

## ラットを用いた植物油脂類のビタミンE活性の比較

飯 塚 佳 恵 ・ 山 下 かなへ

Comparative Vitamin E Activity of Several Vegetable Oils in Rats

Yoshie IIZUKA and Kanae YAMASHITA

### 1. 緒 言

植物油は、紅花油に代表されるように動物油に比べてリノール酸などの多価不飽和脂肪酸を多く含むと共に、抗酸化性ビタミンの1種であるビタミンEを多く含むことはよく知られている。さらに植物油にはその植物特有の脂溶性物質が含まれていることがある。例えばゴマを圧搾して得られるゴマサラダ油には *in vitro*, *in vivo* いずれにおいても強い抗酸化性を示すセサミノールが、ゴマを煤煎、圧搾して得られる煤煎ゴマ油には *in vitro* で強い抗酸化性を示すセサモールが含まれている<sup>1)</sup>。また著者らはこれらゴマリグナン物質がトコフェロールと相乗効果を示し、特にビタミンE活性が低いとされる $\gamma$ ,  $\delta$ -トコフェロールのビタミンE活性を増強する作用を示すことをこれまでに報告してきた<sup>2, 3)</sup>。しかし他の多くの植物油ではこのような植物特有の抗酸化物質の探索が進んでおらず、植物油の *in vivo* における抗酸化性にも不明な点が多い。本研究は植物油に含まれる未知の抗酸化物質、またはトコフェロールと相乗効果を示す物質を検索することを目的として、数種の植物油をラットへ投与する実験を行なった。

### 2. 実験方法

#### 1) 植 物 油

植物油は、ビタミンEを除去したコーン油（ストリプトコーン油；エーザイ(株)より供与）、ゴマサラダ油、煤煎ゴマ油（以上、竹本油脂(株)より供与）、大豆油、なたね油、パーム油、コーン油、オリーブ油、サフラワー油（以上、味の素(株)より供与）の9種類を用いた。各植物油について40℃、空气中に放置したときの酸化率を重量法<sup>4)</sup>で経時的に測定した。

#### 2) ラット飼料の調製

各植物油を重量比で10%になるようにエーザイ E 飼料粉末（エーザイ(株)より供与）に加え、完全に混ざるまで攪拌混合して各植物油飼料を調製した。エーザイ E 飼料粉末にはトコフェロールが含まれていないため、飼料中のトコフェロールはすべて植物油に由来する。調製後飼料の組成は以下の通りである。カゼイン：18.9, DL-メチオニン：0.3, スターチ：14.2, シュクロース：23.7, グルコース：23.7, 粉末ろ紙：4.7, ミネラル

混合：3.3, ビタミン混合：1.0, コリン重石硫酸塩：0.2, 植物油：10.0 (%)。各飼料はラットに投与するまで $-30^{\circ}\text{C}$ で保存し、その間にトコフェロール同族体の濃度を HPLC 法<sup>5)</sup>により測定した。

### 3) ラットの飼育および解剖

実験動物としては3週令 Wistar 系雄ラットを1群6匹で用い、各飼料を8週間連続投与した。期間中は飼料、水共に自由摂取とした。8週間後、24時間絶食後にネブタール麻酔下で解剖し、血液、肝臓、腎臓を採取した。血液は3000rpm, 10分の遠心分離にかけて血漿を分離した。これらについて血漿中ピルビン酸キナーゼ濃度<sup>6)</sup>、ジアール酸による赤血球の溶血率<sup>7)</sup>、血漿・肝臓中のトコフェロール同族体の濃度および過酸化脂質濃度を測定した。トコフェロール濃度は飼料と同様に HPLC 法により、血漿の過酸化脂質濃度は TEP を標準とする蛍光法<sup>8)</sup>で、肝臓および腎臓の過酸化脂質濃度は TMP を標準とする比色法<sup>9)</sup>で測定した。採取後ただちに分析しない試料は、分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。

