Maillard 反応生成物の栄養生理的研究†

グエン・ヴァン・チュエン

(桜美林短期大学)

一般に, Maillard 反応は初期段階と後期段階とに分けられる。初期段階とはこの反応によってアミノ化合物とカルボニルとの間に縮合物ができる段階であり, 後期段階とは高分子の生成物(メラノイジン)が生成する段階である(Fig. 1)。この両段階での生成物は生体に対して栄養生理的影響を与えることが知られている。この問題については加藤ら⁽¹⁾, 並木⁽²⁾によって広範囲にわたって論じられているので, 本稿ではごく最近の研究成果を含めたトピックス的な課題だけを取り上げ, まとめることにしたい。すなわち, Maillard 反応によって生成される低分子成分と生体, 修飾タンパク質の栄養価, それにメラノイジンの栄養生理的效果に限定して述べる。

1. Maillard 反応生成物の低分子成分と生体

Maillard 反応生成物の低分子成分の栄養生理的研究は比較的少なく, その中心的な研究はアマドリ転位生成物について行われた。Finot ら⁽³⁾は3種のアマドリ転位生成物(ϵ -N-deoxyfructosyl-L-lysine, α -deoxyfructosyl-L-lysine, α -N, ϵ -N-dideoxyfructosyl-L-lysine)をラットに投与したが, 3種ともほとんど利用されずに尿および糞に排泄された。また, ϵ -N-deoxyfructosyl-¹⁴C-L-lysine はラットに静脈注射すると8時間後には, 大部分が尿に排泄される。さらに, オートラジオグラフィでラット体の放射能を測定した結果, 尿に排泄される前にほとんどの放射能は腎臓に蓄積することがわかった。Perkins ら⁽⁴⁾は fructose-¹⁴C-phenylalanine をラットに与えた3時間後に, ラットの肝臓, 糞, 尿中の放射能を測定したところ, 約80%が尿中に排泄された。また, ラットの飼料中に抗生物質を添加して腸内細菌の影響を除外すると, 48時間後に15%の放射能が尿中に検出されたが対照群では約70%が検出された。これらの結果

から, アマドリ転位生成物は腸内細菌によって分解されたあと吸収されることがわかる。さらに, 尿中に排泄された¹⁴C含有代謝生成物を調べたところ, 3種の化合物が存在し, そのなかの主要な生成物は phenyllactic acid と同定された。一方, protein-bound fructosyl-lysine について調べた結果, その大部分は尿中に排泄されることがわかった^(3,5)。最近, Baynes ら⁽⁶⁾は, fructose-lysine の誘導体である N^α-formyl-N^ε-fructose-lysine を15日間, 生理的条件下で貯蔵すると, この化合物の酸化分解によってC-2, C-3間が開裂して, N^ε-carboxymethyllysine と erythronic acid が40%の収率で得られると報告した。また, この両生成物は人間の尿にも検出され, 今後, この種の生成物と生体との関連について解明する必要がある。

一方, Maillard 反応によって生成する α -ジカルボニルも栄養生理的側面から考慮する必要がある。たとえば methylglyoxal はきわめて低濃度で, すべての細胞の増殖を阻害することが知られている。生体中の glyoxalase 系の酵素は, methylglyoxal を α -ヒドロキシン酸に変換することによって解毒効果を示す⁽⁷⁾。Maillard 反応においては, α -ジカルボニル化合物, たとえば 3-deoxy-glucose, glyoxal, methylglyoxal, diacetyl などが生成する

Fig.1 Generation Mechanism of Amadori Compound, α -Dicarbonyl Compounds and Melanoidin from Maillard Reaction.

† Nutritional and Physiological Aspects of Maillard Reaction Products.
Nguyen van Chuyen (Obirin College, Machida 194-02)

