

## コレステロールの酸化分解に及ぼす金属および脂肪酸の影響

大谷 貴美子, 片岡 あゆみ, 南出 隆久

(京都府大・人間環境学部)

### Effects of Metal and Fatty Acids on Oxidative Degradation of Cholesterol

Kimiko Ohtani, Ayumi Kataoka, and Takahisa Minamide

(Faculty of Human Environmental Science, Kyoto Prefectural University)

Cholesterol was heated at various temperature for various periods of time with or without metal salt and/or fatty acid. Cholesterol was degraded depending on the temperature and heating periods of time, but the amounts of cholesterol oxides produced were very little. In addition, the species and the molar ratio of cholesterol oxides produced were almost the same pattern. Then, almost cholesterol might be degraded into much more small molecular substances. Fatty acids, especially polyunsaturated fatty acids, accelerated the degradation of cholesterol. However, large amounts of polyunsaturated fatty acids depressed the oxidative degradation of cholesterol. A small amount of copper salt,  $\text{CuCl}$  and  $\text{CuCl}_2$ , accelerated the degradation of cholesterol especially in the presence of fatty acid, but large amounts of copper salts depressed the oxidation. In the case of iron salts,  $\text{FeCl}_2$  and  $\text{FeCl}_3$ , oxidative degradation of cholesterol was accelerated depending on the amounts of iron salts added to the reaction mixture.

コレステロールは生体内外で比較的容易に酸化され、種々のコレステロール酸化物を生成するが、近年これら酸化物が動脈硬化や癌などの発症に関わっていることが明らかになり、注目を集めているところでもある。我々は、先に酸化物の中でも最もよく検出されている7-ケトコレステロールと最も毒性が強いとされているコレスタントリオールについて、培養細胞を用いてそれらの細胞毒性について報告を行ってきた<sup>1,2)</sup>。コレステロール自身の酸化のメカニズムについては液相、固相で様々な研究がなされているが、実際の調理に近い条件下での研究はあまりなされていない。そこで、本研究では、炒める、揚げる、焼くなどの調理温度を鑑み、比較的高温度域において、共存する他の食品成分がどのようにコレステロールの酸化分解に関与しているのかをモデル系を用いて検討した。

## 実験方法

### 1. コレステロールの酸化

一定量 (5  $\mu$ mole) のコレステロールを試験管にとり、溶媒 (n-ヘキサン) を窒素気流下で除去し、薄膜を作った。ドライサーモバスを用いて、150, 170, 200 $^{\circ}$ Cの各温度で加熱した後、素早く冷却し、2  $\mu$ mole の5- $\alpha$ -コレスタンを内部標準として添加し、TMS化を行った。加熱時の共存物質の影響としては、各種脂肪酸と金属塩 (鉄と銅) について検討した。脂肪酸は各々ヘキサンに溶かして添加した後、溶媒を窒素気流下で除去した。金属塩の場合は100  $\mu$ lの水に溶かして添加したため、対照群にも等量の水を加えた。

### 2. 酸化物の同定

TMS化物をGCおよびGC-MS分析に供した。GC分析ではDB-5キャピラリカラム (0.25mm  $\times$  30m), J&W, を用い、300 $^{\circ}$ Cの定温で分析した。GC-MS分析ではU-1 (0.2mm  $\times$  12.5m)を用い180 $^{\circ}$ Cから280 $^{\circ}$ C (5 $^{\circ}$ C/min)の昇温で分析を行った。コレステロールの残存率は内部標準物質に対する面積比より算出した。

## 結果と考察

### 1. 加熱温度と加熱時間による影響

Fig. 1に示すように、加熱後のコレステロールの残存率は加熱温度および加熱時間に依存して低くなったが、生成された酸化物の量および分子種には大きな違いは認められなかった。Fig. 2に170 $^{\circ}$ Cで加熱した場合のコレステロール酸化物の生成過程を示した。酸化分解されたコレステロールの量に比べ生成した酸化物の量は少なく、また加熱時間に関わらず生成されたコレステロール酸化物の分子種およびモル比はほぼ一定であった。つまり加熱によりコレステロールは、カルボニル化合物やアルコールなどさらに低分子量の物質にまで分解されたものと考えられた。

