

不飽和脂質の酸化と防止

幡手 英雄*¹

Oxidation of Unsaturated Lipid and Its Prevention

Hideo Hatate

There is increasing evidence that polyunsaturated fatty acids (PUFA) such as eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids can reduce mortality from ischemic heart disease. Thus, a supplement of fishery diet enriched in the PUFA is supposed to maintain or promote health. However, the PUFA is well known to be susceptible to oxidation during food processing and storage, *via* a free radical chain reaction, and the resulting oxidized products bring about food deterioration. These oxidation also proceed *in vivo*, and cause toxicity to biological systems. Therefore, lipid oxidation is now recognized to be a critically important reaction in physiological and toxicological processes as well as in food products. This paper reviews overall of the problems concerning lipid oxidation, such as lipid oxidation mechanism, measurement, and prevention.

1 はじめに

脂質は水にとけず、エーテルやクロロホルムなどの有機溶媒に溶ける成分であり、その化学構造や生体における機能を異にしている。生体中における脂質の機能は、生命維持のための生体膜の形成、カロリー源、体温保持のための絶縁作用および外部からの物理的な傷害に対するクッションなどである。また、遊泳中における浮上作用なども魚類にとっては脂質の重要な役割である。

脂質は生命体にとって不可欠な成分であるが、陸上動物と魚類ではいくつかの点で異なっている。最も大きな違いは脂質構成成分である高度不飽和脂肪酸 (PUFA) の組成比であり、陸上動物にわずかしかな存在しないPUFAが魚類

には多量に含まれている^{1,2)}。この相違により水産物が健康食品として再評価されるようになった。しかし、その有効性についての認識が高まってきたのは1970年代である。魚食中心のエスキモーや日本人において血栓症の疾病が畜肉食中心の欧米人に比べて著しく少ないことから研究が発展し、現在のようにエイコサペンタエン酸^a (EPA, 20:5n-3^b) やドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6n-3) の生体への有効性が明らかにされている^{3,4)}。そのためEPAやDHAを含む製品は健康食品として販売され、高純度のEPAは医薬品として認可されるまでになった。しかし、PUFAは分子内に多数の二重結合をもっている。そのためにPUFAは酸素と反応して容易に酸化され、食品に対しては品質劣化を、生体には毒性を発現することが多数報告されている。このよ

水産大学校研究業績 第1546号, 1996年3月18日受付。

Contribution from National Fisheries University, No.1546. Received Mar.18, 1996.

*1 水産大学校製造学科食品化学講座 (Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

うに、脂質酸化は食品加工・保蔵だけでなく生体にとっても重要な問題である。

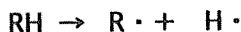
本稿では、主として水産物脂質を特徴づけているPUFAの酸化機構およびその酸化生成物による品質劣化やその防止法を概観する。あわせて、脂質酸化測定法の問題点、脂質酸化生成物が生体に及ぼす影響などについて筆者らの研究結果と関連させて検討する。

- a : IUPACでイコサペンタエン酸 (IPA) が推奨されているが、本稿では慣用名であるエイコサペンタエン酸を用いた。
 b : 20 : 5n-3 は炭素数が20個、二重結合数が5個、末端メチル基から数えて3番目の炭素に最初の二重結合があることを意味している。

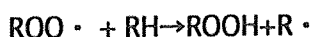
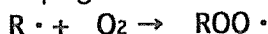
2 PUFAの酸化

不飽和脂質が空気中の酸素分子により自動酸化されることはよく知られており、その主体であるPUFAの酸化機構は次のように説明されている (Fig.1)。

Initiation



Propagation



Termination

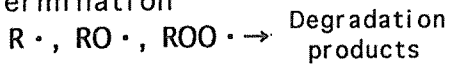


Fig.1. Autoxidation of polyunsaturated fatty acid.

RH : Polyunsaturated fatty acid, \cdot : Free radical.

PUFAの自動酸化は、PUFAにおけるラジカルの生成によって開始される。しかし、PUFAの最初のラジカル生成機序については必ずしも明らかでなく、遷移金属 (鉄、銅など) と酸素との反応^{5,6)}や、光や放射線の作用により生じたフリーラジカルなどによるPUFAからの活性水素の引き抜きによるものと考えられている (酸化開始)⁷⁾。過酸化

物が蓄積されるにつれてラジカル連鎖反応が進行し、急激に過酸化物が増加する (酸化成長)。その後、生成された過酸化物は分解や重合をくりかえし、低分子量のアルコールやカルボニル化合物および高分子の重合物を生成して脂質酸化反応を停止する (停止反応)。

