



Title	サケ・マス類の脂質：第9報 サケ心臓の複合脂質
Author(s)	座間, 宏一; ZAMA, Kōichi; 羽田野, 六男 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 17(2), 127-132
Issue Date	1966-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23280
Type	departmental bulletin paper
File Information	17(2)_P127-132.pdf



サケ・マス類の脂質
第9報 サケ心臓の複合脂質

座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚

Lipids of Salmonoid Fishes

IX. Conjugated lipids from heart of chum salmon, *Oncorhynchus keta**
Kōichi ZAMA**, Mutsuo HATANO** and Hisanao IGARASHI**

Abstract

Separation and fractionation of the individual phospholipids of salmon heart were achieved by chromatographic means. Results of the detailed analysis of the phospholipids thus obtained are presented in Table 2. The salmon heart was found to contain mainly phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, phosphatidylcholine, acetal lipids and sphingomyelin in the phospholipids.

Phosphatidylcholine was further purified by means of alumina column chromatography, and the fatty acid composition of this phosphatidylcholine estimated by the methods of G.L.C. was as follows: C_{14:0} 2.8, C_{15:0} 0.5, C_{16:0} 43.5, C_{18:0} 3.2, C_{16:1} 9.7, C_{16:2} 2.3, C_{16:3} 0.5, C_{18:1} 20.0, C_{18:2} 2.3, C_{20:1} 3.7, C_{22:1} 6.4, and C_{22:3} 5.1%.

緒 言

魚類心臓の脂質とくに複合脂質についての研究は少い。著者らりは先にスケトウダラ心臓よりレシチン、ケファリンおよびカルジオリピン様物質を分離し、その性状について報告したが、本報ではサケ心臓より得た粗複合脂質画分をセルローズカラムクロマトグラフィーにより精製し、さらにケイ酸セライトカラムクロマトグラフィーによりアミノ磷脂質およびコリン磷脂質画分に分け、前者は更にケイ酸クロマトグラフィーにより後者はアルミナカラムクロマトグラフィーにより精製を試みたのでこれらの結果について報告する。

実験および結果

脂質の調製法は前報²⁾のごとくして行い、分析法はほぼ既報³⁾と同様にして行った。ただしイノシトールは SCHERER 反応により定性的に検出し、沃素価は YASUDA 法によって測定した。

複合脂質の調製:

* 北海道大学水産学部北洋水産研究施設業績 第16号
(Contribution No. 16 from the North Pacific Fisheries Research Unit, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

* 水産動物磷脂質に関する研究 第33報
Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals. XXXIII.

** 北海道大学水産学部食品化学第一講座

Lipid A のセルローズカラムクロマトグラフィー: 前報の Fig. 1 に示すごとくして得られた粗複合脂質画分 (Lipid A) をセルローズカラムクロマトにより精製した。即ちセルローズ粉末 (Whatman cellulose powder, ashless grade) 210g (50×500 mm) をあらかじめクロロホルム 2000 ml で洗滌した後, Lipid A 52 g をクロロホルム-メタノール-水 (800: 200: 25) の 10% 溶液としてセルローズカラムに注ぎ, さらに同一溶剤 2500 ml で溶出を行い 48.5g の複合脂質 (Lipid B) を得た。

Lipid B のケイ酸-セライトカラムクロマトグラフィー: ケイ酸 (Mallinckrodt, 100 mesh, クロマトグラフ用) 528 g, セライト 545 (John-Maniville) 264 g をよく混合, 窒素気流中で 110°C, 24 時間活性化しカラム (50×910 mm) に充填, クロロホルム-メタノール (1:1) 2000 ml, 次いでクロ

Table 1. Properties of conjugated lipids before and after passage over cellulose column

	Lipid A	Lipid B
Phosphorus, %	4.36	3.80
Nitrogen, %	1.87	1.65
Choline, %	5.87	8.06
Amino acid (as serine), %	0.81	0.34
Amine (as ethanolamine), %	3.74	1.70
Sphingosine-N, %	0.28	0.27
Glycerol, %	9.20	10.01
Aldehyde (as stearal), %	0.13	0.19
Sugar (as galactose), %	0.21	0.16
Inositol	+	+
Iodine no. (YASUDA's method)	105.0	114.1

