

はじめに

ディープフライは、油脂を使用する最も一般的な調理法で、油脂を介して高温で食材を加熱することにより、水分を蒸発させる。また、タンパク質を変性、でんぷんを α 化させることにより食用としての条件を満たすだけでなく、食感のよい料理を提供する。また、使用する油脂によって、調理した食材の風味が異なり、フライ独特のおいしさを与えている。

しかし、ディープフライでは、油脂を 160℃から 180℃の高温で加熱するため、酸化、重合が起こり、揚げ種から滲出する水分や様々な成分によりさらに劣化は複雑に進行する。そのうえ、酸化油脂中には毒性を有するアルデヒド、ケトン、アルコールといった低分子の揮発性物質が生成する。厚生労働省の調査¹⁾によると、20 歳から 60 歳の日本人の 3 割が 1 日に 1 回以上外食をしており、ほとんどの外食には揚げ物が含まれている。食材のフライ条件にもよるが、揚げ物の衣はその重量の約 40%が油である²⁾ので、酸化した油脂を用いると、食材や油脂の嗜好性が低下するだけでなく、健康被害を引き起こす危険性がある。日本では、油脂に関する法規制³⁾のもと、食品工業で使用する油脂や油脂で加工した食品の基準が厳しく、急性毒性を示すほど劣化した油脂を使用することはないが、小規模な飲食店や病院厨房の中にはフライ油を頻繁に交換しないため、著しく劣化が進んでいる場合がある⁴⁾。これまで、劣化した油脂の化学性状と急性毒性に焦点が当てられ、幅広く研究されてきた^{2, 5)}が、近年では加熱油脂中に生成する低分子物質の炎症促進作用や、発がん性、遺伝毒性が報告されている⁶⁻⁸⁾。健康リスクの低減にとって、油脂の酸化抑制に関する研究が極めて重要な位置づけになる。

我が国では、抗酸化剤として天然のトコフェロールや、化学合成された BHA、BHT、クエン酸イソプロピルの添加が認められている⁹⁾が、短時間の加熱のうちにその抗酸化効果は消失する。一方、化学的に安定であり、消泡剤として業務用の油脂に添加が認められているシリコーン油は、少量で顕著な抗酸化効果を長時間発揮し、油脂の酸化重合を抑制している。しかし、そのメカニズムは十分に解明されておらず^{10, 11)}、検討課題として重要である。

上で述べた低分子化合物のひとつに、加熱油脂を介して生成するアクリルアミドが挙げられる。本来、フライ油から生成する物質ではなく、糖質とアミノ酸を加熱するとアミノカルボニル反応を経て生成する発がん性をもつ物質である。フレンチフライやポテトチップなどディープフライした揚げ種中にアクリルアミドが多く含まれることから、その摂取量と健康被害の関連性が問題となった。揚げ種から油中に滲出した糖質とアミ

ノ酸、あるいはフライ油中のカルボニル化合物と揚げ種から滲出したアミノ酸が反応してアクリルアミドが生成する可能性は否定できない。

食品工業で使用した業務用油脂は年間に数十万トン廃棄されるため、環境問題となっている。品質の良い油脂の一部は家畜の飼料・脂肪酸原料・ペンキ・インク等として工業用に再利用されるが、廃食用油を再生して、油脂を可能な限り再利用することは環境的にも経済的にも重要な課題である。

本研究では、油脂の安全性と活用をテーマに、油脂の酸化と酸素濃度の関係、また抗酸化剤と酸素濃度の関係について検討した。他方、油中で生成する可能性のあるアクリルアミド量の生体への影響と、ディープフライに使用された種々の油脂中のアクリルアミド含量を調べた。最後に、食品工業界で使用后、回収された油脂の再生法を提案した。

第 1 章 油脂中の酸素濃度と酸化について

1. 序論

Gerde ら¹²⁾は、大豆油とオリーブ油を室温から加熱した時、120℃になると酸素濃度が急激に減少し、180℃では酸素がほとんど溶存しない現象は、高温下での油脂の酸化による（酸素の消費による）ことを報告した。戸谷ら⁴⁾もキャノーラ油と大豆油で同様の酸素の濃度変化を確認した。フライ油を加熱する時、150℃付近から黄色に着色し異臭を放ち始め、劣化が進行することはよく知られている。本章では、上記の酸素濃度の変化と酸化の関連について、また、油脂を繰り返し加熱した時の酸素濃度の変化を種々の加熱条件を用いて検討した。

2. 実験方法

2-1 試薬と材料

日清オイリオ（東京）製のキャノーラ油とブレンド油を使用した。トリオクタノイルグリセロールはシグマアルドリッチ（U.S.A.）から入手した。オレイン酸メチルエステルは和光純薬（大阪）、リノール酸メチルエステルはナカライテスク（京都）から購入した。その他の試薬は、和光純薬より入手した。

食用油の脂肪酸組成はガスクロマトグラフィーを用いて分析¹³⁾し、Table 1 に示した。

2-2 油脂の化学性状分析

カルボニル価（CV）は基準油脂分析法に従い測定した¹⁴⁾。極性化合物量（PC）は、ALPHA M.O.S（東京）の Cap Sens 5000®を用いて測定した。ディープフライ実験に用いた食用油は濁っていたため、遠心分離後、ろ過して測定した。

2-3 加熱実験における相対酸素濃度の変化

2-3-1 オレイン酸メチルエステルとリノール酸メチルエステルの相対酸素濃度測定

オレイン酸メチルエステル 1kg を 4 つ口セパラブル丸底フラスコに入れ、攪拌棒、温度計、エアーポンプを取り付け、残る 1 口は空気の排気口とした。マントルヒーターに設置し、空気を巻き込まないように 85 rpm で静かに攪拌し、エアーポンプで 110 mL/min の空気を送りながら室温から 180℃まで 80 分間で加熱した。オレイン酸メチルエステルは、加熱実験前に酸素を吸収しないよう開封後直ちに実験に用いた。室温（25℃）、60℃、100℃、120℃、150℃、180℃でピペットを用いてサンプリングし、

50 mL 褐色びん（内径 30 mm×高さ 77 mm）に満たして密栓した。試料の酸素濃度は室温下、酸素を飽和させたキャノーラ油の酸素濃度を 100%として、DO/O₂/Temp Meter（UC-12-SOL; セントラル科学、東京）とポーラログラフ電極を用いて測定した。酸素濃度測定後、CV を測定した。同条件でリノール酸メチルエステルの加熱実験と測定を行った。

2-3-2 トリアシルグリセロールの相対酸素濃度の変化

2-3-1 と同様の加熱実験をキャノーラ油とブレンド油、トリオクタノイルグリセロールについても行い、トリアシルグリセロールの酸素濃度を測定した。

2-3-3 連続加熱と断続加熱における相対酸素濃度の変化

2-3-1 と同様に新鮮ブレンド油を、加熱後 180℃に達してから 1 時間おきに計 4 時間、試料をサンプリングし、酸素濃度と PC を測定した。続いて、同様に、新鮮ブレンド油を 180℃で 1 時間加熱し、その後、放冷して 48 時間室温に放置することを 4 回繰り返した。各加熱の直後と、直前に試料をサンプリングし、酸素濃度と PC を測定した。加熱合計時間は 4 時間である。

2-3-4 ディープフライにおける相対酸素濃度

電気フライヤー（EP-D692; Twinbird、新潟、槽寸法 14 cm×22 cm×11cm）を用いて、1500 g の新鮮ブレンド油でディープフライを行った。揚げ種は 125 g の 8 切りジャガイモを 4 バッチ、それぞれ 5 分間ずつ素揚げした。フライ後、ブレンド油を 3000 rpm、30 分遠心分離して濁りを除去したあと、酸素濃度と PC を測定した。使用したブレンド油は 24 時間室温に静置し、翌日、同条件のディープフライを繰り返した。

2-3-5 ディープフライに繰り返し使用した食用油の相対酸素濃度の変化

2-3-4 と同様にディープフライ操作を Table 2 に示した揚げ種を用いて行った。この加熱実験は、家庭でのディープフライを想定して、新鮮油を注ぎたさずにディープフライ後 2 日間室温に静置することを 5 回繰り返した。5 回目のディープフライ後、フライ油をろ紙 No.2（アドバンテック、東京）を用いてろ過して、次の加熱実験に用いた。450 g のろ過済みフライ油を 4 つロセパラブル丸底フラスコに入れ、25℃、80℃、120℃、150℃、180℃でサンプリングして酸素濃度を測定した。新鮮ブレンド油も同様の加熱実験を行い、酸素濃度を測定して、繰り返し使用したフライ油と比較した。

Table 1 Fatty acid compositions of frying oil.

Fresh oil	Blended oil	Canola oil
C14:0	0.1	0.1
C16:0	8.7	4.4
C16:1	0.1	0.2
C18:0	3.6	2.5
C18:1	36.4	60.9
C18:2	40.8	20.2
α -C18:3	6.5	7.9
Others	3.8	3.8

C14:0 myristic acid, C16:0 palmitic acid, C16:1 palmitoleic acid, C18:0 stearic acid, C18:1 oleic acid, C18:2 linoleic acid, α -C18:3 α -linolenic acid.

Table 2 Frying program with blended oil.

Deep-fried foods	Fried amounts	Frying duration (min)	Day
Fried mushroom	300 g	9	1
Fried chicken	380 g	30	3
Breaded chicken cutlet	90 g x 4	19	5
Breaded pork cutlet	100 g x 4	21	7
Smelt	15 g x 20	19	10

3. 結果

3-1 加熱した油脂の相対酸素濃度と化学性状

3-1-1 メチルエステル中の相対酸素濃度の変化

キャノーラ油とブレンド油の主要な構成脂肪酸であるオレイン酸とリノール酸のメチルエステルを用いて加熱実験を行ったところ Fig. 1A に示す通り、オレイン酸メチルエステルの酸素濃度は 100℃で急激に減少し、180℃では低値を示し、リノール酸メチルエステルでは 60℃から 150℃まで徐々に酸素濃度が減少し、150℃でオレイン酸メチ

ルと同等の値を示した。

Figure 1Bにオレイン酸メチルエステルとリノール酸メチルエステルの CV の変化を示した。両エステルの CV は 120℃までほぼ変化なく 150℃から徐々に上昇した。すなわち、酸素濃度の減少と CV の上昇は相関関係がみられなかった。

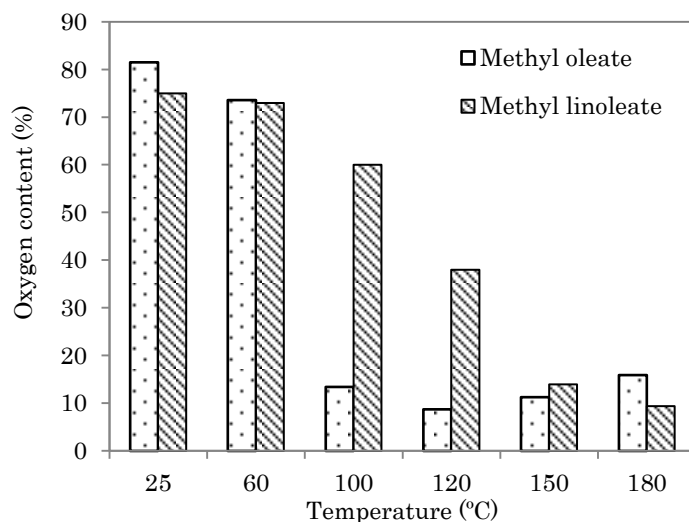


Fig. 1A The effect of temperature on the oxygen content of methyl esters.

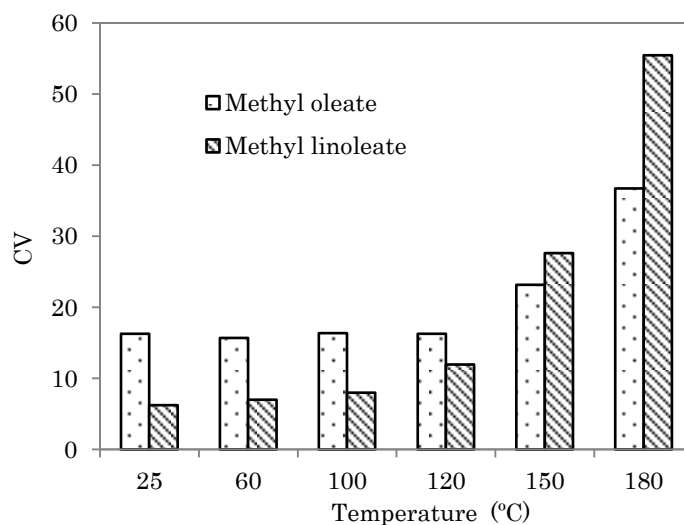


Fig. 1B The effect of temperature on the CV of methyl esters.

CV stands for carbonyl value.

3-1-2 トリアシルグリセロールの相対酸素濃度の変化

Figure 2Aにキャノーラ油とブレンド油、トリオクタノイルグリセロールの酸素濃度の変化を示した。キャノーラ油とブレンド油の酸素濃度は、加熱後 120℃まで増加し約 85%となったが、120℃を超えると急激に酸素濃度は減少して 180℃で最低値を示した。

室温から 100℃まで酸素濃度が上昇している理由は、新鮮油が窒素充填されていたためと考えられる。トリオクタノイルグリセロールは、初期酸素濃度が高いものの、加熱 120℃まではほぼ一定の酸素濃度を示し、120℃を超えると急激に低下した。150℃、180℃での酸素濃度はトリオクタノイルグリセロール≒キャノーラ油>ブレンド油であった。

キャノーラ油とブレンド油の CV は同様の挙動を示し、150℃までわずかに上昇し、加熱を続けると急激に増加した。トリオクタノイルグリセロールでは 150℃を超えるとわずかに上昇した (Fig. 2B)。

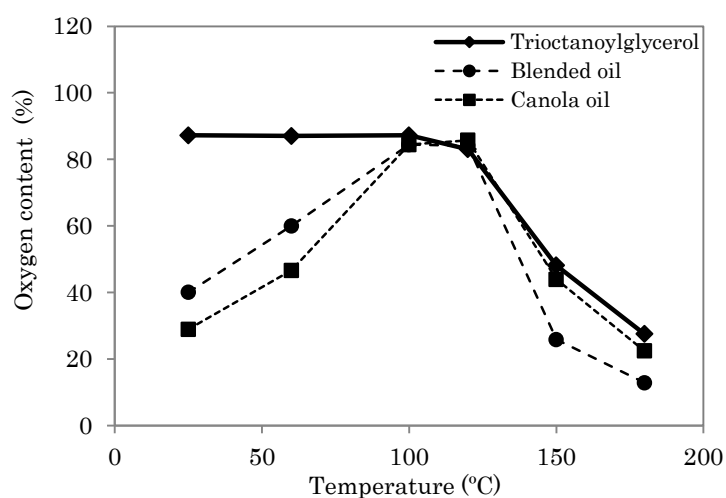


Fig. 2A The effect of temperature on the oxygen content of triacylglycerols.

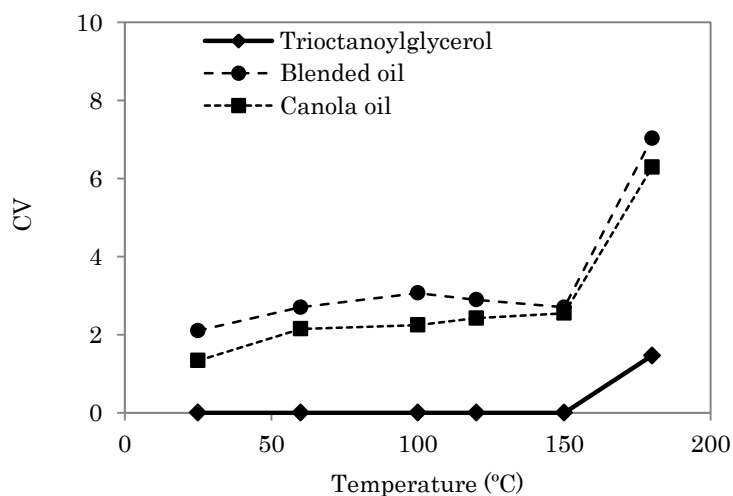


Fig. 2B The effect of temperature on the CV of triacylglycerols. CV stands for carbonyl value.

3-2 連続加熱と断続加熱における相対酸素濃度と化学性状

ブレンド油を4時間連続加熱すると酸素濃度は徐々に減少し、PCは増加した (Fig. 3A, B)。一方、Fig. 3A に示した通り、断続的に計4時間の加熱では、ブレンド油の酸素濃度は加熱直後に低く、加熱直前は約70%前後と高値を示したが、加熱時間の経過と共にわずかに減少した。また、断続加熱の4時間後の酸素濃度は連続加熱の4時間後と比較すると低いことが示された。断続加熱されたブレンド油のPCは、Fig. 3B に示した通り、連続加熱と比較すると2時間後以降有意に高く、4時間後には20%を超えた。

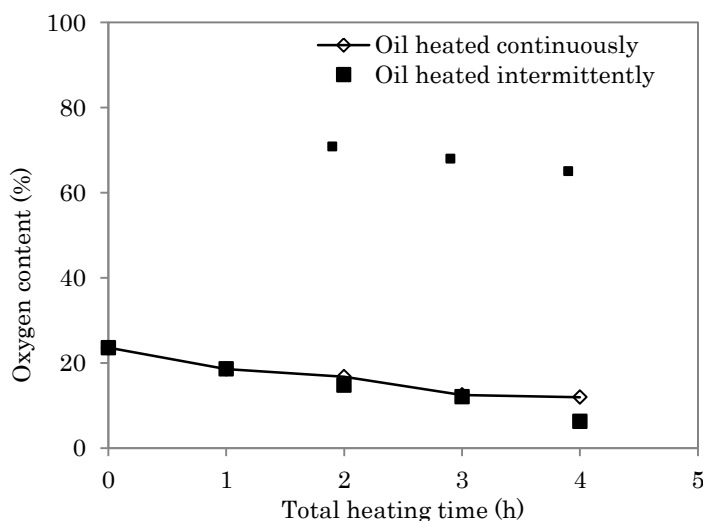


Fig. 3A Oxygen content of blended oil heated continuously and intermittently. Small square symbols show values before each 1-h heating.

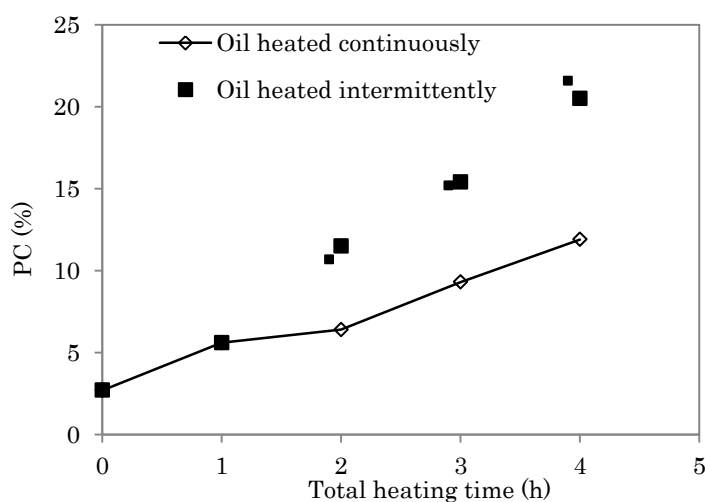


Fig. 3B PC of blended oil heated continuously and intermittently.

Small square symbols show values before each 1-h heating.

PC stands for polar compound content.

