

【研究報告】

オゾン化植物油の医療・環境分野における利用に関する基礎的検討

中室克彦,坂崎文俊,奥野智史,上野仁,西正敏,淵上義文

日本医療・環境オゾン研究会会報, Vol.11, No.1, 3-8. (2004)

オゾン化植物油の医療・環境分野における利用に関する 基礎的検討

摂南大学薬学部 中室克彦、坂崎文俊、奥野智史、上野 仁、西 正敏
(株)カンキ 淵上義文

要旨 オゾン化オリーブ油は医療分野において利用されており、褥そう、潰瘍などの皮膚疾患に有効であることが報告されている。オゾン化植物油の医療および環境分野における有効利用の観点から、各種オゾン化植物油の酸化力およびその安定性を検討した。オゾン処理した植物油の酸化力はオレイン酸の含有量に依存しており、オリーブ油>アーモンド油>カカオ脂の順で強かった。オゾン化オリーブ油の酸化力は約100日間ほとんど変化しなかったが、その後、経時的に低下して約200日後には消失した。オゾン化オリーブ油の酸化力は、オゾン処理によって生成したオゾニド以外のオゾン酸化生成物も寄与していることが示唆された。

キーワード：オゾン化オリーブ油、オゾン化オレイン酸、酸化力、安定性、NMRスペクトル

1. はじめに

強い酸化力や殺菌力を有するオゾンは多方面で利用されている。たとえば、環境分野におけるオゾンの大規模利用として、脱色、脱臭および難分解性有機物の分解を目的としたオゾン処理が浄水処理、下水処理、し尿処理あるいは工場排水処理過程に導入されている^{1,2)}。一方、近年、医療施設、ホテルおよび一般家庭などの居住空間あるいは自動車の車内の殺菌、消臭および空気清浄などを目的としたオゾンの小規模利用も普及しつつある^{1,2)}。

医療分野におけるオゾンの利用法としてオゾン療法があり、ヨーロッパのドイツやイタリアにおいて盛んに行われている³⁾。オゾン療法の一つである自家血液療法は、患者から採血した血液に少量のオゾンガスを接触させ、オゾンは一瞬にして消失するが、その血液を体内に戻す方法である。この自家血液療法では、血液中に存在する免疫担当細胞は *in vitro* でオゾンによる生成物質の刺激を受け、引き続き種々のサイトカイン類を産生するといわれている。このサイトカイン類は輸血によって体内で増加し、このことによって、生体内における免疫機能が高まり、肝炎など種々の疾患が治癒する方向に働くことが判明している。自家血液療法以外にも腸管注入法、皮下注射、筋肉注射あるいはオゾンガス浴療法など種々の方法があり、これらは肝炎、リウマチ、糖尿病、腸炎あるいは火傷などに有効であることが報告されている。オゾン療法以外にも医療分野でオゾンはオゾン化植物油の調製に利用されている。オゾン化植物油は植物油をオゾン処理することによって得られ、オゾン化オリーブ油がその代表的なものである。オゾン化オリーブ油は主に褥そうや潰瘍などの皮膚疾患に外用剤として用いられており、わが国においてもその有効性がいくつか報告されている^{4,5)}。

そこで今回、オゾンの医療および環境分野における利用の観点から、種々のオゾン化植物油の酸化力ならびに酸化力の経日変化について検討した。また、¹Hおよび¹³C核磁気共鳴 (NMR) を用いてオゾン化オリーブ油の構造変化についても解析を行った。

2. 実験方法

2.1 植物油

植物油として、炭素-炭素二重結合を1つ有するオレイン酸 ($C_{18}\Delta^9$) の含有量が高いオリーブ油、アーモンド油およびカカオ脂を用いた。オレイン酸の含有量はオリーブ油が85%、アーモンド油が80%およびカカオ脂が35%である。また、植物油の主な構成成分としてオレイン酸およびオレイン酸エチルを用いた。いずれも和光純薬工業(株)製のものである。

