統 説

変 敗 油 の 毒 性

金 田 尚 志*

Deterioration and Toxicity of Edible Oils

Takashi KANEDA

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

1970年5月、「食用油脂に関する衛生上の諸問題」と題する当学会のシンポジウムが持たれ、筆者は変敗油の毒性について問題提起を行なった。このシンポジウムの議事録は本誌11巻5号に記載されているが、そのなかで、筆者は従来報告について大略を紹介した¹⁾。

今回、同じ題での総説を依頼されたので前シンポジウム以降の本問題の進歩をなるべく本学会の性格にそうよう述べてみたい。そのため、この問題に興味をお持ちの方はシンポジウム議事録と併読して戴けると幸いである。なお、本問題に対する筆者らの考え方を紹介するため、筆者らの得た結果についてはいくぶん詳述させて戴いた。

前回にも述べたように、変敗油は(1)常温での自動酸化油と(2)加熱による変敗油の二種に大別される。このうち、自動酸化油は主として油脂を使った加工食品または油脂や複合脂質含量の高い貯蔵食品に認められるもので、製造後、日数を経るにつれ、各種の酸化物を生じ、この酸化物により栄養価の低下や毒性を生ずる。

加工食品には乾燥したものが多く、したがって、こうした食品に含まれる油脂は変敗しやすい。事実、市販加工食品から分別した油にはかなり変敗したものが見受けられ、国民保健の上からも検討を要すると思われる。一

方、テンブラ油、サラダ油などの食用油脂は調理に使用したあと、かなり乱暴に保存してもそれほど変敗せず、自動酸化油の問題は加工食品の場合に主として起こるといえる。これに対し、加熱による油の劣化は、普通の調理においても認められることで、テンブラ油をあまり長期間にわたり繰り返し使用することには問題がある。

このように一口に変敗油といっても内容には差があるので、これらを分けて、それぞれの有毒成分、毒性発生機構などを述べることにする。

(1) 自動酸化油の毒性

この問題については本誌にもいくつかの報告が寄せられている。すなわち、伊藤²⁾は即席ラーメンによって生じた食中毒事件を解明するためラーメン粉末を50°に放置し、その抽出油を用いマウスに対する急性毒性をみたところ、毒性は最高過酸化価を示したものよりさらに酸化が進んだものの方が一層強く、変敗油の毒性は必ずしもペルオキシド(PO)だけでなく、他の酸化生成物も関与していることを認めた。さらに同氏のグループは致死率のもっとも高かったラーメン抽出油を分別し、各区分の毒性を調べ、モノグリセリド、遊離脂肪酸混合画分に最高の毒性を認めた³⁾。三浦⁴⁾は即席ラーメンおよびその揚げ油を直射日光下に放置し、得られた油についてマウスによる急性毒性試験を行ない、PO以外に酸価の高い油の毒性を問題にした。さらに同氏⁵⁾は酸化油の示す毒性はPOの二次的分解産物ではないかという見解を発表した。天野⁶⁾はリノール酸メチルヒドロペルオキシド(LMHPO)をさらに酸化させ、各種酸化生成物を分配カラムクロマトグラフィーにより分別し、毒性の程度を検討したところ、ヒドロペルオキシド基、水酸基、トランスモノエンなどの官能基を有し、LMHPOの骨格が-O-O-、すなわちジアルキルペルオキシド基

* 東北大学農学部食糧化学科：仙台市堤通雨宮町

略 字 解

PO: ペルオキシド

LMHPO: リノール酸メチルヒドロペルオキシド

HPO: ヒドロペルオキシド

POV: 過酸化価

Co. V: カルボニル価

HPOA: ヒドロペルオキシアルケナール

TG: トリグリセリド

Toc: トコヘロール

によって結合された二量体が LMHPO とほぼ同様の毒性を示すとした。

筆者らはかつて自動酸化油毒の本体はヒドロペルオキシド (HPO) であると発表し、本問題についての追及を打ち切っていたが、前述のような疑問が出されるようになったので、この問題を再検討することにした。

自動酸化油の有毒成分については上記のようにいろいろと異なった見解が出されているが、これらの報告を読んで感じることは、それぞれの研究者の用いた試料油の種類、酸化方法、酸化程度などが異なっているということである。そのため、それぞれの人が自分の用いた試料、結果を中心として話を展開するため、まとまった結論が得難いように思われた。また、従来の報告のなかには各種酸化生成物を含んだ試料を用いていると思われるものがあり、有毒成分の分離——とくに精製度に問題があると思われるものも見受けられた。そこで、同一試料を出発物とし、酸化程度の異なる一連の試料をつくり、それぞれの毒性の程度を比較することにした⁷⁾。まず、リノール酸メチルに酸素を吹きこみ、酸化を進行させたところ (Fig. 1)、従来より知られているように、誘導期を過ぎると過酸化価 (POV) は急上昇し、その最高値は2550に達したが、以後減少した。一方、カルボニル価 (Co. V) は POV が最高値を示す付近から急激に増加した。これら各段階の酸化物のうち、筆者がかつて用いた試料は POV が上昇期にある比較的初期酸化のものであり、この段階における有毒物を HPO とした訳だが、前記のように最近の報告は POV が下り、Co. V が増加している段階のものを問題にしている。そこで、Fig. 1 に示すように、POVがピークに達する以前より3試料 (No. 1~3)、POV が下降段階のものより5試料 (No. 4~8) を採取した。これらを用いて、マウスによる急性毒性試験を行なってみると、酸化が進んだものほど毒性が強く、No. 8 の試料はもっとも強い毒性を示した。本結果より、最近の報告にあるように、酸化の程度いかんによっては HPO 以上に有毒な成分の生成が推察されたので、有毒成分の分離同定を試みた。

