Table-2 Relation between peak and degree of hydrogenation at palm kernel oil, stored at 30°C 1,440 hr.

	A	B	C	D	E	F	G
# 17*	17	23	28				
# 9			25	34	39		
# 5			25	35.5	45	43	
# 0			25	37		44	47

* *Stored at 20°C

4 あ き と が

多成分系からなる混合グリセリドでは個々のグリセリドが示すべき吸熱あるいは発熱ピークは互に相殺されてピークとならないか、あるいは大きいピークに小さなピークが吸収されてしまう。しかしこれらが混合グリセリドからなる単一相と考えられるならば結晶化の状態が熱力学的安定度の異なる領域に相当するところにピークとして現われるはずである。

ヤシ油、パーム核油が硬化度のいかんにかかわらず放置温度が高いほど、また放置時間の長いほど融解反応終了温度が高く、しかも多数の融解帯を示すようになるのは結晶化が進んでいるためであろう。グリセリドの変化は速い速度で加熱すると α 型から β' 型を経ずして β 型になるが、遅い速度で加熱を行なうと $\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$ と転

移するがとくにこれらの油脂がかなり融点に近い温度でしかも長時間放置しても見かけ上のポリモルフィズムではほとんど変化がみられないのに DTA が大きく変わるのは結晶そのものの寸法の増大などによる熱力学的に安定な構造をもつ結晶相になったためかもしれない。このことは放置中 S.F.I. 値の著しく増加する事実とヤシ油の特異現象として電子顕微鏡による観察結果⁹⁾ など考慮するとこの DTA 曲線の変化の著しい結果と対応して推察できるかもしれない。

(昭和 44 年 4 月 2 日受理)

文 献

- 1) 新谷, 丸山, 今村, 松本, 油化学, **18**, 459 (1969)
- 2) 今村, 新谷, 飯島, 岡田, 松本, 油化学, **17**, 610(1968)
- 3) 今村, 新谷, 飯島, 岡田, 松本, 昭和 43 年油化学研究発表会講演(東京)油化学, **18**, 741 (1969)
- 4) N.D. Fulton, E.S. Lutton, R.L. Wille, *J. Am. Oil Chemists Soc.*, **31**, 98 (1954); 前橋, 油化学, **10**, 543 (6961)
- 5) A.E. Bailey "Industrial Oil and Fat Products" Chap. 8 (1951) Interscience Publishers, New York
- 6) A.P. Dale, M.L. Meara, *J. Sci. Food Agric.*, **6**, 162 (1955)
- 7) G. Collin, T.P. Hilditch, *J. Soc. Chem. Ind.*, **47** 261 T (1928)
- 8) W.W. Wendlandt "Thermal Method of Analysis" 邦訳, p. 116, 産業図書 (1967)
- 9) 今村, 新谷, 高木, 岡田, 松本, 油化学, **16**, 506(1967); **17**, 681 (1968)

ヌカ油中のフェルラ酸エステルの研究 (第 5 報)

フェルラ酸エステルの加水分解速度および 中性部のジギトニン付加反応

遠藤 富夫・三 栖 牧・藤野 浩 美・稲葉 弥之助

中滝製薬工業株式会社 (東京都中央区日本橋本町 3-5)

Studies on the Ferulates in Rice Bran Oil. V.

The Hydrolysis of the Ferulates and Digitonides of Alcohols from the Ferulates

Tomio ENDŌ, Osamu MISU, Hiromi FUJINO and Yanosuke INABA

Nakataki Pharm. Industry Co., Inc (3-5, Nihonbashi-hon-chō, Chūō-ku, Tokyo)

The ferulates from rice bran oil consist of esters of a few kind of alcohols and ferulic acid and these ferulates were saponified in alkali solution, but there recognized a relation between saponification rates and the structures of the alcohols. The saponification rates increase in the following serial order : campesteryl ferulate > β -sitosteryl ferulate > cycloartenyl ferulate > 24-methylenecycloartanyl ferulate > cyclobranyl ferulate.

Furthermore, it was confirmed that digitonides of cycloartenol, 24-methylenecycloartenol and

cyclobranol were formed. The formation rates of digitonides of these triterpenoides were lower than those of sterols.

