HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	脂質酸化生成物の生体におよぼす影響：Ⅰ ドコサヘキサエン酸自動酸化物のラット臓器におよぼす影響
Author(s)	小川, 晁; 五十嵐, 久尚
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 23(3), 159-169
Issue Date	1972-12
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23479
Type	bulletin (article)
File Information	23(3)_P159-169.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
23(3), 159-169. 1972.

脂質酸化生成物の生体におよぼす影響

I ドコサヘキサエン酸自動酸化物のラット臓器におよぼす影響*

小川　晃***・五十嵐　久　尚**

Influence of Oxidized Lipids on the Living Body

I. The influence of the autoxidized docosahexaenoic acid upon the rat organs

Akira OGAWA and Hisanao IGARASHI

Abstract

Toxicity of oxidized docosahexaenoic acid was investigated with rats. The methyl docosahexaenoate fraction was prepared from squid oil. The fatty acids of this fraction comprised $C_{22:6}$ 77.3% and $C_{20:5}$ 14.7%. This fraction was autoxidized at 4°C in a refrigerator. When peroxide value had attained approximately 1000 meq/kg, the oxidation was stopped, and the oxidized ester was used for the test.

Adult male rats, Wistar strain, were divided into two groups, including one (C group) administered with purified soybean oil and another (OD group) with the oxidized ester for 1 month.

There was no significant difference between C and OD groups in the growth of the body weight of the tested rats. In the test period, no diarrhea and alopecia were recognized in both groups.

In the OD group hypertrophy of the liver and kidney were observed. TBA value of organolipid increased significantly in the liver, spleen and stomach. The total lipid content also increased in the liver, decreased in the small intestine and in the kidney.

The phospholipid content increased in the liver and decreased in the stomach and in the kidney.

The decrease of the essential fatty acid contents was observed in the neutral lipid and phospholipid fractions of several organs, and particularly in the phospholipid fraction, the archidonic acid was reduced.

緒　言

水産乾製品，冷凍品あるいは揚げものなどの食品に存在する魚肉脂質が保存中に酸化され，その製品の色沢，食味などが低下するとともに，はなはだしい場合には栄養上有害な酸化生成物を生ずることが知られている。このことは日常魚介類を主要な蛋白源としている日本人の食生活を考える場合，

* 日本水産学会春季大会（昭和46年4月）にて講演発表
** 北海道大学水産学部食品化学第一講座
(*Laboratory of Food Chemistry I, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)
*** 現在日本冷凍食品検査協会神戸研究室
(*Japan Frozen Foods Inspection Corporation, Kōbe Inspection Station*)

大きな問題であり，特に近年コールドチェーンの発展にともない冷蔵魚，冷凍魚を食する機会が多くなってきていることからも原因の究明，防止対策が急がれている。

金田ら[1]はこの魚肉脂質の酸化生成物の毒性は，不飽和脂肪酸の自動酸化の過程で生ずる過酸化物に起因すると報告している。

MATSUO[2]は酸化油の過酸化物価（以下 POV）と毒性の強さは比例するとし，また GROOT ら[3]も POV の高いタラ肝油をラットに与えると成長が悪く，これを加熱してハイドロパーオキサイドを分解すると栄養価は高まるとしている。

他方，POLING ら[4]は綿実油を 60°C で空気吹きこみにより酸化させると POV が急激に高くなり，この酸化油をラットに投与すると肝臓は肥大し，油のエネルギーとしての利用率が減少するが，POV が最高値を過ぎて減少し始めたものでも，肝臓の肥大，利用率の低下が認められるとし，俣野ら[5]も POV が減少し始めた油でも経口的に毒性が示されることから，過酸化物以外の毒性成分の存在を推定している。また，衣巻ら[6]も POV の異なるリノール酸メチルをラットに投与した場合，過酸化物量と致死率は一致せず，酸化油の活性酸素量のみから致死量を規定し得なかったと述べている。

しかし，自動酸化油はハイドロパーオキサイドのみならず，その二次生成物である重合度やアルデヒド，ケトン等が毒性を有すると考えられている酸化生成物の混合物であるため，酸化の程度により毒性を有する生成物の量が変化することから，過酸化物量，すなわち POV のみで自動酸化油の毒性の強弱を判定することは難しく，前述のような種々の見解も出てくるのであろう。しかし，何れの報告でも自動酸化の初期段階においては，毒性は主としてハイドロパーオキサイドによるという見解が多い。

