た、ミツロウ不ケン化物の原点上の物質はミリシリアルコールなど炭素数の大きいアルコールであるのかもしれない。このようなことから、 C_{20} 以上の一価アルコール、あるいは二価アルコール、ケトアルコールなどがはたしてどのようなクロマトグラフの性質を示すかは、今後検討しなければならない問題である。

さらに残された問題はステロイドとの分別である。図-5 で明らかなように、アルコールとステロイドの分別は一応得られたが、より両者をひき離すことができればと思っている。ジギトニンにより前処理をしておくことも一法と考えられるが、これらについてはさらに検討したい。

本研究に当たり試料の提供その他にご便宜くださった日本水

産株式会社中央研究所長藤井 久博士に感謝する。また実験に助力いただいた辻本恵洋氏に感謝する。

(昭和 38 年 7 月 31 日受理)

文 献

- 1) H.K. Mangold, D.C. Malins, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37**, 383 (1960)
- 2) 向井, 橋本, 依田, 本誌, **12**, 505 (1963)
- 3) F. Feigl, "Spot Tests in Organic Analysis", p. 184 (1960) Elsevier, Maruzen
- 4) 大倉, 森, 広井, 日本水産株式会社中央研究所報告, No. 8, 95 (1957)
- 5) たとえば P. Capella *et al.*, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37**, 564 (1960)
- 6) 森, 堀井, 岩切, 日本水産株式会社中央研究所報告, No. 9, 52 (1961)
- 7) 福島, 本誌, **11**, 128 (1962)

大豆ステリンのステリグマステリンとノンステリグマステリン*の溶解度とそれらの相互関係

佐 藤 尚 武・明 石 武 和

味の素株式会社中央研究所 (川崎市鈴木町)

Studies on Relation between Solubilities of Stigmasterol and Non-Stigmasterol prepared from Soysterol

Naotake SATO and Takekazu AKASHI

Central Research Laboratory, Ajinomoto Co., Inc. (Kawasaki-shi, Japan)

Abstract

Solubility measurement in organic solvents was applied on stigmasterol, non-stigmasterol and these mixtures. These results are given in tables and figures.

Separation of stigmasterol from the sterols mixtures was found difficult by inoculation method.

From these data, stigmasterol and non-stigmasterol showed a behavior like a solid solution in crystalline form. However, this behavior could not be confirmed by X-ray powder diffraction method.

1 ま え が き

大豆ステリン中からステリグマステリンとノンステリグマステリンとを溶解度を利用して分離する方法については、すでにいくつかの報告^{1)~3)}があるが、ステリグマステリンとノンステリグマステリンの溶解度に関する系統的研究所およびこれらの挙動に関する研究⁴⁾はいまだない。

注) たとえばラセミ体の構成でみられるように¹⁾化学構造のきわめて類似した2種の物質よりなる結晶について、これらが分子化合物または固溶体を形成するか、あるいは単なる機

* 本報文中に記載したノンステリグマステリンとは、すでにアメリカアップジョン社の報告¹⁾で用いられたように、大豆ステリン成分中ステリグマステリン以外のステリン混合物の総称であるが、われわれはこれらを1成分として以下実験を行なった。

械的混合物にとどまるかという点についてステリン類を対象とした報告。

よってわれわれは大豆ステリンのステリグマステリンとノンステリグマステリンを対象としてこれらについて知見をうる目的で以下実験を行なったので報告する。

2 実験試料および実験方法

2・1 試料

2・1・1 ステリグマステリン, ノンステリグマステリン

ステリグマステリンは大豆油不ケン化物から分離した大豆ステリン (mp 128°C, ステリグマステリン含量 30~31%) より Campbell らの方法⁵⁾により単離し、エタノールから再結晶したもので mp 169~170°C, 純度 99.2%⁶⁾

