DPPH ラジカル捕捉能を有する カラメルの調製法

戸高大介*・竹中陽子**・竹中哲夫*

The Production of Caramel with the DPPH Radical Scavenging Activity

Daisuke TODAKA*, Yoko TAKENAKA**
and Tetsuo TAKENAKA*

* Faculty of Agriculture, Tamagawa University, 6-1-1,
Tamagawa Gakuen, Machida-shi, Tokyo 194-8610

** T&T Food Institute, 555-20, Aina, Atsugi-shi,
Kanagawa 243-0038

Caramels produced by heating various mono-saccharides above melting point in the presence of basic salt as catalyst showed the strong DPPH radical scavenging activity. (1) Caramels produced from pentose and hexose showed the strong DPPH radical scavenging activity, but caramels produced from sucrose and sorbitol did not. (2) The sodium citrate as catalyst and reaction temperature of 130°C were especially well suited for the production of caramel with the stable color intensity and the strong DPPH radical scavenging activity in the consideration of the caramel manufacturing process and its usage to food. (3) On dialysis of original caramel solution, the yield of retentate was about 75% from original caramel, and a part of color, reducing power and DPPH radical scavenging activity were mainly retained in retentate.

(Received Jul. 3, 1998; Accepted Sep. 17, 1998)

褐変反応物質に抗酸化性があることは知られており、とくにアミノ酸と糖の加熱反応物質に関する抗酸化性については多くの報告がある^{1)~4)}。

カラメルについては市川ら⁵⁾が製法別カラメルの抗酸化性について報告している。

しかし、従来の方法で製造したカラメルは、抗酸化性を示すものもあるが発現が一定でなく、むしろ抗酸化性がほとんどない場合が多く、油脂を含有する食品などに

使用しても抗酸化性を期待することはできなかった。

ペントース及びヘキソースからなる単糖を、塩基性化合物の存在下でカラメル化反応を行い、安定で強いDPPH ラジカル捕捉能を有するカラメルを得たので報告する。

実験方法

1. カラメルの調製

グルコース等の糖類 1 kg を加熱融解し、各種カラメル化助剤 (Table 2 に表示) 30~120 g を少量の蒸留水に溶解し添加後、加熱温度それぞれ 110°C から 150°C で 4 時間加熱し、カラメル化反応を行い、糖度約 70% のカラメルを調製した。

2. カラメルの水に対する透析物及び非透析物の調製

カラメルを約 10% 水溶液とし、透析チューブ (分子量分画限界 12 000) に入れ、蒸留水に対して攪拌しながら 24 時間透析する。外液を蒸留水と交換しこの操作を 2 週間続けた後、得られた内液及び外液をそれぞれ減圧濃縮、乾固しカラメルの透析物及び非透析物を得た。

3. DPPH ラジカル捕捉能の測定⁶⁾

1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 約 16 mg をエタノール 100 ml に溶解し、これに蒸留水 100 ml を加え溶解した DPPH 溶液 1.8 ml に試料溶液 0.2 ml を加え、30 分後に 517 nm の吸光度の減少度を測定した。

同条件下で α -トコフェロールの DPPH ラジカル捕捉能についても試験した。結果は、同条件下で行ったトコフェロールの吸光度の減少度を 1 とし相対割合 (試料の吸光度の減少度/トコフェロールの吸光度の減少度) で表示した。

4. 還元力

カラメルの還元力の測定はフェリシアナイド法⁷⁾に準じて行った。

5. 色価

食品添加物自主規格⁸⁾に従い、カラメル 0.1 w/v% 溶液液層 1 cm, 550 nm における吸光度 0.130 を色価 1.0 とした。

実験結果及び考察

1. 各種原料糖によるカラメルの DPPH ラジカル捕捉能と色価

グルコース、キシロースとフルクトースを原料として調製したカラメル (以後、前者と略す) はいずれも

* 玉川大学 (〒194-8610 東京都町田市玉川学園 6-1-1)

