

市販生鮮カツオ肉における lysophosphatidylcholine 及び lysophosphatidylethanolamine の蓄積について

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	大島, 敏明 小泉, 千秋
巻/号	49巻8号
掲載ページ	p. 1205-1212
発行年月	1983年8月

市販生鮮カツオ肉における lysophosphatidylcholine 及び
lysophosphatidylethanolamine の蓄積について

大島 敏明・小泉 千秋

(1982年11月17日受理)

Accumulation of Lysophosphatidylcholine and Lysophosphatidylethanolamine
in Muscle of Fresh Skipjack

Toshiaki OHSHIMA* and Chiaki KOIZUMI*

Phospholipids of the muscle of fresh skipjack *Euthynnus pelamis* were analyzed by HPLC, GLC, and TLC. The contents of lysophosphatidylcholine (LPC) and lysophosphatidylethanolamine (LPE) in skipjack muscle were extremely high, though earlier workers had reported that the contents of LPC and LPE produced enzymatically in the fish muscle were considerably low and did not increase during frozen storage. The accumulation of LPC and LPE in the skipjack muscle might be elucidated by either saying that the activity of phospholipase A₂ is higher than that of lysophospholipase or that the lower pH of skipjack muscle influences the activity of lysophospholipase; the optimum pH of lysophospholipase in fish muscle is known to be around 7.6.

The fatty acid compositions of phosphatidylcholine (PC), LPC, and free fatty acid were analyzed. Percentage of C_{22:6} was considerably high in the PC, while extremely low in the LPC. These results seem to indicate either that most of the PC having C_{22:6} located on the α -position of glycerol is not attacked by the action of phospholipase A₂ or that the LPC having C_{22:6}, if produced from PC by the action of phospholipase A₂, is attacked preferentially by the action of lysophospholipase to liberate C_{22:6}.

The possible fatty acid combinations of the PC remaining in the skipjack muscle were also presented.

魚類の冷凍貯蔵中に、魚肉中の phosphatidylcholine (PC) や phosphatidylethanolamine (PE) は phospholipase A₂ (EC 3.1.1.4) の作用により lysophosphatidylcholine (LPC) 及び lysophosphatidylethanolamine (LPE) に加水分解され、さらにこれらのリゾ型リン脂質は lysophospholipase (EC 3.1.1.5) の作用により遊離脂肪酸 (FFA) と glycerophosphatidylcholine または glycerophosphatidylethanolamine に加水分解されるといわれている。¹⁾ また、これらのリン脂質の加水分解に関与する酵素系は、本来魚肉に存在するもので、微生物に由来するものではないという。²⁻⁵⁾ したがって、冷凍貯蔵した魚肉には、PC や PE のほかに LPC や LPE が存在するものと予想されるが、これまでの研究によれば、LPC や LPE は存在しないか存在してもきわめてわずかであり、しかも冷凍貯蔵中にほとんど増加しないといわれている。⁶⁻¹⁰⁾ その理由として、魚肉中に存在する lysophospholipase の活性は phospholipase の活性より著しく高いことが挙げられている。^{7,8)}

ところが、BRADDOCK 及び DUGAN JR.¹¹⁾ は、coho salmon 肉中の LPC は冷凍貯蔵中に減少するが、LPE は増加すると報告している。鶏肉ではリン脂質の加水分解に伴ってリゾ型リン脂質は蓄積することが知られている¹²⁾ が、coho salmon 以外の魚肉にリゾ型リン脂質が蓄積したという報告はない。

著者らは、冷凍貯蔵中における魚肉リン脂質の変化を、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる新しい手法により詳しく調べたいと考え、生鮮カツオを供試魚に選んで分析したところ、魚肉中に多量の LPC 及び LPE が蓄積していることを認めた。その結果について報告する。

実験方法

供試魚 体重 1.8 kg の生鮮カツオ *Euthynnus pelamis* を 1982 年 6 月に小売店より購入し、供試した。

脂質の抽出と分画 供試魚の普通肉を挽き肉とし、CHCl₃-MeOH を用いる BLIGH 及び DYER 法¹³⁾ で全脂質 (TL) を抽出した。TL の極性脂質区 (PL) 及び非

* 東京水産大学食品生産化学科 (Tokyo University of Fisheries, Konan-4, Minato, Tokyo 108, Japan).

