アスコルビン酸ステアリン酸エステルの 抗酸化力と相乗性

山口直彦*・平野真由美**・山口幸寛**

Antioxidative Activity and Synergistic Effect of Ascorbyl Stearate

Naohiko YAMAGUCHI*, Mayumi HIRANO** and Yukihiro YAMAGUCHI**

*Food Research Institute, Aichi Prefectural Government

2-1 Shinpukuji-cho, Nishi-ku, Nagoya-shi, 451

**Hamari Chemicals Ltd.

1-4-29 Kunijima, Higashiyodogawa-ku, Osaka-shi, 533

Antioxidative activity of ascorbyl stearate and/or its synergistic effect on tocopherol and nitrogen containing compounds were investigated on linoleic acid in aqueous system at pH 7.0 and on lard by AOM. The following results were obtained. (1) The antioxidative activity of ascorbyl stearate on linoleic acid was hardly recognized, but its synergistic effect on amino acids and natural tocopherol were observed. (2) A comparison of the antioxidative activities of glycine and three kinds of peptide containing glycine indicates the stronger activity of dipeptide than other peptides and the stronger synergistic effect on ascorbyl stearate. (3) Ascorbyl stearate showed hardly the antioxidative activity on lard by AOM. However, the synergistic effect was observed in the combination of ascorbyl stearate, dl- α -tocopherol and lecithin on lard by AOM. (Received Sep. 18, 1986)

アスコルビン酸はその強い還元性により生体内外において抗酸化力を示し、特に食品においては広くその実用性も認められている。しかしながらアスコルビン酸は水溶性であるために油脂食品の劣化防止という立場で考えた場合、油脂への溶解性が悪く大きな効果は期待できない。このようなことから、油脂への溶解性の大きいアスコルビン酸誘導体の利用が考えられ、わが国ではアスコルビン酸ステアリン酸エステル (AS) が食品添加物として許可されている。綾野ら¹⁾は dl- α -トコフェロール (Toc) と AS とのラードに対する抗酸化力の比較と両者の相乗性を AOM 法で試験している。それによれば AS 単独では抗酸化力を示さず、dl- α -Toc との併用による相乗性を認めている。また、青山ら²⁾は AS と天然 Toc との相乗性をラードとバーム油についてオープン法、AOM 法によって測定している。ラードに対しては AS

の抗酸化力は弱く、また Toc との併用によっても、わずかに誘導期間の延長を示すにすぎないが、バーム油については AS はアスコルビン酸より強い抗酸化力を示したものの Toc との相乗性は認められなかった。さらに今井ら³⁾は各種アスコルビン酸脂肪酸エステルの抗酸化力を大豆油について試験し、その効力は比較的低濃度の $10^{-7} \sim 10^{-8}$ M の範囲でみられ、逆に、それよりも高濃度では酸化を促進すると報じている。

以上の報告から、AS 単独での抗酸化力の弱いことは一致しているが、Toc との相乗性については明確な結論は得られていない。今回、著者らは AS の抗酸化力をリノール酸 (溶液系) 及びラード (非水系) について測定すると同時に Toc 及び含窒素化合物との併用試験を行い著しい相乗性を認めたので報告する。

* 愛知県食品工業試験所 (〒451 名古屋市西区新福寺町 2-1)

** 浜理薬品工業株式会社 (〒533 大阪市東淀川区柴島 1-4-29)

実験方法

1. 実験材料

1) アスコルビン酸ステアリン酸エステル：浜理薬品工業(株)製の食品添加物品である。

2) dl- α -トコフェロール：エーザイ(株)製の食品添加物品である。

3) 天然トコフェロール：エーザイ(株)製の純度 80% (組成 $\alpha=10.3\%$, $\gamma=54.9\%$, $\delta=34.8\%$) 製品である。

4) アミノ酸及びグリシン系ペプチド：アミノ酸は半井化学(株)製の試薬特級品であり、すべて L 体である。ペプチドはシグマ社製である。

5) レシチン：味の素(株)製の食品添加物品で大豆油を 50% 含む。

6) リノール酸：東京化成工業(株)製の抗酸化剤無添加品で純度は 95% 以上である。

7) ラード：抗酸化剤無添加品でヨウ素価 68.2, ケン化価 191.8, 過酸化価 (PV) 5.1 meq/kg である。

2. 測定方法

1) リノール酸に対する抗酸化力の測定：99.5% エタノール 10 ml, M/5 りん酸緩衝液 (pH 7.0) 10 ml, 脱イオン水 5 ml の混合液にリノール酸を 2×10^{-2} M の割合で添加し対照区とした。この溶液を 100 ml の三角フラスコに入れ、密栓し、50°C の恒温器中に保存した。また、アミノ酸及びペプチドは水溶液として、AS 及び Toc はエタノール溶液として添加したが、これら溶液の添加量に応じて、上記エタノール 10 ml, 脱イオン水 5 ml は減じ、常に全量は 25 ml とした。

