水素添加大豆リン脂質の酸化安定性†

原 節 子, 中 田 成 夫

細 井 功, 戸 谷 洋 一 郎

成蹊大学工学部

Oxidation Stability of Hydrogenated Soybean Phospholipids

Setsuko HARA, Shigeo NAKATA, Isao HOSOI and Yoichiro TOTANI

Faculty of Engineering, Seikei University, Musashino, 180

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 39, 391~396 (1986)

Hydrogenation of soybean phospholipids was investigated to improve their stability against oxidation. Hydrogenated soybean phospholipids were easily prepared under the conditions described below; 5 or 10% Pd/C as a catalyst, hexane-ethanol (4:1) as a solvent, hydrogen pressure at 10 kg/cm², reaction temperature ranging from 50 to 55°C and reaction time for 2-4 hr. Soybean phospholipids having any hydrogenation ratio could be obtained by adjustment of catalyst amounts.

Soybean phospholipids with various hydrogenation ratio were subjected to autoxidation for a long period at the room temperature (10-23°C), 40°C and 60°C in the dark and at 60°C under UV lamp. Those autoxidation behavior were monitored by the measurement of peroxide value (POV) and carbonyl value (COV) with the passage of time. As a result, 50% or more hydrogenated soybean phospholipids were markedly improved in their oxidation stability as compared with non-hydrogenated sample. As for these samples, the brown discoloration, a well-known phenomenon of oxidized or heated soybean phospholipids, was inhibited sufficiently during the autoxidation period.

(Received January 23, 1986)

リン脂質は天然の乳化剤として古くから食品、塗料をはじめ多くの工業に広く用いられているが、近年リン脂質の生体内における種々の生理作用が示唆され、リボソーム等の医薬品工業への利用が盛んに行なわれている^{1)~3)}。しかし現在工業的に用いられているリン脂質はそのほとんどが大豆から得られており、リン脂質の α 、 β 位に存在する脂肪酸基の70~80%がリノール酸を主とする不飽和脂肪酸であるため、熱および酸化安定性に乏しいことが知られている。

代表的なリン脂質であるホスファチジルコリン (PC) について富岡、金田ら^{4)~6)}は熱酸化により一部の脂肪酸部分に生じたカルボニル基がPC中のホスホリルコリン基を触媒とする分子間アルドール縮合により重合し褐色生成物を生ずることを報告している。このようにリン脂質分子中の脂肪酸基の二重結合にもとづき過酸化、分解

反応が進行し、酸化に対する不安定さを生じさせると考えられる。したがって大豆リン脂質の熱や酸化に対する安定性が改善されるならば、さらにリン脂質の用途が広がるものと思われる。

そこで硬化油製造工業で一般に行なわれている水素添加反応 (水添反応) をリン脂質に応用することにより、酸化安定性に優れた水添リン脂質が調製されることが考えられた。リン脂質の水添については篠崎⁷⁾により1934年に行なわれて以来、ニッケル触媒^{8)~9)}、パラジウム触媒¹⁰⁾を用いての種々の方法が発表されているが、反応水素圧が高圧であったり、用いる溶媒が食品への使用には不適であったりして、実用面においては種々の問題があった。1975年Davis¹¹⁾によってパラジウムまたは白金触媒を0.1%用いて反応温度25~90°C、反応水素圧0.3~3.5 kg/cm²の条件下にリン脂質を十分に水添する方法が発表され、工業的な利用の途が開かれた。しかし水添反応の詳細や水添リン脂質の性状については不明であるため、本研究ではDavisの水添方法をさらに改良するとともに、得られた種々の水添率を有する水添リ

† 水素添加リン脂質の性状に関する研究 (第1報)
Characterization of Hydrogenated Phospholipids
(Part 1)

ン脂質の酸化安定性について検討した。

実験方法

1. 試料および試薬

実験に際してリン脂質は日清製油㈱製精製大豆レシテンパウダーを用いた。この試料のリン脂質純度は95%以上であり、その組成はTable 1のごとくであった¹²⁾。また脂肪酸組成はパルミチン酸 20.3%, ステアリン酸 3.5%, オレイン酸 10.1%, リノール酸 59.0%, リノレン酸 7.1% であった。