不飽和脂質の自動酸化反応は一般にこのような過程で進行するものと考えられている。しかしながら、自動酸化初期においても脂質酸化の最終産物と考えられている脂質重合物が形成されることが指摘されている⁸⁾。食品や生体系の脂質成分が多様なPUFA組成をしていること、PUFAの存在状態やその不飽和度で自動酸化速度が異なること^{9,10)}などを考慮すると、実際の食品中におけるPUFAの自動酸化生成物は予想以上に複雑な過程で形成されていると思われる。すなわち、加工や貯蔵中に自動酸化の進行した食品では、酸化脂質成分として量的な差はあるが、過酸化物やカルボニル化合物などの各種酸化生成物が混在していることが推察される。

このような自動酸化のほかに酸化酵素によってもPUFAは酸化される¹¹⁾。細胞膜を形成するリン脂質の構成脂肪酸であるEPAやアラキドン酸 (20 : 4n-6) などのPUFAは、化学的または物理的な刺激により遊離し^{12,13)}、生体における酸化酵素シクロオキシゲナーゼによりエンドペルオキシドを形成し、さらに各種酵素によりプロスタグランジンに変換される¹⁴⁾。プロスタグランジン類の生体における強力な生理活性機能が明らかにされている現在、このシクロオキシゲナーゼによる生体内酸化は、PUFAの生理活性機能を論じる場合には極めて重要な反応である。しかし、その生成量がわずかであるから^{14,15)}、この酸化反応は前述した自動酸化に比べて水産物の加工や貯蔵中に進行する品質劣化への関与は低いものと考えられる。なお、プロスタグランジン様化合物がPUFAの自動酸化によっても生成されることが最近報告されている¹⁶⁻²⁰⁾。

一方、魚皮や血合肉に存在するリポオキシゲナーゼ^{21,22)}は、低温貯蔵中における血合肉脂質の酸化悪変を、また、魚皮においては、PUFAの酸化にともなう同伴酸化によって赤色素 (アスタキサンチン、ツナキサンチン) を酸化退色させるなど、水産物の低温貯蔵中に発生する品質劣化に関与している。以上のように水産物脂質の酸化には、自動酸化と酸化酵素の関与する酸化に大別される。

3 脂質劣化の評価

PUFAを多量に含む水産物脂質はもちろんのこと、リノー

ル酸やリノレン酸を含む植物油や獣肉脂も加工・貯蔵中に酸化される^{23,24}。これらの脂質劣化程度は官能により評価されるだけでなく、各種の化学的、物理的手法で測定されている²⁵⁻²⁷。

PUFAから生成される酸化生成物は自動酸化過程により異なっている。初期酸化生成物であるヒドロペルオキシド (ROOH)、その分解により発生する各種ラジカル (R·, RO·, ROO·), 停止期の水酸基やカルボニル基を含む分解生成物や重合体などが、食品劣化や毒性の指摘されている主要な有害物質である²⁸⁻³⁰。食品の品質や安全性を保証するためには、これらの酸化生成物を定量して脂質劣化程度を評価することが必要である。しかしながら、すべての酸化生成物を同時に評価できる方法はなく、得られた測定値が脂質劣化度を必ずしも正確に反映しているとはいえない。たとえば脂質劣化を評価するうえで最も汎用されている過酸化価 (POV) は初期酸化物であるヒドロペルオキシドの生成量を示しているにすぎない。

最近、分析機器の進歩によりNMRや蛍光分析法による測定などが試みられており^{29,31-34}、既往の方法では検出できなかった脂質劣化が評価されつつある。しかしながら、分析機器が高価なこと、検出感度がやや劣ること、あるいは実験応用例が少ないことなどの点で、一般に広く普及するにはもう少しばかり時間がかかりそうである。現時点では既往の方法を利用するしかなく、その際にはいくつかの方法を併用して脂質劣化度を判定するべきである。

筆者ら^{35,36}はオレイン酸メチル (18:1n-9)、リノール酸メチル (18:2n-6) およびリノレン酸メチル (18:3n-3) を40°Cで攪拌しながら自動酸化させ、それぞれの酸化進行

度をPOVで測定した。さらに、異なる酸化段階で形成された酸化生成物の形成量 (%) をゲルろ過クロマトグラフィー³⁷で調べた。その結果を Fig.2 および Table 1. に示してある。

Fig.2 に示すように酸化進行度を経日的に測定すれば、POVの増減を明瞭に観察でき、脂質劣化の進行とその酸化生成物の種類をある程度予想できる。しかし、実際の食品の脂質劣化の程度を測る際には、ある特定の時期にPOVを測定する機会が多い。ここで見られるようにオレイン酸のようなモノエン酸はPOVの増減が緩やかである。しかし、

