養殖マダイ組織の 2-チオバルビツール酸値と 多不飽和脂肪酸濃度との関係

村田 寿, 山内 清

(1989 年 7 月 5 日受付)

Relationship between the 2-Thiobarbituric Acid Values and Polyunsaturated Fatty Acids Concentrations of Some Tissues from Cultured Red Sea Breams

Hisashi Murata*¹ and Kiyoshi Yamauchi*¹

In order to evaluate the factors responsible for accelerating lipid peroxidation in cultured fish tissues, the relationship of the polyunsaturated fatty acids (PUFA) concentrations of the ordinary muscle and liver from 3-year-old cultured red sea breams *Pagrus major* was investigated from July, 1986 through January, 1987. A comparison of the cultured fish and wild red sea breams was included. The cultured fish ordinary muscle gave relatively high TBA values from July through September and low TBA values from October to January. Their PUFA concentrations (such as 22:6 ω 3, 20:5 ω 3, 20:4 ω 6) and peroxidizability indices didn't vary greatly from July through January, except in August. On the other hand, the PUFA concentrations and peroxidizability indices of the liver from the cultured fish had relatively high values from November through January. However, their liver TBA values were quite low from November through January. Moreover, although the ordinary muscle and liver of the wild fish gave a higher PUFA concentration and peroxidizability index as compared with those of the cultured fish, the wild fish TBA values remained lower. Consequently, the results obtained in the present study suggest that the accelerating lipid peroxidation in the ordinary muscle and liver from cultured red sea breams does not always depend upon their PUFA concentrations.

筆者らは前報¹⁾において養殖マダイの筋肉および肝臓の脂質過酸化の程度について、多不飽和脂肪酸 (PUFA)、特に二重結合を 3 個またはそれ以上有する PUFA の過酸化生成物^{2,3)} のマロンアルデヒド量を示す 2-チオバルビツール酸 (TBA) 値によって測定した結果、これら組織では脂質過酸化が進行しやすく、しかもその程度は α -トコフェロール (α -Toc) 量に負に相関し、特に筋肉では餌料中の α -Toc の影響が顕著であると報告した。魚類組織の脂肪酸濃度は、餌料脂質⁴⁾ や水温⁵⁾ などの影響を受けやすく、また季節的に変化する⁶⁾ ことがよく知られているが、一般に、魚類組織は、酸化しやすい PUFA を高濃度に含有し、このため、生体内脂質過酸化も進行しやすいのではないかと推測される。

そこで本報では、魚類組織の PUFA 濃度が、脂質過酸化の促進を引き起こす重要な役割を果たすかどうかを知る目的で、前報¹⁾ と同一の養殖マダイ組織の脂質構成脂肪酸組成を分析し、養殖魚組織の PUFA 濃度の特徴を明らかにすると同時に、これら PUFA 濃度と前報¹⁾

において測定した TBA 値との関連を調べた。また、天然マダイ脂質の脂肪酸組成も併せて分析し、養殖魚の PUFA 濃度と TBA 値との関連とも比較した。以下、これら結果について報告する。

実験方法

供試魚 実験に用いた養殖および天然マダイ *Pagrus major* は前報¹⁾ において記載したものと同一のものである。すなわち、鹿児島県薩摩郡の養殖場で養殖されていた 3 年魚 (体重 1,066 $\pm$ 235 g) の 2 尾を、1986 年 7 月から 1987 年 1 月まで毎月 1 回採取し、それぞれ分析に供した。また天然マダイは、1987 年 4 月山口県長門市付近の海域で捕獲された 3 尾 (体重 823 $\pm$ 117 g) を分析に供した。詳細は前報¹⁾ に記してある。

脂質の抽出・定量および脂肪酸組成の測定 脂質は Folch らの方法⁷⁾ に準じてクロロホルム:メタノール (2:1) 混液で抽出した後、重量法によって定量した。脂肪酸組成は、抽出脂質をケン化・メチル化後、ガスクロマト

*¹ 宮崎大学農学部 (Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki 889-21, Japan).

