脂 質 の ク ロ マ ト グ ラ フ ィ *

野 田 万 次 郎 (西京大学農学部農芸化学教室)

脂質のクロマトグラフィは最近数年間に逆相クロマトグラフィやガスクロマトグラフィなどの脂質の分離に適した有力な方法が適用され、完成されるに及んで急速な進歩を示し、現在では種々の脂質の研究にクロマトグラフィがごく一般的な研究手段として採用されるまでに普及してきた。事実この方法が他の有力な新しい脂質分析法とともに最近の脂質研究を著しく促進し、幾多の新事実の発見をもたらしつつあることも否定できない。特に最近 2, 3 年の間にこの方法に関する報文が激増した結果、現在までの業績のすべてを小紙面に尽すことは不可能であるので、以下よく実用されている重要な方法、特色ある方法、および最近の応用例を中心として重点的に紹介してゆきたいと思う。ただしステロイドおよびリポ蛋白質のクロマトグラフィに関しては紙面の都合上省略した。また本総説で割愛した部分については脂質のクロマトグラフィに関する他の総説⁽¹⁻⁸⁾によって補充していただきたい。

脂質の分離に用いられるクロマトグラフィは吸着型と分配型のもの、またはその中間型のものが大部分であって、イオン交換型クロマトグラフィはごくまれにしか用いられていない。その他クロマトグラフィに類似の方法である口紙電気泳動法や向流分配法も脂質の分離に用いられるが、ここでは触れないこととした。第 1 表にこれら脂質のクロマトグラフィのおもな種類とその要項を一括記載したが、以下脂質の種類別に本法の実施例について本文で記述する。

1. 脂質各群の分離

脂質成分をなすステリンエステル、グリセリド、ステリン、脂肪酸、リン脂質、高級アルコール、炭化水素などの各群を相互分別する目的にはケイ酸、またはケイ酸-ケイソウ土カラムを使用する液体クロマトグラフィが最もよく用いられる。たとえば乳脂⁽¹²⁸⁾、魚油⁽¹⁷⁾、肝臓その他の組織^(9,10)、血液^(11,12)、精虫⁽¹⁶⁾、cytochrome oxidase⁽¹³⁾などの脂質成分の相互分別や各組織による脂質代謝の研究^(14,15)などに利用されている。また同様の目的にケイ酸固定ガラス繊維口紙も使用された⁽¹⁷⁾。その他羊毛脂や人髪脂⁽¹⁸⁾の脂質成分の分離に酸化アルミニウムが使われている。またステリンおよびステリンエステル類の相互分離にはカラムクロマトグラフィ**⁽¹⁹⁾または逆相ペーパークロマトグラフィ^(20,21)が用いられている。中性油脂と脂肪酸の分離に Amberlite IRA-400 のカラムが用いられ⁽²²⁻²⁴⁾、また中性油の定量⁽²⁵⁾、その他の種々の目的にカラムクロマトグラフィが行われる。

2. 脂肪酸およびその誘導体

(1) カラムクロマトグラフィ**：高級脂肪酸の相互分離、定量に特に効果あるのは逆相分配クロマトグラフィに属する方法であるが、中でも流動パラフィン固定ケイソウ土を固定相とする Howard-Martin 法⁽²⁶⁻³¹⁾と炭化水素類やグリセリドを保持したゴム粉を固定相とする Boldingh 法⁽³²⁻³⁴⁾とが最も利用度が高い。しかしこれら以外にも類似の脂肪酸の逆相クロマトグラフィが考案されている⁽³⁵⁻³⁷⁾(第 1 表)。以上の逆相法では $C_5 \sim C_{24}$ 程度の脂肪酸の相互分別が可能であるが、これを利用してたとえば乳脂⁽³¹⁾、体脂⁽³²⁾、血液^(33,38)、魚油^(32,39)、その他の油脂⁽³⁷⁾の構成脂肪酸の分析、リン脂質の結合脂肪酸の研究⁽⁴⁰⁾、脂肪酸代謝の研究⁽⁴¹⁾などが行われた。

極性溶媒を固定相とする分配クロマトグラフィは概して低級酸⁽⁴²⁻⁴⁴⁾および二塩基酸^(43,44)の相互分離に適しており、これらの方法は油脂中の低級酸の分離定量や、不飽和結合の位置決定の際の酸化分解生成物の検索に利用される⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾。なお溶媒系に工夫を加えればこの種の普通分配法によっても高級酸を分離することができる^(48,49)。

吸着型のクロマトグラフィも脂肪酸の分別、精製にごく普通に利用されている。この型のものは試料を比較的多量処理する場合に適するが、相互分離の点では一般に分配型に劣る。その応用例としては血液リポ蛋白質中の

* Chromatography of Lipids.

By Manjiro NODA (Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Saikyo University, Kyoto)

** この総説では“カラムクロマトグラフィ”なる語をカラムを使用するクロマトグラフィ(ガスクロマトグラフィを含む)という広い意味で用いた。一部の書物にみられる液体クロマトグラフィに対する語としてのカラムクロマトグラフィは本総説の“吸着帯分別法”に相当する。

