

## 南極海ライギョダマシ魚肉の脂質分析

大野佳美\*・矢野郁也\*・和栗 修\*

### Lipids and Fatty Acids of Antarctic Giant Fish

Yoshimi OHNO\*, Ikuya YANO\* and Osamu WAGURI\*

**Abstract:** Lipid and fatty acid composition of skeletal muscle of antarctic giant fish (*Dissostichus mawsoni* NORMAN) were examined.

Thin-layer and column chromatography showed that the neutral lipids made up 98% of the total lipids, while phospholipids only 2% or less. The direct gas chromatographic analysis of triglycerides revealed that the major molecular species were C44, C46, C48, C50, C52 and C54, that their fatty acid composition resembled the other edible oil of marine fishes, and that the major components were C16:0, C18:0, C16:1, C18:1, C18:2, C20:5 and C22:6 with smaller amounts of C20:1, C22:1 and C24:1. The positional distributions of fatty acid on glycerides was also determined by lipase and phospholipase A<sub>2</sub> treatment and it showed that saturated and monoenoic fatty acids occurred in 1 position, while polyunsaturated fatty acids in 2 position, exclusively.

**要旨:** 南極産ライギョダマシ (*Dissostichus mawsoni* NORMAN) 骨格筋の脂質ならびに脂肪酸分析を行い、次の結果を得た。

中性脂質は総脂質の98%を占めたが、リン脂質はわずか2%、またはそれ以下であることが薄層クロマトグラフィー、およびカラムクロマトグラフィー分析により明らかとなった。直接ガスクロマトグラフィーによって、トリグリセリドの主要分子種はC44、C46、C48、C50、C52およびC54であり、その脂肪酸組成は他の海産魚油中のものと類似しており、主要成分はC16:0、C18:0、C16:1、C18:1、C18:2、C20:5およびC22:6で、少量ながらC20:1、C22:1およびC24:1が含まれていた。また、グリセリドにおける脂肪酸の位置特異性をリパーゼ、およびホスホリパーゼA<sub>2</sub>を用いてしらべたところ、1位には飽和およびモノエン脂肪酸が結合し、2位には多不飽和脂肪酸が多く結合していた。

#### 1. はしがき

一般に魚肉の油脂成分は、高度不飽和脂肪酸を多量に含み、栄養学的にも魚類を多食する人種の重要な資源であると考えられている。また、これらの魚油中の脂肪酸含量は各種魚類によっても特徴があるばかりでなく、採取地域（暖流および寒流域）などによっても大きな差があることが知られており、魚類自体の温度適応にも重要な役割を持つことが報告されている。

\* 大阪市立大学医学部. Osaka City University Medical School, Asahi-machi, Osaka 545.

ライギョダマシ (antarctic giant fish, *Dissostichus mawsoni* NORMAN) は、南極海に生息するスズキ目ノトセニア科の巨大な魚で、その肉は食用として供し得るものである。この魚の筋肉部の脂肪酸組成を検討する機会を得たのでここに報告する。

## 2. 実験方法

### 2. 1. 試料

1974年南極サマージーズン中に、ロス海のロス島上にあるマクマード基地周辺で捕獲された、スズキ目ノトセニア科のライギョダマシの新鮮肉を Dr. DeVRIES より提供され、冷凍保存して持ち帰り試料に供した。運搬中は常に冷凍状態にあった。

### 2. 2. 脂質の抽出

凍結保存した魚肉 10.5g を解凍し、クロロホルム-メタノール (C-M, 2:1, v/v) で3回抽出して粗脂質 3.4 g を得た。

少量のクロロホルム液に溶かした粗脂質, 173.2 mg をメタノールで充分活性化した DEAE セルロース 20g を充てんしたカラム (1.0 cm × 25 cm) で、カラムクロマトグラフィーを行い、クロロホルム 550 ml, C-M, 9:1 100 ml, C-M, 2:1 100 ml アンモニア飽和 C-M, 2:1 100 ml を順次用いて溶出して、中性脂質 (クロロホルム分画) 170.0 mg および少量のリン脂質を得た。

トリグリセリドの単離は薄層クロマトグラフィー (TLC) により行った。シリカゲル G (Merck), 厚さ 0.75 mm のプレート, 展開剤は n-ヘキサン-ジエチルエーテル (4:1, v/v), 検出は 0.05% ローダミン B-エタノール液を噴霧後, UV ライト下で行った。

