HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サケ・マス類の脂質：第4報 サケ筋肉複合脂質
Author(s)	座間, 宏一; 羽田野, 六男; 五十嵐, 久尚
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 13(1), 13-20
Issue Date	1962-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23149
Type	departmental bulletin paper
File Information	13(1)_P13-20.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

サケ・マス類の脂質

第4報　サケ筋肉複合脂質*

座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚
(北海道大学水産学部水産化学教室)

Lipids of Salmonoid Fishes

IV. Conjugated lipids from muscle of dog salmon, *Oncorhynchus keta*

Kōichi ZAMA, Mutsuo HATANO and Hisanao IGARASHI

Abstract

Lecithins and cephalins were prepared from the muscle of dog salmon, *Oncorhynchus keta*.

The characteristics of these substances are shown in Tables 1, 6 and 7, respectively.

The results of fractionation of the cephalin with chloroform-ethanol are shown in Table 8.

Furthermore, the purification of aminophospholipids were dinitrophenylated after having been purified and then chromatographed on silica-celite column.

The results obtained are shown in Table 9.

緒　　言

魚類筋肉複合脂質については Lovern, Olley ら[1)-7)] のハドック，タラ，著者ら[8)-12)] のマグロ，アカガレイ，露木ら[13)-15)] のキンメダイ，カマス，ブリ，Gray ら[16)] のマス，またサケ筋肉中における燐脂質の分布については Kaucher ら[17)]，宇野ら[18)] の報告がある。

著者らは前報[19)]においてサケ筋肉アセトン可溶性脂質の性状とくにその脂肪酸組成について報告したが，本報ではサケ筋肉のレシチン，ケファリン画分の性状およびケファリン画分のクロロホルム・エタノール分画の結果得られたアミノ燐脂質の性状について報告する。

実験および結果

脂質抽出液の溶剤溜去，濃縮などの操作はすべて減圧下炭酸ガス気流中で行った。

分析法： P は Fiske-Subbarow 法，N は Micro Kjeldahl 法，コリンは Beattie 法[20)]，グリセ

---

* 水産動物燐脂質に関する研究　第 25 報.
(Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals. XXV.)

ロールは Blix 法[21], エタノールアミンおよびセリン値は Nojima · Utsugi 法[22], アルデヒドは Wittenberg 法[23], Br は Stepanow 変法[24] によって定量, 沃素価は Wijs 法によって測定, イノジトールは Scherer 反応によって定性的に検出した。

レシチンの調製: レシチンの調製は大約前報[19] Fig. 1 に示すごとくして行った。即ちサケ磨砕筋肉より得られたエーテル可溶, エタノール可溶画分に 50% $CdCl_2$ 水溶液を加えて得た粗レシチン $CdCl_2$ 複化合物を Pangborn 法[25] により脱 $CdCl_2$ を行い, 溶剤溜去後約 62 g の残留物を得た。このものを更に5倍量の無水エーテルに溶解しエタノールを加え一夜氷室に放置し生じた沈澱を除去, 溶剤を溜去して粗レシチン約 59 g を得た。

分析値:

P 3.89%, N 1.85%, コリン 14.51%, グリセロール 10.95%, アルデヒド 1.03%,

P:N 1:1.05, P:コリン 1:1.96, P:グリセロール 1:0.95, 沃素価 162.3

粗レシチン 50 g を無水エタノール 2500 ml に溶解, アルミナ吸着柱 (30×410 mm, メルク製アルミナを 400°C, 2 時間活性化して用いた。) を通過させ, 更に 500 ml の無水エタノール及びクロロホルム・メタノール (1:1) 500 ml で溶出し Table 1 に示す結果を得た。

Table 1. Composition of lecithins after passage over aluminium oxide

Fraction	Eluent, ml	Yield		P	N	Choline	Glycerol	Aldehyde	Iodine
		g	%	%	%	%	%	%	no.
Crude	— —	—	—	3.89	1.85	14.51	10.95	1.03	162.3
1	Ethanol 500	5	10	3.84	1.68	14.16	11.01	1.07	158.1
2	〃 〃	18	36	3.90	1.73	15.50	11.00	0.51	163.5
3	〃 〃	12	24	3.88	1.72	15.61	10.95	0.57	162.8
4	〃 〃	2	4	3.85	1.72	15.67	10.93	0.54	164.4
5	〃 〃	1	2	3.84	1.76	16.07	11.30	0.76	146.2
6	〃 〃	1	2	3.85	1.73	15.80	10.92	1.62	149.3
7	$CHCl_3$-methanol (1:1) 〃	2	4	3.82	1.79	14.10	10.86	1.62	109.2

