

米糠蛋白質のアミノ酸組成とトリプシン インヒビター活性

田代 操・牧 善輔

Amino Acid Composition and Trypsin Inhibitor Activities of Rice Bran Proteins

MISAO TASHIRO and ZENSUKE MAKI

The proteins of rice bran were separately extracted with water, 5% NaCl, 60% ethanol, and 0.05 N NaOH, and each protein fraction was assayed for the amino acid composition and the trypsin inhibitor activity. Four protein fractions all possessed excellent amino acid compositions characterized by relatively high content of lysine. On the other hand, trypsin inhibitor activities were present in three protein fractions except the fraction extracted with 60% ethanol.

Albumin, globulin, prolamin, and glutelin were prepared from defatted rice bran by successive extraction with 5% NaCl, 60% ethanol, and 0.05 N NaOH. The albumin:globulin:prolamin:glutelin ratio was 24:44:5:27. Amino acid analyses of these proteins showed that albumin had the highest lysine content among the proteins. Most of the trypsin inhibitor activities were detected in the albumin fraction, suggesting that the anti-nutritional substance, trypsin inhibitor, is an albuminous protein.

(Received July 27, 1979)

I 緒 言

米糠はもみの精白時に副生する米穀の外層部及び一部胚芽を含む部分であり、その重量はもみの約10%にも及ぶ¹⁾。またその一般組成は水分8～15%、蛋白質10～16%、脂質8～23%、灰分7～20%、無窒素抽出物34～46%、粗繊維6～21%であり¹⁾、比較的蛋白質や脂質などの栄養素に富んでいる。現在、我が国においてはこの米糠は主に米糠油の原料として利用されている以外は肥料や燃料また家畜の飼料として一部用いられているにすぎず、その高い蛋白質含量にもかかわらず食品材料としての利用はほとんど図られていない。

近年、米糠の蛋白質供給資源としての重要性が指摘され、特に脱脂米糠より蛋白濃縮物を調製する試みが

二、三なされている^{2)~4)}。しかしながら、一般に植物は天然の毒物や反栄養物質をかなり有していることから⁵⁾、植物より蛋白濃縮物を調製する際はこれら物質の栄養価に与える悪影響を十分に検討しておく必要がある。米糠中にもこれら反栄養物質が存在し、特に蛋白質分解酵素の阻害剤であるトリプシンインヒビターは多量に存在することがすでに我々の研究で明らかとなっている⁶⁾。したがってこのインヒビターの栄養価に与える影響を明らかにすることは米糠蛋白質利用上の第一の課題であると考えられる。

本報告では各種溶媒を用いて米糠より蛋白質を抽出し、抽出された各蛋白質画分のアミノ酸組成を検討した結果、並びに抽出蛋白質画分中のトリプシンインヒビター活性の定量結果について述べる。

II 実験材料及び方法

1) 供試料

米糠は市販品を用い、脱脂には約4倍量の冷アセトン(-20°C)を用いた。

2) 蛋白質の抽出

脱脂米糠より蛋白質を抽出するために、水、5%食塩水、60%エタノール、0.05 N 水酸化ナトリウムを溶媒として用いた。

脱脂米糠 10 g 当り 50 ml の溶媒を加え5分間ワーキングブレンダーで攪拌し遠心分離(10,000×g, 15分)を行ない上清を集めた。残渣にさらに50 ml の溶媒を加え同様の操作を行ない、2回の抽出操作により得た上清を抽出蛋白質画分とした。

3) 蛋白質の分別抽出

脱脂米糠を5%食塩水、60%エタノール、0.05 N 水酸化ナトリウムで順次抽出し、アルブミン、グロブリン、プロラミン、グルテリンを調製した。

まず脱脂米糠 10 g を 50 ml の 5%食塩水で2回抽出し抽出液を得た。この抽出液に抽出残渣の洗液を加えたものを水に対して透析しそれから遠心分離で上清と沈澱とに分離した。上清をアルブミン画分、沈澱をグロブリン画分とした。次に洗浄した先の抽出残渣を同様に50 ml の60%エタノールで2回抽出し、その抽出液と抽出残渣の洗液を合わせこれをプロラミン画分とした。最後に残渣を同様に2回 0.05 N 水酸化ナトリウムで抽出しグルテリン画分を得た。

