[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol. 56, No. 8, pp. 631~639, 1982]

ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー による植物油トリアシルグリセロール中の *cis*-パクセン酸の定量

芝原 章, 中西まゆみ, 梶本五郎
(神戸学院大学栄養学部)

昭和 57 年 3 月 8 日 受 理

Determination of *cis*-Vaccenic Acid Content in Triacylglycerols of Various Vegetable Oils by Gas Chromatography- Mass Spectrometry

Akira SHIBAHARA, Mayumi NAKANISHI and Gorô KAJIMOTO
Faculty of Nutrition, Kobe-Gakuin University,
Nishi-ku, Kobe 673

The content of *cis*-vaccenic acid (18:1(11)) in triacylglycerols of various vegetable oils was determined by a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) computer system. Two calibration curves were obtained from results of mass chromatography of several standard mixtures composed of known amounts of oleic acid and 18:1(11) pyrrolidides. Variations were minimized in analytical values from sample size by use of value (V) from the following formula: $V = (\text{peak area of } m/z \text{ 210} / \text{peak area of } m/z \text{ 208}) / \text{value of maximum intensity of } m/z \text{ 113 in the elution peak of octadecenoic acid pyrrolidides}$ (Formula I) or $V = (\text{peak area of } m/z \text{ 210} / \text{peak area of } m/z \text{ 208}) / \text{value of the sum of three higher intensities of } m/z \text{ 113 in the elution peak of octadecenoic acid pyrrolidides}$ (Formula II). The value V was proportional to 18:1(11) content in standard mixtures. Triacylglycerols separated on thin-layer plate were directly converted into fatty acid pyrrolidides by aminolysis of lipids together with thin-layer adsorbent, and the resulting products were injected without further treatment into GC-MS using SP-2340 liquid phase. The content of 18:1(11) was in the region of 1~8% of octadecenoic acids and 0.5~2% of total fatty acids in triacylglycerols of safflower, cottonseed, soybean, corn, sesame, rice-bran and olive oil. A correlation was not observed in these oils between the contents of 18:1(11) and octadecenoic acids in triacylglycerols.

(Received March 8, 1982)

緒 言

オクタデセン酸 (18:1) の二重結合位置異性体, とくに *cis*-パクセン酸 (18:1(11))* についてはその生理的機能の面から多くの関心が寄せられ⁽¹⁾, 現在までに多数の報告が見られるが, 対象はいずれも含量の高い動物や微生物に限られている. 植物では現在まで *Avicennia marina*⁽²⁾ (ヒルギダマシ), *Myosotis scorpioides*⁽³⁾ (ワスレナグサ) などの葉, *Asclepias syriaca*⁽⁴⁾ (オオ

トウワタ) などの特殊な種子⁽⁵⁻⁸⁾ に発見されているが, 一般の食用油に存在するという報告⁽⁹⁻¹²⁾ は数少ない. これは一部の例外⁽⁴⁻⁷⁾ を除いて, 18:1(11) の含量が低く, 定量操作が困難でかつ煩雑であるためと思われる. 18:1(11) の一般的な定量法^(13,14) としては, 基本的には 18:1 を各種のクロマトグラフィーで単離後, ①二重結合を開裂して生じたフラグメントをガスクロマトグラフィー (GC) などで定量するか, または②二重結合を修飾してガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) などで定量する方法が発表されている. ①の場合,

* 脂肪酸, 炭素数: 二重結合数 (二重結合位置)

脂肪酸の混合物のままでは無理で、18:1の単離が必要となり、②の場合は、二重結合の定量的な修飾がキーポイントとなるようである。こういった煩雑さを避け、定量操作法の簡易迅速化および微量化を図るため、本実験は単一の脂質クラスとしてトリアシルグリセロール(TG)を選び、これから直接脂肪酸ピロリダイド(FA-Pyr)を調製し、そのままGC-MSへ導入して、マスクロマトグラフィー(MC)で18:1(11)を定量しようと試みたものである。

実験方法

1. 試料 試料植物油としては、サフラワー油、綿実油、大豆油、トウモロコシ油、ゴマ油、米ヌカ油、オリーブ油(以上すべて試薬として販売されている市販品)を用いた。脂肪酸の標品としては18:1(11)(P.L. Biochemical社)、オレイン酸(18:1(9))およびパルミチン酸(16:0)(半井化学)を使用した。

