報 文

重合油の構造と栄養価に関する研究 (第4報)

熱酸化重合油有毒区分投与白ネズミの
排泄フン中油の毒性について

大 藤 武 彦・金 田 尚 志

東北大学農学部食糧化学科 (仙台市堤通雨宮町)

Relationship between the Nutritive Value and the Structure
of Polymerized Oils. IV.

Toxicity of Fecal Lipids Separated from Rats Fed Thermally Oxidized Oil to Mice

Takehiko OHFUJI and Takashi KANEDA

Department of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University
(Tsutsumidori-Amamiya-machi, Sendai)

In the previous paper¹⁾, the authors reported that more than 55% of the toxic fraction separated from thermally oxidized oil was absorbed through the intestine of rats. The present study is for investigation of the structure and the behavior of this toxic fraction in rats.

The toxic fraction prepared from the thermally oxidized soybean oil by chromatography on silicic acid column as described previously¹⁾, was fed to rats for 2 weeks. The feces were collected, and the fecal lipids were extracted and fractionated by column chromatography. For comparison of the toxicity, each fraction thus obtained and the toxic fraction of original polymerized oils were orally administered to mice.

The toxic components derived from the fecal lipids which were eluted into the diethyl ether fraction from silicic acid column, were comparable to dimer of triglycerides in molecular weight, and more toxic than that of the toxic fraction of original polymerized oil. Chromatographic behavior, molecular weight, and the toxicity of the fecal lipids seem to indicate that at least a part of toxic components in the thermally oxidized oil undergoes little change in the body of rat and is excreted in the feces.

1 緒 言

著者らは、前報¹⁾において、熱酸化重合油の有毒区分 (分子量 2,000 前後の高分子成分) は 55% 以上体内へ吸収されることを認めた。

今回は、この有毒成分の生体における挙動を調べる一手段として、熱酸化重合油の有毒成分をラットに投与し、その排泄フン (糞) 中の脂質組成とその毒性とをもとの油と比較することにより、有毒区分中のいかなる成分が生体内に吸収され熱酸化重合油の有毒性に関与したかを調べ、また、グリセリドダイマーやトリマー程度の成分を含む有毒区分がどの程度まで分解を受けるかを検

討したので、これらの結果を報告する。

2 実験ならびに結果

2.1 試料油の調製

大豆白絞油 3 l を 185°C で、50, 70, 90 hr, 乾燥空気 0.8~1.2 l/min を通じつつ加熱し、熱酸化重合油を製造した。

さらに、これらの重合油の一部を、前報¹⁾ 同様ケイ酸カラムクロマトグラフィーを用い有毒区分を分取した。すなわち、試料 1 g に対しケイ酸 15 g を用い、60% イソプロピルエーテル含有 *n*-ヘキサン (60% IPE-HEX) ならびにエチルエーテル (EE) で溶出し、第3報¹⁾ で示

した、第Ⅱ'区分、第Ⅲ区分(有毒区分)を得、第Ⅲ区分はつぎの試験に供するまで窒素を充てんしフリーザーに保存した。なお、グリセリドダイマー以下の成分を多く含み、栄養的にとくに障害を示さない第Ⅱ'区分は本実験に使用しなかった。

各試料油の第Ⅲ区分含量ならびに平均分子量は Table-1 のとおりである。

Table-1 Mean molecular weight (M.M.W.) of thermally oxidized oils and of fraction III*.

Sample oils	M.M.W.	Fraction III*	
		Yield (%)	M.M.W.
Fresh oil	870	—	—
Heated oil A** (50 hr)	1,540	18.0	2,780
Heated oil B** (70 hr)	1,670	25.5	2,810
Heated oil C** (90 hr)	1,820	34.0	2,870

* Prepared in the same way as reported previously (T. OHFUJI *et al.*, *Yukagaku*, **19**, 887 (1970))

** Thermally oxidized oil heated for respective hours in parentheses

2.2 動物試験

熱酸化重合油中に生ずる有毒成分(第Ⅲ区分)の生体内での挙動を調べるため、動物試験を行なった。すなわち、予備飼育後、上記のように調製した各試料油およびその第Ⅲ区分と未加熱油を基礎飼料に 5% ずつ添加し、Table-2 のような飼料組成でウイスター系白ネズミ(1 群、雌 6 匹)に制限食で 2 週間飼育した。なお、予備飼育は 1 週間、固形飼料を用い、制限食で飼育した後、本試験前日、1 日間絶食させた。

