

ノート

ガスクロマトグラフィーによるトリグリド分離用カラムの比較

笹 川 邦 雄 , 大 野 幸 雄

Comparison of Packed Columns for Separation and Determination of Triglycerides by Gas Chromatography

Kunio SASAKAWA and Yukio OHNO*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

For the development of practical column for determination of milk fat in prepared fats by gas chromatography, comparisons of separabilities of triglycerides components of milk fat and hydrogenated soybean oil, reproducibilities of relative peak intensities of triglycerides in both single and mixed states and analytical results of milk fat content in prepared fat using columns packed with OV-1, 1% and 3% on Uniport HP (80~100mesh) together with DEXSIL 300 GC, 3% on Chromosorb W AW DMCS (100~120 mesh) which has been used for this purpose hereto, were investigated.

Among these columns, OV-1, 1% column showed better reproducibilities of each peak intensity and could be applied to the determination of milk fat in the prepared fat having wide range of milk fat contents.

It was also found that OV-1, 1% column was a practical one in the sense of applicability at lower column temperature (210~340) compared with that of DEXSIL 300 GC column.

- Received Aug. 31, 1983 -

1 緒 言

乳脂肪を含有する調製油脂の組成分析は、現行関税率表上の分類、及び我が国の輸入制度との関係もあって極めて重要な問題である。したがって調製油脂中の乳脂肪と他の油脂との混合割合の定量法に関してはこれまで種々の方法が検討されている。すなわち、酪酸価から求める方法^{1),2)}、油脂の構成脂肪酸をガスクロマトグラフィーで分離し、脂肪酸の特徴的構成比から求める方法³⁾、あるいはトリグリセリドを直接ガスクロマトグラフィーで分離する方法

⁴⁾⁵⁾⁶⁾などが報告されている。

ガスクロマトグラフの性能向上により、トリグリセリドを前処理せずに直接ガスクロマトグラフに導入できるようになってから、トリグリセリド分離定量法は簡便な方法としてよく行われている。しかし、分離定量に用いるカラム充填剤のほとんどは、DEXSIL 300 GCで、測定温度も例えば240~360 と高く⁶⁾、カラムの安定性、ガスクロマトグラフへの重負荷の問題もあってより緩和な分析条件で測定できる充填剤も期待されている。

ここでは、DEXSIL 300 GC カラムの分離性能を推持し、かつ、より低温で使用できるカラムとして

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

OV-1 を選び DEXSIL 300GL との比較を行った結果, OV-1 (1%) も分離定量用カラムとして実用的であることが判明したので報告する。

2 実験方法

2・1 試料

乳脂肪 (ニュージーランド産) 及び水添大豆油 (ニュージーランド産) を標準品とし, 乳脂肪が 70%, 50%, 30% になるように混合して, これを調製油脂とした。

ガスクロマトグラフ注入用試料溶液は, 標準品と調製油脂をそれぞれ 1% 程度の濃度になるようクロロホルムに溶解した。なお, 測定したガスクロマトグラムの各ピークはトリグリセリドのアシル基炭素数で示してある。

2・2 装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ: 島津 GC-7A 型 (検出器: FID)

カラム:

- (a) DEXSIL 300 GC (3%), クロモソルブ WAW DMCS (100~120 メッシュ) 0.6g を内径 3mm, 長さ約 30cm のガラスカラムに充填したもの。
 - (b) OV-1 (1%), ユニポート HP (80~100 メッシュ) 0.6g を内径 3mm, 長さ約 30cm のガラスカラムに充填したもの。
 - (c) OV-1 (3%), ユニポート HP (80~100 メッシュ) 0.6g を内径 3mm, 長さ約 30cm のガラスカラムに充填したもの。
- これらのカラムは, 使用に先立ち分析条件において十分空焼きを行った後に使用した。

積算計: 島津クロマトパック E1A,

パラメーター: Drift200 μ V/min. Width20sec., Min. Area20 μ V. sec., Slope 140 μ V/min.

