



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マグロ、カツオ眼窩油のトリグリセリド組成
Author(s)	澤田, 哲志; 高橋, 是太郎; 羽田野, 六男
Citation	日本水産学会誌, 59(2), 285-290 https://doi.org/10.2331/suisan.59.285
Issue Date	1993
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/52080
Rights	© 1993 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	JSFS59_285.pdf



マグロ、カツオ眼窩油のトリグリセリド組成

澤田 哲 志, 高橋是太郎, 羽田野六男

(1992 年 5 月 25 日受付)

Triglyceride Composition of Tuna and Bonito Orbital Fats^{*1,2}Tetsushi Sawada,^{*3} Koretaro Takahashi,^{*3} and Mutsuo Hatano^{*3}

The binding position as well as the number of docosahexaenoic (DHA) moieties in tuna and in bonito orbital fat triglycerides (TG) were investigated. DHA was dominantly bound in the *sn*-2 position. The most abundant TG molecular species was 1 (or 3)-palmitoyl-2, 3 (or 1)-docosahexaenoin. This molecular species was at most less than 8% in TG fraction. DHA was distributed to many kinds of molecular species, mostly in triacid type and diacid TGs. Tridocosahexaenoin was present in a trace amount. When tuna and bonito orbital fats were each randomized, both TGs could be easily discerned by their molecular species pattern. It was concluded that the basic TG molecular species pattern of bonito orbital fat matches that of the tuna, and that these can be substituted for each other as a valuable resource.

マグロやカツオの脂質には、ドコサヘキサエン酸 (DHA) が多く、^{*4,5} 眼窩油においては DHA のほとんどがトリグリセリド (TG) の形で存在することが知られている。^{1,2)} また、高度回遊性魚類であるカツオとマグロは高速度で回遊するので、眼球保護のため眼窩脂肪が多くなっていると考えられており、DHA の供給源としてにわかに注目され始めている。しかし、マグロに関しては昨今、漁獲制限の方向にあり、資源の保護・管理のために ICCAT (大西洋マグロ類保存国際委員会) など多国間にまたがる国際機関が設けられ、漁獲規制も年々強まっている。

本研究では、DHA の供給源としてのマグロとその代替魚としての可能性を持つカツオを供試魚とし、眼窩油に含まれる主要 TG 分子種について DHA の分子内分布と *sn*-1 (3) 位、*sn*-2 位の結合位置を明らかにすることを目的とした。また、それらの TG のランダム化を行うことにより二酸型 TG と単酸型 TG の組成変化を明らかにし、酸化安定性の変化との関連性を見い出そうとした。

実験方法

試料 イワシ *Sardinops melanostictus* 油は日本化学飼料 (株)、マグロ (メバチマグロ) *Thunnus obesus* 眼窩油は日本油脂 (株) から供与されたものを用い、カツオ *Euhynnus pelamis* 油については金華山沖で平成 3 年 9 月 2 日に捕獲し (体重 1.8 kg) 氷蔵 2 日後に普通肉、深部血合肉そして眼窩脂肪を取り出し、クロロホルム/メタノール混液 (8:3, v/v) にて抽出を行ったものを用いた。

これらを調製用薄層クロマトグラフィー (TLC; Kieselgel 60 F₂₅₄, 20×20 cm, 0.5 mm 厚; *n*-ヘキサン/ジエチルエーテル/酢酸 (70:30:1, v/v)) に供し、TG を精製した。

逆相勾配溶離高速液体クロマトグラフィー 得られた TG を次の条件で HPLC に供し、TG 分子種を分離した。装置: 日立 638-50 型液体クロマトグラフ, カラム: Wakosil 5C18N (粒子径 5 μm), 300×4 mm と Supersphere RP-18 (粒子径 4 μm), 250×4 mm を直列に連結, 溶媒: アセトン/アセトニトリル (3:2→7:1/240 min

^{*1} 散乱光検出器を有した液体クロマトグラフによる魚油トリグリセリドの分子種分析—II (Molecular Species Analysis of Fish Oil Triglyceride by Light Scattering Mass Detector Equipped Liquid Chromatograph—II).

