

Ca

SVENSKA INSTITUTET FÖR KONSERVERINGSFORSKNING, GÖTEBORG

SIK - Rapport

1959

Nr 72

Zur Wirkung von Aminosäuren bei der Fettoxydation

av

Reinhard Marcuse

Zur Wirkung von Aminosäuren bei der Fettoxydation

Reinhard Marcuse

Föredrag vid 4. kongress av Internationale Gesellschaft für Fettwissenschaft, Graz, 1-3 sept. 1959.

Zu den sog. antioxydativen Synergisten, jenen Stoffen die bei der Fettoxydation die Wirkung eigentlicher, sog. primärer Antioxydantien zu verstärken vermögen, ohne dass sie selbst über eine entsprechende eigentlich - antioxydative Wirksamkeit verfügen, rechnet man u.a. die Gruppe der Aminosäuren. Unsere Kenntnisse über den Synergismus und die Wirkung der einzelnen synergistischen Substanzen sind, von einigen theoretischen Grundlagen abgesehen, noch recht begrenzt. Ganz besonders gilt dies bezüglich der Aminosäuren. In dem umfangreichen Werk "Biological Antioxidants" mit Vorträgen und Diskussionen von amerikanischen Symposien während der Jahre 1946 - 1950 ist z.B. nichts über einzelne Aminosäuren enthalten (1). In einer Reihe von amerikanischen Patenten werden gewisse Aminosäuren oder ganz allgemein "Aminosäuren" als Synergisten genannt (2).

Da der Effekt der primären Antioxydantien unter Umständen sehr von anwesenden Synergisten abhängig sein kann und nach allgemeiner Ansicht die Verwendung primärer Antioxydantien phenolischen Typs, vor allem solcher synthetischer Herkunft, möglichst einzuschränken ist, erscheint es wichtig, das Zusammenspiel von primären Antioxydantien und potentiellen Synergisten bzw. die Wirksamkeit dieser Synergisten klarzulegen. Auch dies gilt ganz besonders hinsichtlich der Aminosäuren, die ja als natürliche Bestandteile in fast allen Lebensmitteln vorhanden sind.

Ein synergistischer Effekt kann in verschiedener Weise zustande kommen: Einerseits können Synergisten oxydierte primäre Antioxydantien reduzieren und dadurch regenerieren (3, 4). Andererseits können sie in mehr indirekter Weise wirken, indem sie katalytisch prooxydativ wirksame Metallspuren, z.B. durch Chelatbildung, unwirksam machen. Was die Aminosäuren anbetrifft, so ist bekannt, dass sie dazu befähigt sind, mit Metallen Chelate zu bilden (5), ferner, dass sie, wie durch Versuche mit Alanin gezeigt worden ist (6), befähigt sein dürften, auf dem Wege ihrer oxydativen Desaminierung oxydierte Antioxydantien zu reduzieren. In wieweit die Aminosäuren dabei der Hilfe eines primären Antioxydants bedürfen, oder ob sie direkt zu eigener antioxydativer Wirkung befähigt sind, ist bisher nicht dargelegt worden.

Gelegentlich einer früheren Arbeit mit Salzheringen (7) haben wir in diesem speziellen biologischen System einen Synergismus von Tocopherol und Aminosäuren nachgewiesen. Bei Versuchen mit Heringsölemulsionen zeigte es sich, dass die wässrige Phase des Herings eine antioxydative Wirkung auf das Ranzigwerden des Heringsöls, das durch Bestimmung der Peroxydzahl verfolgt wurde, hatte. Wurde das Heringsöl "tocopherolfrei" bzw. - richtiger - "tocopherolarm" gemacht, so war die Wirkung sehr viel schwächer. In der wässrigen Phase wurden Aminosäuren nachgewiesen. Zusatz von Aminosäuren - an Stelle von wässriger Phase - ergab ebenfalls einen antioxydativen Effekt.

Es interessierte uns damals bereits, die Wirkung der verschiedenen Aminosäuren mit einander zu vergleichen und die Ergebnisse eines Vorversuchs wurden bereits in genannter Arbeit veröffentlicht. Diese konnte jedoch zu jener Zeit nicht fortgesetzt werden.

Inzwischen wurde über Versuche mit einzelnen Aminosäuren und Tocopherol in Schmalz berichtet (8). Die mitgeteilten Ergebnisse basieren auf Peroxydzahlbestimmungen und Berechnung von sog. Schutzfaktoren (errechnet aus dem Zeitraum bis zum Erreichen der PZ 10). Das Schmalz war mit Tocopherol in optimaler Konzentration (5×10^{-4} molar) versetzt. Die 16 untersuchten Aminosäuren ergaben unter diesen Umständen recht unterschiedliche Schutzfaktoren: Einige waren negativ, d.h. sie hatten prooxydativen Effekt - Cystein und Valin -, während die meisten einen antioxydativen Effekt von verschiedener Stärke zeitigten, vor allem Serin, Isoleucin, Alanin, Lysin sowie Histidin.

Wir haben nun unsererseits die Frage der relativen Wirksamkeit der einzelnen Aminosäuren bei der Fettoxydation wieder aufgegriffen. Das Ranzigwerden wurde nunmehr durch Bestimmung des O_2 -Verbrauchs mit Hilfe der Warburgapparatur kontinuierlich verfolgt. Unsere Absicht war ursprünglich lediglich, gewissermassen eine Rangordnung aufzustellen und die Abhängigkeit der Wirksamkeit der Aminosäuren von gewissen Faktoren, wie pH und Metallspuren zu untersuchen. Es ergaben sich jedoch dabei mancherlei Überraschungen, insbesondere individuelle Verschiedenheiten. Über einige unserer Beobachtungen bei der weiter in Gang befindlichen Bearbeitung dieser Probleme sei hier kurz berichtet. - Bei den Untersuchungen kamen zunächst Heringsölemulsionen, später Modellsysteme mit Linolsäure als Substrat zur Anwendung.

