

チーズ中のラジカルの分析

中津川 研一, 菊池 俊彦

ESR Study of Radicals in Cheese

Ken-ichi NAKATSUGAWA and Toshihiko KIKUCHI

Recently, various kinds of natural cheese have been widely consumed in Japan, because of diversification of eating habits. In this study, analysis of radicals in 22 kinds of natural cheese, each of which had its own brand name, were carried out by ESR. The following experimental results were obtained ;

(1) Radicals derived from square planar type Cu^{2+} complex ($g_{\parallel}=2.22$, $A_{\parallel}=146\text{G}$, $g_{\perp}=2.05$) were found in Gruyere, Parmigiano and Emmenthaler. (2) Radicals derived from tetrahedral type Cu^{2+} complex ($g_{\parallel}=2.26$) were found Scottish cheddar and Emmenthaler. (3) Radicals derived from free Fe^{3+} ($g=4.3$) were especially found in Cream Blue, Bavaria and Roquefort. (4) Radicals derived from Mn^{2+} ($g=2.003$, $A=79\text{G}$) were widely found in many cheese. (5) Peroxide radicals ($\text{COO}\cdot$) ($g_{\perp}=2.003\sim 2.005$) were also found in many cheese. (6) Carbon radicals ($\text{C}\cdot$) ($g=2.003$) were found in Cream Blue, Roquefort and Bavaria.

近年食生活の多様化が進み、様々なナチュラルチーズが食卓にのぼるようになった。ナチュラルチーズは原料乳を凝固させ、水分を排出後、型に詰め圧搾し生チーズとし、これを一定期間熟成させ作られる。熟成の条件はチーズにより異なるが、この間にチーズに含まれる成分は種々の変化を起し独自の味が形成される。

ESRの立場から食品をながめると、対象となる成分は有機ラジカルと微量の金属である。前者の有機ラジカルは脂質やタンパク質などの有機物が変化する過程で生成するものであり、後者の遷移金属イオンは生体酵素などの主要構成因子である。従って両者の挙動は食品の品質に重要な影響を持つものといえる。

そこで本研究では、原料となる乳の種類も多種多様で、製造工程の中で重要な要素を占める熟成の方法も様々なナチュラルチーズを例にとり、ESR分析を試み、有機ラジカルと遷移金属に関して検討した。

実験材料および方法

1. 試料

市販のナチュラルチーズ22種を用いた。このうち2種のチーズについては、表面と内部と著しく性状が異なっていたため別々に試料をとった。

試料は $2\text{mm} \times 2\text{mm} \times 40\text{mm}$ の正四角柱に切断し、標準試料管 (外径 5mm) に入れ測定に供した。

2. ESRの測定条件

ESRは日本電子(株)製、形式JES-RE 2 Xに温度可変装置ES-DVT 2を接続して用いた。変調周波数100KHz、変調幅0.5mT、マイクロ波強度4mW、測定温度 -110°C により測定を行った。

実験結果及び考察

ESRパラメータのうち、 g 値の算出に関しては、 Mn^{2+} マーカのそれを基準にして行った。表1に各チーズの与える信号の帰属と各々のピーク強度をまとめた。数値は試料1g当りの相対ピーク強度を示しており、スピン数に比例する量である。 $g_{\parallel}=2.22$ $A_{\parallel}=146\text{G}$ (0.015cm^{-1}) $g_{\perp}=2.05$ の値は、典型的な平面四配位型 Cu^{2+} 錯体のESRパラメータである。典型的なスペクトルを図1に示した。文献¹⁾により生体系の銅錯体と比較すると、Superoxide dismutase や Pig plasma benzylamine(oxide)などのESRパラメータとよく一致していた。

$g=2.26$ を示すシグナルは正四面体型 Cu^{2+} 錯体によるものと考えられる。図2にスペクトルの典型例を示した。このタイプの銅錯体は Ascorbate oxidase (type 1), Plastocyanins, Azurins などみられる¹⁾。

