

## 含窒素系天然抗酸化物質について

山口直彦\*

油脂や油脂食品を保存すると空気中の酸素によって酸化されて風味が悪くなり著しく商品価値を低下させることがある。さらに、この酸化が進むと有毒な物質を生じることから厚生省では油脂食品の酸化の程度をチェックする方向にあるようである。このような酸化から油脂食品を保護する方法の1つとして抗酸化物質の使用がある。現在、抗酸化物質には食品添加物として許可されているBHA, BHTのような合成物と、トコフェロールのように広く天然に存在するものがある。しかし、消費者の保護の立場から、包装食品においては別表第5<sup>1)</sup>にかかげられる合成食品添加物の使用は表示することが義務づけられるようになったため、業界ではその使用を制限せざるをえない現況にある。いっぽう、合成抗酸化物質に代る天然抗酸化物質の研究も活発に行なわれているが、効力、コストなどの面からBHA, BHTに匹敵するような物質は発見されていない。私は天然抗酸化物質の研究を行っているが、研究の対象とした天然物は私達の身近な食品に豊富に含まれている物質であり、たとえばアミノ化合物、メラノイジン及びトコフェロールなどである。このような物質は合成抗酸化物質に比較して単位重量当りでの効力は劣るが、その使用量の規制はないため食品の商品価値に悪影響を及ぼさない限り用いることができる長所もある。さらに、これら物質を適当に2種以上組み合わせることによって著しく相乗性を発揮し、食品中の油脂の酸化安定性が向上した。フェノール系天然抗酸化物質については益山<sup>2)</sup>のすぐれた総説があるので、今回は含窒素系抗酸化物質で私達が日常接する多くの食品に豊富に含まれるアミノ酸、ペプチド、たん白質及び還元糖とアミノ酸とのかっ変反応物(メラノイジン)ならびに天然抗酸化物質の中心的な存在であるトコフェロールとの相乗性についてまとめてみた。

### 1. アミノ酸

アミノ酸の抗酸化力に関する報告は比較的多くあるが、アミノ酸の油脂に対する溶解度が非常に小さいため、その抗酸化力の測定方法は研究者によって工夫され、いろいろの方法が用いられている。しかし、その実験方法

は大きく分けて4つになる。①アミノ酸、不飽和脂肪酸を40%程度のエタノールに溶解する。この溶液はアミノ酸及び脂肪酸ともに完全に溶解しているのを溶液系<sup>3)4)5)6)7)8)9)10)</sup>とする。②非水系であって、アミノ酸を少量の水などに溶解後、油脂に添加、AOM法によって抗酸化力を測定する方法<sup>11)12)</sup>である。③エマルジョン系である。この系は不飽和脂肪酸のメチルエステルを基質とし、乳化剤を添加、エマルジョン状態でアミノ酸の抗酸化力を測定する<sup>13)14)</sup>。④乾燥系では、油脂及びアミノ酸を不活性基材であるセライト、セルローズなどと混合、乳化後、凍結乾燥し脱水状態で測定する<sup>15)16)17)</sup>。

次に、これら4つの方法で測定されたそれぞれのデータを紹介しよう。

まず溶液系においては、S. Matsushitaら<sup>3)</sup>は生体成分及び生理活性物質のリノール酸に対する抗酸化力を試験している。測定した21種類のアミノ酸のなかで、特に効力の強いアミノ酸としてチロシン、トリプトファン、ヒスチジン及びシステインなどをあげている。山口<sup>4)</sup>は19種のアミノ酸をエタノールと緩衝液との混合液に添加し、リノール酸の酸化安定性に及ぼす影響を試験した。その結果、チロシン、メチオニン及びトリプトファンなどに比較的強い抗酸化力を認め、その際メチオニンはリノール酸の自動酸化の進行にともなってメチオニン・スルホキサイドに酸化された。なおメチオニンの酸化物であるメチオニン・スルホキサイド及びメチオニン・スルホン<sup>5)</sup>は抗酸化力を示さなかった。名武ら<sup>6)7)</sup>もメチオニンなどの著しい抗酸化力を認めるとともに、メチオニンの抗酸化機構としてROO<sup>•</sup>がメチルメルカプト基の-S-を介して電荷移動型化合物を形成した後、電子をうばって-O-O-結合を開裂せしめてメチオニン・スルホキサイドを与え、みずからは不活性安定化合物になることによって自動酸化の連鎖反応を停止するとしている。渡辺ら<sup>8)</sup>も第1表に示すように17種のアミノ酸の抗酸化力を測定している。2×10<sup>-5</sup>Mの添加ではヒスチジンが特にすぐれ、スレオニン、トリプトファン、アルギニン及びメチオニンに比較的強い抗酸化力が認められた。また、アミノ酸の添加濃度を2×10<sup>-4</sup>Mにすると、すべてのア

\* 愛知県食品工業試験所

## 含窒素系天然抗酸化物質について

第1表 リノール酸の自動酸化に対するアミノ酸の抗酸化力

アミノ酸	POV ratio*	
	2×10 <sup>-5</sup> M	2×10 <sup>-4</sup> M
Control	100	100
Ala	82	51
Arg	68	35
Asp	73	41
Glu	75	67
Gly	78	52
His	15	12
Hypro	77	28
Ileu	81	47
Leu	79	47
Lys	85	41
Met	70	27
Phe	80	45
Pro	88	84
Ser	75	48
Thr	68	23
Try	67	33
Val	92	45