グラフィーによって測定した。⁸⁾

TBA 値の測定 TBA 値は, Yamauchi らの水蒸気蒸留法で測定した前報の値を用いた。¹⁾ なお, その値は試料 kg 当たりのマロンアルデヒドの mg 数として表した。

Peroxidizability index の算出法 二重結合の数が 1, 2, 3, 4, 5, 6 個の不飽和脂肪酸に対して, 相対的反応速度定数は, それぞれ 0.025, 1, 2, 4, 6, 8 とされていることから, 不飽和脂肪酸の二重結合の数の違いによる反応性の相違を, 各脂肪酸の組成比 (%) にこの速度定数を乗じたものの合計を peroxidizability index (PI) として表した。^{9, 10)}

$$PI = (\% \text{ of monoene} \times 0.025) + (\% \text{ of diene} \times 1) + (\%$$

$$\text{of triene} \times 2) + (\% \text{ of tetraene} \times 4) + (\% \text{ of pentaene} \times 6) + (\% \text{ of hexaene} \times 8)$$

結果および考察

養殖 および 天然マダイ筋肉の脂質構成脂肪酸組成, TBA 値および peroxidizability index 養殖および天然マダイ筋肉における脂質構成脂肪酸組成, TBA 値および peroxidizability index を Table 1 に示す。養殖魚筋肉脂質の脂肪酸組成は, 18:1 ω 9, 16:0, 22:6 ω 3, 20:5 ω 3, 18:2 ω 6, 18:0 および 16:1 ω 7 などが主要な脂肪酸で, 22:6 ω 3, 20:5 ω 3 などの PUFA をかなり高濃度に含有し, 特に 22:6 ω 3 は脂質含量の低かった 8 月において顕著に高かった。しかし, 養殖魚筋肉 TBA 値は, 前報¹

Table 1. Total lipid fatty acid compositions, 2-thiobarbituric acid values and peroxidizability indices of the ordinary muscles from the cultured and wild red sea breams

Fatty acid*1	Cultured fish						Wild fish	
	1986						1987	1987
	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Apr.
14:0	3.2	5.2	5.4	6.2	5.9	5.3	6.2	1.3
15:0	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.4
16:0	22.2	22.6	20.7	21.0	20.8	21.6	20.1	22.1
16:1 ω 7	5.4	3.1	4.2	5.2	5.3	5.2	4.5	3.5
18:0	6.4	7.8	6.1	5.6	5.5	5.8	5.6	7.3
18:1 ω 9	25.0	16.7	22.4	23.9	21.0	22.5	20.7	14.8
18:2 ω 6	6.8	6.1	6.4	6.0	5.9	5.6	5.6	0.3
18:3 ω 6	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3	0.2	0.1	—
18:3 ω 3)*2 20:1 ω 9)	4.0	2.3	3.7	4.1	4.4	4.2	4.3	0.1
18:4 ω 3	1.4	0.5	0.9	1.4	1.6	1.0	1.0	1.4
20:2 ω 6	—	0.1	—	tr	tr	—	—	0.1
20:3 ω 9	—	tr	tr	tr	tr	0.4	tr	0.1
20:3 ω 6	—	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1
20:4 ω 6	2.7	3.0	2.6	2.6	2.6	2.9	2.9	5.8
20:5 ω 3	9.8	5.3	6.3	6.5	7.6	6.7	7.0	5.9
22:4 ω 6	0.7	0.7	1.0	1.1	1.5	1.2	1.1	1.6
22:5 ω 6	0.2	0.7	0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	1.6
22:5 ω 3	0.8	2.3	2.8	2.3	2.8	2.9	2.7	3.7
22:6 ω 3	11.0	22.9	16.3	13.3	14.0	13.7	17.3	29.8
SFA*3	32.0	35.8	32.5	33.0	32.5	32.9	32.1	31.1
UFA*4	68.0	64.2	67.5	67.0	67.5	67.0	67.9	68.8
MUFA*5	30.4	19.8	26.6	29.1	26.3	27.7	25.2	18.3
PUFA*6	34.2	42.6	37.2	33.8	36.8	34.1	38.3	50.5
Lipids content (%)	2.53	0.84	1.79	2.45	2.00	2.60	1.60	0.78
TBA value*7	2.31	3.49	2.97	0.47	0.45	0.28	0.23	0.10
PI*8	180.0	256.9	213.3	188.3	206.8	196.9	225.4	342.1