Die Heringsölemulsionen enthielten 33 % Öl und 1 % Tween 20 als Emulgator. Der Zusatz der Aminosäuren erfolgte in 10^{-4} - 10^{-1} molarer Konzentration (bezogen auf die wässrige Phase). Untersucht wurden hauptsächlich solche Aminosäuren, die bei früheren Untersuchungen als in Fischen frei vorkommend nachgewiesen worden waren.

Das Ranzigwerden der 3 bzw. 4 ml-Ansätze wurde 3 Stunden lang durch Bestimmung des O_2 -Verbrauchs bei im allgemeinen $35^\circ C$ verfolgt. Der O_2 -Verbrauch der nicht durch irgendwelche Zusätze beeinflussten Heringsölemulsion variierte von Fall zu Fall etwas. Er betrug im Durchschnitt rund $300 \text{ mm}^3/\text{g}/\text{Std.}$ Die Diagramme der O_2 -Aufnahme in Abhängigkeit von der Zeit hatten eine etwas konkave Form (Fig. 1). Zur Erfassung der Aminosäure-Wirkung berechneten wir das Verhältnis der O_2 -Aufnahme mit und ohne Zusatz von Aminosäure nach Ablauf von 3 Stunden.

Es ergab sich ein unterschiedliches Verhalten der untersuchten Aminosäuren (Fig. 2). Histidin erwies sich als am wirksamsten. Noch in 10^{-4} molarer Konzentration konnte eine deutliche Hemmwirkung wahrgenommen werden.

Von den übrigen untersuchten Aminosäuren abweichend verhielt sich Cystein, das schon in sehr geringer Konzentration (10^{-3} molar) eine starke Erhöhung des O_2 -Verbrauchs bewirkte.

Die Diagramme der Aminosäure-Hemmung in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration waren ungefähr gradlinig. Abweichungen liessen sich nicht vermeiden, waren jedoch nicht systematisch.

Im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen war die Frage des Einflusses des pH auf die Oxydationsgeschwindigkeit von Interesse. Es ergab sich eine gewisse Erhöhung der Geschwindigkeit der O_2 -Aufnahme mit steigendem pH. Bei Zusatz von Phosphat zum Zwecke der pH-Pufferung zeigte sich, dass Zusatz von Phosphat die Oxydationsgeschwindigkeit erhöht. In Anwesenheit von Phosphat ist ferner der Einfluss des pH auf die Geschwindigkeit der O_2 -Aufnahme sehr viel grösser als ohne Phosphat. Schliesslich - und das interessiert im vorliegenden Zusammenhang am meisten - ergab sich auch ein gewisser Einfluss auf die Aminosäure-Wirkung: In Anwesenheit von Phosphatpuffer (pH 5,6) war die Wirkung niedriger Aminosäure-Konzentrationen geringer, die Wirkung stärkerer Zusätze hingegen grösser (Fig. 3). Der Verlauf der Hemmungsdiagramme in Gegenwart von Phosphat wich daher etwas von dem oben erwähnten ziemlich gradlinigen Form ab (schwach ausgeprägte abfallende S-Kurve).

Eine erneute Untersuchung der Wirkung verschiedener Aminosäuren auf die Oxydation des gleichen Heringsöls wie oben, diesmal in Gegenwart von Phosphat, ergab ähnliche Resultate wie zuvor (Fig. 4). (Das Heringsöl war inzwischen über ein halbes Jahr lang in gefüllten Gefäßen bei 0° verwahrt worden.) Bei dieser Versuchsreihe wurde auch Tryptophan untersucht, das sich ebenso wie Histidin durch relativ starke Wirkung auszeichnete.

Der Tocopherolgehalt des Heringsöls war etwa 0,01mmolar. Versuche mit "tocopherolfrei"-gemachten Heringsöl wurden wegen gewisser weiter unten angeführter Schwierigkeiten nicht durchgeführt. Bei Zusatz von Histidin + α -Tocopherol (α -Tocopherol in 0,001-0,01 mmol. Konzentration) ergab sich eine dem Produkt der durch einerseits Tocopherol und andererseits Histidin allein verursachten Wirkung entsprechende Hemmung. Dies deutet zwar an, dass die Aminosäure-Wirkung auch ohne Zusatz von Tocopherol von dem natürlich vorhandenen Tocopherol abhängig sein dürfte, beweist aber natürlich nicht, dass Vorhandensein von Tocopherol eine notwendige Voraussetzung für eine Aminosäure-Wirkung ist.

Wie bereits oben erwähnt, sind wir im weiteren Verlauf dieser Arbeit zu Modellversuchen mit Linolsäure übergegangen. Untersuchungen wie die bisher beschriebenen mit Heringsöl haben gegenüber reinen Modellsystemen den Vorteil, dass es sich dabei um praktisch vorkommendes Substrat handelt. Jedoch kann dieses Substrat hinsichtlich Zusammensetzung, Oxydationsbereitschaft und Oxydationsgrad sehr variieren. Versuche, die angeführten Ergebnisse bei anderen Heringsölproben zu bestätigen, konnten auf Schwierigkeiten stossen, da die Geschwindigkeit der O₂-Aufnahme mitunter sehr gering war und dann durch starke Erhöhung der Temperatur für die praktische Durchführung der Versuche beschleunigt werden musste. Auch erschien uns der Nachweis des Freiseins von Tocopherol problematisch. Aus diesen Gründen haben wir es in der Folge vorgezogen, ein möglichst genau definiertes Substrat, und zwar Linolsäure, zu verwenden.