## 3. 結果および考察

### 1) 飼料のトコフェロール濃度と植物油の *in vitro* における抗酸化性

各植物油飼料のトコフェロール同族体の濃度およびビタミンE効力 ( $\alpha$ -トコフェロール当量)を表1に示した。 $\alpha$ -トコフェロールはサフラワー油飼料、なたね油飼料などに多く含まれ、ストリプトコーン油飼料、ゴマサラダ油飼料、煤煎ゴマ油飼料には含まれていなかった。 $\gamma$ -トコフェロールは大豆油飼料、コーン油飼料、なたね油飼料、ゴマサラダ油飼料、煤煎ゴマ油飼料に多く含まれていた。 $\delta$ -トコフェロールは大豆油飼料に多く含まれ、ゴマサラダ油飼料、煤煎ゴマ油飼料、パーム油飼料、コーン油飼料、サフラワー油飼料には含まれていなかった。 $\alpha$ -トコフェロールを1.0,  $\beta$ -を0.25,  $\gamma$ -を0.05,  $\delta$ -を0.001として求めるビタミンE効力はサフラワー油飼料が最も高く、 $\alpha$ -トコフェロールを含まないゴマ油2種の飼料およびトコフェロール同族体をほとんど含まないストリプトコーン油飼料は他の植物油飼料に比べて非常に低い値を示した。

各植物油の酸化率の系時的变化を図1に示した。抗酸化性ビタミンであるトコフェロールをほとんど含まないストリプトコーン油と、分解しやすい $\alpha$ -トコフェロールを多く含むサフラワー油が最も早く酸化され、以下大豆油となたね油、コーン油の順に酸化が遅くなった。多価不飽和脂肪酸より酸化されにくい一価不飽和脂肪酸を多く含むオリーブ油や飽和脂肪酸を多く含むパーム油<sup>10)</sup>はさらに酸化が遅かった。すなわち植物油の *in vitro* における抗酸化性は $\gamma$ 、 $\delta$ -トコフェロールと多価不飽和脂肪酸の含有量に依存することが明らかになった。しかし、ゴマサラダ油や煤煎ゴマ油は多価不飽和脂肪酸を含み<sup>10)</sup>、ビタミンE効力は低いにもかかわらず、酸化の速度は非常に遅かった。これは緒言で述べたゴマ油に含まれる抗酸化性リグナン物質による酸化抑制効果のためと考えられた。

