

TBA 反応のメカニズム

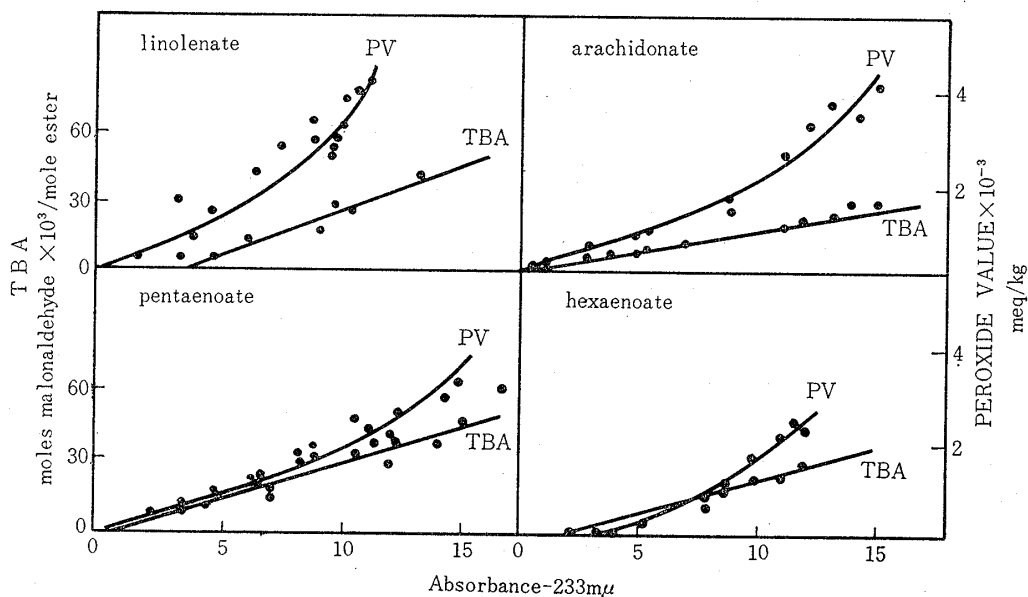
五十嵐 脩*

食品中の脂質の酸化の程度を知る方法の一つとして、TBA 反応がある。通常の食品はほとんど脂質を含むので、調理の前後、貯蔵中の脂質の酸化の度合を測定する手段として、TBA 値を測定することはしばしば用いられている。TBA 反応は、他の脂質の酸化を知る測定法である過酸化価 (POV)、カルボニル価 (COV)、に比べると非常に鋭敏な方法であるために、現在生化学的な分野で、生体内での過酸化脂質を測定する方法として広く利用されている。しかし、POV、COV がその対象とする脂質の酸化中に生ずるリノール酸、リノレン酸などの高度不飽和脂肪酸の由来のヒドロペーオキシド、カルボニル化合物を測定しているのに対し、TBA 反応では、脂質の酸化で生じた前駆物質を酸性条件下で加熱することにより分解して生じたマロンジアルデヒド (MDA) に 2-チオバルビツール酸 (TBA) を反応させて赤色色素を形成させて測定している。最近まで、この MDA の前駆物質が何であるかについてはほとんど知られていなかった。

た。このため、TBA 値が何を意味するのか、脂質のいかなる酸化物を測定しているのかなどの点で大きな問題が残し、他の脂質の酸化度を測定する POV、COV などとの関連性が問題とされ、脂質の自動酸化中の POV、共役ジエンと TBA 値の変化が必ずしも一致しない結果が得られることも時として認められているところである。

