脂肪酸メチルの GLC 分析のための新しい ポリエステルカラム

渡辺昭一郎・佐藤幸子・北村勝義

北里大学(東京都港区芝白金三光町)

New Polyester Columns for GLC Analysis of Fatty Acid Methyl Esters

Shōichirō WATANABE, Yukiko SATO and Katsuyoshi KITAMURA

Kitasato University (Shiba Shirokanesankō-chō, Minato-ku, Tokyo)

New Polyesters prepared by the esterification of succinic or adipic acid with α -butyl- α' -hydroxyethyl glyceryl diether were found to be useful liquid phase for gas liquid chromatography for separation of linolenic, arachidic and eicosenoic acids. Rape seed oil methyl esters were successfully analyzed with the polyester columns.

1 緒 言

著者らはオキシエチルクロロヒドリンエーテル誘導体の研究の一環として、クロロヒドリンエーテルから α -ブチル- α' -オキシエチルグリセリルジエーテルを作り、さらにこれとアジピン酸あるいはコハク酸とのポリエステルを合成し、ナタネ油脂肪酸の GLC 分析に、このポリエステルを固定相液体として用いたところ、 $C_{18:3}$ 、 $C_{20:0}$ 、 $C_{20:1}$ の成分の分離が比較的良好に行なわれたので、その結果について以下に述べる。

2 実験と結果

2.1 実験材料

n -ブタノールは市販一級品を蒸留し、bp 115~116°C の留分を、またオキシエチルクロロヒドリン (bp 121°C/1 mmHg, n_D^{20} : 1.4652) は既法¹⁾に従ってエピクロヒドリンとエチレングリコールから合成したものを用いた。GLC の固定相担体には、Daichrom A (60~80 mesh, 大倉理化学研究所)を用いた。ナタネ油脂肪酸メチルの試料は、ナトリウムメチラートを触媒として、市販のナタネ油からエステル交換反応によって調製した。また $C_{20:0}$ の成分を濃縮する目的をもって、ナタネ油脂肪酸をメタノールに溶解し、-20°C でろ過して得た固体部分を濃硫酸を用いてメチルエステルとなし、これを試料とした。

2.2 合 成

カクハン装置、還流冷却器、温度計、窒素導入管を備えた四ツ口フラスコに 92 g (約 1.25

mol) のブタノールを入れ、10 g (約 0.25 mol) のカリウムを少量ずつ加え、100°C 以下に保ちながら窒素気流中で加熱かくはんを行なった。カリウムが完全に消失するまで約 4 hr を要した。得られたカリウムブチラートにオキシエチルクロロヒドリンエーテル 39 g (約 0.25 mol) を加え、60°C に保って 8 hr 加熱を行なった。反応終了後生じた塩化カリウムの沈殿をろ過して除き、ろ液から過剰のブタノールを留去し、さらに減圧下に分留を行ない、 α -ブチル- α' -オキシエチルグリセリルジエーテル (bp 149°C/1 mmHg, n_D^{25} : 1.4443) を得た。得られた留分の水酸基価は 583.3 (計算値 584.4)、元素分析値は C: 56.1%, H: 10.4% (計算値 C: 56.3%, H: 10.4%) であった。また赤外線吸収スペクトルを Fig.-1 に示す。

このようにして得られたジエーテル 19.2 g (0.1 mol)、アジピン酸 14.6 g、またはコハク酸 11.8 g (各 0.1 mol)、ペンタエリトリット 0.136 g (0.001 mol) を、

Fig.-1 IR spectra of α -butyl- α' -hydroxyethyl glyceryl diether.

温度計, カクハン装置, 還流冷却器, 窒素導入管を付けた四ツ口フラスコに入れ, かくはんしながら 130°C で 2hr 加熱したのち, 還流冷却器の代わりに曲管とリービッヒ冷却器を付けて 170°C に加熱して, 生成した水を留去, さらに 5 hr 加熱かくはんを続けてポリエステルを得た。これらのポリエステルはいずれも油状を呈した。

これをクロロホルムに溶かし, おのおの所定量の担体に付着させ, コハク酸ポリエステルの場合は 8% (ポリエステルの重量/担体の重量 $\times 100$, 以下同様) と 20%, アジピン酸ポリエステルの場合は 20% のものを調製した。これらはすべて, 加熱式減圧乾燥器を用いて 95°C , 約 4 hr, 約 2 mmHg 下で処理し, 揮発性成分を除去した。以下これらの固定相をそれぞれ S_8 , S_{20} および A_{20}

Table-1 Relative retention volume.

Fatty acid	Column		
	A_{20}	S_8	S_{20}
16:0	1.00*	1.00*	1.00*
16:1	1.07	1.06	1.07
18:0	1.77	1.76	1.76
18:1	1.88	1.83	1.88
18:2	2.13	2.10	2.12
18:3	2.53	2.50	2.53
20:0	3.13	3.18	3.13
20:1	3.31	3.34	3.35
22:1	5.57	6.20	6.19

* Assigned as a standard

Operating conditions: flash heater temp. 350°C , carrier gas flow rate 54 ml/min, column temp. 235°C .