2.2 オゾン化植物油の調製

植物油100 mLを洗気瓶に入れ、20 mg O_3/L のオゾン-酸素混合ガスを、酸素流量 0.5 L O_2/min の一定条件で約30時間通気し、オゾン化植物油を調製した。

2.3 ヨウ素滴定法による酸化力の測定⁶⁾

共栓三角フラスコにオゾン化植物油 2 g を正確にはかり、メタノール 2.5 mL、水 27.5 mL、10% 硫酸 0.5

mLおよび1 mol/Lヨウ化カリウム (KI) 0.5 mLを加えて密栓し、55℃水浴中で6もしくは30分間攪拌しながら加温した。その後、でんぷん試薬を指示薬として0.025 mol/Lチオ硫酸ナトリウムで滴定し、以下の計算式からKI酸化性物質量をオゾン量として算出した。ここでは、得られたKI酸化性物質量を酸化力とした。

$$\text{オゾン量 (O}_3\text{ mg/g)} = 0.6 \times A / B$$

ただし、 A : 0.025 mol/Lチオ硫酸ナトリウムの滴定量 (mL)

B : オゾン化植物油の量 (g)

0.6 : 0.025 mol/Lチオ硫酸ナトリウム 1 mLに対応する酸素量 (mg)

2. 4 NMRによるオゾン化植物油の構造解析

¹Hおよび¹³C核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは GE Omega 600 NMR spectrometer (General Electric Co., USA) を用いて測定した。オゾン化オレイン酸の一定量を重クロロホルム (CDCl₃) 0.5 mLに溶解したものを測定用試料とした。なお、テトラメチルシラン (TMS) を基準物質として用いた。

3. 結果ならびに考察

3. 1 各種オゾン化油の酸化力の相違

オゾン処理したオリーブ油、カカオ脂およびアーモンド油の一定量を用いて酸化力を比較した。表1に示すように、オゾン化植物油の酸化力はオレイン酸の含有量が最も多いオリーブ油で最も強く、ついでアーモンド油、カカオ脂の順であった。一方、オゾン化オレイン酸およびオゾン化オレイン酸エチルの酸化力はそれぞれ3.0および1.2 mg/gであり、いずれも強い酸化力を有することが明らかとなった。これらの結果から、今回用いたオゾン化植物油の酸化力はオレイン酸あるいはその類縁化合物のオゾン化に起因しており、酸化力の強さは植物油に含まれるオレイン酸あるいはその類縁化合物の量に依存することが示唆された。

表1 各種オゾン化植物油の酸化力の比較

植物油の名称	酸化力* (O ₃ mg/g)	オレイン酸含有量 (%)
オリーブ油	2.1	85
アーモンド油	1.1	80
カカオ脂	0.6	35

*55℃水浴中で30分間加温

表2 各種添加剤共存下で調製したオゾン化オレイン酸の酸化力の比較

添加剤	酸化力* (O ₃ mg/g)	比
なし	3.0	1.0
シリカゲル (10%)	1.4	0.5
水含有シリカゲル (粉末 10%)	4.2	1.4
水含有シリカゲル (粉末 20%)	4.2	1.4
水含有シリカゲル (粒状 10%)	5.4	1.8
グリセロール (10%)	1.4	0.5
白色ワセリン (10%)	1.4	0.5
ケイ酸ナトリウム (10%)	0.2	0.1

*55℃水浴中で30分間加温

さらに、添加剤としてシリカゲル、水含有シリカゲル、グリセリン、白色ワセリンおよびケイ酸ナトリウムを共存させ、調製したオゾン化オレイン酸の酸化力を比較した。表2に示すように、シリカゲル、グリセリン、白色ワセリンおよびケイ酸ナトリウムを添加してもオゾン化オレイン酸の酸化力増強効果は認められなかった。しかしながら、オゾン化オレイン酸の酸化力は水含有シリカゲルを添加することによって増強され、その効果は粉末の水含有シリカゲルよりも粒状の水含有シリカゲルを用いた方が高いことが認められた。これらのことから、オゾン化オレイン酸の酸化力を増強させるためには水含有シリカゲルを共存させてオゾン処理を行うことが有効であると考えられた。

