熱酸化フライ油のラット肝臓脂質過酸化に 及ぼす影響について

(昭和 55 年 8 月 13 日受理)

井 崎 や え 子* 藤 原 光 雄*

The Influence of Thermally Oxidized Frying Oil on Lipid Peroxidation in Rat Liver

Yaeko IZAKI and Mitsuo FUJIWARA

(Kyoto City Institute of Public Health: 1-2, Mibu Higashitakada-cho, Nakagyo-ku, Kyoto)

The effect of feeding rats with thermally oxidized rape seed oils (3 levels of deterioration; obtained from manufacturers of fried fish paste) on the lipid peroxidation in the rat liver was investigated. Rats were fed *ad libitum* for 42 days with diet which contained 20% sample oil.

Regardless of the control tocopherol level, groups fed thermally oxidized frying oil showed increased relative liver weight, TBA-positive substances and GSH content, in proportion to the level of deterioration of the oil, compared with the fresh oil-fed group.

These results suggest that some substances present in thermally oxidized oils act as radical generators *in vivo*.

(Received August 13, 1980)

Key words: 熱酸化フライ油 thermally oxidized frying oil; 脂質過酸化ラット肝臓 lipid peroxidation in rat liver; トコフェロールレベル tocopherol level; 比肝重量 relative liver weight; TBA 反応陽性物質質量 TBA positive substance content; グルタチオン量 glutathione content; グルタチオンパーオキシダーゼ活性 glutathione peroxidase activity; ラジカル生成物質 radical generator; ラット rat

緒 言

近年、生体内過酸化脂質が老化や各種疾病の発生要因として重視されて来ており、これに関連する研究^{1)~3)}も活発化している。生体内過酸化脂質は、生体内不飽和脂質がなんらかの radical generator の作用を受けて生成するが、ビタミン E などの radical scavenger やグルタチオンパーオキシダーゼ系で代謝処理される。この生成系と処理系にアンバランスを来たと、過酸化脂質に由来する疾病が生じると考えられている。

内山ら⁴⁾は、油脂の劣化に伴って生成するカルボニル化合物のうち、12-ケトオレイン酸には不飽和脂質に対する酸化促進作用 (pro-oxidant 作用) があり、これが体内に吸収された場合、生体内不飽和脂質の過酸化に関

与する可能性があると指摘している。また、Wantland ら⁵⁾により熱酸化油中に各種長鎖ケト不飽和脂肪酸が生成することが報告されている。これらは、熱酸化油摂取による生体内脂質過酸化促進を示唆するものとして注目すべき報告である。

熱酸化油の一般的な毒性に関しては、Nolen ら⁶⁾、Mankel⁷⁾、Poling ら⁸⁾、浦上*²⁾、Waltking ら⁹⁾の文献に総説的に紹介されており、それらによれば、有害説と無害説の二つの立場があることがわかる。一方は、実験室的にか酷な条件で熱酸化させた油脂には生体に有害な物質が生成し、これを真空蒸留法および尿素付加法¹⁰⁾、

*²⁾ 浦上智子：照射食品を他山の石として食用油脂の安全性 (使用法) を考える。(日本油化学協会 関西支部、第54回製油研究部会 資料、1974. 3.)

* 京都市衛生研究所：京都市中京区壬生東高田町 1-2

Table 1. The Quality of Sample Oils

Sample oils	Indices							
	ox. FA (%)	CoV (meq/kg)	AV	POV (meq/kg)	G. D. fr (%)	IV	P/Ap	Toc (μg/g)
Fresh rape seed oil (FI)	0	9.0	0.03	0.9	0	123.9	0.31	α, 136.5 γ, 504.5 δ, 41.2
Toc-removed fresh rape seed oil (FII)	0	3.5	0.03	1.7	0	123.9	0.74	0
Thermally oxidized rape seed oil (A)	0.95	67.2	2.81	14.4	0.99	113.6	7.15	0
" (B)	3.56	127.8	3.70	10.3	1.69	107.2	12.3	0
" (C)	7.72	157.9	12.56	6.9	4.06	106.0	16.5	0

ox. FA, oxidized fatty acid; Cov, carbonyl value; AV, acid value; POV, peroxide value; G. D. fr, glyceride dimer fraction; IV, iodine value; P/Ap, polar/apolar triglyceride ratio by TLC (at 230 nm); Toc, tocopherols content.

