

魚介類の脂質過酸化と PAF 様リン脂質の生成

—魚肉の部位や保存, 調理による影響—

中山 玲子, 田中じゅん, 吉田 広佳

Lipid Peroxidation and Generation of PAF-like phospholipids in Fishes

—Effects of the parts of the fish meats, storage and cooking—

Reiko Nakayama, Jun Tanaka and Hiroka Yoshida

The relation of the lipid peroxidation and the generation of the PAF-like activities which exist in fishes were examined from the viewpoint of parts of the fish meats, storage and cooking.

1. PAF-like activity of the red muscle was remarkably higher than those of lean and fat muscles of tuna. Investigations of correlation between the PAF-like activities produced by peroxidation of CGP and contents of PUFA and alkyl ether-linked subclass in parent CGPs, revealed that the higher activity of red muscle were rich in alkyl ether-linked subclass and docosahexaenoate (DHA).

2. The generation of PAF-like activity and lipid peroxidation under saving of the meats of mackerel, were examined, using meats of just after the purchase, cold storage saving (at 4°C for 4 days), and freezing (at -40°C for 30 days). In the meat of the cold storage saving, the TBARS value was the highest, and the PAF-like activity was also the highest. The content of CGP of the meat decreased to about 50% of that of just after the purchase, and contents of alkyl ether-linked CGP increased about 4 times, by the cold storage. From these results, it was indicated that the enzymatic hydrolysis of CGP progressed under cold storage.

3. The PAF-like activities exist in the mackerel meats increased by the cooking (baked, fried), and the TBARS also showed high values. Although the vinegar cured mackerel is not heating cooking method, the PAF-like activity was the highest after 2 days. Furthermore, it became clear that the generation of PAF-like activity and lipid peroxidation were suppressed, when ginger and sesame were used in the cooking.

I. はじめに

現在我が国では、肥満や高脂血症、虚血性心疾患などの生活習慣病との関連より、特に「脂質の質と量」の適正摂取に対する栄養指導が重要視されている^{1,2)}。第5次改定に引き続き、第6次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—においても、脂質所要量は、18歳以上の健康人の場合、脂肪エネルギー比20～25%、飽和(S)、一価(M)、多価不飽和(P)の脂肪酸摂取割合は3:4:3、さらに多価不飽和脂肪

酸(PUFA)のn-6系とn-3系の比率は4:1が目安とされている³⁾。また、PUFAの過酸化およびその生成物による癌や老化促進などの健康障害を抑制するために、ビタミンE、ビタミンC、カロテンなどの抗酸化ビタミンを十分に摂取することが奨められている。

健康人はもちろんであるが、アレルギーや高脂血症等ではn-3系PUFAをさらに多く摂取する必要がある。魚介類はn-3系PUFAの供給源として、積極的に摂取することが奨励されているが、魚離れ、調理離れの傾向にある今日、対象者によっては、食材としての魚介類の調理や保存などの取り扱いについても具体的に栄養指導をする必要があると思われる。

る。魚介類の脂質過酸化や鮮度に関する研究は多数あるが、著者らは魚介類が高い PAF（血小板活性化因子）活性を示すことを見出し、*n*-3 系 PUFA の過酸化と生理活性を有する PAF 様リン脂質との関連より研究を進めている。PAF は、血小板活性化、血圧降下、血管透過性亢進作用など多彩な生理作用を有するリン脂質（PL）であり、生体内ではコリングリセリン脂質（CGP）より生合成される。炎症・アレルギー等の疾病のみならず、生体の恒常性維持にも関与する脂質メディエーターとして重要視されている⁴⁻⁶）。

一方、PAF 様物質は、C-2 位に PUFA を結合した CGP の過酸化二次成績体として派生してくる物質⁷）で、C-2 位が短鎖で構造的に PAF と類似しており、PAF 受容体を介して血小板や標的細胞を活性化する。PAF 様物質の生理活性も、PAF 分子種同様 C-1 位がエーテル型の方がエステル型の約 100 倍活性が高く、また、C-2 位が短鎖なほど高い。DHA（ドコサヘキサエン酸）を結合した CGP が過酸化された場合、最も短鎖な PAF 様物質が生成することも判明している⁸）。

著者らは、魚介類の PAF 様活性について検討を行った結果、(1) 多種類の魚介類の中で特に、IPA（イコサペンタエン酸）、DHA などの PUFA 含量が高いイワシ、サバ、サンマ等のいわゆる「青背の魚」や貝類が PAF 様活性が高いこと、(2) 精製した PUFA 含有 CGP の分析（C-1 位のエーテル型の割合と脂肪酸組成）や、過酸化により派生する PAF 様活性の測定を行うことにより、魚介類に存在する PAF 様活性と CGP 分子種との相関を明らかにした。また、(3) 抗酸化ビタミンが PAF 様物質生成の抑制効果も有することなど、について報告した⁹）。