3. 2 オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸の酸化力の安定性

今回検討したオゾン化植物油で最も酸化力が強かったオゾン化オリーブ油ならびにその主な構成成分であるオレイン酸を用いて調製したオゾン化オレイン酸に着目し、経日的な酸化力の変化からその安定性を検討した。

図1に示すように、ヨウ素滴定法で測定されたオゾン化オリーブ油の酸化力は冷蔵保存でオゾン処理後120日間にわたり保持されていたが、その後、経日的に低下し、保存220日後にはほぼ消失した。オゾン化オリーブ油の酸化力は、室温保存に比べて冷蔵保存で長く保持される傾向が認められた。さらに、図2に示すように、オゾン化オレイン酸においてもほぼ同様の結果が得られた。

3.3 NMRによるオゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸の構造変化の解析

オリーブ油およびオレイン酸のオゾン処理前後ならびにオゾン処理後約200日間室温で保存したものにおける分子構造の違いを明らかにするため、 ^1H および ^{13}C NMRによる解析を行った。

オリーブ油の ^1H NMRでは、図3 (A) に示すように、 $-\text{HC}=\text{CH}-$ および $-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ に起因するプロトンシグナル (**H**) がそれぞれ5.35および2.00 ppmに検出された。しかしながら、これらシグナルはオリーブ油をオゾン処理することによって消失し、保存200日後のものでも認められなかった。また、オゾン化したオリーブ油では新たに5.13 および5.18 ppm付近にプロトンシグナルが出現した。さらに、オリーブ油の ^{13}C NMRでは、図3 (B) に示すように、128 ppmにオレフィン炭素 ($-\text{HC}=\text{CH}-$) に起因するシグナルが確認されたが、オゾン処理によってこのシグナルは完全に消失し、104 ppmに新たなシグナルが検出された。この新たに出現した104 ppmのシグナルは保存200日後のものでも消失しないことが認められた。一方、図4 (A) に示すように、オレイン酸の場合もオリーブ油と同様、 ^1H NMRでは $-\text{HC}=\text{CH}-$ および $-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ に起因するプロトンシグナルがオゾン処理によって消失することが認められた。また、オゾン化したオレイン酸でも5.13および5.18 ppmに新たなプロトンシグナルが認められた。図4 (B) に示す ^{13}C NMRにおいてもオゾン化オレイン酸では128 ppmのオレフィン炭素シグナルが消失するとともに、新たな炭素由来のシグナルが104 ppmに出現することが確認された。

WuらはNMRを用いたオゾン化されたオレイン酸メチルの解析で、104 ppm付近の炭素シグナルならびに5.13および5.18 ppmの2つのプロトンシグナルがオゾンに由来することを報告している⁷⁾。今回行ったオゾン化したオリーブ油およびオレイン酸のNMR解析においてオゾン化オレイン酸メチルとほぼ同じ δ 値にプロトンシグナルおよび炭素シグナルが認められたことから、オゾン化オリーブ油やオゾン化オレイン酸にもオゾンが存在することが示唆された。さらに、MiuraらはNMR、IRおよびUVを用いた解析から、オゾン化したオリーブ油の主な成分はトリオレイントリオゾンであることを報告している⁸⁾。これらのことから、オリーブ油およびオレイン酸をオゾン化することによって生成したオゾニドは、トリオレイントリオゾンあるいはオレイン酸オゾンである可能性が考えられた。さらに、これらのオゾニドは、少なくともオゾン化植物油の調製後200日間は室温保存で残存することが明らかとなった。