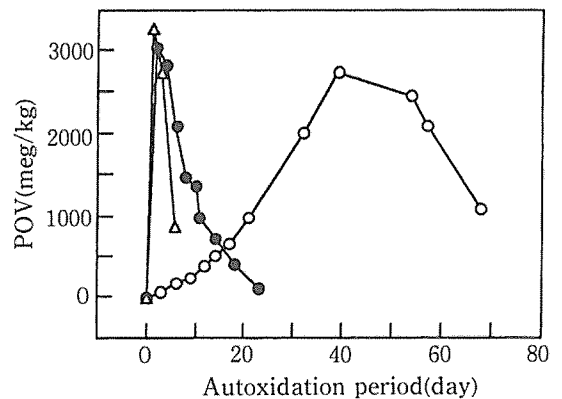


Fig.2. Change in peroxide value (POV) of C18 unsaturated fatty acid methyl esters autoxidized at 40°C in the dark.
○ Methyl oleate, ● Methyl linoleate, △ Methyl linolenate.

Table 1. Oxidation of C18 unsaturated fatty acid methyl esters and their oxidized products*

Fatty acid methyl esters	Oxidation period* (day)	POV* (meq/kg)	Oxidized products**		
			Polymers (%)	Monomers (%)	Degradation products (%)
Methyl oleate (18:1 n-9)	45	3078	13.7	61.3	24.7
	57	2091	16.6	52.5	30.9
	68	1086	18.9	48.0	33.1
Methyl linoleate (18:2 n-6)	3	3066	29.2	54.2	16.6
	7	1151	34.8	25.2	40.0
	23	199	40.6	17.3	42.1
Methyl linolenate (18:3 n-3)	1	3250	9.1	60.2	30.7
	3	2728	36.8	35.8	28.2
	6	876	52.5	23.2	24.3

*Refer to Fig. 2.

**Oxidized fatty acid methyl ester was separated into polymers, monomers, and degradation products by Sephadex LH-20 gel chromatography.

リノール酸やリノレン酸のようなPUFAは、自動酸化されるとPOVが急激に上昇し、その後ヒドロペルオキシドの分解により激減する。このようなPUFAを多く含む食品においてはPOVが低くてもヒドロペルオキシド基を含まない重合体や分解生成物が形成されて脂質劣化が進行している可能性がある。事実、Table 1. に示したように、リノール酸ではPOVが最高値から低下するにつれて重合体や分解生成物の生成量は著しく増加し、予想以上に脂質劣化が進んでいた。

品質管理が進んでいる現在では、実際の食品中の脂質が通常の取り扱いでこのように酸化されることはない。しかし、水産物脂質に多いEPAやDHAはリノール酸やリノレン酸以上に自動酸化されやすく、水産物においては特に、POVのみで脂質劣化度を安易に判定することは危険である。

4 マガキの脂質酸化とその防止

魚類の脂質劣化の実態やその防止法については、多数の参考書で紹介されている。ここでは、魚類の脂質劣化についてはあまり触れないこととし、筆者らが研究したマガキの低温貯蔵中の脂質劣化とその防止法を概説する。

カキの漁期は冬季の3、4か月に限られており、周年にわたって利用するためには長期間貯蔵しておく必要がある。しかし、カキには多量のPUFAが含まれているために、貯蔵中に脂質劣化しやすく、品質を著しく低下する。筆者らはマガキの脂質劣化とその有効な防止法を、抗酸化剤を使用しないで貯蔵した場合と添加した場合について検討した³⁸⁻⁴⁰⁾。まず、抗酸化剤を使用しない低温貯蔵について説明したい。以下の実験では均一な試料を得るためにマガキむ

き身をミンチにしたマガキホモジネートを用いた。マガキの脂質酸化の進行度はチオバルビツール酸(TBA)法⁴¹⁾で測定した。TBA法⁴²⁻⁴⁴⁾はPUFAの酸化分解によって生成するカルボニル化合物(主にマロンアルデヒド)を高感度に定量する方法で、対象試料の脂質劣化度を脂質成分を抽出することなくそのままの状態でも測定できる。

Fig. 3にマガキホモジネートをガラス容器に均一に広げ、ふたをして4、0、-15および-25℃に貯蔵した際の脂質酸化の進行度を示している。-15および-25℃で凍結貯蔵した場合、脂質酸化は4および0℃に比べてかなり抑制されたが、貯蔵期間が長くなるのにつれて漸増した。

マガキ脂質の脂肪酸組成をTable 2. に示してある。いずれの脂質成分でも全脂肪酸の約50%が不飽和脂肪酸であり、そのうち60%以上が生理活性をもつ反面、自動酸化されやすいアラキドン酸、EPAおよびDHAのようなPUFAである。

