

産卵溯上期サケ (*Oncorhynchus keta*) の体カロチノイド  
色素に関する生化学的研究—V

ヒメマス (*O. nerka*) の産卵成熟過程における  
カロチノイドの挙動

北原 直\* 齋藤 要\*

Biochemical Studies of Carotenoids in the Chum Salmon (*Oncorhynchus. keta*)  
during Up-stream Migration for Spawning—V

Behavior of Carotenoids in the Kokanee (*O. nerka*)  
with the Advancement of Maturation

Tadashi KITAHARA and Kaname SAITO

**Abstract**

In the previous papers the authors gave the results of the behavior of carotenoid pigments in the chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during up-stream spawning migration. The present investigation was carried out to compare the behavior of carotenoid pigments of the chum salmon and the kokanee with the advancement of maturation. The results obtained were summarized as follows:

1) With the advancement of maturation, quantitative changes of carotenoid pigments in muscle, skin and gonads were shown to be of the same pattern as the chum salmon and kokanee. At the immature period, Astaxanthin that was mainly accumulated in the muscle was moved from the muscle to the skin in the living body (in the male) and in the female was also moved to the gonads.

2) Muscle carotenoids consisted of Astaxanthin, Zeaxanthin and Lutein. With the advancement of maturation, total muscle carotenoids decreased, and the special decrease of the percentage of the composition of Astaxanthin in the muscle carotenoids was distinctive.

3) The component carotenoids of the gonads were the same as those of the muscles. With the advancement of maturation, the total volume of carotenoids in the gonads appeared decreased, but the absolute quantity of carotenoids increased. In the changes of the percentage of the composition of gonads pigments, Astaxanthin increased and the Lutein group carotenoids decreased.

4) Skin carotenoids contained Astaxanthin, Zeaxanthin, Lutein and Flavoxanthin. With the advancement of maturation the total volume of carotenoids especially increased. In the percentage composition of carotenoids in the skin, Astaxanthin increased distinctively and the Lutein group carotenoids decreased. But the absolute quantity of the Lutein group carotenoids increased about twice in volume.

5) Some comments on the comparison of the behavior of carotenoid pigments

北海道さけ・ますふ化場研究業績 第249号

\* 小樽商科大学化学研究室 (Otaru University of Commerce)

of kokanee and chum salmon to the advancement of maturation have been given.

著者らは、これまで産卵溯上期のサケを試料として、成熟の進行に伴う筋肉・血清・表皮・卵巣・精巣・その他の臓器におけるカロチノイドの検出とその消長について検討しその結果の一部はすでに報告した<sup>1-5)</sup>。

本報では、白サケとは生活史を異にするベニザケの陸封型のヒメマスを試料とし、産卵成熟過程におけるカロチノイドの挙動に関する両者間の異同を明らかにする事を目的として本研究を行ったので、その結果の概要を報告する。

### 試料および方法

**試料:** 1974年から1976年に北海道の支笏湖で6月から10月にかけて月別に採集した。採餌を行っている6月から8月までの試料を未熟期、9月から10月のを産卵成熟期の試料とした。

**カロチノイドの抽出および定量:** ヒメマスの表皮、筋肉、卵巣を集め、表皮は附着している皮下脂肪や筋肉を可能なかぎり取り除き、筋肉は背部の一定部位を選び、その部分の筋肉を、また卵巣は未熟期では全量を、成熟期では中央の部分を選び、それぞれ細切後、無水硫酸ソーダで脱水し、常法通りアセトンで抽出し、新たに加えたアセトン液に着色が認められなくなるまで抽出した。カロチノイド量はアセトン溶液の478 m $\mu$ における分子吸光係数を  $E_{1\%}^{1\text{cm}}=2,200^6)$  として算出した。

**カロチノイドのカラムクロマトグラフィー:** 抽出したカロチノイドを筋肉および卵巣はそのまま全油状で、表皮は常法通りケン化し、得られたケン化物をカラムクロマトグラフィーによって分画した。吸着剤は活性化したワコーゲル C-200 (mesh 100-200) を用い、展開溶媒としてベンゼン中のアセトン量を増すことによって各フラクションに分画し、さらにメタノールを、つづいて5%酢酸ベンゼンを用いて展開分離した。