1 緒 言

著者ら¹⁾はヌカ油中には少なくとも 7 種のフェルラ酸エステルが存在することを知った。フェルラ酸エステルはアルカリ加水分解により酸性部と中性部に分解される²⁾。著者らはフェルラ酸エステルの加水分解に難易の順序があることを知った。本報ではこの事実を確認するためにアルカリ濃度、加水分解時間、加水分解温度を変化させて、それらの現象を観察し、検討した。その結果、ヌカ油から抽出された 7 種の混合フェルラ酸エステルを完全に加水分解するにはアルカリの濃度は 2 N 以上、温度は 80°C 以上、時間は 2 hr 以上を必要とすること、これらの条件が満たされない場合は部分的加水分解が起こり、未分解フェルラ酸エステルが残ることを知った。さらにこれらフェルラ酸エステルのケン化分解の難易(易→難の順)はカンペステリンフェルレート、 β -シトステリンフェルレート、シクロアルテノールフェルレート、24-メチレンシクロアルタノールフェルレート、シクロブランチノールフェルレート³⁾の順であり、GLC 分析の保持時間の順序と一致している。

つぎに遊離ステリンがジギトニンと付加体を生成することは良く知られているがトリテルペンとの反応の例はあまりない。そこでこれらフェルラ酸エステルを加水分解して得られた中性部のジギトニン付加反応に難易が存在するかどうかを検討した。その結果、トリテルペンはステリンより困難であるが、付加反応を起こす。さらにトリテルペンでも、その構造によりジギトニド生成に差がある。

2 実 験

2.1 混合フェルラ酸エステルの加水分解

アルカリ-メタノールでピッチ¹⁾から抽出された混合フェルラ酸エステル(m.p. 120~142°C, n -ヘプタン溶液中で 315 m μ の $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 352) 10 g をアルカリ溶液(水酸化カリウム 6 g とメタノール-ベンゼン (2:1) 溶液 500 ml) に溶解して、100 ml ずつに三角フラスコに分け、そ

Fig.-1 Neutralization curve of a ferulate mixture (relation between time and temp.)

れぞれを一定温度 50°, 54°, 57°C にかくはんしながら加熱し(全加熱時間は 4 hr), そのうちおのおのから 10 ml をある時間ごとに三角フラスコに取り、フェノールフタレイン指示薬を添加し、N/10 塩酸-メタノール溶液を以て残存アルカリを滴定し指示薬の色の消えた点を中和点とした。それらの結果を Fig.-1 に図示した。中和した試料を TLC¹⁾ で測定すると明らかにエステルの加水分解が進行している。Fig.-1 の滴定曲線のコウ配は加水分解速度を表わしアルカリの温度が一定であれば高温、長時間ほど加水分解は速く進行する。

注) 水酸化カリウムは試薬特級純度 85.42% で、規定液は純度補正をし $f=0.992\sim 1.013$ の液を使用した。

2.2 単体フェルラ酸エステルの加水分解

ステリンフェルレート⁴⁾(カンペステリン 46.1% と β -シトステリン 53.9% の混合フェルレート)、シクロアルテノールフェルレート⁴⁾、24-メチレンシクロアルタノールフェルレート⁴⁾のおのおの 0.6 g を N/10-エタノールカリ 100 ml に溶解させ 80°C の水浴上で加熱し、一定期間ごとに 10 ml ずつをピペットで取り出して、水に注入し、反応を停止させる。その溶液を塩酸酸性(pH 3)にして未分解フェルレートカリウム塩の脱カリウムを行なう。これをエーテルで抽出し、抽出液を分液漏斗中で水で中性まで洗浄する。さらにエーテル層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、エーテルを蒸留する。つぎに蒸留残を熱塩酸水とともに加熱煮沸(1 hr)し、熱口過

Fig.-2 Dependence saponification velocity of isolated ferulates upon duration [of heating.

して遊離フェルラ酸を除去する。不溶部を熱塩酸水で数回洗浄し、不溶残部をエーテルに溶解し、水洗、脱水、蒸留して残部を取る。残部には未分解フェルレートと加水分解中性部が存在する。そのおのおのの残部を n -ヘプタン溶液中で 315 m μ の比吸光係数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ を測定した (Fig.-2)。

Fig.-2 によればステリンフェルレートは N/10-エ

タノールカリ, 80°C, 3 hr で加水分解されるが, トリテルペンフェルレートはほとんど加水分解されない。トリテルペンでは, シクロアルテノールフェルレートの方が 24-メチレンシクロアルタノールフェルレートより加水分解されやすい。すなわちステリンフェルレートはトリテルペンフェルレートより加水分解されやすく, トリテルペンフェルレートの間にも加水分解が難易がある。

