

不飽和脂肪酸乳化時照射物の自働酸化について

篠崎 侑一・大原 幸子*

On the Autoxidation of Unsaturated Fatty Acids irradiated
with the X-ray in Emulsion state.

Yuichi SHINOZAKI and Sachiko OHARA

We have investigated the changes of characteristics of some unsaturated fatty acids, effected by the X-ray irradiation, during the autoxidation.

The irradiation was carried out under the condition of 3000 roentgen at 19 — 26°C on 5 mm layer of fatty acids emulsion (20% to water).

We have obtained the following experimental results ;

(1) Under the above mentioned condition, the free fatty acids are more sensitive than their esters.

(2) The larger amount of peroxides are produced by the more unsaturated acids.

(3) There are distinct differences between the conjugated- and the nonconjugated double bonds on the behaviors caused by irradiations.

Many unsolved problems have been raised concerning the conjugated unsaturation of fatty acid, readily accompanied with a cis-trans isomerization or polymerization.

緒 言

高分子不飽和脂肪酸に γ 線や X 線等の電磁波を照射すると照射しないものに比べて過酸化物が著しく生成し易くなることが L. R. Dugan ら¹⁾ によつて報告され、又 D. A. Lang ら²⁾ は γ 線照射によつて不飽和脂肪酸の二重結合位の移動が強められ、このことが過酸化物の生成やカルボニル化合物の生成、更に低分子化合物の崩壊を促進すると説明している。これらの現象に関係した事項についてその後多くの研究がなされ、例えば H. T. Solver ら³⁾ はオレイン酸メチルの Co^{60} 照射物についてヒドロパーオキシド基が生成する直鎖炭素の位置について調べたところ一般の自働酸化の場合と同様ヒドロパーオキシド基生成位置の分布状態は $10 > 11 > 9 > 8$ の順になることを報告し、又 A. Astrack ら⁴⁾ は不飽和脂肪酸の照射において Propyl Gallate のような抗酸化剤を添加すると過酸化物生成は著しく抑制されるが遊離ラジカルが濃縮するため極めて短時間内に連鎖反応を起し結局同じような変化をたどり一般自働酸化の場合ほど有効でないと述べ、T. R. Chipault ら⁵⁾ はこれらの不飽和酸の照射が水の共存下 (5%以下) で行なわれるとカルボニル化合物や過酸化物が増加すると報告している。

著者等は動物組織に対する照射不飽和脂肪酸の生理作用に関する研究中乳化型不飽和脂肪酸

* 岡山大学医学部癌源研究所

製剤の酸化による変化の様相を明らかにすることが必要となり、代表的二三の不飽和脂肪酸について乳化状態におけるX線照射の自働酸化におよぼす影響を調べたので以下その実験結果を報告する。

I. 試料ならびに実験方法

(1) 試料の調製と一般性状

a) リノール酸エチル

大豆油（日本興油工業株式会社製造 (I. V. 132.7, S. V. 192.8, A. V. 0.4, ケン化物0.45% n_D^{20} 1.4753)* を室温 (16~20°) にて N/10KOH エタノール液と共に1時間攪拌してエステル基交換反応を行ない直ちに蒸留水を加えてエステル化物を遊離せしめ水洗乾燥の後減圧分留に附し、その留分中水銀柱1mmにて187~190°の留分のみを採り更に石油エーテル中にて臭素添加し5°にて24時間静置の後不溶部を分別除去し以下常法によつて脱臭素し炭酸ソーダにて脱酸の後水洗、乾燥したものを試料Aとした。

b) リノール酸

市販リノール酸（隅田化学株式会社発売）を先づ前記a)のような臭素附加物精製法による精製を行なつ後更に尿素附加法により0°次いで-10°における析出物を分別除去の後調製したものを試料Bとした。