分別方法は Fig. 2 に示すように、No. 8 の試料油を 56° で分子蒸留し、蒸留される低分子区分 (Fr. I) をドライアイス-アセトントラップで捕集した。残留区分はアルカリで遊離酸 (Fr. II) を除き、吸着カラムクロマトグラフィーで4区分 (Fr. III-A, B, C, D) に分画した。

これら各区分の毒性試験を行なってみると、Fr. I の毒性はもっとも強く、HPO 区分 (Fr. III-A) 以上であった。そこで、低分子区分中のいかなる成分が毒性を示すかを知るため、2.2m のナイロンチューブにシリカゲルを詰め、試料を吸着させたのち、ベンゼンで展開し、ベンゼンがチューブの下端に達したとき展開を止め、10 cm の間隔でカラムを切り、各区分をエーテルで抽出

Fig. 1. Oxidation of methyl linoleate
Relationship between oxidation
hours and P.O.V., Co. V.

Fig. 2. Fractionation of autoxidized esters

し、その性状を IR, TLC でみたところ、Table 1 の結果が得られた。IR で同一の官能基をもつと思われる区分は合し、毒性の程度を比較すると、1分子中に-OOH基とカルボニル基を有すると思われるD区分の毒性がもっとも強く、ヒドロキシ、カルボニル化合物と思われる区分 (E, F) がこれに続いた。そこで、D区分の同定を試みたところ、炭素数5~9程度の4-hydroperoxy-2-en-1-alと同定された。

これら HPO をもったアルケナールの毒性は HPO に比べはるかに強く、経口投与すると2時間以内に全マウスは死亡した。

本結果より明らかなことは、酸化の程度により有毒成分の本体は異なり、POV が上昇中の初期酸化の時期は HPO が有毒だが、酸化が進行し HPO が分解する時期になると、二次酸化物として生じた不飽和アルデヒド、とくに同一分子中に HPO をもつヒドロペルオキシアルケナール (HPOA) が有毒といえた。なお、筆者らの分離した HPOA はかなり酸化の進んだリノール酸メチルから分離したものであり、果して、日常食べている加工食品に含まれているか否か問題となる。そこで、かりん

Table 1. Fractionation of Low Molecular Compounds (Fr. I) and the Toxicity of Fractionated Each Subfraction

Dry column No. and subfractions	Functional groups by IR	Staining reaction on TLC		Total mice killed****
		KI and starch	2, 4-D.N. P.***	
1 (A)	Ester			0
2	Ester, Sat. ald.*		+	
3 (B)	Sat. ald.		卅	1
4	Sat. ald., Unsat. ald.**		卅	
5~11(C)	Unsat ald.		卅	3
12	Unsat. ald., Hydroperoxy unsat. ald.	卅	卅	
13, 14(D)	Hydroperoxy unsat. ald.	卅	卅	6
15	Hydroperoxy unsat. ald., Hydroxy ketone ?		卅	
16, 17(E)	Hydroxy unsat. ketone ?		卅	4
18 (F)	Hydroxy unsat. ald.		卅	4
19	Hydroxy unsat. ald., Acids		+	
20, 21	Acids			
22	Hydroxy, Hydroperoxy acids	+		

* Saturated aldehyde ** Unsaturated aldehyde *** 2, 4-Dinitrophenylhydrazine

+ weak 卅 medium 卅 strong

**** Six mice were used for each subfraction

とう, ポテトチップス, えびせんべい, 揚げせんべいなどを放置し, 悪臭を発して食下不能となる以前のもののなかに HPOA が生成しているかどうか調べたところ, その存在が推定された⁹⁾. その後, 土田, 三浦⁹⁾はオクタデカジエン酸またはオクタデセン酸のメチルエステルにヒドロペルオキシ, ヒドロキシ, ケトン, ヒドロペルオキシ・エポキシ, トリヒドロキシ, トランス・トランスー共役, エポキシなどをつけ, その毒性の程度をマウスおよび鶏胚を用いて検討しているが, その結果によると毒性の程度は $-OOH > -CO > -OH$ の順であり, とくにヒドロペルオキシ・エポキシ・オクタデセン酸は有毒であるとしている。

自動酸化物の動物に対する致死量をみると, HPO については新しい報告ほど毒性は弱い傾向にある。それは, 古い報告では HPO の分離が現在ほど完全でなく, HPO 以外の酸化物の示す毒性をも HPO 毒として測定していたためと思われる。Privett ら¹⁰⁾は LMHPO を精製し, POV 6085 me/kg (理論値 6135 me/kg) のものを得, ラットの尾静脈に注射したところ, 致死量は 0.07 mmol/100 g (1 mmol は 326 mg) であった。筆者らの研究室で吉岡は精製 HPOA および LMHPO を用いマウスによる LD₅₀ を求めたところ, 経口投与では HPOA は 450 μmol/kg マウスであったのに対し, LMHPO のそれは 37100 μmol/kg で, HPOA の方がはるかに強い毒性を示した¹¹⁾。また, 腹腔内注射の結果では, HPOA が経口投与の場合と同じ LD₅₀ を示したのに対し, LMHPO は 1800 μmol/kg で経口投与よりも毒性は強

く現われた。

(2) 自動酸化油の毒性発生機構

自動酸化油とくに HPO を与えたときに生ずる毒性はいかなる機構によるかという問題については多くの報告が出されているが, これらを分類してみると, (1) 細胞の膜構造の破壊 (2) 酵素の不活性化 (3) 脂質とタンパク質の複合体の生成 (4) ビタミン類の破壊などに大別される。