前回の研究では、広く魚介類における脂質過酸化と PAF 様活性及びその前駆体との関連を調べるために鮮魚の普通肉（生）を用いて購入直後に脂質を抽出して分析したものである。魚肉の脂質含量は部位や季節によっても異なる^{10, 11}）。また日常は、生食だけでなく加熱調理したものを食することより、調理や保存の際に脂質過酸化が進行することも考慮する必要がある。

従って、本研究では、*n*-3 系 PUFA の供給源である魚肉の脂質過酸化と PAF 様活性生成への影響について、魚肉部位による差異や、調理や保存の観点から検討を行い、得られた知見を *n*-3 系 PUFA 摂取の際のより具体的な栄養指導に役立てることを目的とした。

II. 実験方法

1. 試料の調製

魚類は京都市錦市場の鮮魚店より新鮮なものを購入した。(1) 部位による検討：クロマグロ（ホンマグロ）の赤身、脂身（中トロ）、血合肉を用いた。(2) 保存による検討：サバ、イワシ、サンマ、アジ、カツオを用いて、それぞれ購入直後、 -40°C 30 日間保存、 4°C 4 日間保存したものを用いた。(3) 調理方法による検討：サバ、普通肉の同じ部位を用いて、一般的な調理方法に従って調理（揚げる、焼く、煮る、酢じめなど）を行った。また、生姜やゴマを使用したものも合わせて検討した。保存及び調理で普通肉を使用する場合には、同じ部位を同量になるように注意して切り取り、実験に供した。

2. 総脂質の抽出と PAF 及び関連脂質の精製

1) 魚類筋肉の総脂質の抽出

各試料の総脂質（TL）は、Bligh-Dyer 法¹²）により抽出を行った。操作中の脂質の自動酸化の影響を検討するために、同一種類の試料で、抗酸化剤 BHT（ブチルヒドロキシトルエン、2,6-ジ-*o*-ブチル-*p*-クレゾール）の添加（終濃度 0.01%）と無添加のものを用意し、並行して実験を行った。脂質はクロロホルム：メタノール混液（1：1, by vol., \pm BHT）に溶解し、 -40°C で保存した。溶媒の乾固は窒素ガスにて行った。

リン脂質（PL）の定量は、Bartlett 法¹³）に従い、脂質リン（Pi）の測定を行った。

2) PAF 様物質及び CGP の精製

各試料の TL をアルミナカラムクロマトグラフィーに供して、コリン含有リン脂質画分を調製した。さらに、薄層クロマトグラフィー（TLC, 展開溶媒系；クロロホルム：メタノール：水 = 65：35：6, by vol.）により、PAF 様物質画分〔画分①（原点からリゾフォスファチジルコリン（LPC）の下端）、画分②（LPC の上端からスフィンゴミエリン（SPH）の下端まで、本来の PAF 画分）と画分③（SPH の上端から CGP の下端まで）の 3 画分⁸）及び CGP の精製を行った。脂質の検出は、TNS（6-(*p*-トルイジン)-2-ナフタレンスルホン酸）により行った。

3. 血小板凝集による PAF 様活性の定量

ウサギ洗浄血小板は、Pinckard らの方法¹⁴）に従って調製した。

血小板凝集活性の測定は、透過率の上昇による凝集の割合を自動血小板凝集測定装置（NBS ヘマトレーサー 601 型）にて測定した¹⁵）。検定試料（PAF

様物質画分, 半合成 PAF, 過酸化 CGP) は有機溶媒を窒素ガスにて乾固させ, ウシ血清アルブミン (脂肪酸フリー) 含有生理食塩水 (2.5mg/ml) を加えて, 超音波にかけて調製した。標準として 16:0 PAF (1-O-hexadecyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) を用いて検量線を作成し, PAF 様活性は 16:0 PAF 相当量で示した。また, 凝集活性の認められたものは, PAF 受容体アンタゴニスト WEB-2086 ($5 \times 10^{-7} M$) による凝集の抑制を確認した。

4. 前駆体 CGP の分析

1) エーテル型 CGP の測定 (PAF の半合成)