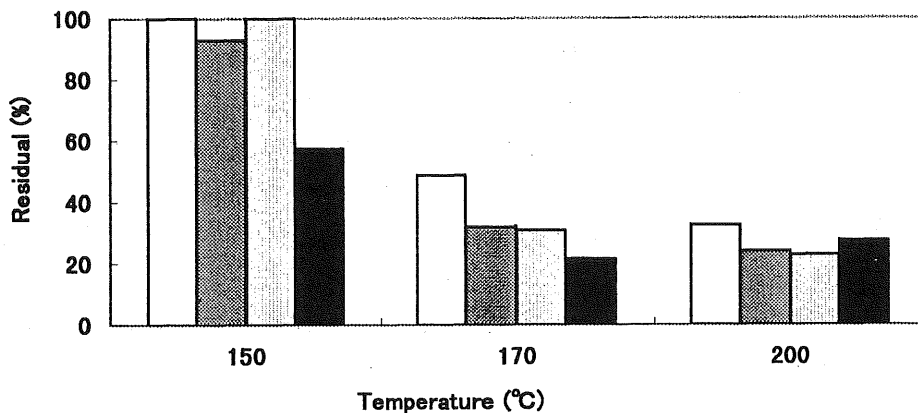


Fig. 1 Residual cholesterol (%) after heating at various temperature for various periods of time.

□ 10min    ▨ 20min    ▩ 30min    ■ 40min

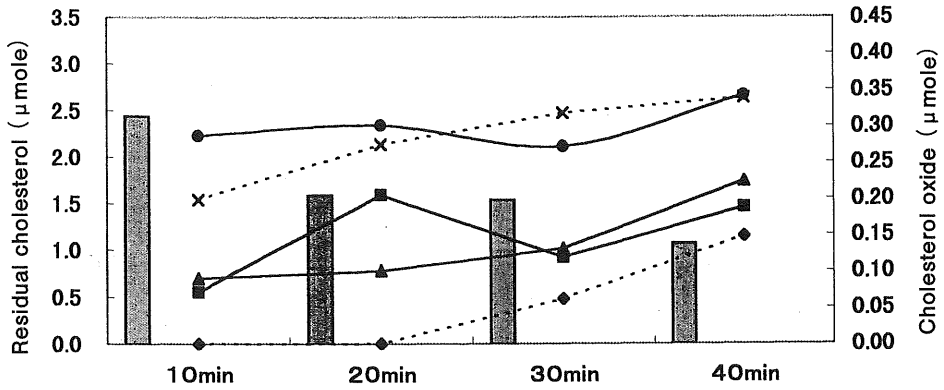
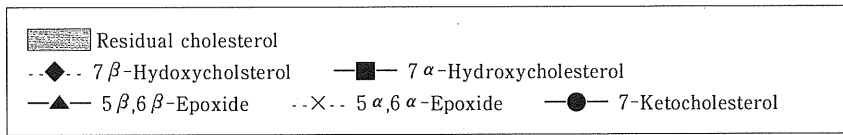


Fig. 2 Residual cholesterol and production of cholesterol oxide uner heating at 170°C.



