脂質のガスクロマトグラフィー (II)

植 田 伸 夫

Nobuo UETA

東京大学医学部生化学教室

(I) はじめに

脂質領域でのガスクロマトグラフィー

脂肪酸のガスクロマトグラフィー

1) 分析の方針 2) 試料の調製

3) カラムの調製 4) 運 転

5) 結果の検討

(II) グリセロールおよび長鎖アルコールのガスクロマトグラフィー

スフィンゴシン塩基のガスクロマトグラフィー

グリセリドのガスクロマトグラフィー

リン脂質のガスクロマトグラフィー

糖脂質のガスクロマトグラフィー

前回は、脂質の構成成分のうち、脂肪酸とそれと同じ立場にある脂肪族アルデヒドのガスクロマトグラフ法を、未経験の方を念頭において述べました。

今回は、ひきつづき脂肪酸に相対するグリセロール、あるいは長鎖アルコールなどのガスクロマトグラフィーと、グリセリド、リン脂質などをそのまま分析することを試みている現在の進捗について触れたいと思います。

グリセロールおよび長鎖アルコールのガスクロマトグラフィー

グリセロールはグリセロ脂質一般に含まれ、その構造は明瞭ですが、脂質分析上、リンや脂肪酸とのモル比を決定する必要がある場合がしばしばあります。また、高級アルコールは、高級脂肪酸と結合して wax として、植物、魚類、昆虫など、かなり広範に分布しています。その種類は脂肪酸と同程度にあると考えてよいでしょう。

また、diol lipid* といわれる一群は、自然界の分布は上記のものよりはるかに少ないのですが、ブタン-1,3-ジオールやヘキサン-1,6-ジオールなど、いろいろ

なものを含みます。

炭素数 2 から炭素数 6 くらいまでのモノオール、ジオール、それにトリオールとしてのグリセロールは、水酸基をとくに処理せずにガスクロマトグラフを行なうことも可能ですが、またアセチル誘導体、トリメチルシリル (TMS) 誘導体としても分析されます。水酸基の露出した状態では、どうしてもテイリングが著明で、クロマトグラムとしては OH を処理した誘導体より劣ります。

グリセロールの定量に関しては、ガスクロマトグラフィーを応用する方法は多数報告されています。TMS 誘導体とする方法** (実施例 8 参照)、アセチル誘導体とする方法***、あるいは、イソプロピリデングリセロール****、トリベンゾエート***** などにして分析する方法が報告されています。

長鎖アルコールのガスクロマトグラフによる分析方法は、きわめて数多く報告されていますが*****, 水酸基

図 2 C₁₈ アルカンの諸誘導体のガスクロマトグラフィー

ALC : アルコール

ME : メチルエステル

DMA : ジメチルアセタール

ALD : アルデヒド

[J. W. Farquhar : *J. Lipid Res.*, 3, 21 (1962)]

* L. D. Bergelson : "Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids", Vol. X, 241 (1969).