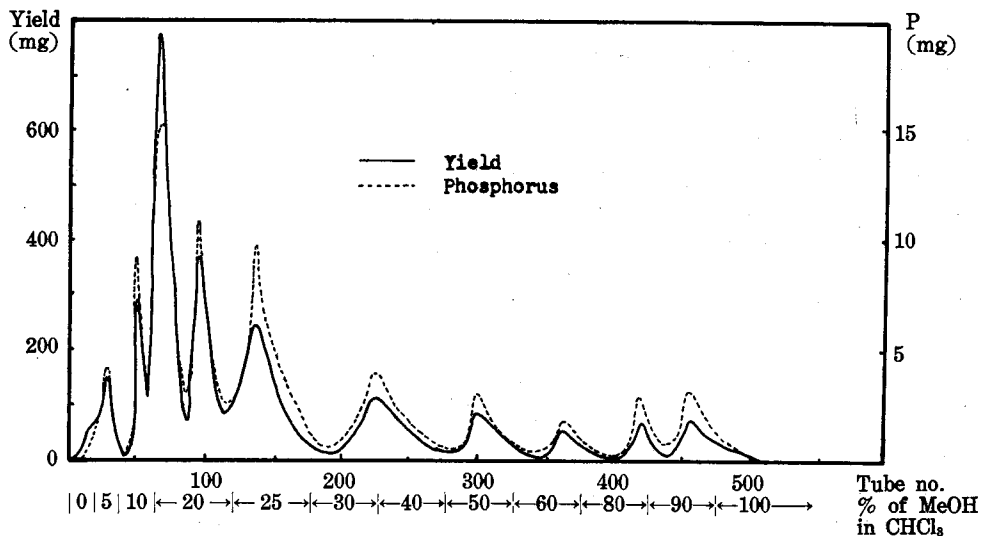


Fig. 1. Fractionation of conjugated lipids of heart on silicic acid-celite. 46 grams of conjugated lipid was chromatographed over 792 g of silicic acid-celite (2:1, w/w) column. The eluate was collected in 25 ml fractions.

ロホルム 1500 ml で洗滌後 46 g の Lipid B の 10% クロロホルム溶液を注入, クロロホルム, クロロホルム-メタノール混液, 最後にメタノールで順次溶出を行い溶出液は 25 ml 宛分取した。溶出溶剤の組成, 溶出脂質量およびその磷量は Fig. 1 に示す通りである。

Fig. 1 の結果, 得られた各画分の性状は Table 2 に示す通りである。

Table 2 の結果より Fract. 3 は主として phosphatidylethanolamine および phosphatidylserine, Fract. 5 は phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine および phosphatidylserine の混合物

Table 2. Properties of fractions separated from conjugated lipids by silicic acid-celite column

Fract. no.	Tube no.	Yield (g)	P (%)	N (%)	Choline (%)	Amino acid (%)	Amine* (%)	Sphingosine-N (%)	Glycerol (%)	Aldehyde (%)	Sugar (%)	Inositol	Iod. no.
1	1-41	2.783	2.24	1.08	1.79	0.18	0.21	—	6.13	0.05	0.18	—	63.4
2	42-59	2.227	3.14	1.37	2.61	0.29	1.05	—	13.07	0.13	0.60	—	78.6
3	60-87	8.154	3.03	1.64	2.92	1.39	4.28	—	12.74	0.21	0.32	+	108.4
4	88-103	2.706	3.24	2.38	2.41	1.44	5.49	—	11.81	0.11	0.46	+	115.4
5	104-179	9.193	4.72	1.85	9.64	1.00	1.87	—	11.78	0.10	0.46	+	128.2
6	180-289	7.993	3.32	1.58	14.97	1.10	1.38	—	11.18	0.21	0.20	±	109.2
7	290-349	3.613	3.42	3.74	8.94	4.40	1.53	1.18	10.27	0.28	0.71	—	99.9
8	350-409	3.397	3.44	3.78	7.03	2.50	1.15	1.05	9.18	0.06	0.84	—	97.2
9	410-439	1.602	3.26	3.79	7.21	3.67	1.84	1.07	9.21	0.35	0.64	—	89.2
10	440-600	4.339	3.84	3.39	14.39	4.44	1.73	1.17	8.53	0.98	1.81	—	87.7

