

*Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related
Hydroxycinnamic Acid Compounds.*

(コーヒー酸とその関連するヒドロキシ桂皮酸化合物の抗酸化活性)

J.Agric Food Chem.1997,45,2374-2378

Jiang Hong Chen and Chi-Tang Ho

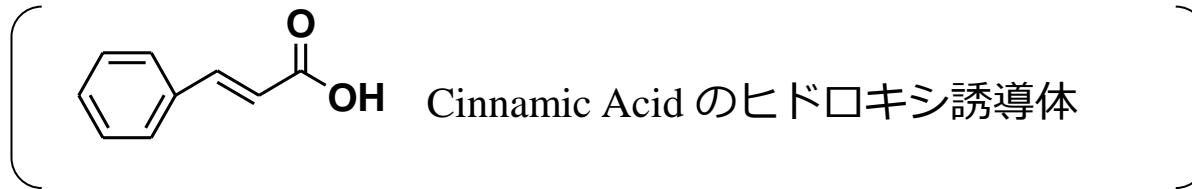
2012.5.11 (Fri) M2 中室 奈緒美

* Introduction

ヒドロキシ桂皮酸



広く自然界に分布
有機酸または配糖体のエステル, タンパク質, 他の細胞壁ポリマーに結合



食品中に発生

⇒ 安定性, 色, 味, 栄養価, 食品品質への影響

フィトケミカル(植物中に存在する天然の化学物質)

果実や野菜の色素や辛味成分であり、抗酸化剤としても用いられ、体内では抗酸化物質として作用する。色素や抗酸化剤の機能は共役した炭素-炭素二重結合によると言える。

(例) ポリフェノール

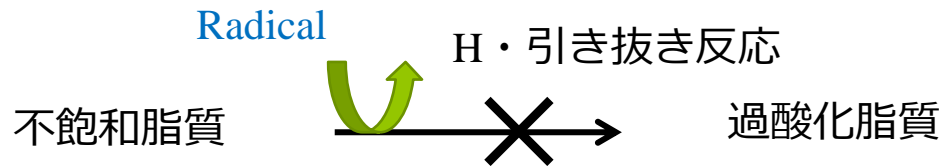
フラボノイド (色素) – アントシアニン

ブドウ・ブルーベリーなどに含まれ, 抗酸化作用を持つ

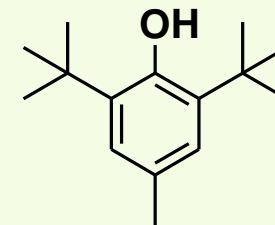
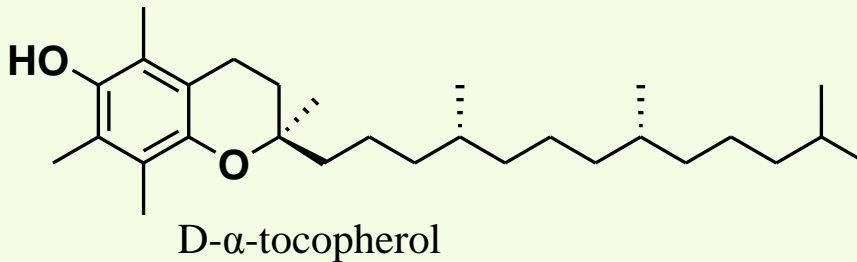
* Introduction

抗酸化物質

脂質の過酸化反応を抑制、生体の酸化または食品の変質の原因になる抗酸化酸素種を捕捉することによって無害化する反応に寄与する物質



食品酸化防止剤



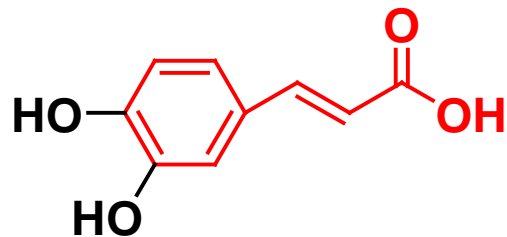
フリーラジカルを消失させることで自らがビタミンEラジカルになり、脂質の連鎖酸化を阻止する。

