リノール酸メチルの通気酸化と酸化防止剤の影響 (第4報¹⁾)
 α -トコフェロールの酸化防止作用と有機酸類の Synergism について

松本 茂, 奥本千代美, 加賀あき子, 宮武ノリエ
 東京都立衛生研究所²⁾

Oxidation of Methyl Linoleate and the Influence of Antioxdants. IV.¹⁾
 On the Antioxidant Action of α -Tocopherol and
 Synergism of Organic Acids

SHIGERU MATSUMOTO, CHIYOMI OKUMOTO, AKIKO KAGA
 and NORIE MIYATAKE

Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health²⁾

(Received September 2, 1972)

In a series of the studies, the antioxidant effect of D, L- α -tocopherol and the synergistic effects of some kinds of organic acids on the oxidation of methyl linoleate (ML) with oxygen were reported in this paper.

Samples and experimental conditions were same as those described in the previous paper. Oxygen was passed through purified ML with or without the antioxidant and the synergists, then the samples obtained were estimated for peroxide value.

Antioxidant effect of α -tocopherol on the oxidation at 105° was shown little in the absence of the synergist, but was remarkable in the presence of ascorbic acid or citric acid.

The effect of α -tocopherol on the oxidation at 70° was clearly observed even without any synergist, but the addition of it increased markedly the antioxidant effect of α -tocopherol.

The effect of α -tocopherol was compared with that of butyl hydroxy anisol (BHA), which had been reported in the previous paper. It was shown that the effect of BHA was more active than that of α -tocopherol; even a half equivalent of BHA was more effective than α -tocopherol on the oxidation at 70°.

Sixteen kinds of organic acids and esters were examined for the synergistic effect with α -tocopherol and eight of them were found to be effective in preventing oxidation of methyl linoleate; D, L-malic, L-tartaric, oxaloacetic, malonic, citric, L-ascorbic, and D, L-glyceric acids and diethyl malate were effective; succinic (weak +), tartronic, propionic, lactic, β -hydroxybutyric, and pyruvic acids, gluconolactone, and triethyl citrate were ineffective.

The mechanism of the synergistic action of these organic acids seemed to be complicated, but the synergist was assumed to act as a hydrogen donor to α -tocopherol (or its oxidation products).

1. 緒 言

前報^{3,4)}においてリノール酸メチル (ML) の 50—110°
 における酸素通気酸化に際しての諸現象, 生成物等に

ついて報告し, さらに, ブチルヒドロキシアニソール
 (BHA) の酸化防止効果および 2—3 の synergist (相乗
 剤) の影響について検討した. 今回は酸化防止剤として

1) 第3報: 松本 茂, 衛生化学, **17**, 347 (1971); 日本薬学会第92年会, 大阪, 1972年4月で一部発表.

2) Location: 3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo (東京都新宿区百人町3-24-1).

3) 松本 茂, 酒井昭子, 伊東紘一, 勝木康隆, 衛生化学, **16**, 67 (1970).

4) 松本 茂, 勝木康隆, 友松俊夫, 酒井昭子, **14**, 110 (1968).

D, L- α -トコフェロール (VE), 相乗剤として L-アスコルビン酸 (VC) ならびにクエン酸 (CiA) を取りあげ, 70° および 105° で前回同様の条件で酸化を行ない, それらの影響を調査し, また, 同一条件で, BHA とその効果を比較した.

つぎに有機酸類14種, 同エステル2種について, トコフェロールとの synergism (相乗作用) を検討したところ, その8種に著明な効果を認めた. さらに, それらの作用についての考察を行なったので, 以下に報告する.

2. 実験条件 (試料および装置)

実験に使用した ML は前回同様, サフラワー油を原料として尿素付加体により精製した. D, L- α -トコフェロールは市販特級品 (純度を確認) により, BHA は前報に準じ, 2-tert-butyl-4-methoxyphenol (3-BHA) の精製品を用いた. これらの酸化防止剤および有機酸類等はメタノール溶液として試料に添加した.