Table 1. Fatty acid compositions of total lipid (TL), polar lipid (PL), and non-polar lipid (NL) in skipjack muscle

Fatty acid	(wt%)		
	TL	PL	NL
14:0	0.8	0.7	0.9
:1	tr	tr	tr
15:0	2.3	4.8	0.7
16:0	24.5	9.2	33.5
:1	1.7	1.0	2.3
:2	0.6	1.0	0.3
17:0	1.8	1.7	1.8
18:0	10.0	6.4	11.4
:1	9.6	12.6	7.0
:2	0.9	0.7	1.0
:3	0.9	0.6	0.8
20:0	0.1	0.3	0.4
:2	1.1	0.3	0.4
:4	3.1	5.8	2.9
:5	6.5	6.2	6.3
22:0	0.1	0.2	0.1
:4	0.8	1.0	1.3
:5	3.9	5.1	2.2
:6	30.8	42.2	25.4
23:0	0.5	0.3	1.3

極性脂質区 (NL) への分画は、前報¹⁴⁾におけると同様に Biobeads S-X2 を用いるカラムクロマトグラフィー¹⁵⁾によった。

PL の HPLC 内径の異なる 2 本の Partisil 10 SCX カラムを用いた。内径 4.6 mm のカラムを用いる HPLC は、前報¹⁴⁾におけると同様に行った。内径 9.4 mm のカラムを用いる HPLC では、溶出液の流速は 5.8 ml/min とした。その他の条件は同様である。

デンストメトリー シリカゲル薄層板のデンストメトリーは、前報¹⁴⁾におけると同様に行った。

赤外吸収スペクトルの測定 赤外吸収スペクトルは、JASCO IRA-2 スペクトロメータを用いて測定した。試料はクロロホルム溶液として KCl 板上に乗せ、溶媒を揮散せしめた。

PC の脂肪酸の組合せ推定法 前報¹⁴⁾におけると同様に行った。

標準 LPC 及び LPE Sigma 社製の卵黄 LPC 及び LPE を用いた。

結果及び考察

脂質含量と脂肪酸組成 供試カツオ肉の脂質含量は 1.09 g/100 g であり、そのうち PL は 0.58 g/100 g で、TL の 53% を占めていた。

脂肪酸組成を Table 1 に示す。TL の脂肪酸組成では、高度不飽和脂肪酸 C_{22:6} の組成比が最も高く、続い

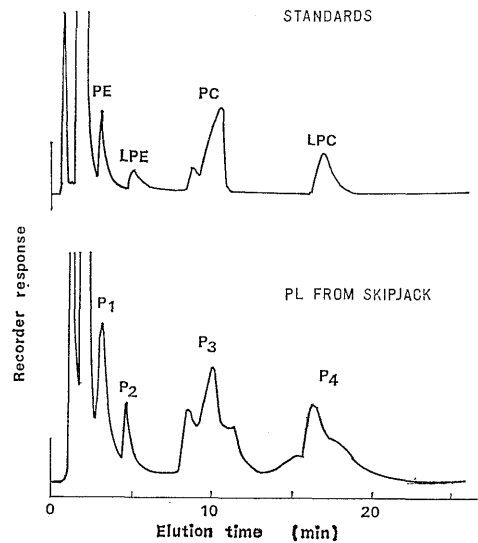


Fig. 1. HPLC chromatograms of the PL from skipjack muscle and standard mixture on Partisil 10 SCX column (4.6 mm i.d.).

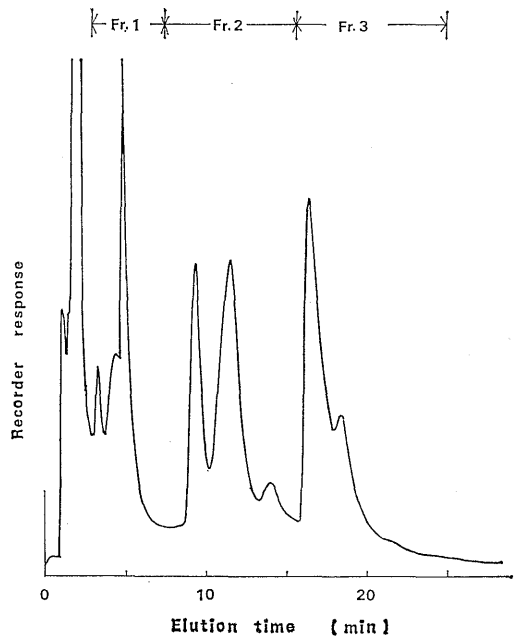


Fig. 2. HPLC chromatogram of the PL from skipjack muscle on Partisil 10 SCX column (9.4 mm i.d.).