が、これらの生成物が腸管によって吸収されるかどうか、また生体に対してどのような影響を与えるかを慎重に調べ直す必要があるだろう。

2. Maillard 反応によって修飾されたタンパク質の栄養価

タンパク質が還元糖あるいはカルボニルと反応すると、まず、タンパク質中のリジン、アルギニン、トリプトファン、ヒスチジン、メチオニンなどが損傷を受けて減少し、また、タンパク質はカルボニルによって架橋結合 (cross linking) が形成され、それによってタンパク質の栄養価が低下することが知られている。また、Maillard 反応によって修飾されたタンパク質のタンパク効率比 (PER) を測定するとほとんどの場合、PER 値は低下するが減少したアミノ酸を補足すると PER 値が回復する場合が多い⁽⁸⁾。Kimiagar⁽⁸⁾ は長期間 (12 カ月) にわたってラットに褐変した卵白アルブミンを与え、体重増加量、血清成分、各組織の酵素活性の変化を調べた。その結果、1 カ月目は対照群と実験群の間には差がなかったが、2 カ月目から実験群のほうが体重増加量が低くなった。また、血清中の GOT, AP (alkaline phosphatase), BUN (blood urea nitrogen), 尿の比重が高くなるとともに、ヘモグロビンおよびヘマトクリット水準が低くなることがわかった。さらに、6 ないし 12 カ月投与すると、対照群と比べ実験群の体重増加量は減少し、肝臓、腎臓、心臓、肺、胃、盲腸などの各臓器の体重重量比が増加した。この実験においては、対照として未変性アルブミンを用いたほか未変性アルブミン-非必須アミノ酸の (1:1) 混合系を用いており、これらとの比較においても実験群において体重増加量の抑制が確認された。これらの結果から、体重増加量の抑制は単なるアミノ酸の損傷だけによるのではなく Maillard 反応生成物にその作用が示されるのではないかと推測された。

著者らの実験によればカゼインとカルボニル化合物 (グルコース、ジアセチルまたはヘキサナール) とを 50°C, RH 75% の条件下で反応させた後、その非透析性カゼインに減少したアミノ酸を補足してからラットに pair-feeding で与えて、2 カ月間飼育した結果、対照群と比較して、実験群には体重増加の抑制が見られたが血液成分の GOT, GPT, ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、コレステロール、中性脂肪などには有意差はなかった (Table I)⁽⁹⁾。また、成熟ラットに対しても同様な結果が得られた⁽¹⁰⁾。この体重増加抑制作用について

Table I Effects of Nondialyzable Modified Casein on Wistar Rats Paired Fed for 2 Months

	Control n=5	CG-7+AA n=5
Weight gain		
2 months	89.0±1.3	49.6±2.9*
1 month	(44.1±0.4)	(23.1±1.5)
g/day	1.6±0.0	0.8±0.1*
PER	2.74±0.03	1.61±0.07**
Hematocrit (%)	44.4±1.3	43.4±1.4
Erythrocyte (×10 ⁴ /μl)	687±19	719±24
Leucocyte (×10 ² /μl)	24.4±1.9	45.9±7.0**
HGB (g/dl)	13.5±0.6	16.0±0.9**
Biochemical component in serum		
Total cholesterol(mg/dl)	75.9±5.3	92.5±6.3
Triglyceride (mg/dl)	281±33	306±46
GPT (Karmen unit)	16±1	21±4
GOT (Karmen unit)	105±7	112±8

* Statistically significant ($p < 0.01$).

** Statistically significant ($p < 0.05$).

CG-7+AA : nondialyzable glucose modified casein (7 days)+amino acids.

は現在未知の点が多いが、1 つ考えられることは修飾タンパク質の消化・吸収の過程における作用である。たとえば、修飾されたカゼイン⁽⁹⁾やリゾチーム⁽¹¹⁾は、*in vitro* でペプシン-パンクレアチンと 22 時間反応させても、対照のタンパク質に比較して、消化率はほとんど同じだが、消化過程においては修飾タンパク質のほうが加水分解速度が遅いことがわかった⁽¹⁰⁾。また、*in vivo* では、修飾タンパク質のほうが消化吸収率が低いことも明らかになった⁽¹⁰⁾。さらに、修飾されたカゼインをラットに与え、2 時間後に、門脈および動脈血中のアミノ酸を調べた結果、対照群と比較してアミノ酸吸収のパターンが異なり⁽¹²⁾、また尿あるいは糞に排泄されたアミノ酸量は対照群より多かった⁽¹³⁾。この結果から修飾タンパク質においては、生体内アミノ酸の利用効率は低下したが、その理由については現在まだ不明である。

3. メラノイジンの栄養生理的效果

Maillard 反応の最終生成物であるメラノイジンは栄養生理的效果の面で最近注目されている。五明ら⁽¹⁴⁾はメラノイジンには食物繊維と同様な作用があり、ラット腸内の乳酸菌の増殖促進作用があると報告した。また、glucose/glycine 系のメラノイジンは血液・肝臓中のコレステロール・レベルに対して抑制効果があると報告している⁽¹⁴⁾。竹内ら⁽¹⁵⁾は glucose/lysine 系のメラノイジンをラットに与えたところ五明らと同様な結果が得られ