カロチノイドの同定はカラム上の吸着性とその溶出性、吸収スペクトル、TLC、各種溶媒による吸収極大、分配率、エポキシおよびアリリック OH 基の検出などによって行った。各カロチノイドの組成比は、液量とその吸光度から求めた。

### 結果と考察

#### I. 成熟過程における表皮・筋肉・卵巣カロチノイドの量的変化

ヒメマスの産卵成熟過程におけるカロチノイドの体内転移を明らかにするために、6~8月にかけての採餌を行っている未熟期と採餌をしない産卵前期の9月および後期の10月の試料につき表皮、筋肉、卵巣の単位重量当りのカロチノイド量を調べた。その結果を示したのが **Table 1** である。

表皮では6月から7月にかけて若干増加し、8月に7月の約1.5倍程になり、産卵期に入ると筋肉とは逆に急激に増加し、筋肉色素が産卵期表皮の婚姻色形成の母体となっていることがわかる。

筋肉では、未熟期から産卵前期まで増加し続け、産卵後期の10月になると前期の約1/25量に急減している。

卵巣では、未熟期(8月)が最大量を示し、産卵期に入ると卵巣それ自体の重量および水分含量の著るしい増

**Table 1** Changes of the total carotenoids in the skin, muscle and gonad during spawning maturity (mg %)

tissue \ month	6	7	8	9	10
Skin	0.405	0.523(0.090)	0.705(0.375)	1.582(0.595)	2.754(1.510)
Muscle	0.420	0.568(0.634)	0.822(0.556)	0.840(0.494)	0.034(0.051)
Gonad	0.466	0.753(1.695)	1.111(0.694)	1.076(0.663)	1.012(0.616)
Gonad/Body	0.77	1.54 (2.7)	2.44 (11.8)	8.74 (20.5)	14.33 (23.6)

Data in ( ) show the total carotenoids of chum salmon

産卵期前期サケ (*Oncorhynchus keta*) の体カロチノイド色素に関する生化学的研究

加のために単位重量当りの見掛上の含量は若干減少の傾向を示した。なお、表の右側に示した ( ) 内の数値はヒメマスと白サケの成熟過程におけるカロチノイドの挙動の比較では、全体としてはほぼ同様な傾向が認められたが、個々の点では若干異なる知見が得られた。

すなわち、表皮では、カロチノイド量の変化の傾向はほぼ同様であったが、特に7月のヒメマスとそれに相当する北洋産のサケとの間に、カロチノイド量で約5倍の差が認められた。他の成熟過程の試料でも2~3倍の差が認められ、筋肉、卵巣に比して含量の差が特に大きいのが特徴であった。

筋肉では、ヒメマスは9月の産卵前期まで増加し続けるのに反し、白サケでは北洋産(7月)が最も多く、河川内成熟の進行につれて逆に減少の傾向を示した。なお産卵後期の10月に入ると両者共急激に含量が減少するのは同様であった。

卵巣では、北洋産の白サケを除いて全般的にヒメマスの方が含量が多いが、成熟の進行につれて成熟度指数(卵巣と魚体の重量比)の著るしい増加(水分の著るしい増加も認められている)によって単位重量当りの含量に(その絶対量は増えているが)、若干減少の傾向がみられるのは両者共同様であった。これらの両者のカロチノイド量の変化の差異は、湖で始めから終りまでずっとヒメマスと海から川という棲息環境を変える白サケとの棲息環境の差による保護色の環境適応現象なのであろう。

なお、両者の成熟度指数は、Table 1 に示す如くヒメマスの方が白サケよりはるかに小さい。

II. 成熟過程における表皮、筋肉、卵巣カロチノイドの質的变化

1) ベンゼン抽出液における吸光曲線の変化

8~10月にかけて採集した試料の表皮、筋肉、卵巣のベンゼン抽出液(全油状)の吸光曲線を示したのが Fig. 1 である。

表皮では、453 m $\mu$  と 480 m $\mu$  に二つの吸収がありこの二つの吸収の中、未熟期の8月の試料では 453 m $\mu$  の吸収の方が高く、産卵前期の9月では両吸収がほぼ同じくらいになり、10月の後期になると 480 m $\mu$  の吸収の方が高くなる。

