

病理組織学的検査報告書

2004年10月27日
株式会社 札幌総合病理研究所
病理組織検査責任者 竹内雅也

試験名：マウス70匹の安全性試験

受託番号： RE-3642

検査実施施設：株式会社 札幌総合病理研究所
〒064-0912 札幌市中央区南12条西18丁目3-17

目 次

材料及び方法	_____	頁 1
結 果	_____	2
考察及び結論	_____	3

材料及び方法

1. 検査材料

戸板女子短期大学 食物栄養科 栄養学研究室より提供されたホルマリン固定後の下記マウス70例の肝臓、腎臓、胃及び十二指腸について、病理組織標本作製及び病理組織検査を行った。

群	♂動物番号	♀動物番号	備考
コントロール	CON1～6	CON1～6	
酸化油1	1-1～6	1-1～6	♂1-4は欠
酸化油2	2-1～6	2-1～6	♀2-6は欠
酸化油3	3-1～6	3-1～6	
酸化油4	4-1～6	4-1～6	
酸化油5	5-1～6	5-1～6	

2. 方法

(1) 標本作製方法

常法により切り出し、パラフィン包埋、薄切の後、H.E.染色を行った。

(2) 検査方法

作製した標本の全視野を観察し、その代表的な部位の写真撮影を実施した。

結 果

胃の所見： 好中球浸潤が対照群の雌（Photo.1）雄各 1 例を含め各群に散見されたが、雄では酸化油 2 群の全例（うち 1 例は中等度：Photo.2）と酸化油 4 群の 3 例（うち 1 例は中等度：Photo.3）に認められ、これらの 2 群で胃壁の炎症が進行しているものと考えられた。しかし、雌の各群は 1 例以内の頻度であり、対照群との差異はみられず、酸化油 5 群に異常所見はみられなかった（Photo.4）。なお、これらの好中球浸潤は胃壁の粘膜固有層及び粘膜下織に出現したものであった。

十二指腸の所見： 自己融解（Autolysis）と考えられる所見が雌で対照群（Photo.5）、酸化油 3 群（Photo.6）及び酸化油 4 群の各 1 例にみられたが、その他の例に異常は認められなかった（Photo.7）。

肝臓の所見： 胆管炎（Photo.8）が酸化油 5 群の雄 2 例にみられた他、対照群の雌 1 例に中等度の脂肪空胞及び高度の核の大小不同の所見（Photo.9）が認められた。

腎臓の所見： 全例に異常は認められなかった。

考察及び結論

胃の好中球浸潤が酸化油 2 群の雄全例と酸化油 4 群の半数 (3 例) に認められ、これらの群に胃壁の急性炎症が発生したものと考えられる。同様の所見は対照群を含む各群の少数例にも出現しており、本試験の動物 lot にこれらの下地となる変化が存在していた事も推測された。

肝臓では、酸化油 5 群の雄 2 例のみに胆管炎がみられたが、軽度の所見であった。また、対照群の 1 例に異常がみられたが、偶発的な所見と考えられた。

その他、十二指腸の自己融解 (Autolysis) は剖検後の処置不全による変化と考えられ、腎臓には異常所見は認められなかった。



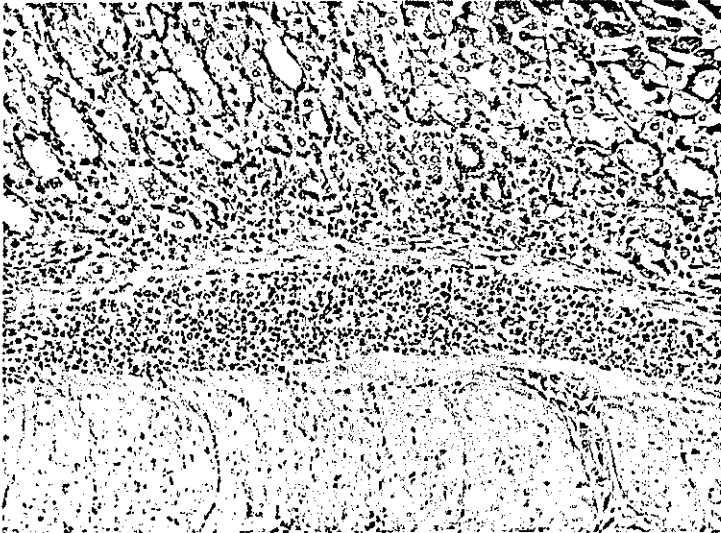
<p>Photo.1</p> <p>群：コントロール</p> <p>動物番号：♀CON-5</p> <p>臓器：胃</p> <p>所見：好中球浸潤（+）</p> <p>HE 染色 ×140</p>	
<p>Photo.2</p> <p>群：酸化油 2</p> <p>動物番号：♂2-2</p> <p>臓器：胃</p> <p>所見：好中球浸潤（++）</p> <p>HE 染色 ×140</p>	
<p>Photo.3</p> <p>群：酸化油 4</p> <p>動物番号：♂4-2</p> <p>臓器：胃</p> <p>所見：好中球浸潤（++）</p> <p>HE 染色 ×140</p>	

Photo.4

群：酸化油5

動物番号：♀5-3

臓器：胃

所見：異常所見なし

HE 染色 ×140



Photo.5

群：コントロール

動物番号：♀CON-1

臓器：十二指腸

所見：自己融解 (+)

HE 染色 ×70

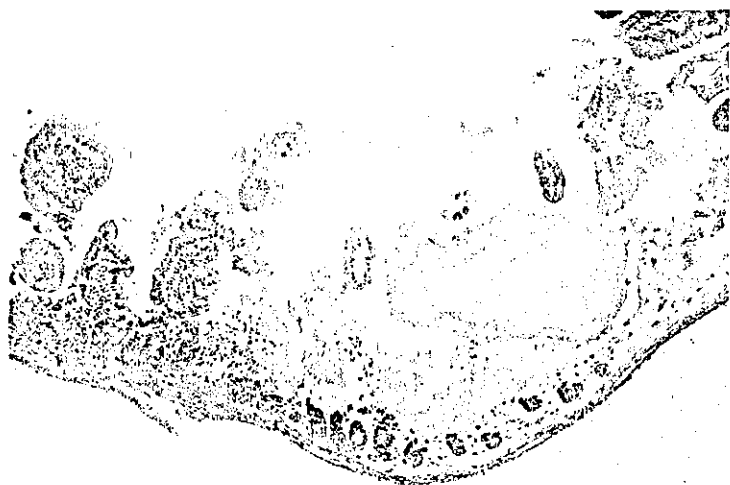


Photo.6

群：酸化油3


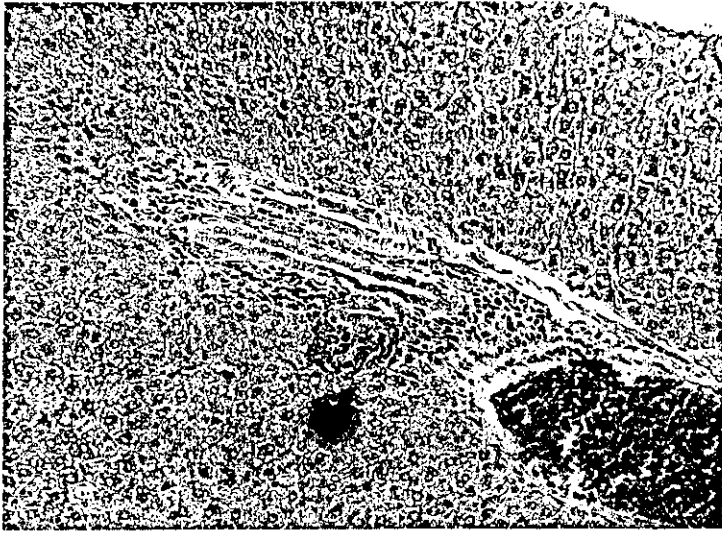
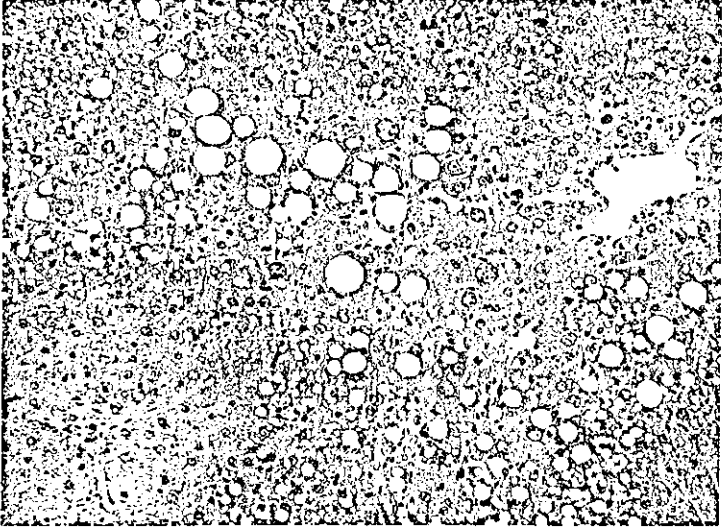
動物番号：♀3-2

