磷脂體に關する研究 (第 2 報) ケファリンの一新分離法

小幡彌太郎, 佐々三郎, 額田久之輔* (北海道大學農學部水産化學教室)

昭和 25 年 2 月 7 日受理

Studies on the Phosphatids. Part 2. A New Method for the Isolation of Cephalin.**

By Y. OBATA, S. SASA and K. NUKATA

(The Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

所謂“大豆レシチン”にケファリンの存在することは鈴木文助先生等⁽¹⁾の夙に報告された所であるが收量は著しく少い(0.56%)。

磷脂體は動物からのものも植物源からのものも本質的には異なる處はないが⁽²⁾不純状態では原料によつてその性質が違つて来る。殊に溶解性は著しい影響を受ける。一般に植物性原料より磷脂體を分離精製することは動物原料に比べ困難である。特にケファリンに就てこの感が深い。ケファリンの研究はレシチンに比べると不振で適切な分離法も未だ確立していない。

動物性原料に就て行われたケファリン分離法⁽⁴⁾を植物性原料に適用すると次のような不都合が認められ實施困難である。

(1) トルオールに溶解してエーテルで沈澱させる方法……植物性ケファリン含有粗試料はトルオールに不溶或は難溶である上にエーテルに溶け易い。

(2) 酒精溶液として CdCl_2 で落す方法……植物性ケファリン含有粗試料の酒精に對する溶解度は著しく低い。著者の経験では最良の場合でも 40~48% が溶出するにとどまる。ベンジン抽出“大豆レシチン”ではケファリンの 90% は 94% 酒精に溶解せずに残つていた。

従つて植物性ケファリン分離に適切な方法を發見することは磷脂體研究上大切な問題である。

従來大豆磷脂體(所謂“大豆レシチン”)よりケファリンを分離した例としては西本⁽¹⁾, LEVENE & ROLF⁽³⁾の報告があるが收量極めて不良である。著者は卵黄より抽出したレシチン及びケファリンの性質を比較検討中、偶々レシチン水溶液は鹽基性醋酸鉛と反應しないのに反し、ケファリン水溶液は直ちに沈澱することを發見した。しかもこの沈澱は酒精に不溶であるからレシチンが吸着されることがあつても容易に抽出出来る。この方法で所謂“大豆レシチン”からケファリンの分離を行つた處、好結果を得たので鹽化カドミウム法の適用困難な植物性原料に最も適したケファリン分離法と認め茲に報告する。

所謂“大豆レシチン”よりケファリン及びレシチンの收量は次の表に示した。

分離方法	レシチン	ケファリン			磷脂體
		鹽化カドミウム	鹽基性醋酸鉛	合計	
ベンジン抽出	3 %	0.95%	8.20%	9.15%	12.15%
ベンジン酒精混合抽出	16.5%	2.44%	5.0%	7.44%	24.44%

實驗の部

I. 卵黄ケファリンの分離.

磷脂體 CdCl_2 複化合物のエーテル抽出液を CO_2 を通じながら蒸發する。殘渣をアセトンと加温、攪拌してカロチン、カロチノイド、ステリン等を抽出、アセトン不溶殘渣をエーテルに溶解、濃縮液を冷アセトン中に注加。淡黄色輕鬆吸濕性の沈澱を得る。卵黄蠟質物 1kg より收量 105.4g.

エーテルに易溶、酒精、アセトン、醋酸エーテル、水に不溶である。

この鹽化カドミウム複化合物 200g をエーテル 1 l に溶解、4% NH_4OH を含む 94% 酒精 800cc と混合、

* 元大阪大學産業科學研究所研究補助

** Contribution No. 113. from the Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo.

沈澱を濾別。エーテルでよく洗い全液を合併し CO_2 を通じ乍ら濃縮。300 cc とし 1.5 l の冷アセトンに攪拌しながら注加。生成沈澱を 200 cc のエーテルに溶解, 1 l の冷アセトンに注ぐことを反復, 數回, 沈澱物質は殆んど無色と成る。收量 40g, 融點 174° (分解)。

吸濕性著しくエーテル, 氷醋酸に易溶, クロロホルム, 石油エーテル, ベンゾール, 二硫化炭素, 酒精に難溶, アセトン, 醋酸エーテルに不溶, 分析結果は次の如くである。