2.3 混合フェルラ酸エステルの部分加水分解

ステリンフェルレート (カンベステリン 46.1%, β -シトステリン 53.9%), シクロアルテノールフェルレート, 24-メチレンシクロアルタノールフェルレート (1:1:1) を混合した混合フェルレートを試料として, 試料 500 mg ずつを各規定のメタノールカリ-ベンゼン (2:1) の溶液 5 ml に溶解させ, 57°C (沸点) に加温し, 1 hr 後に分液漏斗に移し, 水とエーテルで処理して加水分解フェルラ酸のカリウム塩を除去し, 同エーテル層に 5% 水酸化カリウム水溶液を数回加えて, 未分解フェルレートをカリウム塩として水層に移し, 未分解フェルレートとケン化分解中性部に分離した。さらに水層を塩酸性にして未分解フェルレートをエーテルで抽出し, 水洗後, 脱水し, エーテルを蒸留し, 蒸留残を真空乾燥器 (70°C) で恒量になるまで乾燥し, おおのこの残部をヒョウ量し, 未分解フェルレートの含有量%を決定した (Fig.-3)。

Fig.-3 Relation between saponification velocity of ferulate mixture and KOH concentration.

つぎにそれぞれの未分解フェルレートを 2N-エタノールカリ 10 倍量 (wt/wt) で 3 hr, 80°C で加水分解を行なった後常法により中性部区分を抽出し, その中性部をガスクロマトグラフィー¹⁾ (注) で分析し, それらの結果および各フェルレートの未分解フェルレートの含有量%を示す Fig.-3 を利用して, 各フェルレートの加水分解量を計算した (Fig.-4)。

注) GLC による中性区分の分析 先にコレステリンの種々の濃度のアセトン溶液を作り, 一定量を GLC に注入して, チャート上のコレステリンの面積が濃度と直線関係にあることを確かめた。

つぎに先に単離した, カンベステリン, スチグマステリン, β -シトステリン, シクロアルテノール, 24-メチレンシクロアルタノール, シクロアラノールを一定量ずつ混合し, アセトン溶液に溶解する。つぎにコレステリンの一定アセトン溶液を作り, この溶液を一定量ずつ, 先の混合物アセトン溶液に加えて, GLC で分析し, コレステリンと各成分の面積比の検量線を求め

ておく, つぎに試料にコレステリンを一定量加えてアセトンに溶解して GLC で分析する。GLC のチャートでコレステリンと各成分の面積の比を求め, それらを先に求めた検量線に対比させて, それぞれの成分組成を求めた。

Fig.-4 Relations between saponification rates of ferulates and KOH concentration.

Fig.-3 より 57°C 以下ではアルカリが充分であっても, 加水分解は進行しないことがわかる。さらに Fig.-4 からステリンフェルレートはトリテルペンフェルレートより低温で加水分解が進行し, トリテルペンフェルレートを加水分解するにはより高温を必要とすることがわかる。

2.4 混合フェルラ酸エステルの加水分解

以上の結果と数回の実験により, 2N-エタノールカリ 10 倍量 (wt/wt), 80°C の加温が完全分解には必要であると考えて, つぎの実験を試みた。ステリンフェルレート, シクロアルテノールフェルレート, 24-メチレンシクロアルテノールフェルレート, シクロアラノールフェルレート (1:1:1:1) の混合フェルレート 1.0 g を 2N-エタノールカリ 10 ml に溶解し, 80°C に加温保持し, 一定時間ごとに一定量ずつ抜き, その液をただちに水に投入して反応を停止させて, エーテルと水で生成したフェルラ酸をカリウム塩として除去し, エーテル層を脱水, 蒸留後, 乾燥して n -ヘプタン溶液で 315 m μ の吸収を測定し, 未分解フェルレートの含有量%を求めた (Fig.-5)。分解前の試料の吸光係数を 100% とした。

さらにその試料をエーテルに溶解させ, 5% 水酸化カリウム溶液で未分解フェルレートをカリウム塩として完全に除去し, エーテル層を脱水, 蒸留後, 乾燥, ヒョウ量し, 薄層クロマトグラフィー¹⁾ で中性部であることを確かめた後ガスクロマトグラフィーで分析して各フェルレートの加水分解速度を求めた (Fig.-6)。

Fig.-5 より混合フェルレートを完全に加水分解するには 2N-エタノールカリ 10 倍量 (wt/wt), 80°C, 2 hr が必要であり, Fig.-6 ではステリンフェルレートとト

Fig.-5 Relation between saponification rates of a mixture of ferulates and times.

