薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
100 (8) 807-810 (1980)

白鮭の白子に含まれる脂肪酸の Gas Chromatography-Mass Spectrometry による分析

木下泰雄, 小池 均, 直井嘉威, 坂井紘司,^{1a)} 田中 昭^{1b)}
有機合成薬品工業株式会社東京研究所,^{1a)} 城西大学薬学部^{1b)}

Analysis of Fatty Acid Composition in Milt of *Oncorhynchus keta* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

YASUO KINOSHITA, HITOSHI KOIKE, YOSHITAKE NAOI,
KOJI SAKAI,^{1a)} and AKIRA TANAKA^{1b)}

Yuki Gosei Kogyo Co. Ltd., The Tokyo Laboratories^{1a)} and
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University^{1b)}

(Received January 23, 1980)

Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was applied to the analysis of fatty acid composition in milt of chum salmon *Oncorhynchus keta*. Arachidonic acid and eicosapentaenoic acid (which were precursors of prostaglandin G₂ and G₃ respectively) were identified. Myristic acid, palmitic acid, arachidic acid, oleic acid, linolenic acid and docosahexaenoic acid were also identified.

Keywords—gas chromatography-mass spectrometry; fatty acid; milt; *Oncorhynchus keta*; arachidonic acid; eicosapentaenoic acid; prostaglandin

著者らは白鮭 (*Oncorhynchus keta*, 北海道斜里産) の冷凍白子から抽出された脂肪酸分画をケイ酸カラムクロマトグラフィーにより精製し, 得られた精脂肪酸分画をメチルエステル化した後これをガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) により構成脂肪酸の分析を行なった. Myristic acid, palmitic acid, arachidic acid, oleic acid, linolenic acid, docosahexaenoic acid の他に Prostaglandin (PG) の 2 群²⁾ の前駆体である arachidonic acid と 3 群³⁾ の前駆体である eicosapentaenoic acid の存在を確認した.

実 験 の 部

高級脂肪酸分画のフローダイアグラム 高級脂肪酸の分画は Chart 1 で示す方法で処理した.

高級脂肪酸分画のケイ酸カラムクロマトグラフィーによる分離⁴⁾ Chart 1 の方法で得た高級脂肪酸分画 50 mg に対し活性化したケイ酸 1.5 g を内径 1.2 cm 高さ 1.5 cm のカラムに充填し Table I に示す展開溶媒でフラクション分離を行なった. 各フラクションを減圧下で溶媒を除去し粗オイルを得た.

ケイ酸カラムクロマトグラフィーにより得られた高級脂肪酸分画の分析用試料調製 ケイ酸カラムクロマトグラフィーにより得られた高級脂肪酸分画の粗オイルに過剰のジアゾメタンのエーテル溶液を加えメチルエステル化⁵⁾を行なった. 特にプロスタグランジン類の存在確認分析はメチルエステル化した後 2.5% メトキシルアミン塩酸塩のピリジン溶液を過剰に加えて室温で一夜放置してメチルオキシム化し,⁶⁾ さらにビストリメチルシリルトリフルオロアセトアミド (BSTFA) を過剰に加えてトリメチルシリル化体とした.⁶⁾

ケイ酸カラムクロマトグラフィーの Fraction 1 の還元物の分析用試料調製 ケイ酸カラムクロマトグラフィーにより得られた fraction 1 の粗オイルを白金黒 (pt-C) の触媒下接触還元の後ジアゾメタンでメチルエ

1) Location: a) 3-37-1 Sakashita, Itabashi-ku, Tokyo; b) Keyakidai, Sakato-shi, Saitama.

2) S. Bergström, H. Danielsson, B. Samuelsson, *Biochim. Biophys. Acta.*, **90**, 207 (1964).

3) S. Bergström, H. Danielsson, D. Klenberg, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.*, **239**, 4006 (1964); D.A. Van Dorp, R.K. Beerthuis, D.H. Nugteren, *Nature*, (London), **203**, 839 (1964).