反応液は37°C, 2日間放置した。

$$* \text{POV ratio} = \frac{\text{Amino Acid POV}}{\text{Control POV}} \times 100$$

ミノ酸において、その効力は非常に増強されたが、なかでもヒスチジン、スレオニン、メチオニン、ヒドロキシプロリン、トリプトファン及びアルギニンでその効果は著しい。満田ら<sup>9)</sup>も同様にリノール酸の溶液系を用いてトリプトファン、5-ヒドロキシトリプトファンなどのインドール化合物及び芳香族アミノ酸の抗酸化力を試験している。測定した化合物のなかでは5-ヒドロキシトリプトファンが最も抗酸化力が強く、トリプトファンはリノール酸の自動酸化中にC<sub>2</sub>とC<sub>3</sub>の間で開環をうけるか、C<sub>8</sub>の位置に水酸基が入ると報じている。小嶋ら<sup>10)</sup>はリノレン酸ナトリウムの水溶液を用いて含硫アミノ酸及びその誘導体の抗酸化力を測定している。システイン誘導体では、メチルエステル及びエチルエステルがシステインよりすぐれた抗酸化力を示し、メチオニンでは、メチル、エチル、iso-プロピル及びn-ブチルエステルに、いずれもメチオニンより強い抗酸化力が認められた。

次いで非水系での実験結果を示す。湯木ら<sup>11)</sup>は15種のアミノ酸を豚脂に添加しAOM法によって抗酸化力を測定しているが、いずれのアミノ酸にも効力は認められなかった。同様に渡辺ら<sup>8)</sup>も蒸溜水にアミノ酸を溶解した後、豚脂に添加し、AOM法によって抗酸化力を測定した結果、トリプトファン、メチオニン、フェニールアラニン、バリン及びロイシンなどが比較的強い効力を示した。

エマルジョン系でのアミノ酸の抗酸化力に関しては、R. Marcuse<sup>12)</sup>はニシン油、Tween 20 及び燐酸緩衝液の

エマルジョン系を用いて11種のアミノ酸の抗酸化力を測定し10種のアミノ酸に効力を認めている。なかでもヒスチジン、トリプトファン及びリジンなどが強い抗酸化力を示したが、システインには酸化促進作用が認められた。松下ら<sup>14)</sup>はリノール酸メチルを用いてのエマルジョン系で47種類のアミノ酸、ペプチド及びそれらの関連物質の抗酸化力を試験している。この系においてはドーパを除いて、いずれのアミノ酸、ペプチドとも効力を示していないが、リノール酸を用いた溶液系では、牛血清アルブミン、カルノシン、システイン、グルタチオン、Gly-Gly、インドール醋酸、Leu-Gly、トリプタミン、トリプトファンに抗酸化力が認められた。

乾燥系でのアミノ酸の抗酸化力については、M. Karelら<sup>15)</sup>はリノール酸メチル、セルロース及びアミノ酸の混合液を凍結乾燥後、37°Cに放置し、酸素吸収法などで、その効力を測定している。β-アミノ酪酸、ε-アミノ-n-カプロン酸、ヒスチジン、リジン及びシステインなどに抗酸化力が認められた。後藤ら<sup>16)</sup>はセライトを基材とした乾燥系でリノール酸に対するグリシン及びグルタミン酸ナトリウムの添加量と抗酸化力との関係を試験している。両アミノ酸とも0.1~10%の範囲では添加量の増加とともに抗酸化力は増大した。満田ら<sup>17)</sup>は粉乳中の遊離アミノ酸を定量し、正常粉乳に比較して酸化臭の認められる不良粉乳の遊離アミノ酸量は少なく、生乳及び全脂粉乳の品質保持に対してトリプトファン、ヒスチジン、トリプタミン及びチロシンが顕著な効果を示している。

以上4つの実験方法によつてのアミノ酸の抗酸化力をまとめてみた。水溶性の抗酸化物質であるアミノ酸は溶液系及び乾燥系では脂質との接触が十分に行なわれているためか、各アミノ酸とも抗酸化力を示し、各研究者のデータも一致している傾向にあるが、エマルジョン系及び非水系においては、用いる乳化剤、緩衝液及びその濃度、pH さらに非水系においてはアミノ酸の添加方法、添加されたアミノ酸の脂質中における分散状態などによつて結果は大きく影響されるようである。このような理由から抗酸化力の強いアミノ酸は必ずしも一致してないが、全体的にながめると芳香族のアミノ酸であるトリプトファン、チロシン、ヒスチジン及び含硫アミノ酸であるメチオニンの4者の効力が大きいように思われる。

また、アミノ酸はラジカル・インヒビター的な抗酸化物質と相乗性を示す特徴をもっている。Clausen, D. E.ら<sup>12)</sup>はアミノ酸とトコフェロール、ヒドロキノン及びNDGAとの相乗性をAOM法で試験し、アミノ酸の相乗性の強いものからA~Eの5つに順位づけをしている。第2表に示すようにメチオニン、トリプトファン及びフ

第2表 アミノ酸のフェノール系抗酸化物質に対する相乗性の比較

順位	α-トコフェロール	ヒドロキノン	NDGA
A		Met	
B	Met	Try	Met
C	Thr, Leu, Nva, Phe, Cys,	Leu, Pro, Phe, Cys, Ala, Glu, Val, Asn, Arg, His, Nle,	Phe, Leu, Try, Ala, Nle, Nva,
D	Try, Ile, Pro, Ala, Asn, Arg, Val, Glu, His,	Thr, Ile,	Thr, Ile, Pro, Glu, Cys, Cys-Cys, Arg, His, Ser, Asn,
E	Ser, Lys, Nle, Asp, Ty,	Ser, Lys, Cys-Cys, Ty,	Ty, Lys,

