



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サケ・マス類の脂質：第10報 ギンザケ及びベニザケ脾臓の脂質
Author(s)	座間, 宏一; ZAMA, Kōichi; 高間, 浩蔵 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 18(2), 102-109
Issue Date	1967-08
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/23309">https://hdl.handle.net/2115/23309</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	18(2)_P102-109.pdf



## サケ・マス類の脂質

### 第10報 ギンザケ及びベニザケ脾臓の脂質\*

座間 宏一\*\*・高間 浩蔵\*\*・五十嵐久尚\*\*

#### Lipids of Salmonoid Fishes

#### X. Lipids from spleen of silver salmon, *Oncorhynchus kisutch*, and red salmon, *O. nerka*

Kōichi ZAMA, Kōzō TAKAMA and Hisanao IGARASHI

#### Abstract

The lipids obtained from spleen of silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and red salmon (*Oncorhynchus nerka*) were purified by cellulose column chromatography and the yields attained were 28.1 mg and 23.1 mg per gram of raw materials, respectively. The properties of these lipids are listed in Table 1.

These lipids were fractionated into hydrocarbons, sterol esters, glycerides, sterols, cephalins, lecithins, sphingomyelins and lysophospholipids by means of silicic acid chromatography. The fatty acid composition of each lipid is shown in Table 5.

Lecithins were further purified by alumina column chromatography and the distribution of fatty acids on the  $\alpha$ - and  $\beta$ -position was studied. The results are presented in Table 6.

#### 緒 言

哺乳動物脾臓脂質については二、三の報告<sup>1-6)</sup>がみられるが、魚類の脾臓脂質についての報告はみられない。

著者らはサケ・マス類の筋肉及び内臓脂質成分の検索を行なっているが、本報ではギンザケ及びベニザケの脾臓脂質の性状、及びケイ酸カラムクロマトグラフィーにより検討を行なった結果について報告する。

#### 実験及び結果

分析法は既報<sup>7)</sup>とは同じ方法によって行なった。薄層クロマトグラフィー (TLC) による脂質の検出には Privett らの方法、リンは Hans-Isherwood の試薬を用い、アミノ・リン脂質はニンヒドリン・アセトン溶液、コリン脂質は Dragendorff 試薬によった。

試料：1964年8月オホーツク海域で漁獲されたギンザケ (*Oncorhynchus kisutch*) 129個体、ベニザケ (*O. nerka*) 137個体よりそれぞれ得た脾臓を海水で洗浄、水切り後、急速凍結したものをを用いた。

\* 北海道大学水産学部北洋水産研究施設業績 第20号

\*\* 水産動物脂質に関する研究 第34報

\*\* 北海道大学水産学部食品化学第一講座

脂質の調製： 概略 Fig. 1 に示すように解凍磨砕したギンザケ脾臓 409.5g, ベニザケ脾臓 511.0g をそれぞれ 5 倍容のクロロホルム・メタノール (2:1) 混液と室温で 2 回, 更に 2 倍容の同溶剤で温抽出を行ない, 抽出液を合し, 溶剤を留去しギンザケ脾臓粗脂質 13.0g (Iod. no. 139.7, P 2.14%, N 1.01%), ベニザケ脾臓粗脂質 13.1g (Iod. no. 151.0, P 1.92%, N 0.95%) を得た。

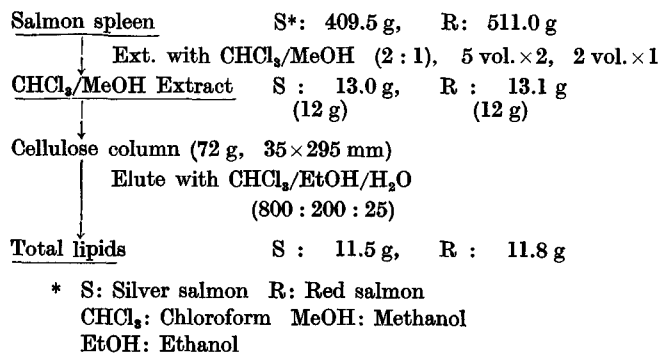


Fig. 1 Preparation of salmon spleen lipids

セルロースカラムクロマトグラフィー： 粗脂質より非脂質を除去するためセルロースカラムクロマトによる精製を行なった。即ちセルロース粉末 (Whatman cellulose powder, ashless grade) 72g (35×295mm) をクロロホルムに懸濁, カラムに充填, 更に 360ml のクロロホルムで洗浄した後, ギンザケ脾臓粗脂質 12.0g を 120ml のクロロホルム・エタノール・水 (800:200:25) に溶解, セルロースカラムに注ぎ, 更に 960ml の同組成の溶剤で溶出し, ギンザケ脾臓脂質 11.5g を得た。