第1表 脂質のクロマトグラフィのおもな種類とその代表的用法

固 定 相	移 動 相	適 用 目 的	検出, 定量法 または呈色剤	備 考 ^a
1. 液体クロマトグラフィまたは吸着帯分別法 (吸着型, 分配型, イオン交換型)				
酸化アルミニウム	石油エーテル, ペンゼン, エーテル, エタノール, 酢酸, 四塩化炭素, トルエン, クロホルムなど, およびこれらの混合液 ^b 95% エタノールまたはクロロホルム-エタノール-水 ピ リ ジ ン	脂質各群の相互分離 脂肪酸の分離, 精製 不ケン化物の分別 ロウ成分の相互分離 リン脂質の単離 糖脂質の単離	比色その他 (18, 19) { ○(53~56)エステルとし ても分離 ○(28, 128) ○(125, 126) (141~144) (145) ○(9~17) { ○(57~60)エステルとし ても分離 ○(22, 134~137) (125, 126) ○(146~153) (51, 52) (61) (157)	
ケイ酸 (-ケイソウ土)	石油エーテル, ペンゼン, エーテル, クロホルム, メタノール, エタノールなど, およびこれらの混合液 ^b クロロホルム-メタノール, メタノール, その他 ^b エタノール, ペンゼン-エタノール, ペンゼン { 石油エーテル メ タ ノ ー ル ペンゼン-エーテル	脂質各群の相互分離 脂肪酸の分離, 精製 グリセリドの相互分離 ロウ成分の相互分離 リン脂質の相互分離 脂肪酸の分別 脂肪酸の相互分離 リン脂質の分離 不飽和酸の相互分離	中和滴定その他 フェノールレッド (84) { (85, 86) (35, 37)逆相法 ○(26~31)逆相法 ○(23, 24)逆相法 ○(32~34)逆相法 (22~24)イオン交換型	
硫酸マグネシウム	ペンゼン-エーテル	脂肪酸の相互分離	過塩素酸鉄	
セルロース粉+含水メタノール	ヘキサ-メタノール-酢酸	脂肪酸の相互分離		
セルロース粉+含水エタノール	クロロホルム-エタノール	リン脂質の相互分離		
アセチルセルロース粉	石油エーテル-ペンゼン-メタノール-水	リン脂質の分離		
ケイ酸+メタノール	イソオクタシン	脂肪酸の相互分離	{ 酸アルカリ指示薬および中 和滴定 (48) (43) { (85, 86) (35, 37)逆相法 (36, 37)逆相法 ○(26~31)逆相法 ○(23, 24)逆相法 ○(32~34)逆相法 (22~24)イオン交換型	
ケイ酸+フルフリルアルコール-2-アミノピリジン	n-ヘキサン	高級酸の相互分離	中和滴定	
ケイ酸+メチルセロソルブ	{ 石油エーテル, n-ブチルエーテルおよびその混合液 ^h 石油エーテル (または n-ヘプタン) 含水メタノール ^c 含水アセトン ^e 含水アセトン ^e 含水エタノール 含水アセトン ^e エ ー テ ル	一, 二塩基酸の相互分離 脂肪酸の相互分離 脂肪酸の相互分離 脂肪酸の相互分離 脂肪酸の相互分離 グリセリドの相互分離 脂肪酸の相互分離 遊離酸の分離, 除去	中和滴定 中和滴定 中和滴定 中和滴定 中和滴定 吸光分析その他 中和滴定	
Amberlite IRA-400				

固 定 相	移 動 相	適 用 目 的	検出, 定量法 または呈色剤	備 考 ^a
カリ ャ ヨ ウ バ ン 固 定 紙	四塩化炭素-メタノール-濃アンモニア水	脂肪酸の相互分離	ローダミンB-塩酸	(111) 紫外線下で検出
アセチル化ロ紙	酢酸エチル-テトラヒドロフラン-水	脂肪酸の相互分離	塩化第二鉄	{(112) 逆相法, ヒドロキ サム酸として分離
ロ紙+石油炭化水素	含水酢酸, アセトン-酢酸-水, 酢酸-アセト ニトリル, メタノール, メタノール-酢酸, その他	脂肪酸の相互分離, 定量	{酢酸銅-フェロシアンカリ, 酸アルカリ指示薬, 硝酸銀, 酢酸鉛-硫化水素, ヨウ素, ジフェニルカルバゾン, そ の他	○(88~99) 逆相法, エス テル, 酢酸水銀付加物, 有色誘導体としても分離
ロ紙+デカリン	メタノール-酢酸	グリセリドの相互分離	ジフェニルカルバゾン	{(140) 逆相法, 酢酸水銀 付加物として分離
ロ紙+テトラリン	含水 酢 酸	{高級アルコールの相互分 離}	ローダミンB	{(127) 逆相法, 酸化して 脂肪酸としても検出
ロ紙+トリグリセリド	{メタノール, メタノール-酢酸エチル, エタノ ール(またはメタノール)-酢酸-水, など	脂肪酸の相互分離	マラカイトグリーン	{(104) 逆相法, 有色誘導 体としても分離(98, 105)
ロ紙+シシコロン	メタノール-酢酸-水	{脂肪酸の相互分離 リン脂質の分別}	ジフェニルカルバゾン	{(95, 96, 100) 逆相法, 酢酸水銀付加物または有 色誘導体として分離
ロ紙+シリコロン	含水酢酸, ギ酸-酢酸-水	脂肪酸の相互分離	ジフェニルカルバゾン	{(110) 逆相法, 酢酸水銀 付加物として分離
ゴム固定ロ紙(十シタクロヘキサンイソオクタテン)	含水エタノール, メタノール-酢酸エチル-酢 酸, など	脂肪酸の相互分離	硝酸銀その他	{(106) 逆相法, 有色誘導 体としても分離(98)
またばは	含水酢酸, ギ酸-酢酸-水	脂肪酸の相互分離	{α-デキスクリン-ヨウ素, ヨウ素}	○(101~103) 逆相法, エ ステルとしても分離
	含水 酢 酸	{高級アルコールの相互分 離}	〃	{(101, 102) 逆相法
	クロロホルム-メタノール-水, テトラヒドロ フラン-水	グリセリドの相互分離	〃	{(101, 102) 逆相法, リバ ーゼで分解後呈色
	メタノール, メタノール-アセトン	脂肪酸の相互分離	{スズゲンIV, 酢酸鉛-硫化水素, その他}	○(94) 逆相法, エステル としても分離(107)