リン脂質・コレステロール脂質の不飽和脂肪酸を防御

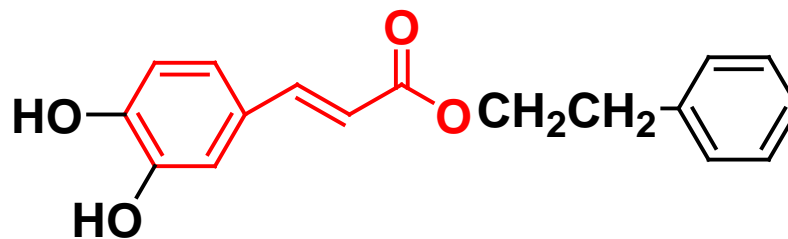
脂溶性フェノール類
抗酸化剤として食品添加物に用いられる。

* Introduction

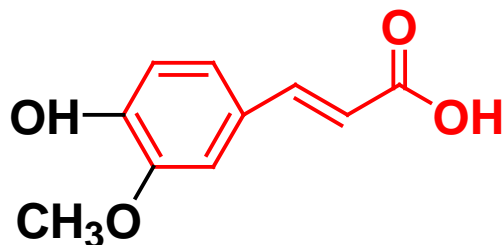
ポリフェノールの抗酸化活性を検討！



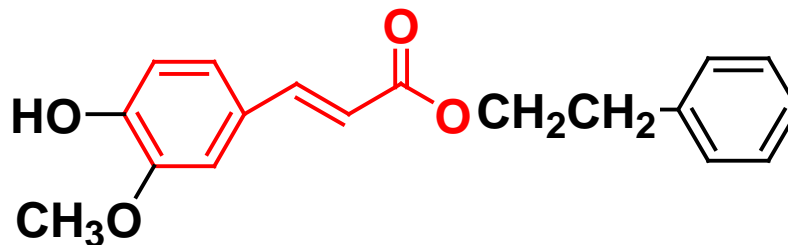
Caffeic Acid (CA)



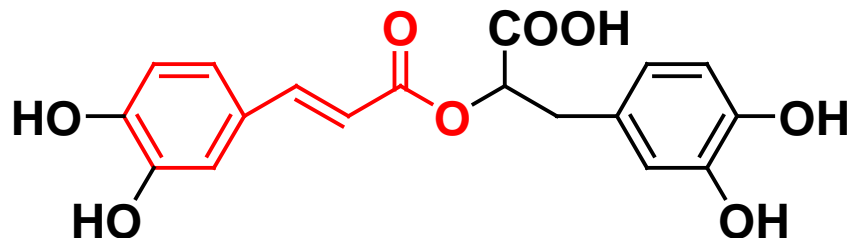
Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)



Ferulic Acid (FA)



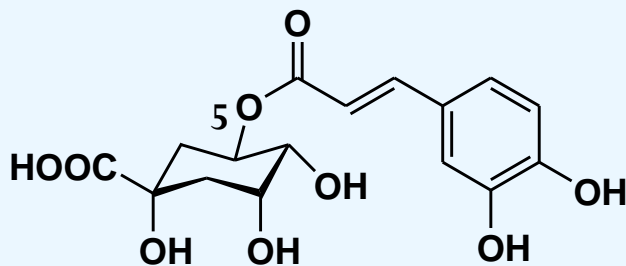
Ferulic Acid Phenethyl Ester (FAPE)



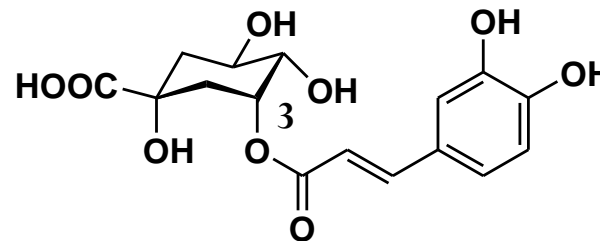
Rosmarinic Acid (RA)

* Introduction

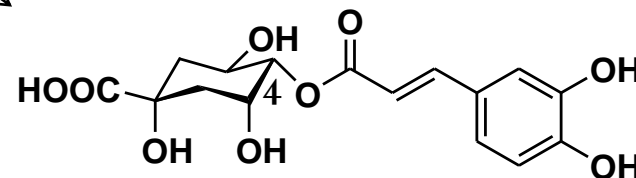
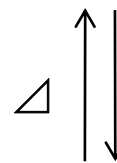
Chlorogenic acid(5-CQA)



ラジカル捕捉能による抗酸化作用
コーヒー中に5-10%程度含有
熱に不安定で容易に分解



Neochlorogenic acid(3-CQA)



Cryptochlorogenic acid(4-CQA)

コーヒー酸のカルボキシル基とキナ酸5位(3, 4位)のヒドロキシ基による脱水縮合構造

これらのヒドロキシ桂皮酸化合物の抗酸化活の調査, その活性と化学構造との関係性を解明

* Method

① Rancimat法

試料約3gを反応容器に入れ、110℃に加熱しながらその中に清浄空気を送り込み、揮発性分解物を水中に捕集し、捕集水の導電率が急激に変化する折曲点までの時間(誘導時間)を測定する方法。

酸化安定性は、誘導時間が長いほうがより安定な結果となる。



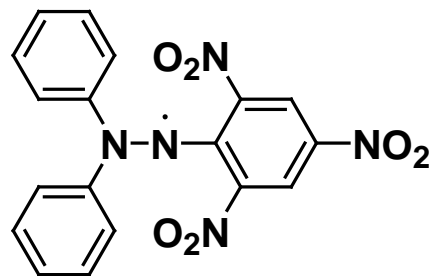
今回測定比較 : lard(動物性) , corn oil(植物性)

② DPPH ラジカルの抗酸化活性

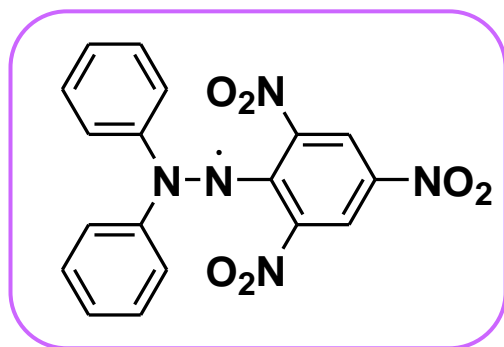
DPPH radical (final conc. 1.0×10^{-4} M) in MeOH
Test compounds (20 μ M) in MeOH

