報 文

不飽和度の異なるトリグリセリド中におけるトコフェロールの
熱酸化による二量体の生成(第 5 報)^{注 1} α -及び δ -トコフェロールの熱酸化安定性と
二量化に及ぼすリン脂質の影響

藤 谷 健・安 藤 久 子

広島大学教育学部福山分校(福山市緑町 2-17)

Oxidative Dimerization of Tocopherols during the Course of Thermal
Oxidation of Saturated and Unsaturated Triglycerides. V.Effects of Phospholipids on the Thermal Oxidation and
Dimerization of α - and δ -Tocopherols

Tsuyoshi FUJITANI and Hisako ANDŌ

Fukuyama Branch School, Faculty of Education, Hiroshima University
(2-17, Midorimachi, Fukuyama)

The effects of phospholipids on the oxidative dimerization of *dl*- α -tocopherol (α -Toc) and *d*- δ -tocopherol (δ -Toc) during the thermal oxidation of trilaurin (Tri-La) and of trilinolein (Tri-Li) were examined. Experimental procedures were the same as those described in the previous papers of this series. α -Toc was oxidized with air at 180°C for 10 h, and δ -Toc for 5 h.

A little influence of phospholipids on the oxidative stability of tocopherols was observed at the oxidation in Tri-La. (Tables-1 and 2) When tocopherols were oxidized in Tri-Li, the stability of tocopherols increased greatly by the addition of small amount of phosphatidyl choline or phosphatidyl ethanolamine. (Figs.-1 and 4) Similar effect was observed at the addition of tri-*n*-butyl phosphate (TBP), while tri-*n*-octylamine (TOA) gives no influence on the oxidative dimerization of tocopherols. (Figs.-2 and 4) This phenomenon is similar to that observed at the oxidation of γ -Toc, which was shown in the Part IV of this series. This fact shows that phosphate ester linkage suppresses the oxidation of tocopherols in Tri-Li. The formation of 1,2-bis (γ -tocopherol-5-yl) ethane (α -TED) was scarcely influenced by the addition of phospholipids, TBP and TOA. (Fig.-3) On the other hand, the amount of 5-(δ -tocopheroxy)- δ -tocopherol (δ -TED) formed from δ -Toc decreased remarkably; but the amounts of 5-(δ -tocopherol-5-yl)- δ -tocopherol and its atropisomer [δ -TBD(H) and δ -TBD(L)] were slightly influenced by the addition of phospholipids or TBP in Tri-Li. (Figs.-5, 6 and 7)

1 緒 言

油脂中に含まれる抗酸化性物質に対して、各種の化合物がシネルギストとしての効果を持つことが知られている。とくに窒素化合物については、以前から広く研究されており、それは戸谷の総説¹⁾に要約されている。トコフェロール類に対するシネルギストとしては、リン酸、クエン酸、アスコルビン酸などの酸類^{2),3)}、アミノ酸及びペプチド類⁴⁾⁻⁶⁾、アミン類⁷⁾⁻⁹⁾が効果を持つと報告されている。油脂の自動酸化に対するリン脂質の影響につ

いては、小麦はい芽のリン脂質が、油脂の酸素吸収を抑えるという報告¹⁰⁾、リン脂質自体には抗酸化性はないが、エトキシキンの存在下で強いシネルギズムを示すという報告¹¹⁾、卵黄レシチンが抗酸化性を示すという報告¹²⁾などがあるが、リン脂質がトコフェロール類とどのような相乗効果を示すかは不明な点が多い。また、熱酸化条件下におけるトコフェロール類とリン脂質の関係について、最近湯木ら^{13),14)}は、流動パラフィンまたはラード中においてトコフェロール同族体の熱酸化を行い、それに対するレシチンの効果について検討を行っている。そして、ラードにトコフェロールとレシチンを同時に加えること

注 1) 前報：油化学，30，140 (1981)

によって、ラードの熱酸化を抑制するばかりでなく、トコフェロールの酸化もまた抑制されることを示している。しかし、トコフェロール類の熱酸化的二量化に対するリン脂質の効果や、それが系の不飽和度とどのような関係にあるのかなどについての詳細は、いまだほとんど解明されていない。

