

菜種油中のエルカ酸の定量分析法

この定量分析法は、菜種油（低エルカ酸のもの）中に含まれるエルカ酸の定量を必要とするものについて適用する。なお、本分析法は菜種（低エルカ酸のもの）中の不揮発油に含まれるエルカ酸の定量にも適用する。

1. 試験方法の概略 この定量分析法は、菜種油（低エルカ酸のもの）中に含まれているエルカ酸を定量する場合に適用し、次の手順で行う。検体に既知量のエルカ酸を添加し、添加したエルカ酸を含め検体中の脂肪酸（エステル化及び遊離の脂肪酸）をメチルエステル化したのち、ガスクロマトグラフィーで内部標準法による検量線を作成し、試料に含まれているエルカ酸（エステル化及び遊離のエルカ酸の全量）を算出する。

2. 試薬及び装置

（1）硫酸 - ベンゼン - メタノール溶液

ベンゼン (JIS K 8858) - メタノール (JIS K 8891) = 1 : 3 (vol) 混合液 230ml に硫酸 (JIS K 8591) 2ml を注意して加える。

（2）三フッ化ホウ素 - メタノール溶液

三フッ化ホウ素 14%を含むメタノール溶液。市販品として 12.5%溶液もあり、同様に使用できる。また、市販の三フッ化ホウ素 - エーテル付加化合物を用いて調製しても良い。

（3）0.5mol/L 水酸化ナトリウム - メタノール試薬

水酸化ナトリウム 4g をメタノール 200ml に溶解したもの。不溶物がある場合は上澄を使用する。

（4）エルカ酸標準溶液

エルカ酸を約 200mg 精ひょうし、石油エーテルに溶かして 100ml 容メスフラスコに移し入れ、石油エーテルで定容する。

（5）内標準溶液

Undecanoic acid (C_{11} acid)⁽¹⁾を約 200mg 精ひょうし、石油エーテルに溶かして 100ml 容褐色メスフラスコに移し入れ、石油エーテルで定容する。

（6）ガスクロマトグラフ

水素炎イオン化検出器を備えたもの

（7）ガスクロマトグラフ用カラム

脂肪酸メチルエステル化物の分離に適したもの（例えば、DB-WAX 内径 0.25mm、長さ 30m、液相厚 0.25 μ m）

（8）ガスクロマトグラフの条件

オープン温度

内標準メチルエステル化物とエルカ酸メチルエステル化物が他の脂肪酸メチルエステル化物と良好に分離するように温度を設定する（例えば、150 (1min) - 10 /min - 250 (14min)）。

その他の条件

分析機器のその他の設定値等を分析に必要な最適条件にする。

注1) 分析試料の脂肪酸メチルエステル化物をガスクロマトグラフにより分離・確認し、共存成分の影響がない内標準物質を用いる。例えば、Tridecanoic acid (C_{13} acid) でもよい。

3. メチルエステル化 A法又はB法のいずれかにより、検量線用及び試料用の検体に含まれている脂肪酸

をメチルエステル化し、それぞれガスクロマトグラフ用検液とする。

(1) A法(硫酸-メタノール法)

検量線用検体

300mL 容なす型フラスコを4個用意し、それぞれに約 1g のトリグリセリド(トリステアリンやトリパルミチン)⁽²⁾を量り採る。2.で調製したエルカ酸溶液をそれぞれ 5mL、10mL、20mL 及び 25mL 加え、更に内標準溶液を 10mL ずつホールピペットで加える。ロータリーエバポレーターを用いて石油エーテルを除去し、検量線用の検体(4種類)とする。

試料用検体

試料約 1g を 300mL 容なす型フラスコに精ひょうし、2.で調製したエルカ酸溶液 10mL、内標準溶液を 10mL ずつホールピペットで加える。ロータリーエバポレーターを用いて石油エーテルを除去し、試料用の検体とする。

及び の検体に硫酸-ベンゼン-メタノール溶液を 60mL 加えて溶解し、フラスコに冷却器を付けて加熱、2.5 時間沸騰させたのち冷却する。分液ロートに移し、水 100mL を加える。エステル化物は石油エーテル 50mL で1回抽出し、ロータリーエバポレーターを使って約 2mL 程度に濃縮する。無水炭酸ナトリウム⁽³⁾を少量添加して、脱水・脱酸を行った後にガスクロマトグラフ用検液とする。

(2) B法(三フッ化ホウ素メタノール法)

検量線用検体

200mL 容なす型フラスコを4個用意し、それぞれに約 500mg のトリグリセリド(トリステアリンやトリパルミチン)⁽²⁾を量り採る。2.で調製したエルカ酸溶液をそれぞれ 3mL、5mL、10mL 及び 15mL 加え、更に内標準溶液を 10mL ずつホールピペットで加える。ロータリーエバポレーターを用いて石油エーテルを除去し、検量線用の検体(4種類)とする。

試料用検体

試料約 500mg を 200mL 容なす型フラスコに精ひょうし、2.で調製したエルカ酸溶液 5mL、内標準溶液を 10mL ずつホールピペットで加える。ロータリーエバポレーターを用いて石油エーテルを除去し、試料用の検体とする。

