

# ブタ回虫及びアニサキス幼虫の遊離脂肪酸について

## 1) 遊離高級脂肪酸

川 合 幸 夫

岐阜大学医学部寄生虫教室 (森下哲夫教授)

(1968年 4 月 26 日 受領)

ブタ回虫 *Ascaris lumbricoides suum* の体腔液、筋肉、生殖器に含まれている低級揮発性脂肪酸の分析は Flury (1912), Bueding (1951), Fairbairn (1955) 及び Saz (1960) などの多くの研究者によって行なわれ夫々報告されている。一方ブタ回虫の各種組織中の高級不揮発性総脂肪酸の分析が Flury (1912), 若林 (1942), Beames (1965), Greichus (1967) などによって行なわれている。しかし遊離高級脂肪酸の分析は Greichus (1967) によってブタ回虫の全虫体についてのみしらべられているに過ぎない。著者は今回の実験でブタ回虫の各種組織、即ち角皮、筋肉、体腔液、消化器、睪丸、睪丸以外の雄性生殖器、卵巣、子宮とアニサキス幼虫 I 型の全虫体の遊離高級脂肪酸について、ガスクロマトグラフィによる分析を試みたのでここに報告する。

### 材料及び実験方法

岐阜市営の屠場で屠殺直後のブタの腸管から採取した新鮮なブタ回虫を、37°C に保った生食水に入れて教室に持ち帰り、外部に附着している脂肪、線維などを除去した。その後生食水でよく洗い、回虫の表面の生食水を濾紙で十分にふきとった。

体腔液の採取の採取の仕方はピーカーの上に回虫体を吊し、尾部の角皮に切創を入れ、滴下する体腔液を集めた。一方回虫の各種組織については生食水中に各組織別にとり出し、これを生食水で数回洗滌した後に使用した。

アニサキス幼虫体は静岡県焼津市に赴き、海産物却商で塩サバを作る時にサバの腹腔に寄生しているものを採取し、生食水に入れて教室に持ち帰り、外部に附着している脂肪や線維などを除去した。被覆しているものはその中から幼虫をとって出し、生食水で数回洗って検体として使用した。

ブタ回虫の各組織は 5g を生食水中 20 ml でガラスホ

モチナイザーでホモゲナイズし、これを遊離脂肪酸の分析材料とした。体腔液は 5 ml をそのまま分析材料として用いた。

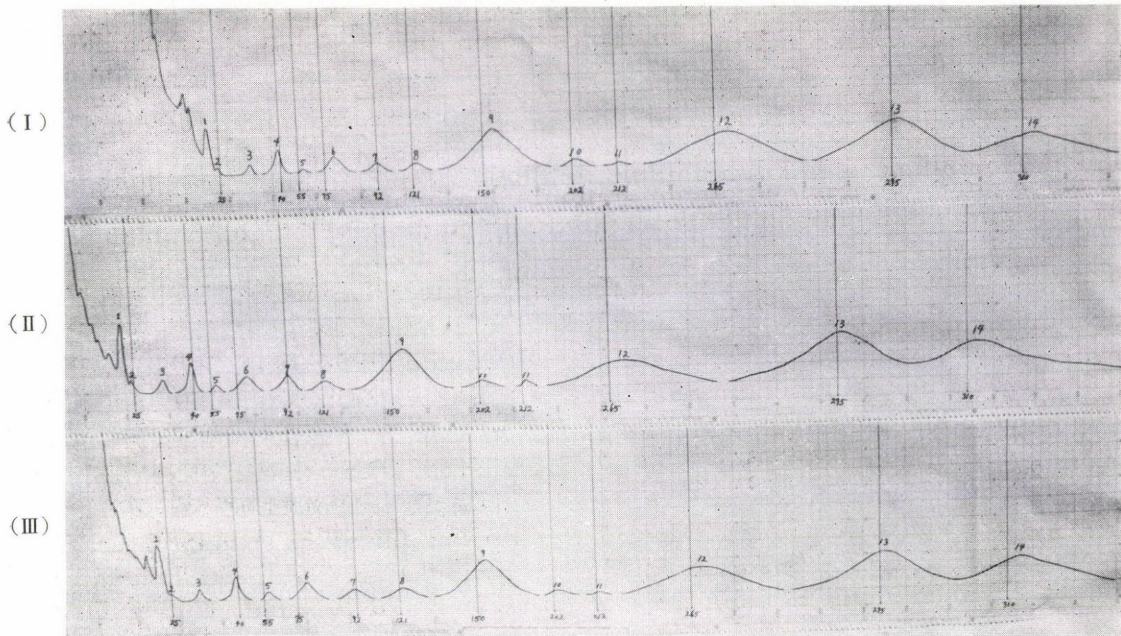
アニサキス I 型幼虫体の場合は虫体 5g を生食水 20 ml 中でブタ回虫各組織の場合と同様にガラスホモチナイザーでホモゲナイズしこれを分析材料とした。

