魚類のカロテノイドに関する比較生化学的研究—II

マアジ、クサフグ、ハリセンボンおよびボラについて

松野隆男・永田誠一・佐藤嘉純・渡辺哲夫

(1974年2月21日受理)

Comparative Biochemical Studies of Carotenoids in Fishes—II

Carotenoids of Horse Mackerel, Swellfishes,
Porcupine Fishes, and Striped Mullet

Takao MATSUNO*, Seiichi NAGATA*, Yoshinori SATO*, and Tetsuo WATANABE*

The carotenoid pigments from the fin and skin of horse mackerel, swellfishes, porcupinefishes and striped mullet were investigated. Tunaxanthin was predominant in horse mackerel (63–69%), swellfishes (33%) and porcupinefishes (56%). The following carotenoids were identified and their contents determined in the respective fishes: β -carotene (—, —, 4%), α -cryptoxanthin (2-trace, 3, 10%), cryptoxanthin (—, 10%, —), lutein (15–19, 3, 6%), zeaxanthin (10–16, 33, 16%), diatoxanthin (—, 7%, —), cynthiaxanthin (—, 8%, —), α -doradecan (—, 3, 1%) and astacene (—, trace, 1%), respectively.

Carangoxanthin originally reported in horse mackerel by Hirao was not detected in fishes collected at various seasons and places in spite of our detailed investigation.

In contrast with the above fishes, striped mullet contained zeaxanthin (68%) and lutein (20%) as the major carotenoids and a relatively small amount of tunaxanthin (6%).

魚類のカロテノイドに関する比較生化学的研究の一環としてスズキ魚群に属する4種、すなわちスズキ目、アジ亜目、アジ科のマアジ *Trachurus japonicus*、フグ目、マフグ科のクサフグ *Spherooides niphobles*、フグ目、ハリセンボン科のハリセンボン *Diodon holacanthus*、およびボラ目、ボラ科のボラ *Mugil cephalus* について研究し、比較生化学的に興味のある二、三の知見をえたので報告する。

実験および結果

試料 試料としたマアジは1971年6月下旬、和歌山県田辺湾で捕獲した一匹平均体長10 cmのもの50匹、1972年10月下旬、兵庫県高砂近海にて捕獲した一匹平均体長10 cmのもの150匹、および1973年5月下旬、和歌山県湯浅近海にて捕獲した平均体長20 cmのもの30匹、クサフグは1973年12月上旬、兵庫県姫路近海でとつた平均体長17 cm位のもの10匹、ハリセンボンは1973年7月下旬、奄美大島本島古仁屋近海でとつた一匹平均体長17 cmのもの2匹、ボラは1973年7月下旬、奄美大島本島古仁屋町を流れる川の河口で捕獲した体長5–10 cmのいわゆる“おぼこ”約50匹をそれぞれ試料とした。これらの生きた試料より皮とヒレの部分をあつめて色素の抽出に供した。

色素の抽出ならびに分離 アユ¹⁾の場合と同様におこなつた。すなわち皮とヒレをアセトンにて抽出し、石油エーテルに転溶後、溶媒を留去したのち常法によりケン化をおこない、不ケン化物としてえられた色素について column chromatography により分画をおこなつた。

色素の column chromatography column の吸着剤として MgO: Hyflo Super-Cel (1:1) を用いた。展開溶媒として petroleum ether (PE) → acetone → MeOH → HOAc と順次溶媒の極性を増すことにより各色

* 京都薬科大学 (Kyoto College of Pharmacy, Yamashina, Higashiyamaku, Kyoto, Japan)

素の分画をおこなった。展開に用いた溶媒と最終的に同定されたカロテノイドを示すと、PE で β -carotene, 2.5% acetone/PE で α -cryptoxanthin, 10% acetone/PE で cryptoxanthin, 15% acetone/PE で tunaxanthin, 20% acetone/PE で lutein, 30% acetone/PE ~ 100% acetone で zeaxanthin, 5% MeOH/acetone で diatoxanthin, 10% MeOH/acetone で cynthiaxanthin, 5% HOAc-MeOH で α -doradecin ならびに astacene がえられた。

