

ウニ脂質における 3,11- および 5,11- エイコサジエン酸の存在に関する研究*

河 内 正 通

Studies on the Occurrence of 3,11- and 5,11-Eicosadienoic Acids
in Sea-urchin Lipids

By
Masayuki KŌCHI

目 次

緒 論	85
本 論		
第 1 章	ウニ生殖巣脂質の脂肪酸分析	86
第 1 節	尿素付加分別法とガスクロマトグラフィーの併用による脂肪酸分析.....	86
第 2 節	硝酸銀含浸薄層クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィー の併用による脂肪酸分析.....	91
小 括	97
第 2 章	ウニ脂質成分中におけるエイコサジエン酸位置異性体の分布.....	99
小 括	105
第 3 章	エイコサジエン酸位置異性体の分離と確認.....	106
第 1 節	エイコサジエン酸位置異性体の分離.....	106
第 2 節	エイコサジエン酸位置異性体の確認.....	111
小 括	114

*水産大学校研究業績 第773号, 1976年7月8日 受理.
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 773
Received July 8, 1976.

第 4 章	エイコサジエン酸位置異性体の構造	114
第 1 節	質 量 分 析	114
第 2 節	過ヨウ素酸ナトリウム - 過マンガン酸カリウムによる酸化分解	116
第 3 節	アルカリ異性化前後の紫外線吸収スペクトル分析	118
第 4 節	キャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィー	121
第 5 節	ヒドラジン部分還元物の酸化分解	123
小 括		125
第 5 章	海産動植物中におけるエイコサジエン酸位置異性体の分布	126
第 1 節	軟体動物 二枚貝および腹足類における分布	126
第 2 節	棘皮動物における分布	131
第 3 節	海藻類における分布	133
第 4 節	魚類における分布	135
小 括		137
第 6 章	ウニならびに各種海産動植物脂質における 3,11- および 5,11- エイコサジエン酸の存在比率	138
第 1 節	ウニ脂質における存在比率	138
第 2 節	海産動植物脂質における存在比率	139
小 括		142
第 7 章	総 括	143
謝 辞		144
文 献		145
Summary		150

緒 論

ウニの生殖巣は、濃厚な独特の風味をもち、水産珍味食品として賞味されている。近年食生活の向上にともなって生ウニおよびウニ塩辛の需要も増大し、ウニは一地方の特産品の域を脱して重要な嗜好食品としての地位を固めつつある^{1,2)}。

ウニの成分組成については、生ウニおよびウニ塩辛の品質との関連において栄養学的または食品化学的立場からの多数の研究が見られる³⁻²¹⁾。

また、食味ならびに貯蔵中における変質など、ウニの品質に重大な影響をおよぼす脂質成分についてもかなりの研究がある^{1-3,5,14-18,22-30)}。

ウニ生殖巣の脂質含量は種類、産地、年令、性別および成熟度などによって異なる^{1-3,5,14-18,22-25)}。ムラサキウニおよびアカウニでは、パフンウニおよびエゾパフンウニに比べて脂質含量が高い¹⁾。三輪²⁵⁾は、エゾパフンウニについて生殖巣の脂質含量は成熟とともにかなり変化し、産卵後から生長期にかけて漸増し、成熟期に最高に達することを認めている。また、松崎ら¹⁵⁾は、山口県北浦沿岸のムラサキウニでは3~6月頃に脂質含量が高くなることを認めている。

ウニ脂質の脂肪酸組成についてもいくつかの研究がある²⁵⁻³⁰⁾。外山ら²⁶⁾は、パフンウニを主原料とする生殖巣脂質の脂肪酸を調べ、モノエチレン系不飽和脂肪酸が約50%、飽和脂肪酸および高度不飽和脂肪酸がそれぞれ約25%であり、オレイン酸がモノエチレン系不飽和脂肪酸の約50%を占めると報告している。

露木ら²⁷⁾は、ムラサキウニ脂質では低度不飽和脂肪酸が約83%を占めると報告している。

東ら²⁸⁾は、各種のウニ生殖巣脂質の脂肪酸組成を調べ、メキシコ産のウニは日本産のパフンウニおよびムラサキウニに比べて14:0酸が多く、C₂₀のポリエチン酸が少ないと述べている。

また、三輪²⁵⁾は、エゾパフンウニの脂肪酸組成は他の水産動物のそれとは著しく異なり、16:1酸の含有率がかなり高く、16:2酸も少量存在すると述べている。

畠山ら²⁹⁾は、三陸産のパフンウニについて全脂質含量は9.8%であり、脂質中リン脂質が70%、トリグリセリドが13%であることを認め、しかも脂肪酸組成は極めて特異的でC₂₀以上の脂肪酸が50%以上を占めると報告している。

一方、藤野ら³⁰⁾は、エゾパフンウニを用いて製造したウニ塩辛の貯蔵中における脂質変化を調べ、18:2、18:4、20:1、20:2、20:4または22:0、および22:1酸が貯蔵中に遊離しやすいことを認めている。

しかし、これらの脂肪酸分析の結果はいずれも試料メチルエステルまたはその水素化物のガスクロマトグラムから成分脂肪酸の同定ならびに定量を行ったものである。

ウニ脂質は、三輪²⁵⁾および畠山ら²⁹⁾も認めているように他の海産動物とは異なる特異的な脂肪酸組成を有しており、ガスクロマトグラム上にほぼ同一保持時間をもつ2種類以上の脂肪酸が重なって出現したと考えられる混成ピークが多数存在する。したがって、試料メチルエステルについてのガスクロマトグラフィーの結果のみから詳細な脂肪酸組成を求めることは困難である。僅少量成分を検出し、正確な脂肪酸組成を調べるには、ガスクロマトグラフィーと他の分別手段を併用して分析する必要がある。

脂肪酸の分別法としては低温結晶法³¹⁻³⁴⁾、尿素付加分別法³⁵⁻⁴⁰⁾、リチウム塩アセトン法³⁶⁾、水銀付加物法^{34,41,42)}、向流分配法⁴³⁻⁴⁵⁾、ペーパークロマトグラフィー⁴⁶⁻⁴⁹⁾、カラムクロマトグラフィー⁵⁰⁻⁵⁷⁾、薄層クロマトグラフィー⁵⁸⁻⁷²⁾および分取ガスクロマトグラフィー⁷³⁻⁷⁷⁾などの方法がある。しかしながら、これらの方法は、脂肪酸の構造研究のための分離、精製手段として一般に用いられており、脂肪酸組成を調べる目的でガスクロマトグラフィーの補助的な分別手段として用いられることは少ない。

新間ら^{78,79)}は貝類および魚類背肉の脂肪酸分析において成分脂肪酸の二重結合数の判定に尿素付加分別法を用いている。WOLFEら⁸⁰⁾は水銀付加物法を用いてザリガニの脂肪酸組成を詳細に調べている。また、佐野ら^{40,81-84)}は、鯨油の構成脂肪酸を尿素付加分別法および硝酸銀含浸薄層クロマトグラフィーを用い

て詳細に調べ、多数の僅少量成分を検出している。

そこで、ウニ脂質のガスクロマトグラフィーによる脂肪酸分析の前処理手段として、尿素付加分別法または硝酸銀含浸薄層クロマトグラフィーの適用を検討した。その結果、硝酸銀含浸薄層クロマトグラフィーが有用な手段であることを確認し、正確な脂肪酸組成を求めることができた。また、この分析によってウニ脂質中に11,14-エイコサジエン酸とともに、特異な構造を有するエイコサジエン酸がかなり多量に存在することがわかった。

海産動物油中には多数の高度不飽和脂肪酸が存在するが、これらの高度不飽和脂肪酸は構造的に共通した特徴をもつことが知られている⁸⁵⁻⁸⁷⁾。C₁₈以上のものでは、二重結合相互の配置はすべてジビニルメタン型であり、カルボキシル基から最も離れた二重結合が末端メチル基から9番目、6番目あるいは3番目の炭素原子とその隣のカルボキシル基に近い側の炭素原子との間に存在する。これらの構造をもつ脂肪酸は脂質代謝の見地からそれぞれオレイン酸系列、リノール酸系列およびリノレン酸系列の脂肪酸として分類される⁸⁸⁾。

一方、天然物中には前述のいずれの系列にも属さない脂肪酸が存在している⁸⁹⁻⁹⁰⁾。特に陸産植物種子油から特異な二重結合配置をもつ脂肪酸がいくつか検出されている^{32,34,39,74,75,91-99)}。

著者はウニ脂質からオレイン酸系列、リノール酸系列およびリノレン酸系列のいずれにも属さない特異な二重結合配置をもつエイコサジエン酸を検出した。このような特異な構造をもつ脂肪酸が海産動植物脂質中に多量に存在するという報告は見あたらない。

それゆえ、ウニ脂質からこのエイコサジエン酸位置異性体(20:2 酸異性体)を分離、精製し、二重結合の位置決定を行った。その結果、ウニ脂質中に構造の類似する2種類の20:2 酸異性体が存在することが判明した。その1つは天然物中からはじめて見いだされた3,11-20:2 酸であり、他の1つは貝類脂質^{100,101)}から少量検出されている以外には海産動植物脂質中の存在が知られていない5,11-20:2 酸であることを明らかにした。

次いで、20:2 酸異性体の海産動植物中における分布と3,11-および5,11-20:2 酸のそれら脂質における存在比率を調べ、さらに考察を行った。

本論文は、上記の事項に関する実験および結果について記述したものである。

第1章 ウニ生殖巣脂質の脂肪酸分析

動植物脂質の脂肪酸組成はガスクロマトグラフィー(GLC)によって分析されているが、さらに詳細な組成を調べるにはGLCと他の分別手段とを併用する方法が行われている^{40,78-84)}。

ウニ生殖巣脂質の脂肪酸組成は魚油のそれと比べてかなり複雑であり、GLC分析の結果のみから正確な組成を求めることは困難である。

そこで、ウニ生殖巣脂質の正確な脂肪酸組成を調べる目的で、試料メチルエステルをまず二重結合数に従って分別したのち、得られた画分をGLC分析する方法について検討した。

第1節 尿素付加分別法とガスクロマトグラフィーの併用による脂肪酸分析

尿素付加法による脂肪酸の分別は、操作が簡単で、多量の試料を一度に処理できる利点があるため、不飽和脂肪酸の分離、精製の手段として広く用いられている³⁵⁻³⁹⁾。また、複雑な組成をもつ脂質の脂肪酸分析においてGLCの補助的な分別手段として利用されている^{40,78,79)}。

そこで、この分別法とGLCを併用することによって、数種類のウニ生殖巣脂質の脂肪酸組成を分析した。

実験方法

試料 種類または生息海域を異にする第1表に示すようなウニ生殖巣を用いた。これらのウニはいずれも主漁期（6～9月）中に採捕したものである。このうち、北浦（下関市近辺の日本海沿岸地方）産ウニは新鮮な生殖巣を直ちに供試し、北海道および韓国産ウニは採取直後、生殖巣に適量の食塩を加えて軽く脱水したのち樽詰めとし、2～12か月間冷蔵されたものを用いた。

脂質の抽出 ウニ生殖巣からアセトンおよびエチルエーテル可溶性脂質を抽出し、これを試料脂質とした。得られた脂質のケン化価およびヨウ素価を第2表に示す。

脂肪酸メチルエステルの調製 試料脂質をケン化し、不ケン化物を除去したのち、加水分解して混合脂肪酸を得た。これに3%塩化水素-メタノール溶液を加えて約75°Cで1時間還流し、脂肪酸メチルエステルを調製した。

メチルエステルの水素化 試料メチルエステル1.0gをn-ヘキサンに溶解し、白金黒を触媒として水素化した¹⁰²⁾。

尿素付加分別 試料メチルエステル15.0gを無水メタノール150mlに溶解し、佐野らの方法⁴⁰⁾に従って尿素付加分別した。すなわち、第3表に示すように5画分に分別した。

Table 1. Specification of sea-urchin gonad used as raw materials.

Sample No.	Species	Source	Treatment
1	Bafun-uni (<i>Strongylocentrotus pulcherrimus</i>)	Kitaura	Shucked in fresh state
2	Murasaki-uni (<i>Anthocidaris crassispina</i>)	Kitaura	Shucked in fresh state
3	Kitamurasaki-uni (<i>S. nudus</i>)	Hokkaido	Shucked and the gonad was salted prior to storage at 0-3°C for two months
4	Murasaki-uni (<i>A. crassispina</i>)	Korea	Shucked and the gonad was salted prior to storage at 0-3°C for twelve months
5	Aka-uni (<i>Pseudocentrotus depressus</i>)	Korea	Shucked and the gonad was salted prior to storage at 0-3°C for twelve months

Table 2. Properties of the lipids from sea-urchin gonad.

Sample No.	Saponification value	Iodine value
1	202.8	134.9
2	186.3	103.1
3	188.6	164.2
4	194.0	125.5
5	203.3	150.4

Table 3. Fractionation of fatty acid methyl esters as urea inclusion compounds.

Fraction No.	Reference
1	Crystallized compounds in the incubation at 15-20°C for three hours after the addition of 15 g of urea.
2	Crystallized compounds in the incubation at 15°C for three hours after the addition of 15 g of urea to the fraction obtained from removing fraction 1.
3	Crystallized compounds in the incubation at 15°C for three hours after the addition of 10 g of urea to the fraction obtained from removing fraction 2.
4	Crystallized compounds in the incubation at 15°C for three hours after the addition of 10 g of urea to the fraction obtained from removing fraction 3.
5	Crystallized compounds in the overnight incubation of the filtrate from fraction 4 at 0-1°C.

脂肪酸分析 GLCの分析条件は第4表に示すとおりである。脂肪酸の同定には、標準脂肪酸の保持時間との比較または相対保持時間(ステアリン酸メチルの保持時間を1.00とする)の対数と炭素数との直線関係を利用した¹⁰³⁾。標準脂肪酸としては、市販の12:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 22:0, 18:1 ω 9, 18:2 ω 6, 18:3 ω 3, 22:1 ω 9酸メチルおよび海産魚油中に存在する18:4 ω 3, 20:3 ω 3, 20:4 ω 3, 20:5 ω 3, 22:5 ω 3, 22:6 ω 3酸メチルを用いた。脂肪酸の定量はピーク面積(半値幅法)比を求めることにより行い、面積百分率を重量百分率として表示した。なお、尿素付加分別によって得られた画分のガスクロマトグラムから個々の脂肪酸メチルの二重結合数を推定し、また正確な保持時間を求めて脂肪酸の同定ならびに定量の資に供した。

Table 4. Conditions for gas-liquid chromatography.

Apparatus : SHIMADZU Gas Chromatograph Model GC-1B
Column dimensions : 300×0.4 cm i.d. stainless steel
Solid support : Shimalite W (60/80 mesh)
Stationary phase : Diethylene glycol succinate polyester (10 : 90)
Temperatures : Column, 190°C; Injection, 260°C; Detector, 205°C
Carrier gas : Nitrogen; Flow rate, 60 ml/min; Inlet pressure, 2.0 kg/cm ² ; Outlet pressure, atmospheric
Detector : SHIMADZU Hydrogen Flame Ionization Detector Model HFD-1
Flow rate of hydrogen gas : 48 ml/min
Flow rate of air : 1.8 l/min

実験結果

ウニ脂質の脂肪酸メチルはいずれも魚油のそれとは著しく異なる特徴あるクロマトグラムを与えた。すなわち、保持時間約50分までにすべての成分が出現し、C₂₂の高度不飽和脂肪酸およびC₂₃以上の高級脂肪酸に相当するピークは認められなかった。また、中級脂肪酸に相当するピークが多数出現したが、これらのピークの多くはほぼ同じ保持時間をもついくつかの脂肪酸が重なって出現したと考えられる混成ピークであった。したがって、試料メチルエステルのクロマトグラムのみから正確な成分脂肪酸の同定ならびに定量を行うことは困難であった。このため、試料メチルエステルを尿素付加分別し、得られた画分をGLC分析した。

キタムラサキウニ脂質の脂肪酸メチルおよびこれを尿素付加分別して得られた画分のクロマトグラムの一部分を第1図に示す。ピーク(A)は画分1と最終画分でそれぞれ最大となる2つのピークを与えた。したがって、ほとんど同じ保持時間をもつ2成分が重なって出現した混成ピークであることが判明し、画分1および2で出現する脂肪酸を18:0酸、画分4および最終画分で出現する脂肪酸を16:3酸と同定した。同様にして、他のピークについても尿素付加分別の各画分のクロマトグラムの差異を参考にして総合的に判断し、脂肪酸の同定を行った。

ピーク(B)はこのようにしても、なお同定することができなかった。すなわち、このピークは、保持時間がちょうど19:0酸に相当するが、尿素付加分別の挙動から飽和脂肪酸ではなく、トリエン酸かテトラエン酸と考えられる。しかし、このピークに相当する脂肪酸は見あたらない。したがって、この脂肪酸は16:4酸か17:3酸の異性体、または16:4のオキシ酸のいずれかであろうと推定されるが、水素化物の定量値からC₁₇酸ではなく、C₁₆酸と考えられた。IVERSON³⁷⁾およびSCHLENK³⁸⁾は分枝鎖脂肪酸およびオキシ酸は直鎖脂肪酸に比べて尿素付加物を形成し難いことを認めているが、尿素付加分別におけるこのピークの挙動は16:4酸のそれと類似した。したがって、ピーク(B)の成分は16:4酸の二重結合の位置異性体¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾であろうと推定した。この16:4酸異性体はキタムラサキウニのみで小さなピークとなって現われた。アカウニでは明らかなピークを与えなかったが、尿素付加分別のクロマトグラムから僅少量存在することが確認された。しかし、その他のウニではその存在は確認できなかった。

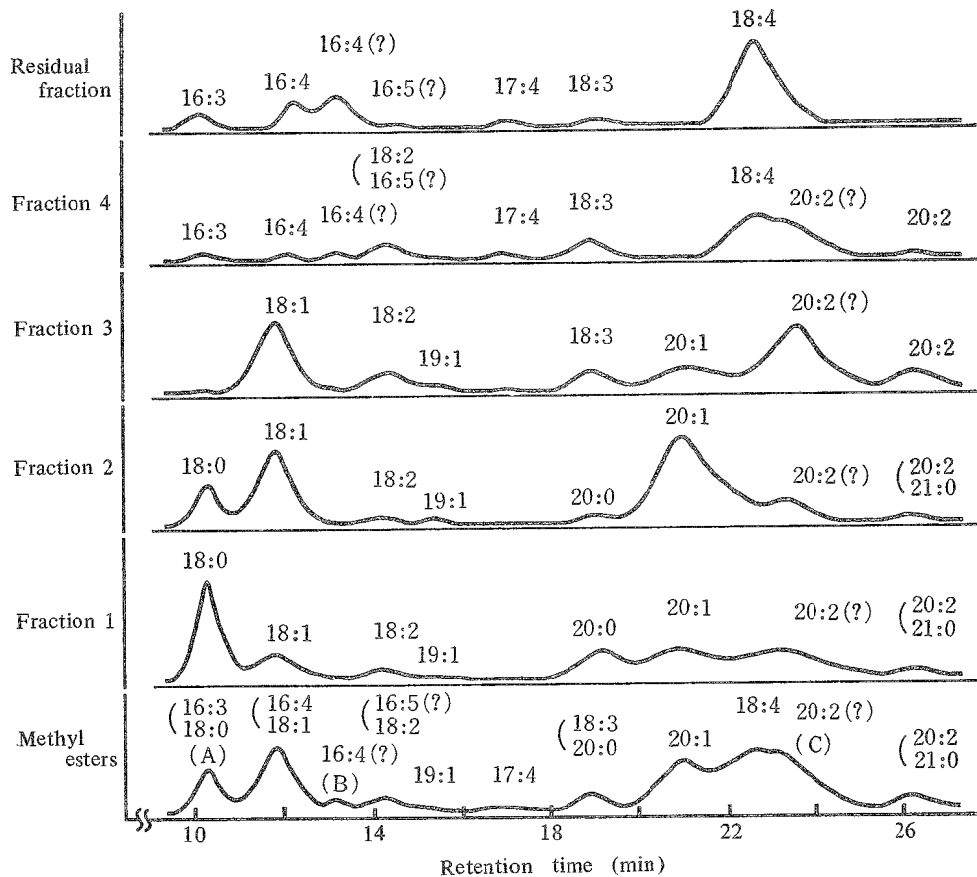


Fig. 1. Gas chromatograms of fatty acid methyl esters from *S. nudus* and of their fractions separated by urea fractionation.

同様に、20:1酸と20:2酸のピークの間には2成分が重なって出現したと考えられる変形ピークが検出された。この後方のピーク(C)は、尿素付加分別の画分1から現われ、画分3で最大となったが、これに相当する脂肪酸は見あたらない。水素化物の定量値から C_{20} 酸と考えられ、また尿素付加分別の挙動が20:2酸と類似することから、20:2酸のシス-トランスまたは二重結合の位置異性体のいずれかであろうと推定される。

以上のようにして、尿素付加分別における挙動を参考にして試料メチルエステルのピークの成分脂肪酸を同定または推定し、定量を行った。得られたウニ生殖巣脂質の脂肪酸組成を第5表に示す。ウニ生殖巣脂質の構成脂肪酸として39~40種類の脂肪酸が検出された。そのうち、おもな脂肪酸は14:0, 16:0, 18:1, 18:4, 20:1, 20:3および20:5酸であり、このほか20:2酸の異性体と推定される脂肪酸も主要な構成脂肪酸の1つであった。また、 C_{14} , C_{16} , C_{18} および C_{20} 酸では不飽和度または構造を異にする多数の脂肪酸が検出された。ウニの種類または生息海域の相違によって、構成脂肪酸の種類および含有率に顕著な差異は認められなかった。しかしながら、各脂肪酸含有率はそれぞれわずかに異なった。すなわち、北浦産パフンウニでは、他のウニに比べて16:4, 18:4および20:0酸含有率が高かった。また、北浦産ムラサキウニでは14:0および20:1酸含有率が高く、20:5酸含有率が低かった。これとは反対に、北海道産キタム

Table 5. Fatty acid composition of the lipid from sea-urchin gonad (% of total fatty acid methyl esters).

Fatty acid	Sample No.					Fatty acid	Sample No.				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
12:0	0.1	0.1	Trace	0.1	Trace	18:0	2.1	2.2	2.2	2.3	2.3
12:4	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	18:1	5.8	6.5	4.6	7.3	6.1
13:1	0.1	Trace	0.1	0.2	0.1	18:2	1.7	0.8	1.7	1.4	0.8
14:0	8.2	15.9	6.9	11.4	8.3	18:3	1.5	2.5	2.7	0.9	1.6
14:1	0.2	0.7	0.3	0.5	0.4	18:4	8.1	5.0	6.3	5.2	6.6
14:2	Trace	Trace	Trace	Trace	0.1	18:5(?)	1.6	0.4	1.3	0.7	0.8
14:3	0.1	Trace	Trace	0.1	0.2	19:1	0.2	Trace	Trace	0.2	0.1
14:4(?)	0.7	0.7	0.6	0.7	0.6	19:4	0.7	0.7	0.8	0.8	0.7
15:0	0.3	0.3	0.2	0.4	0.2	20:0	5.2	2.3	3.0	2.4	2.8
15:1	0.1	Trace	0.1	0.1	0.1	20:1	5.3	10.1	6.3	7.8	8.5
16:0	16.7	16.5	14.2	16.5	15.5	20:2(?)	5.5	8.8	6.7	8.0	5.3
16:1	3.0	4.1	4.9	4.6	4.5	20:2	0.2	0.9	0.3	0.8	0.8
16:2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	20:3	7.4	5.8	8.1	7.9	10.3
16:3	0.8	0.7	0.4	0.6	0.7	20:4	2.7	2.0	2.1	1.7	1.7
16:4	4.2	0.9	0.5	0.8	0.2	20:5	9.5	5.4	16.2	8.6	11.8
16:4(?)	—	—	0.6	—	0.2	21:0	Trace	Trace	0.3	Trace	Trace
16:5(?)	0.7	0.6	0.4	0.4	0.8	21:1	1.0	1.2	1.2	1.3	1.0
17:0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	22:0	1.2	0.6	0.9	1.3	1.1
17:1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	22:1	3.1	2.2	2.5	2.7	2.7
17:4	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3	22:2	1.3	1.3	2.6	1.3	2.1

Table 6. Proportion of fatty acid methyl esters from sea-urchin gonad(% of total fatty acid methyl esters).

Sample No.	Based on unsaturation			Based on chain length		
	Saturated acids	Monoenes	Polyenes	C ₁₂ -C ₁₄ acids	C ₁₅ -C ₁₉ acids	C ₂₀ -C ₂₂ acids
1	33.9	18.9	47.2	9.5	48.1	42.4
2	38.0	24.9	37.1	17.6	41.8	40.6
3	27.8	20.2	52.0	8.1	41.7	50.2
4	34.6	24.8	40.6	13.1	43.1	43.8
5	30.3	23.7	46.0	9.9	42.0	48.1

ラサキウニでは20:5酸含有率が高く、14:0酸含有率が低かった。

構成脂肪酸を不飽和度または炭素鎖長によって大別し、その含有率を比較すると第6表のとおりである。ウニ生殖巣脂質にはC₂₂のポリエン酸は存在しないにもかかわらず、ポリエン酸およびC₂₀以上の高級脂肪酸含有率が高い。特にキタムラサキウニでは、これらの脂肪酸含有率が50%以上に達した。また、モノエン酸含有率は、いずれも20%前後であり、外山ら²⁶⁾および露木ら²⁷⁾の結果と比べてかなり低い。北浦産と韓国産ムラサキウニの組成はほぼ類似したが、その他のウニの組成はそれぞれわずかに異なった。

考 察

ウニ生殖巣脂質の構成脂肪酸として、三輪²⁵⁾は17種類、畠山²⁹⁾は23種類の脂肪酸を検出しているが、尿素付加分別法と GLC を併用して分析することによって、39~40種類の脂肪酸を同定または推定した。すなわち、混成ピークの成分脂肪酸を分離し、僅少量成分を検出することによって、より詳細な脂肪酸組成を求めることができた。

ウニ脂質のおもな構成脂肪酸は 14:0, 16:0, 18:1, 18:4, 20:1, 20:3 および 20:5 酸であり、このほか、20:2 酸の異性体と推定される脂肪酸も主要構成脂肪酸の1つであった。このような異性体が海産動植物脂質中に存在するという報告は少ない。菊地¹⁰⁷⁾は東京湾のシャコで僅少量の 20:2 酸(?) の存在を報告しているが、それがこの異性体に相当するものかどうかは明らかでない。

ウニ脂質は魚油と比べて、14:0, 18:4, 20:1 および 20:3 酸含有率が高く、18:0, 18:1 および 22:1 酸含有率が低い。したがって、上田¹⁰⁸⁾は、33種類の海産魚油の脂肪酸組成を分析し、それをマグロ型、アジ型およびサバ型に大別しているが、ウニ脂質の脂肪酸組成はそのいずれの型にもあてはまらない。また、新聞⁷⁹⁾が示している海産硬骨魚の構成脂肪酸の代表的なパターンともかなり相違する。

海産魚の卵巣脂質の脂肪酸組成^{109,110)}は魚肉脂質のそれとほぼ類似する。このため、同じ生殖巣であっても、ウニ生殖巣と魚卵の脂肪酸組成はかなり異なる。

海藻脂質の脂肪酸組成は種類によって著しく異なるが^{111,112)}、ウニ脂質の脂肪酸組成はそのいずれともかなり相違する。しかし、海藻類脂質にはウニ脂質と同様に C₂₂ のポリエン酸および C₂₃ 以上の高級脂肪酸がほとんど存在しない。また、種類によってウニ脂質で含有率の高い 14:0, 16:0, 18:1, 18:4, 20:3 および 20:5 酸のうち、いずれかを特異的に多く含むものがある。

このほか、貝類脂質^{78,113)} およびプランクトン類脂質¹¹⁴⁻¹¹⁸⁾の脂肪酸組成もウニ脂質のそれとはかなり相違する。

ウニは雑食性の傾向はあるが、海藻類を主体とする草食性である^{119,120)}。そのため、ウニ生殖巣脂質は海藻脂質の影響もうけて、海産動物脂質および海藻脂質のいずれとも異なる特徴ある脂肪酸組成を有するものと考えられる。

第2節 硝酸銀含浸薄層クロマトグラフィーと ガスクロマトグラフィーの併用による脂肪酸分析

前節において、尿素付加分別法と GLC を併用してウニ脂質の脂肪酸組成を分析したが、得られた分別結果は必ずしも良好でなかった。一方、尿素付加分別法と同様に不飽和度に基づく脂肪酸の分別法として、硝酸銀含浸薄層クロマトグラフィー(硝酸銀 TLC)がある。この方法は、銀イオンが不飽和化合物と錯化合物をつくる原理を応用したもので、不飽和脂肪酸の分離、精製的手段として広く利用されている^{59,62,67-69,72)}。

