

抗酸化物質の機能と多様性

日本新薬株式会社 食品開発研究所 阿武尚彦

現在、わが国の食生活は戦後の食糧難の時代から、その後の経済的繁栄を背景に大きく様変わりし、今日では、飽食の時代とまでいわれるようになっていく。それに伴いわが国の平均寿命も急速に伸び、世界一の長寿国となり、老人化社会が到来しようとしている。

日本人の長寿実現に大いに役立っていると考えられる食品に畜産物由来のタンパク質食品、すなわち牛乳、鶏卵、食肉並びにそれらの加工食品がある。われわれは、食肉加工品を対象に長年、研究、商品開発を行ってきた。

社会経済環境の変化は食生活にも多大な影響をもたらす、その時代時代によって食品に求められる機能についても変遷してきた。

かつては、栄養素としての機能（一次機能）や物流システムの未整備のため保存性が重要視されたが、所得が増し生活が向上するにつれて食品としての美味しさ（二次機能）が強く要求されるようになり、今日では、より新鮮なものや高級品が志向されている。また、疾病と食事との関係が次第に明らかにされ、最近では「健康で長寿」をめざして食べものの働きによって病気までも克服しようと考えられており、そのための新しい食品も誕生してきている。

しかし、その一方では景気低迷の長期化を背景に低コスト化の要望も強まり、省エネルギーや環境保全の面から、食品の製造方法や流通についても見直しを迫られており、伝統的な食品の保存原理を生かした新しい加工法を生み出すことも必要となっている。

今回は、食肉加工を中心に抗酸化物質に関わる話題として亜硝酸塩の役割、また、抗酸化物質の生理機能としてヘスペレチン及びヒドロキシクエン酸の脂質代謝改善作用をとりあげ抗酸化物質の機能の多様性について紹介する。

1. 亜硝酸塩

食肉加工製品の製造にあたって、塩漬の際に添加される亜硝酸塩は、わが国では発色剤という名称で使用されているが、塩漬肉の色調の形成のみならず、塩漬肉特有のフレーバーの形成に関与し、抗酸化剂的に作用して脂肪の酸化臭を抑制するなど食肉製品の食味とも密接に関係している。さらにはボツリヌス菌の菌体外毒素の生成を抑制して食肉製品の安全性を確保する役割を果たすなど多様な機能を発揮している。

イ. ハムの酸化と肉の変色

生肉の色素の大部分を占めるミオグロビン¹は、タンパク質部分であるグロビンが加熱、冷凍、食塩、酸、紫外線などの外部条件によって変性すると $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ の変化が起こり、褐色のメトミオグロビンを生じる。生肉の表面が変色したり、調

理した肉が褐色を呈するのはこのためである。

中世紀末の頃から肉の塩漬に使われるようになった硝石 (NaNO_3) には、塩漬による肉の変色を防止する効果がある。

メトミオグロビンが褐色を呈するに対し、塩漬中に生成する酸化窒素 (NO) がミオグロビンと結合したニトロソミオグロビンはピンク色で、グロビン部分の変性しても色調には変化が少ない。塩漬肉が加熱によって変色しないでピンク色を保つのはこのためである。

ロ. フレーバーに与える作用

亜硝酸塩は肉色素の形成のみならず製品の食味とも密接に関係している。

肉に添加された亜硝酸塩は、塩漬開始直後から急速に減少し、その減少割合は塩漬温度が高いほど大きい。これは肉中の酵素作用や食肉成分との化学反応によるものであろう。食肉中の亜硝酸根が減少すると微生物の増殖が進み、その作用によってトリアシルグリセロールやリン脂質から脂肪酸が遊離し、遊離脂肪酸が増加する。加熱調理により肉中の遊離脂肪酸量はさらに増加する。

塩漬中の微生物の作用、加熱の作用により様々な風味関連物質が生成し、塩漬肉特有のフレーバーが形成される。しかし、亜硝酸塩が存在しない場合、脂肪酸の酸化が進行するとカルボニル化合物が増加し、その肉特有の臭みを生じる。

肉の脂質の酸敗には、肉中に共存する種々の成分が関与するが、そのなかでもヘムタンパク質による酸化促進作用が最も重要である。これはヘムタンパク質中に存在する (ポルフィリンやグロビンがキレートした) Fe^{2+} イオンの触媒作用による。