カラムクロマト法¹¹⁾などにより分離濃縮し実験動物に投与すると、胸腺の退縮、肝壊死、下痢、死亡などの急性毒性を示したとする報告である。これに対して、日常的に使われる油脂の加熱条件では、なんらの健康阻害も示さなかったとする見解^{6), 8), 12)}も多く報告されている。

著者らは、先に揚げ調理業者を対象に、使用フライ油の品質実態調査を西ドイツ食品法の基準値 [石油エーテル不溶性酸化脂肪酸 (ox. FA) 0.7% 以下, 酸価 (AV) 2.5 以下, 発煙点 170° 以上] を適用して実施したが、一部には ox. FA が基準値の約 10 倍に及ぶなど、劣化の著しいフライ油が使用されている事実を認めその結果を報告^{13), 14)}した。しかしながら、西ドイツにおいても ox. FA 0.7% を基準値として設定するに際しては、酸化脂肪酸の毒性の程度から直接割り出されたものではなく、むしろ臭味、外観などの品質面から決定されたようである¹⁵⁾。そこで、著者らは、通常の温度で使用され、かつ ox. FA が 0.7% 以上である 3 種の熱酸化油を、さつま揚げ製造所より入手し、ラットに投与し生体内脂質過酸化に及ぼす影響を検討したので報告する。

実験方法

1. 供試油

1.1 熱酸化油および対照新鮮油: さつま揚げ製造所より連続使用中の熱酸化油 (A, B および C) を入手した。いずれもなたね白絞油で、調理温度は 180°, 新油添加率は A および C では 1.1%/h, B では 2.0%/h であった。対照新鮮油 (FI) として、昭和産業製なたね白絞

Table 2. Composition of Diet

Basal diet ^{a)}	
Corn starch	32.3%
Milk casein	21.3%
Alpha starch	8.5%
Cellulose powder	6.8%
Granule sugar	4.3%
Vitamins ^{b)}	1.7%
Minerals ^{c)}	5.1%
Sample oil	20.0%

^{a)} Basal diet: linole salad oil eliminated from Oriental refined diet (combination B), purchased from Oriental Yeast Co. Ltd. (Tokyo)

^{b)} Vitamins (in 100 g diet): V.A, 850 IU; V.D₃, 170 IU; V.B₁, 2.0 mg; V.B₂, 6.8 mg; V.B₆, 1.4 mg; V.B₁₂, 8 μg; V.C, 51 mg; V.E, 8.5 mg; V.K, 8.8 mg; Biotin, 0.03 mg; Folic acid, 0.34 mg; Ca-pantothenate, 8.5 mg; p-Amino benzoic acid, 8.5 mg; Niacin, 10.2 mg; Inositol, 10.2 mg; Cholin-Cl, 340 mg

^{c)} Minerals (in 100 g diet): K, 377.2 mg; P, 536.0 mg; Ca, 405.1 mg; Na, 185.0 mg; Mg, 51.0 mg; Fe, 24.3 mg; Zn, 2.9 mg; Mn, 1.4 mg; Cu, 0.39 mg; I, 0.39 mg

Table 3. GSH-px Assay System

Assay mixture	Assay mixture 3 ml, containing
0.2 ml of 75 mmole/L GSH ^{a)}	15 μ mole
0.5 ml of 1.2 mmole/L NADPH $\cdot$ 4Na ^{a)}	0.6 μ mole
0.1 ml of 30 mmole/L EDTA $\cdot$ 2Na ^{a)}	3 μ mole
0.01 ml of 100 units/0.5 ml GSSG-reductase ^{a)}	2 units
1.59 ml of 75 mmole/L Potassium phosphate buffer (pH 7.0) ^{a)}	119 μ mole
0.5 ml of 100,000 g-supernatant (10~100 fold dilution)	
0.1 ml of 10 mmole/L <i>tert</i> -butyl hydroperoxide	1 μ mole

Total volume is 3 ml in silica cuvette.

