食 品 の ア ミ ノ 酸 分 析 に つ い て

Amino Acid Analysis of Foods

試料加水分解時の塩酸量の影響について

The effects of the quantity of hydrochloric acid for hydrolysis

(昭和 42 年 2 月 9 日 受 理)

劔 持 久 仁 子 田 村 真 八 郎
(Kuniko Kenmochi) (Shinpatirô Tamura)

On the determination of amino acid content of foods which contain a large amount of carbohydrate, the effects of the quantity of HCl for hydrolysis of samples were studied. It has been made evident by the experiment, that the quantity of HCl gives a significant influence on the amino acid recovery.

Hydrolysis were performed with various amount of 6N HCl, from 1 to 1,000 times against sample weight, for 24 hours at 110°C. Amino acid analysis was carried out on the hydrolyzates of isolated soybean protein and rice protein, with or without starch, using a Beckman Spinco model 120 A amino acid analyzer. The ratio of protein to carbohydrate was 1:10.

As far as the hydrolyzates of isolated protein without starch, the amino acid values showed no significant changes by adding more than 100 times the amount of HCl against the sample. In the case of hydrolyzates of samples with starch, there were differences between soybean protein and rice protein. On the hydrolyzates of soybean protein with starch, all the amino acid values of the sample were found to be quite similar to the values of the hydrolyzates of soybean protein without starch obtained by adding more than 100 times amount of HCl against the sample. And even by adding HCl only 10 times against the sample, good recoveries except for tyrosine were obtained. But in the case of rice protein with starch it was not good enough to add 100 times amount of HCl against the sample, since tyrosine, serine and arginine were notably lost. Especially the recovery of tyrosine decreased by adding 1,000 times amount of HCl against the sample.

In conclusion, on the determination of amino acid content of foods, satisfactory values were obtained except for tyrosine and arginine by adding more than 100 times amount of HCl against the sample for hydrolysis.

著者らは以前に、たんぱく質にでんぷんを混合した試料のアミノ酸測定について報告¹⁾した。その報告中で、でんぷん混合試料に対して 10 倍量の 6 N 塩酸を加えて加水分解する場合にアミノ酸の破壊による損失が起りやすく、その結果、測定値が著しく低くなるアミノ酸はチロシン、メチオニン、セリン、アルギニンの 4 つであり、またその他のアミノ酸の測定値も低くなることを明らかにした。一方、Moore²⁾ はでんぷん混合試料に対し約 100 倍程度（たんぱく質に対し 1,000 倍量）の 6 N 塩酸を加えて加水分解すれば、アミノ酸はほぼ定量的に回収されるので、食品のアミノ酸分析の場合にも多量の塩酸を加えて加水分解する方法が利用できるであろうと述べた。本報告では試料に対して加える塩酸量を 1 倍から

1,000 倍の範囲で変えて加水分解を行ない、加水分解液のアミノ酸含量を測定し、塩酸量が各アミノ酸の測定値に及ぼす影響を明らかにした結果について述べる。

実 験

分析試料として、白米粉から調製した白米たんぱく質（グルテリン）、ヘキサン脱脂大豆粉から調製した大豆たんぱく質、および白米でんぷんを用いた。

たんぱく質単独試料およびたんぱく質に対し 10 倍量のでんぷんを混合した試料（でんぷん混合試料）を加水分解用のガラス管にはかり込み、この試料量に対し 1 倍から 1,000 倍までの範囲で変えた量の 6 N 塩酸を加え、封管したのち、110°C で 24 時間加水分解し、その各加

栄 養 と 食 糧

第 1 表

単位：アミノ酸 mg/たんぱく g

アミノ酸	でんぷん	大豆たんぱく質					白米たんぱく質			
		塩酸量(対試料)				平均値 mg	塩酸量(対試料)			平均値 mg
		1,000倍	100倍	10倍	1倍		1,000倍	100倍	10倍	
Lys.	— +	52.1 52.6	53.4 51.9	54.8 54.9	43.9	53.4	27.5 27.8	27.3 27.6	24.9	27.4
His.	— +	21.7 22.9	21.9 22.9	23.3 18.8	18.1	22.3				
Arg.	— +	69.0 65.8	69.7 65.3	69.8 61.9	31.8	69.5	84.9 86.1	81.9 73.0	57.9	83.4
Asp.	— +	107.1 107.6	106.5 106.0	107.7 111.9	92.3	107.1	97.4 93.7	93.3 99.6	89.3	95.4
Thr.	— +	33.6 34.0	33.5 33.9	33.1 34.7	25.9	33.4	33.9 31.9	30.3 30.5	27.0	32.1
Ser.	— +	45.5 44.9	45.2 45.1	46.2	36.9	45.4	51.5 48.7	41.5 41.6	37.7	51.5
Glu.	— +	186.8 183.0	183.1 183.6	184.8 191.3	162.8	184.9	193.4 183.7	186.6 188.6	172.3	190.0
Pro.	— +	46.8 50.8	48.1 49.1	48.3 50.7	40.8	47.7	43.3 38.4	40.1 41.4	37.3	41.7
Gly.	— +	37.7 39.1	38.5 38.7	39.3 39.7	33.6	38.5	42.7 40.9	41.6 38.9	38.1	42.2
Ala.	— +	35.5 36.5	36.6 36.9	38.3 38.4	34.0	36.8	51.3 48.7	50.2 50.5	47.3	50.8
Val.	— +	42.3 43.5	43.6 43.6	43.8 44.3	32.9	43.2	59.6 57.8	60.4 57.5	52.4	60.0
Ileu.	— +	41.9 41.0	41.0 41.1	42.4 41.2	29.6	41.8	41.6 39.9	42.0 39.7	36.3	41.8
Leu.	— +	68.7 68.0	67.4 69.3	71.5 70.1	54.9	69.2	82.6 78.7	81.9 81.2	71.7	82.3
Tyr.	— +	30.9	30.0 30.2	31.3 13.4	3.4	30.7	54.5 31.5	53.3 32.0	21.0	53.9
Phe.	— +	45.2 45.1	44.5 45.2	47.7 44.1	30.9	45.8	54.9 52.5	56.8 54.0	44.3	55.9

