ナガスカ卵の脂質—II.

レシチン

羽田野六男・座間 宏一・五十嵐久尚

(1964 年 2 月 26 日受理)

EGG LIPIDS OF NORTHERN BLENNY—II*
LECITHIN**

Mutsuo HATANO, Kōichi ZAMA and Hisanao IGARASHI***

Phospholipids were extracted with chloroform-methanol from the egg of northern blenny, *Stichaeus grigorjewi* HERZENSTEIN. By adding a large amount of ethanol to these phospholipids, lecithin and cephalin fractions were separated. The lecithin fraction was first separated through a stage of cadmium chloride complex, and then purified by the alumina column chromatography.

The results obtained in this experiment are shown in Tables 1~2 and Figure 1.

As shown in Table 3, the fatty acid composition of lecithin consisted of palmitic, stearic palmitoleic, and oleic acid as high as 24.7, 13.8, 13.6 and 17.8%, respectively.

Thus it may be concluded that the lecithin contained lower amounts of unsaturated acids than the acetone-soluble lipid.

魚卵レシチンについては阿武¹⁾のカラフトマス、著者らのアブラツノザメ²⁾、スケトウダラ³⁾、サケ⁴⁾、コイ⁵⁾卵の報告がある。ナガスカ卵については坂井ら⁶⁾が磷脂質と食中毒原因物質とは関連性が深いことを報じているのみでレシチンの性状については論及していない。

著者らは前報⁷⁾においてアセトン可溶性脂質の性状について報告したが、本報ではレシチンの性状について報告する。なお該画分の動物試験結果およびケファリンについては別報にて報告する。

実験および結果

実験操作および分析法： 実験操作は前報同様であるほか、分析法として P: FISKE-SUBBAROW 法⁸⁾, N: 微量拡散法, コリン: ライネッケ塩法⁹⁾, アルデヒド: ヒドラジン法¹⁰⁾, グリセリン: BLIX 法¹¹⁾, エステル基: ヒドロオキザム酸法¹²⁾, 沃素価: WIJS 法によつた。レシチンのペーパークロマトグラフィーは原の方法¹³⁾を用い、赤外吸収スペクトルの測定は KBr 製錠を行ない光研 DS-301 型赤外分光光度計を使用した。またレシチンの脂肪酸組成は前報⁷⁾同様ガスクロマトグラフィーによつた。

粗レシチンの調製： 試料としては前報に述べたアセトン抽出残渣 15.68 kg を 1.5 倍量の熱クロロホルム・メタノール (2:1) で 2 回抽出、抽出物は溶剤を溜去後さらに 3 倍量のエーテルで抽出、エーテル抽出物 705 g を得た。このものを 3.5 倍量の無水エタノールで処理しエタノール可溶部 564 g を得た。

エタノール可溶部 80 g を 95 %エタノール 260 ml に溶解 50 % CdCl₂ 水溶液を沈澱が生じなくなるまで加え、氷室に一夜放置後、遠心沈澱し粗レシチン-CdCl₂ 複化合物 81 g (湿量) を得た。この複化合物を 250 ml のクロロホルムに溶解、等量の 30 %エタノールを加え激しく振盪し脱 CdCl₂ することを 15 回繰

* 昭和 37 年 11 月、日本水産学会秋季大会 (長崎) にて講演。

** 水産動物磷脂質に関する研究、第 32 報 (Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals XXXII.).

*** 北海道大学水産学部水産化学教室 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan).

Table 1. Composition of lecithin before and after passage over alumina

Fraction	Ethanol soluble	Crude lecithin	Chromatographic fraction				
			1	2	3	4	5
Eluent, 95 % ethanol, ml.	—	—	500	500	500	500	1380
Yield g	—	26.5	0.7	6.9	9.9	2.8	0.9
%	—	100.0	2.6	26.0	37.4	10.6	3.4
P, %	3.50	3.54	0.53	3.16	3.30	4.12	4.18
N, %	2.73	1.71	0.50	1.44	1.55	2.14	2.46
Choline, %	10.24	11.68	0.01	12.64	13.58	18.30	20.96
Aldehyde, %	0.05	0.08	0.20	0.04	0.03	0.04	0.03
Glycerol, %	12.82	12.24	9.98	10.98	11.77	12.57	11.94
Ester group*	1.8	1.8	1.6	2.0	2.0	1.7	1.3
Iod. no.	166.9	176.4	201.3	168.7	166.8	143.5	113.3
N/P**	1.72	1.08	2.11	1.00	1.03	1.15	1.30