3-3 ディープフライにおける相対酸素濃度と化学性状

ディープフライ中の酸素濃度の変化を Fig. 4 に示した。加熱のほかに揚げ種（ジャガイモ）の影響が加わり、1 日目の加熱 30 分で、PC が 4.7%から 14%へと上昇し、2 日目の加熱 22 分で 17.5%と上昇した。ブレンド油が 180℃から室温に放冷されるとき、短時間で酸素濃度は増加し、室温下、次の加熱まで徐々に増加した。

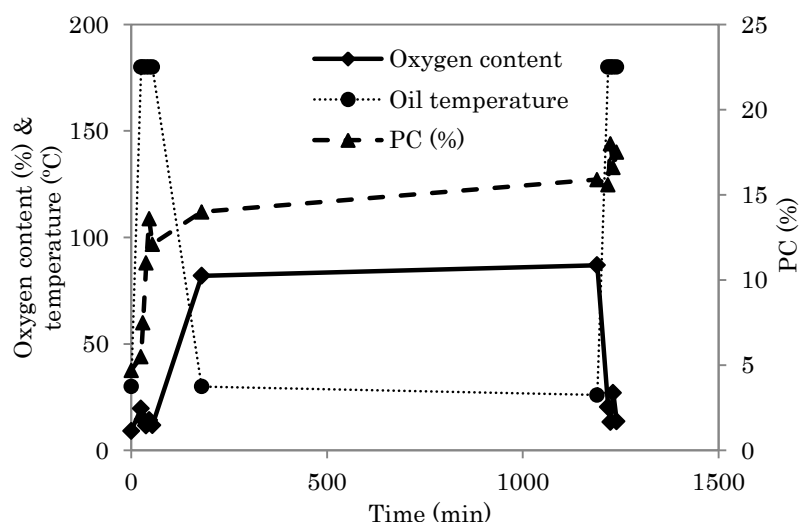


Fig. 4 Oxygen content, temperature & PC of blended oil under deep-frying.

PC stands for polar compound content.

3-4 ディープフライを繰り返した油脂の相対酸素濃度

揚げ種（鶏肉、きのこ、チキンカツ、ポークカツ、魚）によるディープフライを繰り返したブレンド油と新鮮油の酸素濃度の温度に対する変化を Fig. 5 に示した。ディープフライに用いたフライ油は、新鮮油と比較して有意に酸素濃度が低く、新鮮油では加熱すると 120℃まで酸素濃度は上昇するが、フライ油では加熱すると徐々に酸素濃度は減少し、180℃で最低値を示した。

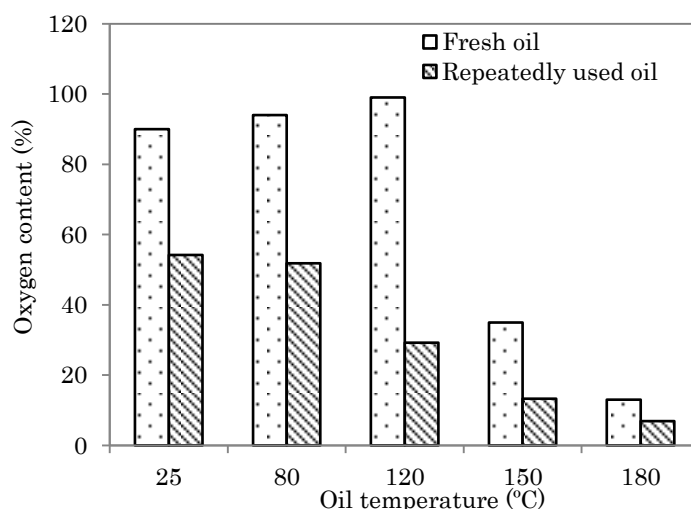


Fig. 5 Oxygen content in blended oil repeatedly used for deep-frying.

4. 考察

大気中の酸素濃度と油脂の酸化との関連について多くの研究がなされているが、油脂中の酸素濃度の観点から油脂の酸化を検討した報告は見当たらない¹⁵⁾。戸谷⁴⁾らの研究と Gerde¹²⁾らの報告によると、油脂を室温から 180℃まで加熱したとき、120℃に達すると油脂中の酸素濃度が急激に減少し、加熱をやめ油脂を室温に放置すると、酸素濃度は徐々に上昇する。

本研究では、まず、120℃での急激な酸素濃度の減少が、酸化による酸素の消費であるのか、油脂の物性であるのかを調べるために、キャノーラ油とブレンド油の主な構成脂肪酸であるオレイン酸とリノール酸のメチルエステルを用いて加熱実験を行った。オレイン酸メチルエステルは、100℃を超えると急激に酸素濃度が減少し、180℃まではほぼ一定の値を示した。一方、リノール酸メチルエステルは室温から 150℃まで徐々に酸素濃度は減少した (Fig. 1A)。これは、高温下で酸素はメチルエステル中に溶存できないことを示している。また、100℃から 120℃での酸素濃度は、オレイン酸メチルエステルよりもリノール酸メチルエステルで高かった。

両者の CV は 120℃まではほとんど変化がなかったが、温度の上昇と共に高くなった (Fig. 1B)。しかし、Fig. 1A で示したとおり、100℃から 150℃での酸素の減少にもかかわらず、活発な酸化は引き起こされなかったことが示され、酸素濃度の減少と CV の上昇は連動しているとは考えにくい結果となった。150℃以上の CV は、オレイン酸メチルエステルよりもリノール酸メチルエステルが高値を示した。

次に、トリオクタノイルグリセロールが 120℃まで酸素濃度を高く保ち、加熱を続け

ると急激に酸素濃度が減少することを示した (Fig. 2A)。トリオクタノイルグリセロールは、脂肪酸部分が炭素数 8 個の酸化されにくい飽和脂肪酸で、室温では液体であるため、油脂の溶存酸素濃度の物理的変化を示す好適な物質であると考えられる。油脂中の酸素濃度は、油脂の化学構造や、油脂が置かれる環境中の酸素量、温度、油脂との反応速度、平衡時間などによって異なるが、加熱し始めたときの酸素濃度は、その油脂の初期の酸素濃度を反映する (Fig. 1A、2A)。ブレンド油とキャノーラ油では、製造最終工程で窒素を封入しているため、開封時の酸素濃度は低かった。この 2 種の油の酸素濃度は加熱と共に上昇したが、トリオクタノイルグリセロールと同様に 120℃で酸素濃度は急激に減少した。ブレンド油の酸素濃度は、120℃から 180℃で、トリオクタノイルグリセロールやキャノーラ油よりも低い結果となった。Figure 2B に示されたように、CV は 150℃までは徐々に上昇し、その後急激に増加した。構成脂肪酸に二重結合をもたないトリオクタノイルグリセロールの CV は、150℃までゼロであったが、180℃でわずかに上昇した。Gerde ら¹²⁾は、油脂を加熱したとき、120℃からの急激な酸素濃度の減少は、高温下での酸化による現象であると報告しているが、本実験の結果、その減少は主にトリアシルグリセロールの物性に起因する現象であることが示唆された。Figure 1A と 2A を比較すると、100℃から 120℃の間では、トリアシルグリセロールは、脂肪酸のメチルエステルよりも酸素を多く保持していることが判明した。

油脂を断続加熱したとき、油脂中の酸素濃度の変化は連続加熱時よりも大きいことを Fig. 3A に示した。加熱後の室温放置時に、大量の酸素が油脂中に溶解し、自動酸化が加速する。油脂中に吸収された酸素は、油脂の表面に存在する酸素よりも直接的に不飽和脂肪酸と反応する。断続加熱における PC は、室温放置時に大きく増加し、1 時間加熱の前後ではほとんど変化しない結果となった (Fig. 3B)。この加熱パターンでは、室温に放置中の PC の上昇と、油脂の加熱による PC の上昇が同等であった。総加熱時間 4 時間の断続加熱では、加熱後の PC は加熱前よりも低かった。この結果から、加熱中に、極性化合物は低分子物質へと分解し、油脂中から揮発することが推察された¹⁶⁾。

家庭でのディープフライを想定したモデル実験では、天然抗酸化物質の含まれる新鮮油を注ぎたしていない。Romero ら¹⁷⁾は、頻繁に新鮮油を注ぎたす場合、フライ油の劣化をかなり防げることを報告している。予想に反して、ディープフライ中の高温下では揚げ種からは連続して水分や空気の無数の泡が発生しているにもかかわらず、酸素濃度は低かった。しかし、酸化は進行し、PC は上昇した (Fig. 4)。極性化合物は、主に、泡の表面と空気との界面での酸化によって生成する。

加熱した油脂を室温に放置したとき、油脂に酸素が急速に吸収され自動酸化が亢進す

る。ポリジメチルシロキサン (PDMS) は、消泡剤の役割をもつが¹⁸⁾、油脂中に 100 ppb 存在すれば¹²⁾、油脂の表面に連続した単分子膜を形成し¹⁹⁾、加熱酸化を抑制することが報告されている。もし、PDMS が油脂の表面に酸素の吸収を妨害するバリアを形成すれば、加熱した油脂を室温に放置したとき酸素の吸収を抑制する可能性はある。日本では、家庭用油脂に PDMS が添加されていないが、食品工業用など業務用油脂には数 ppm が添加されて抗酸化効果を発揮している²⁰⁾。Dueik²¹⁾らのグループと、Nunes²²⁾らのグループは酸化を抑制するために、減圧下でディープフライを行うことを提案している。しかし、この方法は家庭でのディープフライには利用し難い。

繰り返しディープフライした油脂を 180℃で加熱して温度による酸素濃度の変化を検討したとき、その酸素濃度は新鮮油のそれよりも低いことが示された (Fig. 5)。またオレイン酸メチルエステルと、リノール酸メチルエステルの酸素濃度は異なる挙動を示したので、酸素濃度と油脂の化学構造の関連性は、今後の研究にとって非常に興味深い。油脂中のジアシルグリセロールやモノアシルグリセロール、脂肪酸、リン脂質、水分、ミネラルといった少量の成分は、油脂の物理的性質や化学性状に影響を及ぼすことが報告されている^{23, 24)}。

Sanchez-Muniz ら²⁵⁻²⁷⁾は、トリアシルグリセロールの重合物量は、フライ油の劣化のより正確な情報となり、PC よりも劣化油の毒性の指標となると報告している。しかし、溶存酸素は不飽和脂肪酸の酸化の引き金となり、トリアシルグリセロールの重合物を生成させるため、油脂中の酸素濃度を測定することは非常に重要である。

以上まとめると、油脂を加熱して 120℃で急激に酸素濃度が減少する現象は、主に、トリアシルグリセロールの物性に起因し、酸化反応による酸素の消費はほとんど影響していないことが判明した。また、油脂を 180℃に加熱したあと室温に放置すると、酸素濃度は上昇した。ディープフライをしている間、揚げ種から無数の泡が発生するが、油脂中の酸素濃度は低い結果となった。繰り返しディープフライに使用した油脂中の酸素濃度は低くなることが判った。

第2章 油脂中の酸素濃度に対するポリジメチルシロキサンの効果

1. 序論

ポリジメチルシロキサン（以下 PDMS）はケイ素と酸素がシロキサン結合したシリコーンオイルで、側鎖にメチル基を持つ^{18, 28)}。PDMS の主な特徴としては、1) 化学的に安定で、生理的に不活性のため食用用途に利用できる。2) 表面張力が他のオイルと比較して小さいため、消泡剤、化粧品原料に応用できる。3) 耐熱性、耐寒性がある。4) ガス透過性が高い、が挙げられる。そのため石油、化学、繊維、食品など様々な工業界にとって有用なオイルである^{18, 28)}。また、日本では食品添加物として使用が認められている製品があり、食用植物油の日本農林規格²⁰⁾によると、消泡剤として油脂に 50 ppm まで添加できることが記載されている。実際に市販されている業務用の揚げ油には数 ppm のレベルで添加されている。PDMS の効果は消泡作用の他に、加熱酸化抑制効果²⁹⁾、発煙点上昇効果³⁰⁾がよく知られている。J. B. Martin ら³¹⁾は、油脂中に 0.03 ppm の PDMS を添加すれば抗酸化効果を発揮し、さらに Freeman¹⁹⁾は油脂の表面に単分子膜を形成して、空気中の酸素の吸収と拡散を防止して酸化を抑制すると報告している。その後の PDMS の酸化劣化抑制の研究の歴史は長く、諸説^{11, 32, 33, 34)}が提案されたが、1950 年代からの長きにわたり単分子膜説が信じられてきた。PDMS 単分子膜説は、PDMS が表面を覆うことによる加熱油脂の対流抑制³³⁾や表面温度の低下作用³⁵⁾など様々検討されてきたが、PDMS の加熱酸化抑制効果のメカニズムは未だに解明されていない。一方、PDMS がごく微量で油脂表面に単分子膜を形成したとしてもディープフライに使用した際、揚げ種から滲出する水分や、低分子化合物等によって油脂の表面は激しく乱れるため、単分子膜を保ち続けることは考えにくい。

日本では、家庭用油脂には PDMS が添加されず、天然抗酸化剤であるトコフェロールが酸化を抑制しているが、加熱により急速に分解する。一方、PDMS を添加した油脂を加熱すると、油脂中のトコフェロールの減少が抑制されることが報告された³⁶⁾。

本研究では、油脂の酸素濃度に着目し、油脂中の PDMS の存在状態を解明するとともに、加熱した油脂の化学性状とトコフェロール量を測定し、PDMS の抗酸化機構を検討した。

2. 実験方法

2-1 試薬と材料

ポリジメチルシロキサン PDMS KF-96 ADF（分子量 25,000、重合度 3,500、比重 0.965 / 25°C、1.0 torr / 220°C）は信越化学工業（東京）から購入した。実験を通して J-オイルミルズ（東京）のキャノーラ油を使用した。キャノーラ油の脂肪酸組成は、ミリスチン酸 0.1%、パルミチン酸 4.4%、パルミトオレイン酸 0.2%、ステアリン酸 2.5%、オレイン酸 60.9%、リノール酸 20.2%、 α -リノレン酸 7.9%、その他 3.8%であった。PDMS はヘキサンに溶解し、0.1 ppm、1 ppm、10 ppm となるようにキャノーラ油に添加した後、脱溶媒した（以下それぞれの濃度となるように PDMS を添加したキャノーラ油を 0.1 ppm キャノーラ油、1 ppm キャノーラ油、10 ppm キャノーラ油と呼ぶ）。3 種の PDMS 添加キャノーラ油は、使用するまで 4 L のラミネートコートしたスチール缶に入れ、酸素濃度が 0.67 v/v %となるまで窒素バブリングによる置換後、実験に使用するまで冷蔵庫で保存した。その他の試薬は和光純薬（大阪）から入手した。

2-2 油脂の化学性状分析

過酸化値 (PV)、アニシジン値 (AnV)、および酸値 (AV) を基準油脂分析法に従い測定した¹⁴⁾。なお、過酸化値は電位差滴定・酢酸-イソオクタン法を用いた。極性化合物 (PC) は、試料 4mL を 15mL 試験管に取りドライバス (EYELA、日本) で 50°C に温調し、デジタル食用油テスター testo 270 (日本測器、神戸) を用いて測定した。

2-3 油脂中の酸素濃度の測定

油脂中溶存酸素濃度は次の 2 つの方法で測定した。

2-3-1 ガスクロマトグラフィーによる絶対酸素濃度 (v/v %) の測定

島津製作所クロマトグラフ GC-8AIT に molecular sieve 5A, 60/80 mesh を充てんした SUS カラム（直径 3.0 mm×長さ 2.0 m）を取り付け、キャリアーガスとしてヘリウムを流速 39 mL/min で流した。カラム温度は 70°C、検出器は TCD、検出温度 100°C、注入サンプル量は 5 μ L とした。

2-3-2 ポーラロメーターによる相対酸素濃度 (%) の測定

第 1 章と同様に、DO/O₂/Temp Meter とポーラログラフ電極を用いて相対酸素濃度を

測定した。

2-4 比重の測定

空気バブリングにより酸素を吸収させたキャノーラ油と PDMS の 20℃での比重を Density-Specific Gravity Meter (DA-650; 京都電子工業、京都) を用いて測定した。酸素濃度は相対酸素濃度を測定した。

2-5 PDMS の分布測定

10 ppm キャノーラ油の入ったラミネート缶を室温で 1 週間静置した後、キャノーラ油の表面部、中央部、底部からそれぞれ 50 mL の試料を静かにホールピペットでサンプリングした。これら 3 つのサンプルの PDMS 濃度分析を食品分析センターに依頼した。定量法は次に示す通りである。

まず、試料を遠心管にはかり取り、飽和塩化ナトリウム溶液およびエチルエーテルを加え、30 min 振盪した。遠心後、エチルエーテル層を分取し、残った水層にさらにエチルエーテルを加え、30 min 振盪、遠心後、エチルエーテル層を分取し、先のエチルエーテル層と合わせた。このエチルエーテル層に無水硫酸ナトリウムを加え脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて脱溶媒した。残渣にクロシンを加えて定容し、ICP-AES 分析を行った。(Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy 735-ES (Agilent Technology, U.S.A.)), RF 出力 1400 W、プラズマガスとしてアルゴンを流速 15 L/min、補助ガスとしてアルゴンを流速 1.5 L/min、キャリアーガスとしてアルゴンを 0.55 L/min を流し、プラズマ観測方向の検出器は 251.611 nm でケイ素を測定した。検量線は、PDMS KF96 (信越化学工業、東京) 標準液 0・5 ppm を試料液と同条件で測定して作成した。

2-6 キャノーラ油と PDMS の相対酸素濃度測定

3 通りの PDMS を含むキャノーラ油サンプルを調製し、それぞれ相対酸素濃度を測定した。

まず、キャノーラ油と PDMS を同量ビーカーに入れ、攪拌して酸素を飽和させ、分液ロートに満たした。遮光して、室温に静置し 8 日後、分液ロート中でほぼ 2 層に分かれたキャノーラ油と PDMS をそれぞれ分取し、酸素濃度を測定した。

次に、初期酸素濃度を 40%、72%とした 10 ppm キャノーラ油をそれぞれ分液ロートに満たし、遮光して室温に 8 日間静置後の上部、中央部、底部の酸素濃度を測定した。

さらに、キャノーラ油と PDMS をそれぞれ 25 mL ずつ 50 mL の褐色びん（内径 30 mm × 高さ 77 mm）にいれ、室温下 2.5 kPa まで減圧脱気した時の酸素濃度の減少過程を測定した。また、酸素濃度を減少させたキャノーラ油と PDMS を室温下、空気中に放置した時の酸素濃度の上昇を同様に測定した。

2-7 PDMS 膜有無のキャノーラ油の自動酸化における相対酸素濃度測定

10 個の 200 mL ビーカーにキャノーラ油 130 mL を静かに注ぎ、2.5 kPa 減圧脱気した。5 つのビーカーのキャノーラ油の表面に、マイクロピペットを用いて 13 μ L の PDMS を点着した。点着後、室温に静置し、経時的な酸素濃度を測定した。脱気しないキャノーラ油についても同様に PDMS を点着し、60°C の恒温槽に静置して経時的に酸素濃度を測定した。

2-8 加熱実験における酸素濃度の変化

2-8-1 キャノーラ油の相対酸素濃度変化

10 ppm キャノーラ油と PDMS 1 kg をそれぞれ 4 つ口セパラブル丸底フラスコに入れ、攪拌棒、温度計、エアーポンプを取り付け、残る 1 口は空気の排気口とした。マントルヒーターに設置し、85 rpm で静かに攪拌し、エアーポンプで 110 mL/min の空気を送りながら室温から 180°C まで加熱した。加熱後、エアーポンプを取り除き、攪拌しながら室温に放置し放冷した。加熱前の 25°C、120°C、150°C、180°C、放冷後 150°C、100°C、60°C、室温時に速やかに試料を 50 mL 褐色びんに満たし、空気が入らないように密栓した。試料温度がすべて室温まで下がってから試料の酸素濃度を測定した。

2-8-2 断続加熱キャノーラ油の絶対酸素濃度測定

開封直後のキャノーラ油と、10 ppm キャノーラ油 1 kg をそれぞれ 4 つ口フラスコに入れ、攪拌棒、温度計、エアーポンプを取り付け、残る 1 口は空気の排気口とした。マントルヒーターに設置し、85 rpm で静かに攪拌し、エアーポンプで 110 mL/min の空気を送りながら室温から 180°C まで加熱したあと、1 時間保持した。次いで送気と加熱を止め、2 日から 3 日間室温に放置する断続加熱を 5 回繰り返した。攪拌は 180°C 1 時間加熱後、放冷してキャノーラ油が室温に下がるまで続けた。加熱終了時と、加熱後 2～3 日経過した時の試料を 50 mL 褐色びんに満たし、空気が入らないように密栓した。試料温度がすべて室温まで下がってから GC により酸素濃度を測定した。

2-9 トコフェロール量の測定

α 、 β 、 γ 、 δ -トコフェロール量の測定は、InertSil[®] NH2 カラム (25 cm × 2.1 mm i.d.; GL Science 株式会社、東京) を Prominence HPLC (島津製作所、京都) に取り付け行った。分析条件は、カラム温度 60℃、移動相 n-ヘキサン：イソプロパノール、98:2 v/v、流速 0.5 mL/min.、サンプル注入量 2 μ L とした。検出器は励起波長 295 nm、蛍光波長 325 nm の蛍光検出器 Prominence RF-10AXL (島津製作所) を用いた。

2-10 PDMS 粒子の位相差顕微鏡観察

PDMS 濃度が 10 ppm と 1000 ppm となるように調製したキャノーラ油を位相差顕微鏡 CX41 (オリンパス、東京) で観察した。

3. 結果

3-1 比重の測定

酸素濃度を変化させたキャノーラ油と PDMS の比重を測定したところ、Table 3 に示したとおり、酸素濃度の上昇とともにわずかに比重が低下した。しかし、PDMS の比重がキャノーラ油のそれよりも低値になることはなかった。

Table 3 Relative oxygen content and specific gravity in canola oil and PDMS.