水分分解液についてアミノ酸の分析を行なった。アミノ酸の分析にはベックマン・スピコ製のアミノ酸分析計を用いた。分析法の詳細は以前に報告³⁾したものと同様である。

大豆たんぱく質の場合は、たんぱく質単独試料では塩酸量を10倍、100倍、1000倍にした3点の加水分解液、でんぷん混合試料では塩酸量を1倍、10倍、100倍、1,000倍（この量はでんぷん混合試料量に対してであるから、試料中のたんぱく質量に対してはそれぞれ10倍～10,000倍になる）にした4点の加水分解液、合計7点のアミノ酸分析を行なった。

白米たんぱく質の場合は、たんぱく質単独試料につい

ては塩酸量を100倍、1,000倍にした2点の加水分解液、でんぷん混合試料では塩酸量を10倍、100倍、1,000倍（試料中のたんぱく質量に対してはそれぞれ100倍、10,000倍）にした3点の加水分解液、合計5点のアミノ酸分析を行なった。

結 果

以上の測定結果を第1表に、また第1表の数値から計算した各アミノ酸の回収率を第2表に示した。

回収率はたんぱく質単独試料の測定値（大豆たんぱく質では3点、白米たんぱく質では2点）の平均値を100として求めた。ただし、白米たんぱく質のセリンにおい

第 2 表

アミノ酸	でんぷん	大豆たんぱく質					白米たんぱく質				
		回 収 率 (%)				平均値 mg	回 収 率 (%)			平均値 mg	
		塩 酸 量 (対試料)					塩酸量 (対試料)				
		1,000倍	100倍	10倍	1 倍		1,000倍	100倍	10倍		
Lys.	— +	97.5 98.4	99.9 97.1	102.6 102.8	82.2	53.4	100.3 101.4	99.6 100.7	90.8	27.4	
His.	— +	97.3	98.2 102.7	104.5 84.3	81.2	22.3					
Arg.	— +	99.3 94.7	100.3 94.0	100.4 89.1	45.8	69.5	101.8 103.2	98.2 87.5	69.4	83.4	
Asp.	— +	100.0 100.5	99.4 99.0	100.6 104.5	86.2	107.1	102.2 98.3	97.9 104.5	93.7	95.4	
Thr.	— +	100.6 101.8	100.3 101.5	99.1 103.9	77.5	33.4	105.6 99.4	94.4 95.0	84.1	32.1	
Ser.	— +	100.3 99.0	99.7 99.5	101.9	81.4	45.4	100.0 94.6	80.6 80.8	73.2	51.5	
Glu.	— +	101.0 99.0	99.0 99.3	99.9 103.5	88.0	184.9	101.8 96.7	98.2 99.3	90.7	190.0	
Pro.	— +	98.1 106.4	100.8 102.9	101.2 106.2	85.5	47.7	103.8 92.1	96.2 99.3	89.4	41.7	
Gly.	— +	97.9 101.6	100.0 100.5	102.1 103.1	87.3	38.5	101.3 97.0	98.7 92.3	90.4	42.2	
Ala.	— +	96.5 99.2	99.5 105.2	104.1 107.9	92.4	36.8	101.3 96.0	98.9 99.5	93.2	50.8	
Val.	— +	97.8 100.6	100.9 100.9	101.3 102.5	76.1	43.2	99.3 96.3	100.7 95.8	87.3	60.0	
Ileu.	— +	100.3 98.2	98.2 98.4	101.5 98.6	70.9	41.8	99.5 95.5	100.5 95.0	86.8	41.8	
Leu.	— +	99.3 98.3	97.4 100.1	103.3 101.3	79.3	69.2	100.4 95.7	99.6 98.7	87.2	82.3	
Tyr.	— +	100.6	97.6 98.3	101.9 43.6	11.1	30.7	101.1 58.4	98.9 59.4	39.0	53.9	
Phe.	— +	98.7 98.5	97.2 98.7	104.1 96.3	67.5	45.8	98.3 94.0	101.7 96.7	79.3	55.9	