色素の同定 各色素の同定は文献記載の方法に従ってえられた標品カロテノイドとの直接比較 (可視部吸収スペクトル, co-thin layer chromatography, co-column chromatography) によりおこなった。ここで標品としたカロテノイドは β -carotene はメルク製のもの, α -cryptoxanthin はとうもろこし²⁾ より, cryptoxanthin はみかんの皮³⁾ より, tunaxanthin はブリ⁴⁾ より, lutein および zeaxanthin は鶏卵⁵⁾ より, cynthiaxanthin はマボヤ⁶⁾ より, α -doradecin は金魚⁷⁾ より, astacene はイセエビ⁸⁾ よりえたものである。なお diatoxanthin は acetyl 化の結果より水酸基は 2 ケ, allylic-OH 活性テストは陰性, MgO: Hyflo Super-Cel (1:1) column, および MgO: Silicagel G (1:1) を吸着剤とする TLC 上で cynthiaxanthin と明瞭に分離されうること, また I_2 による異性化反応の結果 cynthiaxanthin (10-12 nm) と比較して吸収極大の短波長側へのシフト幅が小さい (7-8 nm) こと⁹⁾ 等より, cynthiaxanthin より acetylenic-bond が 1 ケ少ない diatoxanthin と同定した。

マアジ

1) マアジにおけるカラングキサンチンの存在について

平尾ら⁴⁾ によりマアジにその存在が報告されている carangoxanthin について著者らは検討をおこなってみた。

1972 年 10 月下旬捕獲したマアジから前記の方法により抽出, 分離, 精製してえたカロテノイド fraction (2.5% acetone/PE でえられる fraction を Fr. 1, 15% acetone/PE で Fr. 2, 20% acetone/PE で Fr. 3, 30% acetone/PE ~ 100% acetone で Fr. 4) ならびにその可視部吸収極大値をあわせて図表化したのが Fig. 1

Adsorbent; MgO: Hyflo Super-Cel (1:1)

Fig. 1. Column chromatographic separation of carotenoids in horse mackerel and absorption spectra of each fraction.

Fig. 2. Thin-layer chromatograms of the fractions on $Mg_2(OH)_2CO_3$ plate.

である。吸収極大値および TLC (silicagel G) の結果より Fr. 1 は α -cryptoxanthin, Fr. 2 は tunaxanthin, Fr. 3 は lutein, Fr. 4 は zeaxanthin と推定されたので標品カロテノイドとの比較によりそのものと同定した。ところで、ここで気になったことは Fr. 4 の吸収極大が少し短波長側にみとめられたことである。この理由として考えられるのは all-trans 体カロテノイドにこのものが異性化した、いわゆる cis 体カロテノイドが混在している可能性である。そこで EGGER ら¹⁰⁾により報告されているカロテノイド異性体相互の分離に効果的である $Mg_2(OH)_2CO_3$ (メルク製) を吸着剤とする TLC で検討した結果 (Fig. 2), やはり Fr. 4 には all-trans カロテノイドの異性体である neo U に相当するカロテノイドが含まれていることをみとめた。ちなみに Fr. 2 の tunaxanthin 区分にも少量ながら異性体と思われる spot が Rf 0.88 にみとめられた。Fr. 3 の lutein は all-trans 体でえられていることがわかった。ここで念のため、これらの fraction の中に含まれている異性体の性質をあきらかにするために Fr. 2 と Fr. 4 について $Mg_2(OH)_2CO_3$ (メルク製) を充填剤とする column chromatography をおこない、えられたものについて可視部吸収スペクトルならびに TLC の Rf 値をあきらかにした (Table 1)。これより Fr. 2 には all-trans tunaxanthin が主成分で、これに

Table 1. Absorption spectra of horse mackerel carotenoids purified on $Mg_2(OH)_2CO_3$ column

Fraction	Solvent	Absorption spectra (in PE)* ¹	Rf value* ²
Fr. 2-1	2.5% ether/PE	no absorption at 400-470 nm	0.88
Fr. 2-2	10% ether/PE	414, 437.5, 467.5	0.79
Fr. 4-1	15% ether/PE	(425), 447.5, 474.5	0.72
Fr. 4-2	25% ether/PE	420, 443, 470	0.44

*¹ nm *² Rf value in Fig. 2

少量の分解物が共存していることがわかった。また Fr. 4 には all-trans zeaxanthin とともに約同量の zeaxanthin 異性体がまざっていることがわかった。以上の結果マージには α -cryptoxanthin, tunaxanthin, lutein, zeaxanthin のみが含まれており、いわゆる平尾らの言う carangoxanthin⁴⁾ に相当する色素はみとめられなかった。