a: ○印は比較的良好に利用されている方法を示す。カッコ内の数字は図本文献番号。

b: 脂が極性の大きい溶媒に適宜変化して展開するのを普通とする。

c: 順次含水量の多い溶媒に変化して展開する。

脂肪酸の分離定量⁽⁵¹⁾, 結核菌脂質の成分分枝鎖脂肪酸や直鎖脂肪酸の分別, 精製^(52, 53), ミコリペン酸の全合成の際の合成酸の精製単離⁽⁵⁴⁾, 魚油高度不飽和酸の分別⁽⁵⁷⁾, リノール酸⁽⁵⁸⁾, リノレン酸⁽⁵⁸⁾, アラキドン酸^(58, 59) 各メチルエステルおよびその他の高度不飽和酸⁽⁵⁹⁾の精製, 単離など多数報告されている。活性炭を吸着剤とする前端分析^(62~64)や置換分析^(66~68)もこの一種で, 脂肪酸またはそのエステルの定性, 定量のほか置換分析の場合は精製単離の目的にも利用できる。置換分析の際の置換剤としては試料成分よりも高級な同族体, 高級ハロゲン化アルキル, 炭化水素などを使用する。また微量脂肪酸の分離のためには試料に数種のメチルエステルを多量担体として加え, これを同様に置換展開するcarrier displacement analysis^(67, 68)が考案されている(第1表)。

ガスクロマトグラフィ(気体-液体分配クロマトグラフィ)は1952年 James および Martin が始めて以来, 脂肪酸およびそのメチルエステルの優秀な微量分析法として最近目覚ましい発展をみた^(71~82)。動物体諸組織の脂質, 血球^(80, 81), 乳脂^(73, 74, 76), 皮脂⁽⁷⁶⁾, 植物油脂^(74, 80)などの成分脂肪酸の分析, 脂肪酸代謝の研究^(72, 76)などに現在効果的に応用されている。また二塩基酸メチルエステルの分離にも適用できるので, こ

れを利用して不飽和油脂の酸化分解生成物の検索が行われ、その構造研究に役立てられた^(81,82)。本法によれば $C_1 \sim C_{26}$ の広範囲にわたる脂肪酸またはメチルエステルの相互分離、定量が短時間のうちに完了し、しかもその分離精度と検出感度が非常によいので、微量成分のため従来検出できなかった一般脂質中の分枝鎖脂肪酸や奇数炭素脂肪酸もこの方法によって容易に検出できるようになった^(74,76,80)。

その他脂肪酸をヒドロキサム酸⁽⁸⁷⁾、臭化酸、あるいは 2,4-dinitrobenzenesulfonyl chloride 誘導体⁽⁸⁴⁾、*p*-phenylazophenacyl ester⁽⁸⁶⁾、*p*-phenylphenacyl ester 2,4-dinitrophenylhydrazone⁽⁸⁵⁾ などの有色誘導体としてクロマトグラフ分離する方法もある。

(2) ペーパークロマトグラフィ：ペーパークロマトグラフィの場合も高級脂肪酸またはその誘導体の相互分離、検出、定量の目的には逆相法が最も有効である。よく利用される方法は石油炭化水素^(88~99)、テトラリン^(95,96,100)、またはシリコーン^(101~103)をそれぞれ滲ませた口紙を固定相として用いる逆相ペーパークロマトグラフィの諸法であるが、そのほかにデカリン^(98,104,105)やグリセリド^(98,106)を含む口紙、ゴム固定口紙⁽⁹⁴⁾、アセチル化口紙⁽¹¹²⁾などを使う場合もある(第 1 表)。試料は遊離脂肪酸、またはメチル⁽¹⁰²⁾およびエチルエステル⁽¹⁰⁷⁾、アリルエステル水銀付加物⁽⁹⁷⁾、ヒドロキサム酸^(95,112)などの形で展開される。また 2,4-dinitrophenylhydra⁽¹⁰⁷⁾zide^(95,100)、*p*-bromophenacyl ester 2,4-dinitrophenylhydrazone(略称 bromazone)^(98,99) その他の有色誘導体としても展開され、この分離性は特に優秀である。不飽和酸の選択検出法としてはメチルエステルを酢酸第二水銀付加物として逆相展開する方法がある^(95,96)。これらの逆相法を利用してたとえば各種油脂^(37,92,95~100)やリン脂質^(45,108,109,110)の成分脂肪酸の研究、脂肪酸の生合成に関する研究^(98,109)などが多数行われている。

逆相法でない普通展開法によるペーパークロマトグラフィでは低級酸がよく分離される。その代表的な方法は脂肪酸をアンモニウム⁻、エチルアミン⁻、またはナトリウム塩として展開する方法^(113~116)とヒドロキサム酸^(95,117~120)またはヒドラジド⁽¹²¹⁾として展開する方法とである。これらの方法は脂質中の低級酸の分離検出や定量^(114~116)に利用されるほか、二塩基酸のペーパークロマトグラフィ^(122,124)と併用して不飽和脂質の酸化分解生成物の検索⁽¹²⁴⁾ならびに不飽和酸の構造研究^(120,123)に広く利用されている。

以上のペーパークロマトグラフィの諸方法を適用することによって、現在では $C_1 \sim C_{32}$ の広範囲の脂肪酸が分離できるようになっている。なおこれらの方法において特定の飽和、不飽和酸(例。パルミチン酸とオレイン酸)のスポットが重なる欠点は低温展開法^(90,91)や酢酸水銀付加法^(95,96,98)の適用によって除去できるようになった。