筋肉では、未熟期(8月)の試料では Astaxanthin が圧倒的な成分で、典型的な Astaxanthin の吸光曲線を示していたが産卵期に入ると、485 m $\mu$  (ベンゼン溶液)に単一の吸収極大を有する Astaxanthin の吸光曲線がくずれてくる。

一方卵巣では、筋肉とは逆にカロチノイド量の増加に伴って典型的な Astaxanthin の吸光曲線を呈するようになった。

これらの吸光曲線の比較から逆に支笏湖のヒメマスについては、その成熟度をある程度判定しようと著者らは推察している。

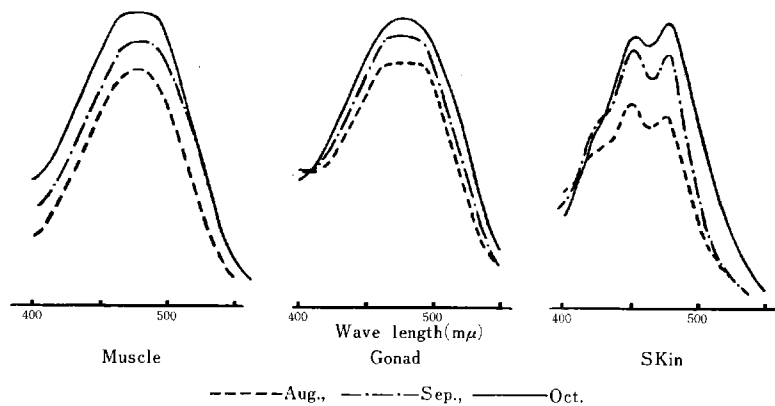


Fig. 1 Absorption spectra of crude carotenoids of muscle, gonad and skin (in Benzene)

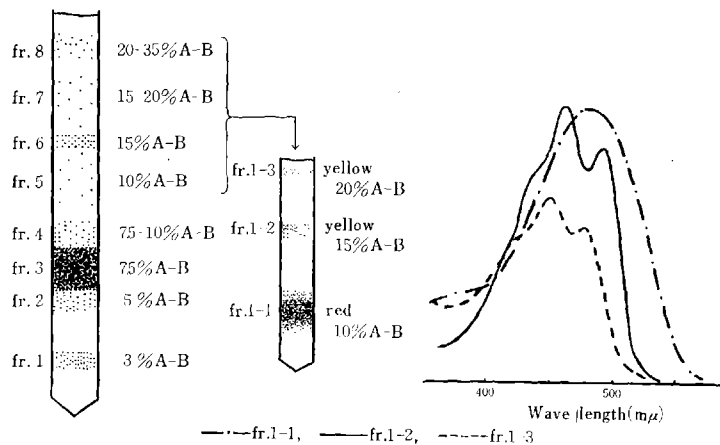


Fig. 2 Chromatographic separation and its absorption spectra (in Benzene) of the immature young fish muscle carotenoids (Aug.)

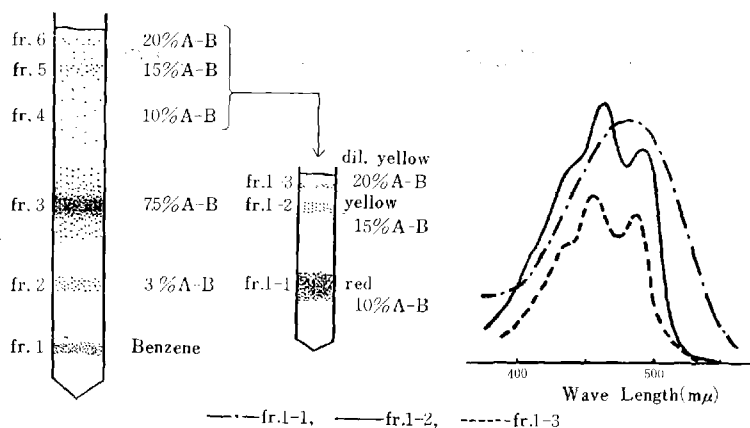


Fig. 3 Chromatographic separation and its absorption spectra (in Benzene) of the immature young fish gonad carotenoids (Aug.)