ガスクロマトグラフィーの実施は Metacalfe (1961) の方法に準じた。即ちこれらの分析材料に 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 ml, n-heptane 10 ml, iso-propylalcohol 40 ml から成る Dole 抽出液 100 ml を加え、50回強振したのち、さらに n-heptane 11.5 ml を次に蒸留水 15 ml を加え、再び強振したのち 4500 r.p.m. 10 分間遠心沈澱を行なった。遊離脂肪酸の移行している heptane 層をとり出し、このものに三弗化硼素メタノール 6 ml を加え、4 分間 100°C で温浴を行ない、これを分液ロートに移した。このものに石油エーテル 150 ml と蒸留水 100 ml を加えて50回強振したのち、10分間静置し遊離高級脂肪酸の移行した石油エーテル層をとり出し、N<sub>2</sub> ガス気流下で 45°C に保った温水中で 0.3 ml に濃縮し、このものをガスクロマトグラフィーにかけた。ガスクロマトグラフィー装置は日立製作所製の F6 型昇温ガスクロマトグラフィーを使用した。カラムは Golay カラムの B. D. S.-45 (Butanediol succinate) を使用した。検出器は水素炎イオン化検出器によった。F.I.D. 温度は 300°C で注入口温度は 270°C である。O.V.N. 温度は 150°C で感度は 1/1 で使用した。キャリアーガスは N<sub>2</sub> ガスを使用した。圧力は 0.5 kg/cm<sup>2</sup> である。空気圧は 1.2 kg/cm<sup>2</sup> で、水素圧は 0.6 kg/cm<sup>2</sup> にした。チャートスピードは 40 mm/min であった。

### 実験成績

ブタ回虫の角皮、筋肉、体腔液、消化器、睪丸、睪丸

本研究は文部省総合研究費に負う所大である。



第1図 体腔液(I), 角皮(II)及びアニサキス幼虫体(III)のガスクロマトグラフィー peak 1-14 の炭素数

1: 10:2, 2: 未知, 3: 未知, 4: 12:0, 5: 未知, 6: 14:0, 7: 14:1, 8: 未知, 9: 16:0, 10: 16:1, 11: 未知, 12: 18:0, 13: 18:1, 14: 18:2.

第1表 ブタ回虫各組織及びアニサキス幼虫体の遊離高級脂肪酸の割合(%)