又市販リノール酸（東京化成株式会社発売）をそのまま試料Cとした。

c) リチノール酸

市販ひまし油（大日本製薬株式会社発売）(I. V. 86.6, S. V. 180.2, A. V. 1.1, OH. V. 162.8, n_D^{20} 1.4785) を5倍量のN KOH アルコール液にて完全ケン化の後飽和 NaCl 水溶液にて4回塩析した後アルコールにとかし同容の酢酸バリウム水溶液を加え不溶性バリウム塩として分別し、風乾の後20倍量の無水エタノールを加え55~60°にて溶解し僅少量の不溶部を充分除去の後5°まで冷却し、沈降した沈澱を集め再度10倍量無水エタノールにて加熱溶解し55°にて析出物を分別除去の後5°における沈降物を集め無水エタノールから再結して純粋のリチノール酸バリウム塩を得て以下常法により遊離リチノール酸を収得しこれを試料Dとした。

d) ひまし油混合脂肪酸エチル

上記c)の原料ひまし油を採り10倍量の無水エタノールを加え乾燥塩酸瓦斯を吹き込みながら9時間加熱還留してエステル基交換反応を行なつた後炭酸ソーダで中和し水で希め以下常法によつて調製したひまし油混合脂肪酸エチルエステルを試料Eとした。

e) リノレニン酸

市販リノレニン酸（東京化成株式会社発売）をそのまま試料Fとした。

以上のようにして調製した試料の一般性状は表-1に示すとおりである。

* 以下本文中においては I. V. はヨ-素価を, S. V. はケン化価を, A. V. は酸価を, PO. V. は過酸化価を, OH. V. は水酸基価を, n_D^t は t° における屈折率を示す。

第1表 試料の一般性状

試料名	A. V.	S. V.	I. V.	PO. V.	OH. V.	共役ジエン%	$\eta^{\frac{1}{2}}_D$
A. リノール酸エチル	1.7	182.5	149.2	3.0	—	11.2	30 — 1.4540
B. リノール酸	199.2	200.7	169.0	4.2	—	5.9	20 — 1.4599
C. リノール酸	199.9	200.9	154.0	10.2	—	30.8	20 — 1.4698
D. リチノール酸	186.5	—	87.8	5.4	164.8	—	27 — 1.4670
E. ひまし油脂肪酸エチル	0.6	170.7	82.1	8.3	181.8	—	30 — 1.4562
F. リノレニン酸	201.9	—	261.5	5.6	—	—	20 — 1.4781

(2) 実験方法

a) 乳化液の調製

各試料に対し10% (重量) に当る Tween 80 を混合した後3~5倍量の水を加えてホモゲナイザー (800~1,000. r. p. m.) にて乳化させた。乳化状態は乳化後一昼夜放置して球径5 μ —10 μ が90%以上であつた。

b) 照射

乳化液をシャーレ (径15 cm) に1 cm層に拡げて照射した。照射線量は3,000 r (照射条件: 管電圧200 KVP, 管電流25 mA, 濾過板 Cu 0.5 mm + Al 0.5 mm, FHD 40 cm, 分レントゲン量116.8 r, 半価層 Cu 1.37 mm) とした。

c) 照射物の処理

照射処理を終えたものは N₂ 気流中にて水分を完全に減圧留去し20倍量に当る脱水石油エーテル (沸点35~50°) を加え5°にて一昼夜以上静置して析出する部分 (乳化剤) を冷時口紙にて口過分別し、その口液を再び5°にて一夜静置、析出物の口別をくり返えした後 N₂ 気流中50°以下の温度にて石油エーテルを減圧留去し直ちに N₂ 封入アンプル詰めにして冷蔵し供用した。非照射の試料も照射物の後処理と全く同様の処理を経て対照実験に供した。

d) 自酸化と分析

一般性状を調べた各試料は一定のシャーレ (2×11 cm) に拡げて約5 mmの薄層にし精秤の後軽く硝子板にて覆つたまま可及的に恒温恒湿の状態 (19~26°, 相対湿度60~85%) に静置した。所定の時間経過毎にシャーレ内の試料を攪きまぜ一部を採つて A. V., S. V., I. V., PO. V., OH. V. を測り共役二重結合の消長, カルボニル化合物の消長, 二重結合の異性化等を分光光度計によつて分析した。定量は大略, 日本油化協会基準分析試験法に従つたが, その内 A. V., S. V. には KOH メタノール液を使用し, 供試量を所定の1/10単位に減らした。又 I. V. はウイス法にて, PO. V. は International Chemical Union 法にて, OH. V. は D G F Einheits Methoden e-v 17 a 法にて共に供試量を所定の1/3単位に減らして実施した。共役不飽和酸量は紫外分光光度計 (島津 QB-30型) により233 m μ , 268 m μ における測定値に対し補正吸光係数として,

$$K_2 = K_{233} - 0.03, K_3 = 2.8 [K_{268} - 1/2(K_{262} + K_{274})] \quad (\text{エステルの場合 } K_2 = K_{233} - 0.07)$$

を採りジエン%を0.84 K₂, トリエン%を0.47 K₃ により計出した。

又全カルボニル化合物の量は Henick らの方法⁶⁾ による2, 4ジニトロフェニールヒドラゾンの430 m μ , 460 m μ における吸光度により, $\alpha\beta$ 不飽和カルボニルについては直接225~230 m μ の吸収ピークを測り又二重結合の異性化については赤外分光光度計 (島津 AR-275 II型, NaClプリズム) を用いて KBr 法と Nujol 法を併用した。

II 実験結果

(1) 純リノール酸照射物における性状の経日変化.