^{*2} 本研究は、文部省平成 3 年度科学研究費補助金に基づく研究 (一般研究 C) の一部として行ったものである。なお、大要は平成 4 年度日本水産学会春季大会において講演発表した。

^{*3} 北海道大学水産学部食品化学第一講座 (Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minato, Hakodate, Hokkaido 041, Japan).

^{*4} 渡邊武彦, 齋藤洋昭, 村瀬輝昭: 平成 4 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1992, p. 286.

^{*5} 渡邊武彦, 石田典子, 齋藤洋昭, 村瀬輝昭: 平成 4 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1992, p. 287.

の勾配溶離), 流速: 0.7 ml/min, カラム温度: 5°C, 検出器: Applied Chromatographic Systems 750/14 型散乱光検出器 (マスディテクター; Time Constant: 5, Attenuation: $\times 2$, フォトマル感度: 1, 気化器の空気圧: 0.8 kg/cm²), 試料量: 5 μ l. なお, 各ピークを分取するためにカラムの出口で分岐させ, 一方は検出器, 他方は分取口とした。分取した各ピークの脂肪酸組成を求め, パーティションナンバー³⁻⁵⁾と相対保持ポテンシャル指数⁶⁾双方の予測値を満足する脂肪酸残基の組み合わせを決定し, これにより TG 分子種の同定を行った。

脂肪酸残基の TG 分子内結合位置の決定 分取した TG に 0.5 M リン酸緩衝液 (pH 6.0) 9 ml と 0.25% タウロコール酸ナトリウム 2.5 ml を加えて混合し, これにリパーゼ D (*Rhizopus delemar*, 天野製薬(株)) を 10 mg 含む酵素液 1.0 ml を添加して, 加水分解を開始した。反応はアルゴンガスを封入した共栓三角フラスコ中で 1,500 rpm に攪拌しながら 25°C で行い, 48 h 後, 6 N 塩酸 10 ml とエタノール 10 ml を加えることによって反応を停止した。得られた反応生成物をジエチルエーテルを用いて分配法により抽出し, 上記の TLC の条件でモノグリセリド (MG), 遊離脂肪酸 (FFA), そして残存ジグリセリドと未水解 TG の精製物を得た。MG (*sn*-2 位由来) と FFA (*sn*-1 または 3 位由来) 画分の脂肪酸組成を求め, TG 分子内の脂肪酸残基の結合位置を決定した。

試料油のランダム化 試料油 2 g に対し水素化ナトリウム (60% NaH 油性・和光純薬工業(株)) 10 mg を加え, 60°C で 30 min アルゴンガス封入下にて攪拌後, 6 N HCl を用いて中和, クロロホルム・メタノール混液 (8:3, v/v) により反応生成物を抽出し, *n*-ヘキサンを溶媒として用いフロリジル (Waters Sep-pak Classic Florisil Cartridge) に供して脱酸後, 活性白土を通して脱色を行った。このものを前記と同様に, 調製 TLC に供し, TG を精製した。

結果および考察

カツオ眼窩油, マグロ眼窩油, およびイワシ油の主な脂肪酸組成を比較したものを Fig. 1 に示す。パルミチン酸 (16:0) はいずれの試料においても 16~17% 前後とほとんど差は認められなかったのに対し, 高度不飽和脂肪酸 (HUFA) では, 魚種の特徴が現れた。すなわち, イワシ油ではエイコサペンタエン酸 (EPA) が 16.6%, DHA が 10.7% であったのに対し, カツオ, マグロ両眼窩油では EPA がそれぞれ 6.1, 7.3%, DHA がそれぞれ 31.2, 23.1% とイワシ油では EPA が組成比でカツオ, マグロ両眼窩油よりも 2 倍以上高く, カツオとマグロでは DHA が組成比でイワシよりも 2 倍以上高くなっていた。また主要な 4 種の脂肪酸 (パルミチン酸, オ