Canola oil		PDMS	
Relative oxygen content (%)	Specific gravity	Relative oxygen content (%)	Specific gravity
6.7	0.91855	5.0	0.96970
19.6	0.91854	71.9	0.96961
46.6	0.91852	96.0	0.96957
68.3	0.91852	104.3	0.96940
96.4	0.91840		

3-2 PDMS の分布測定

窒素雰囲気下で静置した 10 ppm キャノーラ油の表面部、中央部、底部の PDMS 濃度を測定した結果を Table 4 に示した。キャノーラ油は 10 ppm の PDMS を含有する

が、いずれの部分でも測定値が 10 ppm に達することはなかった。表面部では 6.5 ppm、中央部では 5.4 ppm、底部では 4.7 ppm と、表面に高濃度に分布する傾向となったが、油脂全体に存在していた。

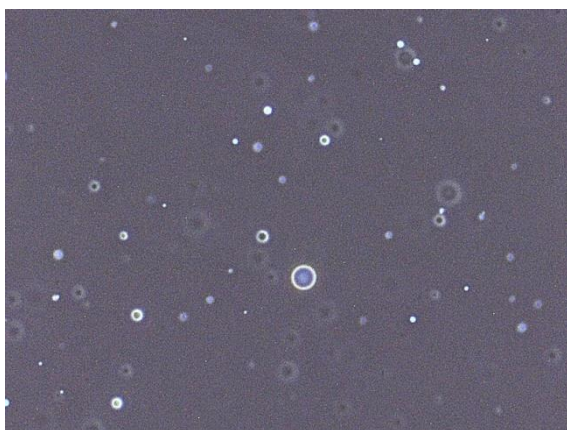
Table 4 PDMS distribution (ppm) in canola oil.

containing 10-ppm PDMS	
Surface	6.5 \pm 0.7
Center	5.4 \pm 0.6
Bottom	4.7 \pm 0

3-3 PDMS の位相差顕微鏡観察

PDMS が 1000 ppm と 10 ppm となるように調製したキャノーラ油を位相差顕微鏡で観察した結果、Fig. 6 のように A では直径が 1 μm から 50 μm 、B では、1 μm から 7 μm の PDMS 粒子が観察され、PDMS はキャノーラ油中に粒子として分散していることが判明した。

A



B



Fig. 6 Phase contrast microscopy images of polydimethylsiloxane-containing canola oil at 400x magnification. A: PDMS 1000 ppm, B: PDMS 10 ppm.

3-4 キャノーラ油と PDMS の相対酸素濃度測定

10 ppm キャノーラ油の初期酸素濃度を 40% と 72% とし、密閉系で 8 日間静置して酸素濃度分布を測定した結果、上部ほど酸素濃度が高く、底部は低いことが判明し (Table 5)、PDMS の濃度分布 (Table 4) と酸素濃度が相関していることが判った。

また、酸素がキャノーラ油と PDMS のどちらと親和性が高いか確認するために、同量のキャノーラ油と PDMS を攪拌して酸素を飽和させ、密閉系で 8 日間静置した結果を Table 6 に示した。酸素濃度はキャノーラ油の層で 102.7%、PDMS の層で 106.8%と、明らかに酸素は PDMS 層に多く存在していることが確認された。

Table 5 Distribution of oxygen dissolved in standing canola oil containing 10 ppm polydimethylsiloxane.

	Initial relative oxygen content 40%	Initial relative oxygen content 72%
Surface	42.2	74.0
Center	40.0	73.1
Bottom	37.4	70.9

Table 6 Distribution of oxygen dissolved in standing mixture of canola oil and polydimethylsiloxane.

	Relative oxygen content (%)
Canola oil phase (upper layer)	102.7
PDMS phase (lower layer)	106.8

一方、キャノーラ油と PDMS を減圧下に保持すると、キャノーラ油の酸素濃度は徐々に減少し 8 時間後には 50% となったが、PDMS の酸素濃度は急激に減少して 8 時間後には 10% に到達した (Fig. 7A)。さらに減圧して両者の酸素濃度が 5% となった時、大気圧下に放置した。キャノーラ油の酸素濃度は徐々に増加して 24 時間後に 68%、PDMS は急激に上昇して 24 時間後には 88% に達した (Fig. 7B)。

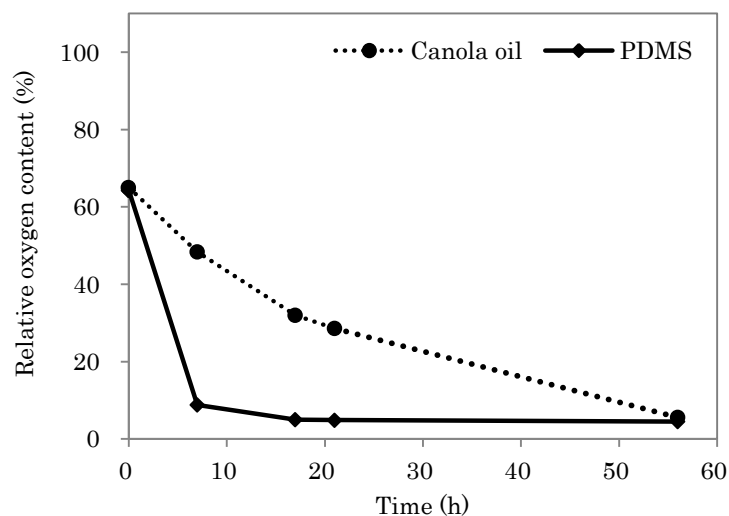


Fig. 7A Relative oxygen content of canola oil and PDMS kept under reduced pressure at 2.5 kPa. Oxygen content was determined by DO/O₂/Temp Meter.

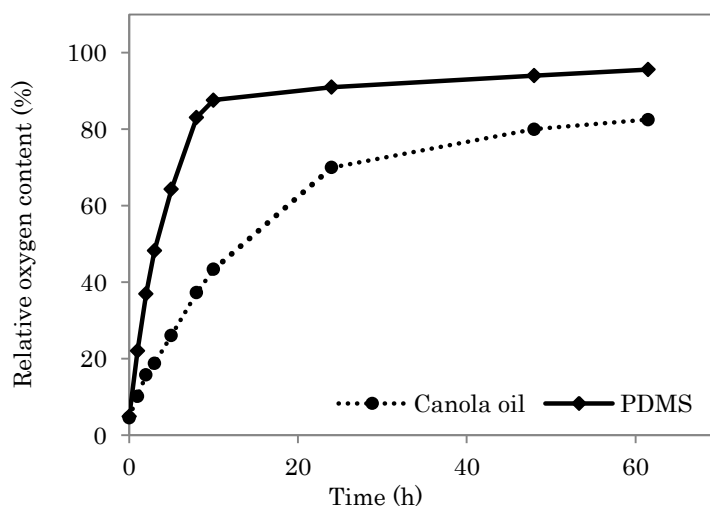


Fig. 7B Relative oxygen content of canola oil and PDMS allowed to stand under atmospheric pressure at 25°C. Oxygen content was determined by DO/O₂/Temp Meter.

3-5 PDMS 膜で覆われたキャノーラ油の自動酸化

PDMS を油脂の表面に点着し斜め上から観察すると、PDMS が渦巻き状に広がった後、30 分後には不規則な模様となって表面に浮いていることが確認できた。また、この実験期間を通して、キャノーラ油の表面には PDMS が覆っていることが観察された。減圧後、室温で大気圧下に放置したキャノーラ油と PDMS を点着したキャノーラ油の相対酸素濃度は、前者の方が若干高い傾向にあったが、3 日後には両者とも 80%以上となり、その後の酸素濃度に大きな差異はみられなかった。一方、キャノーラ油と PDMS

を点着したキャノーラ油を 60℃の恒温槽に 2 週間静置したところ、PDMS を点着したキャノーラ油の酸素濃度はキャノーラ油よりも著しく減少した (Fig. 8A)。Figure 8B、8C に示す通り、室温で大気圧下に置いた両者のキャノーラ油の PV と PC の上昇はわずかであった。しかし、60℃加熱下では、両者の油脂の色は新鮮油の淡い黄色から少し濃い黄色へと着色し、酸化が進行し PV と PC が増加したが、PDMS 点着のキャノーラ油では有意に低い値となった。この結果から PDMS は酸化反応により活発な酸素の消費がある場合には、大気からの酸素の取り込みを阻害することが判った。

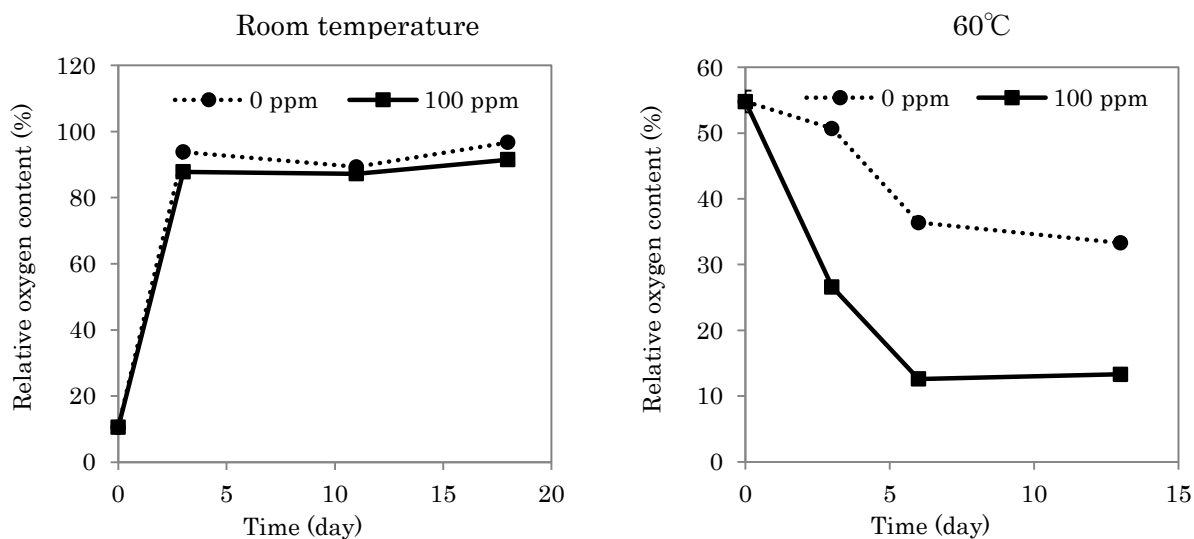


Fig. 8A Relative oxygen content of canola oil covered with polydimethylsiloxane.

Oxygen content determined by DO/O₂/Temp Meter.

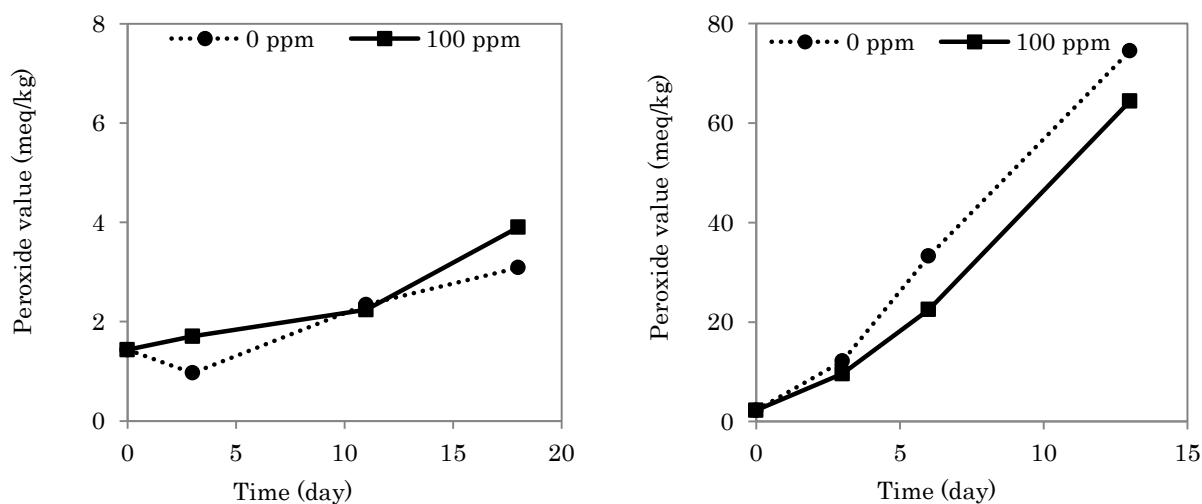


Fig. 8B Peroxide value of canola oil covered with polydimethylsiloxane.

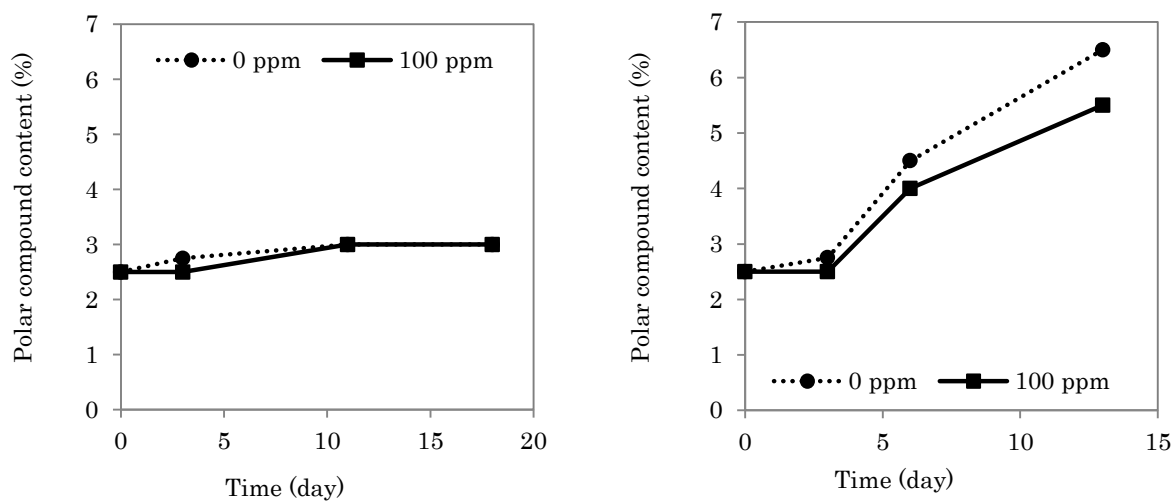


Fig. 8C Polar compound content of canola oil covered with polydimethylsiloxane.

3-6 キャノーラ油の加熱と室温放置による相対酸素濃度変化

キャノーラ油と 10 ppm キャノーラ油の加熱時と放冷時の酸素濃度変化を Fig. 9A と 9B に示した。加熱によるキャノーラ油と 10 ppm キャノーラ油の酸素濃度の変化は大差がなく、加熱をすると徐々に上昇したが、120℃で急激に減少して 180℃では約 10% となった。加熱を停止し、放冷すると酸素濃度は上昇し始め 100℃付近から急激となり、室温で約 80%に達した。加熱開始から 150℃までの酸素濃度の変化は、Gerde ら¹²⁾の実験結果と同様であり、さらに、加熱して放冷したブレンド油を加熱したときの戸谷ら⁴⁾の報告と同様であった。一旦、加熱した油脂の酸素濃度は、室温まで戻っても加熱開始時の酸素濃度よりも高く、75%から 80%の範囲となった。室温に戻った油脂を再度加熱すると、120℃までは高い酸素濃度を保持していたが、120℃に達すると再び酸素濃度は減少した。

一方、Fig. 9C に示したように PDMS の酸素濃度は、室温で 107%、加熱すると徐々に減少したが、キャノーラ油よりも常に高く、特に 180℃ではキャノーラ油の約 8 倍の酸素を保持していた。しかし、数 ppm レベルの PDMS 添加がキャノーラ油全体の酸素濃度を大きく変化させることはないことは Fig. 9B から判る。

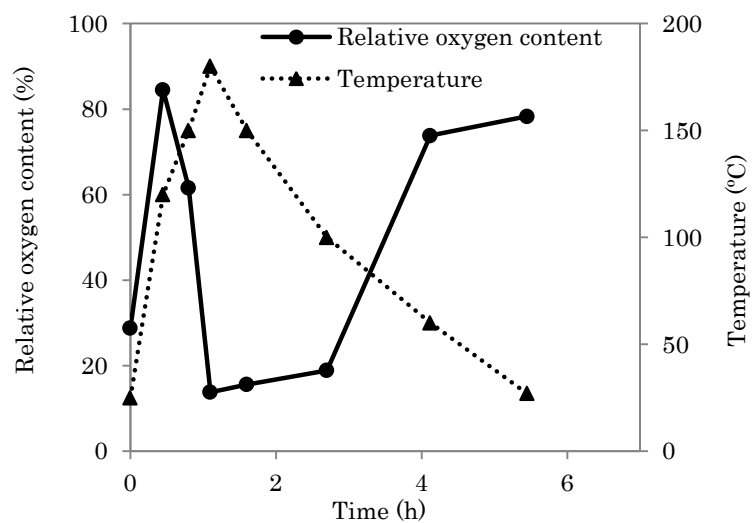


Fig. 9A Relative oxygen content of canola oil.

Oxygen content was determined by DO/O₂/Temp Meter.

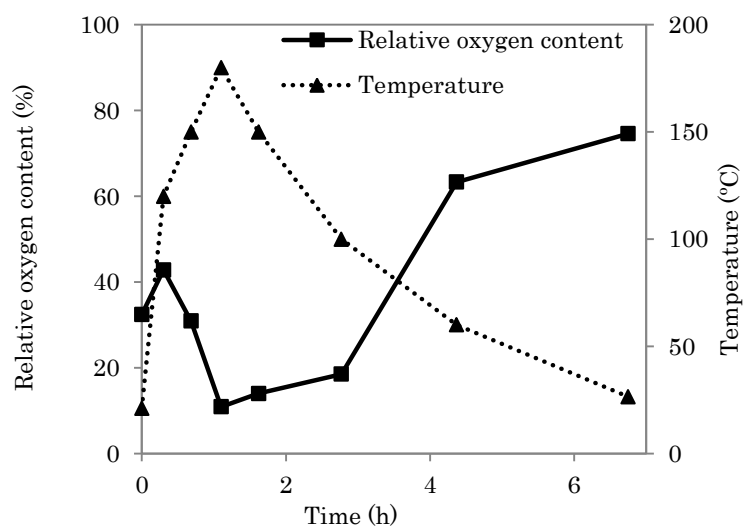


Fig. 9B Relative oxygen content of canola oil containing 10-ppm polydimethylsiloxane.

Oxygen content was determined by DO/O₂/Temp Meter.

