脂 肪 酸 の 分 離 と 決 定 (第 19 報)*

天然油脂成分脂肪酸のペーパークロマトグラフ分析

野田万次郎, 平山 修, 井上吉之 (京都大学農学部生物化学研究室)

昭和 30 年 10 月 12 日 受 理

Separation and Identification of Fatty Acids. Part XIX.

Paper-Chromatographic Analysis of the Component

Fatty Acids of Natural Fats

By Manjiro NODA, Osamu HIRAYAMA, and Yoshiyuki INOUE

(Biochemical Laboratory, College of Agriculture, Kyoto University)

前報迄に於て著者等は飽和及び不飽和脂肪酸, 特に高級脂肪酸のペーパークロマトグラフィによる有効な分離確認方法の発見ならびにその性能の向上に努め, これに関する種々の方法⁽¹⁻⁵⁾を考案してきたが, これら高級脂肪酸のペーパークロマトグラフィが油脂成分としての混合脂肪酸の分離確認に実用できる程度に迄その性能が改良されるに至つたので, 本報に於てはこれらの諸方法を組合せて比較的少量の試料油脂中の全成分脂肪酸の分析にこれを応用することを試みた。

この分析に利用した脂肪酸のペーパークロマトグラフ分離法としては既発表の諸方法のうち, 高級不飽和脂肪酸に対しては酢酸第二水銀附加法⁽³⁾, 高級飽和脂肪酸に対しては 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジド法⁽⁴⁾及びヒドロキサム酸法の逆相法, 又低級揮発酸に対しては普通のヒドロキサム酸法⁽⁶⁾をそれぞれ適用した。但し酢酸第二水銀附加法による不飽和酸のペーパークロマトグラフィに際しては, 従来の上昇法の代りに上昇法で行う方法を新に考案し, 実施の能率と精度を更に向上せしめることに成功した。

本報に於てはこれらのペーパークロマトグラフィの油脂構成脂肪酸分析への応用例として, 比較的複雑な脂肪酸組成をもつ牛酪脂の成分脂肪酸の分析に利用した結果を示している。

実 験

ペーパークロマトグラフィ

1. 酢酸第二水銀附加法 (上昇法): 東洋濾紙 No. 50 (40×40 cm) 使用, 原線の位置を下端より 5 cm の所にとつた。固定溶媒としてはテトラリン又は石油炭化水素 (b. p. 140~170°) を用い, テトラリンを固定溶媒とする場合は 90% メタノール-酢酸-テトラリン (10:2:1) (略号 MAT) 又は 90% メタノール-酢酸-テトラリン (10:5:2) (略号 MAT') を, 石油炭化水素を固定溶媒とする場合はメタノール-酢酸-石油炭化水素 (b. p. 140~170°) (30:1:8) (略号 MAP) をそれぞれ移動溶媒として選んだ。

濾紙は予め浸漬又は噴霧によつて固定溶媒を充分濾紙繊維に滲透飽和させた後, 乾燥濾紙間に挟み 10 分間均一に約 9 kg の荷重をかけて圧搾, 更に新しい乾燥濾紙間に挟みかえてなお 20 分間同様に圧搾する。取り出した濾紙の原点にエステルの酢酸水銀附加物各 10~300 μ g を含む試料溶液 0.5~3 μ l 宛付け, 約 20~40 分 (テトラリンでは室温 15° の場合約 30 分) 室内で放置乾燥し, 濾紙表面は普通の濾紙と殆ど変わらないが透して見ると固定液の滲透しているのがわかる程度になつたとき, 展開容器中に入れ上昇法で展開する。30° で原線上約 25 cm 展開させた後濾紙を取り出し, 1 夜暗所で風乾するか又は 80° で 30 分間暗所で乾燥し, 次に 0.2% ジフェニルカルバゾン-アルコール溶液を噴霧すると不飽和酸エステルのスポットは紫色又は青紫色に呈色する。尚場合によつては更にこの上に 0.05 N 硝酸-アルコール溶液を噴霧してスポットの明確化を図ることもできる。

