



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

牛乳及び乳成分によるニンニク臭の抑制機構について

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 原, 裕司, 山内, 亮, 加藤, 宏治, 石川, 仁治 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/5684">http://hdl.handle.net/20.500.12099/5684</a>

# 牛乳及び乳成分によるニンニク臭の抑制機構について

原 裕司・山内 亮・加藤宏治・石川仁治<sup>a)</sup>

食品科学講座

(1998年7月16日受理)

## Suppression of Garlic Odor by Milk or Milk Components

Yuji HARA, Ryo YAMAUCHI, Koji KATO and Yoshiharu ISHIKAWA<sup>a)</sup>

*Department of Food Science and <sup>a)</sup> Ishikawa Konnyaku Co.*

*(Received July 16, 1998)*

### SUMMARY

It is well known that garlic odor in expiration is suppressed on drinking milk. The suppression mechanism by milk or milk components was studied in this experiment. When garlic homogenate and milk (or milk components, casein, fat) were mixed and placed in a sealed bottle, the garlic odor in the head space was suppressed 80-20 %. Among the components, whey could not depress. The garlic odor in the head space was analyzed by HPLC after being collected by absorbing into ethanol which was also placed in the sealed bottle as shown in Fig. 2. Casein, which suppressed the odor most was used to investigate the suppression mechanism. Garlic odor was produced from both casein-treated odor precursor and casein-treated allinase (enzyme), indicating that the suppression was not caused by an interaction of casein and the precursor, or of casein and the enzyme. The odor was then recovered by extraction with ethanol from the casein which absorbed the odor. From the results, it was concluded that the suppression was caused by the hydrophobic bond between odor component and hydrophobic regions of casein molecule.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ.(63) : 145-151, 1998

### 要 約

ニンニク磨砕物に蒸留水、牛乳、乳脂肪、カゼイン、乳清をそれぞれ加え、発生するニンニク臭気量を比較した。蒸留水のみを添加したときの臭気発生量を100%とすると、牛乳、乳脂肪、カゼインなどの添加は臭気を80~20%減少させたが、乳清は減少させなかった。次にニンニクより粗アリイナーゼ及び臭気成分前駆体を調製し、(1)カゼインとアリイナーゼ (2)カゼインと臭気成分前駆体をそれぞれ混合して4℃に20時間放置した後、(1)には臭気成分前駆体、(2)にはアリイナーゼを加え、ニンニク臭が発生するか否か検討したところ、どちらにも発生が認められ、その量も共に対照と差異はなかった。以上から、カゼインはアリイナーゼが臭気前駆体に作用し臭気を発生させる反応に影響を与えないと結論した。一方、カゼインと臭気成分モデル化合物であるジアリルジスルフィドを混合すると、雰囲気中のジアリルジスルフィド量が減少し、さらに、混合後のカゼイン(無臭)からこの化合物をエタノール抽出によって回収することが出来た。このことから、カゼインによるニンニク臭抑制作用は、臭気成分がカゼイン蛋白に吸着されることによるものと考察した。

a) 石川こんにやく(株)

