



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	スフィンゴイド塩基の抗酸化機構とその応用 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	上村, 麻梨子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13534号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74251
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mariko_Uemura_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：上村 麻梨子

学 位 論 文 題 目

スフィンゴイド塩基の抗酸化機構とその応用

現在、生活習慣病が問題視されており、その予防としてエイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA)等の n-3 系高度不飽和脂肪酸(n-3PUFA)を多く含む魚油の摂取が望まれている。一方でその応用には、栄養価や風味等品質面における酸化の課題が残されている。魚油を含む商品が既に製品化されているものの、酸化に伴う風味劣化防止の問題に関しては依然として未解決のままである。そのため魚油を食用油脂として広く活用するまでにはいたっておらず、風味劣化の防止に力点をおいた効果的な抗酸化法の確立が強く望まれている。こうした状況の中、先行研究では、スフィンゴイド塩基の1つであるスフィンガニン(SGA)と α -トコフェロール(α T)の組み合わせが魚油に対する強い抗酸化活性を示すことが明らかにされ、その応用が期待されている。そこで本研究では、スフィンゴイド塩基による抗酸化機構のメカニズムを明らかにし、それを基に、特に魚油に対する有効な酸化防止法確立の可能性を図ることを目的とした。

まず第1章では、脂肪酸組成の異なる4種の油脂からトリアシルグリセロール(TAG)を精製し、酸化に伴い生じる揮発性成分に対してSGAと α Tの効果を検討した。油脂としては、魚油、エキウム油、亜麻仁油、大豆油を用い、酸素の残存量と揮発性成分の生成量に基づいて酸化安定性の評価を行った。その結果、[TAG]と[TAG + α T]でのTAGの酸化安定性に大きな違いはなくTAGは短時間で酸化が進行した。これに対し、[TAG + α T + SGA]では魚油TAGの酸化安定性は著しく向上した。一方、[TAG + SGA]では若干ながら酸化安定性が向上した。魚油TAGの酸化では特に酸化初期において、主に2種類の揮発性成分が検出された。そのうちの1つはプロパナール(Pro)と同定されたが、もうひとつについてはリテンションタイムや標準品との比較だけでは構造が明確とはならなかった。この成分をXとしその生成量を分析したところ、魚油TAGのみを酸化させた[TAG]では、Proよりも先行して生成したのに対し、[TAG + SGA]ではXの生成が抑制されることを確認した。またXの生成量は、他の油脂よりも魚油で圧倒的に多いこともわかった。そこで、[TAG + SGA]で若干の抗酸化効果が見られた理由について、揮発性成分Xに着目して次章以降で検討を行った。

第2章では、第1章で示された特徴的な揮発性成分Xの同定と、魚油の酸化初期時におけるその生成挙動について一般的な酸化評価である過酸化価(POV)法も含め検討した。まずXについてGC-MSなどにより構造を検討し、アクロレイン(Acr)であることを明らかにした。次に、Acrの生成挙動について分析し、POVが30meq/kg以下のような酸化初期であっても、既に多くのAcrが生成することを明らかにした。以上より、魚油の風味劣化にAcrが深く関与していることがわかった。第1章では、SGAの添加によってAcrの生成が抑制され、かつ抗酸化活性が示されたが、Acrのようなアルデヒドは、SGAのようなアミン化合物とメイラード反応により抗酸化性物質に変換されることが知られている。したがって、SGAで示された効果は、SGAによるAcrのアミノカルボニル反応による消去と、生成した化合物による抗酸化性に起因していることが推察できる。ただ、SGA単独添加での抗酸化性は非常に低く、 α Tの存在によりこの抗酸化性が著しく増大した。そこで、次章ではこの点について検討した。