4) 窒素の定量

A. O. A. C. のマイクロ・ケルダール法により窒素の分析を行ない、6.25を乗じて蛋白質量とした。

5) アミノ酸分析

常法により、試料を6 N 塩酸で110°C, 24時間、加水分解を行ない、アミノ酸自動分析機(日立 KLA 5型)を用いて分析した。なお、トリプトファンについては定量を行なわなかった。

6) トリプシン及びトリプシンインヒビター活性の測定法

トリプシン活性測定には基質としてトシルアルギニンメチルエステル(TAME)を用い、反応は25°C, pH 8.0, 窒素ガス下 pH スタット装置(RTS 622, ラジオメーター社)を使用して行なった。反応混合液は2 M KCl 0.2 ml, トリプシン溶液(2回再結晶, Sigma 社製, 0.1 mg/ml) 0.1 ml, 40 mM TAME 0.2 ml を含み、総容量を水で2.0 ml に調整した。

トリプシンインヒビター活性は阻害剤が存在する時のトリプシン活性の減少率から計算し、1インヒビター単位(1 IU)は1 mg のトリプシンを完全阻害するインヒビター量と定義した。

III 実験結果及び考察

1) 脱脂米糠の水、5%食塩水、60%エタノール、0.05 N 水酸化ナトリウム抽出物

脱脂米糠10g を水、5%食塩水、60%エタノール 0.05 N 水酸化ナトリウムで別個に抽出した抽出蛋白質画分の蛋白質含量及びトリプシンインヒビター活性を Table 1 に、それらのアミノ酸組成を Table 2 に示す。

脱脂米糠の粗蛋白質含量は16.8%で水、5%食塩水、60%エタノール、0.05 N 水酸化ナトリウムによりそれぞれ 51.4, 58.7, 10.4, 75.0%の蛋白質が抽出され、0.05 N 水酸化ナトリウムによる抽出が蛋白質抽出には最も効果的であることが明らかとなった。一方、トリプシンインヒビター活性は60%エタノール抽出物を除く他の3画分に認められ、特に5%食塩水抽出物が最大であった。このことは本トリプシンインヒビター

Table 1. Protein Content and Trypsin Inhibitor Activities of the Water, 5% NaCl, 60% Ethanol, and 0.05 N NaOH Extracts.*

	Water	5% NaCl	60% Ethanol	0.05 N NaOH
Protein (mg)	863	986	175	1260
Yield (%)	51.4	58.7	10.4	75.0
Trypsin inhibitor activity (IU)	9.52	10.7	0	8.40
Specific activity (IU/mg of protein)	0.0110	0.0109	0	0.00667

* Values are yields from 10g of defatted rice bran

Table 2. Amino Acid Composition of the Water, 5% NaCl, 60% Ethanol, and 0.05 N NaOH Extracts.*

	Water extract	5% NaCl extract	60% Ethanol extract	0.05 N NaOH extract
Lysine	7.80	6.10	6.48	6.16
Histidine	2.62	3.57	2.05	3.48
Arginine	7.38	9.95	4.62	10.16
Aspartic acid	9.67	8.36	9.38	8.57
Threonine	5.03	3.83	4.71	4.41
Serine	4.66	4.55	4.90	4.83
Glutamic acid	13.01	13.07	11.90	14.80
Proline	5.58	5.19	5.19	5.23
Glycine	6.29	6.07	7.00	5.94
Alanine	7.71	6.57	7.43	7.13
Cystine	1.87	2.14	2.14	1.65
Valine	7.08	5.76	5.76	4.45
Methionine	2.09	1.64	1.52	1.08
Isoleucine	4.79	3.19	3.52	4.11
Leucine	7.16	6.81	5.90	7.41
Tyrosine	3.30	3.19	2.81	2.20
Phenylalanine	3.82	3.98	3.76	3.41
Total	99.86	93.97	89.07	94.99

* Grams of amino acid per 16g of nitrogen.