** T&T 食品研究所 (〒243-0038 神奈川県厚木市愛名 555-20)

DPPH ラジカル捕捉能を示したが、スクロース及びソルビトールを原料としたカラメル（以後、後者と略す）は、全く DPPH ラジカル捕捉能を示さなかった（Table 1）。

前者はいずれも加熱 3 時間で強い DPPH ラジカル捕捉能を示し、以後一定であった。

このことから原料として還元糖であれば DPPH ラジカル捕捉能を示し、非還元糖であれば示さないと推測した。

カラメルの色価は、前者は後者よりも高く、前者は DPPH ラジカル捕捉能と色価に相関性が認められたが、後者では認められなかった。

前者のうちでグルコースとフルクトースを原料糖として調製したカラメルの DPPH ラジカル捕捉能及び色価が高かったが、食品工業分野での利用、コストの面から考え、以下の実験では原料糖としてグルコースのみを使用した。

2. カラメルの DPPH ラジカル捕捉能に及ぼすカラメル化助剤の影響

カラメル調製時、酢酸、クエン酸と塩酸をカラメル化助剤として用いたカラメルはカラメル水溶液の反応前の pH が 7.0 より酸性側であり、DPPH ラジカル捕捉能は弱かった。それに比べて反応前の pH が 7.0 よりアルカリ側となるカラメル化助剤を用いたカラメルは強い DPPH ラジカル捕捉能を示した。

よって、DPPH ラジカル捕捉能を示すカラメルを調製するためには、カラメル化反応過程においてカラメル水

溶液の pH がアルカリ側から酸性側へと移る経路をたどることが必要であった。糖はアルカリ溶液中⁹⁾あるいは溶融状態¹⁰⁾ではアルドースとケトース相互間で異性化が起こりやすいことから、これも DPPH ラジカル捕捉能付与の一因と推測された。

カラメルの DPPH ラジカル捕捉能の発現にはカラメル化助剤として、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化カリウムと水酸化ナトリウム等に効果があったが、食品への利用、カラ

Table 2 Effect of catalysts on caramelization and the DPPH radical scavenging activity of caramels

Catalyst	pH		Scavenging activity
	Before	After	
Non	6.7	3.7	0.02
Hydrochloric acid	1.0	1.0	0.24
Acetic acid	2.5	2.3	0.13
Sodium acetate	8.0	4.6	0.76
Citric acid	3.0	2.8	0.04
Sodium citrate	8.3	4.2	0.72
Potassium carbonate	10.1	4.8	0.92
Sodium carbonate	9.5	4.1	0.84
Potassium hydroxide	12.0	5.0	0.80
Sodium hydroxide	12.3	5.2	0.86

Caramels were produced by heating glucose for 3 hours at 130°C with various catalysts.

before : before caramelization

after : after 3 hours on caramelization

Table 1 The DPPH radical scavenging activity of caramels prepared from various sugars

	Scavenging activity				Color intensity
	1 hr	2 hrs	3 hrs	4 hrs	
Glucose	0.07	0.34	0.72	0.74	2.3
Xylose	0.07	0.26	0.62	0.66	2.0
Fructose	0.09	0.30	0.74	0.76	2.3
Sucrose	trace	trace	trace	trace	1.8
Sorbitol	trace	trace	trace	trace	1.7

Caramels were prepared by heating various carbohydrates for 1, 2, 3 and 4 hours at 130°C with sodium citrate as catalyst.

Caramels by heating for 4 hours were used for measurement of color intensity.

DPPH radical scavenging activity : O.D of sample / O.D of tocopherol

Table 3 The DPPH radical scavenging activity of caramel prepared at different temperatures

Heating temperature (°C)	Scavenging activity	Color intensity
100	trace	0.1
110	0.08	0.1
120	0.10	0.3
130	0.72	2.3
140	0.76	2.4
150	0.60	2.5

Caramels were prepared by heating glucose for 3 hours with sodium citrate as catalyst.

