

報 文

ガスクロマトグラフィーによる混合油脂の分離と定量 - 最小二乗法による混合割合の推定 -

宮 城 好 弘 , 川 端 省 三 , 井 上 昭 朗*

Quantitative Determination of Mixed Fat by Gas Chromatography using the Method of Least Squares

Yoshihiro MIYAGI , Shozo KAWABATA and Teruo INOUE*

* Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase Matsudo - Shi, Chiba - Ken, 271 Japan

Optimum conditions for separation of triglyceride composition in mixed fat of vegetable and animal fat by gas chromatography using column packed with Dextsil 300 GC were investigated. In the present investigations , the mixed ratio of butter fat and vegetable fat in prepared fats has been calculated by the method of least squares from the experimental data of relative peak ratios of triglyceride. Use of column packed with 0.55 gr of 100 to 120 mesh Chromosorb W AW DMCS coated with 3% Dextsil 300 GC gave good separation and reproducibility of triglyceride peaks. Triglyceride composition of prepared fat consist of butter fat and hydrogenated soya bean oil were determined, and the mixed ratio were calculated from the relative ratios of triglyceride peaks corresponds to a triglyceride characterized by its carbon number. The experimentally determined mixed ratios were identical to the theoretical values.

- Received Sep. 7, 1981 -

1 緒 言

混合油脂の定量については、関税率表の分類上から重要であり、特に、乳脂肪と他の油脂との混合調製品については、輸入制度の問題もあり、きわめて重要である。

乳脂肪と、他の油脂との混合割合の定量については、酪酸価から求める方法、油脂の構成脂肪酸をガスクロマトグラフィーによって分離し、脂肪酸の特徴的構成比から求める方法が検討されている¹⁾²⁾

また、出来ら³⁾⁴⁾は、DEXSIL 300GC を用いてトリグリセリドを、ガスクロマトグラフィーによって分離し、乳脂肪に、異種脂肪が混在する調製油脂の混合比を求める方法について検討している。

浅野ら⁵⁾は、DEXSIL 300GC をカラム充填剤として、各種油脂のトリグリセリドのガスクロマトグラムを報告している。

最近では、ガスクロマトグラフィーで、キャピラリーカラムを用いてトリグリセリドを分離して、混合油脂の混合割合を定量する方法が報告⁶⁾されている。

ここでは、カラム充填剤として、DEXSIL 300GC を用い、その最適分離条件を再検討するとともに、得られ

* 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

たクロマトグラムのピーク面積比から、最小二乗法⁷⁾を用いて、乳脂肪と異種脂肪の混合割合を求めることについて、検討したので報告する。

2 実 験

装置及びガスクロマトグラフィーの条件は、Table 1 に示す。

Table 1 Apparatus and analytical Conditions
Apparatus

Shimadzu Gaschromatograph 7AG

Detector : F.I.D

Column size : 3mm × 20cm (packed at 0.55g)

Column Packing : DEXSIL 300GC 1%, 2%, 3%

Support : Chromosorb WAE DMCS

(80 ~ 100 Mesh and 100 ~ 120 mesh)

Integrator : Shimadzu Chromatopac E1A

Parameter : SLOP.100, DRIFT.200, WIDTH.20,
MIN AREA 20,

Analytical Conditions

Flow rate : He 60ml / min (6kg / cm²)

H₂ 0.6kg / cm²

Air 0.5kg / cm²

Range : 8 × 10²

Column temperature : 240 ~ 360 °C / min

Injection temperature : 380

実験試料は、乳脂肪、大豆油、水素添加大豆油、ココア脂、パーム油、落花生油、ヤシ油を用いた。各試料は、2%の濃度になるように、クロロホルムに溶解したものを、0.4μl ~ 0.8μl 注入した。

各ピークは、トリグリセリドを構成する脂肪酸の、アシル基の総炭素数で示してある。

3 結果と考察

3.1 カラムの最適分離条件の検討

液相濃度 3% の、DEXSIL 300GC を用いて担体 (Chromosorb WAW DMCS) 粒度の影響を調べた。

担体粒度 80 ~ 100 メッシュのものでは、各ピーク間の分離が悪く、再現性も良くなかった。粒度を 100 ~ 120 メッシュと、細かくすると分離が向上した。

