

褐変物質の DPPH ラジカル消去能

下橋 淳子

DPPH Radical-Scavenging Ability of Browning Materials

Atsuko SHIMOHASHI

緒言

食品は、調理、加工あるいは貯蔵中に褐色に変化することがある。

この褐変現象には酵素的褐変と化学反応による非酵素的褐変があり、非酵素的褐変現象としてアミノカルボニル反応、カラメル化さらにアスコルビン酸の酸分解などがある。

特にアミノカルボニル反応によって、還元糖などのカルボニル化合物とアミノ酸などの窒素化合物が反応して生成する褐変物質メラノイジンは、発ガン防止や老化抑制とも関連の深い活性酸素の消去作用を持つことが知られている。

ある程度以上に褐変が進行した味噌に含まれる不飽和脂肪酸は、安定で自動酸化を受けにくいともいわれ、パン、コーヒー、クッキー、味噌、しょう油などの加工中に起こるアミノカルボニル反応は、好ましい着色と香りの生成と共に抗酸化性の発現としても重要であると考えられている。

著者は以前、食品の加工過程において生じた褐変物質に非常に高い DPPH ラジカル消去能があることを報告している¹⁾。

今回は、アミノカルボニル反応およびカラメル化による着色度とラジカル消去能との関連性、褐変物質を含んではいるが、本来のしょう油とは異なり魚の塩漬けエキスから製造される魚醬のラジカル消去能、加熱したタマネギの着色とラジカル消去能について実験を行いいくつかの知見を得たので報告する。

実験方法

実験 1 アミノカルボニル反応による着色度と DPPH ラジカル消去能

D-グルコースおよびグリシンを pH5.0、6.0、7.0 および 7.4 の 4 種類の McIlvaine 緩衝液にそれぞれ溶解し 0.5M 溶液を調製した。

各 pH の 0.5M-グルコースと 0.5M-グリシン溶液を 5 ml ずつ試験管に入れて混和し、沸騰水浴中で 10、20、30 分間加熱した。

着色した溶液を氷水中で冷却後、分光光度計で 440 nm の吸光度を測定し各試料液の着色度とした。

また、この試料液にエタノールを加えエタノール終濃度 80% の DPPH ラジカル消去能測定用試料液を調製した。

実験 2 カラメル化による着色度と DPPH ラジカル消去能

ショ糖 30 g に脱イオン水 10 ml を加え、ガスバーナー上で加熱して着色させた。

アメ状になった試料に脱イオン水を加え加熱溶解して 200 ml 定容としカラメル化試料液とした。

この試料液について実験 1 と同様に 440 nm の吸光度を測定し着色度を比較した。

また、この試料液についてもエタノール終濃度 80% の DPPH ラジカル消去能測定用試料液を調製した。

実験 3 魚醬の DPPH ラジカル消去能

かつお魚醬（販売者：若林商店）、いわし魚醬

(製造者：ヤマサ商事株式会社)、いか魚醬 (製造者：ヤマサ商事株式会社)、はたはた魚醬 (販売者：株式会社トップワールド) ベトナムの魚醬 (販売者：協同食品株式会社) およびタイの魚醬 (販売者：曾文商事有限会社) の5種類の魚醬の他、比較試料として薄口しょう油 (製造者：キッコーマン株式会社)、白しょう油 (製造者：日東醸造株式会社) を用い測定を行った。

上記試料は、実験1と同様に440nmの吸光度で着色度を測定し、さらに脱イオン水で3~5倍に希釈した後、エタノール終濃度80%のDPPHラジカル消去能測定用試料液を調製した。

実験4 タマネギの加熱褐変とDPPHラジカル消去能

タマネギの皮をむいておろし金ですり下ろし、ガーゼに包んで軽く絞り試料液を得た。この試料液50mlをビーカーに採り、ガスバーナー上で加熱し煮つめて着色試料液を得た。

着色試料液にエタノールを加え、エタノール終濃度80%のDPPHラジカル消去能測定用試料液を調

製した。

DPPHラジカル消去能の測定

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) はSIGMA社製、6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetra-methylchromane-2-carboxylic acid (Trolox) はFuluka Chemica社製、2-Morpholinoethanesulphonic acid (MES) は和光純薬工業社製を用い、前報同様分光測定法²⁾によりDPPHラジカル消去能を測定した。