また, 同様にしてベニザケ脾臓粗脂質 12.0g より 11.8g のベニザケ脾臓脂質を得た。

これらの脂質の性状は Table 1 に示す通りである。

ケイ酸カラムクロマトグラフィー： Table 1 及び TLC の結果より両脂質とも, 中性脂質, グリセロリン脂質及びスフィンゴ脂質の混合物であることが明らかとなったのでケイ酸クロマトにより脂質の分画を試みた。即ちメタノールに懸濁, 浮遊するコロイド性物質を傾斜により除去する操作を数回行なった後, 窒素気流中で 110°C, 24 時間活性化したケイ酸 (Mallinckrodt, 100mesh, reagent grade)

Table 1. Properties of salmon spleen lipids

	Silver salmon	Red salmon
Phosphorus, %	2.06	1.72
Nitrogen, %	0.84	0.82
Choline, %	5.67	5.49
Amino acid (as serine), %	0.41	0.35
Amine (as ethanolamine), %	0.54	0.56
Sphingosine-N, %	0.16	0.15
Glycerol, %	9.98	9.89
Aldehyde (as stearal), %	0.09	0.03
Sugar (as galactose), %	tr.	tr.
Inositol	+	+
Iodine no.	138.8	150.4

305g を石油エーテル・エーテル (95:5) 混合液に懸濁, カラムに充填 (35×596mm), 同溶剤でカラムを洗淨した後, ギンザケ脾臓脂質 9.8g を 98ml の同溶剤に溶解してカラムに注入した後, 石油エーテル・エーテル混液 (95:5), (80:20), クロロホルム, クロロホルム-メタノール混液 (7:1), (1:1), (1:4) 及びメタノールで順次溶出し, 溶出液は各 25ml ずつ分取し Fig. 2 に示す結果を得た。また, 同様にしてベニザケ脾臓脂質 10.4g よりケイ酸 340g (40×600mm) カラムクロマトにより分画を行ない Fig. 3 に示す結果を得た。

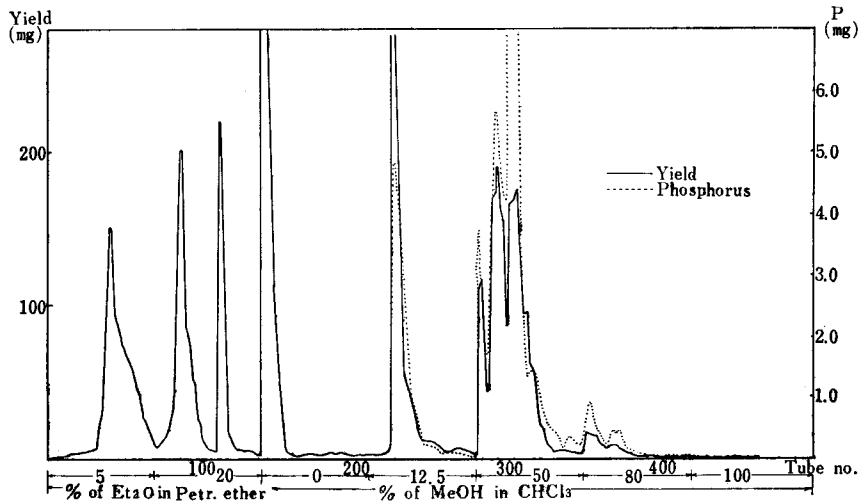


Fig. 2 Fractionation of silver salmon spleen lipids on silicic acid column  
The lipid (9.8 g) was chromatographed over 305 g of silicic acid.  
The eluate was collected in 25 ml fractions.