The conversion of NADPH to NADP was followed by continuous recording of the change in absorbance of the system at 340 nm between 2 and 4 minutes after initiation of the reaction, employing a cuvette with a 1 cm light path.

^{a)} Premixed just before use into large fresh pools allowed more expeditious assays of multiple samples.

油を用いた。供試油は、それぞれ 20 L 容ガラス製試薬ビンに入れ、ヘッドスペースを窒素ガスで置換し低温室 (5°) に保存した。

1.2 脱トコフェロール新鮮油¹⁶⁾：カラムクロマト用中性アルミナ (Woelm, 活性度 I), 1 kg を 110°, 3 時間乾燥後, 5 cm $\times$ 1 m のガラス管に充填 (ドライカラム) し, これに新鮮なたね油 1 kg を常温, 減圧下で吸引ろ過することによって脱トコフェロール新鮮油 (FII) を調製した。

1.3 各供試油の品質：ox. FA その他各指標の測定は, 前報^{13), 14)}と同一方法で行った。ただし, TLC による極性トリグリセライド比 (P/Ap) は, 浦上ら¹⁷⁾の方法によった。また, 供試油中の各トコフェロール (Toc) 同族体の分離定量は, GC による阿部ら¹⁸⁾の方法で行った。Table 1 に供試油の品質および Toc 含量を示す。

2. 動物実験

実験 I では, Toc レベルをコントロールせずに各供試油を無脂肪基礎飼料に加えて, 20% 含油飼料を調製し, これを投与した。実験 II では新鮮油から Toc を除去し, 熱酸化油と Toc レベルを同一にした後, 実験 I と同様に 20% 含油飼料を調製し投与した。

2.1 実験動物：実験 I, II とも 4 週令の COBS-Fisher 近交系雄ラットを購入し, 1 週間予備飼育した後, 体重増加の順調なものを各群 8 匹ずつ用いた。ラットは, 一匹ずつケージに入れ温度 24 $\pm$ 1°, 相対湿度 50 $\pm$ 5%, 12 時間点灯で飼育した。水および餌は自由摂取させた。体重は 3~4 日毎に測定し, 42 日後にと殺した。

2.2 投与飼料：実験 I, II ともオリエンタル酵母 (株) 製の精製飼料 (B 配合) から脂肪分を除いたものを購入し, これに含油量が 20% になるように各供試油を添加し調製した。飼料の組成は, Table 2 に示すとおりである。含油飼料は 1 週間毎に調製し, 密閉容器に入れて低

温室に保存した。週 2 回給餌を行い餌摂取量を測定後, 残餌は捨て給餌中の自動酸化の影響を避けた。また 1 週間ごとに供試油の POV を測定し自動酸化の影響のないことを確認した。

なお, 予備飼育に用いた固型飼料 (charls river, ラット用固型飼料) および実験 II で用いた各投与飼料についてケイ光光度測定法により Se 含量を測定¹⁹⁾したところ, 固型飼料では, 0.43 ppm 含有されていたのに対し, 精製飼料 (FII, A, B, C を各 20% 含有) では 0.021~0.025 ppm のレベルであった。

3. 生化学的試験

3.1 試薬

ラウリル硫酸ナトリウム (SDS): 和光純薬工業 (株) 製, 生化学用

テトラエトキンプロパン: 東京化成工業 (株) 製, 一級品

5, 5'-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸), (DTNB): 半井化学薬品 (株) 製, SH 基定量用