装置も前回と同様 (インピンジャー中に試料一定量 (10 g) を取り, 定温グリセリン浴中, 遮光下, 酸素を gas-liquid chromatography (GLC) 用の flow control valve を使用して 300 ml/min で導通した.⁵⁾ 各酸化試料は経時的に採取し, 過酸化値 (POV) の測定等を行った.

3. 実験の経過およびその結果

3-1. 70°における酸化実験について

70±1°において通気酸化を行なった場合の各試料の POV の変化を Fig. 1 に示したが, ML に酸化防止剤および相乗剤を添加しない試料 ① (O, O) では POV の上昇は, 通気開始後短時間で始まり, 3.5 時間で POV 1700, 約 7 時間で最高値 3100 付近に到達する. つぎに試料 ② (VE, O) すなわち, VE のみを ML の 0.1% 添加した試料では 10 時間で POV は, なお約 100 に過ぎず, 16 時間で POV 250 程度で, 酸化誘導期間 (induction period) は約 15 時間程度に延長され, POV の最高値に達するには約 22 時間を要した. さらに試料 ③ (VE, CiA) すなわち, VE 0.1% およびクエン酸 0.1% を添加した試料では, 誘導期間は約 50 時間を示し, 56 時間で POV 400, 最高値に達するのに約 65—66 時間を要し, その相乗効果を明瞭に知ることができた. また, 試料 ④ (VE, VC) すなわち, 相乗剤として VC 0.1% を添加したものも, ほとんど ③ と同程度の酸化時間の延長が見られ, 55 時間で POV は約 270 を示している. しかし, VE を添加せず, VC 0.1% のみ加えた試料 ⑤ (O, VC)

Fig. 1. Change of POV of methyl Linoleate with or without Antioxidants and Synergists (Oxidation at 70°)

Sign and Abbreviation for Fig. 1 and Fig. 2

No.	Sign	Sample
① (O, O)	—○—○—	ML without antioxidants
② (VE, O)	—●—●—	ML with tocopherol 0.1%
③ (VE, CiA)	—×—×—	ML with tocopherol 0.1% and citric acid 0.1%
④ (VE, VC)	—◉—◉—	ML with tocopherol 0.1% and ascorbic acid 0.1%
⑤ (O, VC)	—△—△—	ML with ascorbic acid 0.1%
⑥ (BHA 0.04, O)	—□—□—	ML with BHA 0.04%
⑦ (BHA 0.02, O)	—■—■—	ML with BHA 0.02%

では酸化防止効果は見られず, この点については前報におけるクエン酸の場合と同様であった.

また, 同一条件で BHA と効力比較を行なうため, つぎの試料について実験を行なった. すなわち, 酸化防止剤として 3-BHA 0.02% (VE の約 1/2 モル濃度に相当) を添加した試料 ⑦ (BHA 0.02, O) では 31 時間で POV 220, 40 時間で最高値付近を示し, 相当な効果が見られ, α -トコフェロールに比し [試料 ② (VE, O) の場合], 効力はより著明であった. 試料 ⑥ (BHA 0.04, O) すなわち, BHA 0.04% (VE と同一モル濃度) 添加のものでは酸化時間 50 時間で POV 230 と, さらに誘導期間の延長が見られた. なお, クエン酸, エリスルビン酸 (iso-VC) が BHA の相乗剤として, 70° の酸化において顕著な作用を現わすことは既に報告したとおりである.⁸⁾

3-2. 105°における酸化実験について

さらに高い温度条件での α -トコフェロールの効果を知らため, 浴温を 105±1° として酸化実験を行なったところ, その結果は Fig. 2 に示すとおりであった. すなわち, 試料 ① (O, O) (酸化防止剤および相乗剤無添加

5) O_2 の流量制禦とともに, 酸化温度の小変化も, 時間に大きく影響することは前報にのべたとおりであるが, 後記 3-4. の実験のように再現性が強く要求される場合は, 試料採取量, 通気装置等も一定にする必要がある (なお 3-3, 3-4. では試料量を各 6 g とした).

