

機関番号：37201

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008年度～2010年度

課題番号：20700587

研究課題名 (和文) 溶存酸素による食品の劣化に対するポリフェノール化合物の有効性に関する研究  
 研究課題名 (英文) Study on effect of polyphenolic compounds on deterioration of food by dissolved oxygen

研究代表者

安田 みどり (隈本 みどり) (YASUDA MIDORI (KUMAMOTO MIDORI))

西九州大学・健康福祉学部・教授

研究者番号：20279368

研究成果の概要 (和文)：食品の酸化防止剤として使用されているポリフェノール化合物に対する溶存酸素の影響について調べた。ポリフェノールは、pHが中性以下であれば、溶存酸素が存在していても安定であるが、pHが高くなると急激に酸化が生じた。また、金属イオン ( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ ) が共存した場合は、ポリフェノールとの錯体形成のみならず、溶存酸素とともにポリフェノールの酸化を促すことを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：We examined the effect of dissolved oxygen on the polyphenols used as an antioxidant in the processed food. Although polyphenols were stable below neutral pH even if dissolved oxygen existed, the oxidation of polyphenols was rapidly caused with an increase in pH. Moreover, metal ions ( $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$ ) not only formed complexes with polyphenols but also oxidized polyphenols with dissolved oxygen.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食品、生理活性、溶存酸素、ポリフェノール

## 1. 研究開始当初の背景

食品中の酸素の存在は、色やにおいなどの風味の低下を招き、さらには、脂質の酸化を引き起こし、健康被害につながる恐れがある。このような酸素による品質劣化を防ぐため、近年では酸素をできるだけ排除しようとする試みがなされている。例えば、不活性ガスの封入、真空処理、酸素吸収剤を用いた包装材の使用などである。しかし、このような物理的な対策は、高いコストが必要となったり、いったん包装から開封した際の劣化を防ぐことはできない。

一方、ポリフェノール化合物は、抗酸化性を有していることから、脂質の酸化防止に役立ち、加工食品の抗酸化防止剤として使用されている。しかし、ポリフェノールの酸素に対する安定性に関する研究はほとんどなされていない。

これまで、我々はカテキンを含めたポリフェノールの抗酸化性を調べ、カテキンの抗酸化性に及ぼす pH や金属イオンの影響についても検討した。カテキンの抗酸化性は中性より高い pH で強まること、金属イオン、特に鉄イオンの添加によりその効力が抑制する

ことを明らかにしている。酸素の影響についても、同様の検討が必要と思われる。

## 2. 研究の目的

食品の加工および貯蔵中の酸素の存在は、変色や脂質・ビタミンの酸化などの品質劣化を招きやすい。ポリフェノールは強い抗酸化作用があることで知られ、抗酸化剤として様々な加工食品に用いられている。しかし、溶存酸素による食品の劣化にポリフェノールがどのような影響を与えるかはほとんど分かっていない。

そこで、本研究では、溶存酸素がポリフェノールの安定性に与える影響について調べ、食品の劣化に対する抗酸化剤としてのポリフェノールの有効性について検討することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) UV-Vis スペクトルの測定

分光光度計を用いてポリフェノール（カテキン等）のスペクトル測定を行った。溶存酸素の測定は、ポーラログラフ式酸素電極を用いて行った。この電極を直接セルに差し込み、溶存酸素量をモニタリングしながら UV-Vis スペクトルを測定した。溶存酸素量は、窒素または酸素を細いチューブにてセル内に直接流し込むことによって制御し、専用の記録計により測定した。また、酸化剤として、2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) を用いた。

### (2) 電位差滴定によるポリフェノールの酸解離定数の決定

ポリフェノール類（カテコール、カテキン類）の水溶液を電位差滴定用セル（37 °C）に入れ、電位差自動滴定装置を用いて、水酸化カリウム溶液による滴定を行った。滴定セル中に窒素または酸素ガスを流し込み、初期の酸素濃度を 0、7、30 mg/L に調整し、滴定に伴う溶存酸素濃度を酸素電極にてモニタリングした。滴定中のスペクトル測定を光ファイバースペクトロメータにて行った。ポリフェノール類の酸解離定数は、解析ソフトにて求めた。

### (3) 金属イオン存在時におけるポリフェノールの安定性に及ぼす溶存酸素の影響

金属イオン（ $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ ）が存在した時のポリフェノールについて、電位差自動滴定装置にて水酸化カリウム溶液を滴定しながらフローセルにて吸収スペクトルを測定した。また、専用の解析ソフトにて反応機構をシミュレーションし、錯体生成定数を決定した。溶存酸素の濃度を変化させることにより、酸素がこれらの反応にどの程度影響を及ぼすのかについて調べた。