Fig.3 ですみやかに脂質酸化した4℃貯蔵したマガキホモジネートにおける脂肪酸の組成変化を調べたところ、前記のPUFAが著しく減少しており、酸化されたことがわかった。また、-15および-25℃で長期間貯蔵したマガキホモジネートも、酸化進行度に応じて同様なPUFAの減少傾向が認められ、マガキの低温貯蔵中の脂質劣化がPUFAの酸化によることが示唆された³⁸⁾。このことは低温貯蔵はそれなりに有効であるが、それだけでは脂質酸化を完全には防止できないことを意味している。そこで、断面積の異なる

Table 2. Fatty acid composition of total lipid (TL), neutral lipid (NL), free fatty acid (FFA), and phospholipid (PL) expressed as weight percent in oyster

Fatty acid	TL	NL	FFA	PL
14:0	3.3	4.8	3.9	1.9
16:0	24.5	21.5	26.7	25.5
16:1	2.8	4.1	3.9	1.3
17:0	1.7	1.3	1.9	1.6
18:0	3.9	2.5	5.6	4.6
18:1	7.5	9.2	11.0	5.0
18:2	1.7	2.4	2.1	0.7
18:3+20:0	2.0	3.2	2.5	1.4
20:1	4.0	7.1	4.2	1.8
18:4+20:2	5.5	2.5	7.7	6.8
20:4	1.8	1.5	1.3	2.3
20:5	14.6	17.6	11.3	13.8
22:2	3.4	1.0	1.5	5.3
22:6	15.1	13.6	9.1	19.2
Others	8.1	7.4	7.3	8.8

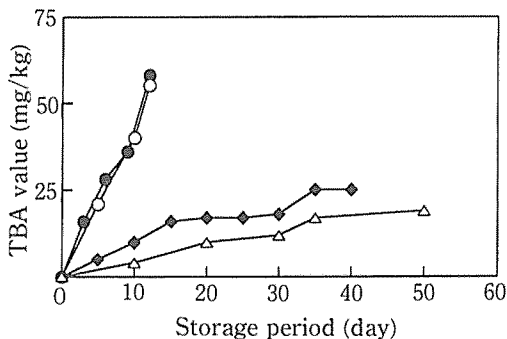


Fig.3. Lipid oxidation in oyster homogenates during storage at different temperatures.

● 4℃, ○ 0℃, ◆ -15℃,
△ -25℃.

容器あるいは窒素ガスを充填した状態でマガキホモジネートを保存し、脂質酸化の進行度の変化を調べた。その結果、空気（酸素）との接触面積を制限した断面積の小さい容器に入れた試料ほど、また、窒素充填した試料ほど脂質酸化が抑制された。脱酸素状態で、 -15°C 以下に貯蔵すれば、脂質酸化をほぼ完全に防止でき、マガキの脂質劣化が空気中の酸素によるPUFAの自動酸化に起因することが判明した。

魚肉の低温貯蔵中には脂質分解酵素、殊にホスホオリパーゼによる膜構成リン脂質の加水分解が進行することが知られている^{45,46}。これは脂質酸化に関連がないように思えるが、遊離した脂肪酸は加水分解前のリン脂質の状態よりも自動酸化されやすく、品質劣化の原因となる。同様の脂質加水分解がマガキホモジネートにも認められたが、 -25°C 以下に貯蔵するとリン脂質の加水分解は長期間（数か月）防止できた³⁸。

以上の結果はマガキホモジネートを用いて行った実験であり、マガキむき身そのものやマガキ以外の貝類とは多少異なっているものと思われる。しかしながら、低温貯蔵中に進行する脂質の酸化や酵素による加水分解を長期間防止するには、アイスグレースや脱酸素剤等により酸素との接触をたち、 -25°C 以下に凍結保存すれば、魚肉と同じように貝類の脂質劣化を効果的に防止できるものと考えられる。

次に抗酸化剤の添加効果について検討した。水産物の低温貯蔵中に窒素置換などをすれば脂質酸化を効果的に防止できるが、抗酸化剤を併用すればその効果は当然増強されるものと思われる。また、貝類にかぎらず組織の柔らかい水産物では凍結・解凍時のドリップ（肉汁）が品質劣化の要因となる⁴⁷ので、凍結貯蔵はできるだけ回避したい。そこで、各種抗酸化剤の効力を低温貯蔵中のマガキホモジネートを実験モデルとして検討した^{39,40}。なお、抗酸化剤の効果をより明瞭にするために、試料はガラス容器中に広げて自動酸化しやすい状態で 4°C および -25°C で保存した。

Fig.4 に示すように、貯蔵期間の延長につれて抗酸化剤を添加していない対照試料の脂質は徐々に酸化されたが、抗酸化剤を添加したものはそれぞれ異なる挙動を示した。BHAはいずれの貯蔵温度においても強い抗酸化効果を示したが、 α -トコフェロールは 4°C ではほとんど効果がなく、 -25°C に貯蔵したときのみ有効に脂質酸化を防止した。一方、アスコルビン酸ナトリウムは 4°C 貯蔵では脂質酸化を促進し、 -25°C においても一定の期間を過ぎると促進作用を発現した。ここでは示していないが、トコフェロールについては添加量を増すと 4°C においても微弱ではあるが抗酸化