2. 脂肪酸の影響

Fig. 3には各種脂肪酸メチルをコレステロールに対して等モル共存させて加熱した場合のコレステロール残存率を示した。その結果，ステアリン酸メチル，オレイン酸メチルは加熱初期に酸化分解を抑制することが示された。多価不飽和脂肪酸の場合はコレステロールの酸化分解を促進したが，添加量を増やすと，逆に，分解を抑制した。脂肪酸共存下でのコレステロールの酸化は，まず脂肪酸ペルオキシドが生成され，次いで生成された脂肪酸ペルオキシラジカルがコレステロールを攻撃すると考えられている<sup>3)</sup>。多量の多価脂肪酸存在下でコレステロールの酸化が抑制されたのは，酸化されやすい多価不飽和脂肪酸が多量に共存すると，酸素が脂肪酸酸化に消費され，さらに生成された脂肪酸ペルオキシド

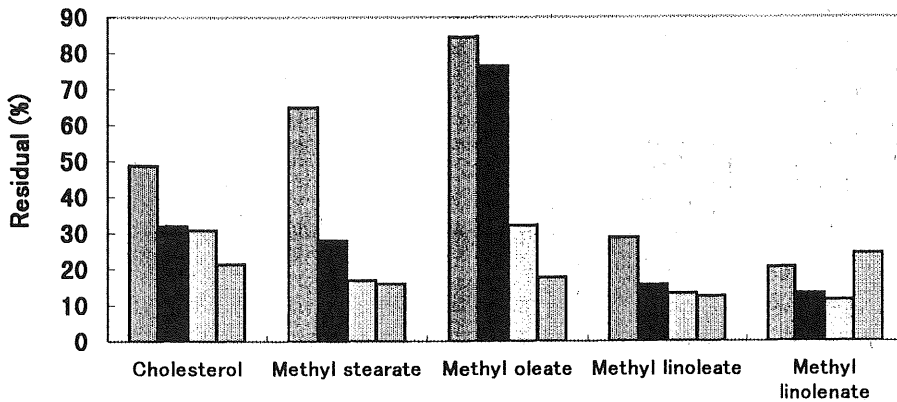
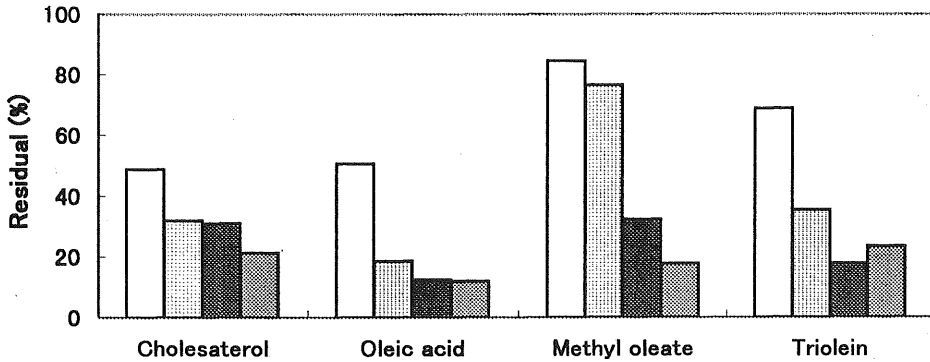


Fig. 3 Effects of various fatty acids on oxidative degradation of cholesterol at 170°C.

■ 10min    ■ 20min    □ 30min    ■ 40min

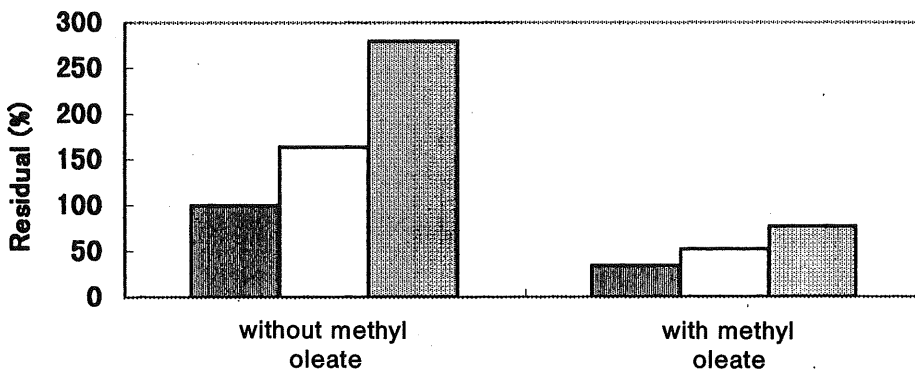


**Fig. 4** Effects of chemical structure of oleic acid on oxidative degradation of cholesterol at 170°C  
 □ 10min   ■ 20min   ■ 30min   ■ 40min