### 2) 飼料投与ラットにおけるビタミンE欠乏状態

各飼料群のラットの平均体重の系時的变化を図2に示した。オリーブ油飼料群がやや低い値を示したが有意な差ではなく、すべてほぼ同一の成長を示した。いずれの群でも外見

ラットを用いた植物油脂類のビタミンE活性の比較

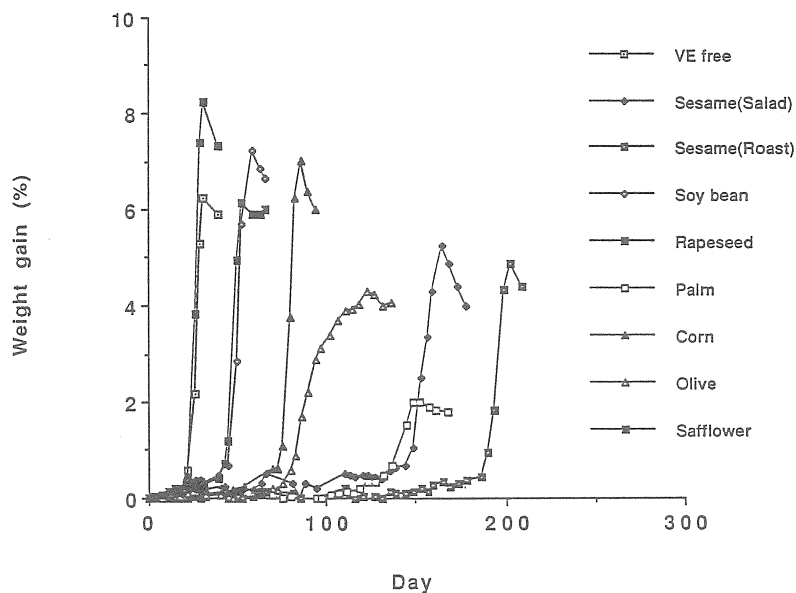


図1 植物油の40℃における酸化率

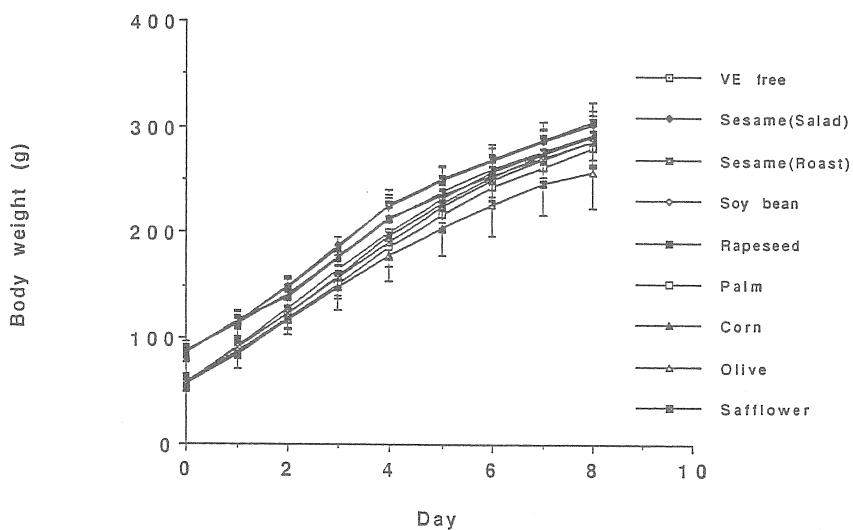


図2 植物油飼料飼育ラットの体重変化

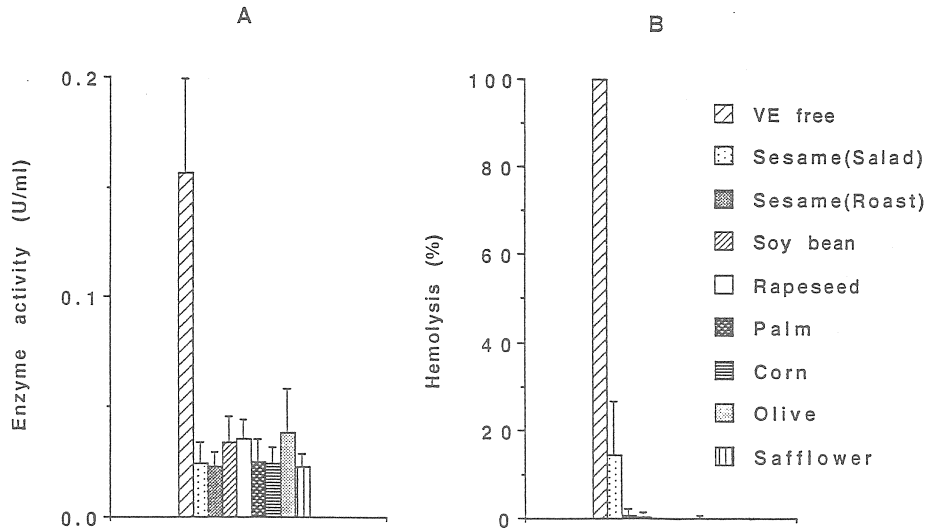


図3 血漿ビルビン酸キナーゼ活性・溶血率  
A: ビルビン酸キナーゼ B: 溶血率

上の異常は認められなかった。

生体内のビタミンE欠乏の指標として血漿中のビルビン酸キナーゼ活性を測定し、図3-Aに示した。トコフェロールを含まないストリプトコーン油飼料群のみが高く検出され、ビタミンE欠乏状態であることが示された。他の群はいずれも低い値であったが、特にゴマ油2種の群は、ビタミンE効力が高い $\alpha$ -トコフェロールを多く含むサフラワー油と同程度に低く、ゴマサラダ油や煤煎ゴマ油の抗酸化性リグナン物質と $\gamma$ -トコフェロールとの相乗効果が現われたと考えられた。