Scottish Cheddarには非常に多く含まれているので、製造工程での混入があったことも考えられた。

$g=4.3$ の値をもつシグナルは、ノンヘム鉄 (Fe^{3+}) と呼ばれる、タンパク質に結合していないフリーな高スピン型 ($S=5/2$) 鉄イオンを示している²⁾。図3にその典型例を示した。この種の鉄は自然界に多く存在し、生体

表1. 各チーズの与える信号のESRパラメータとピーク強度

| | g_{\parallel} 2.22 A_{\parallel} 146G(0.015cm ⁻¹) g_{\perp} 2.05 | g_{\parallel} 2.26 | g 4.3 | g 2.003 A 79G | g_{\perp} 2.003 ~2.005 | g 2.003 | others |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|---------|----------------------|-----------------------------|-----------|----------------|
| Emmenthaler | 40 | 55 | 3 | 5 | | | |
| Parmigiano | 251 | | 4 | | | | |
| Grana Padano | 87 | | 4 | 10 | | | |
| Gruyere | 261 | | 3 | | 3 | | |
| Smoked(outside) | | | 6 | | 2 | | |
| (inside) | | | 5 | | 1 | | |
| Bianco | | | 3 | 3 | 1 | | $g=2.117$ |
| Havarti | | | 0 | 8 | 1 | | |
| Feta | | | 0 | 4 | 1 | | |
| Esrom | | | 4 | 6 | 2 | | |
| Maribor | | | 3 | 16 | 2 | | |
| Mild Cheddar | | | 3 | 9 | 2 | | |
| Tasty Cheddar | | | 4 | 7 | 1 | | $g=2.46$ |
| Scottish Cheddar | | 620 | 0 | 13 | 1 | | $g=1.67, 1.52$ |
| Vintage Cheddar | | | 4 | 11 | 2 | | $g=2.05$ |
| Bavaria(outside) | | | 20 | | 3 | | |
| (inside) | | | 20 | | | 6 | |
| Roquefort | | | 16 | 8 | | 16 | |
| Cream Blue | | | 33 | 4 | | 58 | |
| Bonchampi | | | 0 | | 2 | | |
| Gouda | | | 0 | 5 | | | |
| Edam | | | 0 | 11 | | | |
| Samsøe | | | 0 | 20 | | | |
| Provolone | | 12 | 4 | | | | |