➡ 30min 暗所放置後、517 nm UV-vis 測定

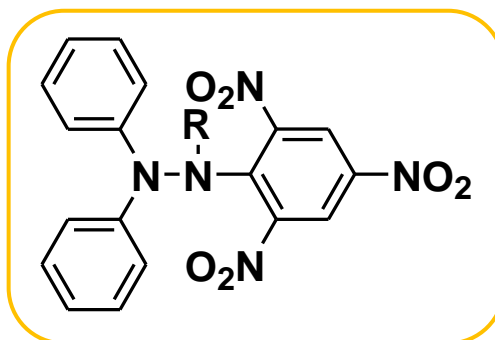
* Method



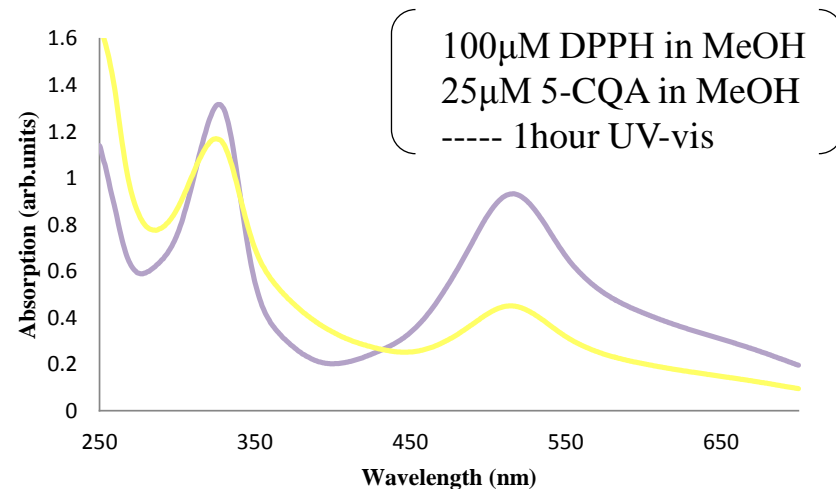
1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (安定)
比色法による物質のラジカル消去能 (抗酸化能)
の測定に用いられる。



DPPHラジカル (深紫)



約520nm : 強い吸収帯
、DPPHラジカルが中和され
無色・淡黄色に変化すること
で、ラジカル活性を確認。



* Result and Discussion

① Rancimat法

lard (動物性)

CA ~ α -tocopherol > CAPE ~ RA > CQA >> BHT > FA ~ FAPE

corn oil (植物性)

RA > CA ~ CAPE ~ CQA > α -tocopherol > BHT > FA ~ FAPE

植物性脂質の方が抗酸化能を低下させている。
かつ、脂質で抗酸化能の序列が異なっている。

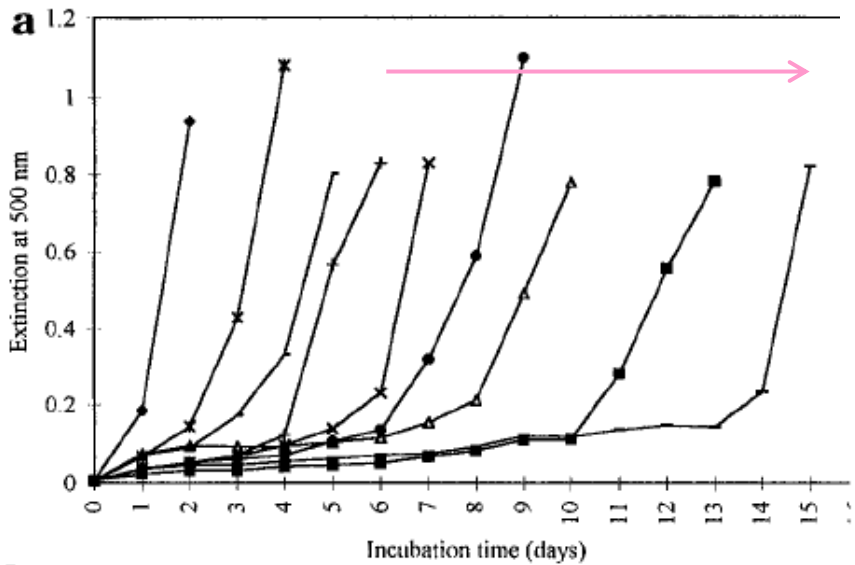
Table 1. Induction Time of Lipid Oxidation Measured by the Rancimat Method

compound ^a	induction time for lard (h) (SD) ^b	antioxidant index for lard ^c	induction time for corn oil (h) (SD) ^b	antioxidant index for corn oil ^c
control	2.12 (0.14) ^c	1.00	2.03 (0.06) ^c	1.00
caffeic acid	23.7 (1.4) ^d	11.1	5.11 (0.22) ^d	2.51
caffeic acid phenethyl ester	20.9 (0.9) ^e	9.86	4.89 (0.09) ^{d,e}	2.41
ferulic acid	4.28 (0.25) ^f	2.01	2.16 (0.06) ^c	1.06
ferulic acid phenethyl ester	4.24 (0.15) ^f	2.00	2.05 (0.10) ^c	1.01
rosmarinic acid	20.7 (0.5) ^e	9.76	6.02 (0.27) ^f	2.97
chlorogenic acid	16.6 (1.0) ^g	7.83	4.74 (0.28) ^e	2.33
α -tocopherol	23.5 (0.3) ^d	11.1	3.91 (0.21) ^g	1.93
BHT	5.88 (0.34) ^h	2.77	3.49 (0.18) ^h	1.72