DEXSIL 300GC による、トリグリセリドの分離では、カラム温度を、360 °C という高温にまで上げるため、

液相の濃度が、分離能に影響することもあると考えられるので、液相濃度 1% 及び 2% のカラムについて、分離能を検討した。

液相濃度 1% のときは、カラム温度 350 °C 以下で、C₅₄ まで完全に分離できるが、炭素数の大きい、C₅₀ 以上で吸着現象がみられ、再現性が悪い。

液相濃度 2% のものでは、トリグリセリドの各ピークの保持時間が長くなり、3% 液相に比較して、相当するトリグリセリドの出現温度が高くなる傾向がある。

従って、ここでは、Table 1 に示すとおり、DEXSIL 300GC、3%、担体粒度 100 ~ 120 メッシュ (Chromosorb WAW DMCS) を 0.55g (約 20cm) 秤量してガラスカラムに充填したものを使用し、Table 1 に示した条件で分離した。この分離条件で、分離した油脂のガスクロマトグラムを Fig 1 から Fig 8 に示す。乳脂肪は、複雑なトリグリセリド組成をもつため、ベースラインに、やや乱れがあるが分離は良い。

大豆油と水添大豆油とは、DEXSIL 300GC が、シリコーンポリマー系の無極性液相であるため、出現するピークは、トリグリセリドを構成する脂肪酸のアシル基の炭素数の総和の順に出現することから、両者のクロマトグラム及び各ピークの相対面積比には差がなかった。

乳脂肪について、7 回のくり返し測定による、各ピークの相対面積比の最高値、最低値、分析値の副、平均値及び変動係数を Table 2 に示した。すなわち、変

Table 2 Reproducibility of relative ratio of peak area

C-number of Tri-glyceride	maximum (1)	minimum (2)	range (1)-(2)	average $\bar{x} = 7$	variable of Coef.
C ₃₀	1.86	1.80	0.06	1.83	1.19
C ₃₂	3.46	3.39	0.07	3.42	0.75
C ₃₄	7.05	6.93	0.12	6.97	0.68
C ₃₆	12.95	12.78	0.17	12.86	0.47
C ₃₈	15.60	15.44	0.16	15.53	0.37
C ₄₀	12.72	12.59	0.13	12.64	0.38
C ₄₂	8.61	8.50	0.11	8.55	0.46
C ₄₄	7.21	7.08	0.13	7.15	0.65
C ₄₆	6.74	6.62	0.12	6.70	0.70
C ₄₈	6.70	6.62	0.08	6.66	0.53
C ₅₀	7.49	7.37	0.12	7.42	0.62
C ₅₂	6.02	5.89	0.13	6.00	0.89
C ₅₄	2.27	2.14	0.13	2.21	2.20

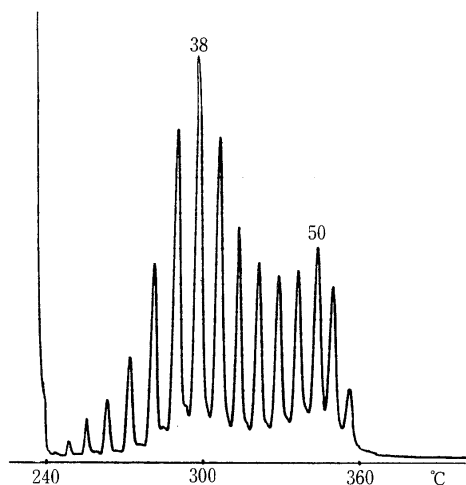


Fig.1 Gas chromatogram of milk fat

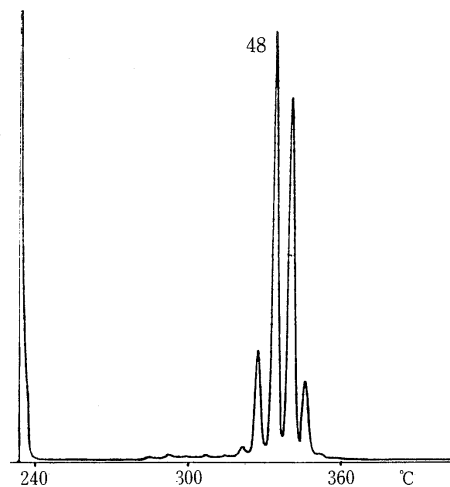


Fig. 3 Gas chromatogram of palm oil

Column: DEXSIL 300GC , 3 % 20cm × 3mm ,
 Chromosorb W AW DMCS (100 ~ 120mesh)
 Column Temperature : 240 ~ 360 , 6 / min
 Injection temperature : 380
 Detector : FID (8×10^2)
 Sample size : 0.6 μ l