Fig.-6 Relations between saponification rates of ferulates and times.

リテルペンフェルレートではおのおのフェルレートのこう配により加水分解速度にかなりの差があることがわかる。

2.5 ジギトニン付加反応文献

2.4 の混合フェルレートにジギトニンを付加させたがジギトニドは生成しなかった。つぎに混合フェルレートを 2N-エタノールカリ 10 倍量, 80°C, 2 hr で完全に加水分解し, 常法により中性部を得た。この中性部を GLC, TLC で中性部のみであることを確認して, ジギトニン付加反応を試みた。まず試料 100 mg を適量量^{注)}の 1% ジギトニン 90% エタノール溶液に加えて, 加温したのち, 24 hr 放置, 放冷してジギトニドを生成させた。つぎに口過により沈殿と溶液に分離し, さらに沈殿をエーテルで洗浄後乾燥した。その乾燥物にピリジン 10~20 倍量を加え 70°~100°C で 1 hr 加温してジギトニドを分解させた。つぎに分解溶液からピリジンを蒸留によって除去し, 蒸留残留物をエーテルで数回処理してエーテル可溶部と不溶部に分離した。エーテル可溶部よりエーテルを蒸留除去し, 乾燥してヒョウ量し, ガスクロマトグラフィーで各成分を分析し, ジギトニド中の各アルコール量を知った (Table-1)。

注) Aは試料をステグマステリンと仮定しジギトニドを生成するジギトニン必要量の 111.8% のジギトニンを使用。Bは試料の含有ステリン量をステグマステリンと仮定し, これとジギトニドを生成するジギトニン必要量の 18% のジギトニンを使用。CはBと同様にしてジギトニン必要量の 56.5% のジギトニンを使用。全試料に対してBは必要量の 28.0%, Cは 15.9% のジギトニンを加えた。

Table-1 によるとAの場合は試料の 71.7%, Bは 12.7%, Cは 4.7% ジギトニドを生成した。それらを試料の各成分の量を 100% として, おのおのの成分のジギトニドを生成した量を表わした。

3 考 察

フェルラ酸エステルの加水分解の難易は, 分子構造の差異によると考えられる。ステリンの 5~6 位の二重結合は電子吸引性を有するため, エステル結合を不安定にし, アルカリによる攻撃を容易にするであろう。これに対してトリテルペンの 4 位のメチル基は電子供与体であり, さらにこのメチル基はアルカリがエステル結合を攻撃する際の立体障害因子でもある。したがってアルカリに対してトリテルペンフェルレートの方がステリンフェルレートより安定であると考えてよいであろう。

また, シクロアルテニルフェルレートと 24-メチレンシロアルテニルフェルレート

Table-1 Yield and composition of alcohols from digitonides of alcohols of ferulates from rice bran oil.

	A	B	C
Added digitonin (wt %)	111.8	28.0	15.9
Alcohols from digitonides (wt %)	71.7	12.7	4.7
Each alcohol from digitonides (wt %) ¹⁾			
Campesterol	79.4	38.2	15.6
β-Sitosterol	82.2	49.0	23.6
Cycloartenol	64.9	5.1	1.1
24-Methylenecyclobranol	73.2	5.4	1.5
Cyclobranol	53.4	4.5	0.6

1) Ratio of the weight of the each alcohol from digitonides to the weight of the each alcohol in the original samples, A, B, and C.

の加水分解速度は後者が前者より小さいことが認められる。その理由として, 二重結合を考慮にいたった分子全体の分極度の大きさと分子の大きさが考えられる。これは要するにアルカリがフェルレート分子に作用するときの立体障害の大なるほどアルカリに対して安定であると考えることができる。

さらに充分なジギトニンが存在すればトリテルペンもジギトニドを生成する。少ない場合にはその成分に付加選択性があり付加の速度の差があるように認められる。すなわちジギトニン付加反応はステリンに対する方がトリテルペンに対するよりも容易である。

終わりに本研究に御指導, 御べん達をいただいた当社常務三原重俊研究部長に深謝致します。

(昭和 44 年 3 月 29 日受理)

文 献

- 1) 遠藤, 上野, 稲葉, 油化学, 17, 344 (1968)
- 2) 土屋, 加藤, 東工試報, 51, 359 (1956)
- 3) 遠藤, 三栖, 稲葉, 油化学, 18, 345 (1969)
- 4) 遠藤, 三栖, 稲葉, 油化学, 18, 63 (1969)