* The percentage of amino bases were calculated as in Table 1

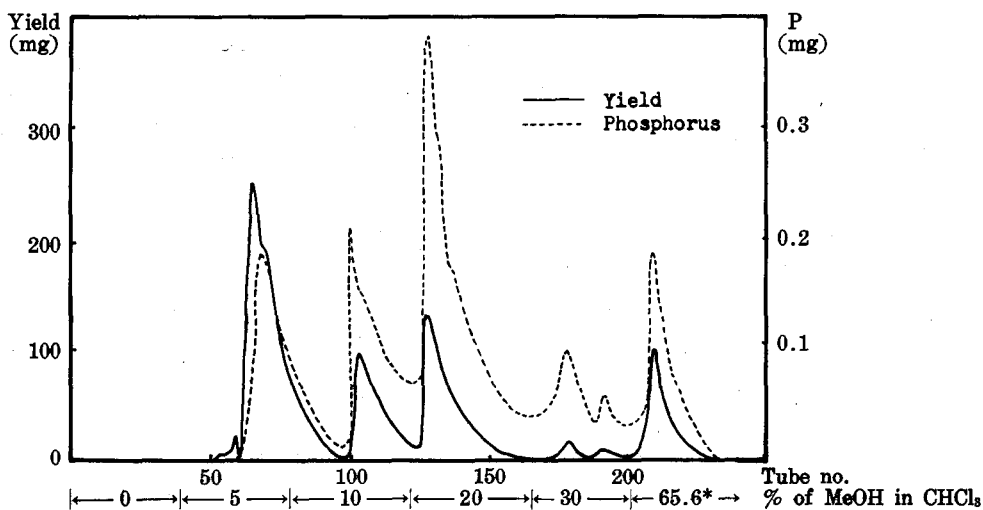


Fig. 2. Refractionation of Fraction 3.

7 grams of Fraction 3 was chromatographed over 240 g of silicic acid-celite column.

The eluate was collected in 20 ml fractions.

* Contained 4.7% water

Table 3. Properties of subfraction separated from Fraction 3 silicic acid-celite column

Fract. no.	Tube no.	Yield (g)	P (%)	N (%)	Choline (%)	Amino acid (%)	Amine (%)	Glycerol (%)	Aldehyde (%)	Iod. no.
3-1	1-100	2.747	0.40	1.16	0.49	0.37	0.58	12.21	1.38	104.6
3-2	101-125	1.117	2.59	1.32	0.39	1.18	3.01	11.90	1.22	108.4
3-3	126-175	1.459	3.60	1.73	0.68	1.26	3.87	10.92	1.47	116.8
3-4	176-192	0.282	3.75	2.11	1.01	1.82	5.76	10.78	0.73	102.5
3-5	193-205	0.183	4.29	1.66	0.91	1.70	6.81	11.44	1.45	103.5
3-6	206-230	0.705	4.62	1.79	1.88	2.59	4.73	10.15	0.96	101.8

Table 4. Properties of subfraction separated from Fraction 5 by silicic acid column

Fract. no.	Tube no.	Yield (g)	P (%)	N (%)	Choline (%)	Amino acid (%)	Amine (%)	Glycerol (%)	Aldehyde (%)	Iod. no.
5-1	1-22	0.463	1.68	0.99	0.24	0.51	0.86	11.62	0.05	92.9
5-2	23-35	3.324	3.51	1.73	4.80	1.61	0.84	11.14	0.03	121.7
5-3	36-44	1.293	3.63	2.53	6.82	0.21	0.24	11.75	0.05	122.6
5-4	45-81	2.271	4.03	2.36	9.70	0.01	1.25	11.03	0.02	98.5