フェノール試薬: 和光純薬工業 (株) 製

牛血漿アルブミン: Armour 社製

NADPH $\cdot$ 4Na: Sigma 社, type X

酸化型グルタチオン (GSSG): Sigma 社, Grade III

還元型グルタチオン (GSH): Sigma 社

グルタチオンレダクターゼ (GSSG-red): Sigma 社, type III

tert-ブチルハイドロパーオキシサイド (*tert*-butyl-OOH): 半井化学薬品 (株) 製

その他の試薬は市販特級品を用いた。

3.2 肝臓ホモジネートおよび肝ミクロゾーム分画, 肝可溶性分画の調製

投与実験開始後 42 日目のラットを軽いエーテル麻酔下に断首し, 放血後すみやかに肝臓を取り出しロ紙により

Table 4. Results of Experiment I^{a)}

Parameters	Group			
	FI	A	B	C
Weight gain (g)	132.3±23.2 ^{b)}	134.0±11.9 ^{b)}	135.6±6.7 ^{b)}	137.5±10.2 ^{b)}
Food intake (g)	453.8±43.6	473.0±21.0	491.4±20.8*	496.3±27.1*
Food efficiency	0.29±0.03	0.28±0.02	0.28±0.01	0.28±0.02
Liver wt., g per 100 g body wt.	3.80±0.14	4.06±0.13**	4.39±0.09**	4.32±0.15**
TBA-positive substance				
Masugi's method ^{c)}	0.25±0.03	0.50±0.10**	0.63±0.05**	0.82±0.13**
Glutathione content ^{d)}	1.42±0.53	2.35±0.63**	2.79±0.37**	2.83±0.71**
Glutathione peroxidase activity ^{e)}	5.77±1.62	4.23±0.27**	4.04±0.25**	3.89±0.41**

^{a)} Fresh rape seed oil (Tocopherol not removed, FI) was used for the control diet. The quality of fresh oil and thermally oxidized rape oils (A, B and C, obtained from manufacturers of fried fish paste), see Table 1. Rats were fed ad libitum for 42 days with diet which contained 20% sample oils.

^{b)} Each value is the mean±S.D. of 8 rats. ^{c)} malonaldehyde, μ moles/g liver

^{d)} μ moles/g liver ^{e)} μ moles NADPH oxidized/g liver/min

* significantly different from FI group, $P<0.05$

** significantly different from FI group, $P<0.01$

血液をぬぐった後、肝重量を測定する。肝臓 3g を精秤し、直ちに氷冷した 75 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) 27 ml を加え、アイスボックス中に保存する。ホモジネートおよび各分画の調製は Tsai ら²⁰⁾ の方法に準じ、と殺後の変化を避けるためできるだけ速やかに行った。

3.3 TBA 陽性物質の測定法

10% 肝臓ホモジネート 0.5 ml を用いて行った。実験 I では真杉ら²¹⁾の方法で、また実験 II では真杉らの方法と、内山ら²²⁾の方法で行った。

3.4 GSH 量の測定法

Ellman²³⁾ の方法を若干修正して行った。すなわち、10% ホモジネート 2 ml を、10 ml 容遠沈管に採りこれに 8% TCA 溶液 2 ml を加えよく振り混ぜた後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離する。試験管に上澄液を 2 ml 採取し、0.4 M リン酸二ナトリウム溶液 2.5 ml を加え振り混ぜた後、0.15% DTNB (1% クエン酸三ナトリウム溶液に溶かしたもの) 0.5 ml を加え振り混ぜて発色させる。2 分後に 410 nm における吸光度を測定する。

3.5 GSH-px 活性の測定法

Paglia ら²⁴⁾および Little ら²⁵⁾の方法に準じて行った。GSH と *tert*-butyl-OOH の反応で生じた GSSG を、GSSG-red で還元する際消費される NADPH 量を、340 nm における吸光度の減少により求め、GSH-px の活性を測定した。Table 3 に、assay system を示す。

3.6 GSSG-red 活性の測定法

Methods of Enzymatic Analysis²⁶⁾に記載の方法に準じて行った。

3.7 肝ミクロソームタンパク量、肝可溶性分画タンパク量の測定法

Lowry ら²⁷⁾の方法により行った。

実験結果

1. 実験 I の結果について

Table 4 に実験 I の結果をまとめて示した。熱酸化油投与群 (A, B, C 群) では、対照群 (FI 群) に比較して、体重増加量では有意差が見られなかった。餌の摂取量は、B, C 群ではむしろ FI 群よりも多い傾向がみられたが、飼料効率 (体重増加量/餌摂取量) では有意差がなかった。一方、体重 100 g あたりの肝重量は、A, B, C 群で有意に増大した。