上記の上昇法で純粋物について測定した不飽和酸メチルエステルの酢酸水銀附加化合物の R_F 値とそのクロマトグラムをそれぞれ Table 1 及び Fig. 1 に示した。なお試料脂肪酸及び酢酸水銀の附加方法等は既報⁽³⁾と全く同一である。又簡易附加調製法として, 試料エステルに理論量の約 20% 過剰の酢酸水銀と少量の無水メタノールを加え 80° で 30 分加熱還流した後, 反応液にエーテル又はベンゾールを加え, 更に大量の水を加えて振盪, 分離した上層の有機溶媒層を供試溶液とする方法を利用することも既報と同様である。

2. 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジド法: 東洋濾紙 No. 2 使用の逆相上昇法。試料液の調製法, 展開法,

* 第 18 報 井上吉之, 平山 修, 野田万次郎: 油化学, 5, 16 (1956)。

Table 1. R_F Values of the Mercuric Acetate Addition Compounds of Methyl Esters of Unsaturated Fatty Acids. (Ascending Paper Chromatography^a)

Mercuric compound of	R_F value		
	MAT ^b	MAT ^c	MAP ^b
9-Decenoic	0.69	0.70	0.78
10-Undecenoic	0.63	0.67	0.78
9-Dodecenoic	0.56	0.58	0.77
9-Tetradecenoic	0.42	0.44	0.74
9-Hexadecenoic	0.28	0.36	0.65
Oleic	0.16	0.28	0.56
Erucic	0.05	0.08	0.40
2-Dodecenoic	0.52	0.65	0.76
2-Tetradecenoic	0.39	0.49	0.72
2-Hexadecenoic	0.26	0.37	0.62
2-Octadecenoic	0.14	0.28	0.49
Elaidic	0.20	0.30	0.60
Brassicidic	0.07	0.12	0.44
Linoleic	0.52	0.63	0.79
Linolenic	0.71	0.81	0.80
β -Eleostearic	0.69	0.79	0.79
Stearolic	0.61	0.74	0.76
Behenolic	0.36	0.34	0.70
Ricinoleic	0.43	0.52	0.72

^a At 30° on Toyo No. 50 filter paper. Spraying reagent, 0.2% diphenylcarbazone solution in alcohol.

^b Developing solvents: MAT, 90% methanol-acetic acid-tetralin (10:2:1); MAT^c, 90% methanol-acetic acid-tetralin (10:5:2); MAP, methanol-acetic acid-petroleum hydrocarbon (b.p. 140~170°) (30:1:8). Stationary solvent: tetralin or petroleum hydrocarbon.

Fig. 1. Paper chromatogram of the mercuric acetate addition compounds of methyl esters of unsaturated acids.

A, 9-decenoic; B, 10-undecenoic; C, 9-dodecenoic; D, 9-tetradecenoic; E, 9-hexadecenoic; F, oleic; G, erucic; H, 2-dodecenoic; I, 2-tetradecenoic; J, 2-hexadecenoic; K, 2-octadecenoic; L, elaidic; M, brassidic; N, linoleic; O, linolenic; P, stearolic; Q, behenolic; R, ricinoleic. Ascending chromatography with the solvent system MAT.

呈色法等総て既報⁽⁴⁾と同様である。展開温度 30°。

3. ヒドロキサム酸法 (逆相法): 東洋濾紙 No. 50 (40×40 cm) 使用, 原線の位置は下端より 5 cm. 固定溶媒としてはテトラリン, 移動溶媒としては 90% メタノール-酢酸-テトラリン (10:2:1) (MAT) が最も適している。濾紙に予め固定溶媒のテトラリンを透過固定させる方法は上記酢酸水銀附加法の場合と全く同じ, 上昇法で展開し, 溶媒の展開距離は原線上 25~30 cm. 展開温度 30°, 展開後の呈色は 10% 塩化第二鉄-アルコール溶液の噴霧による。脂肪酸のヒドロキサム酸は紫紅色又は赤褐色のスポットとして検出される。又不飽和脂肪酸のヒドロキサム酸の検出には, 展開濾紙を風乾し溶媒を完全に蒸発させた後, 2% 沃素-アルコール溶液を噴霧すれば数分後に不飽和酸のヒドロキサム酸部が褐色のスポットとなつて残るが, 検出感度は余りよくない。

