

ジンは差がなくなるのである。

またDLとLの場合とで事情が異なり、DL添加の場合に総リジンと遊離リジンの損失の間に差がほとんど見られないのは、DLの場合には、表皮の着色差が示すように、Maillard 反応が顕著に進行するので、加水分解によって遊離して来るような分子は、極めて少ないためである。

要 約

- (1) 小麦粉に強化したりリジンの生物における分布状態は、ほぼ均一であり、試料乾燥、定量操作上の差を換付したところ、記載の方法でよいことが認められた。
 - (2) 総リジンにおいては、リジンの損失はほとんど認められなかった。
 - (3) 結晶による損失は加熱による影響の多い表皮の部分で、内部に比較して遙かに多い。
 - (4) L-リジンの0.2%に相当するDL、あるいはLリジンを添加する場合、前者の方がリジンの損失が多く約30%、後者が10%程度の損失を示した。
 - (5) 総リジンと遊離リジンの損失を一致しない(Lリジン添加の場合)ことを認め、この原因について若干の考察を加えた。
- 終りに、製パン試験に協力頂いた小柳妙子氏に感謝する。

油 脂 類 の 酸 化 程 度 の 決 定

油類には臭の異なりという現象があり、これは油脂を精製においても、臭が又出て来る現象である。で、臭の異りになる物質に関する研究は、色々と行われているが、これらの物質の一部は、酸化生成物で脱臭では取れない性質を持っている。

これらをクロマトグラフィーにかけたところ、溶出物は高分子不飽和カルボニル化合物であつて、これらの化合物を触媒と共に熱すると、強い臭を持つた物質を生ずる。これら高分子化合物は、原油中には一次酸化物として存するペーオキソンドから二次的に生成すると考えられ、これらのカルボニル化合物を測定した。

分析は、試料最大限1.5gを用いて、これを25mlメスフラスコに秤量し、無水エタノール、2.5-トリメチルペンタン(1:1)混合の溶液にて25mlとし、この5mlをとり、0.5mlのベンジン1%溶液(水研砕、無水エタノール(1:1)に溶かしたもの)を加え、6分後波長350mμの吸光度(E₁)を測定し、前の試料の溶液の吸光度

魚油の毒性に関する研究(第9報)

Studies on the Toxicity of Fish oil (IX)

On the toxicity of fish oil heat-polymerized in the presence of the air.

(昭和32年10月12日受理)

松尾登
(Noboru Matsuo)

In the previous paper, the author reported that cuttle fish oil heat-polymerized in a stream of CO₂ for 10 hours at 250°C, was toxic to rats and that the cyclic ethyl ester separated from the this treated oil by the method of urea-adduct forming process was highly toxic to rats while the straight chain ethyl ester non-toxic. In this paper, quite the similar results are presented on cuttle fish oil polymerised by heating in the presence of the air for 10 hours at 225±10°C.

The oil contains a quite small amount of peroxide, but exerts a strong toxic action to rats due to cyclic ethyl ester brought about by polymerization.

結 言

前報において魚油より分離した高度不飽和脂肪酸をエチルエステルとしたものはオレイン酸エチルエステルと同様な毒性を示し、これを空气中に放置して自動酸化せしめたものは強い毒性を現わすことを報告し、酸化によつて生じた過酸化物がその毒性の原因であることを明かにした。

更に酸化物を具体的に受与した場合における兎、白ネズミの胃、腸、肝臓等の所見について究明し、高度不飽和脂肪酸と脂肪酸エチルエステルとの自動酸化物は蛋白質を強く変性すること、酵素作用を抑制又は停止せしめること、其他アミノ酸に対する作用等に関して詳細な報告を行った。

魚油が自動酸化を受けて生ずる過酸化物は毒性を現わすのであるが、一方加熱によつて生じた重合物は毒性を示さないであらうか。

松本、増原、加藤等は魚油及びその加工製品の栄養価について研究を行い、重合長須脂肪酸は給与量20%では相当の毒性を示し、白ネズミは3週間後で大部分死亡すべしと推定され、及び10%以下に低下すれば外観的症狀を認せず熱源として相当利用されることを認めている。

真、金田、石井等は重合魚油の栄養価を比較した結果添加量5%の少ない場合においても、高度重合油も無価値ではなからず、重合のために白ネズミが死亡することはないと報告している。

印ち藍油(吸光度170.7)に酸素当量を純媒として、2%加え、200°Cで43時間加熱ガスを吹込みつつ、攪拌

重合せしめた極めて粘潤な重合油(吸光度108.3)においても、基礎飼料に15%混合投与した場合には、白ネズミは可成り良好な生育をなすことを認めている。これ等の報告の中には重合油の過酸化物含有量に關しては全然記されていない。

極く最近 H. Kaunitz 等は純魚油を95°Cに200~300時間加熱して得た油は、白ネズミに対して毒性を示すことを発表し、又 E. W. Crampton 等は加熱重合した亞麻仁油は過酸化物は極く微量であることを報告している。

加熱重合の機構からして試料油の不飽和度の高低が重合に最も密接な關係があると考えられるので、H. Kaunitz, E. W. Crampton 等の用いた植物油よりも更に不飽和度の高い魚油(精製イカ油)を用いて、これを加熱重合せしめその毒性についての究明を行つた。

第8報)において発表した如く、原料イカ油を基礎飼料に20%混合投与した場合は、白ネズミは良好な成長を示す。彼れは原料イカ油に較べて幾分劣るようであるが特別な毒性は示さない。

次に60~80g程度の白ネズミを用い、加熱ガス気流中で250°Cに、10時間加熱した重合油を、20%投与した場合においては、何れも大体15日位までに死亡するのみならず、5%混合投与した場合は毒性は弱われなかつた。更にこの重合油を尿法を用いて蒸気蒸留したもの、直調蒸留のものに分離して、動物実験を行つたところ、毒性の主体は蒸気蒸留のものにあるようである。

以上は炭酸ガス気流中において、加熱した場合の結果であるが、空気中加熱の場合においては、酸素が重合に関与するけれども、環状構造化合物の生成は当然生ずると考えられるので、前報同様毒性が現われるものと推察される。本報においては魚油としてイカ油を用い、空気中において加熱して得られた熱重合油の毒性に就いて報告する。

Table with 2 columns: Starch (rice powder), Casein, Liver oil, Mc Collum Salt mixture, Yeast. Values include percentages and amounts like '1 drop / day'.

(1) 空気中にて、225±10°Cに10時間加熱して得られた熱重合油の性状に就て
第1表Iの如き原料イカ油を容器に入れて oil bath につけ、攪拌しつつ、225±10°Cに10時間加熱重合せしめた。(餾液は使用せず)得られた熱重合油の性状は

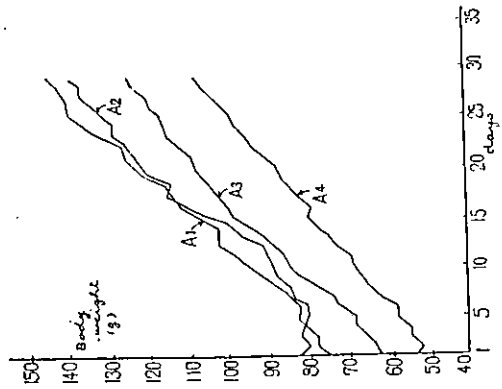
Table with 4 columns: No., Sample oil, Iodine Value (Wijs), Peroxide Value (mg/100g) (Kast), Molecular weight. Rows I and II.

褐色であつて、原料油に対して酸分粘度を増し、遊離化物を含まず、その性状は第1表IIに示す通りである。イカ油を空気中において、高温に加熱した場合に遊離化物は生成するけれども、高温のためは1時間30分後に最高値、23 mg/100gとなり、2時間30分後には0となる。又220°Cに加熱してみると、生成する遊離化物は直ちに分解するため、全然遊離化物の上昇をみない。又、テンプラ等を作るため可成り長期に亘つて、180~200°C前後の加熱をくりかえした植物油(ゴマ油、菜種油等、使用中止後数日を置いたもの)について遊離化物を検するに0~20 mg/g程度の微量であつた。

熱重合油(炭酸ガス気流中において加熱したもの、空気中加熱のもの)は原料イカ油に較べて酸化に対する抵抗力が高く、動物飼育実験中、電気冷蔵庫に貯えて注意を払えば、遊離化物による影響はないものと認められる。(今迄の実験結果によれば Peroxide Value が 100mg/100g 以下の場合には毒性を示さない。)又、熱重合油を蛋白質水溶液に添加して、37°Cに放置したが、遊離化物価の高い酸化した油の場合の如く、蛋白質の沈殿は起らなかった。

【II】 空気中にて加熱せる重合油を20%投与せる場合60g前後の白ネズミを用い、第2表の如き基礎飼料に熱重合油(第1表II)20%を混合、投与して動物実験を行ったところ、第1図の如く15日までに何れも死亡、故

第2図 原料イカ油を基礎飼料に対して20%混合投与した場合の白鼠の成長曲線



【III】 加熱重合油より、尿素附加法による環状化合物の分離に就いて

空気中において高温に加熱して得られた熱重合油は、炭酸ガス気流中加熱の場合と同様、遊離化物を殆んど含有しない不純、20%混合投与の場合に、劇しい毒性を現わすことが明かとなつたので、加熱重合油における原料イカ油の性状に就いて考察し、前報と同様に熱重合油より毒性を現わす環状化合物を分離することを試みた。加熱による油脂の変化については古くから多くの研究が行われている。加熱によつて、炭素価の減少、分子重及び粘度の増加、屈折率の変化することは、周知のことであるが、外山、土屋等は魚油高度不飽和脂肪酸及びそのメチルエステルの変化について研究し、反応の初期においては、分子間重の台よりむしろ一分子内の変化、おそらく環状化合物の生成が主として起るものと考察した。堀尾等は魚油高度不飽和脂肪酸メチルエステルの加熱変化の結果、外山、土屋と同様の推定を得、反応によつて生じた四環系を有すると認められるメチルエステルを分離した。

最近の研究によれば、D. E. A. Rivett等は methyl β eleostearate の加熱による Cyclization に就いて研究し、紫外部及び赤外線吸収スペクトルによつて六族系環状化合物の生成を確認している。更に R. F. Paschke, D. H. Wheeler (University of Illinois) Eleostearic acid の cyclization に関する研究の中に、加熱によつて容易に Diels-Alder condensation が起こることを指摘し、Arachi-

donic acid は intramolecular Diels-Alder condensation を行つて2つの six-numbered rings を生成することを述べている。又 methyl linoleate を 209°C 及び 300°C に加熱して得られた熱重合油の性状について述べ、その中に含有せられる Monomer, Dimer, Trimer 等を定量し、重合による Six-Numbered ring の生成等に就いて詳細な報告を行つている。

即ち重合においては、分子内、分子間環状化合物が生成すると推察される。

尿素は環状構造の化合物とは附加物 (Adduct) を造るが、環状構造のものとは附加物を造らないことが知られているので、尿素を用いて熱重合油中の環状構造のもの、環状構造のものを下記の如き方法によつて分離することを試み、各々の毒性に就いて察明することとした。

加熱重合油より環状構造化合物の分離

(a) 加熱重合油の ethanolytic 蒸気中において 225±10°C に、10時間加熱して得られた熱重合油に1/4容の無水エタノールを混合してよく攪返し、混在する fatty acid を除いた後、(洗滌に用いた無水エタノールを捨て) その熱重合油 1kg に、無水アルコール 500g 及び苛性ソーダ 4g (餾液として、重合油に対して 0.4% の苛性ソーダを添加) を混合し water-bath にて、50°C に2時間加熱して ethanolytic を完了せしめ、生成したメチルエステルは、多量の湯を以て洗滌した。得られたメチルエステルは、多量の水を以て洗滌し、収量は使用した重合油に対して 92.0% であつた。

(b) エチルエステルより尿素附加法による環状構造化合物の分離 無水エタノール 2l を 4l にカーカーに、之にエチルエステル 500g を混合 50°C に保つて、よく攪拌しながら尿素 2kg を徐々に加える。添加後更に 50°C において、30分間充分よく攪拌を続けた後、尿素を一量放置する。次に尿素附加物及び過剰の尿素を濾して分け、これを尿素を飽和した無水エタノールを以て洗滌した後、濾の中に入れて、よく攪拌して尿素附加物を分解する。分離してきた環状構造化合物は湯を以て洗滌した後、室温で 60°C にて、真空ポンプを以て洗滌 (4mmHg まで) 脱水した。かくして得られた環状構造化合物 (4mmHg まで) 脱水し、使用したエチルエステルに対して 56.1% の収量であつた。その性状は第4表に示す通りである。

濾液及び洗滌液(尿素附加物及び過剰の尿素を洗滌したエタノール)に、大量の湯を加え、環状構造化合物を分離し、よく湯を以て洗滌した後、室温で 60°C にて真空ポンプを以て洗滌 (4mmHg) 脱水した。かくして得られた環状構造化合物は、褐色を呈し幾分粘濁であ

魚油の毒性に関する研究

Studies on the Toxicity of Fish Oil

(第10報) 空气中にて加熱重合せる菜種油の毒性について
On the Toxicity of Rape-seed Oil Heat-polymerized in the Presence of Air. (X)

(昭和34年6月27日受理)

松尾 登
(Noboru Matsuo)

In the previous paper, the author reported that the fish oil, polymerized by heating in a CO₂ stream or in air at about 250°C for 10 hours, shows toxicity to rats, that this toxicity is due to the cyclic ethyl ester separated from this oil by the urea-adduct forming method, while the straight chain ethyl ester has a sufficient nutritive value and shows no toxicity at all.

