

# アミノ・カルボニル反応生成物の抗酸化性に関する研究 (第1報)

アミノ酸およびアミノ酸と糖反応生成物の抗酸化性について

富田 裕一郎

## Studies on Antioxidant Activity of Amino-Carbonyl Reaction Products

### Part I. Antioxidant Activity of Amino Acids and Browning Solutions of Amino Acids with Glucose

Yuichiro TOMITA

(Laboratory of Animal Nutrition)

#### 緒 言

現在食品あるいは飼料工業で広く利用されている合成抗酸化剤は多量に使用すると毒性が予期されるので使用量に制限が加えられている。そこで抗酸化性を有し、しかも毒性のない天然物質、例えばアミノ酸<sup>1)~4)</sup>、核酸関連化合物<sup>5)</sup>などが注目されて来た。

最近これと関連して、アミノ・カルボニル反応生成物の抗酸化能の強いことが知られてきたが、その詳細はほとんど知られていない。すなわち、EVANS ら<sup>6)</sup>、COONEY ら<sup>7)</sup>はアミノヘキソースレダクトンを抗酸化剤として利用する試みを初めて報告した。山口ら<sup>8)9)</sup>は焼菓子製造時にグルコースまたはグルコースとアミノ酸を添加すると油脂の酸敗臭の発現が遅れることを認めている。また桐ヶ谷ら<sup>10)11)</sup>は本反応生成物の抗酸化能は主に非透析性のメラノイジンによるものと推論している。また HODGE ら<sup>12)</sup>はグルコースとアンモンニヤの誘導体のキレート作用を明らかにしているが、本反応生成物の抗酸化性発現については、断片的な知見しか得られていない。

本研究は、アミノ・カルボニル反応生成物、とくにアミノ酸とグルコースの反応生成物の抗酸化能について総合的な検討を加え、知見を得ることを目的としたものである。本報告ではアミノ酸の抗酸化能よりもアミノ酸・グルコース反応生成物の抗酸化能がはるかに強いことを各アミノ酸について明らかにすると共に、これらの中ではとくにトリプトファン・グルコース反応生成物が強い抗酸化能を発現することを明らかにしたものである。

#### 実験方法

##### 1. 基 質

基質は和光純薬製のリノール酸を用いたが、ガスクロマトグラフィーにより抗酸化剤を含まないことを確かめた。また、このリノール酸の純度は73.6%の混合脂肪酸であるが、これをリノール酸として用いた。

本リノール酸 1.1218 g を 40 ml のエチルアルコールに溶解し、pH 7.5、0.05 M リン酸緩衝液で 200 ml に希釈して  $2 \times 10^{-2}$  M 濃度とし、抗酸化能比較のための基質として用いた。

##### 2. 自動酸化

試験管に  $2 \times 10^{-2}$  M のリノール酸液 2.5 ml をとり、被検物を適当な濃度に希釈した溶液を加え緩衝液で全量を 5.0 ml とした。対照区は被検液を 2.5 ml 加え全量を 5.0 ml とした。これらの試験管を振盪培養器中に入れ、40°C で振盪し、所定の時間後過酸化価やチオバルビツール酸値などを測定した。

##### 3. 抗酸化能および着色度測定法

(1) 過酸化価 (Peroxide Value), 以下 POV と略称する。

被検液をリノール酸液に加え、自動酸化を行なわせた液について、満田ら<sup>3)</sup>のロダン鉄法を用いて測定した。POV として、通常 500 m $\mu$  の吸光度 (OD<sub>500</sub>) で示し、また下式に従い POV % でも示した。

$$\text{POV}\% = \frac{\text{主検 OD}_{500}}{\text{対照 OD}_{500}} \times 100$$

POV および POV % いずれも数値の小なるほど酸化抑制力すなわち抗酸化能が大といえる。

(2) チオバルビツール酸値 (Thiobarbituric acid Value, 以下 TBA 値と略称する)。

被検液をリノール酸液に加え、自動酸化を行なわせた液について、DAHLE ら<sup>13)</sup>の方法を用いて測定した。

TBA 値はマロンアルデヒド量として示した。標準物質として 1, 1, 3, 3-テトラエトキシプロパンを用い検量線を作成しこれより算出したが、この物質 1 モルからマロンアルデヒド、1 モルを生ずる。

(3) 電子供与能

$\alpha$ ,  $\alpha'$ -diphenyl- $\beta$ -Picrylhydrazyl (DPPH) を用いる満田ら<sup>3)</sup>の方法を適用した。電子供与能は DPPH 値として示したが、褐変反応液を加えない DPPH 液 (対照) の 525  $m\mu$  の吸光度と、褐変反応液を加えた DPPH 液の 525  $m\mu$  の吸光度を測定し、この両者の差をもって DPPH 値とした。この値の大

