油なめしの反応機構解析法に関する一考察*

白井 邦郎, 岡村 浩

(山崎化学研究所)

昭和 48 年 5 月 12 日 受 理

A Consideration on the Method Analyzing Mechanism of Oil Tanning Reaction

By Kunio SHIRAI and Hiroshi OKAMURA
Yamazaki Chemical Laboratory, Saitama

Autoxidized cod oil or cod oil acid performed a striking effect of oil tanning when it was incubated with hide powder having suitable amount of moisture in a organic solvent medium under the nitrogen atmosphere. The effect did not depend on the period of oxidation for oil but was in a direct relation to peroxide content of the oxidized oil in contact with hide powder. The peroxide content decreased with the time of reaction with hide powder, while the tanning increased. These facts indicate a possibility that oil tanning involve a direct reaction between peroxide and hide. From analyzing amino acid composition of oil tanned hide, basic amino acid residues may have a role in oil tanning reaction.

(Received May 12, 1973)

緒 言

油なめしの反応機構を解明するため、まずなめし効果の判定方法に検討を加え、皮の酸による溶脱窒素量を測定する方法が有効であることを認めた。この方法を用いて、油なめし反応に関与する 2, 3 の要因を検討し、なめし中の湿度が決定的に重要な因子となることを知った⁽¹⁾。さらに油なめしの条件下でのタラ油の自動酸化状態をしらべた結果、空気中の水分は油の酸化過程に影響をおよぼすのではなく、油の酸化生成物が皮と反応する過程で皮中の水分が重要な役割を果たすという示唆が得られた⁽²⁾。このように油なめし反応を、油の自動酸化とその酸化生成物が皮と反応する過程の 2 つを分けて取り扱う方法が明らかになれば、反応機構を研究するうえで大きな意義がある。

油なめしの過程で、どのような酸化成分が皮と反応し結合するかは、反応機構の中心となるべきテーマであるが、皮に結合した成分を直接分析することが困難であるため、実験的研究は非常に少ない。清水ら⁽³⁻⁵⁾は低級アルデヒドに注目し、なめし中の結合量の消長を検討して

* 油なめしに関する研究 (第 3 報)。

いるが、これのみで油なめしの本質を説明することができないことは明白である。一般には、なめし中の皮/油混合物から油を抽出し、その特性の変化から皮への結合成分を推測する方法がとられているが、自動酸化による酸化生成物の増加、自己分解が、酸化生成物と皮との反応もしくは結合と同時に進行するため明確な結論は得られない。しかも従来の研究では、結合成分となめし効果との関連性が十分に明らかにされていない。ある程度自動酸化が進んで酸化生成物が蓄積された酸化油を使用して、新たに自動酸化が起こらない条件下で皮と接触させて、油の成分変化となめし効果との関係を明らかにすれば、より明確な推論が可能となるはずである。

以上の観点から本研究では、自動酸化によって得られた酸化タラ油を溶剤にとかし、窒素置換フラスコ中で皮粉とインキュベートし酸化油の過酸化物質となめし効果との関係をしらべた。

実 験 方 法

1. 実験材料

a) タラ油: 吉川製油製の精製品でヨウ素価 134.0, 酸価 2.5, 過酸化物質価 9.4 のものを使用した。

b) タラ油酸: タラ油 80 g に純エチルアルコール 400 ml に水酸化カリウム 24 g を溶解した溶液を加え, 還流しつつ 1 時間煮沸けん化した。反応液に水 400 ml を加え, 石油エーテルを用いて未反応油, 不けん化物を抽出除去してから 6N 硫酸を使用して酸性として, 石油エーテル・エチルエーテル混合液 (1:1) を用いて脂肪酸を抽出し水洗, 脱水, 濃縮乾固した。なお以上の操作は, 窒素気流中で行なった。収量 64 g, ヨウ素価 138.8, 中和価 188.8, 過酸化値 2.1 であった。

c) 皮粉: 成牛皮の真皮部分を精製, 粉碎したもので, 前報⁽¹⁾と同一のものである。

2. タラ油, タラ油酸の酸化 タラ油またはタラ油酸をガラスビーズ (直径 0.3 mm 以下) と重量比 1:8 で混合し, シャーレに広げて 40°C の定温室中に所定時間放置して酸化した。酸化後タラ油は *n*-ヘキサンで, タラ油酸はエチルアルコールで抽出し, 10 g/100 ml の酸化油溶液として皮粉との反応に供した。