## 緒 言

ニンニクは、糖質、ミネラル、ビタミン等を多く含み、古くから滋養強壮食品として知られている。しかし、特有のにおいが日本人に合わず、食用としての消費はあまり大きくない。<sup>1)</sup> ヒトが食を求め選択する行動の中で、匂い（香り）は、食品の風味や品質を特徴づけるうえで、味、色、テクスチャーよりも大きな要因となることが多い。食品の香気成分（臭気成分）の起源は多様であるが、その生成機構から分類すると、(1) 生体（食品原料）の正常な代謝過程を通じて生合成されるもの、(2) 生鮮食品の組織や細胞の破壊などで酵素が作用し生成されるもの、(3) 加工あるいは調理に伴う化学反応で生成されるものに大別される。<sup>2)</sup> 一般に、果実の香気は(1)の経路で、野菜の香気は(2)の経路で生成される場合が多い。ニンニク臭は(2)の経路によるものである。即ち、ニンニクの臭気は沢山の化合物から成っているが、その特徴的な臭は主として、S-アリルシステイン・スルフォキシド（アリイン, alliin）に酵素アリイナーゼ（alliinase）が作用して出来るチオスルフィネイト（アリシン, allicin）による（Fig.1）。加熱したニンニクの臭気が少ないのはアリイナーゼが熱失活し、アリシンを産することが出来ないからである。アリイナーゼはアリインのみならず、他のS-アルキルシステイン・スルフォキシド類であるメチル、エチル、プロピル同族体などとも反応しアリシンに類似した臭気成分を産生する。また、ニンニクを食した後、呼気中の臭気は、このアリシンのみではなく、その分解物であるジスルフィドやメルカプタンなどの含硫揮発性化合物も関与していると言われている。ニンニクは「体によいが、あの臭いが……」といわれるように、ニンニクの臭いが除去できれば、利用はさらに拡大することが確実視され、臭気除去が課題となっている。<sup>3) a, b)</sup> 古くから、牛乳を飲むことで呼気中のニンニク臭は抑制されると言われている。そこで、本研究では牛乳（及び乳成分）をニンニクに直接添加することによって、ニンニク臭が抑制できるかどうかを確認し、さらにその抑制機構について検討することを目的とした。

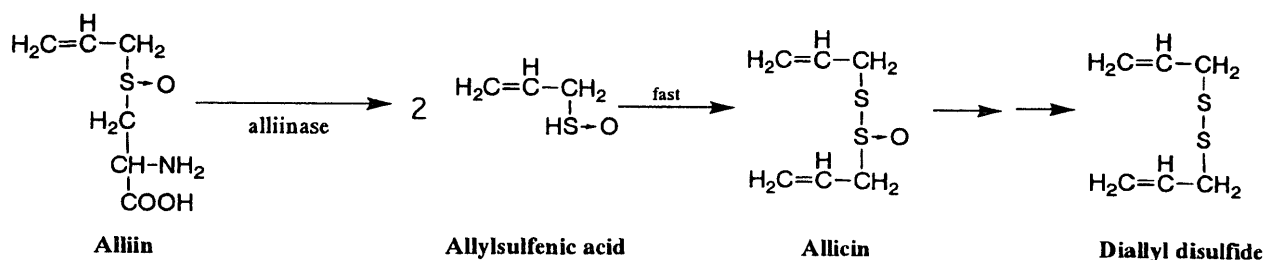


Fig.1. ニンニク臭気の発生メカニズム

## 実験材料および方法

**材料** 市販のニンニクを購入、実験に供するまで $-20^{\circ}\text{C}$ に保存した。実験に際し、ニンニクは3倍量の蒸留水を加えた後、ワーリングブレンダーで破碎し、濾紙（Toyo No.2）で濾過した濾液をニンニクホモジネートとして実験に供した。得られたホモジネート1 mlは0.34 gのニンニクに相当する。用いた牛乳は市販品で、乳成分はこれより次のようにして分離して実験に供した。即ち、新鮮な牛乳を遠心分離（3,000 rpm, 30 min.）により、乳脂肪（上層）と脱脂乳（下層）とに分け、脱脂乳にpH 4.6になるまでN塩酸を加え沈殿物としカゼインを分離した。上清はN水酸化ナトリウムでpH 6.8とし乳清とした。ニンニク臭気モデル化合物として東京化成（株）のジアリルジスルフィドを用いた。

**高速液体クロマトグラフィー（HPLC）** ポンプは日本分光社製880-PU、検出器は日本分光社製 875-UV 検出器を用い、240 nmにおける吸光度により臭気成分を検出した。臭気分量は島津製作所クロマトパックC-R6Aを用いピーク面積から算出した。使用したカラムはジーエルサイエンス社製、分析用逆相カラム Inertsil ODS-2（ $\phi 6.0 \times 150 \text{ mm}$ ）である。溶媒として70%メタノールを用いた。

