

オリーブ油の光増感酸化に対するカロテノイドの防止効果

閑田 文人^{*1}・原 節子^{*2}

Prevention Effect of Carotenoids on the Photo-sensitized Oxidation of Olive Oil

Ayato KANDA^{*1} and Setsuko HARA^{*2}

ABSTRACT : Virgin olive oil is known to be oxidized easily, although it contains oleic acid as its main constituent fatty acid. The susceptibility of virgin olive oil to oxidation was thought to be caused by chlorophyll, which acts as a photo-sensitizer in oils.

In the present work, the oxidation behavior of olive oil to which 0-50 ppm of chlorophyll were added was investigated and the anti-oxidative activities of carotenoids and tocopherol in olive oil containing chlorophyll were evaluated under autoxidation and photo-sensitized oxidation.

The results show that, the olive oil was oxidized more or less easily depending on the chlorophyll content. β -Carotene and astaxanthin inhibited remarkably the photo-sensitized oxidation of olive oils containing chlorophyll, while tocopherol showed a weak prevention effect on the photo-sensitized oxidation of olive oil.

Therefore, it was confirmed that carotenoids were effective antioxidants for chlorophyll-containing oils such as virgin olive oil.

Keywords : virgin olive oil, chlorophyll, photo-sensitized oxidation, antioxidant, carotenoids

(Received September 17, 2009)

1. 緒 論

独特な香りと風味を持つオリーブ油は地中海地方で古くから親しまれ、最近では日本でも健康食材として注目されている。特にオリーブの果実をそのまま搾り化学処理や加熱処理を一切行わないバージンオリーブ油には、各種ビタミン類、ポリフェノール、スクアレンなどの様々な有効微量成分が豊富に含まれている。これら、各種ビタミン類やポリフェノールは生体内において活性酸素の悪影響を抑制する効果を持ち、老化防止やがん予防に効果的であることが報告されている^{1) -3)}。また、不飽和脂肪酸の中でも最も酸化されにくいオレイン酸を主構成脂肪酸としているため、血中 LDL コレステロール値を下げ、動脈硬化等の血栓症・心臓病などを予防することが知られている^{1) -3)}。

オリーブ油特有の緑黄色は、オリーブの実に存在している脂溶性色素であるクロロフィルによるものである⁴⁾。

クロロフィルはポルフィリン環の中心に Mg^{2+} がキレートした分子内錯塩であり、Fig 1 にはポルフィリン環に結合した官能基が異なるクロロフィル a, b, の構造を示した。

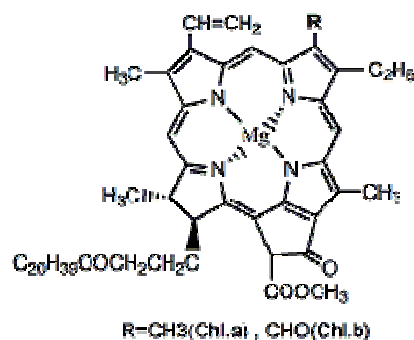


Fig.1 クロロフィルの構造

緑黄色野菜や果実、緑藻中にはクロロフィル a と b がおよそ 2~3 : 1 の割合で存在しており、脱臭・殺菌作用、免疫力強化、コレステロール抑制作用、健胃健腸作用などの作用をもつことが報告されている⁴⁾。

*1 物質生命理工学科助手

*2 物質生命理工学科教授 (shara@st.seikei.ac.jp)

しかし、クロロフィルは光増感剤あるいは光増感物質と呼ばれ、下記のように、油脂の酸化を促進する光増感作用を示すことも知られている⁵⁾⁷⁾。すなわち、クロロフィルに光が当たるとクロロフィルは光のエネルギーを吸収して励起一重項状態 ($^1\text{Chl}^*$) を経て不安定な三重項状態 ($^3\text{Chl}^*$) になる。反応性の高いクロロフィル分子はエネルギーを他の物質に与え安定な基底状態に戻る。一方、エネルギーを与えられた物質は化学反応を起こす。つまり、クロロフィルが励起状態から基底状態に戻るとき、エネルギーを基底状態の三重項酸素 ($^3\text{O}_2$) に与え、活性の高い一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) を生じさせる。一重項酸素は電子への親和性が高く、脂質を構成する不飽和脂肪酸に対して容易に付加反応を起こし、過酸化脂質 (ヒドロペルオキシド, LOOH) を生じる。従って、一重項酸素の消去は食品の劣化防止に重要であり、光増感酸化によって生じた一重項酸素を基底状態の三重項酸素に戻すクエンチャーと呼ばれる一重項酸素消去剤が注目され、その代表的なものにカロテノイドが挙げられる。