Table II Effect of Melanoidin on Digestive Enzyme

Sample	Method	Enzyme	Effect	Reference
Melanoidin of glucose-lysine reaction	<i>in vitro</i>	Lactase, Invertase, Maltase, Trehalase, Carboxypeptidase A, Carboxypeptidase B, Aminopeptidase N, Trypsin	Inhibited	Oste ^(17,18)
Melanoidin of glucose-glycine reaction	<i>in vivo</i> (rat)	Sucrase, Maltase, Lactase	Activated	Gomyo ⁽¹⁹⁾
Browned skim milk	<i>in vivo</i> (rat)	Trypsin, Chymotrypsin	Activated	Schnee-man ⁽²⁰⁾

Table III Decrease in Nitrite and Inhibition of the Formation of Nitrosamine by Melanoidin

Melanoidins		Decrease in nitrite (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.1
Nondialyzable melanoidins		29.0±3.1 ^a	27.8±2.9	5.3±1.0	1.7±0.8
		99.0±0.2 ^b	95.1±0.6	61.9±8.4	21.4±1.9
		Inhibition (%) [*]			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.1
Nondialyzable melanoidins	NDEA	99.1±0.4	99.0±0.2	30.9±7.6	66.7±4.6
	NPYR	60.6±1.4	82.8±1.9	34.8±7.6	55.9±3.2

^a Melanoidins (10 mg) were treated with nitrite (34.5 mg) in 10 ml of each pH solution at 37°C for 2 hr.

^b Melanoidins (10 mg) were treated with nitrite (276 µg) in 10 ml of each pH solution at 37°C for 1 hr. Data are the average of three determinations±standard deviation.

^{*} Melanoidins (10 mg) were treated with nitrite (34.5 mg) and diethylamine (9.1 mg) or pyrrolidine (8.9 mg) in 10 ml of each pH solution at 37°C for 2 hr. NDEA, N-nitrosodiethylamine; NPYR, N-nitrosopyrrolidine.

Data are the average of three determinations±standard deviation.

た。また、吸収されたメラノイジンは腎臓にたまり、その結果、腎臓の色は黒っぽくなる。Sephadex G-75 のゲル濾過による分析の結果、腎臓中にはメラノイジンが 0.5 mg/g たまっていることがわかった。しかし、現在、メラノイジンと腎臓機能との関係についてはよくわかっていない。本間ら⁽¹⁶⁾は glucose/glycine 系のメラノイジンを 2% ラットに与えて調べたところ、ラットの体重増加量、飼料摂取量、尿中窒素量などは対照群と有意差がなかった。また、タンパク質と脂質の消化に対する影響についても調べたが、タンパク質の消化率は若干低下した有意差は見られなかった⁽¹⁶⁾。

ラットの体重増加量と栄養素の消化・吸収とは当然、密接な関連があると考えられる。メラノイジンとラット腸内または腸粘膜の酵素との関係について多数の研究が行われているが、まだ未知の部分が多い。*in vitro* あるいは *in vivo* でのメラノイジンの酵素に与える影響は Table II に示してあるが、*in vitro* と *in vivo* での結果にはかなりの違いがある。今後、*in vivo* でメラノ

イジンを含めた Maillard 反応生成物と腸内酵素との関連性についてさらに研究する必要があると思われる。

近年、Maillard 反応による変異原性物質の生成がよく知られるようになった。Shibamoto ら⁽²¹⁾、Omura ら⁽²²⁾ はアミノ酸-還元糖反応より弱い変異原性が生成することを報告した。一方、Kato ら⁽²³⁾ はメラノイジンが Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 および IQ に対して抗変異原性を示すことを報告した。さらに、メラノイジンは亜硝酸塩を減少させる作用があり、ニトロソアミン生成の抑制作用も示すことがわかった⁽²⁴⁾ (Table III)。

変異原性または抗変異原性に関して、Maillard 反応生成物には両面性があるので、今後、食品の安全性の面からこの点についてさらに詳しい研究が必要と思われる。

一方、Maillard 反応生成物は食品系で抗酸化性を示すことがよく知られているが、生体内における抗酸化作用の有無については全く知られていない。そこで、著者ら⁽²⁵⁾ はアルギニン/グルコース混合液を 100°C、2 時間加熱した後、これを凍結・粉末化し飼料に 6% 添加し