In this paper, the experiment on edible rape-seed oil will be reported. This oil, when polymerized by heating at 250°C for 50 hours, shows toxicity to rats, and in this case also the cyclic ethyl ester, separated by the same method as in the case of the fish oil, shows noticeable toxicity to rats, though somewhat lower than that separated from fish oil. Too much heating, therefore, should be avoided even in the case of edible oil.

緒言

前報¹⁾においては麻油として魚油(イカ油)を使用し、これを乾燥ガス気流中又は空气中にて加熱重合せしめた熱重合油の毒性について報告し、その毒性は環状エステル化合物によることを明らかにしたが、環状化合物の生成は原料油の不飽和度の高低に最も著大な関係を示すものと考えられる。

前報使用したヨウ菜油 180~190 程度空のイカ油よりも不飽和度の低い、食用として使用される植物油の場合を比較検討するため精製菜種油を空气中において加熱して得られた熱重合油について行つた実験結果について報告する。

実験

(1) 菜種油の性状及びそれを 20% 投与した場合菜種油の脂肪酸組成は、二重結合1個を有するエルレン酸を主成分(56~60%)とし、オレイン酸 20%、リノール酸 14%、リノレン酸 2~3%、飽和脂肪酸 5% 程度であつて、植物油中ではヨウ菜油の低いものである。実験に使用した精製菜種油は淡黄色透明でその性状は第1表に示すとおりである。

第1表 精製菜種油性状

No.	Iodine Value (Wijis)	Acid Value	Sap. Value	Peroxide Value (mg/100g)
1-4733	102.1	0.47	176.9	25

白ネズミは 50~80% 程度のものをを用い、第2表に示すとき基礎飼料に 20% 死混台として動物実験を行つた原料菜種油の脂肪酸組成は実験終了時において 30mg/100g であつた。前報¹⁾にも記したように今までの実験結果によれば、遊離化合物が 100mg/100g 以下の場合においては毒性を示さない。

第2表 基礎飼料組成

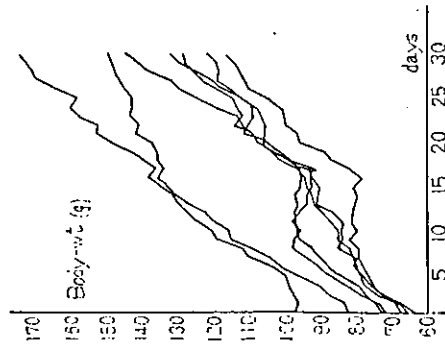
Starch (rice powder)	65%
Casein (ether extracted)	9%
Mc Collum Salt Mixture	3%
Yeast	3%
Liver Oil	1 drop/day

第1図はその成長曲線であつて、一部のものは、10日目から 20 日目の間の曲線がフラットになつてゐる。このような成長曲線の性状は、イカ油を 95°C に 120

加熱した原料を 20% 与えた白ネズミの一部にもみられた。¹⁾

これは菜種油が脂肪酸の割合に多いエルレン酸 (C₂₂H₄₂O₂) を主成分としてゐることに原因があるのかもしれない、エルレン酸に関する報告は多く、また Deuel²⁾ らは精製油、バター、ヤシ油には吸収率に差はないが、菜種油は吸収が悪いと報告している。1カ月間の動物実験では第1図にみられるような成長の状態であつた。第2図はよく成長した白ネズミの1例である。(実験開始後 30 日目)

第1図 菜種油を 20% 投与した場合の成長曲線



第2図 菜種油を 20% 投与した場合の白ネズミの1例(実験開始後 30 日目)



(II) 空气中にて 250±10°C に 50 時間加熱した重合油を 20% 投与した場合。

Oil bath につけ覆せしつて空气中にて 250±10°C に 50 時間加熱重合せしめた。(乾燥は使用せず) 得られた重合油の色調は淡黄色であつて、遊離化合物を含まず、そ

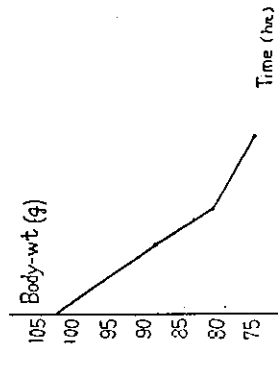
の性状は、第3表のごとくである。

第3表 加熱重合せる菜種油の性状

No.	Iodine Value (Wijis)	Acid Value	Sap. Value	Peroxide Value (mg/100g)
1-4830	72.5	3.26	172.4	0

菜種油を空气中にて 250±10°C に 50 時間加熱した場合のヨウ菜の性状は第3図に示すとくであつて約 30 程度低下している。

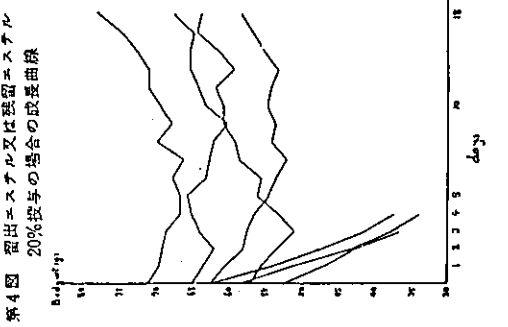
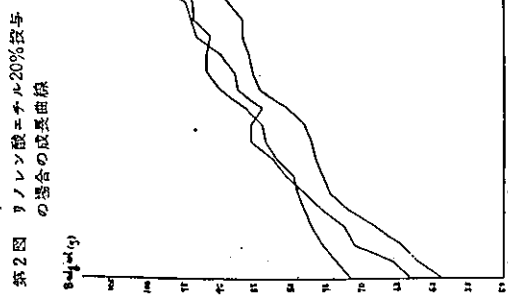
第3図 菜種油を 250°C に加熱した場合のヨウ菜脂肪酸化曲線



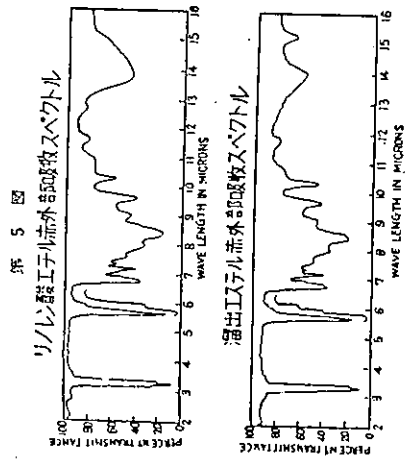
60g 前後の白ネズミを用い、第2表のごとき基礎飼料に重合菜種油 20% を混合投与して動物実験を行つたところ、イカ油を 250°C、10 時間加熱重合したものを 20% 与えた場合のように 15 日位で死亡することはなかつたが、第4図のごとく殆ど成長を示さない。(A₁ だけは実験開始後 20 日目に死亡した)。外見적으로는第5図、第6図のごとくで、軟便を排泄するため尾部等のよれ化物が含まなかつた。

第4表 熱重合菜種油 (20%) による白ネズミ飼育結果

Sex	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Wt. change after 30 days feeding (g)	Survived
A ₁ ♂	33.5	58.5	+ 5.0	Survived
A ₁ ♀	65.0	70.0	+ 4.0	Survived
A ₂ ♂	60.0	73.0	+ 13.0	Survived
A ₂ ♀	56.0	41.5	- 14.5	Died on the 20 th day
A ₃ ♂	57.5	72.0	+ 14.5	Survived



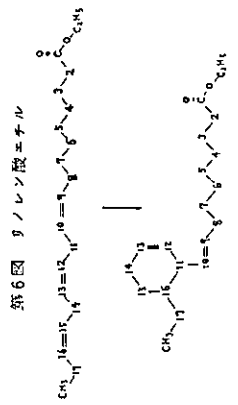
によると考えられる。15.2μに新たな吸収が現われているが、これは分子が環状化を起して、シクロヘキセン環を生じたことに起因するものと推察される。トランス結合による吸収は少し大きくなっているがさしたる違いはない。6μの近くの吸収を更に強度を高くして調べると小さい吸収が2つあるのが見られる。約6.2μ付近における新たな吸収は環状化合物に原因しておるものである。



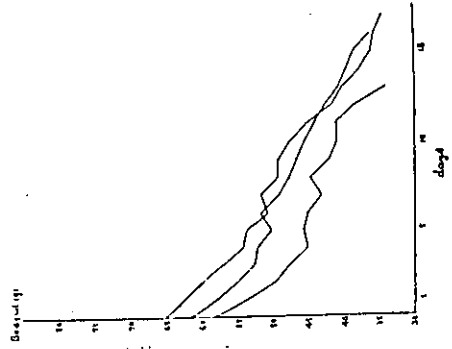
第5図 リノレン酸メチルエステルとシクロヘキセン環付加体の赤外線吸収スペクトル

結 言

リノレン酸エチルを250°Cに40時間加熱してえられた重合リノレン酸エチルから環状エチルエステルを分け、これより真空蒸留によって分離した溜出エステルは小さい毒性を示すが、このものはその分子量、赤外部吸収スペクトルなどから環状単量体であると思われる。更に化学的処理による確認も要すると思われるが、以上のことからシクロヘキセン環をもった環状単量体が恐らくこの溜出エステルの主体をなしておるであろうと推察される。



第3図 重合リノレン酸エチル20%投与の場合の成産曲線



第5表 各種試料エステルの性状

試料	エステル	NB	分子量	還元価	酸化価	不飽和度	価	分子重
リノレン酸	エチル	1.4688	242.5	183.1	170.1	1.0	6.5	302
重合リノレン酸	エチル	1.4838	157.5	170.1	177.4	0.4	7.3	293
直鎖構造	エチル	1.4692	201.5	177.4	168.6	7.4	8.2	
環状構造	エチル	1.4891	142.5	168.6	171.0	7.4	8.2	
溜出	エチル	1.4751	159.4	171.0	166.5	8.2		
残留	エチル	1.4948	135.8	166.5				

すなわち11の位置の動き易い水素をもつたメチレン基の炭素が16の位置の炭素と環を形成し、環内に1個直鎖の部分に1個の二重結合をもつた第6図のような構造をなしているものがその主体であろうかと推察される。

R. F. Paschke, D. H. Wheeler⁶⁾, D. E. A. Rivett⁷⁾, H. M. Teeter et al.⁸⁾ はその報告の中に、分子内環状化合物の生成の可能性について論じている。第12報⁹⁾に報告したように、シクロヘキセン環を有し環外に1個の二重結合を有する化合物を合成して、動物実験を行った場合にも明らかな毒性を示している。

魚油から分離した高度不飽和脂肪酸について行った実験結果においても環状のものも毒性を示し、特に真空蒸留によって分離した環状単量体が毒性の主体であったが、以上述べた理由の明らかなリノレン酸エチルによる実験によっても毒性の主体は環状単量体であり、おそらくこの環状単量体の生成はシクロヘキセン環を有する化合物であろうと推察される。

本報告は昭和33年7月14日、第31回日本生化学会総会(札幌)において発表された。第12報より今までの題名「魚油の毒性に関する研究」を「油脂の生化学的研究」と改めた。