て C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1} の順であった。NL の脂肪酸組成は TL に類似しているが、組成比の最も高い脂肪酸は C_{16:0} であった。一方、PL の脂肪酸組成は前 2 者と著しく異なり、C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{22:6} などが主なものであったが、なかでも C_{22:6} の組成比は著しく高く、42% を占めていた。ここに示した TL の脂肪酸組成は、ROUBAL¹⁶⁾

Table 2. Rf values and color tests specific for phosphorus, choline, and amino residue

HPLC 1* ¹	HPLC 2* ²	TLC	Rf		P	N(CH ₃) ₃	NH ₂	
			Solv. 1* ³	Solv. 2* ⁴				
P ₁	Fr. 1	C ₁	0.63	0.58	+	—	+	
		PE	0.62	0.57	+	—	+	
P ₂		C ₂	0.20	0.35	+	—	+	
		LPE	0.19	0.36	+	—	+	
P ₃		Fr. 2	P ₃	0.30	0.35	+	+	—
			PC	0.33	0.35	+	+	—
P ₄	Fr. 3	C ₃	0.11	0.05	+	+	—	
		LPC	0.10	0.05	+	+	—	
Shoulder		C ₄	0.17	0.12	+	+	—	
		SPM	0.16	0.13	+	+	—	

*¹ HPLC on Partisil 10 SCX column, 4.6 mm i.d. (Fig. 1)

*² HPLC on Partisil 10 SCX column, 9.4 mm i.d. (Fig. 2)

*³ CHCl₃/CH₃OH/H₂O (65/25/4)

*⁴ CHCl₃/CH₃COCH₃/CH₃OH/CH₃COOH/H₂O (6/8/2/2/1)

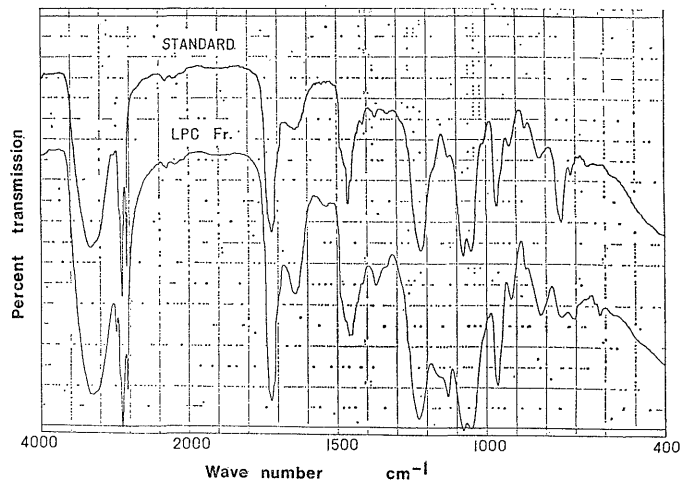


Fig. 3. Infrared spectra of the LPC from skipjack muscle and standard LPC.

の報告した結果とよく一致している。

HPLCにおけるPLの分離 内径4.6mmのカラムで得られたHPLCクロマトグラムをFig. 1に示す。前報¹⁴⁾におけるタラ肉のPLの場合には、ピークは2個現われたただけであったが、カツオ肉のPLではP₁~P₄までの4個のピークが現われた。本研究に用いたHPLC条件では、phosphatidylserineは最初の溶媒のピークの中に含まれて独立したピークとして現われない。標品の保持時間(Rt)から、P₁はPE、P₂はLPE、P₃はPC、P₄はLPCと推定されたが、各ピークの成分を分取して確認することとした。

分取には内径9.4mmのカラムを用いた。得られたクロマトグラムをFig. 2に示す。Fig. 1のクロマトグラムとやや相違するが、Fig. 2中にFr. 1と表わした

区分にはFig. 1におけるP₁とP₂が、Fr. 2にはP₃が、またFr. 3にはP₄が含まれている。HPLCをくり返してFr. 1~Fr. 3の3画分を分取した。