** A. Rajiah, M. R. Subbaram and K. T. Achaya : *J. Chromatog.*, 38, 35 (1968).

*** F. M. Archibald and V. P. Skipski : *J. Lipid Res.*, 5, 314 (1966).

**** M. E. Mason, M. E. Eager and G. R. Walker : *Anal. Chem.*, 36, 587 (1964).

***** G. A. R. Decroix, J. G. Gobert and R. De Deurwaerder : *Anal. Biochem.*, 25, 523 (1968).

***** J. C. Cavagnol and W. R. Betker : in "The Practice of Gas Chromatography"; L. S. Ettre and A. Zlatkis (ed.), Interscience Pub., New York, 1967, p. 71.

~~~~~[実施例 8] 脂質中のグリセロールの確認ならびに定量(注1)~~~~~

脂質または被験試料 数 mg を蓋付分解管にとり、3 ~5% HCl メタノール 3 ml を入れ、沸騰水浴中に 3 時間保つ。放冷後、等量の石油エーテルで 3 回抽出して、石油エーテル可溶分画を除去、残ったメタノール分画に IR-4 B(OH 型、脱水乾燥あるいはメタノール懸濁)を加えて酸を除き、メタノール分画を蒸発乾固する(注2)。

ビリジン(注3) 1 ml を加え、乾固残渣を充分に溶かし、0.1 ml の trimethylchlorosilane, 0.2 ml の hexamethyldisilazane を加え(注4)、60°C 数分加温し、クロロホルム 5 ml, 水 5 ml を加えてはげしく振り、できるだけビリジンを水層に移す。水層を除き、再び水を加え、この操作を 4~5 回繰り返す(注5)。最後に容器のへりについた水分、クロロホルム層に浮く水滴を、濾紙片で吸いとり、クロロホルム分画を濃縮する(注6)。

クロマトグラフの条件は、SE-30, 3%, 1.5 m, 100 °C, あるいはそれに準ずる条件なら、ほとんどの液相ででる。内部標準は、1,4-ブタンジオールを用いた(注7)。

(注 1) この方法は、ペントース、ヘキソース、ヘプトースをはじめとして、石油エーテルとメタノールで分配したときに、メタノール層にくるハイドロキシ化合物に適用される。筆者らはこの方法を糖類の日常的な分析法として利用している。脂質のガスクロマトグラフィー (1) の実施例 1 (Vol. 7, No.12, p.745)を参照いただきたい。

(注 2) グリセロールのみを目的とするならば、とくに酸を除く必要はない。

(注 3) ビリジンは十分に乾燥していることが重要。蒸溜精製後、脱水剤、たとえばモレキュラーシーブ 4A などを沈めておくことよい。

(注 4) あらかじめビリジンに加えておいてもよい。Pierce Chemical 社より種々のシリル化剤が市販されている。たとえば TRI-SILZ。

(注 5) ビリジンを十分に除去しないと、溶媒部分のテイルリングがはげしくなり、トリトリメチルシリルグリセロールはテイルリング部分にのってしまふ。メタノール層からビリジンをとり去るには、少なくとも 4~5 回水で洗う必要がある。

(注 6) 水が残ったまま濃縮すると、トリメチルシリルエーテルは簡単に加水分解してしまうから注意が必要。

(注 7) 内部標準は、溶媒を濃縮したりする操作で揮発してはならない。1,4-ブタンジオールが最適というわけではない。トリメチルシリルグリセロールに比して保持時間は長すぎる。

~~~~~[実施例 9] 長鎖アルコールのトリフルオロアセテート (TFA) 誘導体の調製(注1)~~~~~

長鎖アルコール 1 mg を蓋付試験管にとり、trifluoroacetic anhydride 無水トリフルオロ酢酸 1 ml を加え、15 分室温に放置した後、過剰の無水トリフルオロ酢酸および反応生成したトリフルオロ酢酸(注2)を窒素気流でとばし、改めて試料が期待する濃度になるように無水トリフルオロ酢酸で溶かしなおしてガスクロマトグラフの試料とする(注3)。

(注 1) この方法は、原則として他のハイドロキシ、ポリハイドロキシ、アミン、アミノ化合物に適用することができる。試料が無水トリフルオロ酢酸となじまない場合、あらかじめ種々の溶媒に溶かしておくことが試みられている。たとえば、テトラヒドロフラン。

(注 2) 大量のトリフルオロ酢酸があると、強い酸性のために、カラムの液相や検出器の金属部分に影響を及ぼす可能性が否定できない。

(注 3) 無水トリフルオロ酢酸で溶かしなおす代わりに、1 %程度の無水トリフルオロ酢酸を含むヘキサンを用いたり、なにも含まない有機溶媒を使用する人もある。(注 2) のような懸念に対する配慮と思われる。