ところで、オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸の酸化力はオゾン処理後約200日間でほぼ消失したことから、今回同定されたオゾン以外のオゾン酸化生成物がヨウ素滴定法で測定された酸化力に寄与している可能性が示唆された。今後、オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸に存在するオゾン酸化生成物を同定ならびに定量し、オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸の酸化力との関連性を詳細に検討する必要があると考える。

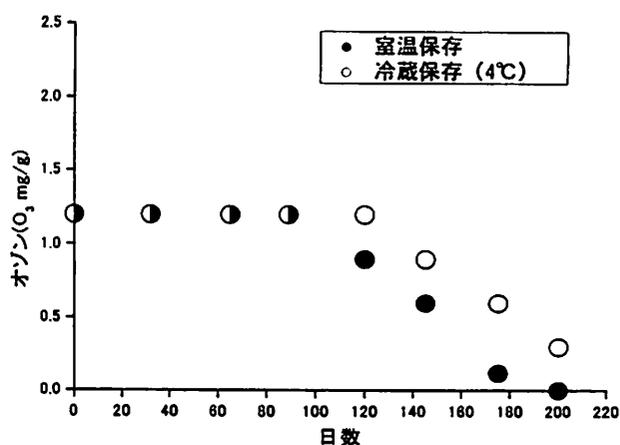


図1 オゾン化オリーブ油の酸化力の経日変化
*55℃水浴中で6分間加熱

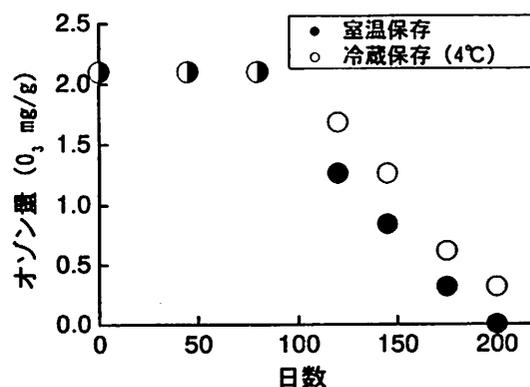


図2 オゾン化オレイン酸の酸化力の経日変化
