

まがれいたんぱく質のアミノ酸組成と ペプシン人工消化試験について (その1)

新納 英 夫* 木坂 真 左 子**
中村 佐 智 子***

Amino Acid Composition and Pepsin Digestibility of Ma-Karei

(*Limanda Angustirostris Kitahara*) Portein (1)

Hideo Nihiro, Masako Kisaka and Sachiko Nakamura

緒 言

食品たんぱく質のたんぱく¹⁾質は、含有している必須アミノ酸組成によって定まるが、実際のアミノ酸の利用度には、消化にともなって分離してくる各必須アミノ酸の分離速度が非常に影響する。また、調理中に食品たんぱく質の一部やアミノ酸が流出したり、たんぱく質やアミノ酸が変性や分解をうけるため、調理後食物として摂取する食品中のアミノ酸組成は、生のときと同じとは考えられない。さらに調理形態の違いによって消化率が変化することも知られている。よって食品たんぱく質の組成と調理に伴う利用度の変化を調べるため、本邦近海で年中とれ、新鮮な試料の得やすいまがれいを試料として、たんぱく質、およびアミノ酸組成を調べ、ついで調理形態による人工消化率の変化について調べてみた。

実 験 の 部

1. 試料

市販の新鮮なまがれい（体長25~30cm）を購入して試料とした。体長28cmのもので内臓を除き250gのまがれいは、頭部47g、骨35g、ヒレ、ウロコなど12gで、可食部としては皮14g、筋肉部142gであった。こ

第1表 まがれい筋肉および皮の組成

	筋 肉	皮
水 分	80.0%	76.0%
脂 肪	0.9	2.3
たんぱく質	18.8	21.6
窒 素	3.00	3.45
灰 分	0.2	0.3

の筋肉部の白身の部分を消化試験の試料とした。ただちに消化試験を行なわないときには10gずつに切り取ったのちアルミ箔に包み、フリーザー（-25℃）中で急速に凍結させて貯蔵し、実験のつど戻して使用した。筋肉および皮部のたんぱく質、脂質、水分含量は第1表の通りである。

2. まがれいたんぱく質の溶解性

- (i) まがれい筋肉10gを20mlの水と共に冷却しつつホモゲナイズする。次に80mlの水を加え、室温（25~28℃）で1時間攪拌した後遠心分離し、上澄液についてマイクロケルダール法により窒素を定量し、窒素量に6.25を掛けて水溶性たんぱく質とした。
- (ii) (i)の残渣に10%食塩水100mlを加え、室温で1時間攪拌しつつ抽出し、遠沈して上澄液について(i)と同様に定量し、食塩水可溶性たんぱく質とした。
- (iii) (ii)の残渣に1N-NaOH100mlを加え、同様の操作を行なったところほとんど完全に溶解し、遠心分離により沈澱を生じなかった。この液について前と同様に定量し、アルカリ可溶性たんぱく質とした。結果は第2表の通りである。なお(i)および(ii)の上澄液は加熱により凝固物を生じ、(i)、(ii)、(iii)の液とも酸性にすれば沈澱を生じた。

3. アミノ酸の定量

たんぱく質を乾燥後5.6N塩酸50~200倍量を用い、封管中110℃で13, 24, 70時間加水分解し、減圧乾燥し、pH2.2のクエン酸緩衝液に溶解して自動分析の試料とした。なおシスチンは過ギ酸酸化後同様の操作を行ない、シスチン酸として定量したものをシスチンに換算した⁶⁾。また、トリプトファンはP-ジメチルアミノベンズアルデヒド法で定量した⁷⁾。アミノ酸の自動分析は三田村研アミノ酸自動分析装置580Ⅱ型A A Aによって行なった。結果は第3表の通りである。

*本学教授 **本学教務員 ***昭和39年度卒業生

4. 人工消化試験⁸⁾

(i) 試料

かれいの筋肉を用い、(A)生の筋肉、(B)片面5分づつ焼いたものを焼がれい試料、(C)片面サダラ油で5分づつ焼いたものをムニエル試料、(D)かれいを72時間風乾したものを干がれい試料とした。