臓器：十二指腸

所見：自己融解 (+)

HE 染色 ×70



<p>Photo.7</p> <p>群：酸化油 1</p> <p>動物番号：♀1-3</p> <p>臓器：十二指腸</p> <p>所見：異常所見なし</p> <p>HE 染色 ×70</p>	
<p>Photo.8</p> <p>群：酸化油 5</p> <p>動物番号：♂5-3</p> <p>臓器：肝臓</p> <p>所見：胆管炎 (+)</p> <p>HE 染色 ×140</p>	
<p>Photo.9</p> <p>群：コントロール</p> <p>動物番号：♀CON-3</p> <p>臓器：肝臓</p> <p>所見：脂肪空胞 (++)</p> <p>核の大小不同 (+++)</p> <p>HE 染色 ×140</p>	

資料 3

油脂の酸化と毒性に関する論文一覧と主要論文

年	題目	著者	雑誌	号	ページ
1926	脂肪の栄養価(第一報)奇数脂肪酸を含めるTriglycerideに就て	尾崎準一	農化	2	10-29
1926	脂肪の栄養価(第二報)オキシン酸を含めるTriglycerideに就て	尾崎準一	農化	2	845-861
1927	脂肪の栄養価に就て(第三報)	尾崎準一	農化	3	977-1011
1932	脂肪の栄養価(第五報)	尾崎準一	農化	8	1286-1303
1937	肝油の過剰による栄養障害と之を防止する酵母の効力に就て	百田正信	農化	13	120-147
1943	THE EFFECT OF CERTAIN DIETARY INGREDIENTS ON THE KEEPING QUALITY OF BODY FAT	Barnes, R. H., Lundberg, W. O., Hanson, H.T. and Burr, G. O.	J. Bio. Chem.	149	313-322
1945	Toxicity of Rancid Fats	Quackenbush, E. W.	Oil & Soap	22	336-338
1949	Spectrophometric Studies of the Oxidation of Fats. VIII. Coupled Oxidation of Carotene	Holman, R. T.	Archives Biochem.	21	51-57
1950	Spectrophometric Studies of the Oxidation of Fats. IX. Coupled Oxidation of Vitamin A Acetate	Holman, R. T.	Archives Biochem.	26	85-91
1951	脂肪の栄養価に関する研究(第 I V 報) 重合鱈油の栄養価(其の二)	東秀雄、金田尚志、石井清之助	日水誌	16	329-334
1951	Studies to determine the nature of the damage to the nutritive value of some vegetable oils from heat treatment II. Investigation of the nutritiousness of the products of thermal polymerization of linseed oil	Crampton E.W., Common R.H., Farmer F.A., Berryhill F.M. and Wiseblatt L.,	J. Nutrition	44	177-189
1951	The effect of heat treatment on the nutritional value of some vegetable oils	Crampton E.W., Common R.H., Farmer F.A. and Berryhill F.M.	J. Nutrition	43	431-440
1951	STUDIES TO DETERMINE THE NATURE OF THE DAMAGE TO THE NUTRITIVE VALUE OF SOME VEGETABLE OILS FROM HEAT POLYMERIZATION	Crampton E.W.,	J. Nutrition	43	533-539
1952	Studies on the nutritive values of lipids(part V II) Nutritive values of component fatty acids of hardened sardine oil	Kaneda, T. and Ishii S.	J. Japan Soc. Food Nutr.	5	78-81
1952	RANCID LARD EFFECT ON RATS FED COMPLETE AND RIBOFLAVIN-DEFICIENT DIETS	Kaunitz, H., Johnson, R. E. and Slanetz, C.A.	J. Nutr.	46	151-159
1952	The Effect of Oxidized Fatty Acids on the Activity of Certain Oxidative Enzymes	Bernheim, F.	Arch. Biochem. Biophys.	38	177-184
1953	脂肪の栄養価に関する研究(VIII) 高度不飽和脂肪酸の栄養価及び毒性について(1)	金田尚志、石井清之介	日水誌	19	171-177
1953	Studies to determine the nature of the damage to the nutritive value of some vegetable oils from heat treatment III. Segmentation of toxic and non-toxic material from the esters of heat-polymerized linseed oil by distillation and by urea adduct formation	Crampton E.W., Common R.H., Farmer F.A., Wells A.F. and Crawford D.	J. Nutrition	49	333-346
1954	脂肪の栄養価に関する研究-X I. 高度不飽和脂肪酸の栄養価及び毒性について(2)	Kaneda, T. et al	Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries	20	50-57
1954	脂肪の栄養価に関する研究-X II. 高度不飽和脂肪酸の栄養価及び毒性について(3)	Kaneda, T., Ishii, S. and Sakurai, H.	Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries	20	658-663
1954	高度不飽和脂肪酸の栄養価といわゆる魚油毒の本態	Kaneda, T., Ishii, S. and Sakai, H.	J. Jap. Soc. Food and Nutr.	7	188-197
1954	NUTRITIVE VALUE OR TOXICITY OF HIGHLY UNSATURATED FATTY ACIDS. I	Kaneda, T., Sakai, H. and Ishii, S.	J. Biochem	41	327-335
1954	魚油の毒性に関する研究(第二報)	松尾登	生化学	26	581-583
1954	Studies on the toxicity of fish oil	Matsuo N.	J. Biochem	41	481-487
1955	Nutritive value of heated vegetable oils	Raju N.V. and Rajagopalan R.	Nature	176	513-514
1955	Studies of the Mechanism of Vitamin E Action. III. <i>In vitro</i> Copolymerization of Oxidized Fats with Protein	Tappel, A. L.	Arch. Biochem. Biophys.	54	266-280

1955	The Inhibition of Certain Mitochondrial Enzymes by Fatty Acids Oxidized by Ultraviolet Light or Ascorbic Acid	Ottolenghi, A.	Arch. Biochem. Biophys.	56	157-164
1955	NUTRITIVE VALUE OR TOXICITY OF HIGHLY UNSATURATED FATTY ACIDS. II	Kaneda, T., Sakai, H. and Ishii, S.	J. Biochem	42	561-573
1955	Antagonism of fresh fat to the toxicity of heated and aerated cottonseed oil	Kaunitz H., Slanetz C.A. and Johnson R.E.	J. Nutrition	55	577-587
1956	Biological effects of the polymeric residues isolated from autoxidized fats	Kaunitz H., Slanetz C.A. and Johnson R.E.	J. Am. Oil Chem. Soc	33	630-634
1956	STUDIES TO DETERMINE THE NATURE OF THE DAMAGE TO THE NUTRITIVE VALUE OF SOME VEGETABLE OILS FROM HEAT TREATMENT	Crampton E.W.,	J. Nutrition	60	13-24
1956	Nutritional properties of the molecularly distilled fractions of autoxidized fats	Kaunitz H., Slanetz C.A., Johnson R.E. and Guilmain J.	J. Nutrition	60	237-244
1957	魚油の毒性	松尾 登	化学の領域		970-979
1957	Studies on the nutritional and physiological effects of thermally oxidized oils	Johnson O.C., Perkins E., M. Sugai and Kummerow F.A.	J. Am. Oil Chem. Soc	34	594-597
1957	Studies to determine the nature of the damage to the nutritive value of menhaden oil from heat treatment	Crampton E.W., Common R.H., Farmer F.A. and DeFreitas A.S.W.	J. Nutrition	62	341-347
1957	魚油の毒性に関する研究(第9報)	松尾 登	栄養と食糧	10	255-259
1958	魚油の毒性に関する研究(III)	松尾 登	生化学	29	769-772
1958	魚油の毒性に関する研究(VI) 高度不飽和脂肪酸エチルエステル酸化物の蛋白質およびアミノ酸に対する作用について	松尾 登	生化学	29	773-777
1958	魚油の毒性に関する研究(V)	松尾 登	生化学	29	807-812
1958	高度不飽和脂肪酸の酸化に関する2,3の考察	松尾 登	生化学	29	812-815
1958	魚油の毒性に関する研究(VII) 酸化せる市販肝油の毒性について	松尾 登	生化学	29	816-818
1958	魚油の毒性に関する研究(VIII) 白ネズミにおけるいわゆるセボレヤの発生について	松尾 登	生化学	29	885-891
1958	炭酸ガス気流中において加熱重合せる魚油の毒性について	Holman, R.T. and Greenberg, S.I.	J. Am. Oil Chem. Soc.	35	707
1958	A Note on the Toxicities of Methyl Oleate Peroxide and Ethyl Linoleate Peroxide	Venolia, A. W. et al.	J. Am. Oil Chem. Soc.	35	135-138
1959	Brown-Colored Oxypolymers of Unsaturated Fats	Schofield, C.R., Cowen, J.C.	J. Am. Oil Chem. Soc.	36	631-635
1959	Cyclization of Linolenic Acid by Alkali Isomerization	Kepler, J. G. and Sparreboom, S.	J. Am. Oil Chem. Soc.	36	308-309
1959	A Note on the Preparation of Pure Oleic and Linoleic Acid	Kaunitz H., Slanetz C.A., Johnson R.H., Knight H.B., Koos R.E. and Swern D.	J. Am. Oil Chem. Soc	36	611-615
1959	Influence of feeding fractionated esters of autoxidized lard and cottonseed oil on growth, thirst, organ weights and liver lipids of rats	Rice, E. E.	Acta. Physiol. Scand.	49	97-102
1960	On the Digestion and Absorption of Lipoperoxides	Rice, E. E.	J. Am. Oil Chem. Soc.	37	607-613
1960	A Nutritive Evaluation of Over-Heated Fats	Kummerow, F. A.	J. Am. Oil Chem. Soc.	37	503-509
1960	The American Oil Chemists' Society Fats in Human Nutrition	Kaunitz H., Slanetz C.A., Johnson R.H., Knight H.B., Koos R.E. and Swern D.	Metab. Clin. & Exp.	9	59-66
1960	Pharmacologic Effects of Fractions of Oxidized Oleate and Linoleate	Perkins E.G.	Food Technol.	10	508-514
1960	Nutritional and chemical changes occurring in heated fats: A review	Kaunitz, H.	J. Nutr.	70	521-527
1960	Nutritional Properties of Fresh Fats Added to Diets Containing Autoxidized Cottonseed Oil				
1960	Toxicity of air-oxidized soybean oil	Andrews J.S., Griffith W.H. and Mead J.F.	J. Nutrition	70	199-210