次に，自動酸化魚油を投与した際に現われる症状は，ラットでは成長阻害や下痢，肝臓，心臓，腎臓の肥大等が報告されているが，急性中毒，亜急性中毒，慢性中毒等の実験条件の違いによっても症状の現われ方が異なっている。

また，金田ら[1]は高度不飽和脂肪酸過酸化物をラットに投与すると肝臓，筋肉にかなりの量の過酸化物が見られるとしているが，摂取されたハイドロパーオキサイドがそのままの形で吸収されるかどうかについては，現在のところまだ定説はない。さらに摂取されたハイドロパーオキサイドと体内で見い出されるハイドロパーオキサイドの関係や，毒性発現のメカニズムについては不明な点が多い。

わが国においては今後冷蔵魚，冷凍魚を日常的に摂取する機会がふえてくると予想されるので，魚油を含むこれらの食品を摂取すれば冷蔵，冷凍中に生成するハイドロパーオキサイドを摂取することとなり，肝臓，腎臓等に障害を起す程の亜急性または慢性の中毒を生ずることが推定されるので，その毒性の発現の機構について検討を加えることにした。

本実験では，魚油の代表的な高度不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸区分の冷蔵庫（4°C）における自動酸化の際の，初期に生成するドコサヘキサエン酸区分自動酸化物を摂取することによって起る脂質代謝障害，更に蛋白質，脂肪の消化吸収におよぼす影響等についてラットによる1ケ月間の飼育試験を行なって検討した。

試料および実験の方法

ドコサヘキサエン酸メチルエステルの調製:

イカ油メチルエステル（日本化学飼料 K.K.）を，尿素附加法により高度不飽和脂肪酸区分（$C_{20:5}$ 33%，$C_{22:6}$ 58%）を分別し，この区分を更に真空蒸留し，減圧度 0.19～0.20 mmHg，沸点 175～183°C で溜出するドコサヘキサエン酸メチルエステル（以下 $C_{22:6}$）区分を調製した（純度 77.3%）。

ドコサヘキサエン酸メチルエステルの自動酸化：

$C_{22:6}$ 区分 5g をペトリ皿に取り，冷蔵庫（4°C）で自動酸化させると，Fig. 1 に示すように約2週間で POV は 1,000 meq/kg に達し，1,000 meq/kg を越えるあたりからヨウ素価の低下，屈折率の上昇が急速に進む。このことから，POV 1,000 meq/kg 以下では重合物やアルデヒドのようなハイドロパーオキサイドからの二次生成物はあまり生成していないことが推定される。

投与自動酸化エステルはハイドロパーオキサイドからの二次生成物の生成を抑制するため POV が，1000 meq/kg に達したところで酸化を中止し，投与時まで POV が変化しないようドライアイス中で