1. Dahle らのエンドパーオキシド説

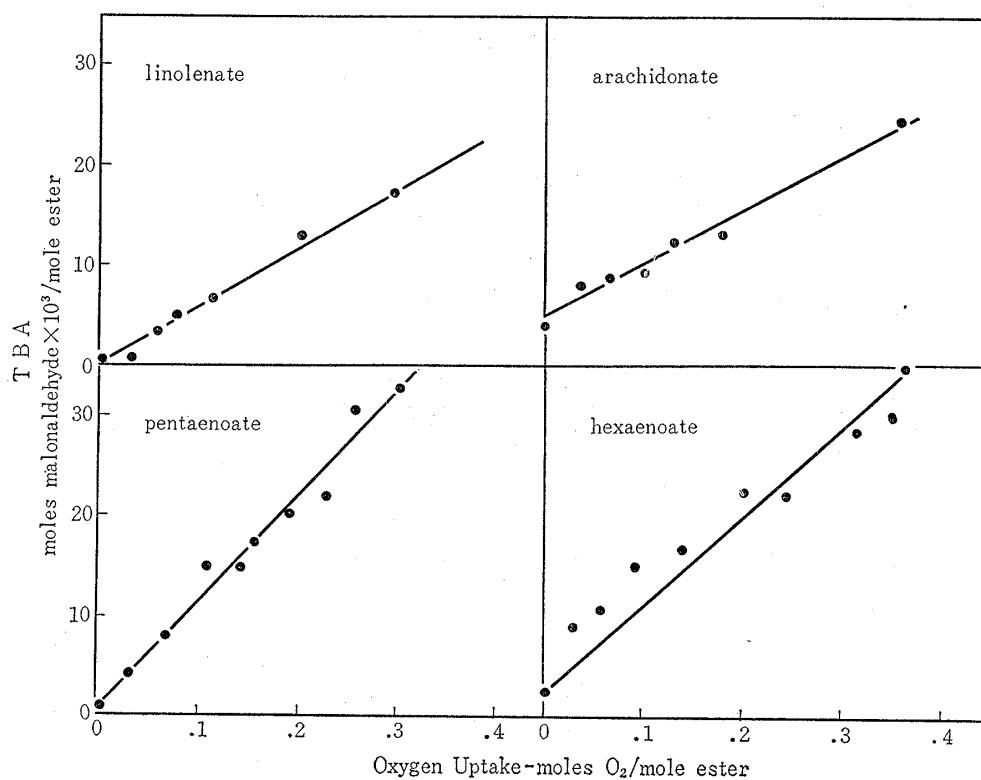
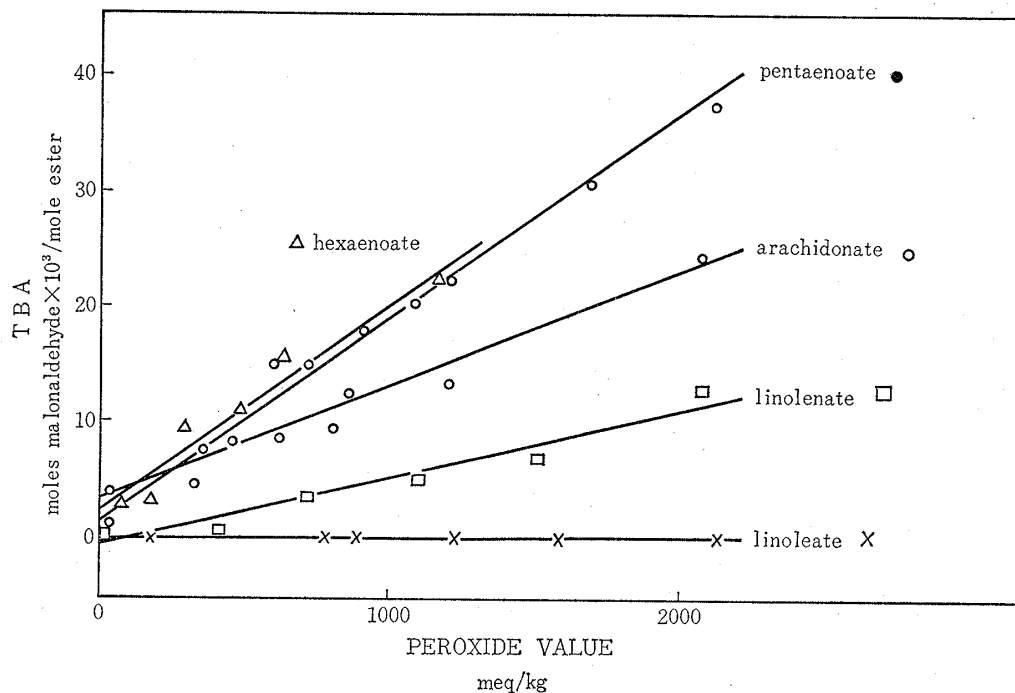
1962年に Dahle らは、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、 C_{22} のペンタエン酸 (炭素数が 22 で、二重結合が 5 個あり、二重結合の間に $-CH_2-$ が存在するもの)、 C_{22} のヘキサエン酸 (上と同じ構造) のメチルエステルを用い、ワールブルグ装置で $37^{\circ}C$ で酸化し、自動酸化中の POV、共役ジエン、酸素吸収量、TBA 値 (MDA 生成量) を測定した¹⁾。リノール酸メチルの場合は酸化の進行がおそいので、オープン中で酸化した。その結果、リノール酸メチルの場合を除いて、酸化の初期段階においては POV、共役ジエン、TBA 値、酸素吸収量の間に



