

薄層クロマトグラフィーを用いた魚介類

リン脂質クラス分析

○ 加藤伸一・竹生浩明・笠井孝正（東農大院生物産業）

キーワード：薄層クロマトグラフィー・リン脂質クラス・定量分析・魚介類

【目的】

リン脂質(PL)は、細胞の膜構成部位に特異的に存在し、たんぱく質とともに生体膜の主要な構成成分である。リン脂質は不飽和脂肪酸を多く含み、ヘム鉄や非ヘム鉄による過酸化を受けやすく、食品の過酸化の初期段階に係わっていると考えられている。この変化が魚介類の品質に影響を及ぼす為、PLクラスの分析は魚介類の貯蔵・加工を考慮する際に重要である。

これまで TLC を用いたリン脂質クラス分析には一次元多重展開 TLC 法や二次元 TLC 法が報告されている。しかし、これらの方法は操作が煩雑で正確な分析結果が得られない為、より簡便で迅速かつ正確な PL クラスの定性および定量分析法の開発が望まれていた。そこで展開溶媒の極性と操作条件を検討することで、簡易分析法の確立を試みた。

【材料および方法】

試料はカニ類 6 種、エビ類 5 種、貝類 6 種、魚類 6 種、頭足類 2 種と棘皮動物 2 種を用いた。Bligh-Dyer 法により総脂質 (TL) を抽出した。Merck 社製 TLC プレート (Silicagel60 10 × 20 cm) に幅 5 mm の横線状にマイクロシリンジで TL 200 μ g を着点した。展開溶媒はクロロホルム：メタノール：石油エーテル：アセトン：酢酸：水 (20 : 15 : 10 : 5 : 1.3 : 1) を用い、予め 3 時間飽和状態にさせた展開槽で 18 cm 展開させた。PL クラスの標準物質の R_f 値から PL クラスの定性分析を行った。また、硫酸発色 (H_2SO_4 法) とモリブデンブルー発色試薬 (MB 法) を用いて PC, PE, PI, PS クラスの検量線をそれぞれ作成して分析精度について検討した。リン脂質クラスの定量には島津 CS-9300PC デンシトメーターを用いた。

【結果および考察】

本 TLC 法では、中性脂質と糖脂質成分は R_f 値の高い先端部へ展開し、PL クラスは良く分離した。各 PL クラスの R_f 値は Sph (0.06)、PC (0.13)、LPE (0.17)、PS (0.38)、PI (0.47)、PE (0.63)、PA (0.70)、CL (0.77) を示し、デンシトメーターにより定量可能な良好なクロマトグラムが得られた。魚介類を定性分析した結果 PC、PE、PS、PI、Sph、PA、CL、LPE の 8 クラスを同定した。多くの試料で PC と PE 含量が著しく高かった。本分析法はカニ類、エビ類の甲殻類、貝類、少脂魚類および頭足類において PL クラスの分析が可能であった。 H_2SO_4 法と MB 法について標準 PC、PE、PI、PS を用いて作成した検量線はそれぞれ直線性を示したが、MB 法は操作が複雑かつ発色後の退色が早い欠点を認めた。 H_2SO_4 法は操作が簡単であると同時に発色後の退色が緩慢であるため多数の試料を同一プレートで分析できることが判明した。甲殻類の PC、PE、PI、PS の各クラスを定量した結果、 H_2SO_4 法に比較して MB 法は定量値がわずかに低い傾向が見られた。