**ニンニク臭気前駆体の調製** 無傷のニンニク鱗茎に4倍量の蒸留水を加え、酵素を失活させるために、

95℃に30分加熱した。次いで、ワーリングブレンダーでホモジナイズし、得られたホモジネートをさらに95℃に30分加熱した。遠心分離(5,000 rpm, 30 min.)で不溶物を除去後、上清は活性炭処理しニンニク臭を取り除き、凍結乾燥して粗ニンニク臭気前駆体を得た。これをM/20リン酸カリウム緩衝液に溶解、粗ニンニク臭気前駆体溶液(40 mg/ml)として実験に供した。

**粗酵素液の調製** ニンニクの皮をむき、室温で半解凍させたのち、M/50リン酸カリウム緩衝液(pH 7.0)を加え、ワーリングブレンダーで3分間ホモジナイズした。遠心分離(16,300 ×g, 60 min.)により不溶物を除き、上清に35%となるように硫酸アンモニウム(硫安)を加え、4℃で30分間攪拌した。沈殿物を遠心分離(16,300 ×g, 30 min.)により回収し、M/50リン酸カリウム緩衝液(pH 7.0)に懸濁したのち、20 μM/l pyridoxal 5'-phosphateを含む同緩衝液に対して透析した。透析内液の不溶物を遠心分離(12,000 ×g, 30 min.)により除き、上清を粗酵素液とした。<sup>5)</sup>

**ニンニク臭気成分の捕集** ニンニクホモジネート(5 ml)を密栓できる広口試薬瓶(60 ml容)に入れ発生する臭気を、同時に入れたバイアル(φ13×44 mm)中のエタノール(1 ml)に吸収させた(Fig. 2参照)。臭気成分の捕集温度、時間はそれぞれ37℃、20時間である。臭気成分を吸収した一定量のエタノールをHPLCに供し臭気成分を分析した。

広口試薬瓶(60 ml容)

