

酵素修飾により分離大豆たん白質から調製したオリゴペプチド混合物の栄養特性

NUTRITIONAL PROPERTIES OF AN OLIGOPEPTIDE MIXTURE PREPARED FROM SOY PROTEIN ISOLATE BY ENZYMATIC MODIFICATION

荒井 綜一 (東京大学農学部)

Soichi ARAI

Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo 113

ABSTRACT

Soy protein isolate (SPI) was treated with papain and subsequently with trypsin to produce an oligopeptide mixture (OPM) having an average molecular weight of ca. 900 daltons; the amino acid composition of OPM approximated that of SPI. The nutritional properties of OPM were evaluated by feeding tests with rats, where SPI and an amino acid mixture (AA) simulating OPM were used as controls. SPI-, OPM-, and AA-diets, each having a methionine level of 0.1%, were prepared and fed to normal and protein-malnourished rats for three weeks. The results are summarized as follows: (1) for normal rats no significant differences were found among the three diets in terms of protein efficiency ratio (PER), blood hemoglobin content, and the activities of the two enzymes, GOT and GPT; and (2) when malnourished rats were fed, the use of OPM diet led to significantly faster recovery of their body weight than the use of any of the others. Effects of different levels of methionine in the three diets on PER values for normal and malnourished rats are discussed by using the data presented in the preceding paper.

前回は分離大豆たん白質 (SPI) を特殊条件下でパパイイン処理し、その際に発現する逆反応性により、メチオニンを共有結合状に導入した酵素修飾たん白質 (EMP) を調製し、メチオニン含有量とラットにおけるたん白質効率 (PER) との関係を求める研究を行った^{1,2)}。これによれば、メチオニン含量が3%のEMPから成る飼料 (メチオニン水準0.3%) で最大のPERが得られた²⁾。さらに、このEMPをトリプシン水解し、平均分子量が約900ダルトンでメチオニンを3%含有するオリゴペプチド混合物 (OPM₃) を調製し、ラットを飼育したところ、たん白質栄養不良のラットの回復にきわめて有効であるという成績を得た¹⁾。

今回は SPI にメチオニンを導入することなく上記と同様のパパイイン-トリプシン処理を施し、SPI と同等

のメチオニン含量の OPM を調製し、正常ラットおよびたん白質栄養不良ラットに投与し、その効果を検証した。

実験方法

1. オリゴペプチド混合物 (OPM) の調製

分離大豆たん白質 (SPI) として不二製油(株)製フジプロ R を用いた。これを Fig. 1 のように酵素修飾し、良好な収率で OPM を得た。OPM を前報¹⁾ に従って Biogel P-2 にかけて分子量分布を求めたところ、Fig. 2 のごとく 900 ダルトン付近にピークをもつペプチド混合物であり、その遊離アミノ酸含有量は 4.0% に過ぎないことがわかった。この OPM の構成アミノ酸組成を原料 SPI のそれと比較したところ、メチオニン含有