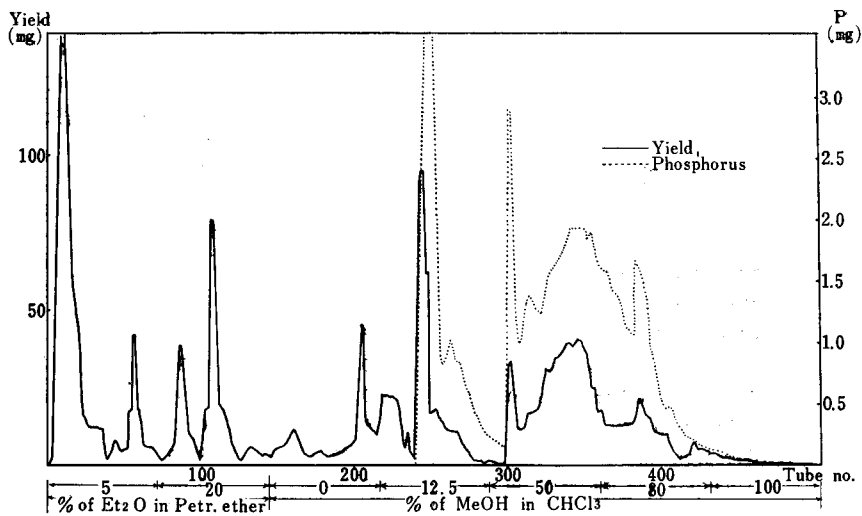


Fig. 3 Fractionation of red salmon spleen lipids on silicic acid column  
The lipid (10.4 g) was chromatographed over 340 g of silicic acid.  
The eluate was collected in 25 ml fractions.

Table 2. Properties of fractions separated from silver salmon spleen lipids by silicic acid column chromatography

Fract. no.	Tube no.	Yield (mg)	P (%)	N (%)	Choline (%)	Amino acid (%)	Amine*	Sphingosine-N (%)	Glycerol (%)	Aldehyde (%)	sugar (%)	Inositol	Iod. no.
1	1- 70	2048	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	84.1
2	71-105	1003	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	88.0
3	106-139	196	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	125.5
4	140-210	1095	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	82.4
5	211-280	1641	2.66	0.89	0.09	0.85	2.47	—	11.19	0.23	tr.	—	110.9
6	281-286	305	2.86	1.09	0.18	0.65	2.79	—	10.95	0.15	tr.	+	100.1
7	287-299	1170	3.34	1.41	12.33	0.04	0.02	—	10.21	0.08	—	+	133.8
8	300-348	1761	3.61	1.62	13.83	0.08	0.06	—	10.16	0.35	—	+	82.3
9	349-362	201	3.38	1.87	6.44	1.45	1.26	0.35	8.76	0.31	—	—	75.6
10	363-465	279	3.57	1.97	9.35	1.30	0.58	0.59	5.58	0.03	—	—	78.9

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

Table 3. Properties of fractions separated from red salmon spleen lipids by silicic acid column chromatography

Fract. no.	Tube no.	Yield (mg)	P (%)	N (%)	Choline (%)	Amino acid (%)	Amine*	Sphingosine-N (%)	Glycerol (%)	Aldehyde (%)	Sugar (%)	Inositol	Iod. no.
1	1- 38	2673	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	83.3
2	39- 72	317	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	62.5
3	73- 98	642	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	126.2
4	99-144	872	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	80.0
5	145-238	296	—	—	—	—	—	—	10.91	0.45	—	—	61.3
6	239-254	540	2.54	0.79	0.95	1.26	2.05	—	10.95	0.58	tr.	+	114.1
7	255-297	890	3.23	1.69	0.87	3.05	5.00	—	10.67	0.65	tr.	+	145.5
8	298-307	230	3.44	1.67	1.36	2.55	2.63	—	10.54	0.44	—	+	117.2
9	308-320	348	3.40	1.47	6.75	1.63	0.87	—	10.80	0.81	—	—	117.2
10	321-380	2128	3.51	0.82	10.60	0.26	0.24	0.51	7.14	0.31	—	—	79.1
11	381-500	987	3.70	2.68	12.87	0.93	0.92	0.97	6.73	0.14	—	—	75.8

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

溶出脂質量及びリン量よりギンザケ脾臓脂質は 10 画分に、またベニザケ脾臓脂質は 11 画分に分画した。それぞれの脂質画分の分析結果は Table 2, 3 に示す通りである。