検体 炭素数	角皮	筋肉	卵巣	子宮	睾丸	雄丸 以外 の生殖器	消化器	体腔液	幼アニサキス虫
10:0	5.0	4.0	2.8	2.5	3.2	1.8	4.3	3.1	4.5
un.	0.4	0.3	0.6	0.3	0.5	0.2	0.4	0.3	0.3
un.	0.4	0.4	0.4	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4
12:0	2.3	2.7	2.0	1.4	1.8	1.4	1.8	2.0	1.8
un.	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1	0.3	0.2	0.4
14:0	2.0	1.8	2.8	1.6	1.9	2.5	2.6	2.4	2.4
14:1	1.2	1.4	0.9	1.0	1.6	1.0	0.8	0.6	0.8
un.	2.0	2.1	1.2	1.7	1.8	2.1	1.8	1.6	2.0
16:0	19.0	20.5	20.9	28.0	17.4	22.6	22.1	20.2	19.3
16:1	0.8	1.2	1.8	2.0	1.8	0.1	1.2	2.1	1.1
un.	0.7	0.4	0.4	0.2	0.2	0.1	0.5	0.2	0.2
18:0	17.4	18.3	18.8	15.0	17.6	20.2	15.4	22.1	19.9
18:1	30.5	29.6	31.4	27.8	30.6	30.9	29.9	29.5	28.9
18:2	18.0	17.0	15.9	18.1	21.1	16.8	18.6	15.4	18.0

un.=未知

以外の雄性生殖器, 卵巣, 子宮, とアニサキス幼虫体の遊離高級脂肪酸のガスクロマトグラフィーの成績は第一表及び第一図に示した. その結果相対保持容量から判断

第2表 ブタ回虫各組織及びアニサキス幼虫体の遊離高級脂肪酸と不飽和脂肪酸の割合(%)

検体 脂肪酸	角皮	筋肉	卵巣	子宮	睾丸	雄丸 以外 の生殖器	消化器	体腔液	幼アニサキス虫
遊離飽和脂肪酸	45.7	46.3	47.3	48.5	41.9	48.5	46.2	49.8	47.9
遊離不飽和脂肪酸	54.3	53.7	52.7	51.5	58.1	51.5	53.8	50.2	52.1

して炭素数の 10:0, 12:0, 14:0, 14:1, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2 の9種類が同定出来た. 即ち第二表に示す様に, C<sub>10</sub>については10:0と2つの未知の計3つのピークが検出出来た. 10:0については角皮では5.0%, 筋肉では4.0%, 卵巣では2.8%, 子宮では2.5%, 睾丸では3.2%, 睾丸以外の雄性生殖器では1.8%, 消化器では4.3%, 体腔液では3.1%, アニサキス幼虫全虫体では4.5%を占めている. C<sub>12</sub>については12:0と1つの未知の計2つのピークが検出された. 12:0に

ついで角皮では 2.3%, 筋肉では 2.7%, 卵巣では 2.0%, 子宮では 1.4%, 睪丸では 1.8%, 睪丸以外の雄性生殖器では 1.4%, 消化器では 1.8%, 体腔液では 2.0%, アニサキス幼虫全虫体では 1.8% を占めた。

C<sub>14</sub> については 14:0, 14:1 と 1 つの未知と計 3 つのピークが検出された。14:0, 14:1 は角皮では 2.0%, 1.2% で, 筋肉で 1.8%, 1.4% であった。卵巣では 2.8%, 0.9% で, 子宮では 1.6%, 1.0% であった。睪丸では 1.9%, 1.6% で睪丸以外の雄性生殖器では 2.5%, 1.0% であった。消化器では 2.6%, 0.8% で体腔液では 2.4%, 0.6% であった。アニサキス幼虫全虫体では 2.4%, 0.8% を占めた。

C<sub>16</sub> については 16:0, 16:1 と 1 つの未知の計 3 つのピークが検出された。16:0, 16:1 は角皮で 19.0%, 0.8% で筋肉では 20.5%, 1.2% であった。卵巣では 20.9%, 1.2% で子宮では 28.0%, 2.0% であった。睪丸では 17.4%, 1.8% で睪丸以外の雄性生殖器では 22.6%, 0.1% であった。消化器では 22.1%, 1.2% で体腔液では 20.2%, 2.1% であった。アニサキス幼虫全虫体では 19.3%, 1.1% を占めた。