肝臓ホモジネートについて、TBA 陽性物質生成量を真杉法を用いて測定したところ、FI 群に比し、A, B, C 群で供試油の劣化度に対応して有意に増大した。同じく、ホモジネートについて、GSH 量を測定した結果、A, B, C 群で有意に増大した。

また、生体内で脂質過酸化物を分解する酵素である GSH-px 活性を、100,000×g 上澄液 (肝可溶性分画) について測定したところ、A, B, C 群で有意に低下した。

ところで、Toc には生体内での過酸化脂質生成を抑制する作用のあることが知られているが、実験 I では供試油の Toc レベルに対する配慮はされていない。すなわち、新鮮油では、Table 1 に示したとおり、 α -Toc 136.5 μ g/g、 γ -Toc 504.5 μ g/g および δ -Toc 41.2 μ g/g を含有するのに対して、熱酸化油では Toc を全く含有しない。上記の結果が Toc 含量の相違に起因するの

Table 5. Results of Experiment II^{a)}

Parameters	Group			
	FII	A	B	C
Weight gain (g)	116.5±10.5 ^{b)}	132.9±13.1 ^{b)} **	125.8±11.7 ^{b)}	129.6±16.7 ^{b)} *
Food intake (g)	421.5±31.8	453.8±39.1	451.6±33.2*	461.4±40.1*
Liver wt., g per 100 g body wt.	3.83±0.40	4.03±0.14	4.27±0.17*	4.24±0.09*
TBA-positive substance				
Masugi's method ^{c)}	0.22±0.03	0.43±0.13**	0.48±0.08**	0.60±0.07**
Uchiyama's method ^{c)}	0.19±0.05	0.39±0.14**	0.36±0.06**	0.52±0.08**
Glutathione content ^{d)}	3.21±0.44	3.35±0.44	3.77±0.51**	3.92±0.56**
Glutathione peroxidase activity ^{e)}	5.73±1.17	6.82±1.54	5.57±0.51	5.57±1.29
Glutathione reductase activity ^{e)}	6.42±0.57	6.69±0.73	7.25±0.48**	6.88±0.30*
Microsomal protein (mg/g)	19.3±1.5	22.4±4.7	28.7±1.9**	29.8±3.2**
Liver soluble protein (mg/g)	93.9±6.3	110.0±19.1*	93.5±7.1	91.1±3.9

^{a)} Tocopherol removed fresh rape seed oil (FII) was used for control diet. The quality of FII see Table 1. Feeding conditions were equal to Experiment I. ^{b)-e)} See Table 4

* significantly different from FII group, $P < 0.05$

** significantly different from FII group, $P < 0.01$

か、それ以外の要因によるのかを確認するため、次の実験 II を実施した。

2. 実験 II の結果について

実験 II では、新鮮油と熱酸化油の Toc レベルを同一にすることを試みた。このためには、熱酸化油に各 Toc 同族体を添加し、新鮮油と同一レベルにまで強化することも考えたが、Toc 同族体の純品を多量に入手することは現状では困難であることから、逆に新鮮油中の Toc を除去することを考え、実験方法 1.2 で述べた方法で FII を調製し、これを対照とした。

Table 5 に実験 II の結果をまとめて示した。体重増加量、餌摂取量は、FII 群よりむしろ A, B, C 群の方が多い傾向を認めた。体重 100 g 当たりの肝重量は、A, B, C 群で有意に増大していた。

