



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	食品の褐變に関する研究 (1) : 着色因子としての L-Tryptophan
Author(s)	小幡, 彌太郎; OBATA, Yataro; 坂村, 貞雄 他
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 1(4), 389-393
Issue Date	1953-11-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11539
Type	departmental bulletin paper
File Information	1(4)_p389-393.pdf



食品の褐變に関する研究 (I)

着色因子としての L-Tryptophan

小幡彌太郎・坂村貞雄

(北海道大學農學部農藥化學教室)

Studies on the browning of foodstuffs (I)

The role of L-tryptophan as coloring factor

By

YATARO OBATA and SADA O SAKAMURA

(Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University)

食品が貯藏中或いは調理に際し褐色化する現象は古くから注目されている。之には果實・葉菜・馬鈴薯の如くフェノール系物質が酸化酵素によつて酸化される場合(酵素的褐變)と、多脂食品が赤變する油燒現象、及びアミノ酸・蛋白質が糖類と加熱反應して生ずる場合等、幾多の型式が報告されている。著者の一人は魚油の赤變現象がその中に含まれる Trimethylamine と油脂の反應によることを明らかにしたが¹⁾、今回アミノ酸特に L-Tryptophan が糖類と共存して食品を褐變するのみならず單獨でも廣く食品褐變の重要因子であることを報告する。

アミノ酸と糖類を加熱すると褐變することは夙に MAILLARD²⁾ の報するところで、着色物質を Melanoidin³⁾ と命名した。その後 L-Methionine, L-Tryptophan の如き栄養上必須のアミノ酸が糖類と加熱されると本來の栄養價を失う事がヒナ⁴⁾及び微生物⁵⁾ (*Streptococcus faecalis* R.) に就いて明らかにされた。従つて食品の褐變は早くから問題にされた經濟價値の低下のみならず栄養價値の低下をも招來するもので、機構の解明による防除法は重要な意義を有する。我々は麥酒・醬油等の着色機構を解明する爲、單一アミノ酸を窒素源として各種酵母を培養した所 L-Tryptophan の場合のみ特異的褐變現象を認めた。此の場合單に殺菌處理しても黄褐變を示し、同時に Tryptophan 含量は

低減する。菌体に發現した着色物質は培地のそれと異りアミルアルコールによつて溶出されない。併し Tryptophan を含まない培地に移すと可逆的に菌体は元の色に戻る。又 Tryptophan とアルデヒド類は強酸域で Humus^{6),7),8)} を形成するが、我々は中性域において黄褐變乃至黄綠色に變色することを認めた。官能基を持つ D-Glucose はアルデヒドと同じく着色するが Sucrose は反應し難く、Formaldehyde では容易に羽毛狀白色結晶を形成し、之は既知の 3,4,5,6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid に一致した。

實驗の部

I. 酵母培養に於けるアミノ酸と着色との關係

酵母培養に用いた培地は EHRlich's medium に準じ、D-Glucose 50 g, MgSO₄ 1 g, K₂HPO₄ 25 g, 蒸留水 1 l の割でそれぞれのアミノ酸 0.1~0.5% の範圍の一定量を添加した。培養は綿栓殺菌した試験管を用い、常法により殺菌(100°C 30分, 3日間)後 25°C, 15日間培養した。着色度は平行實施した液体培養・寒天斜面培養に就いて肉眼的觀察を行い、液体培養のものは濾過、PULFRICH's photometer を用い吸収の最大である S₈₃ filter を用いて吸光係數 (Extinction Coefficient (E)) で表わした。菌体の着色は寒天斜面培養上の菌苔を肉眼的に比

較した。使用菌種は教室保有株6種と醤油酵母 K5⁹⁾ の7種、之等は豫め麹汁寒天培地に發育せしめたものから1~2白金耳宛採つて、個々のアミノ酸を含む培地に移し、25°C 15日培養した結果は Table 1 の如くである。

即ち L-Lysine, L-Histidine 等の Hexone Base も加熱により僅かながら着色し、0.1% 濃度で Glycine も着色したが、Tryptophan 以外はいずれも酵母の増殖により着色度は増加しない。酵母は Tryptophan 培地で3~4日目頃から Flocculation を呈しながらその周辺に褐色物質を生成するのが見られた。實驗した濃度範囲では Tryptophan 濃度が増加するにつれ、着色度の増加が見られた。一方 L-Asparagine の如き好適窒素源の共存する場合は着色は減少した。またビール酵母は醤油酵母より褐色生成が大であることが認められたので、Species の差による Tryptophan 培地の着色度を比較検討した結果は Fig. 1 に示す如くで、次のよう

な順位によつて着色性が示された。

- S. 125 (*Saccharomyces cerevisiae*)
 > S. 132 (*Fleishman's yeast*)
 > S. 108 (*Torula rosea Harden*)
 > S. 93 (*Mycoderma cerevisiae Harden*)
 ≧ S. 69 (*Saccharomyces ellipsoides*)
 ≧ K. 3 (*Soy yeast*)
 ≧ S. 136 (協會7號)