In Anlehnung an eine oben erwähnte Arbeit von Heimann (6) benutzen wir 1 ml Ansätze mit 5 % Linolsäure bzw. Kaliumlinoleat (Hoffman-La Roche). Nach "Neutralisierung" mit KOH in stöchiometrischer Menge wurde das pH auf 7,5 eingestellt und kurz homogenisiert. Den Ansätzen wurde etwas Alkohol zugesetzt, wodurch eine opalisierende bis opales-

zente Lösung erhalten wurde. Als primäres Antioxydans kam α -Tocopherol zur Anwendung, als Aminosäuren hauptsächlich das von Heimann benutzte Alanin sowie die beiden Aminosäuren, die auf Grund der Untersuchungen mit Heringsöl am interessantesten erschienen: Cystein und Histidin.

Die Versuche liefen im allgemeinen etwa 18 Std. bei 30°C. Der O₂-Verbrauch stieg etwas im Verlauf der Versuche. Er betrug nach etwa 6 Stunden im Durchschnitt 31, nach etwa 18 Stunden im Durchschnitt 38 mm³/Std. per 1 ml 5 % Linolsäureansatz.

Die ziffermässige Erfassung der Hemmung ist in Anbetracht der etwas konkaven Form der Kurven des O₂-Verbrauchs problematisch. Wiederum bedienten wir uns des Quotienten aus O₂-Verbrauch mit und ohne Aminosäurezusatz als Mass für die Aminosäure-Wirkung und zwar errechneten wir sowohl das Verhältnis zum O₂-Verbrauch ohne jedweden Zusatz (d.h. das Verhältnis zur absoluten Nullprobe) wie zum O₂-Verbrauch bei gewissem Tocopherol-Zusatz (d.h. das Verhältnis zur relativen Nullprobe).

Was zunächst Alanin anbelangt, so ergab sich bei 0,002 molarer Konzentration in Abwesenheit von Tocopherol eine schwach antioxydative Wirkung und in Anwesenheit von Tocopherol ein synergistischer Effekt, der jedoch je nach der Tocopherolkonzentration mehr oder weniger stark zum Ausdruck kam (Fig. 5). Bei dieser konstanten Alaninkonzentration zeigte sich mit steigendem Tocopherolgehalt - bis zu etwa 0,06 mmolarer Konzentration - zunächst ein Ansteigen des synergistischen Effekts, der jedoch mit weiterem Zunehmen der Tocopherolkonzentration, d.h. wenn der Tocopheroleffekt allein schon stark ist, wieder relativ geringer wird.

Die Wirkung der Aminosäuren in Abhängigkeit von ihrer Konzentration wurde deshalb in der Folge bei solchen Tocopherolkonzentrationen untersucht, die allein nur eine geringe Hemmung ergaben. Dabei zeigte es sich, dass die zur Erzielung einer gewissen schwachen Hemmung erforderliche Tocopherolkonzentration von Fall zu Fall variieren konnte. Sie war im allgemeinen zwischen 0,0015 und 0,006 mmolar. Der untersuchte Konzentrationsbereich der Aminosäuren war $2 \cdot 10^{-5}$ - $2 \cdot 10^{-1}$ molar, wobei jedoch nicht in jedem Falle der gesamte Bereich untersucht wurde.

Für Alanin ergab sich, wie aus den Diagrammen der relativen O₂-Aufnahme in Abhängigkeit von der Alaninkonzentration ersichtlich ist (Fig. 6), in Abwesenheit von Tocopherol im $5 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-2}$ mol. Bereich eine schwach antioxydative Wirkung, die bei höherer Konzentration in eine prooxydative Wirkung überging. In Anwesenheit von Tocopherol war der antioxydative Effekt im $5 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-4}$ mol. Bereich synergistisch verstärkt, schlug aber auch wieder bei höherer Konzentration in einen prooxydativen Effekt um.

Die entsprechenden Diagramme der Versuche mit Histidin (Fig. 7) zeigen in Abwesenheit von Tocopherol bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol. Konzentration einen antioxydativen Effekt. Bei $2 \cdot 10^{-2}$ mol. Konzentration war die Wirkung ausgeprägt prooxydativ. In Anwesenheit von Tocopherol ergab sich im $2 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-3}$ mol. Bereich - stärker ausgeprägt als im Falle des Alanins - eine synergistisch antioxydative Wirkung. Wiederum war bei $2 \cdot 10^{-3}$ mol. Konzentration die Wirkung stark prooxydativ.

Ein anderes Bild ergab sich hingegen mit Cystein (Fig. 8): Hier war die Wirkung in Abwesenheit von Tocopherol schon bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol. Konzentration prooxydativ. Bei dieser Konzentration zeigte sich in Anwesenheit von Tocopherol ein verhältnismässig schwach ausgeprägter antioxydativer Effekt, der schon bei $2 \cdot 10^{-3}$ mol. Konzentration in eine stark prooxydative Wirkung überging. Man kann vielleicht aus diesen Resultaten als Hypothese den Schluss ziehen, dass es sich bei dem unterschiedlichen Verhalten von z.B. Cystein und Histidin bei der Oxydation von Heringsöl nicht um einen qualitativen sondern einen quantitativen Unterschied handelt. Gemäss dieser Hypothese ist die Frage, ob der Effekt pro- oder antioxydativ sein wird, von der Konzentration abhängig, und sind die betreffenden Konzentrationsintervalle bei diesen beiden Aminosäuren verschieden.

Metallspuren und dergleichen Prooxydationen können bekanntlich - und wie bereits erwähnt - bei der sog. Autoxydation eine ausschlaggebende Rolle spielen. Da die Kontrolle dieses Faktors in Systemen wie den oben geschilderten schwierig ist, haben wir in einer dritten Versuchsserie mit einem System mit definiertem Katalysatorgehalt gearbeitet. Als Katalysator benutzten wir hierbei Hämoglobin, da die häminkatalysierte Linolsäureoxydation als eine der wichtigsten Formen des Fettverderbs in Lebensmitteln anzusehen ist (9).