本節では、硝酸銀 TLC を GLC の前処理的分別手段として利用することによって、ウニ生殖巣脂質の脂肪酸分析を行った。

実 験 方 法

脂質の抽出 生殖巣に適当量の食塩を加えて軽く脱水したのち、樽詰めとし、約10か月間冷蔵された韓国産ムラサキウニ生殖巣から抽出したアセトン可溶性脂質に3倍量のエチルエーテルを加えて室温で3回脂質を抽出した。得られた脂質に再び5倍量のアセトンを加えて非極性脂質を抽出し、これを試料脂質とした。

脂肪酸メチルエステルの調製¹²¹⁾ 試料脂質に10倍量の3%塩化水素-メタノール溶液を加えて75°Cで4時間還流し、脂肪酸メチルエステルを調製した。

脂肪酸メチルエステルの精製 シリカゲルTLC^{58,61)}を利用した。すなわち、シリカゲルG(Merck社製)の

厚さ600 μ のプレート(20 \times 20cm)を作製し、110°C、60分間加熱して活性化した。このプレートにメチルエステル約80 μ lを帯状にスポットし、石油エーテル-エチルエーテル-酢酸(90:10:1, v/v)で展開した。風乾後、2',7'-ジクロロフルオレセイン溶液を噴霧して紫外線下でバンドの位置を検出し、メチルエステル画分を分取した。これを試料メチルエステルとした。

硝酸銀 TLCによる分画^{40,67)} シリカゲルG 30gに12.5% (w/v)硝酸銀溶液60mlを加えて作製した厚さ600 μ のプレート(20 \times 20cm; 110°C, 90分間加熱活性化)に試料メチルエステル約80 μ lを帯状にスポットし、*n*-ヘキサン-エチルエーテル-酢酸(70:30:1, v/v)を用いて暗所で展開した。風乾後、2',7'-ジクロロフルオレセイン溶液を噴霧してバンドの位置を検出し、7画分に分画した。

脂肪酸分析 GLCの分析条件および脂肪酸の同定、定量の方法は第1節に準じた。なお、標準脂肪酸として、20:2 ω 6, イン14:0, イン16:0, イン18:0, イン20:0, アンテイン15:0, アンテイン17:0, アンテイン19:0およびアンテイン21:0の各脂肪酸メチル(Applied Science Lab.製)を加えて用いた。また、不飽和脂肪酸の二重結合の位置の推定には end carbon chain (ECC すなわち ω)¹⁰³⁾ や separation factor (SF)¹²²⁾を考慮した。

実験結果

ウニ生殖巣非極性脂質の脂肪酸メチルエステルの硝酸銀 TLCによるクロマトグラムを第2図に示す。試料メチルエステルは10個以上のバンドに分別されたが、隣接するバンドをあわせて7画分に分画した。すなわち、 R_f 値の大きな順に画分1, 2, 3, ……とし、 R_f 値の最も小さなバンドと原点とをあわせて画分7とした。

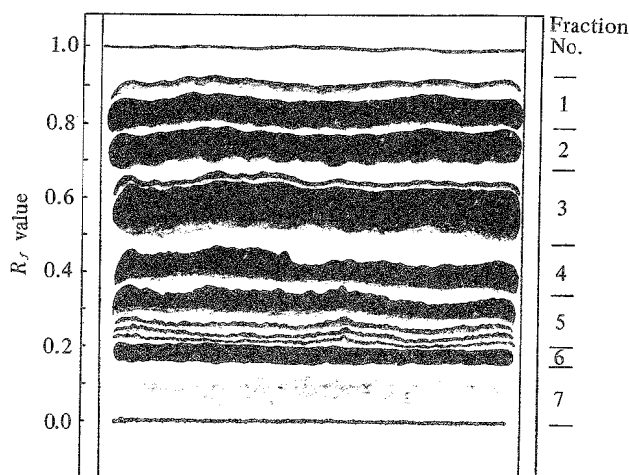


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of fatty acid methyl esters on silica gel impregnated with silver nitrate. Developer: *n*-hexane-ethyl ether-acetic acid (70:30:1, v/v)

試料メチルエステルおよび硝酸銀 TLC で得られた各画分のメチルエステルのガスクロマトグラムを第3図に示す。試料メチルエステルのクロマトグラム上に得られたピークの数は29であった。このうち、問題となるピークはピーク番号12, 15, 20および21であったので、図ではピーク番号22までのクロマトグラムを示してある。

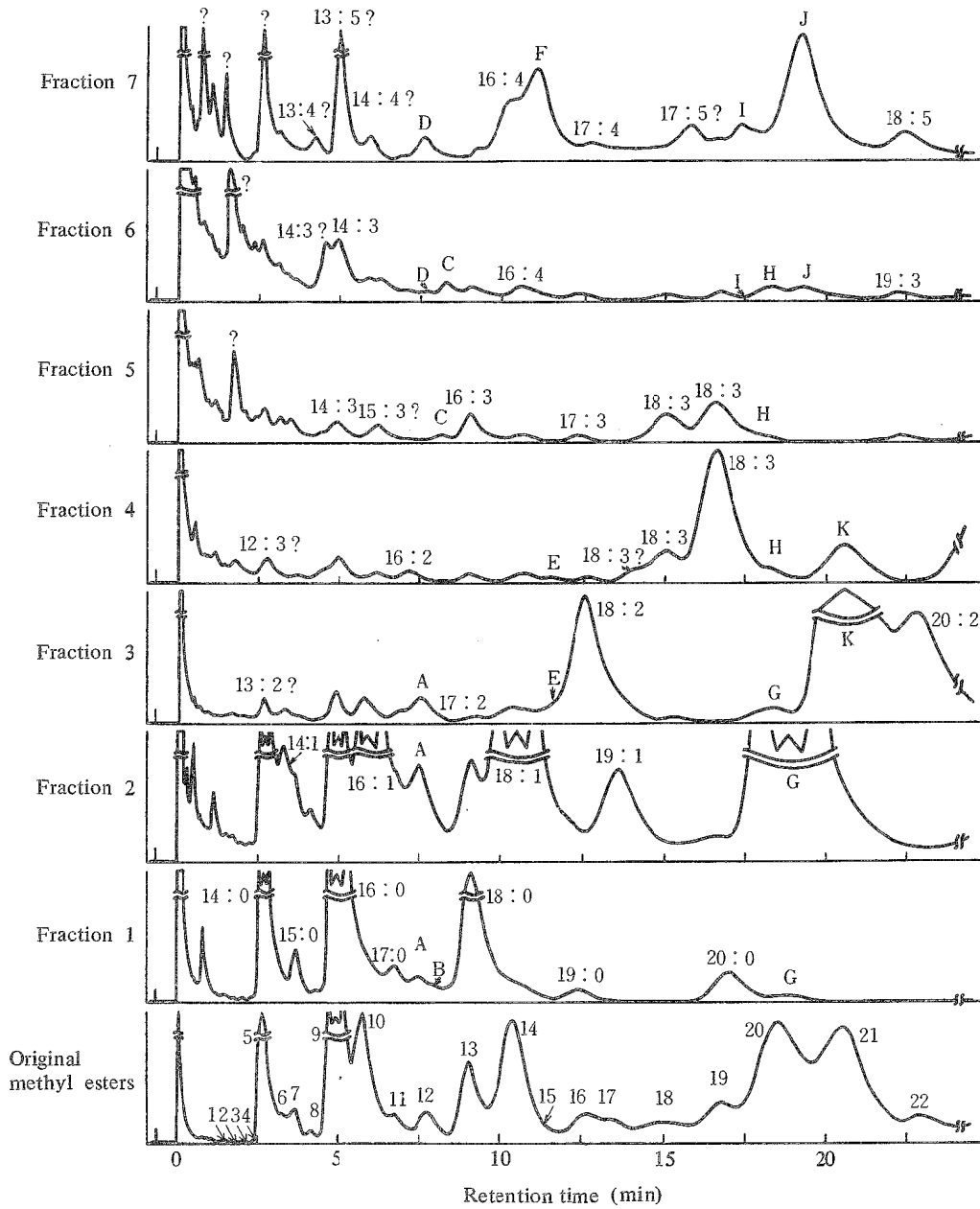


Fig. 3. Gas chromatograms of fatty acid methyl esters fractionated into homologues by thin-layer argentation chromatography.

ピーク12は硝酸銀 TLC の画分 4 を除く、すべての画分でピークとなって現われた。このうち、画分 1、2 および 3 に現われるピーク A はいずれも同一保持時間をもつため、同じ脂肪酸のピークと判断し、第 4 図の保持時間-炭素数直線から 17:1 酸と同定した。画分 1 では、このピークの後方に小さなピーク B が認められた。この小ピークは試料メチルエステル水素化物のクロマトグラム上にも存在し、相対保持時間がイソ 18:0 酸のそれと一致したので、ピーク B をイソ 18:0 酸と同定した。画分 5 および 6 に現われるピーク C は、主としてトリエン酸を含有する画分 5 に多量に存在し、相対保持時間から 16:3 酸と推定されたが、トリエン酸($\omega 3$)を結ぶ直線上にのらず、ジエン酸($\omega 6$)とトリエン酸($\omega 3$)の両直線のほぼ中間に位置した。水産動物脂質中には、16:3 $\omega 4$ 酸および16:3 $\omega 6$ 酸が存在することが知られている⁸⁵⁾。ポリエステルカラムにおける ECC と保持時間との関係^{122, 123)}および16:3 $\omega 4$ 酸に対する SF から、ピーク C を16:3 $\omega 6$ 酸と同定した。ピーク12以外でも、ジエン酸とトリエン酸の両直線のほぼ中間に位置する脂肪酸がいくつか認められ

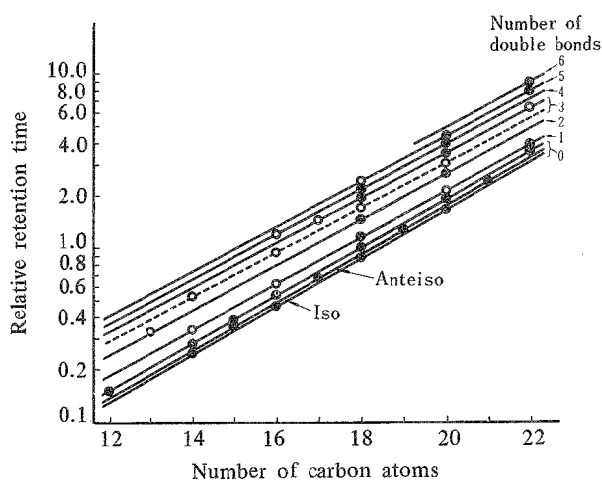


Fig. 4. Relative retention time plotted against the number of carbon atoms of fatty acids.

- : authentic methyl esters
- : methyl esters separated from samples

た。これらの脂肪酸を結ぶと、16:3 $\omega 6$ 酸を含めてトリエン酸($\omega 3$)の直線にはほぼ平行な直線(第4図に破線で示す)が得られる。したがって、この直線上にのる脂肪酸をすべて $\omega 6$ 系列のトリエン酸と同定した。画分 6 において、16:3 $\omega 6$ 酸の前に存在し、画分 7 で明確なピーク D となって現われる脂肪酸は硝酸銀 TLC における挙動からテトラエン酸と推定される。しかしながら、保持時間-炭素数直線において、テトラエン酸($\omega 3$)の直線のやや下に位置した。これらのことから、ピーク D は 15:4 酸の二重結合の位置異性体であろうと推定した。したがって、ピーク12は 17:1, イソ 18:0, 16:3 $\omega 6$ および15:4 酸異性体の 4 種類の脂肪酸からなる混成ピークであると考えられる。

ピーク15は硝酸銀 TLC の画分 3, 4 および 7 の 3 画分でピークとなって現われた。このうち、画分 3 および 4 で 18:2 $\omega 6$ 酸の直前に現われるピーク E はジエン酸と推定され、18:1 $\omega 9$ 酸および18:2 $\omega 6$ 酸に対する SF から 18:2 $\omega 9$ 酸と同定した。画分 7 に現われるピーク F はテトラエン酸またはペンタエン酸と考えられるが、保持時間-炭素数直線において、テトラエン酸($\omega 3$)およびペンタエン酸($\omega 3$)の両直線の中間に位

置した。ECCと保持時間との関係および16:4 ω 3酸に対するSFから、ピークFを16:4 ω 1酸と同定した。この脂肪酸は水産動物脂質中に広く分布することが知られている⁸⁵⁾。したがって、ピーク15は18:2 ω 9および16:4 ω 1の2種類の脂肪酸からなる混成ピークであることがわかる。

ピーク20は硝酸銀TLCのすべての画分でピークとなって現われた。すなわち、画分1, 2および3におけるピークG, 画分4, 5および6におけるピークH, 画分6および7における2つのピークIとJである。このうち、ピークGおよびJは相対保持時間からそれぞれ20:1 ω 9および18:4 ω 3酸と同定された。一方、ピークHはトリエン酸を多量に含有する画分に現われることから、19:3酸と推定されるが、相対保持時間が19:3 ω 3酸および19:3 ω 6酸のいずれとも一致しなかった。また、試料メチルエステル水素化物のクロマトグラム上には19:0分枝鎖脂肪酸のピークは認められないことから、C₁₉の不飽和分枝鎖脂肪酸の存在は考えられない。これらのことから、ピークHは19:3酸異性体であろうと推定した。ピークIは、画分6および7に現われることからテトラエン酸と考えられ、相対保持時間から18:4酸と推定される。しかし、18:4 ω 3酸または18:3 ω 6酸に対するSFから18:4 ω 6酸とは考えられない。したがって、ピークIは18:4酸異性体であろうと推定した。以上のことから、ピーク20は20:1 ω 9, 18:4 ω 3, 19:3酸異性体および18:4酸異性体の4種類の脂肪酸からなる混成ピークであると考えられる。

ピーク21は前節において、尿素付加分別の挙動から20:2酸の異性体と推定した脂肪酸のピークに相当する。硝酸銀TLCにおいても、ジエン酸を多量に含有する画分3で最大のピークKとして現われた。しかも、この脂肪酸の含有率は画分3における全脂肪酸の約50%に達した。このピークKは保持時間-炭素数直線において、モノエン酸(ω 9)とジエン酸(ω 6)の両直線のほぼ中間に位置するが、20:1 ω 9酸または20:2 ω 6酸に対するSFから20:2 ω 9酸とは考えられない。一方、試料メチルエステルの水素化物のクロマトグラム上には20:0分枝鎖脂肪酸のピークは認められないことから、C₂₀の不飽和分枝鎖脂肪酸とは考えられない。したがって、ピーク21は20:2酸の二重結合の位置異性体(20:2酸異性体*)であろうと推定した。

前記以外のピークについても、硝酸銀TLCで分画した各画分のガスクロマトグラムを参考にして混成ピークの成分脂肪酸の同定または推定を行った。その結果を第7表に示す。試料メチルエステルのガスクロマトグラム上に出現するピークのほとんどは2種類以上の脂肪酸からなる混成ピークであることがわかり、ウニ生殖巣脂質の構成脂肪酸として総計76種類の脂肪酸が検出された。

さらに、第7表に基づき、硝酸銀TLCで得た各画分中に存在する脂肪酸の不飽和度に基づく分布を調べたものが第8表である。飽和酸、モノエン酸およびジエン酸はそれぞれ画分1, 2および3に主として存在し、トリエン酸は画分4および5に存在した。また、ペンタエン酸は画分7に存在したが、テトラエン酸はウニ脂質中にあまり存在しないため、テトラエン酸を主とする画分は得られなかった。しかし、画分6でテトラエン酸含有率が最も高いことから、多分この画分に存在するものと考えられる。

次に、各脂肪酸の定量を行った結果を第9表に示す。混成ピークについては、硝酸銀TLCで分画した各画分のガスクロマトグラムから成分脂肪酸の単独ピークの正確な保持時間および各画分中における含有率を求め、これらを参考として作図を行い、それぞれの脂肪酸の含有率を求めた。ウニ生殖巣非極性脂質のおもな構成脂肪酸は14:0, 16:0, 18:1 ω 9, 20:1 ω 9, 20:2酸異性体, 20:3 ω 3および20:5 ω 3酸であった。このほか、分枝鎖脂肪酸、不飽和脂肪酸の二重結合の位置異性体および高度不飽和奇数炭素鎖脂肪酸が多数検出された。

分枝鎖脂肪酸については、ネズミザメ筋肉油¹²⁴⁾、アラリイルカ油¹²⁵⁾、タラ肝油¹²⁶⁾および鯨油^{40,81,82,127)}中に存在することが報告されている。本実験においても、硝酸銀TLCの画分1または試料メチルエステル水素化物のガスクロマトグラムから僅少量であるが、イン16:0, イン18:0, アンテイン15:0およびアンテイン17:0酸の存在が確認された。

* 本論文では第4章で構造が決定された3,11-および5,11-エイコサジエン酸を合わせて20:2酸異性体と称する。

Table 7. Gas chromatographic analyses of fatty acids from sea-urchin gonad fractionated into homologues by thin-layer argentation chromatography.

Peak No.	Fatty acid	Relative retention time	Fraction No.							
			1	2	3	4	5	6	7	
1	12:0	0.15	0.2	0.1						
2	12:1	0.18	0.1	0.1						
3	13:0	0.21	0.1	Trace						
4	13:1	0.24	0.1	Trace						
5	14:0	0.28	18.2	5.3	0.7	0.9	2.1	1.1		
5	12:3?	0.28								
5	13:2?	0.33								
5	14:1 ω 7	0.34								
6	Anteiso 15:0	0.35	0.1	0.8	0.3	0.3	2.4			
6	12:4?	0.36	0.8							
6	13:3?	0.37						0.8	0.1	
6	15:0	0.38					1.5	0.6		
7	14:2 ω 9	0.39	2.1	0.5	0.2	0.2				
7	13:3?	0.41					Trace	0.4		
7	13:4?	0.45						Trace	0.1	
8	Iso 15:1	0.46		0.4						
8	16:0	0.47	0.4							
8	14:3?	0.49				0.6	0.7	1.3		
9	14:3 ω 6	0.52				1.1	1.9	1.5		
9	16:0	0.53	52.0	9.5	1.1					
9	13:5?	0.55								
9	14:4?	0.62						0.7	0.3	
10	Anteiso 16:1 ω 9	0.63	0.7	12.9	1.4					
10	17:0	0.66	1.0							
10	15:3?	0.67				0.6	3.1	0.6		
11	17:0	0.72	2.1	0.8	0.4	0.8				
11	16:2 ω 7	0.74								
11	15:4?	0.75								
12	Iso 17:1	0.81	1.2	1.6	1.0			0.4	0.2	
12	15:4?	0.83						0.3	0.3	
12	18:0	0.88	0.5							
12	16:3 ω 6	0.94					1.1	0.9		
12	16:3 ω 4	0.99				0.6	6.4	0.5		
13	18:0	1.00	12.7	1.8						
13	17:2 ω 8	1.01			0.2	Trace				
13	16:4?	1.09						Trace	0.2	
14	18:1 ω 9	1.14	1.6	18.5	1.2					
14	17:3?	1.18				0.8	1.1	0.3		
14	16:4 ω 3	1.21						0.7	0.7	
15	16:4 ω 1	1.26							1.0	
15	18:2 ω 9	1.34								
15	19:0	1.37	1.5	0.5	1.4	0.4				
16	17:4 ω 6	1.42						Trace	0.1	
16	17:3 ω 3	1.43					0.7	0.3		
17	18:2 ω 6	1.44			12.0	0.4				
17	19:1	1.52		2.7	1.1					
18	18:3?	1.60				1.2				
18	18:3 ω 6	1.70				3.1	8.9	0.4		
18	19:2?	1.70			0.3	Trace				
18	17:5?	1.72							0.4	
18	17:5?	1.85							0.2	
19	20:0	1.87	3.7	0.7						
19	18:3 ω 3	1.93				14.8	12.5	0.7		
19	18:4?	2.00						Trace	0.5	
20	20:1 ω 9	2.09	0.9	32.0	1.6					
20	19:3?	2.10				1.4	1.9	1.2		
20	18:4 ω 3	2.20						1.2	2.2	
21	20:2?	2.34			48.6	5.0				
21	18:5 ω 3	2.44							0.6	
22	19:3 ω 3	2.60					Trace	0.4		
22	20:2 ω 6	2.60			15.1					
22	19:4?	2.72						Trace	0.1	
23	20:3 ω 9	2.81				15.1	3.1			
23	19:4 ω 3	2.89						0.5		
23	21:1	2.91		4.5	Trace					
24	20:3 ω 6	3.03					2.0			
24	21:2?	3.16			1.0	Trace				
25	20:3 ω 3*	3.45				19.2				
25	20:4?	3.70				33.5	50.6	67.7	0.3	
26	22:1 ω 9	3.88						Trace	0.3	
26	20:4 ω 3	3.90		7.3	2.6					
26	20:4 ω 3	3.90						16.6	0.5	
27	22:2 ω 9	4.33			9.8					
27	20:5 ω 3	4.40								87.8
28	21:4 ω 5	5.18						Trace	1.1	
28	21:5 ω 2	6.10							2.0	
29	22:3 ω 3	6.26						0.9		

Figures in fatty acid composition (the fourth column) indicate the percentage of total fatty acid methyl esters in individual fractions.

* May include 20:4 ω 6 acid

Table 8. Percentage distribution of fatty acid methyl esters fractionated into homologues on the basis of the degree of unsaturation.

Degree of unsaturation	Fraction No.						
	1	2	3	4	5	6	7
0	95.3	19.2	1.8				
1	4.7	80.8	8.9				
2			89.3	7.1	2.4		
3				92.9	97.6	78.8	0.3
4						21.2	7.7
5							92.0

不飽和脂肪酸の二重結合の位置異性体については、多数の海産動物脂質中に C_{16} および C_{18} のモノエン酸からテトラエン酸、 C_{20} のモノエン酸からペンタエン酸、 C_{22} のモノエン酸およびペンタエン酸などの存在が知られている^{85, 87, 106, 128})。しかしながら、ウニ脂質中にはこれらの異性体のほかに、僅少量または痕跡成分として C_{13} , C_{14} , C_{17} , C_{18} および C_{19} のトリエン酸、 C_{16} , C_{18} , C_{19} および C_{20} のテトラエン酸、 C_{17} のペンタエン酸異性体の存在が推定された。このほか、20:2 酸異性体が約10%存在することは特に注目される。このような異性体が海産動物脂質のおもな構成脂肪酸となっているという報告は見あたらない。

高度不飽和奇数炭素鎖脂肪酸については、17:4, 19:4, 19:5, 21:4, 21:5 および 23:5 酸などの存在が知られている^{40, 89, 126, 127, 129-132})。本実験でも 17:4, 17:5, 19:4, 21:4 および 21:5 酸が僅少量または痕跡検出された。このうち、海産動物脂質中に広く分布すると考えられる 21:5 酸が最も多く、その含有率は 0.6% であった。

考 察

ウニ生殖巣脂質の構成脂肪酸は硝酸銀 TLC によって不飽和度に従ってよく分別された。得られた各画分を GLC 分析することによって、試料メチルエステルのガスクロマトグラム上に存在する混成ピークの成分脂肪酸をそれぞれ分離、検出することができた。

その結果、僅少量または痕跡成分、ならびに未知成分を含め、総計76種類の脂肪酸を同定することができた。このうち、イソ 18:0, 16:3 ω 6 および 18:2 ω 9 酸、ならびに 15:4, 18:4, 19:3 および 20:2 の各脂肪酸異性体は海産動物脂質中の存在があまり知られていない。特に 20:2 酸異性体がかなり多量に見いだされたことは注目に値する。

また、この TLC による不飽和度に基づく脂肪酸の分別は尿素付加分別法のそれよりも優れており、混成ピーク中の僅少量または痕跡成分をよく検出することができた。したがって、硝酸銀 TLC は複雑な組成を有する脂質の GLC による脂肪酸分析の前処理的分別手段として有効な方法であると判断した。

小 括

ウニ生殖巣脂質の脂肪酸分析法として、尿素付加分別法または硝酸銀 TLC と GLC を併用する方法について検討した。

Table 9. Fatty acid composition of non-polar lipid from sea-urchin gonad (% of total fatty acid methyl esters).

Fatty acid	Hydrogenated	Unhydrogenated	Fatty acid	Hydrogenated	Unhydrogenated
12:0	0.1	0.1	17:5?		Trace
12:1		Trace	17:5?		Trace
12:3?		0.1	Iso 18:0	0.1	0.2
12:4?		Trace	18:0	15.9	3.4
13:0	0.1	Trace	18:1 ω 9		5.7
13:1		Trace	18:2 ω 9		0.3
13:2?		0.1	18:2 ω 6		2.0
13:3?		0.1	18:3?		0.2
13:3?		Trace	18:3 ω 6		1.3
13:4?		Trace	18:3 ω 3		2.1
13:5?		Trace	18:4?		Trace
14:0	7.9	6.2	18:4 ω 3		0.7
14:1 ω 7		0.3	18:5 ω 3		Trace
14:2 ω 9		Trace	19:0	1.4	0.4
14:3?		Trace	19:1		0.7
14:3 ω 6		0.5	19:2?		Trace
14:4?		0.1	19:3?		0.3
Anteiso 15:0	0.4	0.4	19:3 ω 3		Trace
15:0	0.8	0.6	19:4?		Trace
15:1		Trace	19:4 ω 3		Trace
15:3?		0.3	20:0	43.7	1.1
15:4?		Trace	20:1 ω 9		9.9
15:4?		Trace	20:2?		9.9
Iso 16:0	0.2	0.2	20:2 ω 6		2.9
16:0	19.7	15.2	20:3 ω 9		1.5
16:1 ω 9		3.6	20:3 ω 6		1.0
16:2 ω 7		0.1	20:3 ω 3*		9.5
16:3 ω 6		0.2	20:4?		Trace
16:3 ω 4		0.6	20:4 ω 3		1.4
16:4?		Trace	20:5 ω 3		6.8
16:4 ω 3		Trace	21:0	2.2	—
16:4 ω 1		Trace	21:1		1.3
Anteiso 17:0	0.2	0.2	21:2?		0.1
17:0	0.9	0.6	21:4 ω 5		0.2
17:1?		0.5	21:5 ω 2		0.6
17:2 ω 8		Trace	22:0	6.4	—
17:3?		0.1	22:1 ω 9		2.9
17:3 ω 3		Trace	22:2 ω 9		3.5
17:4 ω 6		Trace	22:3 ω 3		Trace

* May include 20:4 ω 6 acid

尿素付加分別法は、多量の試料を一度に処理できる利点があるが、その不飽和度に基づく分別は必ずしも満足すべきものではなかった。したがって、脂肪酸分析の補助的な分別手段として有効な方法とは考え難い。

これに対し、硝酸銀 TLC は脂肪酸メチルを不飽和度に従ってよく分別し、しかも短時間のうちに僅少量の試料で実施できる利点がある。したがって、GLC による脂肪酸分析の前処理的分別手段として優れた方法であると判断される。この方法を利用することによって、ウニ脂質の構成脂肪酸として僅少量または痕跡の、ならびに海産動物脂質中の存在があまり知られていない数種類の脂肪酸を含め、総計76種類の脂肪酸を同定し、正確な脂肪酸組成を知ることができた。特に 20:2 酸異性体がかなり多量に見いだされたことは注目に値する。

第2章 ウニ脂質成分中におけるエイコサジエン酸 位置異性体の分布

前章において、ウニ生殖巣脂質の脂肪酸組成を尿素付加別法または硝酸銀 TLC と GLC を併用して詳細に調べた。その結果、ポリエステルカラムを用いる GLC で 11, 14-20:2 酸よりも保持時間のかかなり短い 20:2 酸、すなわち 20:2 酸異性体が供試したすべてのウニ脂質中に 5~10% 存在することを見いだした。

そこで、生殖巣および内臓の脂質組成ならびに各脂質成分の脂肪酸組成を調べ、この異性体のウニ脂質成分中における分布を明らかにした。

実験方法

試料 北浦産バフンウニ *S. pulcherrimus* の生殖巣および生殖巣を除いた内臓（単に内臓という）を用いた。得られた生殖巣および内臓の重量、脂質含量を第10表に示す。

Table 10. Description of the sample examined.