であった。

注) 後述する2・3の方法に従って定量した。

スチグマステリンを分離した残部すなわちノンスチグマステリンはエタノールから再結晶し mp 140~141°C, スチグマステリン含量コン跡であった。

2・1・2 溶媒

溶媒として *n*-ブタノール (試薬特級) および *n*-ヘキサン (試薬特級) を使用した。

2・2 方法

溶解度の測定は一般の不均一系平衡の実験法に基づき、気密下溶かし込み法を採用した。すなわち、スチグマステリンとノンスチグマステリンをそれぞれ所期量混合して調製したステリン混合物の所定量 (以下初添加量という) に溶媒を注加し、所定の温度においてかきまぜ平衡に達するようにした注)。

注) あらかじめ予備試験を行ない、溶解量の経時的測定値のうち、連続した2点が測定の実差範囲 (絶対誤差±1%) 内で一致した場合、その時間をもって平衡達成の時間、その平均値をもって溶解度とした。

平衡に達した混合液は保温状態で手早く結晶とロ液に分ける。ロ液 (母液) は溶媒を除去し、残留する溶質についてその量とスチグマステリンの含量を測定した。この値と初添加量との差から、溶け残った結晶 (以下液底体という) の量およびそのスチグマステリン量を算出した。

表-2 40°C におけるスチグマステリン、ノンスチグマステリン混合物の *n*-ブタノール 100 g に対する溶解度

実験番号	実 験 条 件				実 験 結 果					
	初 添 加 ス テ リ ン 混 合 物				溶 質			液 底 体		
	[g]	同 左 内 訳			[g]	同 左 内 訳			[g]	スチグマステリン含量[%]
		スチグマステリン[g]	ノンスチグマステリン[g]	スチグマステリン含量[%]		スチグマステリン[g]	ノンスチグマステリン[g]	スチグマステリン含量[%]		
1	38.0	—	38.0	コン跡	24.1	0.05	24.05	0.2	3.9	≒ 0
2	38.0	2.0	36.0	5.2	33.1	1.9	31.2	5.7	4.9	2.0
3	40.0	2.4	37.6	6.0	34.9	2.3	32.6	6.5	5.1	1.2
4	42.0	4.2	37.8	10.0	36.4	4.0	32.4	11.0	5.6	3.4
5	50.0	9.2	40.8	18.4	43.0	7.7	35.3	17.9	7.0	21.3
6	54.7	16.7	38.0	30.5	37.7	7.7	30.0	20.4	17.0	52.9
7	43.9	13.2	30.7	30.0	35.3	7.7	27.6	21.8	8.6	61.1
8	43.0	13.1	29.9	30.5	34.7	7.5	27.2	21.5	8.3	67.5
9	38.0	11.6	26.4	30.5	31.7	7.4	24.3	23.4	6.3	65.6
10	33.3	10.2	23.1	—	28.7	7.2	21.5	25.1	4.6	65.2
11	30.3	9.2	21.1	—	28.0	7.3	20.7	26.1	2.3	82.6
12	30.0	9.1	20.9	—	28.3	7.7	20.6	27.2	1.7	82.4
13	25.7	7.7	18.0	—	25.2	7.3	17.9	29.0	0.5	84.1
14	23.5	7.2	16.3	—	28.3	7.2	16.1	30.7	≒ 0	—
15	19.4	9.7	9.7	50.0	16.7	7.4	9.3	44.7	2.7	85.2
16	26.0	13.0	13.0	—	19.0	7.1	11.9	37.3	7.0	84.3
17	28.2	14.1	14.1	—	18.9	7.1	11.8	37.4	9.3	75.3
18	13.0	9.2	3.8	71.0	10.1	6.5	3.6	64.8	2.9	93.1
19	12.1	9.2	2.9	75.4	9.4	6.5	2.9	69.1	2.7	100.0
20	17.3	13.0	4.3	75.1	10.7	6.7	4.0	62.9	6.3	95.4
21	11.1	10.1	1.0	91.0	7.5	6.3	1.2	83.9	3.6	100.0
22	10.0	10.0	0	100.0	6.5	6.5	0	—	3.5	100.0

2・3 スチグマステリン定量法

スチグマステリン含量は Johnson ら⁶⁾の方法に基づいて定量し、その残部をノンスチグマステリンとした。なお2・2の方法で得られた結晶について示差熱分析を行ない、その溶融挙動からステリンが使用した溶媒と溶媒和した付加物を形成しないことを確認した。