ガス流量: ヘリウム 60ml/min., 水素 0.6kg/cm², 空気 0.5kg/cm²

カラム及び注入温度: 使用するカラムにより次の条件とし, 昇温速度はいずれも 6 /min. にした。

	カラム温度(°C)	注入口温度(°C)
DEXSIL 300 GC	230 ~ 360	380
OV-1 (1%)	210 ~ 340	360
OV-1 (3%)	210 ~ 340	360

3 結果及び考察

3・1 乳脂肪のガスクロマトグラム

DEXSIL 300 GC, 液相濃度 1% と 3% の OV-1 カラムによる乳脂肪のガスクロマトグラムを Fig.1, Fig.2, 及び Fig.3 に示す。DEXSIL 300 GC カラムの場合は, 乳脂肪に特徴的に出現する奇数ピークの分離の点で, OV-1 カラムより良好であるが, 全体のパターンはいずれのカラムでも大差はみられず, 偶数ピークはそれぞれ良く分離している。一方, アシル基炭素数 C₅₄ ピークの出現温度は, DEXSIL 300 GC カラムでは, 355 であるのに対し, OV-1 (3%) カラムでは, 340 で 1 分間保持後に出現し, また, OV-1 (1%) カラムでは, 330 で出現する。したがって, 乳脂肪の各ピークが同じように分離される条件をみた場合には, OV-1 カ

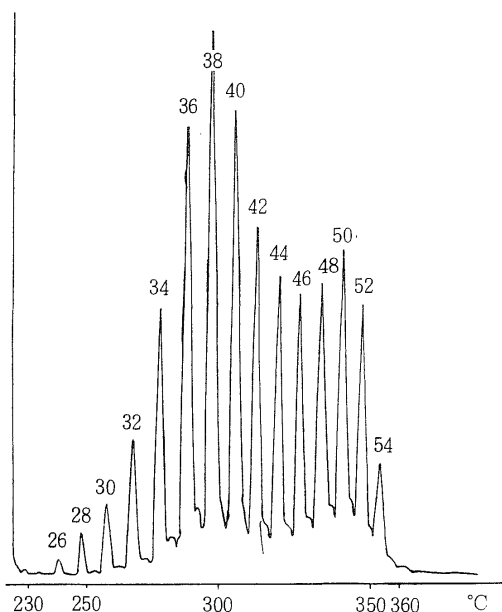


Fig.1 Gas chromatogram of milk fat
Column: DEXSIL 300 GC, 3%
Column Temp.: 230 ~ 360 (6 /min.)

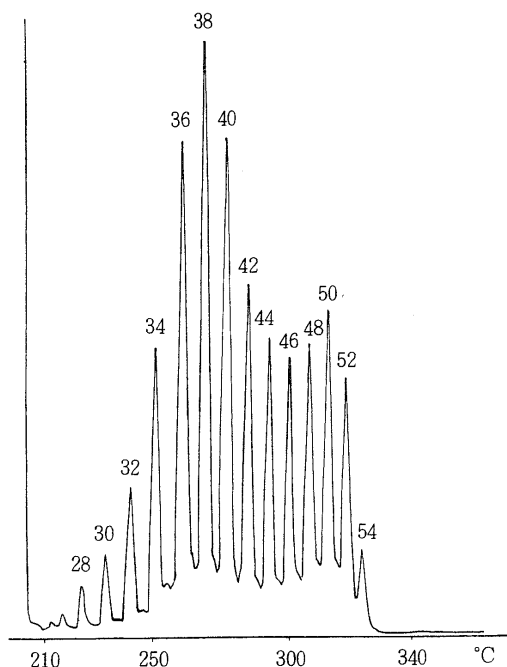


Fig.2 Gas chromatogram of milk fat
Column : OV - 1, 1.1%
Column Temp. : 210 ~ 340 (6 /min.)

ラムは, DEXSIL 300 GC カラムよりも, より低温での測定が可能であるといえる。

また, 水添大豆油のトリグリセリドを構成する主要なアシル基炭素数は, C_{50} , C_{52} , C_{54} であるので, 水添大豆油の測定温度も乳脂肪の場合と同様である。

3・2 再現性

各カラムによるガスクロマトグラムの再現性を分離されたピークの相対面積比の再現性で比較検討した。

すなわち, DEXSIL 300 GC, 液相濃度 1% と 3% の OV - 1 カラムを用い, 一定条件に設定したガスクロマトグラフに, 水添大豆油, 乳脂肪が 70%, 50%, 30% になるように水添大豆油を混合した調製油脂, 乳脂肪の順にくり返し注入し, 分離した各ピークの相対面積比を積算計により求めた。DEXSIL 300 GC カラムでは 9 回ずつ, OV - 1 カラムでは 7 回ずつくり返し測定した時の各ピークの平均値及び標準偏差

