。もちろん残っている peptide も調べる必要があるが、この場合遊離したアミノ酸のパターンが動物の成長に必要なタンパク質の合成に適しているかどうかタンパク質の栄養価を決めるの一つの手がかりになると思う。

この三者を比較してとくにアルカリプロテアーゼ分解物のトリプトファン、リジン、アルギニンおよびメチオニンが多い。トリプトファン、リジン、アルギニンは殊に幼動物の成長に必要であり、メチオニンについては重要なアミノ酸でありながらシスチンと共にカゼインの制限アミノ酸であり、最初から含量が少ないのである。そこでこれらのアミノ酸の遊離が速くて、体内で有効に利用されることはカゼインの栄養価を増す上に重要な条件であり、アルカリプロテアーゼ分解物の成長成績のよいことの一つの原因になり得ると考えられる。

要 約

タンパク質分解酵素のうち、酸性プロテアーゼとアルカリプロテアーゼを用いてカゼインを分解し、これらのものを用いて栄養実験をした。

1) カゼインのプロテアーゼ分解物は分解率を高くすれば酸性プロテアーゼを用いた場合は成長成績は悪くなり、反対にアルカリプロテアーゼを用いると成長は良くなる。分解の度を低くすると両者は対照との間に差はなくなる。

2) これらの分解物の遊離アミノ酸を定量した結果、アルカリプロテアーゼの方は酸性プロテアーゼ分解物および未処理のカゼインのアミノ酸組成に比べてトリプトファン、リジン、アルギニン、メチオニンなどの必須アミノ酸の量が多く、分解することによってカゼインが栄

養的にもすぐれたものになっているという結果が見られた。

本研究に際し、終始ご指導を賜った名古屋大学医学部古武弥人教授に厚くお礼申上げ、併せて試料を提供いただいた近畿ヤクルト西宮工場の黒田彰夫博士と、一部アミノ酸分析にご協力いただいた愛知県食品工業試験所の原田昭夫氏に対し感謝の意を表します。

本論文の要旨は第21回日本栄養・食糧学会において発

表した。

文 献

- 1) 外川嘉子：栄養と食糧 21, 163 (1968)
- 2) Desplande, P. D., Harper, A. E., Collins, M. & Elvehjem, C. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 67, 341 (1957)
- 3) Denton, A. E., Gershoff, S. N. & Elvehjem, C. A.: *J. Biol. Chem.*, 204, 721 (1953)

シロネズミにおける中鎖トリグリセリド (MCT) の栄養評価

カプリル酸75%およびカプリン酸25%よりなる中鎖トリグリセリド (MCT) の栄養評価を目的として、15匹ずつの雌雄のウィスター系シロネズミを用い3〜47週間の成長試験を行なった。飼料のカロリー構成は脂肪40%炭水化物38%, タンパク質 (カゼイン) 22%とし、脂肪として MCT および各種食用油脂 (オレフ油, バター脂, ココナツ油, コーン油, サフラワー油) を用いた6種の飼料を調製し比較実験をした。なおいずれの飼料にも (コーン油食を除く) 必須脂肪酸補給のためサフラワー油 2.5% を添加した。47週間飼育後の剖検結果からみて, MCT 食区のネズミは成長, 発育は正常で, 屠体の全窒素, 灰分含量, 必須器官の重量および組成は食用油脂食区のネズミと差がなかった。腸と肝臓の組織学的検

査の結果は MCT 食を47週間摂取後も正常であった。

一般的にいて, MCT 食区ネズミは食用油脂食区のネズミよりカロリー効率がわずかに低く, 屠体全体の脂肪や副腎丸脂肪の蓄積も少なかった。また, MCT 食飼料中には C_8, C_{10} 脂肪酸が86%も含まれているのに対し48時間 MCT 食を摂取したネズミの貯蔵脂肪中にはわずかに5.3%で, $C_{18:1}, C_{18:2}, C_{16}$ 脂肪酸が78%を占めていた。(表10)

Nutritional Evaluation of Medium-Chain Triglycerides in the Rat.

by Harkins, R. W. and Sarett, H. P. : *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 45 (1), 26~30 (1968)

(堀井)