本研究は、徳島大学長尾三光先生の御指導によって成ったものであつて、先生に對して深甚なる感謝の意を表する。赤外部吸収スペクトルについては東京大学総合試験所、田中純之助師のお世話になつた。厚くお礼申し上げたい。

文 献

- 1) 松尾：生化学, 29, 885 (1958)
- 2) 松尾：栄養と食糧, 10, 255 (1958)
- 3) 松尾：栄養と食糧, 12, 118 (1959)
- 4) 松尾：日本化学会東海支部大会, 油脂討論会発表(名古屋, Oct. 1957)
- 5) 松尾：第13回栄養食糧学会総会発表(東京 Apr. 1959)
- 6) Paschke, R. F., Wheeler, D. H.: J. Am. Oil Chem. Soc., 32, 473 (1955)
- 7) Rivett, D. E. A.: J. Am. Oil Chem. Soc., 33, 635 (1956)
- 8) Teeter, H. M.: J. Org. Chem., 23, 1156 (1958)
- 9) 松尾：日化接稿中

(徳島大学化学教員)
(松尾三光氏)

Bean, R. C., Hassid, W. Z., *Science*, 124, 171 (1956).
 48) Chou, T. C., Soodak, M., *J. Biol. Chem.*, 196, 105 (1952).
 49) Katz, J., Lieberman, I., Barker, H. A., *J. Biol. Chem.*, 200, 417 (1953).
 50) Brown, D. H., *Biochim. Biophys. Acta*, 16, 429 (1955).
 51) Watanabe, K., *J. Biochem.*, 24, 287 (1956).
 52) Leloir, L. F., *Adv. Enzymol.*, 14, 197 (1953).
 53) Cabib, E., Leloir, L. F., Cardini, C. E., *Ciencia e Invest.*, 8, 469 (1952); *J. Biol. Chem.*, 203, 1055 (1953).
 54) Schmitz, H., *Naturwiss.*, 41, 120 (1954).
 55) Smith, E. E. B., Mills, G. T., *Biochim. Biophys. Acta*, 13, 386 (1954).
 56) Glaser, L., Brown, D. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 41, 253 (1955).
 57)

魚油の毒性 松尾登

イワシ、イカ、サンマ等より得られたいわゆる魚油は、高度不飽和脂肪酸のグリセリドを多量に含有するため、酸化及び加熱に対して非常に不安定である。自動酸化又は加熱重合を受けた魚油は、他の油脂の場合に比較して特に著しい毒性を現わすことが最近の研究によって明らかとなった。魚油の毒性は、自動酸化させる魚油の毒性、加熱重合させる魚油の毒性に大別し、前者がイカ油を使用して行っている研究結果を中心として述べておくこととする。

1. 自動酸化させる魚油の毒性

1) 緒言
 魚脂の自動酸化はその工業的利用、殊に食用魚脂の貯蔵及び塗料方面に於て特に重要であるので、食用魚脂の酸化、塗料油の乾燥については古くから多くの研究が行われていた。

魚脂の自動酸化は、そのグリセリド内の不飽和結合が、主として開環する反応である。今迄の研究に於ては、動物植物油脂そのものについて行われ、天然油脂は多数の脂肪酸が混在するグリセリドであるため、複雑な酸化反応機構を究明する試料としては不適当であり、明確な結論が得られなかった。

近年に至って、自動酸化した油脂の生化学的作用についての関心が深まり、この方面の研究が進展するに至ったが、一方精製された不飽和脂肪酸及びそのエステルを用い、クロマトグラフ、紫外線及び赤外線吸収スペクトル、ポーログラフ、向流分配法、分子蒸留等の新たな研究方法によって、自動酸化機構がかなり深く明らかにされてきたので、「単純な酸化油脂の生化学的意義に關してもいよいよ新たな知見が得られつつある。」

* 成野大学化学教室、東京医科大学生化学教室、Matsuo, Studies on the Toxicity of Fish Oil.

り考えても、ヌビタミンEが顕著な抗酸化性を有することとの関連に於ては、油脂の酸化と、その栄養価及び毒性の問題は特に重要であると考えらる。

2) 高度不飽和脂肪酸エチルエステル自動酸化物の毒性

原料油としては、北海道のスルメ製造の副産物であるイカの内臓から得られたイカ油を精製したものを採用した。これは微黄色透明の液体で、その性状は表1の如くである。

表1 原料イカ油性状

比重 (15°)	ヨウ素価 (Wij's)	酸価	酸化価	不飽和物 (%)	2.19
0.9305	182.5	2.03	189.3		

高度不飽和脂肪酸を分離する方法中、臭化物は異性を起し易いので、ソーダ灰アセトン法¹⁾によつてイカ油を、苛性ソーダの酒精溶液をもつて常法によつて過す。高度不飽和脂肪酸のソーダ塩はアセトンに可溶なのでアセトンで除去し、更に不飽和物をエーテルを用いて除去、酸を以て分解して、高度不飽和脂肪酸部を得る。之に約2倍量の2.5%のHClを含む無水酒精を加えて撪拌にて3時間加熱、エステル化し、このエチルエステルを真空蒸溜(2 mm Hg)する。かくして得られた205~215°Cの分離物を主として実験に使用した。これは極微黄色無臭の液体であつて、非常に酸化し易いので、青色ビンに入れ、ドライアイスを入れた破法ビン中に貯え、使用の際直にCO₂をふきいれて極力その酸化を防止した。

次に、このエステルをベトリ皿に入れ、室温に放置して自動酸化せしめた後、同様に細心の注意を以て貯え、使用した。対照としてはオレイン酸エチルを用いたが、それ等の性状を表2に示す。

表2 実験に使用した各試料の性状

試料名	d ₄ ²⁰	n _D ²⁰	ヨウ素価	酸化価	不飽和物 (%)
高度不飽和脂肪酸エチルエステル	—	1.4822	358.70	163.90	痕跡
高度不飽和脂肪酸エチルエステル酸化物	0.9568	—	264.82	201.49	痕跡
オレイン酸エチルエステル	0.8322	—	82.96	187.69	0

表3 基礎飼料組成

チンアン(米穀)	80%	イースト	3%
カゼイン(エーテル抽出)	9%	肝油	1滴/日
マツケラム塩	3%		

体重約60gの白鼠を用い表3の如き基礎飼料に対して、上記各試料油5%を与えて(経口的)動物実験を行ったところ、表4に示す如く酸化を受けにくい高度不飽和脂肪酸エチルを投与した白鼠は、オレイン酸エチルを与えた白鼠と同様、良好な成長を示したのに対して、酸化エチルを投与した白鼠は何れも体重は減少し、体毛は黄褐色に変じて数日に於て死亡した。

表4 白鼠飼育結果

飼料中のエステル	10日目		20日目		30日目	
	平均	増	平均	増	平均	増
オレイン酸	+11.0	+13.1	+34.0	+43.3	+61.0	+82.1
酸のエチル	+14.0	—	+51.2	—	+113.5	—
ルエステル	+15.0	—	+40.5	—	+70.8	—
	+12.5	—	+47.5	—	+83.0	—
不飽和脂肪酸エチル	+7.7	+6.3	+41.0	+38.1	+85.0	+75.8
脂肪酸エチル	+7.0	—	+38.5	—	+77.0	—
	+7.0	—	+44.5	—	+75.0	—
	+3.2	—	+28.5	—	+66.0	—
上のエステル化物	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—

即ち高度不飽和脂肪酸エチルはオレイン酸エチルと同様な栄養価を示すのに反し、これを自動酸化せしめたものは実に劇しい毒性を現わすことを確認した。飼育した白鼠の状態はFig. 1, 2, 3の如くである。

更に体重70g程度の白鼠に酸化エチルを5%充、間隔をおいて与え、途中から投与を中止したところ、Fig. 4, 5に示す如き特異な外見的症状を呈し、顔の毛は脱毛し、口及び後肢ははれ上り、腹部にはびび割れを生じて出血を見た。

3) 自動酸化させるイカ油の毒性

2)の結果から、イカ油そのものは自動酸化せしめたならば当然毒性を現わすであろうと推察し、表1の如きイカ油を血に入れて室温に放置し、その自動酸化せしめたもの(通酸化物価: 91.2 mg/100 g)を用いて、動物実験を行った。白鼠は70g前後のものを、表5の基礎飼料に対して、この油20%を混合投与したところ何れも10~15日に於て死亡した。一方、酸化しないイカ油(通酸化物価: 痕跡程度)を20%混合使用した場合に於ては、良好な成長を示している。各々の場合の成長曲線はFig. 6, 7の如くである。

表 5 基礎飼料組成

デンプン(米粉)	65%	マツカラムシ	3%
カゼイン(エーテル抽出)	9%	イースト	3%
肝油	1.割/日		



Fig. 1 ゼレイン酸エチル 5% 投与 (実験開始後 27 日)



Fig. 2 高度不飽和脂肪酸エチル 5% 投与 (実験開始後 27 日)



Fig. 3 高度不飽和脂肪酸エチル自動酸化物 5% 投与 (実験開始後 4 日)



Fig. 4



Fig. 5

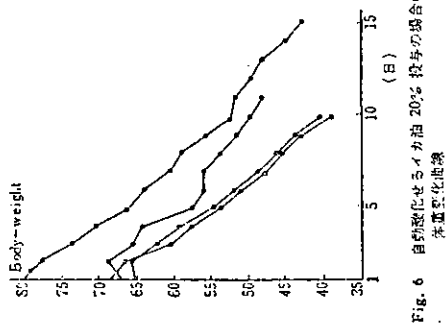


Fig. 6 自動酸化ゼレイン酸油 20% 投与の場合の体重変化曲線

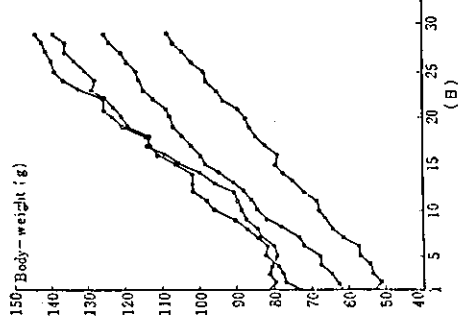
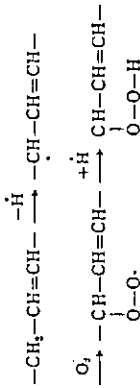
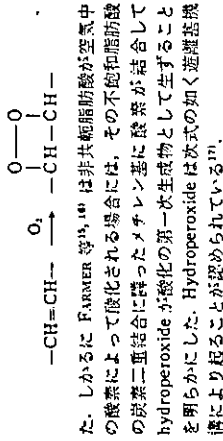
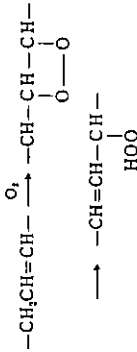


Fig. 7 酸化ゼレイン酸油 20% 投与の場合の体重変化曲線

4) 過酸化物質の清量と毒性
不飽和脂肪酸の自動酸化の第一段階に於ては、次式の如く不飽和脂肪酸の炭素二重結合に酸素が付加して不安定な過酸化物質を作るといふ考えは久しく定説となつてい



又 GUNSTONE, HADITCH¹⁶⁾ は酸素がオレイン酸メチルの二重結合に最初に加することを確認し、不安定な生成物である過酸化物質が転位して hydroperoxide を生ずるとした。



この見解は今日広く支持されているものである。即ちこの式により示されるように、得られる hydroperoxide はオレイン酸の α -メチレン基に -OOH が置換したものでなく、二重結合の移動が起っている形となつてい。実際に得られる hydroperoxide は二重結合の位置を保持したものと、移動を生じたものととの混合物であることは分光学的にも証明されている¹⁷⁾。

自動酸化によって高度不飽和脂肪酸エチルエステルは劇しい毒性を現わすに至るのであるから、自動酸化による過酸化物質及び炭素の变化を測定し、これ等の値と毒性との関係についての説明を行った。過酸化物質の測定方法には種々あるが、中村¹⁸⁾ によって改良せられた WHEELER の方法を使用した。即ち、試料の 0.1~0.5g に CCl₄ 20cc、氷酢酸 30cc を混合し、之に KI の飽和溶液 1cc を加えて、1 分間よく振盪した後、蒸留水 100cc を添加して更に 1 分間振盪後、遊離した炭素を 0.01N Na₂S₂O₃ 溶液を以て滴定する。この Na₂S₂O₃ の 1cc は 0.00008g の過酸化物質に相当する。