Number of individuals	Testa diameter (cm)	Total weight (g)	Gonad		Viscera*	
			Weight (g)	Lipid content (%)	Weight (g)	Lipid content (%)
116	2.2-3.7	1148	126.5	4.4	125.3	1.8

* Excluded gonad

脂質の抽出と分画 生殖巣および内臓から FOLCH 法¹³³⁾でそれぞれ全脂質 (TL) を抽出した。得られた TL から約 2g を秤取りし、ケイ酸 (Mallinckrodt 社製, 100メッシュ, 2時間加熱活性化) をクロロホルムに懸濁して作製したカラム (2×14cm) に注加した。クロロホルム 350ml で非極性脂質を、引続きメタノール 350ml で極性脂質 (PL) を溶出させた。次いで、DITTMER らの方法¹³⁴⁾に従い、炭酸ナトリウム溶液を用いて非極性脂質を遊離脂肪酸 (FA) と中性脂質とに分画した。得られた中性脂質から約 1g を秤取りし、再びケイ酸カラムに注加した。BARRON らの方法¹³⁵⁾に従って、第5図に示すように6種類の脂質成分に分画した。なお、得られた各画分中の脂質成分の確認には、シリカゲル TLC (展開剤; 石油エーテル-エチルエーテル-酢酸, 80:30:1, v/v) を用いた¹³⁶⁾。

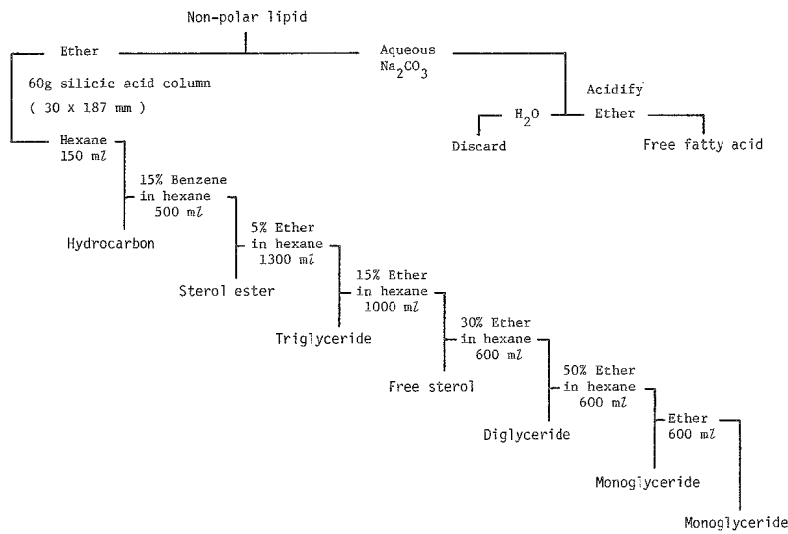


Fig. 5. Separation of non-polar lipid into their main constituent classes.

脂肪酸分析 TL および各脂質成分から塩化水素-メタノール法によって脂肪酸メチルエステルを調製し、第11表に示す条件下で GLC 分析した。脂肪酸の同定および定量は第1章、第2節の方法と同様にした。なお、TL、PL および TG については、得られたメチルエステルの20%硝酸銀 TLC による分画および水素化を、また SE、DG および内臓の FA については水素化を行い、脂肪酸の同定ならびに定量に役立てた。

Table 11. Conditions for gas-liquid chromatography.

Apparatus :	SHIMADZU Gas Chromatograph Model GC-5A
Column dimensions :	300 × 0.3cm i.d. stainless steel
Solid support :	Shimalite W (60/80 mesh)
Stationary phase :	Diethylene glycol succinate polyester (10 : 90)
Temperatures :	Column 190 °C, injection and detector 260 °C
Carrier gas :	Nitrogen at 30 ml/min
Detector :	SHIMADZU Hydrogen Flame Ionization Detector Model FID-5
Sample size :	0.1 to 0.2 μl
Analysis time :	Approximately 7.9 min to methyl octadecanoate

実験結果

生殖巣および内臓の脂質組成を第12表に示す。両者ともにおもな構成脂質成分は PL、TG および S であった。しかしながら、生殖巣と内臓では、これら脂質成分の含有率に差異が認められ、生殖巣で TG の含有率が高く、内臓で PL および S の含有率が高かった。これらの結果をウニの脂質組成についてのこれまでの

報告^{27,29,30)}と比較すると、パフンウニ生殖巣および内臓の PL 含有率はムラサキウニ²⁷⁾およびエゾパフンウニ³⁰⁾のそれよりも著しく高かった。畠山²⁹⁾も三陸産のパフンウニ生殖巣で PL 含有率が TG 含有率よりもかなり高いことを報告している。

Table 12. Lipid composition of gonad and viscera of sea urchin.

(%)

Lipid class	Gonad	Viscera
Polar lipid (PL)	44.0	54.7
Free fatty acid (FA)	0.2	3.2
Hydrocarbon (HC)	0.03	0.3
Sterol ester (SE)	2.2	2.1
Triglyceride (TG)	43.5	26.1
Free sterol (S)	6.6	10.3
Diglyceride (DG)	2.7	1.6
Monoglyceride (MG)	0.7	1.7

次に、生殖巣および内臓の TL と各脂質成分の脂肪酸組成を分析した結果をそれぞれ第13および14表に示す。生殖巣および内臓の各脂質成分に共通したおもな構成脂肪酸は 14:0, 16:0, 18:1 ω 9, 20:1 ω 9, 20:3 ω 3, 20:5 ω 3 および 20:2 酸異性体であった。20:2 酸異性体の含有率は、生殖巣の脂質成分で 5.0~7.5%, 内臓のそれで 5.4~8.3% であった。このように、この異性体は生殖巣のみでなく、内臓においてもすべての脂質成分中に分布しており、しかも、生殖巣脂質と内臓脂質、または各脂質成分間で含有率に顕著な差異のないことがわかる。

魚類では餌料脂質の脂肪酸が体脂質の脂肪酸組成にかなりの影響を与えることが知られており^{115,137,138)}、卵形成にもなって体各部の脂質が卵巣に移行するため、卵脂質のそれにも反映されることが示唆されている^{139,140)}。ウニは栄養素の貯蔵のための皮下脂肪組織をもたないため、内臓ばかりでなく、生殖巣にも脂質を蓄積する^{25,141)}。したがって、内臓および生殖巣脂質の脂肪酸組成は餌料脂質の脂肪酸の影響をうけて変動するものと考えられる。この餌料脂質の影響の程度は脂質成分の種類によって異なる。そこで、餌料脂質

Table 13. Fatty acid composition of lipid classes obtained from gonad of sea urchin.

(%)

Fatty acid	Relative retention time	TL*	PL	FA	SE	TG	DG	MG
12:0	0.18	Trace	Trace	—	—	Trace	Trace	0.2
Anteiso 13:0	0.21	Trace	Trace	—	0.5	Trace	—	0.3
:0	0.24	Trace	Trace	—	0.2	Trace	Trace	—
Anteiso 14:0	0.28	Trace	—	—	1.1	Trace	0.2	0.6
:0	0.32	6.0	3.5	1.4	4.6	9.2	6.9	4.3
:1 ω 7	0.38	0.3	0.2	Trace	1.3	0.4	0.2	0.7
Anteiso 15:0	0.37	0.3	0.2	—	—	0.3	0.6	—
:0	0.43	1.0	0.5	1.4	1.4	0.9	1.2	1.5
:2?	0.57	0.1	Trace	—	0.2	Trace	Trace	Trace
:3 ω 3	0.79	0.1	—	—	—	0.4	—	—
Iso 16:0	0.47	0.3	0.2	1.0	10.4	0.2	0.3	0.6
:0	0.56	17.0	12.2	3.2	14.9	21.3	17.6	14.5
:1 ω 9	0.66	3.8	1.2	1.5	3.5	5.1	5.6	6.3
:2 ω 7	0.80	0.2	0.2	—	0.2	0.2	0.4	1.0

Table 13. (Cont'd)

Fatty acid	Relative retention time	TL*	PL	FA	SE	TG	DG	MG
16:2?	0.84	1.0	0.2	0.8	0.5	1.0	1.0	0.7
:3 ω 4	1.04	0.5	Trace	0.8	1.0	0.8	1.0	0.6
:4?	1.05	—	—	—	—	0.3	—	—
:4 ω 3	1.19	0.4	0.1	—	0.6	0.6	0.8	0.8
:4 ω 1	1.27	0.3	0.2	—	—	0.3	—	—
17:0	0.75	0.5	0.4	2.4	1.7	0.3	0.7	0.7
:1	0.85	0.1	Trace	—	—	Trace	—	—
:2?	0.98	0.1	0.1	—	—	—	—	—
:2 ω 8	1.06	0.1	0.1	—	—	0.1	—	—
Iso 18:0	0.83	0.5	0.8	0.4	8.8	0.3	0.2	0.7
:0	1.00	2.6	3.8	3.1	3.9	1.2	2.0	3.0
:1 ω 9	1.15	6.0	4.9	2.9	5.1	7.3	7.2	4.4
:2 ω 9	1.33	0.2	0.2	—	—	0.4	—	—
:2 ω 6	1.40	2.4	1.7	2.9	0.3	2.9	3.3	0.9
:3 ω 6	1.64	0.3	0.1	—	2.1	0.2	1.4	12.1
:3 ω 3	1.83	2.4	2.2	2.0	1.7	3.0	3.3	2.0
:4 ω 3	2.12	1.5	1.2	8.2	1.3	1.6	1.5	1.1
19:0	1.32	0.4	0.5	—	0.5	Trace	0.2	0.8
:1	1.48	0.2	—	—	0.8	—	0.5	0.8
:2?	1.69	Trace	0.3	—	—	0.3	—	—
:3 ω 6	2.14	0.6	0.5	2.0	—	0.6	Trace	—
:5?	3.13	0.1	0.2	—	—	—	—	—
Iso 20:0	1.49	Trace	0.3	0.4	1.3	Trace	0.3	0.5
:0	1.78	0.8	0.7	0.9	0.9	1.0	1.5	0.8
:1 ω 9	1.99	7.2	8.7	2.0	4.4	5.8	6.7	3.8
:2 Isomer	2.18	6.8	6.5	6.7	5.8	7.5	5.9	5.0
:2 ω 6	2.46	1.9	1.6	1.4	1.2	2.1	2.1	1.2
:3 ω 9	2.63	0.7	0.9	3.0	0.9	0.6	1.2	0.3
:3 ω 6	2.82	1.0	0.3	1.9	1.3	1.2	1.4	1.0
:3 ω 3	3.20	8.3	12.4	4.8	4.4	5.3	7.0	3.2
:4 ω 3	3.66	Trace	Trace	0.4	0.7	0.6	0.5	1.0
:5 ω 3	4.16	15.2	22.4	37.5	6.0	10.0	9.3	5.5
21:1	2.67	1.2	1.3	1.0	0.3	1.3	1.1	0.7
:2?	2.97	0.1	0.3	—	—	Trace	—	—
:3 ω 6	3.76	0.7	0.2	—	—	0.6	0.8	—
:3 ω 3	4.18	0.2	0.4	0.3	0.3	0.4	—	—
22:1 ω 9	3.48	2.3	4.1	1.1	1.2	1.0	1.6	0.7
:2 ω 9	3.96	1.0	0.7	—	1.0	1.1	1.1	—
:2 ω 6	4.28	1.0	0.4	1.8	0.8	0.8	1.0	0.5
:2?	4.56	0.9	1.1	1.9	1.2	0.6	0.8	17.2
:3 ω 3	5.53	0.4	0.3	—	—	0.3	0.4	—
:5 ω 3	7.18	Trace	0.2	—	—	Trace	—	—
:6 ω 3	8.15	0.7	0.6	—	—	0.6	0.8	—
23:1	4.64	0.3	0.6	0.9	—	Trace	0.4	—
Iso 24:0	4.70	—	Trace	—	1.7	—	—	—
:1	6.25	—	0.3	—	—	—	—	—

* TL, total lipid; other abbreviations are shown in Table 12.

Table 14. Fatty acid composition of lipid classes obtained from viscera of sea urchin. (%)

Fatty acid	Relative retention time	TL	PL	FA	SE	TG	DG	MG
12:0	0.18	0.1	Trace	Trace	Trace	0.1	Trace	0.2
:1	0.22	Trace	Trace	Trace	—	Trace	0.3	0.5
Anteiso 13:0	0.21	0.1	—	—	0.3	—	0.2	—
:0	0.24	0.1	Trace	Trace	0.2	Trace	0.4	—
:4 ?	0.48	0.2	0.2	—	—	Trace	—	—
Anteiso 14:0	0.28	0.1	Trace	Trace	1.2	Trace	0.4	0.5
:0	0.32	6.7	3.7	5.6	5.0	9.8	6.3	2.5
:1 ω 7	0.38	0.4	0.2	0.3	0.3	0.7	0.4	0.2
:2 ω 9	0.42	Trace	0.1	—	0.5	—	0.2	0.3
:3 ω 6	0.54	0.4	0.4	—	—	—	—	—
:5 ?	0.83	Trace	0.2	—	—	Trace	—	—
Anteiso 15:0	0.37	0.1	—	Trace	0.6	—	0.2	—
:0	0.43	0.5	0.4	0.4	0.9	0.8	0.6	0.2
:1	0.49	0.5	—	—	—	—	—	—
:3 ω 6	0.71	0.3	0.3	—	1.3	—	—	—
:4 ω 6	0.80	0.2	0.3	—	0.9	Trace	—	—
Iso 16:0	0.47	0.2	0.1	Trace	2.2	0.3	0.3	0.3
:0	0.56	16.2	11.4	14.0	20.0	21.1	13.2	8.2
:1 ω 9	0.66	3.5	1.1	3.2	2.0	4.9	4.0	2.9
:2 ω 7	0.80	0.2	—	—	—	0.1	—	—
:2 ?	0.84	0.3	0.4	0.4	—	0.4	—	0.6
:3 ω 4	1.04	0.4	0.4	1.0	—	0.4	—	—
:4 ω 3	1.19	0.3	0.2	—	—	0.3	—	—
:4 ω 1	1.27	0.2	—	—	—	—	—	—
:5 ?	1.39	0.2	0.2	—	—	Trace	—	—
Anteiso 17:0	0.67	Trace	0.3	0.5	—	—	0.2	—
:0	0.75	0.2	0.1	0.8	2.9	0.7	0.7	Trace
:1	0.85	0.2	0.4	—	—	Trace	—	—
17:2 ?	0.98	Trace	0.1	—	—	—	—	—
:3 ω 3	1.37	0.1	0.2	—	—	—	—	—
:5 ?	1.80	0.1	0.2	—	—	Trace	—	—
Iso 18:0	0.83	0.6	1.0	Trace	3.0	0.2	0.3	0.2
:0	1.00	3.1	3.6	4.2	6.7	2.3	3.0	4.0
:1 ω 9	1.15	6.0	3.7	7.0	5.7	7.9	5.5	5.4
:2 ω 6	1.40	1.2	1.3	1.2	1.6	2.0	1.0	1.2
:3 ω 6	1.64	0.4	0.3	0.6	2.2	0.7	0.8	7.3
:3 ω 3	1.83	1.5	1.0	2.6	1.8	2.1	2.6	2.3
:4 ω 3	2.12	1.4	1.4	1.9	0.8	1.6	1.8	1.0
:5 ω 3	2.38	—	—	—	—	0.3	—	—
Anteiso 19:0	1.20	—	0.1	—	—	—	0.9	—
:0	1.32	0.3	0.1	0.7	0.2	0.7	0.4	0.7
:1	1.48	0.4	0.5	0.5	0.8	0.6	0.6	0.2
:3 ω 6	2.14	0.3	0.4	0.4	1.0	0.2	—	—
:4 ω 6	2.45	0.1	—	—	—	—	—	—
:4 ω 3	2.79	0.2	0.2	—	—	0.2	—	—
:5 ?	3.13	0.2	0.2	—	—	Trace	—	—
Iso 20:0	1.49	0.1	0.2	0.2	0.5	—	0.7	—

Table 14. (Cont'd)

Fatty acid	Relative retention time	TL	PL	FA	SE	TG	DG	MG
20:0	1.78	0.3	0.2	0.3	0.5	0.6	0.5	—
:1 ω 9	1.99	8.0	8.7	10.9	9.5	9.0	6.7	6.1
:2 Isomer	2.18	7.6	8.3	7.6	5.4	7.8	8.0	5.8
:2 ω 6	2.46	1.4	1.3	1.8	0.6	1.4	1.2	1.1
:3 ω 9	2.63	1.1	1.8	—	—	0.4	—	—
:3 ω 6	2.82	0.8	0.6	1.0	1.6	0.8	0.9	0.7
:3 ω 3	3.20	9.0	12.6	9.8	7.8	4.5	9.5	6.3
:4 ω 3	3.66	1.9	1.7	1.0	1.0	0.9	1.0	1.5
:5 ω 3	4.16	13.6	20.0	16.2	3.3	7.2	16.1	13.8
Anteiso 21:0	2.15	0.9	1.0	0.9	—	0.7	0.8	—
:0	2.35	0.1	Trace	—	—	0.3	—	—
:1	2.67	0.6	0.6	1.6	0.7	0.7	0.9	0.9
:3 ω 6	3.76	0.2	0.3	—	—	0.2	—	—
:3 ω 3	4.18	0.2	0.3	—	0.6	—	0.4	—
:5 ω 2	5.51	0.1	Trace	—	—	Trace	—	—
Iso 22:0	2.65	Trace	0.3	—	0.6	0.2	0.2	—
:1 ω 9	3.48	1.9	2.8	1.4	1.4	1.2	1.5	1.2
:2 ω 6	4.28	1.3	1.9	0.4	1.4	0.8	1.2	0.3
:2 ?	4.56	1.3	0.4	0.4	0.6	3.1	1.2	14.2
:3 ω 3	5.53	0.3	0.3	0.3	—	0.3	0.5	0.8
:4 ω 3	6.40	0.5	0.5	Trace	—	0.3	Trace	0.7
:5 ω 3	7.18	0.3	0.2	Trace	—	0.3	0.3	0.4
:6 ω 3	8.15	0.7	0.7	0.6	—	0.4	1.0	0.8
Anteiso 23:0	3.90	Trace	—	—	0.5	—	0.7	—
:1	4.64	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	—	—
Iso 24:0	4.70	Trace	—	Trace	1.5	—	1.6	—
:4 ?	11.17	Trace	0.3	—	—	Trace	0.8	6.7

Abbreviations are the same as those in Table 13.

Table 15. Distribution of isomeric eicosadienoic acid among the main lipid classes of sea urchin.

Lipid class	Gonad		Viscera	
	Amount of the isomer (mg/100g of whole visceral organs)	Distribution of the isomer (% in whole visceral organs)	Amount of the isomer (mg/100g of whole visceral organs)	Distribution of the isomer (% in whole visceral organs)
PL	80.6	27.0	51.9	17.4
FA	0.5	0.2	3.6	1.2
SE	2.1	0.7	0.8	0.3
TG	118.6	39.8	30.0	10.1
DG	5.6	1.9	1.8	0.6
MG	1.1	0.4	1.3	0.4
Total	208.5	70.0	89.4	30.0

Abbreviations are shown in Table 12.

の影響をうけて相対的に変動する含有率ではなく、脂質含量等を考慮した各脂質成分中における20:2酸異性体の存在量を算出し、比較した。すなわち、生殖巣および内臓の重量、脂質含量、脂質組成、メチルエステルの収量ならびに各脂質成分中における20:2酸異性体の含有率から、各脂質成分中に存在する20:2酸異性体の重量を算出した。その結果を第15表に示す。この異性体は生殖巣のTGに最も多量に存在し、次いで生殖巣のPL、内臓のPLおよびTGの順で多く存在した。しかも、ウニ中に存在する全20:2酸異性体の70%は生殖巣に存在し、30%が内臓に分布した。また、この異性体の約50%はTGに、約44%はPLに存在し、その他の脂質成分での分布は極めて少なかった。

同様にウニ脂質のおもな構成脂肪酸である16:0、20:1 ω 9および20:5 ω 3酸についても、各脂質成分中の重量を算出し、PLおよびTGにおける分布を20:2酸異性体のそれと比較すると、第6図のとおりとなる。

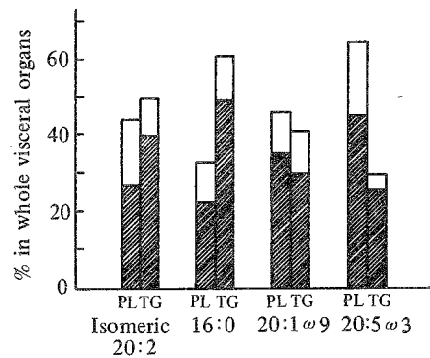


Fig. 6. Comparison of distribution of major component fatty acids in sea urchin.

▨ Gonad □ Viscera

16:0酸はTGに約61%、20:5 ω 3酸はPLに約65%存在し、それぞれ蓄積脂質または組織脂質の主成分としての役割をもつことがわかる。20:1 ω 9酸の分布のパターンは16:0酸よりも20:5 ω 3酸に類似した。これに対し、20:2酸異性体のそれは20:5 ω 3酸よりも16:0酸に類似した。

考 察

天然物中には、8,11および11,14以外の位置に二重結合を有する20:2酸が数種類存在することが知られている^{89,100,142})。しかし、これらの20:2酸の含有率は一般に低い。ウニ脂質は20:2酸異性体を多量に含有するまれな例といえる。

20:2酸異性体が特異的にウニ脂質で高い含有率を示すことから、ウニの生理との関連が予想される。しかしながら、この異性体は、生殖巣のみでなく内臓にも分布し、しかもすべての脂質成分でおもな構成脂肪酸となっている。また、内臓に比べて生殖巣により多量に存在するが、両者ともにTGとPLの2成分に多量に分布した。その上、TGとPLにおける分布のパターンは20:5 ω 3酸よりも16:0酸に類似していた。

小 括

バフンウニを用いて、生殖巣および内臓の各脂質成分中における20:2酸異性体の分布を調べた。その結果、この異性体は生殖巣および内臓のすべての脂質成分中に分布することが判明し、その含有率は、生殖巣の脂

質成分で5.0~7.5%, 内臓のそれで5.4~8.3%であった。

一方, ウニ中に存在する全20:2酸異性体の70%は生殖巣に存在し, 30%が内臓に分布した。また, この異性体の約50%は TG に, 約44%が PL に存在した。この TG と PL における分布のパターンは20:5 ω 3酸よりも16:0酸に類似していた。

第3章 エイコサジエン酸位置異性体の分離と確認

ウニ脂質中に見いだされた20:2酸異性体は, 動植物脂質中に広く分布しているオレイン酸, リノール酸およびリノレン酸系列の脂肪酸とは異なり, 特異な位置に二重結合をもつことを推定した。

それゆえ, この異性体の構造を明らかにするために, まずウニ生殖巣脂質からこの異性体を分離, 精製した。次いで, 得られた画分について, この異性体が20:2酸であることの確認を行った。

第1節 エイコサジエン酸位置異性体の分離

脂肪酸またはそのメチルエステルの分離, 精製法としては, 多くの方法があり³¹⁻⁷⁷⁾, 一般には数種類の 방법이組み合わせ用いられている。

著者は, 不飽和度に基づく分別法(硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィー)と炭素数に基づく分別法(*n*-ウンデカン含浸シリカゲル薄層クロマトグラフィー)を主体とし, 7種類の操作を組み合わせてウニ生殖巣脂質の脂肪酸メチルエステルから20:2酸異性体を分離, 精製した。

実験方法

試料 ムラサキウニ *A. crassispina* 生殖巣から第2章と同様にして調製した脂肪酸メチルエステルを用いた。

脂肪酸分析 第2章と全く同様な方法で行った。なお, エイコサジエン酸の標準として11, 14-20:2酸メチル (Applied Science Lab. 製) を用いた。

ウインタリング 試料メチルエステルを5°Cの冷蔵庫中に一夜静置後, 液体酸メチルと固体酸メチルとに分別した。

減圧分留 液体酸メチルを窒素ガス気流中, 11mmHgの減圧下で蒸留した。

尿素付加分別 第1章, 第1節と同様な方法で行った。

硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィー PRIVETTらの方法⁵²⁾に準じた。すなわち, de VRIESの方法^{53, 54)}に従って調製した硝酸銀含浸ケイ酸 (Mallinckrodt 社製, 100メッシュ; 硝酸銀含浸量, 約0.5g/1.0gケイ酸; 120°C, 16時間加熱活性化) 100gに50gのセライト535を混和してカラム(2.6×63.5cm)を作製した。これに約1gのメチルエステルを注加し, エチルエーテル-石油エーテル系の溶離液を流下させた。*n*-ウンデカン含浸シリカゲルTLC⁶⁵⁾厚さ500 μ のシリカゲルGのプレート(20×20cm)を110°Cで120分間加熱し, 活性化した。冷却後, 直ちに10% *n*-ウンデカン-石油エーテル溶液を入れた展開槽中に立てかけ, 上昇法で *n*-ウンデカンを含浸させた。含浸は *n*-ウンデカン溶液がプレートの先端に達するに要する時間の2倍時間続けた。これを室温で約5分間風乾したのち, 約20mgのメチルエステルを帯状にスポットし, アセトン-アセトニトリル(1:1, v/v)を用いて上昇法で展開した。なお, 展開剤としては, あらかじめ *n*-ウンデカンを飽和させたもの9部と飽和させないもの1部とを混合して用いた。

ケイ酸カラムクロマトグラフィー ケイ酸(110°C, 180分間加熱活性化)を用いてカラム(1.2×10cm)を調製し, 溶離液として *n*-ヘキサン75mlおよび25ml, 次いでエチルエーテル75mlおよび25mlを順次流下させた。

シリカゲル TLC (1) *n*-ウンデカン除去の確認には, 厚さ250 μ のシリカゲルGのプレート(20×20cm;

110°C, 60分間加熱活性化)を用い, *n*-ヘキサン-エチルエーテル (94:6, v/v) で展開した。(2)不純物の除去には, 厚さ500 μ のシリカゲル G のプレート (20×20cm; 110°C, 180分間加熱活性化)を用い, *n*-ヘキサン-エチルエーテル (90:10, v/v) で展開した。風乾後, プレートの両端に1%ヨウ素-メタノール溶液を噴霧してバンドの位置を確認し, 20:2酸異性体画分をかきとった。

実験結果

試料メチルエステルを第7図に従って順次分別した。分別操作ごとに, 得られた画分中の20:2酸異性体含量をGLCで調べ, 最も含有率の高い画分を用いて次の分別操作を行った。得られた結果は次のとおりである。

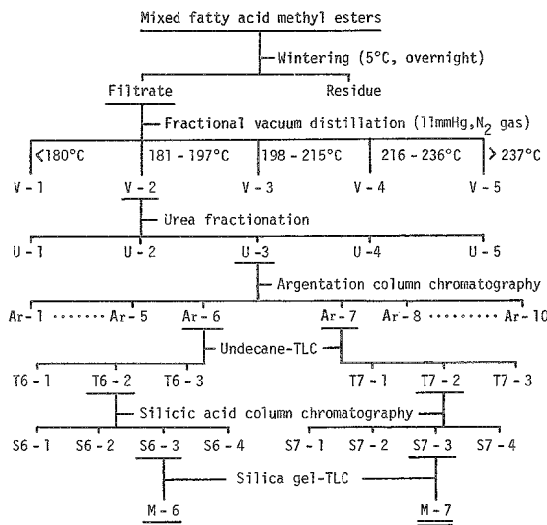


Fig. 7. Preparation of isomeric eicosadienoate from mixed fatty acid methyl esters of sea-urchin gonad.

ウインタリング・減圧分留・尿素付加分別 ウインタリングによって析出する固体酸メチルを分別し, 得られた液体酸メチルを減圧分留して5画分に分別した。20:2酸異性体の含有率は181~197°Cで留出する画分 V-2 で最も高かった。次にこの画分 V-2 を尿素付加分別し, 二重結合数を異にする5画分に分別した。

Table 16. Content of isomeric eicosadienoate in the fractions obtained by wintering, fractional vacuum distillation and urea fractionation.

Sample analyzed	Content
Original methyl esters	8.0%
Filtrate of wintering	9.9
Fraction V-2 *	10.7
Fraction U-3 *	18.7

* Each fraction is obtained by fractional vacuum distillation and urea fractionation, respectively, as shown in Fig. 7.

20:2 酸異性体は画分 U-4 で最も高い含有率 (21.6%) を示したが、この画分には 20:3 酸が少量存在したので、トリエン酸を含有しない画分 U-3 を次の分別操作の試料とした。

これらの分別操作によって得られた画分中の 20:2 酸異性体含有率および試料メチルエステルのそれを第 16 表に示す。これらの分別操作によって、20:2 酸異性体含有率を 8% から約 19% に高めることができた。

硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィー 画分 U-3 を二重結合数に従って再度分別した。得られた溶出曲線を第 8 図に示す。このクロマトグラム上に 9 個のピーク、A~I が検出された。20:2 酸異性体はピー

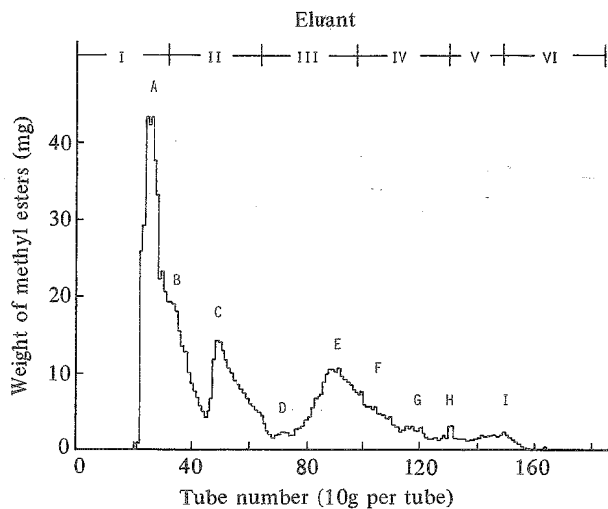


Fig. 8. Column chromatogram of fraction U-3 on silicic acid impregnated with silver nitrate.