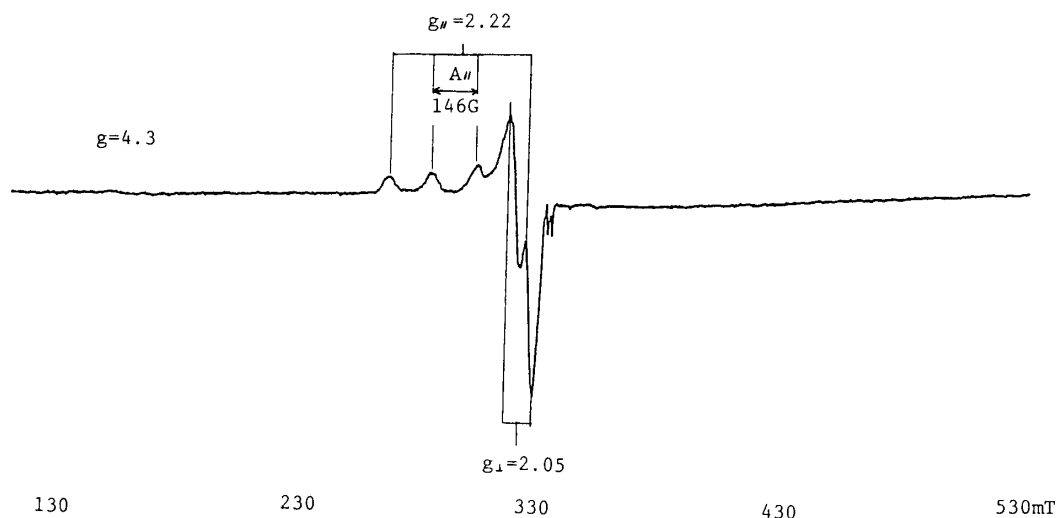


図1. Parmigiano ReggianoのESRスペクトル

チーズ中のラジカルの分析

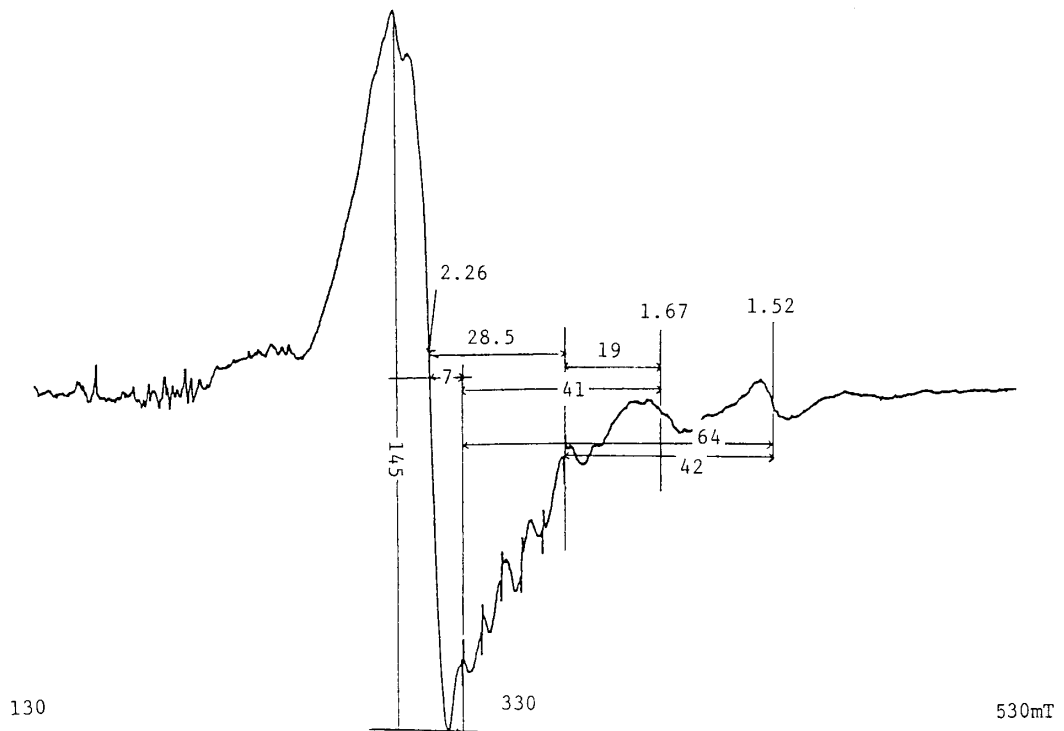


図2. Scottish CheddarのESRスペクトル

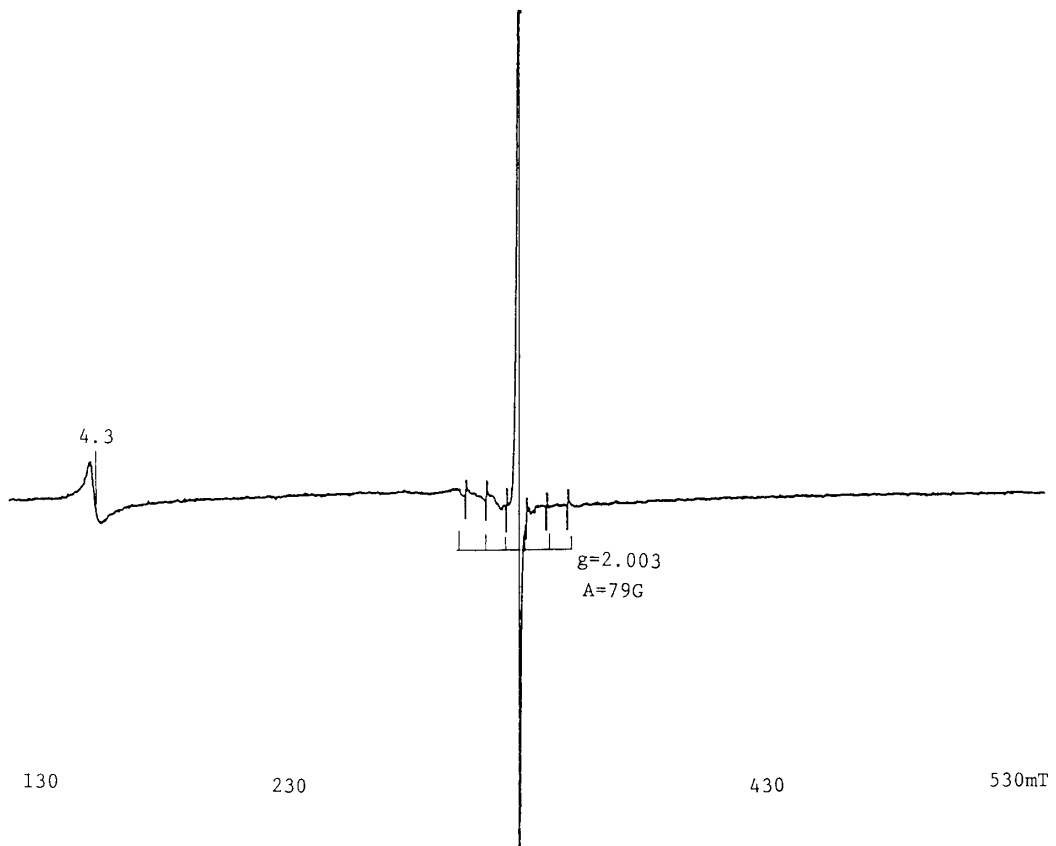


図3. Cream BlueのESRスペクトル

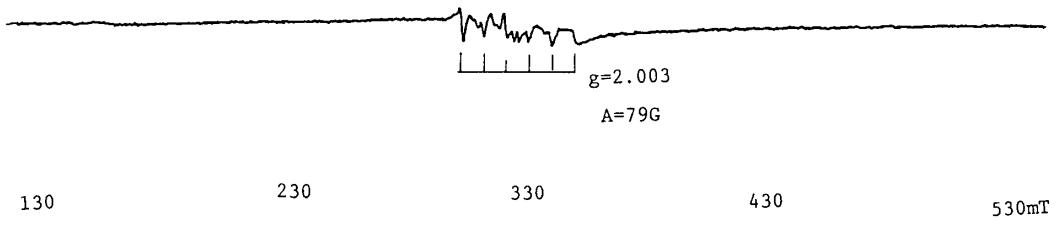


図4. SamsoeのESRスペクトル

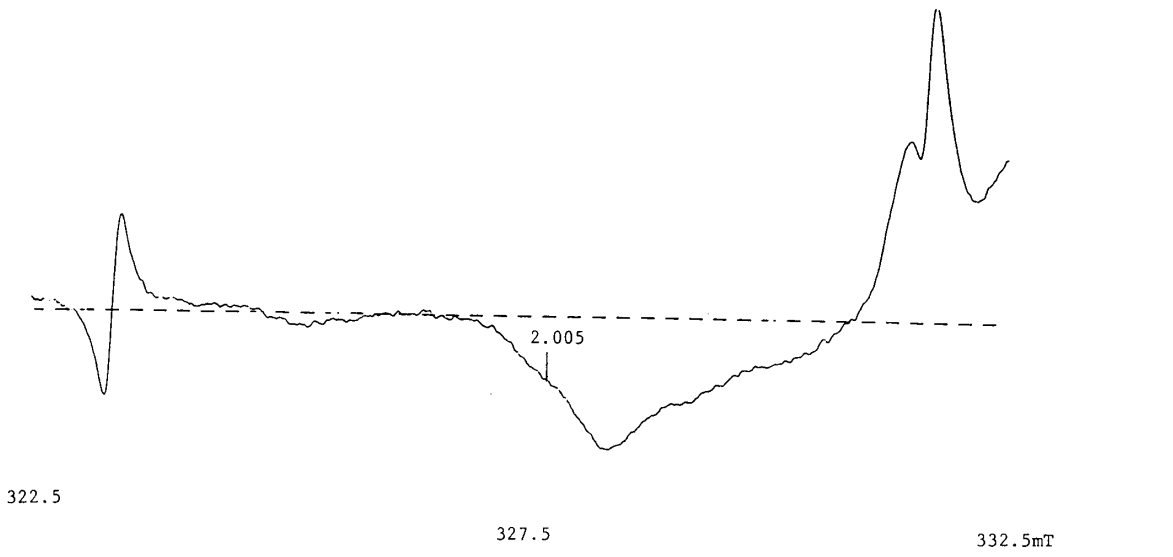


図5. GruyereのESRスペクトル

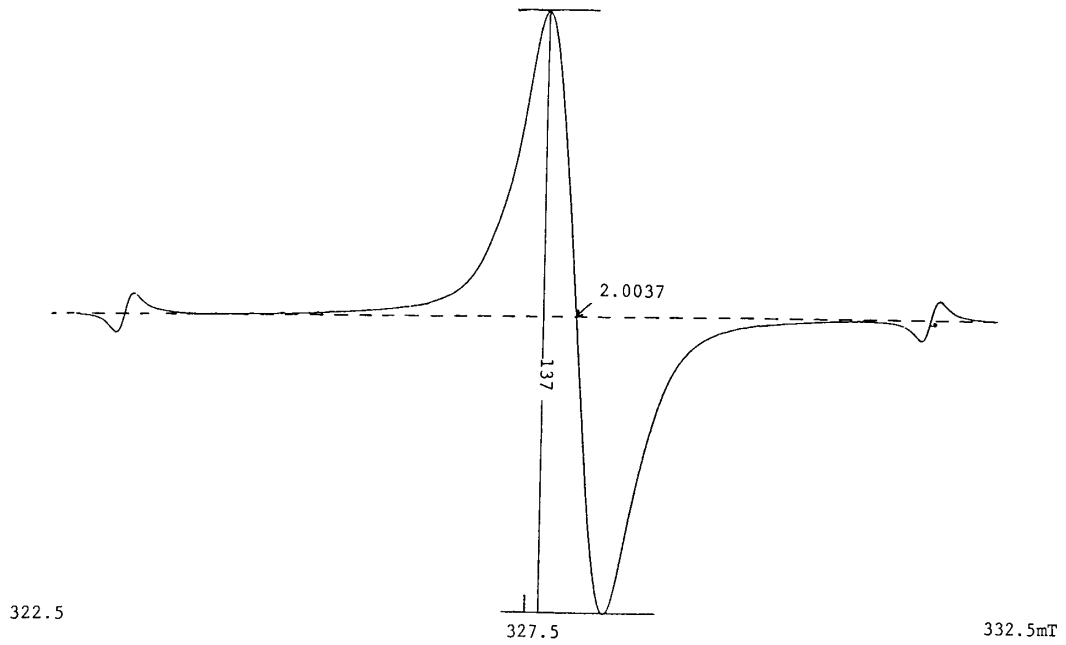


図6. Cream BlueのESRスペクトル

チーズ中のラジカルの分析

系のみならず製造工程においても混入の可能性があると
いえる。Bavaria, Roquefort, Cream Blueなどのカビ
発酵チーズに多く存在した。

$g=2.003$, $A=79G$ のESRパラメータは Mn^{2+} に帰属さ
