報 文

トコフェロールの酸化防止効果向上に
関する研究 (第 13 報)

マーガリンにおけるアミノ酸との相乗効果

青山 稔*・丸山 武紀*・兼松 弘*・新谷 勲*
塚本 正人**・東海 林 茂**・松本 太郎***

* 財団法人日本食品油脂検査協会 (〒103 東京都中央区日本橋浜町 3-27-8)

** 月島食品工業株式会社 (〒134 東京都江戸川区東葛西 3-17-9)

*** 日本大学理工学部 (〒101 東京都千代田区神田駿河台 1-8)

Studies on the Improvement of the Antioxidant Effect of
Tocopherols. XIII.
Synergistic Effect of Amino Acids on MargarineMinoru AOYAMA*, Takenori MARUYAMA*, Hiromu KANEMATSU*, Isao NIIYA*,
Masato TSUKAMOTO**, Shigeru TOKAIRIN**, and Taro MATSUMOTO**** Japan Institute of Oils & Fats, Other Foods Inspection, Foundation
(3-27-8, Nihonbashi-Hamacho, Chuo-ku, Tokyo)** Tsukishima Foods Industrial Company, Ltd.
(3-17-9, Higashikasai, Edogawa-ku, Tokyo)*** Faculty of Science and Technology, Nihon University
(1-8, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo)

The synergistic effects of tocopherol (Toc) and 19 kinds of amino acids on the oxidative deterioration of emulsified fatty foods were investigated. Margarine, as an emulsified fatty food, was prepared from aqueous phase with amino acids, insoluble to fat, and lard with vitamin A, β -carotene and the mixture of *d*-Toc (*m*-Toc). Its stability toward oxidative deterioration was evaluated on the basis of change in POV and content of vitamin A and β -carotene during storage at 25°C.

1) All amino acids contributed to enhance the effects of *m*-Toc on the oxidative deterioration of margarine. In particular, the addition of L-histidine (His) along with *m*-Toc caused its effect on margarine to be strongest, followed by those of L-tryptophan (Trp), L-lysine (Lys) and L-methionine (Met), whose effects were superior to that of dibutyl hydroxytoluene alone.

2) During storage at 25°C, all amino acids showed the somewhat protective effect of Toc on oxidative decomposition in margarine, particularly the effect of His was strongest, followed by those of Trp, Lys and L-phenylalanine.

3) During storage at 25°C, Met was oxidized most rapidly in margarine, and could no longer be detected after 9 months. However, methionine sulfoxide, the oxidative product of Met, appeared relatively stable and served to enhance the protective effects of *m*-Toc on the oxidative deterioration of margarine.

1 結 言

アミノ酸は油脂に不溶のため、さきにそのメチルエステルの形でモノグリセリドを媒体とする手法により均一

前報: 油化学, 36, 662 (1987)

に混和し, そしてオープン試験及び AOM 試験でそれらの酸化防止性及びトコフェロール (Toc) との相乗性について報告した。これに対し, 水と油の乳化系では, アミノ酸は遊離の形のまま水に溶解できるが, その酸化防止効果及び Toc との相乗効果は乳化剤の種類²⁾や乳

化状態⁹⁾に影響されるといわれている。この点マーガリンは微細な水滴が油相に均一に分散した油中水型の乳化油脂食品であり、水相と油相の接触面積が非常に大きいので、食塩由来の酸化促進性金属イオンの影響⁴⁾もあるが油脂の酸化安定性に対するアミノ酸の効果を調べるには適した基質とも考えられる。また、アミノ酸はタンパク質の構成成分なので体内に取り込まれても、また資源的にも問題がないので、マーガリンの酸化変敗に対する Toc の効果向上に有効であれば、実用性は高いと考えられる。

そこで、前報¹⁾のオープン試験及び AOM 試験の結果に基づき、個々のアミノ酸を Toc と併用して試作したマーガリンの 25°C 保存試験によって Toc との併用効果を比較検討した。

2 実 験

2.1 試料及び試薬

マーガリンの原料油脂並びに副原料として使用した食塩、ビタミン A パルミチン酸エステル、 β -カロテン、デヒドロ酢酸ナトリウム、乳化剤及び酸化防止剤の天然濃縮 Toc (m-Toc) はいずれも前報⁹⁾と同種のものである。