各溶出画分の TLC は Wako-gel B5 (110°C, 30 分活性化) を用い、展間剤は中性脂質に対してはヘキサン-エーテル-酢酸 (90:10:1) を、複合脂質にはクロロホルム-メタノール-酢酸 (25:15:4:2) を用い、各脂質の検出は前記の方法により行なった。その結果得られた各脂質画分の主な脂質組成は Table 4 に示す通り、ギンザケ脾臓脂質では Fract. 2 にステロールエステル、Fract. 3 にトリグリセライド、Fract. 4 にステロール、Fract. 6 にホスファチジル-セリン、-エタノールアミン及びイノシトール-リン脂質のいわゆるケファリン、Fract. 7, 8 にレシチン及び Fract. 10 にスフィンゴミエリンを主とした脂質が、また、ベニザケ脾臓脂質では Fract. 1 に炭化水素とステロールエステル、Fract. 2, 3 にトリグリセライド、Fract. 4 にステロール、Fract. 5 にジ-及びモノ-グリセライド、Fract. 7 にいわゆるケファリンと微量のレシチン、Fract. 10 にレシチンと極く微量のスフィンゴミエリン、Fract. 11 にスフィンゴミエリンを主とした脂質が溶出されていることが明らかである。

**主なる脂質画分の脂肪酸：** 前述の脂質画分中、ステロールエステル、トリグリセライド (ベニザケのものは Fract. 2, 3 を合して用いた)、ジグリセライド及びモノグリセライドではそのまゝ、ケファリン画分ではエタノール洗浄により、また、スフィンゴミエリン画分ではエーテル処理後、それぞれ 2*N*-苛性カリ・エタノールでケン化し、不ケン化物除去後、それぞれ遊離脂肪酸を得、ジアゾメタンによりメチル化した後、ガスクロマトグラフィー (GLC) により脂肪酸組成を検討、Table 5 の結果を得た。

**レシチンの精製及び  $\alpha, \beta$  位における脂肪酸組成：** ギンザケ脾臓粗レシチン画分では 63g (25×94mm)、ベニザケ脾臓粗レシチン画分では 48g (18×85mm) のアルミナ (Merck, クロマトグラフ用, 400°C, 2 時間活性化) カラムを調製後、それぞれギンザケ脾臓粗レシチン 2.486g 及びベニザケ脾臓粗レシチ

Table 4. Composition of salmon spleen lipids fractionated by the method of silicic acid column chromatography

Fract. no.	Silver salmon	Red salmon
1	Hydrocarbon	Hydrocarbon, Sterol ester (mainly)
2	Sterol ester	Triglyceride
3	Triglyceride	Triglyceride
4	Sterol (mainly)	Sterol (mainly)
5	Ph-A, Ph-E, Ph-S, I-L	Unknown, Sterol (trace) Di-, Mono-glyceride
6	Ph-E, Ph-S, I-L	Unknown, Ph-A, Ph-S, Ph-E, I-L, Ph-C (trace)
7	Ph-C (mainly)	Ph-S (mainly), Ph-E (mainly), I-L, Ph-C (trace)
8	Ph-C (mainly)	Ph-S (mainly), Ph-E (mainly), I-L, Ph-C (trace)
9	Ph-C, Ph-S (Lyso ?), Ph-E (Lyso ?), Sph	Ph-C, Ph-S, Ph-E
10	Sph (mainly), Ph-S (Lyso ?) Ph-E (Lyso ?)	Ph-C (mainly), Sph
11	-	Sph (mainly), Ph-C, Ph-S (Lyso ?) Ph-E (Lyso ?)