1960	魚油の毒性に関する研究(第11報) 加熱重合油の毒性について	松尾 登	油化学	9	37-41
1960	魚油の毒性に関する研究(第10報)	松尾 登	栄養と食料	12	118-121
1960	油脂の生化学的研究(第13報)	松尾 登	栄養と食料	12	206-209
1961	Heated Fats. I. Studies of the Effects of Heating on the Chemical Nature of Cottonseed Oil	Friedman, L.	J. Am. Oil Chem. Soc.	38	253-257
1961	Influence of Dietary Tallow on the Utilization of Calcium by the Laying Hen	Hunt, J.	Poultry Sci.	40	1193-1197
1961	FURTHER EVIDENCE FOR CYCLIC MONOMERS IN HEATED LINSEED OIL	MacDonald, J. A.	Can. J. Chem.	39	1906-1914
1961	油脂の加熱による性状の変化と栄養価の変化(第2報)	秋谷年見	栄養と食糧	14	397-400
1962	STUDIES OF THE GENERALIZED SHWARTZMAN REACTION PRODUCED BY DIET	Kaunitz, H., Malins, D. C. and McKay, D. G.	J. Exp. Med.	115	1127-1136
1962	The Effect of Vitamin E Administration on Rats Fed Fresh or Autoxidized Beef	Krier, C.	Am. J. Vet. Res.	22	795-799
1962	油脂の加熱及び酸化により変性について	松尾 登	栄養と食糧	15	69-83
1962	変敗油の調理に及ぼす影響(第14報)	梶本五郎	栄養と食糧	15	221-225
1962	変敗油の調理に及ぼす影響(第15報)	梶本五郎	栄養と食糧	15	382-387
1962	Nutritive Value of Methyl Linoleate and Thermal Decomposition Products	Bonitto, N. R.	J. Am. Oil Chem. Soc.	39	25-27
1962	The Influence of Temperature, Heating Time, and Aeration upon the Nutritive Value of Fats	Poling, C.E. et al.	J. Am. Oil Chem. Soc.	39	315-320
1963	Toxicity of Fatty Acid Ester Hydroperoxides.(28809)	Olcott, H. S.	Proc. Soc. Exp. Biol. Med.	114	820-822
1963	Nutritive Value of Marine Oils. II Effects of <i>in Vivo</i> Antioxidants in Feeding Menhaden Oil to Swine	Oldfield, J.E.	J. Am. Oil Chem. Soc.	40	357-336
1963	The Structure of a Cyclic C ₁₈ Acid from Heated Linseed Oil	Hutchison, R. B. and Alexander, J.C.	J. Org. Chem.	28	2522-2526
1963	油脂の栄養価に関する最近の諸問題	金田尚志	油化学	12	541-549
1963	油脂の加熱による変性	松尾 登	油化学	12	261-271
1963	撈物油のアワ立ちに関する研究(第1報) 大豆油の加熱による変化とアワ立ちとの関係	太田静行、向井 明、山本 巖	油化学	12	409-415
1963	加工食品にふくまれる油脂の過酸化物質	金田尚志、渡辺寛子	栄養と食糧	16	211-212
1963	Damage to proteins by peroxidized lipids	Desai, I. D. et al.	J. Lipid Res.	4	204-207
1964	HEATED FATS AND ALLIED COMPOUNDS AS CARCINOGENS	Arffmann, E.	Acta. Path. Microbiol. Scand.	61	161-180
1964	フライ油の劣化に伴う諸現象に関する問題	梶本五郎	油化学	13	631-641
1965	食用油脂の酸化と栄養価	秋谷年見	油化学	14	733-739
1965	加熱による油脂の性状の変化と栄養価の変化(第6報) 加熱留出物中の炭化水素の毒性	秋谷年見・清水妙子	油化学	14	520-522
1965	油脂食品の変敗について	金田尚志	食品衛生研究	6	39-46
1965	即席揚げめんの脂肪酸化の問題	山下太郎	油化学	14	754-760
1965	The Reaction of an Autoxidized Lipid with Proteins	Andrews, F. et al.	J. Am. Oil Chem Soc.	42	779-781
1965	Chemical Reactions Involved in the deep Fat Frying of Foods.IA Laboratory Apparatus for Frying Under Simulated Restaurant Conditions	Krishnamurthy, R. G., Kawada, T. and Chang, S. S.	J. Am. Oil Chem Soc.	42	878-882
1965	Heated Fats. IV. Chemical Changes in Fats Subjected to Deep Fat Frying Processes:Cottonseed Oil	Perkins, E.G. and Van Akkeren, L. A.	J. Am. Oil Chem Soc.	42	782-785
1965	Chromatographic Studies on Oxidative and Thermal Fatty Acid Dimers	Evans, C. D.	J. Am. Oil Chem Soc.	42	764-776
1965	MECHANISMS OF LIPID PEROXIDE FORMATION IN TISSUES ROLE OF METALS AND HAEMATIN PROTEINS IN THE CATALYSIS OF THE OXIDATION OF UNSATURATED FATTY ACIDS	Wills, E. D.	Biochem. Biophys. Acta.	98	238-251
1965	Nutritive value of heated vegetable oils	Raju N.V., Narayana M., Rao and Rajagopalan R.	J. Am. Oil Chem. Soc.	42	774-776
1965	Chemical and Nutritional Aspects of Oxidised and Heated Fats	C.H.Lea,Ph.D.,D.Sc.,Sc.D.,F.R.I.C.	CHEMISTRY AND INDUSTRY		244-248