TLCによるリン脂質の同定 分取したFr. 1~Fr. 3を前報¹⁴⁾で用いた二次元薄層クロマトグラフィー(TLC)¹⁷⁾で分析した。その結果、Fr. 2は単一のスポットを現わしたが、Fr. 1及びFr. 3は、それぞれ2個宛スポットを現わした。Rf値からFr. 1はPEとLPEから、Fr. 2はPCから、またFr. 3はsphingomyelin (SPM)とLPCから成るものと推定された。そこで、Fr. 1をCHCl₃/MeOH/H₂O (65/25/4, v/v)¹⁸⁾を展開溶媒としてsilica gel Gを用いるTLCにかけ、Rf 0.63 (C₁)及びRf 0.20 (C₂)に現われる2個のスポットを別々にかき取り、石油エーテル/エーテル/

Table 3. Phospholipid composition of the skipjack PL determined with densitometry

Lipid class*	Content (mg/100 g)
LPC	144
SPM	69
PC+LPE	226
PS	42
PE	98

* LPC, lysophosphatidylcholine; SPM, sphingomyelin; PC, phosphatidylcholine; LPE, lysophosphatidylethanolamine; PS, phosphatidylserine; PE, phosphatidylethanolamine.

Table 4. Lipid composition of the skipjack NL determined with densitometry

Lipid class*	Content (mg/100 g)
SE+HC	31
TG	112
U. K.	7
FFA	213
ST, DG	145

* SE, sterol ester; HC, hydrocarbon; U. K., unknown; FFA, free fatty acid; ST, free sterol; DG, diglyceride.

MeOH/CHCl₃ (4/4/1/1, v/v)¹⁹⁾で抽出した。Fr. 3についても同様に TLC を行ない、C₃ (Rf 0.11) 及び C₄ (Rf 0.17) の 2 つの画分を得た。

このようにして得られた C₁~C₄ の 4 画分と TLC で単一スポットを与えた P₈ について再び TLC を行い、標品の Rf 値と比較するとともに薄層板上で呈色反応を行った。それらの結果を Table 2 にまとめて示す。すべての画分は Molybdenum blue 試薬²⁰⁾に陽性であるからリンを含み、P₈, C₃ 及び C₄ は Dragendorff 試薬²¹⁾に陽性であるから choline を含み、また C₁ 及び C₂ は Ninhydrin 試薬²²⁾に陽性であるから amino 基を含む。これらの結果と、TLC における Rf 値及び HPLC における Rt の標品との比較から、Fig. 1 における P₁ は PE, P₂ は LPE, P₃ は PC, P₄ は LPC で、P₄ の直前の小さい肩は SPM と判定した。なお、LPC 画分については、さらに赤外吸収スペクトルを測定した。その結果を Fig. 3 に示す。1087 及び 1053 cm⁻¹ の吸収は choline に、962 及び 1225 cm⁻¹ の吸収はリン酸に、また 1465 cm⁻¹ の吸収は methyl 基に特有の吸収で、標品のスペクトルとよく一致した。

PL 及び NL の成分組成 PL を TLC にかけて各リン脂質の組成比をデンストメトリーにより算出し、これと魚肉中の含量である 0.58 g/100 g とから計算した魚肉 100 g 中の PL の成分組成を Table 3 に示す。この表から LPC の蓄積が著しいことがわかる。しかし、LPE はこの TLC 条件では PC と完全に分離しないので、蓄積量は明らかではないが、Fig. 1 における PE

とのピーク面積比から推定すると約 21.1 mg/100 g となり、LPC よりかなり低かった。

Table 4 には同様に算出した NL の成分組成を示す。FFA の含量が著しく高い。OLLEY ら²³⁾は魚肉の低温貯蔵中における FFA の増加には、lipase と共に phospholipase の役割が大きいと述べている。また、Baltic herring¹⁰⁾では魚肉中に蓄積した FFA の 25% までがトリグリセリド (TG) に由来していたという。一方、冷凍貯蔵中に、魚肉に蓄積する FFA はすべてリン脂質に由来するという報告もある。²⁴⁾しかし、佃¹⁰⁾はカツオの冷凍貯蔵中における FFA の増加はリン脂質のみならず TG の減少を伴うので、FFA の一部は TG に由来すると推定している。本研究においても、TG 含量が低かったことから、FFA の一部は TG の加水分解に由来するものと思われる。