C<sub>18</sub> については, 18:0, 18:1 及び 18:2 の計 3 つのピークが検出された。18:0, 18:1 及び 18:2 は角皮では 17.4%, 30.5% と 18.0% で筋肉では 18.3%, 29.6% と 17.0% であった。卵巣では 18.8%, 31.4% と 15.9% で子宮では 15.0%, 27.8% と 18.1% であった。睪丸では 17.6%, 30.6% と 21.1% で睪丸以外の雄性生殖器では 20.2%, 30.9% と 16.8% であった。消化器では 15.4%, 29.9% と 18.6% で体腔液では 22.1%, 29.5% と 15.4% であった。アニサキス幼虫全虫体では 19.9%, 28.9% と 18.0% を占めた。

ブタ回虫の各組織及びアニサキス幼虫全虫体の遊離飽和脂肪酸と遊離不飽和脂肪酸とを比較すると第二表の様に後者は角皮では 54.3%, 筋肉で 53.7%, 卵巣で 52.7%, 子宮で 51.5%, 睪丸で 58.1%, 睪丸以外の雄性生殖器で 51.5% 消化器で 53.8% 体腔液で 50.2% である。アニサキス幼虫体では 52.1% となりすべての場合に不飽和の方が飽和より多かった(第 2 表)

## 考 按

Flury (1912) はブタ回虫 *Ascaris lumbricoides suum* の総脂肪酸は, 飽和脂肪酸が 47.5% で不飽和脂肪酸が 52.5% であるといい, それらの中に palmitic acid (16:0), stearic acid (18:0), oleic acid (18:1) を検出した。

若林 (1949) は同じくブタ回虫体について, 須藤, 隈川法により palmitic acid, stearic acid 及び oleic acid を検出し総脂肪酸の 22.2% が遊離脂肪酸であると報告した。Beames (1965) は初めてガスクロマトグラフィーによりブタ回虫の角皮, 筋肉, 生殖器についてしらべた。その結果 C<sub>12-20</sub> で 12:0; 13:0; と未知; 14:0; 14:1 と未知; 15:0 (branched), 15:0; 16:0, 16:1; 17:0, 17:1 と未知; 18:0, 18:1, 18:2+3; 20:0 と 4 つの未知の 19 種類の脂肪酸を検出した。しかしアラキドン酸 (20:4) は同定出来なかったという Greichus (1967) は薄層クロマトグラフィー, ガスクロマトグラフィー及び質量分析計を駆使して, 雄のブタ回虫体の総脂肪酸として, C<sub>14-20</sub> で 14:0, 14:1, 15:0, 16:0, 16:1, 17:0, 17:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:2, 20:4 の 14 種類の脂肪酸を検出した。遊離脂肪酸としては 14:0, 14:1, 15:0, 16:0, 16:1, 17:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:2, 20:4 の 13 種類が見出され, 更にブタ回虫を starved にした時と unstarved の時とに区別して測定し, 16:1 だけが unstarved の時に多く認められる。その他のものは何れの場合にも大体同じであると報告している。これらと比較し乍ら著者の成績を眺めると, 各炭素数の遊離脂肪酸の割合は Greichus (1967) のものと大体一致している。

著者の実験では C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, は検出されたが C<sub>15</sub>, C<sub>17</sub> は検出出来なかった。C<sub>18:3</sub>, と C<sub>20</sub> については Golay カラムの許容温度が著者の実験では 160°C と低かったので検出不可能であったと考えられる。炭素数 10 以下の遊離脂肪酸と思われるものが時々認められたが, これは抽出及びメチル化の過程で揮発しないで一部分が残ったものと考えている。なお揮発性遊離脂肪酸については第 2 報で報告する予定である。

著者の実験の成績では飽和と不飽和の脂肪酸の量を比較すると, 第 2 表に示される様にブタ回虫の各組織を通じて不飽和脂肪酸が多く, このことはアニサキス幼虫体でも同様である。一方 C<sub>10-18</sub> の遊離高級脂肪酸の 8 割以上が C<sub>16</sub> と C<sub>18</sub> で占められていることは第 4 表に示すとおりである。このことはアニサキス幼虫体でも同様であった。