きいほど電子供与性が大であることを示す。

(4) 着色度

褐変反応液の 430  $m\mu$  の吸光度を測定して示した。

4. 試験液の調製

(1) アミノ酸液

24 種類のアミノ酸 (和光純薬あるいは協和酸酵製品) を pH 7.5, 0.05 M リン酸緩衝液 (以下特記しない限りこの緩衝液を示す) に溶解し、 $2 \times 10^{-3}$  M 溶液を調製し、リノール酸液に加え自動酸化を行なわせた。なお、リノール酸液と混合したアミノ酸は最終濃度が  $10^{-3}$  M となるように加え、これを添加濃度と称することにする。また、アミノ酸以外に糖を含む場合あるいはアミノ酸と糖の褐変反応液の場合も、同様にアミノ酸としての最終濃度をもって添加濃度と称することにする。

(2) 加熱処理アミノ酸液

Table 1. Antioxidant Activity of Amino Acids

| Amino acids     | Unheated | Heated<br>(120°C, 1hr.) | Amino acids                   | Unheated | Heated<br>(120°C, 1hr.) |
|-----------------|----------|-------------------------|-------------------------------|----------|-------------------------|
| Control         | 100      | 100                     |                               |          |                         |
| L-Alanine       | 97       | 74                      | L-Lysine*                     | 88       | 70                      |
| Glycine         | 67       | 93                      | L-Hydroxy-proline             | 78       | 63                      |
| L-Isoleucine    | 86       | 73                      | L-Proline                     | 98       | 117                     |
| L-Leucine       | 80       | 127                     | L-Cystein*                    | 10       | 20                      |
| L-Serine        | 71       | 63                      | L-Methionine                  | 46       | 43                      |
| L-Threonine     | 58       | 77                      | L-Phenylalanine               | 68       | 57                      |
| L-Valine        | 50       | 50                      | L-Tryptophan                  | 16       | 17                      |
| L-Aspartic acid | 69       | 94                      | L-Tyrosine                    | 4        | 10                      |
| L-Glutamic acid | 76       | 94                      | $\gamma$ -Amino butyric acid  | 100      | 79                      |
| L-Glutamine     | 79       | 113                     | $\epsilon$ -Amino capric acid | 98       | 92                      |
| L-Arginine*     | 56       | 52                      | L-Ornithine*                  | 84       | 80                      |
| L-Hsitidine*    | 28       | 30                      | 5-Hydroxy-tryptophan          | 2        | 5                       |

\* chloride

Linoleic acid was dissolved in ethyl alcohol and diluted with 0.05 M phosphate buffer of pH 7.5. This solution, containing 20 % ethyl alcohol, was used as the substrate.

Amino acid was dissolved in the same buffer.

Five ml. of incubation-mixture which consisted of 2.5 ml. the linoleic acid solution and 2.5 ml. of the adequately-diluted-amino-acid-solution was shaken at 40°C for 24 hr.. Final concentraton of linoleic acid and amino acid was  $10^{-3}$  M and  $10^{-2}$  M, respectively.

Peroxide value was determined as OD<sub>500</sub> by the method of Mitsuda et al.,<sup>(3)</sup>

The values in the Table are the percentage to the peroxide value of the control experiment without amino acid.

10<sup>-2</sup>M のアミノ酸を含むように緩衝液に溶解し、120°C で1時間加熱し、(1)のアミノ酸で行なったと同じようにリノール酸と混合し自動酸化を行なわせた。なお、添加濃度 10<sup>-3</sup>M で抗酸化能を比較試験した。

(3) アミノ酸・グルコース混合液

2×10<sup>-3</sup>M のアミノ酸と 2×10<sup>-3</sup>M のグルコースを含むように緩衝液に溶解して混合液を調製した。添加濃度は 10<sup>-3</sup>M となるように加え抗酸化能の比較試験を行なった。

(4) アミノ酸・グルコース系反応液

アミノ酸およびグルコースそれぞれ 10<sup>-2</sup>M 含むように緩衝液に溶解し、120°C で1時間加熱して褐変反応液を調製した。

結果および考察

1. アミノ酸の抗酸化能

第1表にアミノ酸固有のあるいは加熱処理を行なったアミノ酸の抗酸化能を POV % で示した。

(1) アミノ酸固有の抗酸化能

アミノ酸をリノール酸に添加した場合について見ると、個々のアミノ酸によって効力の差はあるが、全体的に抗酸化性を示すことが認められた。アミノ酸によってこの効力の差は大きく、24時間自動酸化させたあとの POV % は 5-オキシトリプトファンが 2%, チロシンが 4% と低い値を示し、すなわち強い抗酸化能を示している。次いでシステインが 10%, トリプトファンが 16%, ヒスチジンが 28% を示し、このあと