が遊離のままで存在することの保持時間に対する影響は、液相の種類によって大きく異なり、ポリエステルのような極性液相では非常に長い保持時間が必要であり、SE-30 のような無極性液相ではかなりはやく出ることが観察されています。図 2 は、長鎖の末端基構造の保持時間との関係が表わされています。とくに、遊離の水酸基の挙動が注目されてよいでしょう。

図 3 にアルコールの分析例を示します。

コレステロールも長鎖アルコールと同じ性格を持ち、

図 3 長鎖アルコールの TFA 誘導体のガスクロマトグラフィー

- ① Myristyl, ② Palmityl, ③ Palmitoleyl,
④ Stearyl, ⑤ Oleyl, ⑥ Linoleyl,
⑦ Arachidyl, ⑧ Linolenyl

カラム: EGSS-X, 130°C

[R. Wood : J. Gaschromotog., 6, 94 (1968)]

長鎖アルコールと同様に無処理のままで、無極性のカラムで分析することもできますし、また、3 位の水酸基を

-----【実施例 10】 スフィンゴシン塩基の TMS 誘導体およびトリフルオロ酢酸誘導体の調製-----

スフィンゴシンを含む脂質 数 mg を蓋付分解管にとり、水性塩酸メタノール (conc. HCl 8.6 ml, 水 9.4 ml にメタノールを加えて 100 ml にする) 3 ml を加え、70°C, 18 時間加温する。放冷後 3 ml の石油エーテルで脂肪酸を抽出し、別の容器に移す。この操作を 3 回繰り返す。残ったメタノール層に 5 ml の水を加え、ジエチルエーテル 3 ml を加えて長鎖塩基を抽出する。この操作を 3 回繰り返す、集めたエーテルは同量の水で 1 回洗い、乾燥後濃縮する。これにつ

いてのトリメチルシリル化(注1)またはトリフルオロアセチル化を行なう。その方法は実施例 8, 9 を参照のこと。

(注 1) Carter, Gaver* はシリル化剤として、乾燥ピリジン 2 ml に hexamethyldisilazane 2.6 ml を加えよく攪拌, trimethylchlorosilane 1.6 ml を追加、さらによくまぜる。この際生じた白沈は遠心して除き、上清をシリル化に用いる。スフィンゴシン 150 μ g に対して 50 μ l を要する。

* H. E. Carter and R. C. Gaver: *J. Lipid Res.*, 8, 391 (1976).

-----【実施例 11】 スフィンゴシンより対応するアルデヒドの調製-----

1~5 mg のスフィンゴシンを potassium borate buffer pH 10, 4 ml と fluorodinitrobenzen 2 μ l を 1 ml のエタノールに溶かしたものと混液に加えて、60°C に 30 分保つ。冷却してからエーテルで抽出する*(注1)。

エーテル分画を濃縮乾固してから 1 ml のベンゼンを加え 100 mg の四酢酸鉛を加え、50°C に 1 時間保って酸化する。反応終了後、数 ml の水を加えてヘキ

サンでできたアルデヒドを抽出する**(注2)。

(注 1) DNP-スフィンゴシンのみを得るためには、薄層クロマトグラフで分取しなければならない。

(注 2) ガスクロマトグラフは、試料を作った日に行なったほうがよい。

* K.-A. Karlsson: *Nature*, 188, 312 (1960).

** K.-A. Karlsson and E. Mårtensson: *Biochem. Biophys. Acta*, 152, 230 (1968).

TMS その他で処理することによっても分析可能です。詳細はステロイドのガスクロマトグラフを参照してください。

スフィンゴシン塩基のガスクロマトグラフィー

スフィンゴミエリンや、いわゆるスフィンゴグリコリピドといわれる一群の脂質には、スフィンゴシン塩基とそれに酸アミド結合した長鎖脂肪酸が基本構造になって、さらに各種の糖や、リン酸コリンなどが結合して、生物体に広く分布しています。

