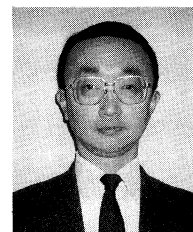


総 説

魚 油 の 利 用

高 橋 是 太 郎

北海道大学水産学部 (〒041 函館市港町3-1-1)



Modern Application of Fish Oil

Koretaro TAKAHASHI

Faculty of Fisheries, Hokkaido University

(3-1-1 Minato-cho, Hakodate-shi, 〒041)

Favorable characteristics and confronting problems in developing the modern application of fish oil are reviewed.

In order to expand the utilization of fish oil, daily and highly consumed linoleic acid and saturated fatty acids must be replaced in part by icosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) concentrated fish oil, keeping the total lipid consumption at the level of modern Japan.

For this purpose, technology in modifying lipids including enzymatic synthesis of EPA and DHA rich simple lipids as well as phospholipids is considered to be impelled.

1 はじめに

“Modern Application of Marine Oils”と題したセミナーが4日間にわたってカナダのオンタリオ州で開催される。主催はAOCS(アメリカ油化学協会)で、来年の5月6日から9日までの予定だそうである。これは欧米が食品への魚油の本格的利用をめざす意気込みを示す一例であろう。アメリカでは一昨年(1989年9月15日)に魚油の水添油ならびに部分水添油がFDA(連邦食品・医薬品局)のGRAS(Generally Recognized as Safe; すなわち一般に安全と認められる物質)認定を受けた^{1),2)}。また昨年(1990年10月29日)もあらゆる形態の魚油がGRAS認定を受け³⁾、いよいよ魚油の食品への利用が本格化しつつある。折しもこれと前後してイギリスやデンマークをはじめとするヨーロッパ5か国とアメリカ、チリの共同で未水添魚油を添加したマーガリンの試作と貯蔵試験、官能評価が行われた⁴⁾。いくいくはサラダ油や肉製品への添加試験も行われることになるであろう。今まで魚油の生産と利用に関してはわが国に一日の長があったが、このように欧米における水産油脂に関する研究の活発化は、消費者の魚に対する健康イメージに牽引されて今後ますます加速される様相を呈してきている。

最近、わが国ではSCRC-2738 (*Alteromonas* の1種)^{5),6)}や20-17 (*Mortierella alpina*)^{7),8)}を用いて

EPAを生産する技術が開発され、とくに国内で多くの注目を集めている。これらの微生物が産生する高度不飽和脂肪酸(HUFA)は、組成が魚油に比べ単純であることから不要な脂肪酸を除くことが魚油よりも容易であり、しかもSCRC-2738株ではHUFAを生理活性の非常に高いリン脂質の形態で得られる等利点が多い。また、後述のような魚臭や着色の心配が少ないこと、セトレン酸やエルカ酸(心疾患の原因)を含まないといった点にも優れ、実用化への幾つかの問題点を解決すれば、とくに医薬品への利用に関しては今後極めて有望といえる。しかし、機能性食品(業務行政との整合性を図る意味から平成2年11月以降は特定保健食品と呼ぶことになっている)への利用に関しては魚に対する健康イメージ、DHAを産生する微生物が見あたらないこと、また価格の点からいっても当分の間は魚油の優位は崩れそうにない。とくに欧米ではやや短絡的ともいえるほど“魚=健康”のイメージが強く⁹⁾、微生物源HUFAは食品へ利用されにくい状況にあるといえよう。

2 わが国における魚油の利用の現状

昭和63年の農林水産省の統計によると水産油脂の全国内生産は48.6万tであり、これは全世界の32.7%に当たる。

わが国の魚油の輸出は34.7万t、国内分は13.9万tであり、そのうち消費されたものは10.8万tとみなされ、

内訳は圧倒的に硬化油が多い。この理由は後述のように硬化油にしてまず安定性を賦与しなければ劣化が速やかに起こってしまい、商品価値を失ってしまうからに他ならない。硬化油はそのほとんどが業務用マーガリンやショートニング向けられている。業務用マーガリンの多くは製菓、製パンのほか調理、加工食品等に利用されるもので、それぞれの用途に応じた加工特性を要求される。現在マーガリン用に使用される硬化魚油は融点 35℃前後の選択水添油が多い。欧米のように未水添の魚油をそのまま混合してマーガリンを造ろうとする試みはわが国では今のところ 1 例だけ (DHA の混合例¹⁰⁾) のようである。

ショートニングとは水を含み可塑製油脂のことをいい、JAS (日本農林規格) では油脂を急冷ねり合わせをして造られた固状のもの、または乳化剤などを加えて造られた流動状または固状で可塑性、乳化性等の加工性を賦与したものと定義している。最近、各用法に適する製菓特性を強調したショートニングも開発されている。硬化魚油を使用したショートニングは抱気、練り込み、展延性を具備させた多目的型が多いので、ベース油にはこれらの加工性を発揮できる改質が水添に望まれることになる。幸い、硬化魚油は脂肪酸、アシलगリセリン組成に広い分布を示すものが多いので、熱処理などによる結晶形の安定化などに影響をうけにくい長所が可塑性油脂加工に活かされている。また、選択水添による硬化魚油からは他の固形脂に比べると口融けのよいものが得やすいといわれている¹¹⁾。

その他の魚油の詳しい利用例は成書に譲るが、魚油の特性をうまく活かしたものとしてはペイントが挙げられよう。魚油は酸化重合しやすく、この点が通常は非常に厄介な問題とされているが、他方で重合油の“垂れ下がり”防止効果や耐水・耐久性に優れる点が利用され、ペイントの原料として重宝されている。

以上のように硬化魚油や重合油は魚油にしかみられない優れた特性を有しているが、反面いまだに EPA、DHA に由来する優れた生理活性を活用し得ていない状況にあるといえよう。これを活かしている例としては、養魚用油としてわずかに 6000 t 程度が消費されている例があるに過ぎない。既に EPA、DHA によって多くの種類のし(仔)稚魚が順調に生育することは知られており^{12)・13)}、エネルギー源としての油脂添加によりじ(餌)料中のタンパク質含量を節減することは高価なタンパクを節約できるだけでなく¹⁴⁾、環境水中への窒素負荷の削減にも有効であり、養魚場の自家汚染改善の点からも今後一層検討されるべきであろう¹⁵⁾。

EPA 製剤としての消費も 10 年ほど前よりあるが国内においては顕著な消費拡大はなく、消費量そのものも少ない。

3 魚油の利用と品質管理に関わる諸問題

3-1 魚 臭

魚油が酸化魚臭を発生しやすい理由の第一に、一般に HUFAs が多いことが挙げられる。しかしそれだけではなく、魚油はもともと天然の酸化防止性物質含量が他の油脂よりも少ないことや酸化防止剤そのものが効果を発揮しづらいこと¹⁶⁾ も大きく影響している。また、着色を加速するといわれるタンパク質分解物と結合しやすいこと、ヘム化合物に富むことも一層酸化に拍車をかけることになる¹⁷⁾。とくに第三級窒素塩基のトリメチルアミンやコリンが深く関与していることが古くから知られている¹⁸⁾ (一方ではあるレベル以上アミン類¹⁹⁾ やコリン²⁰⁾ を添加するとむしろ脂質酸化を抑制するという報告もある)。これら含窒素化合物はまず HUFAs と結合し、次いでこのものが酸化、魚臭を発生したり、着色したりすると推察され、このとき窒素量が多く不飽和度が高いほど魚臭も強くなるといわれる。したがって魚油の品質保持のためにはあらかじめできるだけこのような窒素化合物を除去しておくことが必要である。今までのところ魚油の脱ガム、脱色工程を経て通常窒素 10 mg/油 100 g 程度にまでは魚油中の窒素量を減らせる。

