



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	水産動物油脂脂肪酸組成のガスクロマトグラフ分析
Author(s)	高間, 浩蔵; TAKAMA, Kōzō; 羽田野, 六男 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 14(1), 31-36
Issue Date	1963-05
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/23171">https://hdl.handle.net/2115/23171</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	14(1)_P31-36.pdf



## 水産動物油脂脂肪酸組成のガスクロマトグラフ分析

高間浩蔵・羽田野六男・座間宏一・五十嵐久尚  
(北海道大学水産学部水産化学教室)

### Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acid Composition of Marine Animal Oils.

Kōzō TAKAMA, Mutsuo HATANO, Kōichi ZAMA  
and Hisanao IGARASHI

#### Abstract

Analyses of fatty acid methylesters prepared from four kinds of marine animal oils were carried out by the use of a few commercial polyester columns.

Diethyleneglycol succinate polyester (DES) column used showed to be not good for separating the saturated and the unsaturated from  $C_{18}$  to  $C_{22}$  fatty acids excepting the case of  $C_{18}$ .

On the other hand, diethyleneglycol adipate polyester (DEA) column seemed to have shown the most accurate results, for almost all the components of fatty acids contained in the oils used were detected in this column, though in the separation of peaks it showed somewhat inferior to DES column.

Odd numbered fatty acids as  $C_{13}$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{17}$ , etc., were detected in very small amounts in these fish oils.

#### 緒 言

ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸分析も James および Martin ら<sup>1)</sup>により試みられて以来、さかんに利用されるようになった。その結果、微量成分の検出も容易になり、とくに  $C_{18}$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{17}$ ,  $C_{19}$  等の奇数酸の存在が魚油中に認められ<sup>2,3)</sup> 興味深い点と目されている。

脂肪酸分析に用いられる固定液相についても同時に数多くの研究が為され、なかでも Orr ら<sup>4)</sup> はポリエステル系を用い飽和、不飽和酸相互の分離に非極性のものよりはるかにすぐれた性能をもつことを報告した。更に Craig ら<sup>5)</sup> が diethylene glycol succinate polyester を用い高い分離能を得て以来、この方面の研究にさかんに用いられるに至った。しかし、その分子中にエーテル結合をもっている為に  $200^{\circ}\text{C}$  以上の高温では長期使用に耐え難い。

最近、これらの欠点を補い得る固定液相の試作も多数為されてはいるが<sup>2,3)</sup> diethylene glycol の succinate 或いは adipate polyester 等が最も多く使用されている。実際は diethylene glycol succinate 或いは adipate polyester を用いても  $C_{18}\text{F}_2$  と  $C_{19}$ ,  $C_{18}\text{F}_3$  と  $C_{20}$ ,  $C_{18}\text{F}_4$  と  $C_{20}\text{F}_1$ ,  $C_{20}\text{F}_3$  と  $C_{22}$ ,  $C_{20}\text{F}_4$  と  $C_{22}\text{F}_1$  と等が近似した  $t_R$  (保持時間) を示す為に完全分離は困難とされている。これらの欠点を補う為に水素添加した試料についても同様クロマトを行ったり、分光分析法を併用したり、更には非極性、極性固定相をダブルに用いてクロマト分析を行っている。

著者らは市販カラム充填剤を用い、数種水産動物油脂の脂肪酸組成を、すでに報告されている実験結果を参考にして検索を試みた。

実 験

**脂肪酸メチルエステルの調製:** 各試料油を常法通り 2N-KOH アルコール溶液で鹼化, 不鹼化物除去後, 得られた脂肪酸を 2.5%-HCl メタノール溶液と 1.5 時間還流しメチルエステルとした。

**ガスクロマトグラフィー:** 使用機器は日立製 KGL-2 型で充填剤は市販 Apiezone L-grease, Diethylene glycol adipate 及び succinate polyester を用いステンレススチール U 字形カラムに充填した。キャリアーガスには He を用い Apiezone L-grease の場合は毎分 100 ml を, ポリエステルカラムの場合は毎分 20 ml を流した。カラム温度は 207~230°C, 試料室温度は 272~290°C とし, 記録計ブリッジ電流は 170 mA, 感度 12 mV フルスケールとした。