2) ラードに対する抗酸化力の測定：蔵持科学(株)製の AOM 測定装置を用いて測定した。なお、測定条件は温度 100°C, 通気量は 2.3 ml/秒で PV が 30 meq/kg に達するまでの時間を誘導期間とした。

3) リノール酸の PV の測定⁴⁾：ロダン鉄法によって測定した。本法では 500 nm の吸光値をもって PV とし、その値が 0.3 に達するまでの日数を誘導期間とした。

4) ラードの PV の測定⁵⁾：ウィラー法によって測定した。

実験結果及び考察

1. アスコルビン酸ステアリン酸エステルのリノール酸に対する抗酸化力の測定

(1) AS, 天然 Toc 及び BHA の抗酸化力の比較及び相乗性

結果は Fig. 1 に示す。AS, Toc 及び BHA の各単独区の抗酸化力の比較試験において AS の効力は著しく弱く、ほとんど抗酸化力を示さなかったのに対して Toc には顕著な効力が認められた。即ち、40 日目において PV は 0.4 に達するに過ぎなかった。なお、BHA の抗酸化力は AS と Toc との中間に位置し、25 日頃 PV は 0.3 に達した。次いで、3 種の抗酸化物質の 2 者併用による抗酸化力の変化を測定した結果、AS + Toc 区は著しい相乗性を示し 60 日程度の誘導期間の延長が認められた。

Fig. 1 Comparison of antioxidative activity of ascorbyl stearate with those of BHA and natural tocopherol and synergistic effect of ascorbyl stearate with two other antioxidants on linoleic acid at 50°C

Concentration of each antioxidant is 5 mg.
C: Control Toc: Natural tocopherol AS: Ascorbyl stearate

Fig. 2 Comparison of antioxidative activity of ascorbyl stearate with those of natural tocopherol and glycine and synergistic effect of ascorbyl stearate and natural tocopherol with glycine on linoleic acid at 50°C

Concentration of each antioxidant is 10 mg.
Gly: Glycine

しかしながら、AS + BHA, BHA + Toc の両区には相乗性は認められなかった。

(2) AS, 天然 Toc 及びグリシン (Gly) の抗酸化力の比較及び相乗性

結果は Fig. 2 に示す。(1)の結果と同様に AS の抗酸化力は著しく弱い。一方, Gly の効力も弱く, 12 日目には PV は 0.3 に達した。しかし Toc の抗酸化力は強く, 20 日間の誘導期間が認められた。次いで, Gly と AS, Toc との併用試験を行った結果, 両組み合わせ区とも著しい相乗性を示した。即ち, Toc + Gly 区は 100 日間の試験期間中 PV は上昇せず誘導期間中であり, また AS + Gly 区にも約 3.5 倍の誘導期間の延長が認められた。

(3) AS と各種アミノ酸との抗酸化力の比較及び相乗性

Fig. 3 Comparison of antioxidative activity of ascorbyl stearate with those of amino acids and synergistic effect of ascorbyl stearate with amino acids on linoleic acid at 50°C
 □ : Amino acid,
 ■ : Amino acid + AS
 Amino acid = 2×10^{-3} M, AS = 5 mg

結果は Fig. 3 に示す。AS の抗酸化力は上記の結果と同様に著しく弱い。一方, 各アミノ酸は 2×10^{-3} M 濃度での効力の比較ではメチオニン, アスパラギン酸, チロシン, スレオニンなどに比較的強い抗酸化力が認められ, なかでもメチオニンの効力は著しく強く, 約 90 日間の誘導期間が認められた。また, AS と各アミノ酸との併用試験においては, すべてのアミノ酸区に相乗性が認められ, 特に, メチオニン, ヒスチジン, アスパラギン酸, チロシン, トリプトファン及びスレオニンとの併用区の相乗性は顕著であった。なお, アミノ酸の抗酸化力に関しては数多くの報告⁶⁾がみられ, それによればアミノ酸の効力は試験に用いる系によって異なるが, 一般的にはメチオニン, トリプトファン, チロシン及びヒスチジンの抗酸化力が強い点で一致している。また, アミノ化合

Fig. 4 Comparison of antioxidative activity of ascorbyl stearate with those of peptides containing glycine and synergistic effect of ascorbyl stearate with these peptides on linoleic acid at 50°C.