## 4. 研究成果

(1) 溶存酸素がポリフェノール類の安定性に与える影響

### ①カテキンのスペクトル変化

UV-Vis 分光光度計を用いて、(-)-エピガロカテキンガレート (EGCG) のスペクトルを 30 分ごとに 2 時間まで測定し、溶存酸素量に伴うスペクトルの変化を調べた。pH 7 以下では、溶存酸素濃度にかかわらず EGCG のスペクトルに変化はほとんどみられなかった。pH 8 の場合、無酸素状態ではカテキンは比較的安定であったが、酸素が存在した場合には、時間の経過と共に、スペクトルの変化が認められた。一方、酸化剤として DPPH を加えた場合、無酸素状態では一部のピークの変化がみられたが、時間変化は認められなかった。しかし、酸素が存在したときには、時間とともにスペクトルの変化が認められ、その変化は DPPH が存在しない時よりも大きかった。つまり、カテキン類は、溶存酸素が存在するだけでは酸化されず、pH や共存物質によって影響を受けることがわかった。

### ②ポリフェノール類の酸解離定数

さらに詳しく pH の影響を調べるために、ポリフェノールの酸解離定数に注目した。酸解離定数とは、その中に含まれる水素イオンの解離を行うときの pH であり、その pH 以上で抗酸化性を発揮できることが分かっている。そこで、溶存酸素の違いによって、ポリフェノールの酸解離反応が異なるかを調べた。溶存酸素の有無におけるカテコールの UV-Vis スペクトルを図 1 に示す。

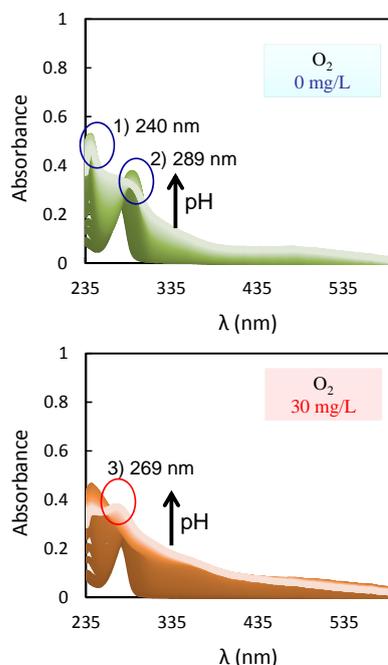


図 1 カテコールの UV-Vis スペクトル

溶存酸素が存在しない場合は、図1中の1)および2)のピークが高まるが、溶存酸素が過剰に存在する場合は、それらのピークが減少し、3)のピークが高まった。これが、カテコールの酸素による酸化に由来するピークではないかと考えられる。さらに、スペクトルから、酸解離定数 ( $pK_a$ ) を決定した。その値を表1に示す。

表1 カテコールの酸解離定数

$O_2$ (mg/L)	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$
0	$9.67 \pm 0.07$	$11.74 \pm 0.07$
7	$9.77 \pm 0.06$	$10.18 \pm 0.07$
30	$9.75 \pm 0.09$	$10.73 \pm 0.11$

1つ目の酸解離定数 ( $pK_{a1}$ ) は、溶存酸素濃度にかかわらず、ほとんど変わらなかったが、溶存酸素濃度が高まると共に2つ目の酸解離定数 ( $pK_{a2}$ ) が低くなった。つまり、溶存酸素によって、2つ目の水素イオンの解離が早まることが明らかとなった。また、水素イオンの酸解離が進むとともに、カテコールの酸化体が pH10 付近から生成し、しかも酸素濃度に依存することを確認した。これは、カテキン類についても認められた。つまり、ポリフェノール類は酸素によって、より水素イオンを外しやすくなり、キノン体を形成し、酸化されやすくなると考えられる。図2にそのメカニズムをまとめる。

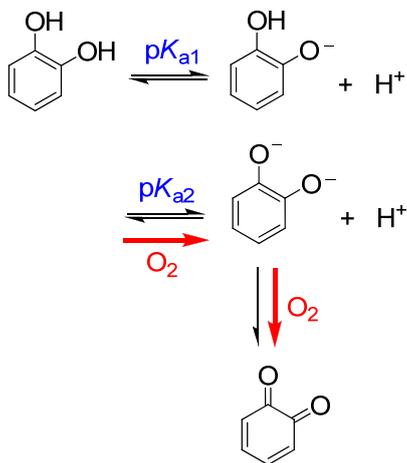


図2 カテコールの酸化機構

(2) 金属イオン存在下における溶存酸素によるポリフェノールの酸化

ポリフェノールの抗酸化性は、金属イオンに影響を受けたことから、ポリフェノールの酸化に及ぼす溶存酸素の影響を調べた。溶存酸素濃度が高い場合は、 $Cu^{2+}$ や $Fe^{2+}$ の存在でカ

テコールやカテキンの酸化体と思われるピークが認められた。一方、 $Fe^{3+}$ の存在下では、酸素の有無によるスペクトルの著しい違いはみられなかった。カテコールについて、金属イオン存在下における酸解離定数を調べたところ、金属イオンがない場合と比べて、 $pK_{a1}$ の著しい低下が認められた。また、 $Fe^{2+}$ の場合は、溶存酸素が過剰に存在したときにさらに酸解離定数の低下が認められた。また、金属イオンとカテコールが錯体を形成していることも考えられるため、錯体生成定数を求めたところ、酸素が存在しない場合は、 $Fe^{2+}$ が $Cu^{2+}$ よりも錯体を形成しやすかったが、酸素が存在する場合はその逆になった。その詳細については、明らかになっていないが、 $Fe^{2+}$ の方がより酸素の影響を受けやすいと考えられる。

