

学 位 論 文 題 名

タンパク質エマルション中における
高度不飽和トリアシルグリセロールの
酸化安定性に関する研究

学位論文内容の要旨

脂質は三大栄養素のひとつで、効率的なカロリー源として重要なだけでなく、脂質を構成する脂肪酸にはそれぞれ特有の生理機能があることが知られている。例えば、水産物油に多く含まれるDHAやEPAは血清脂質改善作用、血圧降下作用などを有するため、これらの高度不飽和脂肪酸（PUFA）を添加した機能性食品や医薬品などの開発が活発に行われている。しかし、DHAやEPAは分子中に多くの二重結合を有するため、空気中では極めて酸化されやすい。このことがDHAやEPAを食品や医薬品に利用する際の最大の問題とされており、DHAやEPAに対する効果的な酸化防止法の確立が強く望まれている。

ところで、食品あるいは生体中での脂質は、トリアシルグリセロール（TG）やリン脂質の形態をとり、また、通常水の存在下でタンパク質を始めとする他の様々な成分と共存していることが多い。この場合、その酸化はかなり複雑で、多くの因子が関わってくると考えられる。したがって、様々なモデル系、特に水やタンパク質が存在する系でのリン脂質やTGの酸化安定性を検討することは、食品中や生体中での脂質の酸化を正確に把握する上で、極めて重要と考えられる。

そこで本研究ではこうした観点に基づき、タンパク質エマルション系におけるTGの酸化安定性について検討を行った。TGは食品における脂質の主要形態であり、また、タンパク質は種々の食品エマルションにおける主要な構成要素であると共に、乳化剤としての働きも示す。したがって、タンパク質エマルション中におけるTGの酸化安定性を比較検討することは、DHAやEPAのように酸化されやすい機能性脂

質の利用を図る上で有益と考える。

本研究では、まず、各種エマルションの中における大豆油TGやDHA含有TGの酸化安定性について検討した。その結果、タンパク質を乳化剤に用いた方が合成乳化剤のTriton X-100を用いた場合よりTGは酸化されにくいことが分かった。これは、タンパク質により形成される界面膜がTritonにより形成されるそれよりも水相からのラジカルの攻撃に対してより防御的であるためと考えられた。また、タンパク質を用いてTGを分散させた場合には、各TGの酸化安定性は用いたタンパク質の種類によって大きく異なった。こうした相違も各タンパク質の界面構造の違いに起因していると考えられた。

ところで、本研究において、ある程度加水分解されたタンパク質を用いると、加水分解されていないタンパク質に比べて、エマルション中でのTGの酸化安定性が向上することが分かった。そこで、分解度の異なる大豆タンパク質を用いたエマルション中でのTGの酸化安定性についてさらに検討を行った。その結果、大豆タンパク質の分解度が高くなるにつれてTGの酸化安定性も向上することが分かった。大豆タンパク質分解物において分解度が上昇するに従ってその抗酸化効力が増大したのは、主としてこれらタンパク質によって形成される界面膜の構造が酸化に対してより防御的になったためと考えられた。ただし、この場合には、分解によりラジカル消去能の高いペプチドがより多く生成したこともその原因と考えられた。

上述の結果は、食品エマルション中での高度不飽和TGの酸化防止を図る上での有益な知見と考えられた。しかし、これらの検討では合成のラジカル発生剤を用いていた。こうした合成の酸化開始剤はモデル系での実験には有用であるが、実際の食品エマルションでは銅や鉄などの遷移金属により酸化が引き起こされる。この場合、正電荷を有するこれらの金属はエマルションの分散粒子界面から脂質の酸化を誘発し、次いで分散粒子内部へと脂質酸化は進行する。そこで、次に食品エマルションのモデル系としてミルクタンパク質エマルションを用い、銅イオンを酸化誘発剤としたときのTGの酸化安定性と界面電荷との関係について検討した。その結果、ミルクタンパク質であるカゼインエマルションに正電荷剤を添加すると酸化が抑制され、逆に負電荷剤を添加すると酸化が促進されることが明らかとなった。また、正電荷剤としては