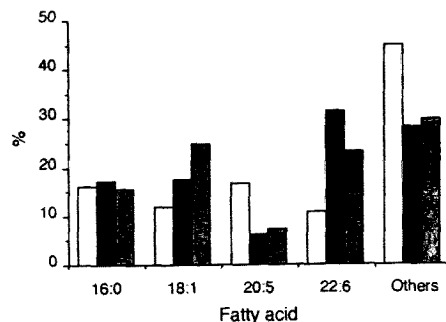


Fig. 1. Comparison of fatty acid composition between sardine oil and orbital fats of bonito and tuna.

□ Sardine oil, ■ bonito orbital fat, and ▨ tuna orbital fat.

レイン酸, EPA, DHA) 以外の脂肪酸の組成比の合計が, イワシ油においては 44.5% であったのに対し, カツオ, マグロ両眼窩油ではそれぞれ 28.0, 29.5% と比較的少なかった。このように主要脂肪酸の占める割合が高いということはカツオ, マグロ両眼窩油ではイワシ油に比べて構成される TG 分子種の種類が少ないことを意味し, TG 分布もイワシよりはせまいものであると推察できる。事実, カツオ, マグロ両眼窩油とイワシ油の精製 TG を逆相 HPLC に供して得たクロマトグラム (Fig. 2) から明らかなように, 両眼窩油ともにイワシ油よりは TG の分子種が少なかった。

TG 分子内における *n*-3 系 HUFA 含有数についてみると, カラムからの溶出は Fig. 2 に示したように *n*-3 系 HUFA を分子内に多く含むものから順に溶出することが認められた。マグロとカツオはともにサバ科の魚類であり, 両者とも高速で回遊生活をする点で類似しているが, 基本的な TG 分子種の分布においても両者は類似していた。しかしながら, カツオ眼窩油においては *n*-3 系 HUFA を分子内に 3 mol 含むものが比較的多いのに対し, マグロ眼窩油では *n*-3 系 HUFA を分子内に全く含まないものが比較的多い点で相違がみられた。

眼窩油がもつ特徴を明らかにするためにカツオ油について他の部位 (血合肉, 普通肉) との比較を行った。

カツオの魚体組織別の含有 TG について, その分子内における HUFA の結合数別に分類してまとめた結果 (Fig. 3), 各組織に共通して, TG 分子内に HUFA を 3 mol 含むもの, もしくはまったく含まないものはほとんどなく, 分子内に HUFA を 1 ないし 2 mol 含むものが大部分を占めることがわかった。また, 分子内に HUFA を 1 mol 含むもののうち結合している HUFA が唯一 DHA であるという分子種が大半を占めており,