が60%エタノールに不溶の物質であることを示す。さらに0.05 N 水酸化ナトリウム抽出物においてもそのインヒビター活性はかなり高いことから本物質はアルカリ性においても相当の抵抗性を有していることが示唆される。トリプシンインヒビターはそれが動物に摂取された場合成長阻害や臓器肥大をもたらすという点で栄養学上の一つの問題となっており⁷⁾、したがってかなりの高いインヒビター活性が米糠抽出蛋白質画分に存在するというこの結果は米糠蛋白質利用における大きな問題点の出現を意味すると思われる。

米糠の各抽出蛋白質画分のアミノ酸組成は Table 2 に示されている様に比較的皆バランスの良い必須アミノ酸含量を有している。特に穀類蛋白質において一般的に制限アミノ酸となっているリジンに関しては、どの画分も比較的高含量である。1973年の FAO/WHO 暫定アミノ酸評点パターン⁸⁾に対する各画分のアミノ酸価もどれもみな約80以上であり、特に水抽出物は、100 とアミノ酸組成から見た場合非常に優れた栄養価を示している。しかしながら先に述べたように、蛋白質抽出率の優れている水、食塩水、水酸化ナトリウム抽出物が皆かなりのインヒビター活性を有することから、これらの蛋白質の栄養価は単純にアミノ酸組成から判断できないと言えよう。

2) 脱脂米糠のアルブミン、グロブリン、プロラミン、グルテリン

脱脂米糠10 g を5%食塩水、60%エタノール、0.05 N 水酸化ナトリウムで順次抽出して得たアルブミン、グロブリン、プロラミン、グルテリンの窒素分布及びトリプシンインヒビター活性を Table 3 に、それらのアミノ酸組成を Table 4 に示す。

溶解性により分別された脱脂米糠の各蛋白質の窒素分布は Table 3 に示すように、アルブミン 14.4%、グロブリン 26.5%、プロラミン 3.2%、グルテリン 16.3%となった。さらにアルブミンとグロブリンの分画のために用いられた透析段階で透析外液へもれ出た透析性成分の窒素量も総窒素の16.6%を占めた。この窒素成分は非蛋白態低分子窒素化合物及び比較的低分子量のアルブミン様蛋白質から成っていると考えられる。本脱脂米糠の場合、アルブミン：グロブリン：プロラミン：グルテリン比は24：44：5：27で精白米での比^{9,10)}に比較して著しくアルブミン、グロブリンの占める割合が高い。一方、トリプシンインヒビター活性はそのほとんどがアルブミン及び透析性画分に存在していた。これは明らかにインヒビター蛋白質が水溶性であることを示すと同時に透析セルロース膜を通過できる比較的低分子の蛋白質であることを示してい

Table 3. Nitrogen Distribution and Trypsin Inhibitor Activities of Rice Bran Proteins by Solubility Classes.*

	Dialyzable	Albumin	Globulin	Prolamin	Glutelin
Nitrogen distribution (%)	16.6	14.4	26.5	3.2	16.3
Trypsin inhibitor activity (IU)	4.78	5.05	0.671	0	0.364
Specific activity (IU/mg of protein)	0.0171	0.0209	0.00151	0	0.00133

* Values obtained from 10g of defatted rice bran.

Table 4. Amino Acid Composition of Rice Bran Proteins by Solubility Classes.*

	Albumin	Globulin	Prolamin	Glutelin
Lysine	7.67	5.12	5.16	5.02
Histidine	2.53	4.24	3.62	2.91
Arginine	7.60	10.29	8.75	9.03
Aspartic acid	10.09	7.68	7.94	7.92
Threonine	5.38	3.52	3.85	4.38
Serine	4.79	4.47	4.29	4.93
Glutamic acid	11.78	13.54	11.87	13.20
Proline	5.32	4.43	4.93	4.47
Glycine	6.31	5.74	6.33	5.90
Alanine	7.38	6.00	6.38	6.72
Cystine	2.33	4.21	1.62	1.34
Valine	5.91	5.79	5.46	6.38
Methionine	1.89	1.78	1.76	1.97
Isoleucine	3.85	3.97	3.15	4.66
Leucine	6.55	7.22	6.91	8.99
Tyrosine	3.10	3.67	2.54	4.13
Phenylalanine	3.30	5.20	3.99	5.73
Total	96.59	96.87	88.55	97.68

* Grams of amino acid per 16g of nitrogen.