結果および考察

図1にアミノカルボニル反応による着色度とラジカル消去能の関係を示した。

食品のpHは一般に微酸性から中性付近のものがほとんどなので、今回は、pH5.0、6.0、7.0、7.4のグルコース溶液とグリシン溶液を反応させたが、アミノカルボニル反応は、pH7.0、7.4の中性からアルカリ性側で促進されpH5.0、6.0の酸性側では反応が遅かった。

同じpHでは加熱時間が長いほど着色度は高くな

DPPHラジカル消去能
(nmolTrolox相当量/ml)

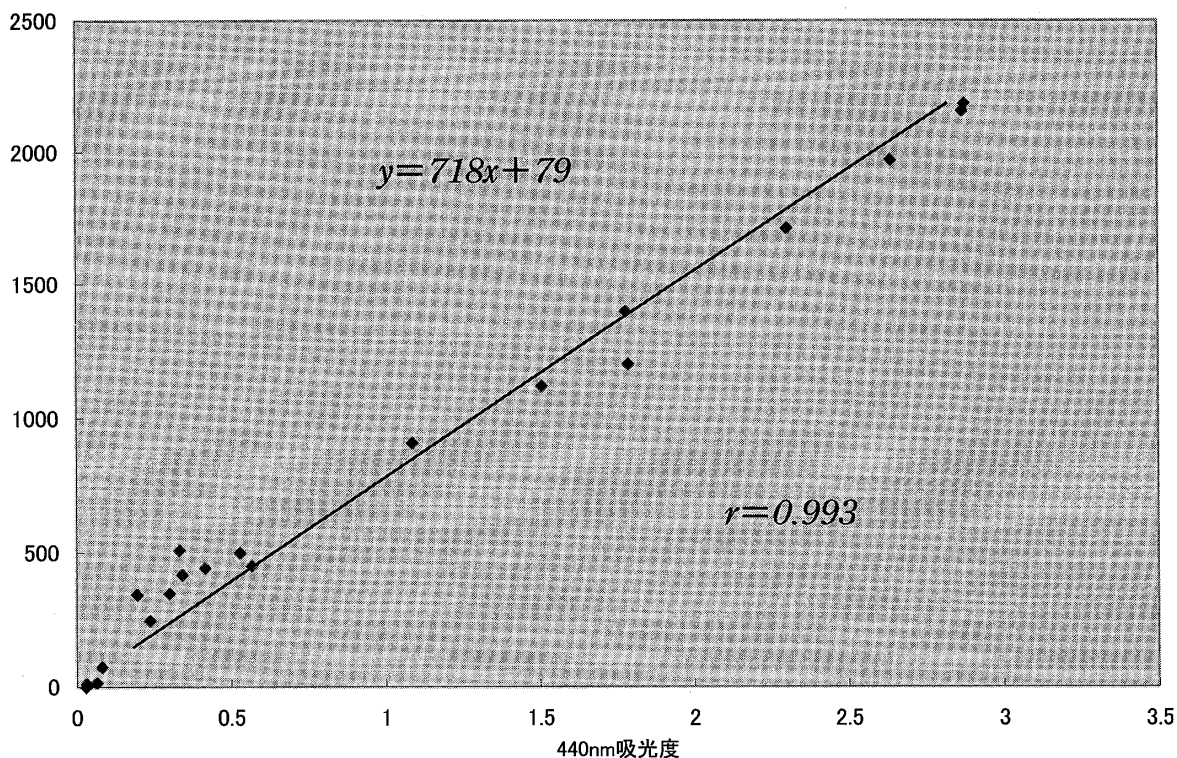


図1 アミノカルボニル反応による着色度とDPPHラジカル消去能

るが、着色の反応速度は pH が高いほど速く、着色度が最も高い pH7.4の30分加熱試料液に比べると pH5.0の30分加熱試料液は着色度が著しく低く pH 7.4の2%程度であった。

pH が高いほど着色度が高く、それに伴って DPPH ラジカル消去能も高値を示した。

着色度と DPPH ラジカル消去能の回帰直線は $y=718x+79$ で示され、相関係数は、 $r=0.993$ で非常に強い正の相関を示した。

食品中で起こるアミノカルボニル反応は、カルボニル化合物と窒素化合物の種類、濃度、水分活性、温度さらに共存する物質によって大きな影響を受ける。

したがって、どのようなカルボニル化合物と窒素化合物によって生成されたメラノイジンであるかにより抗酸化性は異なるものと考えられる。

Lingnert ら³⁾ は、アルギニンやヒスチジンから生成されたメラノイジンの抗酸化性は強く、グルコースよりもキシロースの方が抗酸化性が強くなると報告している。