精製した CGP をアルカリ処理後, 得られたエーテル型リゾ CGP をクロロホルムに溶解し, 無水酢酸, 60% 過塩素酸を加えてアセチル基の導入を行い, 半合成 PAF を得た。その血小板凝集活性を測定することにより, エーテル型 CGP 量を求めた¹⁶⁾。

2) CGP の過酸化反応による PAF 様活性の生成

CGP (BHT 添加で保存) をアルミナカラムクロマトグラフィーにより BHT を除いた後, ヒーティングブロックで 40°C, 24 時間過酸化を行った⁹⁾。その後, 半量は TLC にて PAF 様物質画分を精製後, PAF 様活性の定量を行い, 残りの半量は, 脂肪酸分析を行った。

5. 脂肪酸組成の分析

TL 及び CGP の脂肪酸組成は, 脂肪酸メチルエステル (FAME) を調製した後に, ガスクロマトグラフィー (GC) により分析した。Shinchrom A (DMCS) ADVANCE DS カラム (3mm × 2m) を装着した HITACHI G-5000 形ガスクロマトグラフを用いて, 分析開始カラム温度 150°C で 1 分保持後, 220°C まで昇温 (4°C/分) した⁹⁾。キャリアガスは 窒素ガス (40ml/min) を用い, 注入部及び検出部温度は共に 230°C とし, FID (水素炎イオン化検出器) で検出した。

6. TBARS 値の測定

脂質過酸化の指標として, Buege と Aust の方法¹⁷⁾ を用いて, TL, CGP の TBARS (チオバルビツール酸反応性物質) 値の測定を行った。標準物質として 1, 1, 3, 3-テトラエトキシプロパンを用い, マロンジアルデヒド (MDA) 相当量で示した。

7. 試薬

16:0 PAF は Bachem Feinchemikalien A.G., 10% 塩酸-メタノールは東京化成, アルミナは ICN 社 Alumina N-Super I, TLC プレートは Merck 社 silica gel 60 (No.5721), 有機溶媒や他の試薬は全てナカライテスクまたは和光純薬の特級を使用した。

PAF 受容体アンタゴニスト WEB-2086 は, ベーリンガーインゲルハイム (株) よりご恵与いただいた。

III. 結果と考察

1. 魚肉の部位による脂質過酸化と PAF 様物質の生成の差異

1) 筋肉組織中の PAF 様活性と関連脂質の分析

前報⁹⁾ では, 広く多種類の魚介類の脂質過酸化と PAF 様活性について検討することを第一目的とし, 約 30 種類の魚介類について旬に出回っているものを購入し, 部位は普通肉 (生) を用いた。しかし, 魚介類の脂質含量及び脂肪酸組成は, 同一種類であっても, 環境条件 (水温, 棲息深度, 回遊場所) や生理的条件 (性的成熟度, 年齢), 食餌状態の影響により, 個体や系統群で大きく変動する^{10, 18)}。また, 一般に脂質含量は, 白身魚よりも赤身魚, 天然魚よりも養殖魚, 普通肉よりも血合肉, 背肉よりも腹肉の方がそれぞれ高いことが知られている¹¹⁾。

従って, 今回は先ず, 部位による脂質含量と脂質過酸化および PAF 様活性の関連を検討する目的で, 大型回遊魚であるクロマグロ (ホンマグロ) の赤身, 脂身 (中トロ), 血合肉を用いて, 検討を行った。各部位より総脂質 (TL) を抽出し, PAF 様活性と関連脂質の分析を行った。表 1 に, 各部位 100g 当たりの PL (リン脂質), PL 中の CGP 量, 総 PAF 様活性 (3 画分の合計値, 16:0 PAF 相当量) 及び TL の主な脂肪酸の組成, TBARS 値の分析値をまとめた。また, TL の脂肪酸組成より P-Index (Peroxisidability Index) を算出し, 参考に 5 訂日本食品標準成分表¹⁹⁾, 日本食品脂溶性成分表²⁰⁾ より 100g 当たりの脂質含量及び脂肪酸量 (IPA 20:5, DHA 22:6) を転載した。

PAF 様活性について, 先ず, TLC により 3 画分の PAF 様物質画分を精製し, 血小板凝集により測定した。本来の生合成 PAF が存在する画分②が最も凝集活性が高かったが, 画分①及び画分③にも凝集活性があること, また, これらの凝集活性は, PAF 受容体アンタゴニスト WEB-2086 で完全に抑制されたことより, これらの画分に PAF 様物質が存在することを確認した (data not shown)。