3. 不ケン化物およびロウ

主として吸着型液体クロマトグラフィで乳脂⁽¹²⁸⁾、魚油⁽¹⁷⁾、人髪脂^(18,28)、皮脂⁽⁷⁶⁾、ミツロウ⁽¹²⁶⁾、その他のロウ物質^(125,126)中の不ケン化物各成分の分離がなされ、また植物葉脂質不ケン化物中の高級アルコールの分離精製⁽¹²⁹⁾、ウシの脳よりの炭化水素の分離⁽¹³⁰⁾、ロウ中の高級ケトンの分離や炭化水素の相互分離⁽¹²⁵⁾などがなされた。

脂肪酸高級アルコールの相互分離にはシリコーン^(101,102)や石油炭化水素⁽¹²⁷⁾を固定液相とする逆相ペーパークロマトグラフィや置換分析⁽⁶⁹⁾が行われる。またガスクロマトグラフィ⁽⁸³⁾や前駆分析⁽⁶³⁾が適用された例もある(第 1 表)。その他アルコールの 3,5-ジニトロ安息香酸エステル⁽¹³¹⁾またはその 4-ジアルキルアミノ誘導体⁽¹³²⁾、その他の種々の誘導体としてもカラム⁻またはペーパークロマトグラフィが行われた。

高級アルデヒドまたはケトンの相互分離法として 2,4-dinitrophenylhydrazone⁽¹³³⁾ その他の誘導体としてカラムまたは口紙上で分離する方法や、アルデヒド自体を逆相ペーパークロマトグラフィで分ける方法⁽¹⁰²⁾ などがある。

脂質混合物中からのステリンやステリンエステルの分離、ならびにそれらの相互分離については前述したが、人髪脂⁽¹⁸⁾、ミツロウ⁽¹²⁶⁾、その他^(17,125)より脂肪酸ロウエステルをカラムまたはケイ酸固定ガラス繊維口紙⁽¹⁷⁾で分離した例がある。その他ロウ中の高級脂肪酸はケイ酸カラム⁽¹²⁶⁾、またはアリルエステル水銀付加物としての逆相ペーパークロマトグラフィ⁽⁹⁷⁾によって分離することができる。

4. グリセリド

モノ⁻、ジ⁻、トリグリセリド三者間の相互分離、定量にはケイ酸^(22,134~137)またはシリコーン処理ケイ素土^(23,24)を用いるカラムクロマトグラフィが有効である。また流動パラフィン⁽¹³⁸⁾やシリコーン^(101,102)を含ませた口紙を用いる逆相ペーパークロマトグラフィ、ケイ酸固定ガラス繊維口紙によるクロマトグラフィ⁽¹³⁹⁾、あるい

は置換分析⁽⁷⁰⁾によっても同様の目的は達せられる(第1表)。さらにグリセリドの酢酸水銀付加物の逆相ペーパークロマトグラフィによれば不飽和度の異なるトリグリセリド相互の分離も可能である⁽¹⁴⁰⁾。

上記の諸クロマトグラフィは結核菌⁽¹³⁷⁾、牛脂⁽⁷⁰⁾、植物油⁽¹⁴⁰⁾などのグリセリドの分別、あるいはトリグリセリドやリン脂質のリパーゼによる加水分解生成物の調査^(24, 136)などに利用された。

5. 複合脂質

(1) カラムクロマトグラフィ**：酸化アルミニウム^(141~145)およびケイ酸またはケイ酸-ケイソウ土^(16, 108, 146~153)のカラムが最も一般的に使用されているほか、セルロース粉⁽¹⁵⁵⁾、アセチルセルロース粉⁽¹⁵⁸⁾、ケイソウ土⁽¹⁵⁴⁾などがこれに次いで現在よく利用されている(第1表)。以下おもな実施例をあげる。

卵黄⁽¹⁴¹⁾、魚卵⁽¹⁶⁴⁾、肝臓⁽¹⁴¹⁾、酵母⁽¹⁴¹⁾などから酸化アルミニウム吸着柱でレシチンが精製単離された。同様の方法で大豆のレシチンとリゾレシチンが分離され、脳ケファリン類の分離も行われた⁽¹⁴²⁾。レシチンとリゾレシチンあるいは phosphatidyl ethanolamine とそのリゾ化合物との相互分離にはケイ酸カラムを使う分離法⁽¹⁴⁶⁾が効果的で、卵黄その他からレシチンやケファリン類を分別、単離するのに利用され^(108, 146, 147)、また新種のエタノールアミン含有脂質を卵黄から分離する研究にも使われた⁽¹⁴⁹⁾。筋肉⁽¹⁵²⁾、心臓⁽¹⁴⁷⁾、精虫⁽¹⁶⁾などのアセチルリン脂質もこれと類似の方法で分離できる。ケイ酸-ケイソウ土^(161, 153)またはアセチルセルロース⁽¹⁵⁸⁾カラムを用いて肝臓^(153, 158)や酵母⁽¹⁵³⁾の monophosphoinositide が分離精製され、ポリグリセロリン脂質の分離⁽¹⁵¹⁾も行われた。またスフィンゴ脂質のケイ酸カラムによる分別⁽¹⁵⁰⁾、スフィンゴミエリン⁽¹⁴⁴⁾および糖脂質^(144, 145)の酸化アルミニウムカラムによる分離精製、ガングリオンドのセルロース粉カラムによる精製⁽¹⁵⁶⁾なども報告されている。その他 P₃₂を用いるリン脂質の生合成の研究⁽¹⁴⁸⁾、レシチン分解酵素作用に関係ある肝臓リン脂質の分離⁽¹⁴³⁾など多数の応用例がある。さらにケファリン類の相互分離や、これらとコリン-リン脂質との分離を良くする目的で、アミノ基をもつリン脂質を 2,4-ジニトロフェニル誘導体として展開分離する方法が考案されている⁽¹⁵⁴⁾。