(ii) 人工消化液

日本薬局法含糖ペプシン(1:10,000)を0.075 N 塩酸に溶解し0.2%液としたものを用いた。この液のpHは1.4である。

(iii) 消化条件

調理された試料を各々約10g(生かれいとして)をとり、350ml 共栓三角フラスコに入れ上記のペプシン消化液100mlを加えホモジナイズしたのち、42±2°Cで攪拌しつつ消化試験を行なった。消化時間は胃内停滞時間を考慮して1時間、2時間、3時間とした。

(iv) 測定法

i) 窒素の定量

各消化試験反応液を蒸留水で300ml⁹⁾に希釈し、その5mlをとりマイクロケルダール法で定量した。

ii) アミノ態窒素の定量

i) の希釈液20ml¹⁰⁾をとり、ホルモール滴定法にて定量した。

iii) 消化率

総窒素量に対するアミノ態窒素量の比率を求め、これを消化率とした。

iv) 試料10gに蒸留水100mlを加えてホモジナイズしたのものについて上記の方法で総窒素およびアミノ態窒素を定量し、零時間におけるアミノ態窒素と総窒素の比率を求めた。結果は第4表の通りである。

5. 遊離アミノ酸の測定

一定時間人工消化試験を行なった消化試験反応液20mlに1%ピクリン酸液100mlを加え、たんぱく質、ペプチドを沈澱させ、ロ液をDowex 2×8Cl型カラムを通してピクリン酸を除き0.02N塩酸でカラムを洗い、流出液と検液を合わせて減圧濃縮して50ml¹¹⁾とし、上記の方法でホルモール滴定を行ない遊離アミノ酸を測定した。結果は第5表の通りである。

またこの液を試料としてペーパークロマトグラフィにより遊離アミノ酸の種類を検出した。

結果は第7表の通りである。

実験結果および考察

かれいの可食部はその大きさにより異なるけれども筋肉部とこれに附着せる皮部を食するとすれば、可食

部はかれい総重量の50~90%である。この可食部の約10%が皮部で、残りの90%は筋肉である。その組成を調べると第1表のごとくでかれいには脂肪は少なく、水分以外の大部分はたんぱく質である。そこでかれい可食部の大半を示める筋肉たんぱく質について、水溶性、食塩可溶性、アルカリ可溶性の別に分けると第2表のようになる。この場合かれい筋肉たんぱく質は

第2表 かれい筋肉たんぱく質の溶解度区分

	総量	水溶性	食塩可溶性	アルカリ可溶性
試料10g中の窒素量 mg	306.8 mg	84.76 mg	87.89 mg	134.15 mg
たんぱく質を100としたときの%	100.0 %	27.6 %	28.7 %	43.7 %
食品中の含量%	19.1 %	5.3 %	5.5 %	8.3 %

1N-NaOHで完全に溶解して残渣は全く認められなかった。水溶性たんぱく質と食塩可溶性たんぱく質の合計が肉漿たんぱく質に、アルカリ可溶性たんぱく質は肉基質たんぱく質に相当するが、かれいの場合肉漿たんぱく質と肉基質たんぱく質の比は6:4となる¹²⁾。これを他のたんぱく質と比較すると家兎筋肉では8:2、いか筋肉たんぱく質では9:1であり、かれいたんぱく質は肉基質の割合が多いことがわかった。なお溶解性から考えると、水溶性たんぱく質はミオゲン、食塩可溶性たんぱく質はミオテニン、1N-NaOH可溶性のたんぱく質はミオテリンを主成分とするものと考えられる。水溶性および食塩可溶性のたんぱく質は加熱すると凝固物、酸性にすると沈澱を生ずるが、これについては詳しく調べなかった。

