

大豆たん白質ペプチドの生産および栄養効果の検証

PRODUCTION AND NUTRITIONAL QUALITY OF AN OLIGOPEPTIDE MIXTURE PRODUCED FROM SOY PROTEIN ISOLATE

荒井綜一（東京大学農学部） 木村廣子（女子栄養大学）

Soichi ARAI¹ and Hiroko KIMURA²

¹ Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo 113

² Kagawa Nutrition College, Tokyo 170

ABSTRACT

A method for producing an oligopeptide mixture (OPM) from soy protein isolate (SPI) by treatment with papain and trypsin has been proposed in our previous paper [*Nutr. Sci. Soy Protein (Jpn)*, 4, 22-25 (1983)]. In the present work we attempted to replace trypsin with prolyl endopeptidase (EC 3. 4. 21. 26) of *Flavobacterium* origin, in order to produce an OPM having no significant amounts of free amino acids. SPI was treated first with papain as described in the previous paper and secondly with prolyl endopeptidase. The product was dialyzed to obtain an oligopeptide fraction as a diffusate. The non-diffusible fraction was submitted again to the prolyl endopeptidase treatment to obtain an oligopeptide fraction in a similar manner. These two fractions were pooled prior to lyophilization to produce an OPM. Gel filtration analysis showed that the average molecular weight of the OPM approximated 800 daltons, with no appreciable amounts of lower- and higher molecular weight species. The amino acid composition of the OPM resembled that of the SPI used as material. Feeding tests with rats are under way to verify a superior nutritional effect of the OPM compared to SPI as well as to a free amino acid mixture simulating the OPM. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn* 6, 85-87, 1985.

たん白質加水分解物、すなわち低分子ペプチド混合物は、原料たん白質とも、相当するアミノ酸混合物とも異なる栄養特性をもつと期待される。

本研究は、分離大豆たん白質 (SPI) を原料とした加水分解物（低分子ペプチド）を調製する実用的な技術を確認し、併せて、得られた低分子ペプチドについて、栄養効果を検証する目的で行ったものである。

実 験

1. 低分子ペプチドの調製法の検討

SPI を原料とし、パパイン・トリプシンの組合せにより、遊離アミノ酸を 5% 以下としたオリゴペプチド

(OPM-T) の調製法を本研究会に報告した¹⁾。

今回は酵素の組合せを替えることにより遊離アミノ酸含量をさらに低くし、収率をより高くすることを目標としてオリゴペプチドの調製を行った。

第 1 段階では、前報と同様にパパイン処理 (E/S=1/100, pH 8.7, 反応時間 2 時間) を行い、第 2 段階ではプロリルエンドペプチダーゼ²⁾ (EC 3. 4. 21. 26) を用いた。

パパインで修飾し低分子化した SPI (10 g) に水 (500 ml) を加え基質濃度が 2% になるようにし、数滴の 1 N. NaOH を用いて pH 7.0 に調整した。プロリルエンドペプチダーゼ 200 単位を加え、37℃ で 30 分反応さ

せた。2 倍容 (1 リットル) のエタノールを加えて反応を停止し、室温で 6 時間放置し、上清区を凍結乾燥してペプチド混合物 (OPM-P₁) を得た。沈殿区に同様の操作を繰り返し、第 2 回目のペプチド混合 (OPM-P₂) を得た。この操作は、収率をあげるばかりでなく、アミノ酸組成を原料に近似したものに行うことができる。収率は最も良い場合で原料 (ババイン修飾 SPI) の 66% であった。

分子量測定はゲル濾過法によった。Bio-gel P-2 (Biorad 社) を用い、0.2 M 磷酸緩衝液 pH 8.0 下で流出させた。マーカーに、グリシン、フェニルアラニン、トリグルタミン酸、アンチバイン、ヒト・アンジオテンシン I、ヒト・アンジオテンシン III (それぞれ 75, 165, 402, 604, 931, 1296) を用い UV 吸収を自動記録させて測定した (グリシンのみ比色)。

遊離アミノ酸部分はアミノ酸アナライザーで別途に定量を行った。

2. ラット飼育実験

試料として OPM-P を用い、対照として SPI および OPM-P と同等のアミノ酸組成 (Table 1) をもつ遊離アミノ酸混合 (AA) を用いた。それぞれ窒素レベル

が 1.5% となるよう 3 飼料群を調製した (SPI₁, OPM₁-P, AAM₁ と略称)。

被検ラットとして発育期 (5—8 週齢) の正常ラット、およびたん白栄養不良ラット (いずれもウィスター系雄性) 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 6 群 (1 群各 5 匹) のラットを温度 22±1 °C、湿度 60~65%、照明 (6 am~6 pm 点灯) の条件でそれぞれの飼料を自由摂食させ、体重変化、摂取量、食餌 N および糞中 N を測定し、消化吸収率 (見かけの) および PER を求めた。ヘモグロビン (Hb) 濃度を測定し、栄養不良ラットの回復のパラメーターとした。

