マ グ ロ 筋 肉 の 脂 質—Ⅲ.

血合筋及び普通筋のレシチン*

五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男

(北海道大学水産学部水産化学教室)

Lipids of the Muscle of Tuna, *Thynnus orientalis*—Ⅲ.

Lecithins of the Dark-Colored and Ordinary Muscles*

Hisanao IGARASHI, Kōichi ZAMA and Muneo KATADA

Lecithins were extracted and purified from the dark-colored and ordinary muscles of a tuna, *Thynnus orientalis*.

The mixed fatty acids, prepared from these lecithins by alkali-hydrolysis, were separated into three portions, solid, lower and higher-unsaturated acids, with a combination of lead salts-ethanol and lithium salts-acetone fractionations. Individual acids were identified with paper chromatography, saturated acids and hydrogenated polyethylenic acids as their 2,4-dinitrophenylhydrazides, and mono- and diethylenic acids as their mercuric acetate complexes. Spectrophotometry of the alkali-isomerized higher-unsaturated acids indicated the presence of conjugated di- to hexaene.

The composition of these mixed fatty acids presented in Table 8 shows the component fatty acids of the lecithin from dark-colored muscle are more unsaturated than those from ordinary muscle.

The presence of cephalins, acetalphospholipids and sphingomyelin was also shown in the ethanol extracts of these tissues.

著者らは前2報¹⁾においてクロマグロ, *Thynnus orientalis* の普通筋及び血合筋から得たアセトン可溶性脂肪の脂肪酸と不鹼化物について報告したが、次いで磷脂質の分離、検索を行った結果を報告する。魚類筋肉の磷脂質については BÄHR・WILLE²⁾, KAUCHER ら³⁾, 松本⁴⁾ による定量値, LOVERN 及びその共同研究者⁵⁾ によるハドツク, *Gadus aeglefinus*, 及びタラ *G. callarias* について詳細な研究があり、またフナ⁶⁾ の血合筋が普通筋の約2倍のリポイド燐を含むことが報告されている⁶⁾。著者らはマグロ血合筋及び普通筋脂肪のエタノール可溶区分からレシチンを分離し、構成脂肪酸の検索を行った結果、血合筋のレシチンと普通筋のレシチンは特に相異なる脂肪酸を含まないが、前者は後者に比して不飽和度の高い脂肪酸をより多く含むことをみた。

実 験 及 び 結 果

脂質抽出操作及び分析法は前報¹⁾ 同様である他、グリセリンは BLIX⁷⁾, スフィンゴシンは MOKIBBIN ら⁸⁾ の方法により、また高級アルデヒドは塩化第2水銀で水解後 WITTENBERG ら⁹⁾ の方法により定量した。試料は1955年8月下旬に三陸沖で漁獲されたクロマグロから得た血合筋と普通筋からアセトン可溶区分を除いたものを用いた(前2報¹⁾ 参照)。

(1) エタノールによる脂質の抽出及びレシチンの精製 血合筋4000gをアセトン抽出した残渣1200gとアセトン抽出物から分離したアセトン不溶部を再三エタノールで抽出、抽出液を濃縮して得た残渣をエーテルで抽出した。エーテル溶液を水洗、乾燥後溶媒を除き、少量のエーテルから無水エタノールで分別をくりかえして、エタノール可溶部と不溶部にわけた。不溶部はケファリンの調製に供した。可溶部エタノール

1957年7月16日受理

* 水産動物磷脂質に関する研究—XIII.

Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals—XIII.

ル溶液に CdCl_2 エタノール飽和溶液を沈澱がもはや生じなくなるまで加え、氷室に1夜放置後吸引濾別して20.5 g の磷脂質— CdCl_2 複塩を得た。この複塩をクロロホルムに溶解、等容の30 %エタノールと5分間激しく振盪して、 CdCl_2 をエタノール層に移行する操作をくりかえして CdCl_2 を完全に除いた後、溶媒を溜去して遊離磷脂質 13.5 g を得た。このものを30 倍容の無水エタノールに溶解して1夜氷室に放置して生じた沈澱 (区分—A) を除き、溶液をアルミナ吸着柱 (15×670 mm, 100 g. アルミナは和光純薬製品を 400°C. に2時間加熱) を通過し、流出液から溶媒除去、残渣を乾固してレシチン 5.2 g を得た。普通筋 5370 g のアセトン抽出残渣 1960 g とアセトン抽出物からのアセトン不溶部から同様にエタノール抽出、エーテル可溶区分をとり、このエタノール可溶区分から CdCl_2 複塩 4.1 g を得、これより遊離磷脂質 2.8 g を得た。このものを無水エタノール溶液として氷冷し、沈澱 (区分—A) 0.7 g を除いたのち、アルミナ吸着柱 (15×150mm, 20 g) を用いてレシチン 1.1 g を得た。これら2種の筋肉から得たレシチン及び区分—Aの性状をそれぞれ Table 1 及び 2 に示す。