## 結 語

1) ブタ回虫の各組織とアニサキス幼虫体の遊離高級脂肪酸のガスクロマトグラフィーを試みた。遊離高級脂肪酸の抽出は Dole 法により, メチル化は三弗化硼素メ

第3表 プタ回虫各組織の遊離高級脂肪酸の割合 (%)

検体 炭素数	筋肉		角皮		生殖器官				Greichus (1967)		
	B, 著者	B, 著者	B	B	卵巣	子宮	睾丸	睾丸以上の 雄性生殖器	総脂質	unstarved	starved
10:0	4.0	5.0			2.8	2.5	3.2	1.8			
un.	0.3	0.4			0.6	0.3	0.5	0.2			
un.	0.4	0.4			0.4	0.2	0.3	0.2			
12:0	0.1	2.7	tr.	2.3	0.1	2.0	1.4	1.8	1.4		
un.	0.3	0.3			0.1	0.1	0.2	0.2	0.1		
13:0	0.1	—	tr.	—	tr.	—	—	—	—		
14:0	0.9	1.8	1.6	2.0	0.9	2.8	1.6	1.9	2.5	1.2	2.0
14:1	tr.	1.4	tr.	1.2	0.1	0.9	1.0	1.6	1.0	0.7	0.8
un.	2.1	2.0			1.2	1.7	1.8	2.1			1.1
br.15:0	2.4	—	1.6	—	1.4	—	—	—	—		
15:0	0.4	—	0.4	—	0.3	—	—	—	—	1.3	1.3
16:0	12.8	20.5	14.7	19.0	13.6	20.9	28.8	17.4	22.6	13.4	23.0
16:1	0.6	1.2	0.7	0.8	0.7	1.8	2.0	1.8	0.1	0.7	2.2
un.	0.4	0.7			0.4	0.2	0.2	0.1	0.1		0.6
17:0	0.7	—	0.7	—	0.8	—	—	—	—	tr.	—
17:1	0.5	—	tr.	—	0.4	—	—	—	—	3.0	1.7
un.	tr.	—	—	—	—	—	—	—	—		2.3
18:0	10.8	18.3	10.4	17.4	8.2	18.8	15.0	17.6	20.2	16.3	16.2
18:1	27.3	29.9	28.4	30.5	27.1	31.4	27.8	30.6	30.9	27.2	25.4
18:2	—	17.0	—	18.0	—	15.9	18.1	21.1	16.8	17.3	15.8
18:3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.0	2.1
18=2+3	33.7	—	34.9	—	35.5	—	—	—	—	—	1.7
20:1	tr.	—	—	—	0.6	—	—	—	—	1.8	1.4
20:2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.5	3.5
20:4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8.4	4.6
un.	6.4	—	6.4	—	6.5	—	—	—	—	—	7.8
un.	1.1	—	—	—	1.1	—	—	—	—	—	—
un.	3.2	—	—	—	3.2	—	—	—	—	—	—
un.	tr.	—	—	—	tr.	—	—	—	—	—	—

un.=未知    br.=branched,    tr.=trace.    B=Beames, (1965)

第4表 プタ回虫各組織及びアニサキス幼虫体の炭素数別遊離高級脂肪酸の割合 (%)

検体 炭素数	角皮	筋肉	卵巣	子宮	睾丸	睾丸性 以外 生殖器	消化器	体腔液	アニサキス虫
C <sub>10</sub>	5.8	4.7	3.8	3.0	4.0	2.2	5.0	3.7	5.2
C <sub>12</sub>	2.6	3.0	2.1	1.6	2.0	1.5	2.1	2.2	2.2
C <sub>14</sub>	5.2	5.3	4.9	4.3	5.3	5.6	5.2	4.6	5.2
C <sub>16</sub>	20.5	22.1	23.1	30.2	19.4	22.8	23.8	22.5	20.6
C <sub>18</sub>	65.9	14.9	66.1	60.9	69.3	67.9	63.9	67.0	66.8