1965	A long-term nutritional study with fresh and mildly oxidized vegetable and animal fats	Kaunitz H., Johnson R.E. and Pegus L.	J. Am. Oil Chem. Soc	42	770-774
1966	即席麵類の中毒について	稲垣 尚起	食品衛生研究	16	370-379
1966	食品油脂の変質に関する研究	三浦利之、武藤 健、俣野景典、宮本高明	食衛誌	7	67-71
1966	インスタント・スパゲッティによる食中毒の生物学的検討	宮本高明			
1966	Damage to proteins, Enzymes, and Amino Acids by Peroxidizing Lipids	Roubal, W. T. et al.	Arch. Biochem. Biophys.	113	5-8
1966	Polymerization of Proteins Induced by Free-Radical Lipid Peroxidation	Roubal, W. T. et al.	Arch. Biochem. Biophys.	113	150-155
1966	Oxidation of Reduced Glutathione by Subcellular Fractions of Rat Liver	Christophersen, B. O. et al.	Biochem. J.	100	95-101
1966	Inactivation of Glycerolaldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase by Linoleic Acid Hydroperoxide	Little, C. et al.	Biochem. J.	101	13p
1966	Oxidation of Small Thiols by Lipid Peroxides	Little, C. et al.	Biochem. J.	102	10p
1966	Chronic Toxicity of Methyl Linoleate Hydroperoxide for the Rabbit.	Kokatnur, M. G., Bergan J. G. and Draper, H. H.	Proc. Soc. Exp. Biol. Med.	123	254-258
1966	Mitochondrial Membrane Ghosts Produced by Lipid Peroxidation Induced by Ferrous Ion	Mcknight, R. C. et al.	J. Biol. Chem.	241	2757-2765
1966	Effects of moderate levels of oxidized fat in animal diets under controlled conditions	Camenter, K. J. et al.	Proc. Nutr. Soc.	25	25-31
1966	The effect of lipid peroxides on the biochemical constituents of the cell	O'Brien, P. J. et al.	Proc. Nutr. Soc.	25	9-18
1966	INCIDENCES NUTRITIONNELLES ET TOXICOLOGIQUES DE L'INGESTION D'HUILE DE LIN CHAUFFEE	Bpottreau B. and Cluzan R.	Annals. Biol. Anim. Biochem. Biophys.	6	47-64
1966	食品油脂の変質に関する研究 第1報 インスタント・スパゲッティによる食中毒の生物学的検討	三浦利之、武藤 健、俣野景典、宮本高明	食衛誌	7	67-71
1967	食用油脂の変質に関する研究(第2報) 即席めん類中の油脂の変質とその毒性について	三浦利之、俣野景典、宮本高明	油化学	16	503-505
1967	Nutritional aspects of thermally oxidized fats & oils	Kaunits H.	Food Technol.	21	278-280
1967	Autoxidation of polyunsaturated esters in water: chemical structure and biological activity of the products	Schauenstein, E.	J. Lipid Res.	8	417-428
1967	即席ラーメン用揚げ油の性状と栄養価および変質ラーメン含有油の茹でによる性状変化	橋本安司、金田尚志	栄養と食糧	20	177-180
1967	油の調理化学的研究(第3報) 即席ラーメンの脂肪について	橋本美佐子、森 豊夫	栄養と食糧	20	363-367
1967	Chemical Reactions Involved in the deep Fat Frying of Foods II. Identification of Acidic Volatile Decomposition Products of Corn Oil	Kawada, T., Krishnamurthy, R. G. Mookherjee, B.D. and Chang, S. S.	J. Am. Oil Chem Soc.	44	131-140
1967	Long-term Rat Feeding Sstudy with Used Frying Fats	Nolen, G. A., Alexander, J. G. and Artman, N. R.	J. Nutr.	93	337
1967	1. 酸化脂質の毒性にたいする脂溶性ビタミンの影響(1)放射性リノール酸過酸化物の加熱分解物にたいするビタミンEの作用	山川健重、衣巻豊輔、柴田宣和、荒井君枝	ビタミン	36	187
1967	The Effects of a Lipid Peroxide on Intracellular Metabolism	O'Brien, P. J. et al.	Biochem. J.	103	32p-33p
1967	EFFETS BIOLOGIQUES DES ACIDES GRAS OXYDES	Raulin J.	Annals Nutr. Aliment.	21	105-119
1968	On the postulated peroxidation of unsaturated lipids in the tissues of vitamin E-deficient rats	Bunyan, J. et al.	Brit. J. Nutr.	22	97-110
1968	2.放射性リノール酸、リノール酸過酸化物などとビタミンEとをシロネズミに与えたばあいの放射能の体内分布(予報)	衣巻豊輔、柴田宣和、荒井君枝、東 秀雄	ビタミン	34	268-269
1968	AN INTRACELLULAR GSH-PEROXIDASE WITH A LIPID PEROXIDE SUBSTRATE	Little, C. et al.	Biochem. Biophys. Res. Commn.	31	145-150
1968	The Effectiveness of a Lipid Peroxide in Oxidizing Protein and Non-Protein Thiols	Little, C. et al.	Biochem. J.	106	419-423
1969	Synthesis and Characterization of Fluorescent Products Derived from Malonaldehyde and Amino Acids	Chio, K. S.	Biochemistry	8	2821-2827

1969	油脂含有食品の酸化変性に関する研究 即席ラーメンの光線と温度による影響について	日下兵衛、深沢 輝、松尾 登	栄養と食糧	22	582-586
1969	食用油脂の変質に関する研究(第3報)	三浦利之、工藤光弘、土田雅子、俣野景典、宮本高明	油化学	18	726-729
1970	Free Radicals, Malonaldehyde and Protein Damage in Lipid-Protein Systems	Roubal, W. T.	Lipids	6	62-64
1970	Metabolism of 1-14C-Methyl Linoleate Hydroperoxide in the Rabbit	Findlay, G. M., Draper, H. H. and Bergan, J. G.	Lipids	5	970-982
1970	8-1, 脂防過酸化物の毒性とビタミンEの作用	衣巻豊輔	日水誌	36	854-859
1970	アマニ油、脂防過酸化物の毒性とビタミンEの作用	戸谷洋一郎、松尾 登	油化学	19	307-312
1970	劣化油の毒性	俣野景典	油化学	19	713-721
1971	Denatured Hemoproteins as Catalysts in Lipid Oxidation	Eriksson, C. E. et al.	J. Am. Oil Chem. Soc.	48	442-447
1971	Fat Oxidation at Low Oxygen Pressure: III. Kinetic Studies on Linoleic Acid Oxidation in Emulsions in the Presence of Added Metal Salts	Marcuse, R. E. et al.	J. Am. Oil Chem. Soc.	48	448-451
1971	5. 酸化脂質の毒性に対する脂溶性ビタミンの影響(VI) 溶血率の毒性に対するEの影響とリパーゼ活性の経時的変化	柴田宣和、衣巻豊輔、山川健重、片山 理	ビタミン	43	250-251
1972	5. 酸化脂質の毒性に対する脂溶性ビタミンの影響(VIII) 経口投与した酸化脂質のネズミ肝臓に及ぼす影響	山川健重、柴田宣和、衣巻豊輔、奥田祐道、藤井節郎	ビタミン	46	145-146
1972	自動酸化油の毒性に関する研究(第1報) 有毒成分の分離と同定(その1)	吉岡隆子、金田尚志	油化学	21	316-321
1972	自動酸化油の毒性に関する研究(第2報) 自動酸化油の酵素に及ぼす影響	吉岡隆子、金田尚志	油化学	21	881-887
1972		Cortesi R. and Privett O.S.	Lipids	7	715
1973	Purification of Cyclic Fatty Acid Esters: GC-MS Study	Perkins, E.G. and Iwaoka, W.T.	J. Am. Oil Chem. Soc.	50	44-49
1973	リノール酸メチルの酸化生成物とその毒性	土田雅子、三浦利之、武藤 健	油化学	22	259-264
1974	自動酸化油の毒性に関する研究(第3報) 自動酸化油の酵素に及ぼす影響	宮本高明			
1974	Studies on Peroxidative Hemolysis and Erythrocyte Fatty Acids in the Rabbit: Effect of Dietary PUFA and Vitamin E	吉岡隆子、鈴木勝久、金田尚志	油化学	23	321-326
1974	自動酸化油の毒性に関する研究(第4報) 自動酸化油投与時の代謝障害	Horn, L. R., Barker, M. O., Reed, G. and Brin, M.	J. Nutr.	104	192-201
1975	ビタミンEの紫外線皮膚損傷に対する効果-その電子顕微鏡研究-	吉岡隆子、立花邦子、金田尚志	油化学	23	327-331
1975	市販油含有即製品の酸化変質	綿引利充、小川和郎	ビタミン	49	121-142
1975	加熱魚油不飽和脂防酸化エステルから得た環状単量体の毒性に関する研究	戸谷洋一郎、戸谷永生、松尾 登	栄養と食糧	28	91-98
1976	重合油の構造と栄養価に関する研究(第10報) 重合油の構造と毒性(I)	戸谷洋一郎、戸谷永生、松尾 登	栄養と食糧	28	61-65
1976	重合油の構造と栄養価に関する研究(第11報) 重合油の毒性発生機構(1)	松尾 登	油化学	25	743-755
1976	Nutritional Effects of the Cyclic monomers of Methyl Linolenate in the Rat	斎藤衛郎、金田尚志	油化学	25	79-86
1976	ビタミンEに関する実験病理学的研究(II) ビタミンEのラット発育成長に及ぼす影響	斎藤衛郎、金田尚志	油化学	25	842-847
1976	自動酸化油投与マウスの病理組織学的研究(急性毒性)	Iwaoka W.T. and Perkins E.G.	Lipids	11	349-353
1976	Nutrition and Metabolic Studies of Methyl Esters of Dimeric Fatty Acids in the Rat	岩瀬敦子	ビタミン	50	169-175
1977	Studies on the toxicity of autoxidized oils. VI	白 台鴻、星野忠彦、金田尚志	栄養と食糧	29	85-94
1977	自動酸化油の長期投与飼育試験	ALEXANDER HSEIH and EDWARD G. PERKINS	LIPIDS	11	763-768
1977	Comparative toxicity of secondary oxidation products in autoxidized methyl linoleate	L. Raul Tovar, Takashi Kaneda	油化学	26	169-172
1978	熱重合油の毒性発生機構に関する病理組織学的研究(急性毒性)(2)	柴田宣和、衣巻豊輔 Tovar L.R. and Kaneda T.	油化学 Yukagaku	26 25	529-533 169-172
		斎藤衛郎、福井良弘、星野忠彦、金田尚志	栄養と食糧	31	135-141