ところで, こうした状態は脂質 HPO がどのような行動をとるところから生ずるのかという点が多い。まず, 第一に脂質 HPO の吸収についてよく判っていない。最近, 脂質 HPO は腸管から吸収されない, ないしは吸収されにくいという報告が多くなり, 吸収される際は分解された形であるともいわれているが, それではどのような形となって吸収され, 毒性を生ぜしめるのかとなるとほとんど判っていない。

HPO の吸収と代謝に関する最近の報告を紹介すると, 衣巻, 柴田¹²⁾は 1-¹⁴C-リノール酸メチル およびその PO をラットに与えた場合, PO は二次的分解物として吸収されるのではないかと想像している。Bergan ら¹³⁾は 1-¹⁴C-LMHPO をラットに経口投与した場合, ¹⁴CO₂ の生成は 90 分で max に達し, 24 時間以内に給与 LMHPO の 25% が呼気として出された。しかし, 24 時間後も 45% はなお消化管に止まっており, その大部分は PO の形のままで胃上皮に結びついていた。また, 投与 2 時間後, リンバを集め, 標識代謝物について検討したところ, リンバ中の放射能の 7% は遊離 1-¹⁴C-ヒドロ

キン酸, 31%はそのメチルエステルの形で存在した。リンパトリグリセリドの57%は $1-^{14}\text{C}$ -トリエン酸および未同定 $1-^{14}\text{C}$ -オキシン酸として均等に分布していた。ヒドロキシン酸とトリエン酸が現われるのはPOの吸収に際し還元-脱水素反応が起こるためと思われた。

HPO がヒドロキシン酸に変わることは, Christophersen¹⁴⁾によっても認められており, LMHPOはラットの肝酵素により9-ヒドロキシン-10,12-オクタデカジエン酸などになるという。Findlay, Bergan ら¹⁵⁾は $1-^{14}\text{C}$ -LMHPOを家兎に静注した場合にも腎脂肪組織中に ^{14}C -ヒドロキシン酸が存在することを認め, これは脂肪酸HPO還元酵素が組織中に存在するとして前の報告を再確認するものと述べている。

POの静注試験はPrivett ら¹⁰⁾も行なっている。すなわち, 同氏らはリノール酸メチルオゾナイドの毒性を検討する際, 対照としてLMHPOを用いているが, この報告のうちHPOに関する部分を要約すると, まずLMHPOを前述¹⁰⁾のように精製し, これをラットの血清を用いて乳化し, 雄ラットの尾静脈より注射した。HPOを注入したラットはほとんど6時間以内に死亡した。内臓諸器官の状態をみると, 外観的に異常を生じたものは肺のみであった。肺は水腫を生じて肥大し, 著しい溶血がみられた。肺の肥大は水腫と肺中のトリグリセリド(TG)が増加したためと思われた。肺にはTBA反応物質が認められたが, 注入したHPOは見い出されなかった。また, HPOの経口投与も行なっているが, この際は静注のような毒性は現われず, 10倍ぐらいの量を与えるとはいじめて静注と同様の毒性が現われた。24時間後の状態をみると, 腸は肥大し, 下痢を起こしたが, 他の諸器官の組織には著しい変化は認められなかった。また, 血清, 心, 肝などからはTBA反応物質やPOは見い出されなかった。HPOを静注した際, 組織のビタミンは破壊されず, 赤血球もジアル酸による溶血を起こさないようにみえた。肺のアラキドン酸はHPOを静注すると対照群の2倍になった。こうした結果によると, HPOの静注による障害はまず肺(充血と溶血)より起こるとしている。

Gamage ら¹⁶⁾はLMHPOとその二次分解物の大腸菌生育に及ぼす影響について検討し, 前者による阻害作用は抗酸化剤により部分的に阻止されるが, 二次分解物ではこうした効果は認められず, LMHPOの阻害機構はラディカル型であるのに対し, 二次分解物の場合は別の機構が考えられるとした。

脂質HPOによる酵素の不活性化については古くから多くの報告が出されているが, 最近のものをいくつか紹介すると, 松下ら¹⁷⁾はLMHPOによりribonucleaseが著しく阻害されることを認めている。ただし, この報告のなかでトリブシン, キモトリブシンなどについてはHPOばかりでなく, 対照として用いたリノール酸によ

っても阻害されるとしている。

Chio, Tappel ら¹⁸⁾はsulfhydryl 酵素はもっとも脂質過酸化過程における中間体により不活性化されやすいこと, ポリエン酸の酸化物はリボヌクレアーゼA(RNase)のような非スルホヒドシル酵素も不活性化すること, RNaseの消失に伴い, 酵素と脂質の反応物中にけい光性物質を生ずること, 不活性化RNaseはけい光のあるモノマー, ダイマー, ポリマーとなること, 二次酸化物の一つであるマロンアルデヒドでRNaseを不活性化させると, やはりけい光を示すこと, マロンアルデヒドはRNaseの分子内または分子間交差結合の役をすることと思われること, けい光物質はタンパク質の二つのε-アミノグループとマロンアルデヒド間に形成される共役imine構造により生ずることと思われることなどを報告している。つづいて同氏ら¹⁸⁾はミクロゾーム膜の脂質過酸化による変化について検討し, 膜の親油性区分の分裂により, 膜に結びついたNADPHチトクロームCレダクターゼの消失が起こることを認めている。また膜脂質層におけるけい光物質の生成はPOの存在下においてのみ起こるとしている。このほか, Chen ら²⁰⁾は過酸化リノール酸およびそのK塩のβ-glucuronidaseに対する影響を*in vitro*で調べているが, β-G活性は両者によって減少すること, ただし, incubationの時間によっては活性の低下は一部押えられることをみた。また本報告中, α-Tocやグルタチオンにより酵素活性の低下は押えられるが, BHAやBHTなどの合成抗酸化剤ではあまり効果がないと述べている。また, Wills²¹⁾は肝ミクロゾームのサスペンションに脂質過酸化物を生ぜしめることglucose-6-phosphatase活性の著しい減少を認めている。一方, 松下ら²²⁾はHPOのペブシン活性に及ぼす影響について調べ, ペブシンをLMHPOとincubateすると, 酸性側(ただしpH 4.0を除く)ではむしろ活性化されることを認めた。また, Shibata, Kinumaki ら²³⁾はPOV 2617のLMHPOをラットに与えた場合, トリグリセリド合成酵素およびα-グリセロリン酸脱水素酵素の活性には, はっきりした変化を認めなかったという。