ε-ニールアラニンなどに強い相乗性が認められた。H.S. Olcott<sup>18)</sup>は第1級アミンとしてオクタデシルアミン、第2級アミンとしてプロリン、第3級アミンとしてトリイソオクチルアミンを用いてトコフェロールなどの抗酸化物質と相乗性を試験している。α-トコフェロールとはトリイソオクチルアミンのみが相乗性を示すが、γ-トコフェロールと3者のアミンとの間には著しい相乗性が認められた。湯木ら<sup>14)</sup>は豚脂を用いAOM法によってアミノ酸及びそのエステルと天然トコフェロールミックスとの相乗性を測定し、アミノ酸、そのエステルとも単独では抗酸化力は認められないが、トコフェロールと共存すると、いずれの場合とも抗酸化力が増大し、相乗性がみられた。また、渡辺ら<sup>8)</sup>もリノール酸を用いてα-トコフェロールと17種のアミノ酸との相乗性を試験し、すべてのアミノ酸に相乗効果を認めており、特に、抗酸化力の強いアミノ酸であるヒスチジン、スレオニン、メチオニン及びトリプトファンとの相乗性が強いと報じている。

## 2. ペプチド

アミノ酸及びたんぱく質の抗酸化力についての報告が非常に多いのに対し、アミノ酸とたんぱく質の中間に位置するペプチドの効力については比較的少ない。

千畑ら<sup>19)</sup>はトリプトファンを構成成分とするジペプチドの抗酸化力をリノレン酸メチル-リン酸緩衝液系で試験している。その結果、これらのペプチドは、ペプチド構成アミノ酸区より、いずれも抗酸化力が強く、またトリプトファン残基がN末端に位置する方が、C末端にあるよりも強い抗酸化力が認められた。Kirimura, J.ら<sup>20)</sup>は4種類のジペプチドの抗酸化力を大豆油を用いてAOM法

第3表 N末端をアラニンとするジペプチドとそれを構成するアミノ酸との抗酸化力の比較(誘導期間=日数)

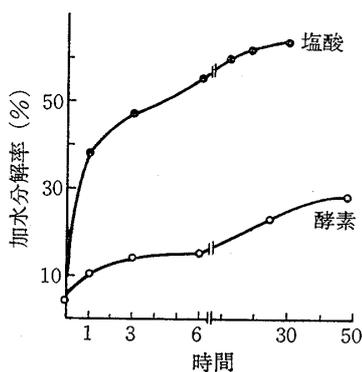
アミノ酸	誘導期間	ジペプチド	誘導期間
対照	16		
Ala+Gly	54	Ala-Gly	59
Ala+His	71	Ala-His	144
Ala+Ileu	45	Ala-Ileu	69
Ala+Ala	47	Ala-Ala	57
Ala+Met	60	Ala-Met	136
Ala+Phe	42	Ala-Phe	48
Ala+Ty	62	Ala-Ty	110
Ala+Val	43	Ala-Val	65
Ala+Try	60	Ala-Try	96

で試験し Gly-Leu などが比較的強い効力を示したと報じている。

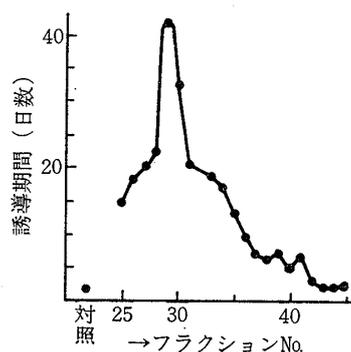
山口ら<sup>21)</sup>はアミノ酸の抗酸化力の測定の際、著しい効力の認められたメチオニン、トリプトファン、チロニン及びヒスチジンを構成成分とするジペプチドを中心にリノール酸に対する抗酸化力を系統的に実験している。第3表に示すようにアラニンをN末端とした9種のジペプチドとペプチド構成アミノ酸との抗酸化力の比較では、いずれのペプチドともアミノ酸区より抗酸化力は増大したが、なかでも Ala-His, Ala-Met, Ala-Ty 及び Ala-Try の効力は著しく増加した。また、ジペプチド中におけるメチオニン、ヒスチジン、チロニン及びトリプトファンの位置による抗酸化力の変化を測定した結果、メチオニン及びヒスチジンはC末端にある方が抗酸化力は大きく、逆にチロニン及びトリプトファンはN末端に位置する方が効力は大きかった。しかしながら、ヒスチジンがN末端にあるジペプチド、また Met-Pro などでは、いずれもペプチド構成アミノ酸区より抗酸化力は劣った。

以上のようにアミノ酸に比較して若干の例外はあるが、ジペプチドの方が著しく抗酸化力は強い。このような結果からアミノ酸がさらに結合したトリペプチド、テトラペプチドなどのポリペプチドの抗酸化力がどのようなものであるか興味もたれる。しかし、そのようなペプチドは1,2のものを除いては市販されておらず、また市販されていても非常に高価であるためか、ジペプチドからたんぱく質に至るポリペプチドの抗酸化力に関しては、ほとんど知られていない。山口ら<sup>22)</sup>は合成ポリペプチドに代えて大豆たんぱく質を塩酸及び酵素によって部分的に加水分解し、分解物の抗酸化力の比較ならびにセファディクス G-25→G-50 による分画を行ない、分画物の抗酸化力を測定した。大豆たんぱく質の塩酸及び酵素処理中における加水分解率(アミノ態窒素/全窒素)の変化を第1図に示す。塩酸分解に比較して酵素処理区の加水分