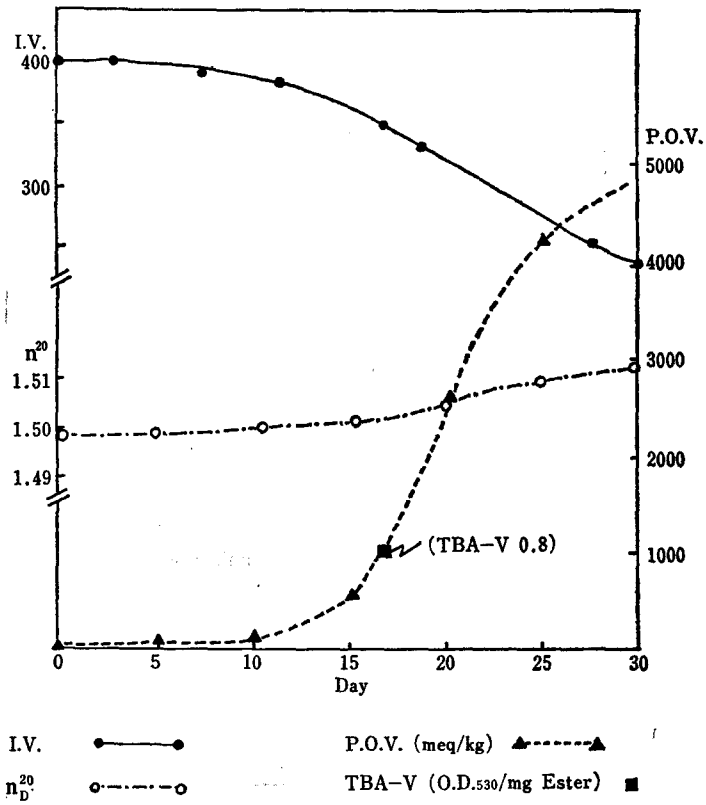


Fig. 1 Autoxidation of methyl docosahexaenoate at 4°C

Table 1 Properties of dietary oils

Dietary oil	I.V.	P.O.V.	TBA-V.	n_D^{20}
Soybean oil	136.4	2.6	0.0004	1.4675
$C_{22:6}$*	400.9	9.6	0.0062	1.4978
Oxidized $C_{22:6}$	378.6	1101.0 (meq/kg)	0.2914 ($O.D._{530}$/mg Ester)	1.5001

*$C_{22:6}$: methyl docosahexaenoate fraction

保存した。投与エステル油の酸化前，酸化後のものおよび対照として投与した大豆油の性状を Table 1 に示す。

飼育試験:

Wistar 系成熟雄性ラット（体重 200 g 前後）に対照群（C 群）5 匹は精製大豆油を餌料の 5%，$C_{22:6}$ 区自動酸化物群（OD 群）6 匹は $C_{22:6}$ 区メチル自動酸化物（以下 Oxidized $C_{22:6}$）を餌料の 2.5%，精製大豆油を 2.5% あて 31 日間，毎日胃ゾンデにより経口投与した。すなわち，試料の

Table 2 Fatty acid composition of dietary oils (weight %)

$C_{m:n}$*	Soy bean oil	$C_{22:6}$**
14:0	0.1	—
16:0	10.9	—
16:1	0.3	—
18:0	4.9	—
18:1	23.2	—
18:2	47.4	—
18:3	8.6	—
20:1	0.4	—
20:2	tr.	—
20:3	—	0.5
20:4	1.1	0.3
20:5	0.6	14.7
22:3	—	1.8
22:4	—	1.7
22:5	—	3.7
22:6	2.5	77.3

Note: HITACHI F6-D gas chromatograph; DEGS column (2m×3mm i.d.); column temp. 200°C, injection temp. 300°C, N_2 gas flow rate 60 ml/min.
*m; Number of carbon atoms n; Number of double bonds
** Methyl docosahexaenoate fraction

Table 3 Composition of basal diet (wt. %)

Casein (Vitamin free)[a]	20	McCallum salt (No. 185)	3
Corn starch	70	Vitamin mix.	*
Cellulose powder[b]	2	Oil	5

* Vitamin mix.: Vitamin A 1000 I.U., Vitamin D_2 200 I.U., Vitamin E 1.0 mg, Vitamin B_1 1.0 mg, Vitamin B_2 1.0 mg, Vitamin B_6 2.0 mg, Niacin 2.5 mg, Ca-pantothenate 3.0 mg, Foric acid 0.2 mg, Biotin 0.04 mg, Inositol 10 mg, Choline chrolide 100 mg (/100 g diet)
a) Nihon Clea Co.
b) Toyo Roshi Co., Cellulose powder D

Composition of administered oil (g)

Group	Soybean oil	Oxidized $C_{22:6}$
C	0.70	
OD	0.35	0.35

$C_{22:6}$区には必須脂肪酸がほとんど含有されていないので，必須脂肪酸の欠乏を防止するため一定量の大豆油を与え，OD群にはリノール酸を1日1匹当り約 160mg 投与した。ラットは代謝ケージで1匹ずつ飼育し，油以外の餌料成分は毎朝一定量をダンゴ状にして与え，水は自由に摂取させた。餌料は Table 3 に示す組成で，1日1匹当り乾燥重量で約 13.3g，油は約 0.7g を与えた。なお OD 群のハイドロパーオキサイド投与量は1日1匹当り活性酸素量として平均約 12.7mg であった。

臓器脂質の分析：

各臓器約 1g を $CHCl_3$-CH_3OH (2:1) 10ml で3回抽出し，抽出液を合わせて 1/5 容の N/2000 H_2SO_4 で洗滌，$CHCl_3$ 層を集め全脂質の $CHCl_3$ 溶液を調製した。全量に $CHCl_3$ を加えて 25ml とし，この 5ml を用いて八木ら[7] の方法により TBA 価，1ml を用いて重量法により全脂質量，FISKE-SUBBAROW 法によって脂質性リン量を測定した。