結 果

**定性:** 標品として methyl myristate, palmitate, stearate 及び linolate を用い, その保持時間 ( $t_R$ ) の対数を対応する炭素数に対してグラフ上にとり, 得られた直線に供試料のクロマトグラムの各ピークのを合わせて同定した (第 1 図)。又, 不飽和酸についても  $C_{18}$ ,  $C_{18}F_1$  及び  $C_{18}F_2$  の標品の  $t_R$  の対数をグラフ上にとり,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{20}$  及び  $C_{22}$  不飽和酸の  $t_R$  の対数がこれに平行するものとする豊水ら<sup>3)</sup>の報告に従って行った (第 2 図)。

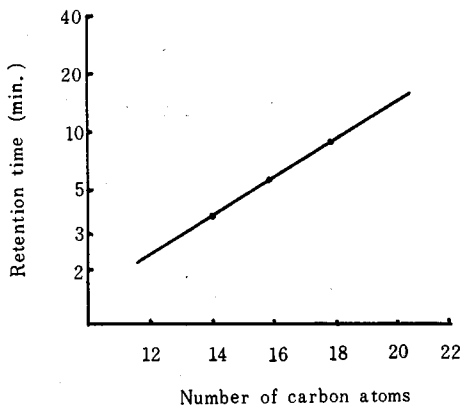


Fig. 1. Relative retention times of pure saturated methylester: methyl myristate, palmitate, and stearate. Column, DEA 3 m×4 mm; column temp., 207°C; inject temp., 272°C.

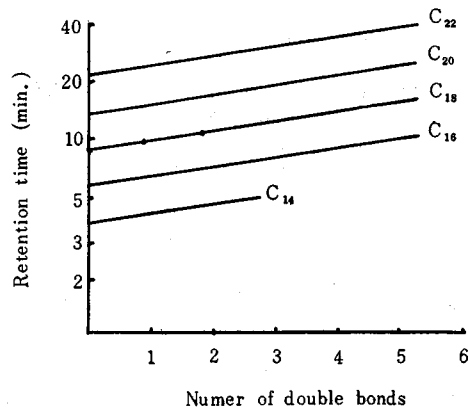


Fig. 2. Relative retention times of unsaturated methylesters: methyl oleate, and linolate, under the same conditions as those in Fig. 1.

**定量:** 面積測定法に関してはプランメーター法及び半値巾法を併用したが, 前者は微量成分の測定にはかなりの誤差を生じ, 再現性も乏しいので主に後者の半値巾法を用い各成分量は全面積に対する各ピーク面積の百分率として表わした。

ヒメエゾボラ内臓油について行ったクロマト分析の結果を第 1 表に示した。この結果, DES カラムでは  $C_{20}$ ,  $C_{22}$  酸にかなりの差が見られるが DEA カラムや DEA+DES 直列カラムでは比較的良く合った結果が得られた。第 3 図 (A) に示す様に DES では各ピークともかなり分離度が良く現われては

