ビタミンE欠乏飼料の調製に用いる植物油、魚油などに含まれるビタミンEの簡易除去法

毛利佳世, 道本千衣子

活洲はるみ, 五十嵐 脩

お茶の水女子大学生生活環境研究センター

A Simple Elimination Method of Vitamin E from Vegetable and Fish Oils for the Preparation of Vitamin E Deficient Diet

Kayo MOHRI, Chieko DOHMOTO,

Harumi IKESU, Osamu IGARASHI

Research Center for Environmental Science for Human Life, Ochanomizu University, Bunkyo-ku, Tokyo

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) **36**, 122~124 (1983) A simple method for the elimination of vitamin E from vegetable and fish oils was elucidated for the preparation of vitamin E free diet. Fifty grams of oil were treated with 2 or 4 g of active carbon in 50% *n*-hexane solution for 3 to 5 hours. Alpha-tocopherol was completely removed from safflower and cod liver oils, but about 78% of γ - and 46% of δ -tocopherols were removed from safflower oil. Then, the biological activity of vitamin E of safflower oil reduced to 0.004 mg/g α -tocopherol equivalent from 0.358 of non-treated one. In the case of cod liver oil which contained only α -tocopherol, it became completely free vitamin E. Vitamin A in cod liver oil was also reduced with active carbon treatment to about half value.

(Received July 22, 1982)

ビタミンEの生理作用などを研究するためには、ビタミンE欠乏飼料を調製することが不可欠の要件である。カゼイン、スターチなどはビタミンフリーの製品を用いればよいが、飼料に加える油脂類はほとんどの市販品が著量のビタミンEを含んでいる。そのため、従来はビタミンE含量の極端に少ないラードがその目的に用いられてきた。しかし、ラードはリノール酸、リノレン酸などの多価不飽和脂肪酸含量が少ないため、必須脂肪酸の供給の面で若干問題が残る、ビタミンE欠乏の発現も遅いという欠点をもつ。それで、一般の植物油を分子蒸留し

て(数回必要)ビタミンEを除出することが行なわれている。この方法は工業的規模を必要とし、実験室では行なうことは不可能であるので、特定の油だけが供給されているのが現状であり、現在はオリエンタル酵母工業㈱よりコーン油のみが供給されている。この分子蒸留コーン油は非常に高価であり、また研究目的に応じて各種の植物油、魚油、動物脂などを用いるのは不可能で、一般には脂肪酸のメチルエステル、エチルエステルの形にして使用せねばならない。そこでわれわれは、油脂の形のままで簡便にビタミンEを除去する方法を調べた結果、活性炭を用いる方法が簡便で実験室でも行なえることを見いだしたので報告する。

実験方法

1. 試料

魚油として精製タラ肝油、植物油として市販のサフラワー油を用いた。

2. ビタミンE定量法

高速液体クロマトグラフィー法¹⁾を用いた。装置は、ポンプは日本精密機製の NSP-839 型(ダンパー付)、カラムは Nucleosil-NH₂ (0.46×15 cm)、検出器は島津製作所 SPD-2A 型 UV 検出器(292 nm)を用いた。移動相は *n*-ヘキサン:イソプロパノール(99:1.0)で 1 ml/min の流速とした。

内部標準物質として、2, 2, 5, 7, 8-pentamethyl-6-hydroxychroman を用いた。本品は α -トコフェロールの側鎖がメチル基に代わったモデル化合物で、下記により合成した²⁾。すなわち、トリメチルヒドロキノン 24 g、イソブレン 10 g、塩化亜鉛 2.4 g、氷酢酸 240 ml に濃硫酸 8 滴を加え、115~118°C で 1 時間加熱還流させ、冷却後、水中に注加して晶出させる。結晶を濾別し、冷水で十分に洗浄し、水を除いたのち、*n*-ヘキサンに溶解し活性炭で脱色後、加温しつつ濾過し、結晶を得る。再結晶を数回くりかえし、標品として用いる。収量は脱色後 12 g 程度、標品としては 5~6 g ぐらいが得られる。

3. ビタミンA定量法

日本薬局法に準じて行ない、アルミナカラムを使用して不純物の除去を行なった。

4. ビタミンEの除去法

魚油または植物油を約 50 g 精秤し、*n*-ヘキサン 50 ml に溶解し、活性炭 2 g または 4 g を加え、0~5 時間攪拌した後、活性炭を濾別して除き、*n*-ヘキサン減圧下で留去し、さらに真空ポンプで完全に留去する。

結果および考察

1. ビタミンEの活性炭による除去効率

Fig.1 に活性炭処理前後の高速液体クロマトグラフィー

Fig.1. High-performance liquid chromatograms of safflower and cod liver oils.

- 1) A standard mixture of α -, β -, γ - and σ -tocopherols and tocol, 2) Active carbon treated safflower oil (4 g carbon/50 g oil), 3) Active carbon treated safflower oil plus α -tocopherol, 4) A commercial safflower oil (before treatment with active carbon), 5) A purified cod liver oil (before treatment), 6) Active carbon treated cod liver oil (2 g carbon/50 g oil).

Table 1. Elimination of tocopherol analogues and vitamin A from safflower and cod liver oils with active carbon.