レシチンの脂肪酸: Table 1 の結果より Fraction 1, 2, 3 および 4 は略々同一物と考えられる故これらを合せ, その 30.5 g を常法に従い鹸化し混合脂肪酸 (中和価 197.1, 沃素価 186.0) 18.9 g を得た。この混合脂肪酸を鉛塩エタノール法により固体および液体脂肪酸に分別, 更に後者をリチウ

Table 2. Properties of fatty acid and methyl ester fractions of lecithins

	Yield, %	Neutr. no.	Sapon. no.	Iodine no.
Solid acids	31.3	210.0	—	42.4
Esters of solid acids	—	—	199.5	41.8
Lower-unsaturated acids	24.9	202.3	—	128.6
Esters of lower-unsatd. acids	—	—	192.6	126.6
Higher-unsaturated acids	43.8	185.9	—	308.6
Esters of higher-unsatd. acids	—	—	177.6	304.8

ム塩アセトン法によって低度および高度不飽和脂肪酸に分別，各脂肪酸画分は夫々常法に従いメチルエステルを調製した。これらの結果は Table 2 に示す通りである。

これらのエステルを夫々減圧下に分溜し Table 3, 4, 5 に示す結果を得た。これらの各溜分より下記のごとくして脂肪酸を検索した。

Table 3. Fractional distillation of the methyl esters of solid fatty acids

Fraction	B. p. °C/2 mmHg	Yield		Sapon. no.	Iodine no.
		g	%		
S-1	148-151	2.10	51.2	210.8	14.9
S-2	151-155	1.00	24.4	187.7	25.1
S-3	Residue	1.00	24.4	176.7	48.1

Table 4. Fractional distillation of the methyl esters of lower-unsaturated fatty acids

Fraction	B. p. °C/2.5 mmHg	Yield		Sapon. no.	Iodine no.
		g	%		
L-1	-162	0.48	13.0	216.8	68.7
L-2	162-167	0.88	23.9	200.5	92.5
L-3	167-182	1.70	46.0	182.4	137.5
L-4	Residue	0.63	17.1	174.5	189.7

Table 5. Fractional distillation of the methyl esters of higher-unsaturated fatty acids

Fraction	B. p. °C/1.5 mmHg	Yield		Sapon. no.	Iodine no.
		g	%		
H-1	-173	1.04	15.3	185.7	202.5
H-2	173-186	0.99	14.7	184.3	335.2
H-3	186-194	2.50	36.9	178.6	400.5
H-4	194-	0.50	7.4	175.6	388.3
H-5	Residue	1.73	25.7	168.8	203.6

S-1 より中和価 222.8, 沃素価 10.3 の脂肪酸を得，90% エタノールより再結を繰り返えしたものは中和価 222.3, m. p. 58.6° であった。それ故原溜分にはミリスチン酸とパルミチン酸に少量のモノエン酸も存在しているものと考えられる。

S-2 より中和価 196.9, 沃素価 22.8 の脂肪酸を得，95% エタノールより再結後中和価 196.2, m. p. 68.9° の脂肪酸を得た。原溜分にはステアリン酸を主とし少量のアラキジン酸とオクタデセン酸の存在が考えられる。

S-3 より中和価 180.5, 沃素価 49.2 の脂肪酸が得られた故，原溜分にはアラキジン酸およびオク

タデセン酸に微量のステアリン酸が存在していることが推測される。

L-1 より中和価 229.2, 沃素価 54.4 の脂肪酸を得たが，この溜分は主としてテトラデセン酸とヘキサデセン酸よりなるものと考えられる。

L-2 より中和価 211.1, 沃素価 68.5 の脂肪酸を得た。このものを Hazura 酸化し中和価 187.6 のオキシ酸を得たが，それ故この溜分は主としてヘキサデセン酸とオクタデセン酸に微量の飽和脂肪酸が混入しているものと考えられる。

L-3 より中和価 191.2, 沃素価 154.7 の脂肪酸を得たが，これを Hazura 酸化して得たオキシ酸は中和価 170.0, を示した。それ故原溜分はオクタデカジエン酸を主としエイコセン酸も混合しているものと推定される。

L-4 より中和価 176.7, 沃素価 220.5 の脂肪酸を得た。この脂肪酸を石油エーテル中でブロム化し，ブロム含量 69.89% を示すベンゼン不溶性臭化物を得た。沃素価はやや低い値を示しているがエイコサペンタエン酸とドコサテトラエン酸を主とするものと考えられる。

