グルコサミン褐変物質の抗酸化性におよぼす アミノ酸、有機酸及び糖の影響

小 柳 津 周*

Effects of Amino Acids, Organic Acids or Sugars on Antioxidative Activity of Browning Products Prepared from Glucosamine

Makoto OYAIZU*

* Musashino Nutrition College, 3-12-5, Minami Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo, 171

Browning products were prepared between glucosamine and one of the following compounds; amino acids (6 kinds), organic acids (4 kinds), sugars (5 kinds) by incubation at 37°C for 30 days or heating at 100°C for 30 and 60 min. The antioxidative activity, reducing power, residual aminosugar, degree of browning and pH of these browning product solutions were measured. These browning products showed stronger antioxidative activities than glucosamine alone. The strongest antioxidative activities were observed, in the reaction with L-leucine, D-glucose, or succinic acid by incubation at 37°C for 30 days, and with L-leucine, D-glucose, or L-ascorbic acid by heating at 100°C for 60 min. Stronger antioxidative activity and higher browning degree were derived from the longer incubation time and the higher temperature employed in this study.

(Received Nov. 19, 1987)

先に、著者は、グルコサミン褐変物質の抗酸化性について検討し、長期放置褐変させた褐変物質ほど強い抗酸化性を示すと報告した¹⁾。さらに、エタノール、メタノール及び薄層クロマトグラフィーによる分別、あるいは褐変条件の違いにより、抗酸化性の効力も異なることを報告した²⁾。そこで、今回、グルコサミンとアミノ酸、糖及び有機酸との褐変反応により生成した褐変物質について、抗酸化性及びその性状を検討したので報告する。

試料及び実験方法

1. 遊離グルコサミンの調製

遊離グルコサミンの調製は、グルコサミン塩酸塩（シグマ社製）を用いて前報¹⁾と同様に行った。

2. 添加したアミノ酸、糖及び有機酸

添加したアミノ酸（6種）、糖（5種）、有機酸（4種）は、次の通りである。

アミノ酸：L-リジン、DL-アラニン、L-ロイシン、グ

リシン、L-メチオニン、L-グルタミン酸。

糖：D-キシロース、D-グルコース、D-マルトース、D-ガラクトース、D-サッカロース。

有機酸：L-アスコルビン酸、コハク酸、クエン酸、シュウ酸。

3. 褐変物質の調製

遊離グルコサミン 0.1 M と 0.05 M のアミノ酸、糖及び有機酸をそれぞれ加え、蒸留水に溶解後、褐色容器に入れ 37°C インキュベーターで 30 日間放置褐変させ、その間、0, 3, 7, 15, 30 日目に経時的に測定した。また、同様の濃度に調製した溶液を 100°C で 30, 60 分間加熱褐変させたものも試料とした。なお、遊離グルコサミン単独の褐変溶液 (Browning Products of Glucosamine) を以後、BGA 単独区と略するとともに、アミノ酸、糖及び有機酸を添加した試料は、以下、アミノ酸添加区、糖添加区及び有機酸添加区とした。

* 武蔵野栄養専門学校 (〒 171 東京都豊島区南池袋 3-12-5)

4. 褐変溶液の性状

褐変溶液の還元力は、足立の方法により、アミノ糖の残存量は、ELSON-MORGAN 法の変法である BLIX 法、褐変度及び pH 測定は、いずれも前報¹⁾と同様に行った。

5. 抗酸化性の測定

抗酸化性は、ワールブルグ検圧装置により酸素吸収量 (μl) として前報¹⁾と同様に測定した。すなわち、反応フラスコの主室に乳化液を 1.5 ml、側室に 0.05% ヘモグロビン溶液を 0.5 ml、副室に 10% KOH 溶液を 0.2 ml 入れる。基質のリノール酸、ヘモグロビンの濃度も前報¹⁾に従った。

結果及び考察

1. 褐変度

37°C に 30 日間放置及び 100°C、60 分間加熱褐変させた結果を Table 1 及び 2 に示した。37°C のアミノ酸添加区では、メチオニン区>グリシン区>BGA 単独区=リジン区=アラニン区=ロイシン区>グルタミン酸区であり、糖添加区では、キシロース区>BGA 単独区=グルコース区=サッカロース区>マルトース区>ガラクトース区であり、有機酸添加区では、アスコルビン酸区>BGA 単独区>クエン酸区=シュウ酸区>コハク酸区であった。一方、100°C、60 分間加熱では、アミノ酸添加区及び糖添加区のすべてが BGA 単独区よりも強く、有機酸添加区では、アスコルビン酸区以外はすべて弱かった。このことから加熱する温度が高いほど着色が強く、特に、アミノ酸添加区では、グリシン区、糖添加区では、キシロース区、マルトース区が強く着色した。逆に、有機酸添加区では、アスコルビン酸区以外は BGA 単独区よりも着色が弱かった。桐ヶ谷³⁾は、アミノ酸及び糖の着色についてアラニン、リジン、キシロースで着色が強く、ロイシン、グルタミン酸で弱いと報告している。このことから添加したアミノ酸、糖及び一部の有機酸がグルコサミンと効果的に反応し、着色が促進するものと推定されたが、37°C、30 日間放置では、アスコルビン酸区以外には著しい着色を示さなかった。

