Co⁶⁰γ線照射の生揚げに及ぼす影響 IX

Effects of Co⁶⁰γ Rays on Fried Bean Curd (IX)

“コールド・トラップ”と活性炭による揮発性化合物の捕集効率に関する検討
The comparison of trapping efficiencies of volatile compounds by “Cold-Traps”
and activated charcoal

(昭和 37 年 3 月 27 日 受 理)

浦 上 智 子 竹 村 登 代 子
(Chieko Urakami) (Toyoko Takemura)

The analyses of the oil extracted from the meant of fried soy bean curd according to Floch's method ⁷⁾ showed the absence of sulfur but the presence of phoshorus, presumably indicating the presence of phoshatides. The oil was found to contain about 70% linoleic and 12~15% linolenic acids. Activated charcoal was found to be much more efficient in trapping both volatile acid and carbonyl compounds than cold traps in a dry ice-acetone bath. It appeared that the number of days elapsed after extraction of the oil affected the number of the carbonyl compounds detected on the paper chromatograms, i.e., three distinct spots could be detected at four days after extraction of the oil but the one with Rf 0.01~0.04 disappeared after 20 days and the one with Rf 0.84 was disintegrated to give four different compounds.

緒 言

食物の香氣成分あるいは放射線照射により生ずる異臭成分の捕集には一般に水蒸気蒸溜法が用いられ、われわれも後者に関して、今まで水蒸気蒸溜法を使用してカルボニル化合物の検討を行なった¹⁾²⁾。この方法を用いると揮発性化合物をかなり多く得るという利点はあるが、つぎに述べるような欠点がある。すなわち、照射により生成された不揮発性酸化物(例えば油脂のパークサイド、不飽和アルコール、長鎖アルキルカルボニル化合物など)が水蒸気により分解され、二次的に揮発性化合物を生成する恐れがある。もちろんこのような二次的变化は照射後、長期放置する事によっても、もたらされるであろうが、照射による一次的变化を知るためには良い方法とはいえない。

このような欠点を捕うために、真空蒸溜により揮発物をコールド・トラップに捕集する方法が用いられている。しかし、最近の Lea の報告³⁾に注意する必要がある。すなわち、油脂に揮発性カルボニル化合物を添加し、ドライアイス-アセトンのコールドトラップ (-70°C) を用いて回収したところ、十分回収できない。最も効率の良いのは、バスキ 50°C、0.01mm 減圧下に液体窒素冷却トラップを用いる方法である。これらの方法の検討には飽和アルキルカルボニル化合物が使用されており、

異臭成分に関係する不飽和化合物については検討されていない。したがって後者については今後検討されるべきである。

また最近、活性炭を用いる方法が注目をあびている。^{4) 5)} 活性炭は容易に入手でき、また前述の方法に比べて扱いかたも容易であろうと考え、この方法を検討してみることにした。蒸溜は窒素気流中、減圧下で行ない、カルボニル化合物および揮発酸の捕集を対照にした。いずれも前報^{2) 6)} で述べたクロマト法を用いて検討した。

今回はさらに前報^{1) 2)} で極めることのできなかった二、三のことについても検討を行なった。その一つは生揚げなにかみ抽出油の不飽和の程度、リン脂体の存在を考慮してリンの定性分析および硫黄を含むカルボニル化合物の存在を考慮して硫黄の定性分析を試みた。

実 験 方 法

1. 油脂の抽出方法: あげの外皮を除去した後、10% 塩化ナトリウム水溶液を加え、乳鉢ですりつぶす。室温が高い時は水を十分入れて低温に保つ。これに冷却した CHCl₃:CH₃OH (2:3) を入れ、よく混合し、ヌッチェを用いて、吸引濾過する。濾過にはかなりの時間がかかるので、試料に水を加え、冷却しながら行なう。濾液を水層と有機溶媒層に分離する。Folch⁷⁾ は、この有機溶媒層を水または、塩の水溶液で洗滌する事を推奨してい

るが、今回の実験では、これは行なわなかった。このことについて最近 Marinetti⁹⁾は、水溶性リン脂体が失なわれること、および乳化する恐れがあるとして、水洗いしない方がよいと報告している。

有機層の溶媒は、減圧下、窒素気流中で溜去し、油脂試料を得た。これを窒素気流中アンブルに詰め冷蔵した。

2. アルカリ異性化法による不飽和脂肪酸量の測定
エチレングリコール中のKOHの濃度を6.6%にし、不飽和脂肪酸量の計算は植物油に関する式を適用した。

3. リンの定性分析：油0.5g程度を濃硫酸で分解後、パークローリックを加え、完全分解した。これを常法にしたがい、モリブデン酸アンモンとイソブタノールを加え、塩化第一錫で還元した。酸化分解に使用した硫酸の量は、リンの発色に関係するので注意を要する。