Table I. Comparative analysis of several stationary phases for methylester

	Apiezon L* grease (2)	DEA (3) **	DES (3) ***	DEA(2)+DES(1) ****
C <sub>12</sub>	tr	tr	tr	tr
C <sub>13</sub>		tr	tr	tr
C <sub>14</sub> C <sub>14</sub> F <sub>1</sub>	Σ 4.9	3.2 1.1 Σ 4.3	5.1	4.3 0.3 Σ 4.6
C <sub>15</sub>	1.5	0.5	1.2	0.8
C <sub>16</sub> C <sub>16</sub> F <sub>1</sub> C <sub>16</sub> F <sub>2</sub>	Σ 27.0	11.8 10.9 Σ 26.8 4.1	16.7 9.5 Σ 26.2	15.8 9.0 Σ 27.5 2.7
C <sub>17</sub>	1.4	1.6		1.7
C <sub>18</sub> C <sub>18</sub> F <sub>1</sub> C <sub>18</sub> F <sub>2</sub> C <sub>18</sub> F <sub>3</sub>	Σ 17.8	4.5 10.7 Σ 20.5 3.9 1.4	5.8 11.5 Σ 20.1 2.8	5.3 10.5 Σ 18.7 2.4 0.5
C <sub>20</sub> F <sub>1</sub> C <sub>20</sub> F <sub>2</sub> C <sub>20</sub> F <sub>3</sub> C <sub>20</sub> F <sub>4</sub>	Σ 29.6	14.4 2.8 Σ 27.6 2.5 7.9	18.9 3.3 Σ 33.5 3.2 8.1	16.8 2.0 Σ 24.5 2.3 3.4
C <sub>21</sub>			2.4	1.7
C <sub>22</sub> F <sub>1</sub> C <sub>22</sub> F <sub>2</sub> C <sub>22</sub> F <sub>3</sub> C <sub>22</sub> F <sub>5</sub> C <sub>22</sub> F <sub>6</sub>	Σ 17.6	8.7 3.5 Σ 17.9 1.0 2.4 2.3	3.2 5.5 Σ 12.3 1.2 1.4 1.0	13.4 1.4 Σ 20.2 2.9 1.4 1.1

Note: \* Column temp., 230°C.; inject temp., 290°C.

\*\* Column temp., 207°C.; inject temp., 272°C.

\*\*\* Column temp., 212°C.; inject temp., 278°C.

\*\*\*\* Column temp., 210°C.; inject temp., 275°C.

The numbers in parenthesis show the length of columns.

いるが C<sub>16</sub> 酸の飽和, 不飽和酸の分離に難点を示した。DEA は第 3 図 (B) に示す如く分離度は良いとはいえないが含有する成分を残らず示し DES で認められなかった C<sub>16</sub>F<sub>2</sub> 酸の存在を認め得た。各成分の完全分離は得られなかったが第 1 表に示した様にその定量値にはそれ程差異を示さなかった。試みに DEA と DES を前者 2m, 後 1m 直列につなぎ試料入口に近い方に DEA を配列したものによるのが第 3 図 (C) であるが, DES と DEA の性質を兼ねそなえた比較的良好な結果を得た。C<sub>22</sub> 酸については各カラムとも差異を示したが, 用いた脂肪酸メチルエステルの沃素価からしてこの条件下では DEA が一番近い値を示し比較的良好な結果をもたらした。