Der Verlauf der häminkatalysierten Linolsäureoxydation ist von dem der beiden oben beschriebenen Oxydationstypen (Heringsöl-Oxydation und Linolsäure-Autoxydation) sehr verschieden, indem in diesem Falle eine markante Induktion auftreten kann, deren Länge sehr empfindlich vom Tocopherolgehalt abhängt (Fig. 9). Die Versuche mit diesem System ergaben vorerst schwer mit dem oben Geschilderten zu vereinbarende Resultate. Hinsichtlich der beiden uns hier am meisten interessierenden Aminosäuren - Histidin und Cystein - ergab sich folgendes:

Bei Zusatz von Histidin wurde einerseits diese Induktion verkürzt, andererseits die Geschwindigkeit der nach Ablauf der Induktion einsetzenden O_2 -Aufnahme etwas herabgesetzt (Fig. 10). Cystein hingegen hemmte unter diesen Umständen bereits in sehr geringer Konzentration die O_2 -Aufnahme sehr stark (Fig. 11). Diese Cysteinwirkung war unabhängig von der Anwesenheit von Tocopherol.

Zusammenfassend haben diese Untersuchungen also gezeigt, dass Aminosäuren in Emulsionen von Heringsöl einen antioxydativen Effekt haben können, der bei den verschiedenen Aminosäuren verschieden **stark** ausgeprägt ist, besonders stark bei Histidin. Cystein wirkte **prooxydativ**.

Hinsichtlich der Einwirkung von Aminosäuren auf die Autoxydation von Linolsäure (bezw. Linoleat) ergab sich, abhängig von der Konzentration, entweder eine anti- oder eine prooxydative Wirkung, die bei Gegenwart von Tocopherol synergistisch verstärkt sein konnte. Die einzelnen untersuchten Aminosäuren verhielten sich jedoch verschieden: Bei Alanin und - noch stärker - bei Histidin war die Neigung zu anti-oxydativer bzw. synergistisch-antioxydativer Wirkung deutlich, bei Cystein hingegen nur undeutlich wahrzunehmen. Im letzteren Fall war vielmehr der prooxydative Effekt vorherrschend.

Versuche hinsichtlich der Einwirkung auf die häminkatalysierte Linolsäureoxydation ergaben einen andersartigen Verlauf der O_2 -Aufnahme - d.h. eine stark ausgeprägte Induktion - und von den obigen Feststellungen abweichende Aminosäureeffekte: Bei Histidin eine Verkürzung der Induktion, bei Cystein eine starke Hemmung der O_2 -Aufnahme.

Die mitgeteilten Ergebnisse erlauben noch keine definitiven Schlusssätze hinsichtlich der Prinzipien, die der Wirkung einzelner Aminosäuren auf die Fettoxydation zugrunde liegen.

Sie zeigen jedoch,

dass es sich hierbei um einen reich facettierten Problemkomplex handelt,

dass es ungenügend - wenn nicht direkt unzulässig - ist, in diesem Zusammenhang von "Aminosäuren" als Gruppe schlechthin zu sprechen, und

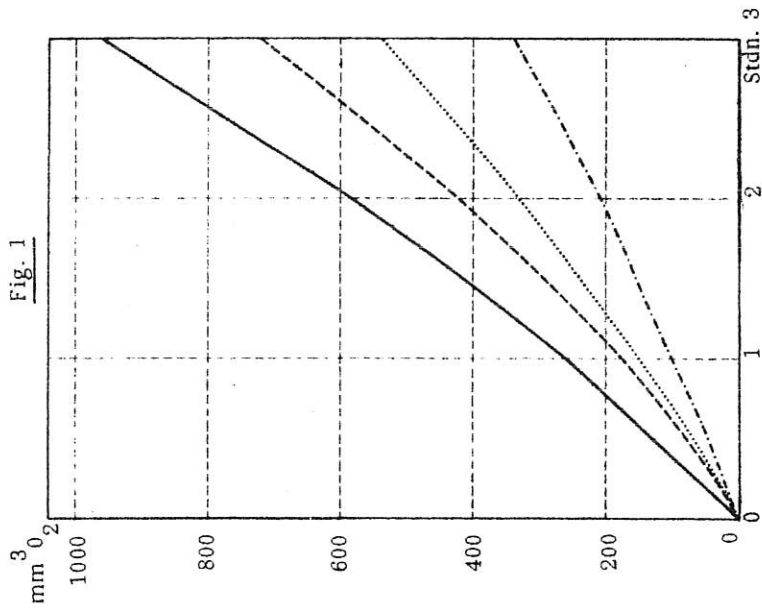
dass schliesslich die Wirkung von den Gegebenheiten des Milieus, insbesondere des Substrats, stark abhängig ist.

Für die Ausführung der Versuche sei Ing. Kerstin Carlsson auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Literatur:

1. Biological Antioxidants,
Transactions of Conferences 1946-1950,
Josiah Macy, Jr. Foundation.
2. R.W. Riemenschneider u. J. Turer U.S. Pat. 2 440 383 (1948)
(Ref. C.A. 42(1948) 5694),
L.A. Hall U.S. Pat. 2 518 233 (Ref. J. Am. Oil Chem. Soc.
(1950) 577, C.A. 44(1950) 10210),
W.O. Lundberg, U.S. Pat. 2 523 127 (1950) (Ref. J. Am. Oil
Chem. Soc. (1950) 577, C.A. 44(1950) 10959).
3. C. Golumbic,
Kinetic studies on the antioxydanic synergism between toco-
pherol and ascorbic acid.
Biological Antioxidants (1946) 42-48.
4. A. Issidorides,
The antioxygenic synergism of various acids with tocopherol,
J. Am. Chem. Soc. (1951) 5146.
5. P. Desnuelle,
The general chemistry of amino acids and peptides
The proteins. Academic Press Inc. New York (1953) 116-8.
6. W. Heimann, M. Matz, B. Grünewald u. H. Holland,
Über die synergistische Wirkung von α -Alanin bei der Hemmung
der Fettoxydation durch phenolische Antioxydantien,
Zeitschrift für Lebensmittelunters. 102(1955) 1-6.
7. E. Jannesson u. R. Marcuse,
Über ein synergistisch-antioxydatives System im Hering,
Olii Minerali, Grassi (1957):1, 15 p.
8. J. Janicki u. M. Gogolewski,
Synergistische Wirkung von α -Aminosäuren auf die anti-
oxydativen Eigenschaften des α -Tocopherols.
Przemysł Spożywczy 12(1958) 417-20.
9. V.P. Maier, A.L. Tappel,
Rate studies of unsaturated fatty acid oxidation by hematin
compounds.
J. Am. Oil Chem. Soc. 36(1959) 8.