次にかれいの可食部である筋肉および皮部について、アミノ酸組成を110°C5.6N塩酸加水分解物についてアミノ酸自動分析機を用いて定量した結果を第3表に示した。この表ではセリン、スレオニン、リジンについては13、24、70時間の加水分解物についての値より外挿法で0時間の値を用いて補正、他は最大値をとってその値とした。また第1図にクロマトグラムの一例を示した。これよりかれい筋肉たんぱく質はグルタミン酸、アスパラギン酸の含量が大きく、これがかれいの旨味の一因となっていると思われる。またリジン、ロイシンの含量が多い。窒素1g当りのアミノ酸含有量をみるとトリプトファンを除きすべての必須アミノ酸は比較たんぱく質中の量を越えており、トリプトファンが制限アミノ酸となつてたんぱく価は83.6とかなり

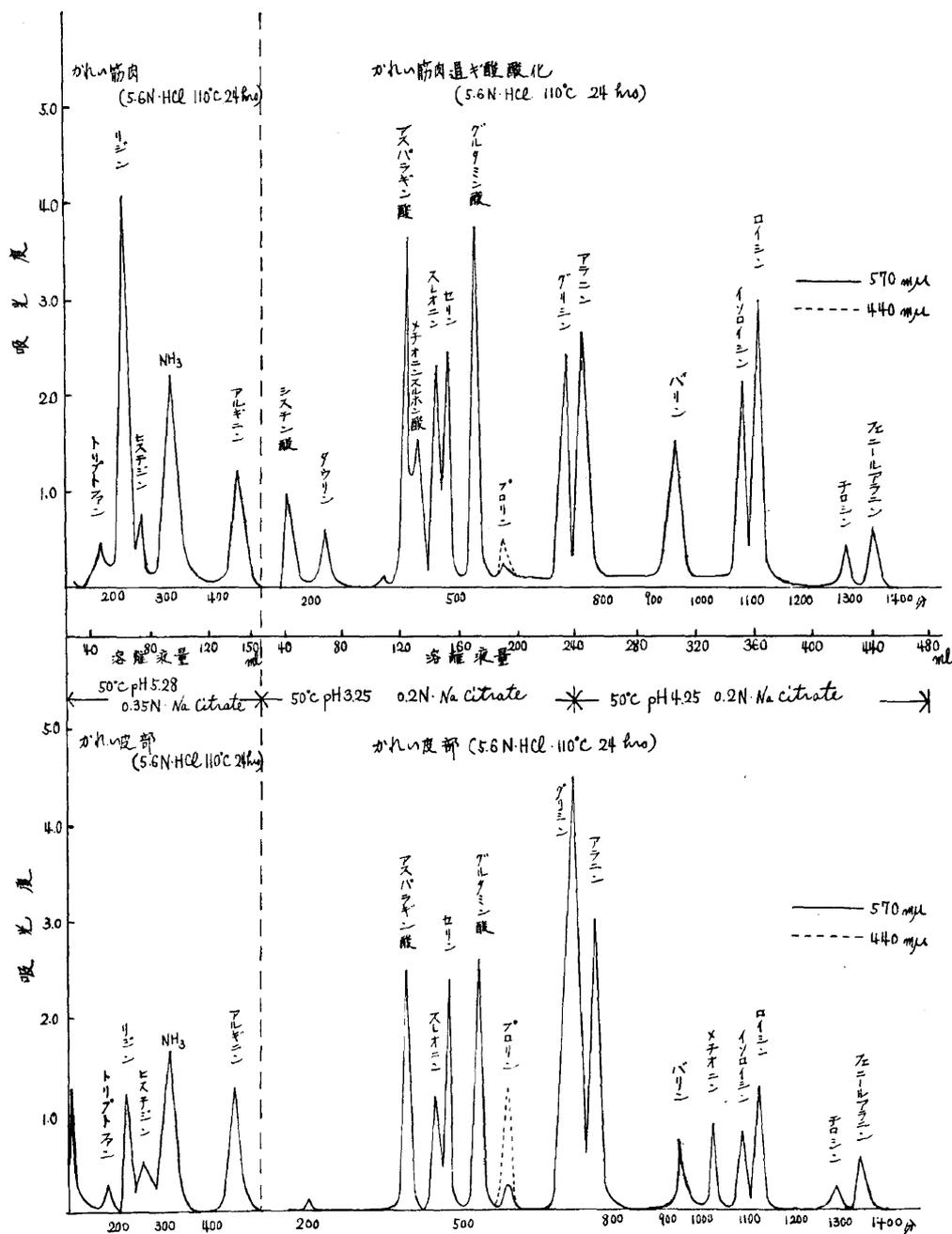
第3表 きれい筋肉および皮部たんぱく質のアミノ酸組成

アミノ酸	筋 肉		皮 部	
	窒素 1g 当りの mg 数	たんぱく質 100g 中の残基含有量g	窒素 1g 当りの mg 数	たんぱく質 100g 中の残基含有量g
グリシン	231.8	2.97	1402.1	20.97
アラニン	372.0	5.01	587.0	8.83
バリン	360.3	5.14	193.5	3.09
ロイシン	611.6	8.69	227.2	3.68
イソロイシン	309.9	4.51	126.0	2.05
セリン	275.9	3.86	330.8	5.15
スレオニン	279.3	3.95	168.0	2.66
メチオニン	231.1	3.43	164.2	2.72
シスチン	66.8	0.87	0.0	0.0
アスパラギン酸	722.8	10.68	454.4	7.40
グルタミン酸	1144.9	17.31	766.3	13.09
チロシン	222.0	3.37	74.5	1.27
フェニールアラニン	256.0	3.85	177.6	2.99
プロリン	224.5	3.19	596.5	9.46
トリプトファン	75.2	1.21	76.5	1.31
アルギニン	383.4	6.04	460.5	7.78
リジン	709.0	10.49	203.9	3.37
ヒスチジン	175.1	2.63	64.7	1.14