Table 4 The DPPH radical scavenging activity of dialyzate and retentate of caramel

	Scavenging activity	Color intensity	Reducing power	% to caramel
Caramel (16 μ g/ml)	0.72	1.96	2.46	
Dialyzate (16 μ g/ml)	0.15	0.65	1.69	25
Retentate (16 μ g/ml)	0.96	2.43	2.84	75

メル調製時のガスの発生及び作業適性から、クエン酸ナトリウムを以下の実験に使用した。

なお各カラメル化助剤の添加量は原料糖に対して6%以上加えてもカラメルのDPPHラジカル捕捉能、色価の増大には影響しなかったため、以後添加濃度は6%とした (Table 2)。

3. カラメル化温度と抗酸化

原料糖としてグルコースを用いた場合、カラメル化反応時の加熱温度110~120℃の範囲では色価が著しく低いことからカラメル化反応が進行しないと判断した。しかし、130℃以上ではカラメルの色価が高くなりカラメル化反応は進行したと判断した。さらに、加熱温度140℃、150℃ではカラメル製造時にカラメルが炭化しやすいことから加熱温度130℃がDPPHラジカル捕捉能、色価、作業適性から最も良い温度と考えられた (Table 3)。

4. カラメルの透析物と非透析物のDPPHラジカル捕捉能、色価と還元力

実験方法2で得たカラメル透析物及び非透析物を用いてDPPHラジカル捕捉能、色価、還元力を測定した (Table 4)。

カラメル透析物と非透析物のDPPHラジカル捕捉能を比べると、非透析物の方が透析物より約6.4倍、色価は約4倍、還元力は約1.6倍高く、さらにカラメル原液の非透析物と透析物の割合は約75%:25% (乾物で比較) であることから、カラメル化反応により生じた分子量12000以上の高分子褐色物質が本カラメルの抗酸化力の主要因であり、糖類の熔融状態で分子間脱水反応により重合したと推測した¹¹⁾¹²⁾。

さらに、非透析物の色価とDPPHラジカル捕捉能は関係が認められたが、還元力とDPPHラジカル捕捉能の間にははっきりした関係は認められなかった。

要 約

単糖類を塩基性化合物の存在下でカラメル化反応を行い、強いDPPHラジカル捕捉能を有するカラメルを得た。

(1) ペントース、ヘキソースは塩基性化合物の存在下で強いDPPHラジカル捕捉能を有するカラメルとなるが、スクロース、ソルビトールのカラメルは、ほとんどDPPHラジカル捕捉能を示さなかった。

(2) カラメルの色価、DPPHラジカル捕捉能及びカラメル調製時の作業性、食品への利用性から、カラメル化助剤としてはクエン酸ナトリウム、カラメル化温度は130℃が適当であった。

(3) カラメル中の非透析物含量は約75%、透析物は約25%であり、カラメルの着色度、還元力、DPPHラジカル捕捉能の主体は非透析物に依存していた。

文 献

- 1) 山口直彦: 油化学, **3**, 111 (1969).
- 2) 加藤博通: 食衛誌, **14**, 343 (1973).
- 3) 並木満夫・林 建樹: 化学と生物, **21**, 368 (1983).
- 4) 加藤博通: 日本醤油研究所雑誌, **18**, 1 (1992).
- 5) 市川朝子・藤井 聡・河本正彦: 日食工誌, **22**, 23 (1975).
- 6) BLOIS, M.S.: *Nature*, **181**, 1199 (1958).
- 7) 足立 達: 農化, **32**, 313 (1958).
- 8) 日本食品添加物協会編: 化学的合成品以外の食品添加物自主規格, 第二版 (1994).
- 9) SUGISAWA, H., USUKI, R., SASAKI, M. and KOMURA, T.: *Chem. Ind.* (London), p. 812 (1966).
- 10) HOUMINER, Y. and PATAL, S.: *Israel J. Chem.*, **7**, 525 (1969).
- 11) SUGISAWA, H. and EDO, H.: *J. Food Sci.*, **31**, 561 (1966).
- 12) GOLDSTEIN, I.I. and HULLAR, T.L.: *Advan. Carbohydr. Chem.*, **21**, 431 (1966).

(平成10年7月3日受付, 平成10年9月17日受理)