

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：34428

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12744

研究課題名(和文) シス・トランス型脂肪酸等の新規高精度分析法による食品の汚染実態及び健康影響の解明

研究課題名(英文) Elucidation of food contamination and adverse health effect based on newly precise analytical method for cis-trans fatty acids

研究代表者

太田 壮一 (Ohta, Souichi)

摂南大学・薬学部・教授

研究者番号：10213729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：現在まで、トランス型やシス-トランス混合型脂肪酸の健康影響については余りにも未解明であった。しかし、健康影響を評価するには、我々が、毎日摂取する食品中の濃度を正確に把握することが必要となる。本研究成果は、1) 現在まで定量されていないリノール酸とリノレン酸の異性体を新たに合成、精製し、それらを含めた高精度脂肪酸分析法を確立した。2) 種々の食品及び母乳試料中の濃度レベルを明らかにした。3) 調理加熱時にトランス脂肪酸などが生成することを観察した。これら結果は、トランス体を含めたシス-トランス型必須脂肪酸が有する健康影響評価に資する有益な知見を提供することが可能となるものと確信される。

研究成果の概要(英文)：Until present, it was very few information of trans and cis-trans mixed type fatty acid for human healthy influence. However, to evaluate health influence, it is necessary that we understand the level of daily intake from various food. Our results as below; 1) trans and cis-trans isomer of linoleic acid and the linolenate were synthesized and identified, which were applied the highly precise analysis of their fatty acids, 2) it was clarified their level in various kinds of food and a mother's milk sample, 3) it was observed the phenomenon forming at the time of cooking heating.

It is convinced that these results become able to provide useful knowledge to evaluate of health impact having trans and cis-trans essential fatty acid isomers.

研究分野：疾病予防学、食品衛生学

キーワード：シス・トランス脂肪酸 食品汚染 健康影響 トランス脂肪酸

## 1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病の予防が世界的に叫ばれる中、先進国等を中心に食品に含まれるトランス脂肪酸の健康影響が問題視されている。事実、2004年に欧州食品安全局(EFSA)は、この脂肪酸の過剰摂取が心疾患の発症と正の相関関係を示すこと、並びに糖尿病や肝疾患等のリスク因子となることを報告している。一方、米国食品医薬品庁(FDA)もまた、EFSAと同様な健康リスクの可能性を指摘した上で、脂肪酸摂取量の測定には、AOAC(米国・分析化学公定法協会)法、または同等以上の妥当性が確認されたものを推奨している。その後、2006年に米国政府は、上記報告を受け、全ての加工食品に対してトランス脂肪酸の含有量の表示義務化を決定している。一方、我が国においても、2007年に食品安全委員会は、トランス脂肪酸に関するファクトシートを公表し、日本人の1日の総エネルギーに対する平均摂取比率は0.3~0.6%と推定し、また2008年の農林水産省の調査研究では、その1日摂取量は平均0.92~0.96gであることを報告している。しかし、上記摂取量の殆どのデータ値は、AOAC公定法等に準じた定量データにより試算されたものであり、本分析法には致命的な問題があった。すなわち、現行法に準ずれば、トランス等脂肪酸を定量する場合には、同試料中に共存する高濃度のシス体が、超微量のトランス体に対して“ピークかぶり”の現象を起こしている可能性が極めて高い。加えて、測定対象のトランス脂肪酸は、現在、市販されているエライジン酸(オレイン酸のトランス体; C18:1 9)やバクセン酸(オレイン酸のトランス体; 二重結合の位置の差異; C18:1 11)といった、非共役二重結合が全てトランス型の脂肪酸だけである。ところが、我々が日常摂取している総脂肪酸量の60%以上は、オレイン酸(35%)、リノール酸(20%)、リノレン酸(7%)の3種の必須脂肪酸で占められ、その中にはシス-トランス混合型の不飽和脂肪酸が予想以上に高濃度で含まれている可能性が高い。しかし、現在まで標準品が未市販であったことより、トランス型及びシス-トランス混合型脂肪酸の食品・食事・人体中の濃度レベル等に関する報告例は、現在まで皆無であった。

## 2. 研究の目的

研究代表者は、我々が日常的に摂取するオレイン酸(n-9系)、リノール酸(n-6系)及びリノレン酸(n-3系)の全トランス及び

シス-トランス混合型脂肪酸(以下、「トランス等脂肪酸」と略称)の新規合成を行い、それらを測定対象とした、新たな高精度分析法を構築し、人体や食品・食事等の「真」の蓄積レベルの解明を行うほか、その生成機構や生体(母乳等)試料中の蓄積性の究明を試みた。そして、上記脂肪酸のヒトに対する「真」の健康影響評価に資する基礎的知見の集積やその社会への提供を目的とした。

