



Title	アナアオサの脂肪酸組成：抽出法の検討
Author(s)	高木, 徹; Takagi, Toru; 青山, 倫也 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 35(1), 50-54
Issue Date	1984-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23848
Type	departmental bulletin paper
File Information	35(1)_P50-54.pdf



アナアオサの脂肪酸組成：抽出法の検討

高木 徹*・青山 倫也*

Fatty Acid Composition from the Lipids of a Green Alga, *Ulva Pertusa*: An Investigation on Extraction Method

Toru TAKAGI* and Tomoya AOYAMA*

Abstract

A fresh sample of the green alga *Ulva pertusa* was extracted with a chloroform-methanol mixture, followed by additional extraction with a hydrochloric acid-acidified chloroform-methanol mixture. The amount extracted in the second step came to 23% of that in the first step. The fatty acids in the two extracts were converted to methyl esters, and analyzed by gas-liquid chromatography using a WCOT glass capillary column coated with SP-2300. The fatty acid compositions of the two were not much different. The occurrence of *cis*-11-octadecenoic acid and all-*cis*-polyenoic acids of carbon numbers 16 and 18, such as 16:3 n-3, 16:4 n-3, 18:2 n-6, 18:3 n-3, and 18:4 n-3, was found to be characteristic of the fatty acid components.

結 言

海産動物の食物連鎖の解析やケモタクソノミーへの利用などを目的として、海藻の脂肪酸組成の分析が行なわれている。しかし、海藻の組織は非常に固く、一般的に生体脂質の抽出に有効とされる Bligh and Dyer 法¹⁾を海藻脂質の抽出に用いると抽出が不完全となる。Dubinsky らは²⁾海藻脂質をクロロホルム-メタノール (2:1v/v) で抽出後、残渣を塩酸酸性のクロロホルム-メタノール混液 (2:1v/v) で再び抽出を行なうと、脂質収量が増大すること (3%~385%)、また増加した脂質の主成分は極性脂質、特にリン脂質であることを報告している。塩酸酸性の抽出条件では、前記両抽出区分は脂質クラスの組成を異にしているので、脂肪酸組成も異なっている可能性がある。

本報では、アナアオサ (*Ulva pertusa*) から、クロロホルム-メタノールで抽出した脂質区分と、さらに塩酸酸性のクロロホルム-メタノール混液で抽出した脂質区分について、脂肪酸組成を比較検討した。また、得られたアナアオサの脂肪酸組成を文献値と比較した³⁾。

試料および実験方法

試料 本研究でサンプルとして使用したアナアオサは、1983年4月18日、北海道上磯郡茂辺地町の海岸で採取した。

脂質の抽出

I. 細断した試料 1380 g を 4 l のクロロホルム-メタノール (1:2, v/v) に 24 hr 浸漬し、残渣

* 北海道大学水産学部魚油化学講座
(Laboratory of Marine Lipid Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

と溶液部分に汙別した。溶液部分に、クロロホルム 1 l と若干の蒸留水を加え、クロロホルム層に脂質を移したのち、クロロホルムを減圧下で留去して、脂質区分 A を得た。

II. I の残渣を、塩酸酸性のクロロホルム-メタノール混液 (2:1, v/v+10 ml 11 M HCl) 3 l に 24 hr 浸漬し、溶剤を減圧下で留去して、脂質区分 B を得た。

脂肪酸メチルエステルの調製 各脂質区分に、5% 無水塩酸メタノールを加え、3 hr 還流し、蒸留水を加えて、n-ヘキサンで抽出した。ヘキサン層を、蒸留水で 2 回洗浄したのち、ヘキサン抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで 10% エーテルヘキサン, v/v 抽出を行なって精製した。

脂肪酸の分析 両抽出区分から得た脂肪酸メチルエステルは、8% n-ヘキサン溶液とし、ガスクロマトグラフィー (GLC) により分析した。GLC 分析は、GLC 装置：島津製 GC-6A (水素炎イオン化検出器)、カラム：WCOT ガラスキャピラリーカラム, 0.28 mm ϕ ×50 m, SP-2300, (日本クロマト工業)を用いて、カラム温度 200°C, キャリアーガス：水素, の条件で行ない、試料は、マイクロシリンジを用いて、1 μ l を注入した。各ピーク成分は以前に分析された他との試料との比較⁴⁾と同族体炭素数と保持時間の対数値との直線性の利用から同定した。

