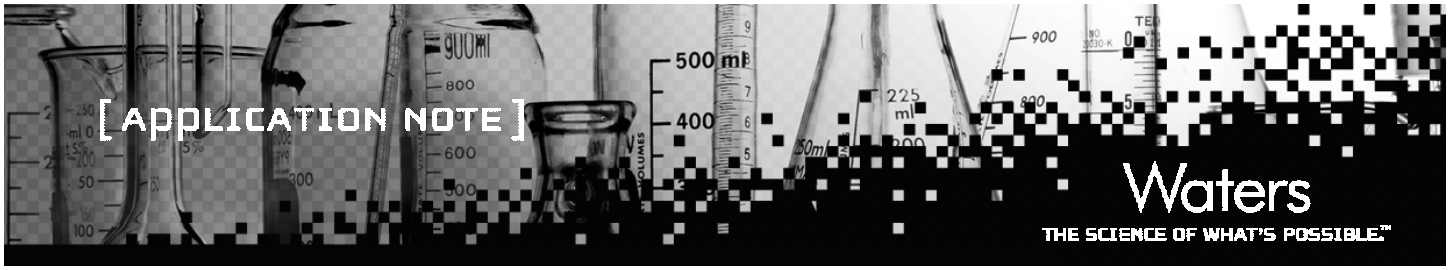


No. 720002025J

ACQUITY UPLC®/PDAによる種油の高速分析(Ⅰ)

概要

種油は食品・石鹸・化粧品やバイオディーゼル燃料などの重要な原料であり、世界中で約1億トンが生産されています。主に大豆・ピーナツ・オリーブ・ひまわり・紅花・綿実・菜種・からし菜などから作られています[1)]。これらの油の品質と安定性は、原材料、抽出法、工程、輸送、保管などに大きく依存しています[2)-5)]。原材料のの品質は最終製品の品質と価格に反映されます。食用油の製造、マーケティングと供給は多岐に渡るので油製品の分析は、安全性に関する法規制への遵守と健康への影響のためにも重要です[5)-8)]。
トリグリセリド(TAG)は食用油の主成分です。いずれの種油もTAGを固有の組成で含み、その情報は地域の特定と粗悪品の摘発に用いられます[5),9)-10)]。TAGはGC分析法を用いることにより、脂肪酸メチルエステル(FAME)への変換を経て、間接的に測定することができます[5)]。しかしながら、FAMEへの誘導体化反応は時間を要し、時に定量的ではない場合があります。従来法としては、非水系逆相HPLC法や銀イオンクロマトグラフィ法によって直接的にTAGの分析が行われています[9)-13)]。これらの方法は分析時間が長く(30分-80分)、移動相にハロゲン化溶媒を使用することがあります。ハロゲン化溶媒は発がん性があることが知られており、規制されている場合があります。
このアプリケーションノートでは、ACQUITY UPLC®/PDAシステムを用いて、食用油を10分で分離する同定法について説明します。移動相にはハロゲン化溶媒より毒性の低い、アセトニトリルやイソプロパノールを使用しています。このメソッドでは、食用油の高速分離による同定だけでなく、TAG酸化物や分解物の検出も同時に行われています。

分析条件

装置　：ACQUITY UPLC® システム　PDA検出器
カラム温度　：30 ℃
移動相A　：アセトニトリル
移動相B　：イソプロパノール

メソッド1
カラム　：ACQUITY BEH C18 1.7μm 2.1x 100 mm
流速　:0.28mL/分
グラジエント　：10%B－90%B(10分)

メソッド2
カラム　：ACQUITY BEH C18 1.7μm 2.1x 150 mm
流速　:0.15mL/分
グラジエント　：10%B－90%B(22分)

PDA検出波長:195-300nm
注入量　:2μL

ACQUITY UPLC® システム

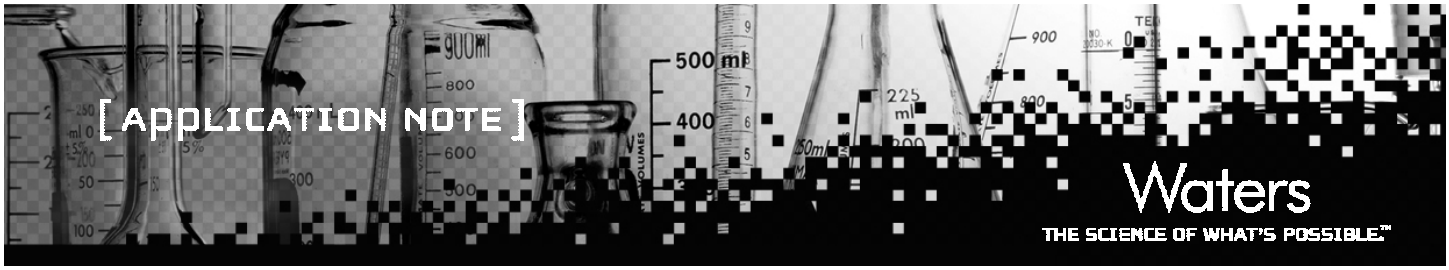


図1. 食用油のPDAクロマトグラム(210nm)