含窒素系天然抗酸化物質について

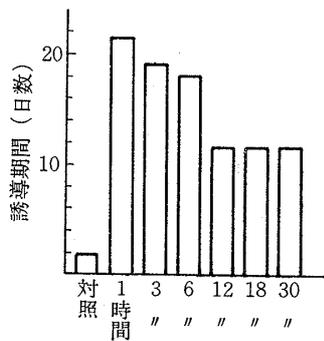


第1図 塩酸及び酵素による大豆たんぱく質の加水分解

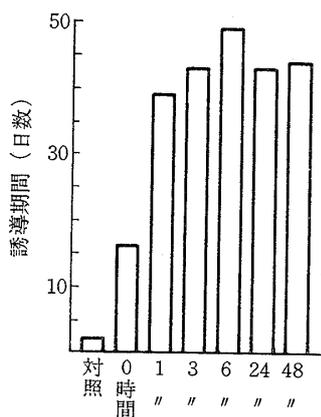


第4図 大豆たんぱく質加水分解物のセファデックス G-25 による分画物の 280nm O.D. 当りでの抗酸化力の比較

解率は著しく低い。これら加水分解物のリノール酸に対する抗酸化力を溶液系で測定し、第2,3図に示した。塩酸分解物では1時間処理区(分解率38%)が最も抗酸化力が強く、加水分解時間が12時間(分解率60%)までは時間とともに効力は減少した。いっぽう、酵素分解物の



第2図 大豆たんぱく質の塩酸による加水分解物の抗酸化力の比較



第3図 大豆たんぱく質の酵素による加水分解物の抗酸化力の比較

減少し、アミノ酸区分であるフラクション No. 38, 39 の効力は弱い。最高の抗酸化力を示したフラクション No. 29 の分子量は 2,500~3,000 と推定している。

基質であるたんぱく質の種類によってペプチドの抗酸化力が影響をうけるかどうかを知るために9種類のたん

ぱく質を塩酸によって加水分解して分解物の抗酸化力を比較した<sup>23)</sup>。その結果ゼラチン、ウール、絹フィブロインのような繊維たんぱく質の加水分解物の抗酸化力は弱く、いっぽう、ミルクカゼイン、トウモロコシのツェイン、小麦のグルテン及び卵白アルブミンなどの加水分解物には強い効力が認められた。このように基質であるたんぱく質によって影響をうけることから、たんぱく質のアミノ酸がペプチドの抗酸化力に大きな作用を及ぼしているものと考えられる。

アミノ酸と同様にペプチドもトコフェロールなどと著しい相乗性を示す<sup>21)22)23)</sup>。アミノ酸とジペプチドとの d- $\delta$ -トコフェロールに対する相乗性の比較試験において、ジペプチドの相乗効果はアミノ酸と類似していたが、プライマリー・アンチオキシダントとしての効力はジペプチドの方が著しく強いため、誘導期間そのものはアミノ酸区に比べて顕著に延長された。また、大豆たんぱく質の加水分解物と d- $\delta$ -トコフェロールとの相乗性は、プライマリー・アンチオキシダントとして至適分解率を示す画分より若干高い分解率の画分との間で最も強く認められた。S. J. Bishov ら<sup>24)25)</sup> もたんぱく質の加水分解物と各種フェノール系抗酸化物質との相乗性を試験しており、加水分解物がトコフェロール、BHA などと著しい相乗性を示している。

3. たんぱく質

アミノ酸及びペプチドが上記したように著しい抗酸化力を示すことから、たんぱく質も食品中の油脂の酸化安定性に対して寄与していることが予想される。Kline, L. ら<sup>26)</sup> は乾燥卵粉末の製造の際シヨ糖を添加すると卵の脂質の酸化が促進され、特に10%以上のシヨ糖を加えることによって著しくなる。シヨ糖の添加によって乾燥卵粉末中の脂質の酸化促進は、抗酸化的に作用する卵のたんぱく質がシヨ糖によって希釈されるためであるとしている。吉松<sup>27)</sup> は揚げ油に対する揚げ種の影響を試験し、炭

水化物系の揚げ種馬鈴薯とたんぱく系の卵白豆腐について比較した。フライ後の揚げ油の TBA 値、酸価とも馬鈴薯区の方が大きいことを報じている。湯木ら<sup>28)</sup>は食品構成素材としての各種のたんぱく質及び炭水化物に豚脂をまぶして豚脂の安定性に対する、これら素材の影響を試験した。その結果、炭水化物系に比較して、たんぱく質系にまぶした豚脂は著しく安定であり、特に凍結乾燥した脱脂カレイ肉及び脱脂豚肉に顕著な効力を認めている。S. J. Bishov ら<sup>29)</sup>もたんぱく質の抗酸化作用を測定した。すなわち、馬鈴薯でん粉、アミロース、CMC、卵白、オボアルブミン及びゼラチンを分散材とし、大豆油を添加後、乳化脱水したモデル乾燥食品について、これら分散材の大豆油に対する影響を試験した結果、炭水化物系に比較して、たんぱく質系においては大豆油は著しく安定であり、たんぱく質の抗酸化作用を認めている。また、新原ら<sup>30)</sup>は手延素麺製造中の厄現象を研究したなかで、アマニ油に対してグルテン及びでん粉を 2:8 の割合で混合した後、30°C に放置した場合、RH 47~92% の範囲内ではグルテン区の方が著しく過酸化価は低い、RH 1, 11% の両区では、でん粉の方が逆に過酸化価は低いと記している。さらに、兼松ら<sup>31)</sup>はマーガリンの酸化安定性には乳成分が強く関与し、乳成分中のたんぱく質の抗酸化力を強調している。