2. 薄層クロマトグラフィー(TLC) Wakogel B-5のプレート(厚さ0.5mm, 20×10cm)で、展開溶媒はTGの単離には、*n*-ヘキサン-エチルエーテル-酢酸(80:20:1, 容量比, 以下略す)、脂肪酸メチルエステル(FA-ME)の精製には、同(90:10:1)、FA-Pyrの精製には、同(50:50:1)を用いた。検出はいずれもヨウ素蒸気を利用した。

3. *cis*-結合の確認 標品18:1(9)と18:1(11)はBF₃-メタノールでメチルエステルとし、IR⁽¹⁵⁾と15%硝酸銀TLC⁽¹⁶⁾で、すべて*cis*-結合であることを確認した。またTLCで単離した各植物油のTGは、0.5%(w/v)ナトリウムメチラートをを用いるメタノリスでFA-MEに変換し、同操作^(15,16)を行って、*trans*-脂肪酸が存在しないことを確認した。

4. 脂肪酸ピロリダイドの調製 TLCプレート上で検出されたTG画分をかき取り、シリカゲルに吸着されたTGを抽出回収せずにそのまま次に示すAnderssonらの方法⁽¹⁹⁾に準じた一部改変法でFA-Pyrに変換した。TG約2mgを吸着したシリカゲルを共栓付フラスコに取り、ピロリジン2.0ml、酢酸0.2mlを加え、100°C、30分間グリセリンバス中で還流加熱した。室温まで放冷後、エチルエーテルで抽出を行い、抽出液を分液ロートへ移して、2*N*塩酸で酸性(コンゴレッドの青変)にした。次いで中性になるまで水洗し、脱水後エチルエーテルを減圧で留去し、残部を*n*-ヘキサンで溶解して

GC-MS用試料とした。

5. GC 機種、島津GC-7A型; 検出器、FID(温度270°C); キャリヤーガス、He; 注入部温度、270°C; チャートスピード、10mm/minとした。FA-Pyr分析用カラムは3mm×1mのガラス製で充てん剤は5%SP-2340/Neopak 2A, 60~80メッシュを用い、カラム温度、240°C; He流量、30ml/minで行った。FA-MEの分析には上記カラムと、同充てん剤をつめた2mカラムを用い、両カラムとも、カラム温度、180°C; He流量、50ml/minと変更した。定量は半値幅法によった。

6. 検量線用標品の作製 標品18:1(9)と18:1(11)および内部標準として用いる16:0は、BF₃-メタノールでそれぞれメチルエステル化後、TGの場合と同様の操作で各FA-Pyrに変換した。続いて未反応物を除去するためTLCに供し、精製されたFA-Pyrをエチルエーテルで抽出回収して、*n*-ヘキサンに転溶後、メスフラスコで一定量とした。このようにして作製した18:1(9)-Pyrおよび18:1(11)-Pyr溶液の濃度を決定するためそれぞれ単位量を取って、内部標準として一定量の16:0-Pyrを加えGCに供した。内部標準に対するそれぞれのピーク面積から、18:1(9)-Pyrと18:1(11)-Pyrの濃度比を求め、両者を混合して、18:1(11)-Pyrのモル百分率がそれぞれ、1.0, 2.9, 4.7, 7.4, 9.0%となるように検量線用標品を調製した。18:1(9)および18:1(11)の純度は製造会社の保証によれば99%であるが、再確認のためDowningらの方法⁽¹⁸⁾で検討したところ、18:1の各種二重結合位置異性体が微量含まれることが判明した。しかし純度100%の標品は入手しにくく、一応、本標品を純度100%として以下の実験を進めた。

7. GC-MS 機種、日立M-60型; カラム、2.6mm×1m, ガラス製; 充てん剤、5%SP-2340/Neopak 2A, 60~80メッシュ; キャリヤーガス、He, 40ml/min; カラム温度、240°C; 注入部温度、270°C; セパレータ温度、270°C; イオン化電圧、70eV; イオン化電流、100μA; イオン加速電圧、3.0kV; イオン源温度、180°Cの運転条件を用いた。スキャンレンジは0~350*m/z*で、5.8秒間隔のリサイクリックスキャンとし、データ処理は002Bミニコンピュータ、X-Yプロッター、タイビュータによった。