高級脂肪酸のヒドロキサム酸の簡易調製法としては下記の調製法が適当である。即ち塩酸ヒドロキシルアミン 0.8 g を 15 ml の無水メタノールに溶解した溶液に, 金属ナトリウム 0.6 g を 35 ml の無水メタノールに溶解した溶液を加え, 析出した沈澱を濾過し, この濾液の 1 ml を試料エステル 30~50 mg に添加, 密栓して時々振盪しつつ 1 夜放置する。この反応液の一部をとり 10% 塩酸-無水メタノールを加えてコンゴールレッド紙に対し微酸性とした溶液をペーパークロマトグラフィの試料液として使用する。

4. ヒドロキサム酸法 (普通法)⁽⁶⁾: 東洋濾紙 No. 50 使用, 上昇法で行つた。展開温度 30°. 展開溶媒としては本実験の場合, 水飽和酢酸エチル又はベンゾール-80% 蟻酸 (8:3) 等が適当である。但し後者の溶媒ではカプリン酸のスポットがやや長く拡散する傾向がある。

牛酪脂の成分脂肪酸分析

1. 試料: 試料として用いた牛酪脂は昭和 29 年 3 月京都府産牛乳より分離採集した。この牛酪脂の性状は次の如くであつた。 d_4^{30} 0.9128, n_D^{20} 1.4590, A. V. 0.4, Sap. V. 225.1, I. V. 39.3, m. p. 28.1~33.4°, R. M. V. 27.6, P. V. 1.6, Hehner V. 88.8. 本油脂 50 g を鹼化し, アルカリ性鹼化液より不鹼化物を抽出除去後, 酸性として遊離した脂肪酸を多量のエーテルで完全に抽出分離し牛酪脂混合脂肪酸を得た。

2. 分別蒸溜: 上記混合脂肪酸を常法によつてメチルエステルとし, このメチルエステル 46.5 g をとり, 電気保温加熱の精溜管を使用して減圧分溜し Table 2 の如き 10 溜分と残渣とに分別した。これら各溜分の収

Table 2. Fractional Distillation of Methyl Esters of Acids from Cow Milk Fat

Fraction no.	B.p.		Wt., g.	Sap. equiv.	I. V. (Wt%)	n_D^{20}	Specific extinction coefficients ^a		
	°C.	Mm.					k_{333}	k_{268}	k_{215}
1	~ 36	20	1.56	103.6	0.3	1.3858	—	—	—
2	36~ 62	"	0.67	126.6	0.2	1.4006	—	—	—
3	62~105	"	0.70	150.9	1.9	1.4107	—	—	—
4	67~ 90	2	1.15	184.1	7.2	1.4230	—	—	—
5	90~120	"	1.73	222.3	8.7	1.4300	—	—	—
6	120~137	"	3.09	236.5	10.5	1.4340	—	—	—
7	137~145	"	2.12	250.4	12.4	1.4355	—	—	—
8	145~155	"	7.36	271.6	18.3	1.4393	—	—	—
9	155~160	"	6.48	277.1	34.1	1.4420	3.79	0.14	—
10	160~174	"	20.14	295.0	65.2	1.4465	3.91	0.09	—
Residue	—	—	1.02	328.3 ^b	72.2 ^b	—	4.26	4.94	5.51
Total	—	—	46.02	—	—	—	—	—	—

^a Determined on the fatty acids recovered after saponification; isomerization in 21% KOH-glycol at 180° for 15 minutes under N₂(⁷). ^b Determined on the esters freed from unsaponifiable matter.

Table 3. Paper-Chromatographic Detection of the Component Unsaturated Acids of Cow Milk Fat by Mercuration Method^a

Fraction no. ^b	R_F values of mercuric derivatives of component acids identified							
	C ₁₀ (-2H)	C ₁₂ (-2H)	C ₁₄ (-2H)	C ₁₆ (-2H)	C ₁₈ (-2H)	C _{20~22} (-2H)	C ₁₈ (-4H)	C ₁₈ (-6H)
3	0.69							
4	0.70 ^c							
5		0.56 ^c	0.41					
6			0.42 ^c					
7			0.41 ^c	0.29				
8				0.27 ^c	0.16 ^c			
9				0.26	0.16 ^c		0.52	0.71 ^d
10					0.13 ^c		0.52	0.70 ^d
Residue						0.07		

^a Ascending chromatography at 30° on Toyo No. 50 filter paper. Solvent system: MAT. ^b No spot was detected on the chromatograms from the fractions 1 and 2. ^c Main spot with the most intense color on the chromatogram. ^d Trace.