カロテノイドは黄、橙、赤色を呈する脂溶性色素として広く動植物に分布し、分子中に多数の共役二重結合をもち、炭化水素からなるカロテン類と酸素を含むキサントフィル類に大別される。代表的なカロテノイドとしては、 α -、 β -、 γ -カロテン、リコペン、クリプトキサンチン、ルテイン、アスタキサンチンなどがある。カロテノイドは一重項酸素からエネルギーを受け取り、酸素を基底状態の三重項酸素に戻すとともに、自らが受け取ったエネルギーは熱として放出することによって一重項酸素を物理的に消去する作用をもつことが知られている^{8) 9)}。また、カロテノイドにはラジカル連鎖反応を停止させる機構も報告されており、不飽和油脂の自動酸化の過程で生じた脂質ラジカルをカロテノイドの共役二重結合にトラップして、油脂の自動酸化を防止する作用も示す¹⁰⁾。

一般に不飽和脂質のラジカル連鎖反応による酸化を抑制するには、強いラジカル捕捉作用をもち、多くの植物油に含まれているトコフェロールが有効である¹¹⁾。トコフェロールはフェノール性水酸基を含む構造をもち、自動酸化反応の連鎖段階で生じる脂質ペルオキシラジカルと優先的に反応してトコフェロキシラジカル (Toc $\cdot$) を生じ、このトコフェロキシラジカルはもうひとつの脂質ペルオキシラジカルと反応して、非ラジカル化する。また、トコフェロールには一重項酸素の消去作用もあることも報告されている¹²⁾。

本研究では、クロロフィル含有量が光増感酸化に及ぼす影響を調べるため、まず、光照射下においてクロロフ

イル量の異なるオリーブ油の酸化挙動を追跡した。さらに、クロロフィル含有量の少ないオリーブ油とクロロフィルを 10ppm 添加したオリーブ油を用いて、カロテノイドの一重項酸素消去能およびラジカル捕捉作用をトコフェロールの酸化防止効果と比較することにより、油脂の光増感酸化に対する有効な防止法を開発することを目的とした。

2. 実験方法

2. 1 試料および試薬

試料油は株式会社 J-オイルミルズ製 フィリッポ・ベリオ ピュアオリーブオイル (以下オリーブ油) を使用した。酸化防止剤として用いた β -カロテンは和光純薬工業株式会社製 β -カロテン、アスタキサンチンはヤマハ発動機(株)製ピュアアスタオイル (ヘマトコッカス起源) を使用し、トコフェロールは日清オイリオグループ株式会社製ミックストコフェロールを使用した。

2. 2 分析

2. 2. 1 試料の組成分析

試料油の脂質組成は 10mg/mL クロロホルム溶液 1 μ L をクロマトロードに負荷し、展開溶媒にベンゼン: クロロホルム: 酢酸=35: 15: 1 (v/v/v) を用いて展開した後、TLC-FID 法により分析した。また、試料油の脂肪酸組成は予め Jham 法¹³⁾ により油脂の構成脂肪酸をメチルエステル化した後、装置として結合型キャピラリーカラム HR-SS-10 (0.25mm $\times$ 25m) (信和化学 (株)) と水素炎イオン化検出器を装備したガスクロマトグラフ GC-18A 型 ((株) 島津製作所) を用い、カラム温度 200 $^{\circ}\text{C}$ において GLC 分析した。

2. 2. 2 過酸化物質の測定

脂質の酸化劣化の指標として、脂質の自動酸化における一次酸化生成物である脂質ヒドロペルオキシド量を測定する最も代表的な方法であり、ヒドロペルオキシドとヨウ化カリウムの反応によって遊離したヨウ素をチオ硫酸ナトリウムで滴定し、脂質 1kg に対するヒドロペルオキシドのミリ当量数 (meq/kg) で表す過酸化物質価を電位差滴定法¹⁴⁾ により測定した。