■ : Peptide
 ▨ : Peptide + AS
 Peptide = 2×10^{-3} M
 AS = 5 mg

物はフェノール系の抗酸化物質と相乗性を示し、既に、山口らは Toc⁷⁾、フェルラ酸エステル⁸⁾とアミノ化合物とが著しい相乗性を示すことを報告している。これらのデータと本実験の結果とを比較すると、AS、フェルラ酸エステルに対して強い相乗性を示すアミノ酸はよく一致する傾向にあった。

(4) AS と Gly 及びそのペプチドと抗酸化力の比較及び相乗性

結果はFig. 4に示す。Gly 及びそのペプチドの抗酸化力の比較試験においては、山口⁹⁾らの先きの報告と同様にジペプチドが最も強い効力を示した。AS と Gly 及びそのペプチドとの併用区においては各区共に相乗性が認められたが、その効力は diGly > Gly > triGly > tetraGly の順であり、特に、AS + diGly 区の相乗性は大であった。なお、これらの相乗力はフェルラ酸エステルの場合とよく一致した⁸⁾。

2. AS のラードに対する抗酸化力の測定

(1) AS と dl- α -Toc との抗酸化力の比較及びレシチンと相乗性

結果はFig. 5に示す。AS は上記したリノール酸の場合と同様に、その抗酸化力はほとんど認められなかった。一方、dl- α -Toc はかなりの効力を示し、20 時間経過後の PV は約 40 m.e.q./kg であった。さらに dl- α -Toc とレシチンとの併用区のラードの酸化安定性は若干向上するのみであったが、AS + dl- α -Toc + レシチンの3者併用区には著しい相乗性が認められた。

なお、本実験において含窒素化合物としてアミノ酸に

代えてレシチンを用いた理由はアミノ酸の油脂に対する溶解性が悪く、研究者によってデータがばらついているためである¹⁰⁾。

(2) AS、dl- α -Toc 及びレシチンの各濃度段階における抗酸化力の比較

各抗酸化物質の濃度を 0.01, 0.02, 0.03 及び 0.05% の4段階について併用試験を行った結果を Fig. 6 に示す。ラードの酸化安定性は各抗酸化物質の濃度の上昇と共に著しく向上し、特に、0.05% の各抗酸化物質の併用区の誘導期間は顕著に延長した。

次いで、dl- α -Toc、dl- α -Toc + レシチン、dl- α -Toc + AS 及び dl- α -Toc + AS + レシチンの各試験区の抗酸化力の比較ならびに相乗性を試験し、その結果を図7に示す。dl- α -Toc の抗酸化力は、その濃度が 0.05% までは濃度の上昇に伴って増大するが、それ以上に添加量を増しても抗酸化力の増加は認められなかった。その dl- α -Toc 区 (0.075%) にレシチンを 0.075% 添加することによってラードの酸化安定性は向上するが、その効力は大きなものではない。また、dl- α -Toc 区 (0.075%) に AS を 0.075% 添加すると約 4 時間の誘導期間の延長が認められた。しかしながら、さらに両者の濃度を増加しても酸化安定性の向上はわずかであった。dl- α -Toc + AS (各 0.125%) にレシチンを 0.125% 添加すると著しく誘導期間は延長し、また、3者の濃度を 0.15% とすると約 40 時間の誘導期間が認められた。一方、dl- α -Toc + AS + レシチン区 (実線) はそれぞれの抗酸化物質を各濃度段階で併用した試験区である。

Fig. 5 Comparison of antioxidative activity of ascorbyl stearate with that of dl- α -tocopherol and synergistic effect of ascorbyl stearate with dl- α -tocopherol and lecithin on lard by AOM

dl- α -toc : dl- α -tocopherol.