表 1 にはこれら 3 画分の合計値を示した。PAF 様活性は, 部位 100g 当たり及び前駆体 CGP 1mol 当たりでも血合肉が最も高かった。抗酸化剤 BHT の無添加の方が添加よりもさらに高い値を示し, TBARS 値も BHT 無添加で高くなっていた。このことから, BHT 無添加の PAF 様活性の増大は, 実験操作等により過酸化が進行し, 新たに生成した PAF 様

表 1 クロマグロの部位による脂質過酸化と PAF 様活性及び関連脂質の差異

部位	BHT 添加の有無	PL (mgPi/100g)	CGP/PL (%)	PAF 様活性 ^{*1}		脂肪酸組成 (%)					TBARS (mmol MDA/mol PL)	P-Index ^{*2}	脂質含量 ^{*3} (100g 当たり)	
				(μ mol/mol CGP)	(pmol/100g)	16:0	18:0	18:1	20:5	22:6			総脂質	20:5 22:6
赤身	-	15.1	47.6	0.02	5	21.1	9.9	19.7	6.6	34.9	1.76	2.12	総脂質	1.4g (1.4)
	+	15.6	50.1	+ ^{*4}		21.8	9.6	19.5	6.2	35.5	0.90		20:5 22:6	27mg, 115mg
脂身 (中トロ)	-	15.3	48.6	0.12	22	19.3	6.7	29.2	8.7	18.6	6.76	1.37	総脂質	24.6g (27.5)
	+	14.8	46.4	0.10		19.2	6.7	28.9	8.7	18.7	0.23		20:5 22:6	1290mg, 2880mg
血合肉	-	54.5	36.0	5.79	2,450	10.6	12.4	15.8	6.6	45.1	1.38	2.63	未掲載	
	+	54.0	38.6	3.65		11.0	12.6	15.9	6.8	44.5	1.07			

*1 16:0 PAF 相当量 (TLC の PAF 様物質 3 画分の合計値)

*2 P-Index : Peroxidizability Index = $\{(diene\% \times 1) + (triene\% \times 2) + (tetraene\% \times 3) + (pentaene\% \times 4) + (hexaene\% \times 5)\} \div 100$ (実測した TL の脂肪酸組成より算出)

*3 日本食品脂溶性成分表より転載, () は 5 訂日本食品標準成分表の値

*4 + : 活性がみられるが, 検量線での定量が不可能

物質によることが示唆された。脂身 (中トロ) でも, PAF 様活性は BHT 無添加の方がやや高くなっており, TBARS 値は BHT 無添加でかなりの高値を示した。

各部位 100g 中の PL 含量は, 赤身, 脂身は約 15mg Pi (脂質リン) 相当であったが, 血合肉は 55mg Pi と高含量であった。血合肉は普通肉より水分が少なく, 筋肉細胞が多いためと思われる。また, PAF 及び PAF 様物質の前駆体である CGP の PL 中の割合は, 赤身, 脂身ともに約 50% であったが, 血合肉では 40% 弱とやや低かった。しかし, 血合肉は総 PL 量が多いため, 100g 当りに換算すると CGP が他の部位の約 2.7 倍以上多く含有していた。従って, PAF 様活性も 100g 当たり赤身の約 500 倍の高値を示したと思われる。

TL の脂肪酸組成は, 赤身では 22:6 (DHA), 16:0 (パルミチン酸), 18:1 (オレイン酸) の順に多かったが, 脂身では 22:6 よりも 18:1, 16:0 が多く, 貯蔵脂肪が多いと思われる。一方, 血合肉は他の 2 つの部位と脂肪酸組成が異なっており, 22:6 が約 45% と多く, 18:1, 18:0 (ステアリン酸) がそれぞれ 16%, 12% であった。これらの脂肪酸組成から P-Index を算出した結果, 血合肉が 2.63 と最も高く, 赤身 2.12, 脂身 1.37 であった。脂身の P-Index が最も低かったにも関わらず, BHT 無添加の TBARS 値が特に高かった。これは, 日本食品脂溶性成分表の値からも明らかなように, 脂身は脂質含量

が赤身の約 20 倍 (22:6 も赤身の約 25 倍) と, PUFA が多いために, 過酸化が進行しやすいことが推察された。

2) 精製 CGP の過酸化反応による PAF 様活性の生成

各部位より精製した CGP を用いて, PAF 様活性と CGP の分子種との関連について, CGP のエーテル型の割合及び PUFA 含量, 及び自動酸化反応により出現する PAF 様活性について検討し, 結果を表 2 にまとめた。