2. 2. 3 トコフェロールの定量

自動酸化試験におけるトコフェロール量の経時変化は HPLC 分析により追跡した。なお、内部標準物質として (株) エーザイ製の 2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチル-6-クロマノールを用い、予め標準試料を用いて作成した検量線により定量した。なお、固定相として順相シリカカラム

である Fine SIL5 (4.6×250mm), 移動相としてヘキサン: 2-プロパノール=99.2: 0.8 (0.7mL/min), 検出器として蛍光検出器 (Ex.295nm, Em.325nm) を用いた。

2.2.4 β-カロテンの定量

試料中のβ-カロテン量は極大吸収波長である 464nm における吸光度を測定し、予め作成した検量線から求めた。なお、200ppm 以上のβ-カロテンを添加したオリーブ油については、試料 0.1mL をヘキサンで 10mL に希釈した溶液を使用して吸光度を測定した。

2.3 クロロフィルの抽出

実験で用いるクロロフィルは下記のように、ホウレン草からヘキサン: エタノール (3: 1) 溶液により抽出、水洗、脱水、濃縮して粗抽出物を得た。さらに、溶出溶媒としてヘキサン: 酢酸エチル (5: 1, 3: 1, 2: 1, 1: 1) を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、ヘキサン: 酢酸エチル (2: 1) 溶出区分としてクロロフィル濃縮物を得た。濃縮物および試料中のクロロフィル含有量は「規準油脂分析試験法」記載の方法¹⁵⁾に基づき、630, 670, 710nm の吸光度から求めた。

2.4 クロロフィルの酸化促進作用の検討

オリーブ油の光酸化に及ぼすクロロフィル含有量の影響を調べるため、オリーブ油に 2.3 で得たクロロフィルをそれぞれ、0, 5, 10, 25, 50ppm 添加した試料を調製し、内径 9cm のシャーレに 40g 入れ、1 日約 12 h, 蛍光灯照射下(700~800LUX)に置いて自動酸化させ、経時的に過酸化物質、トコフェロール量、クロロフィル量、カロテノイド量を測定した。

2.5 β-カロテンの酸化防止効果の検討

β-カロテンの酸化防止効果について 2.4 と同様に下記の試験により検討した。なお、基質の酸化度は過酸化物質、トコフェロール量、クロロフィル量およびカロテノイド量を経時的に測定することにより追跡した。

2.5.1 クロロフィル無添加系

クロロフィルをほとんど含まないオリーブ油にβ-カロテンを 0, 600, 1200, 3600ppm 添加した試料を調製して自動酸化試験を行い、自動酸化条件下におけるβ-カロテンの酸化防止効果を検討した。

2.5.2 クロロフィル添加系

クロロフィルをバージンオリーブ油相当量 (10ppm) 添加したオリーブ油にβ-カロテンを 0, 600, 1200, 1800, 2400, 3000, 3600ppm それぞれ添加し、蛍光灯照射下で自動酸化試験を行い、光増感酸化条件下におけるβ-カロ

テンの酸化防止効果を検討した。

2.6 β-カロテンとトコフェロールの共存効果の検討

光増感酸化条件下におけるβ-カロテンの酸化防止効果をトコフェロールと比較するために、トコフェロールを除去した精製オリーブ油にクロロフィル 10ppm と①トコフェロール 0, 250, 500, 1000, 1500, 2500, 4500ppm 添加したトコフェロール添加系、②β-カロテン 0, 750, 1500, 2400, 3000, 4000ppm を添加したβ-カロテン添加系について、蛍光灯照射下で自動酸化試験を行った。さらに、β-カロテンと Toc の共存効果を検討するために、③トコフェロール 200ppm とクロロフィル 10ppm を添加した精製オリーブ油にβ-カロテンを 600, 1200, 1800, 2400, 3000, 3600ppm 添加したトコフェロール+β-カロテン添加系についても同様に酸化試験を行った。なお、比較のために、トコフェロールを添加せずにβ-カロテンのみを 2400, 3000ppm 添加した系についても併せて試験した。

2.7 アスタキサンチンの酸化防止効果の検討

カロテノイドとしてアスタキサンチンを 8% 含むヤマハ発動機㈱製ピュアスタオイル (ヘマトコッカス起源) を用い、オリーブ油およびクロロフィル添加オリーブ油に対してアスタキサンチンが 800-20000ppm になるように添加して、2.5 と同様にアスタキサンチンの酸化防止効果を検討した。