著者らは前報¹³⁾において、合成トリグリセリド中における α -トコフェロールの熱酸化、及びそれに伴う二量体類の生成に及ぼすリン脂質の影響について検討し、リン脂質類は微量で不飽和トリグリセリド中における α -トコフェロールの熱酸化を強く抑制すること、その効果は、リン脂質分子のリン酸エステル結合に基づくものではないかと推定されることなどを報告した。そこで、それに続く本報においては、不飽和度の異なるトリグリセリド中における、 α -トコフェロール及び δ -トコフェロールの熱酸化安定性及び酸化的二量化に及ぼすリン脂質の影響について検討し、若干の結果を得たので報告する。

2 実 験

2.1 実験材料

$d\alpha$ -トコフェロール (α -Toc) 及び $d\delta$ -トコフェロール (δ -Toc) の分離、精製法、トリラウリン (Tri-La) とトリリノレイン (Tri-Li) の合成法、精製法、及びホスファチジルコリン (PC) とホスファチジルエタノールアミン (PE) の精製法は、前報¹⁵⁾⁻¹⁷⁾と同じである。

2.2 実験方法

トリグリセリドに、 α -Toc または δ -Toc を 5% になるように溶解し、これに所定の濃度になるようにリン脂質またはその他の添加物を加えた試料を、比表面積が $0.5 \text{ cm}^2/\text{g}$ になるように小試験管に入れ、 $180 \pm 1^\circ\text{C}$ で熱酸化した。熱酸化の時間は、 α -Toc の場合 10 h、 δ -Toc の場合 5 h とした。反応後、反応混合物をピロガロールの存在下でけん化し、得られた不けん化物について、残存するトコフェロールと生成した二量体類を、HPLC で定量した。

3 結 果

3.1 α -Toc 及び δ -Toc の熱酸化生成物

Tri-La または Tri-Li にトコフェロール類を加え、更にリン脂質またはそのモデル化合物を加えて熱酸化した場合の反応生成物を、TLC 及び HPLC で検索した。その結果、主たる反応生成物は、トリグリセリドとトコフェロールのみの系について熱酸化したときと同じく、 α -Toc の場合は α -TED、 δ -Toc の場合は δ -TED、 δ -TBD(H) 及び δ -TBD(L)^{注2)} で、リン脂質などを添加したことにより、構造の異なる二量体の生成はみられなかった。

3.2 Tri-Li 中における α -Toc の熱酸化に及ぼすリ

ン脂質の影響

Tri-Li に α -Toc を溶かし、更に PC または PE を加えて熱酸化し、 α -Toc の残存濃度を、加えたリン脂質の濃度に対してプロットしたのが Fig.-1 で、PC、PE いずれもが、0.1% 以下の添加で、 α -Toc の熱酸化を強く抑制することがわかる。これに対してコレステロールは、高濃度で加えても、 α -Toc の酸化に対してなんらの影響も与えなかった。

次に、リン脂質分子の化学構造の各部分のモデルとなる化合物について、同様の実験を行った結果が Fig.-2 である。リン酸トリ- n -ブチル (TBP) は、0.1~0.5% 程度の添加で α -Toc の熱酸化を抑制しており、同図に併せて示した PC の効果には若干劣るが、それに近い熱酸化防止効果を示すのに対して、トリ- n -オクチルアミン (TOA) は、大量の添加でいくらかの効果を示すものの、低濃度ではほとんど α -Toc の熱酸化に影響を与えない。

Fig.-1 Effects of phospholipids and cholesterol on the α -tocopherol consumption during the thermal oxidation of trilinolein.

Fig.-2 Effects of TOA and TBP on the α -tocopherol consumption during the thermal oxidation of trilinolein.

注 2) 二量体類の略記号は次のとおりである。

α -TED: 1,2-bis(γ -tocopherol-5-yl) ethane

δ -TED: 5-(δ -tocopheroxy)- δ -tocopherol

δ -TBD: 5-(δ -tocopherol-5-yl)- δ -tocopherol

(H) は、ケイ酸を固定相とした TLC で、 R_f 値の高い方の異性体、(L) は低い方の異性体を示す。

Fig.-3 Effects of phospholipids, TOA and TBP on the formation of α -TED during the thermal oxidation of trilinolein.