Fig. 2. Paper chromatogram of the mercuric addition compounds individually derived from the methyl esters of the component acids of cow milk fat after their fractional distillation.

Ascending chromatography with the solvent system MAT. Number represents the fraction number; R, residue; A, 2-mono-ethenoid acids from dodecenoic to octadecenoic.

(b) ヒドロキサム酸としてのペーパークロマトグラフィ (逆相法): 前記調製法で各溜分からヒドロキサ

量及び測定諸数値も同表に記している。

3. 不飽和脂肪酸の検索:

各溜分(残渣をも含む) 20~100 mg 宛別々にとり, これに酢酸第二水銀をそれぞれ附加させ⁽³⁾, 既述の方法で MAT 及び MAP 液媒系を用いてこれらのペーパークロマトグラフ分析を行つた。Table 3 は MAT 系を使用した場合で, 各溜分からそれぞれ検出確認された不飽和酸とその検出スポットの R_F 値の一覧であるが, 各溜分に共存している多量の飽和脂肪酸は不飽和酸の検出に全く影響を与えず, 不飽和酸だけが鋭敏に検出せられた。なお第 1, 第 2 溜分は全くスポットを与えないところから, 低級飽和酸だけから成り, 不飽和酸を全然含有していないことが推定される。又オクタデカトリエン酸は特に微量の為, 多量の試料を原点に附けたときのみ第 9 及び 10 溜分に僅に検出できる程度であつた。Fig. 2 は各

溜分の上記水銀附加化合物のペーパークロマトグラムで, 高級溜分に移つてゆくに従つて次第に高級な不飽和酸を含んでくると, それらの酸の各溜分中における量的比率がよく顯れている。

4. 飽和高级脂肪酸の検索:

(a) 2,4-ジニトロフェニルヒドラジドとしてのペーパークロマトグラフィ⁽⁴⁾:

各溜分をそれぞれ鹼化し, 得られた脂肪酸 10~60 mg を簡易調製法によつて 2,4-ジニトロフェニルヒドラジドとしこの溶液を試料液とした。展開溶媒としては 90% メタノール-酢酸-テトラリン (10:2:1) (MAT) 及び 80% エタノール-酢酸-テトラリン (10:2:1) (EAT) を用いた。その他操作はすべて既報の通りである。本法による各溜分中の検出飽和脂肪酸並びにその R_F 値は Table 4 の如くである。

Table 4. Paper-Chromatographic Detection of the Component Saturated Acids of Cow Milk Fat by Reversed-Phase Methods^a

Fraction no.	<i>R_F</i> values of 2,4-dinitrophenylhydrazides of component acids identified ^b									
	C ₆	C ₈	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₂₀	C ₂₂	
3	0.82 ^d	0.73 ^d	0.64 ^e							
4		0.75 ^e	0.64 ^d							
5				0.55 ^d	0.43					
6				0.54 ^e	0.42 ^d					
7					0.42 ^d	0.30				
8					0.43 ^e	0.31 ^d	0.22			
9						0.30 ^d	0.20 ^d			
10							0.21 ^d			
Residue								0.14	0.08 ^e	
Pure compound	0.83	0.74	0.64	0.54	0.42	0.30	0.21	0.13	0.08	

Fraction no.	<i>R_F</i> values of hydroxamic acids from component acids identified ^c						
	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₂₀	Oleic
3							
4	0.88 ^d						
5		0.83 ^d	0.72				
6			0.73 ^d				
7			0.74 ^d	0.61			
8			0.74 ^e	0.60 ^d	0.49 ^e		
9				0.60 ^d	0.47		
10					0.48		0.53 ^d
Residue						0.07 ^f	
Pure compound	0.88	0.84	0.73	0.61	0.47	0.06 ^f	0.53

^a Ascending chromatography at 30° with the solvent system MAT.^b Toyo No.2 filter paper was used. ^c Toyo No.50 filter paper was used.^d Main spot with the most intense color on the chromatogram.^e Trace. ^f With diffuse tail.Table 5. Paper-Chromatographic Detection of the Component Volatile Acids of Cow Milk Fat by Hydroxamic Acid Method^a