3. 結果と考察

3.1 オリーブ油の組成と性状

本研究で用いたオリーブ油、クロロフィル添加オリーブ油、精製オリーブ油およびクロロフィル添加精製オリーブ油の脂肪酸組成と過酸化物質、トコフェロール量、クロロフィル量およびカロテノイド量を Table 1 に示した。精製オリーブ油についてはオリーブ油に含まれていたトコフェロール、クロロフィルおよびカロテノイドがほぼ完全に除去されていることを確認した。また、オリーブ油および精製オリーブ油に対し、10ppm 程度のクロロフィルを添加したものを、それぞれクロロフィル添加オリーブ油および精製オリーブ油として用いた。

Table 1 用いた各種オリーブ油の組成と性状

		オリーブ油	クロロフィル添加 オリーブ油	精製 オリーブ油	クロロフィル添加 精製オリーブ油
脂質組成 (%)	TAG	100.0	100.0	100.0	100.0
脂肪酸組成 (%)	C16:0	17.8	17.8	16.6	16.6
	C16:1	1.9	1.9	3.7	3.7
	C18:0	2.2	2.2	2.0	2.0
	C18:1	68.7	68.7	58.2	58.2
	C18:2	8.9	8.9	19.1	19.1
	C18:3	0.5	0.5	0.4	0.4
過酸化物質価 (meq/kg)		13.5	16.5	0.6	5.1
トコフェロール(ppm)		169.1	169.1	0	0
クロロフィル(ppm)		0.8	10.5	0	10.5
カロテノイド(ppm)		20.5	50.0	0	0

3. 2 クロロフィルの酸化促進作用

オリーブ油にクロロフィルをそれぞれ, 0, 5, 10, 25, 50ppm 添加した試料を 2.4 の条件下に自動酸化させ, 経時的に過酸化物質価, トコフェロール量, クロロフィル量, カロテノイド量を測定した結果, Fig. 2 に示したようにオリーブ油のクロロフィル含有量が増加するに伴って過酸化物質価が顕著に上昇した。食品衛生法に定められている油脂含有食品の基準値である 30meq/kg に達した時間を各試料について比較すると, クロロフィル無添加の試料では 42h であったのに対し, クロロフィル 5, 10, 25, 50ppm 添加系でそれぞれ 10, 8, 7, 5h となり, 添加量の増加に伴ってオリーブ油の酸化が促進されたことから, クロロフィルの光増感作用が顕著であることが確認された。なお, 共存するトコフェロール量もクロロフィル量

の増加に伴って速やかに減少することが観察された。クロロフィルによるオリーブ油の酸化促進作用に対し, トコフェロールは酸化防止剤として機能するものの, 酸化の進行が速いクロロフィル添加系では, 本実験で用いたオリーブ油に含まれる 170ppm 程度の量では酸化を効果的に防止することはできなかったと考えられた。また, 酸化の進行に伴って試料の緑色が退色し, クロロフィル量の 300h 後の残存率はいずれの試料においても 30~40% であったことから, 光の影響によるクロロフィルの分解が観察された。

これらの結果から, クロロフィルを通常 10ppm 程度含有する市販のバージンオリーブ油において, クロロフィルの光増感作用を防止するための有効な酸化防止法の開発が品質管理上必要であることが判明した。