そのスフィンゴシン塩基の部分の構造は単一なものではなく、ことにガスクロマトグラフ分析の導入によって、いろいろな類似体の存在が報告され、またそのうちのあ

るものは、精製分取途中の人工産物であったりしました。1つの方法は、酸分解によってスフィンゴシン塩基を得て、過ヨウ素酸その他で酸化して長鎖アルデヒドにしてガスクロマトグラフを行なう方法です*。この方法は、脂肪酸の混入があると結果を大きく誤らすことになるので、カラムを用いて、スフィンゴシン塩基を脂肪酸から

精製分取しなければなりません。

もう1つの方法は、スフィンゴシン塩基をそのままトリメチルシリル誘導体**、トリフルオロ酢酸誘導体***にして(実施例 10)、ガスクロマトグラフで分析する方法です。この方法ですと、脂肪酸が多少混入していても、保持時間から弁別することはむずかしくありません。ただ、トリメチルシリルとアミノ基との結合は弱く、GC-MASS の結果もアミノ基は遊離の状態であることを示していますが、もっとも、この部分のトリメチルシリルがどの段階ではずれたのか、また最初から入らなかったのかは明らかではありません。その点、トリフルオロ酢酸はアミノともかなり強い結合を作るので安定した結果が得られると思います。なお、あらかじめ選択的に N-アセチルに誘導してシリル化する方法もあります。選択的アセチル化は 100~200 μ g の遊離塩基を新しく調製したメタノール:氷酢酸 (4:1) 混液 50 μ l に溶かし、室温で 1 晩放置、水 50 μ l を加えて約 1 時間おいた後、凍結乾燥することによって得られます****。

アルデヒドについてはポリエステル類, TMS, TFA 誘導体については SE-30, OV-17, その他で分析可能です。

グリセリドのガスクロマトグラフィー

炭素数の合計が 60 を越えるものまでが、ガスクロマトグラフによって分析されている例が報告されています。トリグリセリドに関しては、試料側の処理の問題はほ

* C. C. Sweeley and E. A. Moscatelli: *J. Lipid Res.*, 1, 40 (1959).

** R. C. Gaver and C. C. Sweeley: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 42, 294 (1965).

*** 安藤進, 山川民夫: 脂質生化学研究, 1969, p. 83.

**** A. J. Polito, T. Akita and C. C. Sweeley: *Biochemistry*, 7, 2609 (1968).

H. E. Carter and R. C. Gaver: *J. Lipid Res.*, 8, 391 (1967).

図 4 スフィンゴシン誘導体 (N-acetyl-O-trimethylsilyl) のガスクロマトグラム

試料: ヒト plasma スフィンゴミエリン

カラム: 6 ft × 1/8 inch U型ガラスカラム

3% XE-60 on Gas Chrom S (acid-wash, silanized)

Injection: 220~250°C

[by A. J. Polito, T. Akita and C. Sweeley]

とんどないので、ガスクロマトグラフがうまくゆくか否かは、まったく装置とカラムと運転技術の問題になってきます。原理的には、装置を非常に高い温度で限界いっぱい感度を上げ、カラムは低液相で非常によくなされたものを用い、稀薄試料を微量注入するということにつきますが、一応それらについて整理してみます*。

カラムは文献的には6インチの短いものから8フィートの長いものまであり、材質はステンレス、ガラスともに報文がありますが、トリグリセリドのカラム内損失については、ガラスのほうがよい性質を示します。しかし、試料室とガラスカラム、カラムと検出器をつなぐ部分に耐熱ゴムを用いる方式では、この部分が高温に耐えられず、反復使用ができにくいという欠点があります。いずれの材質のカラムを使用するとしても、内面をシラン処理をすることがすすめられてお

* A. Kuksis: in "Lipid Chromatographic Analysis," Vol. 1, G. V. Marinetti (ed.), Dekker, New York, 1967, p. 239.
E. C. Horning, W. J. A. Vanden Heuvel and B. G. Creech: in "Methods of Biochemical Analysis," Vol. 11, D. Glick (ed.), Wiley, New York, 1963, p. 69.