る。

アミノ酸分析の結果から明らかのようにアルブミンは他の蛋白質に比べ最もリジン含量が高かった。そのアミノ酸価も94と高く、見かけ上栄養価は非常に優れていると言える。したがって米糠から栄養価の高い蛋白質を抽出しようとする場合はアルブミン含量の高い蛋白質画分を得る必要がある。実際、Table 2で示された各抽出蛋白質のアミノ酸組成のバランスの良さはアルブミンの存在に依存していると考えられる。しかしながらこのアルブミンの存在は同時に反栄養物質であるトリプシンインヒビターの存在をも導く。米糠中における高いアルブミン含量は栄養価における正と負の働きを示すであろう。したがって米糠から栄養価の

優れた蛋白質を抽出するためには、トリプシンインヒビターの選択的除去、または他の蛋白質の栄養価を損わない条件でインヒビター活性を失活させる蛋白質変性法を確立する必要があると考えられる。

IV 要 約

水、5%食塩水、60%エタノール、0.05 N 水酸化ナトリウムの4種の溶媒を用いて別個に脱脂米糠から蛋白質を抽出し、抽出蛋白質画分のアミノ酸組成を明らかにすると共にトリプシンインヒビター活性の測定を行なった。4種の蛋白質画分はいずれもリジン含量が高く優れたアミノ酸組成を有していた。一方、インヒビター活性は60%エタノール抽出蛋白質画分を除く

他の画分に皆認められた。

5%食塩水, 60%エタノール, 0.05 N 水酸化ナトリウムの溶媒を順次用いて脱脂米糠から蛋白質を抽出し, アルブミン, グロブリン, プロラミン, グルテリンを調製した。脱脂米糠のアルブミン:グロブリン:プロラミン:グルテリン比は24:44:5:27でアルブミン, グロブリンの塩水溶性蛋白質の占める割合が高かった。リジン含量は4種の蛋白質中アルブミンが最も高く, またインヒビター活性もその大部分がアルブミン画分に存在していた。

(1979年7月27日 受理)

引用文献

- 1) D. F. Houston: Rice, Chemistry and Technology (ed. by D. F. Houston), p. 272 (1972) Am. Assoc. Cereal Chemists., St. Paul, Minn.
- 2) L. Chen and D. F. Houston: *Cereal Chem.*, **47**, 72 (1970)
- 3) 満田久輝, 村上和雄, 高木宗司: 栄養と食糧, **23**, 80 (1970)
- 4) L. Lynn: Protein-Enriched Cereal Foods for World Needs (ed. by M. Milner), (1972) Am. Assoc. Cereal Chemists., St. Paul, Minn.
- 5) I. Liener: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **56**, 121 (1979)
- 6) M. Tashiro and Z. Maki: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1119 (1978)
- 7) I. E. Liener and M. L. Kakade: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs (ed. by I. E. Liener), p. 7 (1969) Academic Press, New York
- 8) 井上五郎訳, 必須アミノ酸研究委員会編: エネルギー・蛋白質の必要量 (FAO/WHO 合同特別専門委員会報告), p. 62 (1974) 日本必須アミノ酸協会刊, 医歯薬出版 (東京)
- 9) D. F. Houston, T. Iwasaki, A. Mohammad, and L. Chen: *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 720 (1968)
- 10) G. B. Cagampang, L. J. Cruz, S. G. Espiritu, R. G. Santiago, and B. O. Juliano: *Cereal Chem.*, **43**, 145 (1966)