結果と考察

1. 脂肪酸ピロリダイドと GC

Fig. 1 に示す TLC は、大豆油 TG より調製、精製した FA-ME を Andersson らの常法⁽¹⁷⁾にしたがって FA-Pyr としたものと、Andersson らの直接アミノリシス法⁽¹⁹⁾に準じた一部改変法を TLC シリカゲルに吸着された TG に適用した反応生成物を比較したものである。FA-ME からの変換では一部未反応の FA-ME が残存し、その炭素鎖長によっては GC 上で FA-Pyr のピークと重なるので、TLC による精製が必要となる場合が生じる。TG より直接 FA-Pyr に変換したものでは、未反応の TG と、ジアシルおよびモノアシルグリセロールが生成するが、これらは今回の GC 条件では溶出せず定量を妨害することはない。FA-Pyr への変換率は両法ともに約 85% であった。

本実験では単一の脂質クラスとして TG を選んだが、リン脂質、糖脂質などのエステル型複合脂質への適用も可能で、とくに TLC シリカゲルより定量的回収が難しいといわれる、ホスファチジルイノシトールも、シリカゲル吸着のまま FA-Pyr に高収率で変換される。各誘導体調製法による大豆油 TG の脂肪酸組成を Table I に示す。メタノリシス法による FA-ME の組成、常法⁽¹⁷⁾により調製した FA-Pyr の組成、および今回の一部改変法による FA-Pyr の組成はほとんど同一であった。ただジエン酸とトリエン酸に若干の相違がみられるが、16:0 に対する 18:1 の比はほぼ一定である。したがって 18:1 (11) 定量の際、脂質構成全脂肪酸中の 18:1(11) の割合を知るには、全脂肪酸組成を求めなければならないが、この場合、供試試料によってはその FA-Pyr 組成をもって、従来より用いられる FA-ME の組成と代替可能である。

Fig. 1. Thin-Layer Chromatogram of Fatty Acid Pyrrolidide and Other Lipid Classes. Plate, Wakogel B-5; solvent system, *n*-hexane-diethyl ether-acetic acid (80:20:1, v/v/v); detection, I_2 vapor. FA-ME, fatty acid methyl ester; TG, triacylglycerol; FFA, free fatty acid; DG, diacylglycerol; MG, monoacylglycerol; FA-Pyr, fatty acid pyrrolidide; Fr, front; Or, origin; 1, standard mixture; 2, FA-Pyr prepared from FA-ME by standard aminolysis⁽¹⁷⁾; 3, FA-Pyr prepared from TG by direct aminolysis together with TLC adsorbent.

Fig. 2 に FA-ME と FA-Pyr の GC を示す。大豆油の主要脂肪酸では、GC の最終ピークがオクタデカトリエン酸 (18:3) となるが、18:3-ME の溶出時間 (t_R) は 2m カラムで 5.8 分、1m カラムでは 2.9 分、18:3-Pyr でおよそ 7.5 分であった。Andersson らが FA-Pyr 分析に使用した 10% Silar 10 C (8 ft, 240°C) のカラムでは、ステアリン酸 (18:0)、18:1、オクタデカジエン酸 (18:2)-Pyr の相対溶出時間は 1.0, 1.2, 1.5 となり、18:1-Pyr の t_R は 24 分であった⁽¹⁹⁾。今回使用した SP-

Table I. Quantification of Major Fatty Acids in Triacylglycerols from Soybean Oil Using Methyl Esters and Pyrrolidides

Derivatives	Fatty acids (mole%)					Molar ratio	
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	16:0	18:1
Methyl esters ^a by methanolysis (CH_3ONa)	10.7	3.6	24.0	54.4	7.3	1	2.24
Pyrrolidides by standard aminolysis ⁽¹⁷⁾	10.9	4.1	24.6	53.5	6.9	1	2.26
Pyrrolidides by direct aminolysis together with TLC adsorbent	10.9	4.1	24.7	53.4	6.9	1	2.27

^a Analyzed on a 2 m SP-2340 column as shown in Fig. 2 (A).

Fig. 2. Gas Chromatograms of Fatty Acid Methyl Esters (A, B) and Pyrrolidides (C) from Triacylglycerol of Soybean Oil. Following operating conditions were used. Instrument, Shimadzu GC-7A with dual flame ionization detector; detector and injector temp., 270°C; chart speed, 10 mm/min; carrier gas and its flow rate, He, 50 ml/min (A, B) and 30 ml/min (C); column, 3 mm×2 m (A) and 3 mm×1 m (B, C) glass columns packed with 5% SP-2340 on 60~80 mesh Neopak 2 A; column temp., 180°C (A, B) and 240°C (C). 1, 16:0; 2, 18:0; 3, 18:1; 4, 18:2; 5, 18:3.