イカ如く前述の方法によって得られた表 6 の如き性状の高度不飽和脂肪酸エチルエステルを室温 (2°~18°C) 自動酸化せしめた (表 6)。

過酸化物質には色々の型があるうけれども、この測定方法によって得られた過酸化物質と時間との関係は Fig. 8

表 6 高度不飽和脂肪酸エチルエステル性状

ヨウ素価 (WUJ)	酸化価	不飽和物 (%)	過酸化物 (mg/100g)
1,4815	342.1	168.5	痕跡

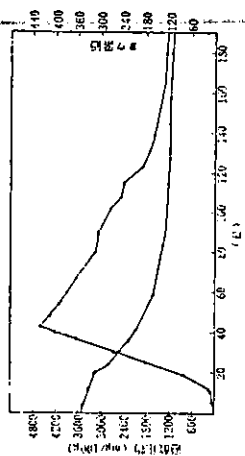


Fig. 8 室温 (2°~18°) 自動酸化せしめるエチルエステル (過酸化物 (I) 及び酸化価 (II) の変化) の如くである。

最初の 2 週間程はいわゆる Induction period であり、それを過ぎると過酸化物質は直線的に急激に増加し、maximum (過酸化物価: 4400 mg/100g, ヨウ素価: 208) に達し、以後は分解、重合によって次第に低下する。直線的に上昇しつつある時期の試料を 5% 投与した場合にもちろん死亡するが、maximum を過ぎた過酸化物価: 3112, ヨウ素価: 137 のものを用いても同様であった。しかるに過酸化物価: 85, ヨウ素価: 76.6 のものに於ては最早、毒性は現われなかつた。更に、30°C, 100°C に於ける過酸化物価及びヨウ素価の变化を測定した。Peroxide Value の最高値は前者に於ては 2200、後者に於ては 240 程度であり、温度が高くなるにつれ、その最高値は著しく低下する。この過酸化物価が 240 mg/100g の試料は矢張り毒性を現わした。以上の結果よりして自動酸化エチルエステルの毒性はその含有する過酸化物価と平行することを知った。

5) 自動酸化物より過酸化物質を除去せしめるもの毒性
高度不飽和脂肪酸エチルエステルを室温に放置し、自動酸化によって過酸化物価: 2046 mg/100g まで、酸化せしめた後、この酸化エチルエステルを CCl₄、氷酢酸 (3:2) 混液、5 倍量に溶解し、酸化エチルエステルと同量の KI を加えて、充分によく振盪した後、上記混液の 1.5 倍量の蒸留水を添加した。次に遊離せる炭素を Na₂S₂O₃ 水溶液を加えて除去した後、充分によく水洗、減圧のもとに、CCl₄ を除去した。かくして得られた過酸化物質を除去したエチルエステルの過酸化物価は 38 mg/100g であつて、その収量は使用した酸化エチルエステルに対して 88.8% であつた。体重 60g 前後の白鼠を用いて表 3 の如き基礎飼料に酸化エチルエステル又はそれより過酸化物質を除去したもの 5% を混合投与して動物実験を行ったところ、酸化エチル

表 10 アマニ油液体酸エチル自動酸化物尿素処理各区分の性状

試料	得量 (%)	酸価	酸価	酸化価	ヨウ素価	過酸化物質 (ミリモル/100g)	分子重	クライステラ
原アマニ油液体酸エチル	—	0	—	176.01	160.28	0	—	—
同、自動酸化物	—	6.47	—	184.85	137.45	409	—	—
第1区分	74.9	3.58	—	177.30	143.44	33	331	(+)
第2区分	6.1	14.86	—	213.20	116.43	1216	352	(+)
第3区分	11.9	3.83	—	242.97	77.53	1585	354	(-)
第4区分	3.7	—	—	223.43	106.91	1203	—	—

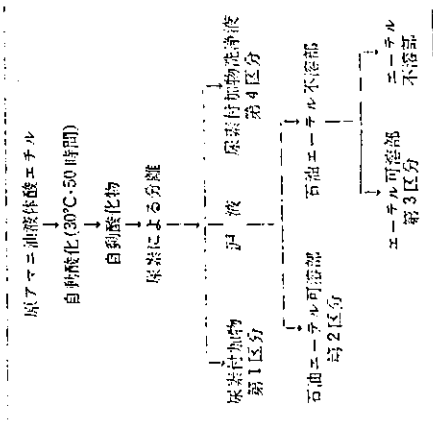
表 8 第1部分自動酸化物の性状

項目	ヨウ素価 (Wijs)	酸化価	不飽和物質 (%)	過酸化物質 (mg/100g)
第1区分	156.6	190.3	—	1461

この結果は犬強り白鼠の体毛は黄褐色に変じ、何れも致しにして死亡した。第1部分の尿素価は232.2であった。この尿素価はリノール酸エチルの尿素価164.9とアセトン法では高度不飽和脂肪酸を根拠よく得る方法であるが、外山、土屋¹⁾も指摘しているように、得られた高度不飽和脂肪酸の組成中には、二重結合を2個又は3個を有する酸の混在は避け得られない。即ち高度不飽和脂肪酸エチルを過酸化させた場合にも、之を自動酸化せしめて過酸化物質を過当量含せしめたならば、毒性を現わすことは本実験より明らかである。

金田、松井、石井²⁾はアマニ油液体酸(主成分は、リノール酸、リノレン酸)を、10%余のサレイン酸を含むしている(1)を自動酸化せしめて、明かな実験を行って、その大要を記す。アマニ油液体酸自動酸化物100gをとり、これを尿素700gを溶かした無水メタノール1l中に投入し、50°Cでよく均質化させた後一夜放置し、尿素付加物を抽出した(第9、第1区分)。尿液は水を加えてメタノールを85%まで希釈し石油エーテルを用いて抽出を繰り返す。第2区分を除いたメタノール液を分別した(第2区分)。第3区分は石油エーテル可溶部を更にエーテルで抽出を行った(第3区分)。なお尿素付加物は尿素飽和冷メタノールで十分洗浄した(洗浄液を第4区分とする)。

表 9 尿素付加物によるアマニ油液体酸自動酸化物の分離



を与えた白鼠は前記の場合と同様、致しをいわずして死亡した(2)に反し、過酸化物質を除いたものを与えた白鼠は何れもよく成長した。

過酸化物質を除いたものは全く毒性を示さず、成長の良好なことよりして、自動酸化物の毒性は、酸化によって生じた過酸化物質がその原因であることと推察した。今迄の報告の結果によれば、過酸化物質100mg/100g以下の場合は、過酸化物質による毒性は現われなるとみてよく、CRAMPTON³⁾等も同様な結果を報告している。高度不飽和脂肪酸エチルエステルの場合の生成過酸化物質の最高値と温度との関係は前述したが、イカ油を空気中に置いて高温に加熱した場合は過酸化物質は生成するけれども、高温のために、その分解消費も早く、例えば180°Cに於ては1時間30分後に最高値23となり、2時間30分後に於ては0となる。又220°Cに加熱すると、生成する過酸化物質は直ちに分解するため、過酸化物質の上昇をなさない。ラングラー等を作るため可成り長期に亘って、高濃度をくりかえした植物油(ゴマ油、菜種油等)を使用後放置しておいたものについて、過酸化物質を檢したが、0~20mg/100g程度の微量であった⁴⁾。

自動酸化によって生成した過酸化物質が毒性の主原因であることについては、第26回日本生化学会総会(昭和29年4月、仙台)に於て発表した。東浦区水産研究所の金田は日本水産学会総会(昭和29年4月、東京)に於て過酸化物質が毒性の本質なることを発表した。

6) 高度不飽和脂肪酸エチルエステル自動酸化物の毒性はイカ油をソラベアセトンエチルエステルによって処理して得られた高度不飽和脂肪酸エチルエステルとなし、之を2mmHgに於て真空蒸留して得られた蒸留分の性状は表7に示す如くである。

表 7 高度不飽和脂肪酸エチルエステル分留性状

部分	温度	比重	比重	比重	比重
1	2	3	4	5	6
~180*	180~192	192~205	205~215	215~227	227~
10.8	16.0	21.3	20.0	5.0	7.3
3.0	4.4	5.8	5.5	1.4	2.0
232.3	276.3	320.0	358.7	384.9	386.1
14652	14700	14771	14823	14861	14902
178.2	176.0	168.7	163.9	160.2	155.7

* 初留の温度 140°C ** 室温で回轉

表7の部分の中、尿素価の低い、No.1の如きものに於ては、之を酸化せしめて過酸化物質を過当量含せしめたならば、毒性を現わすに至るのであると推察してNo.1の部分を含む、空気酸化を行ない、表8の如き性状の酸化物となし、之を基礎飼料(表3)に於て、5% 兔と白鼠を用いて動物実験を行った。

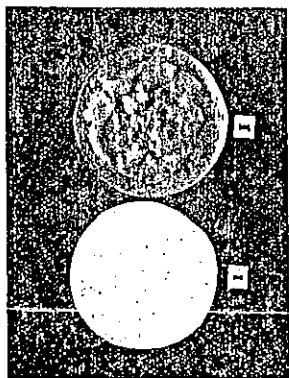
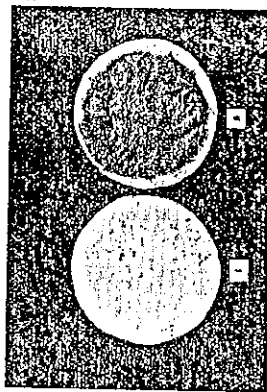


Fig. 9 51時間経過

Fig. 10 125時間経過



高酸不飽和脂肪酸エチルエステル自動酸化物による蛋白質の变性
卵白 2% 水溶液 40cc + 酸化物 5cc (I)
卵白 2% 水溶液 40cc + 酸化物 5cc (II)

放置し、時々振盪を行った。酸化しないエチルエステルを加えた方は殆んど外見的变化を示さないが、酸化エチルエステルを加えた方は、次第に黄褐色に変じ、20時間経過後は橙褐色、更なる変性を示す蛋白が沈澱しはじめ、時の経過と共に変性乳澱する蛋白の量を増し、長時間を経た乳澱は濃褐色を呈している。適當な時間を区切って、この乳澱を卵白を以てよく洗滌した。これを乳澱 I、乳澱 II とし、更に乳澱 I に 10% 三塩化酢酸水溶液の同量を添加して乳澱したもの(乳澱 II)とする。

表 11

卵白 2% 水溶液 40cc
+ 高度不飽和脂肪酸エチルエステル
又はその酸化物 5cc
↓ 37°C
↓
乳澱 I
↓
10% 三塩化
酢酸水溶液
同量
↓
乳澱 II

7) 蛋白質に対する高度不飽和脂肪酸エチルエステル自動酸化物の作用⁵⁾

卵白に、4.5 滴量の水を加えて十分に攪拌し生じた卵白水溶液を 10cc 抽出し、この抽出液 40cc に對して高度不飽和脂肪酸エチルエステル又はその自動酸化物(過酸化物質) 1800mg/100g) 5cc を添加し、よく振盪した後、37°C に

の起色するに要する時間を測定した。時間の経過につれて、視色に要する時間は長くなり、酸化エステルによって酵素作用が次第に抑制されることが明らかとなった。高度不飽和脂肪酸エステル酸化物 0.5 g (基礎飼料に対して 5% に当る) を毎日 1 回経口的に投与した白鼠を致死寸前に殺し、その筋肉及び肝臓の succinodhydrogenase 作用を健康なる白鼠のそれと比較検討した。実験に使用した白鼠の飼育状況は表 12 の通りである。

表 12 実験に使用した白鼠の飼育状況

ネズミ No.	性別	初めの体重 (g)	最終体重 (g)	体重減少 (%)	飼育日数
I	♂	234.5	181.0	-53.5	8
II	♀	132.0	101.5	-30.5	3
III	♂	205.0	167.0	-38.0	11

これ等の白鼠は飼育中止後、直ちにその筋肉及び肝臓の succinodhydrogenase 作用を測定した。又よく成長した健康な白鼠 2 匹 (対照 I, 240 g, 8; 対照 II, 215 g, 9) をとり同様測定を行って対照とした。表 13 はメチレンブルーの消えるまでの時間を示し何れも数回測定したものの平均値である。筋肉又は肝臓切片は毎回 1 g を使用した。