以上のように、市販生鮮カツオ肉中には多量の LPC, LPE 及び FFA が蓄積していたが、その後、これとは別の冷凍カツオを分析したところ、やはりほぼ同様に LPC, LPE が蓄積していることを確認した。したがって、カツオ肉はリゾ型リン脂質を蓄積しやすい特性を持っていることは間違いなく、この特性はカツオで代表される赤身魚に共通したものであるかも知れない。これまでの研究で、冷凍貯蔵中の魚肉にリゾ型リン脂質が蓄積しなかったのは、供試魚に白身魚が使われることが多かったためではないかと思われる。

カツオ肉にリゾ型リン脂質が蓄積する理由は明らかでない。タラ肉などと異なり phospholipase 活性が lysophospholipase 活性より強いいためか、あるいはカツオ肉は pH が低い²⁵⁾ので、このことが phospholipase 及び lysophospholipase 活性に影響しているためか今後の研究課題である。

PC, LPC 及び FFA の脂肪酸組成 PC, LPC 及び FFA の脂肪酸組成を Table 5 に示す。PC の脂肪酸組成では、C_{22:6} の組成比が著しく高く、続いて C_{16:0}, C_{18:1} の順であった。一方、LPC では C_{16:0}, C_{18:1} 及び C_{18:0} の組成比が高く、高度不飽和脂肪酸 C_{20:5} は認められず、また C_{22:6} の組成比は著しく低かった。PC に C_{22:6} の組成比が著しく高く、LPC に C_{22:6} の極めて少なかったことは興味深い。MENZEL 及び OLCOTT²⁶⁾によれば、salmon, menhaden 及び tuna 筋肉の PC では、高度不飽和脂肪酸は α-位より β-位に多く分布し、一方 C_{16:0} は α-位に多く分布しているという。本研究で用いたカツオの PC における脂肪酸の分布は明らかではないが、上記の魚種と同様に β-位に高度不飽和脂肪酸が多く分布していたものとすれば、LPC に高度不飽和脂肪酸の組成比が低かったことの理由として、次の 2 つの可能性が考えられる。1) α-位に高度不飽和脂肪

Table 5. Fatty acid compositions of the PC, LPC, and FFA from skipjack muscle

Fatty acid	(wt %)		
	PC	LPC	FFA
14:0	0.4	—*	0.4
:1	tr	—*	0.1
15:0	5.8	—*	0.7
16:0	14.8	31.4	48.7
:1	1.5	9.6	0.9
:2	0.8	2.3	0.7
17:0	1.1	tr	2.2
18:0	2.7	12.5	18.0
:1	11.3	20.7	4.4
:2	0.6	tr	0.4
:3	0.6	0.5	0.3
20:0	0.2	4.8	0.2
:2	0.1	—	tr
:4	4.7	—	1.1
:5	7.9	—	3.1
21:0	—	0.9	3.2
22:0	0.2	8.2	—
:4	0.1	0.8	0.6
:5	3.6	3.8	1.1
:6	43.6	4.4	13.6
23:0	—	—	0.3

* Percentages of C_{14:0}, C_{14:1} and C_{15:0} were not able to be calculated due to interference of unknown peaks.

酸が分布している PC は phospholipase の作用を受けにくい、2) PC から生成した α -位に高度不飽和脂肪酸をもつ LPC は lysophospholipase の作用を受けやすく、容易に加水分解される。1) の場合には加水分解を受けなかった残存 PC の C_{22:6} の組成比が、また 2) の場合には FFA 中の C_{22:6} の組成比がいずれも増加するはずであるが、この点は今後 LPC や LPE が生成していない極新鮮なカツオの貯蔵試験で明らかにしたい。

PC の脂肪酸の組合せ 水素添加した PC の脂肪酸組成及びアシル基の総炭素数 (TC) に基づく PC 組成をそれぞれ Table 6 及び 7 に示す。奇数炭素脂肪酸 C₁₅, C₁₇, C₁₉ 及び C₂₁ が含まれているが、特に C₁₅ の組成比が高い。C₁₅ 及び C₁₇ の奇数炭素脂肪酸は mammary cell²⁷⁾ や mouse muscle²⁵⁾ アユ、²⁹⁾ albacore³⁰⁾ yellowfin tuna³⁰⁾ などに少量含まれていると報告されているが、本研究におけるカツオの PC ほど組成比は高くない。カツオ PC の奇数炭素脂肪酸の組成比が高いのは、低温貯蔵中に受けた酵素的加水分解の影響によるためと推察される。

Table 7 に示す TC に基づく PC 組成では、TC 38, 44, 40, 36, 42, 34 などの組成比が高い。奇数炭素脂肪酸を含む PC では、TC 37, 39, 35 などが主なもので、このうち TC 37 の組成比が高い。