Ph-A: Phosphatidic acid

Ph-E: Phosphatidylethanolamine

I-L : Inositol lipid

Ph-S: Phosphatidylserine

Ph-C: Phosphatidylcholine

Sph : Sphingomyeline

Table 5. Fatty acid composition of spleen lipids

Cn : m	SE		TG		MG+DG	Ceph		Sph	
	S	R	S	R	R	S	R	S	R
12:0	tr.	tr.			0.7	0.4	0.2	0.6	0.3
?					1.7	0.3	0.3	0.4	0.1
?						0.2	0.4	0.6	0.5
14:0	2.8	4.3	4.9	6.2	7.1	2.3	1.0	3.8	5.9
14:1						tr.	0.2	0.8	0.5
15:0	0.6	0.4	0.9	0.8	2.2	0.8	0.4	0.8	1.1
?						0.3	0.2	1.2	0.1
16:0	34.7	13.2	18.6	20.0	23.6	32.0	19.1	38.4	37.5
16:1	5.1	5.9	5.5	14.8	7.7	4.7	6.4	7.3	8.4
16:2	1.8	1.5	2.1	3.3	2.1	2.0	2.2	2.0	
16:3, 17:0	0.9	0.6	0.5	1.7		4.8	3.7	2.6	1.4
17:1					1.7	1.3	1.0	1.0	0.6
?						1.1	1.0	0.7	0.3
18:0	10.4	1.8	0.5	2.1	5.3	18.7	21.0	7.2	5.5
18:1	28.1	18.6	16.9	20.9	19.9	17.6	28.3	15.4	24.5
18:2	0.6	1.5	1.5	4.3	3.5	1.8	2.4	2.1	1.8
?							0.4	0.6	0.7
18:3	0.2	0.3				0.7	tr.	1.2	0.4
18:4, 20:0	0.2	0.2		0.3	0.7		tr.	0.4	0.3
20:1	9.0	16.9	16.1	8.1	9.4	6.5	7.1	4.1	2.6
20:2							0.7		
20:4		2.4	7.1	1.9		0.3	0.4	0.4	0.5
20:5, 22:1	4.4	13.3	18.2	12.6	6.0	2.5	2.0	3.3	1.2
22:2		8.7			3.5		0.5	2.0	2.5
22:3	0.3								
22:4	1.0	8.4							
22:5	tr.	2.2	5.0	1.3		1.6	0.9	2.2	1.9
22:6			2.4	1.8			tr.	0.6	1.3

SE : Sterol ester      TG : Triglyceride      MG : Monoglyceride  
 DG : Diglyceride      Ceph: Cephalin      Sph: Spingomyelin  
 S : Silver salmon      R : Red salmon

Table 6. Properties of lecithins

	Silver salmon	Red salmon
P %	4.38	4.32
N %	1.37	1.35
Choline, %	14.36	14.35
Glycerol, %	10.95	10.88
Aldehyde, %	0.14	0.11
Iod. no.	90.2	100.4

ン 1.900g を注入, 95% エタノールで溶出し, Table 6 に示す性状を有する 717mg のギンザケ及び 1013mg のベニザケ脾臓精製レシチンを得た。

次に Tattrie<sup>9)</sup> の方法に準じそれぞれのレシチン 100mg を 100ml のエーテル (peroxide free) に溶解, 1ml の *Crotalus adamanteus* 毒 (5mM 塩化カルシウム溶液の 0.1% 溶液にしたもの) を加え, 37°C, 2時間放置後, ケイ酸カラムクロマトにより 50ml のエーテルで遊離脂肪酸を次いでクロロホルム・メタノール (1:4) でリソレシチンを溶出, 前者は直ちにメチル化し, 後者は更にケン化後, 得た遊離脂肪酸をメチル化して, それぞれ GLC を行ない, その脂肪酸組成を検討し Table 7 に示す結果を得た。

Table 7. Positional distribution of fatty acids in lecithin

Cn : m	Silver salmon		Red salmon	
	$\beta$	$\alpha$	$\beta$	$\alpha$
14:0	5.1	5.5	1.2	2.8
15:0	0.9	1.2	0.3	0.9
16:0	21.6	67.6	13.1	65.5
16:1	7.2	7.3	3.1	7.5
16:3, 17:0	0.5	1.8	0.3	1.9
18:0	—	3.7	—	5.9
18:1	49.6	10.6	47.8	13.7
18:3, 19:0	tr.	tr.	—	tr.
20:1	4.5	2.3	3.8	1.9
20:4	8.2	—	3.4	—
20:5, 22:1	1.4	—	13.7	—
22:2	1.1	—	1.8	—
22:5	tr.	—	11.5	—

## 考 察

ギンザケ及びベニザケ脾臓粗脂質をセルロースカラムクロマトにより精製を行なった結果、ギンザケの脾臓脂質ではリンの約4%、窒素の約10%、ベニザケのそれではリンの約10%、窒素の約13%が除去された。これらの脂質をケイ酸カラムにより分画を行ない溶出脂質量及びリン量よりギンザケ脾臓脂質は10画分に、ベニザケ脾臓脂質は11画分に分画出来た。各画分の分析値及びTLCにより検討した結果、ギンザケ脾臓脂質では、主として Fract. 1 は炭化水素、Fract. 2 はステロールエステル、Fract. 3 はトリグリセライド、Fract. 4 はステロール、Fract. 5 はリン脂質酸、セリン-, エタノールアミン-, 及びイノシトール-リン脂質の混合物、Fract. 6 はセリン-, エタノールアミン-, 及びイノシトール-リン脂質、Fract. 7, 8 はレシチン、Fract. 9 はレシチン及びリゾ型と推定されるエタノールアミン及びセリンリン脂質及びスフィンゴミエリン、Fract. 10 はスフィンゴミエリン及び少量のリゾ型と推定されるグリセロリン脂質が、また、ベニザケ脾臓の脂質では主として Fract. 1 はステロールエステルと微量の炭化水素、Fract. 2, 3 はトリグリセライド、Fract. 4 はステロール Fract. 5 はステロール及びジ-, モノ-グリセライドと少量の未確認物質、Fract. 6 はリン脂質酸、セリン-, エタノールアミン-, イノシトール-リン脂質、及び微量のレシチン及び未確認物質、Fract. 7, 8 はセリン-, エタノールアミン-, 及びイノシトール-リン脂質と極く少量のレシチン、Fract. 9 はレシチン、エタノールアミン-及びセリン-リン脂質の混合物、Fract. 10 はレシチンと少量のスフィンゴミエリン、Fract. 11 はスフィンゴミエリンとリゾ型のグリセロリン脂質よりなるものと考えられる。