Table 1. Properties of Lecithins

Lecithin from	Yield (% from fresh tissue)	Phosphorus (%)	Nitrogen (%)	Choline (%)
Dark-colored muscle	0.13	3.88	1.78	15.05
Ordinary muscle	0.02	3.86	1.78	14.98

	Glycerol (%)	Aldehydes (%)	Iodine no.	N/P	Choline/P	Glycerol/P
	11.86	trace	109.7	1.01	0.93	1.03
	11.82	trace	95.5	1.02	0.99	1.03

Table 2. Properties of Fractions A

Fraction A of	Phosphorus (%)	Nitrogen (%)	Iodine no.	Glycerol (%)	Choline (%)
Dark-colored muscle	3.53	1.90	56.9	7.87	7.65
Ordinary muscle	3.46	1.85	49.9	7.66	6.61

	2-aminoethanol (%)	Serine (%)	Sphingosine (%)	Aldehydes (%)
	1.76	0.48	12.60	0.35
	2.63	1.35	8.80	0.29

(2) レシチンの脂肪酸 血合筋のレシチン 4.0 g を 2N KOH—エタノールで1時間鹼化して混合脂肪酸 2.6 g を得た。同じく普通筋のレシチン 0.8 g から混合脂肪酸 0.5 g を得た。これらを鉛塩エタノール法により固体酸と液体酸にわけ、後者を更にリチウム塩アセトン法により低度及び高度不飽和酸に分別した。これらの結果を Table 3 に示す。

Table 3. Fractionation of the Component Acids of Lecithins

Lecithin of	Mixed acids		Solid acids		
	Neutr. no.	Iodine no.	Yield (%)	Neutr. no.	Iodine no.
Dark-colored muscle	199.8	171.3	40.2	210.3	24.2
Ordinary muscle	199.6	137.4	43.3	209.1	24.8

Lower-unsaturated acids			Higher-unsaturated acids		
Yield (%)	Neutr. no.	Iodine no.	Yield (%)	Neutr. no.	Iodine no.
23.6	199.6	120.8	36.2	186.6	354.3
30.0	199.3	121.9	26.7	188.5	336.8

(i) 飽和脂肪酸：前記固体酸の酸塩化物をピリジン中で2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応して脂肪酸のジニトロフェニルヒドラチドを生成し、これをペーパークロマトグラフにより検索した¹⁰⁾(Table 4)。

(ii) モノ及びジエチレン酸：前記低度不飽和酸をメチルエステルとし、メタノール溶液中で醋酸第2水銀と反応して生成した醋酸水銀附加物を、ペーパークロマトグラフにより検索した¹¹⁾(Table 5)。

Table 4. R_f Values of 2,4-dinitrophenylhydrazides of Component Saturated Acids of Lecithins*

Lecithin of	Myristic	Palmitic	Stearic	Arachidic	Behenic
Dark-colored muscle	0.42	0.32	0.21	—	—
Ordinary muscle	0.40	0.32	0.21	—	—
Standard	0.40	0.31	0.21	0.11	0.07

* Paper : Toyo No.2. Moving Phase : 90 % Methanol-acetic acid-tetralin (10 : 2 : 1). Stationary Phase : Tetralin. Development : Ascending at 30°C. Detection : N/2 KOH in ethanol.

Table 5. R_f Values of Mercuric Acetate Complexes of Component Lower-Unsaturated Acids of Lecithins*

Lecithin of	Zoomaric	Oleic	Eicosenoic	Linoleic	Linolenic
Dark-colored muscle	0.28	0.14	0.07	0.50	—
Ordinary	0.27	0.16	0.06	0.50	—
Standard	0.27	0.16	0.09	0.51	0.73

* Paper : Toyo No.50. Moving and stationary phases are the same as Table 4. Detection : 0.2 % diphenylcarbazone in ethanol.

(iii) 高度不飽和酸：前記高度不飽和酸を HERB ら¹²⁾の方法により 21 % KOH—グリコールで異性化して紫外部吸収を測定し、HAMMOND ら¹³⁾の式によりジエン—ヘキサエンの含量を算出した (Table 6)。また高度不飽和酸を水添して得られた飽和酸を前述の固体酸と同様に 2,4-ジニトロフェニルヒドラチドとしてペーパークロマトグラフにより検索した (Table 7)。

Table 6. Spectrophotometric Analysis of Component Higher-Unsaturated Acids of Lecithins*

Lecithin of	Dienoic (as linoleic)	Trienoic (as linolenic)	Tetraenoic (as arachido- nic)	Pentaenoic (as clupanodo- nic)	Hexaenoic (as docosahe- aenoic)
Dark-colored muscle	3.2	10.5	32.3	28.7	22.5
Ordinary muscle	6.1	15.5	32.8	27.5	14.0

* Isomerized with 21 % KOH in glycol at 180°C. for 15 minutes.

Table 7. R_f Values of 2,4-Dinitrophenylhydrazides of Hydrogenated Component Higher-Unsaturated Acids*

Lecithin of	Palmitic	Stearic	Arachidic	Behenic
Dark-colored muscle	—	0.20	0.12	0.06
Ordinary muscle	—	0.20	0.11	0.06

* Method is the same as Table 4.