タノール法によった。

2) プタ回虫の角皮, 筋肉, 卵巣, 子宮, 睾丸, 睾丸以外の雄性生殖器, 消化器, 体腔液及びアニサキス幼虫体を通じて遊離高級脂肪酸の検出された種類は一定していた。即ち C<sub>10</sub> では 10:0 と 2つの未知, C<sub>12</sub> では 12:0 と 1つの未知, C<sub>14</sub> では 14:0, 14:1 と 1つの未知, C<sub>16</sub> では 16:0, 16:1 と 1つの未知, C<sub>18</sub> では 18:

0, 18:2 の計 14 種類である。プタ回虫の各種組織とアニサキス幼虫体で, 量的にその大部分を占めるものは C<sub>16</sub> と C<sub>18</sub> であった。そして不飽和高级脂肪酸の方がすべての場合に飽和高级脂肪酸より多かった。

文 献

- 1) Beames, C. G. (1965): Neutral lipids of *Ascaris lumbricoides* with special reference to the esterified fatty acids. *Exp. Parasit.* 16, 291-299.
- 2) Bueding, E. and Yale, H. W. (1951): Production of  $\alpha$ -methylbutyric acid by bacteria free *Ascaris lumbricoides*. *J.B.C.*, 193, 411-423.
- 3) Dole, V. P. (1956): A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. *J. clin. Invest.*, 35, 150.
- 4) Fairbairn, D. (1955): Lipids of the female reproductive organs in *Ascaris lumbricoides*. *Canadian J. Biochem., and Physiol.*, 33, 31-37.
- 5) Flury, F. (1912): *Zur Chemie und Toxikologie*

- der Ascariden. Arch. f. Exp. Parasit. & Pharma., 67, 275-392.
- 6) Gray, G. M. (1960): The separation of the long chain fatty aldehydes by gas liquid chromatography. J. Chromatogr., 4, 52.
- 7) Greichus, A. and Greichus, Y. A. (1967): Body fatt composition of male *Ascaris lumbricoides* before and after starvation. Exp. Parasit., 21, 47-52.
- 8) James, A. T. and Martin, A. J. P. (1952): Gas-liquid chromatography. Biochem. J., 50, 679-690.
- 9) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A. (1961): The rapid preparation of fatty acids esters for gas-chromatographic analysis. Analytical Chemist., 3, 363.
- 10) Saz, H. J. and Weil, A. (1960): The mechanism of the formation of  $\alpha$ -methylbutylate from cabonhydrate by *Ascaris lumbricoides* muscle. J. B. C., 235, 914-918.
- 11) 若林一夫(1942): 回虫及び其の飼育液に於ける総脂質と回虫毒としての其に関する一考察. 慶応医学, 22, 489-503.

### Abstract

#### FREE FATTY ACIDS OF *ASCARIS LUMBRICOIDES SUUM* AND *ANISAKIS* SP. LARVAE

YUKIO KAWAI

(Department of Parasitology, School of Medicine, Gifu university,  
Gifu, Japan)

1) The long-chain free fatty acids in various organs of *Ascaris lumbricoides suum* and *Anisakis* larvae were analysed by gas-chromatography. The reagent of methylation was  $\text{BF}_3$ -methanol.

2) Fourteen free fatty acids were found, ranging from  $\text{C}_{10}$  to  $\text{C}_{18}$  acids, in cuticle, muscle, ovary, uterus, testis, the other male reproductive organ, digestive organ and hemolymph of *Ascaris suum* and *Anisakis* larvae; 10 : 0, unknown in  $\text{C}_{10}$ ; 12 : 0, unknown in  $\text{C}_{12}$ ; 14 : 0, 14 : 1, unknown in  $\text{C}_{14}$ ; 16 : 0, 16 : 1, unknown in  $\text{C}_{16}$ ; 18 : 0, 18 : 1, 18 : 2 in  $\text{C}_{18}$ . The  $\text{C}_{16}$  and  $\text{C}_{18}$  free fatty acids were 87.4-96.4% in all  $\text{C}_{10}$ - $\text{C}_{18}$  acids. 50.2-58.1% of the long-chain free fatty acids were unsaturated.