Column: 2.6 × 63.5 cm

Eluant: (I) 3% ethyl ether in petroleum ether, 600 ml;
 (II) 5% ethyl ether in petroleum ether, 600 ml;
 (III) 6% ethyl ether in petroleum ether, 600 ml;
 (IV) 8% ethyl ether in petroleum ether, 600 ml;
 (V) 10% ethyl ether in petroleum ether, 300 ml;
 (VI) ethyl ether alone, 600 ml

Flow rate: 2.0 ml/min

Recovery of methyl esters: 94.7%

ク E および F で高い含有率を示したが、ピーク E の前半には 11, 14-20:2 酸も存在したので、ピーク E を前半 (Tube No. 77~87) と後半 (Tube No. 88~93) の 2 画分に分画した。各画分の収量、20:2 酸異性体および 11, 14-20:2 酸含有率を第 17 表に示す。20:2 酸異性体は画分 Ar-6 および Ar-7 で高い含有率を示した。これら両画分中には少量の 18:2 および 22:2 酸が混在するが、11, 14-20:2 酸を分離、除去することができた。

n-ウンデカン含浸シリカゲル TLC 20:2 酸異性体および市販の脂肪酸メチルについて得られた結果から 20:2 酸異性体と critical pairs^{61, 143)} をつくる脂肪酸は 16:0, 18:1 および 22:3 酸であると考えられた。

Table 17. Content of isomeric eicosadienoate in the fractions obtained by argentation column chromatography.

Peak No.	Fraction No.	Yield	Eicosadienoate		Impurities
			(11, 14)	Isomer*	
		g	%	%	
A	Ar- 1	0.2778	0	0	18:1, 20:1, 14:0?
B	Ar- 2	0.2088	0	0	16:1, 18:1, 17:1, 20:1
C	Ar- 3	0.1717	4	5	16:1, 14:1, 18:1
D	Ar- 4	0.0147	8	18	22:2, 21:2, 18:2
E	Ar- 5	0.0568	28	39	22:2, 18:2
	Ar- 6	0.0614	0	87	18:2, 22:2
F	Ar- 7	0.1100	0	79	18:2, 22:2
G	Ar- 8	0.0346	0	69	18:2, 22:2
H	Ar- 9	0.0196	0	65	18:2, 22:2
I	Ar-10	0.0349	0	30	18:2, 22:2

*The positions of double bonds are not known at present.

そこで、画分 Ar-6 および Ar-7 中に混在する 18:2 および 22:2 酸の分別、除去を行った。得られた結果を第18表に示す。画分 Ar-6 および Ar-7 ともに、それぞれ3画分に分別された。20:2 酸異性体は画分 T6-2 および T7-2 で高い含有率を示し、混在脂肪酸の大部分を除去することができた。しかし、この画分中には多量の *n*-ウンデカンが存在した。

Table 18. Content of isomeric eicosadienoate in the fractions obtained by thin-layer chromatography on silica gel impregnated with *n*-undecane.

Fraction No.	R_f range	Isomeric eicosadienoate		Impurities
		%		
T6-1	0.74 - 0.66	3.7	16:0, 16:1, 17:2?, 18:2, 19:2	
2	0.64 - 0.54	97.9	16:0, 17:2?, 18:2, 19:2	
3	0.53 - 0.44	86.5	21:2, 22:2	
T7-1	0.76 - 0.65	6.7	16:0, 16:1, 18:2	
2	0.64 - 0.54	98.6	16:0, 17:2?, 18:2	
3	0.54 - 0.44	90.3	16:0, 22:2	

ケイ酸カラムクロマトグラフィー 画分 T6-2 および T7-2 をケイ酸カラムに通して *n*-ウンデカンを除去した。すなわち、S6-1 から S6-4 および S7-1 から S7-4 の8画分に分別した。これらの画分 (S6-1 および S7-1 を除く) について、*n*-ウンデカンの残留をシリカゲル TLC によって調べた。得られた薄層クロマトグラムを第9図に示す。このクロマトグラムから画分 S6-2 および S7-2 では *n*-ウンデカンが残留するが、画分 S6-3 および S7-3 では全く存在しないことがわかる。しかし、画分 S6-3 および S7-3 では 20:2 酸異性体以外に遊離脂肪酸と考えられる不純物が検出された。

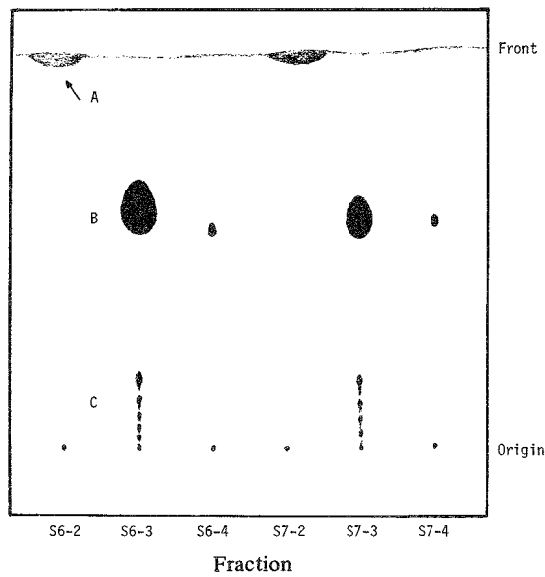


Fig. 9. Thin-layer chromatogram of the fractions obtained by silicic acid chromatography.

Peaks: A, *n*-undecane; B, eicosadienoate; C, impurities

シリカゲル TLC 画分 S6-3 および S7-3 をシリカゲル TLC で分画し、第9図とほぼ同様なクロマトグラムを得た。20:2 酸異性体画分を分取し、画分 M-6 および M-7 を調製した。これら両画分のガスクロマトグラムを第10図に、また脂肪酸組成を第19表に示す。得られたクロマトグラム上に 20:2 酸異性体の大き

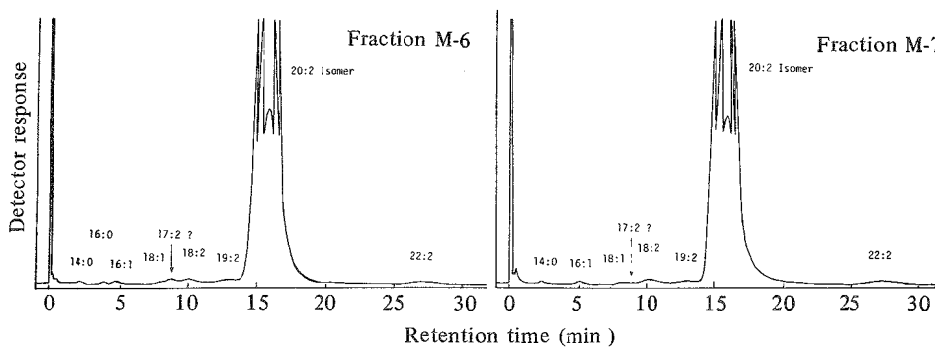


Fig. 10. Gas chromatograms of isomeric eicosadienoate fractions, M-6 and M-7.

なピークと数個の小ピークが検出された。しかも、20:2 酸異性体ピークの保持時間は画分 M-6 と M-7 で全く一致した。

Table 19. Fatty acid composition of the fractions M-6 and M-7 obtained by silica gel TLC.

Fatty acid	Relative retention time*	M-6	M-7
14:0	0.31	0.1%	0.1%
16:0	0.57	0.1	—
16:1 ω 9	0.69	0.1	Trace
18:1 ω 9	1.18	0.1	0.1
18:2 ?	1.28	0.3	0.1
18:2 ω 6	1.44	0.6	0.7
19:2 ω 6	1.83	0.5	0.3
20:2 Isomer	2.24	97.8	98.4
22:2 ω 9	3.97	0.4	0.3

* Relative to methyl octadecanoate

上記7種類の分別操作を組み合わせ行うことによって、試料メチルエステル (20.6g) から最終的に20:2 酸異性体をそれぞれ97.8%および98.4%含有する画分、M-6 (12.3mg) および M-7 (23.3mg) を調製した。

考 察

二重結合数に基づく脂肪酸分別法すなわち硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィーの前処理として、まず試料メチルエステルをウインタリング、減圧分留および尿素付加分別の各方法によって逐次分別し、ジエン酸画分を分取した。得られた画分を硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィーで分別した。その結果、不飽和度を異にする混在脂肪酸の大部分を分別、除去することによって、20:2 酸異性体含有率の高い2画分、Ar-6 および Ar-7 を得ることができた。このクロマトグラフィーによって、20:2 酸異性体から11, 14-20:2 酸を分別、除去することができたが、18:2 および 22:2 酸を完全に除去することはできなかった。これは画分 U-3 中のこれら両脂肪酸含有率が11, 14-20:2 酸含有率に比べてかなり高かったことによるためと考えられる。画分 Ar-6 および Ar-7 中の20:2 酸異性体の GLC による保持時間は全く一致したが、両画分で20:2 酸異性体含有率および混在脂肪酸の組成に差異が認められたので、この両画分について以後の分離、精製を行った。

画分 Ar-6 および Ar-7 の主要混在脂肪酸は18:2 および 22:2 酸であるため、次に *n*-ウンデカン含浸シリカゲルTLCによる炭素数に基づく脂肪酸分別を行った。この TLC では、脂肪酸メチルは主として炭素数に従って分別されるが、同時に二重結合数による分別も行われる。しかし、20:2 酸異性体と critical pairs をつくる脂肪酸は16:0, 18:1 および 22:3 酸であるため、18:2 および 22:2 酸の大部分を分別、除去することができた。

次に分別操作中に混入または生成した不純物の除去を行った。

このように、二重結合数と炭素数に基づく分別を組み合わせ、さらに精製操作を行うことによって、ウニ脂質の脂肪酸メチルエステルから20:2 酸異性体を97.8%および98.4%含有する画分、M-6 および M-7 を調製することができた。

第2節 エイコサジエン酸位置異性体の確認

ウニ脂質の脂肪酸分析における成分脂肪酸の同定はすべて GLC 分析のみによったものである。したがって、前節で調製した画分の主要脂肪酸が20:2 酸異性体であるという確たる保証はない。

よって、炭素鎖長分析、不飽和結合数の測定ならびに GLC における相対保持時間および SF の比較を行い、この脂肪酸が 20:2 酸異性体であることを確認した。

実験方法

試料 前節で調製した画分 M-7 を用いた。

水素化 第 1 章、第 1 節と同様な方法で行った。

水素吸収量の測定 ワールブルグ検圧計¹⁴⁴⁾を用いた。すなわち、メチルエステル約 1 mg を精秤し、*n*-ヘキサン 3 ml に溶解して検圧計容器の主室に入れ、側室に白金黒 15 mg を入れた。装置内を水素ガスで完全に置換したのち、25°C の恒温槽中に浸し、温度平衡に達するまで振盪 (40 回/分) した。白金黒を主室に移してから強く振盪 (80 回/分) し、10 分ごとに水素吸収量を測定した。

実験結果

炭素鎖長分析 画分 M-7 およびその水素化物を GLC 分析し、この画分の主要脂肪酸の正確な炭素鎖長を調べた。得られた結果を第 20 表に示す。水素化物のガスクロマトグラム上にアラキジン酸の大きなピークが検出された。このピークの百分率は 98.1% であり、画分 M-7 の 20:2 酸異性体含有率と等しかった。したがって、この異性体は C₂₀ の直鎖脂肪酸であることがわかる。

Table 20. GLC analyses of isomeric eicosadienoate fraction, M-7, before and after hydrogenation.

Fatty acid	Before hydrogenation		After hydrogenation	
	Relative retention time	% Area	Relative retention time	% Area
18:0	—	—	1.00	0.8
:1	1.14	0.1	—	—
:2	1.38	0.4	—	—
19:0	—	—	1.32	0.5
:2	1.79	0.4	—	—
20:0	—	—	1.79	98.1
:2 Isomer	2.19	98.4	—	—
22:0	—	—	3.20	0.6
:2	4.01	0.8	—	—

不飽和結合数の測定 画分 M-7 0.932 mg を用いて水素吸収量を測定した。得られた水素吸収曲線を第 11 図に示す。水素吸収は約 60 分後に平衡に達し、吸収量は 128.0 μ l であった。この吸収量は 20:2 酸の理論吸収量の 98.8% であった。この画分の主要脂肪酸がエイコサモノイン酸 (20:1 酸) であっても、理論的に同じ水素吸収量を示す。しかしながら、9-18:1 酸の ECL 値は 18:3 ω 3 酸のそれとほぼ等しく、11-18:1 酸のそれはさらに大きいことが知られている⁹⁰⁾。したがって、20:1 酸の ECL 値は 20:2 酸異性体のそれよりもかなり大きく、20:3 ω 3 酸のそれとほぼ等しいと考えられる。また、この 20:2 酸異性体は不飽和度に基づく分別操作、すなわち尿素付加分別法および硝酸銀含浸カラムクロマトグラフィーにおいて、他のジエン酸と同一挙動を示した。よって、画分 M-7 の主要脂肪酸が 20:2 酸であることを確認した。

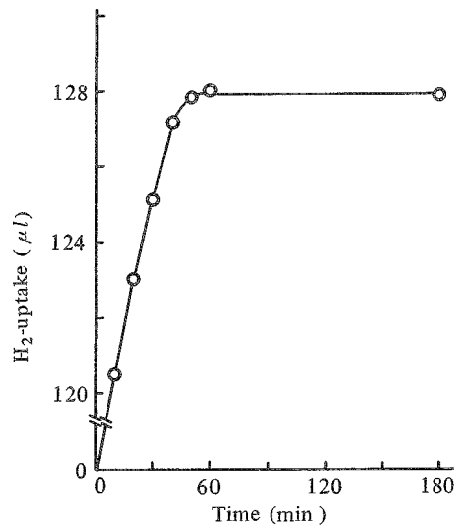


Fig. 11. Hydrogen-uptake of isomeric eicosadienoate fraction, M-7 (0.932 mg).

相対保持時間およびSFの比較 画分M-7のガスクロマトグラムから相対保持時間を求め、標準として用いた20:1 ω 9酸または20:2 ω 6酸に対するSFを計算し、ACKMANの値¹⁴⁵⁾と比較した。その結果を第21表に示す。20:2 ω 6酸の相対保持時間は本報とACKMANの結果でやや異なった。この差異は使用したカラムのエージングの違いに基づくもの¹⁴⁶⁾と考えられる。一方、この異性体の20:1 ω 9酸または20:2 ω 6酸

Table 21. Comparison of relative retention time and separation factor of methyl eicosadienoates in present study with those in reference.

Fatty acid	Present study		Reference*	
	Relative** retention time	Separation factor	Relative** retention time	Separation factor
20:2 ω 6	2.46		2.53	
20:1 ω 9	1.99	1.24	2.01	1.26
20:2 ω 6			2.53	
20:2 ω 9			2.37	1.07
20:2 ω 6	2.46			
20:2 Isomer	2.18	1.13		
20:2 ω 9			2.37	
20:1 ω 9			2.01	1.18
20:2 Isomer	2.18			
20:1 ω 9	1.99	1.10		

* Calculated from ACKMAN'S data¹⁴⁵⁾, DEGS column at 190°C

** Relative to methyl octadecanoate

に対する SF は 20:2 ω 9 酸のそれらと一致しなかった。したがって、この異性体は 20:2 ω 9 酸とは異なる構造をもつ 20:2 酸であることがわかる。

考 察

ウニ生殖巣脂質から調製した画分 M-6 および M-7 の主要脂肪酸が 20:2 酸異性体であることの確認を行った。

画分 M-7 の主要脂肪酸は、水素化によってアラキジン酸を生じることから C_{20} の直鎖脂肪酸であることがわかり、水素吸収量から C_{20} のジエン酸であることが明らかとなった。また、GLC 分析における相対保持時間および 20:1 ω 9 酸または 20:2 ω 6 酸に対する SF から 8,11-20:2 酸とは異なる構造をもつ 20:2 酸、すなわち 20:2 酸異性体であることが確認された。

また、画分 M-6 は、前節の硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィーにおいて 11,14-20:2 酸を含むピーク E の後半、すなわち画分 Ar-6 から調製されたものであり、画分 Ar-7 (これから画分 M-7 を調製) との分離も不完全であった。しかも、画分 M-6 と M-7 の主要脂肪酸の GLC 分析における保持時間は全く等しかった。これらのことから、画分 M-6 の主要脂肪酸が 20:2 酸異性体であることは明白であり、画分 M-7 の主要脂肪酸と同一または非常に類似した構造をもつ 20:2 酸であると考えられる。

天然物中には 8,11- および 11,14- 20:2 酸以外に 5,11-^{91,92,100,101,147,148}、5,13-^{100,101,148}、7,10-^{100,149}、10,13-¹⁴⁹ および 14,17- 20:2 酸⁹¹ が存在し、このほか、6,11-¹⁴⁸ および 8,13- 20:2 酸¹⁴⁸ の存在が推定されている。ウニ脂質中に見いだされた 20:2 酸異性体は、脂肪酸の二重結合位置と GLC 分析における保持時間との関係^{105,106,122,123,150} から、10,13- または 14,17- 20:2 酸とは考えられない。したがって、この異性体は 5,11-, 5,13-, 6,11-, 7,10- あるいは 8,13- 20:2 酸のいずれか、またはそれらのいずれとも異なる特異な構造をもつ脂肪酸であろうと考えられる。

小 括

7 種類の分別操作を組み合わせて、ウニ生殖巣脂質の脂肪酸メチルエステルから 20:2 酸異性体の分離、精製を行い、この異性体を約 98% 含有する画分を調製した。

得られた画分について、炭素鎖長分析、不飽和結合数の測定、GLC における相対保持時間および SF の比較を行い、この脂肪酸が 8,11-, 11,14-, 10,13- または 14,17-20:2 酸とは異なる直鎖の 20:2 酸、すなわち 20:2 酸異性体であることを確認した。

第 4 章 エイコサジエン酸位置異性体の構造

前章において、ウニ生殖巣脂質から 20:2 酸異性体を分離、精製し、この脂肪酸が直鎖の 20:2 酸であることを確認した。しかも、この脂肪酸は、天然物中に広く分布している 8,11- または 11,14-20:2 酸とは異なり、特異な位置に二重結合を有する 20:2 酸と考えられた。このような 20:2 酸異性体の存在は海産動物では貝類脂質^{100,101} を除き知られていない。

そこで、この異性体の二重結合の位置決定を行った。

第 1 節 質 量 分 析

脂肪酸およびそのエステルの質量スペクトルは、分枝鎖の位置決定に利用されている^{151,152}。また、高級脂肪酸メチルエステルでは強い分子イオンピークが現われるため、分子量測定にも利用される¹⁵³⁻¹⁵⁷。

そこで、質量スペクトルを測定することによって、この異性体の分子量を求めた。

実験方法

試料: 前章において調製した画分 M-7 を用いた。

質量分析: 日本電子製マススペクトロメーター JMS-01SG 型を用い、イオン化電圧 75eV、試料温度 32°C で測定した。

実験結果

画分 M-7 の質量スペクトルを第 12 図に示す。この画分の主要脂肪酸メチルの分子イオンは m/e 322 であり、20:2 酸の分子量と一致した。したがって、この脂肪酸が 20:2 酸異性体であることが確認された。一般に高級脂肪酸メチルエステルでは強い分子イオンピークが検出されるが¹⁵³⁻¹⁵⁷、この 20:2 酸異性体では弱かった。このことは、この異性体の分子イオンがフラグメンテーションを起こしやすいことを示している。また、直鎖脂肪酸メチルエステルに特徴的な m/e 31, 74 のピークおよびメトキシカルボニルイオンの m/e 59, 87,

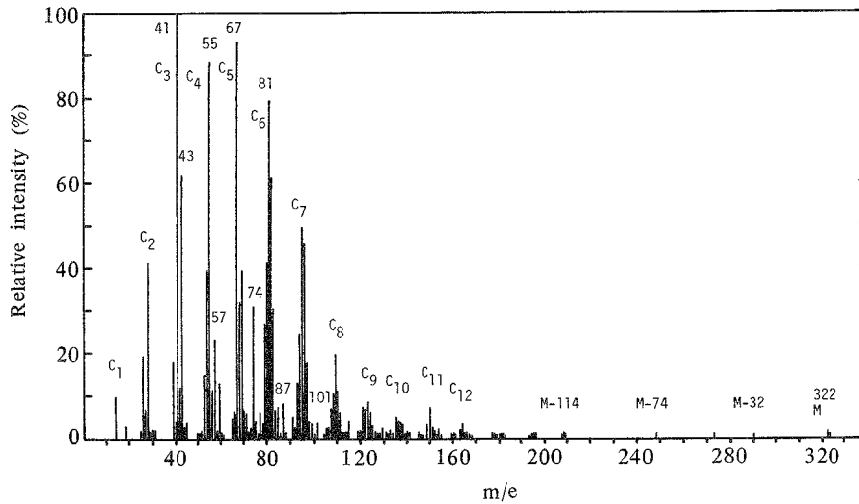


Fig. 12. Mass spectrum of isomeric eicosadienoate fraction, M-7, obtained from lipid of sea-urchin gonad by chromatographic procedures.

101, 115, 129 のフラグメントが認められた。基準ピークは m/e 41 の炭化水素フラグメントであり、このほか $C_1 \sim C_{12}$ の多数の炭化水素フラグメントが認められた。しかし、二重結合の位置と関連をもつ特徴的なフラグメントは検出されなかった。

考 察

前章において、ウニ脂質中に存在する 20:2 酸異性体は直鎖の 20:2 酸であることを確認したが、質量スペクトル分析からもこのことが確認された。また、この異性体の分子イオンピークは一般に知られている高級脂肪酸メチルエステルのそれに比べて弱く、基準ピークも m/e 41 と小さい。質量スペクトルから直接二重結合の位置に関する知見は得られなかった。

第2節 過ヨウ素酸ナトリウム-過マンガン酸カリウムによる酸化分解

不飽和脂肪酸を酸化剤を用いて酸化分解すると、不飽和結合の位置から切断される。したがって、分解生成物の組成を GLC で調べることによって、不飽和結合の位置を決定することができる⁸⁷⁾。

二重結合の切断法としては、過ヨウ素酸ナトリウム-過マンガン酸カリウム法¹⁵⁸⁻¹⁶⁴⁾およびオゾン分解法^{163,165,166)}が一般に用いられている。

そこで、前者の方法を用いて、20:2 酸異性体の二重結合の位置決定を行った。

実験方法

試料 前章において調製した画分 M-6 および M-7 を用いた。

酸化分解 RUDLOFF の方法¹⁵⁹⁾に従って、画分 M-6 および M-7 約 3 mg を 3 級ブタノール溶液中で過ヨウ素酸ナトリウム-過マンガン酸カリウムによって二重結合の位置から酸化分解した。得られたモノおよびジカルボン酸をエチルエーテルで抽出した。抽出液の一部をとり、減圧下でエチルエーテルを留去したのち、メチルエステル化し、得られたエステルを GLC 分析した。抽出液の残部をモノおよびジカルボン酸に分画したのち、メチルエステル化した。得られたモノおよびジカルボン酸メチルをそれぞれ GLC 分析し、脂肪酸の同定に役立てた。

脂肪酸分析 第2章の方法に準じて行った。しかし、低級モノカルボン酸およびジカルボン酸の分析はカラム温度 120°C および 160°C で行った。この際、標準として C₆~C₁₀ の飽和モノカルボン酸および C₂~C₁₁ の飽和ジカルボン酸のメチルエステルを用いた。

実験結果

画分 M-6 および M-7 を用いて、それぞれ酸化分解を行った。画分 M-7 の酸化分解生成物のガスクロマトグラムを第13図に示す。このクロマトグラム上に9個のピーク A~I が検出された。このうち、ピーク B, D, F および H はそれぞれノナン酸、グルタル酸、アジピン酸およびスベリン酸のピークと同定されたが、ピーク A の保持時間はヘプタン酸のそれと一致しなかった。また、ピーク C, E, G および H に相当する脂肪酸も見あたらなかった。したがって、これらは酸化分解中に生成した副産物のピークであろうと考えられる。

画分 M-6 および M-7 の酸化分解によって生成したモノおよびジカルボン酸の組成を第22表に示す。両画分ともに、生成したモノカルボン酸はほとんどノナン酸のみであり、ジカルボン酸はグルタル酸、アジピン酸およびスベリン酸であった。しかしながら、画分 M-6 と M-7 では、これらジカルボン酸の量的な割合が多少異なっており、前者ではスベリン酸が、後者ではアジピン酸とグルタル酸がそれぞれ多かった。また、ジビニルメタン型の二重結合配置をもつ脂肪酸の酸化分解によって、二重結合間の炭素鎖から生成されるはずのマロン酸は痕跡しか検出されなかった。これは酸化分解中に分解されたか¹⁶⁰⁾、ジビニルメタン型の二重結合を欠ぐためであろう。

上記の酸化分解生成物から推定される 20:2 酸の構造は第14図のとおりである。第3章、第1節における画分 M-6 および M-7 の GLC 分析においては、両画分ともに 20:2 酸異性体は単一ピークとして検出されたが、この酸化分解の結果からは二重結合配置の異なる 2~4 種類の 20:2 酸が混在し、その含有率が画分 M-6 と M-7 で異なると考えるのが妥当のようである。したがって、第14図に示した推定によると、画分 M-6 の主成分は 3,11- または 8,11-20:2 酸のいずれかであり、画分 M-7 のそれは 5,11- または 6,11-20:2 酸のいずれかであると考えられる。

ところで、5,11- または 6,11-20:2 酸の酸化分解によって、グルタル酸とアジピン酸は理論上等モル生成されるはずである。しかしながら、M-6 および M-7 の両画分ともにグルタル酸に比べてアジピン酸がより多量に得られた。これは、混在する 3,11-20:2 酸のカルボキシル基側の炭素鎖または 8,11-20:2 酸の二重

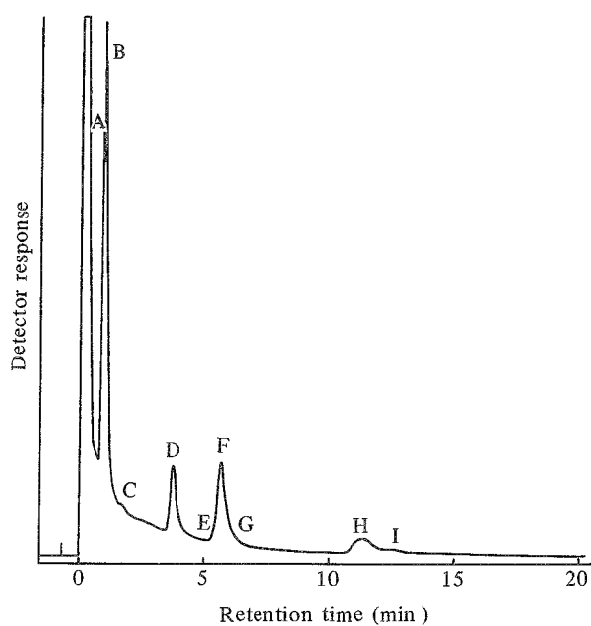


Fig. 13. Gas chromatogram of the methyl esters of the acids resulting from oxidative cleavage of isomeric eicosadienoate fraction, M-7.

Column temperature: 160°C

Table 22. Composition of oxidative cleavage products of isomeric eicosadienoate fractions, M-6 and M-7, estimated as methyl esters of mono- and dicarboxylic acids (mole %).

Fatty acid	Fraction	
	M-6	M-7
Monocarboxylic		
C ₈	Trace	—
C ₈	Trace	Trace
C ₉	100.0	100.0
Dicarboxylic		
C ₃	Trace	—
C ₄	Trace	—
C ₅	22.3	34.6
C ₆	27.7	50.0
C ₇	Trace	Trace
C ₈	50.0	15.4
C ₉	Trace	—

M-6 and M-7 were fractionated from lipid of sea-urchin gonad by chromatographic procedures.