アミノ酸は和光純薬工業(株)製のグリシン (Gly), L-トレオニン (Thr), L-グルタミン酸 (Glu), L-メチオニン (Met), L-トリプトファン (Trp), 及び半井化学薬品(株)製の L-アスパラギン酸 (Asp), L-セリン (Ser), L-プロリン (Pro), L-アラニン (Ala), L-シスチン (Cys), L-バリン (Val), L-イソロイシン (Ile), L-ロイシン (Leu), L-チロシン (Tyr), L-フェニルアラニン (Phe), L-リシン (Lys), L-ヒスチジン (His), L-アルギニン (Arg), L-ヒドロキシプロリン (Hyp) の計 19 種の試薬特級を使用した。

2.2 マーガリン

マーガリンの基本的配合割合、ビタミン A 及び β -カロテンの添加量 (それぞれ試料 100 g 当たり 6,000 国際単位及び 0.5 mg) 並びにその調製方法は前報⁹⁾と同じである。

マーガリンへの m-Toc 及びアミノ酸の添加量は 0.02 % 及び 100 ppm とし、m-Toc は油相、アミノ酸は水相に添加した。このようにして m-Toc 単独及びさらに各アミノ酸を加えた試料並びにこれらを加えない対照試料をそれぞれ 1 kg ずつ調製した。

2.3 方 法

マーガリン試料の酸化安定性は 25°C 保存試験による過酸化価 (POV)⁶⁾、ビタミン A⁷⁾ 及び β -カロテン⁸⁾ の経時変化から評価した。

Toc は高速液体クロマトグラフィー法⁹⁾、アミノ酸は 0.05 N 塩酸で試料から抽出したのち高速アミノ酸分析

計法¹⁰⁾によってそれぞれ経時的に分析した。

3 結果及び考察

3.1 マーガリンに対する m-Toc とアミノ酸の併用効果

0.02% の m-Toc と 100 ppm の各アミノ酸を併用したマーガリンの 25°C 保存中における POV の経時変化を Fig.-1 に示す。m-Toc 添加で POV 上昇が著しく抑制されることは前報⁹⁾のとおりであるが、さらにアミノ酸を加えるといずれも効果向上を示した。その程度をアミノ酸間で比較すると、Cys 及び Asp はわずかな向上しか示さないが、His はもっとも大きく、Trp, Lys 及び Met もそれについて効果的であった。Trp, Lys 及び Met の Toc との併用効果が比較的大きいことは豚脂を用いたメチルエステルによるオープン試験の結果¹⁾とも一致するが、そのオープン試験では His の場合はあまり効果的ではなかった。しかし、渡辺ら¹¹⁾はリノール酸を基質とする溶液系の実験で His の Toc との相乗効果が相当大きいと報告していることから含水系では His の Toc との併用効果が大きくなると推察される。また、オープン試験¹⁾ではもっとも効果的であった Pro がマーガリンではあまり効果的でなかったことも乳化系と非水系による相異と思われる。

ビタミン A 残存率に及ぼす各アミノ酸の m-Toc との併用効果を Table-1 に示す。ビタミン A の安定化に対する m-Toc の効果は各アミノ酸との併用で向上することを示し、その程度は Cys 及び Asp が比較的小さ

Fig.-1 Effects of amino acids along with the mixture of d-tocopherols on the oxidation of margarine during storage at 25°C.

Table-1 Effects of amino acids along with the mixture of *d*-tocopherols on the stability of vitamin A in margarine during storage at 25°C.

Mixture of <i>d</i> -tocopherols added (%)	Amino acid added (100 ppm)	Remnant (%)		
		3 m	5 m	7 m
0	No addition	16.4	12.1	6.9
0.02	No addition	95.5	78.8	60.1
0.02	Cys, Asp	96.1	83.9	73.3
0.02	Ile, Glu, Pro, Hyp	96.7	85.4	77.4
0.02	Thr, Val, Arg, Ala, Gly, Ser	97.3	88.2	81.4
0.02	Leu, Tyr	98.0	90.7	84.1
0.02	Lys, Met, Phe, Trp	98.5	92.4	87.3
0.02	His	98.7	94.1	92.0

Cys : L-Cystine Gly : Glycine
 Asp : L-Aspartic acid Ser : L-Serine
 Ile : L-Isoleucine Leu : L-Leucine
 Glu : L-Glutamic acid Tyr : L-Tyrosine
 Pro : L-Proline Lys : L-Lysine
 Hyp : L-Hydroxy proline Met : L-Methionine
 Thr : L-Threonine Phe : L-Phenylalanine
 Val : L-Valine Trp : L-Tryptophan
 Arg : L-Arginine His : L-Histidine
 Ala : L-Alanine

Table-2 Effects of amino acids along with the mixture of *d*-tocopherols on the stability of β -carotene in margarine during storage at 25°C.