H-1 より中和価 194.7, 沃素価 203.7 の脂肪酸を得たが，これのベンゼン難溶性臭化物のブロム量は 67.53% を示す故，この溜分はオクタデカトリエン酸およびエイコサテトラエン酸よりなるものと考えられる。

H-2 より中和価 193.3, 沃素価 331.6 の脂肪酸，そのベンゼン難溶性臭化物のブロム含量 67.90% の脂肪酸を得たが，この溜分はエイコサテトラエン酸およびオクタデカトリエン酸の混合物と推定される。

H-3 より中和価 186.7, 沃素価 381.6, ブロム含量 72.06% の脂肪酸を得たが，この溜分にはオクタデカテトラエン酸とエイコサペンタエン酸が存在すると推定される。

H-4 より中和価 183.3, 沃素価 377.6, ベンゼン難溶性臭化物のブロム量 72.67% の脂肪酸を得た。従ってこの溜分はエイコサペンタエン酸とドコサペンタエン酸を主体とするものと考えられる。

H-5 より中和価 170.4, 沃素価 226.4, ベンゼン難溶性臭化物のブロム量 70.60% の脂肪酸を得た。このものは多少沃素価が低いが，主としてドコサペンタエン酸よりなるものと考えることができる。

以上の各溜分中には上記以外の脂肪酸が存在しないものとして，その組成を概算すると Table 6 に示すごとくなる。

Table 6. Fatty acid composition of lecithins (%)

Saturated acids		Lower-unsaturated acids		Higher-unsaturated acids	
Myristic	1.7	Tetradecenoic	0.1	Octadecatrienoic	7.6
Palmitic	14.0	Hexadecenoic	7.0	Octadecatetraenoic	1.4
Stearic	7.5	Octadecenoic	14.5	Eicosatetraenoic	5.5
Arachidic	1.3	Octadecadienoic	1.1	Eicosapentaenoic	21.0
		Eicosenoic	4.8	Docosatetraenoic	0.7
				Docosapentaenoic	11.8

ケファリンの調製： ケファリンは前報 Fig. 1 に示すごとくして得られたエーテル可溶，エタノール不溶画分を合せ，少量のエーテルに溶解一夜氷室に保ち生じた不溶物を除去した後，その 10 倍量のアセトンを加え沈澱させる操作を 3 回繰り返えすことによって精製を行い 17.9 g のケファリン画分を得た。その性状は Table 7 に示す通りである。

Table 7. Composition of cephalins (%)

P	4.46	Serine	0.98
N	1.62	Ethanolamine	4.45
Glycerol	11.89	Iodine no.	70.4
Inositol	+		
Fatty acid (Neutr. no. 197.5, Iodine no. 76.9)			
Saturated acid	56.5	Tetraenoic acid	0.6
Monoenoic acid	23.9	Pentaenoic acid	2.1
Dienoic acid	7.2	Hexaenoic acid	3.4
Trienoic acid	6.3		

ケファリンの脂肪酸： ケファリン画分 250 mg を常法通り鹸化し，中和価 197.5, 沃素価 76.9 の混合脂肪酸 115 mg を得た。試料少量のため Herb-Riemenschneider 法[26] に従い異性化した後，紫外部の比吸光係数を求め，Hammond-Lundberg の式[27] によって脂肪酸組成を算出し Table 7 に示す結果を得た。

ケファリン画分のクロロホルム，エタノールによる分画： サケ筋肉より得たケファリン画分を Folch[28] の方法に準じて分画を行った。即ちケファリン 16.5 g をクロロホルム 135 ml に溶解，無水エタノール 150 ml を加え一夜氷室に保ち析出する沈澱 Fraction 1 (0.5 g) を遠心分離し，上澄液に無水エタノール 45 ml 更に 413 ml を加え前述のようにして夫々 Fraction 2 (0.5 g), Fraction 3 (8.5 g) を得た。Fraction 3 を除いた上澄液を 1/2 容まで濃縮，氷室に保ち生じた沈澱 Fraction 4 (1.9 g) を分別，更に 15 ml まで濃縮し 20 倍量のアセトンを加え Fraction 5 (2.3 g) の沈澱を得た。なおアセトン可溶部からは Fraction 6 (2.0 g) を回収した。その結果は Table 8 に示す通りである。

Table 8. Composition of cephalins after fractionation with chloroform-ethanol

Fraction	Yield %	P %	N %	Glycerol %	Serine %	Ethanol-amine %	Inositol	Iodine no.
1	3.1	4.33	1.63	−	−	−	++	−
2	3.1	4.44	1.22	8.24	1.06	2.36	+	68.6
3	51.6	4.23	1.26	10.86	1.99	4.05	±	77.9
4	11.5	4.05	1.36	10.27	1.04	5.04	−	75.0
5	14.0	4.14	1.75	10.59	0.80	6.86	−	81.9
6	12.1	4.58	1.46	10.93	0.97	6.05	−	95.8