結合間の炭素鎖から酸化分解の中間産物として生成するマロン酸セミアルデヒドまたはマロンアルデヒドなどから、アジピン酸ジメチルと GLC 分析において同じ保持時間をもつ化合物が生成されたためと考えることもできる。そこで、グルタコン酸およびノール酸を同一条件下で酸化分解し、これを確かめた。しかし、このような化合物の生成は認められなかった。したがって、グルタル酸とアジピン酸の生成量の差異は、KORN¹⁶⁷⁾も認めているようにグルタル酸の水溶性が非常に大きいため、その定量的な回収が困難なことに起因するものと考えられる。

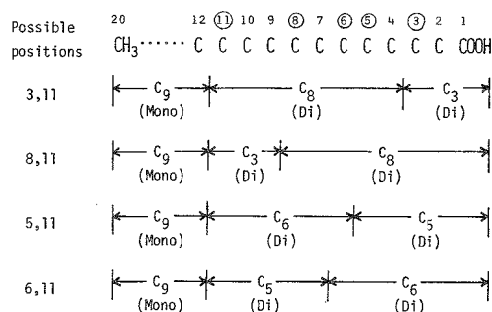


Fig. 14. Possible positions of double bonds in isomeric eicosadienoic acid deduced from C₉-monocarboxylic acid, and C₅-, C₆- and C₈-dicarboxylic acids obtained by periodate-permanganate oxidation.

考 察

バックドカラムを用いる GLC 分析で画分 M-6 および M-7 の主要脂肪酸は、それぞれ単一ピークを与え、しかも同一保持時間を有することから、ウニ脂質中にただ 1 種類の 20:2 酸異性体の存在が推定された。しかし、本実験の酸化分解の結果から、少なくとも 2 種類以上の異性体の存在が推定された。

酸化分解生成物の GLC 分析によって、生成したモノカルボン酸はノナン酸のみであることから、20:2 酸異性体の二重結合の 1 つは末端メチル基から 9 番目と 10 番目の炭素原子間、すなわちカルボキシル基側から 11 番目と 12 番目の炭素原子間に存在することがわかる。さらに、ジカルボン酸の組成から画分 M-6 の主要脂肪酸は 3,11- または 8,11-20:2 酸のいずれかであることが推定された。しかし、前章で述べたように、この脂肪酸の保持時間は 8,11-20:2 酸のそれに比べ、かなり短い。したがって、画分 M-6 の主要脂肪酸は 3,11-20:2 酸であろうと推定される。

一方、画分 M-7 の主要脂肪酸は 5,11-20:2 酸または 6,11-20:2 酸のいずれかであると考えられる。

第 3 節 アルカリ異性化前後の紫外線吸収スペクトル分析

共役不飽和脂肪酸は紫外線領域に特有の吸収をもち、ジビニルメタン型不飽和脂肪酸はアルカリとともに加熱すると、不飽和結合が共役化して紫外線領域に吸収をもつようになる¹⁶⁸⁾ また、ジビニルエタン型またはそれ以上離れた二重結合配置をもつ脂肪酸では、この異性化は極めて起こり難い¹⁶⁹⁾。

画分 M-6 の主要脂肪酸として 3,11- または 8,11-20:2 酸が推定され、保持時間から 3,11-20:2 酸であろうと考えられたが、正確な構造は明らかでない。

それゆえ、アルカリ異性化前後の紫外線吸収スペクトル分析を行い、画分 M-6 の主要脂肪酸が 3,11- または 8,11-20:2 酸のいずれであるかを明らかにした。

実験方法

試料 前章において調製した画分 M-6 を用いた。なお、庄野らの方法¹⁷⁰⁾に従って、酸化生成物を除去したのち、供試した。

アルカリ異性化 基準法¹⁷¹⁾に従って 6.6% 水酸化カリウム-エチレングリコール溶液中で異性化を行った。

共役不飽和脂肪酸の定量 試料メチルエステルを *n*-ヘキサンに溶解したのち、基準法¹⁷¹⁾に従って波長 210~346m μ の吸光度を測定し、共役不飽和脂肪酸含量を算出した。

非共役不飽和脂肪酸の定量 アルカリ異性化後の反応液をメタノールで希釈したのち、波長 210~346m μ の吸光度を測定し、上記と同様にして共役不飽和脂肪酸含量を算出した。アルカリ異性化前後の共役不飽和脂肪酸含量の差をジビニルメタン型非共役不飽和脂肪酸含量とした。なお、対照としてリノール酸メチル(和光純薬製、特級)を用い、同一条件下で試験した。

実験結果

画分 M-6 およびリノール酸メチルのアルカリ異性化前後の紫外線吸収スペクトルを第15および16図に示す。画分 M-6 およびリノール酸メチルともに異性化前には、この波長領域でほとんど吸収を示さなかったが、異性化後、両者ともに波長 233m μ に共役ジエンの吸収を示した。しかしながら、画分 M-6 の吸収は対照として同一条件下で試験したリノール酸メチルの吸収に比べて非常に弱かった。これらの吸光度から異性化前後の共役不飽和脂肪酸含量を計算した。得られた結果を第23表に示す。この条件下でリノール酸メチルは異性化して共役ジエン酸を生じたが、画分 M-6 の 20:2 酸異性体の大部分は異性化を起こさなかった。さらに、第23表の結果から、ジビニルメタン型二重結合配置をもつ脂肪酸含量を計算し、GLC 分析の結果と比較すると第24表のとおりである。リノール酸メチルでは、両分析の結果がほぼ一致したが、画分 M-6 ではジビニルメタン型ジエン酸およびその他の脂肪酸含量に差異が認められた。この差異は、この画分中に 3,11-20:2

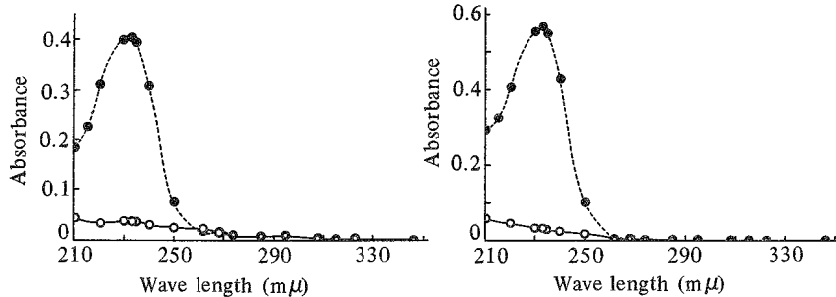


Fig. 15. Absorption spectra of isomeric eicosadienoate fraction, M-6, before and after alkaline isomerization.

Solid line, before alkaline isomerization (0.1080 g/l)

Dotted line, after alkaline isomerization (0.0600 g/l)

Fig. 16. Absorption spectra of methyl linoleate before and after alkaline isomerization.

Solid line, before alkaline isomerization (0.1080 g/l)

Dotted line, after alkaline isomerization (0.0064 g/l)

Table 23. Proportion of conjugated acids in isomeric eicosadienoate fraction, M-6 and control specimen, commercially available linoleate before and after alkaline isomerization.

Fatty acid	Fraction M-6		Methyl linoleate	
	Before isomerization	After isomerization	Before isomerization	After isomerization
	%	%	%	%
Conjugated dienes	0.30	6.02	0.20	94.72
" trienes	0	0.02	0.02	0.38
" tetraenes	0	0	0	0
" pentaenes	0	0	0	0
Others	99.70	93.96 ^{*1}	99.78	4.90 ^{*2}

*¹ Almost exclusively isomeric eicosadienoate

*² Almost exclusively oleate

Table 24. Composition of isomeric eicosadienoate fraction, M-6 and control specimen, commercially available linoleate, calculated from the data shown in Table 23, compared with their composition by GLC analysis.

Fatty acid	Fraction M-6		Methyl linoleate	
	Alkaline isomerization	GLC	Alkaline isomerization	GLC
	%	%	%	%
Conjugated dienes	0.30	0.3	0.20	—
" trienes	0	—	0.02	—
Methylene interrupted				
" dienes	5.72	1.5	94.52 ^{*3}	94.1
" trienes	0.02	—	0.36 ^{*4}	0.2
Others	93.96 ^{*1}	98.2	4.90 ^{*2}	5.7

*¹ and *², the same as those shown in Table 23

*³, linoleate ; *⁴, linolenate

酸に混じて少量存在した 8,11-20:2 酸が、GLC 分析では 3,11-20:2 酸の大きなピークと重なって出現したため検出されず、3,11-20:2 酸として測定されたことに起因している。このことは、リノール酸メチルについても細部では両分析の結果に多少の差異が認められることから明らかである。

考 察

画分 M-6 の主要脂肪酸は、アルカリ異性化してもほとんど共役酸を生じないことから、ジビニルエタン型またはそれ以上離れた二重結合配置をもつ 20:2 酸であることがわかる。したがって、画分 M-6 の主要脂肪酸は、さきに 3,11-20:2 酸であると推定したが、本実験によって 3,11-20:2 酸であることが確認された。また、アルカリ異性化法と GLC で求めた脂肪酸組成の比較から、この画分中になお少量の 8,11-20:2 酸が存在することがわかった。

第4節 キャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィー

第2節において、酸化分解の結果から画分 M-6 および M-7 の成分脂肪酸として2～4種類の構造を異にする20:2酸の存在を推定し、第3節において画分 M-6 の主要脂肪酸は3,11-20:2酸であり、このほか、少量の8,11-20:2酸の存在を明らかにした。

そこで、画分 M-6 および M-7 にそれぞれ何種類の20:2酸が存在するかをキャピラリーカラムを用いるGLC分析¹²⁶⁾によって調べた。

実験方法

試料 前章において調製した画分 M-6 および M-7 を用いた。

GLC 分析 キャピラリーカラムを用いる GLC の分析条件は第25表に示すとおりである。なお、標準脂肪酸として16:0, 18:0 および11,14-20:2酸メチルを用いた。

Table 25. Conditions for gas-liquid chromatography using capillary column.

Apparatus :	SHIMADZU Gas Chromatograph Model GC-5A
Column :	45 m×0.05 cm, stainless steel
Solid support :	Column wall
Stationary phase :	Butanediol succinate polyester (BDS)
Temperatures :	Column, 168°C; injection and detector, 280°C
Carrier gas :	Nitrogen at 2.2 ml/min
Detector :	SHIMADZU Hydrogen Flame Ionization Detector Model FID-5
Sensitivity :	1000 MΩ
Range :	0.08 V
Theoretical plates (<i>n</i>) :	Approximately 23,000
Analysis time :	Approximately 23 min to methyl palmitate

実験結果

画分 M-6 および M-7 のキャピラリーカラムを用いる GLC 分析によって得られたガスクロマトグラムを第17図に示す。画分 M-6 では4個のピーク A~D, 画分 M-7 では2個のピーク A および B が検出された。画分 M-6 におけるピーク D は、標準の11,14-20:2酸と保持時間が一致することから、11,14-20:2酸と同定された。また、ピーク C は、相対保持時間が2.43であり、11,14-20:2酸との SF が1.07であることから¹²²⁾、8,11-20:2酸と同定された。

バックドカラムを用いる GLC 分析で単一ピークとして検出された20:2酸異性体は、キャピラリーカラムを用いて GLC 分析すると、画分 M-6 および M-7 ともにピーク A および B の2個のピークに分かれた。したがって、これら両画分中には3,11-20:2酸以外に、20:2酸異性体として5,11- または 6,11-20:2酸のいずれか一方の脂肪酸が存在することがわかる。

次に、画分 M-6 および M-7 について、キャピラリーカラムを用いる GLC 分析によって得られたピーク A および B の比率と第2節における酸化分解の結果から算出した3,11-20:2酸と5,11- または 6,11-20:2酸の比率を比較すると、第26表のとおりである。両画分ともにピーク A と5,11- または 6,11-20:2酸、ピーク B と3,11-20:2酸の比率がほぼ等しかった。この比較から、ピーク A の成分は5,11- または 6,11-20:2酸のいずれかであり、ピーク B の成分は3,11-20:2酸であることが明白である。

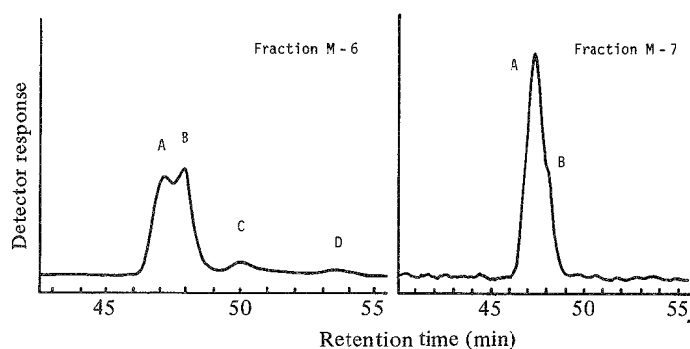


Fig. 17. Gas chromatograms of isomeric eicosadienoate fractions, M-6 and M-7 (capillary column, BDS, 45m).

Peaks: A, 5,11- or 6,11-eicosadienoate; B, 3,11-eicosadienoate; C, 8,11-eicosadienoate; D, 11,14-eicosadienoate

また、これらのピークの相対保持時間および11,14-20:2酸ピークとのSFを第27表に示す。これらの異性体の相対保持時間は8,11-20:2酸のそれよりもやや小さかった。しかも、両異性体の相対保持時間の差は非常に小さく、キャピラリーカラムを用いても、なお完全に分離し難いことを示している。

Table 26. Comparison between fatty acid composition based on capillary column analyses and oxidative cleavage.

Fraction	Composition based on			
	Capillary column analyses		Oxidative cleavage	
	Peak A	Peak B	3, 11- 20:2	5, 11- or 6, 11- 20:2
M-6	31.4	68.6	70.6	29.4
M-7	70.8	29.2	30.3	69.7

Table 27. Relative retention times and separation factors of eicosadienoates separated by capillary column.

Peak No. position of double bond	A	B	C	D
	5, 11	3, 11	8, 11	11, 14
r_{18}	2.29	2.33	2.43	2.61
SF	1.14	1.12	1.07	—

r_{18} : Retention times relative to methyl octadecanoate

SF: Separation factors between 11,14-eicosadienoate and others

考 察

キャピラリーカラムを用いた GLC 分析の結果から、画分 M-6 および M-7 には特異な二重結合配置を有する 2 種類の 20:2 酸異性体が存在することが明らかとなった。第 2 節における酸化分解の結果との比較から、画分 M-6 の主要脂肪酸は 3,11-20:2 酸であり、画分 M-7 のそれは 5,11- または 6,11-20:2 酸のいずれかであることが明らかとなった。

また、画分 M-6 にはパックドカラムを用いた GLC 分析で、その存在を確認できなかった 8,11-20:2 酸が少量混在することがわかった。これは第 3 節のアルカリ異性化の結果と一致した。

第 5 節 ヒドラジン部分還元物の酸化分解

画分 M-7 の主要脂肪酸が 5,11- または 6,11-20:2 酸のいずれであるかを確認するため、ヒドラジンによる部分還元物の酸化分解を行った。すなわち、20:2 酸異性体をヒドラジン-メタノール溶液で還元すると、二重結合の一方が水素化されて 2 種類の 20:1 酸を生じる⁷²⁾。生成した 20:1 酸を二重結合の位置から酸化分解し、分解生成物の組成を調べることによってこの異性体の二重結合の位置決定を行った。

実 験 方 法

試料 第 3 章, 第 1 節における画分 M-7 の調製法に準じて、新しい試料から調製した画分 M-7' を用いた。

部分還元 AYLWARD の方法¹⁷²⁾に従って、画分 M-7' にヒドラジン-メタノール溶液を加えて、50°C で 4 時間反応させ、二重結合を部分還元した。

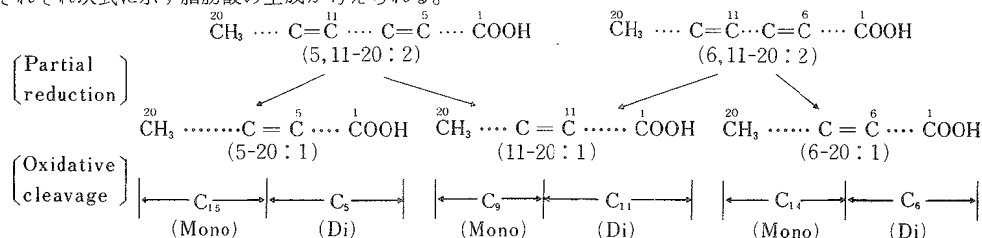
硝酸銀 TLC 第 1 章, 第 2 節の方法に準じて作製したプレート(20×20cm; 110°C, 120分間加熱活性化)にメチルエステルを帯状にスポットしたのち、メタノール-クロロホルム(0.5:99.5, v/v)を用いて展開した。風乾後、プレートの両端に 1%ヨウ素-メタノール溶液を噴霧してバンドの位置を確認し、モノエン酸画分を分取した。

酸化分解および脂肪酸分析 第 2 節と同様な方法で行った。

実 験 結 果

ムラサキウニ生殖巣から画分 M-7 の調製法に準じて、5,11- または 6,11-20:2 酸を多量に含有する画分 M-7' を調製した。硝酸銀含浸ゲイ酸カラムクロマトグラフィーの溶出曲線を第 18 図に示す。GLC 分析の結果、20:2 酸異性体はピーク E および F に存在した。第 2 節における酸化分解ならびに前節のキャピラリーカラムを用いる GLC 分析の結果から、5,11- または 6,11-20:2 酸はピーク F (斜線で示す)に濃縮されていることがわかる。そこで、この画分を用いて以後の分離、精製を行い、画分 M-7' (20:2 酸異性体含有率 93.7%) を調製した。

この画分 M-7' を用いて、ウニ脂質中に存在する 20:2 酸異性体が 5,11- または 6,11-20:2 酸のいずれであるかを調べた。すなわち、ヒドラジン部分還元物を酸化分解すると、5,11- および 6,11-20:2 酸からそれぞれ次式に示す脂肪酸の生成が考えられる。



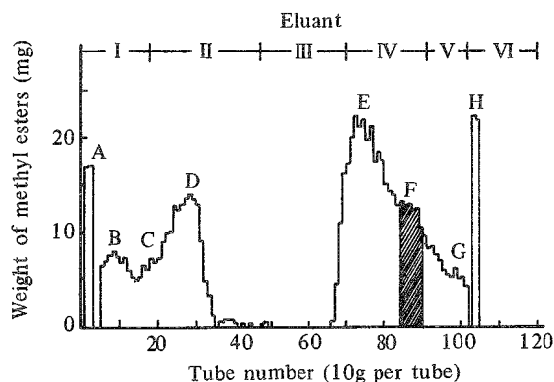


Fig. 18. Separation of isomeric eicosadienoate on silicic acid impregnated with silver nitrate.

Column: 2.6 × 62.5cm

Eluant: (I) 5% ethyl ether in petroleum ether, 500 ml;
 (II) 6% ethyl ether in petroleum ether, 600 ml;
 (III) 7% ethyl ether in petroleum ether, 600 ml;
 (IV) 8% ethyl ether in petroleum ether, 400 ml;
 (V) 9% ethyl ether in petroleum ether, 200 ml;
 (VI) ethyl ether alone, 400 ml

Flow rate : 2.0 ml/min

したがって、生じたモノおよびジカルボン酸の組成を調べることによって、20:2 酸異性体の構造を決定することができる。

画分 M-7' のヒドラジン部分還元物のガスクロマトグラムを第19図に示す。このクロマトグラム上に2個の20:1 酸ピーク、B および C が検出された。このうち、C は 11-20:1 酸のピークと同定されたが、B は、保持時間がより短いことから、5-または 6-20:1 酸のいずれかのピークであろうと考えられる。

この部分還元物を硝酸銀 TLC によって分別し、モノエン酸画分を分取したのち、過ヨウ素ナトリウム-過マンガン酸カリウム溶液を加えて酸化分解した。生成したモノおよびジカルボン酸の組成を GLC で調べ

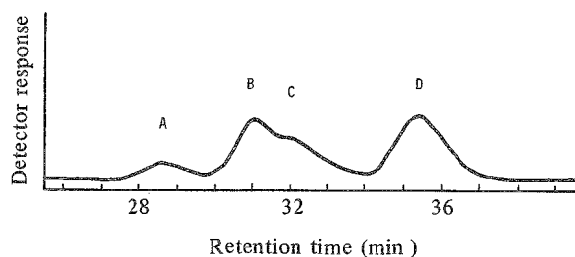


Fig. 19. Gas chromatogram of hydrazine reduced isomeric eicosadienoate fraction, M-7' (packed column, DEGS, 3m).

Peaks: A, arachidate; B, assumable other eicosenoate;
 C, 11-eicosenoate; D, isomeric eicosadienoate

た。得られた結果を第28表に示す。モノカルボン酸としてはノナン酸とペンタデシレン酸、ジカルボン酸としてはグルタル酸とウンデカン二酸が多量に生成した。

Table 28. Composition of oxidative cleavage products of monoenoic acids formed by hydrazine partial reduction of isomeric eicosadienoate fraction, M-7', estimated as methyl esters of mono- and dicarboxylic acids.

Monocarboxylic acid		Dicarboxylic acid	
Component	mole %	Component	mole %
C ₈	0.8	C ₄	1.1
C ₉	37.2	C ₅	35.4
C ₁₀	0.5	C ₆	3.6
C ₁₂	0.6	C ₇	3.4
C ₁₃	1.9	C ₈	1.6
C ₁₄	8.4	C ₉	7.1
C ₁₅	36.4	C ₁₀	11.8
C ₁₆	14.2	C ₁₁	36.0
		C ₁₂	Trace

考 察

画分 M-7' のヒドラジンによる部分還元によって2種類の20:1酸が得られ、その1つは11-20:1酸と特定された。したがって、この画分の主要20:2酸異性体の二重結合の1つは11位と12位の炭素原子間に存在することがわかる。これは第2節で得られた結果と一致した。

得られた20:1酸画分の酸化分解によって多量に生成したモノおよびジカルボン酸はノナン酸、ペンタデシレン酸、グルタル酸およびウンデカン二酸であった。このうち、ノナン酸とウンデカン二酸は11-20:1酸から生成したものである。また、ペンタデシレン酸およびグルタル酸が多量に得られたことから、他の1つの20:1酸は5-20:1酸であることがわかる。したがって、画分 M-7' の主要脂肪酸の構造を5,11-20:2酸と決定した。なお、分解生成物中にミリスチン酸およびアジピン酸も検出されたが、これら脂肪酸の含有率はペンタデシレン酸およびグルタル酸に比べて低く、しかも両脂肪酸の含有率に大きな差異がある。したがって、これらの脂肪酸は酸化分解過程に生成した副産物¹⁶¹⁾であり、6,11-20:2酸の存在を示すものとは考えられない。

小 括

質量分析、過ヨウ素酸ナトリウム-過マンガン酸カリウムによる酸化分解、アルカリ異性化、キャピラリーカラムによるGLCおよびヒドラジン部分還元物の酸化分解によって、ウニ脂質中に存在する20:2酸異性体の二重結合の位置決定を行った。

その結果、ウニ脂質中には特異な二重結合配置をもつ2種類の20:2酸が存在することが明らかとなり、それらの構造を3,11-20:2酸および5,11-20:2酸と決定した。

天然物中に存在する不飽和脂肪酸は、構造上共通な特徴をもつものが多く、オレイン酸、リノール酸またはリノレン酸系列のいずれかに属し、多くはジビニルメタン型の二重結合配置をとることが知られている⁸⁵⁻⁸⁸⁾。しかしながら、これらの脂肪酸以外に特異な構造をもつ脂肪酸の存在も認められている^{89,90)}。20:2酸については、8,11- および 11,14-20:2酸が天然物中に広く分布するが^{85,89)}、 ω 3系列に属する14,17-20:2酸はあまり見いだされていない⁹¹⁾。また、特異な構造をもつ20:2酸として、5,11-^{91,92,100,101,147,148)}、5,13-^{100,101,148)}、7,10-^{100,149)} および 10,13-20:2酸¹⁴⁹⁾の存在が確認されており、このほか6,11-¹⁴⁸⁾ および 8,13-20:2酸¹⁴⁸⁾の存在が推定されている。

ウニ脂質から見いだされた3,11-20:2酸は3位の炭素原子に二重結合をもち、しかも2個の二重結合がhexamethylene interrupted配置をした特異な構造を有する脂肪酸であり、天然物中からはじめて発見された脂肪酸である。天然に存在する3位の炭素原子に二重結合をもつ脂肪酸としては、3-16:1⁹³⁻⁹⁵⁾、3-18:1^{74,94,95)}、3,6-16:2¹⁴⁹⁾、3,9-18:2⁹³⁾、3,9,12-18:3⁹³⁻⁹⁶⁾ および 3,9,12,15-18:4酸⁹⁷⁾が知られている。

また, hexamethylene interrupted 配置をもつ脂肪酸としては, 5,13-20:2^{100,101,148)}, 5,13-22:2^{32,34,74)} および 7,15-22:2 酸¹⁰¹⁾ の存在が報告されている。しかしながら, 3,11-20:2 酸と同じ構造上の特徴を有する脂肪酸は見あたらない。

5,11-20:2 酸はイチョウの種子および葉^{91,92)}, ラット肝臓^{147,148)} から見いだされているが, 最近海産の貝類^{100,101)} からも発見されている。このほか, 5,11-位に二重結合をもつジエン酸としては 18:2 酸^{75,91,92,173)} があり, 特にこの脂肪酸は粘菌類⁷⁵⁾ のおもな構成脂肪酸である。天然にはこれらの脂肪酸以外に tetramethylene interrupted 配置をもつ脂肪酸が多数存在するが^{39,91-98,101,147,174)}, 一部の植物種子油^{93,95-97)} を除き, 一般にその含量は少ない。ウニは 5,11-20:2 酸を比較的多量に含有するまれな海産動物として注目される。

一般に特異な二重結合配置をもつ脂肪酸は, 植物界特に植物種子油^{32,34,39,74,91-99)} から多く見いだされており, 動物脂質中の分布はあまり知られていない^{101,147-149)}。3,11- および 5,11-20:2 酸がウニ脂質に存在することは比較生化学上の立場から興味深い。

第5章 海産動植物中におけるエイコサジエン酸 位置異性体の分布

海産動植物脂質の主要脂肪酸の組成については多数の研究があり, これらは GRUGER¹⁷⁵⁾ によって総括されている。しかしながら, 脂肪酸組成を詳細に調べた研究は少なく, 20:2 酸異性体の存在についても 2,3 の報告があるに過ぎない^{100,101,142)}。

ポリエステルカラムを用いる GLC 分析においてウニ脂質中の 20:2 酸異性体は, 18:4 ω3 酸とほぼ等しい保持時間を有するため, 化学的な分別手段を併用しない限り検出できなかった。したがって, 既往の報告では 18:4 ω3 酸として定量されている可能性がある。

よって, 各種の海産動植物脂質について脂肪酸組成を硝酸銀 TLC と GLC を併用して詳細に分析し, この異性体の分布を調べた。

第1節 軟体動物 二枚貝および腹足類における分布

貝類脂質の脂肪酸組成については, いくつかの研究があるが^{78,113,176-179)}, これらの研究はいずれも筋肉脂質のおもな構成脂肪酸を調べたものである。最近, ACKMAN ら¹⁰⁰⁾ はタマキビおよびタマツメタの一種に, WATANABE ら¹⁴²⁾ および PARADIS ら¹⁰¹⁾ はカキの一種に 20:2 酸異性体の存在を認めている。

そこで, ウニと同様に海藻類を主餌料とする腹足類 3 種および植物性プランクトンを主餌料とする二枚貝 2 種の脂肪酸組成を詳細に調べ, 20:2 酸異性体の分布を明らかにするとともに筋肉と内臓, 二枚貝と腹足類の間でどのような差異があるかを比較検討した。

実験方法

試料 下関市吉見町付近の沿岸で採捕した二枚貝 (Bivalvia) 2 種すなわちマテガイ *Solen strictus* およびカガミガイ *Phacosoma japonica*, 腹足類 (Gastropoda) 3 種すなわちクロアワビ *Nordotis discus*, サザエ *Batillus cornutus* およびオオコシタカガングラ *Omphalius pfeifferi carpenteri* を用いた。試料の採捕時期, 使用個体数, 殻長または殻径, 筋肉および内臓の重量を第 29 表に示す。

脂質の抽出ならびに脂肪酸分析 第 2 章と同様な方法で行った。

Table 29. Description of the sample examined.

Common name	Japanese name	Season	Number of individuals	Average size (cm)	Total weight (g)	Stripped shellfish			
						Muscle		Viscera	
					Weight (g)	Yield (%)	Weight (g)	Yield (%)	
Razor clam	Mategai	Dec.	330	8.7*	1600	590	36.9	140	8.8
Venus shell	Kagamigai	Dec.	72	5.2*	2413	319	13.2	130	5.4
Abalone	Kuroawabi	Jan.	17	8.0*	966	382	39.5	166	17.2
Top shell	Sazae	Jan.	18	5.3**	1564	264	16.9	260	16.6
Tegula	Ookoshitakagangara	Nov.	135	3.4**	2400	197	8.2	201	8.4

* Shell length

** Shell diameter

実験結果

筋肉および内臓の脂質含量を第30表に示す。貝類の脂質含量は、筋肉で1～2%、内臓で2～3%と低い。オオコシタカガンガラ内臓では約5%であった。

Table 30. The lipid content of shellfishes.