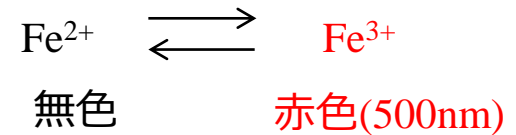
^a The concentration of added compounds was 2 μ mol in 2.5 g of oil. ^b Each value is the mean of triplicate measurements, and SD means standard derivation of measurement. Values within a column with different letters are significantly different at $P < 0.05$. The substrate was pure lard (pork fat) or corn oil stripped of nature antioxidants. ^c Antioxidant index is defined as the induction time of lipid oxidation with antioxidant over the induction time of control.

* Result and Discussion

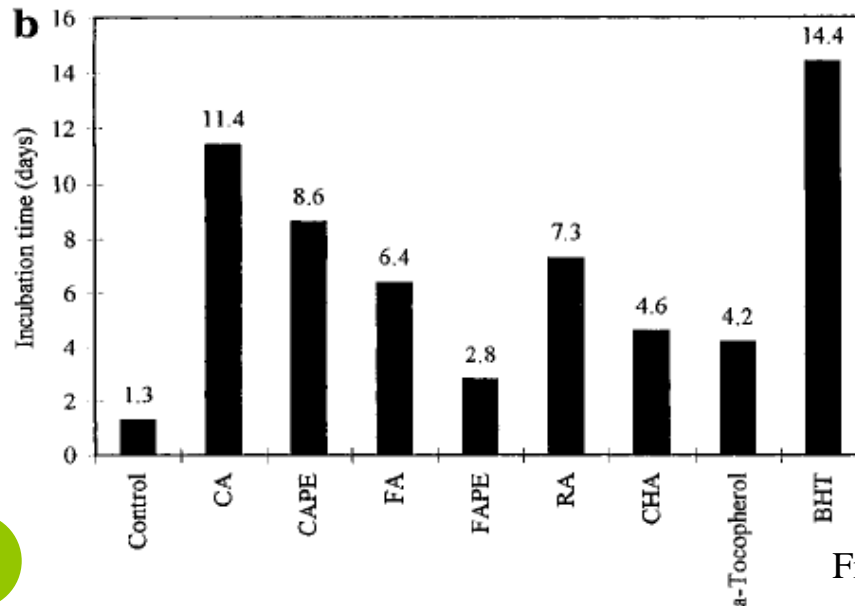
③ Oil in water Emulsion 抗酸化活性



〔 着色するのに要する時間
= 抗酸化活性の強さ 〕



吸光度 04を観測するのに
かかったincubation days



**BHT > CA > CAPE > RA > FA
> CQA > α-tocopherol > FAPE**

Figure2. Antioxidant activity in oil-in-water emulsion.