純リノール酸 (試料B) の照射物と非照射対照物について 23~26°, 相対湿度 75~85% にて自酸化を進ませ両者の一般性状の経日変化を比較すると表-2 (図-1 参照) のような結果を得た. 即ち両者共時日の経過に伴い S.V. は増加し A.V. は減少する. 又 I.V. も減少するが照射物は非照射対照物に比べて5日目から減少の程度が著しくなり両者の差が急に大きくなった. PO.V. は時日経過と共に急増し, 8日目に最高値を示し, 以後却つて減少した. OH.V. も両者共可成りの増加を示した. 赤外吸収スペクトル測定の結果(図-2 参照) 照射直後は 3020~3030, 2860~2880 cm^{-1} に明瞭な吸収が認められたが経日と共に不明瞭となつた. 3400~3600 cm^{-1} の幅広い吸収は次第に強くなつた. 910~920 cm^{-1} を底点とする吸収の谷は3日目には可成り短波長側に移つて9日目には 970 cm^{-1} 附近を底点とする巾広い谷に変つた. これと平行して 720 cm^{-1} の吸収が次第に拡がつた. これらのことから経日と共に可成りトランス化, 共役化が起り過酸化物の生成と共に重合も起ることがわかつた.

(2) 市販リノール酸照射物の経日変化

市販リノール酸の照射物と非照射対照物について性状の経日変化を比べてみると表-3 (図-3 参照) のような結果が得られた. 前記純リノール酸の場合と比較して変化の傾向は酷似である

第2表 照射純リノール酸の経日変化

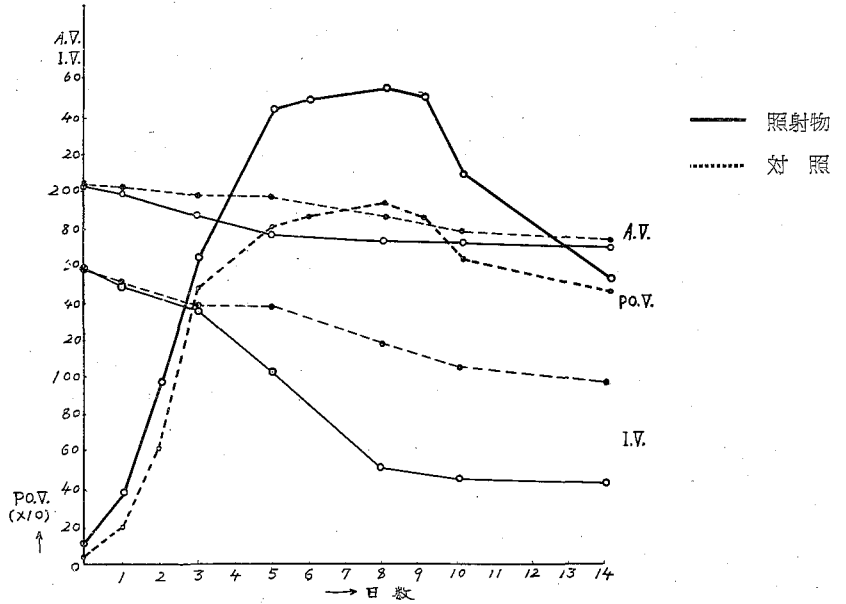
経過日数	0*	1	2	3*	5	6	8**	9*	10	14*
A.V. {										
N	(201.1)	(198.6)	—	(197.5)	(197.5)	—	(187.0)	—	(180.0)	(174.0)
I	202.2	198.1	—	186.2	176.0	—	173.0	—	173.1	170.0
S.V. {										
N	(200.1)	(200.7)	—	(204.5)	—	—	(218.0)	—	(220.0)	(224.0)
I	203.7	202.1	—	204.9	—	—	226.0	—	—	247.0
I.V. {										
N	(153.2)	(151.2)	—	(139.8)	(137.7)	—	(119.7)	—	(105.3)	(98.0)
I	155.5	149.7	—	136.6	103.3	—	52.5	—	47.7	43.2
PO.V. {										
N	(0.5)	(20.7)	(644)	(1475)	(1820)	(1890)	(1960)	(1890)	(1640)	(1490)
I	15.8	36.2	945	1630	2420	2470	2520.0	2490	2085	1520.0
OH.V. {										
N	(11.0)	—	—	—	—	—	(71.0)	—	(73)	(87.0)
I	9.3	—	—	—	—	—	98.5	—	101.9	114.2
η_D^{25} {										
N	(1.4692)	(1.4708)	—	(1.4716)	(1.4726)	—	(1.4733)	—	—	—
I	1.4656	1.4659	—	1.4697	1.4735	—	1.4754	—	—	—