Species	Lipid content (%)	
	Muscle	Viscera
Razor clam	1.3	2.5
Venus shell	1.2	2.3
Abalone	1.1	2.7
Top shell	1.7	3.4
Tegula	1.7	4.8

マテガイ筋肉脂質の脂肪酸メチルエステルの水素化前後のガスクロマトグラムを第20図に示す。水素化物のクロマトグラムで14:0と16:0、16:0と18:0、18:0と20:0、20:0と22:0酸の大きなピークの中にそれぞれ2～3個のピークが認められた。このうち、1つは飽和奇数炭素鎖脂肪酸のピークであるが、他は飽和直鎖脂肪酸のピークではない。これらのピークA～Hはいずれも飽和分枝鎖脂肪酸のピークと推定さ

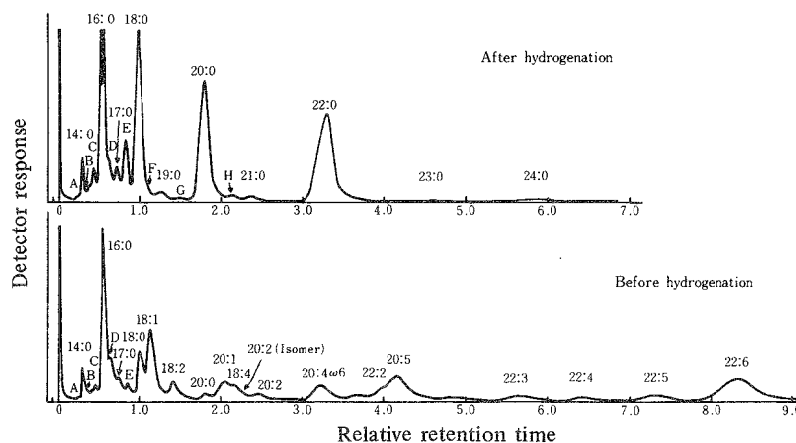


Fig. 20. Gas chromatograms of fatty acid methyl esters from muscular lipid of razor clam.

れる。ピーク D および H を除く、他のピークの equivalent chain length (ECL) 値¹²³⁾ は、第31表に示すようにイソ型またはアンテイソ型の標準飽和分枝鎖脂肪酸の ECL 値とほぼ一致した。したがって、ピーク A, C, E および G をそれぞれイソ 14:0, イソ 16:0, イソ 18:0 およびイソ 20:0 酸、ピーク B および F をアンテイソ 15:0 およびアンテイソ 19:0 酸と同定した。また、ピーク D および H は第21図の相対保持

Table 31. Equivalent chain lengths (ECL) of authentic branched chain fatty acid methyl esters and the esters (A-H) appeared on chromatogram after hydrogenation (cf. Fig. 20).

Authentic esters			Examined esters	
		ECL	Symbol	ECL
Iso	14:0	13.48	A	13.48
Anteiso	15:0	14.58	B	14.55
Iso	16:0	15.47	C	15.43
—	—	—	D	16.47
Anteiso	17:0	16.66	—	—
Iso	18:0	17.55	E	17.51
Anteiso	19:0	18.74	F	18.70
Iso	20:0	19.57	G	19.53
—	—	—	H	20.52
Anteiso	21:0	20.74	—	—

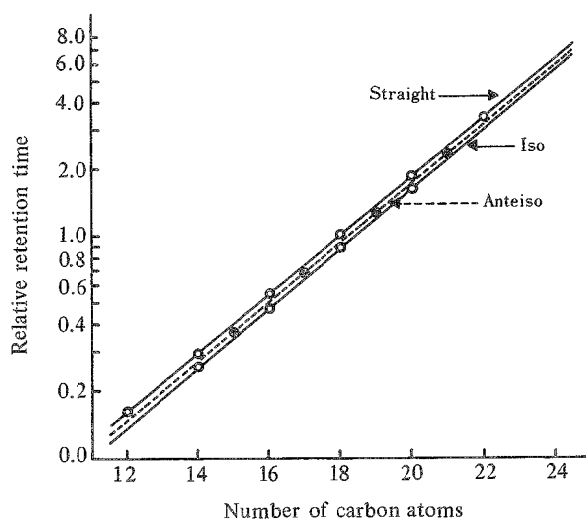


Fig. 21. Relative retention time plotted against the number of carbon atoms of fatty acids.

時間-炭素数直線でイソ型の分枝鎖脂肪酸を結ぶ直線上に存在することから、イソ 17:0 およびイソ 21:0 酸と同定した。しかしながら、ピーク E の百分率は試料メチルエステルでは 1.9%、その水素化物では 5.4% であったので、イソ 18:0 酸のほかに C₁₈ のイソ型不飽和分枝鎖脂肪酸の存在が推定された。試料メチルエステルのクロマトグラムでこの不飽和分枝鎖脂肪酸が重なって出現していると考えられるピークは、量的に

Table 32. Fatty acid composition of the lipids from shellfishes.

(%)

Fatty acid	Razor clam		Venus shell		Abalone		Top shell		Tegula	
	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera
12:0	Trace	0.1	Trace	Trace	Trace	0.1	Trace	0.1	Trace	0.1
13:0	Trace	Trace	Trace	Trace	0.1	0.1	Trace	Trace	Trace	0.1
Iso 14:0	0.1	0.1	0.1	0.1	—	—	Trace	0.1	0.1	0.1
:0	1.8	2.1	0.7	2.4	3.0	6.3	1.6	4.7	1.8	5.9
:1	0.2	0.2	0.2	0.2	Trace	0.3	0.3	0.6	0.1	0.4
:3 ω6?	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	0.8	0.2	0.1	Trace	Trace
Anteiso 15:0	0.3	0.6	0.1	0.4	—	—	Trace	Trace	0.3	0.4
:0	0.7	0.6	0.4	0.5	1.0	1.1	2.6	1.9	1.1	1.0
Iso 16:0	1.7	1.1	1.4	0.8	1.8	1.2	0.5	0.3	1.6	1.1
:0	16.3	12.3	18.2	16.1	21.9	23.1	23.3	18.9	20.0	23.8
:1 ω7	1.2	2.1	0.5	2.9	0.9	0.9	1.2	1.3	1.8	4.2
:2 ω4	0.2	0.1	Trace	Trace	Trace	0.2	0.2	0.8	Trace	Trace
:3 ω4	0.2	0.1	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	0.8	Trace	Trace
:4 ω3	Trace	1.3	0.2	0.1	0.1	0.1	Trace	Trace	Trace	Trace
Iso 17:0	2.7	1.8	2.6	2.2	—	—	Trace	Trace	2.2	1.1
:0	2.7	2.2	2.5	1.9	1.3	1.4	2.2	1.6	3.6	2.1
:1	0.1	0.2	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	0.4	Trace	0.4
Iso 18:0	1.9	1.7	2.7	1.4	2.0	2.3	3.4	2.3	5.0	3.8
:0	3.5	2.9	0.3	2.5	4.5	3.1	1.8	1.8	1.3	3.4
Iso :1	3.5	3.0	5.0	3.3	0.4	—	3.4	1.4	2.4	—
:1 ω9	10.6	16.5	8.2	14.8	12.0	10.2	8.0	12.1	9.1	15.0
:2 ω6	3.2	7.1	1.7	4.3	1.3	2.1	3.4	2.6	2.5	2.5
:3 ω6	0.3	0.7	0.3	0.5	0.1	0.3	0.2	0.4	0.3	Trace
:3 ω3	1.1	1.7	1.0	1.7	2.8	4.1	1.6	1.8	1.5	2.2
:4 ω3	2.5	2.1	3.3	2.2	1.0	2.6	0.5	1.3	1.2	0.7
Anteiso 19:0	0.5	0.4	0.5	0.4	—	—	—	—	—	—
:0	0.2	—	Trace	0.4	—	—	—	0.3	Trace	—
:1	0.2	0.2	Trace	Trace	Trace	0.2	0.2	Trace	Trace	0.4
:5 ?	0.3	0.4	0.6	0.1	0.7	0.6	0.6	0.6	1.2	0.5
Iso 20:0	0.3	0.2	0.6	0.4	0.4	0.6	0.5	0.5	0.5	0.4
:0	0.1	0.3	Trace	0.3	0.5	0.8	0.3	0.4	0.3	0.7
:1 ω9	4.4	5.4	3.1	4.7	3.7	4.7	1.7	4.2	2.6	4.0
:2 Isomer	1.1	1.2	0.8	1.1	0.4	1.1	0.4	1.0	0.5	1.0
:2 ω6	1.5	1.7	1.6	1.2	0.3	0.5	0.3	0.6	0.4	0.4
:3 ω9	Trace	0.5	—	—	—	—	—	—	0.3	0.4
:3 ω6	0.3	0.4	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.6	0.3	0.4
:4 ω6*	4.0	3.4	3.7	2.7	8.7	7.6	11.3	12.5	9.0	4.9
:4 ω3	0.6	0.2	0.5	0.7	1.3	0.8	1.2	0.7	0.2	0.7
:5 ω3	7.0	5.3	10.7	9.8	8.8	9.3	5.6	7.3	7.5	5.8
Iso 21:0	0.3	0.6	0.7	0.6	0.4	0.4	0.3	0.3	0.5	0.5
:0	Trace	—	—	—	Trace	—	Trace	—	—	—
:1 ω9?	Trace	—	—	—	0.2	0.3	Trace	—	Trace	—
:2 ω7?	0.2	0.3	—	—	0.4	0.3	Trace	0.5	0.4	0.3
:3 ω6?	—	Trace	0.3	0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	Trace	0.2

Table 32. (Cont'd)

Fatty acid	Razor clam		Venus shell		Abalone		Top shell		Tegula	
	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera	Muscle	Viscera
21:5 ω 2	0.7	0.4	0.7	0.5	—	—	0.8	0.6	0.3	0.3
Iso 22:0	—	—	—	—	—	—	Trace	0.2	—	—
:0	Trace	—	0.7	0.3	—	0.2	0.2	Trace	—	—
:1 ω 9	0.3	1.0	0.3	0.5	0.3	0.4	1.0	0.4	0.7	0.2
:2 ω 6	4.1	3.9	4.2	4.3	4.9	4.2	3.9	3.3	5.2	4.1
:3 ω 6	0.6	0.8	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.6	0.5	0.3
:3 ω 3	0.9	0.5	1.0	0.4	2.3	1.2	4.1	2.7	1.0	0.3
:4 ω 3	1.0	0.9	1.0	0.6	0.4	Trace	0.7	0.5	1.1	0.5
:5 ω 3	2.1	1.5	2.3	1.5	9.3	5.0	8.9	4.2	7.1	3.3
:6 ω 3	14.0	8.3	15.1	9.8	0.4	Trace	0.9	0.7	2.3	1.4
Anteiso 23:0	—	0.7	0.6	Trace	—	—	—	—	0.6	—
:0	Trace	0.3	—	—	—	—	0.5	0.7	0.6	—
:2 ω 6?	—	—	—	—	Trace	0.2	—	—	—	—
:3 ω 6?	—	—	0.5	0.5	—	Trace	—	—	—	—
Iso 24:0	—	—	—	—	0.4	—	0.4	—	—	0.3
:0	0.5	0.5	0.6	0.3	0.6	—	0.4	0.6	0.8	0.4
:1	—	—	—	—	—	0.3	—	—	—	—
Iso 25:0	—	—	—	—	—	—	0.4	Trace	—	—
:0	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—	—
26:0	—	—	—	—	0.6	—	—	—	—	—

* Includes a small amount of 20:3 ω 3 acid

みて、18:0 または 18:1 酸ピーク以外には存在しない。WOLFE ら⁸⁰⁾は淡水産ザリガニ脂質中に 18:1 分枝鎖脂肪酸を検出し、相対保持時間が 1.01 であると報告している。硝酸銀 TLC で得た飽和酸とモノエン酸を含有する画分のクロマトグラムには 18:0 および 18:1 酸の大きなピークが存在するため、イソ 18:1 酸のピークを確認することはできず、ジエン酸画分にはイソ 18:2 酸ピークは存在しなかった。このことから、問題の C₁₈ イソ型不飽和分枝鎖脂肪酸はイソ 18:1 酸と推定された。20:2 酸異性体は、試料メチルエステルのクロマトグラムでは 18:4 酸ピークの後方にショルダーとなって出現し、明確なピークとして検出できなかったが、硝酸銀 TLC のジエン酸画分のクロマトグラムで 20:2 ω 6 酸ピークの直前に明らかなピークとして現われ、その存在が確認された。

マテガイの筋肉脂質と同様にマテガイの内臓脂質、その他の貝類の筋肉と内臓脂質の脂肪酸組成を分析した。得られた結果を第 32 表に示す。貝類脂質の構成脂肪酸として 47~55 種類の脂肪酸が検出された。そのうち、おもな脂肪酸は、マテガイの筋肉脂質では 16:0、18:1、20:5 および 22:6 酸であり、内臓脂質では 16:0、18:1、18:2、20:1、20:5 および 22:6 酸であった。また、カガミガイのそれは、筋肉脂質では 16:0、イソ 18:1、18:1、20:5 および 22:6 酸であり、内臓脂質では 16:0、18:1、20:5 および 22:6 酸であった。マテガイとカガミガイの筋肉および内臓脂質の脂肪酸組成に顕著な差異は認められなかった。

腹足類に属する 3 種類の貝においても、筋肉または内臓脂質の脂肪酸組成はほぼ類似し、筋肉脂質のおもな構成脂肪酸は 16:0、18:1、20:4 ω 6、20:5 および 22:5 酸であり、内臓脂質のそれは 14:0、16:0、18:1、20:4 ω 6 および 20:5 酸であった。筋肉と内臓脂質では 14:0 および 22:5 酸含有率に明らかな差異が認められ、筋肉で 22:5 酸、内臓で 14:0 酸含有率が高かった。

次に、二枚貝と腹足類の筋肉脂質の脂肪酸組成を比較すると、20:4 ω 6, 22:5 および 22:6 酸含有率に明らかな差異が認められ、二枚貝で 22:6 酸, 腹足類で 20:4 ω 6 および 22:5 酸含有率が高かった。新聞ら⁷⁸⁾も貝類筋肉脂質について同一傾向を認めている。内臓脂質についても同様な傾向が認められたが、筋肉脂質ほど顕著でなかった。

20:2 酸異性体は供試したすべての貝類脂質に分布し、その含有率は二枚貝で 0.8~1.2%, 腹足類で 0.4~1.1%であった。二枚貝と腹足類, 筋肉と内臓の脂質で含有率に顕著な差異は認められなかったが、腹足類の筋肉脂質でやや低かった。

考 察

二枚貝 2 種および腹足類 3 種の筋肉および内臓のすべての脂質に 20:2 酸異性体が分布することが明らかとなった。その含有率は、0.4~1.2%であり、既往の報告¹⁰⁰⁾とほぼ等しかった。二枚貝と腹足類脂質では 20:4 ω 6, 22:5 および 22:6 酸含有率に明らかな差異が認められたが、この異性体含有率には顕著な差異は認められなかった。

また、ウニと同様に草食性で、しかもほぼ同一海域に生息している腹足類脂質の 20:2 酸異性体含有率はウニ脂質に比べかなり低く、脂質含量を考慮しても、腹足類中のこの異性体含量はウニに比べて非常に少なかった。したがって、20:2 酸異性体は海藻類を主餌料とする海産動物に特徴的な脂肪酸であるとは考えられない。

第 2 節 棘皮動物における分布

貝類における 20:2 酸異性体の分布については、第 1 節で述べた。

本節では、分類学上ウニと同じ棘皮動物に属するマナマコおよびイトマキヒトデにおける 20:2 酸異性体の分布を調べた。

実 験 方 法

試料 山口県北浦沿岸で採捕したマナマコ *Stichopus japonicus* およびイトマキヒトデ *Asterina pectinifera* を用いた。試料の採捕時期、使用個体数、体長および体重などを第 33 表に示す。

脂質の抽出および脂肪酸分析 第 2 章と同様な方法で行った。

Table 33. Description of the sample examined.

Species	Season	Number of individuals	Body length (cm)	Body weight (g)	Yield	
					Muscle (%)	Viscera (%)
Manamako	Nov.	5	10.5-18.0	44.0-75.0	92.3	7.7
Itomakihitode	Dec.	7	3.5-4.2*	21.5-34.2	—	—

*Disc length

実 験 結 果

マナマコの筋肉と内臓およびイトマキヒトデの脂質含量を第 34 表に示す。棘皮動物の脂質含量は、いずれも少なく、0.5%未満であった。

Table 34. The lipid content of echinoderms.

	Manamako		Itomakihitode
	Muscle	Viscera	Whole
	%		%
Lipid content	0.4	0.4	0.2

次に、これら脂質の脂肪酸組成を第35表に示す。マナマコの筋肉と内臓脂質の脂肪酸組成は類似したが、イトマキヒトデのそれはやや異なった。各脂質に共通なおもな構成脂肪酸は16:0, 18:0, 18:1, 20:1, 20:3 ω 3 および20:5 酸であり、このほかマナマコ筋肉で16:1 酸, 内臓で22:6 酸もおもな構成脂肪酸

Table 35. Fatty acid composition of the lipids from echinoderms.

Fatty acid	Manamako		Itomaki- hitode	Fatty acid	Manamako		Itomaki- hitode
	Muscle	Viscera			Muscle	Viscera	
	%	%	%		%	%	%
12:0	0.6	1.9	0.1	18:4 ω 3	Trace	—	Trace
1	0.3	1.1	0.1	5?	Trace	Trace	Trace
Iso 13:0	0.5	Trace	—	Anteiso 19:0	0.6	Trace	0.5
0	Trace	0.5	0.1	0	0.9	0.9	1.2
1	0.4	—	0.3	1	0.6	0.6	1.5
Iso 14:0	—	Trace	0.4	2	0.3	0.2	Trace
Anteiso 14:0	0.6	Trace	—	4 ω 3	Trace	Trace	0.1
0	1.4	1.0	1.0	Iso 20:0	Trace	Trace	0.4
1	0.2	0.1	0.1	0	1.1	1.3	0.6
2	—	—	Trace	1 ω 9	7.0	4.8	18.8
3 ω 3	Trace	0.1	—	2 Isomer	1.0	0.6	3.4
4?	—	—	Trace	2 ω 9	0.4	0.4	0.2
Iso 15:0	—	—	1.1	2 ω 6	0.6	1.9	2.0
Anteiso 15:0	2.4	1.1	—	3 ω 6	0.3	0.4	—
0	0.9	1.0	0.7	3 ω 3	13.5	16.9	13.4
1	Trace	0.3	0.1	4 ω 3	Trace	0.1	0.1
2	—	—	0.1	5 ω 3	10.0	15.9	13.1
3?	Trace	Trace	—	Iso 21:0	—	—	1.1
3 ω 3	Trace	Trace	Trace	Anteiso 21:0	Trace	0.6	—
5?	0.1	0.1	0.4	0	1.0	1.2	0.4
Iso 16:0	0.8	0.6	0.7	1	1.4	1.0	1.1
0	9.2	5.0	4.7	2	—	—	0.2
1 ω 9	7.6	3.1	1.7	3?	0.1	0.7	0.8
2 ω 7	—	—	0.4	3 ω 3	0.3	0.9	—
3 ω 6	0.2	0.3	—	5 ω 2	Trace	Trace	0.3
3 ω 3	0.1	0.3	—	22:0	1.5	1.6	0.9
5?	Trace	Trace	Trace	1 ω 9	1.8	1.6	1.0
Iso 17:0	1.1	0.5	0.6	2 ω 6	—	—	0.3
0	2.0	0.8	0.9	3 ω 6	Trace	0.3	0.3
1	0.3	0.3	0.2	3 ω 3	2.2	0.4	0.3
3?	Trace	0.1	0.7	4 ω 3	1.6	2.0	0.3
3 ω 3	Trace	0.2	Trace	5 ω 3	1.0	3.1	0.5
4 ω 3	—	—	Trace	6 ω 3	3.8	6.0	1.8
Iso 18:0	0.6	0.5	0.6	Anteiso 23:0	—	Trace	Trace
0	6.3	4.6	7.7	0	1.3	0.9	0.4
1 ω 9	5.7	6.5	8.2	1	2.2	2.2	0.2
2 ω 6	1.2	0.9	0.6	24:0	0.4	0.4	0.6
3 ω 6	—	—	0.8	1 ω 9	2.0	2.0	0.9
3 ω 3	0.6	0.3	0.2	25:0	—	—	0.9

の1つであった。

20:2 酸異性体は、供試したすべての脂質に分布し、マナマコ筋肉および内臓脂質で1.0%および0.6%、イトマキヒトデ脂質で3.4%であった。

考 察

20:2 酸異性体はマナマコの筋肉と内臓およびイトマキヒトデにも分布することが明らかとなった。しかし、その含有率にはマナマコとイトマキヒトデ脂質でかなりの差異が認められた。すなわち、肉食性のイトマキヒトデ脂質で含有率が高く、デトリタスおよび珪藻類を餌料とするマナマコ脂質で低かった。

また、イトマキヒトデ脂質の20:2 酸異性体含有率は、ウニ脂質に比べてかなり低い、貝類脂質のそれよりもかなり高かった。マナマコの筋肉および内臓脂質のこの異性体含有率は貝類脂質のそれとほぼ等しかった。したがって、20:2 酸異性体はウニに特徴的な脂肪酸であるとは考え難い。

第3節 海藻類における分布

二枚貝、腹足類および棘皮動物における20:2 酸異性体の分布については、第1節および第2節で述べた。本節では、ウニが餌料として摂取している数種の海藻について20:2 酸異性体の分布を調べた。

実 験 方 法

試料 山口県北浦沿岸で採取したアラメ *Eisenia bicyclis*, カジメ *Ecklonia cava*, ワカメ *Undaria pinnatifida*, ヒジキ *Hizikia fusiforme*, ウミトラノオ *Sargassum thunbergii*, ノコギリモク *Sargassum serratifolium*, マクサ *Gelidium amansii* およびアナアオサ *Ulva pertusa* を用いた。

脂質の抽出 第2章と同様な方法で行った。

脂肪酸メチルエステルの調製 第1章、第1節と同様にして調製した。

脂肪酸分析 第2章と同様な方法で行った。

実 験 結 果

海藻類の脂質含量および脂肪酸組成を第36および37表に示す。海藻類の脂質含量は、一般に少なく、0.1~0.6%であった。

Table 36. The lipid content of seaweeds.

Species	Lipid content
Brown algae	%
Arame	0.2
Kajime	0.2
Wakame	0.1
Hijiki	0.3
Umitoranoo	0.6
Nokogirimoku	0.4
Red algae	
Makusa	0.2
Green algae	
Anaaosa	0.1

Table 37. Fatty acid composition of the lipids from seaweeds.

(%)

Fatty acid	Arame	Kajime	Wakame	Hijiki	Umito- ranoo	Nokogi- rimoku	Makusa	Anaaosa
12:0	0.2	0.1	—	0.2	—	0.2	0.2	0.3
1	0.6	0.7	—	0.1	0.4	—	0.1	Trace
3	—	—	—	0.4	—	—	0.1	Trace
Anteiso 13:0	—	—	—	0.3	—	0.2	—	—
0	0.5	0.5	—	0.5	0.3	0.3	0.2	—
1	—	—	—	Trace	0.3	0.3	—	—
Iso 14:0	—	0.5	—	0.4	0.4	0.4	—	—
0	5.4	6.1	0.6	4.8	4.9	4.3	6.8	0.9
1	Trace	Trace	—	0.1	0.1	Trace	0.5	0.4
2	0.2	Trace	—	—	—	0.3	0.1	—
3 ?	—	—	—	—	—	—	Trace	0.3
4 ?	—	—	—	—	0.9	—	0.2	—
Anteiso 15:0	2.5	1.5	—	1.7	0.6	0.3	—	—
0	0.3	0.6	0.6	0.2	0.2	0.1	0.9	0.7
1	0.1	—	—	0.2	Trace	Trace	—	—
3 ω 6	Trace	0.3	—	—	Trace	—	—	—
3 ω 3	—	0.3	—	Trace	Trace	—	—	—
4 ?	2.0	1.5	—	2.0	—	Trace	Trace	Trace
4 ω 3	Trace	Trace	—	—	0.3	—	—	—
Iso 16:0	0.4	0.3	—	0.4	0.5	0.3	—	—
0	19.2	19.3	30.3	31.4	28.3	27.4	70.0	31.8
1 ω 7	9.3	9.4	3.2	7.0	7.5	5.3	2.8	6.9
2 ω 6	0.6	0.7	Trace	Trace	2.2	0.5	0.6	1.8
2 ?	0.7	0.5	—	0.6	—	—	—	Trace
3 ω 3	0.5	0.8	—	0.3	0.2	0.5	Trace	Trace
4 ω 6	—	—	—	—	—	—	—	0.3
4 ω 3	Trace	—	—	1.1	0.2	Trace	Trace	11.3
5 ?	—	—	—	0.6	0.2	Trace	0.3	—
Iso 17:0	—	—	—	—	1.5	—	—	—
0	0.2	0.7	—	1.0	—	0.3	—	—
1	0.3	0.3	—	—	0.6	0.1	0.6	1.8
3	0.5	—	—	—	Trace	Trace	0.4	0.2
5	—	—	0.7	—	—	—	—	—
Iso 18:0	0.6	—	—	—	—	0.3	—	—
0	0.6	0.5	1.6	0.6	1.5	0.9	3.0	0.6
1 ω 9	10.3	14.0	11.6	11.0	6.8	10.8	5.0	10.6
2 ω 6	7.5	6.7	11.7	4.2	4.9	5.1	0.3	8.6
3 ω 6	2.1	2.0	—	0.6	0.5	0.4	0.6	1.5
3 ω 3	5.0	5.5	6.4	6.7	13.0	9.9	0.3	10.6
4 ω 3	5.5	5.8	7.9	1.8	0.8	6.0	1.8	2.9
5 ω 3	—	—	—	—	—	—	0.3	0.3
Anteiso 19:0	1.1	—	—	—	1.0	—	—	—
0	—	—	—	0.4	—	Trace	Trace	—
2	0.6	—	—	—	—	—	—	—
3 ω 6	—	—	—	0.5	0.7	0.4	—	—

Table 37. (Cont'd)

Fatty acid	Arame	Kajime	Wakame	Hijiki	Umito- ranoo	Nokogi- rimoku	Makusa	Anaaosa
19:4 ω 3	—	—	—	—	—	—	Trace	1.1
5 ?	—	0.7	—	—	—	—	—	0.6
20:0	0.6	—	2.0	0.6	—	1.8	0.5	—
1 ω 9	6.9	0.4	—	2.4	2.5	1.0	0.6	0.7
2 Isomer	0.2	Trace	Trace	Trace	0.7	Trace	0.2	0.1
2 ω 6	0.2	0.6	Trace	Trace	0.3	0.6	0.4	0.4
3 ω 6	Trace	0.6	—	—	Trace	0.4	Trace	1.1
3 ω 3*	9.6	13.2	14.0	10.3	8.7	13.8	3.2	1.1
3 ?	—	—	—	—	—	—	—	0.3
4 ω 3	0.9	1.3	Trace	1.6	1.8	0.8	0.8	0.3
5 ω 3	4.3	4.6	3.0	2.6	5.4	4.8	1.3	0.3
21:0	—	—	—	—	—	—	—	1.1
3 ω 3	—	—	1.0	—	—	—	Trace	0.4
5 ω 3	—	—	—	—	—	—	—	0.3
Iso 22:0	—	—	—	—	—	—	—	2.5
0	—	—	—	0.3	—	0.7	—	1.0
1 ω 9	—	—	—	2.5	1.3	1.0	—	0.6
3 ω 3	—	—	—	—	—	—	—	0.5
24:1	—	—	—	—	—	—	—	Trace

* May include 20:4 ω 6 acid

海藻類脂質のおもな構成脂肪酸は14:0, 16:0, 16:1, 18:1, 18:2, 18:3 ω 3, 18:4 ω 3および20:3 ω 3酸などであった。しかし、種類によってこれら脂肪酸の含有率にかなりの差異が認められた。

20:2酸異性体は供試したすべての海藻類に分布したが、含有率はきわめて低かった。すなわち、ウミトラノオ脂質で0.7%と最も高く、アラメ、マクサおよびアナアオサ脂質で0.1~0.2%、その他の脂質では痕跡検出されたに過ぎなかった。

考 察

海藻類脂質の脂肪酸組成についてはいくつかの研究があるが^{111,112,180,181)}、20:2酸異性体の存在について報告されていない。しかしながら、褐藻類6種、紅藻類1種および緑藻類1種について脂肪酸組成を詳しく分析した結果、これら海藻類すべてに20:2酸異性体が分布することが確認された。しかし、その含有率は、きわめて低く、ウミトラノオを除き0.2%未満であった。

ウニはウミトラノオ、カジメ、ノコギリモクなどの褐藻類を好んで摂餌することが知られている^{119,120)}。海藻類では、ウミトラノオの脂質含量および20:2酸異性体含有率が最も高いが、脂質含量を考慮に入れたウミトラノオ中のこの異性体含量はウニのそれに比べて著しく少ない。したがって、ウニ中に存在する20:2酸異性体のすべてが直接餌料海藻に由来すると考えるのは困難のようである。

第4節 魚類における分布

魚類脂質には、8,11-および11,14-20:2酸が広く分布しているが^{85,89)}、これら20:2酸の含有率は一般に低い。また、20:2酸異性体の存在についての報告は見あたらない。

そこで、ウニとほぼ同一海域に生息するササノハベラ、クロダイおよび回遊性のツクシトビウオについて20:2 酸異性体の分布を調べた。

実験方法

試料 山口県北浦沿岸で10月に漁獲されたササノハベラ *Pseudolabrus japonicus*, クロダイ *Acanthopagrus schlegelii* および長崎県対島沖で6月下旬に漁獲されたツクシトビウオ *Cypselurus heterurus döderleini* の雄および雌の筋肉、肝臓、生殖巣および内臓（肝臓、生殖巣およびえらを除く）を用いた。

脂質の抽出および脂肪酸分析 第2章と同様な方法で行った。

Table 38. The lipid content of marine fishes.