タウリン	31.3	0.45		
アミド窒素	59.1	0.99	34.9	0.66
合 計		98.64		97.62

高い値を示した。含硫アミノ酸は過ギ酸酸化法によってシスチンをシスチン酸として、メチオニンをメチオニンスルホン酸として定量することにより表の如き高い値を示した。メチオニンは比較たんぱく質の値144より著しく大で、含硫アミノ酸の合計は297.9と比較たんぱく質の270より越えており、牛乳、牛肉よりすぐれている。すなわちきれい筋肉はきわめて良質の栄養価の高いたんぱく質といえる。一方可食部の10%を占める皮部たんぱく質はグリシン含量が非常に大きく、またグルタミン酸、アスパラギン酸、アラニン、プロリン、アルギニン含量が多い。これは皮部たんぱく質はコラーゲン、エラスチン含量が多いためと思われるが、コラーゲン中に含まれる筈であるオキシプロリンの溶出帯を見出すことができなかった。この点についてはなお検討を要する。またコラーゲン、エラスチンに欠けているといわれているトリプトファン含量が意外に多いことも注目すべきで、これがどのようなたんぱく質に基づくかは興味がある。しかし必須アミノ酸含量はメチオニンを除きすべて少なく、メチオニンも含硫アミノ酸合計ではシスチンが少ないため

比較たんぱく質の値よりはるかに少ない。それで皮部たんぱく質はイソロイシンを第一制限アミノ酸としてたんぱく価は46.6となり、きわめて栄養価の低いたんぱく質であるといえる。

たんぱく質の栄養価は構成アミノ酸の種類と量のほか消化により遊離する必須アミノ酸の量と速度が関係する。そこで調理方法を異にする試料についてペプシンを用いて人工消化試験を行なってみた結果が第4表である。調理方法は焼がれい、ムニエル、干がれいで、これと生がれいを比較した。この結果よりみると消化率は生がれい、干がれいの加熱していないものの方が各時間ともいくらか高いが、ペプシンを作用させる前、すなわち水でホモジナイズした試料についてのアミノ態窒素定量値も生がれいが加熱かれいより高く、この差は加熱によるたんぱく質の変性および調理のさいのいくらかの遊離アミノ酸の溶出によるものと考えられ、きれい筋肉の消化率は加熱によりほとんど変化しないもといえる。なおペプシン消化時間を3時間で止めたのは胃内停滞時間を考慮したためで、どの試料の場合も1時間以内に完全に分散したコロイド液とな