Table 2. Antioxidant Activity of Mixed and Browning-Solution of Various Amino Acids and Glucose.

| Amino acids            | Mixed solution <sup>a)</sup>     | Browning solution <sup>b)</sup>  |                                    |
|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
|                        | 10 <sup>-3</sup> M <sup>c)</sup> | 10 <sup>-3</sup> M <sup>c)</sup> | 2×10 <sup>-3</sup> M <sup>c)</sup> |
| Control                | 100                              | 100                              | 100                                |
| L-Alanine              | 114                              | 35                               | 76                                 |
| Glycine                | 119                              | 5                                | 56                                 |
| L-Isoleucine           | 154                              | 10                               | 47                                 |
| L-Leucine              | 156                              | 6                                | 62                                 |
| L-Serine               | 89                               | 5                                | 70                                 |
| L-Threonine            | 85                               | 12                               | 81                                 |
| L-Valine               | 95                               | 3                                | 90                                 |
| L-Aspartic acid        | 129                              | 7                                | 125                                |
| L-Glutamic acid        | 148                              | 23                               | 130                                |
| L-Glutamine            | 58                               | 41                               | 77                                 |
| L-Arginine*            | 88                               | 43                               | 73                                 |
| L-Histidine*           | 58                               | 41                               | 37                                 |
| L-Lysine*              | 119                              | 3                                | 72                                 |
| L-Hydroxy-proline      | 120                              | 10                               | 57                                 |
| L-Proline              | 110                              | 5                                | 54                                 |
| L-Cystein*             | 19                               | 5                                | 62                                 |
| L-Methionine           | 110                              | 73                               | 62                                 |
| L-Phenylalanine        | 94                               | 7                                | 62                                 |
| L-Tryptophan           | 17                               | 0                                | 9                                  |
| L-Tyrosine             | 4                                | 78                               | 75                                 |
| γ-Amino butyric acid   | 162                              | 87                               | 49                                 |
| ε-Amino capric acid    | 118                              | 55                               | 51                                 |
| L-Ornithine*           | 97                               | 4                                | 70                                 |
| 5-Hydroxy-tryptophn    | 1                                | 3                                | 23                                 |
| Arginine-Glutamic acid |                                  |                                  | 82                                 |
| Lysine-Aspartic acid   |                                  |                                  | 52                                 |
| Lysine-Glutamic acid   |                                  |                                  | 56                                 |

\* chloride

a) : A mixture of the same molar amino acid and glucose in buffer solution.

b) : A mixture of 10<sup>-2</sup>M amino acid and 10<sup>-2</sup>M glucose in buffer solution was heated at 120°C for 1 hr..

Five ml. of incubation- mixture which consisted of 2.5 ml. of the linoleic acid solution and 2.5 ml. of the adequately diluted mixed or browning-solution of amino acid and glucose were shaken at 40°C for 24 hr..

c) : Shown on the basis of the concentration of initially given amino acid.

メチオニンとバリンが約 50%，アルギニン，スレオニンが約 60%，グリシン，フェニルアラニンおよびアスパラギン酸が約 70%の POV %を示した。これらの結果は MARCUSE<sup>1)2)</sup>，満田ら<sup>3)</sup>，MATSUSHITA<sup>4)</sup>の結果とほぼ一致している。

### (2) 加熱処理アミノ酸の抗酸化能

後述のアミノ酸とグルコースとの反応が高温で行なわれるので，前もってアミノ酸を同じ濃度および温度条件で加熱した時の抗酸化能を知るため行なった。

アミノ酸を加熱したあとリノール酸と混合し酸化させて抗酸化能を比較した場合は，前述のアミノ酸自体の抗酸化能とほとんど変わらない結果が認められた。前田ら<sup>14)</sup> はリジンの熱安定性を検討し，pH 4~11 で 120°C で 2 時間加熱してもリジンは破壊されず極めて安定であることを認めており，恐らくアミノ酸はほとんど分解していないものと推察された。

### (3) アミノ酸・グルコース混合液の抗酸化能

アミノ酸とグルコースをただ単に混合した場合に，この両者を加熱した褐変反応液の抗酸化能とどの程度の差があるかを知るために行なったものである。この結果を第 2 表に示した。

この結果，酸化促進的に作用するものが多いことが明らかである。MABROUK ら<sup>15)</sup> によると，低分子の糖質が油脂類中に存在すると油脂の酸化を促進し，糖自身も分解するといわれている。このことから，アミノ酸とグルコースを単に混合してリノール酸に加えて