リン脂質は微量であるが、ホスファチジルコリンとスフィンゴミエリンが存在し、比較的量の多いホスファチジルコリンを TLC で単離した。展開剤は、クロロホルム-メタノール-水 (65:25:4, v/v/v) で、ヨード蒸気で検出した。

### 2. 3. 酵素による加水分解

#### 2.3.1. リパーゼによる加水分解 (LUDDY *et al.*, 1964)

トリグリセリド 5 mg に 1M トリス・塩酸緩衝液 (pH 7.8) 1.0 ml, 22% CaCl<sub>2</sub> 0.1 ml, 0.1% コール酸ナトリウム 0.25 ml, 膵臓リパーゼ (和光製) 13 mg を加えて, 37°C で40分間インキュベートした。反応終了後, ジエチルエーテル (5 ml, 3回) で抽出し, 抽出液を集めて濃縮, 遊離脂肪酸とモノグリセリドの単離は TLC によった。展開剤は, 石油エーテル-

ジエチルエーテル-酢酸 (80 : 30 : 1, v/v/v) で, 0.05% ローダミン B-エタノール液を噴霧し, UV ライト下で検出した.

#### 2.3.2. ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> による解水分解 (BONSEN *et al.*, 1965)

ホスファチジルコリン約 1 mg に, 0.22 M NaCl を含む 0.02M CaCl<sub>2</sub> 1.0 ml, 0.1M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4) 1.0 ml, ジエチルエーテル 2.0 ml, ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> グリセロール液 (シグマ社製, 9.1mg protein/ml) 0.1 ml を加えて 37°C で, 3 時間インキュベートした (途中, ジエチルエーテル 2.0 ml を 1 回追加). 反応後, ジエチルエーテルを除去し, C-M, 1 : 1 で抽出 (2 ml, 3 回) し, TLC によって遊離脂肪酸とリゾホスファチジルコリンを単離精製した (展開剤, クロロホルム-メタノール-水, 65 : 25 : 4, v/v/v, ヨード蒸気で検出).

#### 2.4. 硝酸銀薄層クロマトグラフィー (DUDLEY *et al.*, 1975)

硝酸銀 15% を含むようにシリカゲル薄層プレートを作製し, 110°C で 1 時間活性化した後, 脂肪酸のメチルエステルを不飽和度によって分離し, ガスクロマトグラフィー (GLC) 分析を行った. 展開剤は n-ヘキサン-ジエチルエーテル-酢酸 (94 : 4 : 2, v/v/v) で 2 回展開した. 検出は 0.05% ローダミン B-エタノール液を噴霧し, UV ライト下で行った.

#### 2.5. ガスクロマトグラフィー (GLC)

##### 2.5.1. トリグリセリド

トリグリセリドの分析は島津 GC-4BPF を用い, カラムは 50 cm × 3 mm i.d. ガラス製, キャリアーガス N<sub>2</sub> (0.9 kg/cm<sup>2</sup>), 充てん剤は 1% OV-1, カラム温度 200-300°C, 4°C/min の昇温で行った. 標準品としてトリパルミチンを使用した.

##### 2.5.2. 脂肪酸

試料約 1 mg にベンゼン-メタノール-硫酸 (10 : 20 : 1, v/v/v) 1.5 ml を加えて 1 時間還流し, 生成した脂肪酸のメチルエステルを n-ヘキサンで抽出 (2 ml, 3 回) した. 脂肪酸のメチルエステルの GLC は日立 063 を用い, カラムは 2 m × 3 mm i.d. ステンレススチール, キャリアーガス N<sub>2</sub> (1.0 kg/cm<sup>2</sup>), 充てん剤 15% EGS, カラム温度 200°C で行った.

### 3. 結果および考察

南極海に生息するライギョダマシの筋肉から, C-M 抽出して得た総脂質は, 新鮮魚肉に対して 32.8% であった. このうち, 中性脂質が 98% を占め, その大部分がトリグリセリド

であった。また、微量ながらリン脂質が存在し、TLC展開後、Dittmer's reagent やニンヒドリン試薬の噴霧や authentic samples と比較することによって、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリンであることがわかった。

総脂質中のリン量を Allen 法 (ALLEN, 1940) で測定すると 0.02% であった。トリグリセリドが多いのは、この試料が筋肉部であること、また極寒に生息するための適応ではないかと考えられる。