脂質過酸化物とタンパク質よりの複合体の形成は, 酵素の不活性化とも関連する問題だが, 本問題の基礎をつくったともいえるTappelらの報告についてはシンポジウム要旨¹⁾に述べた。その後, 本問題についての報告はいくつか出されており, たとえば, Janicek²⁴⁾は水の存在下での酸化脂質とカゼインとの複合体の生成を検討し, 本複合体は酸分解によってのみ分解すること, 複合体の生成にカルボキシル基やエステル類は関与しないこと, PO, エポキシ, ケト基などは複合体の室温での生成に僅か関与すること, 複合体の生成は非常に早く10分程度しかかからぬこと, POは徐々に分解するが, これは多分カゼインのSH基との反応によるとしている。Roubal²⁵⁾

は過酸化脂質に由来するフリーラジカルによりタンパク質の重合やアミノ酸の分解がおこることを認めている。また、森、松下²⁰⁾は脂質酸化物による重合機構について検討しているが、この際、LMHPOを前報¹⁰⁾同様ラジカル物質、二次酸化生成物を非ラジカル物質として用いている。そして、ラジカル反応によるタンパク質の重合はタンパク質によって異なるが、Tappel らも述べたように、HPOによりタンパクラジカルを生じ、つぎつぎとポリマーが生成されるように思われた。二次酸化物による重合は分子間におけるカルボニル-アミン交差結合反応によると考えている。

水溶性ビタミン類に対する影響についてもいくつか報告されており、木村²¹⁾は脂質 PO および二次酸化物はビタミン B₁ を分解することを認め、新田²²⁾は LMHPO はアスコルビン酸の酸化を促進し、その効果は pH が大きくなるほど大になるという。一方、Lamden ら²³⁾はモルモットにアスコルビン酸欠酸敗飼料を与えたところ、壊血病の症状はアスコルビン酸欠非酸敗飼料を与えたものよりも軽いことを認めた。ところが、アスコルビン酸欠酸敗飼料に α -Toc を添加すると、酸敗飼料が示した抗壊血病効果は阻害された。そこで、著者らはヒドロキシラジカルが脂質過酸化により供給され、抗壊血病的な役割を果たしたのではないかと主張している。

脂溶性ビタミンとくに E の効果については多くの報告があり、ヒト、ラットばかりでなく魚についても認められている。坂口²⁴⁾は POV 500 前後の酸化タラ肝油をハマチに与えると給与群の10%にコイの背コケ病に似た症状が現われるが、V.E を与えるとこうした症状は生じないという。また、V.E を与えないと筋肉の TBA 値が高くなることを認めている。竹内²⁵⁾は ¹⁴C-LMHPO (POV 5960) をコイに与えた場合、ほとんど吸収されないが、V.E をともに与えると、放射性脂質が体各部で見い出されるとしており、これは V.E が HPO の分解や腸管膜の安定化に働き、HPO の分解吸収を促進したものと考えている。

Privett ら²⁶⁾も酸化油の毒性に対する V.E の効果を検討している。すなわち、V.E を含む飼料に10%のニン油、サフラワー油などのエチルエステルを混じ、室温で酸化させ、雄ラットに与え、4週間後、内臓の体重に対する割合をみている。この際、肝は対照に比べ僅か小さくなったに過ぎなかったが、脂肪褥、睾丸などは小さくなり、肺、心は肥大した。各器官中の TG をみると、血清中では対照に比べ著しく減少し、肝でも少なくなった。ところが、心、脂肪褥では多くなった。血清、肝の TG が減ったのは飼料摂取量が少ないためと思われたが、心と脂肪褥で TG がふえたのはこれらの器官に脂肪が異状に蓄積したためと思われる。なお、酸化ニン油、サフラワー油の POV はかなり高かったが、これらを与えたラットの血清や諸器官に PO は見い出されな

った。飼料に添加した V.E はアセテートの形で与えたため破壊されなかった。Olcott ら²⁸⁾はかつて E アセテートは飼料中では抗酸化剤の役もしないし、酸化もされないと報告したが、本実験においても酸化油を与えたラットの諸器官中の E は分解されていない。なお、溶血の具合をみると、E 欠の対照群には当然溶血が起こったが、V.E を添加した酸化油給与群では酸化油による溶血の促進は認められず、この際、V.E は赤血球の膜脂質を守る働きをしていた。

以上の結果から考え、とくにどの組織を分析しても V.E の破壊が起こっていないところから、酸化油は体内の酸化促進作用はしないと考えられた。なお、心や脂肪褥に認められた脂肪の蓄積は酸化油の作用と思われるが、これは脂質の transport がうまくいかなかったためと思われた。ともかく、組織中に PO が見い出されないのは吸収の際にこわされるという報告¹⁸⁾からも肯定されるとしている。