GC conditions same as shown in Fig. 1

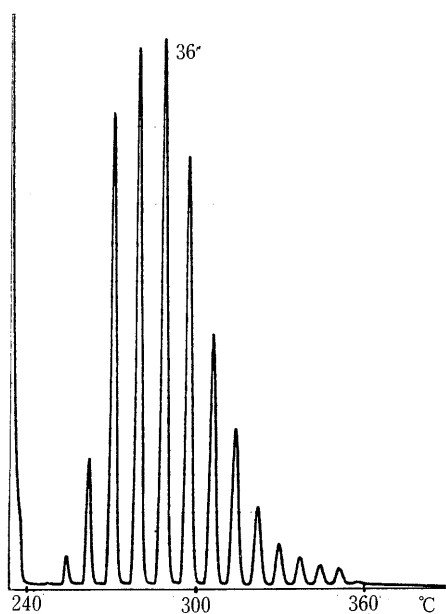


Fig. 2 Gas chromatogram of coconut oil

GC conditions : Same as shown in Fig. 1

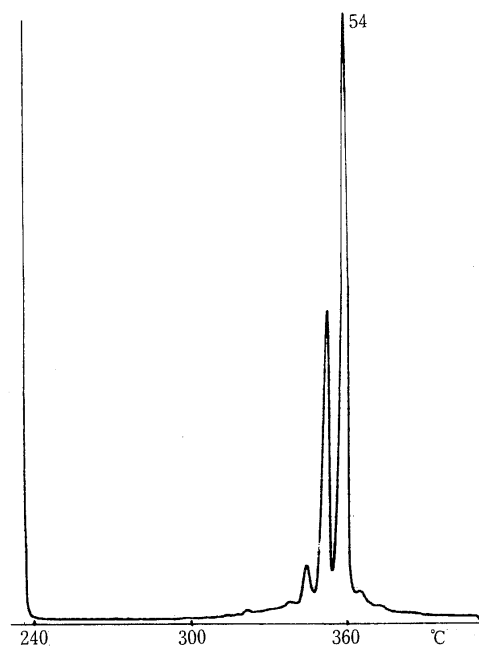


Fig. 4 Gas Chromatogram of hydrogenated soya bean oil

GC Conditions : Same as shown in Fig. 1

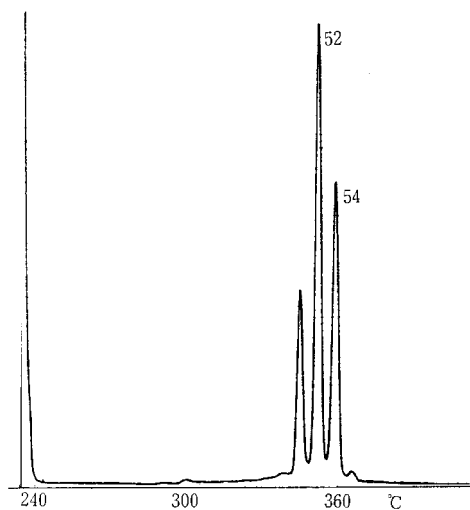


Fig. 5 Gas chromatogram of cocoa fat

GC conditions : Same as shown in Fig. 1

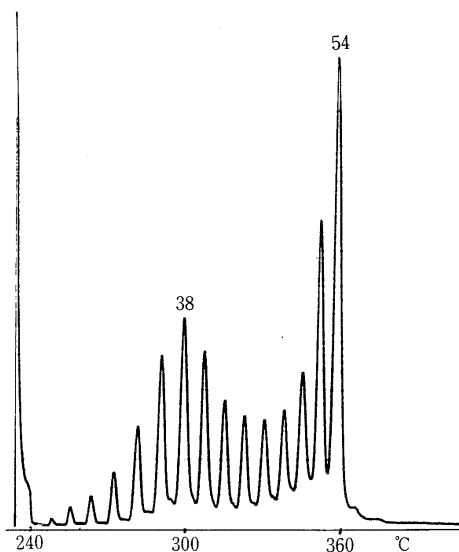


Fig. 7 Gas chromatogram of mixed fat

GC conditions : Same as shown in Fig. 1

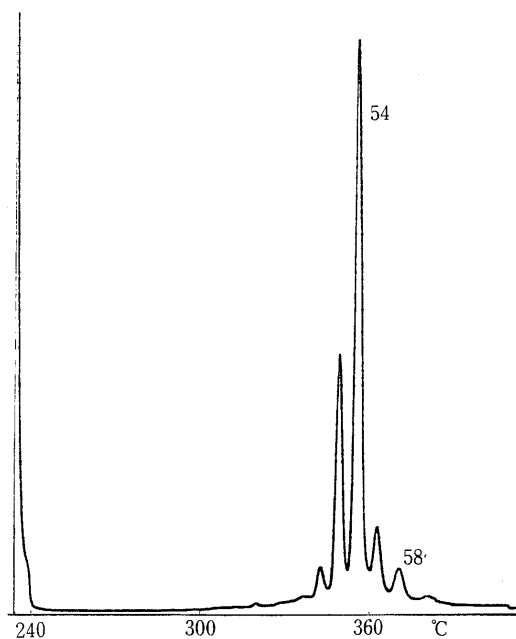
Composition : Milk fat 70% hydrogenated
soya bean oil 30 %

Fig. 6 Gas chromatogram of peanut oil

GC conditions : Same as shown in Fig. 1

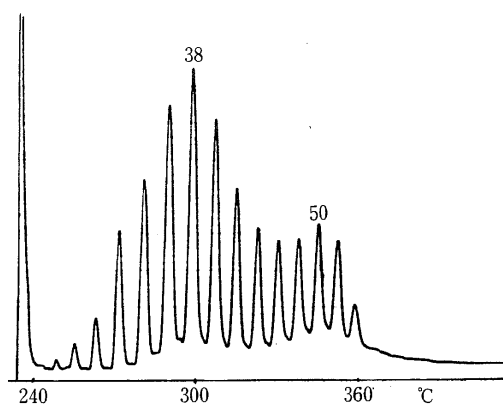


Fig. 8 Gas chromatogram of mixed fat

GC conditions : Same as shown Fig. 1