II. 着色物質の性状と菌体着色

菌体を除去した着色醗酵液の色素はアミルアルコールに完全に移行する。一方 Glycine と D-Glucose との加熱生成物所謂 Melanoidin は移行しない。Tryptophan から生化学的に形成される物質としては尿中の Urochromogen 類似物質^{10),11)} Peroxidase (Lactoperoxidase) による赤褐色物質¹²⁾ があり、酵母は酸化的に分解して之が重合の過程を経て着色して行くものと考えられる。着色菌体は L-Asparagine 培地に移すと normal type に戻

Table 1. Correlation of Browning with Various Amino acids by the Sterilization and by the Culture of Yeasts

Amino acid	Concentration of the amino acid (%)	Color after sterilization	Color after culture of yeast (E)	Color of yeast
<i>Soy-yeast K. 3</i>				
Tryptophan	0.1	+	0.13	##
Tyrosine	0.1	-	0.02	-
Leucine	0.1	-	0.02	-
Cystine	0.1	-	0.02	-
Methionine	0.1	-	0.02	-
Tryptophan	0.5	++	0.25	##
Tryptophan plus Tyrosine	0.5 respectively	++	0.24	##
Glycine	0.5	+	0.08	-
<i>Beer-yeast S. 125</i>				
Phenylalanine	0.1	-	0.06	-
Arginine	0.1	-	0.06	-
Histidine	0.1	+	0.16	-
Lysine	0.1	+	0.11	-
Asparagine	0.1	-	0.08	-
Tryptophan Plus Asparagine	0.1 respectively	+	0.14	+
Tryptophan	0.1	+	0.39	##

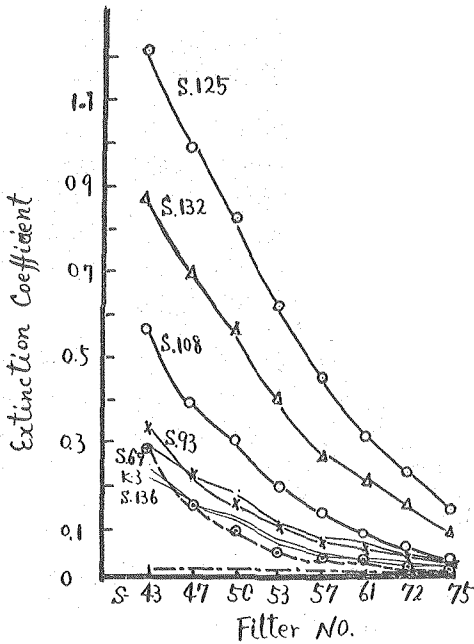


Fig. 1

Color Formation in the Medium Containing L-Tryptophan by Yeast Cultur
 ○—○—○ no cultivated medium
 ——— Asparagine media

る。

尙着色菌体は無色の洗滌液を得る迄アミルアルコールで洗滌を繰返しても着色が残存するを以て、Tryptophan に由來する物質の吸着の外に菌体成分として沈積しているものと考えられる。

III. 加熱による Tryptophan とアルデヒド類、及び還元糖との着色性

Table 1 から Tryptophan 含有培地は殺菌過程で既に着色が見られたので、アルデヒド類並びに還元糖との着色反應に就いての實驗成績を Table 2 に示した。

Sucrose を除く他の供試物質は何れも呈色し、Formaldehyde では羽毛狀針狀晶 (寫眞参照) を形成した。

該結晶は p-dimethylaminobenzaldehyde 反應陰性、Ninhydrin 反應陰性を示し、融點 204~205°C 褐變、225°C 融解を示した。分析の結果次の成績を與えた。



Fig. 2

Table 2. Influence of Aldehyde Groups on a Color Formation by Heating at 100°C for 2 Hours.

RCHO		Amino acid		Color
Compound	Concentration (%)	Compound	Concentration (%)	
Glucose	5	L-Tryptophan	0.05	+ Soluble in amylalcohol
Fructose	5	"	0.05	+
Sucrose	5	"	0.05	-
Furfural	about 1	"	0.05	## Melanin-like precipitation
Acetaldehyde	"	"	0.05	+
Formaldehyde	"	"	0.05	+ Flocculent crystal*
Glucose	5	-	-	-
"	5	L-Asparagine	M/4	++ Insoluble Amylalcohol
"	5	Glycine	M/4	++ "

* 顯微鏡寫眞参照

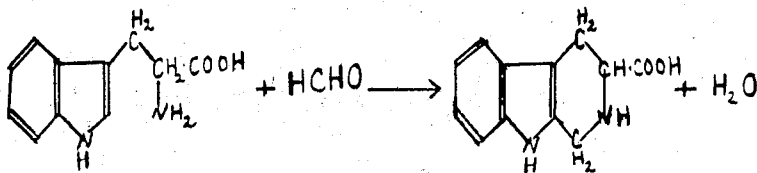
Analysis

Found C 58.37%, H 6.16%
 Cal. for $C_{12}H_{12}O_2N_2 \cdot 2H_2O^{13)}$
 C 57.14%, H 6.35%