結果と考察

Table 1 に原料 SPI および 2 種のオリゴペプチド混合物 OPM₁-T と OPM₁-P の総アミノ酸および遊離アミノ酸の組成を比較して示した。

今回用いたプロリルエンドペプチダーゼによるオリゴペプチド (OPM₁-P) は、遊離アミノ酸がきわめて低くわずか 0.15% に過ぎず、アミノ酸組成も SPI のそ

Table 1. Total and free amino acid composition of soy protein isolate (SPI) and four kinds of oligopeptide mixtures

Amino acid	SPI	OPM ₁ -1		OPM ₁ -P	
	Total	Total	Free	Total	Free
(g amino acid/16 g nitrogen)					
Aspartic acid	11.13	11.08	0.40	12.26	n.d.
Threonine	3.65	3.84	0.07	3.08	n.d.
Serine	4.81	4.02	0.01	4.40	n.d.
Glutamic acid	20.42	18.20	1.52	21.64	0.07
Proline	5.66	3.65	n.d.	3.03	0.04
Glycine	3.97	4.09	0.08	4.02	n.d.
Alanine	4.33	4.62	0.36	3.64	n.d.
Cystine	1.04	1.10	0.04	1.14	n.d.
Valine	5.04	5.08	n.d.	3.86	n.d.
Methionine	1.07	1.08	0.06	1.09	n.d.
Isoleucine	4.78	5.20	0.21	4.88	n.d.
Leucine	7.05	7.69	0.41	6.73	n.d.
Tyrosine	3.79	4.05	0.10	2.95	n.d.
Phenylalanine	5.25	5.95	0.25	4.61	0.03
Tryptophan	0.98	1.00	n.d.	0.98	n.d.
Lysine	5.72	5.95	0.14	6.16	n.d.
Histidine	2.65	2.74	0.02	3.07	n.d.
Arginine	7.22	7.63	0.48	8.86	n.d.
Sum	98.56	96.97	4.15	96.40	0.14

n.d.: not detected

Table 2. Performance of three-week feeding of normal and protein-malnourished rats on the SPI-, OPM-, and AAM-based diets at methionine level of 0.1%

State of rats	Number of rats	Nitrogen source	Methionine level in diet	Diet intake ¹	Digestibility ²	PER ¹	Hb ¹
			(%)	(g/day)	(%)		(g/100 ml)
Normal	5	SPI ₁	0.1	19.7±1.3	84.0	2.02±0.30	12.0±0.46
	5	OPM ₁ -P	0.1	19.9±1.6	87.6	2.20±0.20	12.3±0.17
	5	AAM ₁	0.1	20.0±1.4	90.0	2.13±0.30	12.6±0.45
Malnourished	5	SPI ₁	0.1	23.7±2.7	84.1	*2.63±0.30	10.9±0.45
	5	OPM ₁ P	0.1	24.0±1.3	89.6	*3.10±0.25	10.9±0.28
	5	AAM ₁	0.1	24.0±2.3	90.2	2.38±0.23	10.3±0.42

¹Means±SEM (n=5). ²Means. *P<0.05.

れに近似していて好ましいパターンであり、平均分子量も 800~900 近辺で目標に近いものであった。但し、難点は先ず収率の低いこと（最もよい条件にしてもババイン修飾物の 66% 程度）、つぎにババインによる前処理をかなり低分子（推定 3000 ダルトンくらい）まで分解しないと作用しないこと（SPI の直接の水解は皆無であった）、そして酵素がきわめて高価なことなどがあげられる。前報と総合すると OPM-T（ババイン・トリブシン組合せ）のほうが実用的であると思われる。

栄養効果試験の結果を Table 2 に一括した。結果は前報と同様であり、前報と総合するとラットが苛酷な条件—低たん白栄養状態であるとか、アミノ酸組成が好ましくない状態であるなど—におかれた時のみ、低

分子ペプチドは通常たん白質より有意に有効であると結論される。

ペプチド（たん白質も含む）と、相当するアミノ酸混合との差は明瞭であるので、今回新たに言及はしない。

文 献

- 1) 荒井綜一 (1983): 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. 大豆たん白質研究会会誌, **4**, 22-25.
- 2) Yoshimoto, T., Walter, R and Tsuru, D. (1980): Proline-specific endopeptidase from *Flavobacterium*. *J. Biol. Chem.*, **255**, 4786-4792