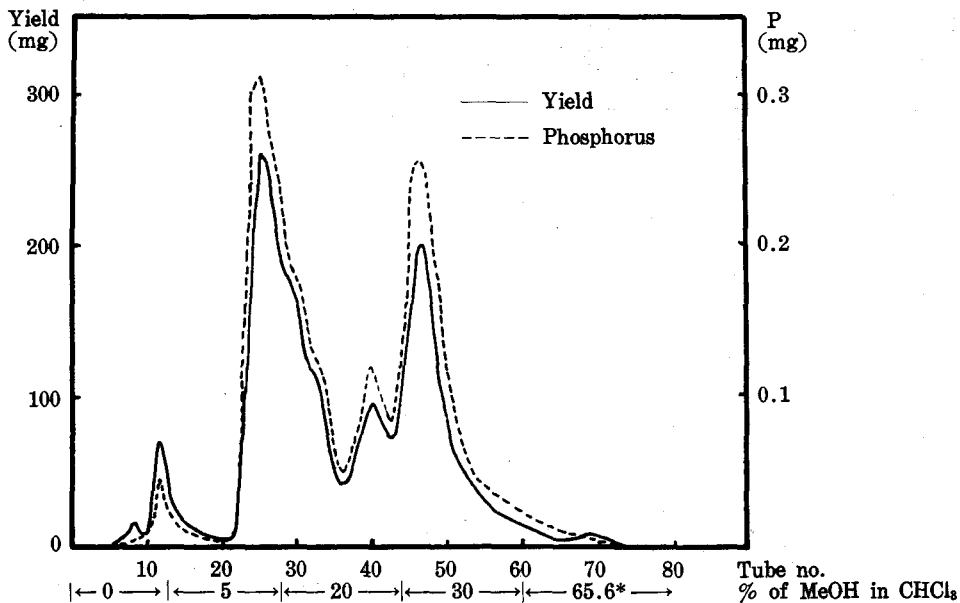


Fig. 3. Refractionation of Fraction 5.

8.8 grams of Fraction 5 was chromatographed over 180 g of silicic acid column.

The eluate was collected in 20 ml fractions.

* Contained 4.7% water

と考えられるので, Fract. 3 はケイ酸セライトカラムにより, また Fract. 5 はケイ酸カラムによる再クロマトを試みた。Fract. 6 には主として phosphatidylcholine に少量の phosphatidylethanolamine および phosphatidylserine が混合しているものと考えられるので, アルミナカラムによる再クロマトを行った。

Fract. 3 のケイ酸セライトによる再クロマトグラフィー: 前記同様に活性化したケイ酸セライト (2:1 混合物) 240g をクロロホルムとともにカラム (46×340 mm) に充填, 各 1000 ml のクロロホルム-メタノール (1:1), 次いでクロロホルムで洗滌した後 Fract. 3 の 7g の 10% クロロホルム溶液を注入, クロロホルム, クロロホルム-メタノール混液, 最後にメタノールで溶出を行い, 溶出液は 20 ml 宛分取した。この時の溶出溶剤組成, 脂質量および燐量は Fig. 2 に示す。この結果より 6 画分に分画, 各画分の性状は Table 3 に示す通りである。

Fract. 5 のケイ酸による再クロマトグラフィー: メタノールで洗滌, 浮上するコロイド性物質を傾瀉法で除去する操作を数回繰り返えしさらにクロロホルムで洗滌した後, 110°C, 20 時間活性化したケイ酸 180g をクロロホルム 500 ml に懸濁, カラム (28×615mm) に充填, さらにクロロホルム 250ml で洗滌した後 Fract. 5 の 8.8g の 20% クロロホルム溶液を注入, クロロホルム, クロロホルム-メタノール, 最後にクロロホルム-メタノール-水で溶出を行い, 溶出液は 20 ml 宛分取した。この結果は Fig. 3 に示す通りである。これらの結果より 4 画分に分けた各画分の性状は Table 4 に示す。