しかしながら、これらの結果とは逆に、たんぱく質が油脂の酸化を促進するという報文もみられる。S. Yukami<sup>32)</sup>は牛血清アルブミンのリノール酸に対する抗酸化力の試験において、たんぱく質濃度 0.17% までは効力が認められたが、0.58% では酸化が著しく促進された。また Tappel A. L.<sup>33)</sup>はタラの肝油の酸化がカゼインによって進んだと報じている。八木<sup>34)</sup>はたんぱく質の油脂の酸化安定性に及ぼす影響について次のように記している。すなわち、乾燥食品においては油脂の安定化に役立つが、水分の多い系においては酸化促進的に作用することであり、水分との関係を強調している。このようにたんぱく質の抗酸化力について相反する報文のある理由としては、アミノ酸の項において指摘したように試験する系の緩衝液の種類、濃度、pH、含水系及び非水系、共存する無機物などによって結果が影響されるものと思われる。

これらアミノ化合物の抗酸化機構としてはどのようなものが考えられているであろうか。

アミノ酸、たんぱく質などの金属封鎖作用に関しては、梶本らの報告の他、数多くみられる<sup>35)36)37)38)39)</sup>。梶本ら<sup>35)36)37)</sup>は、そのなかで、たんぱく質の金属封鎖能、また、たんぱく質とたんぱく質-金属複合体との抗酸化力の比較試験を行ない、たんぱく質による金属の不活性

第4表 芳香族アミノ酸の軌道エネルギー

アミノ酸	最高被占軌道のエネルギー	最低空軌道のエネルギー
フェニールアラニン	0.91	-0.99
チロシン	0.79	-1.00
ヒスチジン	0.66	-1.16
トリプトファン	0.53	-0.86

化を認めている。しかしながら、金属封鎖作用はセカンダリー・アンチオキシダントとしての作用であってプライマリー・アンチオキシダントとしてのアミノ化合物の効力は説明できない。

芳香族アミノ酸の軌道エネルギーを第4表に示す<sup>40)</sup>。これらの値からみると芳香族アミノ酸は電子供与体であるが、トリプトファンを除けば弱い。しかし、これらアミノ酸は上記したように、いずれも抗酸化力が強いことから電子供与能が大きく関与していることが推定される。また、満田ら<sup>9)</sup>は前記したインドール化合物の抗酸化作用に関する報告のなかで最も強い抗酸化力を示した5-ハイドロキシトリプトファンの軌道エネルギーは 0.461 で、トリプトファンのそれよりも、さらに低く、電子供与能が大であることから、その抗酸化力は理解できるとしている。しかしながら、他に矛盾点もありインドール化合物の抗酸化力は軌道エネルギー準位のみには依存するものではなく、構造上の要因にもよることを報じている。また、アミノ酸、ペプチド、たんぱく質とアミノ酸の結合数の増加にともない、イオン化電圧が著しく減少し、電子供与性と電子受容性が共に増大する<sup>40)</sup>。しかし、これらの現象とペプチド及びたんぱく質の抗酸化力とを直接結びつけるような研究はなされていない。H. S. Olcott ら<sup>41)</sup>はプロリン、ヒドロキソ・プロリンの抗酸化力に関連してプロリン・ニトロキサイドラジカルの効力を記している。さらに窒素原子の遊離電子対から電子1つを油脂の過酸化ラジカルに与えることによって電荷移動複合体を形成して油脂を安定化することも考えられる<sup>42)</sup>。なおメチオニンの抗酸化機構に関しては前記した。

以上のようにアミノ化合物の抗酸化機構に関しては、すべてのアミノ酸が共通してもつ効力と、個々のアミノ酸がその構造に応じてもつ機能とがあり、さらにまた、それらがペプチド結合することによって抗酸化力が増大することなどから、多くの要因が考えられ非常に多面的な機能をもっている。しかし現在のところ十分には解明されておらず今後の研究が期待される。

#### 4. 還元糖とアミノ酸とのかっ変反応物(メラノイジン)

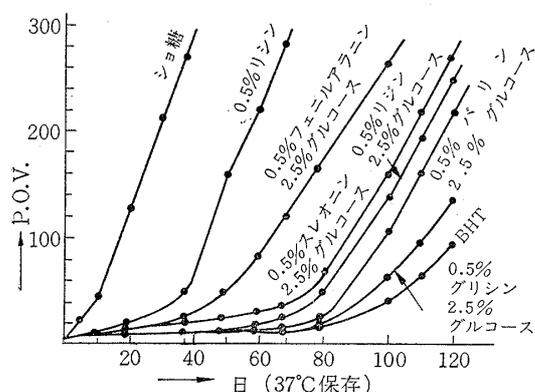
アミノ酸の抗酸化力に比較して還元糖とアミノ酸との

## 含窒素系天然抗酸化物質について

かつ変反応物の効力は著しく強いことが知られている。この反応は食品の加工、貯蔵の間にしばしばおこる極めて一般的な反応であり、食品の色、香りの面でも大きく寄与している<sup>43)44)</sup>。