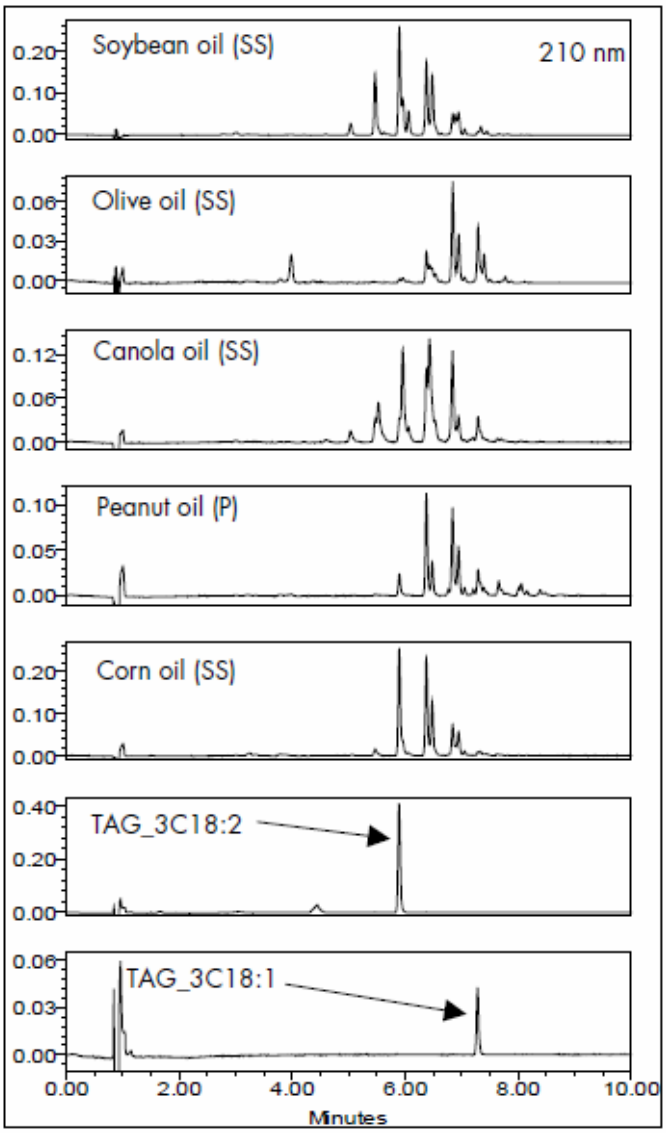


図1に大豆油・オリーブ油・菜種油・ピーナッツ油・コーン油と2種のTAG標準サンプルのPDAクロマトグラムを示します。カラムとグラジエント条件はメソッド1を使用しており、分析時間は10分です。いずれの種油も固有のクロマトグラムパターンを示し、識別と同定を目的として分析可能であることがわかります。[14)]

これらのクロマトグラムのパターンは、非水系逆相HPLCで分析した場合と似ています。9),10)しかしながらUPLCを使用したこのクロマトグラムの方が分離度が高く、分析時間も1/3以下に短縮されています。

TAG_3C18:2とTAG_3C18:1が確認され、TAGの分離は脂肪酸の鎖長と不飽和結合の数に基づくことがわかります。9),10)鎖長が短く不飽和結合の多いものは早く溶出されます。このメソッドで使用した溶媒はMSイオン化法にも適用できるので、分子量や構造に関する情報はLC/MS法が使用できると考えられます。

図2. 3種類の大豆油のPDAクロマトグラム(210nm)