試験期間中、フンを採取し、エタノールにつけておき、クロロホルム:メタノール(2:1)混液で脂質を抽出し、充分水洗した後、エチルエーテルで再抽出、フン中油を得、つぎの実験に供した。

各試料油の栄養価の相違は、ネズミの状態を観察するとともに体重増加量を比較した。また、試験終了後、ネズミはただちにト殺し、肝重を測定し、体重に対する肝重の割合を求めた。

Table-2 Composition of diets.

Sample oil	5%
Starch	61
Casein	23
McCullum salt	5
Brewer's yeast	6
Vitamin A	10 IU/day, rat

動物試験の結果は Table-3 のとおりである。加熱油において、加熱時間が増すにつれ栄養価が低下し、体重に対する肝重が増加し、見掛けの消化率は減少した。し

かし、第Ⅲ区分投与群はもとの油に比べ、栄養低下が著しいにもかかわらず消化率はあまり差がなく、体内へ 67% 以上吸収されることを示した。このことは、加熱油そのままを投与し、摂取油脂と排泄フン中での有毒区分含量の変化より求めた前報の消化率¹⁾と一致するものであった。

また、加熱油を与えた白ネズミは、いずれも肛門の周囲がただれ、油の浸潤が見られたが、第Ⅲ区分投与群はもとの油ほどではなかった。

Table-3 Results of feeding experiments.

Sample oils	Weight gain (g)	Liver wt. Body wt. ×100	Digesti- bility (%)
Control*	5.7±0.12**	2.9±0.01**	97.3
Heated oil A	-14.6±0.14	3.7±0.01	78.2
Fr. III of heated oil A	-51.2±0.14	3.6±0.03	76.5
Heated oil B	-16.2±0.24	3.9±0.02	75.1
Fr. III of heated oil B	-51.8±0.10	3.3±0.01	74.6
Heated oil C	-22.1±0.18	4.1±0.11	71.2
Fr. III of heated oil C	-60.4±0.17	3.2±0.03	67.3

* Fresh oil

** Standard error of the mean

2.3 熱酸化重合油の有毒成分の生体中における挙動

熱酸化重合油の有毒成分が生体中でいかなる変化を受け、吸収され、また、排泄されるかを調べるため、熱酸化重合油第Ⅲ区分投与ラットの排泄フン脂質の毒性の程度とその構造とを検討し、投与油脂成分と比較した。

2.3.1 フン脂質の毒性試験 熱酸化重合油の第Ⅲ区分投与ラットの排泄したフンの脂質を、前回同様、ケイ酸カラムで第Ⅱ'区分、第Ⅲ区分に分別し、マウスに経口投与することによりフン脂質の毒性の程度を比較した。毒性試験法は前報²⁾に準じた。すなわち、オレイン酸メチルエステルで 50% 濃度に希釈した各分別フン脂質を、マウス体重(g)の 1/30~1/60 容量(ml)ずつ、ビニル製ストマックチューブを用いて S_M 系マウスに一回経口投与し、24 hr 後の死亡率を比較した。試験中は、固形飼料を自由に摂取させた。試験油は各第Ⅲ区分投与群フン脂質の第Ⅱ', 第Ⅲ区分を用い、同時に、毒性程度の比較対照として、70 hr 加熱油第Ⅲ区分も試験した。また、コントロールとして、新鮮油投与群フン脂質を使用した。

毒性試験の結果は Table-4 のとおりである。各フン脂質群とも、第Ⅱ'区分より第Ⅲ区分の方が毒性が強く、その毒性は 70 hr 加熱第Ⅲ区分以上に高い死亡率を示した。コントロール群もいくらかの死亡マウスが見られたがフン脂質第Ⅱ'区分ほどではなかった。

2.3.2 フン脂質のクロマト的組成とその構造的検討 第Ⅲ区分投与ラットの排泄したフン脂質が生体内でいかなる変化を受けているかを推定し、フン脂質の示す毒性

Table-4 Death-rate of mice by oral administration of the fecal lipids.