Species	Male				Female			
	Muscle	Liver	Gonad	Viscera*	Muscle	Liver	Gonad	Viscera*
	%	%	%	%	%	%	%	%
Sasanohabera	1.3	7.0	2.3	12.0	1.7	8.2	5.1	17.3
Kurodai	2.7	13.2	2.3	15.5	2.7	3.4	11.1	8.1
Tsukushitobiuo	0.7	4.1	2.4	4.7	0.9	3.6	2.6	3.1

* Excluded liver and gonad

Table 39. Distribution of eicosadienoic acids in the lipids of marine fishes.

			Isomeric	20:2 ω 9	20:2 ω 6
			20:2	%	%
Sasanohabera	Male	Muscle	0	Trace	0.5
		Liver	0.2	0.2	0.5
		Gonad	Trace	Trace	0.5
		Viscera	0.3	0.2	0.8
	Female	Muscle	0	Trace	Trace
		Liver	0.2	0.1	0.4
		Gonad	Trace	0.1	0.4
		Viscera	0.1	0.1	0.4
Kurodai	Male	Muscle	0	0.8	0.8
		Liver	0	0.4	0.5
		Gonad	0.3	0.3	0.4
		Viscera	0.3	0.4	0.3
	Female	Muscle	0.5	0.4	0.2
		Liver	0.3	0.4	0.1
		Gonad	0.4	0.3	0.2
		Viscera	0	0.8	0.5
Tsukushitobiuo	Male	Muscle	0	—	0.3
		Liver	0	—	0.4
		Gonad	0	—	0.1
		Viscera	Trace	—	0.3
	Female	Muscle	0	—	0.2
		Liver	Trace	—	0.4
		Gonad	0	—	0
		Viscera	0	—	0

実験結果

ササノハベラ、クロダイおよびツクシトビウオの各試料の脂質含量を第38表に示す。試料によって脂質含量にかなりの差異が認められ、ササノハベラおよびクロダイで高く、ツクシトビウオで低かった。

次に、これら魚類脂質中の存在が確認された20:2酸、すなわち20:2酸異性体、20:2 ω 9および20:2 ω 6酸の含有率を第39表に示す。20:2 ω 6酸は魚類脂質中に広く分布した。20:2 ω 9酸は、ササノハベラおよびクロダイ脂質に分布したが、ツクシトビウオ脂質からは検出されなかった。

20:2酸異性体は、ササノハベラの筋肉を除く他の脂質、クロダイでは雄の生殖巣、内臓、雌の筋肉、肝臓および生殖巣脂質、ツクシトビウオでは雄の内臓および雌の肝臓脂質に分布した。しかし、その含有率は低く、0.5%以下であった。

このほか、ワニエソおよびキングチの筋肉、キハダおよびカツオの卵巣についても、20:2酸異性体の分布を調べたが、いずれの脂質にも存在しなかった。

考察

魚類脂質に20:2酸異性体が存在するという報告は見あたらない。しかし、本研究によりこの異性体は、ササノハベラの雄および雌の肝臓、生殖巣、内臓、クロダイの雄の生殖巣、内臓、雌の筋肉、肝臓、生殖巣およびツクシトビウオの雄の内臓、雌の肝臓に分布することが明らかとなった。

ウニ、棘皮動物、貝類および海藻類では、供試したすべての脂質中に20:2酸異性体が分布したが、魚類では約半数の脂質に分布するに過ぎなかった。すなわち、この異性体は、ウニとほぼ同じ海域に生息するササノハベラおよびクロダイではいくつかの脂質に分布するが、回遊性のツクシトビウオではほとんど分布しなかった。しかも、魚類脂質中のこの異性体含有率は、他の海産動物脂質に比べて低く、0.5%以下であった。

また、生殖巣ではササノハベラおよびクロダイの精巣と卵巣に痕跡または僅少量存在するが、ツクシトビウオの精巣と卵巣およびキハダ、カツオの卵巣には存在しなかった。したがって、この異性体は海産動物の生殖巣に特徴的な脂肪酸であるとは考えられない。

小 括

ウニ脂質で著者が海産動物中における存在をはじめて明らかとした20:2酸異性体の海産動植物中における分布を調べた。その結果、20:2酸異性体は、ウニのみでなく、海産動植物に広く分布することが明らかとなった。すなわち、この異性体は貝類（マテガイ、カガミガイ、クロアワビ、サザエおよびオオコシタカガンガラ）、棘皮動物（マナマコおよびイトマキヒトデ）、海藻類（アラメ、カジメ、ワカメ、ヒジキ、ウミトラノオ、ノコギリモク、マクサおよびアナアオサ）ならびに魚類（ササノハベラ、クロダイおよびツクシトビウオ）の脂質中に存在した。しかし、その含有率は、イトマキヒトデ脂質を除き、その他の脂質では約1%またはそれ以下と低かった。

これらのことから、20:2酸異性体はウニに特異的に分布している脂肪酸ではないことがわかった。しかし、これら海産動植物中の含量はウニに比べて少なかった。

第6章 ウニならびに各種海産動植物脂質における3,11- および5,11-エイコサジエン酸の存在比率

前章で、20:2 酸異性体はウニのみでなく、各種海産動植物中に分布することを明らかにした。また第4章で、ウニ生殖巣脂質中の20:2 酸異性体を3,11- および5,11-20:2 酸と同一とし、これら異性体はバックドカラムを用いる GLC 分析では、分離し難いと述べた。

そこで、キャピラリーカラムを用いて GLC 分析し、ウニならびに20:2 酸異性体の存在が確認された各種海産動植物脂質における3,11- および5,11-20:2 酸の存在比率を調べた。

第1節 ウニ脂質における存在比率

第4章で、ウニ生殖巣脂質中に存在する20:2 酸異性体は3,11- および5,11-20:2 酸であることを明らかにした。しかし、ウニにおけるこれら異性体の存在比率は不明である。

そこで、ウニ生殖巣および内臓脂質における3,11- および5,11-20:2 酸の存在比率を調べた。

実験方法

試料 第2章で調製したウニ生殖巣および内臓の TL, PL および非極性脂質 (NL) の脂肪酸メチルエステルを硝酸銀 TLC によって分画し、得られたジエン酸画分を用いた。

脂肪酸分析 第4章、第4節と同様な方法で行った。

実験結果

ウニ生殖巣および内臓の TL, PL および NL のガスクロマトグラムにそれぞれ4個の20:2 酸ピークが検出された。これらは保持時間および標準の11,14-20:2 酸に対する SF から3,11-, 5,11-, 8,11- および11,14-20:2 酸と同一とされた。これら20:2 酸の存在比率を第40表に、また3,11-20:2 酸と5,11-20:2 酸のそ

Table 40. Relative amounts of eicosadienoic acids in the lipids from gonad and viscera of sea urchin.

Lipid class	Position of double bond				
	[3, 11]	[5, 11]	[8, 11]	[11, 14]	
	%	%	%	%	
Gonad	TL	30.6	44.6	4.2	20.6
	PL	46.0	37.7	2.4	13.9
	NL	29.8	44.8	3.8	21.6
Viscera	TL	34.8	48.8	4.5	11.9
	PL	45.3	45.9	3.1	5.7
	NL	32.9	47.1	4.9	15.1

れを第22図に示す。生殖巣および内臓のすべての脂質で3,11- および5,11-20:2 酸の存在比率が高く、8,11-20:2 酸のそれが最も低かった。

また、生殖巣および内臓ともに TL と NL では、3,11-20:2 酸よりも5,11-20:2 酸の比率が高く、20:2

酸異性体の約60%を占めた。これに対し、PLでは3,11-20:2酸の比率がやや高く、生殖巣のPLで20:2酸異性体の約55%、内臓のPLで約50%を占めた。

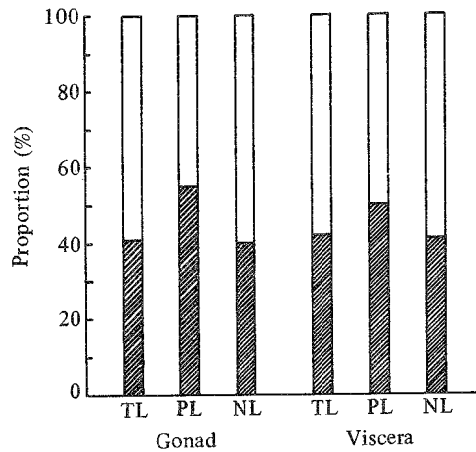


Fig. 22. Proportion of 3,11- and 5, 11-eicosadienoic acids in the lipids from sea urchin.

▨ 3,11-20:2 □ 5,11-20:2

考 察

ウニは他の海産動物に比べて20:2酸異性体を特に多量に含有し、生殖巣および内臓脂質ともに3,11-および5,11-20:2酸が存在することがわかった。

また、TLおよびNLでは3,11-20:2酸よりも5,11-20:2酸の存在比率がやや高いが、内臓のPLでは両異性体の比率はほぼ等しく、生殖巣のPLでは5,11-20:2酸よりも3,11-20:2酸の比率がやや高かった。このようにPL特に生殖巣のPLで3,11-20:2酸の存在比率が高いことから、3,11-20:2酸はウニの生殖と関連のある生理作用をもつと推測される。

第2節 海産動物脂質における存在比率

前節で、ウニ生殖巣および内臓脂質における3,11-および5,11-20:2酸の存在比率について述べた。

本節では、20:2酸異性体の存在が確認された各種海産動物脂質におけるこれら異性体の存在比率を調べた。

実験方法

試料 前章で海産動物脂質から硝酸銀TLCによって得たジエン酸画分を用いた。

脂肪酸分析 第4章、第4節と同様な方法で行った。

Table 41. Relative amounts of 3,11- and 5,11-eicosadienoic acids in various marine animals and seaweeds.

Materials		[3, 11]	[5, 11]	
		%	%	
Shellfish				
Mategai	Muscle	0	100	
	Viscera	0	100	
Kagamigai	Muscle	84	16	
	Viscera	54	46	
Kuroawabi	Muscle	63	37	
	Viscera	35	65	
Sazae	Muscle	55	45	
	Viscera	57	43	
Ookoshitakagangara	Muscle	74	26	
	Viscera	100	0	
Echinoderm				
Manamako	Muscle	49	51	
	Viscera	48	52	
Itomakihitode	Whole	0	100	
Seaweed				
Arame	Whole	100	0	
Kajime	Whole	5	95	
Wakame	Whole	24	76	
Hijiki	Whole	0	0	
Umitoranoo	Whole	5	95	
Nokogirimoku	Whole	14	86	
Makusa	Whole	100	0	
Anaaosa	Whole	100	0	
Fish				
Sasanohabera	(Male)	Liver	21	79
		Gonad	34	66
		Viscera	43	57
	(Female)	Liver	33	67
		Gonad	79	21
		Viscera	43	57
Kurodai	(Male)	Gonad	56	44
		Viscera	56	44
	(Female)	Muscle	70	30
		Liver	63	37
		Gonad	68	32
		Viscera	47	53
Tsukushitobiuo	(Male)	Viscera	47	53
	(Female)	Liver	60	40

実験結果

サザエ筋肉脂質のガスクロマトグラムに6個の20:2酸ピークが検出された。このうち4個のピークは、保持時間および11,14-20:2酸に対するSFがウニ脂質のそれらと一致したことから3,11-, 5,11-, 8,11- および11,14-20:2酸と同定された。しかし、残りの2個のピーク(相対保持時間2.39および2.51)については成分脂肪酸の構造は明らかでない。サザエ筋肉脂質以外の試料についても4~6個のピークが検出された。ヒジキ脂質では3,11- および5,11-20:2酸, イトマキヒトデ, マテガイの筋肉および内臓脂質では3,11-20:2酸, アラメ, マクサおよびアナアオサ脂質では5,11-20:2酸は存在しなかった。その他の脂質には3,11- および5,11-20:2酸の両異性体が存在した。

これら海産動植物脂質中の3,11- および5,11-20:2酸の存在比率を第41表に示す。3,11-20:2酸の比率はカガミガイ筋肉, クロアワビ筋肉, オオコシタカガンガラ筋肉と内臓, アラメ, マクサ, アナアオサ, ササノハベラ雌の生殖巣, クロダイ雌の筋肉, 肝臓と生殖巣およびツクシトビウオ雌の肝臓で高かった。一方, 5,11-20:2酸の比率はマテガイの筋肉と内臓, クロアワビ内臓, イトマキヒトデ, カジメ, ワカメ, ウミトラノオ, ノコギリモク, ササノハベラ雄の肝臓と生殖巣および雌の肝臓で高かった。その他の試料では両異性体の比率に顕著な差異は認められなかった。

考察

ヒジキを除く各種の海産動植物脂質に3,11- および5,11-20:2酸, またはそのいずれか一方が存在することがわかった。

貝類においては, 一般に5,11-20:2酸に比べ, 3,11-20:2酸の存在比率が高いが, クロアワビの内臓脂質では5,11-20:2酸の比率が高く, またマテガイの筋肉と内臓脂質には5,11-20:2酸しか存在しなかった。

棘皮動物においては, マナマコの筋肉と内臓脂質で両異性体の比率がほぼ等しいのに対し, イトマキヒトデ脂質には5,11-20:2酸のみが存在した。

海藻類においては, アラメ, マクサおよびアナアオサ脂質には3,11-20:2酸のみが存在し, 5,11-20:2酸は存在しなかったが, その他の脂質では5,11-20:2酸の比率がかなり高かった。

魚類においては, ササノハベラでは雌の生殖巣を除く他の脂質で5,11-20:2酸の比率が高いが, 反対にクロダイではすべての脂質で3,11-20:2酸の比率が高かった。ツクシトビウオでは雄の内臓脂質で両異性体の比率はほぼ等しく, 雌の肝臓脂質で3,11-20:2酸の比率がやや高かった。

以上のように, 3,11- および5,11-20:2酸の存在比率には種類, 食性, 雌雄および筋肉, 肝臓, 生殖巣または内臓によって一定した傾向のないことがわかる。

1975年, PARADISら¹⁰¹⁾はアメリカ産カキ脂質中に5,11- および5,13-20:2酸ならびに7,10-20:2酸と推定される脂肪酸が存在することを報告している。しかし, 3,11-20:2酸の存在については述べていない。このことから, マテガイと同様にアメリカ産カキにも3,11-20:2酸は存在しないように考えられる。一方, 本研究において貝類のみでなく, ウニを除く多数の海産動植物脂質中に構造不明の2種類の20:2酸の存在が確認された。このうち, 相対保持時間2.51の脂肪酸は8,11-20:2酸と11,14-20:2酸の間に出現することから多分10,13-20:2酸であろうと推定される。また, 相対保持時間2.39の脂肪酸は, 3,11-20:2酸と8,11-20:2酸の間に出現し, アワビ, サザエ, オオコシタカガンガラ, ヒジキおよびクロダイ雌の肝臓脂質で存在比率が高い。PARADISらの報告による5,13- および7,10-20:2酸の相対保持時間および11,14-20:2酸に対するSFが明らかでないため, この脂肪酸が両者のいずれに相当するかは不明である。

以上のように, 3,11- および5,11-20:2酸はウニ脂質のみでなく, 海産動植物脂質中に広く分布することが明らかとなったが, それらの含量はウニに比べてかなり少ない。

これらの異性体がウニで特異的に多量見いだされることから, その来源について食物連鎖および脂質代謝の観点から考察を行った。ウニは雑食性の傾向はあるが, 海藻類を主餌料としている。同様に草食性の腹足類におけるこれら異性体含量は少なく, また海藻類中の含量はさらに少なかった。5,11-20:2酸については, 腹足

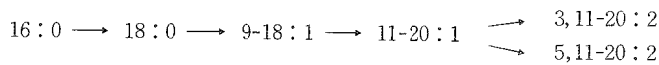
類中の含量はウミトラノオの15倍以下であり、ウニ中のそれは内臓で約20倍、生殖巣で約50倍に達した。また3,11-20:2酸については、腹足類中の含量はアラメの約10~100倍、ウニ中のそれは内臓で約150倍、生殖巣で約300倍に達した。

一方、WATANABEら¹⁴²⁾はカキで餌料海藻脂質の脂肪酸が急速に変換されて特有の脂肪酸組成を示すことを認めている。海藻類脂質で含有率の高い16:1 ω 7酸がウニ脂質に存在しないことから、ウニにおいても餌料脂質脂肪酸の急速な変換が行われていると考えられる。

これらのことから、ウニ中の3,11- および5,11-20:2酸は、海藻脂質に直接由来するものおよび海藻脂質脂肪酸の変換によって生成したものの両者であると考えるのが妥当のようである。

魚類の脂質代謝に関しては鹿山^{88,114,115)}の研究がある。また、特異な位置に二重結合をもつ脂肪酸および特異な二重結合配置を有する脂肪酸の生合成についても、いくつかの研究がある^{147,148,173,182)}。*Bacillus mageterium* では動物で一般に行われる不飽和化とは異なり、16:0 および18:0酸からそれぞれ5-16:1酸および5-18:1酸が生成されることをFULCOら¹⁸²⁾は認めている。また、粘菌類において9-16:1酸から5,9-16:2酸および11-18:1酸を経て5,11-18:2酸の生成を、また、18:0酸から9-18:1酸を経て5,9-18:2酸の生成をDAVIDOFFら¹⁷³⁾は見だし、不飽和化は、まず9位に起こり、次いで5位に起こると報告している。ULLMANら¹⁴⁷⁾はラットにおいて11,14-20:2酸から5,11,14-20:3酸、11-20:1酸から5,11-20:2酸が生合成されると報告している。同様にEGWIMら¹⁴⁸⁾はラットに存在する5,11-または6,11-20:2酸は9-18:1酸の炭素鎖延長によって生成する11-20:1酸の脱水素によって生成されると推定している。また、MORRISら⁹³⁾は*Aster alpinus* 種子油中の3-16:1, 3-18:1, 3,9-18:2 および3,9,12-18:3酸はそれぞれ16:0, 18:0, 9-18:1 および9,12-18:2酸から生成されると推定している。

ウニ脂質では、16:0 および18:1 ω 9酸含有率が海藻脂質に比べてかなり低く、20:1 ω 9酸および20:2酸異性体含有率がかなり高い。また、20:0酸含有率に顕著な差異は認められない。したがって、ウニ体内で次の経路に従って餌料脂質脂肪酸の変換が行われ、11-20:1酸の脱水素によって3,11-および5,11-20:2酸が生成されると推測することができる。



しかしながら、第2番目の二重結合の導入が不飽和脂肪酸に共通なジペンルメタン型配置とは異なる位置に起こる理由は明らかでない。

ウニ脂質中には、植物脂質にしか見いだされていない特殊なスルホリピドが存在し、その含量は植物体に比べてはるかに多量である。このスルホリピドは、ウニ生殖巣の膜構造系に組み入れられて、なんらかの機能を担っているものと考えられている¹⁸³⁾。また、ウニには植物界のみに存在し、動物界からは見いだされていないアルカロイド、トリゴネリンが存在している¹⁸⁴⁾。著者⁹⁾は、ウニにはイノシン酸は存在せず、グアニル酸、シチジル酸およびウリジル酸が存在し、しかも5'-ヌクレオチド類のみでなく、3'-ヌクレオチド類が多量に存在することをさきに報告した。

以上のように、ウニは、海産動物のいずれとも異なる特徴あるヌクレオチド組成および脂肪酸組成を有し、また植物界だけに存在するいくつかの成分を含有している。陸産植物種子油中に5,11-20:2酸が存在することを考え合わせ、ウニ脂質中に3,11- および5,11-20:2酸がかなり多量に存在することは比較生化学上の立場から興味深い。

小 括

ウニならびに各種海産動物脂質における3,11- および5,11-20:2酸の存在比率を調べた。

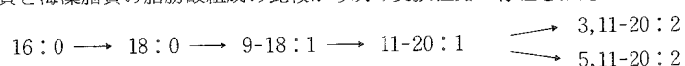
ウニ生殖巣および内臓脂質には3,11- および5,11-20:2酸がともに存在し、一般に5,11-20:2酸の存在比率がやや高かった。しかし、生殖巣のPLでは3,11-20:2酸の比率がやや高かった。

また、ヒジキを除く各種海産動物脂質には3,11- および5,11-20:2酸の両方またはいずれか一方が存在

した。貝類では一般に 3,11-20:2 酸の比率が高いが、マテガイ脂質には 3,11-20:2 酸は存在しなかった。棘皮動物ではマナマコ脂質で両異性体の比率はほぼ等しいが、イトマキヒトデ脂質には 5,11-20:2 酸のみが存在した。海藻類では 5,11-20:2 酸の比率の高いものが多いが、アラメ、マクサおよびアナオサ脂質には 5,11-20:2 酸は存在しなかった。魚類ではササノハベラ脂質で 5,11-20:2 酸、クロダイ脂質で 3,11-20:2 酸の比率が高かった。ツクシトビウオ雄の内臓脂質で両異性体の比率はほぼ等しく、雌の肝臓脂質で 3,11-20:2 酸の比率がやや高かった。

以上のように、両異性体の存在比率には種類、食性または雌雄などによる一定の傾向は認められなかった。

ウニと海藻類中の 3,11- および 5,11-20:2 酸含量の比較から、ウニ中の 3,11- および 5,11-20:2 酸は海藻脂質に由来するものの蓄積以外に、ウニ体内で海藻脂質脂肪酸の変換によって生成されるものもあると考えられた。ウニ脂質と海藻脂質の脂肪酸組成の比較から次の変換経路の存在を推定した。



また、3,11-20:2 酸は、PL 特に生殖巣の PL で高い存在比率を示すことから、ウニの生殖と関連を有する生理作用をもつとも推測される。

第7章 総 括

GLC が脂肪酸分析に応用されるようになって、多数の動植物脂質の構成脂肪酸の組成が明らかにされてきた。しかし、正確な脂肪酸組成を調べるには、極性の異なる 2 種類以上の固定相を用いるか、または他の化学的分別手段を併用して GLC 分析する必要がある。特に後者の方法は僅少量成分のみならず、未知成分の検出を含めた詳細な脂肪酸分析法として優れている。

ウニ生殖巣脂質の脂肪酸組成は魚油のそれに比べて複雑で、GLC の結果のみから正確な組成を求めることは困難であった。それゆえ、尿素付加分別法または硝酸銀 TLC と GLC を併用する脂肪酸分析法の適用を検討した。

尿素付加分別法の併用により、僅少量成分を検出し、より詳細な脂肪酸組成を求めることができたが、この方法による不飽和度に基づく脂肪酸の分別は必ずしも良好でなかった。

これに対し、硝酸銀 TLC は不飽和度に従って脂肪酸をよく分別した。その結果、僅少量および痕跡成分、ならびに海産動植物脂質中の存在があまり知られていない数種類の脂肪酸を含め、総計 76 種類の脂肪酸を同定し、正確な組成を求めることができた。

両分析によって数種のウニ生殖巣脂質中に海産動植物中の存在が知られていない 20:2 酸異性体がかなり多量に存在することが明らかとなった。

そこで、20:2 酸異性体のウニ脂質成分中における分布を調べた。この異性体は生殖巣および内臓のすべての脂質成分中に分布し、含有率は、生殖巣の脂質成分で 5.0~7.5%、内臓のそれで 5.4~8.3% であった。一方、ウニ中に存在する全 20:2 酸異性体の 70% は生殖巣に、30% が内臓に分布したが、両者ともに TG と PL の 2 成分に多量に存在した。

この 20:2 酸異性体は GLC における保持時間および SF から特異な位置に二重結合をもつことが推測されたので、この異性体を分離、精製し、次いで 20:2 酸であることを確認を行った。

ウインタリング、減圧分留、尿素付加分別、硝酸銀含浸ケイ酸カラムクロマトグラフィー、*n*-ウンデカン含浸シリカゲル TLC、ケイ酸カラムクロマトグラフィーおよびシリカゲル TLC を組み合わせて、ムラサキウニ生殖巣脂質の脂肪酸メチルエステルから 20:2 酸異性体を分離、精製し、この異性体を約 98% 含有する画分を調製した。

得られた画分を用いて、炭素鎖長分析、不飽和結合数の測定、GLCにおける相対保持時間およびSFの比較を行い、この異性体が8,11-, 11,14-, 10,13-, または14,17-20:2酸とは異なる直鎖の20:2酸であることを確認した。

次に、質量分析、過ヨウ素酸ナトリウム-過マンガン酸カリウムによる酸化分解、アルカリ異性化、キャピラリーカラムによるGLCおよびヒドラジン部分還元物の酸化分解によって、20:2酸異性体の二重結合の位置決定を行った。

その結果、特異な二重結合配置をもつ2種類の20:2酸であることを明らかとし、それらの構造を3,11-20:2酸および5,11-20:2酸と決定した。3,11-20:2酸は天然物中からはじめて見いだされた脂肪酸であり、5,11-20:2酸は、貝類に少量存在が認められている以外には、海産動植物中の存在が知られていない脂肪酸である。

そこで、まず、20:2酸異性体の海産動植物中における分布を調べた。20:2酸異性体は、貝類、棘皮動物、海藻類および魚類にも存在し、海産動植物中に広く分布することが明らかとなった。

このことから20:2酸異性体はウニに特異的に分布している脂肪酸ではないことがわかった。しかし、これら海産動植物中の含量はウニに比べて非常に少なかった。

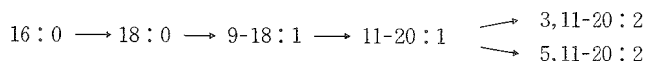
次いで、ウニならびに20:2酸異性体の存在が確認された各種海産動植物脂質における3,11-および5,11-20:2酸の存在比率を調べ、さらに考察を行った。

ウニの生殖巣および内臓脂質には3,11-および5,11-20:2酸の両異性体が存在した。TLおよびNLでは5,11-20:2酸の存在比率がやや高かったが、生殖巣のPLでは3,11-20:2酸の比率がやや高かった。

ヒジキを除く各種海産動植物脂質にも3,11-および5,11-20:2酸の両方またはいずれか一方が存在した。貝類では3,11-20:2酸の比率が高いが、マテガイ脂質には3,11-20:2酸の存在は認められなかった。棘皮動物ではマナコ脂質で両異性体の比率はほぼ等しいが、イトマキヒトデ脂質には5,11-20:2酸のみが存在した。海藻類では5,11-20:2酸の比率が高いが、アラメ、マクサおよびアナアオサ脂質には5,11-20:2酸の存在は認められなかった。魚類では、ササノハベラ脂質で5,11-20:2酸、クロダイ脂質で3,11-20:2酸の比率が高いが、ツクシトビウオ雄の内臓脂質で両異性体の比率はほぼ等しく、雌の肝臓脂質で3,11-20:2酸の比率がやや高かった。

このように、これら異性体の存在比率には種類、食性または雌雄などによる一定の傾向は認められなかった。

ウニおよび海藻脂質の脂肪酸組成ならびに3,11-20:2酸と5,11-20:2酸含量の比較から、ウニ中のこれら異性体の来源として、海藻脂質に直接由来し、ウニで蓄積されるもののほか、海藻脂質脂肪酸の変換によってウニ体内で生成されるものもあると考えられ、次の変換経路の存在を推定した。



また、これら異性体がウニに特異的に多量存在することから、ウニの生理との関連が予想される。3,11-20:2酸はPL特に生殖巣のPLで存在比率が高いことから、ウニの生殖と関連を有する生理作用をもつとも推測した。

特異な二重結合配置をもつ脂肪酸は、陸産植物種子油中に多量分布し、動物脂質中には多量には分布しない。3,11-および5,11-20:2酸がウニ脂質にかなり多量存在することは比較生化学上の立場からも興味深い。

謝 辞

本研究を終わるにあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜った九州大学教授 豊水正道先生に深甚なる感謝の意を表す。また、研究にあたり、有益な御教示および御鞭撻を賜った水産大学校教授 小島良夫先生ならびに同 山田金次郎先生に深く感謝する。

文 献

- 1) 野口栄三郎編：水産名産品総覧，第1版，光琳書院，東京，1968，p.254.
- 2) 河内正通：食品工業，**14**，73(1971).
- 3) 科学技術庁資源調査会編：三訂日本食品標準成分表，大蔵省印刷局，東京，1963，p.54.
- 4) 科学技術庁資源調査会編：日本食品アミノ酸組成表，大蔵省印刷局，東京，1966，p.34.
- 5) 畑 幸彦・河内正通：農水講研報，**9**，53(1960).
- 6) 河内正通・畑 幸彦：同 誌，**9**，383(1960).
- 7) 河内正通・畑 幸彦：水大研報，**13**，23(1963).
- 8) 河内正通・畑 幸彦：同 誌，**13**，29(1963).
- 9) 河内正通：同 誌，**21**，153(1972).
- 10) 小俣 靖・小杉直輝・伊藤 武：日水誌，**28**，623(1962).
- 11) 小俣 靖・江口 祝：同 誌，**28**，630(1962).
- 12) 小俣 靖・向井 明・岡田勇三：同 誌，**28**，747(1962).
- 13) 小俣 靖：同 誌，**30**，749(1964).
- 14) 遠藤栄一・伊藤正良：宮城県水試報告，昭和33年度，34(1960).
- 15) 松崎幸夫・菅 昭人・松森 茂：山口県外海水試報告，昭和34年度，141(1960).
- 16) 山本 巖：福井県水試報告，第5号，29(1963).
- 17) 山本 巖・奥田 昇：同 誌，第5号，1(1963).
- 18) 山本 巖・籠 陽子：同 誌，第5号，11(1963).
- 19) 山本 巖・籠 陽子：同 誌，第5号，22(1963).
- 20) 三輪勝利：日水誌，**36**，617(1970).
- 21) 三輪勝利：同 誌，**36**，812(1970).
- 22) A. C. Giese : in "Physiology of Echinodermata" (ed. by R.A. Boolootian), Interscience Publishers, New York, 1966, p.757.
- 23) 石田寿老：脂質化学，2，共立出版，東京，1958，p.159.
- 24) S. Yasuda : *Comp. Biochem. Physiol.*, **49B**, 361(1974).
- 25) 三輪勝利：北海道区水研報告，**31**，73(1966).
- 26) 外山修之・高木 徹：日 化，**74**，842(1953).
- 27) 露木英男・望月 篤：日食工会誌，**13**，380(1966).
- 28) 東 秀雄・山川健重・築瀬正明・衣巻豊輔・清水泰幸・杉井麒三郎・飯田 遙：栄養と食糧，**18**，134(1965).
- 29) 島山 繁・金田尚志：同 誌，**20**，220(1957).
- 30) 藤野安彦・根岸 孝・馬谷公子：日食工会誌，**17**，343(1970).
- 31) W. Stoffel : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**，583(1965).
- 32) M. O. Bagby, C.R. Smith, Jr., T. K. Miwa, R. L. Lohmar, and I. A. Wolff : *J. Org. Chem.*, **26**，1261(1961).
- 33) G. A. Dhopeswarker, and J. F. Mead : *J. Lipid Res.*, **3**，238(1962).
- 34) S. P. Fore, F. G. Dollear, and G. Sumrell : *Lipids*, **1**，73(1966).
- 35) D. Swern, and W. E. Parker : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **29**，431(1952).
- 36) M. H. Silk, H. H. Sephton, and H. H. Hahn : *Biochem. J.*, **57**，574(1954).
- 37) J. L. Iverson, J. Eisner, and D. Firestone : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**，1063(1965).
- 38) H. Schlenk : in "Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids" (ed. by R. H. Holman), Vol. II, Pergamon Press, London, 1954, p.243.
- 39) S. Ito, Y. Koyama, and Y. Toyama : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **36**，1439(1963).
- 40) 佐野吉彦・村瀬公子：油化学，**14**，104(1965).
- 41) E. D. Korn : *J. Biol. Chem.*, **238**，3584(1963).