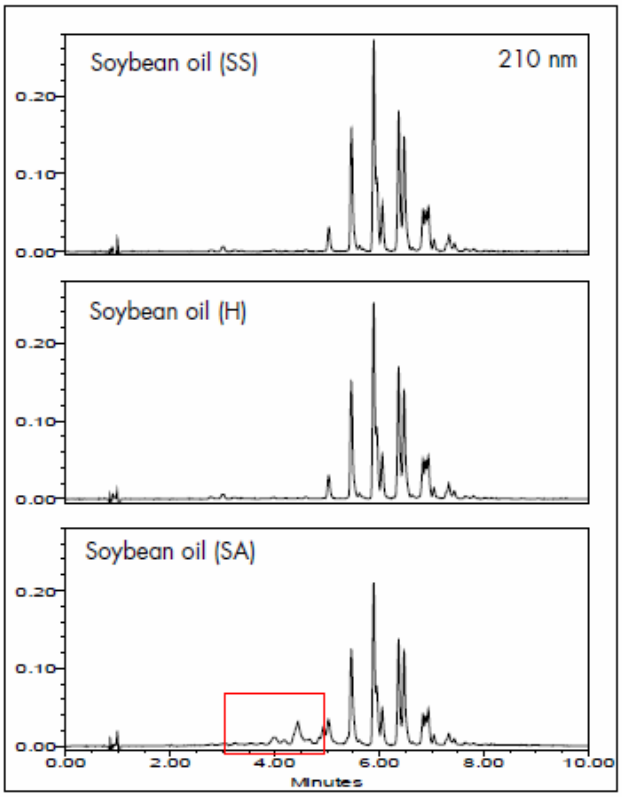


図2には210nmにおける3種類(SS,H,SA)の大豆油のクロマトグラムを示します。SS,H,SAは製造元の名前を表します。SSとHは大豆油に特有のパターンを示していますが、SAは保持時間3-5分に複数のピークが見られます。これらのピークは分解物と考えられ、品質を見極める指標と成ります。

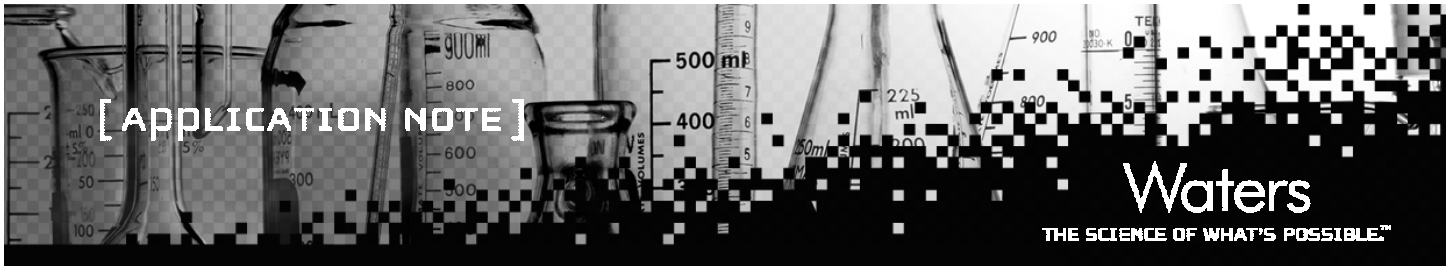


図3. 2種類の菜種油のPDAクロマトグラム (210nm)