* 赤外吸収スペクトル測定を行う

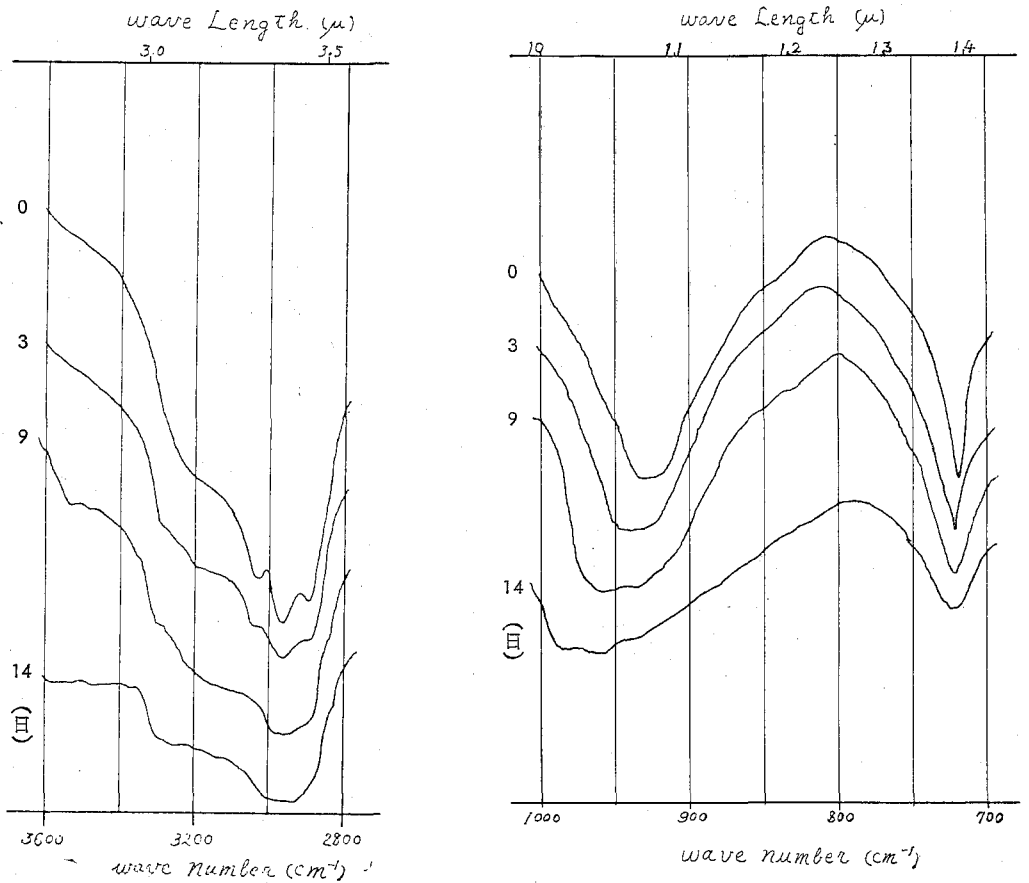
** この附近から粘度が急増した

*** 以下本報告の表中Nは非照射対照物を, Iは照射処理のものを標示する

第1図. 照射リノール酸の経日変化



第2図. 純リノール酸のI.R. 吸収の変化



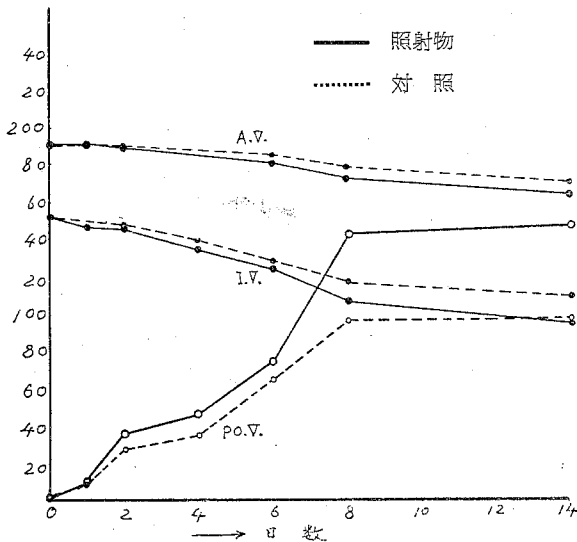
が変化の程度が著しく僅少となつた。自働酸化の進むに伴い共役ジエン量, I. V. は次第に減少し, OH. V. は増加した。赤外吸収スペクトル測定結果(図-4参照) 900~1000 cm⁻¹において前記純リノール酸とは可成り異つた吸収を示した。即ち 910~920 cm⁻¹ 附近には顕著な吸収なく 945, 970, 985 cm⁻¹ に同強度の明瞭な吸収がみられた。経日と共に 945, 985 附近の吸収は小さくなり 14 日目には 970 cm⁻¹ の谷は 965 cm⁻¹ まで偏り深くなつた。別に新しく 995 cm⁻¹ 附近に僅か吸収がみられるようになった。本実験の試料が殆んど共役 cis-trans型であつたが経日と共に可成りトランス化し一部は共役トランス型を新しく生成することが判つた。なお 2800~3600 cm⁻¹ における変化は純リノール酸の場合に比べて弱いが 3600 cm⁻¹ 附近の変化のみ顕著であつて OH 基の消長を暗示している。

第3表 照射市販リノール酸の経日変化

経過日数		0*	1	2	4*	6*	8	14*
A. V.	{ N	(190.1)	(191.0)	(189.0)	—	(186.5)	(179.0)	(172.0)
	{ I	193.1	191.2	187.0	—	180.5	171.0	166.5
S. V.	{ N	(196.0)	—	(193.0)	—	(200.8)	—	(204.0)
	{ I	195.6	196.3	197.0	—	202.8	—	207.9
I. V.	{ N	(152.7)	—	(147.5)	(141.3)	(129.5)	(118.5)	(112.7)
	{ I	151.5	145.7	144.2	135.8	125.0	107.5	97.3