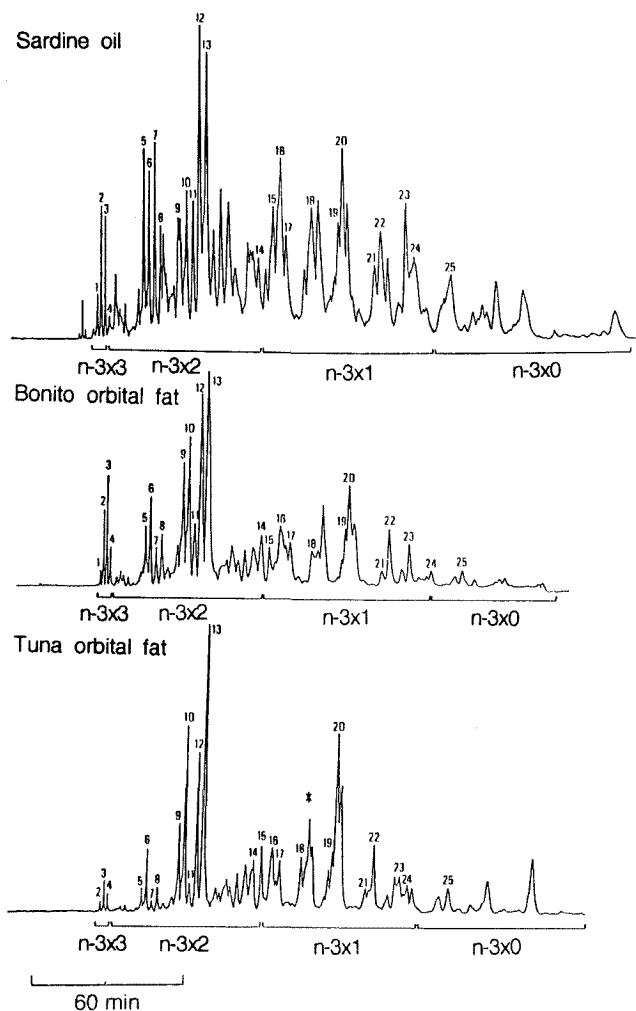


Fig. 2. Reverse phase HPLC elution profiles of bonito and tuna orbital fats and sardine oil triglycerides.*^{1,2}

1, (20:5,20:5,20:5); 2, (20:5,22:6,20:5); 3, (20:5,22:6,22:6); 4, (22:6,22:6,22:6); 5, (16:1,20:5,22:6); 6, (16:1,22:6,22:6); 7, (14:0,22:6,20:5); 8, (14:0,22:6,22:6); 9, (18:1,22:6,20:5); 10, (18:1,22:6,22:6); 11, (16:0,20:5,20:5); 12, (16:0,22:6,20:5); 13, (16:0,22:6,22:6); 14, (18:0,22:6,20:5); 15, (18:0,22:6,22:6); 16, (16:0,20:5,16:1); 17, (16:0,22:6,16:1); 18, (18:1,22:6,16:1); 19, (16:0,20:5,18:1); 20, (16:0,22:6,18:1); 21, (16:0,20:5,16:0); 22, (16:0,22:6,16:0); 23, (16:0,20:5,18:0); 24, (16:0,22:6,18:0); 25, (18:1,18:1,18:1); and *(14:0,22:6,17:0).

*¹ Positions *sn*-2 and *sn*-1,3 are differentiated.

*² Identified common peaks are numbered.

分子内に HUFA を 2 mol 含む分子種では、その 2 mol のうち両方が DHA である分子種が 50% 以上を占めていることが明らかになった。眼窩油 TG 分子種の特徴として、血合肉および普通肉では分子内に HUFA を 1 mol 含むものが組成比上最も多くなっているのに対し

て、眼窩油では分子内に HUFA を 2 mol 含むものの方が組成比上多いことが認められた。主要 TG 分子種について組織別の組成比を比較した結果 (Fig. 4), 一般に言われている通り、各組織とも HUFA を *sn*-2 位に結合する TG が多く、1(or 3)-palmitoyl-2,3(or 1)-didocosa-

hexaenoin, 1(or 3)-palmitoyl-2-docosaheptaenoyl-3(or 1)-olein が各組織に共通して多かった。しかしながら、眼窩油では筋肉組織に比較的多い 2-docosaheptaenoyl-1,3-diolein や 2-docosaheptaenoyl-1,3-dipalmitin のような対称型 TG 分子種はほとんどみられなかった。

カツオとマグロの眼窩油 TG について、分子内の HUFA の含有数を比較した結果 (Fig. 5), カツオ、マグロ両眼窩油に共通して HUFA を 3 mol 結合するものや全く含まないものはほとんどなく、大部分を占めているのは分子内に HUFA を 1 または 2 mol 含む分子種であった。両眼窩油とも TG 分子内に結合している HUFA