エーテル型 CGP は, 赤身, 脂身の CGP では 1% 以下であったが, 血合肉 CGP は 2.5% と貝類に匹敵する高い値であった。本来エーテル型 CGP は化学的に分析すべきであるが, 本実験では派生する PAF 様活性との関連を重視し, PAF を半合成した後に血小板凝集活性を測定し, 16:0 PAF 相当量で示した。血合肉 CGP は他の部位の CGP よりも, CGP のエーテル型の割合が約 4 倍高かった。

どの部位の CGP も自動酸化反応 (40°C, 24 時間) により, PAF 様活性を示し, その凝集活性は PAF アンタゴニストにより阻害されたことより, PAF 様物質の生成を確認した。前駆体 CGP 1mol 当たり, 血合肉, 脂身, 赤身で, それぞれ約 60, 10, 5 μ mol の PAF 様活性が生成していた (16:0 PAF 相当量)。CGP の PUFA 含量は, 過酸化により派生する PAF 様活性が高い分子種である 20:4 (アラキドン酸), 20:5, 22:6 を記載したが, 血合肉 CGP は特に 22:6 が約

表 2 クロマグロの部位別 CGP の過酸化による PAF 様活性の生成

部位	エーテル型 CGP/CGP (%)	過酸化反応の 有無	PAF 様活性*1 ($\mu\text{mol}/\text{mol}$ CGP)	CGP・PUFA (%)		
				20:4	20:5	22:6
赤身	0.67	—	N.D.*2	3.5	6.3	36.8
		+	5.5	2.3	3.1	18.5
脂身 (中トロ)	0.53	—	N.D.	3.6	13.8	30.8
		+	10.2	2.1	6.3	12.4
血合肉	2.35	—	11.7	3.8	8.3	49.4
		+	60.4	3.5	6.6	34.5

*1 16:0 PAF 相当量, *2 N.D. : Not Detected

50%で他の部位の約 1.5 倍高く、自動酸化反応により減少していた。赤身、脂身の CGP も 22:6, 20:5 が多く、過酸化反応により激減していたことから、これらの PUFA を結合している CGP の過酸化により PAF 様活性が生成することが明らかとなった。

以上 1), 2) の結果から、血合肉が赤身の約 500 倍も PAF 様活性が高かった理由として、血合肉は、C-1位がエーテル型でC-2位にDHAが結合したCGPが多く含まれていること、ミオグロビン鉄が過酸化を促進し、結果として高い生理活性を有する分子種の PAF 様物質が生成することが示唆された。一方、赤身は組織中及び過酸化 CGP の PAF 様活性が低値であるのは、CGP のエーテル型の割合や PUFA 含量が比較的 low、かつ脂肪含量が低いため過酸化されにくいことが示唆された。今回は、大型回遊魚のクロマグロの真正血合肉を用いて、部位の検討を行ったが、イワシ、サバなどの中型回遊魚でも表層血合肉が発達しており、通常の可食部である普通肉に含まれてくるため、過度の過酸化が起こらないよう注

意する必要があると思われる。また、赤身と脂身の結果より、中小型魚類においても、背肉よりも腹肉の部分、及び同一魚種でも旬や出回り期など、脂質含量が多い場合には、過酸化が進行して PAF 様物質の生成が増大する可能性が示唆された。不注意により過度に過酸化が進行しないよう、保存や調理の際の取り扱いについての指導の必要性が示唆された。

2. 魚肉の保存による脂質過酸化と PAF 様活性の生成

食品中の脂質は保存中にも自動酸化が起こることから、サバを用いて、保存方法による脂質過酸化と PAF 様物質生成との関連について、購入直後、冷凍(-40°C, 30日)、冷蔵(4°C, 4日)で比較検討を行った。

表 3 に、各保存条件における PL 量、PL 中の CGP 量、エーテル型 CGP の割合、総 PAF 様活性、CGP の PUFA (20:5, 22:6) および、TBARS 値の分析値をまとめた。

PAF 様活性は、冷蔵保存が最も高くなり、冷凍保存でも BHT 無添加では購入直後より高くなった。

表 3 サバの保存による脂質過酸化と PAF 様活性及び関連脂質の変動

保存条件	BHT 添加の有無	PL (mgPi/100g)	CGP/PL (%)	エーテル型 CGP/CGP (%)	PAF様活性*1 ($\mu\text{mol}/\text{mol}$ CGP)	CGP・PUFA*2 (%)	TBARS (mmol MDA/ mol TL)
購入直後	—	28.5	37.2	0.83	0.42	39.9	1.24
	+				0.22		0.43
冷凍 -40°C 30日	—	29.4	35.3	1.00	2.50	40.8	1.75
	+				0.98		1.21
冷蔵 4°C 4日	—	28.9	17.1	3.43	3.58	49.0	3.58
	+				2.84		0.64