及び の検体に 0.5mol/L 水酸化ナトリウム-メタノール試薬 10mL を加え、冷却器を付けて、油滴が消失して均一な溶液になるまで(8~10分)水浴上で加熱する。その後冷却器上部から三フッ化ホウ素-メタノール試薬 10mL を加え、2分沸騰後、石油エーテル 2mL を加えさらにベンゼン⁽⁴⁾2mL を加える。1分沸騰後、冷却して分液ロートに移し、塩化ナトリウム飽和水溶液 50mL を加える。エステル化物は石油エーテル 50mL で1回抽出し、ロータリーエバポレーターを使って約 2mL 程度に濃縮する。無水硫酸ナトリウムを少量添加して、脱水後にガスクロマトグラフ用検液とする。

注2) と におけるメチルエステル化反応の条件を等しくするために、には菜種油の代わりに、トリグリセリドを A法では約 1g、B法では約 500mg 加える。なお、ガスクロマトグラフにより当該定量分析に影響がない脂肪酸組成を有するトリグリセリド(例えば、パームステアリンなど)でもよい。

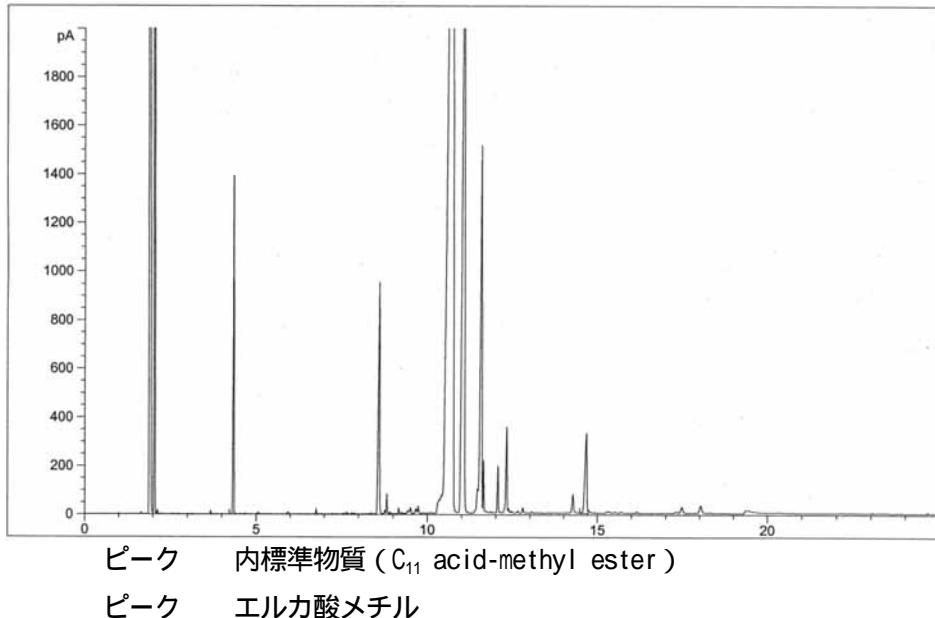
注3) メチルオレンジ指示薬で酸性を示さなくなるまで水で洗浄してもよい。

注4) 濃縮の際、脂肪酸エステル化物の析出を避けるため、ベンゼンを加えて溶解度を増加させる。

4. 検量線の作成 3.で調製した検量線用の検液を 1~1.5μL ずつ、ガス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内標準メチルエステル化物とエルカ酸メチルエステル化物のピーク面積を求める。

内標準物質とエルカ酸との重量比 (W_x/W_s) 及び内標準メチルエステル化物のピーク面積 (A_s) とエルカ酸メチルエステル化物のピーク面積 (A_x)との比 (A_x/A_s) から検量線を作成する。

(参考) ガスクロマトグラムの一例



分離カラム DB-WAX 30m × 0.25mm I.D. × 0.25μm FILM
 オープン温度 150 (1min) - 10 /min - 250 (14min)
 注入口及び検出器温度 250 、 FID 260
 キャリアガス流速 ヘリウム 1mL/min 定流量
 注入量 1~1.5μL
 スプリット 50:1

5. 試料中のエルカ酸の定量 3.で調製した試料用の検液 1~1.5μL を、4.と同様に設定したガス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内標準メチルエステル化物とエルカ酸メチルエステル化物のピーク面積を求め、内標準メチルエステル化物とエルカ酸メチルエステル化物とのピーク面積比を計算する。4.で作成した検量線から内標準物質とエルカ酸との重量比を算出する。

試料中のエルカ酸の含有量は次式により算出する(数値は、小数点以下第2位を四捨五入する。)。

$$\text{エルカ酸含有量 (\%)} = \frac{(W_x/W_s) \times M_s - \text{AddE}}{S} \times 100$$

ここで、

W_x/W_s : 検量線より求めたエルカ酸と内標準物質の重量比

M_s : 検体試料中の内標準物質重量 (mg)

AddE : 添加したエルカ酸 (mg)

S : 試料採取量 (mg)