2340(1 m) のカラムでは, その相対溶出時間が, 1.00, 1.16, 1.44 で, 18:1-Pyr の t_R は 4.75 分となり, 上記カラムとほぼ同一の性能を持ちながら分析時間の大幅な短縮が可能であった. ただ FA-Pyr の各ピークに若干のテーリングがみられとくに 18:0-Pyr と 18:1-Pyr がベースライン上で分離していない.

これらの点を改良すべく, 液相, 液相濃度, 担体, カラム径・長および GC 運転条件を各種検討したが, 現在のところ Fig. 2 の (C) に示した分析条件が最良であろうと思われる. また厳密な脂肪酸組成を必要とするならば, TLC で分画した TG の一部をナトリウムメチラートで, あるいは FA-Pyr に変換後であればその一部を 5% 塩酸-メタノールでメタノリシスして, FA-ME を調製し, Fig. 2 の (A) または (B) に示した条件で GC 分析すればよい. なお Fig. 2 の (B) に示した FA-ME 分析における 1 m カラムの性能は, 18:0-ME と 18:1-ME のピーク分離効率⁽²⁰⁾ で 72.0%, 16:0-ME ピークより計算した理論段数は 562 であった.

2. オレイン酸ピロリダイド, *cis*-バクセン酸ピロリダイドのマススペクトルとマスクロマトグラフィー

18:1(9)-Pyr と 18:1(11)-Pyr のマススペクトルは, ほとんど同一のフラグメンテーションを示し, McLaf-

Fig. 3. Mass Spectra of Pyrrolidides of Oleic Acid (18:1(9)) and *cis*-Vaccenic Acid (18:1(11)). Operating conditions were the same as in Fig. 4.

Fig. 4. Mass Chromatogram of Fatty Acid Pyrrolidides from Triacylglycerol of Soybean Oil. Following operating conditions were used. Instrument, Hitachi M-60; column, 2.6 mm $\times$ 1 m glass column packed with 5% SP-2340 on 60~80 mesh Neopak 2 A; carrier gas and its flow rate, He, 40 ml/min; column temp., 240°C; injector and separator temp., 270°C; ionizing voltage, 70 eV; emission current, 100 μ A; accelerating voltage, 3.0 kV; ion source temp., 180°C; scan range, 0~350 m/z , 5.8 sec/cycle. 1, 16:0; 2, 18:0; 3, 18:1; 4, 18:2; 5, 18:3.

ferty 転位による m/z 113 がベースピークとなり, m/z 335 の分子イオンが明瞭に観察される。両者の差⁽¹⁷⁾が生じる質量範囲のマスペクトルを Fig. 3 に示す。18:1(9)-Pyr では特徴的な m/z 208, 222 が生じ, 18:1(11)-Pyr ではそれが m/z 210, 224 と 2 質量単位だけずれている。Fig. 3 の破線矢印で示した以外のイオンは, 電子衝撃下における異性化によって生じたと考えられている⁽¹⁷⁾。18:1(9)-Pyr および 18:1(11)-Pyr に特徴的な 4 種の m/z を用い, 大豆油 TG より調製した FA-Pyr の MC を行った。その結果を Fig. 4 に示す。18:1-Pyr ピークの前後をみると飽和酸である 18:0-Pyr より m/z 210, 224 が生じ, 18:2-Pyr からはこれら 4 種のイオンすべてが検出された。Andersson らの報告したリノール酸-Pyr のマスペクトル⁽²¹⁾ならびにわれわれの得た標品リノール酸-Pyr のマスペクトルでも同様にこれら 4 種のイオンが検出されるが, それに比べて大豆油 18:2-Pyr のほうが m/z 210 と 224 の強度が強く, 電子衝撃下における異性化⁽¹⁷⁾のほかに, リノール酸以外のオク

Table II. Intensity of Key Fragment Ions on Mass Chromatography of Fatty Acid Pyrrolidides from Triacylglycerols of Soybean Oil