Composition : Milk fat 70 %
coconut oil 30 %

動係数をみると C_{30} で 1.19, C_{54} で 2.20 となっており, ピーク強度の低い領域では, 変動係数は, 1 以上とやや大きくなっているが, $C_{32} \sim C_{50}$ においては, 変動係数は, 1.0 以下となっており, 再現性が良いことを示している。

ピーク面積は, Shimadzu Chromatopac E1A によって測定したものである。

3. 2 二種混合油脂の定量

乳脂肪と水添大豆油の混合調製品の場合, 両者のトリグリセリド組成には, 大きな相違があることから, 両者の特徴的なピークの挙動を利用して定量できることが考えられる。すなわち, 水添大豆油のトリグリセリドのガスクロマトグラムでは, C_{46} までは, ピークがみられず, $C_{48} \sim C_{54}$ のピークが現れ, それぞれの相対強度は, $C_{56} 4.14\%$, $C_{52} 31.36\%$, $C_{54} 60.04\%$ となっており, C_{54} が最も大きい値を示している。これに対し, 乳脂肪では, Table 2 に示したように, C_{38} に最大ピークをもち, 水添大豆油で強度の大きい C_{54} のピークの相対強度は, 2.21% と小さく値を示している。このことは, 乳脂肪に少量の水添大豆油が添加された場合でも, C_{54} のピーク強度に対する寄与は, 大きいものと考えられる。両油脂を, 各種割合で混合したガスクロマトグラムから C_{54} の相対面積比と, 乳脂肪に対する水添大豆油の混入割合を, グラフ上にプロットした結果を Fig. 9 に示した。この回帰直線は, $y = 1.726x - 4.562$ で表わされ, 相関係数 $R = 0.9996$ と良好な検量線が得られる。