### 3. 1. トリグリセリド組成

TLC によって単離したトリグリセリドの GLC を図 1 に示した。総アシル炭素数 48, 50,

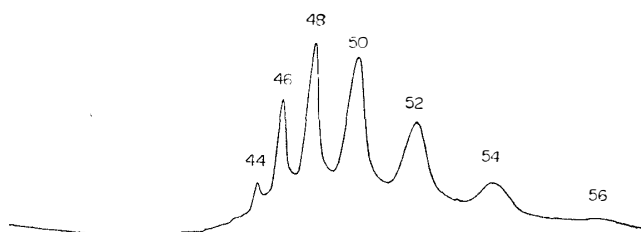


図 1 南極産ライギョダマシの総トリグリセリドのガスクロマトグラム

TLC で分離したトリグリセリドを直接 GLC 分析した。

GLC の条件：島津 GC-4 BPF, FID, 50 cm×3 mm i.d, ガラスカラム,

充てん剤 1% OV-1 on Chromosorb W,

カラム温度 200~300°C, 4°C/min の昇温。

ピークの上の番号は、トリグリセリドの総アシル炭素数を示している。

Fig. 1. Gas-liquid chromatogram of total triglycerides of antarctic giant fish.

Triglycerides isolated on thin-layer plates were analysed directly on Shimadzu GC-4BPF gas-liquid chromatograph equipped with a hydrogen flame ionization detector. The glass-coiled column used was 50 cm×3 mm packed with 1% OV-1 on Chromosorb W and column temperature was kept from 200°C to 300°C by increasing temperature 4°C/min.

The numbers at the peak top indicate the total carbon numbers of fatty acyl residues in triglycerids.

表 1 南極産ライギョダマシのトリグリセリド組成

Table 1. Triglyceride composition of antarctic giant fish.

| Total acyl carbon number | %    |
|--------------------------|------|
| 44                       | 2.4  |
| 46                       | 10.3 |
| 48                       | 21.5 |
| 50                       | 30.3 |
| 52                       | 22.8 |
| 54                       | 10.8 |
| 56                       | 1.9  |

52が多く、これら三者で全体の約75%近くを占めていた(表1)。このことはトリグリセリド構成脂肪酸として炭素数16, 18が大部分であることを示唆しており、これらの脂肪酸は一般の魚油に含まれているものである(LITCHFIELD *et al.*, 1967; KHALID *et al.*, 1968; ACKMAN *et al.*, 1971)。

### 3. 2. 脂肪酸組成

AgNO<sub>3</sub>-TLCによってトリグリセリドの脂肪酸メチルエステルを不飽和度によって分離し、それぞれの画分をGLCにより分析し、各脂肪酸を同定した。表2にライギョダマシの筋肉部から得たGLCの分析結果を示した。

表2 南極産ライギョダマシの脂肪酸組成  
Table 2. Fatty acid composition of Antarctic giant fish.

| Fatty acid | Total lipids | Triglycerides |         |      | Phosphatidylcholine |        |        |
|------------|--------------|---------------|---------|------|---------------------|--------|--------|
|            |              | Total         | 1, 3-FA | 2-FA | Total               | 1-pos. | 2-pos. |
| 14:0       | 10.2         | 10.3          | 5.4     | 8.4  | 6.6                 | 8.8    | 9.0    |
| 14:1       | 0.5          | 0.5           | 1.1     | 1.5  | 1.0                 | 2.5    | 1.5    |
| 16:0       | 11.6         | 11.3          | 5.5     | 8.4  | 45.2                | 50.9   | 22.9   |
| 16:1       | 16.5         | 16.2          | 19.0    | 15.2 | 6.3                 | 5.3    | 6.2    |
| 16:2       | 0.3          | 0.6           | 1.4     | 1.2  | 2.0                 | 2.1    | 1.4    |
| 18:0       | 0.9          | 1.3           | 1.7     | 0.9  | 4.1                 | 4.9    | 2.7    |
| 18:1       | 40.8         | 41.5          | 42.7    | 41.0 | 19.4                | 13.8   | 71.6   |
| 18:2       | 1.5          | 1.8           | 3.5     | 2.1  | 2.0                 | 1.1    | 2.9    |
| 18:3       | *            | 0.2           | 0.4     | *    | tr                  | 0.1    | 0.2    |
| 18:4       | 0.6          | 0.6           | 1.2     | 0.7  | tr                  | tr     | tr     |
| 20:1       | 5.7**        | 5.0           | 5.1     | 2.8* | tr                  | tr     | tr     |
| 22:1       | 3.4          | 3.3           | 2.8     | 2.2  |                     |        |        |
| (+20:4)    |              |               |         |      | tr                  | tr     | 1.5    |
| 20:5       | 4.9          | 4.2           | 4.7     | 4.9  | 3.0                 | 1.1    | 12.5   |
| 24:1       | tr           | tr            | tr      | tr   | —                   | —      | —      |
| 22:6       | 2.0          | 1.7           | 1.5     | 3.2  | 4.2                 | 2.2    | 15.5   |