これらのうち、ケファリン、レシチン及びスフィンゴミエリン画分を更に溶剤精製を行なったものより脂肪酸メチルを調製し GLC で分析を行なった結果は、Table 5 に示すようにステロールエステル構成脂肪酸はギンザケのものでは  $C_{18:0}$  と  $C_{18:1}$  が主な脂肪酸で約63%を占めており、その他、 $C_{18:0}$ 、 $C_{20:1}$  も多く含まれているが、ベニザケのものは多少傾向を異にし、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{20:1}$  及びギンザケのものには比較的少なかった  $C_{20:1}$ 、及び  $C_{20:5}$  が多く含まれているが  $C_{18:0}$  は著しく少ない。トリグリセライド画分は両者ともに  $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{20:1}$  及び  $C_{20:5}$  などが多く含まれている脂肪酸であるが、 $C_{18:1}$ 、 $C_{20:1}$  含量に両者間の差が認められた。モノ-, ジ-グリセライドはギンザケ脾臓より殆んど得られなかったのでその脂肪酸組成は検討し得なかったが、ベニザケ脾臓脂質のこの画分の構成脂肪酸中、主なものは  $C_{14:0}$ 、 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:1}$  及び  $C_{20:5}$  であり、他の脂質画分

にみられる  $C_{22}$  脂肪酸が欠除している。ホスファジル-セリン、-エタノールアミン及びイノシトールリン脂質より成るいわゆるケファリン画分は  $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$  及び  $C_{18:1}$  などが主な構成脂肪酸で約 70% を占めているがギンザケ及びベニザケ脾臓両者間の脂肪酸組成は必ずしも類似せずギンザケのものでは  $C_{18:0}$  が多いのに反しベニザケのものでは  $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$  が多い。スフィンゴミエリン画分の構成脂肪酸は両者ともに  $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$  含量が高い。このことは多少グリセリン脂質の混入があるにしても興味ある事実である。

精製レシチンを蛇毒で分解、その際得られた遊離脂肪酸を  $\beta$  位に、また、リソレシチンより得られた脂肪酸を  $\alpha$  位に存在したものとすると Table 7 に示すようにギンザケ脾臓レシチンには  $\alpha$  位に  $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $\beta$  位に  $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1}$  及び  $\alpha$  位に見られなかった高度不飽和脂肪酸が存在しており、また  $C_{18:0}$  は  $\alpha$  位にのみ存在し、 $\beta$  位には欠除している。この傾向はベニザケ脾臓レシチンでも認められた。

試料採取に当り御協力を賜った本学部練習船北星丸長齋藤昭二助教授はじめ乗組員の諸氏に厚く感謝の意を表す。

#### 文 献

- 1) Pfeiffer, G. (1931). *Biochem. J.* **231**, 239-243.
- 2) Bouisset, L. and Soula, C. (1932). *Compt. rend. soc. biol.* **110**, 673-674.
- 3) Tropp, C. and Wiedersheim, V. (1933). *Z. physiol. Chem.* **222**, 39-43.
- 4) Klenk, E. and Friedrichs, E. (1952). *Ibid.* **290**, 169-171.
- 5) Walz, E. (1927). *Ibid.* **166**, 223-226.
- 6) Thunhauser, S. J., Benotti, J., Walcott, A., and Reinstein, H. (1946). *J. Biol. Chem.* **166**, 505-511.
- 7) 座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚 (1964). 本誌 **14**, 236-242.
- 8) Tattrie, N. H. (1959). *J. Lipid Res.* **1**, 60-65.