アメリカやカナダでは酸化魚油から発生する不快臭を“fishy”という単語一語で言い表しているが、魚油臭は魚種によって大きく異なっている²¹⁾。例えばメンヘーデン油ではエチレンジアミンと 1,4-ブタンジアミン²²⁾、いわし油では *cis*-3-ヘキセン-1-オール²³⁾ の存在が特徴であり、これらがそれぞれ“メンヘーデン油臭さ”、“いわし油臭さ”に強く関与しているものと推察されている。

ところで現在生産されている魚原油の大半は原料の集荷に便利な地域の魚かす(粕)製造工場で分離されたものである。魚原油は原料に直接または間接的に熱を加えてタンパク質を熱変性させることにより水分や油脂分の分離を促進して得られるので、熱によるメイラード反応の進行によりピラジン系化合物やアミン類が生じ、この臭気が油脂分に移行することによって魚原油特有の魚臭さを呈するようになる。この傾向は原料の鮮度が低下するほど著しくなるが、多くの場合脱酸、脱色を主とする精製工場に集められて脱臭工程を経ればほとんど無臭となる。しかしながら直ちにかなりの低温下に精製魚油を保存しない限り、短時間のうちに魚油特有の不快臭を発生するようになる。このときの臭気の本体は HUFAs 由来アルケナールの 2,4,7-デカトリエナール^{24)~26)} や 4-ヘプテナール^{27)・28)} と、アルケナールのヘプタナールやプロパナールである。これらはいずれもしきい(閾)値が低く²⁹⁾ かつ分解されやすい^{21)・30)} といわれる。一般に、水添によって酸化に対する安定性は増し、酸敗にとまらな

不快臭の発生を著しく抑制することができるが、それでも水添 HUFA からしきい値の非常に低い 6-ノネナールが発生することがあり³¹⁾、これによって酸化臭を呈することがさげられない場合もある。

現在脱臭工程は酸素を含まない水蒸気によるものが大半であるが、水蒸気と揮発性酸の併用³²⁾や、あらかじめ魚油にグリセリンをモノアシルグリセリン (MG) を介して添加しておいてから高真空中で脱臭する^{33)・34)}といった試みもなされている。なお、脱臭プラントに関しては成書³⁵⁾を参照されたい。

Ikedo と Fukuzumi³⁶⁾によれば 36.5°C 下での酸化の速さ (誘導期を終えるまでの早さ) はメチルエステル (ME) 間の比較ではオレイン酸メチル: 1 に対してリノール酸メチル: 8, リノレン酸メチル: 21.7, EPA+DHA メチル: 31.9 になるといわれ、また、Cho³⁷⁾によればエチルエステル (EE) 間の比較では誘導期間の長さで比較した場合、5°C の自然酸化条件下でリノール酸エチル: 50 d, リノレン酸エチル: 20 d, EPA+DHA エチル: 3~4 d になるといわれる。同氏らはこの系において、誘導期間終了後の吸収酸素量が EPA エチルでリノール酸エチルの 5.2 倍, DHA エチルで 8.5 倍にもなることをみている。さらに同氏らは、5°C において 90 lux の光を当てると EPA エチルと DHA エチルは酸化の誘導期すら認められなくなり、同条件下 2 d における酸素吸収量はリノール酸エチル: 1 に対してリノレン酸エチル: 99, EPA エチル: 743, DHA エチルでは 948 にもなることを明らかにしている。

以上のように EPA や DHA を含む魚油が酸化に対して極めて弱いことはよく知られており、この理由としては EPA や DHA がその分子内に 1,4-ペンタジエン系を有することに加え、メチレン基が両側の二重結合に挟まれている構造をもつために酸化の活性化エネルギーが著しく低下することが挙げられている。しかし、植物油の精製魚油への混合により誘導期が著しく延長されるというデータもあり、解釈が単純にはいかない面も多い。

3・2 酸化度の判定

リノール酸を主体とする植物油の酸化度判定には過酸化価 (PV) が最も広く用いられている。これは初期酸化においてリノール酸では吸収された酸素のほとんどがまず過酸化物の形で一たん蓄積するので、酸素吸収量そのものを定量する上での誤差が比較的少ないことが挙げられる。ところが魚油では過酸化物は速やかにアルデヒドを主とする二次産物に変化するため、吸収された全酸素量に占める過酸化物中の酸素量は 50~70% に過ぎず^{21)・38)・39)}、PV を過信することには問題があると考える研究者が多くなってきている。

精製魚油を自然酸化させると、PV が低くてもにおいが発生する、このにおいを脂質二分子膜センサーで検出

し定量化する試みがあるが⁴⁰⁾、数値化はできても再現性や定量性に解決すべき問題が多い。しかし、現実にはもどり臭の発生が魚油の品質を極めて大きく左右するので今後検討していてもよい方法と考える。

いずれにしても、現時点では魚油の酸化度を一指標だけで適切に示し得るまでには至っていない。

3・3 高度不飽和脂肪酸の定量

HUFA の定量にはガスクロマトグラフ (GC) が広く用いられている。これはいうまでもなく GC により極めて簡単に、しかもごく少量 (ng の単位) の試料でも HUFA の定量が可能だからである。しかしながら GC の宿命ともいうべき熱により HUFA が一部変質し、定量性を損なう場合も少なくない。そこで、トリコサン酸 (C_{23:0}) 等⁴¹⁾を内部標準物質として回収係数を乗じて定量することが考案されている^{42)・43)}。すなわち、

$$\text{EPAmg/g} = \frac{A_E \times \text{内部標準物質の重量} \times 0.99^*}{A_{IS} \times \text{試料の重量} \times 1.04^{**}}$$

ただし、 A_{IS} は内部標準物質のクロマトグラム上の面積、 A_E は EPA の面積、“*”は検出器の応答係数 (DHA は 0.97)、“**”は ME 化したことによる補正係数を表す。セラコレン酸 (C_{24:1,7-9}) はトリコサン酸に比べて溶解度が高く、扱いやすいがポリグリコール系カラムでは DHA と極めて近くに溶出するため不都合が生じる場合がある⁴⁴⁾。HUFA を GC で分析するためには HUFA を ME に誘導してカルボキシル基のクロマト系への影響をなくすとともに安定性を賦与させることが必要であるが、この ME 化には加熱がともなうため幾分の EPA, DHA の損失を生じる場合がある。例えば封管によるメタノール性塩酸の ME 化反応は明らかに Prevot と Mordret⁴⁵⁾のアルカリ低温 ME 化法よりも低い EPA, DHA の定量値を与える。Tande と Granvik⁴⁶⁾は 4 通りの ME 化法について比較検討し、三塩化ホウ素とテトラメチルグアニジンによる方法が HUFA の損失が最も少なく、三フッ化ホウ素よりも優れているとしている。なお、最も簡単な方法としては脂質のエーテル溶液に市販 (イーストマンコダック社) の水酸化テトラメチルアンモニウムメタノール溶液を加えるだけといった例⁴⁷⁾がある。この方法は加熱を必要としない (室温) ので最も穏和な ME 化条件といえる。