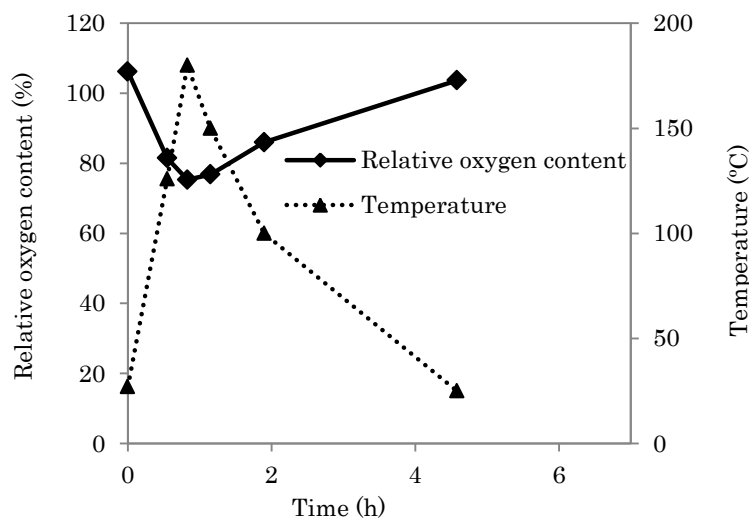


Fig. 9C Relative oxygen content of polydimethylsiloxane.

Oxygen content was determined by DO/O₂/Temp Meter.

3-7 断続加熱におけるキャノーラ油の性状と酸素濃度の関係

断続加熱したときのキャノーラ油と 1 ppm、10 ppm キャノーラ油の PV を Fig. 10A に示した。また、GC で測定した絶対酸素濃度の結果を Fig. 10B に示した。キャノーラ油を断続加熱すると、加熱直後の PV は低い値を示したが、2～3 日の室温放置の間に大きく上昇することを繰り返した (Fig. 10A)。過酸化物は高温で不安定で、加熱により分解されるためである。PDMS 添加キャノーラ油は、キャノーラ油と比較すると加熱時も室温放置中も過酸化物の生成が有意に低かった。また、Fig. 10B に示した通り、キャノーラ油の酸素濃度は加熱直後の酸素濃度が低く、室温放置後は酸素濃度が高くなるが、室温放置後の PDMS 添加キャノーラ油の酸素濃度はキャノーラ油よりも高い結果となった。すなわち Fig. 10A と Fig. 10B より、PDMS が添加されていると過酸化物生成に消費される酸素量が少なく、酸化が抑制されることが推察された。PDMS の添加量の 1 ppm と 10 ppm で比較すると、10 ppm の添加は 1 ppm よりも PV が低く、溶存酸素量が多い傾向にあり、より過酸化物生成を抑制していることが判った。

キャノーラ油の溶存酸素量と過酸化物生成に消費された酸素量を算出し、合計した総酸素量を Fig. 10C に示した。総酸素量の大半が過酸化物生成に消費された酸素量で占められ、室温に放置中の PDMS 添加キャノーラ油の総酸素量はキャノーラ油の約半分であることがわかった。酸素が十分に存在する状態において、PDMS がキャノーラ油の酸化を抑制していることが示された。

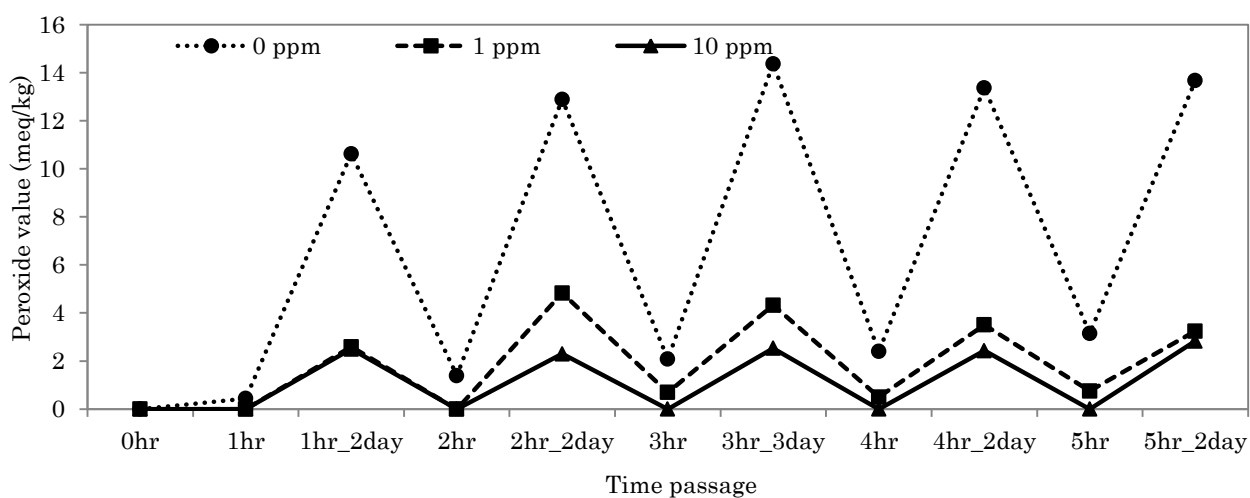


Fig. 10A Peroxide value of polydimethylsiloxane-containing canola oil heated intermittently.

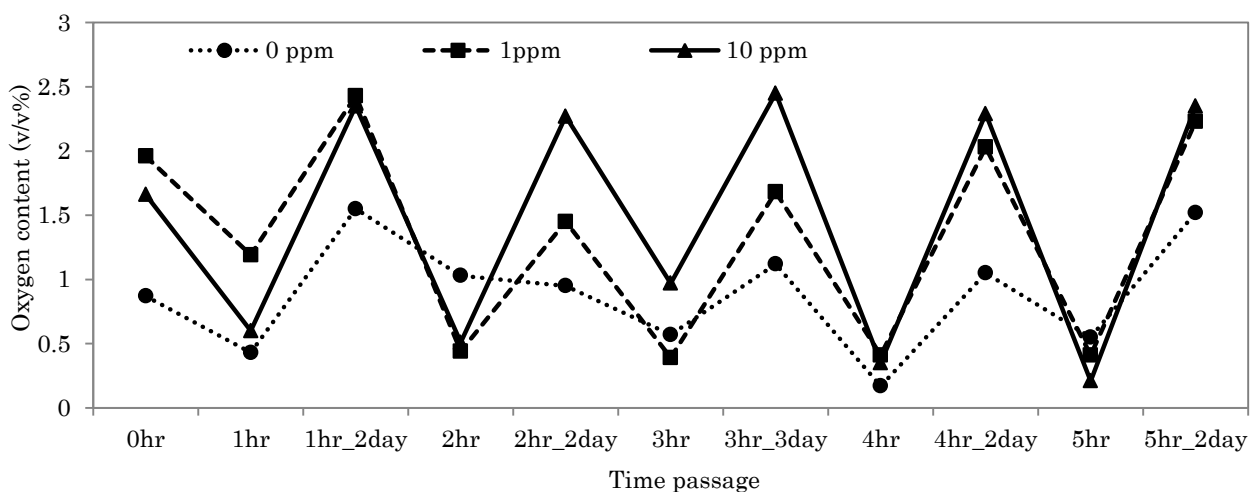


Fig. 10B Oxygen content of polydimethylsiloxane-containing canola oil heated intermittently.

Oxygen content was determined by gas chromatography.

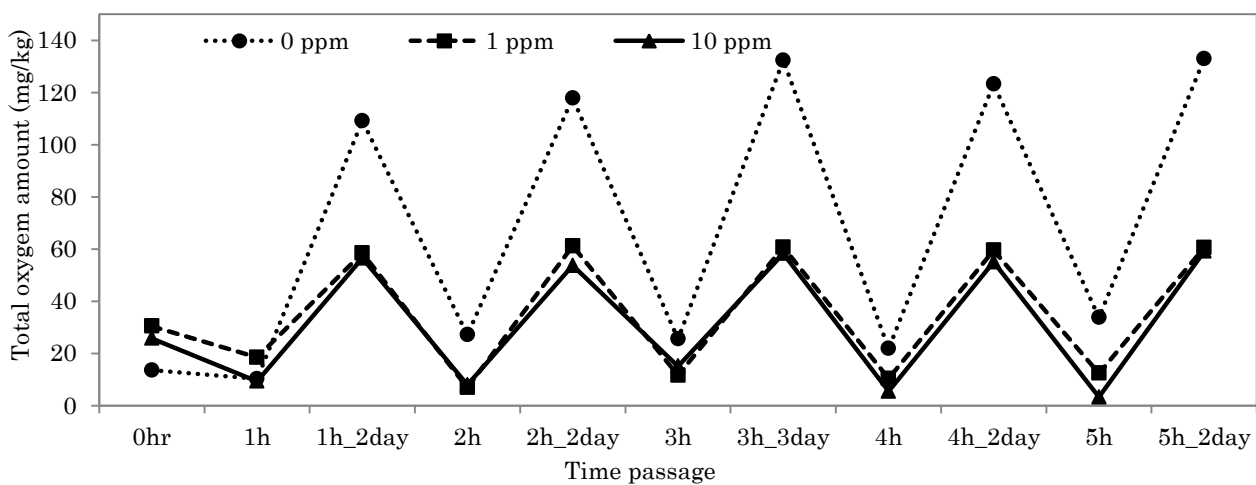


Fig. 10C Total oxygen amount of polydimethylsiloxane-containing canola oil heated intermittently.

3-8 断続加熱による化学性状の変化

加熱酸化の指標となるアニシジン価と酸価の測定結果を Fig. 11 と Fig. 12 に示した。PDMS は酸化を顕著に抑制し、断続加熱において PDMS は強い抗酸化効果を示した。PDMS の添加量は抗酸化効果に差を示さず、PDMS が 1 ppm 添加されていれば酸化が抑制された。

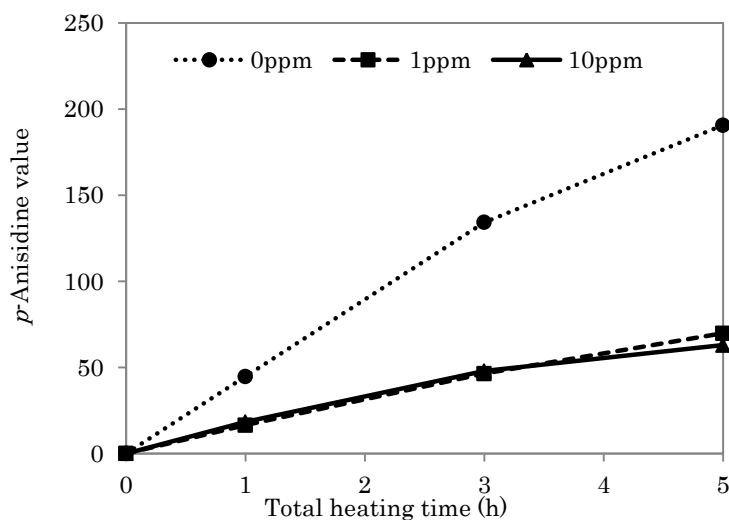


Fig. 11 Alteration in *p*-anisidine value by intermittent heating of canola oil containing polydimethylsiloxane.

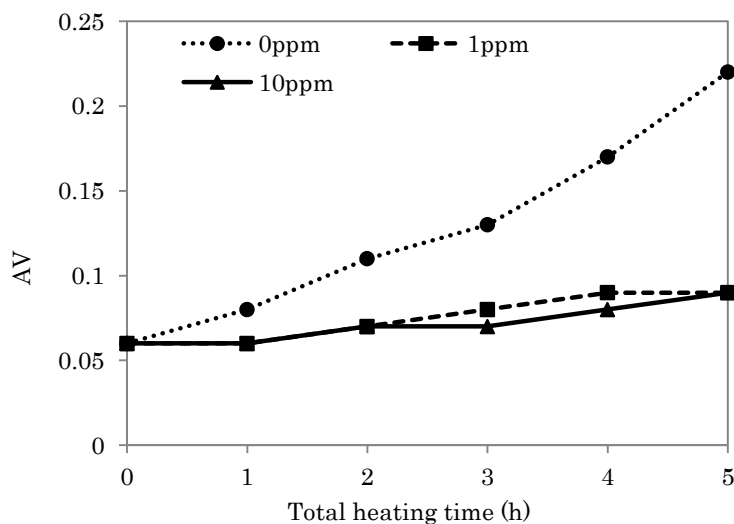


Fig. 12 Alteration in acid value by intermittent heating of canola oil containing polydimethylsiloxane.

3-9 トコフェロール量の変化

断続加熱時のトコフェロール量の変化を Fig. 13 に示した。PDMS が添加されてい

いキャノーラ油のトコフェロール量は、加熱時間と共に急激に減少したが、PDMS が添加されたキャノーラ油のトコフェロール量の減少は緩慢で、PDMS が添加されていると、抗酸化効果が優先的に発揮されてトコフェロールの減少が抑制されることが示唆された。

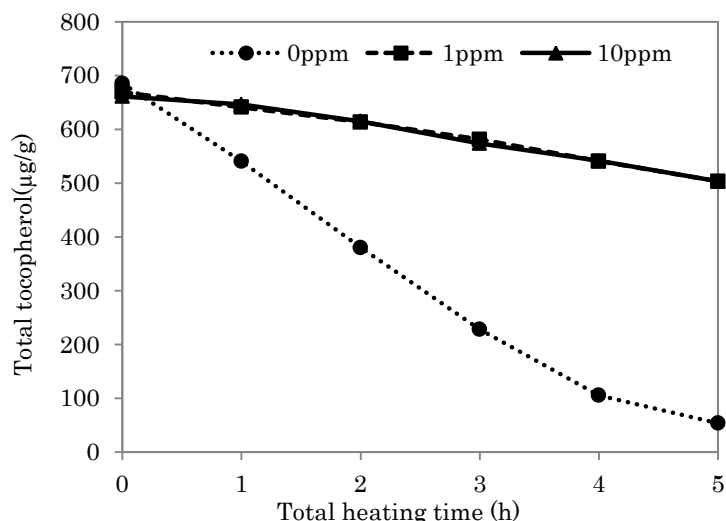


Fig. 13 Alteration in residual tocopherols of polydimethylsiloxane containing canola oil heated intermittently.

4. 考察

減圧脱気したキャノーラ油と PDMS を褐色びんにいれ室温静置したとき、PDMS の酸素吸収速度はキャノーラ油よりもはるかに高く、約 60 h 経過後ではキャノーラ油と PDMS の酸素濃度はそれぞれ 82.5% と 95.6% に到達した (Fig. 7B)。また、両者とも数秒間振盪すればたやすく 100% (キャノーラ油) あるいは 100% 以上 (PDMS) に上昇することも観察された。

静置した PDMS 添加キャノーラ油の表面と中央部、底部の PDMS 濃度を測定すると、PDMS 濃度は表面部で高く、深いほど低かった。これにより、PDMS は油脂表面に単分子膜を形成¹⁹⁾しているのではなく、キャノーラ油中に不均一に存在していることが明らかとなった。(Table 4)。しかし、PDMS を 10 ppm に濃度調整したにもかかわらず、3 か所とも 10 ppm より低かったのは、PDMS の濃度測定する前の抽出操作等の間に PDMS の一部が失われ、低い値が得られた可能性がある。完璧に表面のみから試料を採取できれば 10 ppm 以上の数値になった可能性も否定できない。また、PDMS はガラス器具・プラスチック等の表面と極めて親和性が高いことも原因である可能性がある³⁴⁾。

純粋な、あるいは空気を溶解した PDMS はキャノーラ油よりも比重が高いにもかかわらず

わらず、PDMS がキャノーラ油底部に集まらない理由は、PDMS がコロイド粒子の大きさ程度となり、キャノーラ油中で安定に分散していると考えられた。10 ppm PDMS 添加キャノーラ油に暗所で光線を通過させると、コロイド特有の光路が観察でき、Fig. 6 に示したように位相差顕微鏡により PDMS 粒子がキャノーラ油中に分散していることも観察した。溶媒分子が、油のように比較的分子間力の弱い分子の場合、溶媒分子と界面活性剤分子間力の差が混合エントロピーの効果に勝れば界面活性剤分子は液相ではなく界面層に移行することになる、と述べられている³⁷⁾。これは油脂にシリコーンオイルを混ぜるとシリコーンオイルが油脂の表面に移行し、耐熱性のシリコーンオイルが表面の泡立ちを防ぐといわれている所以である。

PDMS を添加して静置したキャノーラ油では、キャノーラ油の上部ほど高濃度に PDMS が分布していることは上に述べた (Table 4)。酸素濃度も同様に上部ほど高濃度であり (Table 5)、さらに、Table 6、Fig. 7B、Fig. 9C に示された通り、PDMS への酸素の溶解量はキャノーラ油よりも大きいことから、PDMS と酸素分子には何らかの相互作用³⁸⁾が働いていることが推察される。

キャノーラ油と PDMS 点着キャノーラ油の自動酸化実験の結果より、60℃で加熱したときは表面に局在する PDMS は、キャノーラ油中への酸素の吸収を抑制したが、室温に放置したときはキャノーラ油の酸素濃度上昇を抑制する効果はほとんどないことがわかった (Fig. 8)。すなわち、PDMS は空気中の酸素を溶解し、ある程度の速度で酸素を油脂に移行させることが示された。室温放置では、酸化に消費される酸素量は少量で油中への酸素の吸収速度が勝り、加熱時には、酸化に消費される酸素量が多く油中への酸素吸収が不足したと考えられる。

PDMS 添加キャノーラ油とキャノーラ油の加熱実験 (Fig. 9A、9B) において、両者の酸素濃度の変化に大きな差異はなく、酸素濃度は 120℃付近で急激に減少し、180℃で最低値となり、温度が下がり再び 100℃付近になると急激に上昇した。放冷時に PDMS 添加キャノーラ油の酸素濃度は、キャノーラ油よりも若干遅く上昇する傾向が認められたが、室温に到達したときの酸素濃度に差異はなかった。この酸素濃度の変化パターンは再加熱時にも繰り返された。日下ら³⁹⁾は、ひまわり油と大豆油を室温から 200℃まで加熱したときの酸素濃度を、GC を用いて測定した結果、油脂の酸素濃度に対して PDMS の影響は明白でないことを報告している。

180℃に到達後、PDMS 添加キャノーラ油が放冷されて酸素を吸収するとき、酸素が PDMS 中に優先的に溶解していくと仮定しても、24 h 以降では、PDMS とキャノーラ油が溶解できる酸素濃度の差は小さく (Fig. 9A、9B)、PDMS 添加量も少ないため、

PDMS 添加キャノーラ油全体の溶存酸素濃度が顕著に高くなる可能性はない。

大豆油となたね油のブレンド油を断続加熱したときの酸素濃度変化⁴⁰⁾と、本研究のキャノーラ油を断続加熱したときの酸素濃度変化はよく一致していた。すなわち、180℃で酸素は低値となり、室温放置中に酸素濃度が上昇することが断続加熱でも繰り返された。Figure 10A、11、12 より、PDMS は 180℃においても、室温静置中においても抗酸化効果を発揮したことは明らかである。1980 年以前には PDMS が油脂の自動酸化を抑制しないとされていたが、日下ら³²⁾ は、0.1~100 ppm の PDMS を添加分散した大豆油や亜麻仁油を 55℃と室温で自動酸化した結果、PDMS のわずかな抗酸化効果を認めている。

本研究の断続加熱および放冷の間は、温度を均一にするために、酸素を巻きこまない程度にゆっくりと攪拌した。したがって、添加された PDMS の油脂表面層の濃度は高い可能性があるが、全体に分散していたと考えられる。室温静置中には PDMS は油脂表面に徐々に移動すると推察されるが、油脂の酸素濃度は高くなった。油脂に溶存している酸素量と過酸化生成に消費された酸素量を合計した酸素総量は、PDMS 添加キャノーラ油よりもキャノーラ油で約 2 倍高いが(Fig. 10C)、Fig. 10B の結果から PDMS 添加キャノーラ油の室温での酸素濃度は飽和に近い (0℃での油脂中の溶存酸素濃度は 2.8 v/v%である³⁴⁾)。したがって、PDMS はキャノーラ油の酸素吸収を抑制しない。また、キャノーラ油中に酸素が十分存在するにもかかわらず、PDMS により酸化が進行しにくかったと解釈できる。高酸素濃度にもかかわらず酸化が進行しにくかったことは、PDMS が油脂の表面を覆い^{19, 41)}、酸素が油脂に溶解することを抑制して PDMS が抗酸化効果を発揮するとのこれまでの解釈は成立しない。酸素濃度が高いにも関わらず PDMS 添加キャノーラ油の酸化が抑制されていることから、キャノーラ油に分散している PDMS が、抗酸化効果を発揮していることが再び示された。