なおリン脂質の種々の加水分解生成物にもカラムクロマトグラフィを適用した例がある^(136, 142, 143, 153, 159)。

(2) ペーパークロマトグラフィ：普通口紙^(148, 155, 160~169)、ケイ酸固定口紙^(13, 146~148, 167)またはケイ酸固定ガラス繊維口紙^(170, 171)などを用い種々の溶媒で展開してリン脂質各群およびその関連化合物の相互分離、検出、定量が行われている(第1表)。分離された各脂質のスポットの検出にはそれぞれの脂質の特有呈色反応が用いられるほか、autoradiogram による検出^(148, 165, 167, 176)も盛に利用されている。

現在のところケイ酸固定口紙を使う方法が特に効果的に利用されており、たとえば卵黄レシチン、phosphatidyl ethanolamine、およびそれらのリゾ化合物の各個がこの口紙上で完全に分離される⁽¹⁴⁶⁾。またブタ心臓の cytochrome の脂質⁽¹⁴⁷⁾、cytochrome oxidase のリン脂質成分⁽¹³⁾、あるいはネズミの肝臓⁽¹⁴⁸⁾、心臓⁽¹⁶⁷⁾、その他の組織^(165, 167)中の生合成された P₃₂ 標識リン脂質などがケイ酸固定口紙または非固定口紙上で個々のリン脂質群に分離、定量⁽¹⁴⁷⁾された。この方法^(148, 165, 167)では試料をアセチル化し、遊離アミノ基をもつリン脂質を N-アセチル化物としたものも原試料と同様に展開し、アミノ基をもつリン脂質とコリン-リン脂質との区別と分離を容易にしている。その他普通口紙を使って脳、心臓中のアセチルリン脂質の検出やそのレシチン、ケファリン類の相互分離⁽¹⁶¹⁾、卵黄⁽¹⁵⁵⁾、落花生⁽¹⁵⁵⁾、チフス菌⁽¹⁶²⁾などのリン脂質の相互分離、カニ卵のリン脂質⁽¹⁶⁴⁾やカルジオリピン⁽¹⁶³⁾の分析などが行われた。これらの方法で単一スポットしか示さない個々のリン脂質群、たとえば卵黄レシチンのごときも、酢酸第二水銀付加物として逆相法で展開すると脂肪酸鎖の不飽和度が異なる数種のレシチン区分に細分別することができる⁽¹¹⁰⁾。

複合脂質各成分の簡易な分離定性の目的には円形ペーパークロマトグラフィが重宝である^(168, 169)。また向流分配ペーパークロマトグラフィもリン脂質各群の相互分離法として考案されている⁽¹⁷²⁾。

その他各種の水溶性リン化合物^(143, 153, 160, 175, 176)、スフィンゴシン⁽¹⁷⁴⁾、コリンその他の含窒素成分^(143, 173)、脂肪酸^(45, 103, 108, 110)などの複合脂質の分解生成物の分離と定量^(173, 176)にペーパークロマトグラフィが広く利用されている。

以上のようにクロマトグラフィは脂質の各方面の研究に応用され、ますます見事な成果をあげることが予測されるが、特にグリセリドや複合脂質のクロマトグラフィには技術的にもなお今後の改良と発展が期待される。

- (1) R. T. Holman : *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids* (R. T. Holman et al., eds.), 1, 104, Pergamon Press (1952).
(2) 益山新六 : 油脂化協, 3, 27 (1954).