ところで、筆者らの見出した炭素数5~9程度の HPOA の毒性発生機構はどのようなものであろうか。この点について、現在までに得られた結果を要約すると²⁴⁾、まずサフラワー油を40°で各種の段階に酸化し、それぞれのリパーゼ、パペインなどに対する影響をみたところ、酸化時間が長く、二次酸化物量の多いものほど、上記酵素をより失活させた。一方、ペプシンは二次酸化物により活性を増す傾向にあった。(前記のように松下²⁵⁾は HPO について同様の結果を発表している。) また、チトクローム C は HPO よりも二次酸化物により一層変性された。そこで、POV が下り、二次酸化物を多く含むサフラワー油より各区分を分別し、酵素に対する作用をみたところ、HPOA を含む区分による酵素不活性化作用はもっとも大であった。また、HPOA を分離し、ミトコンドリア中に存在する succinate dehydrogenase, thiokinase に対する作用をみると¹¹⁾、HPOA は HPO に比べはるかにこれらの酵素を失活させた。また、HPOA と HPO をマウスに与え、臓器の脂質を調べてみると、HPOA 給与群の胃、小腸、肝などの POV、Co.V は HPO 給与群よりも高くなった。HPO は従来からいわれているようにまったく吸収されないとは思えなかったが、小腸での分解ないし吸収されにくさが観察された。これに対し、HPOA はかなり吸収され、肝に運ばれるように思われた。また、HPOA と HPO の溶血に及ぼす影響をみたところ、HPO よりも HPOA 給与群の方が高い溶血率を示した。すなわち、赤血球膜は PO のみならず、二次酸化物によっても脆弱化されることが明らかとなった。これらの結果より、HPOA は反応性に富むため、消化器官に作用するとともに少なくとも一部は吸収され、体内各部組織へ運ばれ、代謝系酵素に阻害的に作用したり、膜組織を脆弱化させることにより毒性を発現するものと思われた。

(3) 加熱油の毒性

$$\begin{array}{l}
 \text{オレイン酸メチル} \\
 \text{オレイン酸メチル} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{R} \sim \text{C} \sim \\ \text{R}' \sim \text{C} \sim \end{array} \\
 \longrightarrow \begin{array}{c} \text{R} \sim \text{C} - \text{CH} - (\text{CH}_2)_n \text{COOCH}_3 \\ | \quad \searrow \\ \text{R}' \sim \text{C} - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_m \text{COOCH}_3 \end{array} \\
 \longrightarrow \begin{array}{c} \text{R} \sim \text{---} \text{---} (\text{CH}_2)_n \text{COOCH}_3 \\ | \quad \diagdown \\ \text{R}' \sim \text{---} \text{---} (\text{CH}_2)_m \text{COOCH}_3 \end{array}
 \end{array}$$
$$\begin{array}{l} \text{---}(\text{CH}_2)_x\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_y\text{CH}_3 \\ \text{---}(\text{CH}_2)_z\text{CH}_3 \end{array}$$

$$X + Y + Z = 16$$

$$X + Y = 7$$

$$Y = 6, 7, 8 \quad X + Y = 8$$

しているが、この際、加熱のはじめとあとにジャガイモを揚げ、これをメチルエステルとし、減圧で揮発成分を除いたのち、尿素非付加物を得、シリカゲルによるカラムクロマトで96区分に別け、GLCで分析したところ、136成分が得られた(油の0.42%)。これには脂環式化合物が含まれ、動物実験は行っていないが、これらが毒性を呈するのではないかと推定している。

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{---C}=\text{C---} \\ | \\ \text{---(CH}_2\text{)}_n\text{---} \\ n=3\sim 4 \end{array} & \begin{array}{c} \text{R---} \boxed{\text{O}} \text{---R} \end{array} & \begin{array}{c} \text{---C---(CH}_2\text{)}_8\text{---C---} \\ | \\ \text{---O---} \end{array} \\ \begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{C---C---R} \\ | \quad || \\ \text{C} \quad \text{C} \end{array} & & \begin{array}{c} \text{---C---C---(CH}_2\text{)}_4\text{---C---} \\ | \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$$

非環状で C-C 結合をし、-OH をもつダイマー (2.8%)

$$\begin{array}{c} \text{-C-C-C-} \\ | \quad | \\ \text{-C-C-C-} \end{array},$$

$$\begin{array}{c} \text{-C-C-C-} \\ | \quad | \\ \text{OH} \quad | \\ \text{-C-C-C-} \end{array},$$

それでは、重合油の栄養価ないし毒性について、最近、どのような報告が出されているかという点、自動酸化油に比べ報告数は少ない。

従来からレストランやドーナツ工場などで使用している油はほとんど毒性を示さないという報告が多いが、Nolen ら⁴²⁾は部分水添大豆油 (I. V. 108), ワタミ油, ラードなどを用いて揚げ物をし、泡立ちがひどくなった

有毒成分はカルボニル基、水酸基各2個、エポキシド1個を含むグリセリドダイマーと考えられた。また、グリセリド2分子はエステル側から数え8位のところでC-C結合しているものが多いと考えられた。これらの結果から、本有毒成分の構造は下記に示すようなものと推定した。

さらに筆者らは本グリセリドダイマーによる毒性発生機構について検討した^{46)~49)}。まず、有毒グリセリドダイマーの消化のされ具合をラットを用いて調べたところ、熱酸化重合油そのものよりも消化率は高く、有毒成分はかなり消化、吸収されることを認めた。有毒成分を与えたラットの臓器を調べてみると、有毒グリセリド