試料 0.1285g $\text{N}/10 \text{H}_2\text{SO}_4$ 1.9cc $\text{N}\%$ 2.071 (理論數 Dioleil-cephalin として 1.82%),

試料 0.0919g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ 0.0091g $\text{P}\%$ 2.763 (理論數 Dioleil-cephalin として 3.52%)

文獻に表われたケファリンの分析値を示すと次の如くである。

LEVENE & WEST	Reduced Cephalin	N 1.87%	P 4.15%
	Found	// 1.94%	// 3.87%
西 本		// 1.82%	// 3.52%

水溶液は乳濁を呈し, 酸, アルカリ土金屬鹽を加えると析出する。鹽基性醋酸鉛水溶液を加えると沈澱を生ずる。この沈澱は酒精に不溶, エーテル, トルオール, ベンゾール, クロロホルムに可溶。

II. ベンジン抽出“大豆レシチン”よりケファリンの分離

a) 新法(鹽基性醋酸鉛法)によるケファリンの分離: “大豆レシチン” 250 g を 94% 酒精 1.5 l で處理乾物量として 120.5 g (從來法によつては分離不能のケファリンを含み新法によつてはじめて分離可能と成る), の不溶性残渣を水 1.5~2 l と混合, 乳濁液に鹽基性醋酸鉛水溶液 (50g を水 100 cc に溶解) を加え, 沈澱を遠心分離, 上澄液は清澄となる。濕潤狀態の沈澱は水, エタノール, メタノール, アセトンに完全に不溶, エーテルに易溶, 水, メタノールで洗いアセトン倍容と混合, 加温攪拌し乍らカロチノイド, ステリン等を除去する, デシケーター中で乾燥。收量 82 g, 76 g, 86 g, 80 g, 89 g, 91 g, 平均 84 g,

エーテル・アルコール (1 : 2) 混液には 92% が不溶, エーテルには少量の不溶分を生じた。水, エタノール, メタノール, アセトンには不溶。

複化合物 50g をエーテル 500 cc に溶解, 10% HCl 50 cc と混合, エーテル層を水洗, 芒硝を加えて脱水後エーテルを驅出, ベンゾール 150 cc に溶解, アセトン 500 cc と混合, 夾雜せる脂肪酸は溶液に残りケファリンは沈澱する。エーテルに溶解, 冷アセトンに注加して沈澱させることを數回繰り返す。收量 9.7g. 原料 “大豆レシチン” に對し 8.2% であり, CdCl_2 法によつて分離されたものは 0.95% にすぎず, 大部分は斯法によつて分離されたものである。

試料 0.1205g, $\text{N}/10 \text{H}_2\text{SO}_4$ 1.8 cc $\text{N}\%$ 2.093 (理論數 Dioleil-cephalin として 1.82%)

試料 0.1225g, $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ 0.0120g, $\text{P}\%$ 2.732 (理論數 Dioleil-cephalin として 3.52%)

水 (乳濁), エーテル, クロロホルム, ベンゾール易溶, 94% 酒精, アセトンに殆んど不溶。著しく吸濕性水溶液に酸, 中性鹽類等電解質を加えると析出する。

b) 鹽化カドミウム法によるケファリンの分離: “大豆レシチン” 200 g を 94% 酒精 1.5 l と混合, 攪拌 5~6 時間後一夜放置する。抽出液に CdCl_2 酒精溶液 (CdCl_2 200 g を水 200 cc に溶解, 94% 酒精 500 cc と混合, 一夜放置し必要あらば濾過したもの) 250 cc を加え生成沈澱を濾別, Soxhlet 浸出器に收め卵黃磷脂鹽化カドミウム複化合物同様に取扱つてケファリン鹽化カドミウム複化合物收量 9.0 g. 溶解性等卵黃の場合と同一である。

複化合物 60 g をエーテル 300 cc に溶解, 4% NH_4OH を含む酒精 200 cc と混合, 卵黃ケファリン分離と同一操作を施しケファリン 12.5g を得る。融點 173° . “大豆レシチン” 100g よりの收量 0.945g.