以上の結果から、以下の図3のような反応機構が考えられる。

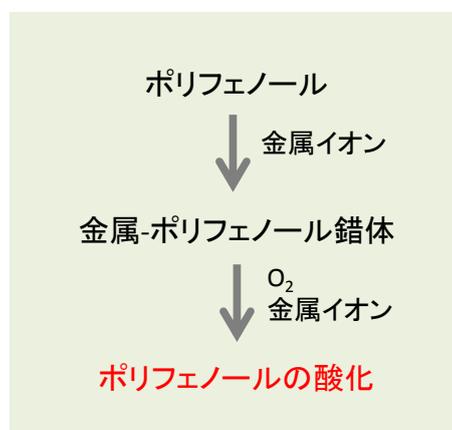


図3 金属イオンが存在したときのポリフェノールの酸化

つまり、金属イオンは、ポリフェノールと錯体を形成するが、それと同時に酸化も引き起こす。また、酸素もカテキンの自己酸化を触媒化する。

これらの結果をまとめると、ポリフェノールは、pHが中性以下であれば、溶存酸素が存在していても安定であるが、それ以上のpHになった場合は自己酸化が生じる。市販の加工食品は、中性以下のpHに保たれているものが多い。これによって、酸素が含まれていてもポリフェノールの酸化を未然に防いでいることから、過剰な脱酸素の必要性はないと考えられる。しかし、 $Cu^{2+}$ や $Fe^{2+}$ 等の金属イオンが存在した場合は、ポリフェノールとの錯体の形成のみならず、ポリフェノールの酸化も促し、酸素の存在でさらに酸化を促進することが明らかとなった。これらの金属イオンが含まれている食品では、ポリフェノール

は抗酸化剤としての役割を果たさないことが考えられる。ポリフェノールが含まれる食品中の金属イオンの存在には、十分な注意が必要である。もちろん、金属イオンが数多く含まれる食品においては、酸素の十分な除去が望まれる。

今回は、比較的短時間での実験であったが、保存期間が長期にわたる食品もあることから、今後長期保存期間中の検討が必要と思われる。また、今回共存物質として金属イオンについて調べたが、食品にはこれ以外にも様々な物質が含まれているので、それらの検討も必要である。震災等による影響で、今後備蓄食品の需要が高まることが予測されることから、長期的に安定な食品の開発を目指して、今後さらに研究を展開していく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

1. 安田みどり、尾崎加奈、野島芳恵、大城あゆみ、尊田民喜、茶殻を用いた水中の重金属イオンの除去、日本家政学会誌、査読有、61、2010、349-354
2. 安田みどり、カテキンの運命、フードリサーチ、査読無、662、2010、41-43

[学会発表] (計9件)

1. 堤田公平、安田みどり、鉄を過剰負荷したラットにおけるカテキンの抗酸化活性、2008年11月2日、平成20年度日本栄養・食糧学会(大分)
2. 安田みどり、堤田公平、金城るみ子、田端正明、井上國世、カテキンの抗酸化性に及ぼす金属イオンおよび溶存酸素の影響、日本農芸化学会2009年度大会、2009年3月29日(福岡)
3. 安田みどり、金城るみ子、大城あゆみ、カテキンの安定性に及ぼす溶存酸素の影響、田端正明、第58回日本食品保蔵科学会、2009年6月13日(東京)
4. Midori Yasuda、Ayumi Ohshiro、Masaaki Tabata、Effect of metal ions on analysis of catechin in green tea、The 13th Asian Chemical Congress、2009年9月16日(Shanghai, China)
5. 安田みどり、高瀬武、田添隆登、井上國世、田端正明、カテキンの酸化に与える溶存酸素の影響、2009年度日本農芸化学会西日本支部大会、2009年10月31日、(沖縄)
6. 安田みどり、大城あゆみ、田端正明、井上國世、ポリフェノールの安定性に及ぼす溶存酸素の影響、日本農芸化学会2009

年度大会、2010年3月29日(東京)

7. Midori Yasuda、Ayumi Ohshiro、Masaaki Tabata、Effect of dissolved oxygen on the oxidation of polyphenols、2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies、2010年12月18日(Honolulu, Hawaii)
8. 安田みどり、大城あゆみ、比嘉尚希、林伊久、石川洋哉、高圧抽出装置を用いた緑茶の抽出、日本農芸化学会2011年度大会、2011年3月27日(京都)(ただし、東日本大震災の影響により中止)
9. Midori Yasuda、Chika Matsuda、Ayumi Ohshiro、Kuniyo Inouye、Masaaki Tabata、Effects of metal ions ( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ ) on HPLC analysis of catechins、IUPAC International Congress on Analytical Sciences、2011年5月24日(京都)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

安田みどり(限本みどり)(YASUDA MIDORI (KUMAMOTO MIDORI))

西九州大学・健康福祉学部・教授

研究者番号: 20279368

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし