自動酸化油および熱酸化重合油によるアミノ酸の損失度

梶 本 五 郎, 吉 田 弘 美

(神戸学院大学栄養学部)

昭 和 47 年 8 月 11 日 受 理

Loss Ratios of Amino Acid by Oxidative Rancid Oil and Thermally Oxidized Oil

By Gorō KAJIMOTO and Hiromi YOSHIDA

Faculty of Nutrition, Kobe Gakuin University Kobe, Japan

Soybean oil in varying degree of oxidative rancidity or thermally oxidative rancidity was reacted at 50°C with several amino acid (tryptophan, histidine, glycine, tyrosine, valine, methionine, serine and phenylalanine *etc.*) and the loss ratios of those amino acids, which were separated from amino acid-oil mixture by silica gel column chromatography were determined.

From experimental results, it was confirmed that the higher the degree of rancidity was, the more the loss ratios of those amino acid, and also the longer (10 day) this period was, the greater the loss. The loss of amino acids was apparently promoted by the aldehyde produced secondarily from oil, such as malondialdehyde.

(Received August 11, 1972)

緒 言

空気中に長く放置した油脂および長時間加熱した熱酸化重合油で調理した場合、材料含有成分の分解および消化性の低下などをまねく。すなわち、材料中のビタミン C⁽¹⁾、クロロフィル⁽²⁾、油脂中のクロロフィル⁽³⁾ およびトコフェロール^(4,5) は、油脂の酸化生成物である過酸化物 (PO) によって容易に分解され、肉タンパク質は変性した⁽⁶⁾。材料中の無機質の損失⁽⁷⁾は油脂中の遊離脂肪酸が大いに関与し、デンプンのα化度⁽⁸⁾および消化性は、変質度の高い油脂で揚げたもののほど低かった⁽⁹⁾。

一方、変質油はラットの生長を阻害し、著しい変質油は激しい毒性を示す。油脂の栄養価の低下原因および毒性発生機構は、油脂の消化率の低下⁽¹⁰⁻¹²⁾、有毒成分 (PO⁽¹³⁻²⁵⁾、アルデヒド^(26,27)、水酸基⁽²⁸⁾、カルボニル化合物⁽²⁹⁻³¹⁾、環状単量体⁽³²⁻³⁴⁾ および環状二量体⁽³⁵⁻³⁷⁾) による酵素および生体内代謝の阻害⁽³⁸⁻⁴⁴⁾、体組織中の

ビタミン A, E の分解⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾、タンパク質変性などによりことが報告されている。このように変質油による酵素タンパク質の損傷⁽⁴⁸⁾ およびカゼイン中のメチオニンの損失⁽⁴⁹⁾ など、*in vitro*, *in vivo* の両面から検討が進められているが、生体組織中のアミノ酸の損傷および調理時における材料含有成分中のアミノ酸の損失については、ほとんど検討されていない。そこで、今回 *in vitro* で変質油によるアミノ酸の損失度合について実験を行ったので、その結果を報告する。

実 験 の 部

1. 試 料

(i) 自動酸化油の調製: 100ml 容試験管に新鮮大豆油 20ml を入れ、60°C で 2.2ml/本/分の割合で乾燥した空気を吹き込み、変質度の異なる4種の自動酸化油 (oxidative rancid oil: ORO, I, II, III, IV) を調製した。変質度合は便宜上、過酸化物質 (P. O. V) で示した。

また、油脂の酸化生成物によるアミノ酸の損失有無を検討するため、PO を除去した油脂および新鮮大豆油 (FO) に脂肪酸 (FA) およびマロンジアルデヒド (MA) などを添加した油脂を調製した。ただし、MA は ORO から分離したものでなく、ORO が TBA (2-チオバルビツール酸) 試薬によって赤色に発色したことから、MA が存在するものと考えた。それは、反応機構が2分子の TBA と1分子の MA との縮合によって生ずるといわれているからである。そこで、調製した MA を便宜的に使用した。それら各油脂の調製法は、①通常 PO は熱に不安定で短時間の加熱でほとんど消失する。そこで、ORO IV (POV 911 meq/kg) の半量を、加熱による熱酸化重合をできるだけ避けるため、窒素ガスを吹込みながら 170°C で 40 分間加熱し、PO をほとんど除去した油脂を調製した。PO を除去した変質油を PO 除去変質油と呼ぶ。② ORO 中の遊離脂肪酸量および TBA 値にできるだけあわすために、FA としてオレイン酸、リノール酸 ($C_{18:1}$, $C_{18:2}$) をそれぞれ FO に 0.7%, MA を 2% になるよう添加した。それぞれの油脂の性状は、Table I のとおりである。

(ii) 熱酸化重合油の調製: 既報⁽⁴⁷⁾に準じた。すなわち 2 l 容鉄鍋に FO を 1 l 入れ、180°C で 20, 50 および 100 時間加熱し、熱酸化重合度の異なる3種類の油脂 (thermally oxidized oil, TO I, II, III) を調製した。その性状は Table II のとおりである。

(iii) TO 中のグリセリド重合物の分別法: TO 中のグリセリド重合物とアミノ酸の損失有無を検討するため、グリセリド重合物の分別を太田ら⁽⁶⁰⁾のケイ酸カラムクロマトグラフィーによる方法で行なった。すなわち、TO II を用い、5% イソプロピールエーテル含有 *n*-ヘキサンに完全に溶解したものを、あらかじめ 110°C の

電気定温乾燥器で3時間加熱乾燥したシリカゲル (クロマト用ワコーゲル Q-22) を、5% イソプロピールエーテル含有 *n*-ヘキサン中に懸垂させながら作製したシリカゲルカラム (内径 1 cm, 高さ 20 cm) に定量的に負荷した。15% イソプロピールエーテル含有 *n*-ヘキサン、続いて 65% イソプロピールエーテル含有 *n*-ヘキサン、エチルエーテルで順次溶出を行ない、それぞれの溶出物を減圧下で溶剤を留去した。それぞれを分別物 I, II, III とした。なお文献の分子量からして分別物 I (F I) は、主にグリセリドモノマー、分別物 II (F II) はグリセリドダイマー、分別物 III (F III) はグリセリドダイマーの変化物 (2 次生成物)、またはグリセリドトリマー部と思われる。それぞれの性状は、Table III のとおりである。なお、TO I, TO III については、今回、重合物の分別は行なわなかった。それは通常、調理に用いられる油脂は、同一油脂を 100 時間以上加熱することは、ほとんどないものと思われるので、TO III を用いなかった。また、TO I は比較的重合物量が少ないので省略した。

(iv) アミノ酸: レトリプトファン, DL-バリン, DL-セリン, DL-フェニルアラニン (米山薬品工業株式会社), L-グルタミン酸, DL- α -アラニン, L-メチオニン, L-チロシン (和光純薬工業株式会社), DL-ヒスチジン, グリシン (林純薬工業株式会社) などのアミノ酸を選んだ。

(v) 乳化剤: スパン 40; ソルビタンモノパルミテート (米山薬品工業株式会社) を用いた。

(vi) カラムクロマトグラフィー用吸着剤として、2 種を選び比較検討した。①イオン交換樹脂としてダウエックス 50×8 (200~400 メッシュ) を文献⁽⁵⁵⁾にしたがい調製した。②クロマト用シリカゲル, ワコーゲル Q-22 (200 メッシュ) を選び、使用前に 70% アルコールで数回、傾斜法で洗浄、さらに蒸留水で数回洗浄し、室

Table I. Chemical Characteristics of Oxidative Rancid Oil

Oils Characteristics	Fresh oil	Oxidative rancid oils					FO ^{a)} +FA ($C_{18:2}$)	FO ^{a)} + MA ^{b)}
		I	II	III	IV	Peroxide removed from IV		
Peroxide value (meq/kg)	2.0	80.0	188.0	666.6	911.0	10.1	2.1	2.1
Acid value	0.1	0.4	0.5	0.9	1.0	1.0	2.1	0.1
Carbonyl value (meq/kg)	7.6	26.1	42.6	80.2	87.3	90.5	7.7	16.4
TBA value	0.1	0.2	0.7	3.8	8.1	8.0	0.1	10.6
Iodine value	133.2	129.8	121.2	114.6	102.6	102.1	133.2	133.1

^{a)} fresh oil, ^{b)} malondialdehyde.

Peroxide value was determined using conventional iodometric titration with thiosulfate. Carbonyl value was determined by the method of Kumasawa.⁶¹⁾ TBA value was determined by the method of Sidwell *et al.*⁶²⁾ Iodine value by the method of Wijs' technique.

Table II. Chemical Characteristics of Thermally Oxidized Oil

Oils Characteristics	Fresh oil	Thermally oxidized oil		
		I ^{a)}	II ^{b)}	III ^{c)}
Peroxide value*(meq/kg)	2.1	6.3	5.5	0.3
Acid value	0.1	0.4	0.7	1.1
Carbonyl value*(meq/kg)	8.6	39.1	76.7	128.2
Iodine value*	134.2	122.7	112.6	87.7
TBA value*	0.1	0.3	0.5	0.6
Epoxy value (%)	0.0	0.5	0.8	2.1
Acetyl value (%)	0.0	0.4	0.5	0.9
Yield of glyceride fraction	Monomer (%)	98.0	90.2	83.5
	Dimer (%)	1.0	3.5	4.6
	Secondary products (%)	1.0	6.3	11.9

^{a)}, ^{b)}, ^{c)} Fresh soybean oils were heated at 180°C for 20, 50 and 100 hr. * These values were determined as shown in Table I.

Epoxy value was determined by the method of A. O. C. S.⁽⁵³⁾
Acetyl value was determined by the method of A. O. C. S.⁽⁵⁴⁾

Table III. Chemical Characteristics of Monomer, Dimer and Secondary Products Obtained from Thermally Oxidized Oil II

Characteristics	Monomer	Dimer	Secondary products
Acid value	0.5	2.2	3.0
Carbonyl value (meq/kg)	55.0	144.5	173.8
Iodine value	131.0	72.6	61.5
TBA value	0.4	0.6	3.4
Epoxy value (%)	0.3	1.1	1.4
Acetyl value (%)	0.4	2.7	3.0

温で風乾後, 110°C で 3 時間加熱乾燥したものを使用した。

(vii) 緩衝液: Sørensen の 1/10M クエン酸ナトリウム-塩酸緩衝液 (pH 3.4), 1/15M リン酸水素ナトリウム-リン酸水素カリウム緩衝液 (pH 6.8), McIlvaine の 1/10M クエン酸ナトリウム-塩酸緩衝液 (pH 4.2), その他の緩衝液として, 赤堀らの文献⁽⁶⁵⁾の記載にしたがい 1/5M 重炭酸ナトリウム-炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 8.2), 1/5M 重炭酸ナトリウム-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 9.2), 1/10M 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 11.0) などを調整した。

(viii) 脂肪酸: 純度の高いオレイン酸およびリノール酸を東京化成工業株式会社より購入したものを Kepl-ler⁽⁵⁶⁾の方法に準じ, 真空蒸留したものを使用した。ガスクロマトグラフィーで純度を求めると, オレイン酸で 95%, リノール酸で 94% であった。また, 両脂肪酸には PO, アルデヒドなどは検出できなかった。

(ix) マロンジアルデヒド: MA は

1, 1, 3, 3-テトラエトキシプロパンを用い, Seherz⁽⁵⁷⁾の方法で調製した。すなわち, 8ml (0.036M) の 1, 1, 3, 3-テトラエトキシプロパンに 3ml の 1N-塩酸を加え, 45~50°C で 20 分間保ち, その後 2ml の蒸留水を加え, 加水分解混合物を 20 分間, 上記の温度で放置, 室温に放冷後, 2N-水酸化カリウムを 10.4 ml₁ 加え, pH 6.5 に調整した。

2. 実験方法

(i) 自動酸化油および熱酸化重合油とアミノ酸の反応: 20ml 容試験管に, FO, 変質度の異なる ORO, TO およびグリセリド重合物, PO 除去変

質油, FA および MA 添加油のそれぞれ 1g と各種のアミノ酸を, 20mM 濃度になるようクエン酸ナトリウム溶液 (pH 5.0) に溶解した液を 0.5ml, 乳化剤を 50mg 加え, 50°C 恒温槽中で振盪しながら 1~15 日間反応させた。ただし, チロシンのみは難溶性のため 10mM とした。

(ii) 油脂とアミノ酸の分別: 油脂とアミノ酸を完全に分別する必要があり, 同時にアミノ酸の回収率を検討するため, 吸着およびイオン交換クロマトグラフィーの両方法を用い比較した。

あらかじめエチルエーテル中に懸垂させながら作製したシリカゲル, およびダウエックス 50×8 のそれぞれ 17g を, ガラスカラム (20×500mm) に気泡がでないように注入し, つづいてエチルエーテルに溶解した上記の油脂とアミノ酸の混合物 1g を定量的に負荷した。常温, 常圧のもとで, エチルエーテル 100ml で反応管を洗浄しながら展開 (約 0.55ml/分) した。なお, エチルエーテルで数回洗浄することにより, 反応管中の物質を完全にカラムに注入することができた。ついで, 70% アルコール 20ml と各緩衝液 (アミノ酸の種類により異なる) で展開 (0.4ml/分の割合) し, 100ml メスフラスコに集めた。この中から 0.5ml を秤取し, アミノ酸量をニンヒドリン比色法で求めた。その方法については, (iii) のところで述べる。エチルエーテル溶出物はロータリエバポレーターで回収後, 残分の油脂量を重量法で求めた。分別法は Fig. 1, それぞれ溶出物中の油脂およ

Fig. 1. Fractionation of Reaction Products.

*(1), (2): silica gel column chromatography, *(3), (4): ion exchange resin column chromatography.

Table IV. Recovery Ratios of Oil and Amino Acid Eluted with Ether and Buffer and EtOH Mixture Solution from Oil and Amino Acid Mixture

Adsorbents Fractions	Silica gel		Dowex 50x8	
	(1)	(2)	(3)	(4)
Percentage of oil recovery (%)	99.0		95.4	
Ninhydrin reaction	—	+	—	+
Oil reaction	+	—	+	+
Percentage of amino acid recovery (%)		98±2		92±4

—: negative, +: positive.

びアミノ酸の回収率は Table IV のとおりである。なお、Fig. 1 および Table IV 中の 1~4 の記号は、シリカゲルを用いた場合、エチルエーテル抽出部を 1、緩衝液-アルコール混合液抽出部を 2 とし、同様イオン交換樹脂を用いた場合をそれぞれ 3, 4 とした。シリカゲルを用いた場合の油脂とアミノ酸の回収率は 99% と 98±2% で、ダウエックスの使用では 95.4% と 92±4% で、シリカゲルカラムに比べそれぞれの回収率が劣り、緩衝液抽出部にはわずかながら油脂の存在が認められた。おそらく、シリカゲルカラムに比べエチルエーテルの展開時に気泡ができやすいため、分別が不完全になったものと思われる。以後の実験には、シリカゲルを用いることにした。なお、Table IV の結果は、FO を使用した値であるが、ORO および TO を用いた場合も油脂の回収率は FO の使用時とほとんどかわらなかった。

(iii) アミノ酸の定量: 上記 (ii) の方法で得たアルコールおよび緩衝液の両混合溶出液を、水酸化ナトリウム or 塩酸で pH 5.0 に調整したものから、0.5ml を

共栓付試験管に秤取し、0.1ml の塩化錫溶液と 2ml のニンヒドリン⁽⁵⁸⁾ 溶液を加えよく振盪し、直ちに沸騰水溶液中で 20 分間加熱する。加熱反応終了後、5ml の蒸留水を加え 10 分後、日立の Perkin-Elmer 分光光度計を用い 570mμ の吸光度を測定し、各アミノ酸の検量線から各アミノ酸量を求めた。比色定量標準曲線は、クエン酸ナトリウム溶液に溶解したそれぞれのアミノ酸 (0.1~2.0mM) について、上記同様の方法で発色、570mμ の吸光度を測定し、検量線を作成した。

(iv) アミノ酸の損失度の測定: 20mM 濃度のアミノ酸を 0.5ml とり、シリカゲルを用いるカラムクロマトグラフィーでその回収率を求めると、平均 98% であった。この係数を基準とし、各油脂と反応させ求めたアミノ酸量との比を百分率として表わし、損失度を求めた。ただし、アミノ酸が変化をうけ、あるいは油脂と結合したままで回収されない場合も考えられる。ここでは、回収されないアミノ酸があっても、それは ORO および TO のため、なんらかの変化をうけ損傷したものとみなし、溶出されたアミノ酸を基準とし、便宜的に損失度を表わした。

実験結果および考察

1. 油脂の自動酸化度と各アミノ酸の損失度

自動酸化度の異なる油脂と各種アミノ酸の損失度の結果は、Fig. 2 に示すごとく、自動酸化度の高い油脂ほど各アミノ酸の損失度は高くなり、かつ反応時間の経過とともに損失度も増加した。アミノ酸の種類では、比較的トリプトファン、フェニルアラニン、ヒスチジンなどが分解度高く、セリン、アラニンおよびグリシンなどは比較的損失度が低かった。

自動酸化度の異なる油脂とアミノ酸の混合物は、反応中に黄色に着色してくるものがあり、その着色度合を肉眼で観察してみた。対照にアミノ酸を混合しない自動酸化度の異なる油脂を同様 50°C で反応させ、その色調を基準とし、色調の濃いものほど + 数を増し、変化のないものは - で記した。その結果は Table V に示すごとく、概してトリプトファン、フェニルアラニンおよびメチオニンが着色し、かつ油脂の自動酸化度が高くなるにしたがい著しく濃くなっている。ことに、トリプトファンおよびフェニルアラニンの両者は、損失度と着色色調がよく似た傾向を示している。すなわち、損失度も高く、かつ色調も濃い。

Fig. 2. Influences of Rancidity of Oxidative Rancid Oil on the Decomposition of Amino Acids.

—○— P.O.V 2, —×— P.O.V 80,
—△— P.O.V 188, —●— P.O.V 666.

Table V. Relationship between the Browning of Amino Acid-Oil Mixture and the Degree of Oxidative Rancidity of Oil

Amino acid	Storage period (day)	FO ^{a)}	ORO ^{b)}		
			I	II	III
Tryptophan	3	—	+	≡	≡
	6	—	+	≡	≡
	3	—	—	+	≡
Histidine	5	—	—	+	+
	2	—	—	+	+
Valine	8	—	—	+	+
	2	—	+	≡	≡
Methionine	6	—	+	≡	≡
	2	—	+	+	≡
Phenylalanine	5	—	+	+	≡
	3	—	+	+	+
Alanine	6	—	+	+	+
	3	—	+	+	+
Glycine	7	—	+	+	≡
	3	—	—	+	+
Serine	6	—	—	+	+
	3	—	—	+	+
Tyrosine	6	—	—	+	+
	3	—	+	+	+
Glutamic acid	6	—	+	+	+

— : colorless, + : weak, ≡ : strong, ^{a)} fresh oil, ^{b)} oxidative rancid oil.

Table VI. Influences of Rancidity of Oil and the Addition of Free Fatty Acids or Malondialdehyde on the Decomposition of Amino Acids

(Reaction period 6 day)

Amino acid	Decomposition of amino acids (%)				
	FO ^{a)}	ORO ^{b)}			
		IV	Peroxide removed from IV	FO ^{a)} + FA ^{c)}	FO ^{a)} + MA ^{d)}
Tryptophan	1.0	37.5	41.8	0.0	21.7
Phenylalanine	1.0	30.6	35.7	1.0	23.8
Valine	0.3	7.7	9.8	0.0	7.0

^{a)} fresh oil, ^{b)} oxidative rancid oil (P.O.V 911),
^{c)} free fatty acid (C_{18:2}), ^{d)} malondialdehyde.

ところで、褐変現象はアミノ酸と ORO 中のカルボニル化合物による、いわゆるアミノカルボニル反応物と思われるが、比較的トリプトファンおよびフェニルアラニンはアミノカルボニル反応を起こしやすく、結果的にアミノ酸が多く損失したものと思われる。

2. 油脂の酸化生成物とアミノ酸の分解

自動酸化度の高い油脂ほど、アミノ酸の損失の多いことを知った。このように、アミノ酸の損失に ORO が関与するとすれば、ORO 中のいかなる酸化生成物がアミ

ノ酸の分解に関与しているかを調べるため、油脂の酸化生成物である PO を除去した変質油、あるいは FA および MA などを FO に添加した油脂について上記同様、トリプトファン、フェニルアラニンおよびバリンなどと反応させ、6 日目のアミノ酸の損失度を調べた。結果は、Table VI のとおりである。ただし、 $C_{18:1}$ と $C_{18:2}$ は同結果であったので、 $C_{18:2}$ のみを記した。

PO 除去変質油は PO を除去しない ORO と同様、アミノ酸の損失が多く、むしろ PO 除去前に比べ、やや損失度が高くなった。おそらく PO 除去操作中に PO が分解し、カルボニル化合物を生じたためと思われる。事実、FO に MA を添加した油脂では、アミノ酸の損失度が高い。したがって、アミノ酸の損失には PO, FA などとはほとんど関与しないと思われる。主にカルボニル化合物が関与するものと考えられる。

3. 油脂の熱酸化重合度と各アミノ酸の損失度

自動酸化度の高い油脂ほど、アミノ酸の損失が多かった。ついで、油脂の熱酸化重合度とアミノ酸の損失度を求め、Fig. 3 の結果を得た。油脂の熱酸化重合度が高くなるにしたがい、各アミノ酸の損失度が高く、ことにトリプトファンおよびフェニルアラニンなどは損失度が高い。

4. 熱酸化重合油の分別物とアミノ酸の損失

熱酸化重合度の高い油脂ほど、アミノ酸の損失の多いことを知った。ところで、ORO では PO, FA およびアルデヒドなどの酸化生成物とアミノ酸の損失について調べたので、TO ではグリセリド重合物がアミノ酸の損失にどの程度関与するかを検討した。そこで、TO II の分別物（モノマー、ダイマー、2 次生成物）とトリプトファン、フェニルアラニンおよびグリシンなどのアミノ酸をそれぞれ 10 日間反応させ、各アミノ酸の損失度を調べた。結果は Table VII のとおりである。

モノマー部と反応させたアミノ酸の損失度はわずかで

Fig. 3. Influences of Rancidity of Thermally Oxidized Oil on the Decomposition of Amino Acids.

—○— FO, —x— TO I, —△— TO II, —□— TO III.

FO: fresh oil, TO I: heating fresh oil at 180°C for 20 hr,

TO II: heating fresh oil at 180°C for 50 hr,

TO III: heating fresh oil at 180°C for 100 hr.

あったが、グリセリド重合物、ことに 2 次生成物部では各アミノ酸の損失度が高い。おそらく、Table III に示

Table VII. Influences of Thermally Oxidized Oil and the Monomer, Dimer and Secondary Product Obtained from Thermally Oxidized Oil on the Decomposition of Amino Acids (Reaction period 10 day)

Amino acid	Decomposition of amino acids (%)				
	FO ^{a)}	TO II ^{b)}	Monomer	Dimer	Secondary product
Tryptophan	1.0	22.0	4.6	45.8	72.5
Phenylalanine	1.0	21.2	5.7	36.7	70.4
Glycine	0.0	5.1	2.8	12.2	45.5

^{a)} fresh oil, ^{b)} heating a fresh oil at 180°C for 50 hr.

すごとく、2 次生成物部は TBA 値、カルボニル価が高いことから考えて、ORO と同様、アルデヒドよう化合物がアミノ酸の損失作用に関与したと思われる。

自動酸化度および熱酸化重合度の高い油脂ほど、アミノ酸を多く損失させたが、上述したごとく、溶出されてきたアミノ酸をニンヒドリン比色法で求め、便宜的に損失度を求めたのであって、アミノ酸そのものが直接損傷をうけたのか、油脂中の成分と結合し、結合したまま損傷をうけたのか、あるいは損傷をうけないが結合したまままで回収されなかったかについては、今回検討しなかった。Buttkus⁽⁸⁹⁾ はメチオニン、シスチン、グリシンなどのアミノ酸を MA と反応させ、結合物のできることを証明している。そこで、メチオニン、トリプトファンなどのアミノ酸と ORO とを反応させ、実験方法 2 (ii) の方法で分別したアルコールと緩衝液の両混合溶出液について、これらの反応物の存在を確認するため、種々の展開剤を用いて薄層クロマトグラフィーを行ない、ニンヒドリン発色と硫酸発色によるスポット数を比較した。結果は、未処理のアミノ酸のスポット数と同数、Rf 値も同じで、分解物および結合物らしいスポットは検出できなかった。したがって、結合物がシリカゲルに強固に結合され溶出されてこないのか、あるいは油脂の方に移行しているかもしれない。そこで、油脂部についても薄層クロマトグラフィーを試みたが、油脂の変質度が高くなるほど、油脂そのものに遊離脂肪酸および重合物が増加し、スポット数のみでは判定しがたく、結合物があるとするは、油脂と結合物との分別法を検討する必要性があった。これらの問題と関連し、ORO および TO によるアミノ酸の損失機構、分解物および反応生成物の有無などについては今後の課題にしたい。

要 約

自動酸化度および熱酸化重合度の異なる油脂とアミノ

酸を混合し、50°C で 1~15 日間反応させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで油脂とアミノ酸を分別し、アミノ酸の損失度を求めた。

(1) 油脂の自動酸化度および熱酸化重合度が高くなるにしたがい、各種のアミノ酸の損失度は高くなり、なかでもトリプトファンおよびフェニルアラニンなどのアミノ酸では損失度が大

きい。

(2) ORO とアミノ酸の混合物は反応中、次第に黄褐色を呈するようになり、その着色度合は自動酸化度の高い油脂ほど高く、なかでもトリプトファン、フェニルアラニンなどは着色度合が高く、両アミノ酸については、着色度合とアミノ酸の損失度とは同傾向を示した。

(3) アミノ酸の損失には、油脂の酸化生成物であるアルデヒドが主に関与し、PO および FA などほとんど関与しないようである。

(4) TO の分別物とアミノ酸の損失度は、モノマー部より、ダイマー部および 2 次生成物による方がアミノ酸の損失度は高い。グリセリド重合物は、モノマー部に比べ TBA 値およびカルボニル価が高く、ORO と同様、これらの官能基による作用と考えられる。

本報告の要旨は昭和 47 年 10 月 14 日、日本栄養食糧学会近畿支部大会で発表した。

- (1) 梶本五郎：栄養と食糧，**13**, 317 (1961).
- (2) 梶本五郎：同上，**13**, 313 (1961).
- (3) 梶本五郎：同上，**16**, 56 (1963).
- (4) 梶本五郎，吉田弘美：同上，**24**；同上，**24**, 101 (1971).
- (5) 梶本五郎，吉田弘美：油化学，**20**, 555 (1971).
- (6) 梶本五郎，吉田弘美：栄養と食糧，**14**, 467 (1962).
- (7) 梶本五郎：同上，**15**, 221 (1962).
- (8) 梶本五郎，向井克憲：同上，**22**, 601 (1969).
- (9) 梶本五郎，岡 玲子：同上，**16**, 173 (1963).
- (10) 梶本五郎：同上，**14**, 170 (1961)；同上，**15**, 216 (1962)；同上，**16**, 432 (1964).
- (11) 梶本五郎：油化学，**19**, 66 (1970).
- (12) 梶本五郎：栄養学雑誌，**20**, 12 (1962).
- (13) G. Weitzel and W. Savelsberg: *Ernahrung Ver. Pflege*, **1**, 115 (1949).
- (14) 梶本五郎：油化学，**20**, 20 (1971).
- (15) J. F. Mead: "Symposium on Food, Lipids and their Oxidation," AVI Publishing Co.,