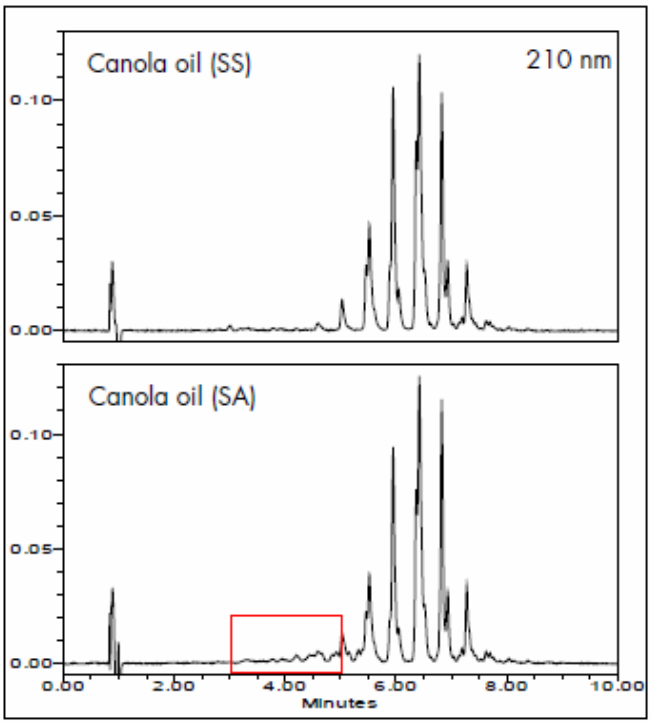
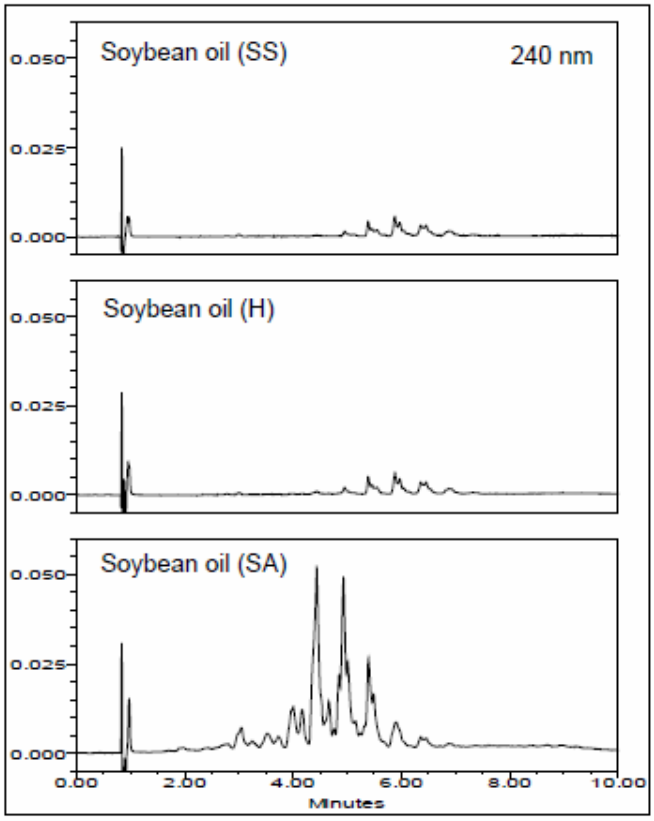


図3には2種類の製造元の異なる菜種油のクロマトグラムを示します。SAでは保持時間3-5分に分解物と考えられるピークが見られます。

図4. 3種類の大豆油のPDAクロマトグラム(240nm)



食用油は酸化、分解し腐敗します。酸化したTAGと分解したTAG(3つの二重結合を持つ脂肪酸)は240nmに吸収があります。
図4に、3種類の大豆油の240nmでのクロマトグラムを示します。SAはSSとHに比べ多くのピークが保持時間3-5分に検出されています。これは酸化物と分解物の存在を示しています。

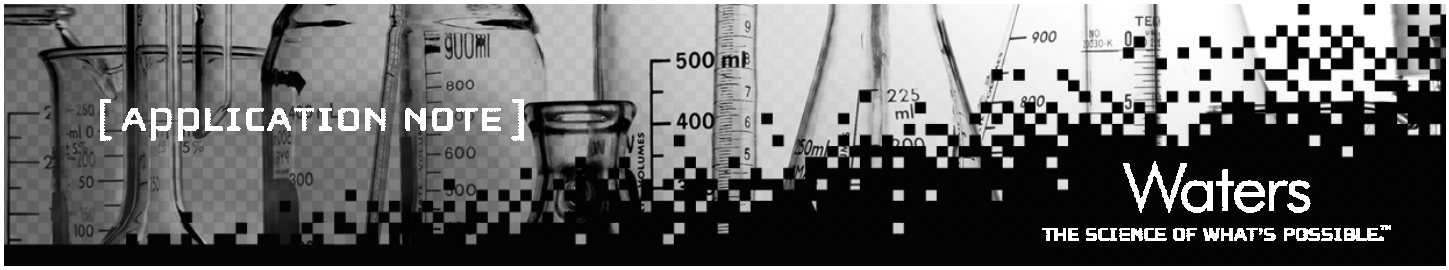


図5. 2種類の菜種油のPDAクロマトグラム(240nm)