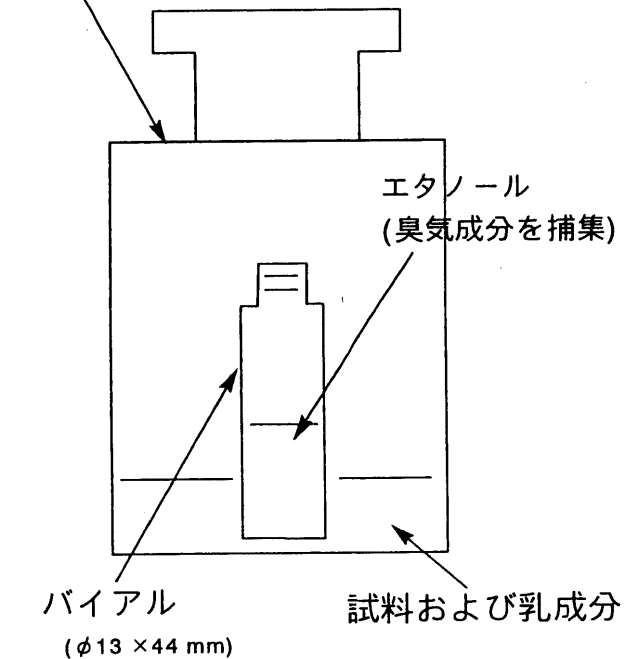


Fig.2. ニンニク臭気成分捕集方法

## 実験結果

**牛乳及び乳成分によるニンニク臭の抑制** ニンニクホモジネート5 ml(ニンニク 1.7 gに相当)に蒸留水 3mlを加え37℃に3時間放置した後、前述の方法で臭気成分を捕集し、HPLCで分析したときのクロマトグラムをFig. 3に示した。主成分として4本のピーク(peak 1~4)が認められた。次に、蒸留水の代わりに牛乳 3 ml, 乳脂肪 0.15 g(牛乳 3 mlに相当), 脱脂乳 3 ml, カゼイン 34.2 mgを水 3 mlに溶かした液, 乳清 3 mlそれぞれをホモジネート 5 mlに加え同様に試験した。各試料の臭気成分をHPLCで分析し peak 1~4の割合を対照を 1.00として、それぞれ比較検討した結果がTable 1である。牛乳及びいずれの乳成分(乳清を除く)にも臭気を抑制する効果が認められた(数値の小さいものほど臭気を抑制している)。しかし抑制される割合には成分(peak 1~4)により80~20%と差異が認められた。牛乳はニンニク臭の特定の成分を選択的に抑制していると推定される。なお、後述するようにpeak 1はジアリルジスルフィドである。

**カゼインのニンニク臭抑制機構の検討** ①粗ニンニク臭気前駆体溶液 2 mlと1, 5, 10%カゼイン溶液 2 mlをそれぞれ広口試薬瓶に入れ、4℃に20時間放置したのち粗酵素液 2 mlを加え、前述の方法で臭気成分を捕集した。②粗酵素液 2 mlと前述と同濃度のカゼイン溶液 2 mlを混合し、4℃に20時間放置した。その後、粗ニンニク臭気前駆体溶液 2 mlを加え、同様に試験した。③粗ニンニク臭気前駆体溶液 2 ml, 粗酵素液 2 mlおよび同濃度のカゼイン溶液 2 mlを同時に混合し、同様に試験した。なお、5%カゼイン溶液は前述の試験の牛乳 3 mlに相当するものである。Fig. 4に示すように、いずれの場合においてもエタノールに捕集されたニンニク臭気成分(peak 1~4)の量に差異は見られなかった。したがって、カ

Table 1. 捕集ニンニク臭気成分のピーク面積比

	peak 1	peak 2	peak 3	peak 4
蒸留水(3 ml)添加 [コントロール]	1	1	1	1
牛乳(3 ml)添加	0.214	0.839	0.138	0.241
乳脂肪(0.15 g)添加	0.297	1.19	0.194	0.347
脱脂乳(3 ml)添加	0.312	0.803	0.268	0.293
カゼイン懸濁液(3 ml)添加	0.698	0.754	0.672	0.620
乳清(3 ml)添加	1.54	1.03	1.30	0.990