天然ポリアミン類の方が合成のアミン類よりも酸化抑制作用が強いことも示された。こうした結果は以下のように説明できた。すなわち、正電荷剤を添加すると界面が正に荷電し、銅イオン（正電荷）との間で電氣的な反発力が起こる。その結果、酸化促進物質としての銅イオンが界面に近づきにくくなり、脂質の酸化が抑制されるものと考えられた。また、この場合電荷剤の作用が発揮されるためにはPCのようなリン脂質が必要であることが分かった。これは、電荷剤が脂溶性であるため、PCが存在しない場合には電荷剤は界面よりも油滴内部に存在しやすいが、それ自身イオン性であるPCが界面に存在すると、電荷剤は界面に配向しやすくなり結果として電荷剤の効果が発揮されるようになると考えられた。

また、PCの分子種の違いによってもタンパク質エマルション中でのTGの酸化は異なった。特にオレイン酸含有PCをタンパク質と共存させると、TGの酸化安定性は大きく向上することが明らかとなった。さらに、ミルク由来のPCを用いると正電荷剤の酸化抑制効果がより強く発揮された。ミルクPCは複数の脂肪酸から構成されているが、ミルクPCを構成する様々な分子種の存在が正電荷剤の酸化抑制作用の発揮やエマルションの酸化安定性そのものに関与していることも本研究により明らかにされた。

一方、ミルクに含まれるカゼイン以外のタンパク質である α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン、ラクトフェリンのTGの酸化に及ぼす影響について検討したところ、各タンパク質エマルションにおけるTGの酸化安定性はそれぞれ異なり、ラクトフェリン中でTGの酸化は著しく抑制された。これはラクトフェリンの有する金属キレート作用によるものと考えられた。また、 α -ラクトアルブミンや β -ラクトグロブリンといったホエータンパク質エマルションにおいては、カゼインエマルション中とは異なり電荷剤の効果はほとんど見られなかった。こうした結果は、エマルション形成の際の各ミルクタンパク質の立体構造の違いによるものと考えられた。すなわち、ホエータンパク質は本来の立体構造を変えずに油／水界面に吸着するが、カゼインでは高次構造を形成している結合がほどけ、平面的な構造となって界面に吸着することが知られている。またこの場合、カゼインは吸着によりそのペプチド鎖を油／水界面に配位させる。こうしたタンパク質の構造変化が界面膜の性質や正電荷剤

の活性に何らかの影響を及ぼしているものと考えられた。

このように、本研究ではタンパク質エマルション中におけるTGの酸化安定性について主として界面膜の性質との関係で検討した。その結果、界面膜の構造や界面電荷を制御することで、TGの酸化を効果的に抑制できることが明らかとなった。本研究で得られた成果は、様々な生理活性を有する反面、その酸化安定性の低さが利用の障害となっているDHAやEPAといった高度不飽和脂質を積極的に活用する上で有益な知見を与えるものと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 下 和 夫

副 査 教 授 板 橋 豊

副 査 助 教 授 安 藤 靖 裕

学 位 論 文 題 名

タンパク質エマルション中における 高度不飽和トリアシルグリセロールの 酸化安定性に関する研究

水産物油に多く含まれるDHAやEPAは血清脂質改善作用、血圧降下作用などを有するため、これらの高度不飽和脂肪酸(PUFA)を添加した機能性食品や医薬品などの開発が活発に行われている。しかし、DHAやEPAは分子中に多数の二重結合を有するため、空気中では極めて酸化されやすい。このことがDHAやEPAを食品や医薬品に利用する際の最大の問題とされており、DHAやEPAに対する効果的な酸化防止法の確立が強く望まれている。ところで、食品あるいは生体中での脂質は、トリアシルグリセロール(TG)やリン脂質の形態をとり、また、通常水の存在下でタンパク質を始めとする他の様々な成分と共存していることが多い。この場合、その酸化はかなり複雑で、多くの因子が関わってくると考えられる。したがって、様々なモデル系、特に水やタンパク質が存在する系でのリン脂質やTGの酸化安定性を検討することは、食品中や生体中での脂質の酸化を正確に把握する上で、極めて重要と考えられる。そこで本研究ではこうした観点に基づき、タンパク質エマルション系におけるTGの酸化安定性について検討を行い以下のような成果を得た。