4) B.M. Jaffe, H.R. Behrman, C.W. Parker, *J. Clin. Invest.*, **52**, 398 (1973).

5) F.R. Cropper, A. Heywood, *Nature*, (London), **172**, 1101 (1953).

6) K. Gréen, *Chem. Phys. Lipids.*, **3**, 254 (1969).

Chart 1. Flow Diagram for Fractionation of Fatty Acids in Salmon Milt

ステル化を行なった。

GC-MS 装置および測定条件 GC-MS は島津製作所 LKB 9000 型ガスクロマトグラフ質量分析計を使用した。GC のカラムは長さ 2 m 内径 3 mm のガラスカラムを用い、充填剤は 3% cyclohexanediethanol succinate Gaschrom Q AW DMCS 100/120 mesh を使用した。測定条件は注入口温度 200° 、カラム温度 210° 、イオン源温度 270° 、イオン化電圧 70eV、キャリアーガス He (30 ml/min) を用いた。

結 果

高級脂肪酸分画のケイ酸カラムクロマトグラフィーによる分離結果を Table I に示した。ほとんどの高級脂肪酸が fraction 1 に分画された。

TABLE I. Column Chromatography of Fatty Acids in Salmon Milt

Fraction No.	Solvent	Fraction vol (ml)	Crude oil (mg)
1	Benzene-ethyl acetate (70:30 v/v)	6	20.8
2	Benzene-ethyl acetate (60:40 v/v)	12	6.6
3	Benzene-ethyl acetate-Methanol (60:40:2 v/v)	24	3.1
4	Benzene-ethyl acetate-Methanol (60:40:20 v/v)	6	1.6
5	Methanol	6	3.7

Fig. 1 にケイ酸カラムクロマトグラフィーによって得られた fraction 1 のメチルエステル化体のガスクロマトグラムを示した。ガスクロマトグラムの保持時間および質量スペクトルを標準物質のメチルエステル化体と比較することにより各ピークの同定を行ない、その結果を Table II に示した。

ただし、ピーク 3 に関しては Fig. 1 の GC 条件では不分離であったので OV-1 充填剤を使用した GC-MS 結果を参考にして確認された。ピーク 5 は質量スペクトルの各種フラグメントイオンから推定した。

また、ピーク 7 およびピーク 8 については以下の方法によって確認された。ピーク 7 の質量スペクトルは Fig. 2 に示したように分子イオンピークは m/e 316 であり、各種フラグメントイオンから不飽和脂肪酸のメチルエステル化体⁷⁾と考えられた。ピーク 8 に関しても分子イオンピーク m/e 342 の不飽和脂肪酸のメチルエステル化体と考えられた。また、ケイ酸カラムクロマトグラフィーの fraction 1 を接触還元後メチルエステル化した試料の GC-MS 分析によってピーク 7 は arachidic acid のメチルエステル化体に、ピーク 8 は behenic acid のメチルエステル化体に誘導されることがわかった。これらの結果からピーク 7 は methyl eicosapentaenoate, ピーク 8 は methyl docosahexaenoate と確認された。

Fig. 1. Gas Chromatogram for Methylated Fraction 1 of Fatty Acid Composition in Milt of *Oncorhynchus keta*

Conditions: column, 3% C.H.D.M.S. Gaschrom Q Aw DMCS 100/120; column temp., 210°; carrier gas, N₂ (30 ml/min); detector, F.I.D.

TABLE II. Analysis of Fatty Acid Composition in Milt of *Oncorhynchus keta* by GC-MS

G. C. peak No.	t_R min	Peak area %	Mol. wt.	Identification by MS and GC retention time	
				Methyl ester type	Free acid type
1	2.8	2.4	242	Methyl tetradecanoate	Myristic acid
2	5.0	17.3	270	Methyl hexadecanoate	Palmitic acid
3	9.2	18.2	298	Methyl octadecanoate	Stearic acid
			296	Methyl octadecenoate	Oleic acid
4	12.0	1.9	292	Methyl octdecatrienoate	Linolenic acid
5	16.4	2.9	326	Methyl eicosanoate	Arachidic acid
			324	Methyl eicosenoate	Eicosenoic acid
6	20.5	2.6	318	Methyl eicosatetraenoate	Arachidonic acid
7	24.9	19.7	316	Methyl eicosapentaenoate	Eicosapentaenoic acid
8	47.5	12.1	342	Methyl docosahexaenoate	Docosahexaenoic acid