2) アルミナカラム (nach BLOCKMANN) 上におけるツナキササンチン、ルティンの挙動について

平尾らの報告する carangoxanthin についての諸性質を考えてみると、可視部吸収スペクトルの結果より tunaxanthin と lutein の中間すなわち ϵ -carotene type と α -carotene type の中間の吸収をしめしている。

またアルミナカラム (メルク製, nach BLOCKMANN) 上では tunaxanthin と lutein との間に吸着されることから diol に相当するカロテノイドと思われる。このような性質より著者らは carangoxanthin なるものはアルミナカラムを使用する際に二次的に生じた tunaxanthin または lutein の異性体ではなからうかと予想し, 平尾らの報告にあるアルミナ (メルク製, nach BLOCKMANN) を用い, 標品の all-trans 体の tunaxanthin と all-trans 体の lutein についてそれぞれカラムクロマトをおこなった。その結果を Table 2 に示す。これから all-trans tunaxanthin および lutein はアルミナカラムをかけている際に変化し, 吸収スペクトルは短波長側にシフトすることがわかった。

以上の結果を総合してみると平尾らによりマアジの皮とヒレにその存在が報告されている carangoxanthin に相当する色素はみとめられなかつたことになる。またアルミナカラム上での色素の挙動をも考え合わせると carangoxanthin なるものは tunaxanthin または lutein がアルミナ (nach BLOCKMANN) column chromatography をおこなうさいに二次的に生じたいわゆる artifact である可能性が強い。

これと関連して carangoxanthin が主成分であると報告されているホウボウ *Chelidonichthys kumu* に着目してその分離をこころみたが予期に反して carangoxanthin の存在はみとめられなかつた。

クサフグ, ハリセンボンおよびボラ 色素の抽出ならびに分離, 色素の column chromatography の項でのべた方法にしたがい, クサフグ, ハリセンボン, ボラについて研究の結果, その存在があきらかになつた各種のカロテノイドならびにそれらの全カロテノイド中の百分率組成をもとめて Table 3 にしめた。

Table 2. Absorption spectra of tunaxanthin and lutein before and after Al_2O_3 (nach BLOCKMANN) column chromatography

	Absorption spectra (in PE)*	
	tunaxanthin	lutein
before column chromatography	414, 437, 466	420, 442.5, 470.5
after column chromatography	411, 435, 465	416, 439.5, 469

* nm

Table 3. Percentage composition of individual carotenoids in horse mackerel, swellfishes, porcupinefishes, and striped mullet

Species Carotenoids	horse mackerel 1)	horse mackerel 2)	swellfishes	porcupine- fishes	striped mullet
β -carotene				4	
α -cryptoxanthin	2.2	trace	2.7	10	
cryptoxanthin			9.6		trace
tunaxanthin	62.8	69.4	33.3	56	5.9
lutein	19.0	15.4	3.2	6	20.0
zeaxanthin	16.0	9.6	32.8	16	68.3
diatoxanthin			7.3		75.8
cynthiaxanthin		75.6	7.7		
α -doradecin			3.4	1	
astacene			trace	1	
unidentified				6	

1) collected on Oct. '72 2) collected on May. '73

考 察

魚類のカロテノイドに関しては平尾ら⁴⁾により精力的に広範な研究がすでになされている。その結果として淡水産の魚類には lutein が, 海産では tunaxanthin または astaxanthin がその代表的なもので, その他

のカロテノイドとして carangoxanthin, anchovyxanthin の存在が報告されている。

一方、著者ら¹¹⁾ はすでに anchovyxanthin が zeaxanthin と同一物であることをたしかめ、さらに主として汽水域に生息するマハゼ近縁魚類 5 種¹²⁾ について研究の結果、lutein のほかに zeaxanthin および tunaxanthin が主成分として存在することをみとめた。すなわち汽水域の魚類には海産型の tunaxanthin と淡水型の lutein とが共存し、さらにこれに zeaxanthin が主成分として存在していることをたしかめた。またアユ¹³⁾、ワカサギ¹³⁾、カムルチー¹⁴⁾ についても検討した結果、これらは淡水魚であるから当然 lutein が主成分として存在することが予想されたが、予期に反してアユ、ワカサギの場合には zeaxanthin (50-90%) が、カムルチーの場合には海産型の tunaxanthin (35%) が主成分として存在していることをみとめた。以上の実験結果より今まで魚類の代表的カロテノイドと考えられてきた tunaxanthin, astaxanthin, lutein 以外にさらに zeaxanthin を追加する必要性のあること、また汽水域魚類のカロテノイドパターンが tunaxanthin, lutein, zeaxanthin を主成分とするものであること、さらにまた淡水魚であるにもかかわらず海産型 tunaxanthin を主成分とするものもあることなどがわかってきたわけである。