- (3) 桑田 智 : 続クロマトグラフィー(I), 広川書店 (1955).
- (4) 土屋知太郎 : 実用油脂便覧(改訂版), 248, 産業図書 (1956).
- (5) 喜多源逸 : 油脂化学及試験法(改訂大增補), 1271, 至文堂 (1957).
- (6) E. Lederer, M. Lederer : *Chromatography*, Elsevier Pub. Co. (1957).
- (7) R. J. Block, E. L. Durrum, G. Zweig : *A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*, Academic Press (1958).
- (8) 野田万次郎 : 脂質化学 (舟橋三郎, 他編), 1, 37, 共立出版 (1958).
- (9) E. J. Barron, D. J. Hanahan : *J. Biol. Chem.*, 231, 493 (1958).
- (10) R. Okey, A. G. Harris : *Arch. Biochem. Biophys.*, 75, 536 (1958).
- (11) N. K. Freeman, F. T. Lindgren, Y. C. Ng, A. V. Nichols : *J. Biol. Chem.*, 227, 449 (1957).
- (12) G. A. Garton, W. R. H. Duncan : *Biochem. J.*, 67, 340 (1957).
- (13) G. V. Marinetti, D. J. Scaramuzzino, E. Stotz : *J. Biol. Chem.*, 224, 819 (1957).
- (14) J. P. Miller, J. A. D. Cooper : *Biochim. et Biophys. Acta*, 24, 430 (1957); 27, 141 (1958).
- (15) W. E. M. Lands : *J. Biol. Chem.*, 231, 883 (1958).
- (16) J. A. Lovern, J. Olley, E. F. Hartree, T. Mann : *Biochem. J.*, 67, 630 (1957).
- (17) M. F. Sorrel, R. Reiser : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34, 131 (1957).
- (18) N. Nicolaides, R. C. Foster, Jr. : *ibid.*, 33, 404 (1956).
- (19) H. Schön, F. Gey : *Z. physiol. Chem.*, 303, 81 (1956).
- (20) G. Zimmermann, G. Bräse : *Pharmazie*, 11, 715 (1956).
- (21) R. P. Martin : *Biochim. et Biophys. Acta*, 25, 408 (1957).
- (22) B. Borgström : *Acta Physiol. Scand.*, 25, 101, 111 (1952); 30, 231 (1954).
- (23) P. Savary, P. Desnuelle : *Bull. soc. chim. France*, 1954, 936.
- (24) P. Desnuelle, P. Savary, J. Franzy : *Rev. franç. corps gras*, 4, 203 (1957).
- (25) J. K. Sikes : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34, 72 (1957).
- (26) G. A. Howard, A. J. P. Martin : *Biochem. J.*, 46, 532 (1950).
- (27) M. H. Silk, H. H. Hahn : *ibid.*, 56, 406 (1954); 57, 577, 582 (1954).
- (28) F. W. Hougen : *ibid.*, 59, 302 (1955).
- (29) W. M. L. Crombie, R. Comber, S. G. Boatman : *ibid.*, 59, 309 (1955).
- (30) W. Kapitel : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 58, 91 (1956).
- (31) G. A. Garton, A. K. Lough : *Biochim. et Biophys. Acta*, 23, 192 (1957).
- (32) J. Boldingh : *Koninkl. Vlaam. Acad. Wetenschap., Letter. en Schone Kunsten België, Intern. Colloquium Biochem. Problem Lipiden*, 1953, 64.
- (33) J. H. van de Kamer, N. A. Pikaar, A. Bolssens-Frankena, C. Couvée-Ploeg, L. van Ginkel : *Biochem. J.*, 61, 180 (1955).
- (34) M. Burnet, P. Desnuelle : *Rev. franç. corps gras*, 3, 325 (1956).
- (35) F. A. Vandenheuvel, D. R. Vatcher : *Anal. Chem.*, 28, 838 (1956).
- (36) T. Green, F. D. Howitt, R. Preston : *Chem. & Ind.*, 1955, 591.
- (37) V. Tišler : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 60, 95 (1958).
- (38) A. K. Lough, G. A. Garton : *Biochem. J.*, 67, 345 (1957).
- (39) M. Matic : *ibid.*, 68, 692 (1958).
- (40) E. Klenk, G. Krikau : *Z. physiol. Chem.*, 308, 98 (1957).
- (41) J. F. Mead, D. R. Howton : *J. Biol. Chem.*, 229, 575 (1957).
- (42) L. L. Ramsey, W. I. Patterson : *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 28, 644 (1945); 31, 139 (1948).
- (43) V. Zbinovsky : *Anal. Chem.*, 27, 764 (1955).
- (44) G. B. Corcoran : *ibid.*, 28, 168 (1956).
- (45) E. Klenk, H. J. Tomuschat : *Z. physiol. Chem.*, 308, 165 (1957).
- (46) M. H. Chahine, E. R. Cousins, R. O. Feuge : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 35, 396 (1958).
- (47) 福場博保, 山沢伸江, 光沢徳子 : 本誌, 31, 132 (1957).
- (48) L. L. Ramsey, W. I. Patterson : *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 31, 441 (1948).
- (49) H. J. Nijkamp : *Nature*, 172, 1102 (1953); *Anal. Chim. Acta*, 10, 448 (1954).
- (50) W. J. Lossow, I. L. Chaikoff : *J. Biol. Chem.*, 230, 149 (1958).
- (51) G. A. Gillies, F. T. Lindgren, J. Cason : *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4103 (1956).
- (52) J. Cason et al. : *J. Org. Chem.*, 20, 419 (1955); *J. Biol. Chem.*, 220, 391, 407, 893 (1956).
- (53) E. D. Morgan, N. Polgar : *J. Chem. Soc.*, 1957, 3779.
- (54) D. J. Millin, N. Polgar : *ibid.*, 1958, 1902.
- (55) H. J. Dutton, C. L. Reinbold : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 25, 120 (1948).
- (56) M. F. White, J. B. Brown : *J. Am. Chem.*