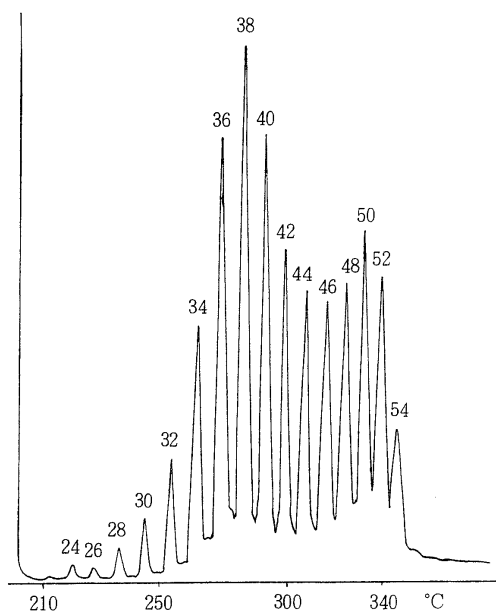


Fig.3 Gas chromatogram of milk fat
Column : OV - 1, 3%
Column Temp : 210 ~ 340 (6 /min.)

を Table 1, Table 2 及び Table 3 に示す。

乳脂肪の各ピークの標準偏差は, DEXSIL 300 GC カラムが, 0.10 ~ 0.46, OV - 1 (1%) カラムでは, 0.09 ~ 0.85, OV - 1 (3%) カラムでは, 0.05 ~ 0.12 というずれのカラムでも小さく再現性は良い。特に OV - 1 (3%) カラムにおける各ピークの再現性は極めて良好であった。

水添大豆油の各ピークの標準偏差を, 乳脂肪と比較すると DEXSIL 300 GC カラムでは, 0.32 ~ 0.87, OV - 1 (3%) カラムでは, 0.12 ~ 0.48 とやや大きくなっているが, OV - 1 (1%) カラムでは, 0.08 ~ 0.82 とほとんど変わらない。

Fig.4 は, 充填剤の種類による乳脂肪と水添大豆油のアシル基炭素数 C_{54} ピークの相対面積比の変動を示したものである。

水添大豆油のアシル基炭素数 C_{54} ピークの相対面積比は, 液相濃度 1% と 3% の OV - 1 カラムでは OV - 1 (3%) カラムの 5 回目の測定値を除けば(異常値とみる) ほぼ対応する傾向を示し, DEXSIL 300 GC カラムでは, OV - 1 カラムよりも相対的に

Table.1 Variations of triglyceride peak intensisy (DEXSIL 300 GC, 3%)

C-number of Tri- glyceride	Milk fat		Hydrogenated soy bean oil		Prepared fat ***					
					7 : 3		5 : 5		3 : 7	
	Average* $\bar{x} = 9$	St.Dev.**	Average*	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 9$	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 9$	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 9$	St.Dev.**
C ₃₂	3.52	0.14			2.71	0.14	2.12	0.31	1.58	0.26
C ₃₄	7.23	0.27			5.20	0.23	3.92	0.45	3.06	0.39
C ₃₆	13.28	0.37			9.05	0.33	6.83	0.64	5.14	0.62
C ₃₈	15.96	0.29			11.72	0.33	8.86	0.63	6.54	0.71
C ₄₀	12.81	0.17			9.12	0.18	6.66	0.31	4.51	0.40
C ₄₂	8.55	0.10			6.17	0.10	4.49	0.15	2.73	0.18
C ₄₄	7.06	0.13			5.05	0.16	3.44	0.10	2.20	0.11
C ₄₆	6.56	0.17			4.81	0.09	3.09	0.13	1.91	0.06
C ₄₈	6.49	0.21			4.85	0.09	3.41	0.06	2.11	0.12
C ₅₀	7.08	0.33	3.39	0.32	5.99	0.13	5.06	0.14	4.35	0.09
C ₅₂	5.39	0.46	30.53	0.87	12.25	0.32	16.87	0.60	21.17	0.58
C ₅₄	1.85	0.35	65.06	0.85	20.16	0.79	32.53	1.52	42.93	1.70

* : Average of relative peak intensities (9 measurement)

** : Standard deviation

*** : Mixture of milk fat and hydrogenated soy bean oil (7 : 3 , 5 : 5 , 3 : 7 respectively)

Table.2 Variations of triglyceride peak intensity (OV - 1, 1%)