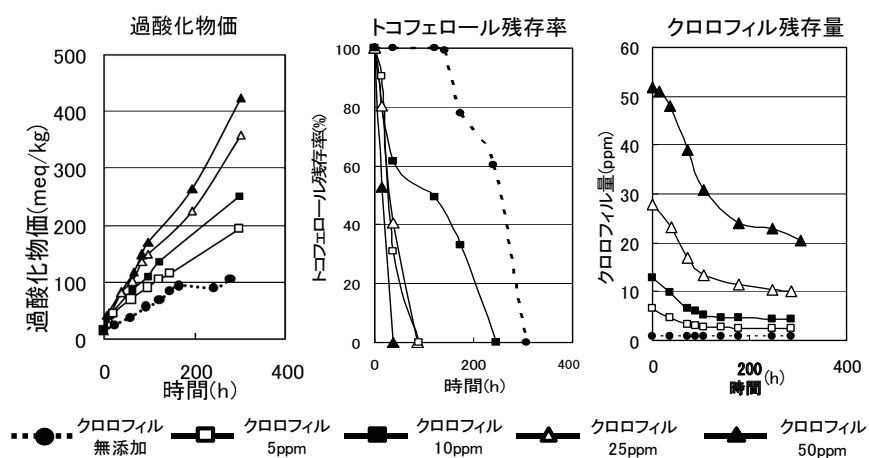


Fig.2 オリーブ油の光増感酸化に及ぼすクロロフィルの影響

3. 3 β -カロテンの酸化防止作用

クロロフィル無添加オリーブ油およびクロロフィル添加オリーブ油に対する β -カロテンの酸化防止効果を試料油の過酸化価が100meq/kgに達するまでの時間を β -カロテン無添加試料を1.00として比較し、その結果をFig.3に示した。クロロフィル無添加系において β -カロテンを添加すると添加量に伴って酸化が抑制され、3600ppm添加の場合には100meq/kgに到達する時間が無添加の6.5倍にまで延長され、クロロフィルによる光増感作用がほとんどない系において、 β -カロテンが酸化を防止する効果、すなわち、ラジカル連鎖反応による酸化を抑制することが確認された。また、クロロフィル10ppmを添加したオリーブ油においても、 β -カロテンの添加は酸化防止効果を示し、光増感酸化に対しても抑制効果をもつことが判明した。この結果から、 β -カロテンを3600ppm添加するとクロロフィルの存在の有無に関わらず酸化反応を約1/6倍に抑制できることが判明し、 β -カロテンはクロロフィルにより発生した一重項酸素を消

去する作用に加え、通常の酸化条件下で起こるラジカル酸化反応に対する酸化防止作用も有することが明らかになった。また、 β -カロテンを多く含有する試料ほどクロロフィルの減少が抑制されること、 β -カロテンの減少が大きいことが観察された。これは光エネルギーをクロロフィルに代わって β -カロテンが受けることによってクロロフィルの光分解を防止するとともに、クロロフィルによる一重項酸素の発生を抑制することにより、オリーブ油の酸化が進行するのを防止していると考えられた。

また、Fig.4にクロロフィル添加オリーブ油の誘導期をクロロフィル無添加オリーブ油の誘導期を1.00として示した。このように、クロロフィルの添加によって誘導期は0.26まで短縮、すなわち、酸化が非常に促進されていることが判明した。従って、クロロフィル添加系では添加量に伴いより多量の β -カロテンの添加が必要であり、10ppm添加したクロロフィルの酸化促進効果を相殺するためには、 β -カロテンを2000ppm以上添加することが必要であることも判明した。