Fig. 2. Mass Spectrum of Peak 7 separated by Gas Chromatography

7) 正田芳郎, 橋本圭二, 井上武久, 吉田秀雄, 福井 敏, 正木清孝, 高畑壤二, 大沢 旭, 赤沢辰彦, 薬誌, 89, 579 (1969).

考 察

鮭類に含まれる高級脂肪酸類に関しては Golovnya ら, 野村ら, その他の報告⁸⁾がある. Golovnya ら^{8a)}は鮭肉から palmitic acid (C 16: 0), oleic acid (C 18: 1), linoleic acid (C 18: 2), eicosapentaenoic acid (C 20: 5), docosahexaenoic acid (C 22: 6) を多量に確認している. 一方野村ら^{8b)}は白鮭の精液中に PGF_{1α} が存在することを報告している.

著者らは白鮭の白子中から PG 類またはその前駆体の抽出を試み, その結果 PG 2 群の前駆体である arachidonic acid を少量, PG 3 群の前駆体である eicosapentaenoic acid を多量確認することができた.

鮭類以外の魚では野村ら⁹⁾によるドチザメ (*Triakis scyllia*) の消化管からの高級脂肪酸類の分析結果があり, palmitic acid (C 16: 0), stearic acid (C 18: 0), oleic acid (C 18: 1), arachidonic acid (C 20: 4) を多量に確認し, eicosapentaenoic acid (C 20: 5) は少量しか確認されず, C 20: 5/C 20: 4 の比は 0.14 である. また Gopakumar ら¹⁰⁾は水温 25—28° に生息する淡水魚, 海水魚, 計 15 種の脂質から脂肪酸の抽出を行っており, C 20: 5/C 20: 4 の比は 0.14—1.64 である. 一方, 著者らの結果では C 20: 5/C 20: 4 の比は 7.6 であり, Golovnya^{8a)}の結果では C 20: 5/C 20: 4 の比は 11.1 となる. これらの結果から, 鮭類は PG 3 群の前駆体を多く含むことが確認された.

また, 鮭肉中と鮭の白子中の高級脂肪酸類の対比を Table III に示した. Table III の結果から鮭の白子中には特に多くの割合で eicosapentaenoic acid (C 20: 5) が含まれることが確認された.

TABLE III. Fatty Acids Found in Salmon Flesh^{a)} and Salmon Milt

	C 14:0	C 16:0	C 18:0	C 18:1	C 18:3	C 20:0	C 20:1	C 20:4	C 20:5	C 22:6
Salmon flesh (%)	3.8	18.0	1.6	25.9	1.2	trace	trace	0.7	7.8	12.1
Salmon milt (%)	2.4	17.3	18.2		1.9	2.9		2.6	19.7	12.1

a) By R.V. Golovnya.^{8a)}

謝辞 本研究の発表を許可された有機合成薬品工業株式会社 社長 山口三郎氏 東京研究所長 吉田恭一氏に厚く感謝いたします. また本研究にあたり有益な御指示を賜りました名城大学薬学部 平田義正教授に感謝いたします.

8) a) R.V. Golovnya, M.B. Terenina, V.P. Uralets, *J. Chromatogr.*, **91**, 127 (1974); b) T. Nomura, H. Ogata, M. Ito, *Tohoku. J. Agr. Res.*, **24**, 138 (1973); c) P. Renon, C. Cantoni, G. Comi, *Ind. Aliment.*, **17**, 509 (1978).

9) H. Ogata, T. Nomura, *Biochimica et Biophysica Acta.*, **388**, 84 (1975).

10) K. Gopakumar, P.G. Viswanthan Nair, *J. Food Sci.*, **43**, 1162 (1978).