次に DEA カラムを用いてヒメエゾボラ刺身, アカガレイ肝臓及びアカガレイ卵各油の脂肪酸組成を検索した。その結果を第 2 表に示した。

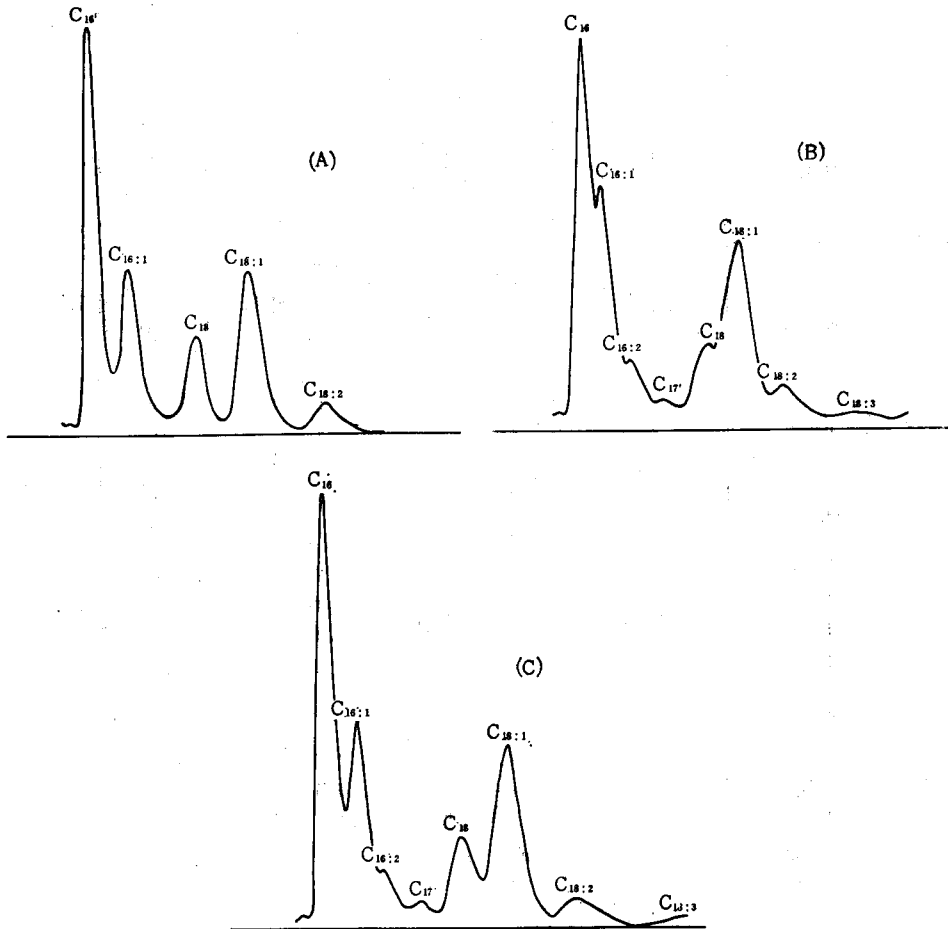


Fig. 3. A part of gas chromatograms of fatty acid methyl esters:  
A) DES, A) DEA, C) DEA(2)+DES(1)

考 察

脂肪酸分析に際し DES カラムの性能の高度なることがすでに認められているが第 1 表に示した如く  $C_{20}$ ,  $C_{22}$  酸にかなりの差異を示す。これはそれぞれの  $t_R$  が近似している為ピークが重なり個々成分の定量値に喰い違いを生じたものであろう。また不飽和酸の同定については不飽和度に対する  $t_R$  の対数をグラフ上にとったものから行ったが実際には直線的になるのは  $C_{18}$  酸以下についてであり,  $C_{20}$ ,  $C_{22}$  酸のものにならばせいぜい  $F_2$  位迄で  $F_3$  以上になると僅かながら上向きにカーブする傾向がある。従って直線平行関係という仮定のままでは  $t_R$  の重なり合いは避け得られないものと考えられる。