* Result and Discussion

①③ 脂質酸化における温度影響

長期高温加熱ではCAが分解される可能性。



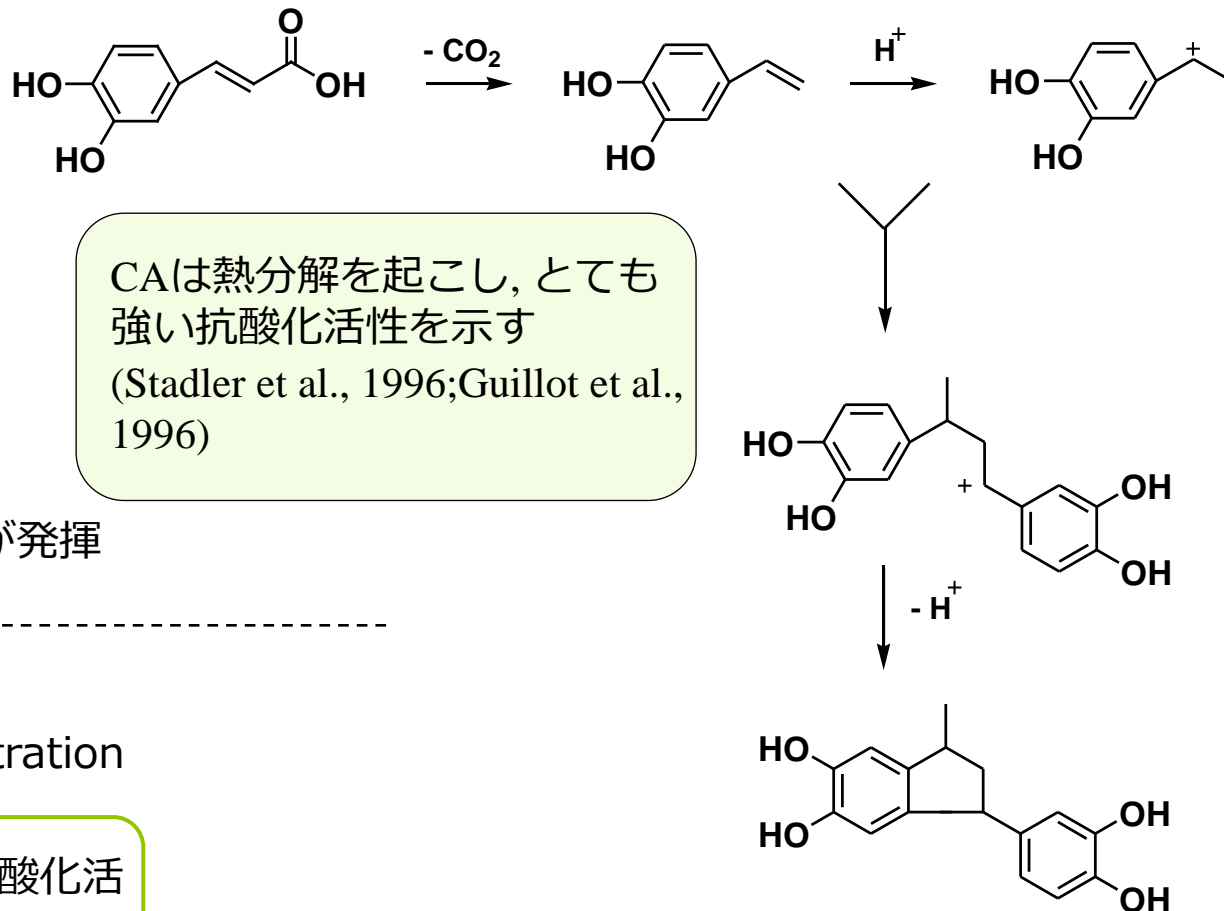
OH基 : RA > CA
抗酸化活性 : RA < CA

Corn oil > lard 中で効果が発揮

依存

lipid substrate > concentration

脂肪酸の種類によって、抗酸化活性の発揮が異なる。

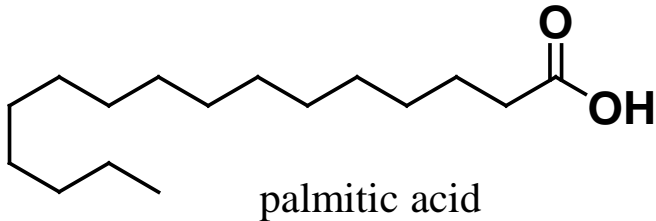


Scheme.1 Proposed mechanism of formation of 1,3-cis and 1,3-trans-phenylindans.

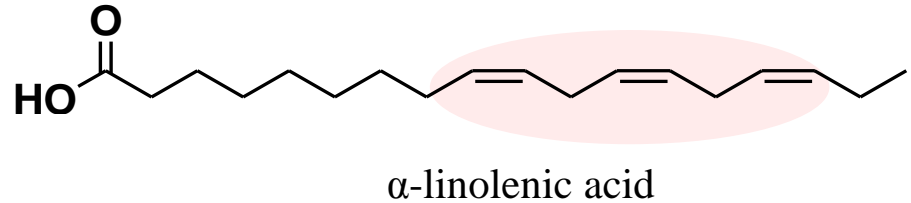
* Result and Discussion

ex.)

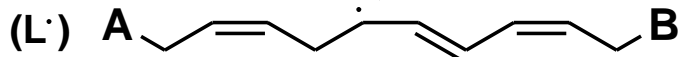
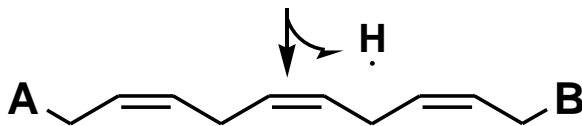
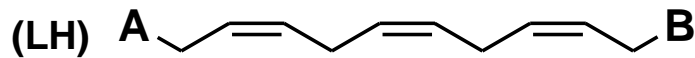
lard (動物油)



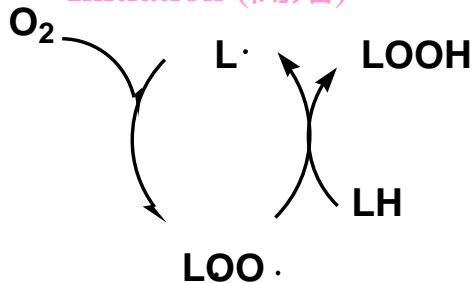
corn oil (植物油)



➡ 不飽和脂肪酸が多い = 酸化しやすい



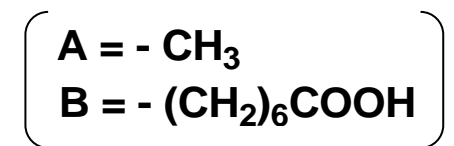
Initiation (開始)



Propagation (伝達)



Termination (停止)