さらに別のビタミンE欠乏の指標である赤血球の溶血率についても、図3-Bに示した。これもストリプトコーン油飼料群のみが高く、ビタミンE欠乏状態であることを示した。しかしビルビン酸キナーゼの結果とは異なり、ゴマサラダ油飼料群は有意な差ではないがやや溶血の傾向を示した。この原因については今後検討の必要がある。他の群ではいずれも溶血はほとんど起こらず、ビタミンE欠乏状態ではないと考えられた。

### 3) 血漿・肝臓中のトコフェロール同族体濃度

血漿中の $\alpha$ 、 $\gamma$ -トコフェロール濃度を図4に示した。 $\delta$ -トコフェロールはすべての群で検出されなかった。血漿中の $\alpha$ -トコフェロール濃度は表1の飼料中 $\alpha$ -トコフェロール濃度と相関していたが、 $\gamma$ -トコフェロール濃度は、飼料中 $\gamma$ -トコフェロール濃度とは相関せず、ゴマサラダ油飼料群と煤煎ゴマ油飼料群において飼料中トコフェロール濃度に比して高く検出された。特に表1に示したように大豆油飼料中には煤煎ゴマ油飼料の約3倍もの $\gamma$ -トコフェロールが含まれていたが、大豆油飼料群ではほとんど $\gamma$ -トコフェ

ラットを用いた植物油脂類のビタミンE活性の比較

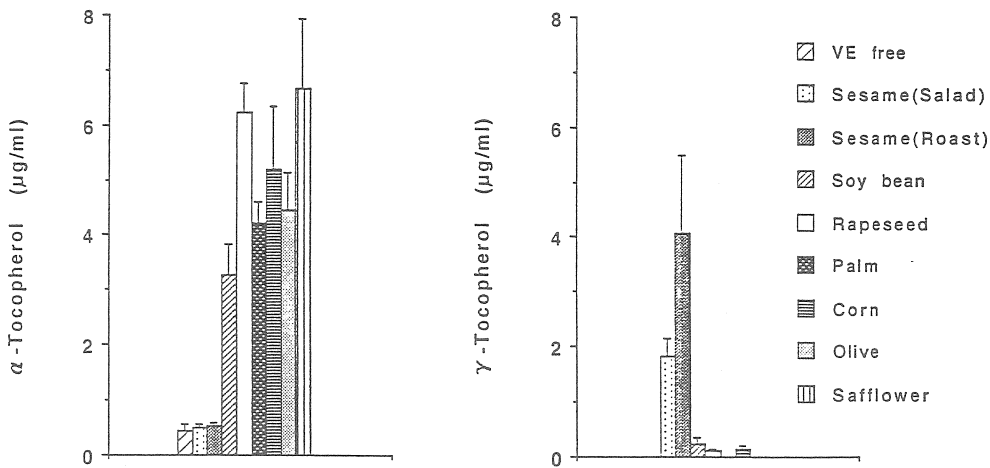


図4 血漿トコフェロール濃度

表1 植物油飼料のトコフェロール濃度

飼 料	α-トコフェロール (mg/kg diet)	γ-トコフェロール (mg/kg)	δ-トコフェロール (mg/kg)	ビタミンE効力 (mg/kg)
ストリプトコーン油	0	2. 2 6	0. 6 1	0. 1 2
ゴマサラダ油	0	3 7. 4 0	0	1. 8 7
煤煎ゴマ油	0	2 4. 7 5	0	1. 2 4
大豆油	1 1. 3 7	7 0. 5 3	2 4. 1 3	1 5. 1 4
なたね油	2 4. 1 1	4 1. 7 1	3. 8 2	2 6. 2 3
パーム油	1 5. 6 0	0. 7 4	0	1 5. 6 4
コーン油	1 6. 6 3	5 8. 1 7	0	1 9. 5 4
オリーブ油	1 5. 5 3	5. 3 9	1. 1 9	1 5. 8 1
サフラワー油	4 5. 6 0	0. 6 9	0	4 5. 6 3