考 察

(i) レシチン構成脂肪酸の組成：Table 3 の固体酸に混在する不飽和酸を一応オレイン酸と仮定し、その元素価から飽和酸量を算出した。また Table 6 のジエン—ヘキサエン量を混合脂肪酸に対する%に換算

Table 8. Composition of Component Fatty Acids of Lecithins

		Lecithin of	
		Dark-colored muscle	Ordinary muscle
Saturated acids	{ % Component	29.4 C ₁₄ , C ₁₆ , C ₁₈	31.4 C ₁₄ , C ₁₆ , C ₁₈
Mono- and dienoic acids	{ % Component	36.5 C ₁₆ (-2 H), C ₁₈ (-2 H), C ₂₀ (-2 H), C ₁₈ (-4 H)	45.7 C ₁₆ (-2 H), C ₁₈ (-2 H), C ₂₀ (-2 H), C ₁₈ (-4 H)
Polyenoic acids	{ Trienoic %	3.8	4.1
	{ Tetraenoic %	11.7	8.8
	{ Pentaenoic %	10.4	7.3
	{ Hexaenoic %	8.2	3.7
	{ Total %	34.1	22.9
	{ Component	C ₁₈ , C ₂₀ , C ₂₂	C ₁₈ , C ₂₀ , C ₂₂

し、トリエンからヘキサエンまでの合計を求め、これら以外の不飽和酸をすべてモノ及びジエチレン酸からなるものと考えた。これらの結果及び Table 4~7 の結果から得られた血合筋と普通筋のレシチンの構成脂肪酸組成を Table 8 に総括した。これにより明らかなように、一方のレシチンにのみ存在する脂肪酸は特に見当たらないが、血合筋レシチンは高度不飽和酸に富み飽和酸及びモノー、ジエチレン酸の量が普通筋レシチンよりも少ない。このような現象は、両筋肉のアセトン可溶区分の脂肪酸組成に見られたものであり、脂質各成分に於て含量が両筋肉により異なるのみではなく、構成脂肪酸が血合筋ではより不飽和な状態にあることが推察される。またこの差異は Table 3 の結果と一致し、更に Table 1 の両筋肉のレシチンの沃素価の差異ともよく一致する。

(ii) 区分一A : Table 2 の結果からみて、2-アミノエタノール及びセリン含有ケファリン、及びアセタール脂質の存在が考えられ、スフィンゴシン含量が比較的多いことから、スフィンゴミエリンも相当量存在する。このことは N/P が 1 よりも僅か大なること、及びグリセリン/P が小さいことによつても支持される。スフィンゴシン対コリンの分子比は 1 よりも大であることから、レシチンも混存することが推定される。これは最初のエタノール溶液から CdCl₂-複塩として精製されたために、再びエタノール溶液として冷却された際に、ケファリン、スフィンゴミエリンが不溶となつて沈殿し、その時にレシチンをも伴つたものと考えられる。上記の磷脂質-N の合計が全 N に殆ど等しい故、それ以外の成分は存在しても、微量であろうと考えられる。

要 約

クロマゲロ血合筋及び普通筋からレシチンを分離し、その構成脂肪酸をペーパークロマトグラフ及び分光分析により検索した。その結果、両筋肉のレシチンは互に特に異なる脂肪酸を含まず、ただ血合筋のレシチンが高度不飽和酸を多量に含むことを明かにした。

本研究は文部省科学研究総合研究 II 魚類の血合肉と普通肉の生化学的研究 II の分担として行つた。

文 献

- 1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男 : 本誌, 22, 787, 791 (1957).
- 2) O. BÄHR, O. WILLE : *Fischwirtschaft*, 1, 129 (1931).
- 3) M. KAUCHER, H. GALBRAITH, V. BUTTON, H. H. WILLIAMS : *Arch. Biochem.*, 3, 203 (1943).
- 4) 松本文夫 : 本誌, 16, 303 (1950).
- 5) J. A. LOVERN et al. : *Biochem. J.*, 54, 126, 128, 559 : 55, 686 (1953) ; 57, 610 (1954) ; 62, 99, 107 (1956).
- 6) N. SUZUKI : *Nagoya J. Med. Sci.*, 17, 271 (1954).
- 7) G. BLIX : *Mikrochim. Acta*, 1, 75 (1937).
- 8) J. M. McKIBBIN, W. E. TAYLOR : *J. Biol. Chem.*, 178, 29 (1949).

- 9) J.B. WITTENBERG, S.R. KOREY, F.H. SWENSON : *Ibid.*, **219**, 39 (1956).
- 10) Y. INOUE, M. NODA : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 214 (1955).
- 11) 野田万次郎・平山 修・井上吉之 : 農化, **30**, 106 (1956).
- 12) S.F. HERB, R.W. RIEMENSCHNEIDER : *Anal. Chem.*, **25**, 953 (1953).
- 13) E.G. HAMMOND, W.O. LUNDBERG : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **30**, 433 (1953).