Fraction no.	<i>R_F</i> values of hydroxamic acids from component acids identified			
	C ₄	C ₆	C ₈	C ₁₀
1	0.06 ^d	0.23		
2	0.06	0.25 ^d		
3		0.26 ^d	0.53 ^d	
4				0.74 ^{d,f}
RM ^b	0.06 ^d	0.26	0.52 ^e	
P ^c			0.52	0.73 ^f
Pure compound	0.06	0.25	0.52	0.74 ^f

^a Ascending chromatography at 30° on Toyo No. 50 filter paper. Solvent; benzene-80% formic acid (8:3).^b Derived from the fraction of soluble volatile acids in the determination of the Reichert-Meissl number.^c Derived from the fraction of insoluble volatile acids in the determination of the Polenske number. ^d Main spot with the most intense color on the chromatogram.^e Trace. ^f With diffuse tail.

7. 牛酪脂の脂肪酸組成： 以上のようなメチルエステルの分溜成績と各溜分の含有脂肪酸のペーパークロマトグラフィによる検索結果をもととし、これにスペクトロフォトメトリーの結果を加えて、測定諸数値から本供試油脂の脂肪酸組成の計算^(8,9)を行つたところ、Table 6 のような結果がえられた。

考 察

本報で発表した酢酸水銀附加法によるペーパークロマトグラフィの改良法を用いることによつて、同法による不飽和脂肪酸の分離確認は次の様な諸点で一層容易かつ効果的になつたと考えられる。即ち上昇法としたため展開操作が容易で、多数の試料の同時展開も簡単に行えること、又下降法の場合に比べスポットの拡散が少く、よ

ム酸溶液を調製し、各を MAT 溶媒系の逆相ペーパークロマトグラフィで分析した。本法では不飽和高級酸もすべてスポットを与えるが、牛酪脂中の不飽和脂肪酸はオレイン酸以外は相当する飽和酸に比べて比較的少量であることと、検出感度が余りよくないため、多量に存在するオレイン酸を除きその他の不飽和酸のスポットを確実に検出することは困難であつた。又一般にスポットが拡散しやすく、殊にステアリン酸以上の高級酸のものは拡散して長く尾を引く傾向があつて検出性は余り良好でない。Table 4 には本法によつて検出確認された各溜分中の高級脂肪酸とその *R_F* 値が示されている。

5. 揮発性低級脂肪酸の検索： 各溜分又は直接原料牛酪脂からヒドロキサム酸に導き、これを普通法のペーパークロマトグラフィで分析した。Table 5 の如く最初の第 1~4 溜分には揮発酸が含有されていることが分る。

又ライヘルト・マイスル値及びポレンスケ価測定の際の滴定中和後の溶液を蒸発乾固し、残渣の脂肪酸塩の一部をとつてこれからヒドロキサム酸液を調製し、このペーパークロマトグラフィを行つても牛酪脂中の揮発性低級酸を確実に分離確認できる。これらのクロマトグラムからみると酪酸の特に多量に存在することがよく認められた。

6. 不飽和脂肪酸の定量： 各溜分について沃素価を測定すると共に、ジエン酸以上のポリエン酸の含まれていると推定される溜分は、その一部をとつてこれを鹼化し、得られた混合脂肪酸のアルカリ異性化を行つてこのものにつきスペクトロフォトメトリーを適用した。異性化は 21% KOH-グリコールを用い 180° で 15 分異性化を行う HERB-RIEMENSCHNEIDER 法⁽⁷⁾により、233, 268, 315 mμ 等の各波長で求めた比吸光係数 (Table 2) から各ポリエン酸の含有量を算出した。

Table 6. Component Fatty Acids of Cow Milk Fat. (Weight per cent)

Acid	Spring fed (Present work)	Winter, stall fed (HILDITCH & LONGENECKER ⁽¹¹⁾)	Early summer (HILDITCH & JASPERSON ⁽¹²⁾)	Colostrum fat (BALDWIN & LONGENECKER ⁽¹³⁾)
Butyric	3.1	3.0	3.7	2.6
Caproic	1.8	1.4	1.7	1.6
Caprylic	1.2	1.5	1.0	0.5
Capric	2.2	2.7	1.9	1.6
Lauric	3.8	3.7	2.8	3.2
Myristic	8.5	12.1	8.1	9.5
Palmitic	24.3	25.3	25.9	31.7
Stearic	11.9	9.2	11.2	11.8
Arachidic	0.7	1.3	1.2	0.6
Behenic	0.1	—	—	—
9-Decenoic	0.1	0.3	0.1	0.1
9-Dodecenoic	0.2	0.4	0.2	0.2
9-Tetradecenoic	1.1	1.6	0.6	0.7
9-Hexadecenoic	5.8	4.0	3.4	2.7
Oleic	31.3	29.6	32.8	28.5
Octadecadienoic	2.4	3.6	3.7	2.5
Octadecatrienoic	0.1	—	—	0.4
as C ₂₀ ~22 unsatd.	1.4	0.3	1.7	1.8