Administered Volume (ml)	No. of mouse for each group	Fecal lipids									Fr. III of heated oil B****
		Control*	Heated oil A		Heated oil B		Heated oil C		Total		
			Fr. II '**	Fr.III***	Fr. II '**	Fr.III***	Fr. II '**	Fr.III***	Fr. II '**	Fr.III***	
Body wt.(g)×1/60	4	0	1	4	0	3	0	2	1/12	9/12	0
Body wt.(g)×1/40	3	1	1	3	1	3	1	2	3/9	8/9	2
Body wt.(g)×1/30	3	1	2	3	2	3	2	3	6/9	9/9	3
No. of dead mice		2	4	10	3	9	3	7	10/30	26/30	5

* Fecal lipids of the rats fed on fresh oil

** Fraction eluted from silicic acid column with 60% isopropyl ether in *n*-hexan, in a chromatography of the fecal lipids of rats fed on respective heated oil

*** Fraction eluted from silicic acid column with diethyl ether in a chromatography of the fecal lipids of rats fed on respective heated oil

**** Original oil

成分の構造を検討するため、フン脂質をケイ酸カラムにより分別し、その収量と分子量ならびにスペクトル吸収を求めた。すなわち、フン脂質 1g に対しケイ酸 20g を用い、前回同様 60% IPE-HEX で溶出し第Ⅱ'区分を得た後、イソプロピルエーテル (IPE), エチルエーテル (EE), アセトン (AC) を順次流し IPE 区, EE 区, AC 区を得た。なお、その際の平均回収率は 89.9% であった。平均分子量は日立 115 型分子量測定装置を用いて測定した。

各フン脂質のケイ酸カラムによる分別の結果は **Table-5** のとおりである。投与油脂 (第Ⅲ区分) の分子量 2,700 程度の成分は見られず, 35% はジグリセリドの大きさであり, 45% 以上はグリセリドダイマー程度の分子量を示した。フン脂質中の, 強い毒性を示した第Ⅲ区分 (IPE, EE, AC 区分) は, 第Ⅱ'区分ほど低分子まで分解されずに残存したグリセリドダイマー程度の成分であることを認めた。第Ⅲ区分投与油脂量とフン脂質中の第Ⅲ区分含量から, 体内への吸収率を求めると, 50, 70, 90 hr 加熱油群, それぞれ 87.0, 86.3, 82.4% となり, 第Ⅲ区分の 82% 以上は生体内に移行していることを示した。また, 加熱時間が増すにつれフン脂質の IPE が増加し, EE 区が減少したが, とともに分子量は増加した。

また, 各試料油の赤外線吸収スペクトル測定の結果, 熱酸化重合油の有毒区分 (**Fig.-1**) にみられた 760,

Fig.-1 Infrared absorption spectra of fraction III separated from thermally oxidized oil heated for 70 hrs. **Fig.-2** Infrared absorption spectra of fraction II' and III separated from fecal lipids of rats fed thermally oxidized oil heated for 70 hrs.

830, 1,510 cm^{-1} 付近の特異的吸収は, 第Ⅲ区分投与ラットの排泄フン脂質中の第Ⅲ区分 (**Fig.-2**) にも強く現われ, また, 1,710, 3,400 cm^{-1} 付近の吸収も顕著になっていることが認められた。

3 考 察

以上の結果から考察するに, 熱酸化重合油の有毒成分を含む第Ⅲ区分は極性基の多い高分子区分であるが, 白ネズミ体内中ではか

Table-5 Fractionation of fecal lipids by silicic acid column chromatography.