\* Described as (18:3+20:1) on line 20:1

\*\* Contained % of 18:3

tr trace

総脂質の脂肪酸の主成分として、C14:0, 16:0, 16:1, および18:1が存在していた。不飽和脂肪酸が多く(全体の80%)、特にモノ不飽和酸が67%含まれている他、C20:5, 22:6などの多不飽和脂肪酸が7%であった。イワシ油脂では、C20:5, 22:6がそれぞれ14%, 9%存在するという報告(GEDAM *et al.*, 1971)と比べると、多不飽和脂肪酸が少ないようであるが、

哺乳動物と比べるとトリグリセリドの不飽和度は高い。ただし、このことと極寒という環境との関係は不明である。

総脂質の大部分を占めるトリグリセリドの脂肪酸組成とは逆に、ホスファチジルコリンでは、 $C_{16:0}$  が 45%、 $C_{18:1}$  が 19% 存在し、トリグリセリドとは異なったパターンを示した。これらの脂肪酸の位置特異性をみると、ホスファチジルコリンでは、 $C_{20:5}$ 、 $22:6$  などの多不飽和脂肪酸がホスファチジルの 2 位に圧倒的に多く、 $C_{16:0}$  が 1 位に多く結合していた。一方、トリグリセリドでは不飽和度が高いため、位置特異性がはっきりしなかったが、ホスファチジルコリンの結果をあわせて考えると、グリセロールの 2 位に不飽和脂肪酸が多く結合し、次のような分子種の存在が推定された。

| 総炭素数  | 48  | 50  | 52  | 54  |
|-------|---|---|---|---|
| 推定分子種 | $\begin{bmatrix} -16:0 \\ -16:1 \\ -16:1 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} -16:0 \\ -16:1 \\ -18:1 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} -16:0 \\ -18:1 \\ -18:1 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} -18:1 \\ -18:1 \\ -18:1 \end{bmatrix}$ |

本試料はトリグリセリドの中に、 $C_{16}$  および  $C_{18}$  モノ不飽和脂肪酸を多量に含むばかりでなく、海産哺乳動物油や魚油中に一般に見出されるガドレイン酸 ( $C_{20:1}$ )、およびセトレイン酸 ( $C_{22:1}$ ) を各々数%含有する他、サメ肝油成分の一つであるセラコレイン酸 ( $C_{24:1}$ ) も少量含有する点が特徴的である。これに対して  $C_{20-22}$  多不飽和脂肪酸 (ペンタエンおよびヘキサエン) 含量は、低温海流域から採取したにもかかわらず、著しく多量とはいえない。その理由については不明であるが、採取の時期や臓器などについて比較検討する必要があるかと思われる。

## 文 献

- ACKMAN, Q., HOOPER, S. N. and HINGLEY, J. (1971): Monoethylenic fatty acids of a partially hydrogenated herring oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 804-806.
- ALLEN, R. J. L. (1940): Estimation of phosphorus. *Biochem. J.*, **34**, 858-865.
- BONSEN, P. P. M., DEHAAS, G. H. and VAN DEENEN, L. L. M. (1965): Synthesis and enzymatic hydrolysis of an O-alanyl ester of phosphatidyl glycerol. *Biochim. Biophys. Acta*, **106**, 93-105.
- DUDLEY, P. A. and ANDERSON, R. E. (1975): Separation of polyunsaturated fatty acids by argentation thin layer chromatography. *Lipids*, **10**, 113-115.
- GEDAM, P. H., SUBBARAM, M. R. and AGGARWAL, J. S. (1971): Consecutive chromatographic techniques in the component fatty acid analysis of sardine oil. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, **73**, 748-753.
- KHALID, Q., MIRZA, A. S. and KHAN, A. H. (1968): Fatty acid composition of edible marine

fish oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 45, 247-249.

LITCHFIELD, C., HARLOW, R. D. and REISER, R. (1967): Gas-liquid chromatography of triglyceride mixtures containing both odd and even carbon number fatty acids. Lipids, 2, 363-370.

LUDDY, F. E., BARFORD, R. A., HERB, S. F., MAGIDMAN, P. and REIMENSCHNEIDER, R. W. (1964): Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semimicro technique. J. Am. Oil Chem. Soc., 41, 693-696.

(1976年8月11日, 10月13日改訂稿受理)