3. 皮粉の含水量の調整 皮粉を, 無水塩化カルシウム (RH 0%), 飽和硝酸アンモニウム水溶液 (RH 65%), 飽和硝酸カリウム水溶液 (RH 90%) または水 (RH 100%) を使用したデシケータ中に 40°C, 48 時間放置して含水量を調整した。この条件で皮粉の含水量はそれぞれ RH 0%: 10.6%, RH 65%: 18.1%, RH 90%: 25.9%, RH 100%: 32.0% となった。含水量の特に多い皮粉を得るために, 皮粉をアセトン・水の容量 7:3 混合溶液中に 60 分間浸してから液を切り, エチルエーテル中で攪拌してアセトンを除去し, ろ過後エチルエーテルを揮散させてから RH 100% のデシケータ中に 48 時間放置した。含水量は 65.6% であった。

4. 酸化油と皮粉のインキュベーション 含水量 18% に換算して 2 g の皮粉を 50 ml 三角フラスコにとり, 酸化油溶液 20 ml (油分として 2 g 含有) を加え, 窒素置換により酸素を除去, 密栓して 40°C の定温室中に所定時間放置した。

5. 溶脱窒素と過酸化物の定量 皮粉は酸化油とインキュベートした後, *n*-ヘキサン (酸化タラ油の場合) またはエチルアルコール (タラ油酸の場合) を用いて過剰の酸化油を除去し, 乾燥後さらにエチルエーテルで完全に脱脂してから, 前報⁽¹⁾に記載した方法で酸混合液 (硫酸 0.2N, 酢酸ナトリウム 0.1M を含む) による溶脱窒素量を測定した。反応前後の酸化油溶液の一部を採取し, 前報⁽²⁾に記載したごとく過酸化物量を測定した。

5. アミノ酸組成の分析 生皮粉または油なめし後の皮粉 10 mg を 6N 塩酸を用い 110°C, 24 時間加水分解した後, 常法どおりアミノ酸自動分析装置を使用してアミノ酸組成を分析した。

結果および考察

1. 皮粉の水分が酸化油との反応におよぼす影響

タラ油をガラスビーズ上で 3 日間酸化させ (過酸化物量 2225 meq/kg となった), その *n*-ヘキサン溶液中に皮粉を 24 時間インキュベートした。この実験を含水量 10.6%, 18.1%, 25.9%, 32.0% および 65.6%^{*} の 6 種の皮粉を用いて行なった。この後, 皮粉の溶脱窒素量を測定した。結果を Fig. 1 に示す。含水量 32% 以下のとき水分が多いほど溶脱窒素量は少なくなった。これは酸化油中に蓄積されたタラ油の酸化生成物が, 水分のなんらかの関与のもとに皮と反応して, なめし効果をもたらすことを意味する。含水量 65.6% のときに溶脱窒素量がふたたび多くなるのは, 水分が過剰になって酸化生成物と皮たん白質との接触が少なくなるためと考えられる。皮粉をインキュベートした後の酸化油の過酸化物量は, 水分 10.6% の皮粉: 1565 meq/kg, 18.1%: 1524 meq/kg, 25.9%: 1488 meq/kg, 32.0%: 1405 meq/kg, 65.6%:

Fig. 1. Influence of Moisture Content of Hide upon the Reaction between Oxidized Oil and Hide.

Cod oil was oxidized on glass beads for 3 days. It was then incubated with hide powder in *n*-hexane medium and N_2 atmosphere. The solubilized nitrogen quantity of hide was measured after the incubation.

* 含水量 65.6% 程度以下の皮粉であれば, 溶剤をはじいて不均一な反応になるような傾向は外見上認められなかった。

1427 meq/kg となり, 水分 10.6% のとき過酸化物の減少が最も少なく, 水分 32.0% のとき最大であった。このことは, なめし反応に過酸化物が関与する可能性を示唆している。

水分 32% のとき, なめし効果が最大となることを認めたので, 以下の実験では皮粉の水分は RH 100% で 48 時間保持して水分約 32% のものを調製し, 以後の実験に使用した。