第1図 リノレン酸、アラキドン酸、 $C_{20}\Delta^5$ 、 $C_{22}\Delta^6$ の自動酸化中における TBA-共役ジエン、TBA-POV の相関性¹⁾

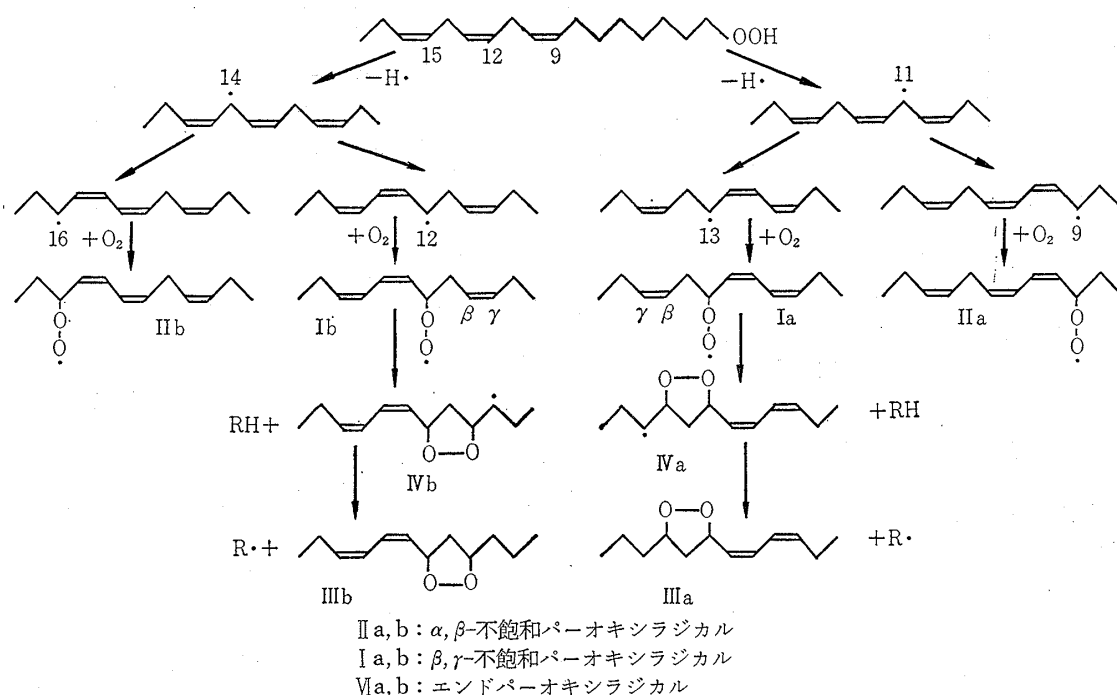
* お茶の水女子大学

TBA反応のメカニズム

第2図 リノレン酸, アラキドン酸, $C_{20}\Delta^5$, $C_{22}\Delta^6$ の自動酸化中における TBA 値と酸素吸収量の相関性¹⁾第3図 リノール酸, リノレン酸, アラキドン酸, $C_{20}\Delta^5$, $C_{22}\Delta^6$ の自動酸化中における TBA 値と POV の相関性¹⁾

いて、いずれの組み合わせでも第1,2図に示す如く、直線関係が得られた。しかし、リノール酸メチルの場合には、POV、共役ジエンの明らかな増大を認めても TBA 値は自動酸化中において0で全く変化せず、MDA 前駆物質の生成は全くみられなかった(第3図)。このことより、

Dahle らは、自動酸化中に、リノール酸と他のリノレン酸などのより不飽和度の高い脂肪酸では異なった中間体を生成するのではないかと考え、通常の α, β -不飽和のパラオキシラジカル(II a, b)と共にリノレン酸などでは、 β, γ -不飽和のパラオキシラジカル(I a, b)を生成するの