Scan numbers ^a	m/z				
	208	210	222	224	113
54	0	3150	0	2225	649032
55	0	1045	0	1684	541024
56	0	0	0	0	406616
57	0	0	0	0	321832
58	7495	3655	9940	1550	602320
59	27150	8770	39350	4200	1599732
60	30255	11180	48340	3925	1780389
61	26555	10185	33568	2424	1582812
62	20160	7615	30345	2270	1247301
63	13870	5470	16076	800	772952
64	8215	4155	10312	0	537000
65	4765	2290	7092	0	414009
66	3745	0	4076	0	311463
67	1555	0	3100	0	210800
68	0	0	2790	0	163864
69	0	0	0	0	145062
70	0	0	4315	0	159408
71	10720	8375	48440	9980	541104
72	28745	20300	103240	27875	1646073
73	33895	28900	133408	29376	1757280

^a Corresponding to those of mass chromatography shown in Fig. 4. Octadecenoic acid pyrrolidides eluted between scan numbers 58 and 68.

タデカジエン酸二重結合位置異性体の存在が推定される。

Fig. 4 の MC をデジタル化したものを Table II に示す。GC-MS のカラム温度を上げ, キャリヤガス流量を多くすると, GC-MS 分析はさらに短時間で終了し, MC でもピーク分離は認められる。しかしその場合このようにデジタル化するとピーク間に各イオン量の 0 を示す数値が入らず, コンピュータによる面積計算の threshold の乗じかたにもよるが, 定量誤差が生じやすい。したがって今回用いた GC-MS では, この GC 運転条件が, 短時間分析の限度であると思われる。またこの条件では, 定量を妨害する液相バックグラウンドは全く認められなかった。

3. 検量線

前述した 18:1(9)-Pyr と 18:1(11)-Pyr を認識する特徴的 m/z のうち, 強度の弱い m/z 224 を除く 3 種の m/z で, 検量線用標品の MC を行った。18:1(9) 中の 18:1(11) の割合を示す指標として (m/z 210 の面積/

Fig. 5. Relationships between the Content of *cis*-Vaccenic Acid and the Peak Area Ratios of Key Fragment Ions. The concentration of *cis*-vaccenic acid in standard mixtures was plotted on the x-axis, and the ratios of peak areas of the fragment ions at *m/z* 210 to 208, *m/z* 210 to 222 on the y-axis.

Fig. 6. Calibration Curves for Determination of *cis*-Vaccenic Acid Content. The concentration of *cis*-vaccenic acid in standard mixtures was plotted on the x-axis, and the value (*V*) calculated by following formulas (I, II) on the y-axis.

Formula (I) : $V = \frac{\text{peak area of } m/z \text{ 210}}{\text{peak area of } m/z \text{ 208}} \bigg/ \frac{\text{value of maximum intensity of } m/z \text{ 113 in the}}{\text{elution peak of octadecenoic acid pyrrolidides}}$

Formula (II) : $V = \frac{\text{peak area of } m/z \text{ 210}}{\text{peak area of } m/z \text{ 208}} \bigg/ \frac{\text{value of the sum of three higher intensities of}}{m/z \text{ 113 in the elution peak of octadecenoic acid pyrrolidides}}$

* Value of maximum intensity of *m/z* 113, ** Value of the sum of three higher intensities of *m/z* 113.

m/z 208 の面積) および (*m/z* 210 の面積/*m/z* 222 の面積) を計算し, Fig. 5 のようにプロットした. 上記 2 つの比の値と 18:1(11) 含量はある程度比例していることがわかった.

しかし同一標品を繰り返して分析すると, 比の値はかなり変動し, 定量は不可能となる. この理由として GC-MS への導入絶対量の相違が考えられる. Satouchi ら⁽²²⁾

は導入絶対量を一定にしてこのような検量線を得ている. しかし生体からの検体を, 検量線用標品と同一の導入絶対量で分析することは非常に煩雑となる. ある程度導入絶対量に差が生じてでも定量可能となる検量線を次のようにして作製した. 結果を Fig. 6 に示す. GC-MS への導入絶対量を表す指標としてベースピークである *m/z* 113 に着目し, 同一の検量線用標品を導入絶対量を変え