2. 酸化油中の過酸化物量となめし効果との関係

酸化しないタラ油を対照として酸化日数を 1, 2, 3, 4, 6, 8 日のように変化させて酸化タラ油を調製し, 皮粉と 24 時間反応させた。調製した酸化油の過酸化物量と反応後の皮粉の溶脱窒素量を Fig. 2 に示す。過酸化物は酸化日数 1 日のときはほとんど変化せず, 以後急激に増加, 3 日で最高値を示した。溶脱窒素量は酸化日数が 1 日以下のとき 100% に近く, 日数が長くなると急激に低下したが 4 日以上になるとふたたび上昇した。酸化日数による過酸化物と溶脱窒素の量的変化のパターンは非常に良く似ている。したがって過酸化物が, なめし反応に密接な関係があることは明らかである。

3. タラ油酸の過酸化物量となめし効果との関係

タラ油の酸化日数が 6 日以上に長くなると, *n*-ヘキサンに溶解しにくい成分がわずかに生成することが認められた。この成分はエチルアルコールを添加すると完全に

透明に溶解したので, 脂肪酸の高度酸化物ではないかと考えた。そこでタラ油をけん化して脂肪酸を分離し, 酸化しないタラ油酸を対照として前記と同様に酸化日数を 1, 2, 13, 15 日のように変化させて酸化タラ油酸を調製した。これらは, 酸化日数が長くてもエチルアルコールに完全に溶解した。調製した酸化タラ油酸の過酸化物量を Fig. 3 の B に示す。タラ油よりも酸化速度が速く, 1 日で過酸化物は最高値となり以後減少した。これらの酸化タラ油酸のエチルアルコール溶液中で皮粉を 24 時間インキュベートし, 溶脱窒素量を測定した。結果を同じく Fig. 3 の A に示す。過酸化物と溶脱窒素の間の量的関係は, タラ油酸においてもタラ油と類似のパターンを示した。

4. 酸化油中の過酸化物と皮粉との反応

過酸化物の蓄積量となめし効果との関係からみて, 酸化油中の過酸化物が皮粉と反応して, なめし効果を生ずるというメカニズムの存在が考えられる⁽⁹⁾。

まずガラスビーズ上で 3 日間酸化して過酸化物量 1097 meq/kg の酸化タラ油を調製した。これを *n*-ヘキサンに溶解し, 水分 32% の皮粉を加えて 0, 16, 48 および 72 時間のように時間を変化させてインキュベートした。この後, 溶脱窒素量を測定した。結果を Fig. 4 に示す。溶脱窒素量は接触時間にもなって低下し, 特に 48 時間までの低下が著しい。反応液中に残存する過酸化物

Fig. 2. Relation between Peroxide Content of Oil and its Tanning Ability.

B ○ peroxide content, A ● solubilized nitrogen quantity.

Cod oil was oxidized on glass beads, then incubated with hide powder in *n*-hexane medium and N_2 atmosphere. The solubilized nitrogen quantity was measured on the hide after the incubation.

Fig. 3. Relation between Peroxide Content of Cod Oil Acid and its Tanning Ability.

B ○ peroxide content, A ● solubilized nitrogen quantity.

Cod oil acid was oxidized on glass beads, then incubated with hide powder in *n*-hexane medium and N_2 atmosphere. The solubilized nitrogen quantity was measured on the hide after the incubation.

は、Fig. 5 の曲線 A に示すごとく時間とともに減少した。過酸化物の自己分解速度をしらべるため、皮粉を添加せずに酸化油溶液のみを同条件で放置し残存量を測定した。結果を Fig. 5 の曲線 B に示す。曲線 A と B の差は、過酸化物が皮粉と反応したための減少量であるとみ

Fig. 4. Reaction between Hide and Oxidized Oil (1).

Cod oil was oxidized on glass beads for 3 days, then incubated with hide powder in *n*-hexane medium and N_2 atmosphere for varying periods. Hide after the incubation was measured for solubilized nitrogen quantity.

Fig. 5. Reaction between Hide and Oxidized Oil (2).

Cod oil was oxidized and incubated with hide powder under the condition as shown in Fig. 4. A part of the oxidized oil was incubated without hide powder at the same time. After incubation, the both kinds of incubation medium were determined for peroxide value of oil. ○ without hide, ● with hide, ● difference.