第1図 まがれい筋肉および皮部たんぱく質塩酸加水分解物のクロマトグラフ

る。

次に消化試験にともなう遊離アミノ酸の増加を調べた結果が第5表である。この表より明らかなごとくペプシン消化試験の進行にともなう遊離アミノ酸の量は急速に増加する。この場合も生がれいと焼がれいの間にはアミノ酸の遊離速度はほとんど差がないように思われる。

アミノ態窒素の定量はホルモール滴定法によったため、リジン、アルギニン、トリプトファンなどの塩基性アミノ酸や、グルタミン酸、アスパラギン酸の多い

筋肉たんぱく質の総窒素に対するアミノ態窒素で表わした消化率は、たんぱく質の真の分解程度を表わすとはいえない。そこで筋肉たんぱく質を5.6N塩酸、110°C、24時間加水分解して、ペプチド結合を完全に破壊した加水分解液について、総窒素とアミノ態窒素の比を調べると第6表のようになる。これより消化率76.3%の点で、かれい筋肉たんぱく質のペプチド結合が完全に切断された、いかえれば完全に消化されことになる。それで3時間のペプシン消化による消化率18.0%ではペプチド結合の23.6%が切断されたものと

第4表 調理形態による消化率の変化

	試料番号	0 時間			1 時間			2 時間			3 時間		
		総窒素 mg	ミア 窒素 mg	(消化率) %									
生 が れ い	1	300.1	17.5	5.8	325.1	53.4	16.4	321.4	55.9	17.4	322.0	60.3	18.7
	2	323.1	19.5	6.1	327.5	54.3	16.6	315.7	55.7	17.7	323.9	59.3	18.3
	3	332.1	19.9	6.0	364.2	59.1	16.2	367.5	62.7	17.1	366.7	70.5	19.2
焼 が れ い	1	316.4	13.2	4.2	327.0	50.3	15.4	319.2	52.4	16.4	328.7	54.4	16.6
	2	321.3	12.6	3.9	315.7	51.0	16.2	315.7	52.2	16.5	318.1	56.0	17.6
	3	326.1	13.1	4.0	330.6	51.0	15.4	335.5	52.4	15.6	334.7	54.4	16.3
ム ニ エ ル	1				364.0	53.5	14.9	366.1	57.6	15.7	366.1	58.9	16.1
	2				367.1	53.7	14.7	367.1	57.7	15.7	376.9	61.4	16.3
	3				325.1	48.2	14.8	319.0	51.8	16.2	318.7	53.4	16.8
干 が れ い	1				237.3	36.8	15.5	217.3	39.1	18.0	234.5	42.9	18.3
	2				323.2	53.0	16.4	324.7	57.5	17.7	322.8	60.7	18.8
	3				344.8	59.5	17.3	355.1	64.9	18.3	354.0	66.3	18.7

第5表 消化による遊離アミノ酸の生成

消化時間	生 が れ い				焼 が れ い			
	0	1	2	3	0	1	2	3
総窒素 mg	308.5	309.4	309.2	321.1	326.5	329.8	329.8	342.3
アミノ態窒素 mg	17.85	52.91	54.45	59.50	14.34	55.87	58.38	65.73
遊離アミノ酸の アミノ態窒素 mg	2.89	38.09	45.79	51.16	1.19	37.89	46.50	53.39
消化率 %	5.8	17.1	17.5	18.5	4.3	16.9	17.7	19.2
アミノ酸遊離率%	0.9	12.3	14.8	15.9	0.4	11.5	14.1	15.6

第6表 塩酸加水分解中のアミノ態窒素量

塩酸加水分解液 5cc中の 総窒素量 mg	3.218
同アミノ態窒素量 mg	2.456
アミノ態窒素/ 総窒素 %	76.3

考えられる。

なおかかれい筋肉のペプシン消化3時間による消化率18%を同一条件で行なったいか筋肉たんぱく質の消化率¹³⁾13%、大豆たんぱく質の消化率¹⁴⁾14.0%と比べてみると、かかれい筋肉たんぱく質の方がかなり消化しやすいことがわかる。この事実は消化にともなって速やかに分散、可溶化すること、必須アミノ酸を多量に含むこ