くまとまつた形となること等である。特に本法の検出感度が優れていることは、牛酪脂に微量存在する低級不飽和酸も明瞭なスポットとして分離検出されている事実をみても明らかである (Fig. 2)。

これに反し今回新に試みた高級酸の分離を目的とするヒドロキサム酸法の逆相法は、試料ヒドロキサム酸液がエステルから直接調製できる点は好都合であったが、スポットが拡散しやすい、検出感度も充分でないため、実用性の上では既報の 2, 4-ジ

ニトロフェニルヒドラジド法の方が数等勝っていた。これは高級酸のヒドロキサム酸に対し適当な溶解性をもつた溶媒、特に固定溶媒がないことに原因するものと思われる。なお MICHEEL 及び SCHWEPPE⁽¹⁰⁾ のアセチルセルロース濾紙によるヒドロキサム酸のペーパークロマトグラフィも一種の逆相法であるが、高級酸の相互分離はやはり充分でない。

2, 4-ジニトロフェニルヒドラジド法はかなりの低級酸から高級酸までを同時に分離検出でき、検出感度も鋭敏であるため飽和酸の検索には特に有効であつた。本法による分析で牛酪脂脂肪酸より新にベヘン酸を明瞭に検出した。

試料油脂又は混合脂肪酸エステルの採取量は単なる成分脂肪酸の定性的検出の目的だけならば遙かに少量の試料で足りる。殊に低級不飽和脂肪酸のない普通の植物油脂の場合は溜分数も少くてよい。或は全然分溜操作を省いても相当な程度にまで微量成分の検出確認効果をあげることと思われる。併し本報告で分析例として取上げた牛酪脂の如き複雑な組成の油脂はオクタデカジエン酸やオクタデカトリエン酸と共にデセン酸、ドデセン酸等のモノエン酸を含み、これらのスポットが重なるおそれがあるため、このような油脂では前以て分溜その他の方法で予備分離を行つておく必要がある。

ペーパークロマトグラフィを利用する油脂成分脂肪酸の定量分析はスポットとして分離されたものから直接定量する方法が完成していないので、なお微量化の点に研究の余地があるが、クロマトグラム上の確実な検出結果をもとし、これに分溜成績とそれに関する測定諸数値及びスペクトロフォトメトリーの結果を合せると、かなり簡単に定量的な脂肪酸組成を算出することができる。本法の利点は従来の如く塩類法による予備的な分別を必ずしも必要とせず、ただ 1 回の混合脂肪酸の分溜で目的が達せられ、従つて試料も比較的少量ですむ点にある。Table 6 の如く本実験で定量された牛酪脂の各脂肪酸含有量は従来の報告^(11, 12, 13)にみられるそれと概ね一致した値を示している。

要 約

酢酸第二水銀附加法による不飽和脂肪酸エステルのペーパークロマトグラフィを改良し、その性能と実用性を向上せしめて好結果を得た。又高級飽和脂肪酸のヒドロキサム酸の逆相ペーパークロマトグラフィも新に試みたが、この性能は 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジド法に劣つてることが分つた。牛酪脂の場合を例にとり、脂肪酸の種類のペーパークロマトグラフィを組合せた油脂の成分脂肪酸の簡易分析法を示した。

- (1) 井上吉之, 野田万次郎 : 農化, 26, 634(1952).
- (2) 井上吉之, 野田万次郎 : 農化, 27, 50(1953).
- (3) Y. INOUE, M. NODA, and O. HIRAYAMA : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 32, 132(1955).
- (4) Y. INOUE and M. NODA : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 19, 214 (1955).
- (5) 井上吉之, 平山 修, 野田万次郎 : 油化学, 5, 16 (1956).
- (6) 井上吉之, 野田万次郎 : 農化, 23, 294 (1950); 24, 291, 295(1951); 25, 496(1952).
- (7) S. F. HERB and R. W. RIEMENSCHNEIDER : *Anal. Chem.*, 25, 953 (1953).