全脂質のケイ酸カラムクロマトグラフィー：

試料の 50 倍量の活性化したケイ酸—セライト (2:1)（ケイ酸：Mallinckrodt, 100 mesh, reagent grade）をガラスカラムに $CHCl_3$ に懸濁して入れ，カラムを調製した。各臓器より調製した全脂質を少量の $CHCl_3$ に溶解してカラムに注入した後 $CHCl_3$ で中性脂質区分，CH_3OH でリン脂質区分を溶出した。中性脂質，リン脂質区分について薄層クロマトグラフィーを行ない，オズマー自動記録式濃度計により脂質組成を検討した。

脂肪酸組成：

中性脂質，リン脂質区分の脂肪酸組成は塩酸—メタノール法によりメチルエステルを調製し，日立 F6-D 型ガスクロマトグラフにより検討した。

分析法：

ヨウ素価は WIJS 法，過酸化物価は八木・秋谷ら[8] の方法によった。

尿中—N，糞中—N の測定：

飼育試験期間中，0, 10, 20, 30 日目に1日分の尿と糞を集めた。なお，尿の腐敗を防ぐため尿の受器にあらかじめ 5N-H_2SO_4 を 5ml 入れておいた。尿中—N，糞中—N 量は KJELDAHL 法により測定した。

糞中排泄油の性状：

糞中—N 量の測定の場合と同様にして採取した糞より臓器脂質と同様の方法で排泄油を抽出し，排泄油量と排泄油の TBA 価を測定した。

結　　果

成長観察および解剖所見：

飼育試験の期間中，C群，OD群共に下痢，脱毛症状は見られなかったが，2週間目頃から OD 群に油の投与直後に流涎症状，苦悶症状がみられた。しかし，食欲は低下せず体重増加は Fig. 2 に示すように両群に有意な差はみられなかった。飼育試験終了後，屠殺し解剖すると，肝，腎の肥大が認められた。

尿中—N 量，糞中—N 量，糞中排泄油量，排泄油 TBA 価:

尿中—N 量，糞中—N 量は Fig 3, Fig. 4 に示すように両群に有意な差は認められないが，OD 群はC群に比べて尿中—N がやや少なく，糞中—N がやや多い傾向がみられた。糞中排泄油は Fig. 5 に示すように OD 群の方がやや多く，その TBA 価は Fig. 6 に示すように明らかにC群に比較して高い値を示していた。しかし，投与した油の量から計算するとC群の排泄量は約 7% 前後で，OD 群は 10% 前後であり顕著な差は見られず，その TBA 価も投与時の推定 TBA 価の 1/4 ぐらいであった。

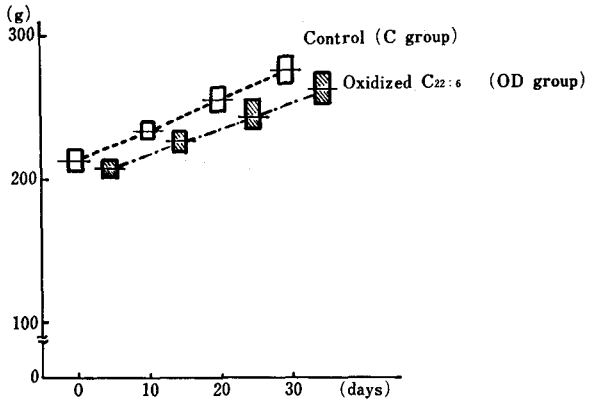


Fig. 2 Growth cruve of rats

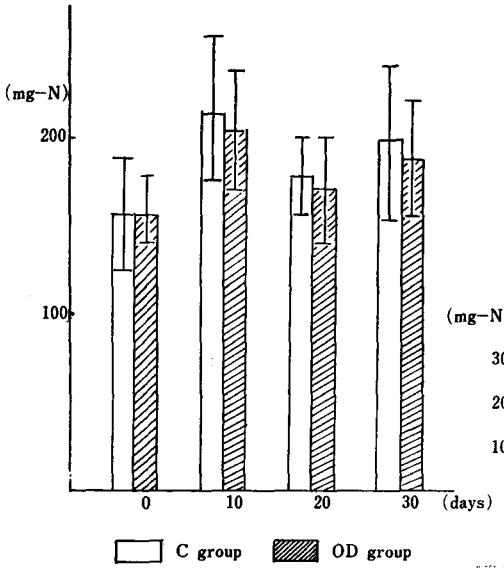


Fig. 3 Total-N in urine of rats (mgN/day)