り、それも hexamethyldisilazane による処理よりは dimethyldichlorosilane による処理がよいという人もいます。

液相は SE-30, QF-1, JXR (polysiloxane polymer) などが用いられ、JXR が寿命が長く使用できます。濃度は 1~3% で分析されています。

支持体は Gas Chrom Q, P や A などが用いられませんが、強くシラン処理されたものがよい性能を示します。

カラムの conditioning は必要なものとされ、3% JXR で 350°C, 4~6 時間、SE-30 ではもっと長い時間が必要だといわれます。この熱処理の過程において、低分子物質を追いつくのはもちろんですが、高分子どうしが互いに cross linking したりして分析に最適な状態が得られると考えられます。

カラムの運転温度は、350°C まで昇温できることが望まれます。昇温速度は通常 1~4°C/min ですが、20°C/min などの例もあります。検出器温度は 300~340°C。試料気化室温度は 320~350°C 程度で、極度に高すぎることはよくありません。

試料量は 1 ピーク当り 0.5~2 µg で、10 mg 程度の混合試料を 1 ml のクロロホルムに溶かし、0.5~1 µl 注入するということになります。

分離は、もちろん液相の性質にもよるのですが、大体炭素数による分離で、二重結合の数を判別することは現在期待できません。同様に、グリセロールの 1, 2 位の構造異性などを弁別することもできません。

定量性は、trioctanoin から trilinolein くらいまでは、

図 5 トリグリセリドのガスクロマトグラム

試料: A ラード (tridecanoin 添加), B 牛乳脂肪 (trioctanoin 添加)

カラム: 20 inch × 1/8 inch stainless steel, 30% JXR on Gas Chrom Q

Injection: 280°C, Detector 340°C

[by A. Kuksis]

図 6 ジグリセリドのアセチル誘導体のガスクロマトグラム

試 料: A ヒト肝レシチンのジグリセリド, B ヒト plasma レシチンのジグリセリド,
C ヒト赤血球レシチンのジグリセリド

カラム: 18 inch×1/8 inch stainless steel, 3% JXR on 100~120 mesh Gas Chrom Q

Injection: 300°C, Detector: 350°C

[by A. Kuksis, W. C. Breckenridge, L. Marai and O. Stachnyk]

.....[実施例 12] ジグリセリドのアセチル誘導体の製取

1~3 mg のジグリセリドをとり、無水酢酸とピリジン混液 (10:1, v/v) 0.1 ml を加え室温に放置する。クロロホルムに溶かし、水で繰り返し洗えば過剰の反応試薬を除き去ることができる。

面積比が重量比に等しいと考えてよいようですが、tri-behenin (C=66), trierucin (C=66) になると、面積は実際の重量より小さくなると報告されています*。

トリグリセリドの分析で最も悩まされるのは、装置の高温における安定性もさることながら、ゴーストピークの出現です。すなわち、分析を繰り返していますと、試料を入れないで昇温操作をしただけで、トリグリセリドの出現すべき位置に、まさにそれらしいピークが実にきれいに出てくる場合があります。おそらく、試料室周辺に、1 回で気化されなかった試料が付着して、次の昇温操作で自動的に出てくるもののようですが、よく注意しないと実験結果の判断を誤ることになります。いったんこのゴーストピークが出はじめると、除去するのがなかなかむずかしく、カラムの詰め替え洗浄や、試料室周辺の大掃除が必要になります。

ジグリセリドは天然にも存在しますし、またのちに述べるグリセロリン脂質の分析の際にも、結局ジグリセリドとして分析されますので、その分析技法の重要性は、

図 7 モノグリセリドのジブチル誘導体のガスクロマトグラム

試 料: モノミリスチン, モノパルミチン, モノステアリン

カラム: 5 ft×1/8 inch stainless steel

5% SE-30 on silanized Chromosorb W

Injection: 280°C, Detector: 340°C

[by A. Kuksis]

最近急速に高まったといえましょう。

試料処理は、高級アルコールと同じで、薄い SE-30 カラムですと未処理のままでカラムから流出させることも不可能ではありませんが、アセチル化したり (実施例 12)、トリメチルシリル化したりして分析するほうが一般的です。

カラムその他運転条件は、トリグリセリドの場合と同じと考えてよいでしょう。構成脂肪酸の炭素数の少ない

* C. Litchfield, R. D. Harlow and R. Reiser: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 42, 849 (1965).