そこでさらに今回研究した 4 種の魚類中、クサフグでは tunaxanthin (33.3%), zeaxanthin (32.8%) が主成分、ハリセンボンでは tunaxanthin が 56% におよびこれについて zeaxanthin (16%) の存在がみとめられた。マアジではやはり主成分は tunaxanthin (63-69%) で lutein (15-19%), zeaxanthin (10-16%) がこれについている。ただ、ここで不思議なことには平尾らによりマアジよりその存在が報告されている carangoxanthin に相当するものの存在が捕獲場所ならびに季節をかえて数回おこなつても全く検出されなかつたことである。carangoxanthin が主成分として存在するはずのクサフグ、ホウボウの場合にも著者らの実験ではみとめられなかつたので carangoxanthin なるものの存在については大いに疑問の余地があるように思われる。ボラは前述したクサフグ、ハリセンボン、マアジなどの tunaxanthin を主成分とする海産魚の場合とはおもむきを異にし、海産型カロテノイドである tunaxanthin はわずか 6% の少量にとどまり zeaxanthin, lutein が主成分で、それぞれ 68%, 20% におよんでいることはその生息場所が海で産卵後、ハク (2-4 cm), オボコ (-10 cm), イナ (-30 cm), ボラ (30 cm-) と生長とともに川、河口、海へと移動するものだけにその生態型がカロテノイドに反映されて興味深いものである。

要 約

1. マアジの主成分は tunaxanthin (63-69%) で lutein (15-19%), zeaxanthin (10-16%) がこれにつき、このほかに少量の α -cryptoxanthin が存在していた。従来マアジには carangoxanthin が存在するといわれていたが今回、精査の結果それらしきものはついにみとめられなかつた。
2. クサフグでは tunaxanthin (33%) と zeaxanthin (33%) が主成分で、このほかに少量の cryptoxanthin, cynthiaxanthin, diatoxanthin, lutein, α -doradecin, α -cryptoxanthin, astacene の存在をみとめた。
3. ハリセンボンでは tunaxanthin (56%) が主成分で zeaxanthin (16%) がこれにつき、ほかに少量の α -cryptoxanthin, lutein, β -carotene, α -doradecin, astacene などをみとめた。
4. ボラはマアジ、クサフグ、ハリセンボンとはことなり zeaxanthin (68%) が主成分で lutein (20%) がこれにつき、tunaxanthin は 6% の少量にとどまつた。

文 献

- 1) 松野隆男・永田誠一・岩崎修久・勝山政明：本誌，**40**，73-77 (1974)。
- 2) E. N. PETZOLD and F. W. QUACKENBUSH: *Arch. Biochem. Biophys.*, **86**, 163 (1960)。
- 3) 梅田圭司・川嶋浩二：日本食品工業学会誌，**18**，147-154 (1971)。
- 4) 平尾秀一：本誌，**33**，866-870 (1967)。
- 5) R. KUHN, A. WINTERSTEIN and E. LEDERER: *Z. Physiol. Chem.*, **197**, 141-160 (1931)。
- 6) Y. TSUCHIYA and Y. SUZUKI: *Tohoku J. Agric. Res.*, **10**, 397-405 (1959)。
- 7) T. KATAYAMA, H. YOKOYAMA and C. O. CHICHESTER: *Int. J. Biochem.*, **1**, 438-444 (1970)。

- 8) 松野隆男・楠本貴久・渡辺哲夫・石原靖郎：本誌，**39**, 43-50 (1973).
- 9) D. J. CHAPMAN: *Phytochemistry*, **5**, 1331-1333 (1966).
- 10) H. NITSCHÉ and K. EGGER: *Phytochemistry*, **8**, 1557-1582 (1969).
- 11) 松野隆男・秋田俊子・原 道子：本誌，**39**, 51-54 (1973).
- 12) 松野隆男・東 栄吾・秋田俊子：本誌，**39**, 159-163 (1973).
- 13) 松野隆男・勝山政明・岩崎修久・石原ゆき子：本誌，**40**, 409-412 (1974).
- 14) 松野隆男・永田誠一・植村雅明：本誌，**40**, 489-492 (1974).