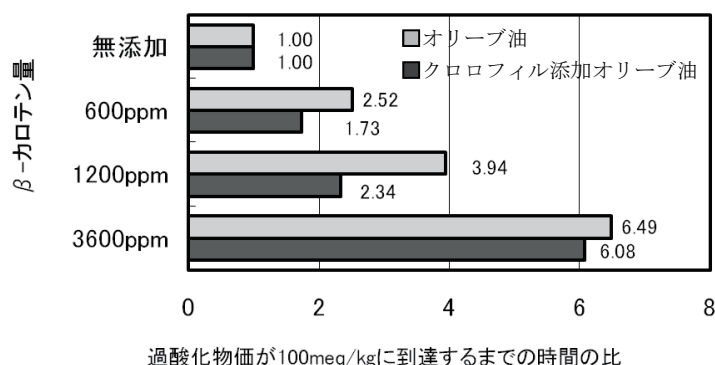


Fig. 3 オリーブ油とクロロフィル添加オリーブ油に対する β -カロテンの酸化防止効果

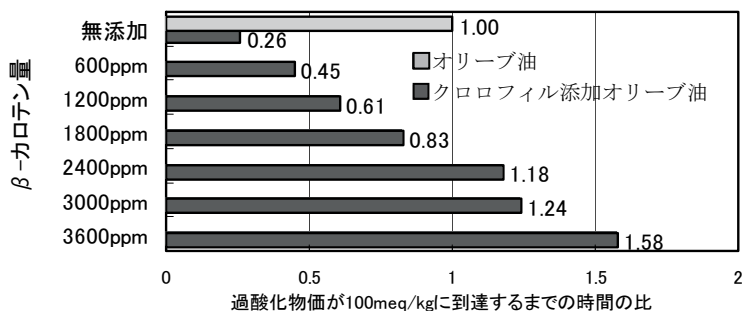


Fig. 4 オリーブ油のクロロフィルによる酸化促進作用と β -カロテンの酸化防止効果

3. 4 β -カロテンとトコフェロールの共存効果

Fig. 2 の結果ではオリーブ油に 170ppm のトコフェロールが含有されていたため、 β -カロテンの酸化防止効果をトコフェロールと比較することを目的として、まず、Toc を含まない精製オリーブ油にクロロフィル 10ppm を添加した後、Toc または β -カロテンを添加した自動酸化試験について 3. 3 と同様に過酸化価が 100meq/kg に到達する時間で Fig5 ①, ②に示した。この結果から、Toc を 250-4500ppm まで添加しても誘導期の延長効果は最大でも 2 倍以下であったのに対し、 β -カロテンでは 750-5400ppm の添加によって最大で 6.35 倍まで延長され、Toc に比較して強い酸化防止効果を示すことが判明した。さらに、両者の添加量をモル数で比較してもやはり、 β -カロテンの酸化防止効果が優れていることが確認された。

これまでに一重項酸素が脂質中の二重結合と反応する時の反応速度定数は $10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 程度と報告されており、一重項酸素による脂質の酸化を防止するための一重項酸素

消去剤としてはこれ以上の高い反応性が求められる。

カロテノイドの一重項酸素消去反応速度定数は $10^{10} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 程度、トコフェロールの一重項酸素消去反応速度定数の $10^8 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 程度であることが報告されているが⁴⁾、本実験結果からもオリーブ油の光増感酸化の防止について、 β -カロテンは、一重項酸素の物理的消去剤としてトコフェロールと比較して高い効率を有することが確認された。

次に、クロロフィル 10ppm とトコフェロール 200ppm を添加した精製オリーブ油に対する β -カロテンの酸化防止効果を検討し、その結果を Fig. 5 ③に示した。この結果からトコフェロールが共存すると β -カロテン単独の場合に比較して酸化防止効果が向上すること、すなわち、共存効果が確認されたが、トコフェロールによる酸化防止効果の向上は顕著ではなく、共存系における酸化防止効果は β -カロテンの酸化防止効果に依存していることが判明した。