*55℃水浴中で6分間加熱

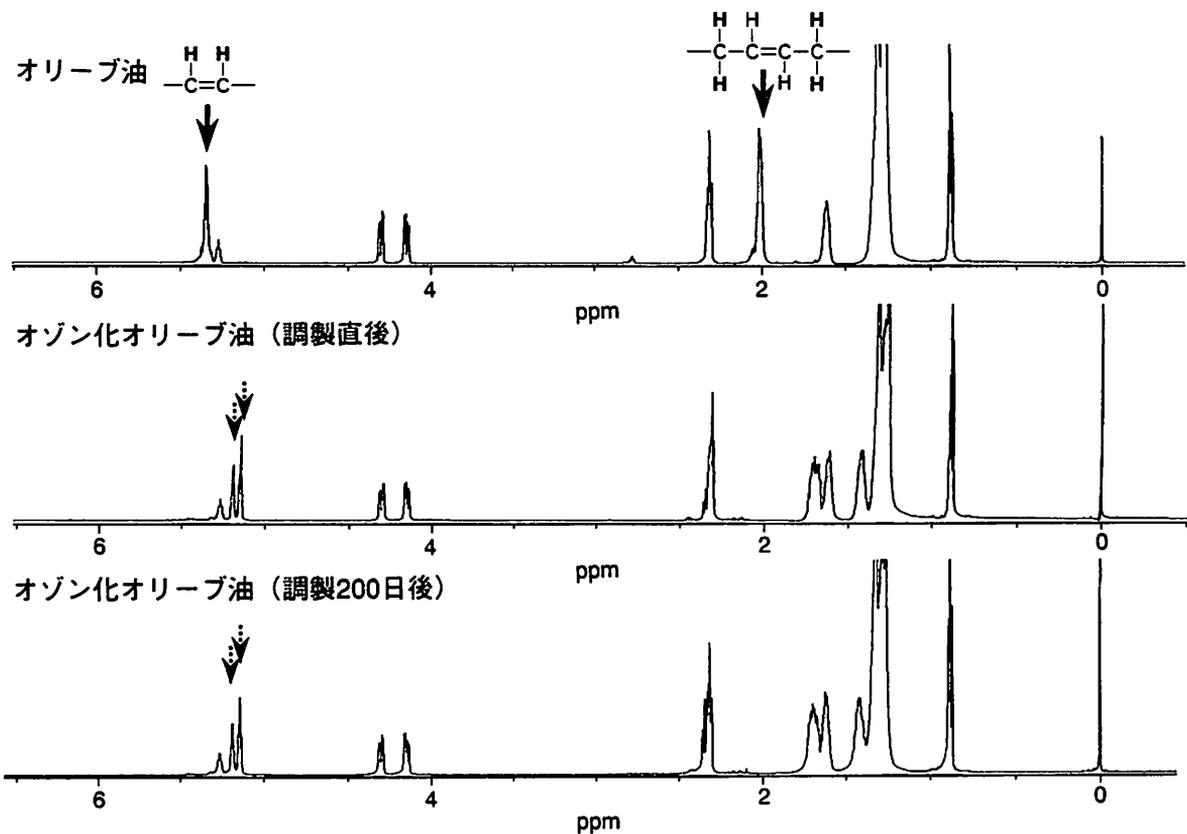


図 3 (A) オリーブ油とオゾン化オリーブ油の ^1H NMRスペクトル

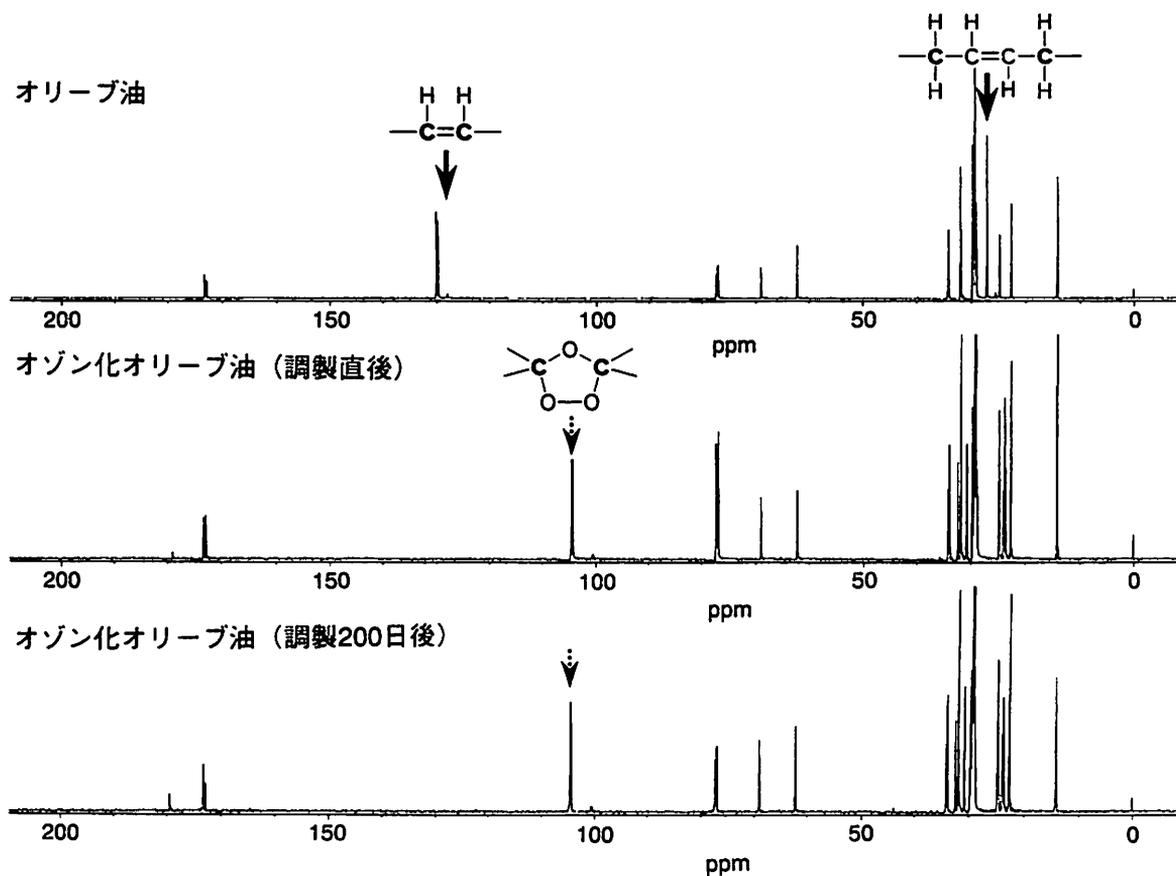


図 3 (B) オリーブ油とオゾン化オリーブ油の ^{13}C NMRスペクトル

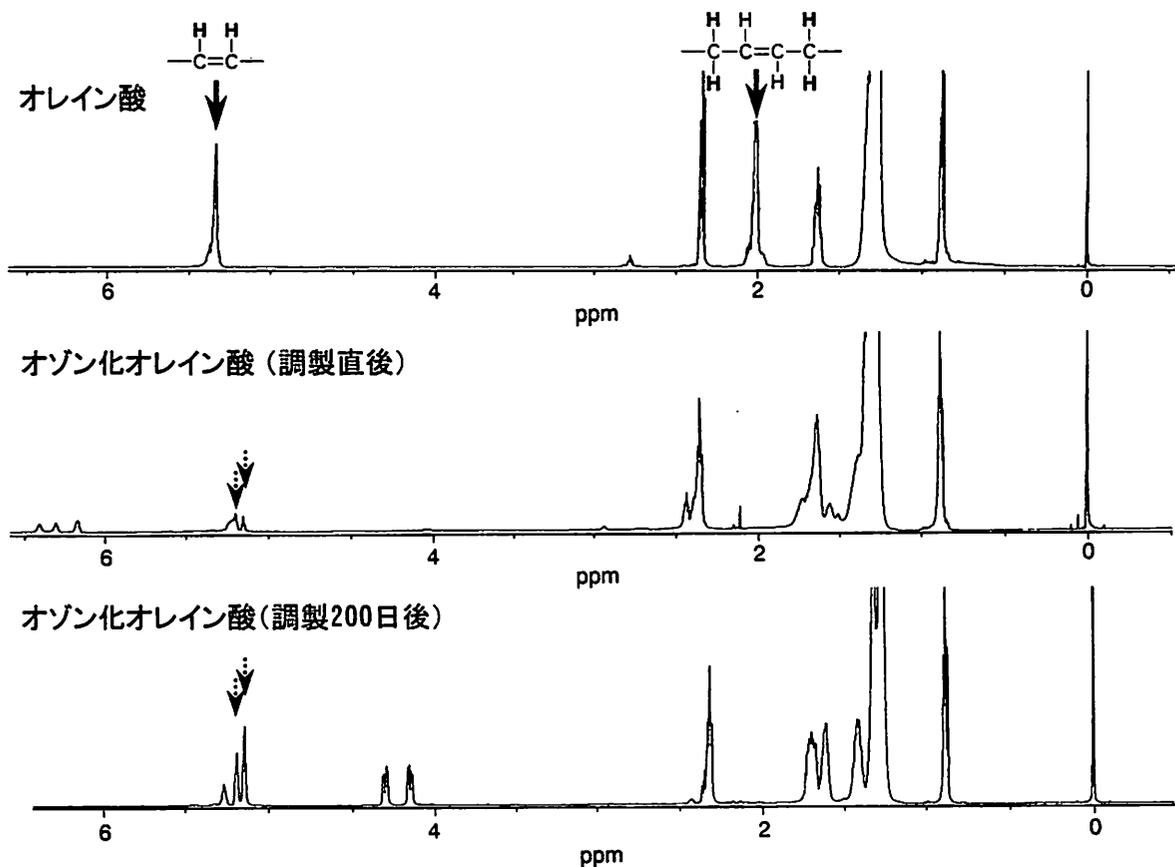