触媒は川研ファインケミカル㈱製 5% および 10% パラジウム-炭素 (Pd/C) を用い、その他の試薬は市販の1級または特級のものをそのまま用いた。

2. 水添反応

Davis の報告¹¹⁾を参考にして基本的には以下の手順により水添を行なった。すなわち装置として内容量 1 l のステンレス製振とう式オートクレーブを用い、この中に所定量の触媒と用いる溶媒の一部 (60 ml) を入れて密封した後、オートクレーブ内の酸素を除去するため内部の空気を十分に窒素置換し、さらにオートクレーブ内を減圧 (約 70 mmHg) とした。なお触媒の水素化を行なう場合にはここでオートクレーブ内に水素を充填 (5 kg/cm²) し、室温下で所定時間振とうした後、容器内の水素を減圧除去した。次にオートクレーブ内に窒素気流下で試料溶液 (試料 30 g/溶媒 240 ml) を導入した後、再び装置内を減圧にし、水素を所定圧まで充填し、所定時間および温度で振とうして水添した。反応終了後、試料を窒素気流下で回収し、触媒をセルロース:セライト (1:1) を濾剤として濾別除去し、アセトン分画により水添リン脂質を回収した。

3. 水添率の測定

水添リン脂質の水添率の測定は下記の方法により行なった。すなわち水添リン脂質の脂肪酸部分を Jham¹³⁾ らの方法によりメチルエステルとした後、GLC 分析により得られた構成脂肪酸からヨウ素価を算出し、同様にし求めた未水添試料のヨウ素価を基準にして水添率を算出した。

4. 自動酸化安定性の検討

水添率の異なるリン脂質を試料とし、未水添リン脂質を対照として室温 (10~23°C), 40°C 暗所, 60°C 暗所,

60°C 蛍光灯照射 (15 W) の4条件下で自動酸化を行ない、経時的に過酸化価 (POV), カルボニル価 (COV) を測定した。なお POV の測定に際してはリン脂質の測定に有効な電位差滴定法¹⁴⁾¹⁵⁾を用い、また COV は日本油化学基準油脂分析試験法¹⁶⁾に記載された方法により測定した。

結果および考察

1. 水添反応

リン脂質の水添を効果的に行なうため、水添方法における溶媒、水素圧、触媒、反応温度および時間について種々検討した。

1) 溶媒 Davis の方法¹¹⁾においては水添の際に溶媒として 0.6% 無水酢酸/*n*-ヘキサンまたはベンゼン/エタノール (4:1) を用いており、とくに無水酢酸/*n*-ヘキサン系溶媒は反応終了後無水酢酸を除去するための操作を必要とするが、ホスファチジルエタノールアミン (PE) 中のエタノールアミン部分をアミドとすることによりエタノールアミンの触媒毒としての作用を除く効果があるとされている。しかし両系の溶媒を用いて同様に水添を行なった結果、水添率に差は認められず無水酢酸の添加は不必要と思われた。またベンゼン/エタノール系についても生成物の食品や医薬品への応用を考えた場合には、ベンゼンの残留が問題と考えられる。そこでこれらの欠点を改善するため種々の溶媒系について検討した結果、*n*-ヘキサン/エタノール (4:1) を用いることにより同様に水添可能であることが判明したため以後の水添に際しては *n*-ヘキサン/エタノール (4:1) を水添溶媒として用いた。

2) 水素圧 リン脂質の水添を行なうため十分であり、また工業的にも有利な水素圧を決定するため、種々の水素圧 (1, 2, 5, 10, 15 kg/cm²) で水添を行なった結果、2 kg/cm² 以上の場合に十分な水添率を得ることができた。したがって本実験においては工業的応用においても問題のない 10 kg/cm² 以下の水素圧を用いた。

3) 触媒 Davis の報告¹¹⁾においては水添リン脂質の緑色の着色を防ぐため触媒をあらかじめ低い水素圧で処理する水素化の操作が有効とされていた。したがって本研究においても触媒の水素化の必要性の有無について Pd/C を用いて検討した。すなわち水素圧 5 kg/cm², 常温で 0~4 時間処理した結果、触媒の水素化は生成物の水添率には何の影響ももたず、しかも精製大豆リン脂質を用いた場合、水素化の有無にかかわらず生成物の色調はすべて淡黄色であり、緑色の呈色はまったく認められなかった。したがって以後の水添反応においては触媒の水素化は行なわなかった。次に触媒量について検討するため *n*-ヘキサン/エタノール (4:1) 溶媒、水素圧

Table 1. Composition of soybean phospholipids (%).