- 42) A. M. Lees, and E. D. Korn : *Biochemistry*, **5**, 1475(1966).
- 43) C. R. Scholfield : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **38**, 562(1961).
- 44) C. R. Smith, Jr., J. W. Hagemann, and I. A. Wolff : *ibid.*, **41**, 290(1964).
- 45) C. R. Scholfield, J. Nowakowska, and H. J. Dutton : *ibid.*, **37**, 27(1960).
- 46) 野田万次郎 : 油化学, **8**, 598(1959).
- 47) G. Rouser, A. J. Bauman, N. Nicolaidis, and D. Heller : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **38**, 565(1961).
- 48) J. G. Hamilton, and J. E. Muldrey : *ibid.*, **38**, 582(1961).
- 49) 野田万次郎・平山 修 : 油化学, **10**, 24(1961).
- 50) H. Schlenk, and J. L. Gellerman : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **38**, 555(1961).
- 51) C. F. Wurster, Jr., J. H. Copenhaver, Jr., and P. R. Shafer : *ibid.*, **40**, 513(1963).
- 52) O. S. Privett, and E. C. Nickell : *ibid.*, **40**, 189(1963).
- 53) B. de Vries : *Chem. & Ind.*, 1049(1962).
- 54) B. de Vries : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 184(1963).
- 55) E. A. Emken, C. R. Scholfield, and H. J. Dutton : *ibid.*, **41**, 388(1964).
- 56) M. H. Silk, and H. H. Hahn : *Biochem. J.*, **56**, 406(1954).
- 57) R. L. Anderson, and E. J. Hollenback : *J. Lipid Res.*, **6**, 577(1965).
- 58) H. K. Mangold : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **41**, 762(1964).
- 59) O. S. Privett, M. L. Blank, D. W. Coddling, and E. C. Nickell : *ibid.*, **42**, 381, (1965).
- 60) N. Pelick, T. L. Wilson, M. E. Miller, F. M. Angeloni, and J. M. Stein : *ibid.*, **42**, 393 (1965).
- 61) 白井 浩 : 油化学, **16**, 641(1967).
- 62) O. S. Privett, M. L. Blank, and O. Romanes : *J. Lipid Res.*, **4**, 260(1963).
- 63) H. Wagner, and P. Pohl : *Biochem. Z.*, **340**, 337(1964).
- 64) H. Wagner, and P. Pohl : *ibid.*, **341**, 476(1965).
- 65) H. P. Kaufmann, and Z. Makus : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **62**, 1014(1960).
- 66) C. B. Barrett, M. S. J. Dallas, and F. B. Padley : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 580 (1963).
- 67) C. B. Barrett, M. S. J. Dallas, and F. B. Padley : *Chem. & Ind.*, 1050(1962).
- 68) L. J. Morris : *ibid.*, 1238(1962).
- 69) L. J. Morris : *J. Lipid Res.*, **7**, 717(1966).
- 70) W. O. Ord, and P. C. Bamford : *Chem. & Ind.*, 1681(1966).
- 71) A. M. Lees, and E. D. Korn : *Biochim. Biophys. Acta*, **116**, 403(1966).
- 72) O. S. Privett, and E. C. Nickell : *Lipids*, **1**, 98(1966).
- 73) A. K. Hajra, and N. S. Radin : *J. Lipid Res.*, **3**, 131(1962).
- 74) B. E. Phillips, C. R. Smith, Jr., and W. H. Tallent : *Lipids*, **6**, 93(1971).
- 75) F. Davidoff, and E. D. Korn : *J. Biol. Chem.*, **238**, 3199(1963).
- 76) H. Schlenk, J. L. Gellerman, and D. Sand : *Anal. Chem.*, **34**, 1529(1962).
- 77) H. Schlenk, and D. Sand : *ibid.*, **34**, 1676(1962).
- 78) 新聞弥一郎・田口脩子 : 日水誌, **30**, 153(1964).
- 79) 新聞弥一郎・田口脩子 : 同 誌, **30**, 179(1964).
- 80) D. A. Wolfe, P. Venkata Rao, and D. G. Cornwell : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**, 633 (1965).
- 81) 佐野吉彦 : 油化学, **15**, 99(1966).
- 82) 佐野吉彦 : 同 誌, **15**, 140(1966).
- 83) 佐野吉彦 : 同 誌, **15**, 456(1966).
- 84) 佐野吉彦 : 同 誌, **16**, 605(1967).
- 85) R. G. Ackman : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **21**, 247 (1964).

- 86) E. Klenk : *Z. Physiol. Chem.*, **302**, 268(1955).
- 87) 高木 徹 : 油化学, **9**, 633(1960).
- 88) 鹿山 光 : 同 誌, **13**, 511(1964).
- 89) O. S. Privett : in "Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids" (ed. by R. T. Holman), Vol. IX, Part 3, Pergamon press, London, 1968, p.409.
- 90) R. G. Ackman : in "Methods in Enzymology" (ed. by J. M. Lowenstein), Vol. XIV, Academic press, New York, 1969, p.329.
- 91) H. Schlenk, and J. L. Gellerman : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**, 504(1965).
- 92) J. L. Gellerman, and H. Schlenk : *Experientia*, **19**, 522(1963).
- 93) L. J. Morris, M. O. Marshall, and E. W. Hammond : *Lipids*, **3**, 91(1968).
- 94) R. Kleiman, F. R. Earle, and I. A. Wolff : *ibid.*, **1**, 301, (1966).
- 95) R. Kleiman, F. R. Earle, W. H. Tallent, and I. A. Wolff : *ibid.*, **5**, 513(1970).
- 96) M. O. Bagby, W. O. Siegel, and I. A. Wolff : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**, 50(1965).
- 97) C. Y. Hopkins, and M. J. Chisholm : *J. Chem. Soc.*, 907(1965).
- 98) T. Takagi : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **41**, 516(1964).
- 99) M. O. Bagby, C. R. Smith, Jr., K. L. Mikolajczak, and I. A. Wolff : *Biochemistry*, **1**, 632(1962).
- 100) R. G. Ackman, and S. N. Hooper : *Comp. Biochem. Physiol.*, **46B**, 153(1973).
- 101) M. Paradis, and R. G. Ackman : *Lipids*, **10**, 12(1975).
- 102) 豊水正道・富安行雄 : 日水誌, **28**, 526(1962).
- 103) R. G. Ackman : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 558(1963).
- 104) C. Litchfield, R. Reiser, and A. F. Isbell : *ibid.*, **40**, 302(1963).
- 105) T. K. Miwa : *ibid.*, **40**, 309(1963).
- 106) R. G. Ackman, and R. D. Burgher : *ibid.*, **42**, 38(1965).
- 107) 菊地 嶺・原口明郎・前沢伸和 : 日水誌, **32**, 605(1966).
- 108) 上田 正 : 水大研報, **16**, 1(1967).
- 109) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男 : 農 化, **30**, 568(1956).
- 110) 羽田野六男・座間宏一・五十嵐久尚 : 日水誌, **30**, 516(1964).
- 111) 金田尚志・荒井君枝 : 同 誌, **30**, 589(1964).
- 112) 新聞弥一郎・田口脩子 : 同 誌, **32**, 1037(1966).
- 113) 浜田 茂・上野誠一 : 油化学, **17**, 39(1968).
- 114) M. Kayama, Y. Tsuchiya, and J. F. Mead : *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, **29**, 453(1963).
- 115) 鹿山 光 : 同 誌, **30**, 647(1964).
- 116) 野中順三九・小泉千秋 : 同 誌, **30**, 630(1964).
- 117) 山田 実 : 同 誌, **30**, 673(1964).
- 118) R. G. Ackman, C. S. Tocher, and J. McLachlan : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **25**, 1603(1968).
- 119) 大島泰雄・石渡直典・田中二良 : 水産増殖, **5**, 26(1957).
- 120) 角田信孝・寺尾百合正・中村達夫・井上 泰 : 山口県外海水試報告, **11**, 26(1969).
- 121) 高橋善弥太・田中 圭・深沢俊男 : 脂質実験法 (蛋白質・核酸・酵素編集部編), 第1版, 共立出版, 東京, 1967, p.49.
- 122) R. G. Ackman : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 564(1963).
- 123) H. H. Hofstetter, N. Sen, and R. T. Holman : *ibid.*, **42**, 537(1965).
- 124) 宮原昭二郎 : 日水誌, **37**, 648(1971).
- 125) 森井秀昭・金津良一 : 同 誌, **38**, 599(1972).
- 126) R. G. Ackman, J. C. Sipos, and C. S. Tocher : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **24**, 635(1967).
- 127) 佐野吉彦・鮎川大之助・村瀬公子 : 油化学, **14**, 171(1965).
- 128) 太田 亨・山田 実 : 日水誌, **35**, 1138(1969).
- 129) R. G. Ackman, and R. D. Burgher : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **21**, 319(1964).

- 130) R. G. Ackman, and R. D. Burgher : *ibid.*, **21**, 367(1964).
- 131) R. G. Ackman, and R. D. Burgher : *ibid.*, **21**, 469(1964).
- 132) N. Sen, and H. Schlenk : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **41**, 241(1964).
- 133) J. Folch, M. Lees, and G. H. Sloane Stanley : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497, (1957).
- 134) J. C. Dittmer, and M. A. Wells : in "Method in Enzymology" (ed. by J. M. Lowenstein), Vol. XIV, Academic press, New York, 1969, p.511.
- 135) E. J. Barron, and D. J. Hanahan : *J. Biol. Chem.*, **231**, 493(1958).
- 136) M. Noda, and R. Ikegami : *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 330(1966).
- 137) R. Reiser, B. Stevenson, M. Kayama, R. B. R. Chouhury, and D. W. Hovd : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 507(1963).
- 138) 豊水正道・川崎賢治・富安行雄 : 日水誌, **29**, 957(1963).
- 139) R. Lasker, and G. H. Theilacker : *J. Lipid Res.*, **3**, 60(1962).
- 140) 安藤一夫 : *J. Tokyo Univ. Fish.*, **54**, 61(1968).
- 141) J. M. Lawrence, A. L. Lawrence, and A. C. Giese : *Physiol. Zool.*, **39**, 281, (1966).
- 142) T. Watanabe, and R. G. Ackman : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **31**, 403(1974).
- 143) H. P. Kaufmann, and Z. Makus : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **62**, 153(1960).
- 144) 吉川春寿・小倉安之・関根隆光・森田茂広・高橋甫編 : ワールブルグ検圧計, 第3版, 南江堂, 東京, 1956.
- 145) R. G. Ackman : *J. of G. C.*, **1**, 11(1963).
- 146) 今市邦太郎 : 脂質1, 第1版, 共立出版, 東京, 1970, p.553.
- 147) D. Ullman, and H. Sprecher : *Biochim. Biophys. Acta*, **248**, 186(1971).
- 148) P. O. Egwim, and D. S. Sgoutas : *J. Nutr.*, **101**, 307(1971).
- 149) Y. Kishimoto, and N. S. Radin : *J. Lipid Res.*, **5**, 98(1964).
- 150) C. R. Scholfield, and H. J. Dutton : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **47**, 1(1970).
- 151) R. Ryhage, and E. Stenhagen : *Arkiv. Kemi*, **15**, 291(1960).
- 152) R. Ryhage, and E. Stenhagen : *ibid.*, **15**, 333(1960).
- 153) B. Hallgren, R. Ryhage, and E. Stenhagen : *Acta Chem. Scand.*, **13**, 845, (1959).
- 154) H. J. Dutton : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **38**, 660(1961).
- 155) E. Stenhagen : *Z. Anal. Chem.*, **205**, 109(1964).
- 156) R. Ryhage, S. Stållberg-Stenhagen, and E. Stenhagen : *Arkiv. Kemi.*, **18**, 179(1961).
- 157) N. Dine-Nguyen, R. Ryhage, S. Stållberg-Stenhagen, and E. Stenhagen : *ibid.*, **18**, 393(1961).
- 158) R. U. Lemieux, and E. von Rudloff : *Canadian J. Chem.*, **33**, 1701(1955).
- 159) E. von Rudloff : *ibid.*, **34**, 1413(1956).
- 160) E. von Rudloff : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **33**, 126(1956).
- 161) A. P. Tulloch, and B. M. Craig : *ibid.*, **41**, 322(1964).
- 162) E. P. Jones, and J. A. Stolp : *ibid.*, **35**, 71(1958).
- 163) R. A. Stein : *ibid.*, **42**, 326(1965).
- 164) 今井 陽 : 脂質代謝実験法 (蛋白質・核酸・酵素編集部編), 第1版, 共立出版, 東京, 1967, p.35.
- 165) R. G. Kodesch : in "Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids" (ed. by R.T. Holman), Vol. 6, Pergamon press, London, 1963, p.292.
- 166) 秋谷年見 : 油化学, **16**, 575(1967).
- 167) E. D. Korn : *J. Biol. Chem.*, **238**, 3584(1963).
- 168) G. A. J. Pitt, and R. A. Morton : in "Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids" (ed. by R. T. Holman), Vol. IV, Pergamon press, London, 1959, p.243.
- 169) 宮川高明 : 油化学, **11**, 568(1962).
- 170) 庄野寿彦・豊水正道 : 九大農学芸誌, **26**, 233(1972).
- 171) 日本油化学協会編 : 基準油脂分析試験法, 第2版, 朝倉書店, 東京, 1967, p.177.

- 172) F. Aylward, and C. V. N. Rao : *J. Appl. Chem.*, **7**, 134 (1957).
- 173) F. Davidoff, and E. D. Korn : *J. Biol. Chem.*, **238**, 3210 (1963).
- 174) G. R. Jamieson, and E. H. Reid : *Phytochemistry*, **11**, 269 (1972).
- 175) E. H. Gruger, Jr. : in "Fish Oils" (ed. by M. E. Stansby), The Avi Publishing Co., Westport, 1967, p.3.
- 176) E. H. Gruger, Jr., R. W. Nelson, and M. E. Stansby : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **41**, 662 (1964).
- 177) 浜田 茂・上野誠一 : 油化学, **18**, 478 (1968).
- 178) 林 陽 : 同 誌, **20**, 726 (1971).
- 179) 上田 正 : 日水誌, **40**, 949 (1974).
- 180) 林 賢治・黄田 茂・加藤和昭・山田 実 : 日水誌, **40**, 609 (1974).
- 181) S. Sato : *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, **41**, 1177 (1975).
- 182) A. J. Fulco, R. Levy, and K. Bloch : *J. Biol. Chem.*, **239**, 998 (1964).
- 183) 永井克孝 : 化学と生物, **5**, 655 (1967).
- 184) A. Ogata, and T. Komoda : *J. Pharm. Soc. Japan*, **63**, 653 (1943).

Summary

The component fatty acids of a vast number of marine organisms have been clarified since the gas-liquid chromatographic technique came to be applied to fatty acid analysis in biochemical research. However, most of these investigations have dealt with the composition of major fatty acids.

The component fatty acids of the gonad lipid from sea urchin are very complex as compared with those of other marine animals, and show severe overlapping of many peaks in gas-liquid chromatography (GLC) on DEGS column. The elucidation of the fatty acid composition of the gonad lipid will be of great value not only from the viewpoint of lipid research of marine organisms, but also from the standpoint of food chemistry.

Urea-fractionation technique or argentation thin-layer chromatography was, therefore, adapted to preliminary fractionation of the mixed fatty acid methyl esters according to the degree of unsaturation for the purpose of detailed studies of component fatty acids of the gonad lipid, including the detection of minor components and unusual fatty acids. And then the fractions obtained were applied to GLC.

By means of GLC combined with urea-fractionation technique, it was found out that fatty acid composition of the gonad lipids from sea urchins, *Strongylocentrotus pulcherrimus*, *Anthocidaris crassispina*, *Strongylocentrotus nudus* and *Pseudocentrotus depressus*, differed from that of marine fish oils in comparatively high percentages of 14:0, 18:4, 20:1 and 20:3 acids, and in a high proportion of long-chain fatty acids in spite of the fact that C₂₂ polyunsaturated fatty acids and longer chain ones than C₂₄ fatty acid were not detected. The differences in the fatty acid composition among the different species and sources of sea urchin were not distinct. Through urea-fractionation technique, however, the total esters could not be resolved efficiently enough for quantification of the components.

The combination of GLC and argentation TLC showed satisfactory separation, giving detailed and accurate fatty acid composition of the gonad lipid from a sea urchin, *A. crassispina*. A total of 76 fatty acids, including a number of branched-chain fatty acids, polyunsaturated odd-numbered ones and positional isomers of unsaturated fatty acids, were tentatively identified on the basis of chromatographic behavior. The major components were 14:0, 16:0, 18:1 ω 9, 20:1 ω 9, 20:3 ω 3 and 20:5 ω 3 acids.

In these experiments isomeric 20:2 acid which had not been previously reported in marine source, was detected in fairly large quantities in the gonad lipids of all sea-urchin species examined.

This finding led the author to the clarification of the distribution of the isomer in the lipid classes of a sea-urchin species, *S. pulcherrimus*. The lipids from the gonads and the other viscera were analysed for their fatty acid components by GLC, after being fractionated into the main lipid classes by silicic acid column chromatography. The isomer is widely distributed in all the lipid classes from both the gonads and the other viscera. Its percentages in the gonads and the other viscera ranged from 5.0 to 7.5%, and 5.4 to 8.3%, respectively. Furthermore, much of the isomer was present in only two classes, i.e., polar lipids and triglycerides, in the amounts of about 95% of the total weight of the isomer in the whole visceral organs. Its quantity in the gonads amounted to about 70% of the total.

The isomeric 20:2 acid was separated in considerably high purity from the gonad lipid of a sea-urchin species, *A. crassispina*, by using a variety of analytical techniques. The mixed fatty acid methyl esters were subjected to wintering, fractional vacuum distillation and urea fractionation. A fraction rich in the isomer was thus obtained. The fraction was purified further by argentation column chromatography, TLC on silica gel impregnated with *n*-undecane, silicic acid column chromatography and silica gel TLC. Two fractions of comparatively high purity of the isomer were obtained after the final process, the purities, expressed as percentages according to GLC peak areas, being 97.8% and 98.4% respectively.

In addition to the results of GLC analysis, both chain length analysis and hydrogen uptake measurement were carried out with one of the final products. Quantitative hydrogenation of an aliquot of the isomer produced methyl arachidate, its hydrogen uptake being 98.8% of the theoretical value for 20:2 acid. Accordingly, the isomer was confirmed to be a dienolic fatty acid with straight chain of 20 carbons. Relative retention time and separation factors of the isomer were not same as those of 8,11-20:2 acid. These observations gave evidence that the acid is isomeric 20:2 acid itself.

The double bond positions in the isomeric 20:2 acid were determined by means of mass spectrometry, periodate-permanganate oxidation, alkaline isomerization, GLC analysis on capillary column and hydrazine partial reduction followed by periodate-permanganate oxidation.

The isomeric 20:2 acid of the lipid from sea urchin was proved to consist of two positional isomers on the basis of GLC analyses of periodate-permanganate oxidation products of the final two products. One of the isomers yielded mainly nonanoic and suberic acids on oxidative cleavage, and gave no characteristic absorption of conjugated dienes in the UV region after alkaline isomerization. These findings indicated that the isomer was a hitherto unknown acid, i.e., 3,11-20:2 acid. The other isomer was identified as 5,11-20:2 acid which is rarely demonstrated in marine organisms. It produced nonanoic, glutaric and adipic acids on direct oxidative cleavage and nonanoic, pentadecanoic, glutaric and undecanedioic acids on oxidative cleavage of its partial reduction products.

It would be interesting to find out if such isomers are distributed in the lipids of marine organisms. For that purpose, the distribution of isomeric 20:2 acids in various marine organisms was investigated. The isomers were proved to be present not alone in the lipids of sea urchin but in other lipids from many marine animals and seaweeds.

In the shellfishes examined, the isomers were widely distributed in both the muscular and visceral lipids from all the species with a range from 0.4 to 1.0%. No distinct difference in the percentages was appreciable between the following two classes, i.e., two bivalves, *Solen strictus* and *Phacosoma japonica*, and three gastropods, *Nordotis discus*, *Batillus cornutus* and *Omphalius pfeifferi carpenteri*.

Of the echinoderms, trepang, *Stichopus japonicus*, contained the isomers in a level similar to those of shellfishes in the muscular and visceral lipids, but the lipid of sea star, *Asterina pectinifera*, showed a high percentage of the isomers second to sea urchin among the marine organisms examined.

The lipids from the seaweeds, six of the brown algae, *Eisenia bicyclis*, *Ecklonia cava*, *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiforme*, *Sargassum thunbergii* and *Sargassum serratifolium*, one of the red algae, *Gelidium amansii*, and one of the green algae, *Ulva pertusa*, contained

the isomers in traces or in very low percentages.

In the marine fishes, the distribution of the isomers in the muscular, liver, gonad and visceral lipids of both the male and female varied widely with the species. Labridae, *Pseudolabrus japonicus*, and sparidae, *Acanthopagrus schlegelii*, contained the isomers in traces or very low percentages in the lipids from several different tissues. Flying fish, *Cypselurus heterurus döderleini*, however, contained the isomers in traces in the lipids from only two different tissues.

Their quantity was much smaller in these marine organisms than in sea urchin. These findings disclosed that the isomeric 20:2 acids were no characteristic constituent of sea urchin.

The proportion of 3,11- and 5,11-20:2 acids in the lipids of sea urchin, *S. pulcherimus*, and of marine organisms in which the isomeric 20:2 acids were detected, was estimated. All the lipids of sea-urchin gonads and viscera were proved to contain both 3,11- and 5,11-20:2 acids. In the total lipids and non-polar lipids, 5,11-20:2 acid was present in a slightly higher proportion than 3,11-20:2 acid, but in the polar lipid of gonads the relative proportion was reversed.

Shellfish lipids showed a high proportion of 3,11-20:2 acid and the lipids of tegula, *O. p. carpenteri*, contained only the acid. However, the acid was present neither in the muscular lipid nor in the visceral lipid from razor clam, *S. strictus*.

Of the echinoderms, trepang, *S. japonicus*, showed about equal proportion of the two acids in the muscular and visceral lipids, but the lipid of sea star, *A. pectinifera*, contained only 5,11-20:2 acid.

Seaweed lipids showed a high proportion of 5,11-20:2 acid, but the acid was not detected in the lipids of *E. bicyclis*, *G. amansii* and *U. pertusa*.

Of the marine fishes, *P. japonicus* and *A. schlegelii*, showed a high proportion of 5,11-20:2 acid and 3,11-20:2 acid in the lipids, respectively. Flying fish, *C. h. döderleini*, showed about equal proportion of the two acids in the visceral lipid of males and a slightly high proportion of 3,11-20:2 acid in the liver lipid of females.

The 3,11- and/or 5,11-20:2 acids were found not only in sea-urchin lipids but also in various lipids of marine animals and seaweeds examined, excepting *H. fusiforme*. There was no regular pattern relating to any of the taxonomical groups, tissues, feeding habits or sexes in the proportion of the acids. However, sea urchin was distinct from other marine organisms with large amounts of the structurally unusual fatty acids, 3,11- and 5,11-20:2 acids.

The origin of the acids in sea urchin, therefore, had to be considered. Sea urchin feeds mainly on seaweed, although it has an omnivorous tendency. Essential difference was found in the amounts of 3,11- and 5,11-20:2 acids between sea urchin and seaweeds. Thus, the amounts of 3,11- and 5,11-20:2 acids in the gonads were respectively about 300 and 50 times as much as those in seaweeds which contained each acid in largest amounts among their species, and these amounts in viscera about 150 and 20 times of those in the seaweeds, respectively.

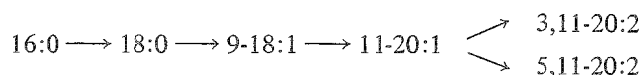
This difference between herbivorous gastropods and seaweeds was not so distinct as that between sea urchin and seaweeds. In view of these differences, it is almost unlikely that the acids derived directly from diets are accumulated remarkably only in sea urchin. Accordingly, biochemical conversion of the dietary fatty acids in sea urchin may be

responsible for the accumulation of greater part of the acids.

The lipid from sea urchin showed lower percentages of 16:0 and 18:1 ω 9 acids, and higher percentages of 20:1 ω 9 and isomeric 20:2 acids as compared with the lipids of seaweeds, but the percentage of 20:0 acid was not so distinctly different in both the lipids.

The possibility of biosynthesis of fatty acids with double bonds at the 3,4- or 5,6-position has been presumed or proved in *Aster alpinus*, slime mold and rat.

The following probable conversion pathway may be analogized from the basis of above-mentioned findings for 3,11- and 5,11-20:2 acids in sea urchin.



Fatty acids containing non-methylene interrupted arrangement of double bonds have been previously demonstrated in terrestrial plant oils, and were recently found in some marine shellfish species.

It is noteworthy, however, that the sea urchin contains fatty acids with hexamethylene- and tetramethylene-interrupted arrangement of double bonds, 3,11- and 5,11-20:2 acids, in larger amounts than any other marine organism. It is possible to consider that 3,11-20:2 acid may play a physiological role associated with reproduction of sea urchin.