*1 16:0 PAF 相当量, *2 CGP の PUFA (20:5+22:6 の合計)

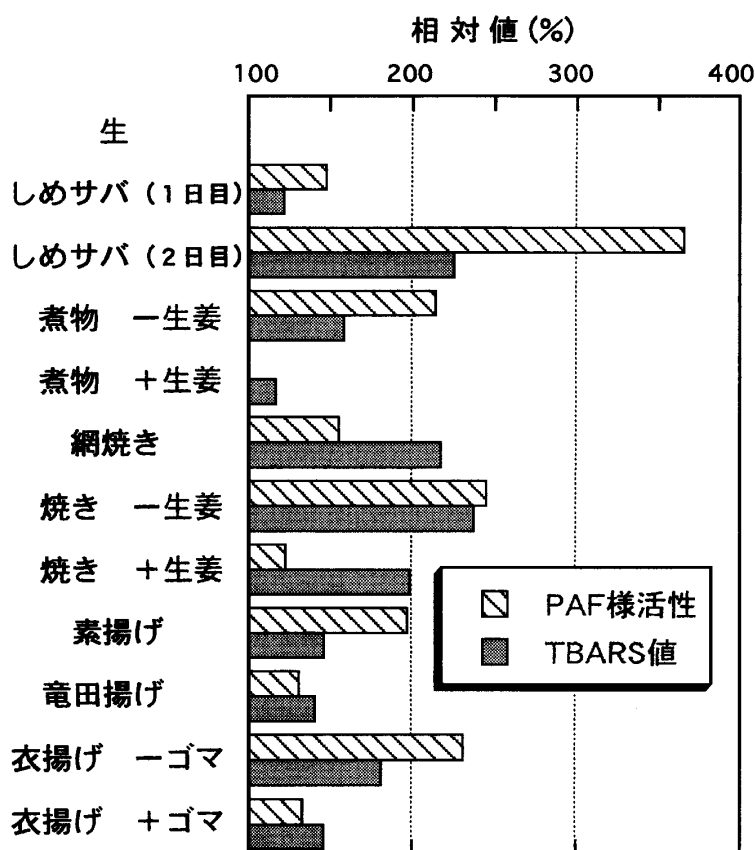


図1 サバの調理による PAF 様活性と TBARS 値の増大

サバ「生」の値 (PAF 様活性 0.46 μ mol/mol CGP, TBARS 1.33mmol MDA/mol PL) を 100% とした 場合の相対値を示す。

TBARS 値も冷蔵, 冷凍の順に高かった。PAF 様活性 及び TBARS 値共に, どの保存方法でも BHT を添加 した方が高い値を示したことから, 操作中に自動酸 化が進行して PAF 様物質がさらに生成したことが示 唆された。このことは, 日常でも取り扱い次第でさら に自動酸化が進み, PAF 様活性が増大することを 示唆するものである。

PL 量はどの試料でも差がなかったが, CGP が冷蔵 保存では購入直後や冷凍保存の約 50% と顕著に減少 していた。TLC において, リソ CGP のバンドが出現 していた (data not shown) ことや, CGP のエー テル型の割合が購入直後のものの約 4 倍に増加して いることから, 保存中に酵素分解が進行していた ことが推測される。すなわち, 冷蔵保存の場合, 保 存中に酵素分解により前駆体 CGP の分子種として エーテル型 CGP が増大し, また, 過酸化反応も進行 しやすいため, 結果として高い PAF 様活性を示 したものと思われる。

他の魚種 (イワシ, サンマ, アジ, カツオ) でも 検討した結果, 同様な傾向が得られ, CGP の PUFA

含量も 40 ~ 50% と高かった (data not shown)。

魚介類の脂質過酸化や鮮度に関する研究は多く, 魚介類には α -トコフェロールやカロテノイドなど抗 酸化ビタミンが含まれており, 自動酸化の進行とと もに消費して減少していくこと, 冷蔵保存の方が冷 凍保存よりも自動酸化が早く進行すること, が報告 されている¹⁰⁾。本研究でも, 冷蔵保存の方が脂質過 酸化が進行しており, PAF 様活性も高い値を示した。 さらに, サバでは冷蔵保存中に, 前駆体 CGP の酵素 分解により高い PAF 様活性を派生する分子種が生成 されていくことが示唆された。脂質過酸化及び PAF 様物質生成の観点からも, 冷凍保存の方が良いこと が明らかとなった。しかしながら, 冷凍保存でも期 間が長くなると, 酸化ビタミンが枯渇し, 急激に 酸化が進行することから, 過信せず短期間に使い 切っていくほうが良いと思われる。