Table 2. Analytical Data of Used Commercial Frying Oils

	M. M. W.***	Co. V.****	A. V.	OH. V.	P. O. V.	I. V.
Fresh oil	850	10.6	0.08	0.10	0.4	130.0
Frying oil A*	820	35.2	0.5	0.32	0.9	124.4
Frying oil B*	860	23.6	0.5	0.20	0.5	128.2
Frying oil C*	840	80.8	6.8	0.43	0.5	124.2
Frying oil D*	970	144.6	7.3	0.76	1.6	108.5
Frying oil E*	840	53.2	1.5	0.35	0.6	103.5
Frying oil F*	840	32.0	0.8	0.22	0.4	55.2
Frying oil G*	830	53.7	5.4	0.55	0.2	61.4
TO**	1,280	206.0	1.8	0.57	1.2	106.6

* Frying oil A: Soybean oil used for frying of vegetables
B: Soybean oil used for frying of shrimps
C: Soybean oil used for frying of fish balls
D: Rape-seed oil used for frying of beancurds
E: Rice oil used for frying of dough-cakes
F: Lard used for frying of instant-cook Chinese noodle
G: Lard used for frying of pork cutlets

**** Thermally oxidized soybean oil heated for 70 hr**

*** Mean molecular weight

**** Carbonyl value

Table 3. Yield(%) and M. M. W. of the Fractionated Oils

	Isopropyl ether		IPE : diethyl ether (1 : 1)		Diethyl ether		Acetone
	Yield	M. M. W.	Yield	M. M. W.	Yield	M. M. W.	Yield
Fresh oil	97.4%	850	0.2%	670	(0.06) %	1,210	Tr.
Frying oil A	99.0	820	0.6	790	0.2	970	Tr.
Frying oil B	96.7	860	0.1	540	(0.02)	540	0.2
Frying oil C	97.4	840	1.6	1,160	0.6	1,310	0.2
Frying oil D	95.0	950	2.4	1,240	1.5	2,090	0.9
Frying oil E	98.7	840	0.3	670	0.3	670	Tr.
Frying oil F	96.8	840	0.4	520	(0.05)	890	Tr.
Frying oil G	90.0	810	0.8	850	0.1	860	Tr.
TO	92.2	1,220	2.2	3,990	2.4	2,250	Tr.

イマーは消化管内でモノグリセリドやジグリセリド程度まで分解されるようであった。ただし、C-C結合している脂肪酸ダイマー部分は切れることなく体内へ取り込まれるようであり、その一部は肝や血液にも移行するようであった。スイ臓リパーゼの有毒成分に対する消化性をみたところ、対照として用いた新鮮油に比べ消化速度はかなり遅かった。

熱酸化重合油給与による毒性発生を組織学的にみた報告は少ないが、筆者ら⁶⁰⁾が検討した結果では、肝の一部に細胞壊死がみられたほか、細胞離開がおり、細胞全体が疲弊していた。また、核酸は少なくなっていた。

以上の結果から考えると、有毒グリセリドダイマーは消化管に入り、分解速度はいくぶん遅いが、かなりのものが脂肪酸モノマーおよびダイマーに分解され、小腸粘膜から取り込まれること、肝その他の臓器において官能基をもつ脂肪酸ダイマーが各種酵素と複合体をつくることにより酵素作用を阻害し、栄養師の低下ないし毒性を生ずるのではないかと推定した。なお、熱酸化重合油中のグリセリドテトラマー以上の高重合物は吸収されず、そのまま排泄されるようであった⁴⁰⁾。

ところで、筆者らの得た有毒グリセリドダイマーはかなりきびしい条件下に生じたものであるため、日常食べている油のなかに存在するか否かが問題となる。そこで、市販の食品を揚げた油を集め、有毒成分の存在を調べたところ、Table 2, 3 のような結果が得られた⁶⁰⁾。

本結果によると、7種の供試油の多くはグリセリドダイマー（エチルエーテル溶出区分）含量0.3%以下で、あまり問題とする必要はないと思われたが、油揚げを揚げるのに用いたナタネ油中には1.5%、さつま揚げを揚げた大豆油には0.6%含まれていた。そこで、これら揚げ油の栄養価を動物試験により検討したところ、油揚げを揚げた油は新鮮油に比べかなり成長が劣り、肝もいくぶん肥大した。油揚げは小規模な工場で多くつくられ、こうしたところでは長期間使用した油をとりかえず反覆使用しているところが多いようで今後問題にすべきこと

と思われる。なお、食用油脂は製造中、高温処理が行なわれるので、有毒成分を生ずるのではないかと考え、その存在の有無を調べたところ⁶¹⁾、動物性マーガリンにくぶん高分子物を認めたが、筆者らのいう有毒グリセリドダイマーのように官能基に富んだものではなかった。また、大豆白絞油、ゴマ油などからはほとんど高分子成分を見出さなかった。

以上のほか、最近の重合油に関する報告をいくつか紹介すると、梶本ら⁶²⁾は大豆油を180°で加熱した場合、加熱時間の長いものほど消化されにくく、ラットの肝が肥大するとしている。また、同氏らは加熱油を与えたラットの血液、肝ではC_{18:2}酸が減り、C_{18:1}酸が多くなると述べている⁶³⁾。これらの結果をふまえ、トコール誘導体をラットに与えてみると、成長は改善され、とくに α -Tocに効果を認めた。また、肝脂質のリノール酸量も増加したという^{64), 65)}。なお、Alfin-Slater ら⁶⁶⁾はワタミ油およびその軽度水添油、大豆油などを177~196°, 135時間、加熱したものをを用い動物実験を行なっているが、この際、ポリエン酸のTocに対する割合は、油の種類により640:1から9:1であった。しかし、Tocの少ないものでもラットの成長に対する必要量としては十分であったと述べている。梶本ら⁶⁰⁾は熱酸化重合大豆油をラットに与えた場合の肝タンパク質のアミノ酸組成をみると、チロシン、ヒスチジン、イソロイシン、セリンなどが減少するという。