も，糖の酸化促進性がアミノ酸の抗酸化能を凌いで酸化促進的に作用したものと考えられる。これらの中で，アミノ酸単独でも強い抗酸化性を示した 5-オキシトリプトファン，チロシン，システインおよびトリプトファンは，この場合も抗酸化性が認められ，これらのアミノ酸は強い抗酸化性を有することを示している。

### (4) アミノ酸・グルコース系反応液の抗酸化能

#### 1) 反応液を多量に加えた時の抗酸化能

アミノ酸とグルコースとを加熱した反応液の抗酸化能は第 2 表にみられるように多量に，すなわちアミノ酸固有のとき，アミノ酸を加熱処理したときおよびアミノ酸とグルコースの混合液について試験したときと同じ添加濃度  $10^{-3}M$  添加したとき，全ての褐変反応液について抗酸化能の増大が認められた。この中では 17 種のアミノ酸の褐変反応液が約 10%以下の POV %を示し，アミノ酸のみの場合に比べて抗酸化能がきわめて増大しているといえる。これらの中でトリプトファン，5-オキシトリプトファン，バリン，リジン，グリシンおよびロイシンの抗酸化能が顕著に強いことが認められた。

#### 2) 反応液を少量加えたときの抗酸化能

これらアミノ酸の抗酸化能，すなわち POV % は近似しており，これのみでは相互の強弱を判定することはできない。そこで添加濃度を少量，すなわち  $2 \times 10^{-5}M$  添加して POV を測定し抗酸化能を比較した。

Table 3. Antioxidant Activity of Several Amino Acids and Browning-Solution of those Amino Acids with Glucose.

| Amino acids          | Amino acid alone | Browning solution (120°C, 1 hr.) |
|----------------------|------------------|----------------------------------|
| Control              | 100              | 100                              |
| L-Valine             | 120              | 51                               |
| L-Aspartic acid      | 124              | 93                               |
| L-Lysine*            | 132              | 53                               |
| L-Histidine*         | 51               | 26                               |
| L-Proline            | 117              | 33                               |
| L-Cystein*           | 183              | 44                               |
| L-Tryptophan         | 64               | 3                                |
| L-Tyrosine           | 110              | 50                               |
| 5-Hydroxy-tryptophan | 21               | 8                                |
| None**               |                  | 50                               |

\* chloride , \*\* glucose alone

Preparation of the browning-solution and the incubation-mixture was the same as shown in the legend of Table 1 and 2, except that the concentration in incubation mixture, shown on the basis of the initially given amino acid, was  $5 \times 10^{-5}M$  and that the incubation time was 20 hr..

The values are shown as the percentage to the peroxide value of the control experiment without amino acid or browning-solution.

第2表で明らかなように、抗酸化能は全体的に低下が認められたが、この中でとくにトリプトファン褐変反応液が優れた抗酸化能を示し、アミノ酸単独で最も強い抗酸化能を示した5-オキシトリプトファンよりも強い効力が認められた。

3) 数種のアミノ酸およびアミノ酸・グルコース系褐変反応液の添加量をかえたときの抗酸化能

褐変反応液を少量添加してもトリプトファン系褐変反応液は強い抗酸化能を示すことが認められたので、これを確かめるため添加量をかえて次の実験を行なった。すなわち、先に強い抗酸化能を示したアミノ酸と褐変反応液を考慮してバリン、アスパラギン酸、リジン、ヒスチジン、プロリン、システイン、トリプトファン、チロシンおよび5-オキシトリプトファンの9種を選び、これらを単独、あるいは褐変反応液の添加濃度をかえて抗酸化能を比較した。第3表に添加濃度を $5 \times 10^{-5} M$ としたときのPOV%を、第1図にPOVの経時的变化を、第2図にトリプトファン、5-オキシトリプトファンおよびチロシンの褐変反応液の添加濃度を $5 \times 10^{-5} M$ 、 $10^{-5} M$ としたときのPOVの経時的变化を示した。また、第3図に上記9種のアミノ酸褐変反応液の添加濃度を $2 \times 10^{-5} M$ としたときのTBA値の経時的变化を示した。

第3表の結果をみると、第1表でアミノ酸をそのまま $10^{-3} M$ 添加したときに抗酸化性を示したアミノ酸でも、添加濃度を少なくし、 $5 \times 10^{-5} M$ とすると酸化促進的に作用するものがあることが認められた。しかし、5-オキシトリプトファン、トリプトファンおよびヒスチジン3者のみは抗酸化性を示し、この中で5-オキシトリプトファンが最も強い効果を示した。