表 13

ネズミ No.	I	II	III	対照 I	対照 II
メチレンブルーの消える時間	15' 20"	17' 0"	17' 20"	8' 0"	8' 40"
肝臓	16' 30"	17' 20"	16' 40"	7' 10"	7' 0"

表 14

試液 pH: 6.81	唾液	酸化されたエステル (脂肪酸: 2152)	酸化されたエステル (脂肪酸: 2152)	水
I	20 cc	5 cc	5 cc	—
II	20 cc	5 cc	—	5 cc
III	20 cc	5 cc	—	5 cc

以上の各々を混合後、よく振盪し 37°C に保ち一定時間後に、この 2.5 cc をとり、1% 澱粉溶液 0.5 cc を加え、37°C に 30 分間放置後、灰度検分反応を呈するや否やを格した。表 15 に示す如く、酸化しないエステルや又は蒸留水を添加せる II, III の場合に於ては、20 時間後にも ptyalin の作用が現われるのに対して酸化エステル (脂肪酸: 2152 mg/100 g) を添加した場合に於ては、混合後 22 時間経過したものは澱粉澱粉反応を行うと呈色し、明らかに ptyalin の作用が消滅しているのを認め

れば、この色素は不飽和油脂の酸化物と蛋白との co-polymer であって、恐らく不飽和油脂の酸化の結果生ずるアルデヒドが、生成の主原因であろうとしている。又 co-polymer 生成の速度はアミノ酸よりも蛋白質の場合の方が速く、Hemin, Cytochrome C, Hemoglobin 等は、この co-polymer の生成に対して触媒として作用し、フェノール系の抗酸化剤は、その生成を抑制する。その機能は主として不飽和油脂の酸化に対して、Hemin 等は之を促進し、抗酸化剤は之を抑制する結果であろう。ビタミン E 欠乏の場合に、この黄褐色色素を生じ易いのは、生体内で E が抗酸化剤の役目をもっている故と考えられる。以上のような TAPPEL の報告を著者の実験結果と併せ考えると、黄褐色色素と称しているものは、著者の明らかにした変性沈澱した付加物と同様であるが、果して酸化した不飽和油脂と蛋白とが co-polymer をなしておるか否かについてはなお検討を要すると思われ

る。更にこの付加の主原因が酸化の結果生じたアルデヒドにあるとしているが、著者は、アルデヒドも関与するが、主体は過酸化物であると考えている。付加物の生成速度がアミノ酸よりも蛋白質の方が早いことについては著者の結論と同様であり、又高度不飽和脂肪酸エステルを用いて行っていた著者等の実験結果によれば、Hemin の酸化促進作用は著しくビタミン E は hydroquinone に比較すると劣るけれども、相当の抗酸化性を有している。

S) アミノ酸に対する酸化エステルの作用³¹⁾

酸化エステルは蛋白質に対して著しい作用を呈する故、更にアミノ酸に対する反応を究明するため glycine, グリシン水溶液の 40 cc に高度不飽和脂肪酸エステル 5 cc を添加よく振盪した後、37°C に放置したところ、酸化しないエステルを加えた方は、種痘褐色に変化した程度は少し黒味を帯びた淡褐色に変じ、澱粉色樹膠状物質の生成を認めた。Glycylglycine を用いても行ったが大体同様であった。

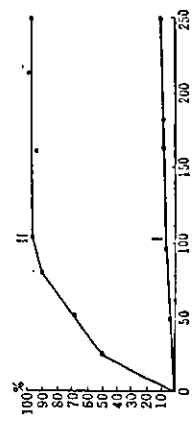
更に、0.2 mol グリシン水溶液 20 cc に酸化エステル (過酸化物: 約 1800 mg/100 g) 2.5 cc を添加し、37°C に放置したところ、アミノ酸及び CO₂ の発生を確認した。Glycylglycine の場合も同様であった。酸化エステルの過酸化物価が低い程アミノ酸の発生は抑すが、過酸化物価より理論的に考察されるアミノ酸発生量に對して実際の発生は非常に少ない。

アミノ酸は鉄塩の存在で H₂O₂ によって酸化され次々如く、炭素数の 1 個少い糖精酸になることが知られている³²⁾。

酸化せざるエステルを添加せるものは殆んど変化なく、125 時間以上経過したものには極少量の沈澱が見られる程度である (前頁 Fig. 9, 10 参照)。

酸化しないエステル添加の場合は沈澱を生ずるけれども、酸化エステルを添加、長時間放置したもの、最早沈澱を生じない。即ち長時間放置すれば蛋白質は酸化エステルによって完全に変性沈澱せしめられる。この沈澱は胃酸強度、腸アルカリ性度にかつても同様に生成し、pH 6.7 付近に於いて、最もその沈澱が著しいようである。

溶液 II の中に含まれる N 量は、酸化エステル添加の場合は、はじめ 40 cc の卵白水溶液中に含まれた N 量に對して、経過時間の如何に拘わらず、1% 以下である。Fig. 11 は卵白の場合と同様に操作した卵アルブミンの場合であって、沈澱 I 中の N 量 % の時間に対する変化を示す (高度不飽和脂肪酸エステル酸化物は N を全然含まない)。即ち酸化物添加の場合に於ては、約 100 時間を経ると殆んど変性沈澱する。酸化しないエステル添加の場合は何れも 6-7% である。



1. 卵アルブミン + 高度不飽和脂肪酸エステル
II. 同 上 同 上 酸化物
Fig. 11 沈澱 I の窒素含量

卵白水溶液 40 cc に酸化しないエステル又は酸化エステル 5 cc を添加したものに、0.001 mol KCN 水溶液 1 cc, 2 cc 又は 5 cc を添加して同様に操作したが、特別の変化は見られなかった。酸化物 5 cc の代りに、35% H₂O₂ を 5 cc 又は 10 cc 添加したが、うすい糊状となっただけで、前記酸化エステルの場合のような変化はなかった。又卵白の 2% 水溶液 40 cc に、35% H₂O₂ 5 cc とオレイン酸 5 cc とを添加、同様放置したところ、乳白色糊状となった程度で酸化エステル添加の時のような変化は見られなかった。

A. L. TAPPEL³³⁾ は最近発表した論文の中に酸化した不飽和油脂と蛋白との関係について論じている。不飽和油脂を含んだ飼料で飼育したビタミン E 欠乏の Rat, Mink, Pig の脂肪組織の中に推察して行く黄褐色の色素は³⁴⁾、不飽和油脂の酸化物と蛋白質との相互作用によって生じたものであることを指摘し、研究の結果によ

表 15 時間の経過と沃素粉反応

時	I	II	III
10	-	-	-
14	-	-	-
18	-	-	-
22	+	-	-
26	+	-	-

c) Amylase⁷¹⁾

甘糖アミラーゼに澱粉液を加え之に酸化エーステラル(過酸化) 1932 mg(100 g) を添加、37°C に 30 分間保った後、生成炭素量を測定したところ、高度不飽和脂肪酸エステル類は甘糖アミラーゼの作用をさしく抑制することを認め、酸化エーステラルを多量に使用すればアミラーゼ作用は完全に停止せられるものと考察する。BENSHIM 等⁷⁰⁾ は紫外線を照射したリノレン酸メチルは各種の酸化酵素を不活性化させることを報告し、金田等⁷¹⁾ は白鼠の肝臓よりミトコンドリアを分離し、不飽和脂肪酸エステルを少量添加し、ミトコンドリアの数を減少することを認め、一方ミトコンドリアの数を減少させるものは、一方ミトコンドリアより過酸化脂質を溶出物を含むものを滴下した場合よりも、はるかに多く残存することを認めている。

又、O'CONNELL 等⁷²⁾ は白鼠肝臓のミトコンドリアの酸化酵素が紫外線を照射したリノール酸メチルはリノレン酸メチルによって不活性化されること、酸化を受けおられないエーステラルの場合はその影響が僅かであり又は全然現われないことを報告している。

酸化エーステラルが著しく蛋白を変性せしめることから考察して、酵素作用を抑制、停止せしめることは当然の結果であろう。

10) 自動酸化物を与えた白鼠、死の病理学的所見

健康な体重約 15 kg の鼠に、エーステラル酸化物 0.8 cc を毎日 1 回経口的に投与したところ表 16 に示す如く何れも死亡することを知った。

表 16 自動酸化物投与結果

性	初めの体重 (g)	最終体重 (g)	体重減少 (g)	死亡
A ₁	♀ 1500	1290	-210	5 日目
A ₂	♀ 1570	1350	-220	12 日目
A ₃	♂ 1500	1820	+ 20	15 日目
A ₄	♂ 1720	1575	-145	5 日目

観察した鼠の肝、脾、腎臓の状況を詳述するに、胃に於ては、その状態が著しくおかれておることを認め、特に A₁ の場合には胃壁が二重層非常に厚くなっている



Fig. 12 酸化エーステラルを与えて死亡した鼠(♂)の胃の内面。a, b の部分は胃壁が非常に厚くなっている。

のを認めた(Fig. 12 参照)。胃に於てはその弾力性を減じ、引つ起ると叫れぬ状態であった。肝臓は部分的に本来の色でなく淡褐色に変色したのを認め、更に高度不飽和脂肪酸エステル酸化物を与えて死亡した白鼠についても胃壁の弾力性が著しく減じていることを認めた⁷³⁾。

なお、エッセチャ自動酸化物を与えて飼育した白鼠の各臓器に対する病理的研究は、徳島大学医学部病理学教室、諸方、大竹⁷⁴⁾ 等によって究明せられている。即ち肝臓に於ては肝細胞の萎縮、高度脂肪、局所性壊死、中心静脈の閉塞、脂肪変性、門脈流の円形細胞浸潤等が見られ、肝細胞の多形性、R.N.A., D.N.A. の減少、酸及び塩基性フェースファクターの減少を認める。脾臓に於ては脾巴細胞の萎縮、脾巴細胞の拡張及び脾臓内皮系細胞の増生が認められた。腎臓：糸状体の萎縮と共に一方糸状体内皮細胞の増加も見られ、細尿管上皮の細胞腫脹、局所性壊死、空胞変性及び間質には限局性の円形細胞浸潤が認められる。なお細尿管上皮の多核性、R.N.A., D.N.A. 及び酸性及び塩基性フェースファクターの減少を認める。淋巴腺：淋巴腺の拡張及び蛋白質様物質の充満があり、網内系細胞の増生を認め、脾臓は著縮している。副腎：脾臓上皮の脱落、脾臓内出血及び脾臓隔壁には脾巴球、単球よりなる円形細胞浸潤が見られる。心臓は心筋の硝子様変性及び壊死形成、甲状腺では甲状腺上皮細胞の増殖が認められる。

又東京大学医学部病理学教室、齋藤、宇敷⁷⁵⁾ が自動酸化物を与えて死亡した白鼠をついて、その内臓各部組織につき病理学的検討を行った所見によれば腎臓は動脈と皮質との境界部付近で細尿管が高度に拡張し、また小腸の粘膜に細胞浸潤が認められたという。

11) 結 言

高度不飽和脂肪酸をグリセリドとして含有する魚油は自動酸化を受け易く、酸化によって過酸化脂質を生ずる。過酸化脂質の生成は、温度が低い程 Induction period が

長くその最高量が高い。酸化物の毒性は含有する過酸化脂質に平行し、酸化物は蛋白質と付加物を作ることよりして世代継承せしめる。蛋白が変性沈澱を受けるとよして群集系は全体的にその作用を抑制又は停止せしめられるであろうと推察したが、実験結果は正しくその通りであった。一方酸化物の経口的投与によって胃の粘膜ははげしくただれ、腸管は弾力性を失うことを知ったが、諸方、大竹等の研究によって、その病理学的所見も詳細に明らかにされた。

過酸化脂質が微量である時には蛋白との付加によつて、その毒性は軽減せられ、高温加熱の場合に於ては、生成した過酸化脂質の分解が急速であるので過酸化脂質の上昇を見ない⁷⁶⁾ が、熱重合物の影響を考慮しなければならぬ。高温加熱を長く受けたものは原料油に比して酸化に対して余程安定である。