4. 硫黄の定性分析：試料油を金属ナトリウムで分解し、水解後、酢酸鉛およびニトロプルシドソーダを用いて分析を行なった。

5. 揮発物の捕集方法：トラップの連結方法は種々試みたが、最後に用いた方法はつぎのようである。

A—B—C—D—E—真空ポンプ

Aは2つ口フラスコで、一方は窒素気流を通じる毛细管を通し、他方はBトラップに連結させる。Bはメチノールアンモニアを入れたトラップで水で冷却、Cはドライアイス—アセトンで冷却したトラップ：Dは活性炭を詰めた直径10mm内外、長さ50cm程度のガラス管：Eはドライアイス—アセトンで冷却したトラップである。

Dに用いた活性炭は市販のものを150°Cで24時間乾燥し、デシケーター中で冷却したものを用いた。ガラス管の両端にはアスベストを1.5cm詰め、つぎに口紙を置く。中間に5gの活性炭をガラス綿と交互に詰め、真空蒸溜中にあまり移動しないようにしておく。

蒸溜条件はつぎのようであった。

試料油 I 4~2 mHg : 60°~85°C : 6時間

II 14~16 mHg : 80°~95°C : 5時間

III 7~10 mHg : 70°~80°C : 5時間

活性炭吸着の揮発物はエタノール（新しく蒸溜）で抽出した。カルボニル化合物の吸着能率を調べる時はこの抽出液を一定量にし、またトラップCおよびEのものも同一量にして、ベックマン分光光度計の330mμ（あらかじめ調べた結果の吸収極大）で吸光値を求めた。

カルボニル化合物をクロマト試料にするためには、2, 4-ジニトロフェルヒドラゼンと反応させヒドラゾンにした²⁾。

6. 揮発酸アンモニウム塩のペーパークロマト：

トラップBの試料を減圧濃縮し試料に供した。実験の初期にBを活性炭を詰めた管に直結したところ、活性炭にアンモニアの臭いがしたので、これをエタノールで抽出し、減圧濃縮後、ペーパークロマトにかけてみた。ペーパークロマトは揮発酸をアンモニウム塩として行なう Mukerjee¹⁰⁾の方法にしたがった。

7. カルボニル化合物のカラムおよびペーパークロマト：方法は前報で述べた通りで²⁾、試料は、CとEのトラップのものを混合したものと、活性炭抽出のものとし、べつべつに行なった。

8. 紫外吸収測定：島津製のベックマン分光光度計を使用した。

結果と考察

1. 抽出油：試料油Iは440gのなかみより12g、IIは540gより15g、IIIは1,600gより45gで、平均2.8%の収率であった。この結果は、前報¹⁾の3.6~5.1%より少ないが、これは、今回の試料が大量であったためと思われる。

それぞれの試料について数種の実験を行なったので、実験日が異なり、分析結果は、抽出後の経過日数によって差を生ずるものがある。そこで第1表に抽出後の経過日数と分析の種類との関係を示す。このことはカルボニル化合物の検討には最も大切なことで、後で述べる如く、第一次変化を知るためにはできるだけ早く行なうことが好ましい。

第1表 分析の種類と抽出後の経過日数との関係

抽出試料油	I	II	III
抽出日	5月20日	9月12日	10月18日
紫外吸収測定	5	83	47
アルカリ異性化反応	10	66	31
揮発酸のペーパークロマト	17	9	4
カルボニル—カラムクロマト	29	16	4
カルボニル—ペーパークロマト	45	26	6

第2表 抽出油の分析結果

	I			II			III			大豆油	
$\lambda(m\mu)$	275	315	250	233	280	230	280	255	270		
$E_{1\%}^{1cm}$	1.68	2.86	0.36	16.30	1.23	5.92	1.29	0.20	0.50		
リノール酸 %				72.07		73.25		43.4			
リノレイン酸 %				12.83		15.63		27.1			
リ硫黄	+			+		+		+			