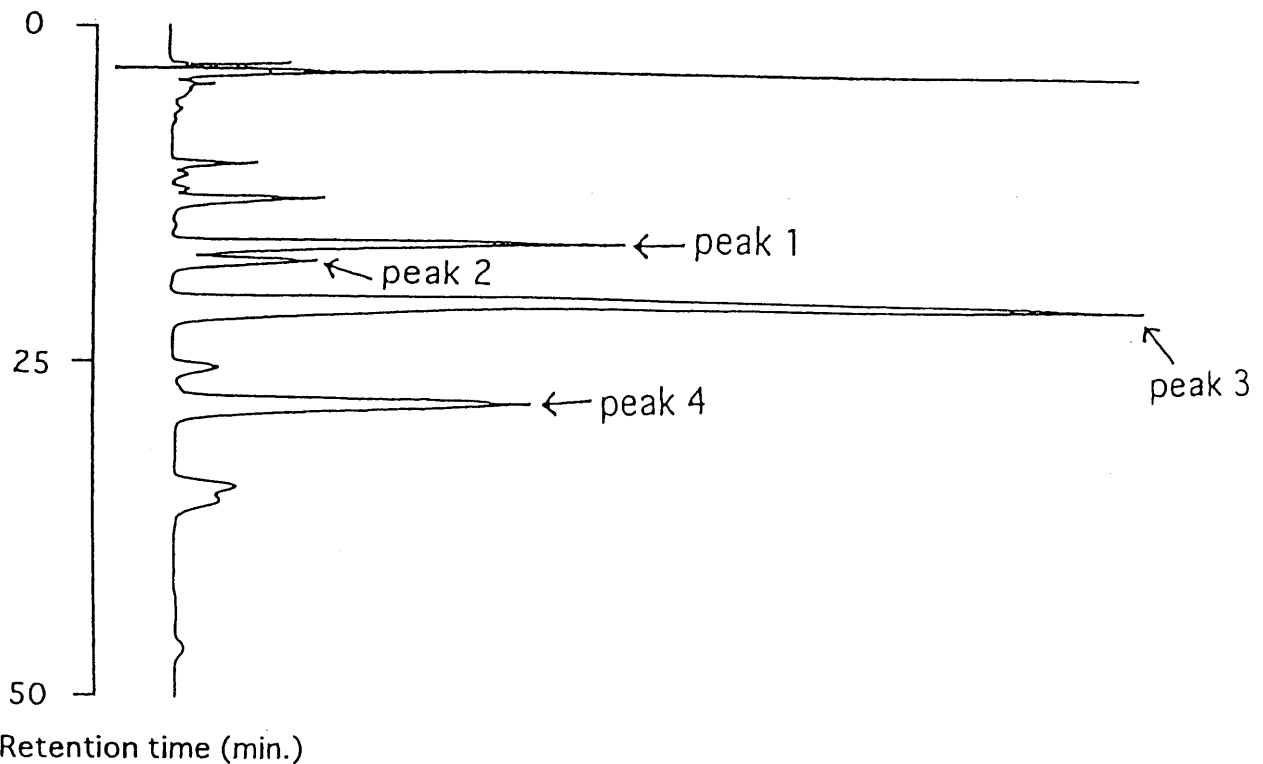


Fig.3. 捕集ニンニク臭気成分のHPLCクロマトグラム

HPLC条件：カラムInertsil ODS-2 (φ6.0×150mm), 溶媒70% Methanol, 流速0.6ml/min, 検出波長240nm

ゼインは①の実験から臭気前駆体に、②の実験から酵素、アリイナーゼに、③の実験から酵素反応にそれぞれ影響は与えていないと判定した。また、カゼインの濃度を上げるにつれて、エタノールに溶解込むニンニク臭気成分 (peak 1~4) が少なくなり、カゼインが多くなるとニンニク臭はより抑制されていることが分かる (Fig. 4)。

**カゼインと臭気成分モデル化合物との相互作用** 4 μMのジアリルジスルフィドのエタノール溶液2 μlを5%カゼイン溶液 8 mlに加え攪拌したのち37℃に20時間放置した。その後、N塩酸でpH 4.6とし、カゼインを沈殿させ、遠心分離 (3,000 rpm, 30 min.) により回収した。回収したカゼインにエタノール 3 mlを加え攪拌したのち、遠心分離 (3,000 rpm, 15 min.) により不溶物を沈殿除去し、上清のエタノール画分を