た。Wistar 系ラットに2カ月間、自由摂取飼育後、解剖して赤血球を分離し、ジアルル酸溶血試験および肝臓中の過酸化脂質(TBA値)の量を測定した。その結果、アルギニン-グルコース生成物を添加することによって赤血球の溶血量およびTBA値が有意に低い値を示し、Maillard 反応生成物は生体内でも抗酸化性を示し、過酸化脂質の生成を抑制できることがわかった。

おわりに

一般に、食品中にはアミノ酸、ペプチド、タンパク質およびカルボニル化合物が含有されているので、加工・貯蔵・調理時には必ず Maillard 反応が進行する。そういう意味では、食生活と Maillard 反応とは非常に密接なかかわりがあるといえる。従来、この反応について化学的側面からの研究はかなりなされており、Maillard 反応の化学として系統的に説明できるようになった。反面、この反応の栄養生理的研究は遅れており、基本的な部分、たとえば Maillard 反応生成物の消化・吸収および生体内の代謝についてはまだよくわかっていない。また、生体に対する影響についても未知の部分が多い。健康な食生活を営むためには、食品の機能を改善したり、制御したりする必要があるが、これらの観点から考えても今後ますます Maillard 反応の栄養生理的研究の進展が期待される。

- (1) 加藤博通, 田島 眞:「食品工業における科学・技術の進歩(II)」, 日本食品工業学会編, 光琳, 1986, p.21.
- (2) 並木満夫:「食品の加工と栄養科学」, 日本農芸化学会編, 朝倉書店, 1986, p.4.
- (3) P. A. Finot and E. Magnenat: *Prog. Food Nutr. Sci.*, **5**, 193 (1981).
- (4) E. G. Perkins, D. H. Baker, G. H. Johnson and E. Makowski: *Prog. Food Nutr. Sci.*, **5**, 229 (1981).
- (5) B. Mori: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 2071 (1978).
- (6) M. U. Ahmed, S. R. Thorpe and J. W. Baynes: *J. Biol. Chem.*, **261**, 4889 (1986).
- (7) 村田幸作, 木村 光: 蛋白質 核酸 酵素, **31**, 1010 (1986).
- (8) M. Kimiagar, T. C. Lee and C. O. Chichester: *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 150 (1980).
- (9) 宇都宮信子, グュエン・ヴァン・チュエン, 加藤博通: 日本農芸化学会昭和 60 年度大会講演要旨集, 1985, p.515.
- (10) 宇都宮信子, グュエン・ヴァン・チュエン, 加藤博通: 未発表.
- (11) H. Kato, N. V. Chuyen, N. Utsunomiya and A. Okitani: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 55 (1986).
- (12) グュエン・ヴァン・チュエン, 宇都宮信子, 加藤博通: 日本農芸化学会昭和 60 年度大会講演要旨集, 1985, p.514.
- (13) グュエン・ヴァン・チュエン, 宇都宮信子, 加藤博通: 日本農芸化学会昭和 61 年度大会講演要旨集, 1986, p.212.
- (14) 五明紀春, 三浦理代: 日本栄養・食糧学会誌, **36**, 331 (1983).
- (15) H. Takeuchi, Y. Nishioka, M. Fujishiro and K. Muramatsu: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 969 (1987).
- (16) S. Homma and M. Fujimaki: *Prog. Food Nutr. Sci.*, **5**, 209 (1981).
- (17) R. E. Oste, I. Bjork, A. Dahlqvist, M. Jagerstad and P. Sjodin: *ACS*, 1983, p.21.
- (18) R. E. Oste, A. Dahlqvist, H. Sjostrom and R. Miller: *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 356 (1986).
- (19) T. Gomyo and M. Miura: *Proc. 3rd Int. Symp. Maillard Reaction*, 1986, p.549.
- (20) B. O. Schneeman and G. Dunaif: *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 477 (1984).
- (21) S. Mihara and T. Shibamoto: *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 62 (1980).
- (22) K. Shinohara, E. H. Kim and H. Omura: *Proc. 3rd Int. Symp. Maillard Reaction*, 1986, p.353.
- (23) H. Kato, S. B. Kim, F. Hayase and N. V. Chuyen: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3093 (1985).
- (24) H. Kato, I. E. Lee, N. V. Chuyen and F. Hayase: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1333 (1987).
- (25) グュエン・ヴァン・チュエン, 日高章江, 宇都宮信子, 加藤博通: 日本農芸化学会昭和 62 年度大会講演要旨集, 1987, p.582.