山口ら<sup>45)</sup>はブドウ糖と数種のアミノ酸を添加した焼菓子を製造し、それに含まれる豚脂の安定性を試験した。第5図に示すようにブドウ糖及びアミノ酸添加区はショ糖区に比較して著しく安定であり、特にバリン、グリシン、リジンの効力がすぐれている。またアミノ酸とブドウ糖との併用区に比べてアミノ酸単独区の抗酸化力は弱い。次いで山口ら<sup>46)47)</sup>は、かつ変反応物の抗酸化力にはBHTに比較して耐熱性が顕著に認められ、220°C、14時間の加熱処理によっても、その効力は残存するが、BHTは7時間の処理で抗酸化力を示さなくなった。さらにキシロースと $\alpha$ -セチルアミンとのかつ変反応物を自動酸化した豚脂に添加すると過酸化物の分解が認められ、この分解はその後の過酸化物価の変化の傾向と、重量及びリノール酸量の変化の傾向から、自動酸化の際にみられるラジカル生成的な分解ではなく、過酸化物がかつ変反応物中の還元性物質と反応して不活性なアルコールなどを生成する抗酸化的分解反応と推定している。

M. Fujimaki ら<sup>48)</sup>はキシロースとグリシンとから調製したかつ変反応物のリノール酸に対する抗酸化力を含水系で測定している。その結果、抗酸化力は着色度の増加と共に増大し、いっぽう、かつ変反応中に生成するレダクトンの効力は著しく弱いことを示した。また、かつ変反応物を透析すると非透析物に強い抗酸化力を認めている。さらに各種のアミノ酸と還元糖とを用いて、かつ変反応物を調製し、かつ変反応物の抗酸化力に対するアミノ酸及び糖の影響を測定している<sup>49)</sup>。そのなかで一般に着色しやすいアミノ酸ほど抗酸化力は強いが、糖の種類による差は少なく、効力の強いアミノ酸としてアルギニン、ヒスチジン、システインをあげている。また、か

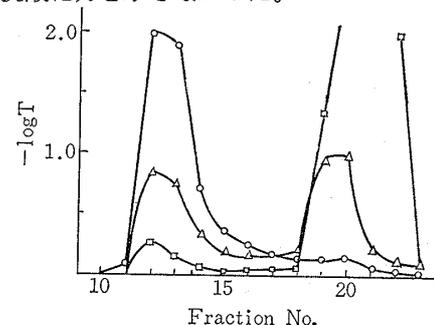


第5図 ブドウ糖及びアミノ酸を添加した焼菓子中の豚脂の安定性

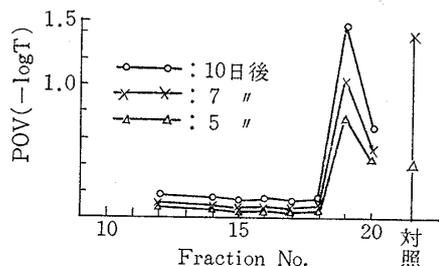
つ変反応時の条件と抗酸化力との関係について検討し、pHが高いほど、アミノ酸の糖に対する比率を大きくするほど、得られる非透析性メラノイジンの窒素含量は多くなり、且つ抗酸化力も強くなった。いっぽう、糖のみを加熱して得たカラメルの抗酸化力は極めて弱いことを報じている。カラメルの抗酸化力が非常に微弱であることに関しては山口<sup>50)</sup>、市川ら<sup>51)</sup>も認めている。

H. Itoh<sup>52)</sup>らは還元糖とアミノ酸とをトウモロコシ油中で175°C、5分間反応させて、かつ変反応物を調製し、この1mlをサフラワー油9mlに添加して抗酸化力を測定した。その結果、かつ変反応物の抗酸化力は還元糖とアミノ酸との組み合わせで著しく異なり、ジヒドロキシ・アセトンから調製したかつ変反応物が最も強い効力を示し、次いでキシロース、ブドウ糖の順であった。他方、試験したアミノ酸のなかではメチオニン、ロイシン、イソロイシン、バリンとジヒドロキシアセトンとのかつ変反応物の抗酸化力が著しく強く、BHAの効力よりはるかにまさることを認めている。

山口ら<sup>53)</sup>はグリシンとキシロースとから調製したかつ変反応物をセファディクスG-15によって分画した。その結果は第6図に示す。着色物質は1つのピーク、還元性物質のピークは高分子メラノイジンの画分と低分子画分の両方に存在したが、抗酸化力は高分子メラノイジン画分にのみ認められ、低分子還元性物質(レダクトン)はほとんど抗酸化力を示さなかった。



—○— 450nm  
—△—  $K_3Fe(CN)_6$  還元力  
—□— ニンヒドリン反応物



450nm=着色度  
 $K_3Fe(CN)_6$ =フェリシアン化カリウム還元力  
第6図 セファディクス G-15 によるかつ変反応物の分画及び分画物の抗酸化力の比較

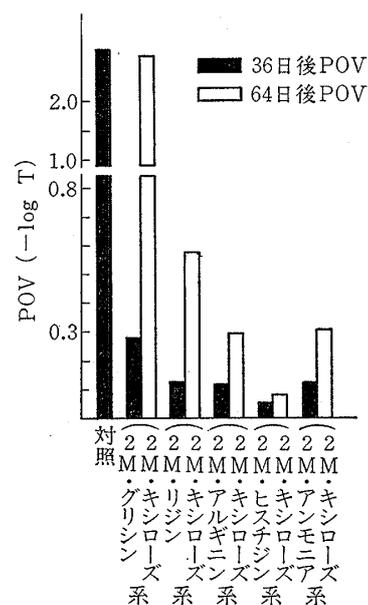
藤巻ら<sup>54)</sup>はアンモニアとブドウ糖を pH 9 以上に維持しつつ反応させて調製したかつ変反応液を透析した後、各種のクロマトグラフィーにより分画、精製し、電気泳動的に単一と思われる画分を得た。しかし赤外吸収スペクトルは通常のメラノイジンのそれと同様であり、やはり重合物の混合物であると考えている。また、抗酸化力は着色区分全体にわたって認められたが、同一着色度で比較した場合、低分子画分の方が高分子画分よりも抗酸化力は強いことを示した。