図 4 (A) オレイン酸とオゾン化オレイン酸の¹H NMRスペクトル

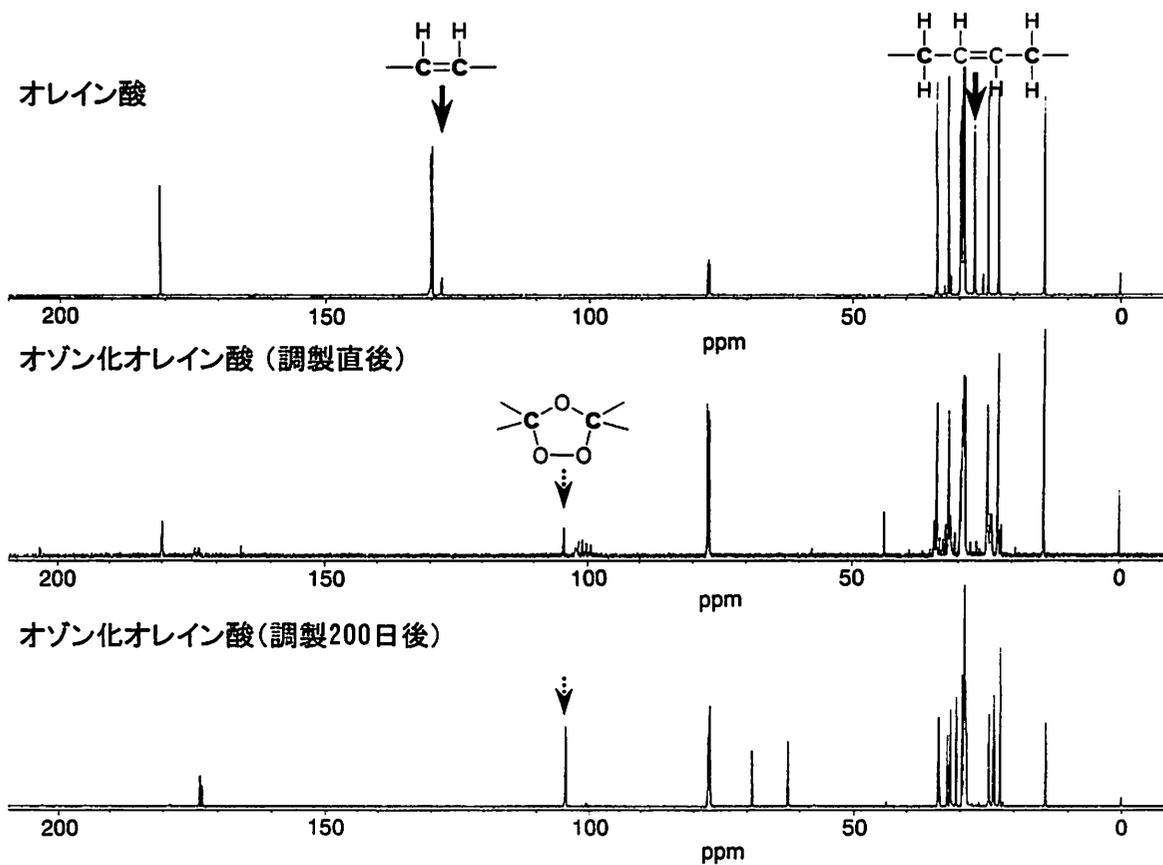


図 4 (B) オレイン酸とオゾン化オレイン酸の¹³C NMRスペクトル

4. まとめ

医療および環境分野におけるオゾン化植物油の利用に関する基礎的研究として、各種オゾン化植物油の酸化力および安定性などについて検討した結果、以下の結論を導きうるものとする。