Fe^{3+} は不飽和油脂の酸化にともなって Fe^{2+} に還元され、これが空気中の O_2 によって再酸化されることが知られている。そのため、ヘム化合物は脂質の酸化を触媒し酸化促進剤として作用する。

塩漬肉は亜硝酸塩無添加の肉に比較して酸化に対して安定であることはよく知られている。

亜硝酸塩は肉中で様々な様式で抗酸化剤として機能していると考えられている。

① 亜硝酸塩から生成した NO はミオグロビンの Fe と結合してニトロソミオグロビン (MbNO) を形成し、脂質の酸化に対して触媒作用を持たない状態にすることにより抗酸化効果を発揮する。

② 加熱工程でヘム色素から鉄原子が遊離すると不飽和脂肪酸の酸化が促進されるが、加熱によって MbNO は安定なニトロシルヘモクロームとなってヘム鉄の触媒活性を阻止すると同時に、ヘム鉄の解離を抑制しさらに強力な触媒作用をもつ非ヘム鉄となるのを防止することにより亜硝酸塩は抗酸化効果を発揮する。

③ また、亜硝酸塩は変性したヘム色素から遊離した非ヘム鉄 (Fe^{2+}) と直接反応して安定な化合物を形成し、触媒作用を阻害するとも考えられている。

これらの作用のなかでも、調理中に Fe^{2+} の遊離を防ぎ、ポルフィリン環を安定化することが最も重要なメカニズムと思われる。

④ また、より程度は少ないが、亜硝酸塩には細胞膜中の不飽和脂肪酸を安定化する作用がある。

亜硝酸塩より生じる NO は不飽和脂肪酸と反応することが知られており、種々の

脂肪酸やトリアシルグリセロールを用いた実験からこれらへの亜硝酸塩の結合はその不飽和度に比例することが明らかにされている。

NOは脂質の酸化反応においてラジカル連鎖反応停止型の抗酸化剤として作用すると考えられる。

塩漬肉特有のフレーバー物質を探索する試みは多くの研究者により行われている。しかし、その努力にも関わらず、特定な物質を同定するまでには到っていない。そのため、塩漬肉ではカルボニル化合物が無添加に比較して少ないことから、これが塩漬フレーバーに寄与しているとの考えも提案されている。

われわれが行った実験において、FFAの組成やアミノ酸量にはほとんど差が認められないにもかかわらず、亜硝酸塩添加品と無添加品とでは官能的にフレーバーの違いが明らかに認められたことから、亜硝酸塩がフレーバーに及ぼす直接的な効果についても注目する必要がある。

近年、NOは生体情報伝達物質として注目されており、血管弛緩作用や神経伝達作用などの生理作用をもつことが明らかにされていることから、NOの味覚に及ぼす影響についても詳細な検討を行う必要がある。

2. ヘスペレチン

イ. ヘスペレチンの抗酸化作用

食肉加工では、亜硝酸塩の他に、香辛料の利用やくん煙処理が香味付けや保存性向上の目的で行われている。そのため、くん煙の成分をもとに種々の抗酸化剤が合成されたり、香辛料からの抽出物が酸化防止を目的に利用されるなど多くの方法が試みられてきた。

脂質の酸化を直接的あるいは間接に防止する物質は多くの食品に存在している。

われわれは、野菜や果物中に広く分布するフラボノイド、なかでも柑橘に多量に存在するヘスペリジンのアグリコン：ヘスペレチンに注目し、その機能について種々検討するなかで抗酸化作用について検討した。

ヘスペレチンの油脂に対する酸化防止効果は、一般にBHTや α -トコフェロールと同様であり、大豆油のような植物性油脂では α -トコフェロールの効果は低いが、ヘスペレチンは植物性油脂に対して有効であった。

光線や紫外線の照射による油脂の酸化に対してもヘスペレチンは有効な防止剤であった。また、ヘスペレチンは有機酸等と相乗的に働いて酸化防止効果を高めることも確認された。そのため、シネルギストと組み合わせた天然系の酸化防止剤としての利用が期待される。

ロ. ヘスペレチンとコレステロール代謝

未曾有の長寿時代を迎えた中で、一方では多くの人が動脈硬化が原因の病気で悩んでいる。この疾病のリスクファクターとして血清コレステロールは最も関心を集めているものの一つである。血清コレステロール量には食餌の影響する部分が非常に大きいことはよく知られおり、食品中のコレステロール含量、不飽和脂肪酸、食物繊維、植物タンパク質等との関係についてはよく研究されている。