Table 2 Changes of the percentage of the composition of muscle carotenoids during spawning maturity

pigments	month	8	9	10
Astaxanthin		94.7%	93.8	84.1
Zeaxanthin		4.3	5.3	13.8
Lutein		1.0	0.9	2.1
Total carotenoids		mg%	0.822	0.840
				0.034

Table 3 Changes of the percentage of the composition of gonad carotenoids during spawning maturity

pigments	month	8	9	10
Astaxanthin		74.5%	77.5	90.1
Zeaxanthin		16.8	14.5	6.2
Lutein		1.1	0.9	trace
Y pigment		7.6	7.1	3.7
Total carotenoids		mg%	1.111	1.076
				1.012

2) 筋肉カロチノイドの挙動

成熟過程における筋肉のカロチノイドの挙動を明らかにするために、8~10月の筋肉のカロチノイドの組成比の変化を調べた。含量の最も多い9月の筋肉カロチノイドのクロマト図と各分画の吸光曲線の変化を示したのが Fig. 2 である。はじめのクロマトで8分画に、更に分離の悪かった fr. 5~8 を再クロマトで分離し、最終的には3つの分画に分離した。赤色の fr. 1-1 は Astaxanthin, 黄色の fr. 1-2, fr. 1-3 はそれぞれ Zeaxanthin

産卵溯上期サケ (*Oncorhynchus keta*) の体カロチノイド色素に関する生化学的研究

と Lutein と同定した。

筋肉カロチノイド組成比の変化を示したのが Table 2 である。カロチノイド量は、8月の0.822(mg%) が9月に0.840と少し増え産卵後期の10月には急激に減少しているが、筋肉カロチノイドの3種の割合では、Astaxanthin の相対的な減少が特徴的であり、一方成熟の進行につれて Zeaxanthin はその存在比ではむしろ増加しており、Lutein も増加の傾向を示した。

これらの Lutein 系の存在比での増加と Astaxanthin の減少が先に Fig. 1 で示した筋肉のベンゼン抽出液における吸光曲線の変化の原因なのであろう。

3) 卵巣カロチノイドの挙動

筋肉と同様、卵巣カロチノイドをクロマトで分離した。その結果を示したのが Fig. 3 と Table 3 である。各カロチノイドの存在比で、Astaxanthin と Zeaxanthin の割合は、筋肉とは逆の関係になり成熟が進行し産卵期になると Astaxanthin の存在比が74.5%から90.1%へと増加し、一方 Zeaxanthin は16.8%から6.2%へと減少した。

産卵成熟期になると、単位重量当りの卵巣のカロチノイド量は若干減少の傾向を示しているが (Table 1), この間の卵巣では脂質や水分含量が著しく減少する筋肉とは異なり、成熟度指数が未熟期 (8月) の2.44が産卵成熟前期 (9月) には8.74, 後期 (10月) には14.33と増加しており、雌ではかなりの量のカロチノイドが筋肉から卵巣に移行しているものと考えられる。また、ヒメマスも白サケ同様産卵期に入ると採餌せず、新たな体外からのカロチノイドの補給はなされていないのであるから、両組織の成熟の進行に伴うカロチノイドの存在比の変化で、筋肉では Astaxanthin が減少し、逆に卵巣では増加している点もこの考えによく合致する現象であろう。なお、ヒメマスの卵巣には以前スケトウダラ (*Theragra chalcogramma*), ニシン (*Clupea pallasii*) 等の魚

Table 4 Chromatographed fractions of immature fish skin carotenoids (Aug.)