2・4 X 線回折

一般のX線粉末回折法により行なった。

3 実験結果ならびに考察

3・1 スチグマステリン、ノンスチグマステリンの溶解度

表-1 *n*-ブタノール 100 g に対するスチグマステリン、ノンスチグマステリンの共通飽和溶解度

実験温度 [°C]	実 験 方 法	溶解量 [g]	
		スチグマステリン	ノンスチグマステリン
40.0	スチグマステリン含量 30.0% のステリン混合物 60 g を用いた場合	7.7	34.9
"	同上混合物 70 g を用いた場合	7.5	34.7
"	スチグマステリン含量 18.4% のステリン混合物 50 g を用いた場合	7.7	35.3
30.0	同上混合物 50 g を用いた場合	4.9	28.3
20.0	"	2.4	15.8

3・1・1 溶媒として *n*-ブタノールを使用した場合

(1) 上記系の共通飽和溶解度

20, 30, 40°C における共通溶解度測定の結果を 表-1 に示す。

(2) 上記系の 40°C における溶解度

測定結果を 表-2 および 図-1 に示す。

図-1 40°C における スチグマステリン、ノンスチグマステリン混合物の *n*-ブタノール 100 g に対する溶解度

n-ブタノール 100 g 当たりの溶解量 (g) をもって記すと、スチグマステリンおよびノンスチグマステリンはそれぞれ単独の場合には 6.5 g および 24 g まで溶解する(表-2, 実験番号 1, 22)。しかし、両者が共存する場合は、両者とも十分量存在すれば表-1 および 表-2 実験番号 5 に示すように共通飽和溶解度、すな

わちスチグマステリン 7.7 g, ノンスチグマステリン 35 g まで溶解する。しかしながら今ノンスチグマステリンに注目してみると、ステリン混合物の初添加量中にその共通飽和溶解量以上の量が存在していても必ずしも共通飽和溶解量まで溶解すると限らない場合がある(表-2 実験番号 6)。このことはノンスチグマステリンの溶解量を決める因子がその初添加量以外にも存在することを意味する。同様な現象は初添加量中のノンスチグマステリンの量がその共通飽和溶解量すなわち 35 g 以下の場合にもみられる。たとえばスチグマステリン含量を 30% に調製したステリン混合物を 43.9 g 用いた場合(表-2 実験番号 7)には、初添加のノンスチグマステリンの量は 30.7 g で共通飽和溶解量以下であるから全部溶解するように思われるが、事実はこれに反して 27.3 g だけ

溶けるにとどまり、残りは液底体としてとどまる。一方初添加のスチグマステリン 13.2 g はほぼその共通飽和溶解量だけ溶けて、残りの 5.5 g は液底体としてとどまる。したがって、液底体は 8.6 g スチグマステリン含量 61.1% のものとなる。さらに上記と同様な割合で調製したステリン混合物につきその初添加量を変えて 30 g とした場合(表-2 実験番号 12)には、初添加のノンスチグマステリン 20.9 g は 20.6 g しか溶けず、残りは液底体としてとどまる。一方スチグマステリン 9.1 g はほぼ共通飽和溶解量まで溶け、残りの 1.4 g は液底体にとどまる。この結果液底体量は 1.7 g スチグマステリン含量 82.4% のものとなる。以上の現象からノンスチグマステリンの溶解する量は初添加の量以外に液底体として存在するスチグマステリンの量の多少も関与するのではないかと考えられる。さらに初添加のステリン混合物のスチグマステリン含量を 30% 以上とした場合にも同様な現象が示された。たとえばスチグマステリン含量を 50% とし、その初添加量を変えた場合、スチグマステリン、ノンスチグマステリンの溶解する量および液底体の量と組成の変動を 表-2 実験番号 15~17 に示す。

この実験結果からノンスチグマステリンの溶解量には、その初添加量が関与することはもちろんであるが、このほかにスチグマステリンの量も関与すると考えられる。よってこの事実を確認するために 表-3 に示した実験を行なった。