Fig.-3 は、 α -Toc が熱酸化したときに生成する二量体 α -TED の生成量を、添加したリン脂質またはそのモデル化合物の濃度に対してプロットしたもので、この図から分かるように、 α -TED の場合は、リン脂質またはそのモデル化合物の添加によって生成量がそれほど大きな影響を受けず、前報¹⁵⁾に示した γ -Toc の二量体類や、後述する δ -Toc の二量体類の場合のような、顕著な効果はみられなかった。

3.3 Tri-Li 中における δ -Toc の熱酸化に及ぼすリン脂質の影響

Fig.-4 にみられるように、 δ -Toc の場合も、リン脂質類の添加によって、その熱酸化安定性は著しく向上する。そして、約 0.1% の添加によって、熱酸化後の δ -Toc の残存量は、飽和トリグリセリドである Tri-La 中における熱酸化の場合の残存量と同じくらいになっている。また、モデル化合物を添加した場合は、TOA は少量添加ではほとんど効果はなく、TBP がリン脂質と似た効果を示すことは、 α -Toc や γ -Toc の場合と同じであるが、 δ -Toc の場合、TBP の添加による熱酸化安定性の回復は、 α -Toc や γ -Toc の場合に比べてやや少ない。

一方、酸化によって生成する二量体のうち、比較的生成量の多い δ -TED の生成に対するリン脂質の効果は顕著で、**Fig.-5** にみられる様に、PC または PE を微量添加することによって、 δ -TED の生成量は非常に少なくなる。また、モデル化合物では、TBP が δ -TED の生成量を減少させる効果を示すのに対し、TOA は δ -TED の生成にはほとんど影響を与えない。

これに対して、 δ -TBD の (H), (L) 両異性体の生成量は、**Fig.-6** 及び **Fig.-7** にみられる様に、リン脂質やモデル化合物の添加によって若干変化するものの、その変化は δ -TED の場合に比べて極めて小さかった。そして、両異性体の生成量は、同一条件下ではほとんど同じで、変化の傾向もまた同じであった。

3.4 Tri-La 中における α -Toc 及び δ -Toc の熱酸化に及ぼすリン脂質及びモデル化合物の影響

飽和トリグリセリドである Tri-La 中において、 α -Toc または δ -Toc を熱酸化する場合、リン脂質及びそ

Time of thermal oxidation: 5 h
Other conditions the as in **Fig.-1**

Fig.-4 Effects of phospholipids, TOA and TBP on the δ -tocopherol consumption during the thermal oxidation of trilinolein.

Fig.-5 Effects of phospholipids, TOA and TBP on the formation of δ -TED during the thermal oxidation of trilinolein.

Fig.-6 Effects of phospholipids, TOA and TBP on the formation of δ -TBD(H) during the thermal oxidation of trilinolein.

Fig.-7 Effects of phospholipids, TOA and TBP on the formation of δ -TBD(L) during the thermal oxidation of trilinolein.

のモデル化合物が、どの様に影響するかについて調べた。 α -Toc についての結果を **Table-1** に、 δ -Toc に

ついでの結果を **Table-2** に示す。この結果、飽和トリグリセリド中においては、リン脂質の添加はトコフェロール類の熱酸化安定性をいくらか向上させるが、その効果は、不飽和トリグリセリド中における酸化の場合ほど顕著ではないこと、 α -Toc に対する TBP の場合を除いて、モデル化合物も同様の効果をもつこと、及び、これらの物質を添加すると、二量体類の生成量が著しく減少することなどがわかった。

Table-1 Oxidative decomposition of α -tocopherol and formation of α -TED during the thermal oxidation of trilaurin.

Additive	Residual α -Toc (%)	α -TED (%)
Control	2.76	0.236
PC	3.43	0.064
TOA	3.57	0.018
TBP	1.90	0.136

Concentration of additives: 5%, Other conditions the same as in **Fig.-1**

Table-2 Oxidative decomposition of δ -tocopherol and formation of its dimers during the thermal oxidation of trilaurin.

Additive	Residual δ -Toc (%)	δ -TED (%)	δ -TBD(H) (%)	δ -TBD(L) (%)
Control	4.00	0.63	0.030	0.030
PC	4.33	0.14	0.015	Tr.
TOA	4.24	0.36	0.025	0.020
TBP	4.19	0.43	0.023	Tr.