## 3. 研究の方法

以下の検討内容で行った。

### 検討A: 未市販の $\alpha$ -リノレン酸及び $\gamma$ -リノール酸異性体標準品の調製及び高精度分析法の構築;

現在、上記脂肪酸の標準品が未市販であることから、まず、標準品の調製に着手した。具体的には、脂肪酸メチル誘導体に対する *p*-トルエンスルフィン酸を用いたトランス化反応、シリカゲルカートリッジと銀イオンカラム装着 HPLC による粗精製、の粗精製画分に対する、銀イオンカラム(2本連結)装着のリサイクルバルブ型 HPLC による最終精製、本研究現有の高分解能 GC-MS (JEOL JMS700)、及び本学部既設の NMR (600MHz; JEOL)を用いた、精製脂肪酸の化学構造解析(同定)の順で行った。

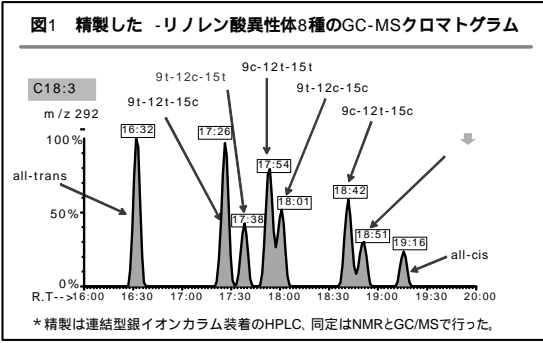
### 検討B: 種々の食品・食事並びにヒト母乳試料中のトランス等脂肪酸の定量及び評価等;

大阪府内のスーパーにて、a) 国内外の製造会社等が異なるマーガリンやショートニング等の市販硬化油、b) 国内外のチーズ、牛乳等の乳製品、c) その他、食肉及び油脂類等を大量使用している種々の加工食品を購入し、確立した高精度分析法にて分析を行った。また、d) 実際の調理過程で非意図的生成するトランス等脂肪酸定量及び誘発因子の探索を試みた。

## 4. 研究成果

### 検討A:

現在、上記脂肪酸の標準品が未市販であることから、まず、標準品の調製に着手した。図1は、8種類の  $\alpha$ -リノレン酸異性体の GC/MS クロマトグラムを示したものであるが、NMR と GC/MS の解析結果より、想定される8種類の異性体標準品の精製及び同定を達成した。同様にリノール酸4種の異性体についても精製及び同定を達成した。そこで、これら標準品を組み込んだ、炭素数 C14~22 の飽和・不飽和脂肪酸を含む高精度型脂肪酸分析法の構築も達成したことより、上記分析法を駆使して、検討Bについて精力的に研究を推進した。



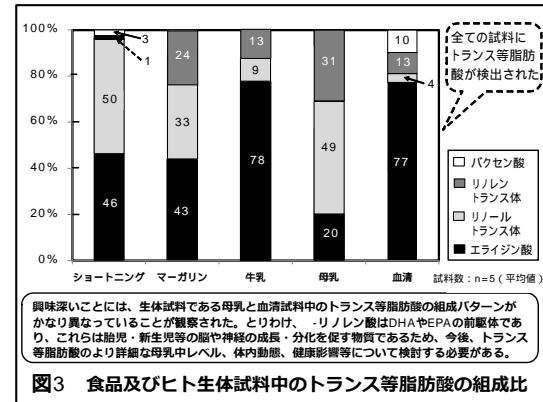
**検討B:**

**図2**は、マーガリンと母乳の両試料中のトランス脂肪酸の測定結果を示している。その結果、オールトランス体以外にも、リノール酸や  $\alpha$ -リノレン酸のシス-トランス体が検出され、とりわけ、母乳中にはこれら両脂肪酸が高濃度で検出された。

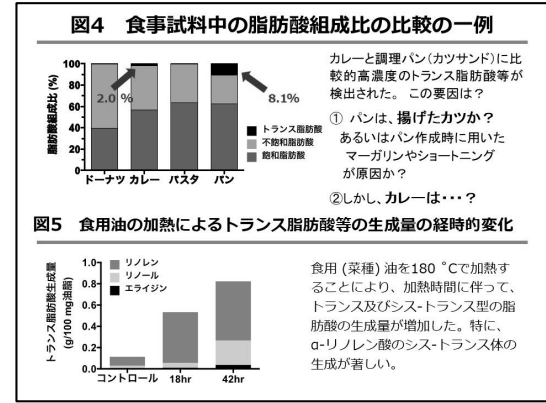
**図2 食品（マーガリン）と人体（母乳）試料中のトランス脂肪酸の定量結果の一例**