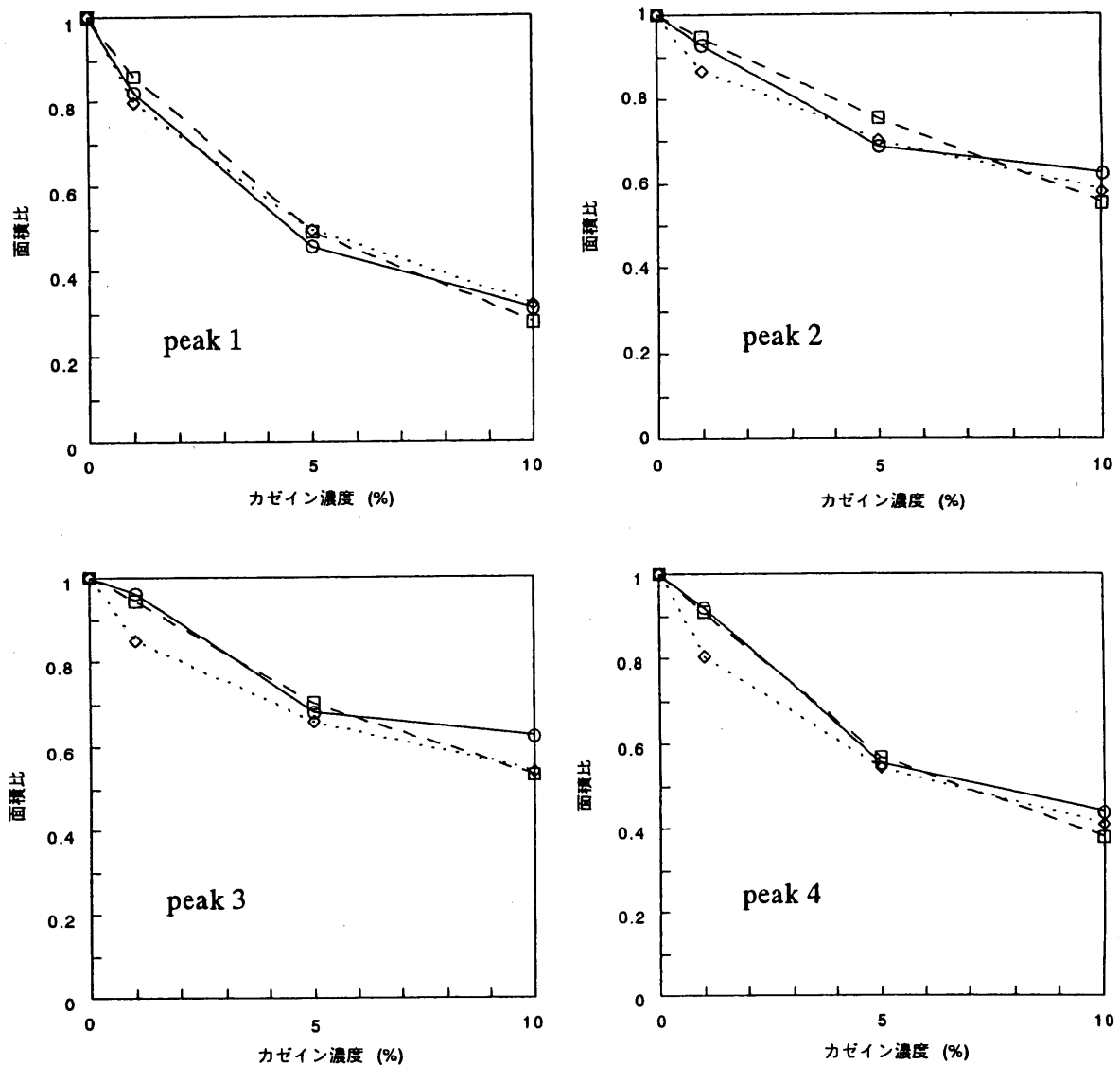


Fig.4. カゼイン添加による捕集ニンニク臭気各Peak成分量の減少

- 酵素にカゼインを添加後、基質添加
- 基質にカゼインを添加後、酵素添加
- ◇·· 酵素、基質、カゼイン同時添加

HPLC分析に供した。Fig. 5に示すように標品のジアリルジスルフィドと同じ保持時間を有する成分が確認できた。このことからジアリルジスルフィドはカゼインに吸着されることが確認された。なお、ジアリルジスルフィドの保持時間はpeak 1の保持時間と一致したことからpeak 1はジアリルジスルフィドによるものであると結論した。