性が認められた。しかし、アスコルビン酸ナトリウムでは添加量を増すと、酸化促進作用も強くなり、まったく無効であった。供試した3つの抗酸化剤のなかでBHAが最も効果的であったが、近年、合成抗酸化剤の発ガン作用などが明らかにされるにつれて、その使用が制限あるいは禁止される傾向にある。また、消費者の強い天然物志向も考慮すると、少なくともこの実験結果からはトコフェロールが抗酸化剤として適しているものと判断される。

抗酸化剤は脂質酸化により発生したラジカルに電子あるいは水素供与体として作用し、脂質ラジカルを消滅させて脂質酸化の進行を防止する⁴⁸。この場合、抗酸化剤にもラジカルが生成するが、通常これらはラジカル相互の反応やさらに酸化されて安定化し、ラジカル連鎖反応を開始することはない。しかし、抗酸化剤の使用条件が適切でないときには、抗酸化剤に発生したラジカルがうまく消去されず、

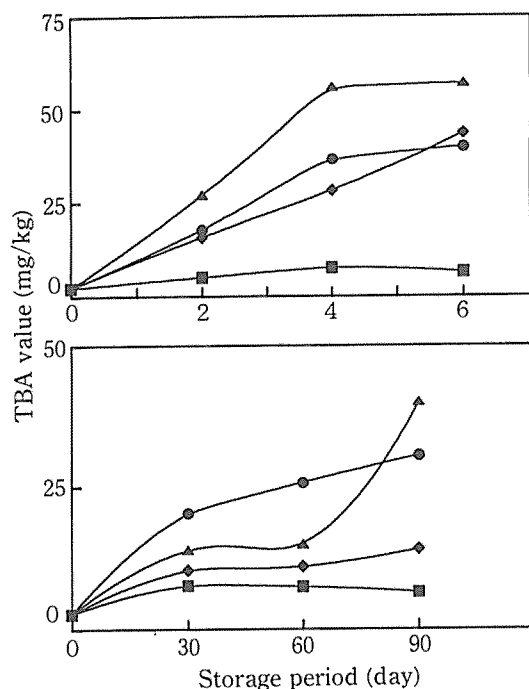


Fig.4. Effect of antioxidants on lipid oxidation in oyster homogenates during storage at 4°C and -25°C .

- Control (without antioxidant),
- BHA (0.01%), ◆ α -Tocopherol (0.1%),
- ▲ Sodium ascorbate (0.2%).

逆に脂質酸化が促進されることもある⁴⁹⁾。また、アスコルビン酸は鉄イオンが共存すると、極めて反応性の高いヒドロキシラジカルを生成することが知られており^{51,52)}、その作用によりマグキの脂質酸化が促進されたものと推察される。なお、過剰量のトコフェロールでも同様の酸化促進作用が認められている^{53,54)}。このように抗酸化剤の効力は、その種類や添加量あるいは対象とする食品、貯蔵条件(温度)など、さまざまな要因で異なるものである。抗酸化剤の食品への使用にあたっては、安全性に配慮したうえで、あらかじめその効力についての十分な検査が必要である。

5 脂質酸化生成物の生体への作用

脂質酸化反応の初期において発生するフリーラジカルはDNAをはじめ各種の生体構成成分を攻撃し、それらに損傷を与えることが指摘されている⁵⁵⁻⁶⁰⁾。停止期に生成される分解生成物や重合物は各種酵素に作用し、酵素活性を低下または不活性化させる。一方、不飽和脂質の酸化生成物に殺菌や静菌作用があることも古くから知られている⁶⁵⁾。脂質酸化を誘発したり、脂質酸化によって発生するフリーラジカルは悪い作用をもたらすだけでなく、時にはうまく利用されている。細菌感染など有害な病原菌が進入してきた際には、好中球やマクロファージなどが活性酸素を産生して殺菌作用を行なう⁶⁶⁾。この作用は、生体のもつ重要な防御機構の一つである。同様に、最近話題となっている食品のオゾン殺菌もフリーラジカルによるものである⁶⁷⁾。

通常、このような脂質酸化反応は、生体中においてはSOD⁶⁸⁾などの酵素系や抗酸化成分で機能的にコントロールされており⁶⁹⁻⁷¹⁾、重大な問題となることはない。しかしながら、老化や疾病にもなう生体機能の低下や本来食品によって補充される必要のある抗酸化成分が不足すると生体においても許容範囲を越えた過酸化反応が進行し、様々な疾病を惹起することになる⁷²⁾。