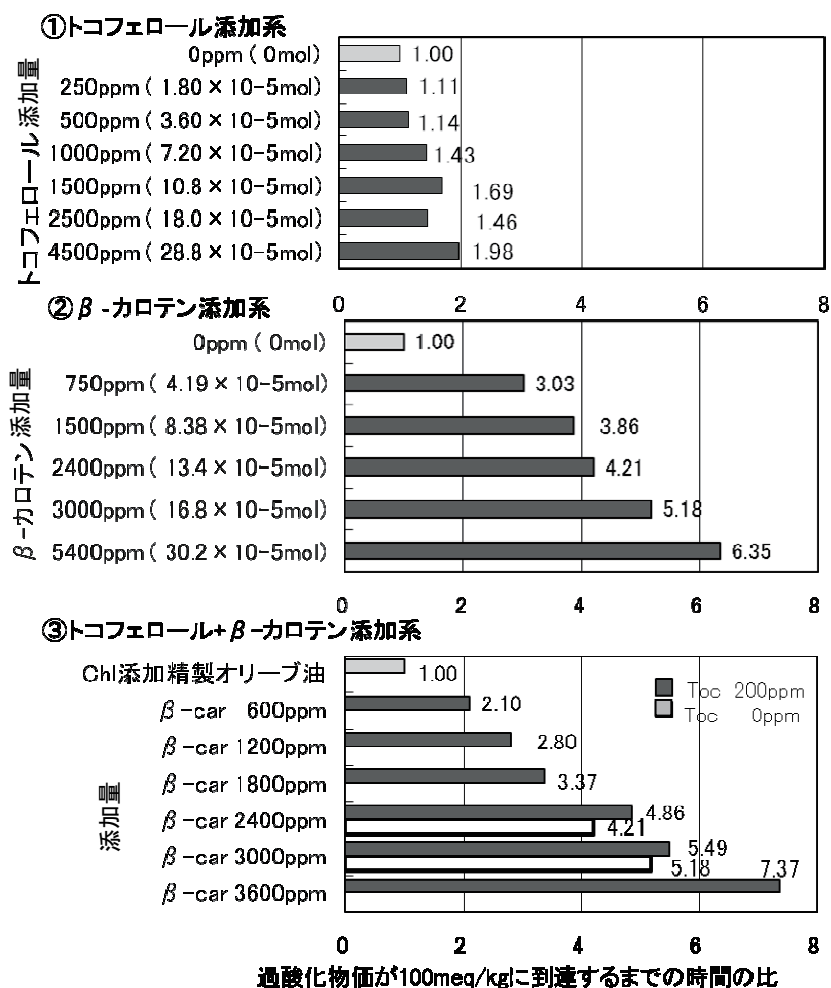


Fig. 5 オリーブ油に対する β -カロテンとトコフェロールの光増感酸化防止効果

共存系における β -カロテンおよびトコフェロールの相互関係を調べるため、試料油の過酸化価が 100meq/kg に到達した時点における β -カロテンおよびトコフェロールの残存率を求めた。その結果、トコフェロール残存率はいずれの系でも過酸化価の上昇に伴って直線的に低下したが、100meq/kg 到達時の残存率はトコフェロール単独系では 50%程度であったのに対し、共存系では 30%と低く、単独系に比較してより急激な減少が観察された。一方、100meq/kg 到達時の β -カロテンの残存率は β -カロテン単独添加系では約 40%であったのに対し、共存系では 70%程度と高く共存により β -カロテンの減少が抑制されていることが観察された。これらの結果から、 β -カロテンとトコフェロールの共存系において、トコフェロールはクロロフィルによるオリーブ油の光増感酸化に対して直接的に顕著な防止効果を示さないが、 β -カロテンの減少を抑制する作用、すなわち、 β -カロテンに対する保護作用を示し、これが両者の共存系における酸化防止効果の向上の要因であると考察された。

3. 5 アスタキサンチンの酸化防止効果

Fig. 6 に示したように、アスタキサンチンは 800-20,000ppm の添加によって、クロロフィル添加オリーブ油に対しては過酸化価 100meq/kg までの到達時間をアスタキサンチン無添加試料の 17-19 倍にまで延長することが判明した。しかし、クロロフィル無添加試料では 4,000ppm 添加しても 4 倍の延長にとどまったことから、アスタキサンチンはオリーブ油のラジカル連鎖反応による自動酸化に対する防止効果に比較して、クロロフィルによる光増感酸化に対して非常に顕著な防止効果を示すことが判明した。しかし、本実験でアスタキサンチンとして用いたピュアスタオイルは 8%のアスタキサンチン以外にトリアシルグリセロール 36%、ジアシルグリセロール 8%、脂肪酸 40%などの脂質を含み、さらにこれらの主構成脂肪酸はオレイン酸 (C18:1) とリノール酸 (C18:2) であるため、試料油の酸化挙動に対するこれらの共存成分の影響が懸念されるため、今後、光増感酸化に対する防止効果の強さについてはより純度の高いアスタキサンチンを用いて検討することが必要と考えられる。

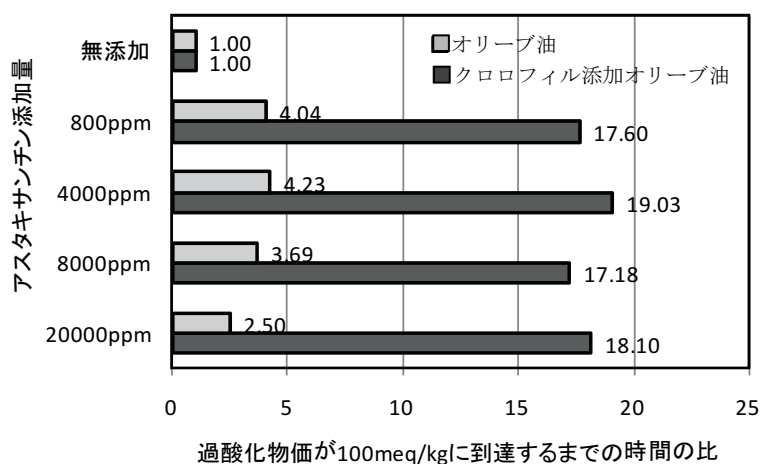


Fig. 6 オリーブ油とクロロフィル添加オリーブ油に対するアスタキサンチンの酸化防止効果

4. 総 括

オリーブ油にクロロフィルを 0-50ppm 添加した自動酸化試験の結果から、オリーブ油の酸化安定性はクロロフィル添加量に伴って顕著に低下することが判明した。市販のバージンオリーブ油のクロロフィル含有量は 10ppm 程度であることから、有効な酸化防止法の開発が必要と考えられた。