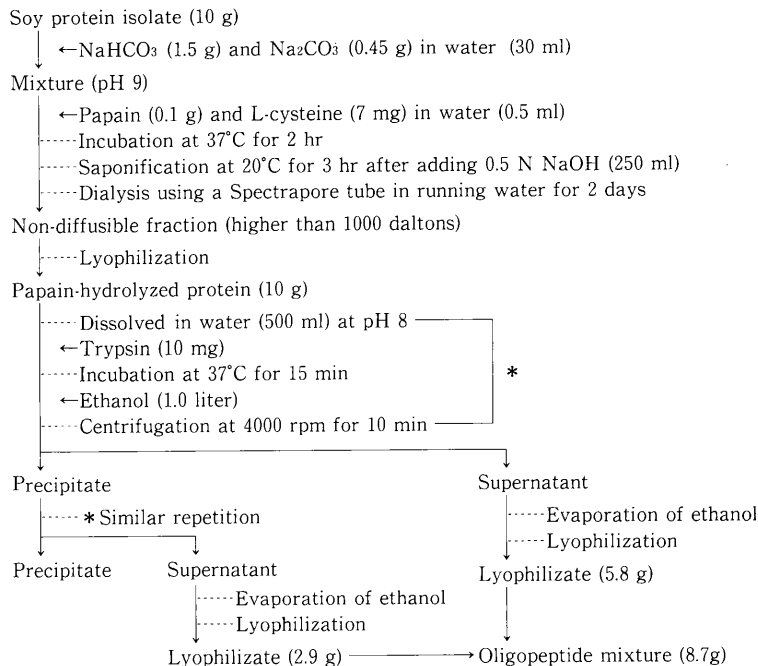


Fig. 1 Process for producing an oligopeptide mixture from soy protein isolate

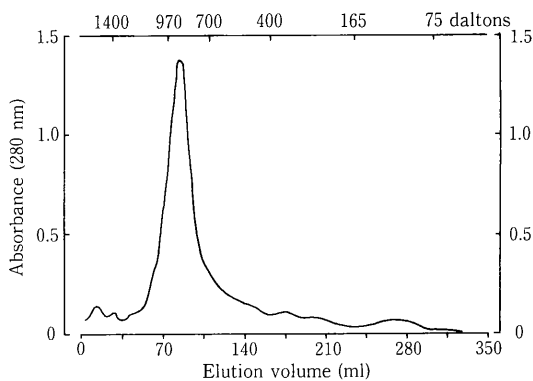


Fig. 2 Chromatography of the oligopeptide mixture (OPM) on Bio-gel P-2.

量 (1.08%) その他の点で互いにきわめてよく一致していた (Table 1)。

2. ラット飼育試験

試料として OPM を用い、対照として SPI および OPM と同等のアミノ酸組成 (Table 1) をもつ遊離アミノ酸混合物 (AA) を用いた。それぞれから、N 水準 1.5% の Harper 型飼料 (メチオニン水準約 0.1%) を調製した。

被験ラットとして、最大発育期 (5 週齢) の正常ラットおよびたん白質栄養不良ラット (いずれも Wistar

系雄性) を用いた。後者は 6 週齢のラットに無たん白食を 4 週間投与したもので、完全に貧血状態に達していた。

これらのラットに温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 50~55%、人工照明 (6 a.m.~6 p.m. 点灯) の条件で、SPI 飼料、OPM 飼料、AA 飼料のそれぞれを 3 週間自由摂取させ、体重変化、N 摂取および排泄を測定し、PER を求めた。また、尾静脈採血により、ヘモグロビン (Hb) 濃度、血清 GOT および GPT 活性を測定した。

実験結果

Table 2 にメチオニン含有量約 1% のオリゴペプチド混合物 (OPM₁ と記す) の栄養特性を SPI および AA のそれと比較して示した。下半部にはメチオニン含有量約 3% の SPI, OPM₂, AA の栄養特性を前報¹⁾ から引用して付記してある。

飼料中メチオニン水準 0.1% の場合、正常ラットに対しては、SPI 飼料、OPM₁ 飼料、AA 飼料はいずれも約 2 の PER をもち、有意の差はなかった。一方、栄養不良ラットの回復に与える効果をみると、AA 飼料では PER が 2.13 に過ぎないのに比し、SPI 飼料は 2.54 の PER を与え、さらに OPM₁ は PER 3.13 というきわめて優れた成績を示した。

3 週間の試験期間を第 1 週、第 2 週、第 3 週の 3 期

Table 1. Amino acid compositions of soy protein isolate (SPI) and oligopeptide mixture (OPM)

Amino acid	Amino acid composition (wt. %)	
	SPI	OPM*
Lysine	6.16	5.95
Histidine	2.72	2.74
Arginine	7.32	7.63
Aspartic acid	11.73	11.58
Threonine	3.68	3.84
Serine	5.05	4.02
Glutamic acid	19.42	18.70
Proline	5.76	5.65
Glycine	4.02	4.09
Alanine	4.38	4.62
Valine	5.09	5.18
Cystine	1.14	1.10
Methionine	1.07	1.08
Isoleucine	4.83	5.20
Leucine	8.20	7.69
Tyrosine	3.84	4.05
Phenylalanine	5.35	5.95
Tryptophan	0.98	1.00

* Free amino acid content : 4.0%.