Table II. Composition of fatty acid methylesters

	Whelk <i>Neptunea arthritica</i>		Flounder <i>Hippoglossoides dubius</i>	
	Viscera	Muscle	Liver	Ovary
C <sub>12</sub>	tr	0.4	tr	tr
C <sub>13</sub>	tr	0.3	tr	tr
C <sub>14</sub>	3.2	1.7	4.4	3.9
C <sub>14</sub> F <sub>1</sub>	1.1 $\Sigma$ 4.3		0.8 $\Sigma$ 5.2	0.6 $\Sigma$ 4.5
C <sub>15</sub>	0.5	1.0	0.5	1.8
C <sub>16</sub>	11.8	7.3	17.7	25.0
C <sub>16</sub> F <sub>1</sub>	10.9 $\Sigma$ 26.8	6.1 $\Sigma$ 16.2	18.0 $\Sigma$ 35.5	9.2 $\Sigma$ 38.2
C <sub>16</sub> F <sub>2</sub>	4.1	2.8		2.3
C <sub>17</sub>	1.6	2.1	2.4	1.7
C <sub>18</sub>	4.5	5.6	3.9	4.7
C <sub>18</sub> F <sub>1</sub>	10.7	10.7 $\Sigma$ 21.0	43.1 $\Sigma$ 49.0	21.8 $\Sigma$ 27.5
C <sub>18</sub> F <sub>2</sub>	3.9 $\Sigma$ 20.5	4.0	2.0	1.0
C <sub>18</sub> F <sub>3</sub>	1.4	0.7		
C <sub>20</sub>		1.5		4.1
C <sub>20</sub> F <sub>1</sub>	14.4	10.6	4.4	
C <sub>20</sub> F <sub>2</sub>	2.8 $\Sigma$ 27.6	6.5 $\Sigma$ 26.3		$\Sigma$ 7.4
C <sub>20</sub> F <sub>3</sub>	2.5			
C <sub>20</sub> F <sub>4</sub>	7.9	7.7		3.3
C <sub>22</sub> F <sub>1</sub>	8.7	13.6		11.9
C <sub>22</sub> F <sub>2</sub>	3.5		2.8	tr
C <sub>22</sub> F <sub>3</sub>	1.0 $\Sigma$ 17.6	5.3 $\Sigma$ 28.8		tr $\Sigma$ 20.5
C <sub>22</sub> F <sub>5</sub>	2.4	6.0	tr	tr
C <sub>22</sub> F <sub>6</sub>	2.3	3.9	tr	8.6

定量時, ピーク面積比の重量比に対する補正係数については, 魚油の如き多成分のものに関しては極めて小さなものであり, 定量値には殆んど影響しないことは伊藤, 福住ら<sup>2)</sup>が報告している。従ってピーク面積比をもって成分組成比として差し支えないものと考えられる。

一方, 単一充填剤カラムで分離困難な場合でも種々の充填剤カラムを組合せることにより分離はかなりの効果を上げ得る。その一例を第3図(C)に示した。それ故, 非極性カラムと極性カラム, 或いは極性カラム同志の直列組合せによる分析も一考に値するものと思われる。

魚油脂肪酸組成のガスクロマトグラフィーによる検索もすでに数多く行われその結果, 奇数酸の存在も報告されていることは前述したが, 著者が用いた試料についても若干の奇数酸が存在し, しかも体油, 内臓油, 卵油いずれにも認められるところから水産動物油脂一般の常成分と考えられた。

## 要 約

市販ガスクロマトグラフィーカラム充填剤を用い水産動物油脂脂肪酸の検索を行った。DES カラムは  $C_{18}$  酸の飽和、不飽和酸の分離にすぐれているが  $C_{16}$ ,  $C_{20}$ , 及び  $C_{22}$  酸の分離に難を示した。DEA カラムはピーク夫々の分離度は劣るが、含有成分の殆んどを示し定量値に一番確からしい値を得た。更に一つの試みとして行った DEA と DES の直列組合せカラムによって、両者の性質を兼ねそなえたかなり良好な結果を得た。

試料魚油中に僅かながら  $C_{13}$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{17}$  等の奇数酸の存在を認めた。

## 文 献

- 1) James, A. T. and Martin, A. J. P. (1956). *Biochem J.* **63**, 144-152.
- 2) 伊藤祐隆・福住一雄 (1962). 工化 **65**, 1963-1968.
- 3) 豊水正道・富安行雄 (1962). 日水誌 **28**, 526-533.
- 4) Orr, C. H. and Callen, J. E. (1958). *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 249.
- 5) Craig, B. M. and Murty, N. L. (1959). *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **36**, 549-552.
- 6) Hornstein, I. and Crowe, P. F. (1961). *Anal. Chem.* **33**, 310-311.