表-3 の実験結果からもノンスチグマステリンの溶解量はその初添加量のほかに、液底体として存在するスチグマステリン、換言すればスチグマステリンの初添加量も関与していることが確認された。以上の事実はいずれもスチグマステリン含量がその共通飽和溶解度以上にある場合であるが、これ以下の場合については、表-2 実験番号 2~5 にその結果を示す。すなわち、ノンスチグマステリン 37.8, 37.6 g にそれぞれスチグマステリン 4.2, 2.4 g を加えて調製したステリン混合物を初添加する場合、スチグマステリンはそれぞれ 4.0, 2.3 g 溶解し、一方ノンスチグマステリンはそれぞれ 32.4, 32.6 g

表-3 初添加ステリン混合物と溶質および液底体の関係 (*n*-ブタノール 100 g 当たり)

実験番号	実 験 条 件				実 験 結 果					
	初 添 加 ス テ リ ン 混 合 物				溶 質			液 底 体		
	[g]	同 左 全 訳			[g]	同 左 内 訳			[g]	スチグマステリン含量[%]
		スチグマステリン[g]	ノンスチグマステリン[g]	スチグマステリン含量[%]		スチグマステリン[g]	ノンスチグマステリン[g]	スチグマステリン含量[%]		
1	48.0	10.0	38.0	20.8	40.8	7.7	33.1	18.9	7.2	31.9
2	53.0	15.0	38.0	28.3	39.5	7.7	31.8	19.5	13.5	54.1
3	35.0	15.0	20.0	42.9	24.1	7.2	16.9	29.9	10.9	67.9
4	30.0	10.0	20.0	33.3	26.2	7.2	19.0	27.5	3.8	73.7
5	20.0	10.0	10.0	50.0	16.6	7.1	9.5	42.8	3.4	85.3
6	15.0	10.0	5.0	66.7	11.4	6.7	4.7	58.8	3.6	91.7

溶解する。したがって、このときの液底体のステグマステリン含量はほぼ 3~1% の結果を示す。

以上の結果をまとめてみると、ステグマステリンとノンステグマステリンとは、その溶解に際し相互に影響しあうといえる。すなわち、ノンステグマステリンに着目してみるとその溶解度はステグマステリンの添加溶解によって次第に増加し、最高 35 g すなわち共通飽和溶解度を示すが、さらにステグマステリンを添加すると（液底体としてステグマステリンを共存させると）、その量に応じてノンステグマステリンの溶解度は減少する方向に向う。このことはステグマステリンについても同様にいえる。これを換言すれば溶質および液底体の組成ははじめに添加するステリン混合物の組成および量によってほぼ決定されるともいえる。この関係を 図-2 に示した（注）。

注） 図-2 は上述のようにステリン混合物の初添加量によって液底体および溶質の組成が異なってくるので一定のステグマステリン含量の混合物についてもいくつかの点が書けるわ

図-2 初添加ステリン混合物の組成と液底体および溶質の組成との関係、*n*-ブタノールの場合

表-5 30°C におけるステグマステリン、ノンステグマステリン混合物の *n*-ヘキサン 100 g に対する溶解度

実験番号	実 験 条 件				実 験 結 果					
	初 添 加 ス テ リ ン 混 合 物				溶 質			液 底 体		
	[g]	同 左 内 訳			[g]	同 左 内 訳			[g]	ステグマステリン含量[%]
		ステグマステリン[g]	ノンステグマステリン[g]	ステグマステリン含量[%]		ステグマステリン[g]	ノンステグマステリン[g]	ステグマステリン含量[%]		
1	3.0	—	3.0	コン跡	2.11	0.02	2.09	1.0	0.89	≒ 0
2	6.0	0.36	5.64	6.0	2.09	0.03	2.06	1.2	3.91	8.4
3	7.5	0.45	6.05	6.0	2.2	0.03	2.17	1.2	5.3	7.9
4	12.1	2.0	10.1	16.5	5.19	0.79	4.4	15.2	6.91	17.5
5	6.6	2.0	4.6	30.5	2.68	0.68	2.0	25.4	3.92	33.7
6	4.0	2.0	2.0	50.0	1.7	0.65	1.05	38.2	2.3	58.7
7	2.85	2.0	0.85	70.0	1.28	0.6	0.68	46.7	1.57	89.2
7'	"	"	"	"	1.36	0.63	0.73	46.3	1.49	91.9
8	2.25	2.0	0.25	88.9	0.92	0.69	0.23	75.0	1.33	98.5
9	2.5	2.5	0	100.0	0.62	0.62	0	100.0	1.88	100.0