Table 2. Performance of three-week feeding of normal and protein-malnourished rats with soy protein isolate (SPI)-, oligopeptide mixture (OPM)-, and amino acid mixture (AA)-diets having methionine levels of 0.1% and 0.3%

State of rats	Number of rats	Diet	Methionine level in diet (%)	PER	Hb (g /100 ml)	GOT (Karmen units)	GPT
Normal	5	SPI	0.1	2.05±0.38 ^{a)}	12.0±0.46	88±0.5	15.0±1.3
	5	OPM ₁	0.1	2.11±0.27	12.3±0.17	87±5.4	13.7±1.5
	5	AA	0.1	2.14±0.34	12.6±0.45	78±6.8	18.3±1.2
Malnourished	5	SPI	0.1	2.54±0.19	10.9±0.45	95±9.2	16.9±0.7
	5	OPM ₁	0.1	3.13±0.13	10.9±0.28	74±4.0	10.7±0.7
	5	AA	0.1	2.13±0.51	10.3±0.42	74±4.2	12.8±0.7
Normal	5	SPI + Met	0.3	2.96±0.24	12.6±0.46	66±4.0	8.3±1.8
	5	OPM ₃	0.3	3.12±0.02	12.2±0.44	55±1.2	11.0±2.0
	5	AA	0.3	2.72±0.14	12.9±0.28	69±3.6	14.0±1.5
Malnourished	5	SPI + Met	0.3	3.88±0.27	11.6±0.46	68±8.0	12.0±0.3
	5	OPM ₃	0.3	3.97±0.15	12.2±0.21	55±4.5	11.0±0.1
	5	AA	0.3	3.49±0.13	12.2±0.35	65±3.9	13.5±0.3

* p<0.05 a) Mean ± SE

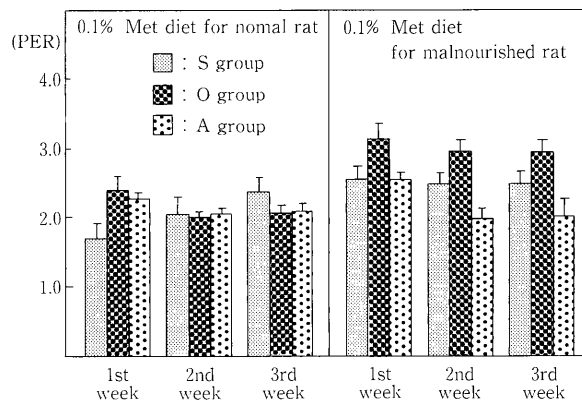


Fig. 3 Stepwise changes in PER with normal and protein-malnourished rats fed soy protein isolate (SPI)-, oligopeptide mixture (OPM)- and amino acid mixture (AA) diets for three weeks. The symbols, S, O and A refer to SPI-, OPM- and AA-diet, respectively.

にわけて PER を求め、図示したのが Fig. 3 である。同図右側をみると、AA 飼料は回復の第 1 期に優れた効果を示すものの、第 2 期にはその効果が低減してしまうことがわかる。これに対して、SPI 飼料および OPM 飼料は全期を通じて有効であり、とくに OPM 飼料は SPI 飼料よりも有意に高い水準の効果を保っていた。

以上を総合すると、平均分子量900程度の SPI 水解物は栄養不良ラットの回復に対して、SPI そのものよりも有効であるといえる。この有効性はメチオニン水準を 3% (飼料中0.1%) にすることにより、さらに拡大されることが前回の報告¹⁾ のデータとの比較により明らかになった。

文 献

- 1) 荒井総一(1982)：大豆たん白質の酵素修飾によるペプチドの調製とその栄養特性の評価。大豆たん白質栄養研究会会誌，3，13-17.
- 2) Arai, S., Aso, H. and Kimura, H. (1983) : An enzymatically modified protein produced with covalent incorporation of L- methionine for use in nutritional improvement of soy protein. *Agric. Biol. Chem.*, in press.