のもの)および試料⑤ (O, VC), (VCのみ0.1%添加したもの)では, 通気後, 約1時間でPOV 1700—1750を示し, POV最高値には1.5—1.7時間で到達した. これに比し, 試料② (VE, O), (VE 0.1%添加)では3/4時間でPOV 700となり, 最高値には約2.5時間で到達し, その効果は余り顕著でない. しかし, 試料③ (VE, CiA) および試料④ (VE, VC) すなわち, CiA またはVCを各0.1%添加したものでは, いずれも2.5時間後ではPOVの大きな上昇は見られず, あきらかに誘導期間の延長が認められ, 最高値に達するには5—5.5時間を要している. またBHAとの効力の比較では, 試料⑥ (BHA 0.04%, O), (BHA 0.04%添加のもの)において見られるように, 2時間でPOV 125と上記VEの場合に比し, 同一モル濃度で, より著明な効果が認められた.

(なお, 110°における酸化実験で, BHAについてのクエン酸等の相乗効果が著明であったことは, すでに報告した⁴⁾)

Fig. 2. Change of POV of Methyl Linoleate with or without Antioxidants and Synergists (Oxidation at 105°)

3—3. α -トコフェロールに対する有機酸の Synergism に関する実験 (1) (アスコルビン酸, クエン酸の添加量とその効果)

有機酸相乗剤の添加量とその効果の関係をj知るため, つぎのような実験を行なった. すなわち, 酸化温度を $85 \pm 1^\circ$ とし, MLに VE 1 mmole/kg=430 ppm を添加し, これに VC 各 0.5, 1, 2, 5 mmole/kg を添加した試料について酸化実験を行なった. この際の POV の変化を Fig. 3 に示す.

0.5 mmole/kg 添加のものより, 1 mmole/kg 添加の場合の方が相乗効果は大きく, 各 POV 約 1000 を示すにいたる時間は, それぞれ 10 時間, 11.7 時間となってい

Fig. 3. Synergistic Effect of Ascorbic Acid on Tocopherol (Oxidation at 85°)
[Change of POV of Me Linoleate with Tocopherol (1mmole/kg) and Ascorbic Acid (0.5—5.0 mmole/kg)]

(VE, O) 1.0m : VE 1mmole
(VE, VC) 1.0m 0.5m : (VE 1mmole
VC 0.5mmole
(VE, VC) 1.0m 1.0m : (VE 1mmole
VC 1mmole
(VE, VC) 1.0m 2.0m : (VE 1mmole
VC 2mmole
(VE, VC) 1.0m 5.0m : (VE 1mmole
VC 5mmole

るが VC を 2 mmole/kg および 5 mmole/kg 加えた場合もほとんど効果の増大は見られていない.

同様のことは CiA の場合にも認められ, 上記の酸化条件で, POV が 1000 に達するのに, CiA 0.5 mmole/kg 添加の場合は 9.5 時間であるが, 1 mmole, 2 mmole/kg のときは, いずれも約 11.5 時間でほとんど差が見られなかった.

3—4. α -トコフェロールに対する有機酸の Synergism に関する実験 (2) (各種有機酸およびエステル)の相乗効果の比較)

トコフェロールについての VC, CiA 以外の各種有機酸の相乗効果に関する文献は見当らなかったので, 3—3. と同様の条件で, VC, CiA のほか, さらに 14 種の有機酸 (モノ, ジ, トリカルボン酸, 同オキシン酸, ケト酸, またはそのエステル等を含む) について, 相乗効果の比較を行った. すなわち, ML に VE 1 mmole/kg および各有機酸 1 mmole/kg を添加し, 85° で通気酸化を行ったが, その結果は Table I に示すとおりである. なお Table I で効力の比較のために記載した数値は 3—3. でのべたように POV 約 1000 に達するのに要する時間⁶⁾

6) このような効果をあらわすには, 通例 induction period が用いられるが, 測定の便宜上上記の値を用いた. 本実験では POV 1000 前後では酸化速度は急速で, 且つ時間と直線関係があり, 数値が求めやすい.