- p. 362 (1962).
- (16) A. Roy : *Ann. Biochem. Exp. Med (India)*, **4**, 71 (1944).
- (17) S. Lassen, E. K. Becon and H. J. Dunn : *Arch. Biochem.*, **23**, 1 (1949).
- (18) 大藤武彦, 金田尚志 : 油化学, **17**, 69 (1968); 同上, **19**, 486 (1970).
- (19) 金田尚志 : 同上, **12**, 541 (1963).
- (20) C. E. Poling, W. O. Warner, P. E. Mone and E. E. Rice : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **39**, 315 (1962).
- (21) W. Ostertag : *Fette-Seifen Anstrichmittel*, **62**, 859 (1961).
- (22) H. Kaunitz, C. A. Slanetz and R. E. Johnson : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **38**, 301 (1961).
- (23) E. H. Groot and H. J. Kleinobbink : *Experientia*, **9**, 189 (1953).
- (24) 松尾 登 : 生化学, **41**, 481, 647 (1954); *J. Jap. Biochem.*, **27**, 769 (1957).
- (25) 金田尚志 : 日本誌, **19**, 171 (1953); *J. Biochem. (Japan)*, **41**, 327 (1954).
- (26) 松尾 登 : 化学の領域, **11**, 976 (1957).
- (27) A. L. Tappel : *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 266 (1955).
- (28) H. Kaunitz, C. A. Slanetz, R. E. Johnson, H. B. Knight, R. E. Koos and D. Swern : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **36**, 611 (1959).
- (29) H. Kaunitz, C. A. Slanetz and R. E. Johnson : *J. Nutrition*, **55**, 557 (1955); *Metab. Clin & Exp.*, **9**, 59 (1960).
- (30) L. W. Holleman and D. R. Koolheas : *Rec. Trav. Chim.*, **58**, 666 (1939).
- (31) S. S. Weinstein and A. M. Wynne : *J. Biol. Chem.*, **112**, 641 (1935).
- (32) 松尾 登 : 油化学, **12**, 261 (1963).
- (33) 秋谷年見 : 同上, **14**, 733 (1965).
- (34) E. W. Crampton, R. H. Common, F. A. Farmer, F. M. Berryhill and L. Wiseblatt : *J. Nutrition*, **43**, 431, 533 (1951); *ibid.*, **14**, 177 (1951); *ibid.*, **49**, 333 (1953); *ibid.*, **60**, 13 (1956); *ibid.*, **62**, 341 (1957).
- (35) D. Firestone, W. Horwitz, L. Friedman and G. M. Shve : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **38**, 253 (1961).
- (36) N. R. Bottino : *ibid.*, **39**, 25 (1962).
- (37) E. G. Perkins and F. A. Kummerow : *ibid.*, **36**, 371 (1959).
- (38) J. S. Andrews, W. H. Griffith, J. F. Mead and R. A. Stein, Jr. : *J. Nutrition*, **70**, 199 (1960).
- (39) E. D. Wills : *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 7 (1961).
- (40) A. I. Zhuravlev, M. A. Lomova and V. N. Benevolenski : *Med. Radiol.*, **6**, 46 (1961).
- (41) A. Ottolenghi, F. Bernhein and C. B. Kenaston : *Arch. Biochem. Biophys.*, **38**, 177 (1952).
- (42) P. Duboloz and J. Fondarai : *Bull. Soc. Chem.*, **35**, 819 (1953).
- (43) A. L. Tappel and H. Zalkin : *Arch. Biochem. Biophys.*, **80**, 326 (1959).
- (44) I. D. Desai and A. L. Tappel : *J. Lipid Res.*, **4**, 204 (1963).
- (45) M. C. Repoter and R. S. Harris : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **38**, 47 (1961).
- (46) E. Degkwitz and K. Lang : *Fett-Seifen Anstrichmittel*, **64**, 893 (1962).
- (47) 梶本五郎, 吉田弘美 : 油化学, **21**, 307 (1972).
- (48) I. D. Desai and A. L. Tappel : *J. Lipid Research*, **4**, 204 (1963).
- (49) S. R. Tannenbaum, H. Barth and J. P. LeRoux : *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 1353 (1969).
- (50) 太田静行, 向井 明, 山本 巖 : 油化学, **12**, 409 (1963).
- (51) 熊沢 恒 : 油化学, **14**, 167 (1965).
- (52) C. G. Sidwell : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **31**, 603 (1954).
- (53) American Oil Chemist's Society, Official and Tentative method, 1946, cd. 9-57.
- (54) *ibid.*, 1946, cd. 4-40.
- (55) 赤堀四郎, 水島三一郎 : 蛋白質化学, 第1巻, 共立出版, 1954, p. 214.
- (56) J. G. Kepler, S. Sparreboom, J. B. A. Stroink and J. D. von Mikusch : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **36**, 308 (1959).
- (57) H. Seherz : *Mikrochim. Acta*, 915 (1967).
- (58) S. Moore and W. H. Stein : *J. Biol. Chem.*, **176**, 367 (1948).
- (59) H. Buttkus : *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **46**, 88 (1969).