筆者らは、酸化脂質と酵素との相互作用を明らかにする目的で、Table 1. に示したリノレン酸メチルの各種酸化生成物のプロテアーゼ活性に及ぼす影響を試験管内実験で調べた。

リノレン酸はn-3系列に属するPUFAで、DHAやEPAの前駆物質である。そのため細胞膜構造や機能調節に有効な脂肪酸と考えられるようになり、にわかに注目を集めている。しかし、リノレン酸は1分子中に3個の二重結合を持っていることから、極めて自動酸化されやすく、食品の加工、貯蔵あるいは調理中に形成される酸化生成物が問題となる。

また、プロテアーゼはタンパク質の消化のみならず、生理活性ペプチドの産生などの重要な機能をもっている⁷³⁾。

各種酸化生成物のプロテアーゼ活性に及ぼす影響については次のようにして検討した。酸化させたリノレン酸メチルからゲルクロマト法によって重合物、単量体および分解

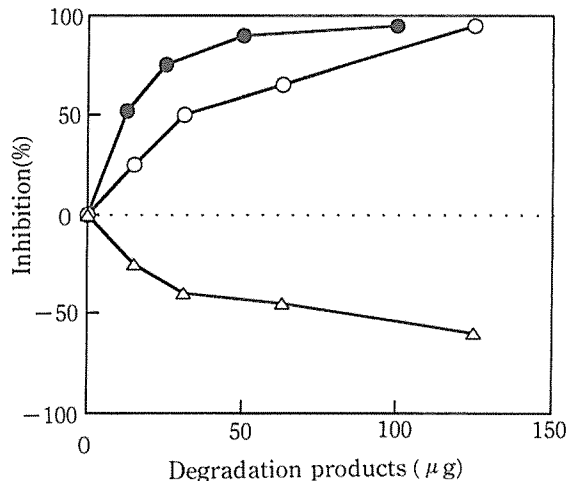


Fig.5. Effect of degradation products* on enzymatic activity of trypsin, chymotrypsin and pepsin.

*Refer to Table 1. Degradation products were prepared from methyl linolenate autoxidized at 40°C for 3 days, by Sephadex LH-20 chromatography.

● Trypsin, ○ Chymotrypsin, △ Pepsin.

生成物を分離し³⁷⁾、これらを所定の条件で数種のプロテアーゼと反応させた。反応終了後、残存する酵素活性を測定して酵素活性変化(%)を算出した。各種の酸化生成物のなかで Fig.5に見られるように分解生成物で興味ある現象が認められた。

キモトリプシンやトリプシンのプロテアーゼ活性は分解生成物により強く阻害され、酸化脂質に関して従来から考えられている予想どおりの結果であった。一方、ペプシンのプロテアーゼ活性は阻害されず、逆に促進される傾向が認められた⁷⁴⁾。この結果は、酸化脂質によって酵素活性が阻害されるだけでなく、酵素の種類によっては活性促進される可能性のあることを示唆するものである。これらの作用機序については必ずしも明らかではないが、おそらく両作用ともリノレン酸メチルの自動酸化によって形成されたカルボニル化合物と酵素分子の遊離アミノ基との反応に起

因⁷⁵⁾するものと推察している。同様な反応機作でありながら、全く異なる作用を発現した原因として、反応に関与する分解生成物の種類あるいは酵素分子における反応部位(アミノ酸残基の種類および位置)の相違⁷⁶⁻⁸⁰⁾、さらに反応に付随して起こる酵素分子の高次構造変化などが考えられる。このほかにも酸化脂質による酵素阻害に関しては多数の研究が行なわれており^{81,82)}脂質酸化初期に発生するラジカルによる酵素活性阻害、あるいは酵素分子を重合化して不活性化する阻害機構などが提示されている^{83,84)}。

現在のところ生体内酵素に対しても脂質酸化生成物、試験管内実験と同様の作用を発現するかどうかは明らかではない。しかし、生体内の代謝回転に係る多数の酵素の一部にすぎないプロテアーゼに対してさえ全く異なる作用を発現することからも、酸化脂質の生体成分への多様な作用機序が想像される。このように不明な点が多い酸化脂質の作用機序ではあるが、現在さまざまな分野で多角的に研究されており、近い将来その実態や有効な防御法が確立されるものと期待される。

6 おわりに

EPAやDHAなどの水産物脂質の生理活性機能が明らかにされるにつれて、その利用範囲は食品分野に限定されず、今後医薬学的方面へも益々拡大されるものと思われる。しかしながら、食品の悪臭、変色などの品質劣化から、各種の疾病、さらには発ガンまでも不飽和脂質の酸化が関与していることが知られるようになった。こうしたことから、PUFAを多量に含む水産脂質は使用(貯蔵)方法やその品質管理を誤れば、意図せぬ毒性物質にも変化しうることを銘記しておかなければいけない。