脂肪酸組成の分析を行うのにポリエチレングリコール系やカーボワックス系の強極性キャピラリーカラムを用いることは今や常識となりつつある。キャピラリーカラムの歴史は意外なほど古く、30 年ほど以前にまでさかのぼる。最近ではカラムそのものの取り扱いが楽になったことやスプリットレス分析も簡単にできるようになってきたことから急速に普及してきてはいるが、いまだに ECL (飽和脂肪酸基準の相当炭素鎖長) のみを拠として GC クロマトグラム上の脂肪酸を同定できるまでに

は至っていない。これはカラムロット間のばらつきによるものと考えられており、この点の改善が今後の課題であろう。しかしながら一昨年同期よりロットのばらつきの少ないカラムがはじめてきており⁴⁸⁾、今後はECLによる簡便な同定も可能となってくるに違いない。

3・4 分子種の分析と定量

昨今魚油の改質に関する研究が盛んに行われているが、原料となるべき魚油の分子種組成についてはその分析が困難なことからほとんど知見がなく、このためこの種の研究は試行錯誤的に行われているのが実状である。魚油のトリアシルグリセリン(TG)の分子種は主な脂肪酸を6種と限定し、立体異性体を考慮しなくても $(6^3 + 3 \times 6^2 + 2 \times 6) \div 6 = 56$ 種の存在が可能となる⁴⁹⁾。さらに脂肪酸を10種とすれば132種と著しく分子種の種類が増える。魚油TGの個々の分子種の存在とその量的関係を明らかにするためには少なくとも数十万段以上の理論段数(カラム効率)は必要であり、現状の高速液体クロマトグラフ(HPLC)では不十分といわざるを得ない。現在のところ組成が比較的単純なアシル基が2個のリン脂質についてはGCとHPLCによって魚種ごとの分子種がある程度明らかになっている^{50)~51)}。

クロマトグラフィーにおける脂質分子種の分配を支配する因子は、固定相及び移動相分子と脂質分子間に生ずるvan der Waals力の総和によると考えられる⁶²⁾。逆相HPLCではvan der Waals力のうちとくに有極性のエチレンユニット(二重結合部)の数とそれらの相対的距離に基づく双極子モーメントならびにvan der Waals半径の影響が大きいと考えることができ、脂質分子の立体的な分子構造よりこの両者の相対保持値に対する寄与率さえ明らかにできれば、将来はGCと同様の簡便さで分子種の同定が可能となることも予想される。しかしそれにはHPLCの分解能、再現性、精度を飛躍的に高めねばならず、目下ハード面での性能向上が最大の課題といえよう。

3・5 化学的処理による着色と脂肪酸の異性化

高濃度のHUFAを得るには魚油の加水分解は避けて通れない工程である。この加水分解の工程には高圧・高温処理、酸処理やアルカリ処理が用いられるが、いずれの方法も着色や重合、異性化等の副反応が起こりやすい。また、油脂の改質にしばしば用いられる触媒や脱水縮合剤にも同様の弊害がみられる。一たん魚油が着色してしまうと脱色には相当手間取ることになる。しかもパーム油のように脱酸工程を経ることなしに脱色をすることは事実上できない。通常80℃以下で活性白土を通せば着色が残り、反対に120℃以上では、“色戻り”が起こることになる。また、この温度では活性白土自身が酸性触媒として働き、異性化や環状化をも起こしてしまう⁶³⁾。水添の過程においても触媒による異性化は避けられず、と

くにトランス酸の生成がデサチュラーゼへの阻害効果や冠状動脈への悪影響の懸念から問題とされている^{64)~66)}。重合して変質した脂質は後に続く工程で除去されるが、二重結合の転移が起こったものは除去が困難になる。二重結合の転移は決定的に生理作用が変わってしまうので、この副反応の進行は最も注意を要する。

3・6 好ましくない脂肪酸の存在

魚油中に多量に含まれるEPAやDHAの有用性については広く一般にも知られたところとなった。しかし魚油は一方で心疾患の原因になり得るといわれるセレン酸やエルカ酸を含むことが指摘されている。これら炭素数が22個の脂肪酸は多量に摂取するとそれが心臓や肝臓に蓄積し、ミトコンドリア機能を変えたり、ペルオキシソーム(細胞小器官の一種で各種の酸化酵素を含む)誘導を引き起こしたりするともいわれ、この意味においてはDHAも過剰に摂取すれば同様の危険が生じることが懸念される⁶⁷⁾。また一方で魚油そのものはもちろんのこと、市販のEPAカプセルでさえHUFAと同量の飽和脂肪酸が入っている場合もみられ⁶⁸⁾、この場合にはLDLを減らす効果は期待できないことになってしま

う。以上の点から、やはり魚油といえども適量摂取が原則となることは他の栄養素と全く同様である。さらに付け加えるならば、HUFAの摂取に当たっては摂取後の生体内酸化により体内に有害な活性酸素の発生を防ぐためにトコフェロールや地域によってはグルタチオンペルオキシダーゼ(体内過酸化水素の除去酵素)を賦活化するセレンを併せて摂る等の工夫が必要であることを忘れてはならない。

4 高度不飽和脂肪酸の調製

4・1 化学的・物理的方法

いわし油を液体窒素で-40℃~-80℃に急冷し、速やかに汙過すると汙液にHUFAが濃縮される。この方法は脱ろう、あるいは低温溶媒分別法と呼ばれ、最大40%程度までのHUFAの濃縮が可能であり⁶⁹⁾、変質もほとんど起こらない。しかしかつお油のようにこの方法を適用できない場合もあり、またエネルギーの消費量も決して少ないとはいえない。HUFAの濃縮限界が40%前後にとどまる最大の理由はその分子種組成にある。まだ充分には明らかにされていないが、比較的脱ろうが容易ないわし油でさえEPAとDHAのみより成るTG分子種は少なく、二酸型、三酸型の分子種が圧倒的に多いといわれる。したがってHUFAそのものの融点は低くても、同一分子内の他の脂肪酸の融点が高ければ全体としての融点は平均化されてしまうことになり、融点差による分離は不十分となる。かつお油ではこのことに加え、TG分子内にHUFAを一個しかもたない分子種がさら

に多く存在し、しかも HUFA を全く含まない TG 分子種がいわし油よりも少ない。このことは脱ろうそのものをも困難にする原因となる⁷⁰⁾。

以上の理由により魚油に化学的処理もしくは酵素処理をすることなしに HUFA を高濃度にするのは今の時点では不可能である。そこで通常はまず魚油を加水分解して遊離脂肪酸 (FFA) を得るか、アルコールシスによって EE を得、これらを低温溶媒分別法⁷¹⁾ や尿素付加法⁷²⁾、塩形成法⁷³⁾、超臨界二酸化炭素抽出法^{74)~79)} 等にして高濃度の HUFA を得ることが行われている。これらの手法によって 70% 程度の濃縮は比較的容易に達成される⁸⁰⁾。筆者が訪ねたシアトルの National Marine Fisheries Service では尿素付加法と超臨界二酸化炭素抽出法の組み合わせで 96% 純度の EPA を得ることに成功している⁸¹⁾。同研究所の試算によると 90% 純度の EPA は 10 lb/d 程度の小プラントで原料費を除き 1 lb 当たり 100 ドル程度という。超臨界二酸化炭素抽出法よりも経費のかからない尿素付加法でも 0.01% の没食子酸オクチルの併用によって魚原油 1 kg から 265 g (85% 濃度) の HUFA の調製に成功した例がある⁸²⁾。その他、動物投与実験のためのみの用途としては EPA を δ -ラクトン化合物、DHA を γ -ラクトン化合物に改変し、EPA と DHA の安定性の差を利用して両者を分けて得る方法もあり^{83)、84)} また経費はかかるが確実な方法として分取 HPLC を用いる方法^{85)、86)} が既に 4 年前より工業化されている。