結果と考察

脂質の収量 各抽出区分の脂質の収量は、A=4.77 g, B=1.10 g であった。収率は、試料の湿重量に対して、A=0.346% で、これに B を加えた全脂質の収率は 0.426% だった。酸性条件による抽出量の増加は 23.0% だった。林らは⁵⁾、1970 年 4 月に北海道函館市近郊で採取したアナアオサを Bligh and Dyer 法で抽出し、その収率を 0.3% と報告している。この値は本研究の抽出区分 A の値とほぼ一致している。従って、Bligh and Dyer 法のみによる海藻の脂質の抽出は不完全であると考えられる。

脂肪酸組成の比較 A, B 両区分の脂肪酸組成は、ほぼ同一のパターンを示した。しかし、モノエン酸区分では多少組成が相違する傾向がある。たとえば、16:1 n-11; A=0.80%, B=0.36%, 20:1 n-9; A=0.07%, B=0.12%, 22:1 n-7; A=0.70%, B=1.30% である。また Table 1. に示したように、ECL 値が 10.72 から 13.86 の範囲では、B が非常に多くの未同定ピークを有している。未同定ピークの総量では、A=4.11%, B=2.69% で、B より A が多量であるにもかかわらず、特にこの範囲では、A がピーク数 1 で 0.75%, B がピーク数 8 で 2.15% で、B が A を上回っている。この範囲にピークを持つと考えられる脂肪酸は、アナアオサでは、報告されていないので、これらのピーク成分は、塩酸酸性抽出の特徴成分である。これらのような、A, B 両抽出区分の脂肪酸組成の差違は、それぞれで抽出された脂質クラスの相違によるものと考えられる。従って、今後 A, B 両抽出区分の脂質クラスの組成を明らかにし、脂質クラス別による脂肪酸組成の検討が必要である。

文献値との比較 Johns らが行ったアオサ (*Ulva lactuca*) の脂肪酸組成の分析結果³⁾を Table 2. に示した。本研究の脂肪酸組成の分析では、16:0, 16:4 n-3, 18:1 n-7, 18:3 n-3, 18:4 n-3 が特徴成分であり Johns らの結果に一致している。従って、アオサとアナアオサの脂肪酸組成は、ほぼ同一パターンであると言えるが、本結果では、*trans*-16:1 n-13 が検出されなかった。*trans*-16:1 n-13 は、アオサに 1% 以上含まれていることが報告されている^{3),6)}。従って *trans*-16:1 n-13 がアナアオサに存在するかどうか、再検討が必要である。

本報の実験の条件下では、塩酸酸性とすることにより、抽出物の収率は著しく増加した。A, B 両抽出区分の脂肪酸組成の相違は大きくなかったが、一般的には Bligh and Dyer 法による海藻脂質の抽出は不完全であり、塩酸酸性による再抽出が望ましいことが、本研究により確認された。

Table 1. Fatty acid composition of the lipids from a green alga,
Ulva pertusa

Peak no.	RRT	ECL	Fatty acid**	Composition (wt%)*	
				A	B
1	0.101	10.72	X 1	—	0.46
2	0.120	11.26	X 2	—	0.03
3	0.142	11.79	X 3	—	0.02
4	0.150	12.00	12:0	0.04	0.05
5	0.178	12.50	iso-13:0	—	0.13
6	0.197	12.83	X 4	—	0.29
7	0.206	13.00	13:0	—	0.29
8	0.219	13.16	X 5	—	0.66
9	0.235	13.39	X 6	—	0.05
10	0.244	13.51	iso-14:0	0.02	—
11	0.250	13.58	X 7	—	0.35
12	0.273	13.86	X 8	0.34	0.29
13	0.286	14.00	14:0	0.64	0.79
14	0.300	14.16	14:1 n-11	0.08	0.07
15	0.318	14.34	14:1 n-9	0.46	0.40
16	0.338	14.53	iso-15:0	0.06	0.04
17	0.358	14.72	X 9	0.05	—
18	0.392	15.00	15:0	0.12	0.12
19	0.408	15.13	X10	0.10	0.10
20	0.456	15.48	iso-16:0	0.27	0.28
21	0.498	15.76	X11	0.36	0.14
22	0.545	16.00	16:0	27.59	25.07
23	0.562	16.14	16:1 n-11	0.80	0.36
24	0.603	16.36	16:1 n-9	0.16	0.19
25	0.619	16.45	16:1 n-7	2.09	1.84
26	0.642	16.56	iso-17:0	0.07	—
27	0.714	16.90	16:2 n-6	0.50	0.39
28	0.790	17.21	16:3 n-6	0.05	—
29	0.842	17.42	X12	0.39	0.37
30	0.877	17.55	16:3 n-3	2.86	2.45
31	0.938	17.76	16:4 n-3	8.12	6.19
32	0.963	17.84	X13	—	0.02
33	1.000	18.00	18:0	0.25	0.33
34	1.125	18.34	18:1 n-9	1.25	1.94
35	1.158	18.43	18:1 n-7	11.77	14.15
36	1.232	18.62	X14	0.16	0.08
37	1.337	18.88	18:2 n-6	5.63	7.22
38	1.478	19.20	18:3 n-6	0.47	0.36
39	1.565	19.38	X15	0.07	0.09
40	1.643	19.53	18:3 n-3	15.72	15.78