脂肪酸	マーガリン (油脂100mg, n=5)	母乳 (油脂100mg, n=5)
飽和脂肪酸	29.52	2.76
不飽和脂肪酸	42.46	6.37
エライジン酸(C18:1; trans)	0.51	0.13
パクセン酸(C18:1; trans)	0.01	ND
a) リノエライジン酸(C18:2; all-trans)	0.04	0.12
b) リノルトランス体(C18:2; c-t)	0.37	0.20
c) リノエライジン酸(C18:3; all-trans)	0.01	0.04
d) リノルトランス体(C18:3; c-t)	0.27	0.16
Total trans FA	1.21	0.65
a)+c)/総脂肪酸 (%)	0.06	1.75
b)+d)/総脂肪酸 (%)	0.89	3.95
a)+b)+c)+d)/総脂肪酸 (%)	0.95	5.70
(油脂含有量)	(81.6%)	(3.8%)

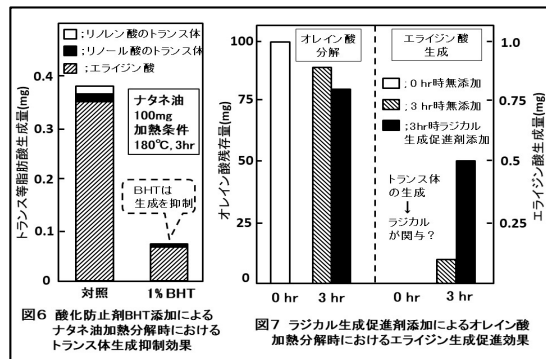
また**図3**は、食用油脂原材料（ショートニング、マーガリン）、牛乳、ヒトの生体試料（血清、母乳）中のトランス脂肪酸の組成比を比較したものである。非常に興味深いこととして、全試料中にトランス脂肪酸が検出されたこと、並びにマーガリンで高比率であったリノール酸及び  $\alpha$ -リノレン酸のシス-トランス体（両異性体の中では、C18:2は9c,12tが、C18:3は9c,12t,15tが高比率）が母乳中でも高比率で検出されたこと、更に生体試料である母乳と血清試料中のトランス脂肪酸の組成パターンがかなり異なっていることであった。



**図4**は、市販食品（ドーナツ、調理パン）と家庭で調理した食事（カレー、パスタ）試料中のトランス等脂肪酸の組成比を示している。調理パン（カツサンド）やカレー（米飯を含む）にも、高濃度のトランス型等脂肪酸が観察された。この観察結果は、食用油を用いた具材の加熱（揚げる・炒める；調理の下準備）処理により、調理中にトランス化反応が起こり、両食品中に検出されたものと研究代表者は推察した。また**図5**は、菜種油を180℃で加熱したときのトランス等脂肪酸の生成を観察したものである。その結果、経時的にシス-トランス体の著しい生成が確認されている。



加えて、食用(菜種)油100mgを小型バイアルに取り、そこにラジカル補足剤1%BHT添加し、ホットプレート上(開放系)で180℃にて1時間加熱し、上記脂肪酸の生成量を比較した(**図6**)。その結果、BHT(ブチルヒドロキシトルエン)添加ではトランス等脂肪酸の生成が抑制されていた。一方、今度は、純品のオレイン酸にラジカル反応開始剤の t-BuOOBu-t (ジ-tert-ブチルペルオキサイド)を添加し、上記と同様に加熱した結果、オレイン酸の著しい分解とエライジン酸の生成促進が観察された(**図7**)ことより、研究代表者は、通常の食品加工時や家庭での食事の調理時においても、トランス等脂肪酸が非意図的に生成しているものと確信した。



以上、本研究成果は、我が国並びに諸外国の既存データ値の根拠に大きな一石を投ずる結果となりうること、またトランス体を含めたシス-トランス型必須脂肪酸が有する健康影

響評価に資する有益な知見を提供することが可能となるものと確信される。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

中尾晃幸、前田誉、角谷秀樹、杠智博、太田壮一、加熱調理時に生成するトランス脂肪酸に関する基礎的検討;第67回日本薬学会近畿支部総会・大会(兵庫医療大学)、2017年

中尾晃幸、増地淳、角谷秀樹、杠智博、太田壮一、食品中に含まれるそのトランス型及びシス-トランス混在型脂肪酸の高精度分析法の構築;第67回日本薬学会近畿支部総会・大会(大阪薬科大学)、2016年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

太田 壮一(Ohta, Souichi)  
摂南大学・薬学部・教授  
研究者番号：10213729

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
( )