Mixture of <i>d</i> -tocopherols added (%)	Amino acid added (100 ppm)	Remnant (%)		
		3 m	5 m	7 m
0.02	No addition	50.3	34.0	22.1
0.02	Cys, Asp	65.5	48.1	35.9
0.02	Ile, Glu, Pro	68.4	54.7	41.9
0.02	Leu, Tyr, Thr, Val, Arg, Ala, Hyp, Gly	77.1	56.4	47.3
0.02	Met, Lys, Ser, Phe	81.4	66.7	56.0
0.02	Trp	82.7	68.8	63.9
0.02	His	86.3	82.2	78.1

For abbreviations see **Table-1**.

いのに対し、His がもっとも大きく、ついで Lys, Met, Phe 及び Trp も効果的であった。これらの結果は POV の場合とほぼ対応している。また β -カロテンの場合は **Table-2** に示すようにビタミン A に比較すると残存率は低いものの各アミノ酸による m-Toc の安定化効果の向上傾向は類似していた。

以上の結果から、マーガリンに対する Toc の酸化防止効果向上にもっとも有効なアミノ酸は His であり、その効果は L-アスコルビン酸ステアリン酸エステルの場合⁹⁾ にほぼ匹敵し、合成酸化防止剤のジブチルヒドロキソトルエン (BHT) 単独より優れている。さらに m-Toc の Trp, Lys 及び Met との併用も BHT に代わる有効な酸化防止剤として利用できることがわかった。

3.2 Toc 及びアミノ酸の残存率

マーガリンに添加した Toc 及び各アミノ酸の 25°C 保存 5 か月後の残存率を **Table-3** に示す。Toc 残存率では、m-Toc 単独の場合は 5 か月後に 65% 残存したが、その残存率ほどのアミノ酸と併用した場合でも増加する傾向を示した。なかでも His との併用の場合が約 90% と最高の残存率を示し、ついで Trp, Lys 及び Phe の場合が比較的高かったのに対し、Cys, Asp 及び Glu は 80% 未満ともっとも低い水準であった。この傾向は油脂、ビタミン A 及び β -カロテンに対する酸化防止効果の傾向に類似していることから、アミノ酸はそれ自体の酸化防止力もあるが、主として Toc を安定化することによりその酸化防止効果を向上させると考えられる。J. Cillard ら¹²⁾ はアミノ酸のキレート化作用により α -Toc の酸化促進性が阻止されると述べており、キレート化による酸化促進性金属イオンの不活性化が Toc の安定化の一因であろう。一方、アミノ酸の残存率では、Hyp が約 75% と最高であるのに対し、Met は 17.5% ともっとも低かったが、m-Toc との併用効果が Met とほぼ同等の Lys は 33.8% 残存していた。また、m-Toc との併用によるマーガリンの酸化防止効果をもっとも低い Cys と、それとほぼ同等の Asp の場合もそれぞれ 41.0 及び 67.1% と相異がみられた。しかし、アミノ酸はいずれも共存する Toc より残存率が明らかに低いことから、Toc より速やかに酸化されることによっても Toc を安定化するように思われるが、その酸化安定性は Toc に対する効果とは関連がみられなかった。

m-Toc と併用したマーガリンの酸化過程でもっとも不安定なアミノ酸の Met について、25°C 保存中の経時変化をアミノ酸分析計で分析した結果を **Fig-2** に示す。保存期間の経過とともに Met は 4 か月後までほぼ直線的に減少し、その後の減少は多少なだらかなるが 9 か月後に消失した。これに対し、Met の酸化生成物として認められたのはメチオニンスルホキシドのみであり、その含量は Met の減少傾向にほぼ対応して増加したが、3 か月後からその増加が鈍り 6 か月を過ぎると逆にわずかながら減少する傾向を示した。また両物質の合計値は初期にはほとんど変化しないが、3 か月を過ぎると次第に減少する傾向を示した。名武¹³⁾ はリノール酸の自動酸化で添加した Met が酸化されてメチオニンスルホキシドのみを生成すること、そしてこの酸化生成物は Met より酸化に対して安定で、しかもわず

Table-3 Remnant ratios of total tocopherols and individual amino acid in the margarine added them at 5 months after storage at 25°C.