PO. V.	{ N	(21.7)	(57.4)	(264.5)	(341.0)	(634.0)	(955.0)	(990.0)
	{ I	26.4	112.2	390.5	487.0	767.0	1448.0	1525.0
OH. V.	{ N	(11.8)	—	(25.0)	(57.4)	—	(80.8)	(97.1)
	{ I	11.3	—	31.2	70.3	—	91.7	130.1
共役ジエン %	{ N	(35.7)	—	—	(26.9)	(24.1)	(22.1)	(20.8)
	{ I	33.6	—	—	28.9	19.0	19.6	16.0

* 赤外吸収スペクトル測定を行う

第3図 市販リノール酸照射物の経日変化



(3) リノレニン酸照射物の経日変化
市販リノレニン酸とその照射物について 19~23° における性状の経日変化を比較してみると表-4 (図-5参照) のような結果となつた。経日変化の傾向はリノール酸に似ているが I. V., OH. V., PO. V. 等の変化の程度が総べて大きい。

(4) リノール酸エチルの照射物の経日変化

リノール酸エチルの照射物と非照射対照物について性状の経日変化を比較してみると表-5 (図-6参照) のような結果を得た。

全般にわたつて遊離酸の場合よ

第4表 照射リノレン酸の経日変化

経過日数	0	1	2	4	6	8	14
A.V. { N I	(190.0) 194.0	— —	(186.2) 181.2	(179.0) 172.0	— —	(164.5) 150.5	(149.7) 141.0
I.V. { N I	(261.5) 257.5	(259.5) 249.0	(251.5) 243.3	(241.0) 226.5	(218) 197	(175.0) 132.7	(157.9) 111.0
PO.V. { N I	(73.0) 162.0	(433.0) 677.0	(106.0) 1584.0	(175.0) 2135.0	(2600) 2845	(2420.0) 3060.0	(1562.0) 2790.0
OH.V. { N I	(12.8) 19.0	(23.5) —	— —	(86.2) 95.7	— —	(132.4) 157.9	(141.0) 167.0