TBA 陽性物質量は、真杉法、内山法ともに FII 群に比し、A, B, C 群で供試油の劣化度に対応して有意に増大した。

GSH 量は、B, C 群で有意に増大した。

GSH-px 活性は、有意差が見られなかったが、GSSG-red 活性は、B, C 群で有意に上昇した。

また、ミクロゾーム分画タンパク量は、A, B, C 群で有意に増大した。肝可溶性分画のタンパク量は、A 群が若干高い値を示したが他は有意差がなかった。

考 察

生体内脂質過酸化の測定法には、共役ジエン測定法、ケイ光測定法、TBA 法等の *in vitro* の方法と、呼気中のペンタンまたはエタンの放出量から intact な生体での脂質過酸化を測定する *in vivo* の方法²⁸⁾とがある。このうち TBA 法は、操作が簡便で感度も高く、動物組織

での脂質過酸化測定に広く用いられている方法である。

生体内過酸化脂質の成因には、生体膜が密接に関連しており、その脂質二重層を形成するリン脂質は、多価不飽和脂肪酸 (PUFA) に富み、酸化的障害を受けて PUFA ラジカルを形成し、さらに酸素を吸収して過酸化ラジカルや過酸化物に移行しやすい。この膜中に生成した脂質過酸化物を、マロンアルデヒド前駆物質として TBA 反応で測定するためには、タンパク-脂質共存状態でプロトン触媒下の加熱を必要とするが、真杉ら²¹⁾は界面活性剤 (SDS) を用いて生体膜を可溶化する方法を開発した。真杉らによると、ホモジネート中に最初からマロンアルデヒドとして存在する量は極めて少ないが、プロトン存在下での加熱で、intact な PUFA はほとんど酸化分解されることなく、“きずついた” PUFA のみがマロンアルデヒドに変化して測定されるとしている。また、内山ら²²⁾も除タンパク剤としてトリクロル酢酸を用いる従来法での問題点を検討した結果、除タンパク剤を用いず、リン酸で pH 2.0 に調整して TBA 反応を行わせ、532 nm における吸光度から 520 nm における吸光度を差しひいて測定する方法を開発した。TBA 反応陽性物質量の測定には、従来法よりもこれら 2 法が信頼しうると考えられる。

ラットの正常な飼育に必要な食餌中ビタミン E (Toc) 量は 15 ppm といわれ、これに基づいてけっ歯類の飼料では通常 40 ppm 添加が推奨されている²⁹⁾。今回の実験では、*dl*- α -トコフェロールアセテートの 100 ppm 添加基礎飼料を用い、これに 20% 含油させているので、実験 I における FI 投与群を除き、A, B, C および FII 投与群での飼料中ビタミン E 含量は、いずれも 80 ppm

となる。ビタミン E は生体内での脂質過酸化の抑制作用があり、したがって実験 II では特に新鮮油および熱酸化油投与群での、飼料中 Toc 含量の同一レベル化を配慮したが、上記のとおり Toc レベルが必要量以上であるにもかかわらず、実験 I と同様、実験 II においても、熱酸化油投与群でその劣化度に対応して TBA 陽性物質質量が増大していることは、熱酸化油中のなんらかの酸化生成物が radical generator として作用し、ラット肝臓の生体膜中に PUFA ラジカルの生成が増大した事実を示している。

GSH は、動植物細胞に広く分布しており細胞膜の保護、パーオキシドの分解、放射線照射により生じたフリーラジカルの分解、また異物代謝において GSH 抱合体をつくり解毒することなど、数々の生物学的機能をもっているとされている。Wirth³⁰⁾ らは正常な成熟ラット、胎仔ラット、腫瘍移植ラットに対して、ジエチルマレート (GSH と結合して、GSH 量を可逆的に減少させる物質) を腹腔内投与して、各ラット肝臓の GSH 量の変動を調べている。それによると、正常ラットでは投与後 30 分で正常レベルの 15% にまで減少し、4 時間後から急速に回復し 6 時間で正常値に、さらに 24 時間後には正常レベルの 2 倍にまで over shooting する。担腫瘍ラット肝、胎仔ラット肝ではこうした over shooting は見られなかったとしている。今回の、著者らの実験では、実験 I, II とも熱酸化油投与群で GSH 量が有意に増大したが、これは本実験に供したラットは、担腫瘍ラットや胎仔ラットに比較すれば、むしろ正常ラットに近いと考えられ、熱酸化油含有飼料の自由摂取により、生成した PUFA ラジカルが消費した GSH が、再合成され over shooting した結果と推測される。