ごく最近、DHA と銀イオンの間に強い引力が働くことを応用して低廉に DHA を取り出す技術が発表された^{87)~89)}。銀化合物と不飽和脂肪酸が可逆的に極性複合体を形成することを応用した順相クロマトグラフィーは古くから知られていたもので着想そのものはいわゆるコンプスの卵であるが、硝酸銀の安定的使用と漏出防止法が工夫点となっている。

農林水産省の主導によって“食品産業におけるハイセパレーションシステムの開発”の各関連プロジェクトが機能し、脂質関連の分野においても膜分離技術の応用による脂質関連生理活性物質の分離精製が成功しつつあり、今後の進展が期待されている。

4・2 酵素の利用

大量にしかも連続的に脂肪酸やグリセリンを得る目的で高圧分解法が現在広く用いられている。しかし HUFA のように不安定な脂肪酸を比較的小規模に生産しようとする場合には酵素の利用の方が向いている場合も少なくない。しかも酵素の基質特異性 (脂肪酸特異性や部分アシルグリセリン特異性) や位置特異性をも活用できれば、物理的性質の極めて接近した多くの脂肪酸の中から目的の脂肪酸だけを分画することも可能となり、はかりしれない魚油の高度利用が将来期待できよう。

このような理由から最近種々のリパーゼを用いた魚油の改質に関する研究が活発化してきた。リパーゼやホスホリパーゼの利用法と理論に関しては本号の“脂質関連酵素の利用”に詳しいのでここでは概略を紹介するにとどめることにする。

魚油の改質にリパーゼの基質特異性を利用した研究は昭和 58 年の村瀬らの研究⁹⁰⁾ に端を発している。その後安田ら⁹¹⁾ によっても *Candida cylindracea* の産生するリパーゼは相対的に DHA をグリセリン残基に残すことが見いだされ、同氏らはエステル交換の併用によって 2 倍程度の HUFA 濃縮に成功している。星野と山根によってもこのことが確認され、さらに同氏らは *Aspergillus niger* によっても HUFA が 2 倍以上濃縮されることを明らかにしている^{92)~94)}。 *Aspergillus niger* はジアシルグリセリン (DG) をある程度蓄積するので完全な 1,3-位置特異性リパーゼとはいえないが魚油は sn-2 位に HUFA をより多く結合している⁹⁵⁾ といわれるので、本酵素の場合は基質特異性のみならず位置特異性も HUFA の濃縮に関与しているものと思われる。なお、アシル基転移による未水解アシルグリセリンの回収量低下を防ぐためには、反応温度を 15~40°C の範囲に設定することが必要であることが知られている。一般に上記のような *Candida cylindracea* や *Aspergillus niger* に限らず DHA はリパーゼの加水分解作用を受けにくいといわれる。この理由は定かではないが、カルボキシル基近くに二重結合をもつとリパーゼの作用を受けづらくなることが経験的に知られているほか、Bottino ら⁹⁶⁾ は HUFA の分子形状に由来する末端メチル基のエステル結合部に対する立体障害を挙げている。Brockerhoff⁹⁷⁾ は脂肪酸残基の $\Delta 2 \sim \Delta 5$ の間に二重結合を導入すると加水分解されづらくなることをみている。一方、DHA に限らず中野と木村^{98)、99)} によって EPA をグリセリン残基に残すリパーゼを産生する微生物も見いだされている。

このようにリパーゼの特異性を利用した HUFA の濃縮が研究されている一方で、HUFA の濃縮を加水分解後の工程に譲り、加水分解そのものの効率を上げようとする試みも現在並行して行われている。村瀬ら¹⁰⁰⁾ は位置特異性を有するリパーゼと有しないリパーゼを併用して加水分解率を向上できることを見だし、さらに脂肪酸族アルコール (一価) を添加することによって逆反応である合成反応を抑制し、一層の加水分解反応の促進が可能となることを発表している¹⁰¹⁾。これによって工業ベースにのるといわれる 90% 以上の加水分解率を得ることが既に可能となった。一方藤吉ら¹⁰²⁾ はこの 2 年後にこれとほぼ同等かそれ以上 (95% 前後) の加水分解率を *Aspergillus japonicus* の単独使用で得ることに成功している。

さて、4・1で述べたように加水分解後のFFAもしくは脂肪酸エステルを濃縮する常とう(套)手段は物理的あるいは化学的方法であった。しかし最近 *Mucor miehei* 由来の固定化酵素(リパーゼ)をFFAと脂肪酸MEの混合液中で作用させることによりFFA画分にDHAを濃縮する方法や、同酵素を触媒とするアシドリシスによってもFFA画分にDHAが残存し、濃縮が可能になるという報告¹⁰⁹⁾も出ており、リパーゼの脂肪酸特異性を活用した方法として関心がもたれている。さらに *Hills* ら¹⁰⁰⁾も同固定化酵素によって混合脂肪酸のブチル化反応を行い、平衡になる前に反応を停止すれば未反応物中にDHAが濃縮できることをみている。また同氏らはなたね由来のリパーゼによっても同様の方法によってDHAを濃縮できることを見いだしている¹⁰⁵⁾。これらはいずれもたら肝油を原料としているが、他の水産油脂にも適用できることは明らかである。

5 組み立て脂質

5・1 高濃度高度不飽和脂肪酸含有単純脂質の合成

先にも述べたように従来の“機能性食品”は“特定保健用食品”と名称を変え、栄養改善法第12条に規定する特殊栄養食品の一つとして位置づけられることになった。これによってヘルスクレーム(食品の健康強調表示)の国際的整合性への路が開かれ、今後いよいよ本格化段階に入るものと思われる。

EPAやDHAを摂取する形態にはTG, DG, MG, EE, FFA, リン脂質の6種類が考えられる。このうちいずれの形態を選択すべきかは目的によって異なる。すなわち食品としての利用を主眼とする場合にはアシルグリセリンやリン脂質が向いており、即効性を重視して糖尿病用薬剤やリュウマチ性関節炎の治療に用いるにはFFAが向いているともいえる。

リパーゼを用いたアシルグリセリンの合成は *Iwai* ら¹⁰⁶⁾の研究に端を発し、HUFA含有TGの合成に関しては *山田と藤田*¹⁰⁷⁾の試みが最初であろう。 *船田と田中*^{108)~111)}は *Candida cylindracea* と *Chromobacterium viscosum* のリパーゼの特性を活用し、ヘテロ型バイオリクターによる魚油の改質の連続化に成功している。油-水の酵素反応のように不均一の反応系に適したバイオリクターの開発に当たっては①乳化剤を用いずに酵素水溶液中に油脂を効率的に分散させて反応の効率を高めること②酸素に対して極めて安定性の悪い魚油を基質に使うため、空気を反応系中に巻き込むリアクターは避けること③連続運転が可能なこと等の点が基本概念となる。①に関しては分散板を多段化することによって油脂と酵素液との接触面積の拡大と界面の更新を図っており、②と③に関しては空げき(隙)が全くなくしかも油脂と酵素液との比重差のみによって油脂がリアク

ター内を移動する穏やかな様式とすることで油脂の酸化を防ぐとともに連続化を可能にしている。加水分解反応生成物からの部分アシルグリセリンの回収には遠心液々クロマトグラフィーを用いている。これによりFFAをほとんど含まない高濃度部分アシルグリセリンを連続的に得ることができ、次ぎのエステル交換工程に移って改質TGが製造されることになる。この他魚油にも適用できるエステル交換法として高橋と蔵重¹¹²⁾、国生ら¹¹³⁾の特許、MGに所望の脂肪酸を導入する岡畑¹¹⁴⁾の特許がある。