Mixture of α -tocopherols added (%)	Amino acid added (100 ppm)	Remnant (%)	
		T-Toc	Amino acid
0.02	No addition	65.0	
0.02	Cys	78.5	41.0
0.02	Glu	77.9	51.5
0.02	Asp	79.1	67.1
0.02	Arg	81.3	48.1
0.02	Hyp	81.0	74.9
0.02	Ile, Val	83.0	39.8
0.02	Pro	82.9	55.1
0.02	Ala	83.1	71.4
0.02	Leu, Tyr, Thr, Gly	86.4	53.2
0.02	Met	86.9	17.5
0.02	Ser	87.4	60.7
0.02	Trp, Lys, Phe	88.7	33.8
0.02	His	90.2	49.3

T-Toc : Total tocopherols

For other abbreviations see Table-1.

Fig.-2 Time course of oxidative deterioration of L-methionine in the margarine added it along with the mixture of α -tocopherols during storage at 25°C.

かながら酸化防止効果を示すことを報告している。従っ

て Met を m-Toc と併用した場合を Lys の場合と比較すると、5 か月後の Toc の残存率では Lys のほうがやや高く、Met のほうが速やかに消失するが、生成したメチオニンスルホキシドが m-Toc の効果向上に多少寄与するため結果としてマーガリンに対する酸化防止効果には差がなかったものと推察される。

なお、以上の結果は豚脂を用いて試作したマーガリンを用いて得られたもので、前報¹⁾ オープンでは同じアミノ酸でも動物性の豚脂と植物性のパーム油では異なる結果を示したことから最近家庭用マーガリン¹⁴⁾のほとんどを占める高リノール型植物性マーガリンに対する効果についても検討する予定である。

終わりに、本報の分析に協力を得た(財)日本食品油脂検査協会、木下葉子、牛草寿昭、館野朱美の諸君に深謝する。

(昭和 62 年 6 月 5 日受理)

文 献

- 1) 青山 稔, 丸山武紀, 兼松 弘, 新谷 勲, 塚本正人, 東海林茂, 松本太郎, 油化学, **36**, 662 (1987)
- 2) T. Risom, R.J. Sims, J.A. Fioriti, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 354 (1980)
- 3) 湯木悦二, 石川行弘, 吉和哲朗, 油化学, **23**, 714 (1974)
- 4) D. Gregory, *Food*, **6** (6), 18 (1984)
- 5) 青山 稔, 丸山武紀, 兼松 弘, 新谷 勲, 塚本正人, 東海林茂, 松本太郎, 油化学, **35**, 449 (1986)
- 6) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法”, 2.4.12-71
- 7) 農林省告示第 522 号 (昭和 29 年 7 月 28 日): 最終改正 農林水産省告示第 932 号 (昭和 60 年 6 月 22 日)
- 8) 丸山武紀, 牛草寿昭, 兼松 弘, 新谷 勲, 今村正男, 食衛誌, **18**, 489 (1977)
- 9) 兼松 弘, 牛草寿昭, 丸山武紀, 新谷 勲, 麓 大三, 豊田 健, 川口良成, 森井健三, 渡辺 寿, 土肥由長, 町田芳章, 石川雅夫, 松本太郎, 油化学, **31**, 456 (1982)
- 10) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編, “食品分析法”, 光琳 (1982), p. 497
- 11) 渡辺幸雄, 綾野雄幸, 栄養と食糧, **25**, 621 (1972)
- 12) J. Cillard, P. Cillard, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 1165 (1986)
- 13) 名武武昌, 栄養と食糧, **24**, 63 (1971)
- 14) 兼松 弘, 丸山武紀, 新谷 勲, 栄食誌, **37**, 188 (1984)