C-number of Tri- glyceride	Milk fat		Hydrogenated soy bean oil		Prepared fat ***					
					7 : 3		5 : 5		3 : 7	
	Average* $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average* $\bar{x} = 7$	St.Dev.**
C ₃₂	3.65	0.25			2.53	0.05	1.92	0.11	1.24	0.13
C ₃₄	7.58	0.44			5.12	0.09	3.84	0.21	2.54	0.27
C ₃₆	14.00	0.69			9.85	0.28	7.14	0.12	4.49	0.37
C ₃₈	16.86	0.65			11.82	0.45	8.61	0.28	5.29	0.30
C ₄₀	13.34	0.38			9.40	0.43	6.66	0.20	3.93	0.18
C ₄₂	8.48	0.09			6.09	0.28	4.20	0.12	2.35	0.06
C ₄₄	6.83	0.13			5.03	0.24	3.36	0.12	1.85	0.03
C ₄₆	6.19	0.24			4.65	0.19	3.03	0.12	1.68	0.07
C ₄₈	6.10	0.38			4.58	0.15	2.93	0.09	1.54	0.06
C ₅₀	6.89	0.61	2.72	0.08	6.00	0.06	4.89	0.05	3.96	0.07
C ₅₂	5.18	0.85	29.94	0.82	12.41	0.30	17.39	0.45	22.02	0.32
C ₅₄	1.40	0.52	67.19	0.76	20.27	1.76	34.43	0.89	48.49	0.98

* : Average of relative peak intensities (7 measurement)

** : Standard deviation

*** : Mixture of milk fat and hydrogenated soy bean oil (7 : 3 , 5 : 5 , 3 : 7 respectively)

小さくなり ,OV - 1(1%) , OV - 1(3%) , DEXSIL 300 GC カラムの順に相対面積が減少し ,OV - 1(1%) カラムと DEXSIL300GL カラムとの平均値の差は , 約 2% である。これに対し , 乳脂肪のアシル基炭素

数 C₅₄ ピークの相対面積比は , DEXSIL 300 GC と OV - 1(1%) カラムでは , ほとんど一致するが , OV - 1(3%) カラムでは , 大きくなる傾向を示し OV - 1(3%) カラムと DEXSIL 300 GC や OV -

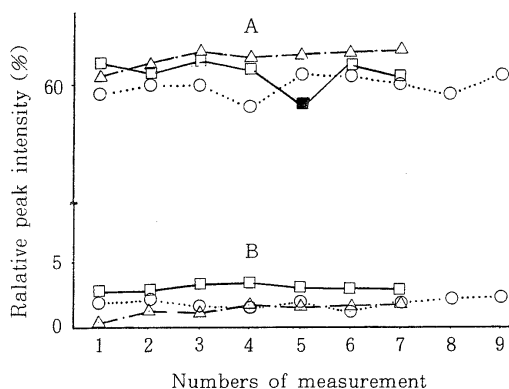
Table.3 Variations of triglyceride peak intensity (OV - 1, 3%)

C-number of Tri- glyceride	Milk fat		Hydrogenated soy bean oil		Prepared fat ***					
					7 : 3		5 : 5		3 : 7	
	Average * $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average * $\bar{x} = 6$	St.Dev.**	Average * $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average * $\bar{x} = 7$	St.Dev.**	Average * $\bar{x} = 7$	St.Dev.**
C ₃₂	3.52	0.05			2.44	0.10	1.82	0.26	1.09	0.13
C ₃₄	6.88	0.12			4.66	0.17	3.45	0.40	2.04	0.18
C ₃₆	12.69	0.07			8.57	0.19	6.34	0.60	3.68	0.30
C ₃₈	15.07	0.06			10.39	0.16	7.84	0.51	4.84	0.30
C ₄₀	12.12	0.05			8.17	0.09	5.89	0.29	3.37	0.14
C ₄₂	8.15	0.05			5.45	0.03	3.84	0.14	2.22	0.07
C ₄₄	6.86	0.05			4.56	0.03	3.12	0.06	1.77	0.05
C ₄₆	6.46	0.05			4.27	0.04	2.77	0.07	1.52	0.04
C ₄₈	6.56	0.05			4.35	0.04	2.81	0.08	1.58	0.06
C ₅₀	7.69	0.08	3.29	0.12	5.59	0.06	4.78	0.13	3.87	0.11
C ₅₂	6.68	0.10	28.03	0.48	13.22	0.17	17.46	0.67	21.42	0.55
C ₅₄	3.04	0.12	66.48	0.46	25.12	0.48	38.10	1.44	51.28	0.79