ロールは検出されず、煤煎ゴマ油飼料では多量のγ-トコフェロールが検出された。図5に示した肝臓中のα, γ-トコフェロール濃度も、血漿中トコフェロール濃度と同様の傾向を示した。これらはγ-トコフェロールとゴマリグナン物質を同時投与した際にも見られた現象であり、体内γ-トコフェロール濃度に対するゴマ油中のリグナン物質の効果と考えられた。他の群ではこのような現象が見られなかったので、ゴマ油以外の植物油には体内γ-トコフェロール濃度を高く保つ物質は含まれていないと考えられた。

#### 4) 血漿・肝臓中の過酸化脂質濃度

血漿中および肝臓中の過酸化脂質濃度を図6に示した。いずれも同じ傾向を示し、トコフェロールをほとんど含まないストリプトコーン油飼料群のみが高く検出され、生体内で

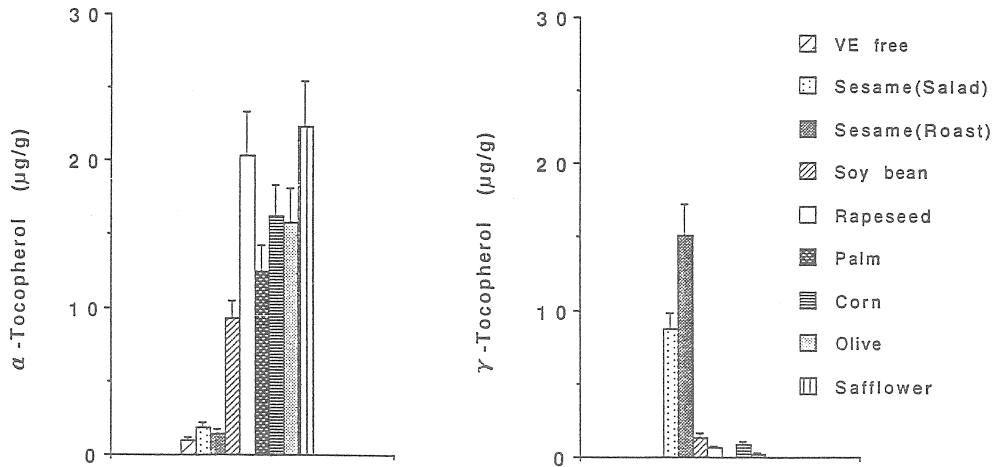


図5 肝臓トコフェロール濃度

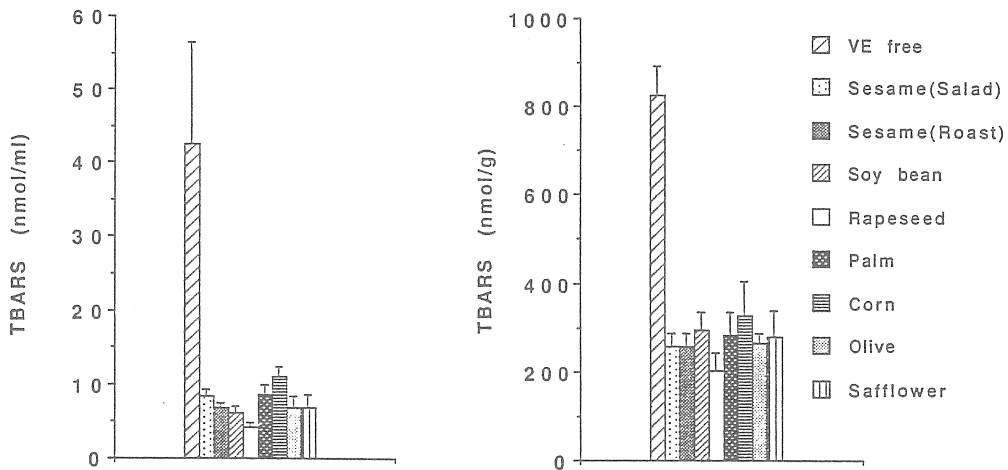


図6 血漿・肝臓過酸化脂質濃度

脂質の過酸化反応が進行していることが推測された。また $\alpha$ -トコフェロールや $\gamma$ -トコフェロールを多く含むなたね油飼料群は低い値を示した。しかし $\alpha$ -トコフェロールが血漿、肝臓でほとんど検出されなかったゴマ油2種の飼料群も他の植物油飼料群と同程度に低くなった。これより過酸化脂質濃度は生体内 $\alpha$ -トコフェロール濃度に依存するだけでなく、ゴマの場合のように $\gamma$ -トコフェロールも過酸化脂質生成を抑制していると考えられる。またゴマリグナン物質のような植物油含有物質の生体内酸化の直接的抑制も考えられる。

#### 4. 要 約

植物油に含まれる未知の抗酸化物質およびトコフェロールと相乗効果を示す物質の検索を目的として、数種の植物油を重量比で10%添加し、植物油に由来するトコフェロールのみを含む飼料のラットへの投与実験を行なった。

飼料投与ラットの血漿および肝臓中の $\alpha$ -トコフェロール濃度は、飼料中の $\alpha$ -トコフェロール濃度と相関し、 $\alpha$ -トコフェロールを多く含むサフラワー油飼料群などで高く検出された。これに対して血漿、肝臓中の $\gamma$ -トコフェロールは、特にゴマサラダ油飼料群と煤煎ゴマ油飼料群のゴマ油2種で高く検出された。この原因として、ゴマ油に含まれるゴマリグナン物質が体内 $\gamma$ -トコフェロール濃度を高く保ち、 $\gamma$ -トコフェロールのビタミンE効力を増強する相乗効果が考えられた。