一方、エステル交換反応によらなくても単にHUFAを高濃度に含む混合FFAから直接 *Chromobacterium viscosum* 由来の酵素で高濃度HUFA-TGを合成する方法もある。HUFAが69%程度の混合FFAから少なくとも65%以上のHUFAを含むTGを合成した例がある。またそのとき合成されたTG中にはHUFAをTG分子内に2個以上含む分子種が半分以上を占めていたといわれる^{115)・116)}。

5・2 高度不飽和脂肪酸含有複合脂質の合成

リン脂質の中でもとくにHUFAを含有するリン脂質の機能(本号の“リン脂質”を参照)については最近次々と明らかにされ、これと連動するかのよう厚生省の主導によるHUFA含有リン脂質の生理機能の解明、水産庁主導によるHUFA含有リン脂質の給源調査と抽出、通産省主導によるHUFA含有リン脂質の製造技術の開発といったプロジェクトが既に機能し始めている。HUFA含有リン脂質の合成に関する研究は戸谷ら^{117)・118)}、稲田ら^{119)・120)}、Yagiら¹²¹⁾(γ -リノレン酸)によるホスファチジルコリン(PC)やホスファチジルエタノールアミン(PE)と魚油TGもしくは所望のFFAとのエステル交換反応の応用に始まる。エステル交換反応によるHUFA含有リン脂質の合成に関しては無機触媒による化学合成も試みられてはいるが、著しい着色が大きな問題とされている。また、グリセロホスホリルコリン(またはグリセロホスホリルエタノールアミン)とHUFA-FFAから酸無水物法、酸クロリド法によってPC(またはPE)を製造する方法もあるが、脱水縮合剤、塩酸等の触媒によるHUFAの著しい劣化が問題視されている。

以上の点から、良質のものを得るといった観点からは明らかに酵素法が他の方法よりも優れているが、現時点では収量そのものが低いことが最大の欠点となっている。

一方、リン脂質分子内での脂肪酸の占める結合位置もその活性発現に大きく影響することが昨今明らかにされつつある。養魚餌料においてはsn-2位にHUFAのついたリン脂質が望ましい場合があり¹²²⁾、また松本ら¹²³⁾は一昨年sn-2位にDHAを有するPCがアラキドン酸

のロイコトリエンへの転換に対し強い抑制能を示したことを報告している。その中で同氏は *sn*-1 位にオレイン酸, *sn*-2 位に DHA を有する PC が両方に DHA を有する PC よりもその抑制能が高いことも報告している。

リン脂質の *sn*-2 位に HUFA を集中化させる研究は Na¹²⁴⁾, Pernas¹²⁵⁾, 筆者ら^{126), 127)} によって相次いで行われた。このうち衛生上問題がないと思われる反応系はグリセリンを分散媒に選んだ系だと考える。しかもこの場合には PC の合成率においても優れるといった効果もみられる。Table-1 にこのときの合成に用いた基質の脂肪酸組成, 合成率, 合成された PC の *sn*-1 位, *sn*-2 位それぞれの脂肪酸組成を示す。これら一連の研究で成否を決めるかぎは水分量の調節と基質の効果的分散である。現在, 反応率が低いことの理由の一つに基質の分散が必ずしも充分でないことが挙げられよう。一般にリパーゼは水溶性であるため有機溶媒との接触により失活する場合が多く, また基質となる脂質もほとん

どの場合親油性で水に不溶である。したがって反応系は不均一な 2 層系となり, 必要以上の水が存在すると加水分解方向へ平衡が傾き, エステル交換や合成が進行しなくなる。今後はこういった点の改善・最適化が課題となる。

現在工業的にブタすい臓由来のホスホリパーゼ A₂ を用いて, 大豆レシチンを原料として比較的低廉にリゾリン脂質を造れるようになった。またホスホリパーゼ A₂ は DNA 組み換え法による酵母での生産¹²⁸⁾ も検討されており, 工業規模での HUFA 含有複合脂質の生産は決して実現性の乏しいものではない段階に入ったといえよう。

6 今後へ向けて

平均寿命からみるとわが国は現在世界一の長寿国となっている。ところが国民の有病率からみると明らかに以前より悪化しており, この傾向は今後ますます助長されるものと予想される。厚生省ではこのような傾向に歯

Table-1 Fatty acid composition of substrates, synthesized PC and the *sn*-1 and *sn*-2 of it obtained by phospholipase A₂ esterification^{126), 127)}.

Prepared as substrates

Substrate	Fatty acid (%)					
	16 : 0	18 : 0	18 : 1	18 : 2	20 : 5	22 : 6
LPC	23.6	6.9	11.3	50.5	0.2	0.0
Fatty acid mixture from fish oil---(A)	15.2	4.0	15.2	2.0	14.0	8.9
EPA, DHA concentrated fatty acid mixture from fish oil---(B)	0.5	4.4	1.9	0.9	42.2	25.9

Synthesized PC

Substrate	Yield (%)*	Fatty acid (%)					
		16 : 0	18 : 0	18 : 1	18 : 2	20 : 5	22 : 6
from substrate A	13.8	19.8	4.8	13.3	29.3	6.0	4.0
from substrate B	14.8	12.6	5.2	7.4	28.0	20.1	11.2
from 99.4% EPA	15.9	12.3	3.4	6.5	26.4	45.1	0.0

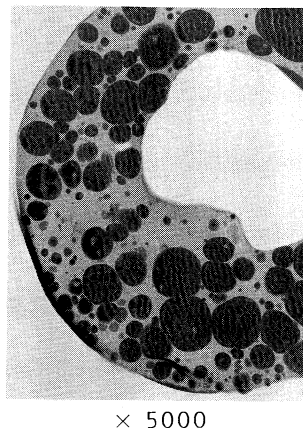
Synthesized PC from substrate A

Fatty acid	Synthesized PC		
	Total	<i>sn</i> -1	<i>sn</i> -2
16 : 0	19.5	23.1	14.6
18 : 0	6.0	7.2	3.9
18 : 1	12.4	11.4	13.6
18 : 2	32.8	51.5	8.9
20 : 5	8.5	0.2	16.0
22 : 6	4.9	0.0	9.5

*PC%/Phospholipid.

止めをかけるために“アクティブ 80 ヘルスプラン”という計画を立てている。この“80”とはいうまでもなく 80 歳の意味であり、80 歳になっても健やかにしかも active に過ごそうという願いが込められている。しかるにわが国の平成若年者層の間ではアメリカ人の子供よりも血中総コレステロール量が多い人の数が著しく増えており、わが国が長寿世界一の座を追われることも一世代を待たずしてくるようにもみうけられる。このことに加えてこのところ乳幼児を中心にアトピー性皮膚炎が非常な勢いで増えているが、この理由の一つに *n*-6 系脂肪酸/*n*-3 系脂肪酸比のインバランスが挙げられている。すなわち皮膚にロイコトリエン B_4 が増えると種々の皮膚疾患が起こることが知られているが、アトピー性皮膚炎の病因にもロイコトリエン B_4 が重要な役割を果たしているというのである。いうまでもなくロイコトリエン B_4 はアラキドン酸から産生されるので、EPA を摂れば皮膚疾患の原因とはならないロイコトリエン B_5 を産生させて体内でのロイコトリエン B_4 の産生をきつ(拮)抗的に抑制することになる^{129)・130)}。したがってこういった方面からも EPA が注目されるところとなっており、これからの日本人が EPA や DHA を日常的に摂取していくことはますます重要になっていくであろう。