A. L. Tappel の報告によれば抗酸化剤は不飽和油類と蛋白との相互作用を抑制すること、又 E. P. Singsen⁷⁷⁾ による E 欠乏のニワトリのヒナに肝油を与えて起った脂肪酸症が抗酸化剤によって防がれることの報告等を併せて考察すれば、不飽和脂肪酸の生体内酸化に対してどの程度有効かは、特に重要な作用を営みつつあることが認められる。

魚油の毒性より出発した本研究に於いて、過酸化脂質その毒性の本態であることに止まらず、酸化物による蛋白の毒性の問題は不飽和脂肪酸の生体内酸化を解明する一つの手がかりとなるとみられ興味ある問題であろう。

本研究を行うにあたり終始御懇切なる御指導を賜わった徳島大学長、尾玉桂三先生に深甚の謝意を表したい。又実験について数々の御便宜をいただいた東海区水産研究所、東秀雄博士、金田尚志博士に厚くお礼を申上げた。

文 献

- 1) 綜説的なものとして、例えば、R. T. Holman, Progress in the chemistry of fats and other lipids. Vol. 2, 51-98 (1954). 2) S. G. Morris, Agricultural and food chemistry 2, 126-131 (1951). 3) 石井、

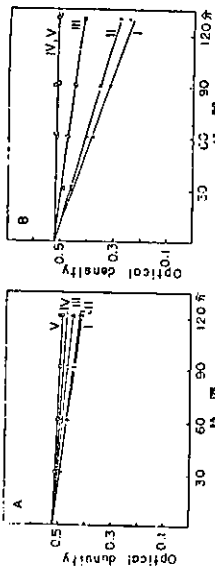
油脂化学誌 1, 85-90, (1952). 4) 尾崎, 炭化, 5, 10, 845 (1926); 3, 977, 1201, (1927); 8, 1285 (1932). 5) 吉田, 炭化, 13, 120 (1937). 6) 例えは R. H. Barends, ほか, Arch. Sci. physiol., 2, 313, 326 (1948). 7) R. T. Holman, Archives Biochem., 21, 51 (1949), 26, 85 (1950). 8) H. Kaunitz, J. Nutrition, 46, 151 (1952). 9) F. Bernheim, ほか, Archives Biochem. Biophys., 38, 177 (1952). 10) 金田, 石井, 日本誌, 19, 171 (1953). 11) 松屋, J. Biochem., 41, 481-487 (1954). 12) 外山, 土屋, 工化, 29, 963 (1952). 13) 松屋, 生化学会誌 (Nov. 1956). 14) 松屋, J. Biochem., 41, 647-652 (1954). 15) E. H. Farmer, ほか, Trans. Faraday Soc., 38, 348 (1942). 16) E. H. Farmer, ほか, J. Chem. Soc., 119 (1943). 17) E. H. Farmer, Trans. Faraday Soc., 42, 228 (1946). 18) F. D. Gunstone, T. P. Hilditch, J. Chem. Soc., 856 (1945); 1022 (1946). 19) T. P. Hilditch, J. oil color chem. Assoc., 30, 1 (1947). 20) E. H. Farmer, H. P. Koch, D. A. Sotton, J. Chem. Soc., 541 (1943). 21) E. H. Farmer, D. A. Sutton, J. Chem. Soc., 10 (1946). 22) 中村, 工化, 40, 442 (1937). 23) E. W. Crampton, ほか, J. Nutrition, 49, 333-346 (1953). 24) 松屋, 畑, 炭発表, 25) 松屋, 炭発表, 26) 松屋, 生化, 26, 581 (1954). 27) 外山, 土屋, 工化, 29, 966 (1952). 28) 金田, 松井, 石井, 日本誌, 20, 50-57 (1954). 29) 松屋, 生化, 27, 406 (1955). 30) A. L. Tappel, Archives Biochem. Biophys., 54, 266-280 (1955). 31) 結方, 大竹等も之を認めている。Tokuhashi J. Exp. Med., 2, 150-155 (1955). 32) 佐藤(公衆衛生院, 炭養生化)も之を認めている。私産, 33) 松屋, 吉川, 畑, 87 回生化学会関東部会 (March, 1957). 34) 松屋, 東洋医大誌, 14, 109 (1956). 35) H. D. Dakin, J. Biol. Chem., 1, 171 (1905); 4, 63 (1908); 5, 409 (1909). 36) F. Sanger, Biochem. J., 44, 126 (1949). 37) 松屋, 坂本, 炭発表, 38) F. Bernheim, ほか, Archives Biochem. Biophys., 39, 177 (1952). 39) 金田, 石井, 石井, 日本誌, 20, 658-663 (1954). 40) A. Ottolenghi, ほか, Archives Biochem. Biophys., 52, 157 (1955). 41) 松屋, 生化, 26, 581 (1954). 42) 結方, 大竹, 河野, 北川, 齋藤, 秋山, Tokushima J. Exp. Med., 2, 150-155 (1955). 43) E. P. Singsen, ほか, Poultry Science, 35, 436-451 (1956).

結 論

血液による p-Nitrophenyl-醋酸エステル...

- 1) PNPA 分解に対して Ach は阻害的に作用するが, Ach 分解に対する PNPA の影響はきわめて小さい.

第 6 図 Acetylcholine 分解に対する Prostigmin の影響



A 4 倍希釈血液, B 10 倍希釈血液, 装置 5x10^-3 M, Ach 1 Prostigmin (-), II Prostigmin 1x10^-4 M, III Prostigmin 1x10^-5 M, IV Prostigmin 1x10^-6 M, V Prostigmin 1x10^-7 M, pH 7.0, 温度 37°C

第 2 表 Eserin の阻害

Table with 4 columns: Eserin (mol/l), 4倍希釈血清, 10倍希釈血清, 血液. Rows show Ach and PNPA hydrolysis percentages.

第 3 表 Prostigmin の阻害

Table with 4 columns: Prostigmin (mol/l), 4倍希釈血清, 10倍希釈血清, 血液. Rows show Ach and PNPA hydrolysis percentages.

第 4 表 赤血球 Cholinesterase 精製過程における PNPA 分解量と Acetylcholine 分解量の比

Table with 4 columns: 赤血球, Ach 分解量, PNPA 分解量, PNPA/Ach 比. Rows I-IV show different washing and extraction procedures.

装置 Acetylcholine 5x10^-3 M, PNPA 20x10^-6 M, pH 7.0, 温度 37°C

比較した結果, 赤血球および血清による Ach 分解に対しては著しい阻害力を示すが, PNPA 分解に対する阻害力はきわめて弱い.

- 3) 赤血球のアセチルコリンエステラーゼを濃化する際, この操作過程にともなう PNPA, Ach 分解力の比は変動する.

本研究を行うにあたり終結謝辞, 御機嫌を戴いた上代教授, 松尾 登 氏に厚く感謝する.

魚油の毒性に関する研究 (III)

松 尾 登

前報¹⁾において, イカ油より分離せる高度不飽和脂肪酸をエチルエステルとさせるものはオレイン酸エチルエステルと同様な炭素を示し, これを空气中に放置して自動酸化せるものはげいしい毒性を現わすことを報告し, さらに酸化によって生じた過酸化物質の多少と毒性との関係を明らかにした.

本報においては, 1) 高度不飽和脂肪酸エチルエステルの沸点低い部分に酸化した場合の毒性について, 2) 高度不飽和脂肪酸エチルエステルおよびその酸化物を白ネズミに塗布した場合について, 3) 高度不飽和脂肪酸エチルエステル酸化物をウサギに与えた場合についての実験結果を記述する.

第 1 表

Table with 7 columns: Fraction No., Temp. °C/2 mm Hg, % for Raw oil, Iodine value (Wijs), nD, Sap. value. Rows 1-7 show different fractions and their properties.

* Temp. of first drop: 140°C ** Solid at room temp.

説 明

- 1) 原料イカ油をソーダ灰アセトン法²⁾によって処理

* 東京医科大学衛生化学教室, 成蹊大学化学教室

Studies on the toxicity of fish oil (III).

By Noboru Matsuo (Biochemical Department, Tokyo Medical College; Chemical Department, Seikei University).

第 2 表

no	Iodine value (Wijs)	Sap. value	Unsap. matter (%)	Peroxide (mg/100g)
1.4727	156.6	190.3	Trace	1461

基礎飼料の組成は第 3 表に示す通りである。

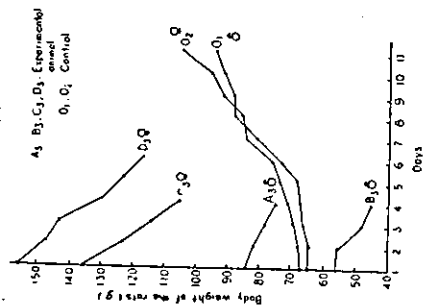
第 3 表 基礎飼料の組成

Starch (rice powder).....	80%
Casein (ether extracted)	9%
McCullum salt mixture	3%
Yeast	3%
Liver oil	1 drop/day

化物を適當量含有せしめたならば、毒性を現わすにいたるであらうと推察して第 1 部分を室温、窒素酸化を行い、第 2 表のごとき性状の酸化物となし、これを基礎飼料に對して、5% 宛与え、白ネズミを用いて、動物実験を行った。

その結果はやはり白ネズミの体毛は黄褐色に變じ、いづれも数日にして斃死した。白ネズミの体重変化曲線は第 1 圖に示す通りである。

第 1 圖



第 1 部分の酸化物 (Iodine value; 156.6, Peroxide; 1461 mg/100 g) を基礎飼料に對して 5% 与えた白ネズミの体重変化曲線

第 1 部分のヨウ素価は 232.3 であつて、このヨウ素価はリノール酸エチルのヨウ素価 164.9 とリノレン酸エチルのヨウ素価 247.4 との間にある。

2) 次に体重約 80g の白ネズミの胃部を直徑約 2.5~3 cm の大きさに脱毛し、高度不飽和脂肪酸エチルエ

(52)

考え、酸化せざるエステルを白ネズミに塗布して実験を行つた。

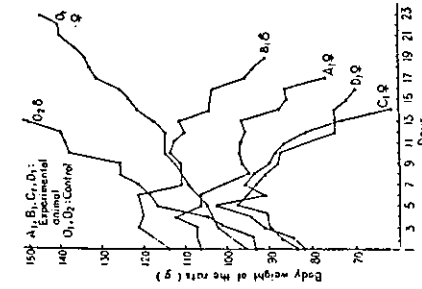
結果は推察した通りであつて、酸化物塗布の場合においては、7~10 日にて斃死したが、このときには、14~19 日の経過をもつて、全部斃死するをみた。第 4 圖は斃死する数時間前の白ネズミの 1 例を示す。ネズミは油につけて引上げたよな状態である。白ネズミの体重変化曲線は第 5 圖のごとくである。

第 4 圖



酸化しないエステルを 1 日 1 回塗布した場合、斃死する数時間前の白ネズミ

第 5 圖



酸化しないエステルを 1 日 1 回塗布した場合の白ネズミの体重変化曲線

第 4 表

	Sex	Initial weight (g)	Final weight (g)	Wt decreased (g)	died on
A ₁	♀	1500	1290	-210	5th day
A ₂	♀	1570	1350	-220	12th day
A ₃	♂	1500	1520	+20	15th day
A ₄	♂	1720	1575	-145	5th day

(53)

4) 今までの動物実験は、すべて白ネズミを用いたのであるが、高度不飽和脂肪酸エチルエステル酸化物がワサギに對して同様なる毒性を示すや否やを検した。

健康なる体重約 1.5 kg のワサギに對して、エステル酸化物 0.8 ml を毎日 1 回経口的に投与したところ、第 4 表に示すごとく、いづれも斃死することを知つた。

斃死したワサギの胃、腸、肝臓の状態を檢するに、胃においては、憩室が著しくおこされていることを認め、特に A₁ の場合には胃壁が 2 カ所ほど非常に薄くなつてゐるのを認めた(第 6 圖参照)。