Table 6. Fatty acid composition of the PC after hydrogenation

Fatty acid	wt %	mol %
14:0	0.8	1.1
15:0	5.3	6.6
16:0	15.2	17.9
17:0	1.5	1.7
18:0	13.4	14.3
19:0	0.2	0.2
20:0	12.6	12.3
21:0	0.1	0.1
22:0	50.5	45.4
24:0	0.5	0.4

Table 7. PC composition based on the total carbon in fatty acyl chains after hydrogenation

TC*	wt %	mol %
32	1.4	1.6
33	1.3	1.5
34	7.5	8.2
35	3.0	3.2
36	10.2	10.7
37	8.1	8.4
38	26.0	26.3
39	4.0	4.0
40	11.1	10.8
41	1.4	1.3
42	7.8	7.3
43	1.5	1.4
44	16.8	15.2

* Total carbon in fatty acyl chains.

これらの脂肪酸組成及び TC に基づく PC 組成から、前報¹⁴⁾と同様に PC の脂肪酸の組合せを推定すると Table 8 のようになる。計算は FACOM M 140 F によった。分析値と計算値を比較すると、C₁₇, C₁₉ 及び C₂₁ などの奇数炭素脂肪酸の組成比に若干のくい違いが見られるほかは、脂肪酸組成、TC に基づく PC 組成ともよく一致している。Table 8 の結果を整理して Table 9 に示す。組成比が 5% 以上の脂肪酸の組合せは、(C₁₆, C₂₂), (C₂₂, C₂₂), (C₁₈, C₂₂), (C₁₅, C₂₂), (C₁₈, C₁₈), (C₂₀, C₂₂), (C₁₆, C₂₀) 及び (C₁₈, C₂₀) である。Table 5 に示した PC の脂肪酸組成では、C₁₆ の脂肪酸はその 86.5% が C_{16:0} で占められ、また C₂₂ の脂肪酸の 91.8% は C_{22:6} である。したがって、最も組成比の高い (C₁₆, C₂₂) の組合せの大部分は (C_{16:0}, C_{22:6}) であると思われる。次に組成比の高い (C₂₂, C₂₂) は (C_{22:6}, C_{22:6}) とみなして大きな誤りはないであろう。C₁₈ の脂肪酸では C_{18:1} の組成比が 74.3% であるから、(C₁₈, C₂₂) の組合せの大部分は (C_{18:1}, C_{22:6}) で占められているものと思

Table 9. Possible fatty acid combinations of the skipjack PC

TC	Combination of fatty acid	Content (mol%)
32	C ₁₄ , C ₁₈	0.2
	C ₁₅ , C ₁₇	0.4
	C ₁₆ , C ₁₆	1.0
33	C ₁₄ , C ₁₉	0.1
	C ₁₅ , C ₁₈	1.3
	C ₁₆ , C ₁₇	0.1
34	C ₁₄ , C ₂₀	0.2
	C ₁₅ , C ₁₉	0.1
	C ₁₆ , C ₁₈	7.8
	C ₁₇ , C ₁₇	0.1
35	C ₁₅ , C ₂₀	3.3
36	C ₁₄ , C ₂₂	3.0
	C ₁₅ , C ₂₀	6.1
	C ₁₈ , C ₁₈	1.6
37	C ₁₅ , C ₂₂	8.7
38	C ₁₆ , C ₂₂	20.8
	C ₁₈ , C ₂₀	5.7
39	C ₁₇ , C ₂₂	4.1
40	C ₁₈ , C ₂₂	10.8
	C ₂₀ , C ₂₀	0.3
41	C ₁₉ , C ₂₂	1.4
42	C ₂₀ , C ₂₂	7.8
43	C ₂₁ , C ₂₂	1.4
44	C ₂₀ , C ₂₄	0.2
	C ₂₂ , C ₂₂	15.8

われる。その他の脂肪酸についても同様で、(C₁₅, C₂₂) は (C_{15:0}, C_{22:6})、(C₁₆, C₁₈) は (C_{16:0}, C_{18:1}) とみなされる。但し、C₂₀ の脂肪酸についてはやや異なる。C₂₀ の脂肪酸は、C_{20:4} と C_{20:5} が主なもので、その組成比はそれぞれ 36.4% 及び 61.2% であった。したがって、C₂₀ の脂肪酸を含む (C₂₀, C₂₂) の組合せは (C_{20:4}, C_{22:6}) 及び (C_{20:5}, C_{22:6}) の両者からなる可能性が高い。(C₁₈, C₂₀) の組合せについても同様なことがいえる。