第3章第1節では、SGAとAcrの反応性やその反応生成物(SGA-Acr)の抗酸化活性について検討した。その結果、AcrとSGAは6.5時間以内に速やかに反応すること、その反応生成物を魚油に添加したところ、 α T存在下においては非常に強い抗酸化効果が示され、Acrを含めた揮発性成分の生成が強く抑えられることが示された。これらのことから、SGAは、酸化初期に生成するAcrと反応し、Acrを除去するとともに、 α T存在下でその反応生成物が強い抗酸化性を示すことが明らかとなった。続いて第2節では、SGAと類似構造を有するスフィンゴシン(SGO)とAcrの反応生成物(SGO-Acr)の一つを分離生成し、その抗酸化性について検討した。その結果、SGO-Acrは単独でも抗酸化性を示したが、 α Tとの併用でより強い抗酸化性を示すことがわかった。以上より、SGAやSGOのようなアミン化合物は、魚油の酸化初期に生成する風味劣化成分Acrと反応し、Acrを除去するとともに、抗酸化性物質を生成し、魚油の酸化を効果的に抑制することが明らかになった。

第4章では、化学構造の異なるアミン化合物や α T以外の抗酸化物質に着目して魚油に対する抗酸化活性について検討した。第1節では、セリン(Ser)やスレオニン(Thr)といったアミノ酸について検討したが、これらのアミノ酸は、極性が非常に高く油脂に分散することができなかったため、 α T存在下でも抗酸化性を全く示さなかった。ただ、水中分散系での検討結果から、アミノ酸はエマルション系などでは抗酸化性を示す可能性が示された。続いて第2節では、アミンの抗酸化性に対するヒドロキシ基の影響を検討した。まず、炭素数が4個のアミン(Ami)とAmiにヒドロキシ基を1個導入したアミン(AmiOH)について比較したところ、単独添加では、AmiOHの方がAmiよりも強い抗酸化効果を示すこと、 α Tとの併用添加では、Amiの抗酸化性はさほど増大しなかったが、AmiOHの抗酸化性は著しく増大したことが示された。同様の併用効果については、ヒドロキシ基を2個有するSGAでも観察できた。一方、ヒドロキシ基を持たないアミンや1個有するアミンと、SGAのようにヒドロキシ基の数が2個以

上のアミンとの抗酸化効果を比較した場合、前者では単独でも一定の抗酸化効果を示すのに対し、後者ではその抗酸化効果は非常に弱いことが明らかになった。また、 α T との併用では、ヒドロキシ基を有するアミンの抗酸化効果は増大するが、ヒドロキシ基持たないアミンについてはその併用効果は限定的であることがわかった。続いて第3節ではヒドロキシ基を持たない各種アミンの抗酸化効果を検討した。アミノ基を1個持つアミンは、いずれに場合でも単独添加でも抗酸化効果が見られた。また、 α T との併用でもその効果は増大したが、ヒドロキシ基を有するアミンに比べ、 α T の併用による抗酸化効果の増加程度は低かった。また、アミノ基が4個を有するスペルミンは、単独添加でも α T 存在下での SGA よりも強い抗酸化効果を示した。また、 α T との併用では、さらに強い効果を示した。したがって、アミノ基数がアミンの抗酸化活性に影響することが分かった。続いて第4節では、 α T の同族体である α , β , γ , δ -トコトリエノール(T3)を用いて魚油や大豆油に対する SGA 存在下での抗酸化性について検討を行った。その結果、魚油 TAG では、各トコフェロール同族体の単独添加では違いは見られなかったが、SGA との併用では、 δ T3 < α T $\leq$ α T3 < β T3 < γ T3 の順に高い抗酸化効果を示した。また、大豆油 TAG では、単独添加では α T $\leq$ α T3 < β T3 < δ T3 $\leq$ γ T3 の順に高い抗酸化効果が示され、SGA との併用でも同様の順番となった。以上より、各トコフェロール同族体と SGA の組み合わせでは、一般に、単独でより強い抗酸化活性を示すトコフェロール類と SGA とを組み合わせることで、より強い抗酸化効果が期待できる可能性が示された。

以上、本研究より、魚油の酸化では酸化初期から Acr などの揮発性成分が生成し風味劣化が起こるが、SGA と α T を魚油に添加すると、SGA が Acr とアミノカルボニル反応を起こして Acr を除去し、それに伴い生じた反応生成物が α T との相互作用で強い抗酸化活性を示すことが明らかになった。また、SGA 以外のアミン化合物も SGA と同様のメカニズムにより魚油の酸化に伴う風味劣化を抑制すること、その活性はアミン化合物の構造と相関のあることも明らかにした。