2. 還元力

37°C で 30 日間放置あるいは、100°C、60 分間加熱褐変させた結果を Table 1 及び 2 に示した。37°C、30 日間放置では、アミノ酸添加区、糖添加区及びアスコルビン酸区が 3 日目に最高値を示し、以後、減少した。有機酸添加区は、アスコルビン酸区以外が 15 日目に最高値を示した。30 日目では、すべての添加区が BGA 単

独区よりも高い値を示した。一方、100°C、60 分間加熱のアミノ酸添加区及び糖添加区では、すべてが BGA 単独区よりも高い値を示した。有機酸添加区では、アスコルビン酸区が 30 分間加熱で最高値を示し、60 分間では減少した。他の有機酸添加区では、BGA 単独区よりも低い値を示した。アミノ酸や糖及び加熱温度、時間の違いにより還元力も異なった。

3. アミノ糖の残存量及び pH

37°C に 30 日間放置あるいは 100°C、60 分間加熱褐変させた結果を Table 1 及び 2 に示した。アミノ糖の残存量では、37°C、30 日間放置のアミノ酸添加区でリジン区、グリシン区、メチオニン区、グルタミン酸区、糖添加区のグルコース区、マルトース区、ガラクトース区が 7 日目で消失し、他のアミノ酸、糖添加区は 15 日目に消失した。また、有機酸添加区は、30 日の放置期間内での消失は認められなかった。逆に、100°C 加熱では、30 分間ですべて消失した。一方、pH では、37°C での放置期間中全ての試料区で低下傾向が認められた。また、BGA 単独区との比較では、アミノ酸添加区中リジン区、メチオニン区で高く、ロイシン区、グリシン区、グルタミン酸区で低かった。100°C、60 分間加熱試料区と未加熱区との比較では、BGA 単独区、糖添加区及びリジン区、コハク酸区、シュウ酸区は、低下し、逆に、リジン区以外のアミノ酸添加区とアスコルビン酸区、クエン酸区は上昇した。また、BGA 単独区との比較では、すべてのアミノ酸添加区で高く、逆に、糖及び有機酸添加区は低かった。このことから加熱温度及び時間の違いにより pH が変化し、特に、アミノ酸添加区では、加熱温度が高い場合に pH が上昇し、低い温度では、低下した。

4. 抗酸化性

37°C に 30 日間及び 100°C で 60 分間加熱褐変させた試料の抗酸化性を Table 3 及び 4 に示した。30 日間放置では、アミノ酸添加区のロイシン区、グルタミン酸区、糖添加区のグルコース区、キシロース区及びすべての有機酸添加区に明らかな抗酸化性が認められたが、他の添加区の効力は微弱であった。一方、100°C、60 分間加熱は、30 分間加熱時にグルコース区、コハク酸区、クエン酸区、シュウ酸区で酸化を促進し、この現象は、有機酸添加区で顕著に表れたが、以後は、すべての添加区で抗酸化性が認められ、特に、アスコルビン酸区、グルコース区が顕著であった。さらに、37°C、30 日間放置の有機酸添加区では、全試料区とも効果的な効力を示したが、100°C、60 分間加熱では、アスコルビン酸区のみ

Table 1 Changes in browning, reducing power, aminosugar and pH of

Incubation period(days)	Browning* ¹					Reducing power* ²				
	0	3	7	15	30	0	3	7	15	30
Glucosamine	0	0.001	0.003	0.003	0.004	0.040	0.360	0.327	0.329	0.300
Amino acids										
L-Lysine	0	0.001	0.003	0.003	0.004	0.040	0.398	0.347	0.337	0.325
DL-Alanine	0	0.001	0.003	0.003	0.004	0.040	0.399	0.333	0.337	0.301
L-Leucine	0	0.001	0.003	0.003	0.004	0.040	0.363	0.341	0.336	0.308
Glycine	0	0.001	0.003	0.004	0.005	0.040	0.392	0.345	0.340	0.308
L-Methionine	0	0.001	0.006	0.007	0.009	0.040	0.398	0.360	0.361	0.334
L-Glutamic acid	0	0.001	0.002	0.002	0.003	0.040	0.363	0.340	0.357	0.308
Sugars										
D-Xylose	0	0.001	0.007	0.007	0.009	0.040	0.419	0.404	0.366	0.337
D-Glucose	0	0.001	0.003	0.003	0.004	0.040	0.431	0.372	0.339	0.338
D-Maltose	0	0.001	0.001	0.001	0.003	0.040	0.362	0.335	0.336	0.320
D-Galactose	0	0.001	0.002	0.002	0.002	0.040	0.398	0.364	0.340	0.318
D-Saccharose	0	0.001	0.001	0.001	0.004	0.040	0.358	0.334	0.338	0.320
Organic acids										
L-Ascorbic acid	0	0.001	0.006	0.024	0.030	1.011	1.108	0.965	0.516	0.407
Succinic acid	0	0.001	0.001	0.001	0.001	0.040	0.322	0.330	0.359	0.319
Citric acid	0	0.001	0.001	0.001	0.002	0.040	0.303	0.314	0.331	0.325
Oxalic acid	0	0.001	0.001	0.001	0.002	0.040	0.299	0.312	0.350	0.321