Freeman ら¹⁹⁾と Kusaka ら³³⁾ は、PDMS が静置加熱時にフライ油の対流を抑制することを報告している。PDMS 添加油の加熱時表面温度が、PDMS 無添加油のそれより約 10℃あるいはそれ以上低い³⁵⁾ 理由は、前者のほうが、対流が少ないことによると報告されている¹⁹⁾。油脂の酸化は主にその表面部で進行するといわれ、温度が高いほど速く進行するため、少なくとも静置加熱の場合、PDMS 添加油は PDMS を添加していない油脂よりも表面温度が低いこと及び対流が少ないことから熱劣化の進行が遅くなると報告されている¹⁰⁾。しかし、本研究の加熱実験は攪拌下で行っているため、これらの知見は当てはまらない。PDMS の抗酸化効果は、トコフェロールの数千倍の効果があり、そのうえ PDMS は加熱によって分解されにくい^{18, 36)}。また、トコフェロ

ールのようなペルオキシラジカルを捕捉する作用とは異なるメカニズムであると考えられる。トコフェロールは主に不飽和脂肪酸と酸素が反応して生成したラジカルに結合してラジカルを消去すると報告されている⁴²⁾。しかし、PDMS の抗酸化効果によって不飽和脂肪酸と酸素が反応しにくく、ペルオキシラジカルが生成しないため、PDMS が添加された油脂ではトコフェロールの減少が抑制されることが考えられる。Gerde ら¹¹⁾は、PDMS が添加された油脂で、まず加熱初期にトコフェロールが酸化に関与し、加熱により徐々に分解されてその効果が失われた後、PDMS が抗酸化効果を示すと報告している。しかし、PDMS は室温下と加熱下の両方で安定で強力な抗酸化効果を示し、ペルオキシラジカルの生成が抑制されることから、トコフェロールがラジカル捕捉によって減少することが抑制されることが考えられる。また、PDMS は油脂には難溶で、キャノーラ油中に微粒子となって分散していることが本研究で明らかとなったが、キャノーラ油との境界面で PDMS 粒子のケイ素はキャノーラ油の外側に存在し、メチル基がキャノーラ油中に存在していると報告されている³⁴⁾。

以上まとめると、PDMS を添加したキャノーラ油では、PDMS はキャノーラ油中に粒子の状態で分散し、静置するとキャノーラ油中の上部ほど高濃度に存在していた。また、PDMS を添加したキャノーラ油では、溶存酸素もキャノーラ油の上部に高濃度に存在した。断続加熱において PDMS 添加キャノーラ油では溶存酸素濃度は常に高いが、PDMS は抗酸化効果を発揮して加熱時と室温放置中の過酸化物生成に必要な酸素の消費を抑制した。これらのことから、キャノーラ油に分散している PDMS が酸素分子の挙動を制限して酸化抑制しており、共存するトコフェロールの分解、減少を抑制していることが示唆された。

第3章 食用油中のアクリルアミドと生体への影響

第1節 微量アクリルアミドの生体への影響

1. 序論

アクリルアミドは、1950年代中ごろからポリアクリルアミドを生産するために工業的に用いられてきた化学物質である⁴³⁾。当時、ポリアクリルアミドは繊維工業⁴³⁾やプラスチック工業の材料として、また飲料水を精製⁴³⁾するために用いられてきた。一方、スウェーデンの研究者⁴⁴⁾がでんぷんを多く含むジャガイモなどの食材を加熱するとアクリルアミドが生成されることを報告して以来、これら食品による健康被害の可能性があると大きな関心事となった^{45, 46)}。ヒトに対しての発がん性は未確認であるが、動物を用いた実験では、アクリルアミドを長期にわたって摂取すると発がん性が現れることが報告されている⁴³⁾。アクリルアミドは、ポテトチップには0.12～3.77 ppm、フレンチフライには0.06～5.2 ppm含まれており⁴⁷⁾、コーヒーを炒る際にも生成する。

食品中に含まれている上記レベルのアクリルアミド量が、健康に及ぼす影響は確認されていないため、動物飼育実験を行った。

2. 実験方法

2-1 実験油の調製

実験油として、大豆油となたね油を混合した一般的なブレンド油 1 L に、それぞれ 500 ppm となるようにアスパラギンとグルコースを添加して 2 L の 4 つ口フラスコで 180℃、20 時間加熱した。油脂の加熱による酸化劣化を抑えるため、3 L/min の窒素気流下、加熱した。添加したアスパラギンとグルコースの濃度は、実際の揚げ種から滲出するアミノ酸と糖の最少量として 500 ppm と設定した。加熱後の実験油を一晩室温に置き、粉末飼料に添加して動物に投与した。

2-2 飼料の調製

標準の固形飼料 Labo MR Stock（日本農産工業、神奈川）と脱脂粉末飼料 AIN93G（日本クレア、東京）を購入した。ミキサーを用いて、粉末状の飼料に 7% となるように実験油と新鮮油をそれぞれ混ぜた。油脂を添加した飼料は、12 等分し、ビニール袋に入れて酸化しないように窒素置換し、紫外線照射による殺菌ののち、冷蔵庫で保存して 12 週間の実験に用いた。飼料は 1 週間に 1 袋ずつ開封し、毎日新鮮なものを給餌した。

2-3 油脂の化学性状測定

油脂中のカルボニル価 (CV)、酸価 (AV)、ガードナーカラーは日本油脂分析法¹⁴⁾に従って測定した。極性化合物 (PC) は PC Tester (3M、U.S.A.) を用いて測定した^{48, 49)}。新鮮油の脂肪酸組成は、GC を用いて測定し、その組成は、ミリスチン酸 0.1%、パルミチン酸 8.4%、パルミトオレイン酸 0.1%、ステアリン酸 3.3%、オレイン酸 38.2%、リノール酸 39.2%、 α -リノレン酸 8.3%、エイコ酸 0.6%、その他 1.8%であった⁴⁸⁾。アクリルアミドの定量は、日本食品センターに依頼し、GC/MS-SIM を用いて測定したところ、アスパラギンとグルコースを添加して加熱した実験油は 0.28 ppm、新鮮油では検出されなかった。

2-4 実験動物

日本エスエルシー (静岡) から購入した 9 週齢の雄性 Wistar ラット 16 匹を使用した。ラットは飼育期間を通じて日本エスエルシーの飼育舎において温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、明暗それぞれ 12 時間、ワイヤーケージで個別に飼育した。実験動物の取り扱い、神戸学院大学の定める「神戸学院大学動物実験指針」に従った。ラットは固形飼料の Labo MR Stock で 1 週間予備飼育した後、体重を測定し、Statlight System (ユックムス、東京) を用いて、平均体重が近似し、標準偏差が最小となるように 8 匹ずつ 2 群に分けた。実験油グループには、7%となるように実験油を配合した飼料を、コントロールグループには同様に 7%となるように新鮮油を配合した飼料を 12 週間与え、水道水と共に自由に摂取させた。

体重は毎週測定し、12 週間の飼育の後、18 時間絶食させた。ペントバルビタール (10 mg/kg 体重) の麻酔下開腹し、腹部大動脈より採血し、血清を得た。次に、肝臓、腎臓、脂肪組織を取り出し、冷生理食塩水で洗浄後、臓器重量を測定し組織標本を作製した。

2-5 血液分析

インスリン濃度、血清中性脂肪、血清リポタンパクの分析はスカイライトバイオテック社 (東京) に依頼した。グルコース、遊離脂肪酸、リン脂質はそれぞれ和光純薬 (大阪) のグルコース C II-テストワコー、NEFA C-テストワコー、リン脂質 C-テストワコーを用いて測定した。AST と ALT は第一化学薬品社製 (現 積水メディカル株式会社、東京) のオートセラ SAST とオートセラ SALT によって分析した。

2-6 組織の観察

パラフィンで固定した肝臓と腎臓をミクロスライサーでスライスし、ヘマトキシリン・エオシンで組織を染色した。組織標本は 100 倍と 400 倍で顕微鏡観察した。

2-7 統計処理

実験油グループと新鮮油のコントロールグループの 2 群間の統計学的有意差検定は Student's t-test を用いた。結果は $\text{mean} \pm \text{SD}$ で表し、 $p < 0.05$ を統計的に有意差ありとした。

3. 結果

3-1 使用した油脂の化学的性状

Table 7 に実験油、新鮮油とミヨシ油脂（東京）から入手した回収油の化学性状とアクリルアミド濃度を示した。

アスパラギンとグルコースを油脂中で加熱してアミノカルボニル反応によりアクリルアミドを生成した。窒素下の加熱であったため油脂の着色は淡かった^{50, 51)}。窒素気流下であっても、加熱による酸化劣化を完全に防ぐことはできず、CV と PV は、回収油よりも実験油の方が高値となった。これは初期の酸化状態を表している。回収油の PC と AV は高値を示し、これは回収油の劣化が実験油よりも進んでいることを表している。

Table 7 Chemical properties of oils.

	Experimental oil	Fresh oil	Recovered oil*
PC (%)	11.8	5.7	24.7
Gardner color	5.5	1	11
CV	24	2	10.9
PV (mEq/kg)	34.9	6.6	26.2
AV	0.1	0.1	2
TG (%)	95.5	99.4	96.4
Acrylamide(ppm)	0.28	n.d.	n.d.

* “B grade recovered vegetable oil,” Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd., oil used at food-manufacturing companies, data from the reference 49.

3-2 動物の成長観察

実験に用いたラットは、実験油飼料摂取期間を通して下痢やセボレア、脱毛などは観察されなかった。また食欲や体重増加は、両グループで差はみられず、ラットの摂食量は体重増加と共に徐々に減少した (Fig. 14)。

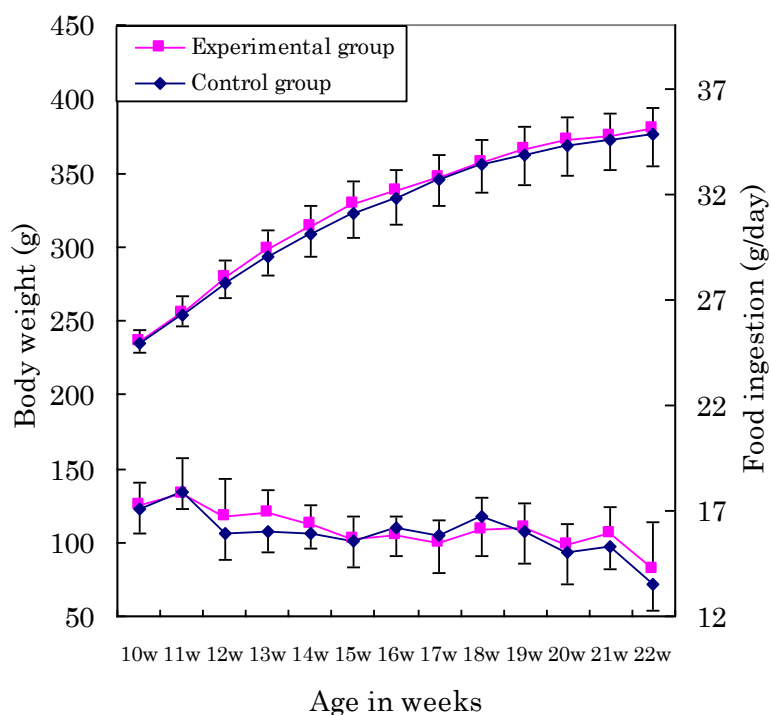


Fig. 14 Growth curves of Wistar rats fed a diet containing 7 wt% experimental oil or fresh oil for 12 weeks.

実験油グループ、コントロールグループと、参考として回収油⁴⁹⁾を飼料に7%配合した回収油グループの肝臓と腎臓の重量を Table 8 に示した。どのグループでも臓器重量に差はみられず、脂肪組織の重量の差もなかった。

Table 8 Weights of organs from Wistar rats fed a diet containing 7% oil for 12 weeks.

Organs(% body wt.)	Experimental oil	Fresh oil	Recovered oil*
Liver	2.46±0.07	2.49±0.10	2.55±0.09
Kidney left	0.28±0.02	0.28±0.01	0.29±0.02
Kidney right	0.28±0.01	0.27±0.02	0.28±0.02
Retroperitoneal fat	2.65±0.31	2.76±0.31	2.75±0.39

Values are means \pm SD for eight animals. * “B grade recovered vegetable oil,” Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd., oil used at food-manufacturing companies, data from the reference 49.

3-3 血液分析

血液分析の結果を Table 9 に示した。血清グルコース、脂肪酸、リン脂質、コレステロールにはほとんど差違が見られなかったが、実験油グループで明らかに中性脂肪とインスリン濃度が低い結果となった。AST と ALT は、統計的な有意差はみられなかったが、実験油グループで高い傾向にあった。

リポタンパクの中性脂肪とコレステロールの分布を Table 10 に示した。実験グループの、VLDL と LDL 中の中性脂肪、VLDL 中のコレステロール量は、コントロールグループと比較すると有意に低かった。

Table 9 Hematological values in Wistar rats fed for 12 weeks a diet containing 7 wt% oil.

	Experimental oil	Fresh oil	Recovered oil*
Glucose (mg/dL)	111.3 ± 6.0	113.6 ± 12.4	121.1 ± 14.3
Triacylglycerol (mg/dL)	93.8 ± 24.0*	125.1 ± 35.1	134.7 ± 45.9
Free fatty acids (mEq/L)	0.56 ± 0.12	0.73 ± 0.33	0.72 ± 0.19
Phospholipids (mg/dL)	61.5 ± 16.7	74.7 ± 19.2	81.3 ± 24.5
Cholesterol (mg/dL)	79.4 ± 9.7	85.0 ± 13.9	86.1 ± 13.1
AST (IU/L)	92.5 ± 73.3	73.1 ± 16.5	181.6 ± 161.9*
ALT (IU/L)	59.0 ± 44.9	48.9 ± 11.4	114.8 ± 104.2*
Insulin (ng/mL)	0.7 ± 0.4*	1.7 ± 1.2	2.0 ± 1.3

Values are means ± SD for eight animals. * $p < 0.05$, significantly different from the value of the fresh oil group (unpaired t-test). * “B grade recovered vegetable oil,” Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd., oil used at food-manufacturing companies, data from the reference 49.

Table 10 Distribution of triacylglycerol and cholesterol in lipoproteins of Wistar rats fed for 12 weeks a diet containing 7 wt% experimental oil or fresh oil.

	Experimental oil	Fresh oil
Total triacylglycerol (mg/dL)	93.8 ± 25.7* (100%)	125.1 ± 35.1 (100%)
Chylomicron (mg/dL)	0.3 ± 0.1 (0.3%)	0.3 ± 0.3 (0.2%)
VLDL (mg/dL)	84.2 ± 23.6* (89.8%)	112.4 ± 32.3 (89.9%)
LDL (mg/dL)	7.1 ± 1.6* (7.6%)	9.7 ± 2.4 (7.8%)
HDL (mg/dL)	2.2 ± 0.5 (2.3%)	2.6 ± 0.6 (2.1%)
Total Cholesterol (mg/dL)	79.4 ± 9.7 (100%)	85.0 ± 13.9 (100%)
Chylomicron (mg/dL)	0.03 ± 0.02 (0.0%)	0.04 ± 0.02 (0.0%)
VLDL (mg/dL)	6.6 ± 2.0* (8.3%)	8.3 ± 2.3 (9.8%)
LDL (mg/dL)	9.5 ± 2.1 (12.0%)	8.5 ± 2.0 (10.0%)
HDL (mg/dL)	63.3 ± 6.9 (79.7%)	68.1 ± 7.1 (80.1%)

Values are means ± SD for eight animals. * $p < 0.05$, significantly different from the value of the fresh oil group (unpaired t-test).

3-4 臓器の組織観察

実験油グループの肝臓表面には赤黒い斑点と、組織標本では壊死と出血が確認できた。両グループの腎臓の重量やサイズ、表面の色に違いはみられなかったが、実験油グループの腎臓内部には糸球体とボーマン囊の間隔が狭くなり、それぞれが癒着した水腫性変性と出血が確認された。

3-5 AST、ALT の上昇と臓器ダメージとの関連

Table 11 に血清 AST、ALT と、実験油グループラット個々の臓器ダメージを示した。実験油グループのうち、1 匹のラットを除いては血清 AST、ALT は正常値を示したが、8 匹のラットは肝臓と腎臓に壊死または出血が確認できたが、腎臓よりも肝臓に障害が多かった。参考にした回収油グループでも 6 匹は肝臓に壊死や出血が、3 匹は腎臓に出血がみられた。また、AST、ALT は実験油グループよりも高値を示し、生体に大きな障害を与えていることが示された。

Table 11 Correlation between AST, ALT, and histological changes in liver and kidneys from Wistar rats fed for 12 weeks a diet containing 7 wt% oil.

Experimental oil					Fresh oil					Recovered oil*				
Rat No.	1	2	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Rat No.	1	2	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Rat No.	1	2	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
EO1	N + B	-	272	169	FO1	-	-	67	45	RO1	N + B	-	180	85
EO2	N	B	63	31	FO2	-	-	65	51	RO2	-	-	69	43
EO3	B	-	67	49	FO3	-	-	63	55	RO3	N + B	-	175	146
EO4	N	-	55	48	FO4	N + B	-	101	69	RO4	B	-	63	47
EO5	N	-	91	51	FO5	-	-	77	40	RO5	N + B	-	329	169
EO6	N	B	65	43	FO6	-	-	68	40	RO6	N + B	B	509	341
EO7	N + B	B	65	44	FO7	-	-	93	57	RO7	-	B	74	50
EO8	B	-	62	37	FO8	-	-	51	34	RO8	B	B	54	37

1:Necrosis (N)/ bleeding (B) in liver, 2: Bleeding (B) in kidneys. * “B grade recovered vegetable oil,” Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd., oil used at food-manufacturing companies, data from the reference 49.