Fr. No.	Eluants	Color	Yields (%)	$\lambda_{max}$ (in Benzene m $\mu$ )		
1-1	Benzene	yellow	2.46	(433-8)	460	487
2	B-1% A-B	yellow	0.17	(433-8)	459	486
3	1-3% A-B	yellow	0.69	(430-6)	457	485
2-1	1% A-B	yellow	3.96	(428-33)	456	484
2	1-3% A-B	yellow	0.75	408	432	459
3	3% A-B	yellow	1.14	407	430	458
3-1	3-5% A-B	orange	0.23		460-85	
2	7.5% A-B	red	16.91		484	
3	10-20% A-B	red	0.54		483	
4-1	7.5-10% A-B	red	4.59		484	
2	10-15% A-B	orange	1.21		465-85	
3	15% A-B	yellow	22.14	(433-8)	462	488
4	15-20% A-B	yellow	5.86	(430-5)	456	485
5-1	15% A-B	yellow	3.04	(414-6)	436	463
2	15-20% A-B	yellow	4.60	407	430	458
3	20% A-B	yellow	12.71	407	429	458
4	20-35% A-B	yellow	1.26	407	430	458
5	35-50% A-B	red	trace		465-85	
6-1	35% A-B	yellow	10.48		460	(485-90)
2	50% A-B	yellow	2.38	(430-6)	457	(480-6)
3	100% A	yellow	2.94	408	430	459
4	5% CH <sub>3</sub> COOH	red	2.85		485-90	

Table 5 Chromatographed fractions of matured fish skin carotenoids (Oct.)

Fr. No.	Eluants	Color	Yields (%)	$\lambda_{\max}$ (in Benzene $m\mu$ )		
1-1	Benzene	yellow	1.44	(434-9)	463	489
2	B-1% A-B	yellow	3.85	(433-8)	459	486
3	1% A-B	yellow	0.32	(428-33)	456	484
4	1-3% A-B	yellow	0.98	(406-10)	434	458
2-1	B-1% A-B	yellow	0.63	(430-5)	457	485
2	1% A-B	yellow	0.42	(404-8)	433	459
3	3% A-B	yellow	1.58	407	430	458
3-1	1-3% A-B	yellow	0.60	(430-5)	460	(483-8)
2	3% A-B	yellow		(410-5)	435	461
3	3-5% A-B	orange	0.24		(465-85)	
4	7.5% A-B	red	21.54		484	
4-1	5-7.5% A-B	red	7.93		484	
2	7.5-10% A-B	red	3.44		483	
3	15-20% A-B	yellow	1.86	(429-32)	456	484
5-1	7.5% A-B	orange	2.43		(465-85)	
2	10% A-B	yellow	13.14	(436-40)	463	491
3	15% A-B	yellow	3.09	(433-8)	460	490
4	20% A-B	yellow	3.31	(428-32)	456	487
6-1	10% A-B		1.59		436	462
2	15% A-B	yellow	2.67	(410-5)	436	463
3	20% A-B	yellow	1.41	(405-10)	433	458
7-1	15% A-B	yellow	0.98	410	437	463
2	20% A-B	yellow	15.92	407	430	458
3	35% A-B	yellow	0.97	(408-13)	435	457
4	50% A-B	yellow	0.72	(425-30)	457	487
8-1	50% A-B	yellow	0.45	(430-5)	457	(480-6)
2	75% A-B	yellow	0.91	408	431	459
3	100% A	yellow	0.48	407	430	458
4	MeOH	yellow	0.38	(405-8)	427	455
9-1	100% A	yellow	0.39	408	430	459
2	MeOH	orange	3.44		(465-85)	
3	5% CH <sub>3</sub> COOH	red	2.83		480-90	

卵で報告<sup>7)</sup>した 380~400  $m\mu$  (ベンゼン溶液) に吸収のある著者らが Y 色素と仮称している黄色色素が存在していたが、この色素に関しては後日報告する予定である。

#### 4) 表皮カロチノイドの挙動

筋肉、卵巣と同様に表皮カロチノイドをクロマトで分離した。未熟期(8月)と産卵成熟期(10月)の結果を示したのが Table 4 と 5 である。未熟期表皮カロチノイドは始めのクロマトで6つの分画に大別し、更にそれぞれの分画の再クロマトで最終的には22の分画に分離した。産卵成熟期では始め9に、最終的には32の分画に分離した。この間量的には約4倍程増加しているが、カロチノイドのクロマトによる分離ではカロチノイドの組成には変化が認められなかった。表皮カロチノイド区分の主な分画は、7.5%アセトン/ベンゼンで溶出される fr. 3-2 (fr. 3-4), 10-15% A/B で溶出される fr. 4-3 (fr. 5-2), 15-20% A/B の fr. 4-4 (fr. 5-4), 及び