Fig. 1



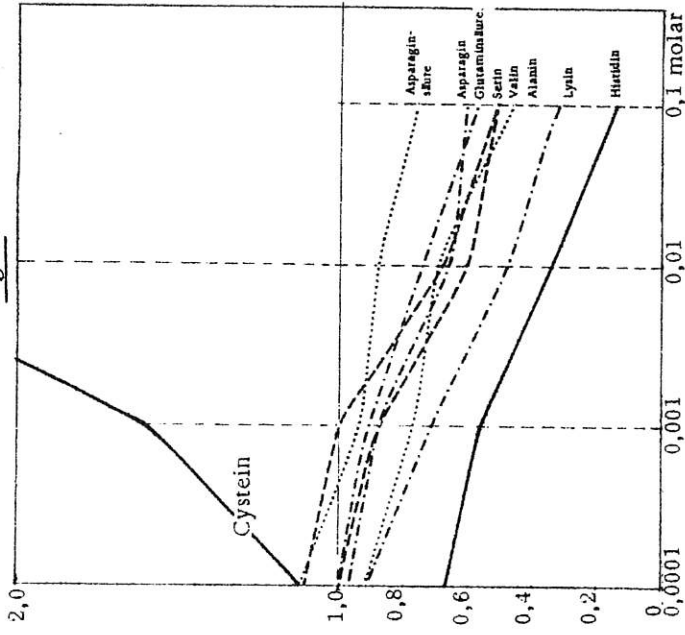
O_2 -Aufnahme von Heringsolemulsion

3 ml, 33% Heringöl, 1% Tween 20, 35°

- = ohne Zusatz von Lysin
- - - = Zusatz von 0,001 mol. Lysin
- = Zusatz von 0,01 mol. Lysin
- · - · = Zusatz von 0,1 mol. Lysin

(bezogen auf die wässrige Phase)

Fig. 2



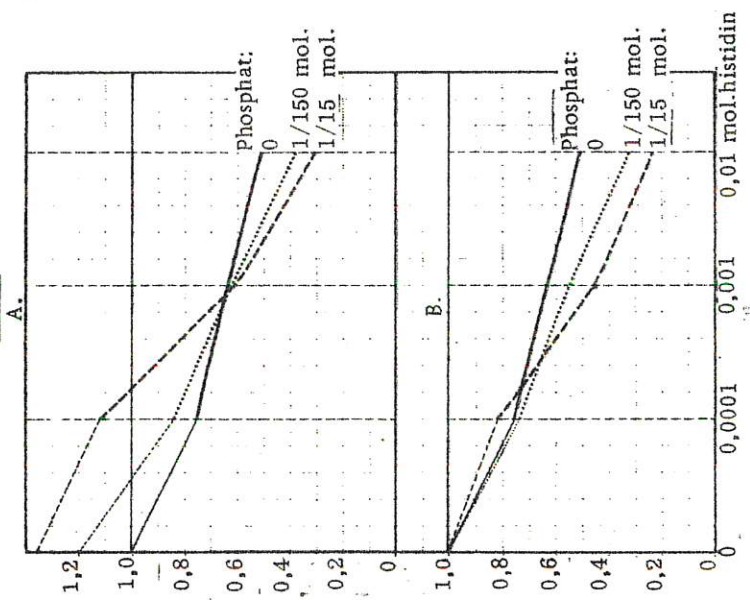
O_2 -Aufnahme von Heringsolemulsion

bei Zusatz verschiedener Aminosäuren

Relative Werte, bezogen auf die O_2 -Aufnahme ohne Zusatz von Aminosäure.
3 ml, 33% Heringöl, 1% Tween 20, 35°, 3 Stdn.

Konzentration der Aminosäuren bezogen auf die wässrige Phase

Fig. 3.



0₂-Aufnahme von HeringsolemulSION

bei Zusatz von Phosphat und Histidin.

Relative Werte, bezogen auf 0₂-Aufnahme

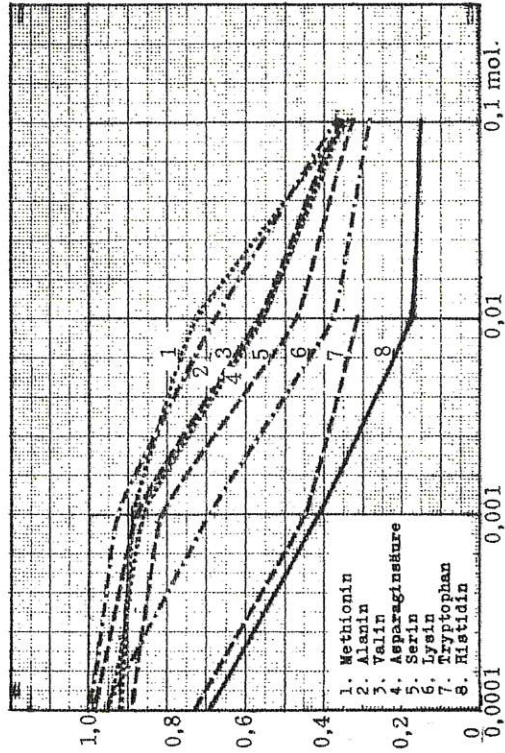
A) ohne Zusatz von Phosphat und Histidin (=absolute Nullprobe),

B) ohne Histidin, mit Phosphat (=relative Nullprobe).