1. タンパク質により形成される界面膜は合成乳化剤のTriton X-100により形成されるそれよりも水相からのラジカルの攻撃に対してより防御的であり、このため、タンパク質を乳化剤に用いた方がTritonを用いた場合よりTGは酸化されにくいことを明らかにした。また、タンパク質を用いてTGを分散させた場合には、各TGの酸化安定性は用いたタンパク質の種類によって大きく異なることも示し、こうした相違が各タンパク質の界面構造の違いに起因していることを明らかにした。

2. さらに、加水分解度の異なる大豆タンパク質を用いたエマルション中でのTGの酸化安定性について検討し、大豆タンパク質の分解度が高くなるに

連れてTGの酸化安定性も向上することを見出した。大豆タンパク質分解物において分解度が上昇するに従ってその抗酸化抗力が増大したことについては、これらタンパク質によって形成されるエマルションの界面膜の構造が酸化に対してより防御的になったこと及び分解によりラジカル消去能の高いペプチドがより多く生成したことの2点により説明した。

3. 実際の食品エマルションでは銅や鉄などの遷移金属により酸化が引き起こされる。この場合、正電荷を有するこれらの金属はエマルションの分散粒子界面から脂質の酸化を誘発し、次いで分散粒子内部へと脂質酸化は進行する。そこで、本研究では、食品エマルションのモデル系としてミルクタンパク質エマルションを用い、銅イオンを酸化誘発剤としたときのTGの酸化安定性と界面電荷との関係についても検討し、ミルクタンパク質であるカゼインエマルションに正電荷剤を添加すると酸化が抑制され、逆に負電荷剤を添加すると酸化が促進されることを明らかにした。また、正電荷剤としては天然ポリアミン類の方が合成のアミン類よりも酸化抑制作用が強いことも示した。さらにこうした結果について、界面の電荷の違いにより説明した。

4. また、上記の場合、電荷剤の作用が発揮されるためにはPCのようなリン脂質が必要であることも明らかにした。これについては、電荷剤が脂溶性であるため、PCが存在しない場合には電荷剤は界面よりも油滴内部に存在しやすいが、それ自身イオン性であるPCが界面に存在すると、電荷剤は界面に配向しやすくなり結果として電荷剤の効果が発揮されるようになることで説明した。さらに、PC分子種の違いによってもタンパク質エマルション中でのTGの酸化は異なり、特にオレイン酸含有PCをタンパク質と共存させると、TGの酸化安定性が大きく向上することを明らかにした。その他、ミルクに含まれるカゼイン以外のタンパク質である α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン、ラクトフェリンのTGの酸化に及ぼす影響についても検討し、ラクトフェリン中でTGの酸化が著しく抑制されることを明らかにした。

5. さらにタンパク質エマルション界面での抗酸化剤の特性についても検討し、水溶性抗酸化剤よりも脂溶性抗酸化剤の方が界面に存在しやすく、このため、タンパク質エマルション中では脂溶性抗酸化剤の方がその作用を発揮しやすいことを見出した。

このように、本研究ではタンパク質エマルション中におけるTGの酸化安定性について主として界面膜の性質との関係で検討し、界面膜の構造や界面電荷を制御することで、TGの酸化を効果的に抑制できることを明らかにした。本研究で得られた成果は、様々な生理活性を有する反面、その酸化安定性の低さが利用の障害となっているDHAやEPAといった高度不飽和脂質を積極的に活用する上で有益な知見を与えるものと高く評価される。よって審査員一同は本研究の申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。