Phosphatidyl choline	34.0
Phosphatidyl ethanolamine	27.7
Phosphatidyl inositol	19.3
Others	19.0

10 kg/cm², 反応温度 50~55°C において Pd 量をリン脂質に対し 0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 wt% 添加して水添反応を行ない, その結果を Fig. 1 に示した。Fig. 1 からいずれの触媒量においても反応は 3~4 時間程度ではほぼ定常状態になったが, 触媒量による水添率の差は顕著であり触媒量のコントロールにより生成物の水添率を容易に調整することが可能であることが判明した。

4) 反応温度および反応時間 溶媒として *n*-ヘキサン/エタノール (4:1), 水素圧 10 kg/cm², 触媒量 0.20 wt% の条件下に反応温度および反応時間を変数としたときの水添率の変化を Fig. 2 に示した。Fig. 2 に示したように反応温度の上昇とともにわずかに水添率の上昇が認められたが, 50~55°C と 65~70°C ではほとんど差のないことから 50~55°C での水添が有効と考えられた。また反応時間については, 反応時間 2 時間までは水添率の上昇は著しいが, 4 時間以後はほぼ一定であり, 反応時間が 4 時間を経過するとリン酸基によると

Fig. 1. Effect of Pd/C amounts on hydrogenation of soybean phospholipids.

えられる触媒の失活が推測された。

2. 自動酸化安定性

Table 2 の水添条件により種々の水添率を有する水添リン脂質を調製し, 自動酸化安定性試験に用いた。な

Fig. 2. Effect of reaction time and temperature on hydrogenation of soybean phospholipids.

Reaction temperature: ○ 65-70°C; ● 50-55°C; △ 45-50°C; ▲ 35-40°C.

Table 2. Hydrogenation condition of soybean phospholipids.

	Catalyst (wt%)	Temperature (°C)	Time (hr)
A	10% Pd/C 0.05	50-55	1
B	0.10	50-55	2
C	0.20	50-55	4
D	0.40	50-55	4
E	5% Pd/C 0.40	65-70	6

Table 3. Fatty acid composition of hydrogenated soybean phospholipids.

Sample	Composition (%)					Hydrogenation ratio (%)
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
Original	21.2	3.5	8.7	59.4	7.2	0
Hyd. A	20.3	6.9	24.6	44.6	3.6	15.8
B	20.6	16.8	39.6	21.6	1.4	41.3
C	20.9	29.1	45.3	4.7	0	63.1
D	20.5	63.1	14.2	2.2	0	87.6
E	20.3	79.7	0	0	0	100.0

お、調製試料の脂肪酸組成を Table 3 に示した。これらの試料を室温にて自動酸化したときの経時的な POV, COV の変化を Fig. 3(A), (B) に示した。Fig. 3(A) から未水添リン脂質は 45 日以降 POV がかなり上昇したのに対し、水添試料では水添率 15.8% の試料 [A] がわずかに上昇したが、水添率 41~100% の試料 [B] ~ [E] ではほとんど POV は上昇せず、90 日経過後も POV は 10 meq/kg 以下であった。また Fig. 3(B) から COV は未水添リン脂質において上昇したのに対し、水

(A)

(B)

Fig. 3. POV changes (A) and COV changes (B) of hydrogenated soybean phospholipids during autoxidation at room temperature.

○ Original; ● [A] (15.8% hydrogenated); □ [B] (41.3% hydrogenated); ■ [C] (63.1% hydrogenated); △ [D] (87.6% hydrogenated); ▲ [E] (100.0% hydrogenated).

添リン脂質はすべてほとんど変化が認められなかった。

次に 40°C 自動酸化についてその POV および COV の経時の変化を Fig. 4(A), (B) に示した。40°C においては未水添試料および水添試料 [A] は POV の著しい上昇を示したが、水添率の高い試料 [B] ~ [E] はほとんど変化が認められなかった。また COV についても POV とほぼ同様の傾向が見られた。

60°C 自動酸化における POV, COV の経時の変化を Fig. 5(A), (B) に示した。40°C における自動酸化の場合と同様に未水添試料および水添試料 [A] の POV の

(A)

(B)

Fig. 4. POV changes (A) and COV changes (B) of hydrogenated soybean phospholipids during autoxidation at 40°C.

○ Original; ● [A] (15.8% hydrogenated); □ [B] (41.3% hydrogenated); ■ [C] (63.1% hydrogenated); △ [D] (87.6% hydrogenated).