A. Kuksis and W. C. Breckenridge: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 42, 978 (1965).

.....[実施例 13] モノグリセリルエーテルのイソプロピリデン誘導体の調製.....

1~5mg の試料を 5ml の充分に脱水したアセトンに溶かし、5~10 μ l の過塩素酸 (72%) を加え、厳重に蓋をして室温で 30 分振盪する。この反応混合物を、Silica Gel の薄層で、ヘキサン：エーテル (90 :

10) を用いて展開、 R_f 0.6 付近のオパール光の見られる部分をはぎとり、エーテルで抽出、ガスクロマトグラフの試料とする。

.....[実施例 14] グリセロリン脂質よりジグリセリドの TMS 誘導体の製取.....

1~3mg のグリセロリン脂質をとり、0.1 ml のフェニルエーテルを加え、250°C で 5 分間加熱する。室温に冷えたら bis-trimethylsilyl-acetamide (BSA) あるいは bis-trimethylsilyltrifluoroacetamide (BS-TFA) 0.1 ml を加え、2 時間室温に放置したのち、

60°C で 30~60 分間保つ(注1)。反応液はそのままガスクロマトグラフで分析する。

(注 1) この反応で得られるジグリセリドは、1,2-および 1,3-ジグリセリドの双方である。

ほうでは、1,2-ジグリセリドと 1,3-ジグリセリドの分別が可能ですが、ジステアリン程度ですと肩を作るくらいで、完全分離には至っていません。それに、エステル結合の migration という複雑な問題がつかまっています。

モノグリセリドは、前二者に比べるとはるかに分析は容易になり、その処理は高級アルコールに準じて考えればよいでしょう。ただ、注意しなければならないのは、ガスクロマトグラフによって 1-mono と 2-mono とを分離することはむずかしくありませんが、ジグリセリドの場合と同様に試料を作製する段階で、そしてガスクロマトグラフの装置の中で、エステルの migration が起こって、1-mono の単一のピークしか得られない場合があります。結果の判断に注意を要します。

ところで、エステル結合の代わりにエーテル結合を持つプラスマローゲン型のものをここで考慮に入れねばならないでしょう。

トリグリセリドとそれに対応する O-alkyl diglyceride とをガスクロマトグラフで弁別することは至難です。また、ジグリセリドと、それに対応する O-alkyl monoglyceride とを弁別することも、今日では報告はありません。そして、1-monoglyceride と 1-O-alkyl glycerol とを区別することも容易ではありません。今のところ、Silica Gel の薄層を用いて O-alkyl を持つものと持たぬものとを別けて、それぞれを分析する方法がとられています。

リン脂質のガスクロマトグラフィー

グリセロリン脂質を無傷のまままでガスクロマ

トグラフで分析することは、今日成功していません。たとえば、レシチンをトリメチルシリル化してガスクロマトグラフによって分析するという試みで、得られた結果は、ジグリセリドのトリメチルシリル誘導体のクロマトグラムでした。シリル化剤とともにグリセロリン脂質を高温にするとリン酸エステルの結合が切れてしまうことが、ほぼ確認されています*。

しかし、レシチンがその構成脂肪酸の種類によって、数多くの分子種から成るものであることは周知のことであり、それを調べるためにはジグリセリドを調べればよいことも当然といえます。現在、フェニルエーテルと加熱することによってリン酸エステルを切ったり、ホスホリパーゼ C* を使ってジグリセリドを得て、そのシリル誘導体や、アセチル誘導体を分析する方法が行なわれています。その結果は、現状ではそれほど実りの多いとい