- Soc., 70, 4269 (1948).
- (57) 下岡 勉, 外山修之 : 油化学, 6, 314(1957); 7, 13 (1958).
- (58) R. W. Riemenschneider, S. F. Herb, P. L. Nichols : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 26, 371 (1949).
- (59) S. F. Herb et al. : *ibid.*, 28, 55, 505 (1951).
- (60) F. E. Kurtz : *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 1902 (1952).
- (61) M. M. Graff, E. L. Skau : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 15, 340 (1943).
- (62) A. Tiselius, S. Claesson : *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.*, 15 B, No. 18, 1 (1942).
- (63) S. Claesson : *ibid.*, 23 A, No. 1, 133 (1946); *Annals N. Y. Acad. Sciences*, 49, 183 (1948).
- (64) L. Hagdahl, R. T. Holman : *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 701 (1950).
- (65) S. Claesson : *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.*, 15 A, No. 9, 1 (1941).
- (66) R. T. Holman, W. T. Williams : *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 5285 (1951).
- (67) R. T. Holman : *ibid.*, 73, 1261, 5289 (1951).
- (68) S. Kuramoto, J. J. Jezeski, R. T. Holman : *J. Dairy Sci.*, 11, 314 (1957).
- (69) R. T. Holman : *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 3337 (1951).
- (70) J. G. Hamilton, R. T. Holman : *ibid.*, 76, 4107 (1954).
- (71) A. T. James, A. J. P. Martin : *Biochem. J.*, 50, 679 (1952).
- (72) E. F. Annison, K. J. Hill, D. Lewis : *ibid.*, 66, 529 (1957).
- (73) T. Gerson, F. B. Shorland, C. R. Barnicoat : *ibid.*, 68, 644 (1958).
- (74) A. T. James, A. J. P. Martin : *ibid.*, 63, 144 (1956).
- (75) A. J. P. Martin, A. T. James : *ibid.*, 63, 138 (1956).
- (76) A. T. James et al. : *ibid.*, 63, 269(1956); 64, 726 (1956); 65, 36 (1957).
- (77) S. R. Lipsky, R. A. Landowne : *Biochim. et Biophys. Acta*, 27, 666 (1958).
- (78) C. H. Orr, J. E. Callen : *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 249 (1958).
- (79) R. K. Beerthuis, J. G. Keppler : *Nature*, 179, 731 (1957).
- (80) A. T. James : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 59, 73 (1957).
- (81) A. T. James, J. Webb : *Biochem. J.*, 66, 515 (1957).
- (82) J. Nowakowska, E. H. Melvin, R. Wiebe : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34, 411 (1957).
- (83) J. G. Keppler : *Chem. Weekblad*, 51, 911 (1955).
- (84) R. O. Simmons, F. W. Quackenbush : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 30, 614 (1953).
- (85) H. Ng, A. D. Webb, R. E. Kepner : *Anal. Chem.*, 28, 1975 (1956).
- (86) R. E. Kepner, A. D. Webb, R. L. King, A. D. Bond : *ibid.*, 29, 1162 (1957).
- (87) J. B. Davenport : *Chem. & Ind.*, 1955, 705.
- (88) 井上吉之, 野田万次郎 : 本誌, 26, 634(1952); 27, 50 (1953); 油脂化協, 1, 136 (1952).
- (89) H. P. Kaufmann, W. H. Nitsch : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 56, 154 (1954); 57, 473 (1955); 58, 234 (1956).
- (90) H. P. Kaufmann, E. Mohr : *ibid.*, 60, 165 (1958).
- (91) Č. Michalec : *Biochim. et Biophys. Acta*, 28, 212 (1958).
- (92) H. Wagner, L. Abisch, K. Bernhard : *Helv. Chim. Acta*, 38, 1536 (1955).
- (93) K. Bernhard, L. Abisch, H. Wagner : *ibid.*, 40, 1292 (1957).
- (94) B. D. Ashley, U. F. Westphal : *Arch. Biochem. Biophys.*, 56, 1 (1955).
- (95) 野田万次郎, 平山 修, 井上吉之 : 本誌, 30, 106 (1956).
- (96) Y. Inouye, M. Noda, O. Hirayama : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 32, 132 (1955).
- (97) H. P. Kaufmann, J. Pollerberg : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 59, 815 (1957).
- (98) Y. Inouye, O. Hirayama, M. Noda : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 20, 197, 200(1956).
- (99) 井上吉之, 平山 修, 野田万次郎 : 本誌, 31, 568 (1957).
- (100) Y. Inouye, M. Noda : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 19, 214 (1955).
- (101) H. K. Mangold, B. G. Lamp, H. Schlenk : *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 6070 (1955).
- (102) H. Schlenk, J. L. Gellerman, J. A. Tillotson, H. K. Mangold : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34, 377 (1957).
- (103) W. Montag, E. Klenk, H. Hayes, R. T. Holman : *J. Biol. Chem.*, 227, 53(1957).
- (104) K. Röth : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 59, 418 (1957).
- (105) 井上吉之, 平山 修, 野田万次郎 : 油化学, 5, 16 (1956).
- (106) V. Koblre, R. Zahradník : *Chem. Listy*, 48, 1189, 1703 (1954).
- (107) J. Boldingh : *Experientia*, 4, 270(1948).
- (108) G. Rousser, D. Schloredt : *Biochim. et Biophys. Acta*, 28, 81 (1958).
- (109) J. W. Porter, R. W. Long : *J. Biol. Chem.*, 233, 20 (1958).
- (110) Y. Inouye, M. Noda : *Arch. Biochem. Biophys.*, 76, 271 (1958).

