

## 植物油中のビタミンEの定量分析法

この定量分析法は、小麦胚芽油等に含まれるビタミンEの定量を必要とするものについて適用する。

### 1. 試験方法の概略

この定量分析法は、植物油中に含まれているビタミンEを定量する場合に適用し、次の手順に従って分析を行う。

なお、トコフェロール誘導体が添加されていると考えられる場合には、分離条件等を検討するか、あるいは、けん化等の前処理が必要となる。

高速液体クロマトグラフィーにより、標準トコフェロールを対照として分析試料中の $\alpha$ -、 $\gamma$ -、 $\beta$ -及び $\delta$ -トコフェロールを同定する。更に、分析試料中に使用する内標準物質が共存成分の影響を受けないことを確認する。

内標準法により、各トコフェロールを定量する。

### 2. 検量線用標準溶液の調製

#### (1) トコフェロール標準溶液<sup>(1)</sup>

$\alpha$ -、 $\gamma$ -、 $\beta$ -及び $\delta$ -トコフェロールをそれぞれ約25mg精ひょうし、ヘキサンに溶かして同一の100ml容褐色メスフラスコに移し入れ、ヘキサンで定容する。

注1) 分析試料中の各トコフェロール含有量に差がある場合は、標準トコフェロール量を調製する必要がある。

#### (2) 内標準溶液<sup>(2)</sup>

2、2、5、7、8 ペンタメチル-6-ヒドロキシクロマンあるいは2-メチル-2-フィチル-6-ヒドロキシクロマン約25mgを精ひょうし、ヘキサンに溶かして100ml容褐色メスフラスコに移し入れ、ヘキサンで定容する。

注2) 分析試料の分離を高速液体クロマトグラフにより確認し、共存成分の影響がない内標準物質を用いる。

#### (3) 検量線用標準溶液

トコフェロール標準溶液1ml、2ml、3ml及び5mlをホールピペットを用いてそれぞれ20ml容共栓付三角フラスコ<sup>(3)</sup>にとり、これに内標準溶液をホールピペットを用いて1mlずつ加える。それぞれの液量が約10mlになるようヘキサンを加える。

注3) 褐色又はアルミホイルで覆う。

### 3. 検液の調製

分析試料適量を20ml容共栓付三角フラスコ<sup>(3)</sup>に精ひょうし<sup>(4)</sup>、内標準溶液1mlをホールピペットを用いて加え、更に液量が約10mlになるようヘキサンを加え、ポアサイズ0.45μmのメンプランフィルターでろ過したものを高速液体クロマトグラフ用検液とする。

注4) 検液中のトコフェロール濃度(分析試料中のトコフェロール含有量が最大のもの)が、0.10mg/ml程度になるようにする。ビタミンEを添加していない植物油については、概ね0.2~0.6gである。ただし、分析試料中のトコフェロール量が微量の場合は、共存成分の影響が大きくなるので注意を要する。

### 4. 装置及び測定条件

4.1 高速液体クロマトグラフ 紫外吸光光度検出器(UV)を備えたもの。

#### 4.2 測定条件

分離カラム Shodex SIL-5B 4.6mm I.D. × 250mm 又はこれと同等のもの。

カラム温度 30

移動相 n-ヘキサン：イソプロパノール(100:1)

流速 1.0ml/min

検出波長 UV 300nm

注入量 20 μl

5. 検量線の作成 2.で調製した検量線用標準溶液を 20 μl ずつ、4.の条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入する。得られたクロマトグラムよりトコフェロール及び内標準物質のピーク面積を求める。

トコフェロールと内標準物質との重量比 ( $W_x/W_s$ ) 及びトコフェロールのピーク面積 ( $A_x$ ) と内標準物質のピーク面積 ( $A_s$ ) の比 ( $A_x/A_s$ ) から検量線を作成する。検量線は、- - - 及び - - - トコフェロールごとに作成する。

6. 試料中のトコフェロールの定量 3.で調製した検液 20 μl を、4.の条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入する。得られたクロマトグラムから各成分のピーク面積を求め、内標準物質と各トコフェロールとのピーク面積比を計算する。5.で作成した検量線から内標準物質と各トコフェロールとの重量比を算出する。

試料中の各トコフェロールの含有量は次式により算出する。

数値は、小数点以下第3位を四捨五入する。

$$(W_x/W_s) \times M_s$$

$$\text{各トコフェロールの含有量 (\%)} = \frac{(W_x/W_s) \times M_s}{S \times 1000} \times 100$$