と、筋肉部は脂肪含量が少ないことなどと相まって、かかれいの白身は胃弱者、病人等の食品としてきわめて適しているといえる。

次にかかれい筋肉中および消化にともなって分離してくる遊離アミノ酸の量と種類を定性的に知るため、ピクリン酸でたんぱく質、ペプチドを沈澱させて除いた試料について、ホルモール滴定法で遊離アミノ酸のアミノ態窒素量を測定し、ペーパークロマトグラフィーによりアミノ酸の種類を定性的に調べてみた。

もとのかかれい筋肉中には遊離アミノ酸含量は僅かであるが、消化が進むと共に急速に遊離アミノ酸量が増加する。この事実はピクリン酸添加ですべてのペプチドが沈澱しないとしても分子量の大きいペプチドは沈澱している筈であり、総アミノ態窒素と遊離アミノ酸

のアミノ態窒素との差が第5表に示すように消化の進行にともなって小さくなっていくことは注目すべきである。また第5表で生がれいと焼がれいの遊離アミノ酸含量を比べると生の方が多いいのは、焼がれいは加熱中に遊離アミノ酸の一部が溶出して失なわれたためと考えられ、この点を考慮すればこの実験結果の範囲では加熱によってかたい筋肉の消化性、および遊離アミ

ノ酸の生成速度が影響されるとは考えられない。しかし消化した液中の遊離アミノ酸の種類をペーパークロマトグラフィーで定性的に調べると、調理法を異にする試料間に多少の差があるような結果がえられた。すなわちアミノ酸濃度がほぼ等しくなるように原点につけて展開したペーパークロマトグラム上に検出されるアミノ酸の数は、消化の進行にともなって増大する

第7表 ペーパークロマトグラフィーによるアミノ酸の検索

消化時間	生がれい			焼がれい			ムニエル			干がれい		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
グリニン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
アラニン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
グルタミン酸	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
メチオニン			○								○	○
ロイシン			○							○	○	○
チロニン			○									○
リジン			○	○	○	○	○	○	○			○
ヒスチジン	○	○	○			○						○

○はペーパークロマトグラム上で検出されたアミノ酸

が、その種類は第7表に示されよう加熱したもの加熱しないもとの異なる。すなわちグリニン、アラニン、グルタミン酸の3つのアミノ酸はすべてのものに消化の初期の段階から検出されたが、リジンの検出は加熱していない生がれい、干がれいでは加熱した焼がれい、ムニエルよりも遅い。一方加熱したものはメチオニン、ロイシン、チロニン、ヒスチジンの検出が遅れている。このことは第5表でかたい筋肉たんぱく質の消化率、アミノ酸の消化にともなう遊離の割合が加熱の有無によってほとんど変化しなかったのに反して、遊離されるアミノ酸の種類には変化が起ることを示している。Eldred, Pader, Evans¹⁵⁾らは食品をオートクレーブで加熱した場合、あるいは糖質と加熱することにより酵素によるリジンの遊離が阻害されたと報告している。本実験では定性的ではあるが加熱した場合がリジンの遊離が速いという結果をえた。これはかたい筋肉の場合筋肉中の糖含有量が少ないこと、加熱条件が上記のリジンの遊離を阻害されたという実験に比して短かく、かつ加圧していないことなどが関係すると思われるが、この点についてはなお定量的な研究を行なっている。またペプシン消化後さらに膵臓酵素より消化を行ない、それにともなう遊離アミノ酸の生成についても研究を行なう予定である。

総 括

まがれいたんぱくの栄養価を調べるため、可食部について構成たんぱく質のアミノ酸組成、および調理形態を異にする生がれい、焼がれい、ムニエル、干がれいについて、調理方法の差がペプシンを用いての人工消化試験に差を与えるか否かを調べて次の結果をえた。

1. まがれいの可食部は50~60%で、そのうちの約10%が皮で、残りの90%が筋肉である。かたい筋肉たんぱく質は水溶性あるいは食塩可溶性の肉基質たんぱく質が43.7%を示める。