けであるが、本図は共通飽和溶解度組成よりステグマステリン含量の高い領域においては、初添加ステリン混合物中のステグマステリン量が 10 g の場合のみを代表として示し、その傾向を表わしたものである。

3・1・2 溶媒として *n*-ヘキサンを使用した場合

(1) 上記系の共通飽和溶解度

測定は 30°C および 40°C において行ない、測定結果を 表-4 に示す。

表-4 *n*-ヘキサン 100 g に対するステグマステリン、ノンステグマステリンの共通飽和溶解度

実験温度 [°C]	実 験 方 法	溶解量 [g]	
		ステグマステリン	ノンステグマステリン
30.0	ステグマステリン含量 30.0% のステリン混合物 25 g を用いた場合	0.8	4.5
"	"	0.8	4.6
"	同上混合物 10 g を用いた場合	0.9	4.5
40.0	同上混合物 30 g を用いた場合	1.6	7.4

(2) 上記系の 30°C における溶解度

測定結果を 表-5 および 図-3 に示す。

図-3 30°C におけるステグマステリン、ノンステグマステリン混合物の *n*-ヘキサン 100 g に対する溶解度

n-ヘキサン 100 g 当たりの溶解量をもって記すと、ステグマステリンおよびノンステグマステリンは、単独の場合それぞれ 0.6 g および 2 g 溶解する。しかし、両者が十分量共存する場合にはステグマステリンは 0.8 g、ノンステグマステリンは 4.5 g、すなわち共通飽和溶解度まで溶解する。一方、この共通飽和溶解

図-4 初添加ステリン混合物の組成と液底体および溶質の組成との関係、*n*-ヘキサンの場合

量に達するまでのノンチグマステリンの溶解量は *n*-ブタノールの場合に詳述したように初添加ステリン混合物の組成および量によって決まるといえる。この初添加ステリン混合物の組成と液底体および溶質の組成との関係を図-4に示す注)。

注) 図-4 は共通飽和溶解度組成よりスチグマステリン含量の高い領域において、初添加ステリン混合物中のスチグマステリン量を2gとした場合である。*n*-ブタノールの場合(図-2)と同様の傾向を示しているが、ただノンチグマステリンの多い側では液底体と溶質との関係が *n*-ヘキサンの場合と *n*-ブタノールの場合とは逆の関係になっている。

3.2 接種法によるスチグマステリンの選択的晶析の試み

溶解度を利用して大豆ステリンからスチグマステリンを単離する方法についてはアメリカアップジョン社の報告^{1)~3)}があるが、われわれは3.1.1に記したスチグマステリン、ノンチグマステリ

ンおよび *n*-ブタノール系についてスチグマステリン過飽和、ノンチグマステリン未飽和の溶液にスチグマステリンの結晶を種晶として加え、スチグマステリンのみを選択的に晶析させることの可能性を検討した。すなわち種晶としては、スチグマステリンをガラス板に塗布したものを種板として用い、スチグマステリンに関して過飽和状態の *n*-ブタノール溶液^{注)}中に浸セキし、種板上に晶析した結晶についてその量およびスチグマステリン含量を測定した。

注) *n*-ブタノール 100g 当たり 27g の大豆ステリンを加え、いったん加熱溶解後 40°C に保ちスチグマステリンの種板を投入、5hr 浸し成長させた。

この結果種上にスチグマステリンが選択的に晶析することは認められず、種晶の存在しない場合と同一の結果が得られた。

3.3 考 察

図-5 X線回折像

3・1 および 3・2 の実験事実のうち、スチグマステリン過飽和、ノンスチグマステリン未飽和の溶液から析出する結晶の組成はスチグマステリン単体ではなく必ずノンスチグマステリンが伴われるという事実からスチグマステリンとノンスチグマステリンとは単なる機械的混合物でないことは明らかであり、一方この実験条件の範囲では一定組成の分子間化合物は得られなかった。このような結果から大豆ステリン中のノンスチグマステリンはスチグマステリンとその結晶状態において、いわゆる“固溶”した状態を形成しているものと考えられる。