1978	Determination of peroxide value by the colorimetric iodine method with protection of iodine as cadmium complex	Takagi T., Mitsuno Y. and Masumura M	Lipids	13	147-151
1978	自動酸化油の毒性に関する研究(第8報)	白台鴻、金田尚志	油化学	27	856-862
1978	自動酸化油の毒性に及ぼすトコフェロールの効果	白台鴻、金田尚志	油化学	27	851-855
1979	自動酸化油投与マウスの病理組織学的研究(慢性毒性)				
1979	Lipid oxidation products and chick nutritional encephalopathy	Budowski P., Bartov I., Dror Y., and Frankel E. N.	Lipids	14	768-772
1980	過酸化脂質・最近の話題	金田尚志	油化学	29	295-300
1980	Absorption of Methyl Linoleate Hydroxides in Rabbit	Nakatsugawa K and Kaneda T	油化学	30	74-77
1980	A colorimetric microdetermination of peroxide values utilizing aluminum chloride as the catalyst	Asakawa T., and Mathushita S.	Lipids	15	965-967
1981	Analysis of Thermally Abused Soybean Oils for Cyclic Monomers	J.B.MELTZER,E.N.FRANKEL,T.R.BESSLE R. and E.G.PERKINS	JAOCS (July)		779-784
1983	Absorption and Metabolism of Methyl Linoleate Hydroperoxides in Rats	Nakatsugawa K and Kaneda T	油化学	32	361-366
1984	Occurrence of Cyclic Fatty Acid Monomers in Frying Oils Used for Fast Foods	E.N.FRANKEL and L.M.SMITH,C.L.HAMBLIN,R.K.CREVELIN G and A.J.CLIFFORD	JAOCS	61	87-90
1986	Distribution of ¹⁴ C after oral administration of (U- ¹⁴ C) labeled methyl linoleate hydroperoxides and their secondary oxidation products in rats	Oarada M, Miyazawa T. and Kaneda T	Lipids	21	150-154
1986	Retardation of Rancidity in Deep-Fried Instant Noodles(Ramyon)				
1988	Studies on the Concentration of Oxidized Components of Abused Fats and the Application of HPLC to their Separation	K.L.Rho,P.A.Seib,O.K.Chung and E.G.Perkins and Suzanne Pinter	JAOCS	63	251-256
1990	Suggested mechanisms for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids	Pryor W. A. and Porter N. A.	Free Radic. Biol. Med.	8	541-543
1991	The Presence of Oxidative Polymeric Materials in Encapsulated Fish Oils	Vijai K.Sshukla and Edward G perkins	LIPIDS	26	23-26
1994	Rapid Determination of Double Bond Configuration and Position Along the Hydrocarbon Chain in Cyclic Fatty Acid Monomers	M.M.Mossoba,M.P.Yurawecz,J.A.G.Roach, H.S.Lin,R.E.McDonald,B.D.Flickinger	LIPIDS	29	893-896
1995	Assessment on the digestibility of oxidized compounds from [1- ¹⁴ C]linoleic acid using a combination of chromatographic techniques	Marquez-Ruiz G. and Dobarganes M. C.	J. Chromatogr. B	675	1-8
1996	Effects of Dietary Heated Fats on Rat Liver Enzyme Activity				
1997	The effects of Cyclic Fatty Acid Monomers on Cultured Porcine Endothelial Cells	Coidrjo Lamboni and Edward G.Perkins Brent D. Flickinger,Robert H. McCusker,Jr.and Edward G.P.Perkins	Lipids	31	955-962
1998	Cyclic Fatty Acid Monomers from Dietary Heated Fats Affect Rat Liver Enzyme Activity	Courdjo Lamboni,Lean-Louis Sebedio and Edward G.Perkins	Lipids	32	925-933
2003	4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress	Uchida K.	Prog. Lipid Res.	33	675-681
2003	Peroxide value determination	Hans-Jochen Fiebig	INFORM	42	318-343
2003				14	651-654

IV 摘 要

スマガツラの鮮度良好魚体、自然放置による不良魚体に於ける背肉、尾肉、腹肉及び血台肉4部につき第II報¹⁾による水蒸気蒸溜を行い、溜出比を比較考察した。

1. 鮮度良好魚体ではV-N, pHによる部位の鮮度差は明瞭でなかつたが第二溜出比によると背肉100、腹肉93、尾肉82、血台肉74の比にて鮮度差が見られ、不良魚体ではV-N, pHによる差が縮減せられるが、第二溜出比によると背肉75、腹肉75、尾肉75、血台肉66の比にて差が現われた。

然して3日間の自然放置により背肉は75%、腹肉は81%、尾肉は72%、血台肉は75%の鮮度低下を示した。

2. 全魚体の鮮度もある部位の溜出比に依つて現わす事は困難だが、2尾の鮮度を比較する為には同一部位の溜出比を較べる事によつて出来る。

文 献

- 1) 天野櫻之：東海水産報, No.1 pp.100-105 (1950).
- 2) 浅川栄三：日本水産誌, 19, 124 (1953).
- 3) " " " " 報 田内会長記念号投稿中,
- 4) " " " " , 19, 118 (1953).
- 5) 天野櫻之：“魚肉鮮度検査法” 公衆衛生社 (1949) p.15
- 6) 河津俊彦, 外3氏：日本水産誌, 18, 124 (1952).

脂質の栄養價に関する研究—Ⅷ—
高度不飽和脂肪酸の栄養價及び毒性について (I)

金田 尚志・石井 潜之助

(東海区水産研究所)

Studies on the Nutritive Values of Lipids—Ⅷ—

Nutritive Value or Toxicity of Highly Unsaturated Fatty Acids (I)

Takashi KANEDA and Seinosuke ISHII

According to the result from the experiments on nutritive values of fish oils conducted by Yoshida (1) and Ozaki (2), highly unsaturated fatty acids in the fish oils had toxic effect upon the growth of rats. So far this has been generally believed right. And existence of highly unsaturated fatty acids in fish oils have been accounted for the reason why fish oils are inferior to other oils from nutritive point of view.

It is a well known fact that highly unsaturated acids are rapidly oxidized when they come in contact with the air. For this reason, a special attention must be paid when we carry out a feeding experiment by giving highly unsaturated acids to test animals. Otherwise, there will be a danger of supplying more or less oxidized acid to the animals and calculating nutritive value of such degenerating acids, even if the experiment has started with genuine highly unsaturated acids.

As reported in the previous paper (3), we experimented the nutritive value of ethyl ester of highly unsaturated acids with iodine value of 365 and its partially reduced products. During the experiment many hairs around the mouth and legs were falling off in the result of feeding on the ethyl ester of these acids. (See Fig. 1)

The ethyl ester used for the test was preserved in a brown bottle. Every time the bottle was opened, CO₂ gas was poured in so that the acids might be kept from oxidation. We found, however, in the later course of the experiment that it was impossible to prevent the acids from deterioration by such a treatment as that. Such being the case, the acids we used for the test were not genuine as we had taken for granted, while measuring nutritive value of slightly oxidized acids. Another experiment carried out on the same occasion revealed that the partially reduced products of highly unsaturated acid, even though iodine value being fairly high, have nutritive value almost same as oleic acids.