褐変反応液についてみると、トリプトファンの褐変反応液が低いPOV%を示すことが明らかである。しかし、ある一定時間後のPOV%を測定したのみでは、必ずしも酸化を抑制していることを示すとは限らない。それは、桜井ら<sup>10)</sup>によると油脂類の酸化は、過酸化物の生成と分解作用が同時に起こっており、初期には生成が大であるが、酸化が進むにしたがって分解反応が大となるので、低いPOV%を示しても、すでに分解が進んでいることも考えられるからである。

そこで第1図の経時的なPOVの変化を見ると、トリプトファン系褐変反応液は過酸化

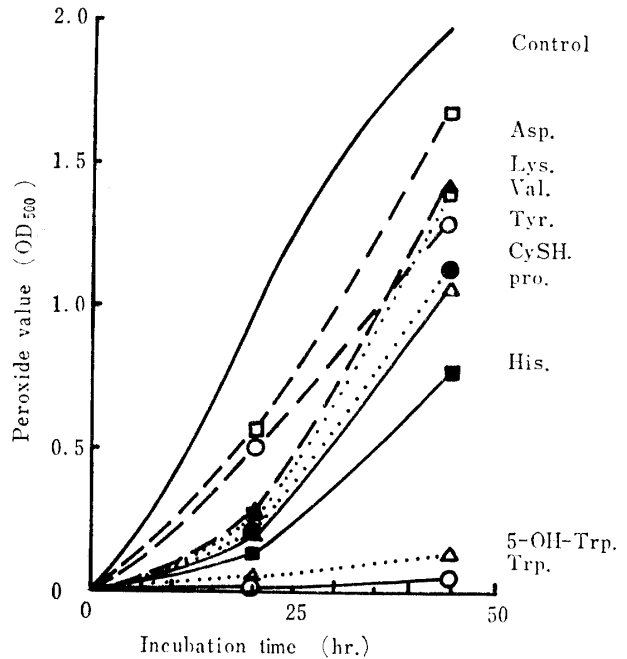


Fig. 1. Antioxidant Activity of Browning-Solution of Various Amino Acids with Glucose.

Preparation of the browning-solution and the incubation mixture was the same as shown in the legend of Table 2, except that the concentration of incubation-mixture was  $5 \times 10^{-5} M$ .

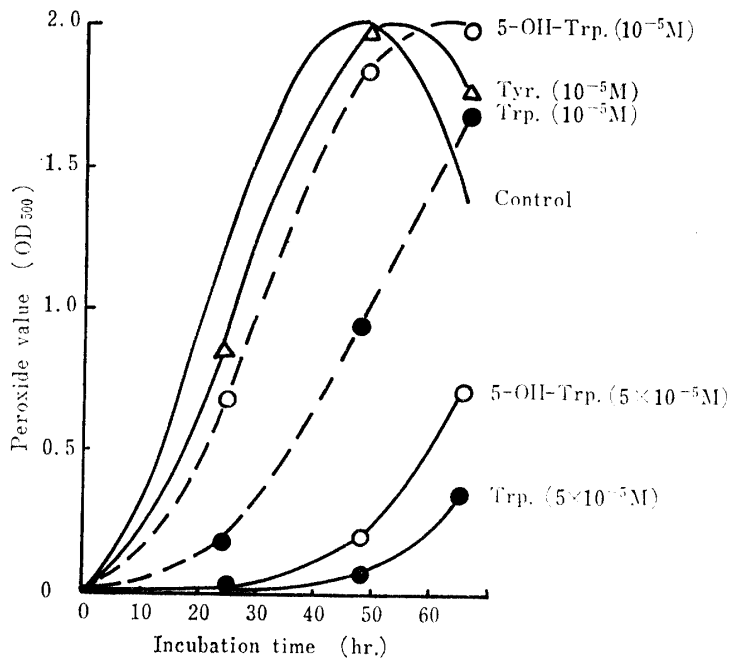


Fig. 2. Antioxidant Activity of Browning-Solution of Amino Acids with Glucose.

Preparation of browning-solution and incubation-mixture was the same shown in the legend of Table 2, except that the concentration of incubation-mixture was varied as indicated.