高木・青山：アノアオサの脂肪酸組成

Peak no.	RRT	ECL	Fatty acid**	Composition (wt%)*	
				A	B
41	1.816	19.85	18:4 n-3	10.90	8.96
42	1.860	19.93	X16	0.12	—
43	2.065	20.26	20:1 n-9	0.07	0.12
44	2.113	20.33	20:1 n-7	0.17	0.27
45	2.705	21.11	20:3 n-6	0.21	0.21
46	2.880	21.31	20:4 n-6	0.35	0.34
47	3.295	21.73	20:4 n-3	0.76	0.86
48	3.396	21.83	X17	0.74	0.78
49	3.510	21.93	20:5 n-3	1.22	1.30
50	3.773	22.16	22:1 n-9	0.17	0.18
51	3.879	22.25	22:1 n-7	0.70	1.30
52	5.367	23.27	22:4 n-6	0.29	0.31
53	6.546	23.90	22:5 n-3	3.18	3.21
54	6.871	24.07	22:6 n-3	0.27	0.39
55	7.064	24.14	X18	0.36	0.38

* A, the first fraction of the total extracts, was extracted with a chloroform-methanol mixture, and B, the second, was extracted with a hydrochloric acid-acidified chloroform-methanol mixture.

** n-n gives the position of the ethylenic bond closest to the carbonyl group.

X n represents an unknown peak.

Table 2. Fatty acid composition of a green alga, *Ulva lactuca*³⁾

Fatty acid	Weight percent*	Fatty acid	Weight percent
12:0	tr	18:3 n-6	} 13.26
14:0	0.62	18:4 n-3	
16:0	31.73	20:0	0.13
16:1 n-9	tr	20:1 n-9	0.09
16:1 n-7	2.28	20:2 n-6	0.07
<i>trans</i> -16:1 n-13	1.77	20:3 n-6	0.73
16:2 n-6	} nd	20:3 n-3	} nd
16:2 n-4			
16:3 n-6	} 1.10	20:4 n-6	1.10
16:3 n-4			
16:3 n-3			
16:4 n-3	6.67	22:1 n-7	0.07
18:	0.29	22:4 n-6	} 2.07
18:1 n-9	2.80	22:5 n-3	
18:1 n-7	15.03	22:5 n-6	

Fatty acid	Weight percent*	Fatty acid	Weight percent
18:2 n-6	} 20.44	22:6 n-3	tr
18:3 n-3			

* tr: Components less than 0.05%. nd: Not determined.

文 献

- 1) Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917.
- 2) Dubinsky, Z. and Aaronson, S. (1979). Increase of lipid yields from some algae by acid extraction. *Phytochemistry* **18**, 51-52.
- 3) Johns, R.B., Nichols, P.D. and Perry, G.J. (1979). Fatty acid composition of ten marine algae from Australian waters. *Phytochemistry* **18**, 799-802.
- 4) 高木 徹・金庭正樹・板橋 豊 (1982). ウニ綱5種の脂肪酸, とくに Δ^5 脂肪酸についての研究. 北大水産彙報 **33** (4), 263-269.
- 5) 林 賢治, 黄田 茂, 加藤和昭, 山田 実 (1974). 海藻類17種のアセトン可溶性脂質の脂肪酸組成. 日水誌 **40** (6), 609-617.
- 6) Jamieson, G.R. and Reid, E.H. (1972). The component fatty acids of some marine algal lipids. *Phytochemistry* **11**, 1423-1432.