* Ester group $\mu\text{equiv./P}\mu\text{moles}$ ** molar ratio**Table 2.** Paper chromatography of alumina chromatographic fractions (R_F values).

Fraction	1	2	3	4	5
Phosphate	0.94	0.88	0.84	0.72 0.87	0.72 0.95
Choline	0.94	0.87	0.84	0.72 0.85	0.72 0.96
Lipid	0.92	0.86	0.86	0.72 0.85	0.75 0.96
Aldehyde	0.92	0.87	0.85	0.72 0.85	0.72 0.95

These spots gave a negative ninhydrin test for aminophospholipid.

Ascending chromatography was carried out at room temp. for 15 hrs. on dilute HNO_3 -treated paper (Tōyō No. 51) employing $n\text{-BuOH/ethyleneglycol/H}_2\text{O}$ (4:1:3) as solvent. The spots were detected by staining with acid-molybdate solution, phosphomolybdic reagent, Rhodamine 6 G solution and SCHIFF's reagent.

り返えして得たレシチン・クロロホルム溶液よりクロロホルムを溜去し粗レシチン 45gを得た。

粗レシチンのアルミナ・クロマトグラフイー: 粗レシチン 30g を 95 %エタノール 1000 ml に溶解一夜氷室に保ち析出する不純物 3.5g を遠心除去後、アルミナ・カラム (Merck 製アルミナ, 400°C, 2時間活性化, 530g, 3×70 cm) を通過させ、さらに 95 %エタノールで溶出し精製を行い Table 1, 2 に示す結果を得た。

前記の分析値の結果よりみるとFraction 2, 3 は N/P のモル比は 1.0 の値を示し、かつエステル基の数およびペーパークロマトグラフィーの結果よりみてリゾレシチン

Fig. 1. Infrared spectrum of lecithin, passed in KBr.

の混入も認められず、ほぼ純粋なレシチンと考えられるのでこれらの画分を合せ IR スペクトル (Fig. 1) を測定したが湧井ら¹⁴⁾の卵黄レシチンのそれとよく一致している。

レシチンの脂肪酸組成: 前記 Fraction 2, 3 の 15.0 g を常法にしたがい鹼化し混合脂肪酸 (中和価 190.8, 沃素価 215.6) 8.5 g を得た。さらにこのものをエステル化しメチルエステル (n_D^{20} 1.4874, 鹼化価 182.4, 酸価 1.4, 沃素価 201.9) 7.7 g を得た。このものをガスクロマトグラフィーによつて脂肪酸組成を検索し Table 3 に示す結果を得た。

考 察

ナガズカ卵より塩化カドミウム複塩、さらにアルミナ・カラムクロマトグラフィーによつて精製レシチンを得た。Table 1 に示す結果より Fraction 2, 3 はほぼ純粋なものと考えられるが極く微量のアセタール脂質の混入を避け得られなかつた。Fraction 4, 5 は分析値およびペーパークロマトグラフィーの結果よりリゾレシチンの存在が認められた。これは卵レシチン画分中にもともと存在したものか RENKONEN¹⁵⁾ のいうようにアルミナクロマトグラフ中にレシチンが分解して生じたものかは疑問である。