Fig. 6 Antioxidative activity of a mixture of ascorbyl stearate, dl- α -tocopherol and lecithin on lard by AOM

AS	dl- α -Toc	Lecithin
1: 0.01%	0.01%	0.01%
2: 0.02 "	0.02 "	0.02 "
3: 0.03 "	0.03 "	0.03 "
4: 0.05 "	0.05 "	0.05 "

Fig. 7 Synergistic effect of ascorbyl stearate with dl- α -tocopherol and lecithin on lard by AOM

In dl- α -Toc + Lecithin, dl- α -Toc + AS and dl- α -Toc + AS + Lecithin preparation, these antioxidants were added to lard at each concentration level respectively.

0.018% 区の効力は dl- α -Toc の単独区より若干劣ったが, 0.05~0.15% までの各添加区の抗酸化力は 2 者併用区のそれよりも著しく強いことが認められた。

以上の結果から dl- α -Toc, AS 及びレシチンは, それぞれの 2 者併用区では大きな相乗性は期待できないが, 3 者を混合使用することによってラードの酸化安定性は著しく向上することを知った。

なお, Toc と AS との相乗性については Toc と アスコルビン酸の場合と同様な反応機構で効力を発揮したものとする¹⁰⁾。一方, 本実験に用いた大豆レシチンは各種リン脂質の混合物であり, その組成はホスファジチ

ルエタノールアミン 31%, ホスファジチルイノシトール 26%, ホスファジチルコリン 34% からなっている¹¹⁾。これらリン脂質の抗酸化能力としては ① 金属封鎖能¹²⁾, ② 第 1 級アミンの過酸化物の分解作用¹²⁾, ③ 荷電移動複合体の形成¹³⁾ などが考えられ, ラジカル・スキャベンジャーとして抗酸化作用を示す Toc, AS とは本質的に異なった作用が認められている。したがって, 上記した Toc, AS の連鎖系の抗酸化機構とは異なるレシチンの併用によって著しい相乗性が発現したものとする。

要 約

アスコルビン酸ステアリン酸エステル (AS) を用い, その抗酸化力をリノール酸及びラードについて測定すると同時にトコフェロール (Toc) 及び含窒素化合物との併用試験を行い次の結果を得た。

(1) AS はリノール酸に対してほとんど抗酸化力を示さなかったが, AS と Toc, Gly 間には著しい相乗性が認められた。

(2) AS は実験に用いた 12 種のアミノ酸のすべてと相乗性を示し, なかでもメチオニン, ヒスチジン, チロシン及びアスパラギン酸との併用によって誘導期間は著しく延長した。

(3) Gly 及びグリシン系ペプチドの抗酸化力の比較ではジペプチドの効力が最もすぐれていた。これらの化合物と AS との相乗性に関しても, ジペプチドとの間に最も強い効力が認められた。

(4) AS はラードに対してもほとんど抗酸化力を示さないが, dl- α -Toc, レシチンとの併用によって誘導期間は延長し, 特に, 3 者の混合物を使用することによってラードの酸化安定性は著しく向上した。

文 献

- 1) 綾野雄幸・古橋樹雄・渡辺幸雄・本橋和夫：日食工誌, **24**, 372 (1977).
- 2) 青山 稔・丸山武紀・兼松 弘・新谷 助・塚本正人・東海林茂・松本太郎：油化学, **34**, 123 (1985).
- 3) 今井登紀子・荒川信彦・稲垣長典：家政誌, **25**, 345 (1974).
- 4) 満田久輝・安本教伝・岩見公和：栄養と食糧, **19**, 210 (1966).
- 5) 日本油化学協会編：油脂化学便覧（丸善）p. 360 (1958).
- 6) 山口直彦：調理科学, **9**, 86 (1976).
- 7) 山口直彦・横尾良夫・藤巻正生：日食工誌, **22**, 431 (1974).
- 8) 岡田忠司・中川紀代司・山口直彦：日食工誌, **29**, 305 (1982).
- 9) 山口直彦・横尾良夫・藤巻正生：日食工誌, **22**, 425 (1975).
- 10) 芝崎 勲ら監修：天然物による食品の保蔵技術（お茶水企画）p. 287 (1985).
- 11) 中江利孝編：乳・肉・卵の科学（弘学出版）p. 103 (1986).
- 12) 芝崎 勲ら監修：天然物による食品の保蔵技術（お茶水企画）p. 279 (1985).
- 13) 八木一文・秋谷年見：食品の酸化とその防止（光琳書院）p. 67 (1967).

（昭和 61 年 9 月 18 日受理）