BOSUND ら¹⁰⁾が冷凍貯蔵した Baltic herring のリン脂質の酵素的加水分解について述べているように、特定の脂肪酸が優先的に加水分解を受けることがなければ、Table 9 に示した PC の脂肪酸の組合せは、カツオ筋肉 PC の脂肪酸の組合せとすることができる。この点は今後さらに検討したい。また、ここで示した脂肪酸の組合せは、結合位置を考慮していない。この点も今後の研究課題である。

本研究を行うに当たり実験に協力された山崎庄悟氏に感

謝する。

文 献

- 1) D. J. HANAHAN, H. BROCKERHOFF, and E. J. BARRON: *J. Biol. Chem.*, **235**, 1917-1923 (1960).
- 2) W. J. DYER and D. I. FRASER: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **16**, 43-52 (1959).
- 3) F. J. KING, M. L. ANDERSON, and M. A. STEINBERG: *J. Food Sci.*, **27**, 363-366 (1962).
- 4) M. L. ANDERSON, F. J. KING, and M. A. STEINBERG: *J. Food Sci.*, **28**, 286-288 (1963).
- 5) J. OLLEY and W. R. H. DUNCAN: *J. Sci. Food Agric.*, **16**, 99-104 (1965).
- 6) J. A. LOVERN, J. OLLEY, and H. A. WATSON: *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 327-337 (1959).
- 7) M. YURKOWSKI and H. BROCKERHOFF: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **22**, 643-652 (1965).
- 8) E. BILINSKI and R. E. E. JONAS: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **23**, 207-220 (1966).
- 9) 呉 清熊・中川浩毅・佐竹邦子・豊水正道: 日水誌, **40**, 835-840 (1974).
- 10) I. BOSUND and B. GANROT: *J. Food Sci.*, **34**, 13-18 (1969).
- 11) R. J. BRADDOCK and L. R. DUGAN JR.: *J. Food Sci.*, **37**, 426-429 (1972).
- 12) E. DAVIDKOVA and A. W. KHAN: *J. Food Sci.*, **32**, 35-37 (1967).
- 13) E. G. BLIGH and W. J. DYER: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- 14) T. OHSHIMA, S. WADA, and C. KOZUMI: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 123-130 (1983).
- 15) C. L. TIPTON, J. W. PAULIS, and M. D. PIERSON: *J. Chromatogr.*, **14**, 486-489 (1964).
- 16) W. T. ROUBAL: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 215-218 (1963).
- 17) J. G. PARSONS and S. PATTON: *J. Lipid Res.*, **8**, 696-698 (1967).
- 18) H. WAGNER, L. HÖRHAMMER, and P. WOLFF: *Biochem. Z.*, **334**, 175-184 (1961).
- 19) 佃 信夫: 東海水研報, **84**, 31-41 (1976).
- 20) J. C. DITTMER and R. L. LESTER: *J. Lipid Res.*, **5**, 126-127 (1964).
- 21) R. MUNIER and M. MASHEBOEUF: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **33**, 846 (1951).
- 22) A. R. PATTON and P. CHISM: *Anal. Chem.*, **23**, 1683-1685 (1951).
- 23) J. OLLEY, R. PIRIE, and H. WATSON: *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 501-516 (1962).
- 24) 衣巻豊輔・飯田 遙・新聞脩子: 東海水研報, **61**, 27-41 (1970).
- 25) 天野慶之・尾藤方通・川端俊治: 日水誌, **19**, 487-498 (1953).
- 26) D. B. MENZEL and H. S. OLCOTT: *Biochim. Biophys. Acta*, **84**, 133-139 (1964).
- 27) J. E. KINSELLA and R. D. MCCARTHY: *Biochim. Biophys. Acta*, **164**, 530-539 (1968).

- 28) C. E. EYBEL and R. G. SIMON: *Lipids*, **5**, 590-596 (1969).
- 29) T. OHSHIMA, H. D. WIDJAJA, S. WADA, and C. KOIZUMI: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1795-1801 (1982).
- 30) C. Y. SHUSTER, J. R. FROINES, and H. S. OLCOTT: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **41**, 36-41 (1964).