第5表 リノール酸エチルの照射物の経日変化

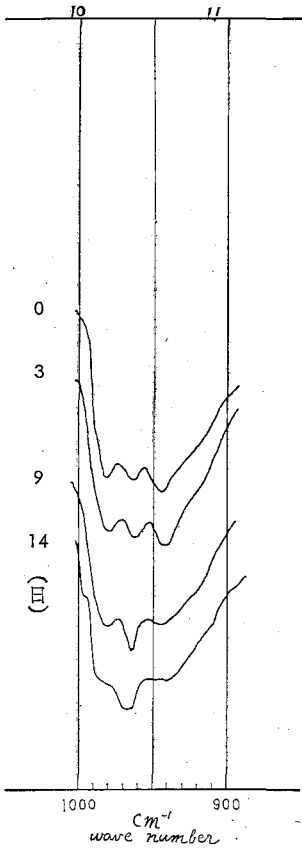
経過日数	0	2	4	7	9	11	14	21	28
A.V. { N I	(5.70) 6.30	(5.00) 5.00	(4.10) 3.80	(4.40) 4.20	(6.10) 5.60	(6.30) 8.20	(8.80) 8.90	(8.30) 9.20	(9.80) 9.90
S.V. { N I	(182.50) 183.30	(181.70) 189.80	(180.80) 184.50	(186.80) 186.20	(186.20) 190.10	(182.30) 182.90	(184.10) 184.10	(182.00) 182.10	(203.30) 198.30
I.V. { N I	(130.60) 129.90	(134.10) 129.10	(133.40) 132.60	(132.20) 132.90	(131.20) 131.80	(132.50) 130.50	(126.70) 127.30	(113.20) 115.50	(112.5) 113.00
PO.V. { N I	(27.00) 40.00	(53.00) 59.00	(81.00) 140.00	(151.00) 160.00	(220.00) 230.00	(319.00) 347.00	(477.00) 494.00	(1100.00) 1219.00	(1739.00) 1791.00
OH.V. { N I	— —	— —	— —	— —	(13.30) 16.90	(13.00) 21.20	(17.00) 23.70	— —	— —
共役ジエン { N I	(21.40) 21.80	(23.10) 23.40	(24.00) 23.10	(26.00) 24.70	(24.60) 31.90	(23.80) 23.00	(22.30) 22.10	(18.40) 20.60	(15.40) 16.70
共役トリエン { N I	(0.05) 0.05	— —	— 0.03	— —	(0.03) 0.03	(0.33) 0.46	(0.15) 0.33	(0.05) 0.07	(0.01) 0.02
E _{430mμ} * { N I	(18.50) 14.70	(18.20) 18.50	(19.50) 17.30	(25.90) 33.00	(28.60) 33.60	(45.00) 39.60	(59.60) 50.0	(162.00) 163.40	(223.50) 194.0
E _{460mμ} * { N I	(13.40) 12.20	(13.80) 18.00	(18.70) 18.00	(26.00) 33.60	(31.00) 37.00	(45.60) 40.90	(61.10) 51.30	(154.20) 162.10	(220.50) 195.50
重量増加 (%) { N I	— —	(0.02) -0.40	(0.07) 0.50	(0.25) 0.56	(0.43) 0.48	(0.73) 0.79	(1.13) 1.17	(2.98) 3.22	(5.19) 6.15