図2にカラメル溶液の着色度とラジカル消去能の関係を示した。

カラメル溶液の着色度と DPPH ラジカル消去能の回帰直線は $y=112x+110$ で示され、相関係数は $r=0.882$ であった。

ショ糖液は、160°Cを越えると熔融して淡黄色～黄金色～褐色に着色し、170°Cを越えるとカラメル化する。

カラメル溶液の着色度と DPPH ラジカル消去能の間にも非常に強い正の相関が見られたが、カラメル化による褐変物質は、実験1のグルコースとグリシンのアミノカルボニル反応による褐変物質と比較すると同程度の着色度でも DPPH ラジカル消去能がかなり低かった。

アミノカルボニル反応による褐変物質の生成は、食品中の環境や基質となるカルボニル化合物、窒素化合物の種類や量など多くの因子によって反応速度も生成量も変わると考えられるが、抗酸化性はカラメル化による褐変物質の方がアミノカルボニル反応による褐変物質より低いことが推測された。

DPPHラジカル消去能
(nmolTrolox相当量/ml)

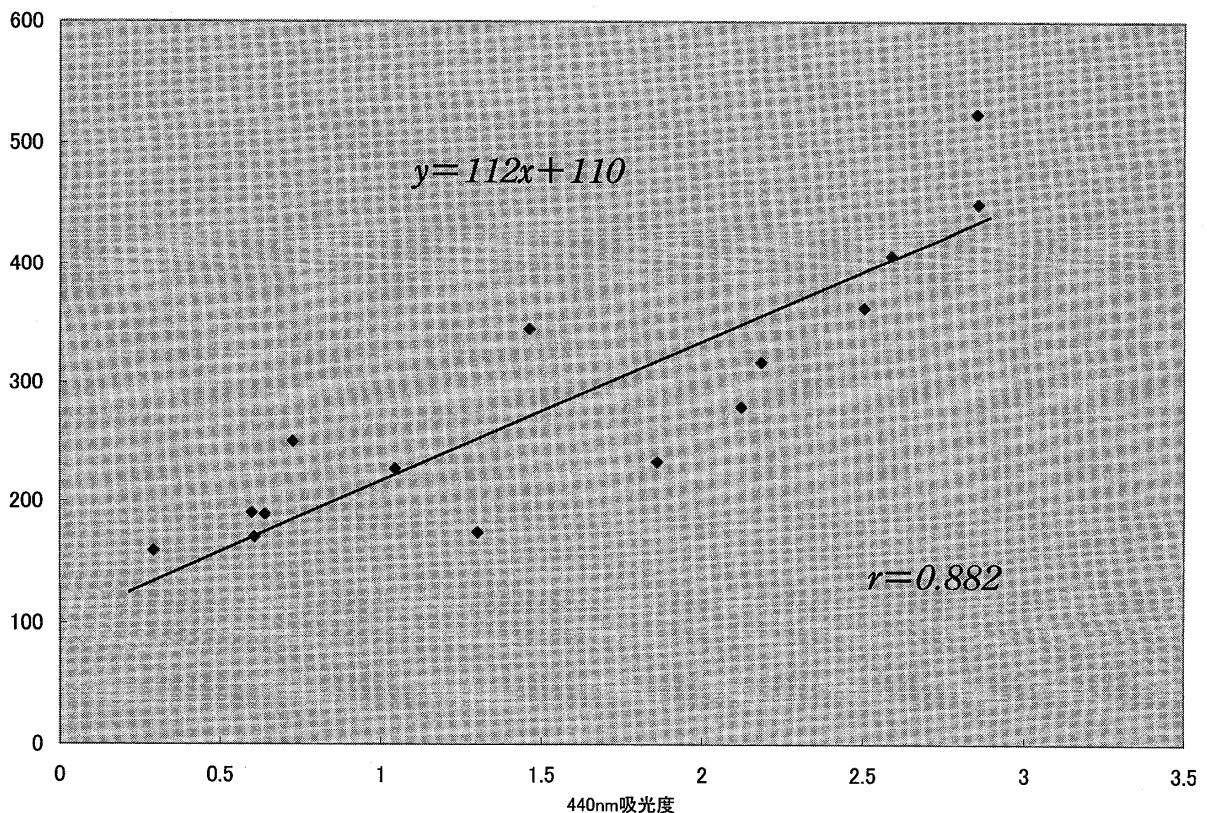


図2 カラメル溶液の着色度とDPPHラジカル消去能

カラメルは、グルコース (C₆H₁₂O₆) から約 4 分子脱水した組成 (C₆H₄O₂) を示すが、各種の分解生成物の混合物で、その色素成分の化学構造はメラノイジンと同様明らかではない⁴⁾。

図 3 に魚醤の DPPH ラジカル消去能を示した。表 1 は魚醤試料の原材料と別名を示したものである。

吸光度の測定上限 3.000 を越えたいか魚醤 (いしる) を除き、試料とした魚醤の 440 nm における吸

光度は、薄口しょう油 (2.9 程度) と白しょう油 (2.5 程度) の間の吸光度を示した。

薄口しょう油と色調に大差はないにもかかわらず、はたはた魚醤 (しょつつる) は DPPH ラジカル消去能が 164 nmol Trolox 相当量 / ml で、測定した魚醤の中では最低値を示した。

白しょう油と同程度の色調であったタイの魚醤 (ナンプラー) も DPPH ラジカル消去能は 300

DPPHラジカル消去能
(nmolTrolox相当量/ml)