It is understood that oxidation of natural unsaturated acids around C₁₈ starts from the carbon which is suspended under the most unstable condition in the atoms of unsaturated acids. On the other hand, oleic acid is regarded from its structure to be one of the stable unsaturated acids, a fact which may suggest the following. In the course of the experiment the partially reduced products of highly unsaturated acids have turned to the ones which, despite of their

fairly high iodine value, are as nearly stable as oleic acid when unstable factors have been removed out of them in consequence of reduction.

On the basis of these findings we assumed that natural unsaturated acids around Cis, except one which has conjugate double bond, would not always become less nutritious by the increase of double bond, as it has been generally believed. In other words, the unsaturated acids with the same number of carbon, even if different in the unsaturation degree, are almost same in their nutritive values. While the long-believed difference of nutritive value among the unsaturated acids should certainly be attributable mainly to the degree of oxidation affected on each unsaturated acid. In order to prove this assumption, we chose, as test materials, some of the highly unsaturated acids which had been considered nutritively much lower than others. Because highly unsaturated acids such as contained in the fresh sardine kept unoxidized are supposed to be not only harmless, but also highly nutritious. However, it must be the oxidized ones that show a retarding action as often observed in the past experiments.

With this view in mind, we extracted highly unsaturated acids from sardine oil as genuinely as possible to carry out our experiment. Then, just as we had expected, the rats appeared to be readily taking the feed prepared with the unoxidized highly unsaturated acids, without showing any distaste. As a result the nutritive value closely followed that of oleic acid, and was better than that of palmitic acid, both of which were used as control. Whereas, the other group of rats, which had been fed with diets containing the same highly unsaturated acids but oxidized under the room temperature, all lost their lives after suffering decrease of the weight as well as considerable depletion.

During the experiment, vitamins, especially thiamin and riboflavin, were given but little to the rats for the purpose of checking the B group's effect upon them. However, the highly unsaturated acids, when not oxidized, brought forth no retarding effect upon the animals at all. On the contrary, they proved highly nutritious, even through the rats were supposed to be short of vitamin B. A slight deficiency in the nutritive value as observed in comparison to oleic acid might be explained by a supposition that these acids were likely oxidized a little in spite of our utmost effort to keep them 100 per cent. genuine.

It has been hitherto understood that the toxic effects of highly unsaturated acids can be antidoted by giving a large quantity of riboflavin at a time. But we are in the opinion that what the riboflavin counteracts is toxic effect from the oxidized products of highly unsaturated acids, but not that from the acids themselves. Further research will be made in this last regard.

1 緒 言

魚油中に含まれる高度不飽和脂肪酸の栄養価については、従来吉田¹⁾、尾崎²⁾等の報告があるが、同氏等の得た結果では、高度不飽和脂肪酸は白鼠に好まらざるとして、この結果が栄養的に劣るの故、いづれに魚油中に含まれる高度不飽和脂肪酸のためと思はれていた。つまり、この結果が正しいものとすれば、高度不飽和脂肪酸を多量に含むイワシを一度に多量に摂取することは栄養的に悪いといえる。高度不飽和脂肪酸は栄養中ですみやかに酸化することは常識の事である。それ故に高度不飽和脂肪酸を白鼠に授与し、栄養試験を行う場合特別な考慮を払ふ必要は、純粋な高度不飽和脂肪酸を作つて試験を始めても、次第に酸化したものを白鼠に与え、真真正正な高度不飽和脂肪酸の栄養価を測定してしまふ方が多分に生ずる。

従来本研究所の報告において、沃葉価 365 の高度不飽和脂肪酸・エステル及びその部分水素を有つたものの沃葉価を比較したが、その際、原高度不飽和脂肪酸・ニステルを授与した白鼠の口辺及び四肢がひどく脱毛することを認めた。(沃葉価)本試験は先行高、低者等は各自として用いた高度不飽和脂肪酸・ニステルを褐色液中に貯蔵し開封した時に酸臭ガスを発生し、極力酸化防止に努めたが、その後研究の結果、この状態では原高度不飽和脂肪酸を変化せしめることなく保存することは不可能であることを知つた。

即ち、未変化の高度不飽和脂肪酸について試験を行つたつもりが実は多少酸化したものの沃葉価を測定する結果となつた。また同時に行つた試験の結果では高度不飽和脂肪酸の部分水素物は沃葉価がかなり高いものでも十レイン酸にくらべ、ほとんど真真正正な沃葉価を示すことを認めた。

天然に存在する Cis 前後の不飽和脂肪酸は二重結合数の増加に伴い、急速に空中酸化する。酸化されるものが知られているが、この際不飽和脂肪酸分子中に存在する最も不安定な位置の酸素より酸化が起る。他方オレイン酸のごときは構造上安定な不飽和脂肪酸といえる。つまり通常等の扱つた高度不飽和脂肪酸の部分水素物は部分水素により不安定な因子が減少し、沃葉価がかなり高くなる。安定期間がオレイン酸に近い沃葉価を呈し、従つて沃葉価が高くなるのではないかと思はれた。これ等の事実よりして推察すれば、従来信じられていた不飽和脂肪酸の沃葉価の差は主として個々の不飽和脂肪酸が受ける酸化程度の強弱に起因する点が多分にあるだろうと考へたのである。この考へ方を証明する手段として、従来等は従来試行的に非常に悪いといつて置いている高度不飽和脂肪酸を原料として選んだ。即ち新鮮な生イワシに含まれているような酸化を受けていない高度不飽和脂肪酸は其の性質を示さねばならぬ、高い沃葉価を示し、他方これが酸化したもののが従来より知られているような性質を示すだろうと思つた。そこでイワシ油より出来るだけ純粋に高度不飽和脂肪酸を分取し、動物試験を行つたところ、果してこの高度不飽和脂肪酸と授与した白鼠は同程度健康なことに成つた。一方同一の高度不飽和脂肪酸を酸化させた試験管で飼つたラットは、バルミチン酸・ニステルを主として酸化して何れも死亡した。本試験を行うに当り、ビタミン群は体重の減少及び脱毛を避けるため、B₁及び B₂ はかなり低くしか与へなかつたが、たとえビタミン類が僅かであつても酸化しない高度不飽和脂肪酸を示さず沃葉価も高いことを認めたが試験の結果ではオレイン酸に多少劣つてゐる。これは細心の注意を払つてもなお多少酸化を受けたためではないかと考へる。

従来高度不飽和脂肪酸の沃葉価は多量のフラビンと同時に与へることにより消失するといつて置いているが、これは高度不飽和脂肪酸の酸化物が示す毒性をフラビンが消すのではないかと考へるのだが、この点に關しては今後研究して見るつもりである。

II 実験の部

A. 沃葉エステル: 従来高度不飽和脂肪酸の沃葉価には Bromination による方法が広く用いられているが、この方法は isomer を生成するため、魚油中に含まれる場合とは異なるものとなるため採用出来ない。そこでソーダ灰 A 法と類似した方法により沃葉価を作つた。即ちマイワシより濃度 10% の魚油を抽出し、抽出液を常法により酸化後、酸化液を加えて混合液を作つてソーダ灰 A 法で沃葉価を測定し、抽出する固形物を濾別し、不揮発物を残した混合液についてソーダ灰 A 法を 2 回繰返す。高度不飽和脂肪酸を分取し、これを極度乾燥したもの、30 分水素を吹込み脱臭を行い、ドラッグ店に 12 mm, 190-205° の Fraction をとり、80-100° に加温し、30 分水素を吹込み脱臭を行い、ドラッグ店の小片を授与し、これを更にドラッグ店に貯蔵した。(本試験は沃葉価測定である。) 又同一沃葉エステルに入れ、4 mm 量度の薄層とし、室温に放置せしめた。又対照としては、オレイン酸・ニステル及びパルミチン酸・ニステルを用いたが、前者は薄層より鉛筆アルコール法により製し、後者は市販アルコール酸を分別精製した。

B. 試験方法：白鼠を用い、制限食による成長試験によつた。即ち体重 80 g 程度の白鼠に脂質を除いた下記組成の基本飼料 1 日 1 匹当り 9.5 g を授与し、体重増加となつたのち、材料エステル 0.5 g を添加し(5%添加)、以後大略 30 日間の体重増加を測定すると共に白鼠の状態を観察した。なお本飼料中の Vitamin 量は 1 日 1 匹当り B₁ 14.2 γ, B₂ 11.4 γ である。

Table 1. Ingredients of diets (%)

	Basal diet	Test diet
Polished rice powder	79	79
Casein (Either extracted)	10	10
Dried beer yeast	3	3
McCullum salts mixture	3	3
Ethyl ester of fatty acid	0	5
	95	100
Liver oil of tuna (1% Et-OH soln.)	1 drop/day	