第4図 リノレン酸の自動酸化中におけるエンドパーオキシドの生成機構¹⁾

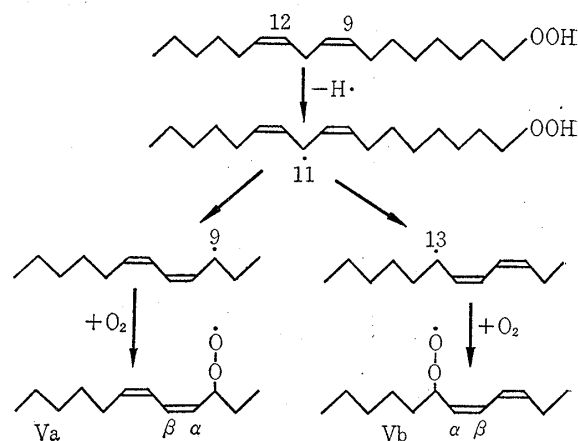
第1表 リノール酸型* の高度不飽和脂肪酸の自動酸化の初期段階で作られるパーオキシラジカルの異性体の型と数

	パーオキシラジカルの異性体の数 (A)	β, γ -不飽和のパーオキシラジカルの数 (B)	B/A
ジエン	2	0	0
トリエン	4	2	0.5
テトラエン	6	4	0.67
ペンタエン	8	6	0.75
ヘキサエン	10	8	0.80

* 二重結合の間にメチレンが介在し、非共役型のポリエンをもつ脂肪酸を指す。

ではないかと推定した。第1表に示すように、彼らはリノール酸の場合には、 β, γ -不飽和のパーオキシラジカルは全く生成されないと考えた。

そこで Dahle らは、第4図に示すようにリノレン酸以上の高度不飽和脂肪酸では、中間体として生ずる β, γ -不飽和のパーオキシラジカルが、エンドパーオキシド (III a, b) を形成し、これが、TBA 反応中に分解して MDA を生成し、2-チオバルビツール酸と縮合して赤色色素を形成すると推定した。一方、リノール酸の場合には、第5図に示すように自動酸化が進行するために、 β, γ -不飽和パーオキシラジカルは全く生成されず、通常の α, β -不飽和のパーオキシド (Va, b) のみを生成すると推定した。そして、この両者の違いが、リノール酸の自動酸化の場合には TBA 反応が陰性であり、リノレン酸以上の高度不飽和脂肪酸では自動酸化中に TBA 反応に陽性な

第5図 リノール酸の自動酸化中における α, β -不飽和パーオキシラジカルの生成機構

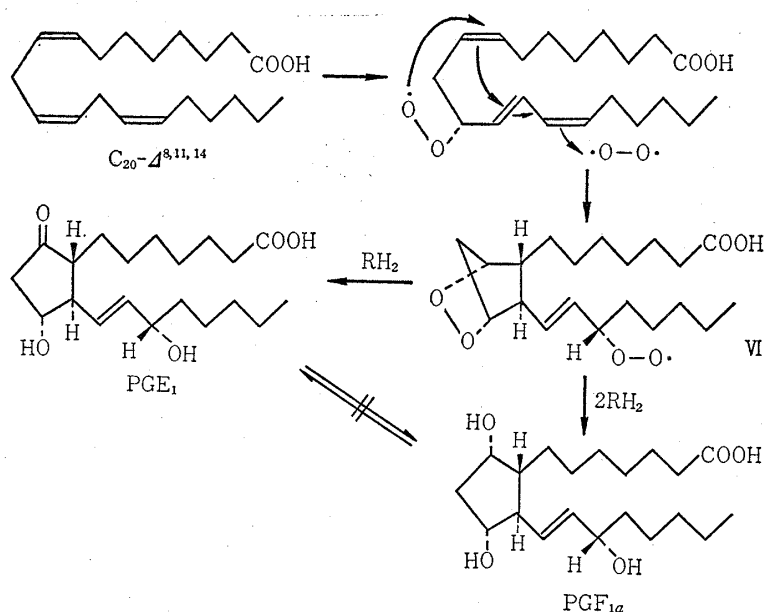
前駆物質を形成し、TBA 値が POV などと相関をもつようになるものと解釈した。

Dahle らが推定した第4図のリノレン酸の自動酸化機構は、非常に優れたもので、現在までのところ、中間体としての β, γ -不飽和ラジカルの形成、エンドパーオキシドの TBA 反応における重要性は全く失われていない。