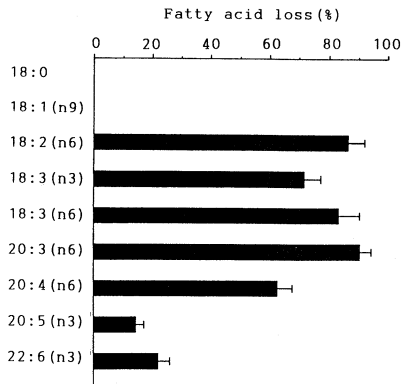
一方、最近 EPA や DHA を中心とした HUFA を積極的に摂取することに対して異論をとなえる論文が奥山⁶⁷⁾によって出され(本号“植物性不飽和油脂の利用”参照)話題になっている。欧米ではまず油脂の摂取総量を減らすことが第一目的とされ、油脂の質(脂肪酸の質)の問題はどちらかといえば次ぎの問題であるとされている¹³¹⁾。しかし現実には従来までの脂肪摂取過多の食生活様式を大きく変えることは難しく、“量”と“質”の問題のうち取り組みやすいものから始めようといった状況にある。そのあらわれが冒頭でも述べた植物油代替(未水添魚油混合)マーガリンやスプレッドの製造の試みの例であろう。わが国においても食生活が急速に欧米化している今日、油脂摂取の総量を減らすということは脂質とは全く化学構造の異なった油脂代替品(一部には例あり¹³¹⁾)でも開発されない限りほとんど不可能である。こうしたことを考え合わせると、現実的な対応策としてはいかに現在の油脂摂取総量を超えないように維持し、いかにリノール酸を *n*-3 系脂肪酸に置き換えることができるかという問題に帰属されてくるように思われる。3・1でも述べたように精製直後の魚油は無臭である。したがってこの状態を維持できれば理屈の上ではリノール酸の代替がきくことになる。問題はこれを可能とするためにいかに酸素を遮断したり、いかに HUFA を安定化させるかである。酸素を遮断する方法としてはデキストリン¹³²⁾、卵白ペプチド (Fig.-1)¹³³⁾、シクロデキストリン等で包埋するマイクロカプセル化の技術が開発されて



× 5000

Fig.-1 A cross-sectional view of albumen glair peptide micro capsule of EPA rich oil¹³³⁾.

いる。シクロデキストリンによる HUFA のマイクロカプセル化には前向きになれないとする向きもあるが、食品工業上扱いやすくするためには粉末化することが極めて効果的であることは疑う余地がない。しかし反面、食品素材の一部としての油脂そのもののもつ良さを活かそうとすればそのままの形で利用する形態を重視する見方も当然出てくる。この際には抗酸化剤の併用や油脂の安定性を賦与する天然物質の添加が必然となろう¹³⁴⁾。天然酸化防止性物質に関する研究は昔から広く行われており、各種の香辛料、茶、生薬に関する研究は枚挙にいとまがない¹³⁵⁾。このところセサモールやその誘導体の酸化防止性^{136)・137)}も注目されているがいずれも価格や供給量の点で α -トコフェロールよりも不利となっている。しかし今後は積極的にこれらの酸化防止性物質を組み合わせることによって HUFA 含有油の特性を活かした食品を開発できる可能性は充分にある。また先に述べたように水産物は多くの場合それ自身は天然酸化防止性物質の含量が非常に低いが、その中に含まれているリン脂質がトコフェロールと相乗的に酸化防止性を発揮する場合がみられ^{138)~142)}、そのほか理由は明らかではないがハタハタの脂質やイカのリン脂質¹⁴³⁾が酸化防止性を示すという報告もある。したがって場合によってはこれらの脂質を混合することによっても HUFA 含有油の安定性を賦与することができることも考えられ、魚油の利用方途拡大にむすびつく可能性もある。さらに付け加えるならば HUFA 含有油の食品への添加形態の工夫によっても、新たな魚油の利用拡大が見込めよう。すなわち HUFA を水中分散させた場合は著しく酸化速度が遅いとする報告が出されており (Fig-2)^{144)・145)}、食品への添加形態の工夫によって抗酸化剤にそれほど頼らずに消費拡大を図れる可能性もある。事実、野中らによって魚肉の水中粉碎の技術が確立されており¹⁴⁶⁾、これによ



Fatty acid oxidation, expressed by the fatty acid loss in percent, was estimated by calculating the difference between the initial concentration of fatty acid and the concentration after 24h of UV irradiation. Peroxidation conditions: Five mL each of different fatty acid aqueous solution (2 mM) was exposed to UV light (254 nm) at 23°C for 24 h. Each sample was assayed in duplicate. Evaporation of solvent during the exposition was negligible. Results are the mean values of six determinations.

Fig.-2 Fatty acid oxidation as a function of degree of unsaturation^{140, 145}.

て得られる魚油は傷みがほとんどないといわれる。この理由については定かではないが、ビタミンEの濃縮効果¹⁴⁷⁾のほか空気の遮断や水のラジカル水和作用¹⁴⁸⁾が一因とも考えられる。HUFAの水中分散はまた生体吸収利用率も大幅に向上させるとする報告¹⁴⁹⁾があり、今後大いに検討すべき点である。

7 おわりに

厚生省機能性食品検討委員会報告書(1990年)によれば、機能性食品は“日常的”なものでなければならない。現在われわれはいろいろな形で毎日油脂類を相当量摂取している。したがってこの極めて日常的な食用油脂類の摂取総量を現在の水準に抑え、質的に少しでも改善できればその恩恵ははかりしれない。

昨年、日常的な食品の代表格である豆腐にHUFAを添加したものが出願され¹⁵⁰⁾、これと前後して各方面でEPAやDHAを各種食品に添加した場合の影響を検討することが盛んに行われるようになった。しかし筆者個人の見解としてはHUFAの食品への“添加”よりは食品中の油脂の“置き換え”に関する技術を推進すべきと考えている。そのためには対象とする食品に合った脂質を調製することが必要であり、筆者が“組み立て脂質”なることを提唱するゆえんでもある。

[平成3年(1991年)4月30日受理]