3 ml, 33% Heringöl, 1% Tween 20, 35°, 3 Stdn.

Phosphatpuffer pH 5,6.

Fig. 4.



0₂-Aufnahme von HeringsolemulSION

bei Zusatz verschiedener Aminosäuren.

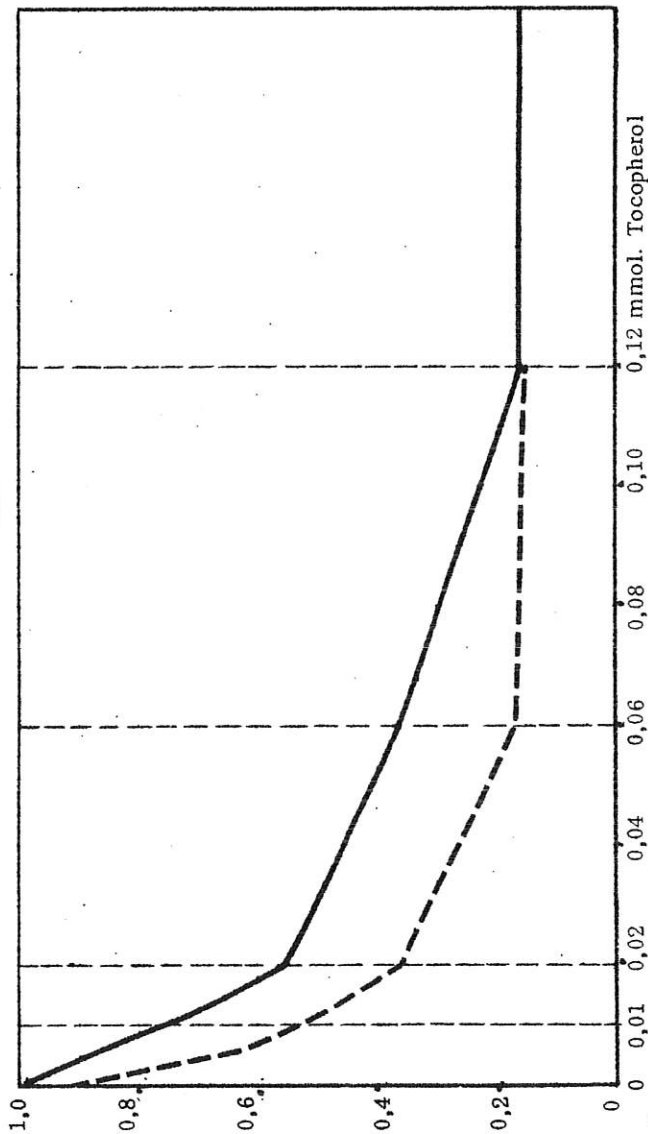
Phosphatpuffer pH 5,6, 1/150 mol.

Relative Werte, bezogen auf die 0₂-Aufnahme ohne Zusatz v. Aminosäure.

Konzentrationen bezogen auf wässrige Phase.

4 ml, 33% Heringöl, 1% Tween 20, 35°, 3 Stdn.

Fig. 5

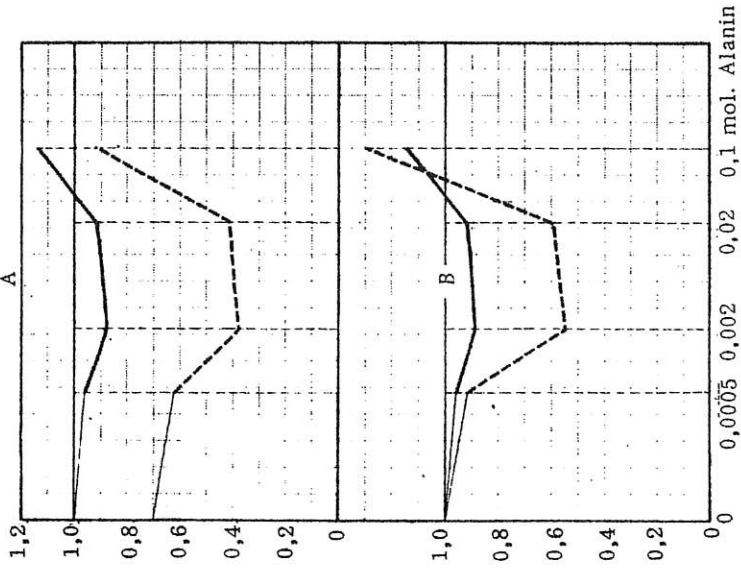


O₂-Aufnahme bei der Linolsäure-Oxydation
bei Zusatz von Tocopherol und Alanin.

Relative Werte, bezogen auf die O₂-Aufnahme ohne Zusatz von Tocopherol und Alanin.
1 ml 5% K-Linoleat, pH 7,5, 30^o, 18 Stdn. (Konzentrationen bezogen auf die Gesamtprobe)

———— = ohne Zusatz von Alanin,
- - - - - = mit Zusatz von 0,002 mol. Alanin.