ながら繰り返し分析した。各分析ごとに得られた前述の比の値を、その分析における 18:1-Pyr ピークの m/z 113 の最大強度 (Table II を例にとれば、スキャンナンバー 60 における m/z 113 の数値) で割るか、あるいは最大から 3 番目までの強度を加算した値 (同、スキャンナンバー 59, 60, 61 における m/z 113 の数値を加算したもの) で割った。こうして得られた導入絶対量別の各検量線用標品の値と、18:1(11) 含量 0~9% の間で直線的な比例関係が認められた。

導入絶対量は、MC の結果を Table II のようにデータ出力すれば正確に求められるが、GC-MS 分析操作中にあらかじめそれを知るために、全イオンモニター用のレコーダを利用した。GC-MS より生じた全イオン電流の 10% を受けるように調整したレコーダで、18:1-Pyr のピーク高さが、レコーダレンジ 0.5 mV でフルスケールの約 70% となれば、その m/z 113 の最大強度は、Fig. 6 の (A) に示す平行線の下線 (20×10^5) にほぼ一致する。また、ピーク高さが同フルスケールの約 30% であれば、同平行線の上線 (15×10^5) にほぼ一致する。Fig. 6 の (B) についても同様の傾向であった。

したがって検体は、その 18:1-Pyr のピーク高さが、全イオンモニター用レコーダにおいて、フルスケールの 30~70% の範囲内になるように導入すればよい。またこれらの範囲外であれば検量線は交差あるいは曲線となって定量はできず、すぐ GC-MS のカラム温度を 260°C まで昇温して検体の溶出を早め、次の分析にそなえればよい。Fig. 5 に示した (m/z 210 の面積/ m/z 222 の面積) の比を用いなかったのは、一般植物油の 18:2 含量が高く、18:2-Pyr より生じる m/z 222 の定量妨害を

できるだけ避けたかったためである。また、Fig. 6 に示す 2 種類の検量線を作製したのは、GC-MS のスキャン間隔が 5.8 秒で、GC から溶出した 18:1-Pyr のピークトップがスキャンに当たらない可能性があるためである。しかし両検量線より定量した結果では、大差は認められなかった。なお検量線の各プロットは 3 回の繰り返し分析の平均値で表示した。

検量線の継続使用期間はおよそ 20 時間で、これを超えるとイオン化室内の汚れやフィラメントの劣化などにより検量線の傾きと y 軸切片の値は変化する。また測定日が異なれば同条件でも同じ検量線が使えない場合もみうけられた。したがって本法では検体分析のつど、検量線を新たに作製する必要がある。今後改良すべき問題の一つである。

4. 各植物油トリアシルグリセロール中の *cis*-パクセン酸の含量

7 種の植物油より単離した TG 中の 18:1(11) 含量を Table III に示す。“リノール酸”の多い植物油としてサフラワー油、“オレイン酸”の多い植物油としてオリーブ油を選び、その他代表的な植物油を、18:1 含量の低いものから順に並べている。Table III の記号 A は Fig. 6 の (A) に、また Table III の記号 B は Fig. 6 の (B) に示す検量線より求めた定量値で前述のごとく大差は認められなかった。18:1(11) の定量値は、同一試料を繰り返し 3 回分析した平均値で表示し、その最大誤差は $\pm 10\%$ であった。また GC-MS 分析は検量線の作製から Table III の分析まで一日に行い、その所要時間はおおよそ 10 時間であった。これによると供試した植物油 TG のすべてに 18:1(11) が認められそれも無視しうる

Table III. *cis*-Vaccenic Acid Contents and Major Fatty Acid Compositions of Triacylglycerols from Various Vegetable Oils

Vegetable oils	Fatty acids (mole %)					mole %			
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	18:1(11)		18:1(11)	
						18:1		TFA ^a	
						A ^b	B ^c	A ^b	B ^c
Safflower	8.6	2.9	12.9	75.6	trace	6.8	6.8	0.9	0.9
Cottonseed	20.7	3.7	22.4	53.2	trace	6.3	6.4	1.4	1.4
Soybean	10.9	4.1	24.7	53.4	6.9	7.0	7.5	1.7	1.9
Corn	12.0	2.9	36.3	48.8	trace	1.5	1.1	0.5	0.4
Sesame	12.2	6.0	41.9	39.9	—	3.5	3.5	1.5	1.5
Rice-bran	17.6	2.1	44.6	35.7	—	3.6	3.7	1.6	1.7
Olive	17.8	5.0	71.1	6.1	—	2.2	2.1	1.6	1.5

^a Total fatty acids. ^b Determined by use of the calibration curve (A) shown in Fig. 6. ^c Determined by use of the calibration curve (B) shown in Fig. 6.