がラジカルとなってペルオキシド自身の分解を促進するためではないかと考えられた。次に脂肪酸のエステル化による影響を知る目的で、オレイン酸、オレイン酸メチル、トリオレインを添加し、比較検討したところ、Fig. 4に示すようにカルボキシル基フリーのオレイン酸で最もコレステロールの分解率が高値を示した。これはカルボキシ基がエステル化されていない脂肪酸の方が反応性が高く、酸化されやすいためと考えられた。

### 3. 金属塩の影響

微量の金属塩、特に2価の銅、3価の鉄、は脂肪の酸化を促進することが知られている<sup>4)</sup>。そこで、コレステロールの酸化分解に及ぼす金属の影響をこれら金属の塩化物を用いて検討した。金属塩は100 μlの水に溶解させて添加したが、水は加熱温度が高い為に、加熱後瞬時に蒸発した。従って我々の実



**Fig. 5** Effect of CuCl on oxidative degradation of cholesterol with or without methyl oleate. (170°C, 30min)  
 Data was shown as relative % for residual cholesterol heated without CuCl and methyl oleate.  
 ■ 0 μmole   □ 1 μmole   ■ 5 μmole

験の系では金属はイオンにはなっていないものと考えられる。Fig. 5にCuClを添加した場合の、オレイン酸メチル存在下と非存在下でのコレステロールの酸化分解を示した。その結果、脂肪酸存在下の方がコレステロールの酸化が促進されることが示された。これは金属により脂肪酸の酸化が促進され、脂肪酸ペルオキシラジカルが生成されたためと考えられる。またイオンの場合とは異なりCuClの方がCuCl<sub>2</sub>よりもコレステロールの酸化分解を促進し、添加された銅塩が多い方が酸化を抑制した。脂肪酸酸化において、銅イオン過剰量存在下では脂肪酸ラジカルが銅と反応して、不活性物質になることが報告されている。そこで銅塩の添加量を減らしてみたところ、量が少ないほどコレステロールの分解が促進されることが示された。鉄についても、やはり脂肪酸存在下の方がコレステロールの酸化が促進されたが、鉄ではFeCl<sub>2</sub>、FeCl<sub>3</sub>ともに添加量に依存してコレステロールの酸化分解が促進された。

以上の結果から、コレステロールは高温で加熱されると酸化物を生成するよりも速やかに分解されることが示され、また脂肪酸や金属の影響を受けて分解が促進されることが示された。食品を加熱した場合に、通常の調理時間を考えると調理課程で生成されるコレステロール酸化物の量は非常に少ないことが推測される。従って、それらが直接生体に対して悪影響を与えるということは考えにくい。むしろ、本研究結果から考えると分解物の方の安全性が気になるところである。今後、コレステロールの酸化物と併せて分解物の細胞への影響についても検討したいと考えている。また、実際の食品を用いて、コレステロールの分解についても検討したいと考えている。

### 引用文献

- 1) Ohtani, K, Terada, T., Kamei, M., and Matsui-Yuasa, I. (1996) Biosci. Biotech. Biochem., 61 : 573
- 2) Ohtani K., Miyabara K., Okamoto E., Kamei M., and Matsui-Yuasa I. (1996) Biosci. Biotech. Biochem., 60 : 1989
- 3) Paniangvait P., King A. J., Jones A. D., and German B. G. (1995) J. Food Sci., 60 : 1159
- 4) Marouse R. and Fredricksson P-O. (1971) J. Am. Oil Chem., 48 : 448