ては、対試料塩酸量 100 倍の測定値は著者らの研究室のアミノ酸分析技術の水準（相対誤差約 5 %）から考えて誤差範囲をこえた有意のものと認められるので、これを除き、対試料塩酸量 1,000 倍の測定値を用いた。

考 察

大豆たんぱく質の場合、たんぱく質単独試料のときは加える塩酸量が 10 倍、100 倍、1,000 倍と変化しても、すべてのアミノ酸の測定値は変わらないと考えられる。でんぷん混合試料のときは、加える塩酸量が試料に対して 100 倍および 1,000 倍ではたんぱく質単独試料の場合と差がない測定値が得られるが、10 倍（対たんぱく質 100 倍）

の場合は、チロシン（43.6%）、ヒスチジン（84.3%）、アルギニン（89.1%）の 3 アミノ酸については低い値が得られた。また、塩酸量が対試料 1 倍（対たんぱく質 10 倍、実際には加水分解というより焦がすという状態に近い）の場合はすべてのアミノ酸の測定値が低くなり、とくにチロシン（11.1%）、アルギニン（45.8%）が著しい。

白米たんぱく質の場合、たんぱく質単独試料のときは塩酸量 100 倍と 1,000 倍とではセリンを除いてはアミノ酸測定値に差がないと考えられるが、でんぷん混合試料の場合は塩酸量が対試料 100 倍（対たんぱく質 1,000 倍）では、チロシン（59.4%）、セリン（80.8%）、アルギニン

(87.5%) の測定値が低くなり、対試料 1,000 倍 (対たんぱく質 10,000 倍) の場合でもチロシンの測定値は低い回収率 (58.4%) しか得られなかった。また塩酸量が対試料 10 倍 (対たんぱく質 100 倍) の場合はすべてのアミノ酸が、かなり低い測定値となり、とくにチロシン (39.0%), アルギニン (69.4%), セリン (73.2%) では回収率の低下が著しく、以前の実験結果¹⁾ とはほぼ同様であった。

これらのことを比較してみると、でんぷん混合試料の加水分解の場合、大豆たんぱく質では混合試料に対し、100 倍の塩酸量でよいと考えられるが、白米たんぱく質では 100 倍の塩酸量では不十分と考えられ、チロシン、セリン、アルギニンの測定値が低くなり、混合試料に対し 1,000 倍量でもなおチロシンの測定値は低くなる。したがって、炭水化物含量の多い食品、飼料などのアミノ酸分析にあたっては、試料に対して、100~1,000 倍量程度の多量の塩酸を用いて加水分解すれば、チロシン、セリン、アルギニン以外のアミノ酸については共存炭水化物による損失からくる測定値の低下をまぬかれると考えられる。

要 約

大豆たんぱく質、白米たんぱく質およびこれらに米でんぷんを加えたものの計 4 種の試料について、塩酸量を試料に対して 1~1,000 倍の範囲で変えて加水分解を行なって、アミノ酸分析をし、塩酸量の多少がアミノ酸測定値に及ぼす影響を考察した。たんぱく質単独試料では試料に対して 100 倍以上の塩酸量で白米たんぱく質のセリンを除いては、ほぼ満足すべき値を得た。でんぷん混合試料では、たんぱく質が大豆たんぱく質の場合は試料の 100 倍以上の塩酸量があれば、たんぱく質単独試料と同じ測定値を示したが、白米たんぱく質の場合は試料の 100 倍の塩酸量では、チロシン、セリン、アルギニンの測定値が低く、1,000 倍の塩酸量でもチロシンの測定値は低かった。

文 献

- 1) 田村真八郎, 劔持久仁子: 農化, 37, 611 (1963)
- 2) Moore, S.: *J. Biol. Chem.*, 238, 235 (1963)
- 3) 田村真八郎, 劔持久仁子: 農化, 37, 278 (1963)

(農林省食糧研究所)

α -アミノイソ酪酸を指標とするヒナの血漿アミノ酸の研究

非代謝性アミノ酸の一つである α -アミノイソ酪酸 (AIBA) は、ヒナにおけるアミノ酸吸収の研究の指標として利用できる。

まず結晶アミノ酸混合物を使用した基本食に AIBA を 0~1.5% 添加した飼料を、間隔をおいて投与し、最終摂取時の 30 分のちに採血して血漿中のアミノ酸量を測定した。血漿中の AIBA 量は飼料中に添加した量とよく比例し、他のアミノ酸組成は飼料中の AIBA によって影響を受けなかった。次に基本食のアミノ酸混合物の代りにリジン、メチオニンがそれぞれ欠乏しているゴマ粉

と大豆粉を用いた飼料に制限アミノ酸を添加したもの、しないものについてそのいずれにも 0.5% の AIBA を添加して同様に血漿アミノ酸を測定した。そして AIBA を指標にすることによって、インバランスな食餌のアミノ酸吸収は、バランスのとれた食餌のアミノ酸吸収ほど速くないことが明らかになった。(表 6)

Use of α -Aminoisobutyric Acid as an Internal Indicator in Chick Plasma Amino Acid Studies.

by Smith R. E.: *J. Nutrition*, 89 (3), 276~282 (1966)

(堀井)