レシチンの脂肪酸をアセトン可溶性脂質の脂肪酸と比較すると Table 3 に示すごとく明らかな差異、すなわちレシチンは約 44.3 % の飽和酸を有しその主成分はパルミチン酸およびステアリン酸である。一方不飽和酸は約 55.6 % でアセトン可溶性脂質に比しその含量は少ない。不飽和酸はオレイン酸およびパルミトオレイン酸によつて大部分を占めるがアセトン可溶性脂質には認められなかつたエイコサペンタエン酸をも含んでいる。またアセトン可溶性脂質に多く存在したドコセン酸およびドコサペンタエン酸はレシチンには非常に少ないことが認められた。以上のようなレシチンの脂肪酸組成はサメ²⁾、スケトウダラ³⁾、サケ⁴⁾、コイ⁵⁾ などの魚卵レシチンの構成脂肪酸と類似した傾向を示している。

要 約

ナガズカ卵精製レシチンを分離しその脂肪酸組成を検討した結果、パルミチン酸とステアリン酸を主体とする飽和酸約 44 %, パルミトオレイン酸とオレイン酸を主体とする不飽和酸約 56 % よりなり、その組成は他の魚卵のレシチン脂肪酸組成と類似することが認められた。

本実験遂行にあたり試料の採取に御援助下さった北海道立森保健所所長坂正紀氏と林功氏に厚く謝意を表す。

Table 3. Comparison of the fatty acid compositions of acetone-soluble lipid and lecithin (%)

C _{n:m}	Acetone-soluble lipid ⁷⁾	Lecithin*
C _{12:0}	0.2	0.2
C _{14:0}	3.0	2.1
C _{15:0}	0.7	0.7
C _{16:0}	15.9	24.7
C _{17:0}	2.2	1.4
C _{18:0}	3.8	13.8
C _{20:0}	1.1	1.4
Total saturated acid	26.9	44.3
C _{14:1}	1.0	0.5
C _{16:1}	13.6	13.6
C _{16:2}	3.3	4.3
C _{18:1}	19.9	17.6
C _{18:2}	1.7	1.8
C _{18:3}	0.3	0.1
C _{20:1}	4.6	2.5
C _{20:2}	0.2	tr
C _{20:3}	1.2	0.1
C _{20:4}	0.5	1.0
C _{20:5}	—	3.3
C _{22:1}	10.9	0.7
C _{22:2}	tr	2.3
C _{22:3}	tr	5.0
C _{22:4}	0.7	0.1
C _{22:5}	14.4	2.7
C _{22:6}	0.7	—
Total unsaturated acid	73.0	55.6

* Present study

The condition of gas-liquid chromatography was as follows: column length 3 m; temp. 211°C; stationary phase 25 % diethylene glycol adipate polyester; He flow rate 20 ml/min.

文 献

- 1) 阿武喜美子：農化，**23**, 162 (1949).
- 2) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男：同誌，**29**, 454 (1955).
- 3) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男：同誌，**30**, 566 (1956).
- 4) 座間宏一・片田宗男・五十嵐久尚：本誌，**24**, 739 (1959).
- 5) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男：本誌，**26**, 1128 (1960).
- 6) 坂井 稔・木村喬久・信濃晴雄・絵面良男・坂 正紀・林 功：食品衛生研究，**12**, 53 (1962).
- 7) 羽田野六男・座間宏一・五十嵐久尚：本誌，**30**, 516 (1964).
- 8) FISKE, C. H., and SUBBAROW, Y. C.: *J. Biol. Chem.*, **81**, 629 (1929).
- 9) JANE, F. and BEATTIE, R.: *Biochem. J.*, **30**, 1554 (1936).
- 10) WITTENBERG, J. B., KOREY, S. R. and SWENSON, F. H.: *J. Biol. Chem.*, **219**, 39 (1956).
- 11) BLIX, G.: *Mikrochim. Acta*, **1**, 75 (1936).
- 12) SNYDER, F. and STEPHENS, N.: *Biochim. Biophys. Acta*, **34**, 244 (1959).
- 13) 原 一郎・金子 弘・加藤彰彦：油化学，**9**, 362 (1960).
- 14) 湧井袈裟参・河内佐十：薬誌，**81**, 1405 (1961).
- 15) RENKONEN, O.: *J. Lipid Res.*, **3**, 181 (1962).