図 8 リン脂質の TMS 誘導体のガスクロマトグラム

試料：卵黄レシチンおよび市販ホスファチジルセリン

処理：Phenyl ether 中で 5 分間 250°C に加熱後 BSTFA 処理を行なった。

カラム：12 ft $\times$ 4 mm W 型ガラスカラム

Injection：260°C, Detector：300°C

Programming：270°C より 2°C/min

[by M. G. Horning, G. Casparini and E. C. Horning]

* M. G. Horning, G. Casparini and E. C. Horning: in "Advances in Chromatography", A. Zlatkis (ed.), Preston Technical Abstracts Company, 1969, p. 137.

-----[実施例 15] スフィンゴミエリンの TMS 誘導体の調製-----

スフィンゴミエリン 1~2 mg をとり、0.1 ml の
BSA または BSTFA を加え、60°C で 2 時間加温す

-----[実施例 16] セラミドの TMS 誘導体およびヘプタフルオロブチル誘導体の調製-----

1~2 mg のセラミドをとり、0.1 ml の trimethylsilylimidazole (TSIM) を加え、60°C で 3 時間加温する。さらに 0.1 ml の BSA と 0.05 ml の TMCS を加え、60°C で 1 時間加温する。この 2~4 μ l を分析に供する。

1~2 mg のセラミドを 0.2 ml の N-heptafluorobutyrylimidazole に溶かし、60°C で 2 時間加温する。生成物はヘキサンで抽出する(注 1)。

(注 1) この誘導体の分析は 5% の SE-30 カラムで行なう。

図 9 スフィンゴミエリンの TMS 誘導体のクロマトグラム

試 料：牛脳およびヒト plasma スフィンゴミエリン

カラム：12 ft×4 mm W 型ガラスカラム，1% SE-30 on 100~120 mesh Gas Chrom P (acid-wash, silanized)

Injection：260°C， Detector：300°C

Programming：220°C より 2°C/min，150°C より 2°C/min

[by M. G. Horning, G. Casparini and E. C. Horning]

うものではありません。なぜならば、ジグリセリドの分
析の項で触れたように、現在は炭素数による差を出す程

度で、二重結合の数による差の分別に成功していないこ
と、そしてエステル migration の問題が複雑にから
み合ってくるなどがその理由です。

図 10 セラミドの TMS 誘導体と HFB 誘導体のクロマトグラム

試 料：市販セラミド，A α -hydroxystearoyl，B α -hydroxylignoceroyl

カラム：12 ft×4 mm W 型ガラスカラム

1% SE-30 on 100~120 mesh Gas Chrom P

Injection：260°C， Detector：300°C

Programming：270°C より 2°C/min

[by M. G. Horning, G. Casparini and E. C. Horning]

スフィンゴミエリンのガスクロマトグラ
フも同様に試みられています。処理方
法も同様で、フェニルエーテル中で強熱
するとホスホリルコリンを除くことがで
きますが、この処理をせずにトリメチル
シリル化したものをガスクロマトグラフ
で分析した結果は、脱水したもののピー
クが出ていることが Mass Spectrum で
確認されています。

脂質のガスクロマトグラフィー**

セラミドのガスクロマトグラフ分
析を行なったと Horning の報告にあり

ますが、詳細はわかりません。セラミドに関しては、ト
リメチルシリル誘導体とヘプタフルオロブチル (HFB)
誘導体で分析した例が報告されています。(おわり)

* A. Kuksis, W. C. Breckenridge, L. Marai and O. Stachnyk: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 45, 537(1968).

** M. G. Horning, G. Casparini and E. C. Horning: in "Advances in Chromatography", A. Zlatkis (ed.), Preston Technical Abstracts Company, 1969, p. 137.