文 献

- 1) Anon., *Inform*, 1, 114 (1990)
- 2) Anon., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 1717 (1989)
- 3) Anon., *Inform*, 1, 952 (1990)
- 4) Anon., *Inform*, 1, 731 (1990)
- 5) 矢澤一良, “マリンバイオ”, 株式会社シーエムシー, (1989), p. 99
- 6) 矢澤一良, 荒木恵子, 渡部和郎, 石川千夏子, 井上玲, 近藤 聖, 渡部終五, 橋本周久, 日水誌, 54, 1835 (1988)
- 7) 新免芳史, 月刊フードケミカル, 1990 (12), 53
- 8) 清水 昌, 山田秀明, 月刊フードケミカル, 1991 (1), 71
- 9) Anon., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 1531 (1989)
- 10) 木村省二, 藤本健四郎, 西川正純, 公開特許, 平2-49723
- 11) 島村馬次郎, “水産油糧学”(外山健三, 高木 徹, 渡辺武 編), 恒星社厚生閣, (1988), p. 133
- 12) 渡辺 武, “養魚と飼料脂質”(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, (1978), p. 93
- 13) 手島新一, “養魚と飼料脂質”(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, (1978), p. 60
- 14) 竹田正彦, “養魚と飼料脂質”(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, (1978) p. 78
- 15) 渡辺 武, “水産油糧学”(外山健三, 高木 徹, 渡辺武 編), 恒星社厚生閣, (1988), p. 171
- 16) Anon., *Inform*, 1, 638 (1990)
- 17) 小泉千秋, “水産食品学”(須山三千三, 鴻巣章二編), 恒星社厚生閣, (1987), p. 184
- 18) M. E. Stansby, *Food Tech.*, 16, 28 (1962)
- 19) 中村弘二, 岡崎恵美子, 小堺由美子, 平成3年度日本水産学会春季大会, 講演要旨集 (1991), p. 857
- 20) T. Miyazawa, M. Yamaguchi, J. Lee, K. Fujimoto, T. Kaneda, *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1375 (1984)
- 21) K. Fujimoto, “Flavor Chemistry of Lipid Foods”(D.B. Min, T.H. Smouse 編), *Am. Oil Chem. Soc.*, (1989), p. 190
- 22) G. R. Mizuno, E. McMeans, J. R. Chipault, *J. Agric. Food Chem.*, 14, 229 (1966)
- 23) G. Jellinek, M. E. Stansby, *Fish. Bull.*, 69, 215 (1971)
- 24) P. W. Meijboon, J. B. A. Stroink, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 49, 555 (1972)
- 25) A.C. Noble, W.W. Nawar, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 48, 800 (1971)
- 26) P. J. Ke, R. G. Ackman, B. A. Linke, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 349 (1975)
- 27) C. Karahadian, R.C. Lindsay, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 953 (1989)
- 28) H. T. Badings, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50, 334, (1973)
- 29) E. N. Frankel, “Flavor Chemistry of Fats and Oils”(D.B. Min, T.H. Smouse 編), *Am. Oil Chem. Soc.*, (1985)

- 30) L. Crawford, M.J. Kretsch, D. Guadagni, *J. Sci. Food Agric.*, **27**, 531 (1976)
- 31) J.G. Kepper, J.A. Schols, W.H. Feensta, P. W. Meijboom, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 246(1965)
- 32) C. Karahadian, R.C. Lindsay, *J. Am. Oil Chem., Soc.*, **67**, 85 (1990)
- 33) M. Takao, *US Pat.* 4,554,107 (1985)
- 34) M. Takao, *US Pat.* 4,623,488 (1986)
- 35) 太田静行, “魚臭・畜肉臭”(太田静行編), 恒星社厚生閣, (1981), p. 89
- 36) N. Ikeda, K. Fukuzumi, *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)*, **27**, 26 (1978)
- 37) S. Cho, K. Miyashita, T. Miyazawa, K. Fujimoto, T. Kaneda, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 876 (1987)
- 38) S. Cho, Y. Endo, K. Fujimoto, T. Kaneda, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 545 (1989)
- 39) 藤本健四郎, 水産の研究, **8**, 56 (1989)
- 40) 羽田野六男, 高橋是太郎, 平成元年度水産物健康性機能有効利用開発研究の成果の概要(水産庁研究部研究課)(1989), p. 260
- 41) *Anon., Inform.*, **1**, 987 (1990)
- 42) R.G. Ackman, *Acta Medica Scandinavica*, **222**, 99 (1987)
- 43) X. Yan, P.J. Barlow, C. Craven, *Food Chem.*, **40**, 93 (1991)
- 44) R.G. Ackman, N.C. Shantha, A. M. Timmins, *Inform*, **4**, 296 (1990)
- 45) A.F. Prevot, F.X. Mordret, *Rev. Fse. Corps Gras.*, **23**, 409 (1976)
- 46) T. Tande, T. Granvik, *Inform*, **1**, 302 (1990)
- 47) L. D. Metcalfe, C.N. Wang, *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 530 (1981)
- 48) *Anon.*, スペルコリポーター, **9**, 4 (1989)
- 49) 和田 俊, “水産動物の筋肉脂質”(鹿山 光 編), 恒星社厚生閣, (1985), p. 9
- 50) K. Takahashi, T. Hirano, K. Takama, K. Zama, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **48**, 1803 (1982)
- 51) T. Ohshima, S. Wada, C. Koizumi, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49**, 123 (1983)
- 52) 大島敏明, 小泉千秋, 日水誌, **49**, 1205 (1983)
- 53) 大島敏明, 和田 俊, 小泉千秋, 日水誌, **49**, 1213(1983)
- 54) 大島敏明, 和田 俊, 小泉千秋, 日水誌, **49**, 1397(1983)
- 55) 大島敏明, 和田 俊, 小泉千秋, 日水誌, **50**, 107(1984)
- 56) T. Ohshima, S. Wada, C. Koizumi, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**, 2091 (1984)
- 57) K. Takahashi, H. Ebina, M. Egi, K. Matsumoto, K. Zama, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 1475 (1985)
- 58) K. Takahashi, M. Egi, K. Zama, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 1487 (1985)
- 59) K. Takahashi, *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **32**, 245 (1985)
- 60) 高橋是太郎, “水産動物の筋肉脂質”(鹿山 光 編), 恒星社厚生閣, (1985), p. 24
- 61) 和田 俊, “総合脂質科学”(鹿山 光 編), 恒星社厚生閣, (1989), p. 110
- 62) K. Takahashi, T. Hirano, *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)*, **40**, 277 (1991)
- 63) *Anon., Inform*, **1**, 638 (1990)
- 64) M.M. Mahfouz, S. Johnson, R.T. Holman, *Lipids*, **15**, 100 (1980)
- 65) *Biochim. Biophys. Acta*, **663**, 58 (1981)
- 66) E. A. Emken, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 439 (1989)
- 67) 奥山治美, 化学と生物, **28**, 175 (1990)
- 68) K.M. Chee, J.X. Gong, D.M. G. Ree, M. Meydani, L. Ausman, J. Johnson, E. N. Siguel, E. J. Schaefer, *Lipids*, **25**, 523 (1990)
- 69) 片平亮太, “健康食品の精製・加工技術. 健康食品開発マニュアル”(岩尾裕之他共著), 株式会社シーエムシー, (1983)
- 70) 高橋是太郎, 澤田哲志, 羽田野六男, 平成3年度日本水産学会春期大会講演要旨集, (1991), p. 272
- 71) F.D. Gunstone, J.L. Harwood, “The Lipid Handbook”(F.D. Gunstone, J.L. Harwood, F.B. Padley 編), Chapman and Hall, (1986), p. 171
- 72) V.F. Stout, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**, 40(1963), and its references.
- 73) 佃 伸夫, 食品工業, **28**(9下), 30 (1985)
- 74) W. Eisenbach, *Ber. Bunsenges. Phy. Chem.*, **88**, 882 (1984)
- 75) 齊藤功夫, 食品工業, **28**(9下), 37 (1985)
- 76) W.B. Nilsson, V.F. Stout, J.K. Hudson, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 470 (1986)
- 77) W.B. Nilsson, E.J. Gauglitz, J.K. Hudson, V. F. Stout, J. Spinelli, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 109 (1988)
- 78) W.B. Nilsson, E.J. Gauglitz, J.K. Hudson, F. M. Teeny, *Am. Oil Chem. Soc. Annual meeting*, (1988)
- 79) W.B. Nilsson, E.J. Gauglitz, J.K. Hudson, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 1596 (1989)
- 80) R. G. Ackman, *Chem. Ind. London*, 1988, 139
- 81) *Anon., Inform*, **1**, 814 (1990)
- 82) N. Haagsma, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**, 117 (1982)
- 83) S.W. Wright, E.Y. Kuo, E.J. Corey, *J. Org. Chem.*, **52**, 4399 (1987)
- 84) E.J. Corey, S.W. Wright, *J. Org. Chem.*, **53**, 5980 (1988)
- 85) D.R. Tocher, A. Webster, J.R. Sargent, *Bio-technol. Appl. Biochem.*, **8**, 83 (1986)
- 86) S. Tokiwa, A. Kanazawa, S. Teshima, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**, 675 (1981)
- 87) 日経産業新聞, 平成3年4月4日号
- 88) 日刊工業新聞, 平成2年11月24日号
- 89) 欠澤一良, 渡部和郎, 石川千夏子, 齊藤政則, 近藤聖, 平成3年度日本水産学会春期大会講演要旨集, (1991), p. 269
- 90) 村瀬行信, 鈴木一昭, 齊藤房幸, 公開特許, 昭58-165796
- 91) 安田 聖, 松本 渉, 中井英二, 公開特許, 昭60-234589