Fig. 6.
A



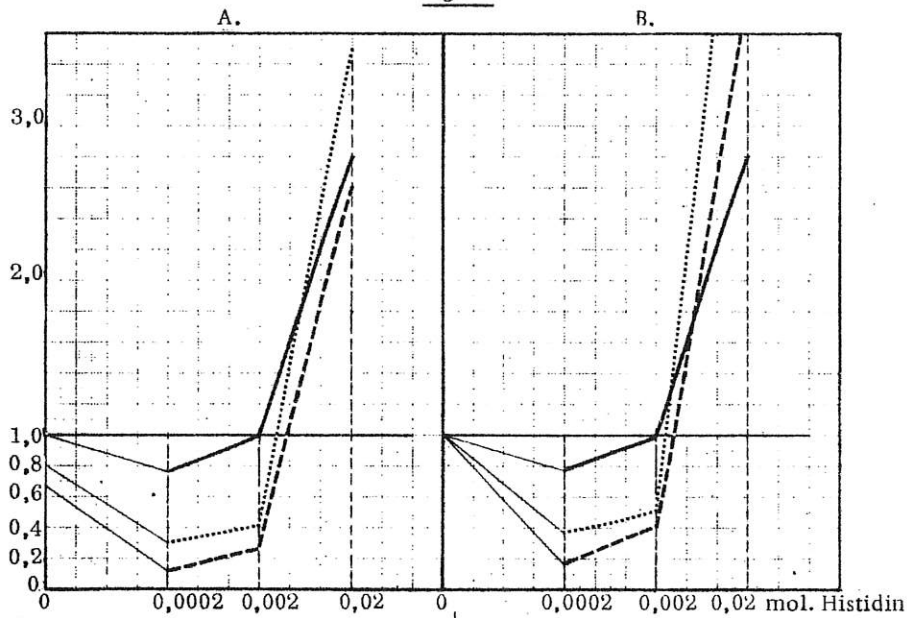
O₂-Aufnahme bei der Linolsäure-Oxydation
bei Zusatz von Alanin und Tocopherol.

Relative Werte, bezogen auf die O₂-Aufnahme

A) ohne Zusatz von Alanin und Tocopherol (=absolute Nullprobe),
B) ohne Alanin, mit Tocopherol (=relative Nullprobe).
1 ml 5% K-Linoleat, pH 7,5, 30^o, 18 Stdn.

———— = ohne Zusatz von Tocopherol
- - - - - = mit 0,003 mmol. Tocopherol.

Fig. 7.



O_2 -Aufnahme bei der Linolsäure-Oxydation

bei Zusatz von Histidin und Tocopherol.

Relative Werte, bezogen auf die O_2 -Aufnahme

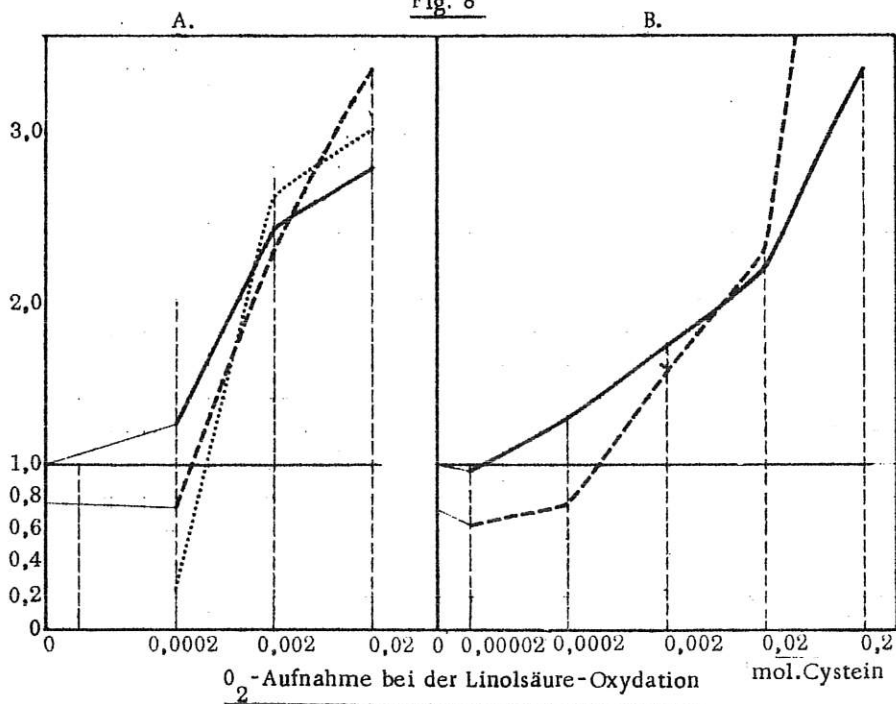
A) ohne Zusatz von Histidin und Tocopherol,

B) ohne Histidin, mit Tocopherol.

1 ml 5% K-Linoleat, pH 7,5, 30°, 18 Stdn.

— = ohne Zusatz von Tocopherol,
 = mit 0,0015 mmol. Tocopherol,
 - - - - = mit 0,003 mmol. Tocopherol.

Fig. 8



O_2 -Aufnahme bei der Linolsäure-Oxydation

bei Zusatz von Cystein und Tocopherol.

Relative Werte, bezogen auf die O_2 -Aufnahme ohne Zusatz von Cystein und Tocopherol.

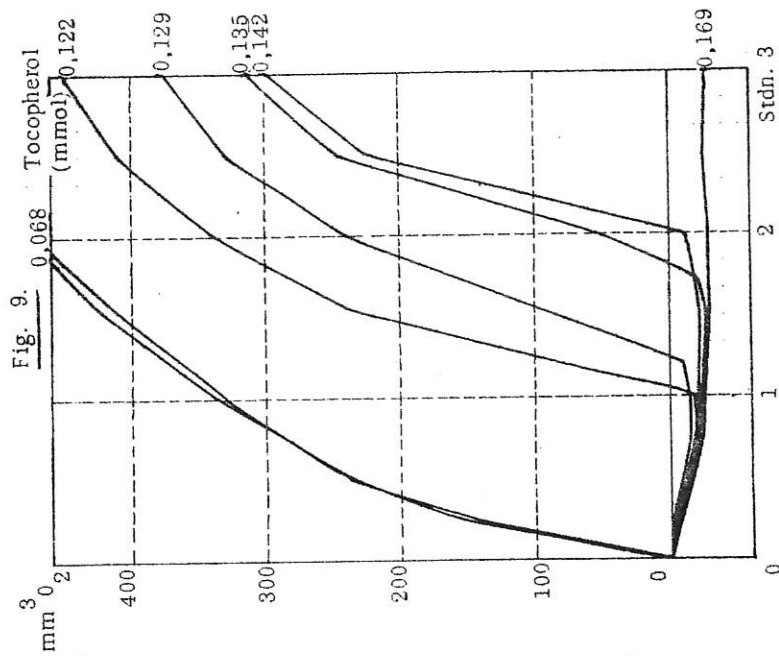
A) Ergebnisse eines Versuches,

B) Mittelwerte der Ergebnisse von 5 Versuchen.