腸においては、その弾力性を減じ、引つ縮ると切れやすい状態であつた。肝臓は部分的に本来の色でなく黄褐色に變つてゐるのを認めた。

第 6 圖



酸化エステルを与えて斃死したワサギ (A₁) の胃の内部。a, b の部分は胃壁が非常に薄くなつてゐる。

5) さらに、高度不飽和脂肪酸エチルエステル酸化物を与えて斃死した白ネズミについても腸管の弾力性が著しく減じてゐることを認めた。

考 察

ソーダアセトン法は高度不飽和脂肪酸を収率よくする良法であるが、外山、土屋⁴⁾も指摘しているように、えられた高度不飽和脂肪酸純部の中には、二重結合 2

11) Forest, R., Walker, E.: *Nature*, 161, 721 (1948)
 12) O'Meara, et al.: *Nature*, 154, 796 (1948)
 13) 勝沼徳彦: 結核, 32, 増刊号 (1957)
 14) 勝沼徳彦, 正田亨: 第29回日本生化学会総会 (1956)
 15) Katunuma, N., Shōda, T., Noda, H.: *J. Vitaminsology*, 3, 77 (1957)
 16) 堀田一雄, 正田亨, 勝沼徳彦: 第30回日本生化学会総会 (1957)
 17) Cohen, P. P., McGilvery, R. W.: *J. Biol. Chem.*, 171, 121 (1947)
 18) Berg, P.: *J. Biol. Chem.*, 222, 991 (1956)
 19) 勝沼徳彦, 藤野明男: 未発表論文

20) Lipmann, F., Tuttle, L. C.: *J. Biol. Chem.*, 159, 21 (1945)
 21) Carter, C. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 1465 (1950)
 22) Sevag, Stewart: *Arch. Biochem. Biophys.*, 41, 9 (1952)
 23) Bratton, A. C., Marschall, E. K.: *J. Biol. Chem.*, 123, 537 (1938)
 24) Kornberg: *J. Biol. Chem.*, 182, 779 (1951)
 25) Kaplan, N. O., Greenberg, D. M.: *J. Biol. Chem.*, 156, 511 (1944)
 26) Berg, P.: *J. Biol. Chem.*, 222, 1015 (1956)
 (受付 1957. 10. 21)

魚油の毒性に関する研究 (VIII)

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

松尾 登*

カ油を使用し, 細かい注意の下に炭酸ガス気流中において, 加熱重合せしめ, これを用いて行った実験結果について記述する。

前報において¹⁾²⁾³⁾, 魚油の毒性は, その中に含有する不飽和脂肪酸が自動酸化をうけて生ずる過酸化物によることを報告し, 過酸化物の蛋白質, アミノ酸などに対する作用について明らかにした⁴⁾。

ごく最近 E. W. Crampton, H. Kaunitz らは, 植物油を炭酸ガス気流中において加熱してえられた油は, 過酸化物は種微量であるにもかかわらず, 白ネズミに対して毒性を現わすことを報告⁵⁾⁶⁾している。魚油としてイ

1) 原料イカ油を基礎飼料に対して, 20% 混合投与の場合

使用したイカ油は, 第1表のごとき性状を有する淡黄色透明の液体である。

白ネズミは 50~80 g 程度のもを用い, 第2表に示

第1表 原料イカ油性状

原料イカ油	η _D ²⁰	ヨウソノ油 (Wijis)	ケン化価	酸価	過酸化物 (mg/100g)	分子重量 (Rast)
	1.4847	194.6	180.2	3.31	0	680

第2表 基礎飼料組成

デンプン (米粉末)	65%
マゼイン (エーテル抽出)	9"
マツカラム塩混合物	3"
酵母	3"
肝油	1 drop/day

すごとき基礎飼料に, 20% 充混合して, 動物実験を行った。

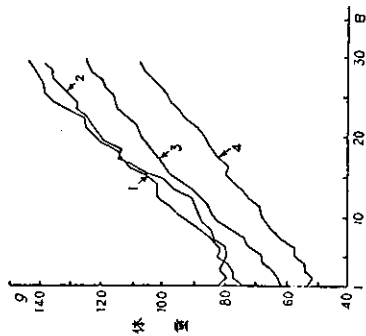
第1図はその成長曲線であって, 縦軸は白ネズミの体重, 横軸は日数を示す。いずれも良好なる成長を示している。実験終了時における原料イカ油の過酸化物質は, Trace 程度であった。(今までの実験結果によれば過酸化物質が 100 mg/100 g 以下の場合には毒性を示さない。)

第2図は, 良好なる成長を示した白ネズミの1例 (No. 3) である。

* 成蹊大学化学教室, 東京医科大学生化学教室

Studies on the toxicity of fish oil (VIII).
By Noboru Matsuo (Chemical Dept., Seikei University; Biochemical Dept., Tokyo Medical College).

第1図 原料イカ油を基礎飼料に対して 20% 混合投与した場合の白ネズミの成長曲線



2) 95°C に 120 時間加熱した油を 20% 投与せる場合

第1表に示した性状の原料イカ油を, コルペンに入れ湯浴につけて炭酸ガスをはげしく通じつつ (油の表面に液立つ程度) 95°C に, 120 時間加熱 (無触媒) した油の

第2図 原料イカ油を基礎飼料に対して、20% 混合投与した場合の白ネズミの1例

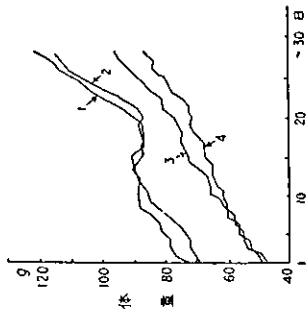


実験開始後 28 日目, No. 3

性状は、第3表に示す通りであって、色調は原料油とさして変わらない。

白ネズミは、原料イカ油の場合と同様、50~80% 程度 のものを用い第2表のごとき基礎飼料に、20% 宛混合

第3図 95°C に、120 時間加熱せるイカ油を、基礎飼料に対して 20% 添加、投与した場合の白ネズミの成長曲線



第3図は、その成長曲線であって、4 匹中 2 匹の成長曲線は実験開始後 10 日目から 20

第3表

重合油 95°C, 120 時間	♂	♀	ヨウソノ価 (Wijs)	ケン化価	酸 価	過酸化物 (mg/100g)	分 子 量 (Rast)
	1.4847	1.901	177.2	3.63	0	710	

日目頃まで平坦となり、原料イカ油にくらべて幾分劣る ようであるが、特別な毒性は示さず、成長している。第4図は、その白ネズミの1例である。実験終了時における試料油の過酸化物量は Trace 程度であった。

3) 250°C に、10 時間加熱せる重合油を、20% 投与 せる場合

第4表のごとき性状の原料イカ油を、コルペンに入れ、油浴につけて、油の表面に立立つ程度にはげしく炭酸ガスを吹込み過酸化物の生成を防ぎつつ、250°C に 10 時間加熱重合を行った。この場合も煎煎は使用しなかつた。重合油の色調は原料イカ油とさして変らないが、粘度を増し過酸化物を含まず、その性状は第5表のごときである。

白ネズミは 60~80g 程度のものを用い、第2表のごとき基礎飼料に、この重合油を 20% 宛混合して、動物実験を行ったところ、いずれも大体 15 日目までに死亡するのを見た。

第4表

原料イカ油	♂	♀	ヨウソノ価 (Wijs)	ケン化価	酸 価	過酸化物 (mg/100g)	分 子 量 (Rast)
	1.4706	1.87.9	186.7	1.05	0	700	

(14)

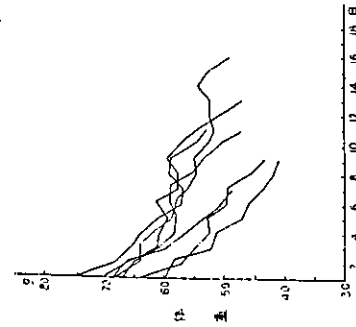
第5表 250°C, 10 時間加熱せる重合油の性状

重合油 250°C, 10 時間	♂	♀	ヨウソノ価 (Wijs)	ケン化価	酸 価	過酸化物 (mg/100g)	分 子 量 (Rast)
	1.4947	121.9	171.2	2.42	0	1320	

第6表 250°C, 10 時間加熱せる重合油 (20%) による白ネズミ飼育結果

性別	Initial weight (g)	Final weight (g)	Wt-decreased (g)	State of mortality
A ₁ ♀	74.5	53.5	-21.0	died on 11 th day
A ₂ ♂	70.0	49.0	-21.0	died on 13 th day
A ₃ ♀	60.0	40.0	-20.0	died on 9 th day
A ₄ ♂	67.0	47.0	-20.0	died on 11 th day
A ₅ ♂	69.0	49.5	-19.5	died on 7 th day
A ₆ ♂	68.0	49.5	-18.5	died on 16 th day
A ₇ ♂	64.0	44.0	-20.0	died on 9 th day

第5図 250°C, 10 時間加熱せる重合油を、20% 投与せる場合の白ネズミの成長曲線



第6図



第7図



いずれも加熱重合油 20% を混合投与せる場合の白ネズミであって、第7図のものは幾分セボレナ症状を呈している。

4) 250°C に 10 時間加熱せる重合油を、5% 投与せる場合

体重 60g 前後の白ネズミを用い、第7表に示すごとき基礎飼料に、250°C, 10 時間加熱せる重合油を 5% 宛混合して、動物実験を行った。実験終了時における試料油の過酸化物量は Trace 程度であった。

用いて、上記同様な動物実験を行ったが、やはりすべて、死亡するを見た。重合油の量いほど毒性が強く現われようである。実験終了時における試料油の過酸化物量は Trace 程度であった。

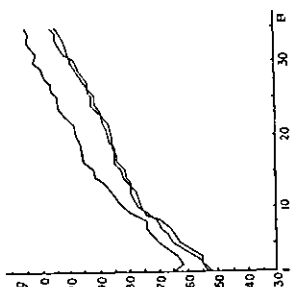
第5図の成長曲線を見るに、最初の体重の減少があり、さらに低下を続けて死亡するものもあり、また4日目から9日目頃までの間にあまり減少しない期間があり、さらに減少に移って死亡しているものもある。白ネズミは外見的には、一般に特別な変化はなかつたが、いずれも dirty な Matted coat の状態がみられ(生存期間が長い場合はセボレナ(皮膚病)に似た状態となったものもあった。)尿色の軟便を排泄するものが多い。第6図および第7図はその1例を示す。

(15)

第7表 基礎飼料組成

チ	粉 (米粉末)	80%
カ	ゼイレン (エーテル抽出)	9"
マツ	カラム塩混合物	3"
群	母	3"
肝	油	1 drop/day

第8図 250°Cに10時間加熱せる重合油を5%投与せる場合の白ネズミの成長曲線



第8図はその成長曲線であって、重合油5%程度投与の場合においては毒性は現われない。

5) 加熱重合油より、尿素付加法による環状化合物の分離について

前記の実験結果より、炭酸ガス気流中において、高温加熱してえられた熱重合油は、過酸化物質を含有しないにもかかわらず、20%混合投与の場合には、げいし毒性を現わすことが明らかとなったので、加熱重合時における原料イカ油の変化について考察し、さらに熱重合油より、毒性を現わす成分の分離を試み、その結果を報告する。多くの研究が行われている。Fahrian は、重合変化は不飽和脂肪酸の炭素二重結合が、相互に結合し、次第に飽和するものと説明し、これによってヨウソンの減少、分子重および粘度の増加および屈折率の変化する事実をよく説明しようとした。外山、土屋¹⁾は、魚油高度不飽和酸およびそのメチルエーテルの加熱変化について研究し、反応の初期においては分子間の重合よりもむしろ分子内の重合(おもに環状化合物の生成)が主として起るものと推察した。定中は、魚油高度不飽和酸メチルエーテルの加熱変化の結果、外山、土屋と同様の推定をえ、さらに、分子内の反応によって生じた4炭素環を有すると認められるメチルエーテルを分離した。ごく最近の研究によれば、R. F. Paschke, D. H.