### 考 察

本研究では、酵素反応によって発生し、Head Space中に現れる臭気成分をエタノールによって捕集し、HPLCによって分析した。ニンニク臭気成分は不安定なチオスルフィネイト、 $R-S-S(=O)-R'$ として生成され<sup>6)</sup>その後、安定なジスルフィド $R-S-S-R'$ へ変化していく。<sup>7)</sup>したがって、Head Space中に存在し、エタノールで捕集されるニンニク臭気成分はジスルフィドであると予想した。この予想はHPLCによる peak 1の保持時間と標品の保持時間と一致することから確認することが出来た。また、ジスルフィドはカゼインに吸着されることも確認することが出来たが、どのような機構で吸着されるのであろうか？カゼ

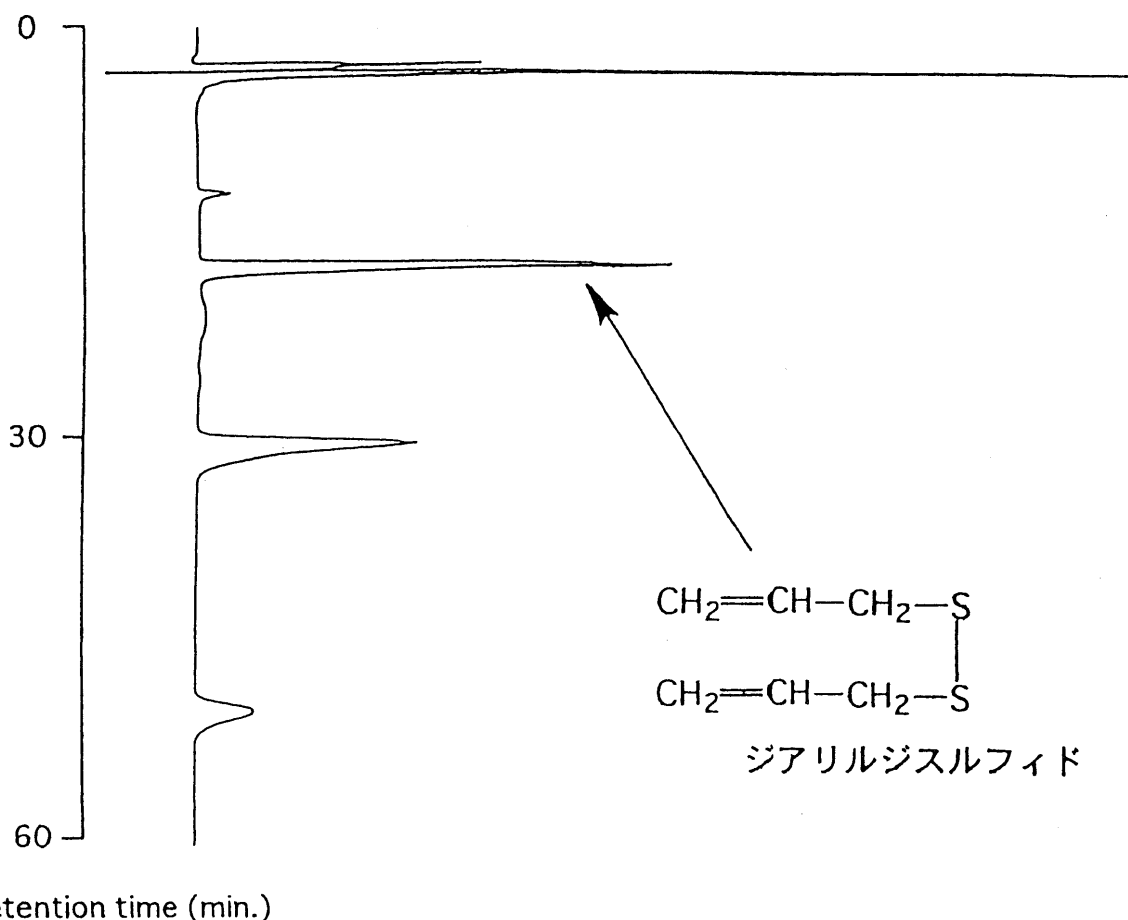


Fig.5. カゼイン処理後、カゼインより溶出されたジアリルジスルフィド

インは乳特有のタンパク質で、柔軟なランダム構造をもっている。<sup>8)</sup>  $\alpha$ -カゼインはアミノ酸鎖の中に特に疎水性の強い二つの領域 (1~44と90~199) と、極性の強い親水性の領域 (45~89) をもっている。極性の強い領域には、リン酸基が7個含まれており、分子内にこのように親水基と疎水基の両方の部分が存在している両親媒性構造を持ったタンパク質である。分子内に17個のプロリンを含むために、 $\alpha$ -ヘリックスや $\beta$ 構造のような規則的な構造をもった部分はほとんど含まれていない。 $\beta$ -カゼインは1~50番のN末端部に極度に負の極性の強い部分が集中しており、C末端部の136~206番に非極性の強い部分が集中した両親媒性の性質をもっている。プロリンが35残基含まれているため $\alpha$ -ヘリックスや $\beta$ 構造はほとんど存在しない。<sup>9)</sup> また、 $\kappa$ -カゼインもN末端側に疎水性領域、C末端側には糖鎖を含めて親水性領域を有する両親媒性の構造をもっている。以上のようにカゼイン蛋白の構造を考慮すると、「カゼインはその疎水領域へジスルフィドを疎水結合させることによりニンニク臭抑制作用を発現している」と考察できる。しかし、本実験結果だけでは、チオスルフィネイトがカゼインに吸着されるか否かの点は定かではない。ニンニク臭の主要成分であるアリシン (ジアリルチオスルフィネイト) はチアミン (ビタミンB1) とジスルフィド結合しアリチアミンとなることが知られている。<sup>10, 11)</sup> ジスルフィドに分解される前のチオスルフィネイトがカゼインと同様な結合をすることにより臭気発生を抑制している可能性もあり、今後解明されなければならない問題である。