* : Average of relative peak intensities (7 measurement). Because of abnormal data appeared in No. 5 measurement, results of 6 measurement were adopted for calculation in the case of hydrogenated soy bean oil

** : Standard deviation

*** : Mixture of milk fat and hydrogenated soy bean oil (7:3, 5:5, 3:7 respectively)

Fig.4 Variations of C₅₄-triglyceride peak intensity

A : Hydrogenated soy bean oil

B : Milk fat

---○--- : DEXSIL 300 GC, 3%

---△--- : OV-1, 1%

—□— : OV-1, 3%

(■ : Abnormal data)

1 (1%) カラムを比較すると平均値の差は約 2 倍となっている。

乳脂肪や水添大豆油の分離された各ピークは、カラムの種類より見掛け上の相対面積比に差が生じて

くる。この傾向は組成の異なる調製油脂のアシル基炭素数 C₅₄ ピークではさらに強くなる。

Fig.5 に充填剤の種類による調製油脂のアシル基炭素数 C₅₄ ピークの相対面積比の変動を示す。

調製油脂のアシル基炭素数 C₅₄ ピークの相対面積比は、OV - 1 (3%), OV - 1 (1%), DEXSIL 300 GC カラムの順に減少する傾向を示している。この原因がカラム液相とグリセリド成分との相互作用によるものか、あるいは調製油脂中の成分間の相互作用によるものか現時点では明らかではない。

Table 1, Table 2 及び Table 3 から明らかのように乳脂肪を構成するトリグリセリドの主要ピークであるアシル基炭素数 C₃₆ から C₄₈ の各ピークの相対面積比は、乳脂肪の混合割合が異なっても充填剤による変動の差があまりないことから、乳脂肪の混合割合をアシル基炭素数 C₃₂ から C₅₄ の各ピークの相対面積比を用いて最小二乗法により求める場合、アシル基炭素数 C₅₄ ピークの変動が定量性に影響を及ぼすことが考えられる。

3・3 調製油脂中の乳脂肪の定量値の比較

DEXSIL 300 GC, 液相濃度 1% と 3% の OV - 1 カラムを用い 3・2 で求めたアシル基炭素数 C₃₂ から

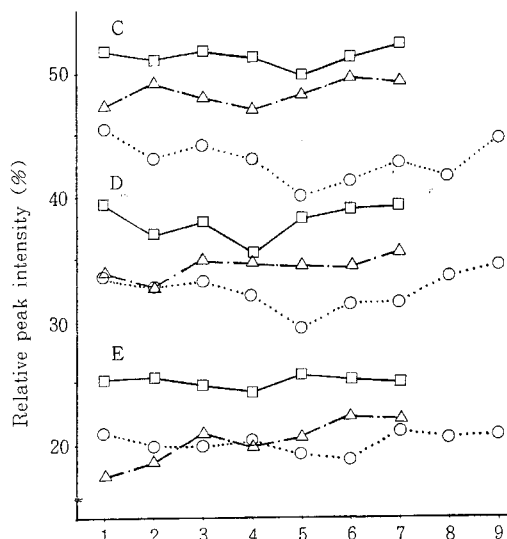


Fig. 5 Variations of C₅₄ - triglyceride peak intensity

C : Prepared fat (Milk fat :

Hydrogenated soy bean oil=7 : 3)

D : Prepared fat (Milk fat :

Hydrogenated soy bean oil=5 : 5)

E : Prepared fat (Milk fat :

Hydrogenated soy bean oil=3 : 7)