産卵溯上期サケ (*Oncorhynchus keta*) の体カロチノイド色素に関する生化学的研究

20% A/B の fr. 5-3 (fr. 7-2) でそれぞれの分画の吸光曲線 (ベンゼン溶液) を示したのが Fig. 4 である。fr. 3-2 (fr. 3-4) の Astaxanthin は一応除き, 黄色の4つの分画の各種溶媒による吸収極大波長を示したのが Table 6 である。fr. 4-3 (fr. 5-2) は吸光曲線が  $\beta$ -カロチンタイプであり, 分配テスト (P. E.: 90% MeOH) では下層性, アリリック OH 基及びエポキシ基検出反応では共に陰性で, 各種溶媒による吸収極大等から Zeaxanthin と同定した。同じく fr. 4-4 (fr. 5-4) は, Luthin と同定し, fr. 5-3 (fr. 7-2) は塩酸-エーテルのエポキシ反応ではかすかな青色を呈するのみであったが, 酢酸-エーテルではあざやかな青緑色を呈し, 白サケの表皮ですでに報告したように Flavoxanthin と同定した。なお fr. 5-1 (fr. 6-1) は量も少なく未同定である。産卵成熟過程において表皮のカロチノイド含量は, 4~5 倍に増加しており, この間の表皮カロチノイド中の各カロチノイドの組成比の変化を示したのが Table 7 である。Astaxanthin の増加が特徴的であり, 一方 Luthin 系のカロチノイドは減少の傾向を示した。ヒメマスは先に報告したように白サケ同様産卵成熟期に入ると餌を食べないのであるから, 新たな体外からのカロチノイドの補給は行なわれず, 産卵期前主として筋肉に蓄積されていた Astaxanthin を中心とした体内転移がなされるものと推定され, 従って表皮カロチノイド中の Astaxanthin の存在比での増加は主として筋肉の Astaxanthin に由来するものと思われる。また, 表皮中の Lutein 系のカロチノイドでは, その存在比では

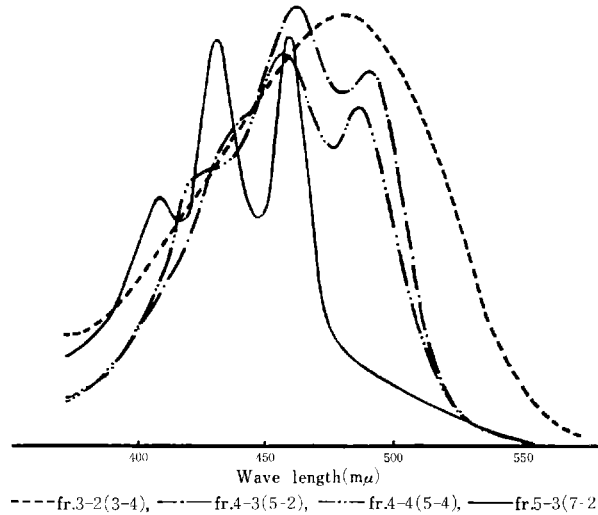


Fig. 4 Absorption spectr (in Benzene) of chromatographed main fractions of the skin carotenoids

Table 6 Absorption maxima of chromatographed yellow fractions in the skin

Solvent	Fraction	fr. 4-3 (Zeaxanthin) (fr. 5-2)			fr. 4-4 (Lutein) (fr. 5-4)			fr. 5-3 (Flavoxanthin) (fr. 7-2)			fr. 5-1 (Unknown) (fr. 6-1)		
		Benzene	(434-8)	463	489	(530-6)	456	485	407	430	458	(413-6)	436
P. E.	(423-8)	448	473	(418-23)	444	472	396	419	446	(404-7)	425	452	
n-Hexane	(424-7)	449	476	(417-20)	444	473	396	419	447	(404-8)	426	453	
Ethanol	(427-32)	451	477	(420-5)	446	475	399	423	449	(405-10)	427	453	
Chloroform	(435-40)	460	486	(431-6)	455	484	406	429	457	(413-7)	435	462	
Carbon disulfide	(453-8)	479	507	(445-50)	473	503	419	445	474	(428-33)	453	481	

Fraction number in ( ) show one of the matured fish (Oct.)