山口ら<sup>55)</sup>は第 6 図に示した抗酸化力の強い画分 (フラクション No.12,13) をさらにセファディクス G-50 により再分画し、各画分の効力を比較した結果、高分子着色物質には酸化促進性が認められた。次いで、山口ら<sup>56)</sup>はセファディクス G-15→G-50 のカラムクロマトグラフィーで分画した抗酸化力の強い画分をセファディクス G-100→TLC の各クロマトグラフィーで段階的に抗酸化力の強いメラノイジンを精製した。メラノイジンはセルローズ・パウダーによる TLC では 3 つのバンドに分離し、その 1 つである B 区分のメラノイジンは電気泳動及び超遠心沈降図パターンの結果からも単一成分であると考えられ、その分子量は約 4,500 と推定された。またメラノイジン B 区分の単位重量当りでの抗酸化力は BHA より強く、BHT よりは若干弱かった<sup>57)</sup>。さらにメラノイジンはアミノ酸及びペプチドの場合と同様にフェノール系の抗酸化物質と著しい相乗性が認められた<sup>58)59)</sup>。

山口ら<sup>57)</sup>はメラノイジンの窒素含量と抗酸化力との関係を測定している。電気泳動的に単一と考えられる各メラノイジンの元素分析値を第 5 表に、また、それらの抗酸化力を第 7 図に示す。メラノイジンはその窒素含量によって大きく 2 つのグループに分れた。窒素含量と抗酸化力との関係では、6%台のグリニン系、リジン系メラノイジンの抗酸化力は 11~12%台の他の 3 者に比較して著しく弱い。しかし同じ 6%台のグリニン系とリジン系メラノイジンとの間には大きな効力の差があり、また 12%台のアルギニン系より 11%台のヒスチジン系メラノイ

第 5 表 各メラノイジンの元素分析値

	C(%)	H(%)	N(%)
2M・グリニン系	50.21	5.30	6.99
2M・キシロース系	50.21	5.30	6.99
2M・アンモニア系	46.80	5.38	11.62
2M・キシロース系	46.80	5.38	11.62
2M・アルギニン系	44.36	5.82	12.81
2M・キシロース系	44.36	5.82	12.81
2M・リジン系	47.42	5.16	6.36
2M・キシロース系	47.42	5.16	6.36
2M・ヒスチジン系	47.29	4.61	11.46
2M・キシロース系	47.29	4.61	11.46



第 7 図 各メラノイジンの抗酸化力の比較 (メラノイジン添加量=30μg/25mL)

ジンの方が抗酸化力が強かったことから、窒素原子がメラノイジンの抗酸化力に影響する重要な因子であると考えられるが、量的な問題だけでなく、メラノイジン中の窒素の結合様式なども関係していることが推定される。

メラノイジンの抗酸化機構として、まず、メラノイジンの還元力に基づく水素供与性が考えられる。藤巻ら<sup>54)</sup>は同一の水素供与性を与える添加量でメラノイジン、BHA 及びアスコルビン酸の抗酸化力を比較している。メラノイジンの水素供与性は BHA の約 1/10 と低い、メラノイジンの方が抗酸化力は著しく強く、このことからメラノイジンの抗酸化力は水素供与性では説明できないと記している。山口ら<sup>58)</sup>、梶本ら<sup>60)61)62)</sup>はメラノイジンの金属封鎖作用を報告している。梶本ら<sup>61)</sup>はメラノイジン-銅複合体を調製し、その複合体中の銅量は調製時の条件によって異なるが、5.2~15.4mg%の範囲にあった。また山口ら<sup>47)</sup>は前記したように過酸化物の分解作用に基づく抗酸化力を報じている。さらに、メラノイジンの抗酸化力の発現に窒素原子が大きく関与することからアミノ化合物と同様に窒素原子の遊離電子対などが関係していることが推定される。

私は現在も天然物によって油脂の酸化安定性の向上をはかる目的で研究を続けている。しかしながら、天然物とはいっても有毒な物質は数多くある。私達の研究対象としたアミノ化合物及びペプチドは私達が常食としている食品に広く分布し、また私達の祖先が少なくとも何百年の昔に開発した“みそ”“たまりしょう油”に豊富に含まれ、食べ続けられてきたことを考えると、衛生的には高い安全性があると思われる。このように安全性の高