- (8) T. P. HILDITCH : *The Chemical Constitution of Natural Fats*, Chapman & Hall, London, 1949, p. 484.
- (9) E. W. JONES and M. A. MACLEAN : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 31, 473 (1954).
- (10) F. MICHEEL and H. SCHWEPPE : *Angew. Chem.*, 66, 136 (1954).
- (11) T. P. HILDITCH and H. E. LONGENECKER : *J. Biol. Chem.*, 122, 497 (1938).
- (12) T. P. HILDITCH and H. JASPERSON : *J. Soc. Chem. Ind.*, 60, 305 (1941).
- (13) A. R. BALDWIN and H. E. LONGENECKER : *J. Biol. Chem.*, 155, 407 (1944).

Summary

1. A more satisfactory paper-chromatographic separation than that previously reported⁽³⁾ of unsaturated fatty acid esters as their mercuric acetate addition compounds has been achieved by employing the ascending technique.

2. The reversed-phase paper chromatography of the hydroxamic acids of higher fatty acids has been examined and found to be inferior to that of the 2,4-dinitrophenylhydrazides of fatty acids⁽⁴⁾ in respect of their sensitivity and separability on the paper.

3. The component fatty acids of cow milk fat have been well separated and identified on paper by combining the preliminary fractional distillation of their methyl esters with various paper-chromatographic techniques, such as the mercuration, 2,4-dinitrophenylhydrazide, and hydroxamic acid methods.

4. The fatty acid composition of cow milk fat has been estimated from the paper-chromatographic, spectrophotometric, and distillation data by a simplified procedure, using a relatively small amount of the original fat.

水産動物燐脂質に関する研究 (第 4 報)

イワシクジラ心臓筋肉のレシチン, ケファリン, 中性脂肪及び不鹼化物について

五十嵐久尙, 座間宏一, 片田宗男 (北海道大学水産学部水産化学教室)

昭和 30 年 10 月 17 日 受 理

Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals. Part IV.
Lecithins, Cephalins, Neutral Fat and Unsaponifiable Material
of Heart of Rorqual (*Balaenoptera borealis* LESSON)
By Hisanao IGARASHI, Kôichi ZAMA and Muneo KATADA
(Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate)

動物心臓筋肉の脂質成分の分離及びその性状に関する研究は比較的少ない。ウシ心臓筋肉については KLENK ら⁽¹⁾による燐脂質とグリセライドの構成脂肪酸の研究, PANGBORN による cardiolipin の分離⁽²⁾及びその構造⁽³⁾, レシチンの分離⁽²⁾⁽⁴⁾, FAURE による cardiolipin の分離⁽⁵⁾, グリセロイノシト燐脂酸の分離⁽⁶⁾が報告されている。水産動物については LOVERN によりイルカ (*Phocaena communis*)⁽⁷⁾及びマグロ (*Thynnus thynnus*)⁽⁸⁾の心臓筋肉脂肪の脂肪酸組成, 佐伯, 森⁽⁹⁾によるマッコウクジラ心臓脂肪の性状の報告があるのみで燐脂質と中性脂肪両者にわたる研究はないが, 水産動物と陸上動物との間におけるこれらの異同は重要なことと考えられる。著者等はまずイワシクジラ (*Balaenoptera borealis* LESSON) の心臓筋肉を試料とし, 系統的に各種脂質を分離してレシチン, ケファリン, 中性脂肪, 不鹼化物及び燐脂酸を得た。本報ではこれらの性状について研究を行つた結果を報告するが, 燐脂酸については次報に譲る。

実 験 の 部

脂質抽出液等の溶剤溜去, 濃縮などの操作はすべて減圧下 CO₂ 気流中で行つた。N は micro-KJELDAHL 法, P は LIEB 法, 沃素価は WIJS 法, コリン, エタノールアミン及びセリンは LEVINE-CHARGAFF 法⁽¹⁰⁾によりそれぞれ測定した。

I. 脂肪の抽出及び分割

試料としては 1954 年 6 月金華山沖で捕獲されたイワシクジラ (♂, 体長 41 ft., 死後 12 時間) の心臓筋肉を