試料 0.1225g, $\text{N}/10 \text{H}_2\text{SO}_4$ 1.9cc, $\text{N}\%$ 2.173

// 0.1253g, // // 1.9cc, // // 2.124

(理論數 Dioleil-kephalin として 1.82%)

試料 0.0448g, $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ 0.0056g $\text{P}\%$ 3.546 (理論數 Dioleil-kephalin として 3.52%)

ベンジン抽出“大豆レシチン”よりのケファリン收量は合計 9.15% である。従つてレシチンの收量は 3% であるからレシチン : ケファリンは 1 : 3 と成る。ベンジン抽出法は磷脂體の收量が少いのみならずレシチンに

比ベケファリンの含量の方が多い結果を示している。

III. ベンジン酒精混液抽出“大豆レシチン”よりのケファリンの分離

ベンジン單獨抽出法で得た“大豆レシチン”よりも酒精に溶け易く CdCl_2 複化合物法によるケファリンの收量 2.94%, 酒精不溶残渣より鹽基性醋酸鉛法により分離されたケファリンの收量は 5% で合計 7.94% の收量である。レシチンの收量は 16% であるからレシチン、ケファリンの收量比は 2:1 となり酒精抽出⁽⁴⁾と同じ割合である。

IV. 新法 (鹽基性醋酸鉛法) によるレシチン及びケファリンの分離

“大豆レシチン”も酒精不溶残渣と同じく水と膠狀液を作るので直接鹽基性醋酸鉛法を行えば新法と鹽化カドミウム法を併用せずともすむ。危惧される點はレシチンの收量如何であつたが在來法同様の收量であつたから今後は植物性原料に斯法を適用すると良いと考える。

ベンジン抽出“大豆レシチン” 100 g を 10 倍量の水に一夜浸漬、攪拌すると乳濁液を得る。鹽基性醋酸鉛の飽和水溶液 150 cc を加え沈澱を遠心分離、沈澱を 300 cc 宛のメタノールと煮沸すること 3 回、鹽化カドミウムのメタノール溶液を加えると第 1 回抽出液から沈澱 1.6 g, 第 2 回抽出液から 10.6 g, 第 3 回抽出液から 1.2 g 合計 13.4 g を得る。残渣は更にメタノールと煮沸、抽出液に鹽化カドミウムのメタノール溶液を加えたが沈澱を生じないから 3 回で抽出は完了するものと認めて良い。

鹽化カドミウム複化合物をエーテルで處理して不溶性のレシチンの複化合物 6g を得る。

從來法ではレシチン鹽化カドミウムの收量最高 6g, 最低 3g である。

メタノール不溶の鹽基性醋酸鉛複化合物 (收量 42.8g) を溶解し鹽酸で分解し遊離ケファリン 8.3g を得る、

本研究費の一部は財団法人農産化學研究會援助資金及び文部省科學研究費に依つたものである。記して厚く謝意を表する。

(1) 鈴木, 西本 : *Proc. Imp. Acad. Japan*, 6, 263, (1930)

(2) KLEIN : *Pflanzenanalyse*, Bd. II/I, 697.

(3) LEVENE & ROLF : *J. Biol. Chem.*, 62, 759, (1925)

(4) 増野, 梶塚 : 東工試報告, 31 (3) 25~32

Summary

The existing method for the isolation of cephalin from the animal material is not readily applicable to the isolation of the same substance from the plant material.

For the isolation of cephalin from the plant material, we have devised a new method involves the precipitation of cephaline by basic lead acetate.

The new method is free from such an undesirable result as we had in the existing method.

Experiment I. Egg-yolk cephalin was isolated from egg-yolk oil by precipitating it with CdCl_2 .

Experiment II. Soybean cephalin was isolated from the “Soybean lecithin” (obtained by extraction with benzine) by precipitating it with CdCl_2 with basic lead acetate.

Experiment III. Soybean cephaline was isolated from the “Soybean lecithin” (obtained by extraction with the mixture of benzine and alcohol) by precipitating it with CdCl_2 and with basic lead acetate.

Experiment IV. Soybean lecithin and cephalin were isolated from the “Soybean lecithin” (obtained by extraction with benzine) by precipitating it with basic lead acetate.

From these results we can conclude that the precipitation method by means of basic lead acetate is applicable for the separation of cephalin and lecithin and for the isolation of cephalin from the plant material.