TABLE I. Synergism of Organic Acids with Tocopherol at the Oxidation of Me Linoleate

Organic acid	tocopherol 1mmole without synergist	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ succinic acid (1mmole)	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ D, L-malic acid	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ L-tartalic acid	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CO} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ oxaloacetic acid	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ malonic acid	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \begin{array}{l} \text{COOH} \\ \text{OH} \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ citric acid	$\begin{array}{c} \text{CO} \\ \\ \text{COH} \\ \\ \text{COH} \\ \\ \text{HC} \\ \\ \text{HOCH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ L-ascorbic acid
hr ^{a)} at POV 1,000	3.3	5.0	10.5	11.3	10.7	11.2	11.3	11.9
effect		(+) weak	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ D, L-glyceric acid	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ propionic acid	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ lactic acid	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ β -hydroxy- butyric acid	$\begin{array}{c} \text{CO} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{HOCH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{HC} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ glucono- lactone	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ tartronic acid	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CO} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ pyruvic acid	$\begin{array}{c} \text{COOC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \begin{array}{l} \text{COOC}_2\text{H}_5 \\ \text{OH} \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOC}_2\text{H}_5 \end{array}$ triethyl citrate	$\begin{array}{c} \text{COOC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOC}_2\text{H}_5 \end{array}$ diethyl malate
10.0								6.8
(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)

a) The value shows time in hr at POV 1000 on the oxidation of Me linoleate with 1mmole/kg of α -tocopherol and each organic acid.

である。

表で見られるように D, L-リンゴ酸, L-酒石酸, オキザル酢酸, マロン酸, クエン酸, L-アスコルビン酸, D, L-グリセリン酸およびリンゴ酸ジエチルの8種では, VE のみの場合に比して著明な酸化時間の延長が認められた。また, プロピオン酸, 乳酸, β -オキシ酪酸, グルコノラクトン, ピルビン酸, タートロン酸およびクエン酸トリエチルでは, 全く酸化時間延長の効果は認められなかった⁷⁾ (コハク酸では僅かに延長があったが, 他の場合に比して著明でなかった)。上記のうち, モノカルボン酸では, プロピオン酸, 乳酸, β -オキシ酪酸, ピルビン酸, グルコノラクトン等では無効であり, D, L-グリセリ

ン酸, L-アスコルビン酸は有効であった。また, ジおよびトリカルボン酸では, マロン酸, D, L-リンゴ酸, L-酒石酸, クエン酸, オキザル酢酸は有効, コハク酸は(弱+), タートロン酸は無効であった。また, エステル類は今回は2例について実験したのみであるが, リンゴ酸ジエチルでは遊離のリンゴ酸よりは弱い, 明らかに効力が残っていたが, クエン酸トリエチルでは全く効果が消失していた。

なお, 前報で BHA について行なったように, 今回も VE の残存について, Fe^{3+} -dipyridyl 法で定性的試験を行なったが, その結果は有機酸の有無にかかわらず, $\text{POV} \leq 100$ の試料(酸化誘導期間内のもの)では, い

7) 相乗効果の認められなかった有機酸のなかには, むしろトコフェロールの作用を低下させていると思われるものが存在したが, この点についてはなお検討中である。

ずれも VE の反応陽性を示したが、POV $\geq$ 500 の試料（誘導期を過ぎたもの）では VE の反応は消失していた。

4. 考 察

4-1. トコフェロールの油脂類への適用について

3-1, 2 で述べたように、トコフェロールの効果は単独で使用する時105°の酸化実験では顕著でなく、この結果をグリセリドに準用すれば油脂加熱加工品等への適用、[または加熱製品への効力移行 (carry through effect)] には、その効果に疑問が持たれる。このさいはクエン酸、アスコルビン酸等相乗剤の併用が必要と考えられる。なお、温度を上げて70°とした実験では効力が見られたことから、常温の場合等では単独でも効果は期待できるが、この場合も適量の相乗剤の併用が有効であろう (3-2, 3. の結果より)。BHA との効力の比較では酸化防止効果そのものは劣るが、天然物である点で、クエン酸等との併用におけるトコフェロールの食用油脂等への適用は有効であると思われる。