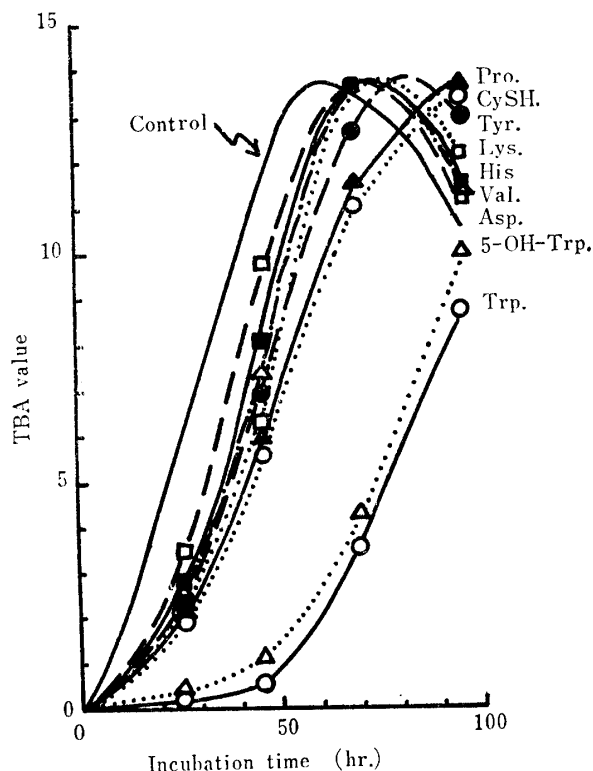


Fig. 3. Antioxidant Activity of Browning-Solution of Several Amino Acids with Glucose.

Preparation of the browning-solution and the incubation-mixture was the same as shown in Table 2, except that the concentration of incubation-mixture was  $2 \times 10^{-6} M$ .

TBA value was determined according to the method of Dahle (13) and shown as malonaldehyde  $\tau$  per 5ml. of the incubation mixture.

物の生成が少なく、抗酸化能の強いことを示している。

また、抗酸化剤によっては油脂類に対する添加濃度が多すぎても酸化促進的に作用することが知られている。そこで、トリプトファン、5-オキシトリプトファンおよびチロシンの反応液の添加量を更に少なくして抗酸化能を比較した。この結果を第2図に示したが、いずれも添加濃度が小さくなると抗酸化能は低下し、過酸化物の生成が大となることが認められる。したがって、この結果からもトリプトファン系褐変反応液の抗酸化能が強いことが明らかである。

更に、酸化度の測定法をかえて TBA 法によって比較した結果も第3図にみられるように、トリプトファン系褐変反応液が強い抗酸化能を示すことは明らかである。

5-オキシトリプトファン系褐変反応液も強い抗酸化

能を示したが、5-オキシトリプトファンは血管収縮作用物質であるセロトニンの前駆物質である。セロトニンは脳中に認められる物質であるが、SJOERDSMA ら<sup>17)</sup>によると悪性転移性カルチノイド腫瘍患者に大量に存在するといわれ、BRÖCK ら<sup>18)</sup>や BRANWOOD ら<sup>19)</sup>によればセロトニンが過剰に存在すると体重低下、顔面発赤、慢性下痢、呼吸障害、循環器障害などを来たすといわれている。したがって、生理的に有害な物質の使用は極力さけるべきであると考えられるので、5-オキシトリプトファンは考慮しないことにした。

4) アミノ酸・グルコース系褐変反応液の着色度と電子供与性

褐変反応液の進行度を示す指標として着色度があるが、褐変反応液の着色度と DPPH 法による電子供与能を測定し第4表に示した。

着色度の異なるものから順に記載したが、全般的にみて着色度の高いものが電子供与性も大であるという傾向を示している。

そこで、これらの相関関係を調べたところ相関係数  $r=0.487$  であり、着色度と電子供与能との間に正の相関が認められ、t 検定の結果 1% 水準で有意の差が認められた。

比較的安定なラジカルである DPPH は電子または水素原子を供給されて特色ある紫色を失うが、その退色度によって被検物質の電子供与能をある程度推察することが可能である。KUZMINSKI<sup>20)</sup> はアミン系抗酸化剤の抗酸化性と DPPH の退色度との間に密接な関連性のあることを報告している。また、BLOIS<sup>21)</sup> によると DPPH はシステインで代表されるチオール基を有する物質、アスコルビン酸で代表されるレダクトン類、ハイドロキノン型やフェノール性水酸基を有する物質などと反応して退色する。したがってアミノ・カルボニル反応に伴って生成するレダクトンもこれに関与しているといえる。またシステインは例外的に着色度は低いにもかかわらず抗酸化能も強く、高い電子供与能を示したが、これはチオール基に由来するものである。

アミノ酸とグルコースとの褐変反応液の着色度とリノール酸液に添加したときの抗酸化能との間には必ずしも相関は認められず、アミノ酸の種類によって異なると考えられる。しかし、トリプトファン系褐変反応液は着色度も電子供与性も高く、抗酸化能も強いので、アミノ酸の種類が一定すればこれらに関連があるかも知れないと考えられる。

Table 4. Color Intensity and Electron-Donating-Ability of Browning-Solution of Various Amino Acids with Glucose.