量でないことが判明した。したがって今まで GC 上の 18:1 溶出ピークを固有名詞である“オレイン酸”と呼ぶ報告が数多くみうけられるが、厳密な意味では各種異性体の混合ピークであるため、今後“オクタデセン酸”と呼ぶべきであろう。

植物油 TG 中の 18:1 に対する 18:1(11) の割合は、各植物ごとに異なり、18:1 の含量となんら相関関係は認められなかった。しかし、TG 構成脂肪酸に対する 18:1(11) の割合はトウモロコシを除き、1~2% のほぼ一定の範囲内にあった。なおこの割合は、18:1 ピークは 18:1(9) と 18:1(11) で構成されると仮定して算出したもので、実際は他の異性体を微量含むため⁽⁹⁾、これよりいくぶん低い数値となるであろう。ではなぜ 18:1(11) が生合成され、その存在にどういった意味があるかについては今後の課題となるが、Kuemmel ら⁽⁶⁾ は、パルミトレイン酸 (16:1(9)) より炭素鎖長延長反応で 18:1(11) が生合成されるのではないかと提案している。その理由として、各動植物油の 16:1(9) と 18:1(11) の含量に相関関係が成り立つことによると主張しているが例外も多く認められる。Appelqvist⁽²³⁾ は C_{20} 以上の長鎖脂肪酸を有するナタネで、16:1(9)→18:1(11)→20:1(13)→22:1(15) の炭素鎖長延長反応を推定し、Mukherjee ら⁽⁸⁾ もナタネで同様の反応を提案している。また彼らは 16:1(9) は 16:0 より Δ^9 -desaturase で生じるかもしれないとしている。 C_{20} 以上の長鎖脂肪酸を有する植物では当然、鎖長延長酵素⁽²⁴⁾が活発に作動していると考えられるが、本実験で供試した植物の主要脂肪酸の炭素鎖長は C_{18} までである。こういった植物でも、16:1(9)→18:1(11) の鎖長延長反応が本実験で求めた 18:1(11) 含量を満たすまで作動しているかについては疑問が残る、今後の検討を待たねばならないだろう。

大豆の培養細胞では、投与した 18:1(11) がグリセロ脂質に取り込まれ生体構成成分となる⁽²⁵⁾。植物は 18:1(11) を生理上必要として生合成しているのか、あるいは生理上必要とはしないが他の脂肪酸の代謝上余儀なくまたはたまたま生合成してしまったのか、この点については現在のところ全く不明である。植物についてのデータは不足しており、その集積が望まれる。

以上述べたように、植物に存在する 18:1(11) の研究を遂行するうえで、その簡便な定量法の必要性を感じ、GC-MS 法の適用を検討した。こういった二重結合位置異性体の定量については、現在までに開発、改良が加え

られたガラスキャピラリー GC⁽²⁶⁾の適用が有効な手段であると考えられるが、一部その欠点も指摘されている。本法とガラスキャピラリー GC 法を比較すれば、どちらも長所短所があり、分析目的と対象で両者の得失は変わってくるものと思われる。

本法では検体の煩雑な前処理操作を、ガラスキャピラリー GC 法と同様に必要とせず短時間で分析が終了し、植物油試料の最小必要量は TG として約 10 μ g である。また 18:1(11) の検出限界は、今回正確には求めていないが、検量線をもっと細かくとれば 18:1(9) に対して 1% 以下の 18:1(11) でも可能であると思われる。しかし本法では前述したごとく、いまのところ検体分析のつど、検量線を新たに作製する必要がある、これは今後改良すべき点である。いずれにしても、最適となる分析法の採択あるいはその開発が、植物におけるこの分野の研究を進めるうえでキーポイントとなるようである。

要 約

ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリーにより、植物油トリアシルグリセロール中の *cis*-パクセン酸を定量した。

(1) オレイン酸ピロリダイドと、*cis*-パクセン酸ピロリダイドを所定の濃度に混合した標品のマスプロマトグラフィーを行った。*cis*-パクセン酸ピロリダイドより生じる m/z 210 の面積を、オレイン酸ピロリダイドより生じる m/z 208 の面積で割り、その数値をさらに m/z 113 の強度で割って供試標品の重量変動を補正した値と、*cis*-パクセン酸濃度との間に成り立つ比例関係から、*cis*-パクセン酸定量用の検量線を作製した。

