ラットにおけるおからテンペの タンパク質の消化性

松 尾 真砂子*

Digestibility of *Okara-tempe* Protein in Rats

Masako MATSUO*

* Gifu Women's University, 80-Taromaru,
Gifu 501-25

Okara-tempe (OT) is fermented *okara* (OC) by *Rhizopus oligosporus* (a fungus to make Tempe). In this paper, the effects of fermentation on the digestibility of OC protein were studied by using rats. By comparing OT with OC in respect of free amino acid content and the distribution of molecular weight of proteins, OT contained more free amino acids and lower molecular weight proteins than OC. The results suggest that some parts of OT proteins are decomposed into low molecular weight substances by the fermentation of OC. On optical micrograph of the digestive residue from rats fed on OT or OC diets which contained OT or OC proteins as the only source, the proteins in the cecum residue of OT diet were not detected appreciably, but those of OC diet were clearly observed. In the feces residue of OT or OC diets, any protein was not observed. It is presumed that both proteins of OT and OC will be completely digested, and OT protein will be digested easier than OC protein in rats.

Key words : okara, okara tempe, protein, digestibility

(Received Feb. 5, 1996)

大豆粕であるおから（以下 OC と略す）は乾重量で 57% の食物繊維と 20% のタンパク質を含んでいる¹⁾。OC の食糧化をはかるために、OC を *Rhizopus oligosporus*（テンペ菌）で発酵させておからテンペ（以下 OT と略す）を調製すると OC 繊維が部分分解されて、総繊維は 57% から 50% に減少し、遊離糖は 12% か

ら 19% に増加する¹⁾。OC は消化の良くない食品として敬遠されているが、OT では繊維が分解されているので、タンパク質の消化性も向上している可能性がある。著者は、先に OT タンパク質は OC タンパク質より酸可溶性窒素や遊離アミノ酸の総量が多く、タンパク質の人工消化率も向上していることを報告した¹⁾が、*in vivo* における消化性については不明である。

本報告では、*in vivo* におけるタンパク質の消化性を知るために、OC と OT の遊離アミノ酸量やタンパク質の分子量分布を測定し比較した。また、OC や OT を唯一のタンパク質源とする飼料でラットを飼育し、盲腸内消化残渣に残存するタンパク質を光学顕微鏡で観察し、タンパク質の消化性を推定した。

1. 実験方法

おから（OC）はピーンフラワー（みずずコーポレーション）を用いた。おからテンペ（OT）は水分を 75% に調製した OC に *R. oligosporus* の胞子を接種し、通気用小穴のあいたポリエチレン製袋に厚さ約 15 mm に詰め、30℃ で 24 時間培養して調製した。遊離アミノ酸は HPLC で加水分解形として分析した。カラムは Shim-pack ISC-07/S 1504 Na (4.0 φ×15 cm) を用い、Ex. 348 nm, En. 450 nm で検出した。タンパク質は大久保の方法²⁾に従い、試料に 1% SDS を含む 8M 尿素液 (pH 7.8) を加えて脱気し、40℃ で 2 時間攪拌して抽出した。抽出液は脱イオン水を用いて透析し、pH を 4.5 に調整して生じた沈殿を凍結乾燥して集めた。OT の酸沈殿タンパク質は HPLC によりゲル濾過を行った。カラムは Shim-pack Diol-150, 7.9 mmφ×50 cm, 移動相は 0.2 M NaCl を含む 0.02 M トリスアミノメタン緩衝液 (pH 7.0) を用い、0.8 ml/min, 280 nm で検出した。

実験動物には 5 週齢の Wistar/ST 系雄性ラット（日本エスエルシー株式会社）10 匹を用い、OC または OT を 50%、コーン油 5%、塩混合 4%、ビタミン混合 1%、コリン塩酸塩 0.15%、L-メチオニン 0.15%、コーンスターチ 39.7% からなる飼料を自由摂取させた。OC 飼料と OT 飼料はそれぞれタンパク質を 9.5% と 10.5%、総繊維を 27% と 25% 含んでいた。ラットは 2 週間飼育した後、屠殺し、飼料タンパク質の消化状態を調べるために盲腸や小腸内消化残渣と糞を 1.5% の酢酸を含む 95% エタノールで洗浄して消化酵素や腸内細菌を除去した³⁾後、残存タンパク質をクーマシー・ブリリアントブルー R250 で染色した⁴⁾。同様に染色した飼料と消化残渣の染色試料を光学顕微鏡下で観察し、染色タンパク質量

* 岐阜女子大学（〒501-25 岐阜市太郎丸 80）

からタンパク質の消化性を推定した。

2. 実験結果及び考察

(1) 遊離アミノ酸量

OC と OT の遊離アミノ酸量を測定し、Table 1 に示す。本実験ではアミノ酸標準液に加水分解形のみを用いたのでアスパラギン、グルタミン、トリプトファンは定量できなかった。OC にはアルギニン以外の遊離アミノ酸は極く微量存在するか、もしくは全く検出されなかったが、OT ではいずれのアミノ酸も検出可能な量に増加し、総アミノ酸量として 14 倍に増加した。このような遊離アミノ酸量の増加は、OT では発酵により OC タンパク質の一部が分解されていることを示唆している。