最近、Perkins ら⁶⁸⁾はアセテートの代謝に及ぼす加熱油の影響について検討している。すなわち、コーンオイルを190°, 132時間加熱し、ラットに与え、1-¹⁴C-sodium acetateを静注し、呼気CO₂と肝脂質の放射能を測定した。新鮮油給与対照群では給与放射能の半分が50分で¹⁴CO₂として出されたが、加熱油では90分を要した。また、加熱油を与えたラットの肝脂質（主にTG）は増加し、モノエン、ジエン、トリエン区分の放射能は新鮮油のほとんど2倍になった。このことは上記不飽和酸の合成にアセテートが選択的に利用されたことを意味

するとしている。

(4) 食用油の変敗防止法

以上述べたように、食用油脂ないし油脂を含む食品は時間の経過とともに劣化する。また油を加熱した場合、重合物を生成し、栄養価が低下する。こうした油脂の悪変を防止するためにはいろいろな方法が講じられているが、最近報告されたものをいくつか紹介してみると、まず岡田ら⁶⁰⁾は即席ラーメンを製造する際、BHTを加えたラードを用い140~150°、90秒のフライを行なったところ、37°に保ってもラーメンは6か月後でも変敗臭を生じなかったという。従来、BHA、BHTを揚げ油に添加して揚げ物を行なうと、分解または揮発により、その効果は少ないとされていたが、即席ラーメンの場合は揚げ温度が一般のフライ温度(170~180°)より低いため残存したものと思われる。また、同氏らはラードにゴマ油を加えた油を用いると、誘導期の延長が認められたとしている。さらに岡田⁶⁰⁾はラードに天然Tocミックスを0.03%添加するとかなりの効果があること、シネルギストとしてクエン酸を添加すると著しい抗酸化性の向上を認めた。また、従来からいわれているように、TocミックスはBHAよりも熱安定性が高いことも報じている。桑原ら⁶¹⁾もビタミンEを添加したラードでラーメンを揚げると有効なことを認め、最適添加量は0.01~0.05%とした。梶本ら⁶²⁾は燻液を洋半紙に吸収させたものをフライ豆、即席メン、煮干イワシなどに加えて包装し、かなりの効果を認めている。藤尾ら⁶³⁾は凍結乾燥食品における香辛料と野菜の抗酸化性について検討し、クロブ、タイム、ナツメグなどによる抗酸化性を認め、ニンニク、ネギなどの揮発成分は乾燥食品に移行し抗酸化性を示すという。日下ら⁶⁴⁾は即席ラーメンの包装には赤色セロファンがよいこと、Winterら⁶⁵⁾は各種食用油脂を長期間保存した際の変化を調べ、窒素ガス中の保存を推奨している。また、湯木ら⁶⁶⁾は小麦粉あられに食用油を加えたものを包装した場合、暗所に保存するのがもっとも含有油の変化が少ないこと、窒素置換包装が効果的なことを認めている。

以上は油脂を含む加工食品の貯蔵中における変化を防止しようとするものだが、揚げ物に使う揚げ油の熱酸化重合による劣化を防止しようという報告も出されている。たとえば、米国においては、methyl polysiloxane 10 ppmの添加が認められている⁶⁷⁾。また、Changら⁶⁸⁾は α -シトステロールをフライ油に加えるとリノール酸の分解が押えられるとしている。Simsら⁶⁹⁾はサフラワー油を180±5°で加熱した場合、ふつうの植物ステロールには効果を認めなかったが、4- α -メチルステロールは有効であり、vernonia油より分離したvernosterolと4 β -avenasterolも有効であった。また、フコステロールはいくぶん効果があったが、スピナステロールはプロオキシダントとして作用した。同氏ら⁷⁰⁾はさらに界面活

性剤の効果について調べたところ、phosphated monoおよびdiglyceridesのソーダ塩がもっとも有効だったとしている。

以上、変敗油の毒性につき、最近の報告を中心にして概略を述べたが、不足の点は文献にあげた総説その他を参考とされたい^{71)~76)}。

文 献

- 1) 金田：食衛誌，11，321 (1970)。
- 2) 伊藤，磯部，関田，大沢，武田，田辺，長尾，桑村：同上，11，268 (1970)。
- 3) 関田，大沢，伊藤，田辺：同上，11，275 (1970)。
- 4) 三浦，俣野，宮木：油化学，16，503 (1967)。
- 5) 三浦，工藤，土田，俣野，宮木：同上，18，726 (1969)。
- 6) 天野：食衛誌，13，293 (1972)。
- 7) 吉岡，金田：油化学，21，316 (1972)。
- 8) 吉岡，金田：第12回油化学討論会予稿集 104 (1973)。
- 9) 土田，三浦，宮木：油化学，22，259 (1973)。
- 10) Cortesi, R., Privett, O. S.: Lipids 7, 715 (1972)。
- 11) 吉岡，金田：油化学，投稿中。
- 12) 衣巻，柴田，荒井：ビタミン，35，188 (1967)。
- 13) Bergan, J. G., Draper, H. H.: Lipids, 5, 976 (1970)。
- 14) Christophersen, B. O.: Biochem. Biophys. Acta, 164, 35 (1968), 176, 463 (1969)。
- 15) Findlay, G. M., Draper, H. H., Bergan, J. G.: Lipids, 5, 970 (1970)。
- 16) Gamage, P. T., Mori, T., Matsushita, S.: Agr. Biol. Chem., 35, 33 (1971)。
- 17) 松下，小林，新田：ibid., 34, 817 (1970)。
- 18) Chio, K. S., Tappel, A. L.: Biochemistry, 8, 2827 (1969)。
- 19) Bidlack, W. R., Tappel, A. L.: Lipids, 8, 177 (1973)。
- 20) Chen, L. H., Packett, L. V.: Am. J. Clin. Nutr., 24, 1232 (1971)。
- 21) Wills, E. D.: Biochem. J., 123, 983 (1971)。
- 22) 松下，小林：Agr. Biol. Chem., 34, 825 (1970)。
- 23) Shibata, N., Kinumaki, T., Okuda, H., Fujii, S.: ibid., 37, 1899 (1973)。
- 24) Janicek, P. J.: Nahrung, 12, 81 (1968)。
- 25) Roubal, W. T.: J. Am. Oil Chem. Soc., 47, 141 (1970)。
- 26) Mori, T., Matsushita, S.: J. Nut. Sci. Vit., 19, 173 (1973)。
- 27) 木村，飯尾，大熊，太幡：ビタミン，47，401 (1973)。