| Amino Acids                   | Color intensity <sup>a)</sup> | Electron donating Ability <sup>b)</sup> |
|-------------------------------|-------------------------------|---|
| Lysine-Aspartic acid          | 0.990                         | 0.313                                   |
| L-Tryptophan                  | 0.985                         | 0.318                                   |
| L-Lysine*                     | 0.950                         | 0.280                                   |
| Lysine-Glutamic acid          | 0.913                         | 0.315                                   |
| Glycine                       | 0.872                         | 0.230                                   |
| $\epsilon$ -Amino capric acid | 0.872                         | 0.173                                   |
| $\gamma$ -Amino butyric acid  | 0.815                         | 0.167                                   |
| L-Tyrosine                    | 0.685                         | 0.268                                   |
| L-Methionine                  | 0.647                         | 0.187                                   |
| L-Ornithine*                  | 0.615                         | 0.225                                   |
| L-Phenylalanine               | 0.595                         | 0.250                                   |
| L-Proline                     | 0.595                         | 0.198                                   |
| L-Leucine                     | 0.578                         | 0.222                                   |
| L-Valine                      | 0.578                         | 0.197                                   |
| L-Glutamine                   | 0.573                         | 0.130                                   |
| L-Isoleucine                  | 0.529                         | 0.198                                   |
| L-Alanine                     | 0.525                         | 0.173                                   |
| L-Hydroxy-proline             | 0.515                         | 0.200                                   |
| L-Serine                      | 0.448                         | 0.194                                   |
| L-Threonine                   | 0.372                         | 0.195                                   |
| Arginine-Glutamic acid        | 0.287                         | 0.185                                   |
| L-Arginine*                   | 0.264                         | 0.174                                   |
| L-Aspartic acid               | 0.245                         | 0.073                                   |
| L-Glutamic acid               | 0.225                         | 0.105                                   |
| L-Cystein*                    | 0.050                         | 0.540                                   |

\* chloride

a) : OD<sub>430</sub> of browning solution.

b) :  $\alpha, \alpha'$ -Diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH) colorimetry was fixed according to Mitsuda et al.<sup>(3)</sup> Shown as the difference of OD<sub>525</sub> between DPPH with and without browning-solution.

アミノ酸と糖の反応生成物の抗酸化能に関する研究は少なく、山口ら<sup>8)9)</sup>の焼菓子えの利用についての報告や、豊水ら<sup>22)</sup>のリジン・糖系褐変反応物による油焼機構と関連した研究がある。また、トリプトファンを含む研究として、KIRIGAYAら<sup>10)</sup>の報告がある。更に、桐ヶ谷ら<sup>11)</sup>は、1 M 濃度、pH 6.5, 100°C で7時間加熱した結果アルギニンの褐変反応液の抗酸化能が強いことを認めており、トリプトファンはこの濃度では溶解性も小さく、またこのpH条件では着色度も低く反応の進行が遅いことを示している。本研究で適用した条件では第4表に示したようにトリプトファン系の褐変反応生成物は、着色度も高く、反応の進行が大であることが明らかである。これは KATO<sup>23)</sup>によると糖の種類によって、鎌田<sup>24)</sup>、加藤ら<sup>25)</sup>によるとアミノ酸の種類によっても反応条件が異なると着色度が大きく変動するといわれていることから、反応条件の相違によって差を生じたものと推察される。

アミノ・カルボニル反応は極めて複雑な機構をもち、不明の点を多く残している。トリプトファン・グルコース系褐変反応生成物は強い抗酸化性を示すこと

を明らかにしたが、また着色度および電子供与能も高い部類に属することを認めた。しかしながら、着色度の高いものが必ずしも強い抗酸化性を示すとは限らないことも認められ、褐変活性の強い  $\epsilon$ -アミノ基を有するリジン系およびグリシン系褐変反応液は強い着色度を示すが、抗酸化能はトリプトファン系褐変反応液に比べて弱いことが明らかとなった。これは、抗酸化性の発現にはアミノ酸の種類、すなわちアミノ化合物の構造がきわめて重要な影響を与えていることを示すものと考えられる。換言すると、着色高分子物質をはじめ DPPH 法による電子供与能測定結果から、きわめて還元性の強い物質、たとえばレダクトン類も含み反応中間生成物の種類や生成量が異なり、またトリプトファンのもつ構造上の特性もこれらと関与し複雑な機構によって抗酸化性に影響しているものと考えられる。

本研究遂行にあたり、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を戴いた現カルピス研究所長稲神馨博士(元九大教授)、九州大学豊水正道教授、阿久根了教授、鹿児島