4. 考察

実験油の CV と PC は、新鮮油を酸素存在下 20 時間加熱した油の CV 32.6、PC 20.5% よりも低かった⁵²⁾。実験油は、窒素気流下加熱をしているにもかかわらず、加熱による酸化は完全に抑制されなかったが、実験油の化学性状は、回収油よりも新鮮油に近い結果となった。色調の劣化とトリアシルグリセロールの減少は窒素気流下の加熱で抑制された。実験油の加熱は、実際の揚げ種から水分が油中に滲出するディープフライとは異なるため、実験油の AV はほとんど上昇しなかった。

実験油中に生成したアクリルアミドの濃度の 0.28 ppm は、農林水産省が調査したポテトチップスに含まれる最少量にあたる。また、スウェーデンとアメリカで測定された一人当たりのアクリルアミドの 1 日の摂取量は 20 µg から 40 µg であると報告されている⁵³⁾。ヒトが 1 日に 1000 g の食物を摂取したとき、アクリルアミドの平均摂取量は 0.02 ppm から 0.04 ppm であると算出されている。本研究において、ラットは実験油を 7% 含む飼料を 1 日 16 g 摂取したため、ラットは人が摂取する量と同レベルのアクリルアミドを摂取したと算出される。

実験油は、特徴的な不快臭をもつが、ラットの食欲と、飼料の摂食量には何の影響も与えなかった。実験油グループとコントロールグループで、体重、肝臓、腎臓、内臓脂肪の重量には変化が見られず、実験油の化学性状は劣化していたが、栄養学的には新鮮油と同等であることが推定された。

実験油グループの、血清インスリン濃度は有意に減少し、非常に特徴的であった。実験油グループの結果を、戸谷らの回収油⁴⁹⁾、グルテン加熱油、小麦でんぷん加熱油^{54, 55)}を投与した動物飼育実験結果と比較すると、アクリルアミドの摂取が明らかにインスリン濃度を減少し、肝臓、腎臓へのダメージは、油脂中の加熱劣化生成物に起因する⁵⁶⁾ことが強く示唆された。

低濃度のインスリンは、細胞への糖の取り込みを減少させるため、結果として血糖値が高くなる。しかし、今回の研究では、実験グループの血糖値に変化がみられなかった。これは、血糖値測定前の、18 時間の欠食時間にインスリンが十分に作用し、Table 9 に示したようなレベルまで血糖値が減少したと考えられる。

以上まとめると、アクリルアミドを摂取すると血清インスリン濃度が著しく減少することが示された。肝臓と腎臓に現れた障害は、回収油をラットに投与した場合と酷似しているため、加熱油脂中に生成する劣化物の影響であって、アクリルアミドに起因するものではないと推察された。

第2節 食用油中のアクリルアミドについて

1. 序論

揚げ物などに使用された食用油は褐変しているが、この着色は、酸化油中に生じるカルボニル化合物と揚げ種から滲出したアミノ酸やタンパクとのアミノカルボニル反応によって生じる。アクリルアミドも Fig. 15 に示すようにアミノカルボニル反応を経由して生成する^{57, 58)}。

加熱食品中に存在するアクリルアミドの濃度を Table 12 に示した。でんぷんを多く含む食材を加熱するとアクリルアミドが生成するが、特にジャガイモを揚げた製品では、アクリルアミドの濃度範囲は広く、同じ食材でも個々の成分や加熱時間によって生成量が異なる。

本研究では、カルボニル化合物と、揚げ種から滲出したアミノ酸が反応してフライ油中にアクリルアミドが生成する可能性を考慮して、食品工業で揚げ物に使用后、回収された回収油と食品製造に使用中の油を GC/MS-SIM を用いてアクリルアミド濃度を測定した^{59, 60)}。また、揚げ種から揚げ油中に滲出したアミノ酸や糖が、高温加熱によって反応し、アクリルアミドを生成する可能性もあるため、アミノ酸と糖を油中で加熱してアクリルアミドが生成されるかどうかモデル実験も行った^{61, 62)}。

Table 12 Determination of acrylamide in foods*.

Products (number of samples)	<0.02 ppm	0.02-0.50 ppm	0.51-1.00 ppm	1.01-1.50 ppm	>1.50 ppm
Potato snack (30)	0	7	10	8	5
Corn snack (30)	2	28	0	0	0
Rice snack (30)	0	30	0	0	0
Instant noodle (30)	9	21	0	0	0

* Modified from the report (2004) by the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan.

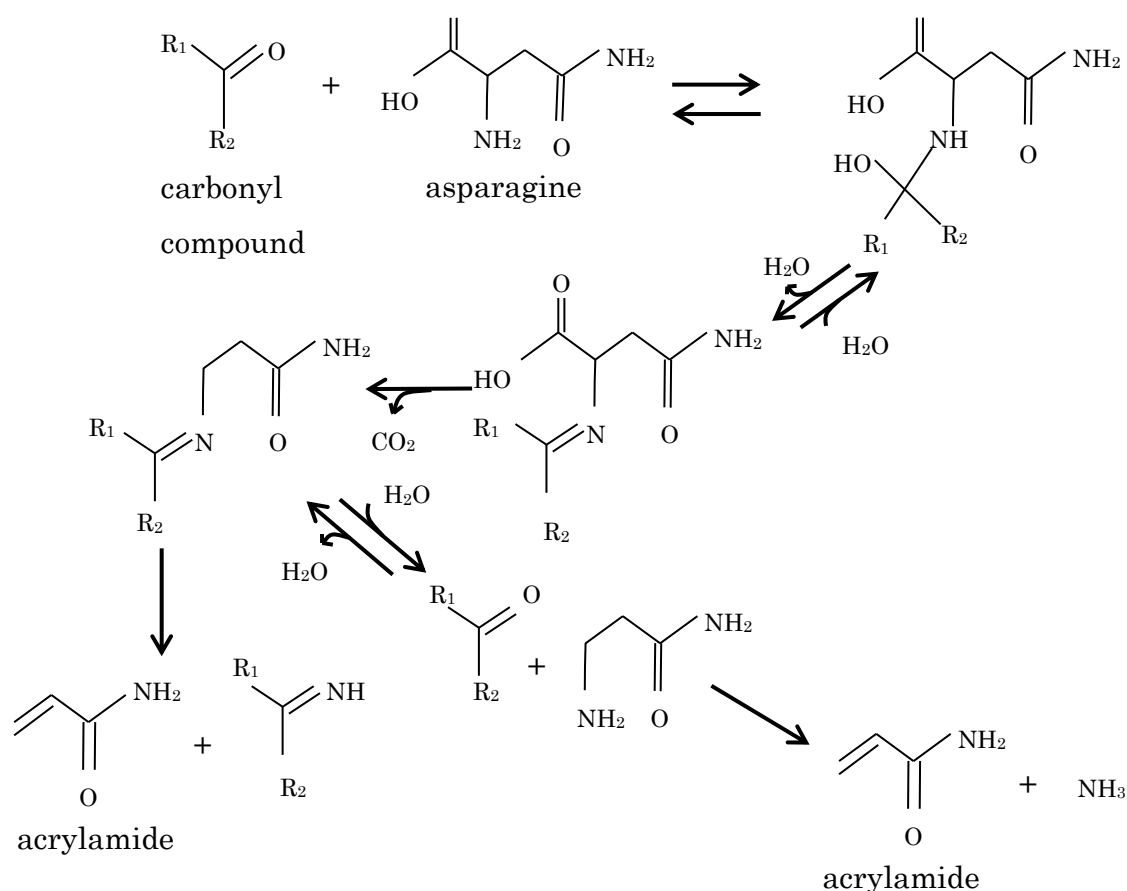


Fig. 15 Mechanism of formation of acrylamide in heated foods.

2. 実験方法

2-1 実験油脂

ミヨシ油脂から入手した B グレードの回収植物油 3 種 (RO1、RO2、RO3) と、大阪のコロケ屋台で 2 週間または 90 日間使用した揚げ油 (FO1、FO2)、また、新鮮大豆油 1 L に 500 ppm となるようにアスパラギンとグルコースを添加し、4 つロフラスコで空気を送り込みながら 180℃、20 時間加熱した。さらに、新鮮大豆油 1 L にそれぞれ 200 ppm となるようにグルタミン、グリシン、アラニン、チロシン、アルギニン、プロリン、スレオニン、アスパラギン酸の 8 種類のアミノ酸を添加し、4 つロフラスコで空気を送り込みながら 180℃、20 時間加熱したものを実験油脂として用意した。8 種類のアミノ酸は、揚げ物中に揚げ種から滲出する主要なアミノ酸であり、加熱油中に生成するカルボニル化合物との反応を考慮した。コントロールとして新鮮大豆油 (SBO)、新鮮なたね油 (RSO) を用いた。

2-2 油脂の化学性状測定

油脂中のカルボニル価 (CV)、酸価 (AV)、ガードナーカラーは基準油脂分析試験法¹⁴⁾に従って測定した。極性化合物 (PC) は PC Tester (3M、U.S.A.) を用いて測定した。

2-3 アクリルアミドの分析方法

油脂中のアクリルアミドの濃度測定は、日本食品分析センターへ依頼し、Fig. 16 に従って分析された。分析装置は Agilent Technologies 社 (U.S.A.) 製の直径 0.25 mm × 30 m の 5% フェニルメチルシロキサンが無極性カラム DB-5 MS を装着した GC/MS-SIM 6890/5973N を用いた。

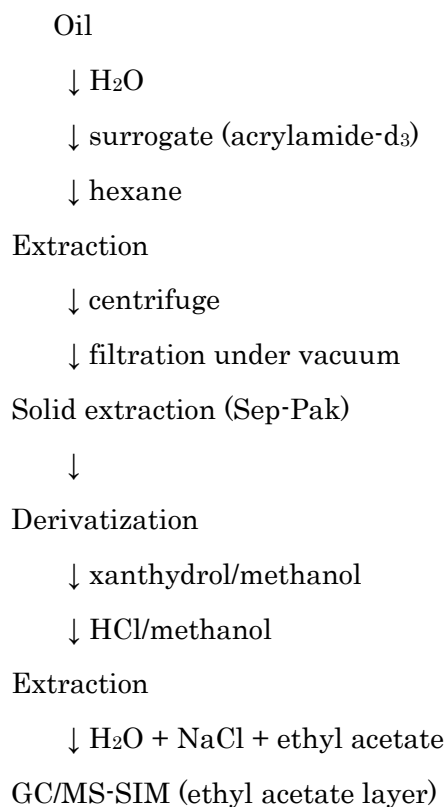


Fig. 16 Flow of acrylamide determination.

3. 結果と考察

3-1 実験油脂の化学性状

実験油脂の化学性状を Table 13 に示した。B グレードの回収植物油 3 種の性状は類

似していた。コロッケ屋台から入手した揚げ油の特に FO2 は PC が 34.6%、ガードナーカラーが 15、CV が 34.4、AV が 3.8 と高く、弁当及び惣菜の衛生規範³⁾による揚げ油について、CV が 50 以下には適合していたが、AV 2.5 以下の基準には違反し、さらにヨーロッパ各国で管理されている揚げ油の PC、25～27%以下の基準も超えていた。アスパラギンとグルコース、また 8 種アミノ酸を添加した大豆油の CV は回収油よりも高く、FO の CV に近いが、AV は揚げ種を入れていない加熱のため 0.3 と低かった。回収油やコロッケ屋台の揚げ油の AV は大量の揚げ物の際に揚げ種から滲出する水分による加水分解反応等によって高値を示したと考えられた。また、回収油やコロッケ屋台の揚げ油はどちらも焦げたような鼻につく悪臭を発していたが、アスパラギンとグルコースを添加して加熱した油は刺激臭であった。

Table 13 Chemical properties of used frying oils.

Properties	RO1	RO2	RO3	FO1	FO2	Asn + sugar	Amino acids*	SBO	RSO
Polar compounds (%)	24.7	20.3	25.9	23.9	34.6	20.5	21.6	5.7	4.5
Gardner color	11	11	12	8.5	15	9	11	1	1
CV	10.9	10.3	12.1	32.5	34.4	32.6	31.9	2.0	3.9
AV	2.0	2.8	2.1	1.8	3.8	0.3	0.3	0.1	0.1
Smell	rancid burned	rancid burned	rancid burned	rancid burned	bitter	irritating	rancid burned	oily	oily

RO: recovered oil (Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd.); FO: frying oil in use at a croquette-frying stand; * Gln, Gly, Ala, Tyr, Arg, Pro, Thr, Asp; SBO: virgin soybean oil; RSO: virgin rapeseed oil.

3-2 油脂中のアクリルアミド濃度

実験油脂のアクリルアミド濃度を Table 14 に示した。回収油やコロッケ屋台など食品産業界で使用された油脂からは、アクリルアミドは検出されなかった。GC/MS-SIM での検出限界は 0.02 ppm であった。アクリルアミドは、食品中の窒素に由来するアンモニアと油によって生成するともいわれている⁶³⁾。また、揚げ種に含まれるアスパラギンやグルコースが揚げ油中に滲出し、加熱によってアクリルアミドが生成することも

考えられたため、回収油中のアクリルアミドも測定したが、検出限界以下であった。しかし、粉末状態のアスパラギンとグルコースを添加して加熱した大豆油中からは 0.33 ppm のアクリルアミドが生成された。

Rydberg ら⁶⁴⁾は、高温加熱を長時間行くと、脱離分解過程によりアクリルアミドが減少し、また他の遊離アミノ酸やタンパク質が豊富な食品添加により、おそらく、競争反応や生成したアクリルアミドとの共有結合が助長されてアクリルアミド量が減少することを報告している。

これらの実験結果から、回収油からはアクリルアミドは検出されず、酸化油脂に含まれるカルボニル化合物と揚げ種の成分であるアミノ酸は反応しないことが示された。

Table 14 Determination of acrylamide in frying oils.

	RO1	RO2	RO3	FO1	FO2	Asn + sugar	8 amino acids*	SBO	RSO
Acrylamide (ppm)	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0.33	n. d.	n. d.	n. d.

RO: recovered oil (Miyoshi Oil & Fat Co., Ltd.); FO: frying oil in use at a croquette-frying stand; * Gln, Gly, Ala, Tyr, Arg, Pro, Thr, Asp; SBO: virgin soybean oil; RSO: virgin rapeseed oil; Detection limit 0.02 ppm; n. d.: not detected.

第4章 回収油の再利用について

1. 序論

食品業界で使用されたのち回収された油は毎年数 10 万トンにのぼり、良質のものは簡単に精製して家畜の飼料、ペンキやインク、脂肪酸の原料として利用される⁶⁵⁾。しかし、新鮮油の価格が低く、回収油を安価に再生する方法がないため、劣化の程度が進んでいなくてもその半分以上は焼却される。そのため、環境汚染につながる危険性がある。回収油を高レベルに再生し、再利用するための方法が提案されている。その一例として、吸着剤を用いた精製が挙げられる^{66,67)}。ロビボンドカラー<10/1.2 (Y/R) を示す使用済み油脂を水酸化アルミニウムゲルと珪藻土で精製したとき酸価 (AV) と色相が改善された。また、ガードナーカラー6 に相当するロビボンドカラー50/10.5 (Y/R) を示す使用済み油脂に吸着剤が応用された。戸谷ら⁶⁸⁾は、シリカゲル 60H を回収油の色相の改善を目的に使用したところ、満足のいく結果は得られなかった。近年の新しい試みとして⁶⁹⁻⁷²⁾、複合ガス分離膜から使用済み油脂を浸透させているが、一層の研究が必要である。一方、大量の劣化油の色相の改善を目的として、水酸化ナトリウムと水酸化バリウムを用いて回収油の再生を検討したところ、ペンキやインクなど工業的に使用可能なレベルの色相まで改善したことを報告した⁶⁸⁾。水酸化ナトリウムを用いた精製は、回収油を NaOH 水溶液と共に攪拌し、メタノールで分画後、水洗してろ過する方法である。また、水酸化バリウムを用いた方法は、回収油に粉末状の $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ を添加し、攪拌後減圧ろ過した。水酸化バリウムによって精製された回収油は、さらに過酸化水素で脱色し、ガードナーカラーが 3 となった。しかし、これらアルカリを使用するとバリウム石けん生成し、減圧ろ過時に泡立つことと不快な臭いの発生が問題であった。本研究では、泡立ちと不快な臭いを改善するため、また、回収油の再生法を確立するために、褐変し粘性のある B グレードの回収油を用いて、改良法を検討した。また、窒素化合物が過酸化水素による漂白にどのように影響しているのか検討した。

2. 実験方法

2-1 試薬と材料

5 ロットの B グレード回収植物油脂をミヨシ油脂（東京）から入手し、この実験を通して使用した。回収油の化学性状は次の通りである。ガードナーカラー11-12、酸価 (AV) 3-4、ヨウ素価 (IV) 113-118、水分 0.4-0.6%であった。不透明で黒褐色の粘度の高い油で、刺激臭と生臭さがあった。脂肪酸組成は、オレイン酸とリノール酸が 80%を占

めた⁶⁸⁾。

水酸化バリウム八水和物は米山化学（東京）から購入した。水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルミン酸ナトリウム、酸化マグネシウム、ミルクカゼイン、L-ロイシン、L-セリン、L-システイン、L-グルタミン酸、L-アルギニン、L-フェニルアラニン、L-プロリン、活性炭はナカライテスク（京都）より購入した。シリカゲル 60H と、アルミナはメルク（ドイツ）から購入した。35%過酸化水素と、卵白アルブミンは和光純薬（大阪）から入手した。Galleon Earth V₂R と V₂ は、水澤化学（東京）、アドバンテック（東京）のろ紙 No.2 を用いた。レシチンはフナコシ（東京）から購入した。小麦粉は日清製粉（東京）の製品を用いた。水酸化バリウムはブレンダーで粉末状にして実験に用いた。

2-2 吸着剤のスクリーニング

回収油の 2 wt% のシリカゲル 60H、酸化マグネシウム、アルミナ、Galleon Earth V₂R と V₂ を吸着剤として使用し、ブフナーロート上のろ紙の上に広げて 3.6 kPa の減圧下、ろ過した。ろ過後、ろ液のガードナーカラーと臭いを記録した。

2-3 アルカリのスクリーニング

500 g の回収油を 2 wt% のシリカゲル 60H (S) でろ過し、ろ液 (Filtrate S) を得た。Filtrate S を、1 L の 3 口セパラブルフラスコに注ぎ、70℃で加熱した。回収油の AV の 1.5 倍相当の粉末状 Ba(OH)₂・8H₂O、Ca(OH)₂、Mg(OH)₂、Al(OH)₃、NaAlO₂ をそれぞれ回収油に添加した。油は 300 rpm で 30 分攪拌し、再度ブフナーロートに 2 wt% のシリカゲル 60H をのせ、1 kPa の減圧下でろ過し、アルカリ精製油 SB、SC、SM、SA、SAN を得た。ここで、B は水酸化バリウム、C は水酸化カルシウム、M は水酸化マグネシウム、A は水酸化アルミニウム、AN はアルミン酸ナトリウムによる処理を示している。

2-4 水酸化バリウム法の改良

100 g の Ba(OH)₂・8H₂O で精製した回収油は、分液ロートを用いて 60℃の水 50 mL で 4 回洗浄した。再度、2 wt% のシリカゲル 60H 上で 1 kPa の減圧下、ろ過したところ、ろ液は若干泡立った。24 時間後、このアルカリ精製油 SBW の臭いと透明度を測定した。W は水による洗浄を示す。

2-5 過酸化水素による脱色

100 g のアルカリ精製油 SB、SBW、SC、SM、SA、SAN それぞれを、500 mL の 4 つ口フラスコに入れ、115℃から 120℃で加温し、アルカリ精製油の 5%の過酸化水素を静かに注ぎ、1000 rpm で攪拌した⁶⁸⁾。攪拌を 1 時間保った後、1 kPa の減圧下、130℃で 30 分間加熱して乾燥させた。乾燥した精製油は、2 wt%のシリカゲル 60H でろ過し、再生油 SBH、SBWH、SMH、SAH、SANH を得た。H は過酸化水素による処理を示す。Filtrate S もまた 5%と 10%の過酸化水素で脱色し、SH と SH2 を得た。すべての再生油のガードナーカラーと臭いを記録した。

2-6 実践的な回収油の再生法

実際に回収油を再生する際、シリカゲル 60H は高価であるため、シリカゲル 60H の代わりに安価な Galleon Earth V₂R を選択した。Ba(OH)₂を用いてアルカリ処理したのち、過酸化水素を加えて、115℃から 120℃で 1 時間加熱した。脱色後、残留の可能性のある Ba(OH)₂を完全に除去するために、希硫酸洗浄を行い、GBWHW を得た。また、アルカリ処理に用いる Ba(OH)₂・8H₂O の最適量を検討した。

2-7 窒素の定量

回収油、Filtrate S、アルカリ精製油 SB、SC、SM、SA、SAN 中の窒素含量を、オーガニックエレメントアナライザー (MACRO CORDER JM 1000CN, J-Science-Lab (京都)；サンプル量 29.14-59.30 mg、熱伝導検出器、self-integrated calculation) を用いて測定した。

2-8 過酸化水素脱色における窒素化合物の影響

ガードナーカラーがそれぞれ 7、8+のアルカリ精製油 SBW と GBW (G は Galleon Earth V₂R を示す) に、それぞれ 0.1 wt%のミルクカゼイン、卵白アルブミン、小麦粉、各種アミノ酸、レシチンを添加し、115℃から 120℃で過酸化水素による脱色を行った。ミルクカゼイン、卵白アルブミン、小麦、L-ロイシン、L-システインを 180℃で 10 時間加熱して得られた物質も窒素化合物として油に添加し、脱色試験に用いた。また、油の色相の劣化を確認するために、過酸化水素を加えずに、タンパクやアミノ酸を添加したアルカリ精製油を加熱攪拌した。

2-9 タンパク質測定

Filtrate S と、SBWHW をシリカゲルプレートにスポットし、タンパク質とアミノ酸、アミンを検出するために、Pauly 試薬⁷³⁾とニンヒドリン試薬（和光純薬、大阪）⁷⁴⁾を噴霧して加熱した。

2-10 化学性状分析

酸価 (AV)、ヨウ素価 (IV)、水分は基準油脂分析法に従い測定した¹⁴⁾。粘度は、Visconic ED viscometer (Tokimec, 東京) を用いて測定した。加熱安定試験では油脂を 200℃ で 60 分加熱した。

3. 結果

3-1 吸着剤のスクリーニング

吸着剤を用いて得た回収油のろ液の色相と臭いを Table 15 に示した。シリカゲル 60H で得た Filtrate S の色相は、ガードナーカラーが 2 ユニット改善し、見た目の色相は黒褐色から赤褐色に変化した。アルミナ、Galleon Earth V₂R と V₂、活性炭の脱色効果はシリカゲル 60H よりも低かった。酸化マグネシウムは、回収油の脱色効果を示さなかった。吸着剤の最少量は回収油の 2 wt%であった。回収油の臭いは、色相の改善に比例して改善された。

Table 15 Screening of adsorbents for recovered oil.