文献

- 1) 和田俊：水産油量学(外山健三・高木徹・渡辺武 編)，初版，恒星社厚生閣，東京，1988，pp.76-124.
- 2) 斉藤洋昭：食品工業，(7)33-43 (1993) .
- 3) 森田育男・室田誠逸：化学と生物，21，168-173 (1983) .
- 4) 金澤昭夫 他：水産脂質—その特性と生理活性(藤本健四郎 編)，初版，恒星社厚生閣，東京，1993，pp.69-136.
- 5) K. M. Schaich : *Lipids*, 27, 209-218 (1992).
- 6) I. Toyoda, J. Terao, and S. Matsushita : *Lipids*, 17, 84-90 (1982).
- 7) 梶本五郎・吉田弘美：油化学，21，842-845 (1972) .
- 8) K. Miyashita, K. Fujimoto, and T. Kaneda : *Agric. Biol. Chem.*, 46, 2293-2297 (1982).
- 9) S.-Y. Cho, K. Miyashita, T. Miyazawa, K. Fujimoto, and T. Kaneda : *J. Am. Oil Chem. So.*, 64, 876-879 (1987).
- 10) K. Miyashita, M. Hirano, E. Nara, and T. Ota : *Fish. Sci.*, 61, 273-266 (1995).
- 11) P. K. Clark and H. E. Snyder : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 346-347 (1991).
- 12) M. Waite and P. Sisson : *J. Biol. Chem.*, 249, 6401-6405 (1974).
- 13) G.H.D. Haas, N.M. Postema, W. Nieuwenhuizen, and L.L.M.V. Deenen : *Biochim. Biophys. Acta*, 159, 103-117 (1968).
- 14) 横田一成・山本尚三：化学と生物，21，154-161 (1983).
- 15) J. Terao, S. S. Shibata, and S. Matsushita : *Anal. Biochem.*, 169, 415-423 (1988).
- 16) Y. Hama, H. Maeda, and T. Nakamura : *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 147-152 (1990).
- 17) T. Nakamura : *Lipids*, 20, 180-186 (1985).
- 18) T. Nakamura : *Lipids*, 20, 553-557 (1986).
- 19) T. Nakamura and Y. Hama : *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 271-275 (1988).
- 20) T. Nakamura and Y. Hama : *J. Agric. Food Chem.*, 36, 15-18 (1988).
- 21) 山口邦子・中村孝・豊水正道：日水誌，50，869-874 (1984).
- 22) 山口邦子・豊水正道：日水誌，50，2049-2054 (1984).
- 23) 吉岡倭子・鈴木勝久・金田尚志：油化学，21，881-887 (1972).
- 24) 金田尚志：化学と生物，21，174-180 (1983).
- 25) J. I. Gray : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55, 539-546 (1978).
- 26) S. K. Gupta and R. J. Jaworski : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 278-279 (1991) .
- 27) E. N. Frankel, C. D. Evans, D. G. McConnell, and E. P. Jones : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 38, 134-137 (1961).
- 28) 島崎弘幸：油化学，29，301-308 (1980).
- 29) 中村孝・上木原昇・豊水正道：日水誌，45，107-114 (1979).
- 30) A. S. Henick, M. F. Benca, and J. H. Mitchell Jr. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 88-91 (1954).
- 31) 藤本健四郎 他：農化誌，62，1479-1497 (1988) .
- 32) T. Nakamura and H. Maeda : *Lipids*, 26, 765-768 (1991).