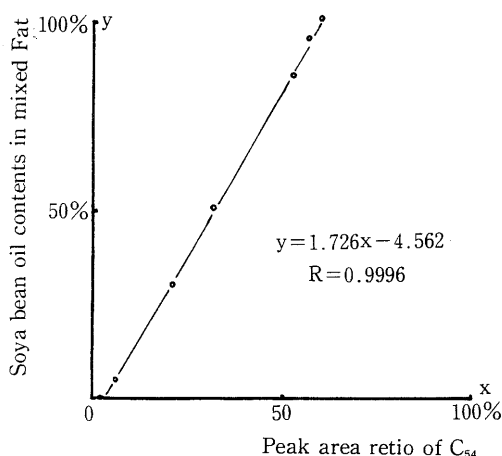


Fig. 9 Calibration curve of soya bean oil

しかし, この方法では, 混合された油脂のトリグリセリド分布に大きな差がある場合には, 有効であるが, 混合された油脂相互のトリグリセリド組成に, 大きな差がない場合には, 適用できず, また, 再現性にも問題がある。

そこで, われわれは, 最小二乗法を用いた二種混合油脂の混合割合の定量について検討した。

水添大豆油(a)と乳脂肪(b)の分析値を, それぞれ, $X_{a1}, X_{a3} \dots, X_{b1}, X_{b2}, X_{b3} \dots$ として両者の混合物の分析値を, $y_1, y_2, y_3 \dots$ とすると, これらの関係は, 次の重回帰モデルで表わされる。

$$y_1 = 0 + {}_1X_{a1} + {}_2X_{b1} + {}_1$$

$$y_2 = 0 + {}_1X_{a2} + {}_2X_{b2} + {}_2$$

$$y_3 = 0 + {}_1X_{a3} + {}_2X_{b3} + {}_3$$

⋮

$$y_i = 0 + {}_1X_{ai} + {}_2X_{bi} + {}_i$$

0 は, 定数, ${}_1$ 及び ${}_2$ は, 偏回帰係数, ${}_i$ は, 残差 (又は誤差) である。 ${}_1$ 及び ${}_2$ は, y_i に対する x_a 及び x_b の寄与度を示すもので, これらの値から, 二種の油脂の混合割合の推定を行うことができる。 C_{54} のピーク面積比から, 混合割合を求める先の定量方法では, 乳脂肪と水添大豆油との C_{54} の和で表わされているが, 重回帰法では, 全ピークについて考慮している。

$\sum y_i^2$ を最小とする ${}_1, {}_2$ は, 最小二乗法の理論から, 次式で求められる。

$$\beta_1 = \frac{\sum y_i \sum x_{bi} - \sum x_{bi} \sum y_i}{\sum x_{ai}^2 - (\sum x_{ai})^2 / n}$$

$$\beta_2 = \frac{\sum y_i \sum x_{ai} - \sum x_{ai} \sum y_i}{\sum x_{bi}^2 - (\sum x_{bi})^2 / n}$$

ただし

$$\sum x_{ai}^2 = \sum x_a^2 - \frac{(\sum x_a)^2}{n}, \quad \sum x_{bi}^2 = \sum x_b^2 - \frac{(\sum x_b)^2}{n}$$