Concentration of additives: 5%, Other conditions the same as in **Fig.-4**

4 考 察

実際の油脂中に含まれているトコフェロールの熱酸化による減少は、油脂のモデル系であるところの Tri-Li 中における熱酸化の場合に比べて著しく少ない。この実際の系とモデル系の違いについては現在のところ不明であり今後の検討課題であるが、油脂中に微量存在するステロールはトコフェロールの熱酸化には無関係であることがわかった (**Fig.-1**)。

リン脂質には γ -トコフェロールの熱酸化抑制作用があることを前報で報告したが、本報では α - 及び δ -トコフェロールについて検討した結果、Tri-Li 中におけるトコフェロールの熱酸化抑制という点では、リン脂質は、 α -, γ -, δ -トコフェロール同族体に共通した効果を示すことがわかった。また、PC と PE とでその効果が極めて類似していることから、リン脂質の含窒素塩基が第一級アミンか第四級アンモニウムかということは、トコフェロールの熱酸化抑制という点については無関係であることも、すべてのトコフェロール同族体に共通であった。

一方、二量体類の生成に対するリン脂質の影響は、同族体間で大きな違いがみられる。とくに、 δ -Toc の二量体については顕著で、リン脂質の添加によって、 δ -Toc の熱酸化が抑制されるのと同時に、 δ -TED の生成量が著しく減少し、両者の傾向はよい一致を示す。一方、 δ -TBD の生成量は、リン脂質の存在によってほとんど影響を受けない。このことは、 δ -Toc の酸化の第 1 段階で、クロマン環の 6 位のフェノール性ヒドロキシル基から、水素がラジカル的に引き抜かれて生じたフェノキシルラジカルに対して、リン脂質がなんらかの寄与をしていることを示している。

不飽和トリグリセリド中において、リン脂質の部分化学構造を持つモデル化合物を用いた実験では、 γ -Toc の場合と同じく、TBP が α -Toc 及び δ -Toc の熱酸化抑制に効果的であり、リン脂質によるトコフェロール類の熱酸化の抑制は、リン脂質分子中のリン酸エステル結合が寄与しているであろうことが推定された。また、 δ -Toc の熱酸化に伴う δ -TED の生成に対する場合も、TBP はリン脂質とよく似た傾向の効果を示し、このことも、上の推論を裏付けるものである。

また、飽和トリグリセリドである Tri-La 中における酸化では、添加物の影響は一般に小さい。ただ、 α -Toc に対して TBP が酸化促進的に作用しているが、このことについてはこれだけの結果からでは原因については不明で、今後の検討課題と考えている。

本研究の一部は、昭和 55 年度科学研究費補助金 (総合研究 A) によって行われた。(昭和 57 年 2 月 1 日受理)

文 献

- 1) 戸谷洋一郎, 油化学, **29**, 323 (1980)
- 2) O.S. Privett, F.W. Quackenbush, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 321 (1954)
- 3) 梶本五郎, 吉田弘美, 三宅佐和子, 栄養と食糧, **23**, 437 (1970)
- 4) 渡辺幸雄, 綾野雄幸, 栄養と食糧, **25**, 621 (1972)
- 5) 山口直彦, 横尾良夫, 藤巻正生, 食品工誌, **22**, 425, 431 (1975)
- 6) 湯木悦二, 石川行弘, 吉和哲郎, 油化学, **23**, 497, 714 (1974)
- 7) Y. Ishikawa, E. Yuki, H. Kato, M. Fujimaki, *Yukagaku*, **26**, 765 (1977)
- 8) Y. Ishikawa, *Yukagaku*, **29**, 844 (1980)
- 9) 石川行弘, 伊東きぬゑ, 油化学, **30**, 767 (1981)
- 10) O.S. Privett, F.W. Quackenbush, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 169 (1954)
- 11) H.S. Olcott, J. Van der Veen, *J. Food Sci.*, **28**, 313 (1963)
- 12) M.F.M. El-Tarras, E.M.A. Moety, A.K.S. Ahmad, M.M. Amer, *Oléagineux*, **34**, 139 (1979)
- 13) E. Yuki, K. Morimoto, Y. Ishikawa, H. Noguchi, *Yukagaku*, **27**, 425 (1978)
- 14) 湯木悦二, 守本京三, 石川行弘, 油化学, **29**, 764 (1980)
- 15) 藤谷 健, 安藤久子, 油化学, **30**, 140 (1981)
- 16) 藤谷 健, 安藤久子, 油化学, **26**, 337 (1977)
- 17) 藤谷 健, 安藤久子, 油化学, **28**, 896 (1979)