- 28) 新田, 松下: 栄養と食糧, 22, 506 (1969).
29) Lamden, M. P., Korson, R., Riego, P.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 137, 1249 (1971).
30) 坂口, 浜口: 日水産誌, 35, 1207 (1969).
31) 竹内: 日水産誌, 38, 155 (1972).
32) Privett, O. S., Reto Cortes: Lipids, 7, 780 (1972).
33) Olcott, H. S., Mattill, H. A.: J. Biochem., 104, 423 (1934).
34) 吉岡, 鈴木, 金田: 油化学, 21, 881 (1972).
35) Kaunitz, H., Johnson, R. E.: Lipids, 8, 329 (1973).
36) Sen Gupta, A. K.: Fette, Seifen, Anstrichmittel, 69, 907 (1967).
37) Perkins, E. G., Anfinsen, J. R.: J. Am. Oil Chem. Soc., 48, 556 (1971).
38) Artman, N. R., Smith, D. E.: *ibid.*, 49, 318 (1972).
39) Panlose, M. M., Chang, S. S.: *ibid.*, 50, 147 (1973).
40) Shue, G. M., Douglass, C. R., Firestone, D., Friedman, L., Friedman, L., Sage, J. S.: J. Nutr., 94, 171 (1968).
41) Perry, M. N., Campbell, A. M.: J. Am. Dietetic Assoc., 53, 575 (1968).
42) Nolen, G. A., Alexander, J. C., Artman, N. R.: J. Nutr., 93, 337 (1967).
43) Perkins, E. G., Vachha, S. M., Kummerow, F. A.: *ibid.*, 100, 725 (1970).
44) 大藤, 金田: 油化学, 21, 13 (1972).
45) Ohfuji, T., Kaneda, T.: Lipids, 8, 353 (1973).
46) 大藤, 岩元, 金田: 油化学, 19, 887 (1970).
47) 大藤, 金田: 同上, 19, 1068 (1970).
48) 大藤, 桜井, 金田: 同上, 21, 68 (1972).
49) 大藤, 金田: 同上, 19, 1071 (1970).
50) 大藤, 五十嵐, 金田: 同上, 21, 73 (1972).
51) 大藤, 千葉, 金田: 同上, 21, 79 (1972).
52) 梶本, 向井: 同上, 19, 66 (1970).
53) 梶本: 油化学, 20, 20 (1971).
54) 梶本, 吉田: 同上, 21, 307 (1972).
55) 吉田, 梶本: 同上, 21, 313 (1972).
56) Alfin-Slater, R. B., Morris, R. B., Aftergood, L., Melnick, D.: J. Am. Oil Chem. Soc., 46, 657 (1969).
57) 梶本, 吉田: 油化学, 22, 254 (1973).
58) Govind, M. K., Hemans, R. C., Perkins, E. G.: Lipids, 8, 342 (1973).
59) 岡田, 小山: 食品工誌, 16, 359, 365 (1969).
60) 岡田: 同上, 19, 255 (1972).
61) 桑原, 宇野, 藤原, 吉川, 宇田: 同上, 18, 64, 70 (1971).
62) 梶本, 池田: 栄養と食糧, 22, 611 (1969).
63) 藤尾, 日吉, 浅利, 住江: 食品工誌, 16, 241 (1969).
64) 日下, 深沢, 松尾: 栄養と食糧, 22, 582 (1969).
65) Winter, E.: Fette, Seifen, Anstrichmittel 67, 124 (1965).
66) 湯木, 和高: 食品工誌, 19, 200 (1972).
67) Martin, J. M.: U. S. Patent 2634213 (1953).
68) Chang, S. S., Mone, P. E.: U. S. Patent 2966413 (1960).
69) Sims, R. J., Fioriti, J. A., Kanuk, M. J.: J. Am. Oil Chem. Soc., 49, 298 (1972).
70) Artman, N. R.: Advances in lipid research 7, 245 (1969) Academic Press.
71) 林: 食品工誌, 17, 315 (1970).
72) 金田: 臨床栄養, 37, 580 (1970).
73) 俣野: 油化学, 19, 713 (1970).
74) Potteau, B., Causeret, J.: Rev. Franc. Corps Gras 18, 591 (1971).
75) 金田: 油脂, 24, No. 11, 155 (1971).
76) 金田: 化学と生物, 10, 250 (1972).
77) 松尾: 栄養と食糧, 25, 579 (1972).
78) 吉岡, 金田: 化学と生物, 11, 374 (1973).
79) 金田, 吉岡, 大藤: 脂質, 2, 397 (1972) 共立出版.