- 33) K. Miyashita, K. Kanda, and T. Takagi : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 748-751 (1991).
- 34) 過酸化脂質・フリーラジカル実験法 (五十嵐脩・島崎弘幸 編) 初版, 学会出版センター, 東京, 1995, pp.89-174.
- 35) H. Hatate and M. Toyomizu : *Nippon Suisan gakkaishi*, 51, 627-633 (1985).
- 36) 幡手英雄・吉田勇人・田中竜介 : 水大研報, 43, 7-12 (1994).
- 37) 中村孝・豊水正道 : 日水誌, 41, 59-64 (1975).
- 38) 幡手英雄・深田真史・井村英俊・住川敏博 : 日水誌, 58, 495-498 (1992).
- 39) 幡手英雄・河内正道 : 水大研報, 42, 173-176 (1992).
- 40) H. Hatate and M. Kochi : *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 2397 (1992).
- 41) R. O. Sinnhuber and T. C. Yu : *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 26, 259-259-267 (1977).
- 42) Y. Kakuda, D. W. Stanley, and F. R. v. d. Voort : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 773-775 (1981).
- 43) H. Kosugi, T. Kojima, and K. Kikugawa : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 51-55 (1991).
- 44) 浅川具美・野村幸弘・松下雪郎 : 油化学, 24, 481-482 (1975).
- 45) 豊水正道・花岡研一・山口邦子 : 水産動物の筋肉脂質 (鹿山光編), 初版, 恒星社厚生閣, 東京, 1985, pp. 107-116.
- 46) 庄野寿彦・豊水正道 : 日水誌, 39, 411-416 (1973).
- 47) 小山光 : 冷凍, 62, 1320-1327 (1987).
- 48) E. Niki : *Chem. Phys. Lipids*, 44, 227-253 (1987).
- 49) Y. L. Ha and A. S. Csallany : *Lipids*, 26, 201-205 (1991).
- 50) R. Yamauchi, N. Miyake, H. Inoue, and K. Kato : *J. Agric. Food Chem.*, 41, 708-713 (1993).
- 51) L. Iuliano, F. Violi, A. Ghiselle, C. Alessandri, and F. Balsano : *Lipids*, 24, 430-433 (1989).
- 52) J. P. d. I. Cruz, T. Carrasco, G. Ortega, and F. S. d. I. Cuesta : *Lipids*, 27, 192-194 (1992).
- 53) S. R. Husain, J. Cillard, and P. Cillard : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, 109-111 (1987).
- 54) J. Terao and S. Matsushita : *Lipids*, 21, 255-260 (1986).
- 55) A. L. Tappel : *Fede. Proce.*, 32, 1870-1874 (1973).
- 56) S. Yamashoji, H. Yoshida, and G. Kajimoto : *Agric. Biol. Chem.*, 43, 665-666 (1979).
- 57) M. K. Logani and R. E. Davies : *Lipids*, 15, 485-494 (1980).
- 58) 二木鋭雄 : 油化学, 41, 768-773 (1992).
- 60) 鬼頭誠 : 化学と生物, 21, 162-167 (1983).
- 61) 幡手英雄・豊水正道 : 九大農学芸誌, 39, 15-21 (1984).
- 62) S. Matsushita : *J. Agr. Food Chem.*, 23, 150-154 (1975).
- 63) 戸谷洋一郎 : 油化学, 29, 323-329 (1980).
- 64) H. W. Gardner : *J. Agric. Food Chem.*, 27, 220-229 (1979).
- 65) P. T. Gamage, T. Mori, and S. Matsushita : *Agric. Biol. Chem.*, 35, 33-39 (1971).
- 66) U. N. Das, G. Ells, M. E. Begin, and D. F. Horrobin : *J. Free Radic. Biol. Med.*, 2, 183-188 (1986).
- 67) R. L. Wolfe, M. H. Stewart, S. Liang, and M. J. McGuire : *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 2230-2241 (1989).
- 68) J. M. McCord and I. Fridovich : *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6055 (1969).
- 69) M. -L. Hu and A. L. Tappel : *Lipids*, 27, 42-45 (1992).
- 70) 五十嵐脩 : 油化学, 40, 885-892 (1991).
- 71) 向井和男 : 油化学, 40, 1063-1072 (1991).
- 72) 中村哲也 : 油化学, 29, 309-314 (1980).
- 73) 村地孝 : 蛋白分解酵素と生体制御 (村地孝・浅田敏雄・藤井節郎 編) 初版, 学会出版センター, 東京, 1973, pp.1-14.
- 74) 幡手英雄・入部太郎一・河内正道 : 水大研報, 39, 113-119 (1989).
- 75) 幡手英雄・豊水正道 : 九大農学芸誌, 39, 23-26 (1984).
- 76) 樋口達夫・羽田野六男・座間宏一 : 北大水産彙報, 28, 212-226 (1977).
- 77) M. Karel, K. Schaich, and R. B. Roy : *J. Agric. Food Chem.*, 23, 159-163 (1975).
- 78) M. K. Krogull and O. Fennema : *J. Agric. Food Chem.*, 35, 66-70 (1987).
- 79) S. E. Lewis and E. D. Wills : *Biochem. Pharm.*, 11, 901-912 (1962).
- 80) R. B. Roy and M. Karel : *J. Food Sci.*, 38, 896-897 (1973).
- 81) 河野泰久 : 農化誌, 62, 1112-1116 (1988).
- 82) J. Funes and M. Karel : *Lipids*, 16, 347-350 (1981).

- 83) P. G. Gamage, T. Mori, and S. Matsushita : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **19**, 173-182 (1973).
- 84) W. T. Roubal and A. L. Tappel : *Arch. Biochem. Biophys.*, **113**, 150-155 (1966).
- 85) L. Leake and M. Karel : *J. Food Sci.*, **47**, 737-743 (1982).