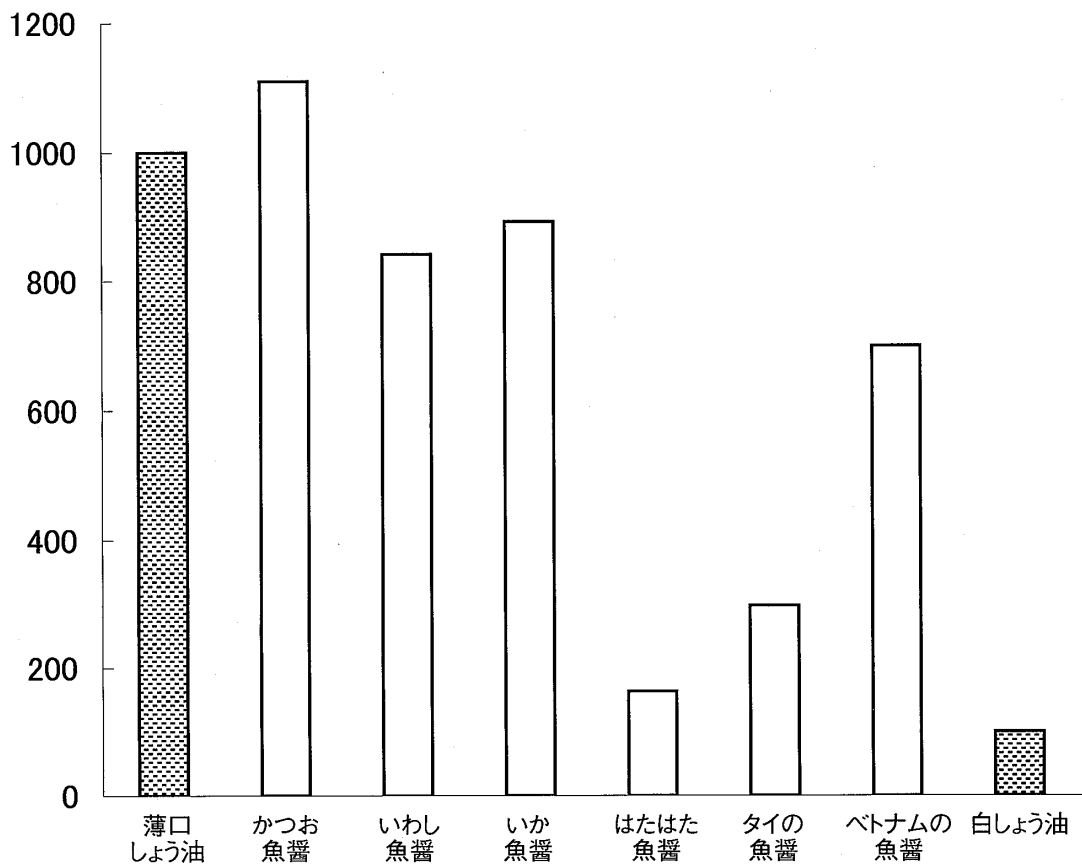


図 3 魚醤のDPPHラジカル消去能

表 1 魚醤試料

試料名	原材料	別名
かつお魚醤	かつお・大豆・小麦・食塩・アルコール	
いわし魚醤	いわし・食塩	よしる
いか魚醤	いか・食塩	いしる
はたはた魚醤	はたはた・食塩	しょつつる
ベトナムの魚醤	いわし・食塩	ニョクマム
タイの魚醤	魚 (いわし等)・食塩	ナンプラー

nmolTrolox 相当量 / ml で他の魚醬に比べて低値を示した。

かつお魚醬の DPPH ラジカル消去能は、1100 nmolTrolox 相当量 / ml で測定した魚醬の中では最高値を示した。

魚醬は、魚に食塩を加えて漬け込み、内蔵酵素の自己消化によって生成されたエキスに水と食塩を加えて加熱し、濾別して清澄にしたものであり、大豆と小麦あるいは米などの穀類と食塩を原材料とする濃口しょう油、薄口しょう油、白しょう油などとは成分や製造過程が異なる。

従来しょう油では、前報²⁾で示したとおり、しょう油の色調と対応して着色度の高いものほど DPPH ラジカル消去能は高かったが、魚醬の場合は、着色度とのはっきりした関係は認められず、色素以外の成分の違いが抗酸化性に影響しているように思われた。