3. 調理による脂質過酸化と PAF 様活性の生成

魚介類を実際に食する時には生食だけでなく様々 な方法により調理されることが多いことから, 調理 方法による魚肉の脂質過酸化と PAF 様活性の変動に

ついて検討を行った。秋に出回るサバを用いて、煮る、焼く、揚げる、酢じめ等の調理を行った後、BHT を添加して TL を抽出し、上記と同様の方法で PAF 様物質及び関連脂質の分析を行い、「生」の値と比較した。このときの「生」の値は、PL 29.5mg Pi/100g、CGP は PL の 42%、CGP の PUFA は 22:6 44%、20:5 10%、PAF 様活性 0.41 μ mol/mol CGP、TBARS 値 1.33mmol MDA/mol PL であった。図 1 に、各調理方法における PAF 様活性と TBARS 値を、「生」の値を 100%としたときの相対値で示した。

PAF 様活性は、「焼く」、「揚げる」といった加熱調理により PAF 様活性が高く、TBARS 値も高い傾向を示した。一方、非加熱調理である「しめサバ」は 1 日目は低い値を示したが、2 日目には高い値を示した。この理由として、前述に示したような冷蔵保存中の酵素的分解による前駆体 CGP の分子種の変化によること (表 3) が予想される。市販のものを購入して同様に検討した結果、PAF 様活性は 29.6 μ mol/mol CGP、TBARS 値は 26.93 mmol MDA/mol PL とかなりの高値を示した (図 1 には記載していない)。

また、煮物、焼き物で生姜を使用したり、揚げの衣にゴマを添加して揚げたものでは、それぞれ未使用のものより PAF 様活性、TBARS 値ともに低い値を示した。生姜やゴマには抗酸化物質があり²¹⁾、これらが PAF 様物質の生成も抑制する効果があることが明らかになった。

4. 総合考察

PAF 様物質の経口的な作用については不明であるが、PAF 様物質が生成されても、その量はごく微量であり、問題がないと思われる。しかしながら、過度の PAF 様物質が生成された場合は健康障害を来す恐れがある。まれに、サバ、ブリ、カツオ、マグロの加工品などでアレルギー様食中毒の症状が見られる。これはヒスタジンが脱炭酸反応によりヒスタミンになることにより起こると考えられているが、PAF 様物質による可能性もあり、血合肉やしめサバなどでは非常に高い PAF 様活性が見られたことより、今後検討する必要があると思われる。

PAF 様活性及び TBARS 値共に、BHT を添加していない方が高い値を示したことより、操作中に自動酸化が進行して PAF 様物質がさらに生成することが示唆された。このことは、日常でも取り扱い次第で、自動酸化が進み、PAF 様活性が増大することを示唆するものである。この過酸化は化学的な過酸化反応であると考えられるが、魚介類はリポキシゲナーゼの活性が高い²²⁾ ことが知られており、冷蔵保存や

生食の場合、PAF 様物質の生成に関与している可能性もある。また、PAF 様物質の生成は単に過酸化反応の進行のみならず、冷蔵保存における前駆体 CGP の分子種の変化によることも示唆される。PAF 様物質の生成機構や健康への影響など今後検討する必要がある。

また、今回の調理における生姜やゴマ、及び前報で報告した抗酸化ビタミンには PAF 様物質生成の抑制効果があることが明らかとなった。食品中にはビタミン E、ビタミン C、カロテノイド及びフラボノイドなどの多種類の抗酸化作用を有する物質が含まれていること²¹⁾ より、調理の際にこのような抗酸化物質を含む食品を積極的に利用することを指導すべきである。

平成 11 年の国民栄養調査結果²³⁾ においても脂肪エネルギー比率は 26.5%であり、依然として上限 25%を越えている。従って、脂質の量と質の適正摂取に関する栄養指導はますます重要性になっていくであろう。*n*-3 系 PUFA の供給源である魚介類の適切な保存や、調理後速やかに食するなど過酸化をできる限り抑えて、さらに、抗酸化物質の摂取などに心がけ、*n*-3 系 PUFA の生理作用を最大限に活かすよう、指導したいものである。

IV. 要 約

魚肉に存在する PAF 様活性と脂質過酸化について、部位、保存、調理の観点から検討した。

1. クロマグロの赤身、脂身 (中トロ)、血合肉を用いて、部位による差異を検討した結果、PAF 様活性は血合肉が顕著に高かった。前駆体 CGP の分析を行った結果、血合肉 CGP はエーテル型 CGP の割合及び PUFA (DHA、IPA) 含量が高く、これらが過酸化されることにより、生理活性の高い PAF 様物質が生成されることが示唆された。