- (111) A. Holasek, K. Winsauer : *Monatsh. Chem.*, 85, 795 (1954).
- (112) F. Micheel, H. Schweppe : *Angew. Chem.*, 66, 136 (1954).
- (113) E. R. Hiscox, N. J. Berridge : *Nature*, 166, 522 (1950).
- (114) R. L. Reid, M. Lederer : *Biochem. J.*, 50, 60 (1952).
- (115) R. M. Manganelli, F. R. Brofazi : *Anal. Chem.*, 29, 1441 (1957).
- (116) H. R. Roberts, W. Bucek : *ibid.*, 29, 1447 (1957).
- (117) K. Fink, R. M. Fink : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 70, 654 (1949).
- (118) 井上吉之, 野田万次郎 : 本誌, 23, 294, 368 (1950); 24, 291, 295 (1951); 25, 496 (1952).
- (119) A. R. Thompson : *Australian J. Sci. Research*, 4B, 180, 283 (1951).
- (120) 井上吉之, 野田万次郎, 羽室康正 : 本誌, 25, 491 (1952).
- (121) 佐竹一夫, 関得一郎 : 化学の領域, 4, 557 (1950).
- (122) A. Seher : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 58, 401 (1956).
- (123) E. Klenk, A. Dreike : *Z. physiol. Chem.*, 300, 113 (1955).
- (124) 小林 勝 : 油脂化協, 4, 53 (1955); 油化学, 5, 85 (1956); 6, 269 (1957).
- (125) G. Spengler, G. Hauf : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 57, 474 (1955); 59, 509 (1957).
- (126) W. Fuchs et al. : *ibid.*, 56, 218 (1954); 58, 826 (1956).
- (127) H. P. Kaufmann, H.-G. Kohlmeyer : *ibid.*, 57, 231 (1955).
- (128) E. N. Frankel, L. M. Smith, E. L. Jack : *J. Dairy Sci.*, 41, 483 (1958).
- (129) 平井長一郎, 長縄 賢, 松本太郎 : 日化, 77, 1247 (1956).
- (130) H. J. Nicholas, R. C. Hiltibran, C. L. Wadkins : *Arch. Biochem. Biophys.*, 59, 246 (1955).
- (131) E. Sundt, M. Winter : *Anal. Chem.*, 29, 851 (1957).
- (132) H. van Duin : *Rec. trav. chim.*, 73, 68 (1954).
- (133) R. B. Seligman, M. D. Edmonds : *Chem. & Ind.*, 1955, 1406.
- (134) L. J. Ravin, R. J. Meyer, T. Higuchi : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34, 261 (1957).
- (135) P. Quinlin, H. J. Weiser, Jr. : *ibid.*, 35, 325 (1958).
- (136) S. W. Smith, S. B. Weiss, E. P. Kennedy : *J. Biol. Chem.*, 228, 915 (1957).
- (137) H. Noll, E. Jackim : *ibid.*, 232, 903 (1958).
- (138) A. Holasek, J. Freed : *Mikrochim. Acta*, 1957, 469.
- (139) J. W. Dieckert, R. Reiser : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 33, 123 (1956).
- (140) 井上吉之, 野田万次郎 : 本誌, 投稿中.
- (141) D. J. Hanahan et al. : *J. Biol. Chem.*, 192, 623 (1951); 211, 313, 321 (1954); *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 5070 (1952).
- (142) H. Debuch : *Z. physiol. Chem.*, 304, 109, (1956); 306, 279 (1957).
- (143) R. M. C. Dawson : *Biochem. J.*, 68, 352, 357 (1958); *Biochim. et Biophys. Acta*, 27, 227 (1958).
- (144) G. V. Marinetti, E. Stotz : *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1347 (1954).
- (145) 藤野安彦 : 本誌, 30, 764 (1956).
- (146) C. H. Lea, D. N. Rhodes, R. D. Stoll : *Biochem. J.*, 60, 353 (1955).
- (147) G. V. Marinetti et al. : *J. Biol. Chem.*, 229, 1027 (1957); *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 1624 (1958).
- (148) G. V. Marinetti, J. Erbland, M. A. Albrecht, E. Stotz : *Biochim. et Biophys. Acta*, 25, 585 (1957); 26, 130 (1957).
- (149) H. E. Carter, D. B. Smith, D. N. Jones : *J. Biol. Chem.*, 232, 681 (1958).
- (150) B. Weiss : *ibid.*, 223, 523 (1956).
- (151) J. M. McKibbin, W. E. Taylor : *ibid.*, 196, 427 (1952).
- (152) M. M. Rapport, B. Lerner, N. Alonzo, R. E. Franzl : *ibid.*, 228, 685 (1957).
- (153) D. J. Hanahan, J. N. Olley : *ibid.*, 231, 813 (1958).
- (154) F. D. Collins, L. W. Wheeldon : *Nature*, 175, 772 (1955); *Biochem. J.*, 66, 441 (1957).
- (155) T. H. Bevan, G. I. Gregory, T. Malkin, A. G. Poole : *J. Chem. Soc.*, 1951, 841.
- (156) L. Svennerholm : *Acta Chem. Scand.*, 8, 1108 (1954).
- (157) A. Taurog, C. Entenman, B. A. Fries, I. L. Chaikoff : *J. Biol. Chem.*, 155, 19 (1944).
- (158) R. R. Dils, J. N. Hawthorne : *Biochim. et Biophys. Acta*, 25, 424 (1957).
- (159) J. B. Wittenberg : *J. Biol. Chem.*, 216, 379 (1955).
- (160) M. Huennekens, D. J. Hanahan, M. Uziel : *ibid.*, 206, 443 (1954).
- (161) D. Amelung, P. Böhm : *Z. physiol. Chem.*, 298, 199 (1954).
- (162) S. Čmelik : *ibid.*, 302, 20 (1955).
- (163) 原 一郎 : 日化, 77, 255 (1956).
- (164) 五十嵐久尙, 座間宏一, 片田宗男 : 本誌, 30, 566 (1956); 31, 4 (1957).
- (165) G. Rouser, G. V. Marinetti, R. F. Witter, J. F. Berry, E. Stotz : *J. Biol. Chem.*, 223, 485 (1956).

- (166) R. F. Witter, G. V. Marinetti, A. Morrison, L. Heicklin : *Arch. Biochem. Biophys.*, 68, 15 (1957).
- (167) G. V. Marinetti et al. : *Biochim. et Biophys. Acta*, 21, 168 (1956) ; *J. Biol. Chem.*, 226, 475 (1957).
- (168) M. H. Hack : *Biochem. J.*, 54, 602 (1953).
- (169) M. Rikimaru, Y. Tanaka, M. Hoshino : *Fukushima J. Med. Sci.*, 2, 167 (1955).
- (170) J. W. Dieckert, R. Reiser : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 33, 535 (1956).
- (171) N. Brown, D. A. Yeadon, L. A. Goldblatt, J. W. Dieckert : *Anal. Chem.*, 29, 30 (1957).
- (172) L. Douste-Blazy, J. Polonovski, P. Valdiguié : *Bull. soc. chim. biol.*, 38, 19, 27 (1956).
- (173) C. Levene, E. Chargaff : *J. Biol. Chem.*, 192, 465, 481 (1951).
- (174) A. Rosenberg, E. Chargaff : *ibid.*, 232, 1031 (1958).
- (175) N. Freinkel : *Biochem. J.*, 68, 327 (1958).
- (176) A. A. Benson, B. Maruo : *Biochim. et Biophys. Acta*, 27, 189 (1958).
-