4-2. 有機酸類の Synergism について

α -トコフェロールに関する、アスコルビン酸,^{8,9)} クエン酸等のオキシ酸以外の有機酸類についての相乗作用の文献は見当らなかったが、3-4. の実験結果より、マロン酸のようにオキシ酸以外にも有効なものがあり、またオキシ酸でも、Table I にあげたモノオキシモノカルボン酸類、グルコノラクトン、タートロン酸などでは無効なことがわかった。

3-4-(2)で示した、相乗作用が著明に認められた8種の有機酸の作用については、本酸化反応におけるそれらの個々の酸の消長や、変化を確認しなければ、その機序を明確にしがたく、現段階では、ただ、以下に記するような推定を行なうに止まる。

前報のBHAに関するsynergistの実験で、クエン酸の効果は重金属の陰蔽作用のみに依るのではないことをあげ、また、その作用はBHAの残存期間を延長しているという事実について報告したが、今回 α -トコフェロールについても、3-4-(2)の実験で示したように、同様のことが観察され、有機酸 synergist がいずれもトコフェロールの残存期間を、酸化誘導期の終末まで延長していることが認められた。

一方、リノール酸の酸化におけるフェノール系酸化防止剤の作用は、つぎの(I)式における連鎖反応を(II)式よりの水素の供与によって切断することによるとされているが、^{10,11)} このさい、有機酸 synergist が(II)式における phenoxy radical へ水素を供給する役割を果たすと考えることが出来よう。¹²⁾ すなわち、(II)式の反応を左方に進め、フェノール系酸化防止剤の生命を延長することとなる。[ただ、有機酸がこの系の水素の供給源で、酸化防止剤がその伝達体であるとする、3-3. で示された両者の量的関係が説明しがたいが、その理由については2, 3の場合が考えられ、なお検討中である。また、(II)から(I)への水素の伝達には水素結合が関

- 8) C. Golumbic, *Oil and Soap*, **23**, 184 (1946).
- 9) O.S. Privett, F.W. Quackenbush, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 281 (1954).
- 10) W.O. Lundberg "Autoxidation and Antioxidants" Interscience Publishers. Inc. New York N. Y. 1961, Vol. 1, Chapter 4 (by N. Uri).
- 11) G. Scott "Atmospheric Oxidation and Antioxidants" Elsevier Publish. Co. Amsterdam 1965, pp. 204-212.
- 12) 一例として 3-3. の実験でのクエン酸および VC の残存量をしらべ、本反応でそれらの消費状態と VE のそれとの関係を目下検討している。なお、酸化条件は異なるが、 α -トコフェロールの酸化成績体が VC により還元されて、再び α -トコフェロールになるという、いくつかの報告 (Boyer 等, Nelan 等) も見られる。

与しているとの報告¹³⁾があるが, synergist より (II) への水素の供給にも類似の弱い結合関係を想定すると, そこに選択性のあることや, 反応速度の関係にも一応の説明が可能となると思う] いずれにせよ (II) における左右両方向への反応の平衡では, キノン型を経て分解して行く流れがあるものと見られる.

上記の有機酸類が synergist として有効なための条件としては酸化還元電位, steric effect, pH 等, 種々の因

子が考えられ, 単純でないものと推定される. この反応系における有機酸 synergist と酸化防止剤との相互作用に関しては, さらに研究を続行している.

謝辞 本稿の発表にあたり静岡薬科大学教授 村田敏郎博士から種々貴重な助言をえたことを記し, ここに深甚の謝意を表する. また, 諸恒数の測定に協力された富永温子, 下山侑子の両氏に厚く御礼を申しあげる.

13) K. Fukuzumi, N. Ikeda, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 64 (1969); *idem, ibid.*, **47**, 369 (1970).