Fig.-2 Chromatograms of rapeseed oil methyl esters using 20% adipate column.

Fig.-3 Chromatograms of rapeseed oil methyl esters using 8% succinate column.

Fig.-4 Chromatograms of rapeseed oil methyl esters using 20% succinate column.

と表わす。

2.3 GLC 分析

装置は島津コタキ GU 12 型 (熱伝導度検出器) を, カラムは長さ 2 m, 直径 5 mm, 銅製のものを用い, ヘリウムをキャリアガスとして分析を行なった。あらかじめカラムは 230°C でヘリウムを通しながら約 7 hr 加熱を行なった。

各試料について得られたクロマトグラムを Fig.-2~4 に示す。I はナタネ油脂肪酸メチル, II は $C_{20:0}$ の濃度を大にするために分別したナタネ油脂肪酸メチルである。またこれらの結果から求めた相対保持容量を Table-1 に示した。表中, $C_{16:1}$ は純度 99% 以上の標準品 (SIGMA 社製 fatty acid standard) を I に混合したものを GLC 分析して得たクロマトグラムから求めたものである。

3 考 察

いずれのポリエステルカラムを用いても $C_{18:3}$, $C_{20:0}$ および $C_{20:1}$ の分離が行なわれたが, Fig.-2~4 の各 II および Table-1 に見られるように, 飽和酸メチルとモノエン酸メチル ($C_{18:0}$ と $C_{18:1}$, $C_{20:0}$ と $C_{20:1}$) の分離についてはとくに A_{20} がすぐれている。なお EGS カラムに比べるといずれもいくらか保持容量が大きく, 分析に要する時間もそれだけ長くなるわけであるが, 数多くの成分がそれぞれ分離するにはおのおの保持容量の間にある程度の差が必要であり, 全体的に保持容量が大きくなるのはやむを得ないことと思われる。しかし S_8 と S_{20} を比較するとわかるように, 固定相液体の濃度を低くすることにより分離能力を低下させることなく, 相当に分析時間を短縮することが可能であり S_{20} よりも保持容量の小さい A_{20} の場合には, 低濃度カラムとすることによりさらに分析時間を短くすることができ

るものと思われる。しかし著者らの行なった分析では, $C_{22:1}$ のピークが現われる時間は, A_{20} を用いると 30 min 以内, また S_{20} でも 30 数 min であり, このままでも充分に実用に供せられるものと思われる。

以上のことから $C_{16:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$, $C_{20:1}$ および $C_{22:1}$ をおもな成分とするナタネ油脂脂肪酸の GLC 分析に, 両ポリエステル, とくにアジピン酸エステルは有効な固定相液体であり, ほかに $C_{18:3}$, $C_{20:0}$ や $C_{20:1}$ を含む脂肪酸の分析に用いることが認められた。

終わりに臨み, 原料について御配慮いただいた日清製油株式会社また GLC 分析に御協力いただいた同社の白井 浩氏に深謝の意を表する次第である。

(昭和 42 年 6 月 13 日受理)

文 献

- 1) 渡辺, 斎藤, 篠島, 油化学, 16, 197 (1967)

ホスファチジルイノシットの精製法

高 橋 隆・橋 本 喬

北里研究所 (東京都港区芝白金三光町 138)

Preparation of Phosphatidyl Inositol

Takashi TAKAHASHI and Takashi HASHIMOTO

Kitasato Institute (138, Shiba-Shirokanesankō-chō, Minato-ku, Tokyo)

Authors attempted the preparation of a lot of phosphatidyl inositol (PI) for the physico-chemical and biochemical researches according to the combined method of solvent fractionation, DEAE cellulose and silicic acid column chromatography.

The analytical data of pure PI obtained by this method showed by Table-1.

The fatty acid composition of PI showed by Table-2.

Both preparations gave the patterns of IR spectrum which accorded to their chemical structure.

They showed single spot on the thin-layer and paper chromatogram.

1 緒 言

イノシットリン脂質は動植物体に広く分布した基本的なリン脂質で, 種々酵素活性などにも関係する一方, 金属イオンの輸送とか調節とかの役割を行なっていると考えられている。脳ケファリン中のイノシットリン脂質としてホスファチジルイノシット (PI), ジホスホイノシチド (DPI), トリホスホイノシチド (TPI) が存在し

ずれもイノシットリン脂質に関係した役割を保っている。DPI, TPI の分離精製に Ballou ら¹⁾ は DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーを使用し, グラジェント溶出にて分離精製を行なっている。いままでに PI の分離精製にはすでにいくつかの報告があり, 溶剤分画法²⁾, 向流抽出法^{3), 4)}, カラムクロマトグラフィー^{5)~8)} などによる精製が行なわれているが, 原料の違いによって PI の精製には難易がある。脳 PI の場合にはケイ酸