なせる (これを曲線 C で示す)。この仮定にしたがうと、反応量は 16 時間後は増加していない。しかし過酸化物の自己分解速度は、そのときの残存量に依存するから、皮粉との反応が 16 時間後に停止したとすると、その後は、残存量約 750 meq/kg のときの自己分解速度、すなわち曲線 B の 48 時間と 72 時間の間の傾斜に沿って残存量が低下するはずである。これを図示すると Fig. 5 の破線 D になる。現実の残存量が破線より下まわっていることは、16 時間後もなお反応が継続していることを意味する。かくして過酸化物と皮粉との真の反応量は Fig. 5 の点線 E のごとくになり、溶脱窒素の低下のパターンと一致する。したがって油の過酸化物と皮との直接反応も、油なめし反応のメカニズムの 1 つとして考えるべきである。

5. なめし皮粉のアミノ酸組成

タラ油の酸化生成物と皮粉との反応が不可逆的な化学結合を含むものであれば、通常の酸分解で回収されるアミノ酸の量が減少するはずである。したがってアミノ酸組成の分析結果から、反応の性格を推測できる可能性が

Table I. Change in Amino Acid Composition of Hide after the Oil Tanning

Amino acid	Raw hide (mole %)*	Oil tanned hide** (mole %)*	Rate of remaining (%)
Hyl	1.09	0.77	71
Lys	4.53	2.89	64
His	0.76	0.44	58
NH ₃	6.75	4.34	64
Arg	5.24	4.26	81
Hypro	8.12	8.09	100
Asp	2.76	2.60	94
Thr	1.84	1.42	77
Ser	3.98	2.89	73
Glu	7.86	6.55	83
Pro	10.23	9.50	93
Gly	28.27	30.26	107
Ala	9.38	9.89	105
Cys	0.14	0	0
Val	2.54	1.93	77
Met	0.18	0.54	300
Ileu	1.36	0.81	60
Leu	2.48	2.54	102
Tyr	0.15	0.15	100
Phe	1.28	1.06	83
Total	98.9	90.9	92

* based on nitrogen content.

** Hide powder mixed with cod oil was kept in damp oven at 40°C for days.

ある。

皮粉 2g とタラ油 2g を混合し、水蒸気で飽和した 40 °C の定温室中に 4 日間放置したのち過剰の油分を洗浄除去し、溶脱窒素量 8.8%, 結合油分 8.3% のなめし皮粉を得た。この皮粉および生皮粉のアミノ酸組成を分析し、結果を Table I に示す。全アミノ酸量の回収率は全窒素量に対し生皮粉 98.9% であったが、なめし皮粉は 90.9% で油なめしによる減少率は 8% であった。これは皮粉とタラ油の酸化生成物とが、不可逆的に結合したためと考えられる。油なめし後の残存率が 90% 以上のアミノ酸は L-オキシプロリン, L-アスパラギン酸, L-プロリン, グリシン, L-アラニン, L-メチオニン*, L-ロイシン, L-チロシンで、これらのアミノ酸残基は反応に関与していないものと考えられる。他のアミノ酸残基はいずれも減少しているので、反応にあずかるアミノ酸残基を特定することはできないが、特に減少率の大きな L-オキシリジン, L-リジン, L-ヒスチジン, L-セリン, L-イソロイシンなどの役割が注目される。

要 約

あらかじめ空気中で自動酸化させて得た酸化タラ油ま

* メチオニンの残存率300%という値は、もともと存在量が少ないための分析誤差によるものと考えられる。

たは酸化タラ油酸は、窒素置換した溶剤中で適量の水分を含んだ皮粉と接触することにより、顕著ななめし効果を示した。その効果は油の酸化日数ではなく、皮粉と接触するときの過酸化物の蓄積量に依存することを認めた。酸化油中の過酸化物は皮粉との接触時間にもなって減少し、これと対応してなめし効果は時間とともに上昇した。これらの事実から油なめし反応のメカニズムの 1 つとして、過酸化物と皮粉との直接反応の存在が考えられる。油なめし皮粉のアミノ酸組成は、生皮粉にくらべ塩基性アミノ酸, L-セリン, L-イソロイシンが特に少ない。油なめしの過程で酸化油と皮とが反応するとき、これらのアミノ酸残基が関与する可能性がある。

本研究の内容は、昭和 48 年度日本畜産学大会において講演した。

- (1) 白井邦郎, 岡村 浩: 農化, 47, 681 (1973).
- (2) 白井邦郎, 岡村 浩: 農化, 47, 687 (1973).
- (3) 清水 誠, 久保田稔, 河合利雄: 工化, 56, 369 (1953).
- (4) 清水 誠, 久保田稔: 同上, 56, 420 (1953).
- (5) 清水 誠, 久保田稔: 同上, 56, 493 (1953).
- (6) F. O'Flaherty, W. T. Roday and R. M. Loller: "The Chemistry and Technology of Leather," Vol. II, Reinhold Publishing Corp., New York, 1958, p. 426.