われわれは、ハスペレチンの一連の機能について検討するなかでコレステロール代謝の改善作用についても検討した。

S D系ラットにハスペレチンを含む半合成食を摂取させコレステロール代謝に及ぼす影響を調べた。その結果、ハスペレチンの投与は体重増加、食餌摂取量、肝臓重量に影響を与えなかったが、血清コレステロール量を著しく低下させた。一方、末梢組織から肝臓へコレステロールを逆転送する働きを持ち、動脈硬化を予防する作用をもつHDL-コレステロールを増加させた。したがって(Totalコレステロール-HDLコレステロール) / HDLコレステロールで示される動脈硬化指数は著しく改善され、健康にとって有益な作用を示すことが認められた。

血清の脂質代謝は、肝臓の脂質代謝と密接に関係していることが知られているため、肝臓脂質濃度に与える影響についても検討した。ハスペレチンは肝臓においてリン脂質量やトリアシルグリセロール量に影響を与えなかったが、血清と同様、コレステロール量を減少させた。

血清脂質の脂肪酸組成について検討した結果、コレステロールエステルの脂肪酸組成に顕著な変化が観察され、C_{18:1}が減少し、C_{20:4}、C_{18:2}の割合が増加した。

また、ハスペレチン食でふん便中へのコレステロールや胆汁酸の排せつ量に変化するかどうか調べた結果、ふん便中へのコレステロールや胆汁酸の排せつ量が増加することが確認された。

このことからハスペレチンは、コレステロールの小腸からの吸収や肝臓でのコレステロール代謝系に対し関与している可能性が示唆された。

食事中のコレステロールエステルは、腸管内で膵臓コレステロールエステラーゼにより遊離コレステロールに水解されたあと、小腸上皮細胞内に入る。細胞内に入ったコレステロールはアシルCoA:コレステロールアシルトランスフェラーゼ(ACAT)あるいはコレステロールエステラーゼの逆反応により再エステル化を受け、カイロミクロンに組み込まれた後、リンパ管へ分泌される。このコレステロール吸収の過程には再エステル化が必須で、これらの酵素を阻害あるいは枯渇させるとコレステロールの吸収は低下する。また、肝臓のACATは肝細胞に貯蔵されるコレステロールエステルあるいはVLDL中のコレステロールエステルの形成に関与する。そのため、ハスペレチンを含む半合成食を自由摂取させたS D系ラットのACAT活性に及ぼす影響をin vivo及びin vitroで調べた結果、ハスペレチンの摂取はラット小腸および肝臓のACAT活性を低下させた。このことからハスペレチンはACATの阻害作用を有していることが認められた。

これらの結果から、ハスペレチンの血中コレステロールの低下作用のメカニズムとしては、ハスペレチンの摂取により、小腸からのコレステロールの吸収が抑制されることに加えて肝臓でのコレステロールエステルの合成能が低下するため、血中のコレステロール濃度が低下するというメカニズムが考える。

3. (-)-ヒドロキシクエン酸

肥満は糖尿病、高脂血症、心臓病、高血圧といった生活習慣病の引き金になるといわれている。

脂肪からのエネルギー摂取量が20%を超し、食生活が欧米化してきているなか

で、ますます進展する高齢化社会や社会生活環境の変化等と相俟って、生活習慣病は今後さらに増加することが予想されている。そのため、肥満の解消は大きな課題となっている。

クエン酸は、シネルギストとしてよく知られた物質であるが、クエン酸の構造の一部が水酸基で置き換わっただけで非常に構造の類似した物質にヒドロキシクエン酸がある。

ヒドロキシクエン酸の抗酸化作用については大阪市立工業研究所の益山氏らにより研究が行われた。

ヒドロキシクエン酸がインドや東南アジアに生育するガルシニア (Garcinia) 属の果実に多量に存在していることが、Lewisらにより見いだされた。

ガルシニアはオトギリソウ科の常緑樹でオレンジ位の大きさと小さなカボチャに似た形をした果実をつける。現地では果実をジュースとして、また、乾燥した果皮はカレーに用いるスパイスとして用いてきた。近年、ヒドロキシクエン酸に糖質から脂肪を合成する酵素の働きを阻害する作用のあることが明らかになり、ガルシニアエキスは健康食品素材として注目されている。