* Result and Discussion

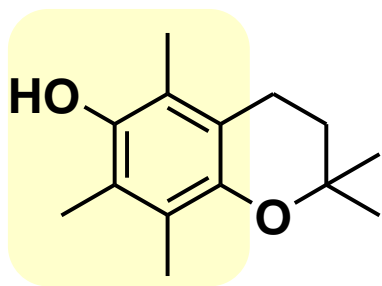
② DPPH ラジカルの抗酸化活性

RA >> CAPE > CA > CQA > α -tocopherol
> FA > FAPE > BHT

➡ 抗酸化効果は水素寄与能力に起因
(Blois 1958)

今まで！

水素原子が供給され、活性酵素
を失活させることこそが抗酸化
化活性を決める要因



ビタミンEモデル

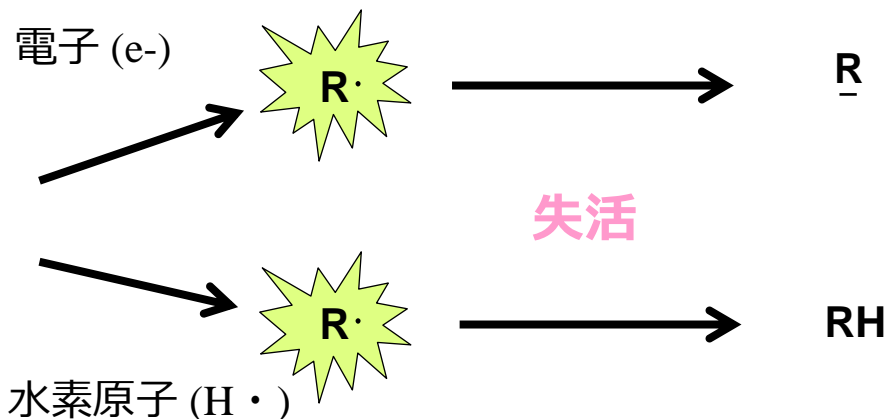
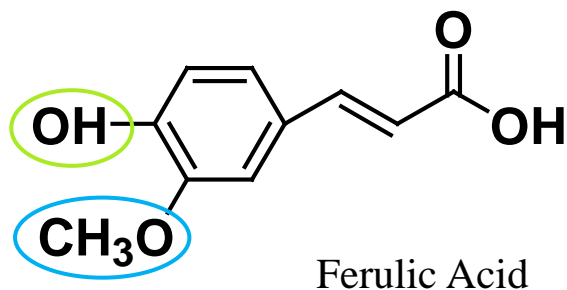


Table 2. Scavenging Effects of Antioxidants on the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical^a

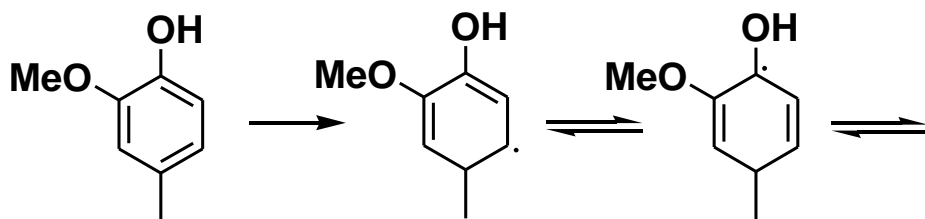
compound	absorbance at 517 nm ^b (SD) ^c	inhibition percentage (SD)
control	1.159 (0.005)	—
caffeic acid	0.576 (0.028)	51.5 (2.44)
caffeic acid phenethyl ester	0.509 (0.014)	57.5 (1.24)
ferulic acid	0.879 (0.012)	24.8 (1.06)
ferulic acid phenethyl ester	1.018 (0.011)	12.5 (0.97)
rosmarinic acid	0.191 (0.016)	85.6 (1.41)
chlorogenic acid	0.749 (0.035)	36.3 (3.00)
α -tocopherol	0.791 (0.004)	32.5 (0.35)
BHT	1.052 (0.012)	8.9 (1.06)

^a The concentration of DPPH ethanolic solution was 1.0×10^{-4} M. ^b The concentration of compounds was $20 \mu\text{M}$. ^c Each value is the mean of triplicate measurements, and SD means standard derivation of measurements. All values within a column are significantly different at $p < 0.05$.

* Result and Discussion



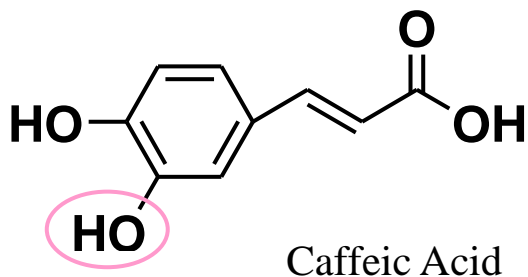
para-substitution



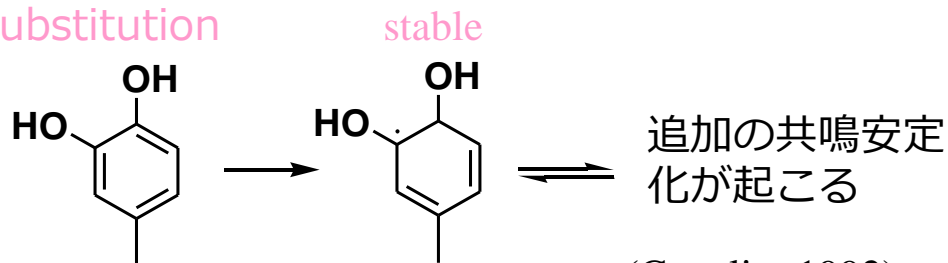
(Graf 1992)

ortho-substitution

フェノキシラジカルの安定化
⇒ 抗酸化活性の向上



ortho-substitution



(Cuvelier 1992)