Adsorbents	Color of filtered oil (Gardner)	Odor of filtered oil
Silica gel 60H	9-10	rancid
MgO	11-12	very rancid
Al ₂ O ₃	10-10.5	rancid
Galleon earth V ₂ R	10-10.5	rancid
Galleon earth V ₂	10.5-11	rancid
Activated charcoal	11+	rancid
(Filter paper)	11-12	burnt, fishy, rancid

3-2 アルカリのスクリーニング

4 種のアルカリ精製では、2 価と 3 価の金属の粉末状の水酸化物と、粉末状のアルミン酸ナトリウムについてその効果を検討した。Table 16 は、アルカリ精製した油の色相と臭いを示した。色相の改善は、SB = SBW < SAN < SC < SM = SA の順で脱色さ

れた。 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ と $\text{Al}(\text{OH})_3$ は脱色効果を示さなかった。

アルカリ精製で、目的とするガードナーカラー ≤ 7 のレベルに近づいたのは水酸化バリウムで、比較的脱色効果が優れていた。アルカリ精製についてまとめると、アルカリ金属の価数と脱色効果には関係性が認められなかった。また、アルカリ精製油 SC のように、ろ過に長時間かかるものは、実践的な精製には利用できないと判断した。上に述べたとおり、 $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ で精製した油は、減圧下で泡立つ傾向がみられた。アルミン酸ナトリウムを用いた精製では、ナトリウム石けんの白い沈殿物が観察でき、ブフナーロート上の吸着剤表面を覆うため、結果としてろ過に時間がかかった。アルカリ精製油では、少し改善されたが刺激臭が依然として残っていた。 $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ と共に加熱した SB を水によって洗浄、ろ過すると臭いと泡立ちが顕著に改善されることが判明した。しかしながら、不十分な洗浄はろ過後、低温になるとバリウム石けんの粒子が析出する傾向があった。

Table 16 Screening of alkalis for refining recovered oil.

Alkali-refined oil	Alkali used	Color of alkali-refined oil (Gardner)	Odor of alkali-refined oil	Remarks
SB	$\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	6-7.5	unpleasant	foaming under filtration
SBW	$\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	6-7.5	slightly rancid	foaming improved
SC	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	8-9	slightly rancid	long filtration time
SM	$\text{Mg}(\text{OH})_2$	9-9.5	rancid	clear brown oil
SA	$\text{Al}(\text{OH})_3$	9-9.5	slightly rancid	clear brown oil
SAN	NaAlO_2	7-8	rancid	long filtration time
(Oil filtered twice on silica gel 60H)	—	9-9.5	rancid	clear brown oil

3-3 過酸化水素による脱色

アルカリ精製油の過酸化水素による脱色効果を Table 17 に示した。色相は $\text{SBH} < \text{SBWH} < \text{SANH} < \text{SMH} = \text{SAH}$ であった。過酸化水素による色相の改善の特徴は、アルカリ精製後の赤褐色から淡黄色となったことである。再生油 SBWH の色相は、SBH

よりも少し劣っているが、おそらく微量のバリウム石けんが残存しているためと考えられた。

Table 17 Effect of alkali-refinement on hydrogen peroxide bleaching.

Reclaimed oil	Color of reclaimed oil (Gardner)	Odor of reclaimed oil
SBH	3-4	oily
SBWH	3.5-4.5	oily
SMH	6-7	oily
SAH	6-7	oily
SANH	5.5-6	oily
SH	6.5-7.5	oily
SH2	6-7	oily

3-4 窒素の定量

Table 18 に、回収油と精製油中の窒素化合物の量を示した。回収油や Filtrate S、アルカリ精製油では測定限界のレベル程度の窒素化合物を含有していたが、水酸化バリウムによる精製の後には窒素化合物は検出されなかった。

3-5 過酸化水素脱色における窒素化合物の影響

Table 19 は、回収油中に存在が推察されるタンパク、アミノ酸、変性タンパクと変性アミノ酸、レシチンといった窒素化合物の、SBW の過酸化水素脱色に対する影響を示した。タンパクやアミノ酸は、過酸化水素による脱色を妨害するが、レシチンは脱色を阻害しなかった。対照として行った実験、すなわち、0.1%の窒素化合物を添加しても、加熱中にアルカリ精製油 SBW と GBW の色相は劣化せず、ガードナーカラーは SBW で 7、GBW で 8+に留まった。

Filtrate S では、シリカゲルプレートに Pauly 試薬を噴霧したとき、淡い紫色のタンパクのスポットが検出され、ニンヒドリン試薬を噴霧したとき、淡い黄色のアミノ酸またはアミンのスポットが検出された。ゆえに、タンパクとアミノ酸はディープフライ中に油に滲出し、タンパク（ペプチド）とアミノ酸は長時間のフライ操作の加熱においても依然として損なわれていないことを示している。しかし、再生油 SBWHW では両者の試薬を噴霧しても反応せず、スポットは検出されなかった。

Table 18 Nitrogen content in oils.

Oils	Total nitrogen content (%)
Recovered oil	0.08
Filtrate S	0.08
Alkali-refined oil SB	0
Alkali-refined oil SBW	0
Alkali-refined oil SBWHW	0
Alkali-refined oil SM	0.08
Alkali-refined oil SA	0.07
Alkali-refined oil SAN	0.07

Table 19 Effect of nitrogen compounds on hydrogen peroxide bleaching.

Nitrogen source added to alkali-refined oil SBW or GBW	Color after hydrogen peroxide bleaching (Gardner)	Heated nitrogen sources added to alkali-refined oil SBW	Color after hydrogen peroxide bleaching (Gardner)
Casein from milk/SBW	6-	Casein from milk/SBW	5
Albumin, egg/SBW	6	Albumin, egg/SBW	5.5
L-Leucine/SBW	5+	Flour/SBW	5
L-Serine/SBW	5+	L-Leucine/SBW	6
L-Cysteine/SBW	6.5	L-Cysteine/SBW	5.5
L-Glutamic acid/SBW	6+		
L-Arginine/SBW	6+		
L-Phenylalanine/SBW	5+		
L-Proline/SBW	6+		
Phosphatidyl choline /SBW	4		
none/SBW	4		
L-Cysteine/GBW	8		
None/GBW	5.5		

3-6 実践的な回収油の再生法

工業的なレベルで実際に利用可能な回収油の再生法を Fig. 17 に示した。115℃から120℃の過酸化水素による脱色は、再生油 GBWHW のガードナーカラーが 5-6 と改善した。150℃での過酸化水素脱色は、ガードナーカラーが 4-4.5 と最も改善したが、粘度が 64.9 mPa/120℃から 112.8 mPa/150℃と上昇した。

アルカリ精製油 GBW と、再生油 GBWHW の色相と $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ の量の関係を Fig. 18 に示した。アルカリの最少量は、回収油の AV の 1.2 倍相当で、それ以上のアルカリを添加しても顕著な効果は認められなかった。アルカリ精製油の色に比例して、過酸化水素処理で色相が改善された。

Figure 17 に示した方法で得られた再生油 GBWHW は、AV 1.9、IV 112、水分 0.1%、バリウムイオン濃度は 0.0 ppm 以下、ガードナーカラーが 5-6 (200℃、60 分の加熱安定性試験で、6-7 へと上昇した) で熱安定、臭いも改善されていた。したがって、この再生油は工業製品用として利用が可能であると判断された。GBWHW を 150℃で過酸化水素脱色すると、AV 2.9、IV 100、水分 0.1%となり、ヨウ素価と粘度の上昇(上記)から判断すると不飽和脂肪酸の重合が促進していることが示された。さらに、加熱安定性試験で色相が 4-4.5 から 6-7.5 に上昇したため、過酸化水素脱色は高温よりも 115℃から 120℃が最適であることが判明した。

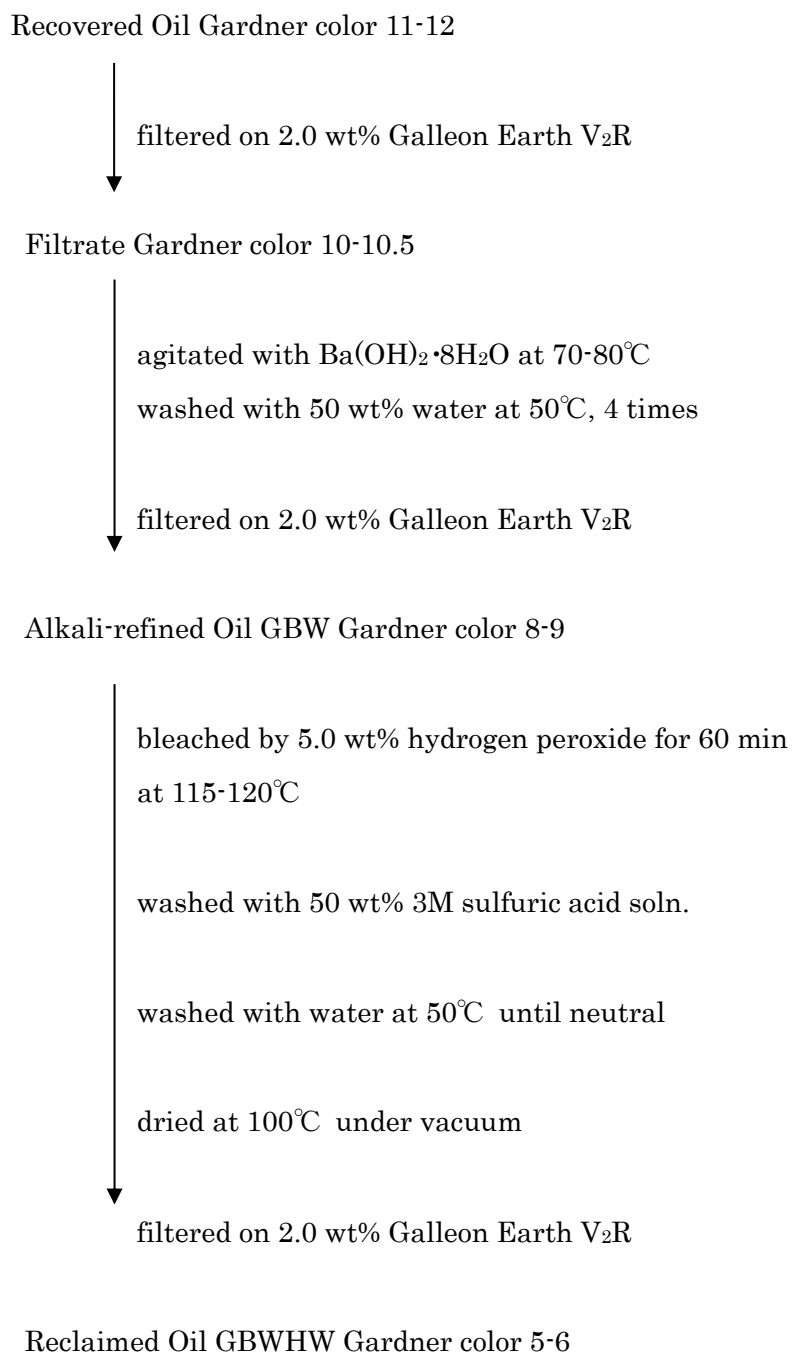


Fig. 17 Proposed method for reclaiming recovered oil.

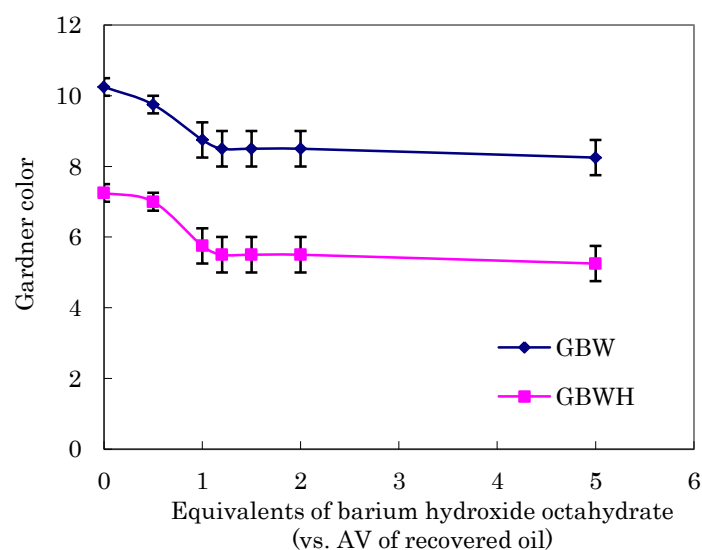


Fig. 18 Color improvement of recovered oil by proposed method.

4. 考察

回収油の主な脂肪酸組成はオレイン酸とリノール酸であるため、大豆油となたね油由来と思われる。このような油をディープフライで長時間加熱した時、油自体、また、肉や魚、野菜、卵などから滲出するタンパク質、脂質、糖、色素成分、水分が原因となつて、酸化、重合、着色、油脂の分解、タンパク質の変性と分解、アミノ酸の脱炭酸反応、脂肪酸とアミノ酸の反応など様々な劣化反応が起こる。したがって、使用した油中には化学構造が複雑で広範な着色物質が存在している。

回収油中の着色物質をクロマトロッド（ヘキサン/ジエチルエーテル、6:1 v/v の展開溶媒を用いた）を用いて分離したところ、わずか6%しか含まれていなかった。回収油を蒸留すると、初留は淡い着色だったが、残留分画は黒褐色だった。したがって、主な着色物質の大部分は極性化合物で沸点が高い高分子物質であることが示された。

Filtrate S の発色反応から、タンパク質、アミノ酸、アミンの存在が示された。これらは、遊離体か他の分子に結合し、または、それらに由来する別の窒素化合物として存在していると考えられる。

試した吸着剤のうち、シリカゲル 60H は回収油中の着色物質を効果的に吸着したが、大規模に使用するには高価すぎるため、最終段階において、実用的な再生法として、Galleon Earth V₂R を吸着剤として用いることとした。Galleon Earth V₂R は、着色物質の吸着力において第2選択肢であり、工業では頻繁に使用されているため、実践的な吸着剤として選択された。この粒子はシリカゲル 60H よりも大きく、ブフナーロート上へ均一に広げることが困難であったため、油に Galleon Earth V₂R を添加し、80℃

から 120℃で加熱攪拌後、ろ過してアルカリ精製に用いた。吸着剤として、シリカゲル 60H と Galleon Earth V₂R の使用量に大きな差はなかった。この 2 種の吸着剤をそれぞれ使用した時、回収油の燃えた臭いや、魚の生臭い臭いがなくなったが、刺激臭が依然として残っていた。したがって、少量の Galleon Earth V₂R では回収油は完全に脱臭されなかった。

過酸化水素の脱色操作では、水酸化バリウム精製した油を非常に効果的に脱色したが、他のアルカリ精製油では効果的な色相の改善はみられなかった。

窒素化合物は、アルカリ精製油の SB、SBW、再生油の SBWHW では検出できなかった。ゆえに、水酸化バリウムによる精製で、油中のタンパクといった窒素化合物の除去が容易となることが判明した。アルカリ精製油の SBW と GBW にタンパクやアミノ酸、または加熱したタンパクやアミノ酸を添加して過酸化水素による脱色を行うと、完全に脱色できなかった。したがって、タンパクやアミノ酸は過酸化水素による脱色を阻害していると推察された。

以上の結果から、次の結論に達した。固形の物質や、大部分の着色物質は最初のシリカゲルろ過によって吸着、除去され、溶解しているタンパクなどの除去と^{75, 76)}、遊離脂肪酸のけん化は水酸化バリウムによってなされた。続いて、水洗とシリカゲルろ過により、バリウム石けんと変性タンパクと他の不要な物質を取り除くことができた。最終的に、アルカリ精製油の着色物質、特に、赤色化合物は過酸化水素によって分解され、淡黄色の再生油が完成した。

Galleon Earth V₂R を吸着剤に用いた実際の回収油の再生法は、水洗の工程で泡立ちを抑制し、臭いを改善した。希硫酸による洗浄により、水酸化バリウムを完全に除去できた。再生油 GBWHW のガードナーカラーは 5-6 で、AV、IV、水分、バリウムイオン濃度、臭い、加熱安定性ともに工業的に使用できる範囲となった。アルカリ精製油 GBW を 150℃で過酸化水素脱色すると、過酸化水素の沸点 151.4℃に近づき、ガードナーカラーは 4-4.5 と改善されるが、粘度が 112.8 mPa と上昇した。これはおそらく極性化合物の生成と重合によるものであると考えられるが、油脂の色が重要規格となるペンキやインクの原料として適している。

本研究の初期には、水を用いずに回収油を精製したが、バリウム石けんの除去や臭いの改善の観点から、洗浄工程が重要であることが判った。水酸化バリウム精製直後に、希硫酸を用いた洗浄を取り入れた場合、水による 2 回の洗浄は不要となる。しかし、微量な硫酸が残存していると、過酸化水素脱色工程でネガティブに作用すると考えられた。

10 トンスケールでの精製において、1 kg あたり約数十円で精製できる経済的な回収

油の再生法を実現するためには、劣化の進んだ回収油と、ガードナーカラー<7の精製をせずに販売されている品質の良い回収油の値段のバランスを考慮しなければならない。

タンパク質溶液を各種陽イオンと混ぜたとき、タンパク質構造の安定性が増すことも減少することもある⁷⁷⁾。Hofmeister列の陽イオンに着目すると、次のイオンの順 $\text{Ba}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^{+}$ でタンパク質の安定性を減少させることが知られている。バリウムイオンは最もタンパク質の疎水性を減少させる作用があり、水への非極性物質の溶解を促進させる⁷⁸⁾。回収油中の極性化合物は、最初のシリカゲルろ過によって簡単に除去できるが、残存タンパクは極性が低く、繰り返しろ過しても除去が困難である。Hofmeisterの説に従って、水酸化バリウムを油中のタンパクに作用させると、特に疎水性タンパクを不安定にさせ、水洗とろ過によって除去できることとなる。

以上まとめると、過酸化水素による脱色を完全なものにするために、水酸化バリウムによって回収油を処理し、油に溶解しているタンパクや窒素化合物を除去することが最も重要な要素であることが判明した。

総括

第1章と第2章では油脂中の酸素濃度とシリコーン油共存下での酸化の関連について検討した。

油脂は加熱と共に溶存酸素濃度が上昇し、120℃から酸素濃度が急激に減少する。この現象は油脂の加熱酸化による酸素の消費のためであるとの報告から、飽和脂肪酸のエステルであるトリオクタノイルグリセロールを含む種々の油脂の酸素濃度を測定した。その結果、加熱による酸素濃度の減少の大半は油脂の物性によるものであり、油脂の酸化の要因は小さいことが示された。

次に、油脂の酸化を抑制するには、油脂に酸化防止剤を添加して酸化を抑制することが一般的に行われているが、トコフェロール等のラジカル捕獲剤は高温で短時間に効果を失う。シリコーン油（PDMS）を油脂に数 ppm 添加したとき、加熱条件下で強力で安定な抗酸化効果を示す。これは、油脂の表面に PDMS が単分子膜を形成し、酸素の吸収と拡散を抑制することによって酸化が抑制されるとの解釈が受け入れられてきた。本研究では、PDMS が均一ではないが油脂全体に分散していることを観察したため、これまでの単分子膜説とは異なった抗酸化機序を持つことが明らかとなった。さらに、PDMS を添加した油脂を窒素雰囲気下で静置すると、上部ほど PDMS と酸素濃度が高いことをつきとめ、油脂中の PDMS 粒子と酸素分子が相互作用をもち、油脂中の酸素の挙動が PDMS により制限され、酸化が抑制されることが示唆された。