*¹Optical density at 450 nm, *²Optical density at 700 nm, *³Optical density at 530 nm

Table 2 Changes in browning, reducing power, aminosugar and pH of several browning product solutions by heating at 100°C for 30 and 60 min

	Browning* ¹			Reducing power* ²			Aminosugars* ³			PH		
	0	30	60* ⁴	0	30	60	0	30	60	0	30	60
Glucosamine	0	0.021	0.030	0.040	0.360	0.453	0.374	0	0	7.30	6.75	7.02
Amino acids												
L-Lysine	0	0.022	0.039	0.040	0.485	0.549	0.360	0	0	8.75	8.00	8.55
DL-Alanine	0	0.031	0.065	0.040	0.356	0.474	0.360	0	0	7.42	6.99	9.55
L-Leucine	0	0.051	0.060	0.040	0.436	0.504	0.360	0	0	7.38	6.92	9.20
Glycine	0	0.060	0.091	0.040	0.432	0.525	0.360	0	0	7.41	7.30	8.25
L-Methionine	0	0.052	0.075	0.040	0.375	0.525	0.360	0	0	7.30	7.21	9.12
L-Glutamic acid	0	0.017	0.055	0.040	0.352	0.479	0.360	0	0	7.30	6.65	8.98
Sugars												
D-Xylose	0	0.043	0.072	0.040	0.432	0.553	0.360	0	0	7.72	6.55	6.10
D-Glucose	0	0.038	0.067	0.040	0.422	0.574	0.360	0	0	7.68	7.48	6.00
D-Maltose	0	0.045	0.072	0.040	0.444	0.572	0.360	0	0	7.35	6.68	6.04
D-Galactose	0	0.035	0.067	0.040	0.338	0.584	0.360	0	0	7.70	6.75	6.12
D-Saccharose	0	0.015	0.044	0.040	0.341	0.478	0.360	0	0	7.45	6.95	6.99
Organic acid												
L-Ascorbic acid	0	0.005	0.050	1.011	1.063	0.752	0.170	0	0	5.05	4.60	5.42
Succinic acid	0	0.003	0.028	0.040	0.343	0.406	0.340	0	0	5.20	4.79	4.55
Citric acid	0	0.001	0.024	0.040	0.313	0.400	0.340	0	0	4.30	4.12	5.70
Oxalic acid	0	0.001	0.028	0.040	0.301	0.412	0.340	0	0	4.21	3.98	4.08

*¹Optical density at 450 nm, *²Optical density at 700 nm, *³Optical density at 530 nm,*⁴Minute

several browning product solutions by incubation at 37°C for 0~30 days

Aminosugar* ³					pH				
0	3	7	15	30	0	3	7	15	30
0.367	0.024	0.015	0	0	7.30	7.28	7.15	7.25	6.80
0.360	0.016	0	0	0	8.75	8.62	8.42	8.00	8.50
0.360	0.018	0.013	0	0	7.42	7.18	7.21	7.48	7.01
0.360	0.018	0.001	0	0	7.38	7.76	7.40	7.00	6.62
0.360	0.015	0	0	0	7.41	7.49	7.10	7.22	6.55
0.360	0.020	0	0	0	7.35	7.25	7.28	7.00	7.31
0.360	0.030	0	0	0	7.30	7.40	7.00	6.85	6.22
0.360	0.016	0.007	0	0	7.72	7.35	7.22	6.80	6.50
0.360	0.046	0	0	0	7.68	7.51	7.22	6.86	6.99
0.360	0.036	0	0	0	7.35	7.15	6.98	6.90	6.85
0.360	0.040	0	0	0	7.70	7.68	7.21	6.88	5.98
0.360	0.040	0.010	0	0	7.45	7.40	6.91	6.80	7.01
0.170	0.122	0.038	0.030	0.016	5.05	4.70	5.18	4.70	4.70
0.340	0.120	0.112	0.100	0.051	5.20	5.16	5.02	4.25	4.98
0.340	0.120	0.114	0.102	0.059	4.30	4.28	3.20	3.18	4.00
0.340	0.183	0.110	0.101	0.056	4.21	4.22	3.22	4.21	4.10