*1 Values of fatty acids are expressed as percent of total fatty acids and the values for cultured and wild fish are means of two and three fish, respectively. *2 The values of these both acids are added to neither MUFA nor PUFA. *3 Saturated fatty acids. *4 Unsaturated fatty acids. *5 Monounsaturated fatty acids (16:1 ω 7, 18:1 ω 9). *6 Polyunsaturated fatty acids, UFA with two or more double bonds. *7 2-Thiobarbituric acid value (mg malonaldehyde/kg tissue). *8 Peroxidizability index ((% of Σ 16:1 ω 7 + 18:1 ω 9) $\times$ 0.025 + (% of Σ 18:2 ω 6 + 20:2 ω 6) $\times$ 1 + (% of Σ 18:3 ω 6 + 20:3 ω 9 + 20:3 ω 6) $\times$ 2 + (% of Σ 18:4 ω 3 + 20:4 ω 6 + 22:4 ω 6) $\times$ 4 + (% of Σ 20:5 ω 3 + 22:5 ω 6 + 22:5 ω 3) $\times$ 6 + (% of 22:6 ω 3) $\times$ 8).

においても報告したように、7~9 月において 10 月以後の値 (0.23~0.47) に比べて高い値 (2.31~3.49) を示したが、PUFA 濃度は、8 月の場合を除き、大差はなかった。すなわち、筋肉 TBA 値と PUFA 濃度との間に関連性がないように窺われた。さらに、筋肉 TBA 値と不飽和脂肪酸の反応性 (PI) の相違との関係をみても、両者の間に有意な相関はなかった。他方、天然魚筋肉においては、22:6 ω 3 濃度が圧倒的に高く、このため、高い PUFA 濃度と PI とを示した。しかし、その TBA 値は、養殖魚筋肉の 0.03~0.43 倍にとどまり、PUFA の高濃度が脂質過酸化の進行と必ずしも結びついていなかった。

養殖および天然マダイ肝臓の脂質構成脂肪酸組成、TBA 値および peroxidizability index 養殖および天然マダイ肝臓における脂質構成脂肪酸組成、TBA 値および peroxidizability index を Table 2 に示す。養殖魚肝

臓脂質の脂肪酸組成についても、前述の筋肉脂質の場合と同様に、18:1 ω 9, 16:1 ω 7, 22:6 ω 3, 18:0, 20:5 ω 3, および 16:1 ω 7 などが主要な脂肪酸であった。22:6 ω 3 および 20:5 ω 3 などの PUFA 濃度は、11~1 月の冬季では、7~9 月の夏季に比べて明らかに上昇した。同時に、PI も PUFA 濃度の増加に伴って冬季に高くなる傾向を示した。しかし、肝臓 TBA 値は、11~1 月には 7~9 月の値に比較して明らかに低く、PUFA 濃度との間に正の相関はなかった。また天然魚肝臓も 22:6 ω 3 を高濃度に含有し、さらに高い PI を示したが、PUFA の高濃度が脂質過酸化の促進とはならなかった。

これらの結果、養殖マダイの筋肉および肝臓のいずれにおいても、組織中の PUFA 濃度の高い低いが、生体内脂質過酸化の進行を引き起こす重要な因子になっていないのではないかと判断される。筆者らは、すでに前報¹⁾で

Table 2. Total lipid fatty acid compositions, 2-thiobarbituric acid values and peroxidizability indices of the liver from the cultured and wild red sea breams