$$\sum x_{ai} x_{bi} = \sum x_a x_b - \frac{(\sum x_a)(\sum x_b)}{n},$$

$$\sum y_i x_{ai} = \sum x_a y - \frac{(\sum x_a)(\sum y)}{n}$$

$$\sum y_i x_{bi} = \sum x_b y - \frac{(\sum x_b)(\sum y)}{n}$$

計算に用いるデータは, 水添大豆油(a), 乳脂肪(b) 及び両者の混合調製品(y)について, ガスクロマトグラ

Table 3 Table for calculation

	x_a	x_b	y	x_a^2	x_b^2	x_axb	x_ay	x_by
C ₃₀		1.83	1.38		3.35			2.53
C ₃₂		3.42	2.59		11.70			8.86
C ₃₄		6.97	4.94		48.58			34.43
C ₃₆		12.86	9.25		165.38			118.96
C ₃₈		15.53	11.32		241.18			175.80
C ₄₀		12.64	9.25		159.77			116.92
C ₄₂		8.55	6.08		73.10			51.98
C ₄₄		7.15	5.04		51.12			36.04
C ₄₆		6.70	4.69		44.89			31.42
C ₄₈	0.64	6.66	4.66	0.41	44.36	4.26	2.98	31.04
C ₅₀	4.14	7.42	5.94	17.14	55.06	30.72	24.59	44.07
C ₅₂	31.36	6.00	12.72	983.45	36.00	188.16	398.90	76.32
C ₅₄	60.04	2.21	20.83	3604.80	4.88	132.69	1250.63	46.03
Σ	96.18	97.94	98.69	4605.80	939.37	355.83	1677.10	774.40
$n=13$	Σx_a	Σx_b	Σy	Σx_a^2	Σx_b^2	Σx_axb	Σx_ay	Σx_by

$$\beta_1 = \frac{939.37 \times 1677.10 - 355.83 \times 774.40}{4605.80 \times 939.37 - (355.83)^2} = 0.3095$$

$$\beta_2 = \frac{4605.80 \times 774.40 - 355.83 \times 1677.10}{4605.80 \times 939.37 - (355.83)^2} = 0.7071$$

フィーによって分離されたトリグリセリドのピーク面積比を測定して、それぞれ、 x_a , x_b , y として上記の式から、 β_1 , β_2 を求める。

実際の計算方法及び結果を Table3 に示す。

ここで、 $\beta_1 + \beta_2 = 1$ であるから、按分して%に換算すると、次のようになる。

a 成分 = $0.3095 / 1.0166 \times 100 = 30.4\%$

b 成分 = $0.7071 / 1.0166 \times 100 = 69.6\%$

a 成分(水添大豆油)30.4%, b 成分(乳脂肪)69.6

%と混合割合が推定される。

両者の実際の混合割合は、それぞれ、30.2%及び69.8%であり、計算値とよく一致する。

水添大豆油と乳脂肪を、各種割合で混合し、上記と同様にガスクロマトグラムの相対面積比から計算した結果を Table 4 に示した。

各混合割合においても、定量値は、理論値に対し、ほぼ1%の誤差範囲であり、本法が、混合油脂の分析法として利用できることを示した。

Table 4 Analitical results of mixed Fats.

Ratio of mixed Fat (theoretical)	Milk Fat	5.1%	15.2%	50.2%	69.8%	94.8%
	Hydrogenated Soya bean oil	94.9%	84.8%	49.8%	30.2%	5.2%
Determined (Found)	Milk Fat	6.0%	14.1%	51.5%	69.6%	94.2%
	Hydrogenated Soya bean oil	94.0%	85.9%	48.5%	30.4%	5.8%

4 要 約

カラム充填剤に DEXSIL 300GC を用いたガスクロマトグラフィーにより、動植物油脂の最適分離条件を検討した。

分離されたクロマトグラムピークの面積比から、二種混合油脂の混合割合を、最小二乗法を導入することによって推定した。

DEXSIL 300GC による分離は、固定相担体の粒

度 100 ~ 120 メッシュ (Chromosorb W AW DMCS)、固定相液相濃度 3 % 及びカラム充填量 0.55g の条件で分離が良く、ピークの再現性もよかった。

標準試料として調製した水添大豆油と乳脂肪の混合油脂について、ガスクロマトグラフィーにより、分離したピークの相対面積比から最小二乗法を用いて、それぞれの混合割合を推定したところ、定量値と理論値はよく一致した。

文 献

- 1) J . B . Rosse , V. Versnel , D . M . Van Dijk : Neth.Milk Dairy J . , **23** , 89 , (1969).
- 2) 今村正男 , 新谷助 , 高木嘉寿子 , 松本太郎 : 油化学 , **16** , 618 , (196p).
- 3) 出来三男 , 加藤時信 , 蒲谷恭一:本誌 , **12** , 11 , (1972)
- 4) MDEKI , T. KATO , and M. YOSHIMURA : 本誌 , **15** , 105 , (1975)
- 5) K . Grob Tr. , H . P . Hewkom , R . Bahaglia : TAOCS , **57** , 282 , (1980)
- 6) 浅野成子 , 達家清明 : 本誌 , **15** , 141 , (1975)
- 7) 奥野忠一 , 久米均 , 芳賀敏郎 , 吉澤正 : 多変量解析法 , (日科技連) 25 (1979)