## 含窒素系天然抗酸化物質について

いメラノイジン及びペプチドなどによって長期間にわたって油脂食品の商品価値を保つように、さらに研究して行きたい。

## 文献

- 1) 厚生省令第20号 (1969.7.25)
- 2) 益山: 油化学 **19**, 675 (1970)
- 3) S. Matsushita・I. Ibuki: *Agr. Biol. Chem.* **29**, 792 (1965)
- 4) 山口: 食品工誌 **18**, 313 (1971)
- 5) 名武: 栄養と食糧 **24**, 63 (1971)
- 6) 名武・団野: 栄養と食糧 **26**, 245 (1973)
- 7) 名武・団野: 栄養と食糧 **26**, 251 (1973)
- 8) 渡辺・綾野: 栄養と食糧 **25**, 621 (1972)
- 9) 満田・安本・岩見: 栄養と食糧 **19**, 210 (1966)
- 10) 小嶋・末次: 食品工誌 **21**, 32 (1974)
- 11) 湯木・石川・吉和: 油化学 **23**, 714 (1974)
- 12) Clausen, D. F.・Lundberg, W. O.・Burr, G.O.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **24** 403 (1947)
- 13) R. Marcuse: *Nature* **188**, 886 (1960)
- 14) 松下・岩見: 京大食糧科学研究所報告 No. 30, 1 (1967)
- 15) M. Karel・S. R. Tannenbaum・D. H. Wallance・H. Maloney: *J. Food Sci.* **31**, 892 (1966)
- 16) 後藤・柴崎: 食品工誌 **18**, 277 (1971)
- 17) 満田・安本・岩見: 栄養と食糧 **18**, 217 (1965)
- 18) H. S. Olcott・E. J. Kuta: *Nature* **183**, 1812 (1959)
- 19) 川島・伊藤・溝口・千畑: 日本食品工業学会第16回大会研究発表要旨, p. 22 (1969)
- 20) Kirimura, J.・Shimizu, A.・Kimizuka, A.・Ninomiya, T.・Katsuya, N.: *J. Agr. Food Chem.* **17**, 689 (1969)
- 21) 山口・横尾・藤巻: 食品工誌 **22**, 425 (1975)
- 22) 山口・横尾・藤巻: 食品工誌 **22**, 431 (1975)
- 23) 山口・横尾・藤巻: 日本食品工業学会第22回研究発表要旨, p. 19 (1975)
- 24) S. J. Bishov・A. S. Henick: *J. Food Sci.* **37**, 873 (1972)
- 25) S. J. Bishov・A. S. Henick: *J. Food Sci.* **40**, 345 (1975)
- 26) Kline, L.・Sugihara, T. F.・Meehan, J. J.: *J. Food Sci.* **29**, 693 (1964)
- 27) 吉松: 家政誌 **24**, 13 (1973)
- 28) 湯木・石川・山下・吉和: 昭和46年度中小企業技術開発研究費補助事業講習会テキスト p. 26 (広島県食品工業試験場)
- 29) S. J. Bishov・A. S. Henick・R. B. Koch: *J. Food Sci.* **26**, 198 (1961)
- 30) 新原・桜井: 食品工誌 **17**, 402 (1970)
- 31) 兼松・守瀬・新谷・今村・松本・勝井: 栄養と食糧 **25**, 343 (1972)
- 32) S. Yukami: *Agr. Biol. Chem.* **36**, 871 (1972)
- 33) Tappel, A. L.: *Arch. Biochem. Biophys.* **54**, 266 (1955)
- 34) 八木・秋谷: 食品の酸化とその防止 (光琳書院) p. 99 (1967)
- 35) 梶本・吉田: 油化学 **21**, 200 (1972)
- 36) 梶本・吉田: 油化学 **21**, 842 (1972)
- 37) 梶本・吉田: 油化学 **24**, 292 (1975)
- 38) S. Gorinstein: *J. Food Sci.* **39**, 953 (1974)
- 39) 永岩: *New Food Industry* **11**, (8) 20 (1969)
- 40) 松下: 京大食糧科学研究所報告 No. 29, 49 (1969)
- 41) J. S. Lin・T. C. Tom・H. S. Olcott: *J. Agr. Food Chem.* **22**, 526 (1974)
- 42) 八木・秋谷: 食品の酸化とその防止 (光琳書院) p. 67 (1967)
- 43) 中林・木村・加藤: 食品の変色とその化学 (光琳書院) p. 223 (1967)
- 44) 藤巻・倉田: 化学と生物 **9**, 85 (1971)
- 45) 山口・横尾・小山: 食品工誌 **11**, 184 (1964)
- 46) 山口・小山: 食品工誌 **14**, 281 (1967)
- 47) 山口・岡田: 食品工誌 **15**, 187 (1968)
- 48) N. Kirigaya・H. Kato・M. Fujimaki: *Agr. Biol. Chem.* **32**, 287 (1968)
- 49) 桐ヶ谷・加藤・藤巻: 農化 **43**, 484 (1969)
- 50) 山口: 食品工誌 **16**, 140 (1969)
- 51) 市川・藤井・河本: 食品工誌 **22**, 159 (1975)
- 52) H. Itoh・K. Kawashima・I. Chibata: *Agr. Biol. Chem.* **39**, 283 (1975)
- 53) 山口・藤巻: 食品工誌 **17**, 136 (1970)
- 54) 桐ヶ谷・加藤・藤巻: 農化 **45**, 292 (1971)
- 55) 山口・藤巻: 食品工誌 **17**, 142 (1970)
- 56) 山口・藤巻: 食品工誌 **20**, 507 (1973)
- 57) 山口・藤巻: 食品工誌 **21**, 6 (1974)
- 58) 山口・藤巻: 食品工誌 **21**, 13 (1974)
- 59) 山口・藤巻: 食品工誌 **21**, 280 (1974)
- 60) 梶本・吉田・高森: 油化学 **24**, 15 (1975)
- 61) 梶本・吉田: 油化学 **24**, 297 (1975)
- 62) 梶本・吉田: 油化学 **24**, 582 (1975)