従来しょう油には、フラボン系やカロテノイド系の色素も一部含まれるが、大部分はアミノカルボニル反応によって生成したメラノイジン系色素と考えられている³⁾。

一方、魚醬では、メラノイジン系色素の他にも原料魚に由来する色素、自己消化によって生成した色素なども色調に関与していると考えられた。

図4に加熱タマネギの色調と DPPH ラジカル消去能を示した。

タマネギは、加熱するにつれて特有の香りや甘味を増すと共に好ましい褐色に変化し、スープやソースなどの素材として広く利用されている。

溝井らは、タマネギの絞り汁を高温加熱したときに起こる褐変反応が、非酵素的で3-デオキシグルコソンを生成するアミノカルボニル反応が中心であること⁵⁾を示している。

生のタマネギの絞り汁の DPPH ラジカル消去能は、130~180 nmolTrolox 相当量 / ml⁵⁾であったが、加熱して黄色~あめ色~茶色に褐変が進行するにつれて DPPH ラジカル消去能は上昇した。

玉木らは、タマネギを褐変するまで炒めたときの性状変化を調べた実験で、出来上がり量が40%から20%へと減少する過程で色調が急激に変化する⁶⁾ことを報告している。

タマネギを十分に褐変するまで炒めることは、タ

DPPHラジカル消去能
(nmolTrolox相当量/ml)