C. 飼育結果

Exp. 1. まず予備試験として、下記に示す如く高価不飽和酸エステル及び本品を極めて酸化せしめたものを作り、32 日間授与した。

Table 2. Analysis of the samples used in the experiments

	Iodine Value	Sap. Value	Unsap. matter (%)
Ethyl ester of highly unsaturated acid	335.92	173.36	Trace
Oxidized ethyl ester of above acid	161.08		Trace

Table 3. Increase of the body weight when the samples added

Type of fat fed	Series	Sex	The body weight increase		Average increase of body weight in 32 days (gr.)
			At end of 1st week	At end of 2nd week	
None (Fat-free basal)	Z	♂	8		7
	D	♂	6		
Ethyl ester of highly unsaturated acid	Z	♂	11		13.4
	A	♂	11		
	B	♂	12		
	D	♂	20		
	E	♂	13		
Oxidized ethyl ester of the above acid	Z	♂	-30 (died on 9th day)		
	A	♂	-53 (died on 11th day)		
	B	♂	-46 (died on 11th day)		
	D	♂	-47 (died on 23rd day)		
	E	♂	-42 (died on 11th day)		

本結果を見るに比較的純粋と思われる高価不飽和酸を白鼠は良く食下し、かなりの体重増加を示し、何ら外観的な異状は認められなかつた。一方重酸化を行つたものを与えた白鼠の体重は減り、口辺、四肢の毛は抜け落した。(写真参照)

Exp. 2. 前試験により、高価不飽和酸そのものは、特に多量の群飼を与えぬ場合でも、かなり栄養価が

高いことを認めたが、この事実を再確認するため、前試験に使用した酸化物体相当栄養価を下げたものだけを用いて、下記に示す如く比較的軽度の酸化物について再試験を行った。

Table 4. Analysis of the samples used in the experiments

	N _p	Iodine Value	Sap. Value	Unsap. matter (%)
Ethyl ester of oleic acid (control)	1.4410	82.70	184.25	0
Ethyl ester of palmitic acid (control)	1.4318	0	196.20	0
Ethyl ester of highly unsaturated acid (Original free fatty acid)	1.4798	323.34 (333.87)	173.06	Trace
Slightly oxidized ester of the above acid	1.4800	312.40	—	Trace
Oxidized ester of the above acid	1.4854	285.74	171.20	Trace

Table 5. Feeding records Period: December 9~31, 1952

Type of fat fed	Series	Sex	Body weight increased in 23 days			Average increase of weight (gr.)
			At end of 1st week	At end of 2nd week	Last day	
None (Fat-free basal)	F	♂	-2	-2	4	5.25
	G	♂	-2	1	9	
	H	♂	-3	-2	5	
	H	♂	-7	-5	3	
Ethyl ester of oleic acid (control)	F	♂	3	14	23	21.5
	G	♀	3	9	22	
	H	♀	2	7	19	
	H	♂	0	9	22	
Ethyl ester of palmitic acid (control)	F	♂	2	5	15	13
	G	♀	0	4	12	
	G	♂	-1	4	13	
	H	♀	0	4	12	
Ethyl ester of highly unsaturated acid	F	♀	2	12	22	19.25
	G	♀	0	10	20	
	G	♂	1	5	18	
	H	♀	-4	5	17	
Slightly oxidized ester of the above acid	F	♀	0	7	18	15.25
	G	♀	-3	0	12	
	G	♂	1	9	16	
	H	♀	-3	5	15	
Oxidized ester of the above acid	F	♀	-6 (died on 4th day)			
	G	♀	-7 (died on 7th day)			
	G	♂	-6 (died on 6th day)			
	H	♀	-8 (died on 7th day)			



Fig. 1 A test rat fed with oxidized ester of highly unsaturated acid. Note depleted condition around the face which occurred practically all of the test animals fed with this ester.

本結果を見るに、沃養度を40%程度下げた酸化物質の毒性は極めて強く白鼠は餌を何れも投与後1週間以内に死亡した。これに反し純粋と思れる高度不飽和脂肪酸のものはかなりの栄養価を示し、対照として用いたバルミチン酸エチルを上層を飼を指示した。又沃養度を15%程度下げたものを与えた白鼠の体毛はやや脱落し、原高度不飽和脂肪酸よりも多少劣ったが、純粋別には有意な差を認め得なかつた。又試験中2週間にわたり、毎日糞を採取、アルコール中に溶解し、脱水蒸餾と混和後、エーテル抽出により粗脂肪を分離、消化率を調べたところ、高度不飽和脂肪酸の消化率はオレイン酸に劣らず、脂肪酸は多少劣ることも認められた。なお高度不飽和脂肪酸の糞台 Faeal fat の沃養価はかなり高いものであつた。

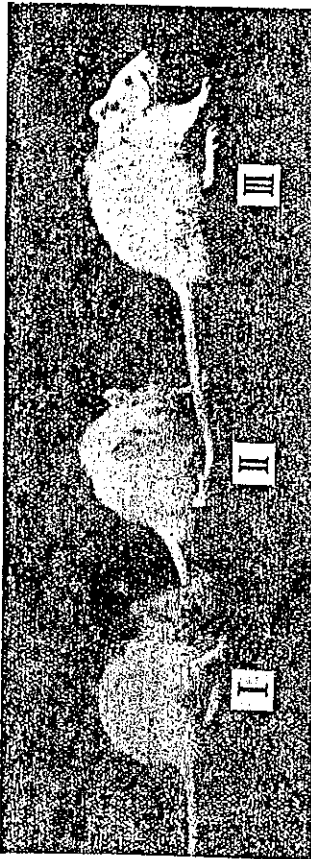


Fig. 2 Test rats, each fed with different type of ester: Oxidized ester of highly unsaturated acids for I, Ethyl ester of genuine highly unsaturated acids for II, Ethyl ester of oleic acid (control) for III.

Table 6. Analytical results of feeding experiment for two weeks

Type of fat fed	No. of rats	Total fat consumed (gr.)	Total fat recovered in feces (%)	Crude fat in feces (%)	Unabsorbed fat in feces (gr.)	Coefficient of digestibility (%)	Iodine value of fecal fat
None (Fat-free basal)	4	NA	1.0412	2.31	NA	NA	53.01
Ei-ester of oleic acid	4	23	1.9950	4.52	0.9538	96.59	74.92
Ei-ester of highly unsaturated acid	4	23	2.6335	6.79	1.5923	94.31	160.75
Slightly oxidized unsaturated acid	4	23	4.1735	9.01	3.1223	56.81	74.92

NA: Not applicable

Table 7. Vitamin B contents in the livers after feeding experiments

Type of fat fed	Vitamin B (found in liver) (γ/100 gr.)	Thiamin Riboflavin
Ethyl ester of oleic acid (control)	171	614
Ethyl ester of genuine highly unsaturated acid	160	634

なお試験終了後直ちに当鼠を屠殺し、肝臓中のビタミンB1及びB2量を、パラジメチル・アセトフェノン法及びリボフラビン法により測定したが、対照として用いたオ

イレン酸ニナル酸と白鼠のそれとの間に大なる差異を見出さなかつた。

IV 考 察

以上の結果より考察するに可及的酸化を助いた高度不飽和脂肪酸のものは、栄養的には劣らねることが認められる。即ち高度不飽和脂肪酸が酸化されていない場合には、従来からいわれている如くならずしも多量の脂肪質を含有するが、脱炭酸後酸化されたものが明らかに高いものであることを認めた。又高度不飽和脂肪酸は明らかに原高度不飽和脂肪酸より劣り、脱炭酸後酸化されたものが明らかに高いことを認めた。従来報告されている高度不飽和脂肪酸の試験結果は多量酸化したものについて行われていたのではないかと考えられる。それでは高度不飽和脂肪酸が、何故このように、ひどく毒性を示すのか、今のところ全く不明である。従来、リノレン酸又はデオキシステアリン酸のような所謂オキキ酸が、栄養的に悪いことはよく知られている。しかし吾々の得た結果の参考となる普通の不飽和脂肪酸の酸化物に関する報告は極めて少く、主たるものは Rancid lard に関する研究である。Resorff 等によれば Rancid lard を与えた白鼠の腸内においては Biotin の合成が酸化物のため妨げられ、Biotin 欠乏症をおこし又腸内で生産されるであろうその他の Unknown factor をも破壊するらしいことが認められ、K. Ueyama 等によれば Rancid lard を与えることとアラビジン欠乏に陥りやすく、又各種の Essential factor の必要量が増加することを認めているが、これ等の結果は、筆者等の得た結果に何らかの示唆を与えるものではないかと考える。又筆者等は、魚油を重んじた場合、処理の如何によつては原油よりも沃養価が高められることを認めているが、この際生ずる酸化物と、窒素酸化のものとは、かなり栄養的に劣るであろうであるが、この差異については今後研究するつもりである。