れる。図4にその典型例を示した。マンガンは哺乳動物
にとり必須微量元素であるが、穀類や葉にも含まれ
ているため、この量の大小をみることは、そのチーズを
作るのに使われた乳を供給した動物が食べている草に含
まれるマンガンの量の大小をみることに通ずる可能性が
ある。Maribor, Scottish Cheddar, Samsøeなどに多
く含まれていた。

$g\perp=2.003\sim 2.005$ のESRパラメータは過酸化ラジカ
ルに帰因する。図5にその典型例を示した。このラジカ
ルのスペクトルは $ROO\cdot$ におけるRに依存するのは勿論
であるが、そのほかPH等によっても変化することが知ら
れており、量的な議論にも不確定性がつきまとうが、こ
こでは $g\perp$ 近傍のピーク強度からその量を算出した。
Gruyere, Bavaria(outside)に多くみられ、Smokedや
Bavariaにおいては内部より表面に多く存在することが分
かった。

$g=2.003$ のESRパラメータは典型的なカーボンラジカ
ル($C\cdot$)を示している。図6にその典型例を示した。こ
のラジカルはBavaria, Roquefort, Cream Blueなどの
青カビ熟成チーズに多く存在し、青カビとの関係が示唆
された。同じカビ熟成チーズでも白カビ熟成チーズの
Comembertにはこのラジカルは観察されなかった。

表1右端のコラムには、上記以外のESRパラメータを
示すシグナルを与えるチーズについて、その g 値を示し
た。このうち、 $g=1.67$, 1.52 に関しては、低スピン型 Fe^{3+}
錯体と思われるが、その他の $g=2.117$, 2.46 , 2.05 に関
しては、低スピン型 Fe^{3+} 錯体か正四面型 Cu^{2+} 錯体のどち
らかとも言えるだけで明確な帰属は行えなかった。

以上の結果から、ナチュラルチーズには、 Cu^{2+} 錯体、
ノンヘム Fe^{3+} Mn^{2+} などの遷移金属に由来するラジカル
が含まれ、その量はチーズの種類によりかなり差がある

ことが分かった。

ノンヘム Fe^{3+} と Mn^{2+} は、各種のチーズに広く存在して
いたのに比べ、 Cu^{2+} 錯体は存在したチーズに限られてい
るため、製造工程の中で、銅製の容器などから移行した
可能性も考えられた。

過酸化ラジカルは殆ど全てのチーズに存在し、各チー
ズの原料、製法、成熟の期間とその方法などに密接にか
かわっていると思われた。

青カビ成熟チーズには強いカーボンラジカルが存在し、
このラジカルと青カビとの関係が示唆されたが、カビの
菌糸、孢子、代謝産物のいずれにラジカルが由来してい
るかは今後の検討課題である。

要 約

市販されているナチュラルチーズに存在するラジカル
をESRで測定し、次の結果を得た。

- (1) Cu^{2+} 錯体、 Fe^{3+} , Mn^{2+} に由来する遷移金属ラジカ
ルを検出した。
- (2) 多くのチーズから過酸化ラジカルを、また青カビ
熟成チーズからはカーボンラジカルを検出した。

最後に、ESRスペクトル解析に懇切なる指導を賜った
日本電子(株)水田幸男氏に深謝します。また研究に協
力をいただいた中島文子氏に謝意を表します。

文 献

- 1) J. F. Boas, J. R. Pilbrow and T. D. Smith;
Biological Magnetic Resonance, Vol 1 ed.
by L. J. Berliner and J. Reuben, Plenum
Press, 1978, P.277
- 2) 石津和彦, 実用ESR入門 P.199 講談社
(1981)