- 92) T. Hoshino, T. Yamane, S. Shimizu, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1459 (1990)
- 93) 星野 保, 山根恒夫, 清水祥一, *農化誌*, **64**, 241(1990)
- 94) 山根恒夫, 星野 保, *Bio Industry*, **7**, 47 (1990)
- 95) H. Brockerhoff, *J. Lipid Res.*, **6**, 10 (1967)
- 96) N.R. Bottino, G.A. Vandenberg, R. Reiser, *Lipids*, **2**, 489 (1967)
- 97) H. Brockerhoff, *Biochim. Biophys. Acta.*, **212**, 92 (1970)
- 98) 中野 章, 木村義晴, 公開特許, 昭61-15692
- 99) 中野 章, 木村義晴, 公開特許, 昭61-15693
- 100) 村瀬行信, 鈴木一昭, 中井英二, 公開特許, 昭60-130396
- 101) 村瀬行信, 鈴木一昭, 松本 渉, 中井英二, 公開特許, 昭60-234590
- 102) 藤吉隆司, 横江正明, 間瀬民生, 公開特許, 昭62-171691
- 103) P. Langholz, P. Andersen, T. Forskov, W. Schmidtsdorff, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 1120 (1989)
- 104) M.J. Hills, I. Kiewitt, K.D. Mukherjee, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**, 561 (1990)
- 105) M.J. Hills, I. Kiewitt, K.D. Mukherjee, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1042**, 237 (1990)
- 106) M. Iwai, Y. Tsujisaka, J. Fukumoto, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **10**, 13 (1964)
- 107) 山田 理, 藤田 匡, 公開特許, 昭62-91188
- 108) Y. Tanaka, J. Hirano, R. Hashizume, T. Okuchi, T. Funada, ISF-JOCS World Congress 1988, Abstracts, (1988), p. 291
- 109) Y. Tanaka, J. Hirano, R. Hashizume, T. Okuchi, T. Funada, Proceedings of Session Lectures and Scientific Presentations on ISF-JOCS World Congress 1988, (1988), p. 1083
- 110) 船田 正, 田中幸久, *食品工業*, **20** (1989)
- 111) 田中幸久, *油脂*, **42**, 234 (1989)
- 112) 高橋弘憲, 蔵重 淳, 公開特許, 平1-120295
- 113) 国生純孝, 大島章夫, 角田 昭, 岩崎慎二郎, 公開特許, 平1-137988
- 114) 岡畑恵雄, 公開特許, 昭64-80297
- 115) 長田恭一, 高橋是太郎, 羽田野六男, 平成2年度日本水産学会春期大会講演要旨集, (1990), p. 230
- 116) 長田恭一, 高橋是太郎, 羽田野六男, 細川雅史, *日水誌*, **57**, 119 (1991)
- 117) 戸谷洋一郎, 渡部 健, 原 節子, 第44回日本栄養・食糧総会講演要旨集, (1990), p. 77
- 118) 原 節子, 渡部 健, 戸谷洋一郎, 第29回油化学討論会・油化学研究発表会講演要旨集, (1990), p. 189
- 119) 稲田裕二, 公開特許, 昭63-105686
- 120) T. Yoshimoto, T. Nakata, S. Yamaguchi, T. Funada, Y. Saito, Y. Inada, *Biotechnol. Lett.*, **8**, 771 (1986)
- 121) T. Yagi, T. Nakanishi, Y. Yoshizawa, F. Fukui, *J. Ferment. Bioeng.*, **69**, 23 (1990)
- 122) 手島新一, 金沢昭夫, 堀之内浩司, 昭和61年度日本水産学会春期大会講演要旨集, (1986), p. 41
- 123) 松本啓次郎, 森田育夫, 日比野英彦, 平野次郎, 室田誠逸, *生化学*, **61**, 1078 (1989)
- 124) A. Na, C. Eriksson, S.G. Eriksson, E. Osterberg, K. Holmberg, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**, 766 (1990)
- 125) P. Pernas, J.L. Olivier, M.D. Legoy, G. Bereziat, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **168**, 644 (1990)
- 126) 細川雅史, 高橋是太郎, 羽田野六男, 赤澤治夫, 平成3年度日本水産学会春期大会講演要旨集, (1991), p. 274
- 127) 細川雅史, 高橋是太郎, 羽田野六男, 江木 衷, *食工誌*, **38**, 695 (1991)
- 128) 伊東裕四, *月刊フードケミカル*, **1990** (12), 29
- 129) C.C. Miller, R.Y. Yamaguchi, V.A. Zibou, *Lipids*, **24**, 998 (1989)
- 130) 鳥居新平, “アレルギーの衣食住チェック”, 農産漁村文化協会, (1990), p. 155
- 131) 長光正明, 高橋禮治, *New Food Industry*, **33** (2), 53 (1991)
- 132) *化工日報*, 平成2年12月4日号
- 133) 濱千代善規, 長谷川峯夫, *New Food Industry*, **31** (9), 12 (1989)
- 134) 齊藤洋昭, *食品工業*, **33** (6), 35 (1990)
- 135) 山口直彦, *New Food Industry*, **32** (1), 68, (1990)
- 136) T. Osawa, M. Nagata, M. Namiki, Y. Fukuda, *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3351 (1985)
- 137) 大澤俊彦, *油化学*, **38**, 839 (1989)
- 138) J. Lee, K. Fujimoto, T. Kaneda, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**, 881 (1981)
- 139) J. Lee, K. Fujimoto, T. Kaneda, *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2001 (1983)
- 140) J. Lee, K. Fujimoto, T. Kaneda, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**, 1863 (1984)
- 141) 豊水正道, *日水誌*, **50**, 1245 (1984)
- 142) 豊水正道, *日水誌*, **50**, 1897 (1984)
- 143) I. Komatsu, T. Yasuda, T. Suzuki, K. Fukunaga, S. Suzuki, K. Takama, *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **41**, 232 (1990)
- 144) E. Bruna, E. Petit, M. Beljian-Leymarie, S. Huynh, A. Nouvelot, *Lipids*, **24**, 970 (1989)
- 145) 影山治夫, *月刊フードケミカル*, **1990** (11), 106
- 146) 野中道夫, “魚肉の栄養成分とその利用”(竹内昌昭編), 恒星社厚生閣, (1990), p. 88
- 147) 川崎賢一, 大泉 徹, 本江 薫, 野中道夫, 平田史生, 佐伯宏樹, 平成元年度日本水産学会春期大会講演要旨集, (1989), p. 264
- 148) 豊水正道, “食品の水”(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, (1973), p. 124
- 149) W. S. Harris, *J. Lipid Res.*, **30**, 769 (1989)
- 150) 日本油脂株式会社, 公開特許, 平2-18824