PDMS が添加された食用油中の天然トコフェロールの量は、添加されない油脂のよりも加熱による減少が少なく、PDMS はトコフェロールの減少抑制にも効果的に作用することが判った。PDMS は、フライ油の酸化や重合を抑制するだけでなくトコフェロールの減少も抑制する。油脂の不飽和脂肪酸部分が酸素に攻撃される前に、PDMS が溶存酸素の挙動を制限し、過酸化ラジカルの生成抑制をしていることが考えられた。したがって、過酸化ラジカルをトコフェロールが攻撃してラジカル捕獲することも減少し、トコフェロール量の減少が抑制されたと解釈できる。

第3章と第4章では食品工業で使用された油脂の安全性と、再生法について検討した。

でんぷんを多く含む食材を加熱するとアクリルアミドが生成されると報告されて以来、これら食品による健康被害が広く関心事となった。食品中でアクリルアミドはグルコースとアスパラギンからアミノカルボニル反応を経て生成する。油脂にグルコースとアスパラギンを添加して加熱するとアクリルアミドが生成したため、それを動物に投与して生体への影響を調べた。12 週間アクリルアミドを摂取したラットは順調に成長し

たが、血清中の中性脂肪とインスリン量が減少した。一方、アクリルアミドは加熱油脂中に生成したカルボニル化合物、また揚げ種から滲出するアミノ酸・タンパク・糖が反応して生成される可能性がある。食品工業で使用後回収された油脂を代表的な使用油と捉え、アクリルアミドの定量を実施したがアクリルアミドは検出されず、一般的なディープフライでは油中でアクリルアミドは生成しない、あるいは揚げ種から漏出しないことが明らかとなった。

日本では、良質の回収油は工業用や飼料として利用されるが、安価で簡便な再生法がないため、大半の使用済み油脂が廃棄される。そこで、回収油の色相を改善するための再生法を検討した。再生法には吸着剤ろ過、アルカリ処理、過酸化水素脱色が選択された。種々の検討の結果、回収油の再生には **Galleon Earth V₂R** のろ過と水酸化バリウム処理、水洗、過酸化水素脱色を順次行くと効果的であった。水酸化バリウム処理すると遊離脂肪酸等が石けんを形成し、水洗によって除去できた。また油脂中のタンパクが過酸化水素脱色を妨害していたが、水酸化バリウムは油脂中のタンパクを可溶化して除去するため、過酸化水素による脱色が効果的に進行することが判った。

主論文

1. Yawata, M.; Satoh, T.; Iwahashi, M.; Hori, R.; Takeuchi, S.; Shiramasa, H.; Totani, N. The antioxidation mechanism of polydimethylsiloxane in oil. *J. Oleo Sci.* **64**, (2015).
2. Yawata, M.; Iwahashi, M.; Hori, R.; Shiramasa, H.; Totani, N. A study on the effect of polydimethylsiloxane from the viewpoint of oxygen content in oil. *J. Oleo Sci.* **63**, 987-994 (2014).
3. Totani, N.; Yawata, M.; Mori, T.; Hammond, E.G. Oxygen content and oxidation in frying oil. *J. Oleo Sci.* **62**, 989-995 (2013).
4. Totani, N.; Yawata, M.; Takada, M.; Moriya, M. Acrylamide content of commercial frying oil. *J. Oleo Sci.* **56**, 103-106 (2007).
5. Totani, N.; Yawata, M.; Ojiri, Y.; Fujioka Y. Effects of trace acrylamide intake in Wistar rats. *J. Oleo Sci.* **56**, 501-506 (2007).
6. Totani, N.; Iwanaga, K.; Takada, M.; Takeda, O.; Furuta, M.; Moriya, M.; Yawata, M.; Yamaguchi, A.; Ueda, T. Reclamation of used edible oil. II. *J. Oleo Sci.* **54**, 63-70 (2005).

謝辞

本研究にあたり、研究の機会を与えてくださり、始終ご懇切なご指導とご鞭撻を賜りました神戸学院大学栄養学部教授 戸谷 永生先生に心より感謝いたします。また、本論文を作成するにあたり、ご支援と適切なご助言を賜りました神戸学院大学栄養学部教授 小野坂 敏見先生、同大学薬学部教授 河合 裕一先生、同大学栄養学部准教授 森 光寿先生に深く感謝するとともに心より御礼申し上げます。

本研究にご尽力いただきました神戸学院大学栄養学部名誉教授 故上田 隆史先生、アイオワ州立大学名誉教授 E. G. Hammond 先生、神戸学院大学栄養学部前助手 北口（山口） 彩子先生、尾尻 裕子先生に感謝いたします。研究の進行にあたり、佐藤 亨修士にご助言とご協力いただきました。

本研究にご協力とご指導いただきましたミヨシ油脂株式会社 故守屋 雅文氏、古田 光紀氏、岩永 和人氏、武田 宰氏（現・渋谷油脂株式会社）、高田 満信氏に感謝申し上げます。

本研究にご協力とご尽力いただきました株式会社 J-オイルミルズ 白砂 尋士氏、竹内 茂雄氏、岩橋 舞子氏、堀 竜二氏に感謝申し上げます。
また、数々の機器分析にご協力いただきました食品分析センターに感謝いたします。

参考文献

- 1) 厚生労働省 平成 25 年国民健康・栄養調査報告（平成 27 年）
- 2) Totani, N.; Ohno, C.; Yamaguchi, A. Is the frying oil in deep-fried foods safe? *J. Oleo Sci.* **55**, 449-456 (2006).
- 3) 厚生省 弁当及び惣菜の衛生規範（昭和 54 年日環食第 161 号）
- 4) Totani, N.; Tateishi, S.; Mori, T.; Hammond, E.G. Oxidation of frying oils during intermittent usage. *J. Oleo Sci.* **61**, 601-607 (2012).
- 5) 岩尾 裕之、高居 百合子 市販油脂食品の変敗について 調理科学 **9**, 42- 48 (1976).
- 6) Endo, Y.; Hayashi, C.; Yamanaka, T.; Takayose, K.; Yamaoka, M.; Tsuno, T.; Nakajima, S. Linolenic acid as the main source of acrolein formed during heating of vegetable oils. *J. Am oil Chem. Soc.* **90**, 959-964 (2013).
- 7) MacMahon, S.; Begley, T.H.; Diachenko, G.W. Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States. *Food Addit. Contam. Part A* **30**, 2081-2092 (2013).
- 8) Klaunig, J.E. Acrylamide carcinogenicity. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 5984-5988 (2008).
- 9) 厚生労働省 添加物使用基準リスト（指定添加物）
- 10) Ohta, S.; Shimizu, Y.; Kinugasa, M.; Tosaki, K.; Tottori, Y. On functions of silicone oil in frying oil. X. Restudying on the previous presumptions. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **39**, 23-28 (1990).
- 11) Gerde, J.A.; Hammond, E.G.; White, P.J. Influence of polydimethylsiloxane on the degradation of soybean oil at frying temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **88**, 1573-1579 (2011).
- 12) Gerde, J.A.; Hammond, E.G.; White, P.J. Influence of polydimethylsiloxane on the oxygen concentration of oil at various temperatures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **88**, 925-929 (2011).
- 13) Totani, N.; Nishinaka, M.; Tateishi, S.; Morita, A.; Kida, H. A novel weight-loss dieting oil prepared with vegetable protein. *J. Oleo Sci.* **59**, 41-48 (2010).
- 14) Standard Methods for Analysis of Fats, Oils, and Related Materials, temporary method 13-2003 carbonyl value (butanol method) edited by the Japan Oil

Chemists' Society.

- 15) O'Grandy, M.N.; Monahan, F.J.; Burke, R.M.; Allen, P. The effect of oxygen level and exogenous α -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. *Meat Sci.* **55**, 39-45 (2000).
- 16) Totani, N.; Ono, M.; Munkhjargal, B.; Ojiri, Y. Carbonyl compounds vaporize from oil with steam during deep-frying. *J. Oleo Sci.* **56**, 449-456 (2007).
- 17) Romero, A.; Cuesta, C.; Sanchez-Muniz, F. J. Does frequent replenishment with fresh monoenoic oils permit the frying of potatoes indefinitely? *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1168-1173 (1999).
- 18) Miura, T. Surface chemistry and antifoaming of polysiloxane polymer. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **42**, 762-767 (1993).
- 19) Freeman, I.P.; Padley, F.B.; Sheppard, W.L. Use of silicones in frying oils1. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **50**, 101-103 (1973).
- 20) 農林水産省 食用植物油脂の日本農林規格（昭和 44 年 農告第 523 号）
- 21) Dueik, V.; Bouchon, P. Vacuum frying as a route to produce novel snacks with desired quality attributes according to new health trends. *J. Food Sci.* **76**, E188-195 (2011).
- 22) Nunes, Y.; Moreira, R.G. Effect of osmotic dehydration and vacuum-frying parameters to produce high-quality mango chips. *J. Food Sci.* **74**, E355-362 (2009).
- 23) Chen, B.; McClements, D.J.; Decker, E. A. Minor components in food oils: a critical review of their roles on lipid oxidation chemistry in bulk oils and emulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **51**, 901-916 (2011).
- 24) Gomes, T.; Caponio, F.; Bruno, G.; Summo, C.; Paradiso, V.M. Effects of monoacylglycerols on the oxidative stability of olive oil. *J. Sci Food Agric.* **90**, 2228-2232 (2010).
- 25) Sanchez-Muniz, F.J.; Bastida, S. Frying oil discarding: polar content vs. Oligomer content determinations. *Forum Nutr.* **56**, 345-347 (2003).
- 26) Sanchez-Muniz, F.J. Oils and fats: changes due to culinary and industrial processes. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **76**, 230-237 (2006).
- 27) Sanchez-Muniz, F.J.; Bastida, S.; Gonzalez-Munoz, M.J. Column and high-performance size exclusion chromatography applications to the in vivo

- digestibility study of a thermooxidized and polymerized olive oil. *Lipids* **34**, 1187-1192 (1999).
- 28) Shin-etsu Silicone Technical Report: Performance test results for silicone oil KF-96, Shin-etsu Chemical Industry, Tokyo, Japan.
 - 29) Kusaka, H.; Kakizaki, J.; Tobimatsu, N.; Ohta, S. On functions of silicone oil in frying oil. I. Preventive effects of silicon oil on the thermal deterioration of frying oil. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **26**, 709-714 (1977).
 - 30) Babayan, V.K.; Livingston, N.J. High smoke point frying oil. *U. S. Pat.* 2,998,319 (1961).
 - 31) Martin, J.B. Stabilization of fats and oils. *U. S. Pat.* 2,634,213 (1953).
 - 32) Kusaka, H.; Kakizaki, J.; Shinozaki, T.; Ohta, S. On functions of silicone oil in frying oil. II. Antioxidative effect of silicone oil on autoxidation of edible oil. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **29**, 341-344 (1980).
 - 33) Kusaka, H.; Nagano, S.; Ohta, S. On functions of silicone oil in frying oil. V. Influences of silicone oil on convection of frying oil. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **34**, 187-190 (1985).
 - 34) Yasuda, K. *Edible Oil and Oil Industry*. Saiwai-Shobou. pp. 174-175, pp. 196-206 (1992).
 - 35) Rock, S.P.; Fischer, L.; Roth, H. Methyl silicone in frying fats – Antioxidant or prooxidant ? *J. Am. Oil Chem. Soc.* **44**, 102A (1967).
 - 36) Marquez-Ruiz, G.; Velasco, J.; Dobarganes, M.C. Effectiveness of dimethylpolysiloxane during deep frying. *Eur. J. lipid Sci. Technol.* **106**, 752-758 (2004).
 - 37) http://www.johokiko.co.jp/column/column_hideo_akisada.php
 - 38) Gautam, R.; Steiner, D.; Steiner T. The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology. *IUCr Monographs on Crystallography, Vol. 9*. Oxford: Oxford University Press/International Union of Crystallography, 1999, pp. xiv + 507.
 - 39) Kusaka, H.; Kiyama, T.; Saita, H.; Koike, S.; Ohta, S. Functions of silicone oil in frying oil. VI. Effects of silicone oil on water and dissolved gas content in frying oils. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **35**, 467-471 (1986).
 - 40) Totani, N.; Yawata, M.; Mori, T.; Hammond, E.G. Oxygen content and oxidation

- in Frying Oil. *J. Oleo Sci.* **62**, 989-995 (2013).
- 41) Ohta, S.; Kusaka, H.; Tokue, K.; Takaoka, K. Functions of silicone oil in frying oil. VIII. Investigation of the surface conditions on the frying oils containing silicone oil by infrared ATR spectrometry and photoacoustic spectrometer. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **36**, 480-486 (1987).
 - 42) Niki, E.; Vitamin E and its related compounds as antioxidants. *J. Synthetic organic chemistry* **47**, 902-915 (1989).
 - 43) Hogervorst, J.G. F.; Baars, B.J.; Schouten, L.J.; Konings, E.J.M.; Goldbohm, R.A.; van den Brandt, P.A. The carcinogenicity of dietary acrylamide intake: A comparative discussion of epidemiological and experimental animal research. *Critical Reviews in Toxicology* **40**, 485-512 (2001).
 - 44) Lingnert, H.; Grivas, S.; Jagerstad, M.; Skog, K.; Tornqvist, M.; Aman, P. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of food. *Scandinavian Journal of Nutrition* **46**, 159-172 (2002).
 - 45) 厚生労働省 加工食品中アクリルアミドに関する Q&A.
<http://www.mhlw.go.jp/topics/2002/11/tp1101-1.html>
 - 46) 農林水産省 食品中に含まれているアクリルアミドに関する情報
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/index.html
 - 47) コーデックス委員会食品添加物汚染物質部会第 38 回会合討議文書
 - 48) Totani, N.; Satoh, K.; Tsuji, S.; Yamaguchi, A. Effects of deteriorated frying oil in Wistar rats. *J. Oleo Sci.* **55**, 291-297 (2006).
 - 49) Totani, N.; Ojiri, Y. Mild ingestion of used frying oil damages hepatic and renal cells in Wistar rats. *J. Oleo Sci.* **56**, 261-267 (2007).
 - 50) Totani, N. A small reduction in atmospheric oxygen decreases thermal deterioration of oil during frying. *J. Oleo Sci.* **55**, 135-141 (2006).
 - 51) Totani, N. Thermal deterioration of edible oil used in food manufacturing companies. *J. Oleo Sci.* **6**, 493-500 (2006).
 - 52) Totani, N.; Yawata, M.; Takada, M.; Moriya, M. Acrylamide content of commercial frying oil. *J. Oleo Sci.* **56**, 103-106 (2007).
 - 53) Mucci, L.A.; Dickman, P.W.; Steineck, G.; Adami, H.O.; Augustsson, K. Dietary acrylamide and cancer risk: additional data on coffee. *British J. Cancer* **89**, 775-776 (2003).

- 54) Totani N.; Ojiri Y. Thermal deterioration of oil and frying foodstuffs. *J. Oleo Sci.* **56**, 543-551 (2007).
- 55) Munkhjargal, B.; Totani, N. Cytotoxic compounds generated in heated oil and assimilation of oil in Wistar rats. *J. Oleo Sci.* **58**, 1-7 (2009).
- 56) Soriguer, F.; Rojo-Martinez, G.; Dobarganes, M.C.; Garcia-Almeida, J.M.; Esteva, I.; Beltran, M.; Ruiz deAdana, M.S.; Tinahones, F.; Gomez-Zumaquero, J.M.; Garcia-Fuentes, E.; Gonzalez-Romero, S. Hypertension is related to the degradation of dietary frying oils. *Am. J. Clin. Nutr.* **78**, 1092-7 (2003).
- 57) Mottram, D.S.; Wedzicha, B.L.; Dodson, A.T. Acrylamide is formed in the maillard reaction. *Nature* **419**, 448-449 (2002).
- 58) Staeler, R.H.; Blank, I.; Varga, N.; Robert, F.; Hau, J.; Guy, P.A.; Robert, M.; Riediker, S. Acrylamide from maillard reaction products. *Nature* **419**, 449 (2002).
- 59) Rosen, J.; Hellenas, K. Analysis of Acrylamide in Cooked Foods by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *The Analyst* **127**, 880-882 (2002).
- 60) Tareke, E.; Rydberg, P.; Karlsson, P.; Eriksson, S.; Tornqvist, M. Analysis of Acrylamide, a Carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 4998-5006 (2002).
- 61) Yaylayan, V.A.; Wnorowski, A.; Locas, C.P. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1753-1757 (2003).
- 62) Zyzak, D.V.; Sanders, R.A.; Stojanovic, M.; Tallmadge, D.H.; Ebenhart, B.L.; Ewald, D.K.; Gruber, D.C.; Morsch, T.R.; Strothers, M.A.; Rizzi, G.P.; Villagran, M.D. Acrylamide formation mechanism in heated foods. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 4782-4787 (2003).
- 63) Bacalski, A.; Lau, B.P.Y.; Lewis, D.; Seaman, S.W. Acrylamide in foods: Occurrence, source, and modeling. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 802-808 (2003).
- 64) Rydberg, P.; Eriksson, S.; Tareke, E.; Karlsson, P.; Ehrenberg, L.; Tornqvist, M. Factors that influence the acrylamide content of heated foods, *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*. edited by Friedman and Mottram, Springer Science + Business Media, Inc. (2005), pp. 317-328.
- 65) Totani, N.; Yamaguchi, A.; Takada, M.; Moriya, M. Color deterioration of oil

- during frying. *J. Oleo Sci.* **55**, 51-57 (2006).
- 66) Yuki, E.; Hirose, T. Removal of free fatty acids in frying oils by the adsorption of aluminum hydroxide gel. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **23**, 296-300 (1974).
 - 67) Usuki, R. Improvement of used frying oil by treating with several adsorbents. *Cooking Sci.* **26**, 27-31 (1993).
 - 68) Totani, N.; Iwanaga, K.; Takada, M.; Takeda, O.; Furuta, M.; Moriya, M.; Yamaguchi, A.; Ueda, T. Reclamation of used frying oil. *J. Oleo Sci.* **53**, 221-229 (2004).
 - 69) Snape, J.B.; Nakajima, M. Processing of agricultural fats and oils using membrane technology. *J. Food Eng.* **30**, 1-41 (1996).
 - 70) Subramanian, R. Nakajima, M.; Kawakatsu, T. Processing of vegetable oils using polymeric composite membranes. *J. Food Eng.* **38**, 31-56 (1998).
 - 71) Miyagi, A.; Nakajima, M.; Nabetani, H. Improvement of used edible oils using membrane processing. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **49**, 237-244 (2000).
 - 72) Miyagi, A.; Subramanian, R.; Nakajima, M. Membrane and additional adsorption processes for quality improvement of used frying oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **80**, 927-932 (2003).
 - 73) Suzuki, I. *Hakuso kuromatogurafi no jissai*, Hirokawa Shoten, pp. 177 (1980).
 - 74) Suzuki, I. *Hakusou kuromatogurafi no jissai*, Hirokawa Shoten, pp. 120 (1980).
 - 75) Lucas, B.; Sotelo, A. Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. *Anal. Biochem.* **109**, 192-197 (1980).
 - 76) Onoprienko, V.V.; Elin, E.A.; Miroshnikov, A.I. Hydrolysis of primary amide groups in Asn/ Gln-containing peptides. *Bioorg. Khim.* **26**, 403-410 (2000).
 - 77) von Hippel, P.J.; Wong, K.Y. On the conformational stability of globular proteins. *J. Biol. Chem.* **240**, 3909-3923 (1965).
 - 78) Voet, D.; Voet, J. *Voet Seikagaku*, Tokyo Kagaku Dojin, (jou) pp. 152 (1996).