試料油 I の紫外吸収測定の結果は他の 2 つに比べてかなり異なる。すなわち、油脂の自動酸化により吸収が増大するという 275~280m μ 附近は他のものに比べ大きく、また 315m μ の吸光値はかなり大きい。これは抽出方法に不備な点があったためで、抽出および濾過の操作中に氷冷をしなかったためで、経過日数が少ないにもかかわらず、空気酸化が起こったものと考えられる。これに反し、II と III の試料にはこの点に十分注意を払ったことと、窒素気流上でアンプル中に保存したため、抽出後の経過日数は多くても、両者には、あまり差が見られない。

リノール酸含有量は大豆油に比べてかなり多く、リノレン酸は少ない。この大豆油は市販の天ぷら油であるから天然大豆油の組成とは異なると思われるが、しかしこれら抽出油のリノール酸量はかなり大きい。これはリンが存在していることと考え合わせると、リン脂体の脂肪酸が関係していると考えられる。一般にリン脂体の脂肪酸は多不飽和のものが多いといわれているからこのような結果をもたらしたのと考えられる。多量のリノール酸の存在は空気酸化を促進させるから、試料の扱い方には注意を要する事が解かる。

硫黄は存在しないという結果が得られたが、今回の方法には感度に限界があり、極微量の硫黄の存在には敏感ないかも知れないので、今後さらに検討して見る考えである。唯、多量には存在していないことが今回の結果で解かる。

2. 揮発酸のペーパークロマト : なかみを水蒸気蒸溜した以前の結果⁶⁾ では酢酸様物質が認められたのであるが、今回の抽出油の窒素蒸溜では、数回反復した結果メタノール-アンモニアのトラップからは何も検出されなかった。しかし、このトラップを活性炭吸着管に直結した I 試料油の場合、活性炭をエタノール抽出し、揮発酸を検討したところ、Rf 0.11, 0.54, 0.61, および 0.79 の 4 コのスポットが検出された。Rf 0.54 は、同時に行なった既知試料のカプロン酸の Rf 値に相当する。0.11 のものはギ酸か、酢酸かはっきりしないが、かなり少ない炭素数の酸であろうと思われる。今回は活性炭そのものについて検討していないので、今後、基礎的にこの点を調べてみる考えである。いずれにしても活性炭は揮発酸に対してもコールド・トラップより効率が良いと考えられる。

3. カルボニル化合物に対する活性炭の吸着効率
活性炭 5 g を盲検としトラップ D, コールド・トラップ C と E をそれぞれ一定量のエタノールで抽出または希釈して、これらの極大吸収波長 330m μ の吸光値を調べた結果を第 3 表に示す。

第 3 表 330m μ の吸光値と吸着効果

	コールド・トラップ		活性炭	活性炭
	C	E	D	盲検
E	0.235	0.140	0.960	0.40
比率	1.7	1	7 (4)*	

* : 本文参照

盲検試料からかなりの量が検出されているが、これは抽出に使用したエタノールの純度によって左右されるようで、今後、厳密に精製したものを用いて検討する必要がある。しかし、これは後で述べるカルボニル化合物の種類にはあまり影響を及ぼしていないようである。活性炭吸着効率は E トラップに対して 7 倍、盲検を考慮に入れても 4 倍である。また E トラップにカルボニル化合物が存在するということは、活性炭層を増加する必要があることを示すもので、今後検討する。

4. カルボニル化合物の種類 : コールド・トラップ C と E に捕集したものを第 4 表に、活性炭に捕集したものを第 5 表に示す。

第 4 表 コールドトラップに捕集したカルボニル化合物のカラムおよびペーパークロマトの結果

I (26日)		II (16日)		III (4日)	
カラムバンド	ペーパー Rf*	カラムバンド	ペーパー Rf	カラムバンド	ペーパー Rf
1	0.00	1	0.00	1	0.00
2	0.35 0.74; 0.66	2	0.02	2	0.01
3	0.51; 0.40 0.88	3	0.45; 0.32; 0.39 0.66; 0.63 0.83; 0.82; 0.85 0.94; 0.96	3	0.84
4	1.02; 1.00				
5	0.84; 1.04				

* ヘプチルアルデヒドに対する比

第 5 表 活性炭に吸着されたカルボニル化合物のカラムおよびペーパークロマトの結果

II (26日)		III (6日)	
カラムバンド	ペーパー Rf	カラムバンド	ペーパー Rf
1	0.00	1	0.00
2	0.33; 0.21; 0.37 0.56; 0.48; 0.58 0.79; 0.86; 0.81 0.94; 0.97; 0.96	2	0.04; 0.02; 0.03 0.45~0.52~0.64** 0.44~0.54~0.63** 0.36~0.44~0.66** 0.56~0.87** 0.61~0.88**