2. Pryor らの二環性エンドパーオキシド説

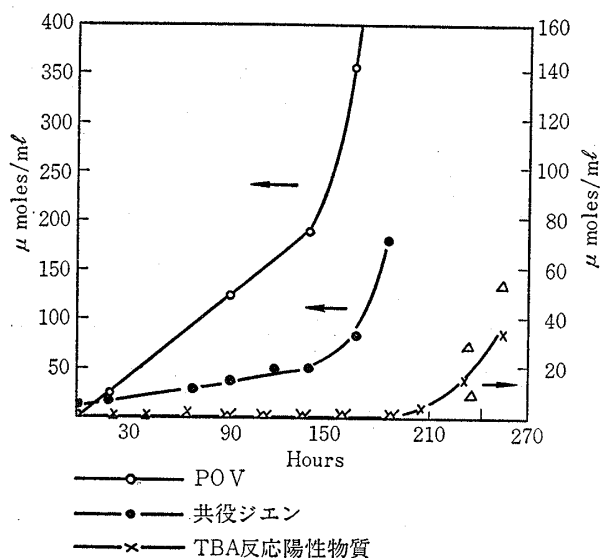
Dahle らの研究はその後進展をみなかったが、近年、生体内でのリノール酸、アラキドン酸などから生合成されるプロスタグランジンの研究が進むにつれて、プロスタグランジンの生合成の機構が明らかにされ、それと共に MDA がプロスタグランジンの生合成の際の副産物として認められるようになってきた²⁻⁸⁾。このことは、in

TAB反応のメカニズム



第6図 $C_{20}-\Delta^{8,11,14}$ よりプロスタグランジン PGE_1 , $PGF_{1\alpha}$ の生合成経路。

*in vivo*でのプロスタグランジン生合成の際の酸化過程と、*in vitro*でのリノレン酸などの自動酸化中におけるTBA反応陽性の前駆物質の形成とが、何らかの類似性をもつことを示していると思われる。1例として $C_{20}-\Delta^{8,11,14}$ のトリエン酸（構造的にリノレン酸に類似している）からのプロスタグランジン PGE_1 , $PGF_{1\alpha}$ の生合成の経路（第6図）をみると、その中間体として二環をもつエンドパーオキシドの生成がみられる。この中間体(VI)は、 C_5 の五員環をもち、その中の炭素が更にエンドパ



第7図 リノール酸メチルの自動酸化中におけるPOV, 共役ジエン, TBA反応陽性物質, PGE試験陽性物質の経時的変化。(左側はPOV, 共役ジエンの濃度, 右側は, TBA, PGE試験陽性物質の濃度を示す。)

ーオキシドを形成している。勿論、これらの反応は酵素的に進行するとはいえ、先にDahleらが推定したエンドパーオキシドとは異なるものではあるが、同様なエンドパーオキシドが酵素的に生成されること、プロスタグランジン生合成の副産物としてMDAが作られることの2点は脂質の自動酸化とプロスタグランジン生合成反応の類似性を示唆しているものであり興味深い。

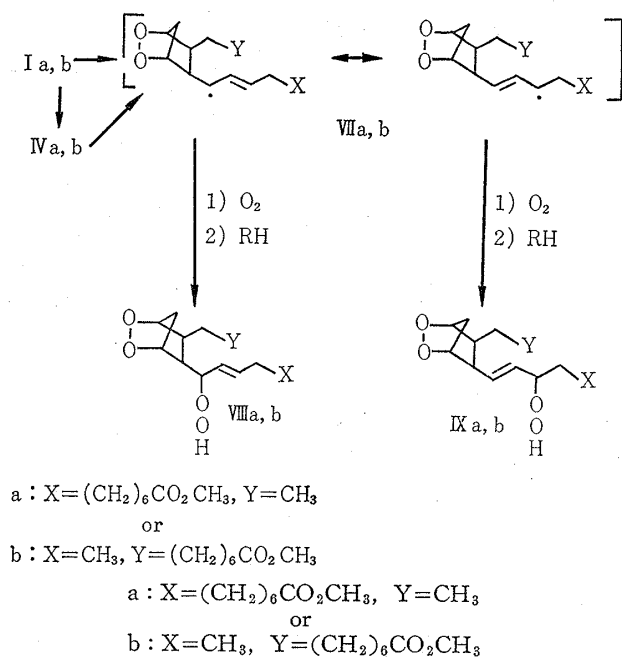
一方, Nugterenら⁹⁾, Pryorら¹⁰⁾は、脂質の自動酸化中にプロスタグランジン又はプロスタグランジン様の化合物が生成することを見出した。この知見はますますプロスタグランジンの生合成と脂質の自動酸化との関連性を強く結びつけるものといえよう。

