

氏 名	Pemadasa Thanthri Gamage ペマダサ サンフリ ガマゲ
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 188 号
学位授与の日付	昭 和 49 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学位論文題目	Toxic Effects of Autoxidized Lipids on Biological Systems (自動酸化油の生体系に対する毒性効果)

論文調査委員 (主 査) 教授 松下雪郎 教授 秦 忠夫 教授 千葉英雄

論 文 内 容 の 要 旨

油脂を空気中に放置すると酸化が起こる。これがいわゆる自動酸化で、油脂の酸化が進むと不快臭が生ずるとともに、生体に対して毒性を示すようになる。自動酸化は油脂の構成成分である不飽和脂肪酸に起こるのであるが、まず不飽和脂肪酸のヒドロペルオキシド (HP) が生じ、それがさらに分解して二次生成物 (SP) となる。SP はアルデヒドを主成分とする混合物である。これらの化合物のうち、いずれが毒性を示すのか、またその機構はどうかという点については、不明の点が多い。本論文は、リノール酸を材料とし、HP を分画精製し、SP とともに *E. coli* の生育、酵素タンパク質に対する影響などについて検討し、それらの研究成果をまとめたものである。

(1) *E. coli* の培養中に HP ならびに SP を加えると、いずれも生育を阻害した。しかし、HP の添加に際して抗酸化剤を共存させると、阻害の程度が軽減され、酸化促進剤であるアスコルビン酸を共存させると阻害が増強されることを知った。SP の添加の場合、生育初期では阻害がみられたが、増殖期に添加した場合には阻害効果が認められなかった。なお ^{14}C でラベルした HP と SP を用いて菌体への取込みを調べ、前者が比較的細胞膜に、後者が細胞質内に取込まれやすいことを観察した。

(2) 次いでそのような生育阻害は主として酵素タンパク質との反応によるであろうとの考えの下に、酵素として、リボヌクレアーゼ、トリプシン、ペプシンを用い、それら酵素活性に対する影響を検討している。リボヌクレアーゼは HP の添加により顕著に失活し、抗酸化剤の共存によりその程度が軽減され、アスコルビン酸の添加により失活の程度が増大した。これに反し、SP はほとんど活性に影響を及ぼさないことを知った。トリプシンは、逆に SP によって失活し、HP の影響は受けないことを示した。なお SP の効果は抗酸化剤やアスコルビン酸の共存により影響されなかった。ペプシンは SP の添加により活性増大がみられた。このようにタンパク質は種類によって、HP の影響を受けるものもあるし、SP の影響を受けるものもある。これはタンパク質側の構造の相異に基づくものと考えている。なお ^{14}C ラベルの HP, SP のタンパク質への取込みを調べ、またアミノ酸分析の結果、特定アミノ酸残基に損傷の起こ

っていることを認めた。

(3) なお酵素の失活に際しては、タンパク質の重合が起こっている可能性があるとして、セファデックスカラムクロマトグラフィーとディスク電気泳動により分析した結果、HP の場合は二量体、三量体が見い出され、SP の場合は少量の重合体が生ずるが、むしろシッフ塩基形成に基づく蛍光の発現が顕著であることを明らかにした。

以上のように、HP、SP とともに生体系に対し毒性を示すが、その機構としては、HP の場合は分解に際して生ずるラジカルとタンパク質との反応が、SP の場合は含まれるアルデヒドとタンパク質のリジンのアミノ基とのシッフ塩基の形成が主なものであることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

油脂の酸化ならびにその毒性の問題は、加工食品の増加につれて重要視されるようになってきた。そのため、油脂の酸化生成物の毒性についても研究が増えつつあるが、多くは酸化油脂をそのまま用いた実験である。しかしながら、酸化油脂はあまりにも複雑な混合物である。酸化の第1段階として生ずるヒドロペルオキシド (HP) と、その分解物であるアルデヒドを主成分とする二次生成物 (SP) は化学的には全く異なるものである。

本研究は、酸化したリノール酸を分画精製し、HP と SP とに分け、それぞれについての生体系に対する影響を調べたものである。

まず HP については、*E. coli* の増殖中に添加すると完全に生育阻害があり、その効果は抗酸化剤の添加で軽減され、アスコルビン酸の添加で増強されることを示した。次いでリボヌクレアーゼが HP の添加により失活すること、また抗酸化剤、アスコルビン酸のそれぞれの添加により、軽減、増強がみられることを示した。また失活に際して、リボヌクレアーゼが重合し、一部にはアミノ酸の損傷が起こることを明らかにした。これらの結果から、HP は分解に際して生ずるラジカルによって生体に対して作用するものであるとした。

一方、SP は、*E. coli* の生育に対し、初期より添加した場合は阻害が認められるが、増殖期に添加したのではその影響が顕著でないとしている。またリボヌクレアーゼに対しては影響を及ぼさないが、トリプシンに対しては強度に失活させる力があり、この効果は、抗酸化剤やアスコルビン酸の影響を全く受けないことを示した。なおリボヌクレアーゼに対して SP を加えると重合よりむしろシッフ塩基形成に基づく蛍光を生ずることを明らかにしている。これらのことから、SP の生体に対する影響は、SP に含まれるアルデヒドが、タンパク質中のリジンのアミノ基に結合し、生体反応を妨害することによるとした。

このように、HP と SP はタンパク質構造の相異により、影響する酵素を異にし、さらにその機構がそれぞれ、ラジカル反応、シッフ塩基形成によるものであることを明確にしたのであって、食品の変敗、毒性の問題に関し、貴重な新知見を加えたものであり、食品化学ならびに食品衛生学に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。