Original oil fed to the rats	Yield (%) and molecular weight (M.W.)							
	II'		IPE		EE		AC	
	60% Isopropyl ether in hexan		Isopropyl ether		Diethyl ether		50% Aceton in ethanol	
M.W.	Yield (%)	M.W.	Yield (%)	M.W.	Yield (%)	M.W.	Yield (%)	M.W.
Fr. III of heated oil A : 2,780	35.0	477	10.4	1,980	39.4	1,391	5.4	—
Fr. III of heated oil B : 2,810	36.0	482	13.1	2,130	32.6	1,787	8.2	—
Fr. III of heated oil C : 2,870	35.3	565	15.8	2,380	30.8	1,903	7.1	—

なり消化吸収され、その吸収率は新鮮油に及ばないにしても、82% 以上にも達することが認められた。この高分子区分の生体内での挙動を考察するに、もし、吸収された高分子区分の酵素などによる分解の程度が、少なくとも排泄されたフン脂質以上に分解されていると考えるならば、高分子区分の 35% 以上はジグリセリド程度の低分子成分まで分解され吸収されたものと思われる。また、残りの成分においても、少なくともグリセリドダイマー以下にまで分解されたものと推定できる。さらに、この高分子区分（第Ⅲ区分）に含まれる熱酸化重合油の有毒成分に着目するならば、投与油脂の毒性の程度よりフン脂質の毒性の程度の方が高いことより、有毒成分の体内への吸収率は他の成分ほど良くないことが推定できる。また、投与油脂よりフン脂質の方が強い毒性を示すことと、IR スペクトラムにおいてみられた特異的吸収ならびに $1,710, 3,400 \text{ cm}^{-1}$ 付近の吸収の増加とが関連していることより、熱酸化重合油の有毒成分にはこれらのスペクトル吸収成分を含む可能性が強い。しかし、 $760, 830, 1,510 \text{ cm}^{-1}$ 付近にスペクトル吸収を持たないフン脂質の第Ⅱ' 区分群にもいくらかの死亡マウスを出したことは、前述のスペクトル吸収すべてが有毒成分に含まれているとは言えないだろう。それに、加熱油群のフン脂質第Ⅱ' 区分ばかりでなく、新鮮油投与群のフン脂質にも死亡マウスがみられることは、油脂がラット生体内で、酵素、微生物などによる種々の変化を生じ、有毒性を示す恐れもあるので、詳細にはさらに検討が必要と考

える。もし、生体中で微生物などの変化を受けず、酵素によるエステル結合の切断だけが起こればと考えるなら、熱酸化重合油の毒性は、フン脂質のグリセリドダイマー程度を含む第Ⅲ区分の有毒性と関連し、非常に興味深いことになるだろう。

熱酸化重合油の有毒成分の生体内での挙動についてはさらに有毒成分を濃縮して検討する必要がある。

4 摘 要

熱酸化重合油の有毒区分の生体中での挙動を調べるため動物試験を行ない、つぎの結果を得た。

- 1) 熱酸化重合油の有毒区分は 82% 以上、生体に消化吸収される。
- 2) グリセリドダイマーからトリマーの成分を持つ有毒区分も、体内では、その 35% 以上がジグリセリド程度まで分解され得る。
- 3) 有毒区分投与ラットの排泄したフン中脂質は有毒性を示し、その毒性の程度はもとよりも強かった。
- 4) フン脂質の有毒成分はケイ酸カラムで得られる第Ⅲ区分に濃縮された。
- 5) その第Ⅲ区分はフン脂質中 2/3 を占め、グリセリドダイマー程度の平均分子量を示しいろいろの IR 吸収 ($760, 830, 1,510, 1,710, 3,400 \text{ cm}^{-1}$) を持った。

文 献

- 1) 大藤, 岩之, 金田, 油化学, **19**, 887 (1970)
- 2) 大藤, 金田, 油化学, **19**, 486 (1970)

重合油の構造と栄養価に関する研究 (第 5 報) 白ネズミによる熱酸化重合油中の高重合成分の栄養価

大 藤 武 彦・金 田 尚 志

東北大学農学部食糧化学科 (仙台市堤通雨宮町)

Relationship between the Nutritive Value and the Structure of Polymerized Oils. V.

On the Nutritive Value of Highly Polymerized Substances in Thermally Oxidized to Rats

Takehiko OHFUJI and Takashi KANEDA

Department of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University
(Tsumumidori-Amamiya-machi, Sendai)

In a previous paper¹⁾, the authors reported that the toxic component of thermally oxidized oils was contained in a fraction which had greater molecular weight than dimer or trimer of glycerides.