2. まがれい筋肉たんぱく質のアミノ酸組成はきわめて良好で、トリプトファンを除く他のすべての必須アミノ酸含量は比較たんぱく質より多く、トリプトファン制限アミノ酸としてたんぱく価83.6となり、この価は牛肉とほぼ同等で牛乳より高い。また一般に欠乏しがちなメチオニンの含量が大で、シスチンも含み、含硫アミノ酸合計値も比較たんぱく中の値を越えており、この点より考えれば牛肉より良質のたんぱく質といえる。

一方皮部たんぱく質はグリニンの含量が多く必須アミノ酸含量はすべてのものについて比較たんぱく中の含量を大幅に下廻り、イソロイシンを第1制限アミノ酸として、たんぱく価は46.6と低く栄養価に乏しい

たん白質である。この皮部が可食部の10%内外を示め、多くの場合皮も筋肉に食されるため全体としてのかれのたんぱく価は、皮部に意外にトリプトファンを多く含み、筋肉には多くの必須アミノ酸を比較たんぱく質よりかなり多く含んでいるため、全体として低下せず、計算上はたんぱく価83.7となり、もとの筋肉のたんぱく価に等しい結果となる。

3. まがれい筋肉の消化性を調理法を異にした試料で調べた結果、焼がれい、ムニエル、のように加熱しても、干がれいのように乾かしても、ペプシン人工消化試の結果はほとんど生の場合と変わらない。なおいづれの調理形態の場合も消化開始後1時間以内に完全に分散してコロイド液となった。ペプシン消化試験3時間の消化率は18%で、これは同一条件でのいかの13%よりかなり高い。

4. 以上のようにかれい筋肉たんぱく質はアミノ酸組成よりいづれも、消化性より考えてもきわめて良質のたんぱく質であって、病人食、胃弱者のたんぱく供給源としてきわめてすぐれていると思われる。

参 考 文 献

- (1) 日本科学技術庁資源調査会；日本人の栄養所要量について：P45, (1959)
- (2) A. E. Denton et al : *J. Nutrition*, 49221(1953)
A. E. Denton S. N. Gershoff, C. A. Elvehjen :
J. Biol. Chem., 204, 731 (1953)
- (3) Hutchison : *Food and principle of Deitetics.*,
p 396 (1927)
- (4) Watermann&Fink : *J. Biol. Chem.*, 41, 397
(1920),
- Watermann&Jahnes : *J. Biol. Chem.*, 46., 9 (1921),
- Willen, Lawrence&Koch : *Am. J. Dischld.*, 39,
18 (1935)
高橋, 広沢 : 日本水産学会誌., 5, 2 (1935),
高橋 : 栄養と食糧 ; 12, 198 (1959),
足立, 亀井, 霊山, 鴨原 ; 本誌., 15, 10 (1964)
- (5) 口羽 ; 本誌., 12, 24 (1962)
- (6) 波多野 ; アミノ酸自動分析法 p 72 (1964)
- (7) J. R. Spies, D. C. Chambers : *Anal. Chem.*, 20,
30 (1948)
Anal. Chem., 21, 1249 (1949)
- (8) *Method of Analysis of the A. O. A. C.* ; p286
(1960)
道 : 栄養学実験法 p 31 (1963)
- (9) 永原, 岩尾 : 食品分析法 (1961)
- (10) 上田 : 調理実験法 (調理科学講座 5)
- (11) 波多野 ; アミノ酸自動分析法 p 62 (1964)
- (12) 大島 : 水産動物学上巻, 近藤, 山田 ; 農化., 13., 11
29 (1937)
- (13) 武部 : 昭和39年度卒業論文要旨集 (京都女子大学
家政部食物学科) p 49 (1965)
- (14) 椎 ; 昭和39年度卒業論文要旨集 (京都女子大学家
政部食物学科) p 48 (1965)
- (15) Eldred N. R. & G. Rodny : *J. Biol. Chem.*, 49,
333 (1921)
- (16) Pader M. et al ; *J. Biol. Chem.*, 172, 763 (1948)
- (17) Evans R. T. & H. A. Butts ; *Science.*, 109, 569
(1949)