り照射による影響が微弱であつた。共役ジエン量は最初の1週間増加の傾向を示したが以後経日と共に減少した（なお本実験の場合僅少ながらトリエンの消長もみとめられた）

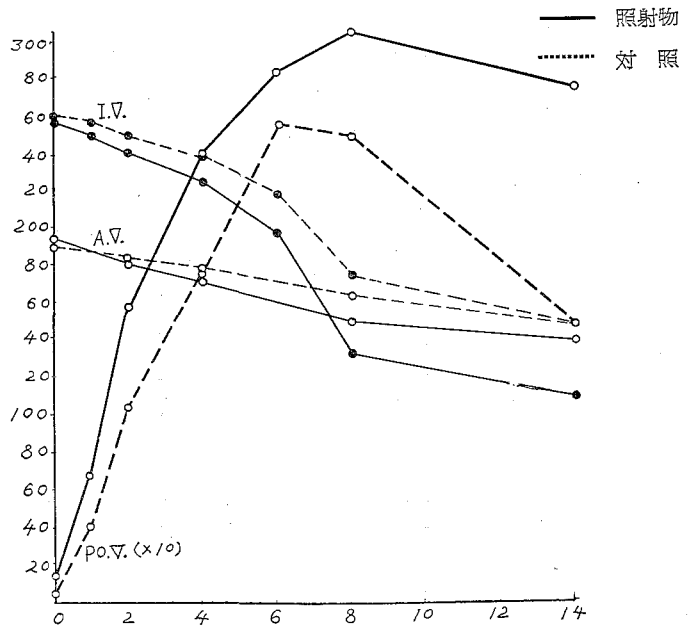
(5) ひまし油混合脂肪酸エチル照射物の経日変化

ひまし油混合脂肪酸エチルとその照射物とについて20~23°, 相対湿度65~85%にて性状の経日変化を比較してみると表-6（図-7参照）のような結果となつた。A.V., S.V., I.V., OH.V., 赤外吸収スペクトルの所見等全般にわたつてリノール酸類に比べ照射の影響が極めて僅少であつた。只PO.V.において非照射対照物があまり変化を示さなかつたのに対し照射物が稍顕著な変化を示した。

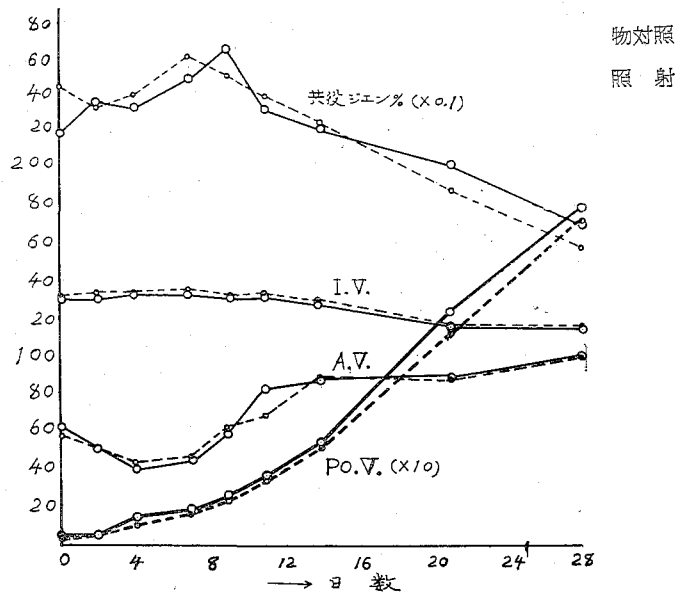
第4図. 市販リノール酸照射物のI.R. 吸収の変化



第5図. 照射リノレニン酸の経日変化



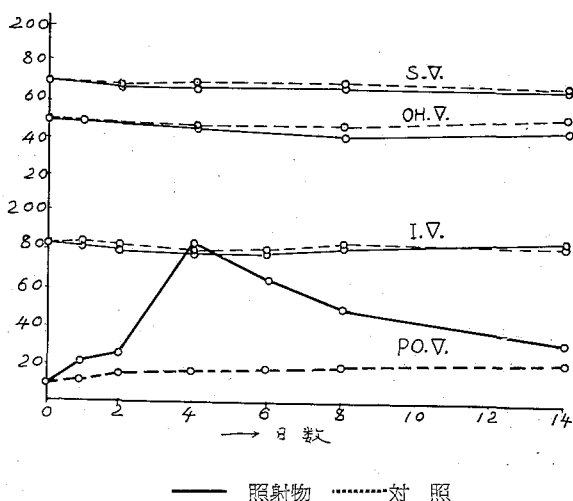
第6図. リノール酸エチル照射物の経日変化



(6) リチノール酸の照射物について

純リチノール酸について照射物と非照射対照物の比較を行なうとエステルの場合よりやや著しく照射の影響が現われた。(本実験中照射処理したものから結晶性の物質が析出したが充分分析ができなかつた。エタノールから再結をすと m. p. 139°を示し水酸基をもつ物質である)