上昇は顕著であった。水添試料 [B] は Fig. 4(A), (B) ではほとんど変化がなかったのに対し、60°C における自動酸化においては POV, COV とも 40 日経過後に上昇を示した。水添率の高い試料 [C] ~ [E] においてはほとんど変化は認められなかった。

さらに 60°C 蛍光灯照射下における自動酸化による POV, COV の経時変化を Fig. 6(A), (B) に示した。Fig. 6(A) から 60°C 蛍光灯照射下では未水添試料および水添試料 [A] は Fig. 3(A), 4(A), 5(A) と同じく顕

著な増加が見られた。またその他の水添試料については他の自動酸化条件と比較して水添率の低さに伴う POV の上昇がより増大し、COV もほぼ同様の傾向を示した。

以上の結果から水添反応により調製した水添リン脂質の自動酸化安定性は未水添リン脂質に比較して明らかに向上することが判明した。しかし自動酸化温度の上昇に伴い水添率 15.8%, 41.3% の試料 [A] および [B] においては POV, COV とも変化が認められ、さらに

(A)

(B)

Fig. 5. POV changes (A) and COV changes (B) of hydrogenated soybean phospholipids during autoxidation at 60°C.

○ Original; ● [A] (15.8% hydrogenated); □ [B] (41.3% hydrogenated); ■ [C] (63.1% hydrogenated); △ [D] (87.6% hydrogenated); ▲ [E] (100.0% hydrogenated).

(A)

(B)

Fig. 6. POV changes (A) and COV changes (B) of hydrogenated soybean phospholipids during autoxidation under UV lamp at 60°C.

○ Original; ● [A] (15.8% hydrogenated); □ [B] (41.3% hydrogenated); ■ [C] (63.1% hydrogenated); △ [D] (87.6% hydrogenated); ▲ [E] (100.0% hydrogenated).

蛍光灯照射によりその傾向が著しくなった。したがって酸化安定性に優れたリン脂質を調製するためには、ほぼ50%の水添反応を行なうことが適当であり、これらの試料では自動酸化期間中における着色もまったく認められなかった。最近注目を集めているリボソームの原料として現在は卵黄レシチン、ジミリストイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリンなど高価なリン脂質がおもに利用されているが、本実験結果から水添により安価な大豆リン脂質を原料として用いることが可能となるものと思われる。

要 約

大豆リン脂質の酸化に対する不安定性を解消するため大豆リン脂質の水素添加反応について検討した。その結果、触媒として5または10% Pd/C、溶媒として *n*-ヘキサン/エタノール (4:1) を用い、水素圧 10 kg/cm²、温度 50~55°C、反応時間 2~4 時間の反応条件により、容易に水添大豆リン脂質が調製され、さらに触媒量の調節により水添率を自由に調整し、種々の水添率を有する水添大豆リン脂質を得ることが可能であった。

水添大豆リン脂質の酸化安定性を検討するため水添率 15.8~100% の5種の水添率の異なる水添大豆リン脂質を用い、室温、40°C、60°C、60°C 蛍光灯照射下で自動酸化し、経時的に POV、COV を測定した。未水添大豆リン脂質と比較した結果、50%以上に水添された大豆リン脂質の酸化安定性は著しく向上し、酸化あるいは加

熱リン脂質特有の茶色の着色現象もほとんど抑制されることが判明した。したがって大豆リン脂質の水添は卵黄レシチンの代替品やその他における大豆リン脂質の用途をさらに拡大するものと思われる。

なお、本実験を遂行するにあたり、多大なご援助をいただいた日清製油 (株) 研究所 臼井 浩、檜垣勇三両氏に謝意を表します。

文 献

- 1) 佐藤成一, 西岡 鑑: 油化学, **28**, 773 (1979)
- 2) 見里朝正: 油化学, **27**, 65 (1978)
- 3) 難波幸弘, 榊原敏之: 油化学, **34**, 593 (1985)
- 4) 富岡文枝, 金田尚志: 油化学, **23**, 777 (1974)
- 5) 富岡文枝, 金田尚志: 油化学, **23**, 782 (1974)
- 6) 富岡文枝, 金田尚志: 油化学, **25**, 784 (1976)
- 7) 篠崎侑一, 佐藤正典: 工業化学雑誌, **37**, 985 (1934)
- 8) Jacini, G.: U.S. Pat., 2,870,179 (1959)
- 9) 高見 徹, 武沢美佐子: 公開特許公報, 昭 52-83911 (1977)
- 10) Cole, R.D.: U.S. Pat., 2,907,777 (1959)
- 11) Davis, P.F.: 特許公報, 昭 50-7586 (1975)
- 12) 檜垣勇三: *Fragrance J.*, **60**, 81 (1983)
- 13) Jham, G.N., Teles, F.F.F. and Campos, L.G.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 132 (1982)
- 14) 原 節子, 鷲巢 治, 戸谷洋一郎: 油化学, **31**, 32 (1982)
- 15) 原 節子, 鈴木和久, 戸谷洋一郎: 油化学, **32**, 680 (1983)
- 16) 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法 2.4.22-73

(昭和61年1月23日受理)