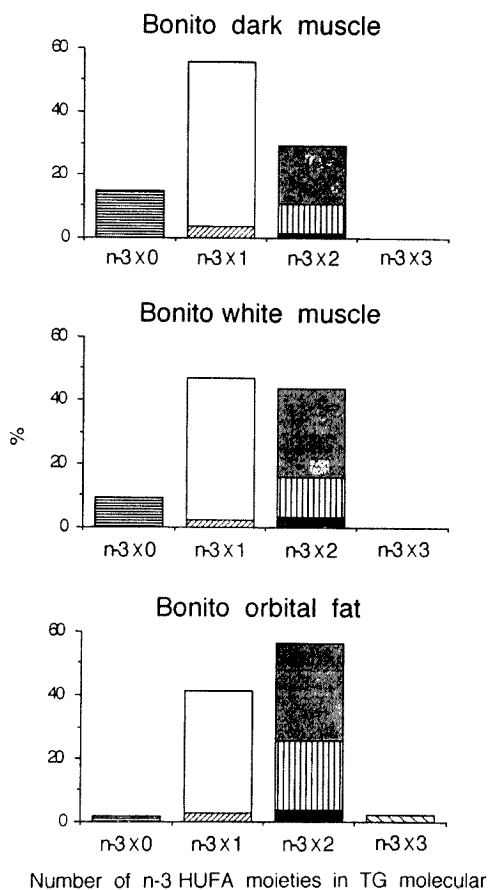


Fig. 3. Distribution of triglyceride types in bonito tissues with respect to n-3 highly unsaturated fatty acids.

HPLC peak areas of less than 2% are rejected.

□ n-3HUFA none, ▨ DHA, ▤ EPA, ▧ DHA+DHA, ▩ EPA+DHA, ■ EPA+EPA, and ▦ EPA+DHA+DHA.

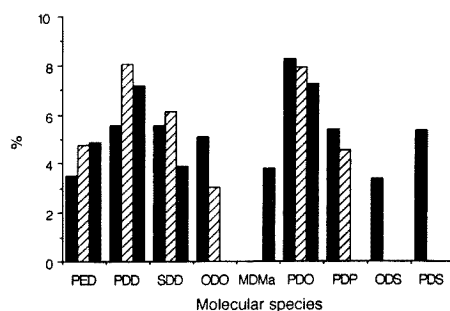


Fig. 4. Comparison of molecular species composition of dominant triglycerides among bonito tissues.*^{1,2}

■ Dark muscle, ▨ white muscle, and ▦ orbital fat.

*¹ *sn*-2 position is differentiated and is written in the center of the three letters that stand for each fatty acid residue shown below. M, myristic acid; P, palmitic acid; Ma, margaric acid; S, stearic acid; O, oleic acid; E, eicosapentaenoic acid; and D, docosaheptaenoic acid.

*² Molecular species of more than 3.0% are arranged in sequence of elution on reverse phase HPLC (from left to right).

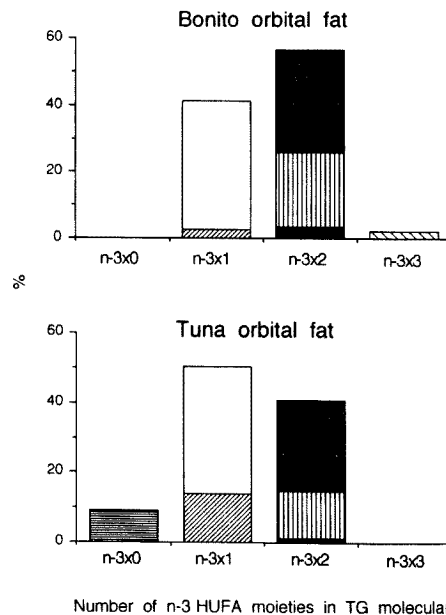


Fig. 5. Distribution of triglyceride types in bonito and tuna orbital fats with respect to n-3 highly unsaturated fatty acids.