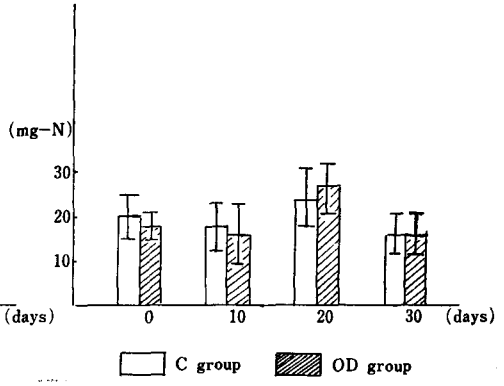


Fig. 4 Total-N in feces of rats (mgN/day)

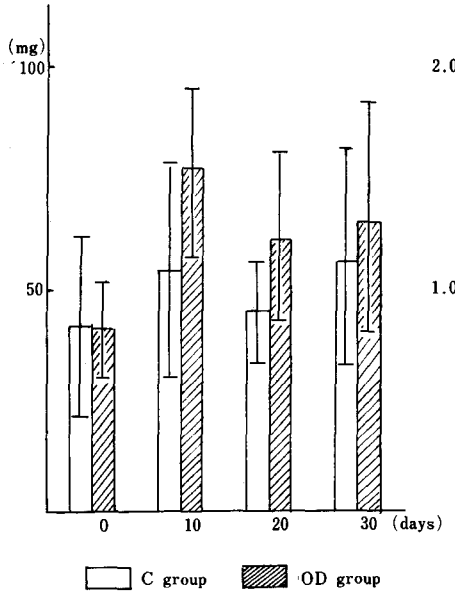


Fig. 5 Lipid content in feces of rats (mg/day)

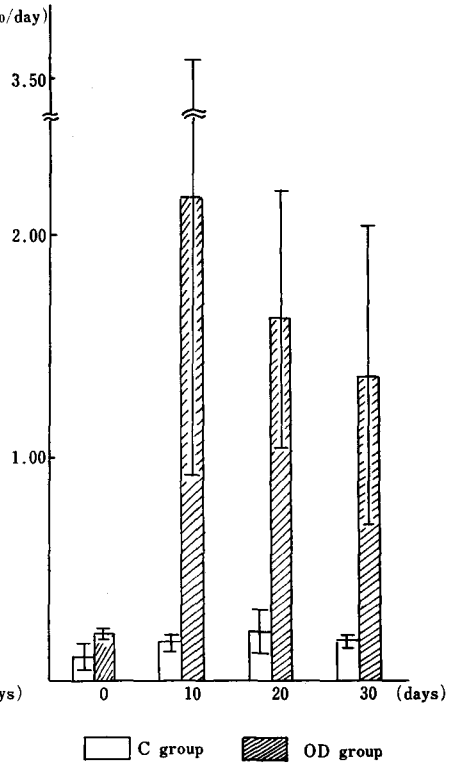


Fig. 6 TBA-value of feces of rats ($O.D._{530}$/day)

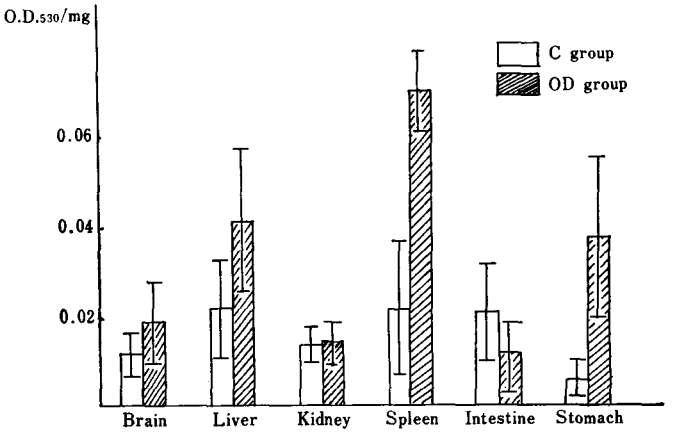


Fig. 7 TBA-value of the rat organs

臓器脂質の性状:

脂質 TBA 価は Fig. 7 に示すように肝，脾，胃において有意に増大しており，脳においても同様の傾向がみられた。

全脂質量は肝，脳，脾ではあまり変化なく，胃，小腸，腎で減少の傾向がみられ，リン脂質量は肝で増加，胃，腎でわずかに減少の傾向が認められた。各種臓器の体重比，全脂質量，リン脂質量を Table 4 に示す。脂質組成では，Fig. 8 に示すように脳では PE，PC の増加，肝では PC の増加，TG の減少，胃で PC，TG の減少がみられた。