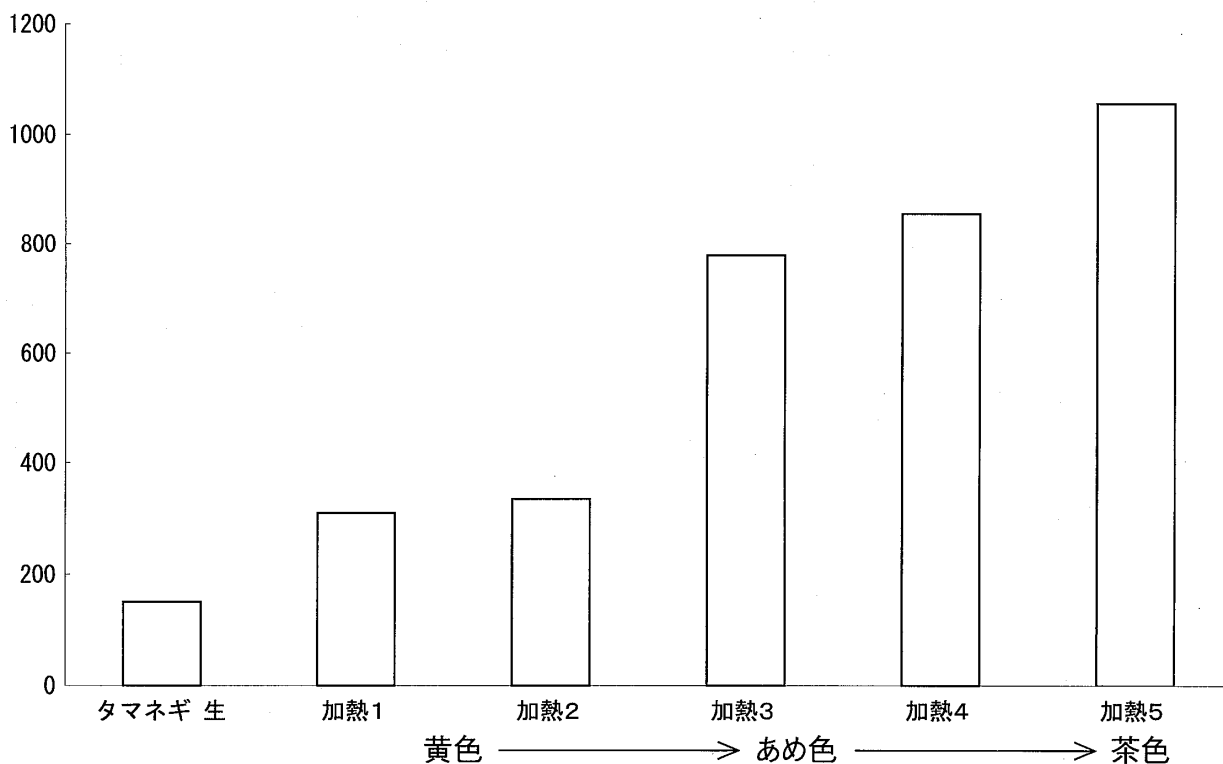


図4 加熱タマネギのDPPHラジカル消去能

マネギの調理・加工において独特の甘味や香ばしい香りを引き出すだけでなく、抗酸化性の発現につながることを示唆された。

要 約

グルコースとグリシンによるアミノカルボニル反応で生成した褐変物質、ショ糖のカラメル化反応によって生成した褐変物質、魚醬に含まれる褐変物質、タマネギを加熱して得られる褐変物質について DPPH ラジカル消去能を測定し、次のような結果を得た。

1. pH5.0、6.0、7.0および7.4で0.5M-グルコースおよびグリシンの等量混液を加熱し、アミノカルボニル反応を行ったところ、pHが高いほど着色度が高く、着色度が高いほど DPPH ラジカル消去能も高くなった。
着色度を示す440 nmにおける吸光度と DPPH ラジカル消去能の間には $r=0.993$ の非常に高い正の相関関係が認められた。
2. カラメル化によって着色した糖液でも、着色が進行するにつれて DPPH ラジカル消去能は高くなった。
着色度を示す440 nmにおける吸光度と DPPH ラジカル消去能の間には $r=0.882$ の非常に高い正の相関関係が認められた。
3. アミノカルボニル反応による褐変物質とカラメル化による褐変物質を比較すると、アミノカルボニル反応による褐変物質の方が抗酸化性は高いことが推測された。
4. 薄口しょう油や白しょう油と同程度の着色を示す魚醬に含まれる褐色物質にも DPPH ラジカル消去能が認められたが、抗酸化性は着色物質以外の成分も関与していることが示唆された。
5. タマネギを加熱し、黄色～あめ色～茶色と褐変が進行するに従って DPPH ラジカル消去能は上昇した。

文 献

- 1) 下橋淳子、寺田和子：駒沢女子短期大学研究紀要, 35, 37 (2002)
- 2) 須田郁夫：抗酸化機能①分光学的抗酸化機能評価, 篠原和毅 他編, 食品機能研究法, 光琳, 218 (2000)

- 3) H. Lingnert, G. Hall: Proceedings of 3rd International Symposium on Maillard Reaction (Japan) 273 (1986)
- 4) 加藤博通：第4章非酵素的褐変現象の化学, 木村進 他編, 食品の変色の化学, 光琳, 291 (1995)
- 5) 溝井雅子、澤山茂、川端晶子、本間清一：栄食誌, 45, 5, 441 (1992)
- 6) 玉木雅子、鶴飼光子：日本家政学会誌, 54, 1, 69 (2003)