アミノ燐脂質の調製： 前記の Fraction 3, (5.6 g) を再びクロロホルム 44.8 ml に溶解し無水エタノール 66.1 ml を加え，氷室中に一夜保ち生じた沈澱を濾別，沈澱を少量のクロロホルム，エタノール (4 : 5) 混合液で洗滌，洗液と濾液とを合せ溶剤溜去後，残留物を 200 ml の蒸溜水に懸濁，濃塩酸を加えて 1 N 濃度とし生じた沈澱を遠心分離によって集め，更に数回 0.1 N 塩酸で洗滌後 150 ml のクロロホルム-メタノール混液に溶解した。これに Folch ら[29] の Washing を 3 回繰り返した後，クロロホルム層を乾燥，溶剤を溜去，残留物を 50 ml のアセトンとよく混合し一夜氷室に保ち生じた

沈澱を集め，更に数回少量の無水エタノールで洗滌，1.6 g の精製アミノ燐脂質を得た。

分析値：

P 4.33%，N 1.37%，P:N 1:0.70，セリン 2.04%，エタノールアミン 3.95%，グリセロール 10.74%

この加水分解物を東洋濾紙 No. 50 を用い，n-ブタノール・ジエチレングライコール・水 (4:1:1) を溶剤として上昇法で展開，ニンヒドリンを用いて検出した結果セリン (R_F 値 0.18)，エタノールアミン (R_F 値 0.35) およびアンモニア (R_F 値 0.40) の他スレオニン (R_F 値 0.30) に該当するスポットを認めた。

DNP-アミノ燐脂質の調製：上記アミノ燐脂質 960 mg をクロロホルム 30 ml に溶解，5% DNFB エタノール溶液 10 ml，5% $NaHCO_3$ 水溶液 10 ml と室温で 20 時間振盪反応させた後，稀塩酸で酸性とし，クロロホルム層をとり，水層を更に少量のクロロホルムで数回抽出，クロロホルム層を集め 50% エタノール，水で順次洗滌，乾燥後溶剤を溜去 1015 mg の DNP-アミノ燐脂質を得た。

DNP-アミノ燐脂質のカラム・クロマトグラフィー：内径 20 mm の管にあらかじめ 120°C, 24 時間活性化した珪酸-セライト (2:1) を 400 mm まで充塡し，アセトン及びクロロホルムで順次カラムを洗滌後，DNP-アミノ燐脂質 1000 mg を 20 ml のクロロホルムに溶解，吸着させ順次クロロホルムとメタノールの濃度を変えて溶出を行った。各溶出物は夫々 20 倍量の 6 N 塩酸と封管中 100°C, 20 時間加水分解を行い，加水分解物について東洋濾紙 No. 50 を用い，n-ブタノール-酢酸-水

Table 9. DNP-aminophospholipids chromatographed over silicic acid-celite

Fraction	Eluent $CHCl_3$/methanol	ml.	Yield, mg	DNP-amino compounds
1	100 : 0	125	50.4	Ethanolamine + Threonine
2	98 : 2	50	434.9	〃 〃
3	98 : 2	50	109.6	〃 〃
4	95 : 5	40	13.1	〃 〃
5	95 : 5	60	10.0	〃 〃
6	80 : 20	50	70.0	〃 〃
7	70 : 30	70	29.0	Ethanolamine + Serine
8	50 : 50	60	93.0	Serine
9	0 : 100	100	15.0	〃
10	0 : 100	300	73.0	〃

(4:1:5) および水飽和 n-ブタノールを展開剤として上昇法で展開を行い，紫外ランプによって検出[19]した結果，DNP-エタノールアミン (R_F 値 0.93, 0.85)，DNP-セリン (R_F 値 0.74, 0.33) および DNP-スレオニン (R_F 値 0.89, 0.47) に該当するスポットを認めた。その結果は Table 9 に示す通りである。

考 察

サケ筋肉より調製したレシチンの構成脂肪酸は Table 6 に示すような組成を有しているが，前報[19]のアセトン可溶性脂質のものと明らかな差異を示している。このことはレシチンが直接にグリセライ

ド代謝に関与しないという事実を暗示するものと考えることができる。またマグロ[8]，カマス[18]，マス[16]など他の魚類筋肉より得たレシチンの脂肪酸組成と異っているが，このことは著者ら，最近では Gray ら[16]も述べているように種族差によるためと考えられる。