脂肪酸組成では，Table 5 に示すように C 群に比して OD 群では，中性脂質区分は各臓器ともにリノール酸がやや減少しており，エイコサペンタエン酸，ドコサヘキサエン酸は肝，脾に少量存在するのみで他の臓器にはほとんど存在しなかった。リン脂質区分では Table 6 に示すようにアラキドン酸が各臓器ともに減少しており，リノール酸量にはあまり差はみられなかった。すなわち，中性脂質，リン脂質とも必須脂肪酸含量の減少の傾向が認められた。

Table 4 Contents of total lipid and phospholipid in the rat organs

	Group	$\frac{O.W.}{B.W.}\times 100$*	Total lipid (mg/g)	Phospholipid (mg/g)
Brain	C	0.61±0.04	65.6± 6.5	32.0± 4.3
	OD	0.66±0.03	67.3± 5.6	32.5± 2.8
Liver	C	3.05±0.22	48.6± 3.9	27.8± 2.5
	OD	3.69±0.30	52.1± 5.7	33.0± 4.8
Kidney	C	0.66±0.04	40.0± 9.8	19.5± 2.3
	OD	0.73±0.05	34.8± 2.8	18.5± 2.5
Spleen	C	0.18±0.03	31.4± 4.8	15.8± 2.0
	OD	0.19±0.02	31.5± 7.6	16.5± 1.3
Intestine	C	1.66±0.45	57.2±28.3	14.8± 1.0
	OD	1.61±0.30	32.5± 7.4	15.0± 2.5
Stomach	C	0.51±0.03	55.8±14.2	10.8± 0.5
	OD	0.61±0.06	40.2± 5.2	9.5± 1.3

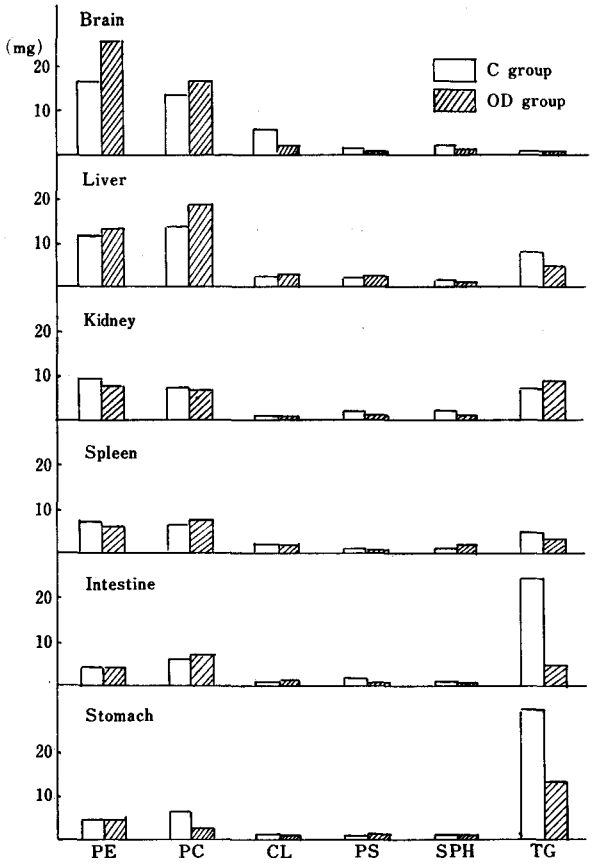
Mean value ±SD *O.W.: Organ weight B.W.: Body weight
C group consists of five heads, and OD does of six.