第7図. ひまし油混合脂肪酸エチル照射物の経日変化



第6表 ひまし油混合脂肪酸エチル照射物の経日変化

経過日数	0*	1	2	4*	6	8	14*
A. V. { N I	(1.2) 2.1	(0.6) 2.2	(0.85) 2.00	(0.37) 1.95	(0.4) 1.8	(0.50) 2.08	(1.9) 5.8
S. V. { N I	(170.7) 168.0	— —	(169.70) 169.90	(171.10) 169.20	— —	(172.00) 168.60	(172.9) 170.1
I. V. { N I	(82.8) 82.1	(82.0) 81.3	(81.00) 80.70	(81.20) 80.30	(82.5) 83.9	(85.20) 84.30	(85.4) 86.1
P. O. V. { N I	(8.2) 8.3	(13.5) 21.9	(14.90) 24.10	(15.60) 86.30	(18.0) 69.3	(19.60) 50.30	(22.7) 33.6
O. H. V. { N I	(147.7) 146.7	(147.6) 146.7	— —	(146.40) 145.60	— —	(149.80) 144.30	(156.2) 149.3

* 赤外吸収スペクトル測定を行う

第7表 純リチノール酸照射物の性状

経過日数	0		14	
	N	I	N	I
A. V.	174.0	175.0	171.1	170.5
S. V.	186.9	185.4	187.8	187.1
I. V.	86.2	84.7	83.8	81.2
O. H. V.	144.8	147.2	162.5	172.2
P. O. V.	9.8	23.4	341.0	954.0

III 考 察

以上実験結果を総合すると不飽和脂肪酸が遊離であるか、エステル結合であるかの区別なく、それが示す自働酸化による性状の経日変化の様子は同一傾向を示した。遊離酸はそのエステル類

に比べて照射によつて促進される自酸化の程度が著しく大きい。然し同じ遊離酸においても共役二重結合を多く有するもの(実験2)と殆んど共役二重結合をもたない天然不飽和酸(実験1)とを比較すると前者は後者ほど鋭敏に照射の影響を現わさなかつた。この理由は未詳であるが前者の二重結合が可成りトランス型であつたことも一つの理由に考えたい。

過酸化生成の程度(PO.V.)は不飽和度に比例したがこれらに対する照射の影響の程度は殆んど変らなかつた。非共役型の天然不飽和酸において共役ジエン量は経日と共に増加しこれに随伴してPO.V.も増加するが共役ジエン量が最高値を経て再び減少し始めると、これと平行してPO.V.も減少した。然るに共役ジエンを多く含む(少なくとも20%以上)不飽和酸においては共役ジエン量の消長に関係なくPO.V.が増加した。これらの現象は前者の場合自酸化の頭初において二重結合の移動(共役化)が盛んに起るのに対し後者においては斯る反応が殆んど起らないためかと推察した。これらの事実から乳化時照射を行なつた不飽和脂肪酸の生理作用を検討するに当り共役化している脂肪酸類やトランス化の多い脂肪酸を対象とすることは不都合が多い。

IV 要 約

(1) リノール酸, リノレニン酸, リチノール酸, およびリノール酸, ひまし油混合脂肪酸のエステルについて乳化状態で3000rのX線照射を行ない非照射の対照物と空気中における自酸化による経日変化を比較検討した。

(2) 性状の経日変化の傾向は何れの場合も類型であつて変化の程度は何れの場合も照射によつて促進された。即ち経日と共にS.V.は増加してI.V.は減少する。過酸化物は増すが必ず最高値を示して以後次第に減少する。その最高値附近以後は粘度(重合度)が急増する。

(3) 遊離酸はエステルより照射の影響をうけ易い。

(4) 不飽和度の高いもの程過酸化物, 水酸化物の生成量が多い。

(5) 二重結合が共役型であるか非共役型であるかによつて照射の影響のうけ方が異り調製上トランス化を伴い易い。共役化不飽和脂肪酸の照射時の挙動についてはなお検討すべき点が多い。

本研究に当りX線照射その他について御指導御便宜を賜つた岡山大学医学部山本道夫教授ならびに実験を助けて下さつた小林朋氏に深謝の意を表す。

文 献

- 1) L. R. DUGAN & P. W. LANDIS (1956) : J. A. O. C. S. 33, 152.
- 2) D. A. LANG & B. E. PROCTOR (1956) : J. A. O. C. S. 33, 238.
- 3) H. T. SLOVER & L. R. DUGAN (1957) : J. A. O. C. S. 34, 333.
- 4) A. ASTRACK, O. SARLYE & A. BRASCH et al (1952) : Food Research. 17, 571.
- 5) T. R. CHIPAULT & O. S. DRIVETT et al (1957) : Ind. Eng. Chem. 49, 1713.
- 6) A. S. HENICK & M. F. BENCA et al (1954) : J. A. O. C. S. 31, 88.