Fatty acid ^{*1}	Cultured fish						Wild fish	
	1986						1987	1987
	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Apr.
14:0	1.9	1.9	2.1	2.6	2.1	2.8	3.4	2.4
15:0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.5
16:0	23.0	24.4	24.2	22.6	20.0	19.3	21.1	21.2
16:1 ω 7	5.0	5.2	4.6	6.5	5.0	5.7	6.5	7.1
18:0	9.0	10.2	10.2	8.2	7.9	6.1	5.0	6.6
18:1 ω 9	33.1	35.1	33.5	29.7	27.6	26.5	24.5	17.5
18:2 ω 6	3.9	3.2	4.2	4.3	4.2	5.7	6.8	0.7
18:3 ω 6	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	—
18:3 ω 3) ^{*2} 20:1 ω 9)	3.7	2.3	3.1	4.1	4.1	4.6	4.4	tr
18:4 ω 3	0.4	0.9	1.2	1.4	0.7	0.7	0.8	1.6
20:2 ω 6	—	tr	—	tr	tr	—	—	0.3
20:3 ω 9	—	0.1	tr	tr	tr	0.1	tr	0.1
20:3 ω 6	—	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.1
20:4 ω 6	2.0	1.9	1.9	2.4	2.6	2.9	2.5	5.4
20:5 ω 3	4.1	3.8	4.0	5.4	7.0	7.0	7.2	7.2
22:4 ω 6	0.7	0.4	0.7	0.9	0.9	1.2	1.0	0.8
22:5 ω 6	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	0.2	0.3	0.4
22:5 ω 3	2.5	1.3	1.8	2.3	3.9	4.0	3.7	4.1
22:6 ω 3	9.9	8.5	7.6	8.5	13.1	12.6	12.1	24.0
SFA	34.0	36.6	36.6	33.6	30.2	28.4	29.8	30.7
UFA	65.9	63.4	63.3	66.3	69.8	71.6	70.2	69.2
MUFA	38.1	40.3	38.1	36.2	32.6	32.2	31.0	24.6
PUFA	24.1	20.8	22.1	26.0	33.1	34.8	34.8	44.7
Lipids content (%)	10.60	3.53	12.63	14.32	8.10	8.10	14.31	4.69
TBA value	0.74	0.68	1.28	0.58	0.34	0.22	0.24	0.47
PI	138.9	118.4	119.0	141.4	168.2	194.7	189.6	292.2

^{*1} Values of fatty acids are expressed as percent of total fatty acids and the values for the cultured and wild fish are means of two and three fish, respectively. ^{*2} The values of these both acids are added to neither MUFA nor PUFA as shown in Table 1. See Table 1 for meaning of abbreviations.

養殖マダイにおいては、特に筋肉の生体内脂質過酸化の進行を抑制する上では、餌料中の α -Toc 含量が極めて重要であると指摘しているが、その後の研究^{*2}で、養殖ブリおよびマダイでは筋肉のスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) による酵素的酸化防御機能が劣ることを示唆している。したがって、マダイ筋肉のようなラジカルスカベンジャーとしての酵素的酸化防御機能の劣る組織の生体内脂質過酸化反応については、 α -Toc やアスコルビン酸などによる非酵素的酸化防御機能が、より重要になっているのではないかと考えられる。なお、筆者らは、魚類組織の生体内脂質過酸化反応に対する酵素的酸化防御機能と非酵素的酸化防御機能との関連について、目下、詳細に検討している。

文 献

- 1) 村田 寿, 山内 清: 日水誌, **55**, 1435-1439 (1989).
- 2) L. K. Dahle, E. G. Hill, and R. T. Holman: *Arch. Biochem. Biophys.*, **98**, 253-261 (1962).
- 3) W. A. Pryor, J. P. Stanley, and E. Blair: *Lipids*, **11**, 370-379 (1976).
- 4) T. Watanabe: *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**, 3-15 (1982).
- 5) M. Kayama, M. Hirata, and T. Hisai: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, 853-857 (1986).
- 6) 上田 正: 日水誌, **42**, 479-484 (1976).
- 7) J. Folch, M. Less, and G. H. Sloane Stanley: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957).
- 8) 村田 寿, 山内 清, 後藤孝信, 那須 司: 日水誌, **53**, 1835-1840 (1987).
- 9) L. A. Witting and M. K. Horwitt: *J. Nutr.*, **82**, 19-25 (1964).
- 10) 嵯峨井 勝: 過酸化脂質と生体, 学会出版センター, 東京, 1985, pp. 148-152.

*2 境 正, 村田 寿, 山内 清: 平成元年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p. 187 (1989).