考察および総括

投与したドコサヘキサエン酸自動酸化物はヨウ素価，POV，屈折率，TBA 価の測定により重合物や二次分解生成物はあまり生成しておらず，酸化の段階としてはハイドロパーオキサイドの蓄積してくる初期の段階のものと推定される。この程度の自動酸化物をラットに投与した場合，毒性は主としてハイドロパーオキサイドに起因するとして差支えないと考えた。

本実験では POV 約 1000 meq/kg の自動酸化油に大豆油を加えて約 500 meq/kg 前後に調製されたものを与えたので，1 ケ月の飼育期間では体重増加には影響しなかったものと考える。梶本[9] は POV 204 meq/kg では成長に影響なく，POV 500 meq/kg では 1 ケ月過ぎてから体重の減少が認められる

PE: Phosphatidyl ethanolamin, PC: Phosphatidyl choline, TG: Triglyceride



PE; Phosphatidyl ethanolamine CL; Cardiolipin
PC; Phosphatidyl choline SPH; Sphingomyelin
PS; Phosphatidyl serine TG; Triglyceride

Fig. 8 Lipid composition of the rat organs (mg/1g tissue)

と報告していることから，この程度の POV の油ではさらに長期間の投与を行なわなくては体重減少のような症状が現われないものと考える。

金田[1]，MATSUO ら[2] は脱毛，下痢症状，肝，腎，心などの肥大が認められると報告しているが，本実験ではそのような外見的な異常は認められず，排泄物は固型であり蛋白質，脂肪の消化吸収にも大豆油投与群と有意な差は見られなかったが，肝，腎では金田，MATSUO らと同様の症状が認められた。

肝の脂質組成の変化が，一般に中毒性肝障害の症状として見られる脂肪肝，すなわちトリグリセライドの蓄積とは異なりリン脂質の増加として現われていることは興味深い。

本実験においては，肝，胃，脾などに TBA 価が増大していることが認められたが，脂肪酸の過酸化物が蓄積されたという金田ら[1] の報告を考えあわせて同様のことがおきているものと推定される。この TBA 価の増大がドコサヘキサエン酸ハイドロパーオキサイドの直接の影響によるものか，ある

Table 5 Fatty acid composition of netural lipids of the rat organs (weight %)

	Brain		Liver		Kidney		Spleen		Intestine		Stomach	
$C_{n:m}$	C	OD	C	OD	C	OD	C	OD	C	OD	C	OD
12:0	—	—	—	tr.	—	tr.	0.1	tr.	0.1	—	0.1	0.1
14:0	1.8	2.1	0.7	0.8	1.7	1.9	1.7	1.5	1.6	1.3	1.5	1.8
15:0	0.1	0.5	0.3	0.2	tr.	0.3	0.2	tr.	0.2	0.2	0.3	0.3
16:0	26.3	27.3	29.0	33.2	32.9	33.2	25.9	35.1	34.1	34.0	28.5	33.5
16:1	7.9	9.3	5.9	5.3	8.9	7.4	8.7	7.7	7.9	6.9	8.1	9.4
17:0	0.2	0.3	—	tr.	—	—	0.1	0.2	tr.	—	—	tr.
18:0	11.0	8.1	4.3	7.2	6.8	7.6	7.0	6.0	6.7	11.6	4.8	5.3
18:1	28.6	31.3	32.6	25.5	24.1	37.0	31.7	30.8	29.7	25.5	34.8	33.9
18:2	15.4	14.1	20.6	16.8	13.1	10.3	17.1	13.8	16.7	15.4	18.4	13.5
18:3	0.1	0.6	0.5	0.2	tr.	0.5	0.2	0.3	0.3	0.3	tr.	0.5
20:1	1.2	1.3	1.4	0.8	0.5	1.5	1.4	0.8	1.6	1.6	2.0	1.6
20:4	7.4	5.1	4.7	2.4	2.1	0.3	1.4	0.6	1.2	2.4	1.4	tr.
20:5	—	—	—	2.4	—	—	—	—	—	0.7	—	tr.
22:4	—	—	—	4.3	—	—	—	tr.	—	—	—	tr.
22:6	—	—	—	0.9	—	—	4.5	3.2	tr.	—	—	tr.

Table 6 Fatty acid composition of phospholipid of the rat organs (weight %)