さらにこの相乗効果によりゴマサラダ油飼料群、煤煎ゴマ油飼料群において、血漿、肝臓中の $\alpha$ -トコフェロール濃度は低いにも関わらず、ビルビン酸キナーゼ活性、溶血率、血漿および肝臓中の過酸化脂質濃度が低くなった。

しかしながら以上のようなトコフェロールとの相乗効果は、本実験においてはゴマサラダ油飼料群と煤煎ゴマ油飼料群においてのみ認められ、ゴマ油の特殊性が明らかになっただけであり、他の植物油には抗酸化性やトコフェロールとの相乗効果を示す物質の存在は認められなかった。ただし本実験では表1に示したように、ゴマ油2種以外の植物油飼料のビタミンE効力が15mg/kg diet以上であり、恒常的にビタミンE欠乏状態になる濃度を超えている。このため完全なビタミンE欠乏状態において初めてその機能が発揮される微量の物質の存在は否定できない。

よって今後は、未実験の植物油についても同様の実験を行なうとともに、飼料に添加する植物油の比率を減らした飼料の投与実験も行なう予定である。

#### 文 献

- 1) 福田靖子：日食工誌，35，484（1990）
- 2) K. Yamashita, Y. Nohara, K. Katayama and M. Namiki: *J. Nutr.*, 122, 2440 (1992)
- 3) 飯塚佳恵，山下かなへ，大澤俊彦，並木満夫：日農化誌，68，410（1994）
- 4) 福田靖子：調理科学，20，9（1987）
- 5) T. Ueda and O. Igarashi: *J. Micronutr. Anal.*, 3, 185 (1987)
- 6) I. Gutmann and E. Berut: *Methods of Enzymatic Analysis* (H. U. Bergmeyer ed.), Vol. 2, Academic Press, NY, pp. 774 (1974)
- 7) M. Mino, M. Kitagawa and S. Nakagawa: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 27, 199 (1981)
- 8) K. Yagi: *Biochem. Med.*, 15, 212 (1976)
- 9) H. Ohkawa, N. Ohishi and K. Yagi: *Anal. Biochem.*, 95, 351 (1979)
- 10) 科学技術庁資源調査会編：日本食品脂溶性成分表（脂肪酸・コレステロール・ビタミンE），医歯薬出版（1989）