2. 魚介類の保存中の脂質過酸化と PAF 様活性の生成について検討した。サバを購入直後と冷蔵 (4°C、4 日間)、冷凍 (-40°C、30 日間) 保存したものとで比較した結果、冷蔵保存が最も脂質過酸化が進行しており、PAF 様活性も高かった。サバは、冷蔵保存により CGP が購入直後のものより約 50% に減少しており、エーテル型 CGP も約 4 倍に増加していた。このことより、冷蔵保存中の CGP の酵素的分解が進行していることが示唆された。

3. サバを用いて、種々の調理方法における PAF 様物質及び関連脂質の分析を行った。その結果、加熱調理 (焼く、揚げる) により PAF 様活性が高く、

TBARS 値も高い傾向を示したが、非加熱調理であるしめサバが最も PAF 様活性が高かった。しめサバでは、保存中に脂質過酸化のみならず前駆体 CGP の酵素的分解がおこり、高い PAF 様活性を生じることが示唆された。また、調理の際に生姜やゴマを用いると脂質過酸化と PAF 様物質の生成が抑制されることが明らかとなった。

魚肉は部位により脂質含量や PAF 様物質の前駆体が異なること、また、冷蔵保存や調理などで過酸化を受けやすく、高い PAF 様活性が生じる可能性があることが明らかとなり、魚介類の取り扱いに関する指導の必要性が示唆された。

引用文献

- 1) 平原文子：脂質栄養学，4，73-82（1995）
- 2) 板倉弘重，菅野道廣，石川俊次，池田郁男，近藤和男：脂質研究の最新情報—適正摂取を考える，第一出版（2000）
- 3) 第6次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—，健康・栄養情報研究会編集，第一出版（1999）
- 4) F. Snyder: Platelet-Activating Factor and Related Lipid Mediators, Plenum Press, New York（1987）
- 5) 和久敬蔵，井上圭三編：血小板活性化因子—生化学・生理・病理，東京化学同人（1989）
- 6) 中山玲子：本誌，45，1-10（1990）
- 7) T. Tanaka, H. Minamino, S. Unezaki, H. Tukatani and A. Tokumura: *Biochim. Biophys. Acta*, 1166, 264-274（1993）
- 8) T. Tanaka, M. Iimori, H. Tukatani and A. Tokumura: *Biochim. Biophys. Acta*, 1210, 202-208（1994）
- 9) 中山玲子，吉田広佳，田中じゅん，野口千佳，野村妙子：本誌，53，31-39（1998）
- 10) 藤本健四郎編：日本水産学会監修，水産脂質—その特性と生理活性，恒星社厚生閣（1993）
- 11) 座間宏一：日本水産学会編，白身の魚と赤身の魚—肉の特性，恒星社厚生閣，pp. 53-67（1976）
- 12) E. G. Bligh and W. J. Dyer: *Can. J. Biochem. Phys.*, 37, 911-917（1959）
- 13) G. R. Bartlett: *J. Biol. Chem.*, 234, 466-468（1959）
- 14) R. N. Pinckard, R. S. Farr and D. J. Hanahan, *J. Immunol.*, 123, 1847-1857（1979）
- 15) R. Nakayama, M. Oda, K. Satouchi and K. Saito: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 127, 629-634（1985）
- 16) R. Nakayama, K. Yasuda, K. Satouchi and K. Saito: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 151, 1256-1261（1988）
- 17) J. A. Buege and S. D. Aust: *Methods Enzymol.*, 52, 302-310（1978）
- 18) 鴻巣章二監修：魚の科学，朝倉書店（1994）
- 19) 科学技術庁資源調査会編：五訂日本食品標準成分表，大蔵省印刷局（2000）
- 20) 科学技術庁資源調査会編：日本食品脂溶性成分表（脂肪酸・コレステロール・ビタミンE），大蔵省印刷局（1989）
- 21) 森口 覚，水沼俊美：臨床栄養，88，294-300（1996）
- 22) 飯島憲章，鹿山光：鹿山光編，AA，EPA，DHA—高度不飽和脂肪酸，恒星社厚生閣，pp. 82-95（1995）
- 23) 厚生労働省保健医療局地域保健・健康増進栄養課生活習慣病対策室監修：国民栄養の現状—平成11年国民栄養調査結果—，第一出版（2001）