HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	食品の褐變に關する研究 （II）：純 Tryptophan 溶液の着色條件
Author(s)	小幡, 彌太郎; 坂村, 貞雄
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 1(4), 394-397
Issue Date	1953-11-20
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11540
Type	bulletin (article)
File Information	1(4)_p394-397.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

食品の褐變に關する研究 (II)

純 Tryptophan 溶液の着色條件

小幡彌太郎・坂村貞雄
(北海道大學農學部農藝化學教室)

Studies on the browning of foodstuffs (II)

Conditions of discoloration under pure L-Tryptophan solution

By

YATARO OBATA and SADAO SAKAMURA
(Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

前田[1], 賴尊[2]等は L-Tryptophan は强酸性でアルデヒドと加熱する時 Humus を形成するが單獨では安定なることを報告したが, 我々は純水溶液に於ても長期間室内散光下に在るか, 又は長い間加熱すると着色することを認めた。

Tryptophan 調製にはアルカリ分解, 酵素分解が採用され, Tryptophan の破壞を回避することは周知のことである。しかし最近アルカリ分解でも Tryptophan の減少を起し[3], Cysteine-HCl 添加によつて防ぐことが報告された。

我々は Tryptophan の純水溶液に就いて常溫に於て, 曝日光した時の Tryptophan の分解率・着色を測定し, innert gass (CO_2) で空氣を置換することによつて着色・分解共に阻止出來ることから Tryptophan の着色は酸化的變化なることを認めた。

依つて酸化防止劑・還元劑・酸化劑を添加して, その影響を檢討した結果, Sulfhydryl group を持つ化合物が褐變阻止ないし遲延効果をもたらすことを認めた。實驗範圍内で特に Thiourea は加熱分解・光酸化分解にすぐれた防止効果を示した。

以上の事實から Tryptophan は日光光線照射によつて, 容易に酸化的に分解し, 之が着色性物質に變化することを明らかにした。

實驗の部

L-Tryptophan 試料

カゼイン (市販品) から Pancreatin 消化法[4] によつて, 分離精製した白色光澤ある結晶 (板狀) 之を蒸溜水に加溫溶解し, 完全透明無色のものを使用した。

Tryptophan 定量

p-dimethylaminobenzaldehyde を用いる EDWARD STEER et al の方法を我々によつて PULFRICH's photometer No. 5 filter を用いて, 檢討作成した standard curve より比色定量した[5]。

但し總ての藥品添加の場合必ずしも滿足するものでないが, 處理前後の定量値から Tryptophan の減少率を求めた。

更に光酸化前後の Tryptophan の紫外部吸收を BECKMAN's spectrophotometer によつて吸收極大の著しい減少を見て, Tryptophan の分解を知つた。

實驗方法

0.2% Tryptophan 水溶液と同容の試藥溶液又は蒸溜水を混合, 10 cc アンプルに封管して, 曝日光・光酸化を行つた。アンプルは普通ガラスを用い, 波長は考慮しなかつた。一定期間後に Tryptophan の減少率及び着色度を, 前報に述べた方法

で比較した。

實驗結果

最初 0.1% Tryptophan 溶液に CO_2 を吹込んで，空氣を CO_2 で置換したものは着色分解が殆んど見られなかつた。同時に暗室保持のものも着色が認められなかつた。Fig. 1 は 0.1% 水溶液を暗室に保持したものと，28日間光酸化したものの紫外部吸收曲線を示したもので，28日間光酸化したものでは Tryptophan に基づく吸收極大 (279 mμ) が著しく減少している。

Table 1, 2 を比較すると，前者は 12月～2月に亘る約 50日間の 1 例で，寒冷時・日射量の少ない場合，後者は高溫日射量の多い夏季に實驗したものである。日射量の多い夏季は短期間内に着色並びに Tryptophan の分解が認められた。兩者で純 Tryptophan の光酸化分解が見られ，添加する藥品によつて呈色は一様でなく，或る場合には Humus 様物質の沈澱により着色度は必ずしも正確でないが大略を知り得る。

Thiourea が安定化に卓効を示すことは Tryptophan が Peroxidase によつて赤褐色物質を形成するという事實[6]，及び Peroxidase による基質の酸化が Thiourea によつて阻害されること[7] と照合して一連の關係あるものと考えられる。Cystein-HCl は長期間に亘る光酸化には餘り効果なく，このことは Cysteine の —SH group が Tryptophan と競合酸化によつて —S—S— group を持つ Cystine に變化してしまうためその効力が減少するものと見られる。SO_2 は 0.1% 以上の場合に着色を完全に防止するが Tryptophan の定量値は減少する點，見掛け上の Tryptophan の減少か，無色の