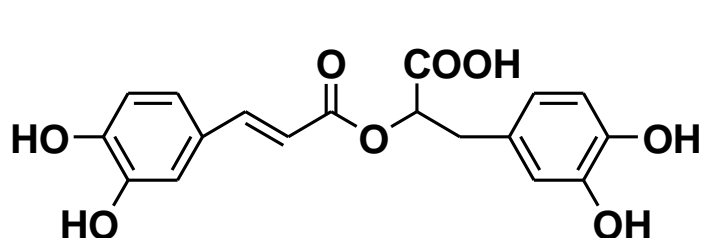
Hammett則

置換基の電子供与, 吸引の程度を定量化した値

σ 値が正であれば置換安息香酸の方が無置換のものより酸性が強い = 電子吸引性基

σ 値が負 = 電子供与性置換基

* Result and Discussion

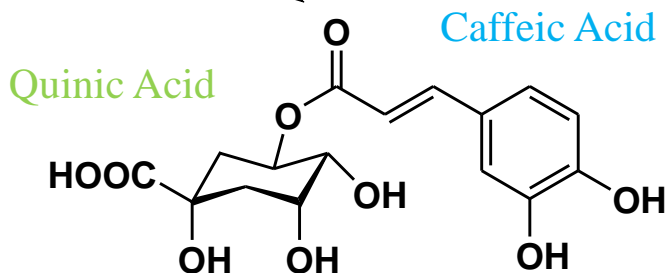


Rosmarinic Acid

カフェ酸の二量体と考える
 = ヒドロキシ基 4個
 = プロトン供給力が高い
 ⇒ 1当量で強い抗酸化作用

糖部分によって抗酸化活性は減少

Efficient Quantity (EQ)
 = 抗酸化活性と半比例



Chlorogenic acid

Table II. Antioxidative Efficiency of the Phenols Tested

Phenols	Number of phenolic OH	EQ (ppm)	Molecular weight	EQ (10^{-5} mol/liter)
Rosmarinic acid	2 × 2	13	360	3.6
Propyl gallate	3	9	212	4.2
Caffeic acid	2	8	180	4.4
Gallic acid	3	8	170	4.7
Pyrocatechol	2	6	110	5.5
BHA	1	12	180	6.6
Gentisic acid	2	10.5	154	6.8
Protocatechuic acid	2	11.5	154	7.5
Chlorogenic acid	2	28	354	7.9
Curcumin	2 × 1	34	368	9.2
BHT	1	28	220	13
Sinapic acid	1	47	224	21
Ferulic acid	1	72	194	37
Syringic acid	1	120	198	61
<i>p</i> -Coumaric acid	1	126	164	77
Vanillic acid	1	> 300	168	> 100
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1	> 300	138	> 100
Salicylic acid	1	> 300	138	> 100

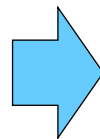
(Comparison of the Antioxidative Activity of Some Acid-phenols: Structure-Activity Relationship, 1991)