そこで, Pryorらは、これらの知見をもとに、TBA-反応性のMDAの前駆物質に

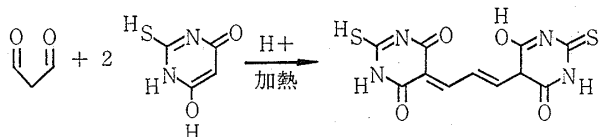
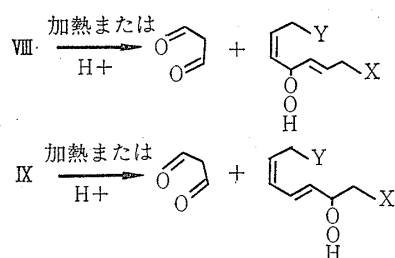
ついて検討した¹¹⁾¹²⁾。まず、リノレン酸メチルを1.5ppmのオゾンを含む空気中で酸化した際のPOV, 共役ジエン, プロスタグランジン反応陽性物質, TBA反応陽性物質の経時的変化を調べ(第7図)、これらの関係を明らかにした。第7図から分るように、プロスタグランジン生成量とTBA反応陽性物質の量の変化はほぼ同様な傾向を示すことが分る。次に、自動酸化したリノレン酸メチルから、その生成物を単離することを試みた。しかし、パーオキシド、特にエンドパーオキシドは不安定なため、通常の単離法は応用できないので、パーオキシドを SnCl_2 で還元し、シリカゲルカラム, TLC法で単離を行った。その結果、単一の画分は得られなかったが、GC-MSで分析の結果、 SnCl_2 で還元されたTBA反応陽性のMDAの前駆物質は、OHを3ケもつこと、プロスタグランジン PGE_1 , $PGF_{1\alpha}$ のように、五員環をもつこと、側鎖の α, β 又は β, γ の位置に二重結合をもつことなどが確かめられた。 α, β 位に二重結合をもつものは、 $PGF_{1\alpha}$ と同じ構造であり、OH, Hの立体配置が、プロスタグランジンにおいては特異的に定まっている点だけが異なる。

以上の結果をもとに、Pryorらは、リノレン酸の自動酸化においてTBA反応陽性のMDAの前駆物質を生成する機構として第4図に示したDahleらの経路をより発展させ、より合理的な機構として第8図に示すような経路を提出した。

この機構においても、第4図と同じく β, γ -不飽和パーオキシラジカル(I a, b)を中間体として考え、これが環化してVII a, bのラジカルを形成すると推定している。また、IV a, bの如きエンドパーオキシラジカルもVII a, bの



第8図 リノレン酸よりTBA反応陽性の前駆物質の生成機構。



第9図 マロンジアルデヒド(MDA)のTBA反応陽性の前駆物質よりの生成とTBA-MDA付加物(赤色色素)の生成

ラジカルに環化することも考えられる。このようにして環化したラジカルVII a, bが、より安定なペーオキシドVIII, IX a, bを生成するものと考えられる。このペーオキシドVIII, IX a, bは、分子内に二環性のエンドペーオキシドと、通常のペーオキシドをもつ。これが、酸性条件下で加熱すると分解し、MDAを遊離し、第9図の如くにしてTBAと反応し赤色色素を形成するものと考えられる。

3. 結 語

以上、リノレン酸、アラキドン酸など、3つ以上の不飽和結合をもつ不飽和脂肪酸よりの、自動酸化中におけるTBA反応陽性のMDAの前駆物質について最近のPryorらの研究を中心にして述べて来た。既に述べたようにPryorらの研究は、Dahleらの研究とプロスタグラ

ンジンの生合成の研究を結びつけて発展させたところに意義があるといえよう。生体においてもプロスタグランジンの前駆物質は全て3ヶ以上の不飽和結合をもつ不飽和脂肪酸で、これを酵素的に酸化し、二環性のエンドペーオキシドを作ることから出発している*。この場合においてもリノール酸が酸化を受ける出発物質にはなっていない。このことは、自動酸化中に出来るMDAの前駆物質がリノール酸からは生成されないという事実と一致している。このことは、多分、酵素的であれ、非酵素的であれ、リノール酸の場合は、二環性のエンドペーオキシラジカル生成に必要な β, γ -不飽和ラジカル生成が起りにくいか全く生成されないことを示しているといえよう**。