大学山田晃教授に感謝の意を表す。また、種々御便宜を戴いた九州大学農学部食糧化学工学科の諸氏に謝意を表す。

### 要 約

1. アミノ酸の抗酸化能は、5-オキシトリプトファン、チロシン、システイン、トリプトファンおよびヒスチジンが強いことを認めた。またアミノ酸は加熱しても抗酸化能には殆んど影響しないことを明らかにした。

2. アミノ酸にグルコースを混合して抗酸化能を比較すると酸化促進的に作用するものが多いが、強い抗酸化能を示したアミノ酸では酸化を抑制することを明らかにした。

3. アミノ酸とグルコースの褐変反応液の抗酸化能はアミノ酸固有の抗酸化能に比べて、全てのものが増加すること、中でもトリプトファン系褐変反応液の抗酸化能の増大が著しいことを明らかにした。

4. また、アミノ酸・グルコース系褐変反応液の着色度と電子供与性との間に相関が認められた。

### 参 考 文 献

- 1) R. MARCUSE: *Nature*, **186**: 886 (1960).
- 2) R. MARCUSE: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **39**: 97 (1962).
- 3) 満田久輝・安本教傳・岩見公和: *栄養と食糧*, **19**: 210 (1966).
- 4) S. MATSUSHITA and F. IBUKI: *Agr. Biol. Chem.* **29**: 792 (1965).
- 5) S. MATSUSHITA, F. IBUKI and A. AOKI: *Arch. Biochem. Biophys.* **102**: 445 (1963).
- 6) C. D. EVANS, H. A. MOSER, P. M. COONEY

- and J. E. HODGE: *J. Agr. Oil Chem. Soc.* **35**: 84 (1958).
- 7) P. M. COONEY, J. E. HODGE and C. D. EVANS: *ibid.* **35**: 167 (1958).
- 8) 山口直彦・横尾良夫・小山吉人: *食工誌*, **11**: 184 (1964).
- 9) 山口直彦・小山吉人: *ibid.* **14**: 106, 110, 281 (1967).
- 10) N. KIRIGAYA, H. KATO and M. FUJIMAKI: *Agr. Biol. Chem.* **32**: 287 (1968).
- 11) 桐ヶ谷紀昌・加藤博通・藤巻正生: *農化*, **43**: 484 (1969).
- 12) J. E. HODGE, E. C. NELSON and B. F. MOY: *J. Agr. Food Chem.* **11**: 126 (1963).
- 13) L. K. DAHLE, E. G. HILL and R. T. HOLMAN: *Arch. Biochem. Biophys.* **98**: 235 (1962).
- 14) 前田清一・江口真也・佐々木裕: *農技研誌*, **7**: 166 (1960).
- 15) A. F. MABROUK and L. R. DUGAN JR.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **38**: 692 (1961).
- 16) 桜井芳人・満田久輝・柴崎一雄編: *食品保蔵*, p. 285, 朝倉書店 (1966).
- 17) A. SJOERDSMA, H. WEISSBACH and S. UDEN-FRIEND: *Am. J. Med.* **20**: 520 (1956).
- 18) G. BRÖCK, O. AXEN and A. THORSON: *Am. Heart J.* **44**: 143 (1952).
- 19) A. W. BRAWNWOOD and A. D. BAIN: *Lancet*, **ii**: 1259 (1954).
- 20) A. S. KUZMINSKIĭ and L. G. ANGERT: *Rubber Chem. & Technol.* **29**: 131 (1956).
- 21) M. S. BLOIS: *Nature*, **181**: 1199 (1958).
- 22) 豊水正道・鐘 忠勇: *日本農芸化学会西日本支部大会第111回講演会要旨*, p. 13 (1967).
- 23) H. KATO: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **20**: 273 (1966).
- 24) 鎌田榮基: *食品工業*, **7**(5): 2 (1964).
- 25) 加藤博通・桜井芳人: *農化*, **38**: 536 (1964).

### Summary

Some amino acids exhibited antioxidative effects upon the autoxidation of linoleic acid, and those heated at 120°C for 1 hr. also showed the same effects. Among these amino acids, 5-hydroxy-tryptophan, tyrosine, cystein, tryptophan, and histidine were ascertained to be especially and effectively antioxidant. Addition of unheated glucose to amino acid resulted in a prooxidation of linoleic acid. However, in the case of the above mentioned five amino acids, their antioxidative effects surpassed the negative effects due to glucose.

On the other hand, when the mixture of amino acid and glucose was heated at 120°C for 1 hr., the resulting browning-solution showed stronger antioxidant activity than in the case of amino acid alone. The browning-solution prepared from tryptophan with glucose was noted to be most effective. Moreover, it was found that there was a clear correlation between the color intensity and the electron-donating-ability.