* Conclusion

①③ Rancimat法, Oil in water Emulsion 抗酸化活性

α -トコフェノール
⇒ 高温で用いる油の酸化阻害

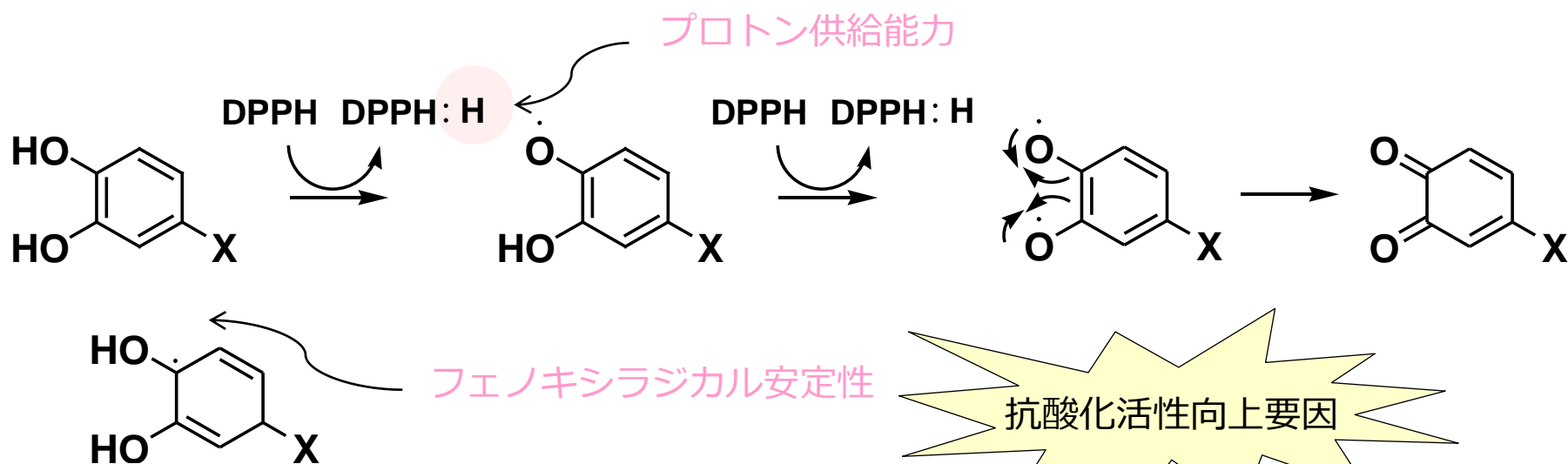
BHT
⇒ 比較的低い温度で貯蔵油の酸化を阻害



BHT, トコフェノール
CA, FA - フェネチルエステル

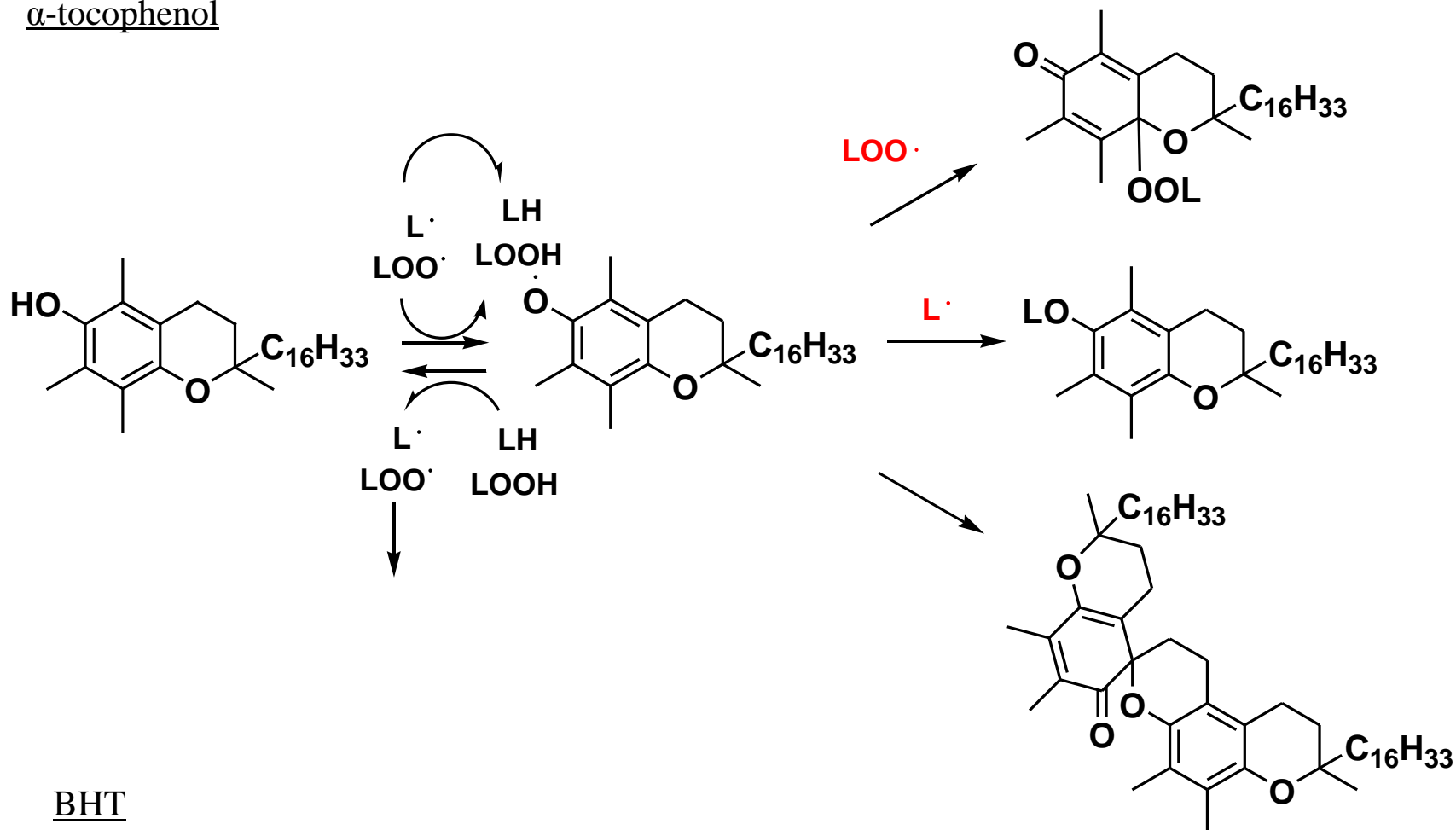
抗酸化活性の違いが生じる理由

② DPPH ラジカルの抗酸化活性



Scheme.2 DPPH radical scavenging reaction

α -tocophenol



BHT