従ってTBA反応に陽性なMDAの前駆物質は、リノレン酸、アラキドン酸などの非共役型の二重結合を3ヶ以上もつ高度不飽和脂肪酸から自動酸化中に作られる二環性のエンドペーオキシド(bicyclic endoperoxide)といえよう。このことから、食品中の脂質の酸化の指標としてTBA値を用いる場合には、あくまでも、それが、リノレン酸などの高度不飽和脂肪酸由来のもので、リノール酸以下の不飽和脂肪酸の酸化を示さないという事実を認識する必要がある。

* ここではアラキドン酸、ホモ- γ -リノレン酸がリノール酸より生体内で生成される過程は除外し、直接酸化を受ける出発物質が3~5ヶの二重結合をもつことを意味している。

** この点についてPryorらはリノール酸においても β, γ -不飽和ラジカル生成の可能性を示唆しているが、この場合でも熱力学的に考え、二環性のエンドペーオキシドの収量が非常に低いとしている¹²⁾。

文 献

- 1) L. K. Dahle • E. G. Hill • R. T. Holman : Arch. Biochem. Biophys. **98**, 253 (1962)
- 2) M. Hamburg • J. Svensson • T. Wakabayashi • B. Samuelsson : Proc. Nat. Acad. Sci. **71**, 345 (1974)
- 3) M. Hamburg • B. Samuelsson : ibid. **70**, 899 (1973)
- 4) B. Samuelsson : Fed. Proc. **31**, 1442 (1972)
- 5) P. Woldawer • B. Samuelsson : J. Biol. Chem. **248**, 5673 (1973)
- 6) W. G. Niehaus, Jr. • B. Samuelsson : Eur. J. Biochem. **6**, 126 (1968)
- 7) M. Hamburg • B. Samuelsson • I. Bjorkhem • H. Danielsson : "Molecular Mechanisms of Oxygen Action" (Edited by O. Hayaishi) p. 30~86, Academic Press, New York, NY, (1974)

TBA反応のメカニズム

- | | |
|---|---|
| <p>8) H. Hamburg • H. J. Svensson • B. Samuelsson :
Proc. Nat. Acad. Sci., 71, 3824 (1974)</p> <p>9) D. H. Nugteren • H. Vonkeman • D. A. van Dorp
: Recueil 86, 1237 (1967)</p> <p>10) W. A. Pryor, J. P. Stanley : Abstracts of papers,
American Chemical Society Meeting, Chicago Ill.</p> | <p>Aug. 25-29, 1975, paper ORGN-50</p> <p>11) W. A. Pryor • J. P. Stanley : J. Org. Chem. 40,
3615 (1975)</p> <p>12) W. A. Pryor • J. P. Stanley • E. Blair : Lipids 11,
370 (1976)</p> |
|---|---|

新 刊 紹 介

岩 尾 裕 之 著 「おコメの秘密—味と栄養のふるさと、米食の秘密」

(新書判 189 ページ 定価 650 円 婦人生活社)

最近是一般向に食物に関し色々な本が出ているが、その中にはどうも正しい知識を与えるというよりは、何かかたよった考えを押しつけるようなものも多いようである。

本書の著者岩尾先生について紹介する必要もないが、国立栄養研究所の応用食品部長として学界だけでなく、各方面で活躍されており、本会の常任理事を勤めておられる。

本書はコメについて余りにも間違った知識が広まっているため、その間違いを正すため、一般向に書かれたものであるが、米の栄養的な価値、炊飯の科学的な説明、そしてまた「ごはんを食べて痩せられる四季別

各1週間の基本献立」が四季にわけて、それぞれ1週間分の献立があげられている(多分岩尾先生の奥様の苦心の作と思われるが)。

内容は第1章コメとわたしたち、第2章コメの魅力、第3章ごはん瘦身法、第4章おコメ余話、挿話 第5章われら、ごはん党の弁(この項は知名人8人が書いている)からなっている。

一般向に書かれているので、わかり易い内容になっているが、教職にあたり、地域の指導に当られる方には有益な著書と思われる。筆者も興味深く読むことができたので、会員の皆様に紹介するものである。

(元山)