- 1) オゾン化植物油の酸化力の強さは、オゾン化オリーブ油>アーモンド油>カカオ脂の順であり、これは植物油に含まれるオレイン酸量に依存していることが考えられた。さらに、水含有シリカゲル共存下でオレイン酸をオゾン処理したときの酸化力は、オレイン酸単独でオゾン処理した場合に比べて1.4~1.8倍増強されることが明らかとなった。
- 2) オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸の酸化力は、室温保存に比べて冷蔵保存の方がやや安定であった。ヨウ素滴定法で測定された酸化力はいずれも冷蔵保存で約100日間ほぼ一定であったが、その後、経日的に低下して約200日後には消失することが明らかとなった。
- 3) オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸にはトリオレイントリオゾニドやオレイン酸オゾニドのようなオゾニドの存在することが示唆された。また、室温で200日間保存したのものになおオゾニドの性状を有するものが存在することが明らかとなった。
- 4) オゾン化オリーブ油およびオゾン化オレイン酸のヨウ素滴定法で測定される酸化力には、オゾニドよりもむしろ他のオゾン酸化生成物の寄与が大きいことが示唆された。

5. 引用文献

- 1) 宗宮 功 (1993) 「新版オゾン利用の新技术」 pp. 697, サンユースタッフ, 横浜.
- 2) 杉光英俊 (1996) 「オゾンの基礎と応用」 pp.213-238, 光琳, 東京.
- 3) 日本医療・環境オゾン研究会 (2002) 「ヨーロッパにおける最新のオゾン療法」 日本医療・環境オゾン研究会, 大阪.
- 4) 松本日洋, 桜井正太郎, 神力就子, 鈴木 滋, 三浦敏明 (2000) 外科手術後の難治瘻孔・難治創に対するオゾン化オイルの治療効果, 日本臨床外科学会誌, 60, 1383-1389.
- 5) 桜井正太郎 (2001) オゾン化油の臨床使用実績について, 日本医療・環境オゾン研究会会報, 8, 12-19.
- 6) Greenberg AE, Clesceri LS and Eaton AD (1992) Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th edition, 2-42, American Public Health Association, Washington, DC.
- 7) Wu M., Church D.F., Mahier T.J., Barker S.A. and Pryor W.A.: Separation and spectral data of the six isomeric ozonides from methyl oleate. Lipids, 27: 129-135, 1992.
- 8) Miura T., Suzuki S., Sakurai S., Matsumoto A. and Shinriki N.: Structure elucidation of ozonated olive oil. International Ozone Association, Proceedings of the 15th Ozone World Congress LONDON 2001, Medical Therapy Conference: pp. 72-76.

文献紹介

各種疾病に対するオゾン療法

(1) 感染症 — その2 ヘリコバクター・ピロリ、風邪 —

Velio Bocci

Oxygen-Ozone Therapy – A Critical Evaluation –

Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London

摂南大学薬学部 中室克彦、坂崎文俊

要旨 「Oxygen-Ozone Therapy (酸素-オゾン療法)」 (Bocci著)の第24章において疾患別のオゾン療法の適用例が記されている。前回は感染症のうちの化膿について述べた。今回は感染症のうちヘリコバクター・ピロリが関連する疾患および風邪についてオゾン水あるいはオゾン化オイルの適用例について述べる。

キーワード：オゾン/酸素療法、ヘリコバクター・ピロリ、風邪、オゾン水、オゾン化オイル

1. ヘリコバクター・ピロリが関連する疾患

ヘリコバクター・ピロリはグラム陰性菌の好気性菌で、子供の頃に胃に50~80%はすでに感染しており、一生残る細菌である。これは消化性潰瘍、慢性胃炎を起こすほか、胃がんや胃Bリンパ腫の原因である可