ここで、

$W_x/W_s$  : 検量線より求めたトコフェロールと内標準物質の重量比

$M_s$  : 内標準溶液 1ml 中の内標準物質重量 (mg)

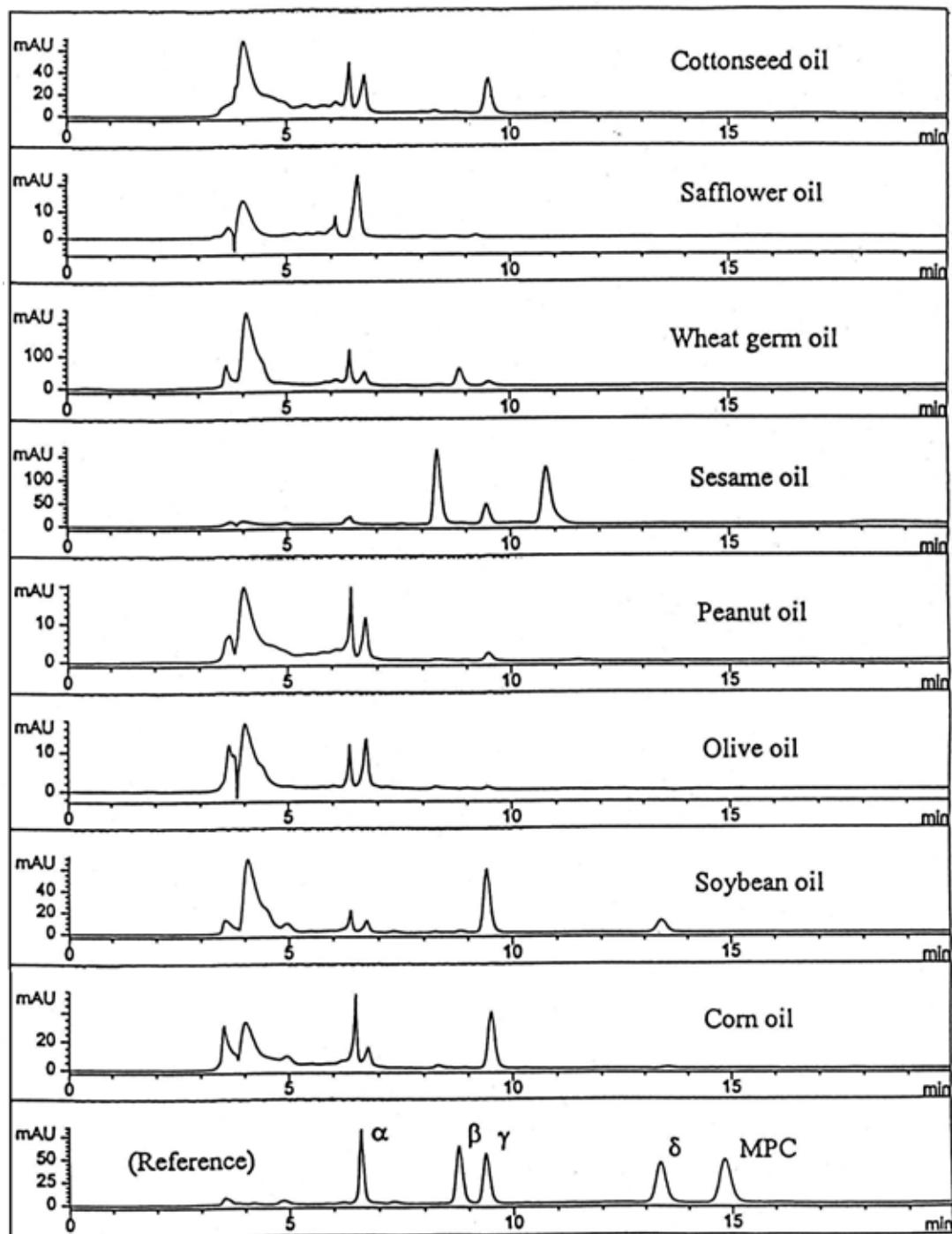
$S$  : 試料採取量 (g)

ビタミンE 含有量は、各トコフェロール含有量の総和として算出する。

数値は、小数点以下第2位を四捨五入する。

(参考1)

各種油脂の高速液体クロマトグラムの例



Column; SIL-5B 4.6mm\*250mm(30Cdeg)

Mobile Phase; n-Hexane:IPA(100:1) 1.0ml/min

Detector; UV 300nm