Symbols are the same as in Fig. 3. HPLC peak areas of less than 2% are rejected.

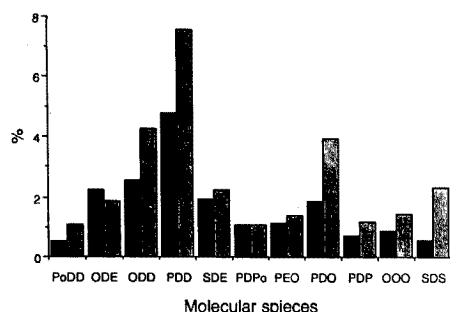


Fig. 6. Comparison of molecular species composition of dominant triglycerides between bonito and tuna orbital fats.*^{1,2}

■ Bonito orbital fat and ▨ tuna orbital fat.

*¹ *sn*-2 position is differentiated and is written in the center of the three letters that stand for each fatty acid residue shown in Fig. 4.

*² Molecular species of more than 0.5% are arranged in sequence of elution on reverse phase HPLC (from left to right).

のほとんどを DHA が占め、また、分子内に HUFA を 2 mol 含むものの場合、その両方ともが DHA である分子種は 50% 以上を占めていた。

カツオ、マグロ両眼窩油の主要 TG の分子種の組成を比較すると (Fig. 6)、ともに HUFA を *sn*-2 位に結合する分子種が多く、カツオ、マグロ両眼窩油とも基本的には類似した分布を示しているが、とくに 1(or 3)-oleoyl-2,3(or 1)-didocosahexaenoin, 1(or 3)-palmitoyl-2,3(or 1)-didocosahexaenoin, 1(or 3)-palmitoyl-2-docosahexaenoyl-3(or 1)-olein, 1,3-distearoyl-2-docosahexaenoin についてはマグロ眼窩油で多く含まれていた。しかしながら、最大の含有率を占める 1(or 3)-palmitoyl-2,3(or 1)-didocosahexaenoin でさえ 10% には満たないものであり、著しく含有率の高い分子種は存在しなかった。TG 分子内に HUFA を 3 mol 含む分子種はほとんど存在せず、このことから TG を加水分解せずに高濃度の DHA を得ることは事実上不可能であることが示された。

カツオ、マグロ両眼窩油に、水素化ナトリウムを加えてランダム化を行い、ランダム化前後の TG 分子種組成の変化について検討した結果 (Fig. 7)、1(or 3)-oleoyl-2,3(or 1)-didocosahexaenoin や 1(or 3)-palmitoyl-2,3(or 1)-didocosahexaenoin の TG 中での含有率の増減にみられるように、カツオでは分子内に HUFA を 2 mol 含むものの組成比が増加するのに対し、マグロではこれらの TG 分子種が減少することが明らかになった。な

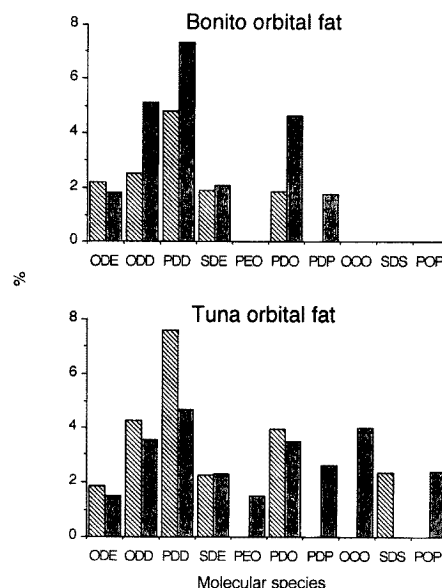


Fig. 7. Changes in molecular species composition of dominant triglycerides before and after randomization of bonito and tuna orbital fats.*^{1,2}

▨ Before randomization and ■ after randomization.

*¹ *sn*-2 position is differentiated and is written in the center of the three letters that stand for each fatty acid residue shown in Fig. 4.