3・4 スチグマステリン、ノンスチグマステリン混合物の X 線回折像

以上の実験結果からスチグマステリンとノンスチグマステリンとは固溶体を形成すると推定されるので、この点について X 線回折像による検討を試みた。

試料 (1) スチグマステリン含量 96% 結晶：*n*-ブタノールより晶析したもの。

(2) スチグマステリン含量 61% 結晶：同上

(3) スチグマステリン含量 3% 結晶：同上

上記各試料の X 線回折像を 図-5 に示す。

試料 (2) スチグマステリン含量 83% の回折像は試料 (1) スチグマステリン含量 96% の回折像とよく一致しているが、試料 (3) スチグマステリン含量 3% のそれとはまったく異なっている。この事実から試料 (2) すなわちスチグマステリン含量 61% の結晶において、ノンスチグマステリンは非晶質に変じたか、あるいはスチグマステリンに固溶したと考えられるが、ノンスチグマステリン自体 (試料 (3)) その X 線回折像より明らかに結晶性のものであり、かつ 40% という比較的多量に含有されるものが非晶質に変ずるとは考えられない。したがって、ノンスチグマステリンはスチグマステリンに固溶したものと考えられる。また試料 (2) の回折像には 2θ 0~5° にノンスチグマステリンの回折像がわずかに残存しているが、これはノンスチグマステリン自体多成分系のものであり (注 1 参照)、スチグマステリンに固溶しない成分に基づくものであらうと思われる。なお、いずれの試料も 2θ 25~80° の高回折角の領域において回折像のピークは現われず、したがって判然とした回折角の移

動も認められなかったもので、やはり固溶体形成の証明を得るには至らず推論にとどまった。なお、融点測定によって固溶体の形成を明らかにしようとして、種々の混合比のステリン混合物の結晶についてその融点を測定したところ、明りょうな融点を示さず、また混融曲線に判然とした変曲点もみられなかったが、固溶体を否定する溶融挙動ではなかった。

4 総 括

1) 大豆ステリンを原料としてそのスチグマステリンとノンスチグマステリンについて *n*-ブタノール、*n*-ヘキサンを溶媒として、それらの相互溶解度の関係を測定し、表-1~表-5 および 図-1~図-4 に示した。

2) 接種による選択的晶析法によってスチグマステリンの単離を試みた結果、上記溶解度の関係に従った組成の結晶が晶析し、スチグマステリンの選択的な晶析はみられなかった。

3) 以上の結果から大豆ステリン中のノンスチグマステリンはスチグマステリンといわゆる“固溶”した状態にあるものと推定した。

4) 上記の点に関し、X 線回折および融点測定により検討した結果“固溶体”形成については依然として推定にとどまり、その証明を得るには至らなかった。

本研究に当たりご指導ご激励を賜わり、また発表を許可された当社中央研究所所長 大枝春臣博士ならびに 当社横浜工場長 小川鉄雄博士、また X 線回折、示差熱分析を担当していただいた当所分析課 永嶋伸也氏に深く感謝の意を表するとともに、種々のご助言、ご協力をいただいた中央研究所ならびに横浜工場の諸氏に厚くお礼申し上げます。

(昭和 38 年 3 月 15 日受理)

文 献

- 1) A. Poulous, J.W. Greiner, G.A. Fevig, *Ind. & Eng. Chem.*, **53**, 949 (1961)
- 2) J.W. Greiner, G.A. Fevig, *U.S.*, 2,839,544 (1958)
- 3) G.A. Fevig, J.W. Greiner, K.W. Riebe, *U.S.*, 2,905,677 (1959)
- 4) H. Gilman, "Organic Chemistry", p. 240 (1953), John Wiley & Sons Inc.
- 5) J.A. Campbell, D.A. Shephard, B.A. Johnson, A.C. Ott, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 1127 (1957)
- 6) J.L. Johnson, M.F. Grostic, A.O. Jensen, *Anal. Chem.*, **29**, 468 (1957)