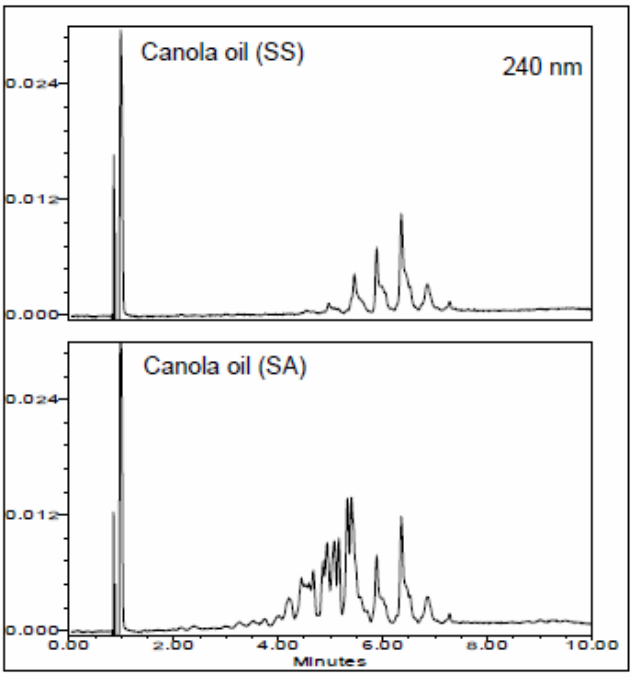


図6. メソッド2によるPDAクロマトグラム(210nm)

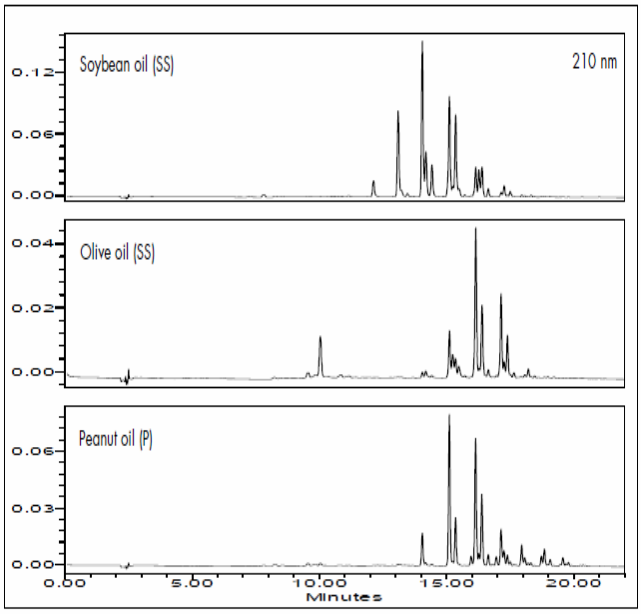


図5には2種類の菜種油の240nmにおけるクロマトグラムを示します。SAでは3-5分により多くのピークが見られ、酸化物と分解物の存在が示されています。

図6には長いカラム(150mm)を使用したメソッド2によるPDAクロマトグラムを示します。UPLC®で長いカラムを使用することにより、より高い分離能が得られます。このような高い分離能による分析法は産地や種の特定などにより有効であると考えられます。

参考文献

1. http://www.unitedsoybean.org/soystats2001/page_39.htm
2. J.R. Morello et al. *JAOCA, vol. 83*, no.8, 683-690, **2006**.
3. M.A. Brescia et al. *JAOCA, vol. 80*, no.10, 945-950, **2003**.
4. M.Paz Romero et al. *JAOCA, vol. 80*, no.5, 423-430, **2003**.
5. V.G. Dourtoglou et al. *JAOCS, Vol.80*, no.3, 203-208, **2003**.
6. http://www.thehindubusinessline.com/2003/06/10/stories/2003061000361100.htm
7. http://www.dpi.nsw.gov.au/aboutus/news/recent-news/agriculture-news-releases/aussie-oil-true-blue
8. http://www.unctad.org/infocomm/anglais/olive/sitemap.htm
9. P. Sandra et al. *J. Chromatogr. A 974*, 231-241, **2002**.
10. V. M. Kapoulas et al. *J. Chromatogr. 366*, 311-320, **1986**.
11. C.A. Dorschel, *JAOCS, Vol.79*, no.8, 749-753, **2002**.
12. M. Romeu-Nadal et al. Analytica Chimica Acta *513*, 457-461, **2004**.
13. LCGC, The Application Notebook, Sept 1, p51, **2006**.
14. P. J. Lee, C. H. Phoebe, A.J. Di Gioia, *ACQUITY UPLC Analysis of Edible Oil (Part 2): Olive Oil Quality & Adulteration*, Waters Corporation, Application Note, 2007.
15. P. J. Lee, A.J. Di Gioia, *ACQUITY UPLC/ELSD/UV One Methodology for FFA, FAME & TAG Analysis: Bio-diesel Fuels*, Waters Corporation, Application Note, 2007.

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™
日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10カトキチ新大阪ビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