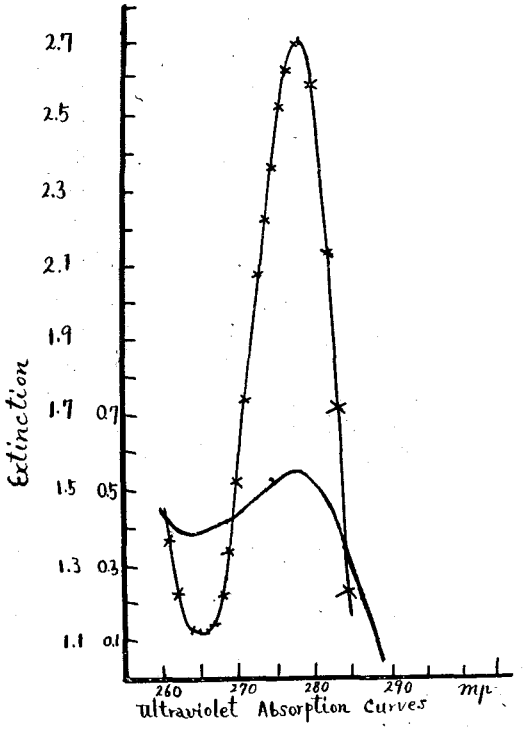

Fig. 1

×—×--× Photoxidized Sample: initial 0.1% Tryptophan solution was diluted 1/20 with N/10 NaOH

——— Preserved Sample in a dark Room: dilution followed the mention above

Table 1. Effect of Adding Compound for L-Tryptophan Destruction and Color Development during Exposure to Sunlight for 50 Days (in Winter)

Experiment No.	Tryptophan concentraition (%)	Drugs	Color extinction coefficient	Tryptophan difference (%)
1	0.1	None	0.17	−38.7
2	0.1	None in dark room	0.04	+2
3	0.1	Glucose (5%)	0.21	−31.9
4	0.1	Sucrose (5%)	0.68	−42.2
5	0.1	SO_2 saturation	0.04	−
6	0.1	Thiourea (0.1%)	0.09	+1
7	0.1	L-Cystine (0.1%)	0.51	−33.8
8	0.1	$FeCl_3$ (3 drops of 20% solution)	2.1	−43.3
9	0.1	$KH_2PO_4 \cdot K_2HPO_4 \cdot MgSO_4$ 0.1%	0.21	−43.3

Table 2. Effect of Adding Compounds for Tryptophan Destruction and Color Development during Expesure to Sunlight for Certain Days (in Summer)

Drugs	(%)	Color after 9 days by eyes	Color after 20 days by eyes	Color after 28 days (extinction coefficient)	Tryptophan* difference after 28 days (%)
Sulfurdioxide	1	−	−	0.02	−27.1
	0.1	−	−	0.02	−21.5
	0.01	+	+	0.31	−21.5
	0.001	+	+	0.39	−30.0
	0.0001	+	+	1.20	−30.0
L-Cysteine·HCl	0.1	−	+	0.78	−24.3
L-Cystine	0.1	+	+	1.02	−30.0
$NaHSO_3$	0.1	−	+	0.16	−24.3
$Na_2S_2O_5 \cdot 5H_2O$	0.1	−	+	0.28	− 7.5
$Na_2S_2O_4 \cdot 2H_2O$	0.1	−	−	0.02	−21.5
None		+	+	0.58	−25.7
None in dark room		−	−	0.02	0

* initial concentration of tryptophan is 0.1 percent.