	Brain		Liver		Kidney		Spleen		Intestine		Stomach	
$C_{n:m}$	C	OD	C	OD	C	OD	C	OD	C	OD	C	OD
13:0	0.7	0.7	tr.	0.1	0.7	0.7	0.8	0.8	0.3	0.3	0.5	0.2
14:0	0.7	0.9	0.3	0.2	0.9	0.9	1.5	1.1	0.8	0.7	1.0	1.4
15:0	3.4	2.5	0.2	0.3	1.4	1.5	2.1	1.1	1.1	0.8	1.8	1.6
16:0	19.0	22.4	22.2	22.8	20.6	25.6	29.3	26.9	19.5	26.1	25.6	24.9
16:1	1.4	3.0	2.6	1.7	1.5	2.6	2.2	3.0	2.9	2.2	4.8	7.0
16:2	—	—	1.1	0.9	0.4	—	0.8	tr.	1.1	1.0	—	1.6
17:0	1.9	1.1	tr.	—	0.6	—	0.6	tr.	—	—	1.4	—
18:0	21.2	21.4	21.0	20.8	18.5	17.6	19.3	26.5	20.4	22.1	14.2	11.9
18:1	24.8	24.4	11.4	11.9	13.1	17.5	14.2	18.0	17.0	16.1	20.7	26.1
18:2	1.2	2.5	12.9	15.2	12.0	14.2	8.5	11.0	17.3	18.4	14.5	16.8
18:3	0.2	tr.	0.6	0.9	0.5	1.3	0.2	0.3	0.8	0.8	0.9	0.6
20:1	2.7	2.7	0.4	0.6	0.4	0.7	0.6	0.6	1.3	0.6	0.8	1.4
20:3	tr.	tr.	0.3	1.6	0.3	0.7	0.6	0.7	1.1	0.8	0.9	tr.
20:4	9.2	6.9	24.1	10.7	28.7	12.6	16.9	8.1	15.0	6.7	12.7	4.9
20:5	—	—	tr.	4.8	0.4	3.6	tr.	1.0	—	2.1	tr.	0.8
22:2	4.4	2.3	—	0.5	tr.	—	1.0	tr.	1.4	—	tr.	—
22:5	8.6	7.4	2.9	7.0	tr.	0.5	tr.	0.8	tr.	1.3	—	0.8
UK	0.7	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

いは二次的な原因によるものかは本実験では明らかでない。しかし，油の消化吸収の状態，および排泄油の TBA 価が減少していることからハイドロパーオキサイドが何らかの形で取りこまれていると思われる。

本実験で観察された OD 群の必須脂肪酸の減少の原因については，高度不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸の大量の摂取によることも考えられるので，高度不飽和脂肪酸そのものの影響をも検討する必要があると考える。

本実験により魚肉脂質は冷蔵中に酸化され，酸化の初期段階においてハイドロパーオキサイドを生成する。このものは1ケ月間程度の投与によってもラットの肝臓や他の臓器の脂質代謝障害を起すような亜急性毒性ともいうべき症状を生ずることが明らかになった。

本研究に対して指導に協力され，且有益な助言を与えられた食品化学第一講座座間助教授，羽田野，高間両助手に感謝すると共に，ラットを分与された国立予防衛生研究所食品衛生部主任研究官俣野景典博士，イカ油エステルを提供された日本化学飼料K.K. 函館工場，精製大豆油を提供された旭油脂K.K. に謝意を表します。

文　　献

1) 金田尚志・石井清之助 (1953). 脂質の栄養価に関する研究. VIII. 高度不飽和酸の栄養価および毒性について (1). 日本水産学会誌 **19**, 171–177.
金田尚志・石井清之助 (1954). 同上. XII. 同上 (3). 同誌 **22**, 658–663.
金田尚志・酒井季恵・石井清之助 (1954). 高度不飽和酸の栄養価と魚油毒の本態，栄養と食糧 **7**, 188–197.
2) Matsuo, N. (1954) The toxicity of fish oil (I). *J. Biochem.*, **41**, 481–487.
Matsuo, N. (1954) Ditto (II). *Ibid.* **41**, 647–652.
3) Groot, E.H. and Klein Obbink, H.J. (1953) The nutritional effect of heating cod liver oils with various peroxide numbers. *Experientia* **9**, 189–91.
4) Poling, C.E., Warmer, W.D., Moore, P.E. and Rice, E.E. (1962). The influence of temperature, heating time and aeration upon the nutritive value of fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **39**, 315–319.
5) 俣野景典 (1970) 劣化油の毒性，油化学 **19**, 713–721.
6) 衣巻豊輔 (1970) 脂肪酸過酸化物の毒性とビタミンEの作用，日本水産学会誌 **36**, 854–859.
7) 西垣郁雄・小沢高将・八木国夫 (1968) 血清脂質過酸化物の分析にかんする検討. ビタミン **38**, 359–368.
8) 八木一文・秋谷年見 (1967) 食品の酸化とその防止. 光琳全書 **23**, 178p. 光琳書院. 東京.
9) 梶本五郎 (1962) 変敗油および加熱重合油への Pyridoxine および Niacine 補充効果について. 栄養と食糧 **15**, 64–68.