IV 摘 要

不飽和脂肪酸の二重結合の増加と共に沃養価が低下するという従来の説に対し、不飽和脂肪酸が何ら酸化を受けない場合は、かならずしも、栄養的に大なる差はないと推察し、この考え方の当否を証明するため、高度不飽和脂肪酸を飼料として下記の如き動物試験を行った。

(1). 即ち可及的酸化を助いた高度不飽和脂肪酸のニナル・エステルを、飼料中の脂肪が少い状態で、白鼠に5%投与したところ、ならぬ沃養性は認められず、白鼠は正常な成長を遂げ、対照として用いたオレイン酸にほぼ等しい値を示した。

(2). 上記の高度不飽和脂肪酸を窒素に酸化して、空気酸化せしめたものは何れも毒性を示し、体重は減少し、白鼠の口辺、四肢は脱毛し、間もなく死亡した。以上の研究の結果、筆者等は初述の魚体内に含まれる高度不飽和脂肪酸は決して毒性を呈するものではないであろうということを推察した。終りにのぞみ論文御助言を賜つた農林省食糧研究所長尾崎博士、穀物検査官松浦博士、動物試験係に尽力された坂井寿忠、荒井昭臣の諸氏に厚く謝意を表す。

文 献

- 1) M. Yosuro: *J. Agri. Chem. Soc.* 13, 120 (1937).
- 2) J. Ozaki: *J. Agri. Chem. Soc. Japan* 8, 3286 (1932).
- 3) T. Kaneko and S. Ishii: *J. Jap. Soc. Food and Nutrition* 5, 78 (1952).
- 4) H. Resorff and T. Hansson: *Arch. Sci. Physiol.* 2, 313 (1918).
- 5) Hans Kaunitz, Ruth Ellen Jonsson and Charles A. Skanetz: *J. Nutrition* 46, 151 (1952).

脂質の栄養價に関する研究—Ⅲ—

高度不飽和酸の栄養價及び毒性について (3)

金田尚志・酒井舜恵・石井清之助 (東海区水産研究所)

Studies on the Nutritive Value of Lipides—Ⅲ Nutritive Value or Toxicity of highly unsaturated Fatty Acids (3) Takashi KANEDA, Hisae SAKAI and Seinosuke ISHII

In the previous paper* we have established that the genuine highly unsaturated fatty acids show nutritive effects upon the growth of rats, and that long-believed toxicity of highly unsaturated acids is not produced by the acids themselves but actually by formation of autoxidized matters. Moreover, it has been observed that the autoxidized liquid acids of linseed oil cause the same toxicity to the rats, and the toxic effect which is produced by peroxide structure under influence of atmospheric oxygen. When the peroxide was liberated from the autoxidized acids by potassium iodide, the acids became "not-toxic".

From these results we assumed that the peroxide liberated products of autoxidized highly unsaturated acids might become as not-toxic as in case of liquid acids of linseed oil. In order to prove this assumption, the authors liberated the peroxide of autoxidized highly unsaturated acids by Lea's peroxide-determination method as reported previously. In consequence, just as we had expected, peroxide liberated highly unsaturated acids became "not-toxic", and showed nutritive effects upon the growth of rats (Tables 1-2).

Other details obtained from the present assay may be summarized like this.

- (1) As shown in Table 3, the lethal dose of peroxide to mice is 278 mg. total peroxide oxygen per Kg. (I.D50).
(2) The peroxide was found from liver and meat oil of rats when the autoxidized unsaturated acids were fed, and if the fed fat contained many quantity of peroxide, the peroxide value would become higher than that of control oils (Table 4).
(3) The number of mitochondria separated from rats' liver is decreased when autoxidized fatty acids are added to the mitochondria solution in vitro (Fig. 1).

On the basis of these findings, it was concluded that the toxicity of p-oxide contained in autoxidized unsaturated fatty acids was produced in the result of injuring the tissues of rats or by destruction of the enzymes in their bodies.

* Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries 18, 171 (1952), 20, 50 (1954)

J. 植 書

筆者等は本研究の第8報りにおいて、新語な魚体内に存在すると同様な状態にある未変化高度不飽和酸は 1945年11月15日受理 東海区水産研究所業績B第180号 (印刷費負担)

決して毒性を示さぬばかりでなく、かなりの栄養価を有することを認めた。また従来信じられていた高度不飽和酸等とは高度不飽和酸そのものではなく、実は高度不飽和酸の自酸化生成物であることもあわせて報告した。この結果は二重結合数の多い高度不飽和酸ほど毒性は強くなること、リノール酸とオレイン酸の異なる二重結合数により少ないものでも同様と思しいアマー油液体酸エチルエステルについて試験し、全く同一の値を示した。さらに筆者等はアマー油液体酸エチルエステルについて、酸化生成物を分別し、そのおのおのについて毒性の程度を動物試験により検討した結果、自酸化生成物中もつとも毒性の強いものは過酸化物質であることを突きとめた。

この結果は高度不飽和酸自酸化生成物についても、あてはまるだろうと考え、前報同様、高度不飽和酸自酸化生成物に灰化カリ及び氷酢酸、クロロフォルム溶液を加え、過酸化物質を除いたものをつくり、これを白鼠に与えてみた。その結果、極めて強い毒性を示していた高度不飽和酸自酸化生成物の毒性は全く鈍らられることを認めた。

以上の結果からして、従来信じられていた高度不飽和酸等とは高度不飽和酸そのものに起因するのではなく、高度不飽和酸自酸化生成物中に生じた過酸化生成物によることが確認された。また不飽和酸自酸化生成物中にも過酸化生成物のマウスの致死量(LD50)を求めたところ、マウス1kgに対し、Total peroxide oxygenとして大抵 278mg 程度で致死マウスの半数を死せしめることも知った。

ところで従来問題となっていた不飽和酸自酸化生成物の過酸化生成物がどのような作用機構により白鼠に毒性を示すかという点である。

この問題を探究する一つの手段として東大医学部病理学教室高橋、宇敷両氏に依頼し、自酸化生成物を与えて死寸前となつた白鼠をつかひ、その内臓各部組織につき病理学的検討を行つてもらつた。その結果両氏等の所見によれば、腎臓は腫脹と皮質との境界部附近で細尿管が高度に拡張し、また小腸の粘膜に細小腸を認められた。

一方肝臓等も毒性発生の原因となりそうなるコースをいくつが予想して試験を行つてみた。即ち肝臓中のカタラーゼ作用力を検討してみた。というのは、カタラーゼは通常組織中に代謝生成物として生成する過酸化水素を水と酸素とに分解する作用を行つておられるが、多量の過酸化水素の存在においては逆にカタラーゼが分解される恐れがある。腎臓放射線量においても、組織中に多量の過酸化水素を生じ、これが白血球減少の原因となるのではないかとおもわれている。また Dubouloz 等によれば白鼠に過酸化水素を含む油質を投与した場合 1.5 時間後に過酸化生成物の半量が腎臓管中に見出されている。また吾々も肝臓及び腸管内に過酸化生成物が蓄積されることを認めた。そこで筆者等は体内に入つた過酸化生成物が血球を凝縮し、二次的に過酸化水素を生じ、これがカタラーゼ作用力を低下させるのではないかと思つた。この予想を証明するため不飽和酸自酸化生成物を与えて死寸前となつたマウスを犠牲にし、肝臓中のカタラーゼ作用力を調べてみた。ところが予想に反し、対照として用いた正常マウスとあまり大なる差異は認められなかつた。

そこで肝臓中のミトコンドリアについて調べてみた。即ち肝臓組織中のミトコンドリアは Tricarballic acid cycle の酵素系が結合しておられ、能率が T. C. A. cycle を経て水と炭酸ガスにまで完全酸化されることは H. A. Krebs 等をはじめ多くの学者により確認されている。ところが、この cycle 上に過酸化生成物を多く含む脂質が存在する場合は cycle を完結し得ない恐れもあると考へられる。そこでミトコンドリアに対する過酸化生成物の影響を見るため、白鼠肝臓より細胞抽出液を用いて過酸化によりミトコンドリアを分離し、これに不飽和酸自酸化生成物を少量滴下し、よく振盪したのちマーススグリーンB につかつて生体染色を行つてみた。

筆者等は本操作によりミトコンドリアが変形するのではないかと考へたのだが、実際に染色するとミトコンドリアは変形しないが、いちぢるしく数が少なくなつた。一方自酸化生成物より過酸化生成物を除いたものは原