*² Molecular species of more than 1.5% are arranged in sequence of elution on reverse phase HPLC (from left to right).

お、カツオ眼窩油において、取り上げた全ての分子種がランダム化後に増加しているように見えるが、ここで取り上げていない 1.5% 以下の他の DHA 含有 TG には減少傾向のものもある。

油脂のランダム化が酸化安定性に与える影響について様々な報告がなされているが、⁷⁻¹⁰⁾ 木元ら⁸⁾によれば HUFA が TG 分子内に 2 mol 結合するものはその脂肪酸組成が同一であっても酸化安定性が低下するとされている。このことをもとに判断すると、ランダム化を行うことにより分子内に HUFA を 2 mol 含む TG 分子種が増加する傾向にあるカツオ眼窩油はランダム化により酸化安定性が低下することになり、またマグロ眼窩油はランダム化を行うことにより酸化安定性が向上する性質をもつと推察される。今後はこのような TG 分子種の分布と酸化安定性との関係について、詳細な検討が必要と

*⁸ 木元広美, 遠藤泰志, 藤本健四郎: 平成 4 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1992, p. 290.

考える。

要 約

マグロおよびカツオの眼窩油について, 主要トリグリセリド (TG) 分子内での DHA の分布, *sn*-1(3), *sn*-2 位の結合位置について検討した。DHA は TG 分子内で主に *sn*-2 位に結合し, その TG 分子内での結合数は, 1 または 2 mol のものが大部分を占め, 3 mol 含むものはほとんど存在しないことが明らかになった。最大組成比を示した分子種は 1(or 3)-palmitoyl-2,3(or 1)-didocosa-hexaenoin であったが, その含有率は約 8% に過ぎず, 主要分子種も多種類にわたっていた。マグロ眼窩油とカツオ眼窩油はランダム化により差異が明瞭化した, 両者の基本的な TG 分子種の分布には大差なく, DHA 供給源としてのマグロ眼窩油の代替品にカツオ油が十分利用できることが明らかになった。

文 献

- 1) 渡邊武彦, 杉井麒三部, 山田充阿弥, 衣巻豊輔, 竹内昌昭: マグロ頭部の有用脂質成分, 東海水研報, 127, 69-80 (1989).
- 2) 矢澤一良, 影山治夫: ドコサヘキサエン酸の生理活性, 油化学, 40, 974-978 (1991).

- 3) S. Wada, C. Koizumi, and J. Nonaka: Analysis of Triglycerides of soybean oil by high-performance liquid chromatography in combination with gas liquid chromatography. *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)*, 26, 95-99 (1977).
- 4) S. Wada, C. Koizumi, A. Takiguchi, and J. Nonaka: A study on triglyceride composition of lipid from commercial beef by high-performance liquid chromatography. *J. Jpn. Chem. Soc. (Yukagaku)*, 27, 579-584 (1978).
- 5) R. D. Plattner, G. F. Spencer, and R. Kleiman: Triglyceride separation by reverse phase high performance liquid chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54, 511-515 (1977).
- 6) K. Takahashi, T. Hirano, and M. Saito: Application of partition chromatographic theory for the analysis of marine triglyceride molecular species. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 523-528 (1988).
- 7) 和田 俊, 小泉千秋: 大豆油トリグリセリドの酸化速度に及ぼすランダムエステル交換の影響. 油化学, 35, 549-563 (1986).
- 8) K. G. Raghuvver and E. G. Hammond: The influence of glyceride structure on the rate of autoxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 44, 239-243 (1967).
- 9) S. Wada and C. Koizumi: Influence of the position of unsaturated fatty acid esterified glycerol on the oxidation rate of triglyceride. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60, 1105-1109 (1983).
- 10) C. L. Tautorus and A. R. McCurdy: The effect of randomization on the stability of blends of trioleoylglycerol and Linseed Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 538-544 (1992).