分解物生成によるか究明しなかつた。

光酸化に於ては加熱加壓分解 (Table 5 参照) の場合と逆に Sucrose が Glucose よりも Tryptophan の着色・分解を促進するのは Tryptophan が糖類と結合しないで直接分解されることを示唆するものである。

Thiol group を有する化合物の影響

Table 3 に於て見られる如く Sulfhydryl(—SH) group をもつ H_2S, CH_3SH, $CH_2 \cdot SH \cdot COOH$, $CH_2OH \cdot CH_2SH$ などは Disulfite (—S—S—) group を持つ化合物に比し顯著な變色防止効果あることを示し，一方 H_2O_2 はその呈色を促進する結果を

Table 3. Effect of Sulfur Compounds on Color Development of Tryptophan Solution during Exposure to Sunlight

Experiment No.	Adding Drugs	Formula	Color after 2 days	Color after 5 days
1	Hydrosulfite	H_2S	−	−
2	Methylmercaptan	CH_3SH	−	−
3	Thioglycolic Acid	$CH_2 \cdot SH \cdot COOH$	−	−
4	β-Methylmercaptethylalcohol	$CH_3 \cdot S \cdot CH_2 \cdot CH_2OH$	−	+
5	Thioglycol	$CH_2OH \cdot CH_2SH$	−	−
6	Methionine	$CH_3 \cdot S \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$	−	+
7	Cystine	$(S \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH)_2$	−	+
8	Cysteine-HCl	$HS \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$	−	− Pale yellow after some days
9	Ascorbic acid	$C_6H_8O_6$	−	− Pale yellow after some days
10	Hydrogenperoxide	H_2O_2	+	++
11	None	−	±	+

示した。その他 Ethylprotocatechuate, Propylgallate の如き Antioxioxidants も 0.1% で誘導期延長の効果は認められるが，長期に亘る酸化防止効果は示さなかつた。又 $Na_2S_2O_4 \cdot 2H_2O$ が着色を防止した。

加壓・加熱分解に於ける添加物の影響

Table 4 から加熱處理する場合 D-Glucose が Sucrose に比し著しい着色を示すことは前報の時と同一で，Tryptophan は單獨の場合の 2 倍以上の減少率を示した。

Table 4. Tryptophan Destruction under the Condition for Autoclaving, 15 lbs/inch^2, 2 Hours

Adding Drugs	(%)	Color extinction coefficient	Tryptophan* difference (%)
Cysteine-HCl	0.1	0.41	−18.2
SO_2	0.1	0.20	−10.5
Sucrose	5	0.61	−16.13
Glucose	5	2.70	−54.9
Thiourea	0.1	0.03	+ 2
None	—	0.46	−21.2
Clear hydrolyzed solution of casein	Equal volume of Tryptophan solution	0.22	− 7.4
Ascorbic acid	0.1	0.29	− 3.4

* initial Tryptophan concentration is 0.1%

SO_2, Ascorbic acid は Tryptophan 單獨に比しやや効果ある程度，Thiourea は加熱の場合にも顯著な分解阻止効果を示した。

要　約

1. Tryptophan の純水溶液といえども加熱，日光照射によつて酸化的に分解し，黄褐變を呈することを Tryptophan の比色定量，並びに紫外部吸收極大の減少によつて明らかにした。

2. Tryptophan の光酸化・加熱加壓分解に對し Thiourea の安定化作用ある事を確めた。

3. 數種の Sulfhydryl 化合物及び Disulfides の Tryptophan 光酸化阻止作用は Sulfhydryl group をもつものの方が大きく，Disulfides では殆んど認め難い。

吸收スペクトル測定に御配慮を賜つた北海道水産物檢査所小泉進氏に感謝の意を表す。

本報告は昭和 26 年 5 月 日本農藝化學會大會(京都)にて口演したものである。

文　献

1) 前田・上田：理學, **18**, 930 (1939).
2) 賴尊：大阪醫, **38**, 1189 (1939).
3) 醱酵學の進歩 (東大農化編), 第1集, 118頁.
4) Organic Synthese: Collective Volume, II, 90.
5) 小幡・坂村・垣坂：農化誌, **26**, 202 (1952).
6) M. L. KNOX and MEHLER: J. Biol. Chem, **187**, 419 (1950).
7) L. O. RANDALL: J. Biol. Chem., **164**, 521 (1946).

Summary

Pure L-Tryptophan in aquous solution was itself oxidatively decomposed and browned by exposure to sunlight or heating for long hours.

The browning followed the decrease of ultraviolet spectra (279 mμ in n/10 NaOH) depending on Tryptophan and further the destruction of Tryptophan was shown by colorimetric determination using p-dimethylaminobenzaldehyde.

Thioura was observed as an antioxidant in prevention of the oxidative decomposition of Tryptophan by sunning or heating. After the experiment about the effect of thiols to browning under the presence of Tryptophan, the results showed that sulfhydryl compounds had apparently preventing fouction, but disulfides had no such function.