	Treatment	Non-treatment	Residual ratio
Safflower oil (Treated with 4 g active carbon/50 g oil)			
α -tocopherol	<0.29*	345.37 $\pm$ 3.93*	0.08%
γ -tocopherol	22.63 $\pm$ 3.37	101.48 $\pm$ 1.31	22.30
σ -tocopherol	141.31 $\pm$ 2.51	261.84 $\pm$ 3.61	53.97
Biological activity as vitamin E**	4.0	358.1	1.1
Cod liver oil (I) (Treated with active carbon 2 g/50 g oil)			
α -tocopherol	<0.1	177.31 $\pm$ 2.41	<0.06
Vitamin A***	216	421	51.3
Biological activity as vitamin E	<0.1	177.3	<0.06
Cod liver oil (II) (Treated with active carbon 2 g/50 g oil)			
α -tocopherol	<0.1	145.10 $\pm$ 1.83	<0.07
Vitamin A	254	534	47.6
Biological activity as vitamin E	<0.1	145.1	<0.07

Mean $\pm$ S.D. ($n=5$).

* $\mu\text{g/g}$ oil.

** α -tocopherol equivalent $\mu\text{g/g}$ oil. Biological activities were calculated as 1/10 and 1/100 for γ - and σ -tocopherols, respectively.

*** IU/g oil.

一のパターンの変化を示す。この図はサフラワー油とタラ肝油のものである。この図からわかるようにサフラワー油に含まれるトコフェロール同族体のうち、 α -トコフェロールがほとんど完全に除去されていることがわかる。元来、サフラワー油には、Table 1 に示したように α -トコフェロール 345, γ -トコフェロール 101, δ -トコフェロール 262 $\mu\text{g/g}$ が含まれていたが、活性炭処理 (4 g/50 g 油) で、おのおの 0.29 $\mu\text{g/g}$ 油以下 (大量にクロマトグラフしたときにこの検出限界以下で検出), 22.6, 141.3 $\mu\text{g/g}$ 油と減少した。この減少率は α -100%, γ -77.7%, δ -トコフェロール 46.0% であった。また、タラ肝油の場合、2種の試料 (おのおの 177, 145 $\mu\text{g/g}$ 油の α -トコフェロール含有) を用いたが、活性炭処理 (2 g/50 g 油) で 0.1 $\mu\text{g/g}$ 油以下に α -トコフェロールが減少した。このように、両方の油とも活性炭処理でほぼ完全に α -トコフェロールが除去されることがわかり、最も生理活性の強い α -トコフェロールが除去されることは E-欠乏飼料の調製には最も都合がよいことがわかる。また、サフラワー油の γ -トコフェロールもほぼ 1/4~1/5 に減少した。しかし δ -トコフェロールの残存率は 54% 程度とかなり高かった。生理活性という点から考えると、最も生理活性の高い α -トコフェロールが完全に除去された結果、サフラワー油のビタミン E 活性は 358 μg α -Toc. 等量/g 油から 4.0 に減少し (残存率 1.1%), 魚油では 145, 177 μg α -Toc. 等量/g 油から 0.1 以下に低下した (残存率 0.07% 以下)。このサフラワー油を飼料中 5% の割合で含む E-欠乏飼料のビタミン E 含量は 200 μg α -Toc. 等量/kg 飼料となり、十分に E-欠乏飼料として使用可能であることを示している。

なお、タラ肝油をはじめとする魚油には α -トコフェロール以外のトコフェロール同族体は含まれていないので、タラ肝油同様完全にビタミン E 欠乏にすることが可能である。

次に活性炭処理時間について 1~5 時間の範囲内で検討したが、この範囲では大差がなかったが、若干長時間のほうが除去効率が高くなる傾向があった。なお、活性炭使用量はビタミン E 含量、同族体の構成比、ビタミン以外の成分の含量によって考慮する必要がある、事実サフラワー油の場合、1/2 量の活性炭処理 (2 g/50 g 油)

では α -トコフェロールの残存量が 29, γ -型 70, δ -型 193 $\mu\text{g/g}$ 油と 4 g 処理の場合に比べかなり高く、生理活性も 38 μg α -Toc. 等量/g 油と高値であった。

2. ビタミン A の活性炭処理による除去効果

Table 1 に示したとおり、本法で用いた精製タラ肝油 (分子蒸留 1 回処理) のビタミン A 含量は 530, 420 IU/g と通常のタラ肝油に比べ低かった。このタラ肝油をビタミン E 除去のために活性炭処理した結果、ビタミン A 含量はおのおの 254, 216 に減少した。したがって本活性炭処理により、ビタミン E とともにビタミン A も 50% 程度に減少することが明らかにされた。

要 約

ビタミン E 欠乏飼料の調製に使用する植物油、魚油などのビタミン E の簡易除去法として活性炭処理法を考案した。

1) 本法により、ビタミン E 同族体のうち、 α -トコフェロールはほぼ 100% (サフラワー油、タラ肝油ともに)、 γ -トコフェロールは 77.7%, δ -トコフェロールは 46% 除去された。その結果、生理活性値はサフラワー油で 358 μg α -Toc. 等量/g 油から 4.0 に (1.1% に減少)、タラ肝油では 0.1 μg α -Toc. 等量/g 油以下 (0.07% 以下に減少) になった。

2) 本法で処理したサフラワー油を 5% 含む飼料のビタミン E 含量は 200 μg α -Toc. 等量/kg 飼料で十分 E 欠乏飼料として使用できることが示された。

3) 本法によりタラ肝油に含まれるビタミン A もビタミン E とともに一部除去され、その除去率は約 50% であった。

本研究に使用した費用の一部は文部省科学研究費一般研究 (C)「脂質過酸化物質投与によるストレスへの生体の反応とビタミン E の作用 (558019)」によったものである。

文 献

- 1) 石橋恭子, 阿部皓一, 大前雅彦, 河部 靖, 勝井 五一郎: ビタミン, 51, 415 (1977)
- 2) Smith, L.I., Ungnade, H.E., Hoehn, H.H. and Wawzonek, S.: *J. Org. Chem.*, 4, 311 (1939)

(昭和 57 年 7 月 22 日受理)