(2) 薄層クロマトグラフィーで分画したトリアシルグリセロールを、シジカゲルに吸着のままアミノリシスに供し、脂肪酸ピロリダイドに変換した。これを直接 SP-2340 を液相とするガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリーに導入し、マスプロマトグラフィーと検量線から *cis*-パクセン酸を定量した。

(3) 供試したサフラワー油、綿実油、大豆油、トウモロコシ油、ゴマ油、米ヌカ油、オリーブ油の各植物油トリアシルグリセロールには、すべて *cis*-パクセン酸が検出された。その含量はオクタデセン酸に対しておよそ 1~8%、トリアシルグリセロール構成脂肪酸に対しておよそ 0.5~2% の範囲にあった。*cis*-パクセン酸とオクタデセン酸の間には、量的な相関関係はみられな

かった。

終りに GC-MS 操作法を懇切丁寧にご指導いただいた本学薬学部福井己芳教授に深く感謝します。また GC 充てん剤を各種提供してくださった西尾工業株式会社福永徳人氏にお礼申し上げます。

本報告の概要は、昭和 56 年 4 月、日本農芸化学会大会（京都）で発表した。

- (1) R. Wood : "Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers," ed. by E. A. Emken and H. J. Dutton, The American Oil Chemists' Society, Champaign, Ill., 1979, p. 213.
- (2) G. P. Wannigama, J. K. Volkman, F. T. Gillan, P. D. Nichols and R. B. Johns : *Phytochemistry*, **20**, 659 (1981).
- (3) G. R. Jamieson and E. H. Reid : *J. Sci. Food Agric.*, **19**, 628 (1968).
- (4) M. J. Chisholm and C. Y. Hopkins : *Can. J. Chem.*, **38**, 805 (1960).
- (5) G. F. Spencer and R. Kleiman : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **55**, 689 (1978).
- (6) D. F. Kuemmel and L. R. Chapman : *Lipids*, **3**, 313 (1968).
- (7) G. F. Spencer, K. Payne-Wahl, R. D. Plattner and R. Kleiman : *Lipids*, **14**, 72 (1979).
- (8) K. D. Mukherjee and I. Kiemitt : *Planta*, **149**, 461 (1980).
- (9) D. F. Kuemmel : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 667 (1964).
- (10) R. G. Ackman : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **43**, 483 (1966).
- (11) J.-L. Sebedio and R. G. Ackman : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 15 (1979).
- (12) E. M. Gaydou, R. Raonizafinimanana and J. P. Bianchini : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 141 (1980).
- (13) C. R. Scholfield : "Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers," ed. by E. A. Emken and H. J. Dutton, The American Oil Chemists' Society, Champaign, Ill., 1979, p. 17.
- (14) F. D. Gunstone : "Recent Advances in the Chemistry and Biochemistry of Plant Lipids", ed. by T. Galliard and E. I. Mercer, Academic Press Inc., New York, N. Y., 1975, p. 21.
- (15) 日本油化学協会編 : 「油脂化学便覧」, 丸善株式会社, 1976, p. 408.
- (16) F. D. Gunstone : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 486 A (1973).
- (17) B. Å. Andersson and R. T. Holman : *Lipids*, **9**, 185 (1974).
- (18) D. T. Downing and R. S. Greene : *Lipid*, **3**, 96 (1968).
- (19) B. Å. Andersson, W. H. Heimermann and R. T. Holman : *Lipids*, **9**, 443 (1974).
- (20) 芝原 章, 吉田弘美, 梶本五郎 : 油化学, **27**, 233 (1978).
- (21) B. Å. Andersson, W. W. Christie and R. T. Holman, *Lipids*, **10**, 215 (1975).
- (22) K. Satouchi and K. Saito : *Biomed. Mass Spectrom.*, **6**, 144 (1979).
- (23) L.-Å. Appelqvist : "Rapeseed," ed. by L.-Å. Appelqvist and R. Ohlson, Elsevier Pub., Amsterdam, 1972, p. 123.
- (24) R. K. Downey and B. M. Craig : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 475 (1964).
- (25) N. Weber, I. Richter, H. K. Mangold and K. D. Mukherjee : *Planta*, **145**, 479 (1979).
- (26) H. T. Slover and E. Lanza : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 933 (1979).