そこで、オリーブ油に対するカロテノイドの酸化防止効果について検討した結果、 β -カロテン添加系ではクロロフィルの添加・無添加にかかわらずオリーブ油の過酸化価の上昇は抑制され、 β -カロテン 3,600ppm 添加試料では 100meq/kg に到達する時間が β -カロテン無添加試料に比較していずれの系も約 6 倍に延長されることが確認された。また、10ppm のクロロフィルによる酸化促進作用は、 β -カロテンを 2000ppm 程度添加することに

より相殺できることが判明した。一方、トコフェロールは光増感酸化に対する防止効果は弱いものの、 β -カロテン共存下では β -カロテンの酸化防止効果を増強することが確認された。また、アスタキサンチンは800-20,000ppmの添加によって、クロロフィル10ppm添加オリーブ油に対して、過酸化価が100meq/kgに到達する時間をアスタキサンチン無添加試料の17-19倍に延長したが、クロロフィル無添加試料ではアスタキサンチンを4,000ppm添加しても4倍の延長にとどまったことから、アスタキサンチンは光増感酸化に対してより顕著な防止効果を示すことが判明した。

以上の結果から、バージンオリーブ油のように未精製でクロロフィルを含有する油脂についてはクロロフィルの光増感作用によって酸化が促進されるため、その酸化に対して十分な注意が必要であり、 β -カロテンやアスタキサンチンなどのカロテノイドを用いた酸化防止策を講じることがその安全な利用に対して重要であることが判明した。

参考文献

- 1) V. Ruiz-Gutierrez, F. Y. G. Muriana, J. Villar; Virgin olive oil and cardiovascular disease, *Grasas Aceites*, **49**, 9-29(1998)
- 2) V. Piironen, G. Lindsay, T. A. Miettinen, J. Toivo, A. M. Lampi ; review plant sterols : Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition, *J. Sci. Food Agric.*, **80**, 939-966 (1981)
- 3) F. Visioli, C. Galli; Olive oil phenols and their potential effects on human health, *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 4292-4296 (1998)
- 4) M. I. Minguez, B. Gandul-Rojas, J. Garrido-Fernandez, L. Gallardo-Guerrero, Pigment present in virgin olive oil, *J. Agric. Food Chem.*, **67**, 192-196(1990)
- 5) R. Apricio, L. Roda, A. Albi, F. Gutierrez; Effects of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 4150-4155(1999)
- 6) J. Velasco, C. Dobarganes; Oxidative stability of virgin olive oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **104**, 661-676 (2002)
- 7) 津志田藤二郎編, 食品の光劣化防止技術, p.29-35, サイエンスフォーラム (2001)
- 8) 津志田藤二郎編, 食品の光劣化防止技術, p.121-130, サイエンスフォーラム (2001)
- 9) K. Warner, E. N. Frankel; Effects of β -carotene on light stability of soybean oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 213-218 (1987)
- 10) 二木鋭雄, 島崎弘幸, 美濃真編集, 抗酸化物質—フリーラジカルと生体防御—, p.59-69, 学会出版センター (1994)
- 11) 日本油化学会編, 改訂第2版 油脂・脂質の基礎と応用, p.147-152, 日本油化学会 (2009)
- 12) 二木鋭雄, 島崎弘幸, 美濃真編集, 抗酸化物質—フリーラジカルと生体防御—, p.87-97, 学会出版センター (1994)
- 13) G. N. Jham, F. F. F. Teles, L. G. Campos ; Use of aqueous HCl/MeOH as esterification reagent for analysis of fatty acids derived from soybean lipids, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**, 132-133 (1982)
- 14) 日本油化学会編, 規準油脂分析試験法, 暫 4-2000 (2003)
- 15) 日本油化学会編, 規準油脂分析試験法, 参 2.9-1996 (2003)