Table 7 Changes of the percentage of the composition of skin carotenoids during spawning maturity

pigments	month	8	9	10
	Zeaxanthin		35 (%)	33
Lutein		13	8	6
Flavoxanthin		23	26	28
Astaxanthin		26	31	42
Unknown		3	2	2
Total carotenoids		0.705 (mg%)	1.582	2.754

減少の傾向を示したが、絶対量では約 2 倍程増加しており、これらの表皮中の Lutein 系の色素も Astaxanthin と同様筋肉の Astaxanthin に由来するものと推定される。

ヒメマスの産卵成熟過程におけるカロチノイドの挙動は、先に報告した白サケの挙動とよく類似しており産卵期のサケ科の魚類では、他の魚種で報告<sup>8,9)</sup>されている Lutein 系→Astaxanthin 系の酸化反応ではなく、Astaxanthin 系→Lutein 系への還元反応がなされている事になり、産卵成熟期にみられるこの反応はサケ科の魚類に共通する特性なのであらうと思われる。これらの点については今後更に検討を続けようと考えている。

## 要 約

ヒメマスを試料として産卵成熟過程におけるカロチノイドの挙動を白サケと比較検討し、次の結果を得た。

1) ヒメマスと白サケの各組織におけるカロチノイド量の比較では、未熟・成熟の両期共ヒメマスの含量が白サケのより多かったが、産卵成熟過程における表皮・筋肉・卵巣の量的変化では、両者共ほぼ同様の傾向を示した。すなわち、産卵期前主として筋肉に蓄積されていた Astaxanthin を中心とした体内転移がなされ、筋肉カロチノイドが雄では表皮に、雌では卵巣にも移行した。

2) 筋肉カロチノイドの組成は、Astaxanthin, Zeaxanthin, Lutein から成り成熟に伴って量的に減少し、Astaxanthin の存在比の減少が特徴的であった。

3) 卵巣はカロチノイドの組成では筋肉と同様であったが、成熟に伴う変化では見掛上は量的に減少したがその絶対量では増加した。カロチノイド成分の変化では、Astaxanthin の存在比が増加し、Lutein 系は減少の傾向にあった。

4) 表皮カロチノイドは、Astaxanthin, Zeaxanthin, Lutein, Flavoxanthin より成り成熟に伴って量的に増加し、Astaxanthin の増加が特に認められ、Lutein 系は存在比では減少の傾向を示したがその絶対量では約 2 倍程増加していた。

5) ヒメマスの成熟に伴うカロチノイドの挙動に関する若干の考察を行った。

終りに本研究を行うに当り、実験材料のヒメマスを提供していただいた北海道サケ・マスふ化場阿部進一氏に厚く感謝いたします。また本研究遂行に当り、御助言と御教示をいただいた同ふ化場々長西野・彦氏に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 西野一彦・斎藤 要 1969. 産卵溯上期さけの血液性状について-III. 血清の特異的着色現象の研究, 北海道さけ・ますふ化場研報, 23, 9.
- 2) 西野一彦・斎藤 要・北原 直 1969. 産卵溯上期サケの体カロチノイド色素に関する生化学的研究-I. 北海道さけ・ますふ化場研報, 23, 5.
- 3) 北原 直・斎藤 要 1974. 産卵溯上期サケの体カロチノイド色素に関する生化学的研究-II. 小樽商大, 人文研究, 48, 69.
- 4) 北原 直・斎藤 要 1975. 産卵溯上期サケの体カロチノイド色素に関する生化学的研究-III. 小樽商大, 人文研究, 50, 81.
- 5) 北原 直・斎藤 要 1976. 産卵溯上期サケの体カロチノイド色素に関する生化学的研究-IV. 小樽商大, 人文研究, 52, 11.
- 6) 金光康俊・青江 弘 1958. サケ・マス類のカロチノイド色素の研究-I. 日本誌, 24, 209.
- 7) 北原 直・斎藤 要 1973. 魚類卵巣の黄色色素について. 日本水産学会, 年会講演.
- 8) Hata Masahiro and Mitsuo Hata 1972. Carotenoid pigments in goldfish-V. Conversion of Zeaxanthin to Astaxanthin, Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 38, 339.
- 9) Katayama, T. et al. 1974. The biosynthesis of Astaxanthin-XV. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40, 97.