GSH-px 活性は、実験 I では熱酸化油投与群で低下したが、実験 II では有意差が見られなかった。投与飼料の項でも触れたが、精製飼料中には Se 化合物が配合されていないので、Se 含量は 0.021~0.025 ppm の低値であった。Hafeman ら³¹⁾の実験によると、飼料中の Se が 0.06 ppm では、正常に成長はするが GSH-px に対する必要量には不足であり、Se を 0.1 ppm レベルに添加することによって、GSH-px に対する必要量は満たされるとしており、このことから今回の実験は、低レベル Se 飼料での実験であったといえる。また、GSH-px 活性を示す酵素には、Se 含有酵素 (Se-GSH-px) と Se 不含酵素の、2 種が知られている。後者は、GSH-S-transferase B であり、Se 欠乏時には、Se-GSH-px が減少するのに対して、GSH-S-transferase B は増加するといわれている³²⁾。Se-GSH-px は、過酸化水素および有機ヒドロパーオキシドの双方を基質とするが、GSH-S-transferase B は、有機ヒドロパーオキシドのみを基質とする。今回、著者らは GSH-px の活性測定に、*tert*-Butyl-OOH を用いたが、この条

件では Se-GSH-px および GSH-S-transferase 双方の活性の和を測定したことになる。したがって、Se の必要量を配合した上で、同様な実験を行った場合に、GSH-px 活性がどのような挙動を示すか、興味を持たれるところである。

実験 II において、ミクロゾームタンパク量が、熱酸化油投与群において増大している。これは、Andia ら³³⁾ が加熱油投与により肝ミクロゾーム酵素が誘導され、薬物代謝活性が亢進し、比肝重量の増大をもたらすと述べていることと関連する可能性がある。しかしながら、真杉ら²¹⁾は *in vivo* で、薬物代謝酵素活性の誘導と TBA 値があまり相関性を持たないと述べており、結論は得られていない。

緒言でも触れたとおり、実験室的に極端な条件で熱酸化させた油脂中では、有毒成分の生成も多く、さらにこれをなんらかの方法で濃縮し、しかも大量に投与した場合に、実験動物に毒性が認められることはあっても、通常の加熱条件では有毒成分の生成は微量であり、生体に対する悪影響も認知し得ない、というのが大方の見解である。しかしながら、今回の著者らの実験の結果、揚物調理に実際に使用されている油そのものによって、生体内脂質過酸化が明らかに亢進するという事実を確認したことにより、フライ油が日常的に多用される必需食品であることとあいまって、食品衛生上、あらためてその安全性に対する見直しが必要ではないかと考える。また、TBA 陽性物質質量と各化学指標との関係から、特に ox. FA および CoV は、単に品質面のみでなく毒性面における評価指標としても、有用ではないかと考えられる。そのためには、ox. FA 0.7% 以下、または CoV 50 meq/kg 以下の品質のフライ油などについても、更に生体内脂質過酸化に対する影響の程度を検討する余地を残している。

浦上*2が、食用油脂の安全性について、放射線照射食品との対比において指摘しているように、食用油脂の使用は歴史的にはずいぶん古いのが、その安全な使用方法についての科学的な裏づけは、現在に至るも未解決であり、フライ油の熱酸化で生じるそれぞれの有毒成分は微量であっても、その種類は多く相乗作用、体組織への沈着などが明らかになっていない。照射食品と油脂食品では、歴史の長さは異なっても、いずれもフリーラジカル反応という点で共通しているので、熱酸化油の場合もさらに検討する必要がある。

謝 辞

供試用フライ油の採取に御尽力いただいた京都市衛生局環境衛生課、保健所食品衛生監視員各位、および Toc 定量にあたり貴重な標品を提供していただいたユーザイ (株) 阿部皓一氏に厚く御礼申し上げます。