サケ筋肉より得たケファリンは Inositolphospholipids, Phosphatidylserine, Phosphatidylethanolamine および Threonine 含有脂質の混合物であることが推定される。Threonine 含有脂質については先に著者ら[10,11]がマグロ筋肉中に存在することを認め，更に林ら[40]もガン組織より得た脂質中にも Threonine の存在することを報告している。魚類筋肉中からこのような脂質が得られることは興味あることである。

Table 7 に示す脂肪酸組成よりケファリンを構成する個々の脂質の構成脂肪酸を推定することは困難であるが，いわゆるケファリン画分はレシチンに比し飽和酸およびモノエン酸に富んでいることが認められる。

総　　括

サケ筋肉より得たレシチン塩化カドミウム複塩を更にアルミナ・クロマトグラフィーを行い略々純粋なレシチンを得た。

溶剤精製法により得たケファリン画分は Inositolphospholipids, Phosphatidylserine, Phosphatidylethanolamine および Threonine 含有脂質の混合物であることが認められた。

本実験遂行にあたり試料の採取に御協力をいただいた本学部練習船北星丸 三島清吉船長外乗組員一同に感謝の意を表する。なお本研究費は昭和 34 年度文部省総合研究「水産生物の脂質」によった。

(本論文は昭和 34 年　日本水産学会秋季大会で発表した。)

文　　献

1) Lovern, J. A. (1953a). *Biochem. J.* 54, 126-128.
2) ———— (1953b). *ibid.* 54, 128-137.
3) Olley, J. and Lovern, J. A. (1953). *ibid.* 54, 559-569.
4) Lovern, J. A. and Olley, J. (1953). *ibid.* 55, 686-696.
5) Olley, J. and Lovern, J. A. (1954). *ibid.* 57, 610-619.
6) Garcia, M. D., Lovern, J. A. and Olley, J. (1956). *ibid.* 62, 99-106.
7) Olley, J. (1956). *ibid.* 62, 107-114.
8) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男 (1957a). 日水誌 23, 273-277.
9) ———— ・ ———— ・ ———— (1957b). 同　誌 23, 278-281.
10) Igarashi, H., Zama, K. and Katada, M. (1958). *Nature* 181, 1282-1283.
11) 片田宗男・座間宏一・五十嵐久尚 (1959). 日水誌 24, 735-738.
12) 五十嵐久尚・座間宏一・羽田野六男・高間浩蔵 (1961). 昭和 36 年度日本水産学会にて発表.
13) 露木英男・成瀬宇平・松本太郎 (1960a). 油化学 9, 197-200.
14) ———— ・ ———— ・ ———— (1960b). 同　誌 9, 420-425.
15) 露木英男・成瀬宇平・塩谷明雄 (1961). 日水誌 27, 1113-1116.
16) Gray, G. M. and Macfarlane, M. G. (1961). *Biochem. J.* 81, 480-488.

17) Kaucher, M., Galbraith, H., Button, V. and Williams, H. H. (1944). *Arch. Biochem.* 3, 203-215.
18) 宇野 勉・徳永俊夫・中村全良 (1956). 北水研報告 (14), 89-95.
19) 羽田野六男・座間宏一・五十嵐久尚 (1962). 北大水産彙報 13, 8-12.
20) Jane, F. and Beattie, R. (1936). *Biochem. J.* 30, 1554-1559.
21) Blix, G. (1936). *Mikrochim. Acta* 1, 75-77.
22) Nojima, S. and Utsugi, N. (1957). *J. Biochem.* (*Tokyo*). 44, 565-573.
23) Wittenberg, J. B., Korey, S. R. and Swenson, F. H. (1956). *J. Biol. Chem.* 219, 39-47.
24) 木村和三郎 (1934). 工化 37, 1310-1316.
25) Pangborn, M. C. (1951). *J. Biol. Chem.* 188, 471-476.
26) Herb, S. F. and Riemenschneider, R. W. (1953). *Anal. Chem.* 25, 953-955.
27) Hammond, E. G. and Lundberg, W. O. (1953). *J. Am. Oil Chemists' Soc.* 30. 432-438.
28) Folch, J. (1942). *J. Boil. Chem.* 146, 35-44.
29) Folch, J., Ascoli, I., Lees, M., Meath, J. A. and LeBaron, F. N. (1951). *J. Biol. Chem.* 191, 833-841.
30) 林 誠・小野寺邦介・中島良穂・宮木高明 (1961). 生化学 33, 631-632.