室温に於てこの反応を行つても同一結晶を生成した。即ち Tryptophan 0.4 g を 200 cc の蒸溜水に加温溶解し、市販フォルマリンを次の割合で添加し、密栓して一夜室温に放置した。

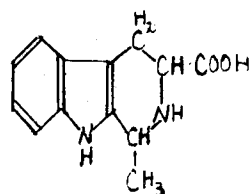
- | | | | | | |
|---------------------|--------|------|--------|---|------|
| 1. Tryptophan soln. | 25cc+ | HCHO | 1.5cc+ | 水 | 25cc |
| 2. // | 50cc+ | // | 3.0cc | | |
| 3. // | 100cc+ | // | 6.0cc | | |
| 4. // | 25cc+ | // | 1.5cc | | |

生成した長針状結晶を濾過・水洗・アルコール・エーテル洗滌後、硫酸・無水燐酸共存の下にデシケーター中で減壓乾燥して、收量 0.39 g を得た。之は諸性質が先の結晶と全く一致し、既知の 3·4·5·6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid であることを認め、次の反応によつて生成するものである。



Tryptophan 0.3 g を 100 cc の水に加温溶解し、 CH_3CHO 1cc を加え、密栓して放置しても結晶性成分は得られなかつたが、減壓濃縮して白色針状結晶 0.08 g を得た。

融點 278~279°C (uncorr), (文献記載⁹⁾ 融點 280~281°C) 3-methyl-3·4·5·6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid



に一致する。

斯くて低級アルデヒドからは白色針状晶を得たが、之等は N/10 NaOH 溶解及び N/10 H_2SO_4 水懸濁状態に於て日光を照射、酸化せしめることにより黄褐變を呈した。

Furfural との呈色は極めて著しい點から Glucose の場合加熱によつて生成する 5-hydroxymethyl-

furfural との結合による呈色が可能と推定される。

要約

Tryptophan を含む培地に於て酵母菌の褐色化現象を観察し、Tryptophan の代謝生産物による變色並びに加熱殺菌に於ける着色を指摘した。

1) L-Tryptophan は EHRlich's medium に培養した時 Humus 様物質 (黒褐色乃至黄褐色) を形成し、該色素はアミルアルコールに易溶で Glycine と Glucose から由來する加熱着色物質とは異なる。

2) Tryptophan の加熱殺菌に對し還元糖・アルデヒドの共存する時は着色するが、Sucrose の共存では殆んど着色を見ない。

3) Tryptophan は Formaldehyde と共存して、加熱・室温の何れの場合も 3·4·5·6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid を生じる。Acetaldehyde とは濃縮によつて同様 3-methyl-3·4·5·6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid に一致する物質を得、之等の光酸化着色を明らかにした。

本研究費の一部は文部省科學研究費 (食品の褐變に關する研究) によつて支辨されたものである。本報告の概要は昭和

25 年 11 月 日本農藝化學會北海道支部例會で述べた。

文獻

- 1) 小幡・星・松野: 日水誌, 15, 412 (1949).
- 2) C. L. MAILLARD: Compt. Rend. 154, 66 (1912).
: Chem. Abst. 6, 1130 (1912).
- 3) C. ENDER: Kolloid. Z.; 85, 74 (1938).
- 4) W. D. GRAHAM, D. Y. ASU and J. MCGINNIS: Sci. 110, 217 (1949).
- 5) A. R. PATTON and E. G. HILL: Ibid. 107, 68 (1948).
- 6) M. L. LOXAS: J. Biol. Chem., 27, 71 (1916).
- 7) 頼尊: 大阪醫, 38, 1189 (1939).
- 8) 前田・上田: 理彙, 18, 930 (1939).
- 9) 小幡・坂村・山西: 農化誌, 25, 274 (1951).
- 10) 木南: 大阪醫, 27, 2791 (1928).
- 11) 市原: アミノ酸蛋白質の生化學 (共立社).
- 12) M. L. KNOX and A. H. MEHLER: J. Biol. Chem., 189, 419 (1950).
- 13) A. HOMER: Biochem. J., 7, 102 (1913).

Summary

We found that yeasts produced a brown colored substances in EHRlich's media containing L-tryptophan and also exhibited themselves brown colored. This phenomenon was not observed upon other amino acids.

Further to this the experiments indicated that Tryptophan stood as a possible important factor for browning of foodstuffs.

The colored substances followed from Tryptophan included both Tryptophan metabolites by yeasts and nonenzymatic products from the heated solution.

The highly colored melanin-like substances (yellowish brown) were light soluble in amylalcohol, but so called "melanoidin" produced from Glycine-D-Glucose solution by heating was insoluble in the solvents.

Aqueous solution of Tryptophan was browned in the presence of Glucose but hardly so with Sucrose on the heating 100°C for 2 hours.

In the presence of HCHO, a condensed product 3·4·5·6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid was formed from Tryptophan by standing in room or heating 100°C for 2 hours. Similary 3-methyl-3·4·5·6-tetrahydro-4-carboline-5-carboxylic acid was formed under the concentration of Tryptophan-CH₃CHO mixture, which indicated that the aqueous suspensions of carboline compounds was browned by the exposure to sunlight.