また、本研究にあたり御鞭撻を賜った当所、細川 汀所長ならびに御協力いただいた山本行隆氏、吉川俊一氏

に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 八木国夫: 老年医学, **16**, 1327~1431 (1978).
- 2) 原 一郎, 島崎弘幸: 化学と工業, **32**, 151~153 (1979).
- 3) 金田尚志: 油化学, **29**, 295~300 (1980).
- 4) 内山 充, 佐藤政男: 食衛誌, **11**, 327~333 (1970).
- 5) Wantland, L. R., Perkins, E. G.: Lipids, **5**, 191~200 (1970).
- 6) Nolen, G. A., Alexander, J. C., Artman, N. R.: J. Nutr. **93**, 337~348 (1967).
- 7) Mankel, A.: Fette Seifen Anstrichm. **72**, 483~487 (1970).
- 8) Poling, C. E., Eagle, E., Rice, E. E.: Lipids, **5**, 128~136 (1970).
- 9) Walkling, A. E., Seery, W. E., Bleffert, G. W.: J. Am. Oil Chem. Soc. **52**, 96~100 (1975).
- 10) Firestone, D., Horowitz, W., Friedman, L., Shue, G. M.: *ibid.*, **38**, 253~257 (1961).
- 11) Ohfuji, T., Kaneda, T.: Lipids **8**, 353~359 (1973).
- 12) Kieckebusch, Jahr, K., Czok, G., Griem, W., Bässler, K. H., Hammer, D. C. H., Lang, K.: Fette Seifen Anstrichm. **64**, 1154~1167 (1962).
- 13) 井崎やえ子, 戸田和子, 藤原光雄: 食衛誌, **18**, 191~200 (1977).
- 14) 井崎やえ子, 吉川 俊一, 藤原 光雄: 同上, **19**, 474~481 (1978).
- 15) Mankel, A.: Fette Seifen Anstrichm. **76**, 20~25 (1974).
- 16) 梶本 五郎, 吉田 弘美, 芝原 章: 油化学, **24**, 511~517 (1975).
- 17) Urakami, C., Doi, H., Toriyama, S: 同上, **25**, 764~772 (1976).
- 18) 阿部皓一, 湧口泰昌, 勝井五一郎: 栄養と食糧, **27**, 329~334 (1974).
- 19) 日本薬学会編: “衛生試験法注解” p. 56~57; p. 423~424 (1980) 金原出版.
- 20) Tsai, A. C., Thie, G. M., Lin, C. R.-s.: J. Nutr. **107**, 310~319 (1977).
- 21) 真杉文紀, 中村哲也: ビタミン, **51**, 21~29 (1977).
- 22) Uchiyama, M., Mihara, M.: Analytical Biochemistry, **86**, 271~278 (1978).
- 23) Ellmann, G. L.: Arch. Biochem. Biophys. **82**, 70~77 (1959).
- 24) Paglia, D. E., Valentine, W. N.: J. Lab. & Clin. Med. **70**, 158~169 (1967).
- 25) Little, C., Olinescu, R., Reid, K. G., O'Brien, P. J.: J. Biol. Chem. **245**, 3632~3636 (1970).
- 26) Bergmeyer, H. U.: “Methods of Enzymatic Analysis” 2 nd English edition p. 465~466 (1974) Academic Press. Inc. New York.
- 27) Lowry, O. H., Rosebraugh, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J.: J. Biol. Chem. **193**, 265~275 (1951).
- 28) 峨峨井 勝, Tappel, A. L.: 医学のあゆみ, **106**, 681~683 (1978).
- 29) Trostler, N., Brady, P. S., Romsos, D. R., Leveille, G. A.: J. Nutr. **109**, 345~352 (1979).
- 30) Wirth, P. J., Thorgeirsson, S. S.: Cancer Res. **38**, 2861~2865 (1978).
- 31) Hafeman, D. G., Sunde, R. A., Hoekstra, W. G.: J. Nutr. **104**, 580~587 (1974).
- 32) Lawrence, R. A., Parkhill, L. K., Burk, R. F.: *ibid.*, **108**, 981~987 (1978).
- 33) Andia, A. M. G., Street, J. C.: J. Agr. Food Chem. **23**, 173~177 (1975).