#### 参 考 文 献

- 1) 農文協編：“野菜全書 ネギ類 ニンニク タマネギ アスパラガス” 東京：農山漁村文化協会 56 - 57, 1983
- 2) 並木満天・松下雪郎：“食品の品質と成分間反応” 東京：文永堂出版 46- 102, 1990
- 3) -a 糸川嘉則：“ニンニクの栄養特性” 食の科学 172：25 - 34, 1992  
b 中本ひろみ：“ニンニク利用の問題点” 食の科学 172：35 - 40, 1992
- 4) Yoichi Ueda, Makoto Sakaguchi, Kazuo Hirayama, Ryuichi Mayajima and Akimitu Kimizuka：“Characteristic Flavor

- Constituents in Water Extract of Garlic” *Agric. Biol. Chem.* 54 : 163-169, 1990
- 5) Linda P. Nock and Mendel Mazelis : “The C-S Lyases Higher Plants : Preparation and Properties of Homogeneous Alliin Lyase from Garlic (*Allium sativum*)” *Arc. Biochem. Biophys.* 249 : 27-33, 1986
  - 6) Larry D. Lawson, Steven G. Wood and Bronwyn G. Hughes : “ HPLC Analysis of Allicin and Other Thiosulfinates in Garlic Clove Homogenates” *Planta Medica* 57 : 263 - 270, 1991
  - 7) Tung-Hsi and Chung-May Wu : “Stability of Allicin in Garlic Juice” *Journal of Food Science* 54 : 977-981, 1989
  - 8) 山内邦夫・今村経明・守田哲朗 : “牛乳成分の特性と健康” 東京：光生館 5 - 9, 1993
  - 9) 金丸義敬 : “動物性食品科学 I 講義テキスト”
  - 10) 安本教博・菅野道廣 : “食品学総論” 東京：同文書院 82 - 83, 1994
  - 11) 三橋博・田中治・野副重男・永井正博 : “天然物化学” 東京：南江堂 288, 1985