Fract. 6 のアルミナによる再クロマトグラフィー: 400°C, 2 時間活性化したアルミナ (Merck, クロマトグラフ用) 118.4g を 95% エタノール 400ml に懸濁, カラム (20×332mm) に充填, Fract. 6 の 7.4g を 95% エタノール 296 ml に溶解し一夜氷室に保ち析出する沈澱を遠心除去後カラムに注入し, さらに 95% エタノール 800ml で溶出を行い, 4.1g の精製レシチンを得た。このレシチンの性状および脂肪酸組成は Table 5, Table 6 に示す。

Table 5. Properties of lecithin

P, %	3.67	N/P*	1.03
N, %	1.72	Glycerol/P*	1.02
Choline, %	14.28	Choline/P*	0.99
Glycerol, %	11.18	Iod. no.	114.8
Aldehyde, %	0.47		

* Molar ratio

Table 6. Fatty acid composition of lecithin (%)

Cn:m	
14:0	2.8
15:0	0.5
16:0	43.5
18:0	3.2
Total saturated acid	50.0
16:1	9.7
16:2	2.3
16:3	0.5
18:1	20.0
18:2	2.3
20:1	3.7
22:1	6.4
22:6	5.1
Total unsaturated acid	50.0

The condition of G.L.C. same as in preceding report²⁾.

考 察

サケ心臓より得られたアセトン不溶性脂質 (Lipid A) をセルローズカラムにより精製を行ったが Table 1 に示すようにこの操作によって約 12% の燐および窒素が, また約 24% の糖が減少することが認められた。除去された窒素の成分の主なもの是非脂質性のアミノ酸とアミンに由来するものと

考えられる。

かくして得られた複合脂質画分 (Lipid B) をさらにケイ酸セライトカラムにより分画を行ったが、Table 2 の結果より Fract. 1 には非磷脂質の混在していること、また比較的クロロホルム濃度の高い溶剤で溶出する Fract. 2 にはその分析結果よりみてポリグリセロ磷脂質の存在が推定される。

アミノ磷脂質は Fract. 3, 4 に主として存在し、コリン磷脂質は主として Fract. 5 以後に溶出する。しかも Fract. 6 にはレシチンが主に溶出しているが、Fract. 7 以後は窒素含量が高くスフィンゴシン窒素も含むことが明らかであるのみならずコリン、糖も少なからず存在しているのでスフィンゴミエリンおよび糖磷脂質の存在も明らかである。

前述の Table 2 の結果より Fract. 3 は主としてアミノ磷脂質の混合物であるのでさらにケイ酸セライトカラムにより、またコリン磷脂質およびアミノ磷脂質の混合物である Fract. 5 はケイ酸による再クロマトを試みたがこれらの結果はそれぞれ Table 3 および 4 に示すように必ずしも良好とは云い難く、特にアミノ磷脂質の分別については今後検討を要する問題と考えられる。さらにコリン磷脂質を主成分としている Fract. 6 をアルミナカラムによる再クロマトを行うことにより Table 5 に示すようなほぼ純粋なレシチンを得ることができた。またその脂肪酸組成 (Table 6) に示すように飽和酸と不飽和酸が 50:50 の割合で含まれ、飽和酸としてはパルミチン酸 (43.5%) が多く含まれ、不飽和酸としてはオレイン酸 (20.0%)、ドコセン酸 (6.4%) およびドコサヘキサエン酸 (5.1%) が多く含まれている。このことによりアセトン可溶性脂質を構成する脂肪酸組成とは多少の差を示すことが認められた。

試料採取に当り御協力を賜った本学部練習船北星丸船長三島清吉助教授 (現在本学部北洋水産研究施設勤務) はじめ乗組員の諸氏に厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) 座間宏一 (1963). 本誌 13, 181-185.
- 2) 座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚 (1966). 本誌 17, 123-126.
- 3) 座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚 (1964). 本誌 14, 236-242.