食事により摂取された糖質は消化作用を受け吸収され体内に入ると、解糖系により代謝された後、クエン酸 (TCA) サイクルによりエネルギーへと変換される。生成したエネルギーは基礎代謝や運動エネルギーとして消費される。しかし、エネルギーとして利用されずに残った糖質はアセチルC○Aを経て脂肪へと変換され体内に蓄積する。

細胞内でのクエン酸サイクルによる糖質代謝の場は主としてミトコンドリアであり、脂肪の合成の場は細胞質である。

ミトコンドリア内で生成したアセチルC○AはアセチルC○Aのままでは細胞質内に出ていくことができず、クエン酸として細胞質へ出ていく。そしてそこでクエン酸は再びアセチルC○Aに変換される。この反応を触媒する酵素が、ATPクエン酸リアーゼ (ATP:citrate oxaloacetate lyase, EC 4.1.3.8) である。

クエン酸の分解により生成したアセチルC○Aからは脂肪の構成成分となる脂肪酸やコレステロールが生合成される。

そのため、細胞質内でクエン酸からアセチルC○Aを生成する要となる酵素：ATPクエン酸リアーゼの作用を阻害すれば脂肪の生成やコレステロール生成を抑制することができ、血中のトリアシルグリセロール値やLDL-コレステロール値を低下させ肥満を防止することが期待できる。その結果、肥満と関係の深い疾病の予防へつながると考えられる。

一方、アセチルC○Aに変換されなかったクエン酸からは肝臓グリコーゲンの生成量が増加し、肝臓におけるグリコレプターが刺激されるので満腹感が得られ、食欲が減退するという副次効果も期待できる。

(-)ヒドロキシクエン酸 (HCA) は、クエン酸と類似した構造のため、ATPクエン酸リアーゼに対し高い親和性をもち、ラット肝臓のATPクエン酸リアーゼに対する K_i 値は $0.05 \sim 8 \mu\text{M}$ であり、人肝臓のATPクエン酸リアーゼに対するH

C AのK_i値は0.3mMと報告されている。Hep G2細胞では0.1～0.5 mMのI C₅₀で脂肪酸合成やコレステロール新生を阻害する。

HCAをラットの腹くう内に投与すると肝臓における脂肪の合成が抑制されることが見いだされ、0.1mmole/kg程度の投与量でも対照に比べ脂肪合成は25～30%へ抑制されることが確認されており、¹⁴Cアラニンからの脂肪酸合成も濃度依存的に阻害される。

HCAの経口投与がラットの脂肪蓄積を防止する作用については Sullivan, A.C.らの詳細な研究があり、in vivo 及びin vitroでの脂質合成における短期及び長期投与の影響や肥満のモデルラットに対するHCAの効果について詳細な検討がなされている。この報告によるとHCAの経口投与は肝臓の脂質合成速度を著しく低下させ、血清トリアシルグリセロール量の低下および顕著な体重増加の抑制作用を示し、体脂肪量を減少させることが報告されている。

われわれもラットに対してHCAを含む食餌を自由摂取させ、脂質代謝の改善作用を反映させることが明らかになっている体重変化を指標として、その変化について測定した結果、HCA投与により明らかな体重減少が観察された。

ガルシニアエキスを人に与えた実験結果からも、その有効性は確認されており、ガルシニアエキス（有効成分：HCA）は摂取エネルギーの体内への蓄積を抑制し、生活習慣病を予防するための効果的な成分であると考えられる。

また、HCAの作用によりアセチルCoAに変換されなかったクエン酸からはグリコーゲンの生成量が増加することから、HCAには運動持久力増強作用についても期待できスポーツ飲料やスポーツ食品への利用も期待されている。

4. おわりに

食品中の抗酸化物質のうち、亜硝酸塩、ヘスペレチン、ヒドロキシクエン酸を例にこれら物質の機能の多様性について紹介したが、食品中に存在する成分の多くは、その作用に強弱はあるものの、多種多様の機能を有していると考えられる。現在、われわれはまだそれらの機能のほんの一部しか知り得ていないのではなかろうか。今後、新たな技術や叡知を導入することによって多くの潜在している機能を見つけ出し、顕在化させ、その新しい用途を開拓していく努力をする必要であると思われる。