* : 3 回ともストリークになった
* * : 2 回ともストリーク (経過日数 20 日)

Rf値0.01 (第4表 試料Ⅲ) はバンド2が単一であることが解かったので、紫外吸収を測定したところ、 $340\text{m}\mu$ に極大がみられ、これはおそらく、 $\text{C}_2\sim 3$ のアルデヒドであろうと思われる。したがって揮発性で、油脂抽出後の経過日数、16日ごろで(第4表試料Ⅱ)は存在するが、20日以上経過(第5表、Ⅲ およびⅡ; 第4表1)した場合はすでに失なわれているようである。したがってこれを除外して、はっきりした結果を示した試料油Ⅱについてコールド・トラップで捕集したものの種類と、活性炭で捕集したものとを比較すると、いずれも近似した Rf 値を示す5コのものからなり、さきに述べた活性炭盲検にみられた吸光値からの影響ないものと考えられる。

油脂抽出後4日目にペーパークロマトを行なった試料Ⅲ(第4表)は3コのパンドに分かれ、それぞれ単一の Rf 値を示した。Rf 0.80~0.84 (バンド3)について、紫外吸収を測定したところ、四塩化炭素溶媒中で λ_{max} は $350\text{m}\mu$ を示し、アルコール性 KOH で処理後、測定したところ $\lambda_{\text{max}1}$ $420\text{m}\mu$, $\lambda_{\text{max}2}$ $280\text{m}\mu$ を示した。これはおそらく多不飽和カルボニル化合物であることを示すものと思われる²⁾。したがって時日の経過と共に分解し、Ⅱ試料のパンド2が、示した4コのカルボニル化合物に変化するのではないかと考えられる。しかもこの変化は4日以後6日ごろ(第5表 試料Ⅲ)に現われ始め、最初はストリークになり、20日以後にはっきりしたスポットに分離するものと思われる。もちろん6日ごろに分解し始めるということについては活性炭の関与も考慮に入れないといけないが、試料Ⅱについて第4、5表を比較すると、大して差はないようである。以上の如く、カルボニル化合物の検討については、抽出後の経過日数が大きく影響するので、ことに放射線照射を行なった試料については細心の注意を払う必要がある。

つぎにⅠ試料油のコールド・トラップからはかなり複雑な組成のカルボニル化合物が得られている。カラムですでに5つのパンドに分離し、パンド2と3はそれぞれ

2コのパンドに分離した。これらはヘプチルアルデヒドを標準としたので、ⅡとⅢと比較はできないが、数は多いと考えられる。原因は前にも述べたように試料抽出操作に不備があった点と、経過日数が他の2つに比べて多いことが考えられる。

以上のように非照射試料からカルボニル化合物が検出されたことはつぎの3つのことを意味する。(1)照射しないなかみ抽出油の $270\sim 280\text{m}\mu$ の吸収は照射により減少したという前の報告¹¹⁾をある程度裏づけるものと思われる。すなわち今回検出されたカルボニル化合物は照射により容易に破壊される。(2)このようなカルボニル化合物は生揚げ製造中の加熱により、一部は油脂、他は低分子蛋白質からも生成されたのではないかと考えられる。抽出操作中に生成されることも考慮に入れないといけないが、おそらく前者が大きな役割を果しているであろう。(3)放射線照射後のカルボニル化合物の組成は、したがって油脂のみ照射により生ずる組成よりかなり複雑なものであろう。以上のことはさらに油脂抽出の際得られる水層の部分についても検討を要することを示すものと考えられる。

文 献

- 1) 浦上ほか: 本誌, 14, 285 (1961)
- 2) 浦上ほか: 本誌, 14, 289 (1961)
- 3) C. H. Lea and P. A. T. Swoboda; *Chem. & Ind.* 31, 974 (1958)
- 4) J. F. Carson and F. F. Wong.; *J. Agr. Food Chem.* 9, 140 (1961)
- 5) J. H. Dhont and C. Weurman; *Analyst*, 85, 419 (1960)
- 6) 浦上ほか: 本誌 13, 14 (1960)
- 7) J. Folch et al.; *J. Biol. Chem.*, 226, 497 (1957)
- 8) G. V. Marinetti; *J. Lipid Research*, 3, 1 (1962)
- 9) V. C. Mehlenbacher: "Analysis of Fats and Oils" (The Garrard Press) p. 518 (1960)
- 10) H. Mukerjee; *Anal. Chem.*, 31, 1284 (1959)
- 11) 浦上ほか: 本誌, 14, 281 (1961)

(大阪市立大学家政学部)