第8表 直鎖構造エーテルおよび環状構造エーテル性状

	分子量 (Wt)	ケン化価	酸価	過酸化物質 (mg/100g)	分子重 (Calc)
直鎖エーテル	14624	75.1	170.7	0.36	330
環状エーテル	15059	175.2	148.3	1.30	280

1/3容の無水エタノールを混合してよく振とうし、混在する脂質を除いた後、(洗浄に用いた無水エタノールを捨て) その熱重合油 1kg に、無水エタノール 500g およびカセイソーダ 6g (乾燥) を添加し、重合油に対して、0.6% のカセイソーダを添加し、湯浴中にて、75~80°C に、2時間加熱して、エタノールを完了せしめ、生成したエーテルは、多量の蒸をもって蒸留した。えられたエーテルは、幾分褐色を帯びた淡黄色液体で、収量は使用した重合油に対して 90.5% であった。

ii) エチルエーテルより尿素付加法による環状構造化合物の分離: 無水エタノール 2l を 4l ビーカーにとり、これにエーテル 500g を混合 50°C に保ち、よくかくはんしながら尿素 2kg を徐々に加える。添加後、さらに、50°C において、30 分間充分よくかくはんを続けた後、室温に一昼夜放置する。

次に、尿素付加物および過剰の尿素を濾過して、後、湯の中に投入し、よくかくはんして尿素付加物を分解する。分離してきた直鎖構造化合物は湯をもって洗浄した後、室温 ~ 50°C にて真空ポンプをもってひいて (3mm Hg まで) 脱水した。かくしてえられた直鎖構造エーテルは、原料イカ油に似た淡黄色を呈し、使用したエーテルエーテルに対して 41.2% の収量であった。その性状は第8表に示す通りである。

濾液および洗液 (尿素付加物および過剰の尿素を洗浄したエタノール) に、大量の湯を加えて、環状構造化合物を分離し、よく湯をもって洗浄した後、室温 ~ 50°C にて、真空ポンプをもってひいて (3mm Hg まで) 脱水した。かくしてえられた環状構造エーテルは褐色を呈

第9表 熱重合油より、尿素付加法による環状構造エーテルおよび直鎖構造エーテルの分離

原料イカ油	加熱	熱重合	エタノール	エーテル	尿素付加物	直鎖構造エーテル	環状構造エーテル
CO ₂ 気流中	250°C, 10 時間	無水酒精	75~80°C	無水酒精	尿素付加物	直鎖構造エーテル	環状構造エーテル
		カセイソーダ		無水酒精			
				エーテル			

し、幾分粘潤であって使用したエーテルに対して収量は 33.6% であった。その性状は第8表に示す通りである。

6) 環状構造エーテルエーテルを 20% 投与せる場合 250°C に 10 時間加熱せる熱重合油をエーテルエーテルとなし、尿素付加法を用いて分離した環状構造エーテルを使用して動物実験を行った。体重 40~60g の白ネズミを、飼育してよく成長せしめ、9 日目に、基礎飼料 (第2表) に環状構造エーテル 20% を混合して投与し、動物実験を開始したところ、著しい体重の減少を続け、3~4 日間にしてすべて死滅した。白ネズミは外見的には特別な変化はなかった。環状構造エーテルエーテルは更にげいし毒性を現わす

第10表 環状構造エーテル (20% 投与) による白ネズミ飼育結果

性別	Initial weight (g)	Final weight (g)	Wt-decreased (g)	State of mortality
B ₁	76.0	52.0	-24.0	died on 4th day
B ₂	68.5	48.5	-20.0	died on 3th day
B ₃	86.0	56.0	-30.0	died on 4th day
B ₄	63.5	50.5	-13.0	died on 3th day

よって生成せられる環状構造のものがその原因であることが明らかとなった。混合の度が進んだものほどその毒性は強く現われるようである。

本論文の要旨は、昭和 31 年 11 月 1 日第 29 回日本生化学会総会(福岡)において発表された。
本研究は新潟大学農学、児玉三先生の御指導により成ったものであって、先生に対し深甚なる感謝の意を表す。

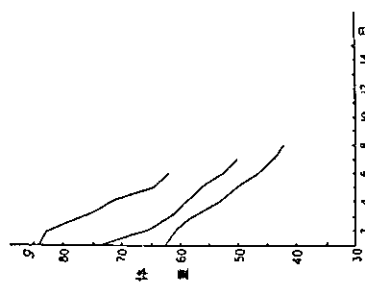
文 献

- 1) Matsuo, N.: *J. Biochem.*, 41, 481 (1954)
- 2) Matsuo, N.: *J. Biochem.*, 41, 647 (1954)
- 3) 松尾: 第 73 回日本生化学会関東部会 (1954 Nov.)
- 4) 松尾: 第 27 回日本生化学会総会 (1955 Apr.)
- 5) Crampton, E. W., et al.: *J. Nutrition*, 49, 333 (1953)
- 6) Kaunitz, H., et al.: *J. Nutrition*, 55, 577 (1955)
- 7) 外山, 土屋: *工業化学*, 32, 133 (昭 4)
- 8) 記: *工業化学*, 33, 152, 915, 912, 1289 (昭 5); *理研彙報*, 10, 201, 205, 748 (昭 6)
- 9) Paschke, R. F., Wheeler, D. H.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 26, 278 (1949)
- 10) Paschke, R. F.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 32, 473 (1955)
- 11) Riveti, D. E. A.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 33, 635 (1956)
- 12) Schlenk, W.: *Ann. Chem.*, 565, 204 (1949)
- 13) Feuge, R. O., Gros, A. T.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 26, 97 (1949)

(受付 1957. 8. 23)

合投与して、動物実験を行ったところ、白ネズミはいずれも 5~7 日間にして斃死した。白ネズミは外見的には特別な変化はみられなかった。

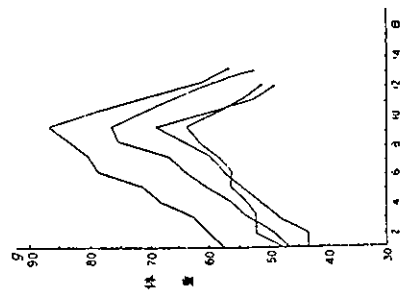
第 11 図 環状構造エステル 10% 投与の場合の白ネズミの成長曲線



8) 環状構造エステルを 20% 投与せる場合 60~80g の白ネズミを用い、尿添加法によって分離した四環構造エステル 20% を、第 2 表のごとき基礎飼料に混合投与して動物実験を行った。白ネズミの飼育結果およびその成長曲線は第 13 表および第 12 図のごとくであって、白ネズミはいずれも良好なる成長を示している。

以上の実験において、実験終了時における各エステル 20% の過酸化含有量は、環状構造エステルにおいては 20% 投与実験終了時に 22 mg/100g、10% 投与実験終了時において 34 mg/100g であり、直鎖構造エステルにおい

第 10 図 環状構造エステル 20% を投与した白ネズミの成長曲線



ことが明らかとなった。第 10 図は成長曲線であって、環状構造エステルがはげしい毒性を示し、体重の減少がきわめて著しいことがよくみられる。

7) 環状構造エステルを 10% 投与せる場合 よく成長した 60~80g 程度の白ネズミを用い、第 11 表のごとき基礎飼料に、環状構造エステル、10% を混

第 11 表 基礎飼料組成

チ	粉 (米粉末)	75%
カ	ゼイン (エーテル抽出)	9"
マ	ツカラム塩混合物	3"
酢	母	3"
所	油	1 drop/day

第 12 表 環状構造エステル (10% 投与) による白ネズミ飼育結果

性 別	Initial weight (g)	Final weight (g)	Wt-decreased (g)	State of mortality	
C ₁	♀	64.0	62.0	-22.0	died on 5th day
C ₂	♂	73.5	50.5	-23.0	died on 6th day
C ₃	♀	62.5	42.0	-20.5	died on 7th day

第 13 表 直鎖構造エステル (20% 投与) による白ネズミ飼育結果

性 別	Initial weight (g)	Final weight (g)	Wt-increased (g)	Days of feeding	
D ₁	♀	73.0	116.5	+43.5	23th day
D ₂	♂	70.0	115.5	+45.5	
D ₃	♂	68.0	117.5	+49.5	

油脂の加熱及び酸化による変性について

松 尾 登
(Noboru Matsuo)

高度不飽和脂肪酸を分離する方法の中、臭化物は酸化性を起し易いので、ソーラアセトン法による、高度不飽和脂肪酸を常法によってエステル化し、このエステルを真空蒸留 (2mmHg) する。かくして得られた 205~215°C の留分を主として実験に使用した。これは無色無臭の液体であって非常に酸化し易いので、充分な注意を払ってその酸化を防止した。

次に、このエステルをハトリ皿に入れ、室温に放置して自動酸化せしめた。同様細心の注意を以て貯入使用した。原因としてはナレイン酸エステルを用いたか等々の性質を表 2 に示す。

表 2 実験に使用した各試料の性状

試料名	d ₄ ²⁰	n _D ²⁰	ヨウ素価	ケン化価	不飽和基
高度不飽和脂肪酸エステル	—	1.4823	358.70	163.90	100%
高度不飽和脂肪酸エステル	0.9568	—	204.82	201.49	98%
オレイン酸エステル	0.8822	—	82.96	187.69	—

表 3 基礎飼料組成 (%)

成分	割合 (%)
テンブアン(米粉)	80
イースト	3
カゼイン(エーテル抽出)	9
肝油	1滴/日
マツカラム塩	3

体重約 60g の白ネズミを用い表 3 の如き基礎飼料に対して、上記試料 5% を与えて (経口投与) 動物実験を行なったところ、表 1 に示す如く、酸化し易い高度不飽和脂肪酸エステルを主とした白ネズミは、ナレイン酸エステルを与えた白ネズミと時々同様に、良好な成績を示したのに対して、酸化エステルを主とした白ネズミは何れも体重は減少し、体毛は黄褐色に染じて衰弱にして死亡した。

飼料中に不飽和度の高いグリセリドを多量に含有する油脂は酸化及び加熱に対して非常に不安定である。自動酸化又は加熱重合を受けた油脂は、新鮮なものに比して色素価は低下し、毒性を現わすことが最近の研究によって明らかとなった。

魚油、植物油及びそれらから分離した脂肪酸を用いて、これを酸化又は加熱した場合の毒性と毒性について、動物実験を中心として述べることにする。

1 油脂の自動酸化と毒性

古く化驗では各種の脂肪酸の栄養価について詳細な研究を行っており、その結果によれば高度不飽和脂肪酸は毒性を有し、その原因は多数の二重結合を有するためと結論した。

その後、自動酸化した油脂はビタミンの作用を破壊し、(a) 及び (b) ある種の酵素作用を抑制することなどが明らかとなったが、東海医科大学研究所研究室においては、イワンから分離した高度不飽和脂肪酸をエステルとしたものゝ、細心の注意をもって自動酸化を防止し、白ネズミに与えると同等毒性を示さず、これを空気に放置して自動酸化したものは毒性を現わすとの報告を行なった。筆者はイカ油から分離した高度不飽和脂肪酸を用いてこれを確認すると同時に、自動酸化物中の同様なものがその毒性の原因であるか、又その毒物の生体に対する作用、蛋白質、アミノ酸等との関係について究明を行なった。

(1) 高度不飽和脂肪酸エステル 4 自動酸化物の毒性

原料油としては、精製イカ油を使用した。これは無臭無色の透明な液体で、その性状を表 1 の如くである。

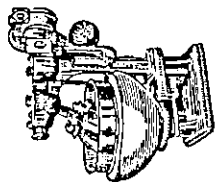
表 1 原料イカ油性状

性状	ヨウ素価 (I ₂)	酸価	ケン化価	不飽和基 (%)
0.9503	182.5	2.03	189.3	2.19

石川式攪拌播漬機

播漬・混合・攪拌・煉り合せを同時になす
機械の播り鉢

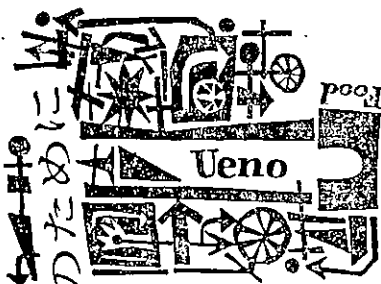
播鉢の直径 10 種位より 1 米位まで大・小・
加熱用等数百種製作
新製品 分析用瑪瑙製乳鉢の機械発売



株式会社 石川工場

東京都港区芝三丁目四番地 2 号
電話 東京 (451) 3918・8492
振替 東京 5 5 6 7 3 番

紫綬褒章受章



食品加工の高度化のために

- 可溶性・合成發酵料 **Z-アミノ**
- 可溶性・合成發酵料 **メソアミノ**
- 可溶性・鮮度保持剤 **ソルビン酸カリ**
- 可溶性・鮮度保持剤 **ソルビン酸**
- 可溶性・鮮度保持剤 **ネオトールゲン**
- 可溶性・鮮度保持剤 **メソアミノ**
- 可溶性・鮮度保持剤 **メソアミノ**



上野製薬株式会社 本社 大阪市東区高橋區二丁目三一
支店 東京都中央区日本橋本町二丁目一