1 ml 5% K-Linoleat, pH 7,5, 30°, A) 6 Stdn. B) versch. Zeiten.

A) — = 0 Tocopherol
 = 0,0015 mmol. Tocopherol
 - - - - = 0,003 mmol. Tocopherol

B) — = 0 Tocopherol
 - - - - = versch. Tocopherol-Konzentrationen



O₂ - Aufnahme bei der häminkatalysierten Linolensäure-

Oxydation bei Zusatz von α - Tocopherol

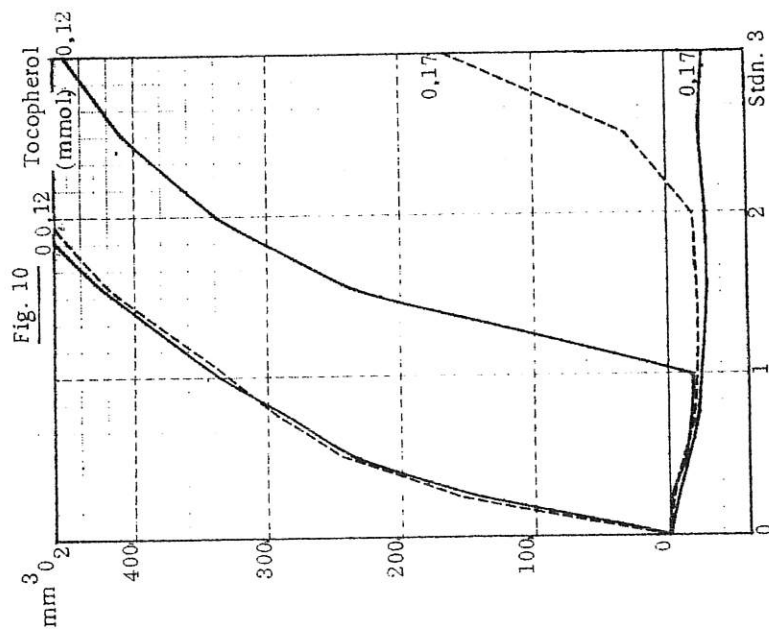
4 ml ca. 0,05 mol. NH₄ - Linoleat, 0,1 mol. Phosphat-
puffer, 0,3 ml 0,2% Hämoglobin/Ansatz.

Tocopherolkonzentration: 0,68 - 1,69 mmol.

pH 7,5, 25°, 3 Stdn.

———— = ohne Histidin,

----- = mit Histidin.



O₂ - Aufnahme bei der häminkatalysierten Linolensäure-

Oxydation bei Zusatz von α - Tocopherol u. Histidin.

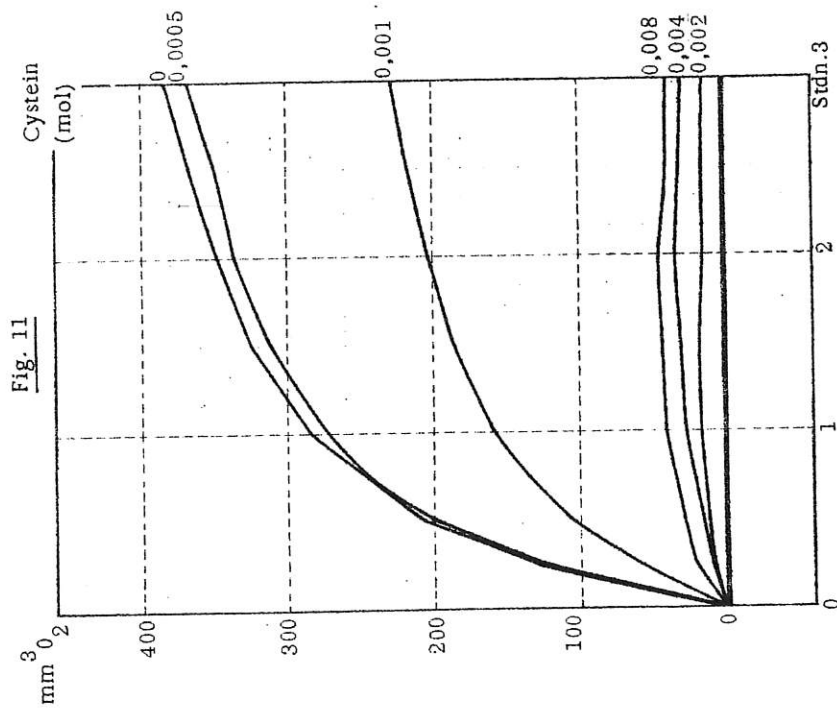
4 ml ca. 0,05 mol. NH₄ - Linoleat, 0,1 mol. Phosphat
puffer, 0,3 ml 0,2% Hämoglobin/Ansatz.

0,12 u. 0,17 mmol. Tocopherol, 0,01 mol, Histidin,

pH 7,5, 25°, 3 Stdn.

———— = ohne Histidin,

----- = mit Histidin.



O₂ - Aufnahme bei der häminkatalysierten Linolensäure-

Oxydation bei Zusatz von Cystein.

4 ml ca. 0,05 mol. NH₄ - Linoleat, 0,1 mol. Phosphat-
puffer, 0,3 ml 0,2% Hämoglobin/Ansatz.

0,0005 - 0,008 mol. Cystein.

pH 7,5, 25°, 3 Stdn.