(2) タンパク質の分子量

OT や OC の酸沈殿タンパク質をゲル濾過して分子量の分布を調べたものを Fig. 1 に示す。OT タンパク質は OC タンパク質に比べ、分子量 300 000 以上の区分の吸光度が少なく、10 000~300 000 の区分の吸光度が多かった。すなわち、OT タンパク質は OC タンパク質より分子量の小さいタンパク質を多く含んでいると考えられる。OT タンパク質は OC タンパク質より人工消化率が

Table 1 Free amino acid contents of *Okara* and *Okara-tempe*

	Amino Acid ($\mu\text{g}/\text{dry g}$)	
	<i>Okara</i>	<i>Okara-tempe</i>
Aspartic acid	ND	81.6
Threonine	ND	268.0
Serine	0.66	53.8
Glutamic acid	0.74	130.8
Proline	ND	31.9
Glycine	0.30	26.7
Alanine	ND	70.6
Cysteine	ND	0.7
Valine	ND	60.9
Methionine	ND	33.6
Isoleucine	ND	24.8
Leucine	ND	64.5
Tyrosine	ND	52.2
Phenylalanine	ND	21.0
Histidine	1.40	61.9
Lysine	ND	13.2
Arginine	3.83	28.2
Total	6.93	970.4

ND : Not detected.

Fig. 1 Gel permeation chromatograms of proteins of *okara* and *okara-tempe*

column : Shim-pack Diol-150 (7.9 mm $\times$ 500 mm). Mobile phase : 0.02 M

Tris $\cdot$ HCl-0.2 M NaCl (pH 7.0). Flow rate : 0.8 ml/min.

Abbreviations : OC, *Okara* ; OT, *Okara-tempe* ; M.W., Molecular weight.

高い¹⁾ 事実と考え合わせると、OC タンパク質に比べ OT タンパク質は消化が容易であることが推測された。

(3) タンパク質の消化性

OT や OC を唯一のタンパク質源とした飼料をラットに 2 週間投与すると摂食量は 114 $\pm$ 5 g と 118 $\pm$ 3 g、体重増加量は 73 $\pm$ 4 g と 73 $\pm$ 7 g で両飼料は同等の成長効果を示した。ラットの消化残渣を回収し、残存する未消化タンパク質を染色して光学顕微鏡像を観察した。その典型的な写真を Fig. 2 に示す。染色剤として使用した

Fig. 2 Optical micrographs of digestive residues of *okara* and *okara-tempe* in rats

OC, *okara* ; OT, *okara-tempe* ; a, sample in diet ; b, digestive residue in cecum. Only OC or OT was used as a dietary protein source. The digestive residues of OC and OT which were collected from the cecum, were stained by Coomassie Brilliant Blue-R250 ($\times 1000$).

クーマシー・ブリリアントブルー R 250 はタンパク質の電気泳動後の位置確認に頻用されている高感度のタンパク質染色剤で、微量タンパク質の存在が確認できる試薬である。したがって、写真の黒い部分はタンパク質の分布域を示す。飼料中のタンパク質分布を比較すると OT では OC より分布域が狭く、テンペ菌によりタンパク質が利用されていることが示唆された。盲腸内消化残渣では OC, OT のいずれもタンパク質の分布域が激減し、タンパク質の消化に基づく溶出が示唆された。また、残存タンパク質の存在は OC の消化残渣では明確に確認できたが、OT の消化残渣では不明瞭であった。本研究ではタンパク質を定量しなかったが、多数のタンパク質染色像を比較し、OT と OC の消化残渣に明確な差を認めた。OT の小腸内消化残渣と糞中消化残渣ではタンパク質は全く検出されなかった。OC の小腸内消化残渣では極く微量のタンパク質が確認できたが、糞中消化残渣ではタンパク質は全く検出されなかった。この結果から OT タンパク質は OC タンパク質より容易に消化、吸収され、

最終的には両タンパク質とも完全に利用されることが推測された。OT では OC の繊維が部分分解され¹⁾、構造が著しく変形している⁵⁾。タンパク質の低分子化 (Fig. 1) に加え、繊維の分解もタンパク質の消化吸収性を高める要因になっているのであろう。

3. 要 約

おから (OC) をテンペ菌で発酵させたおからテンペ (OT) では、タンパク質の消化性が発酵によりどのような影響を受けるかを調べた。遊離アミノ酸量やタンパク質の分子量分布を比較すると、OT には OC より遊離アミノ酸や低分子領域のタンパク質が多かった。この結果から、OT では発酵によりタンパク質の一部が分解されていることが示唆された。また、OC や OT を唯一のタンパク質源とする飼料でラットを飼育し、消化残渣を光学顕微鏡で観察すると OT の盲腸内消化残渣ではタンパク質の存在が不明瞭であったが、OC の盲腸内消化残渣ではタンパク質を明確に確認できた。糞中消化残渣では両飼料ともタンパク質は全く確認できなかった。した

がって、両タンパク質は完全に利用されるが、OT のタンパク質は OC のタンパク質より容易に消化されることが推察された。

文 献

- 1) 松尾真砂子：栄食誌，42，173 (1989)。
- 2) 大久保一良：食品開発，19，11 (1984)。

- 3) 佐々木康人・玉井洋介・林 洋一・窪田正二郎・藤尾高志・小笠原武雄・江頭祐嘉合・真田宏夫・綾野雄幸：栄食誌，44，461 (1991)。
- 4) BRADFOLD, M.M.: *Anal. Biochem.*, 72, 248 (1976)。
- 5) 松尾真砂子：農化，69，163 (1995)。

(平成 8 年 2 月 5 日受理)