Table 3 Antioxidative activities of several browning product solutions by incubation at 37°C for 0~30 days

	Incubation period (day)				
	0	3	7	15	30
Blank* ¹	10.70* ²	10.70	10.70	10.70	10.70
Glucosamine	10.50	10.35	10.30	10.25	10.21
Amino acids					
Glucosamine					
L-Lysine	10.45	10.30	10.25	10.20	10.15
D,L-Alanine	10.52	10.40	10.30	10.15	10.00
L-Leucine	10.40	10.32	10.20	10.10	9.70
Glycine	10.30	10.30	10.25	10.10	10.00
L-Methionine	10.45	10.40	10.40	10.20	10.10
L-Glutamic acid	10.46	10.40	10.30	10.00	9.80
Sugars					
Glucosamine					
D-Xylose	10.30	10.25	10.10	10.00	9.65
D-Glucose	10.40	10.30	10.15	10.05	9.55
D-Maltose	10.40	10.40	10.30	10.22	10.11
D-Galactose	10.42	10.38	10.29	10.25	10.16
D-Saccharose	10.50	10.46	10.32	10.22	10.14
Organic acids					
Glucosamine					
L-Ascorbic acid	10.30	10.25	10.10	10.00	9.42
Succinic acid	10.30	10.16	10.00	9.94	9.39
Oxalic acid	10.42	10.30	10.22	10.08	9.88
Citric acid	10.40	10.32	10.16	10.00	9.40

*¹Without browning product solutions.*²Oxygen uptake (μ l) during 60 min of the oxidation reaction

Table 4 Antioxidative activities of several browning product solutions by heating at 100°C for 30 and 60 min

	Antioxidative activity		
	0	30	60
Blank*1	10.70*2	10.70	10.70
Glucosamine	10.90	9.59	8.20
Amino acids			
Glucosamine			
L-Lysine	10.40	8.60	6.50
DL-Alanine	10.25	9.71	6.60
L-Leucine	10.42	8.00	5.80
Glycine	10.45	8.69	6.00
L-Methionine	10.40	8.25	6.00
L-Glutamic acid	10.40	9.55	7.00
Sugars			
Glucosamine			
D-Xylose	10.25	9.65	4.22
D-Glucose	10.30	10.80	3.42
D-Maltose	10.40	9.92	4.50
D-Galactose	10.30	9.81	4.80
D-Saccharose	10.25	8.88	9.60
Organic acids			
Glucosamine			
L-Ascorbic acid	10.90	7.88	3.30
Succinic acid	10.40	12.07	7.80
Citric acid	10.35	11.61	7.10
Oxalic acid	10.25	11.45	8.30

*1 Without browning product solutions.

*2 Oxygen uptake (μ l) during 60 min of the oxidation reaction

強い抗酸化性が認められた。逆に、アミノ酸及び糖添加区では、強い抗酸化性を示すものが多かった。桐ヶ谷

ら²⁾が着色しやすいアミノ酸は五炭糖で強い抗酸化性を認め、着色しにくいアミノ酸は作用が弱いと報告している。本報では、加熱温度及び時間の違いにより、グルコサミン褐変物質の抗酸化性を効果的に増大させるアミノ酸、糖及び有機酸を区別することが出来た。

要 約

遊離グルコサミンとアミノ酸、糖及び有機酸を添加し、37°C に 30 日間放置褐変させたものと、上記の溶液の褐変条件を 100°C で 30 分間及び 60 分間加熱褐変させたものを試料とし、抗酸化性及びその性状を測定し、次のような結果を得た。

(1) 各条件下で調製した褐変溶液は、遊離グルコサミン単独の褐変溶液よりも強い抗酸化性を示したものが多かった。

(2) 各条件下のもっとも強い抗酸化性は、37°C、30 日間放置褐変では、アミノ酸添加区のロイシン区、糖添加区のグルコース区、有機酸添加区のコハク酸区であり、100°C、60 分間加熱では、同様にロイシン区、グルコース区、アスコルビン酸区であった。

(3) 加熱温度及び時間の影響は、温度が高く、時間が長いほど抗酸化性あるいは褐変度が増大した。さらに、加熱温度が高いと還元力は増大し、逆に、アミノ糖は、早く消失した。

文 献

- 1) 小柳津周：栄養学雑誌，44，307 (1986)。
- 2) 小柳津周：日食工誌，投稿中。
- 3) 桐ヶ谷紀昌・加藤博通・藤巻正生：農化，43，844 (1969)。

(昭和 62 年 11 月 19 日受理)