... : DEXSIL 300 GC, 3%

--- : OV - 1, 1%

- - : OV - 1, 3%

ら C₅₄ の各ピークの相対面積比を用い調製油脂中の乳脂肪の混合割合を最小二乗法により計算した結果を Table 4 に示す。

乳脂肪の含有量が 70 ~ 30% の範囲において、一般の傾向として DEXSIL 300 GC カラムでは、乳脂

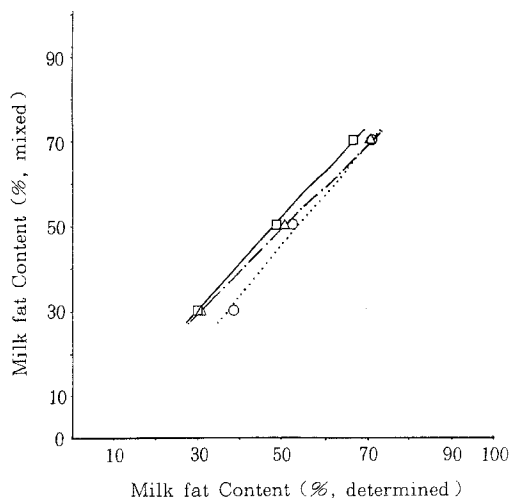


Fig.6 Correlations of analytical results

... : DEXSIL 300 GC

--- : OV - 1, 1%

- - : OV - 1, 3%

肪の定量値は、含有量が少なくなるほど混合値からの偏りや測定値のバラつきが大きくなる。OV - 1 (3%) カラムでは、DEXSIL 300 GC カラムとは逆で、定量値の変動係数は比較的小さいが、乳脂肪の含有量が高いほど混合値からの偏りが大きくなる傾向を示している。

これに対し、OV - 1 (1%) カラムでは、乳脂肪の含有量が少なくなると変動係数はやや大きくなるが、乳脂肪が 70 ~ 30% の範囲での定量値はほぼ混合値に近接した値を示し、定量用カラムとしての優位性を示している。Fig.6 に定量値と混合値の関係を示した。

このような充填剤の違いによる定量値の偏りは、

Table.4 Analytical results of prepared fats

Condition Prepared fat. Milk content (%)	DEXSIL 300 GC, 3 %			OV - 1, 1 %			OV - 1, 3 %		
	Average $\bar{x} = 9$	St.Dev.*	C.V.**	Average $\bar{x} = 7$	St.Dev.*	C.V.**	Average $\bar{x} = 6$	St.Dev.**	C.V.**
70	71.1	1.42	2.00	70.7	1.44	2.04	66.8	0.86	1.29
50	52.9	3.19	6.03	50.4	2.47	4.90	48.9	2.76	5.64
30	38.8	4.04	10.43	31.2	2.05	6.56	29.7	1.45	4.88

* : Standard deviation

** : Coefficient of variation

調製油脂におけるアシル基炭素数 C_{54} のピーク強度が大きく寄与しているものと推定される。すなわち、DEXSIL 300 GC カラムを用いた場合、アシル基炭素数 C_{54} のピーク強度は、OV - 1 より弱く、結果としてアシル基炭素数 C_{54} ピークを主体とする水添大豆油の含有量は減少し、乳脂肪の含有量が増加することになる。OV - 1 (3%) カラムでは、アシル基炭素数 C_{54} のピーク強度が強くなり、乳脂肪含有量は少なく計算される。

一方、OV - 1 (1%) カラムでは、このような現象は比較的少なく、定量値と混合値の回帰直線が $y = 1.01x - 1.40$ ($r = 0.9999$) で表され、乳脂肪が 70 ~ 30% の範囲で良好な定量結果が得られる。

また、測定温度が 210 ~ 340 であることもガスクロマトグラフへの負荷を軽減できるものであり実用的なカラムと考えられる。

4 要 約

乳脂肪を含有する調製油脂の実用的な分離定量用カラムの開発を意図し、これまで使われてきた DEXSIL 300 GC ,液相濃度 1%と 3%の OV - 1 カラムを用い乳脂肪及び水添大豆油のトリグリセリド成分の分離性、各ピークの再現性並びに乳脂肪と水添大豆油を種々の割合で混合した調製油脂について最小二乗法を用いた乳脂肪の定量性等の比較を行った。OV - 1 (1%) カラムは、ピーク強度の再現性が良好で種々の割合の調製油脂の分析に適用できる。また、測定温度は 210 ~ 340 と DEXSIL 300 GC カラムに比べると低温で分析でき、実用的なカラムとして利用できることが判明した。

文 献

- 1) J. B. Rosse, V. Versnel, D. M. Van Dijk : Neth. Milk Dairy J. , 23 , 89 (1969)
- 2) 越膳昭, 出来三男 : 本誌 , 15 111 (1975)
- 3) 今村正男, 新谷助, 高木嘉寿子, 松本太郎 : 油化学 16 , 618 (1969)
- 4) M. DEKI, T. KATO and M. YOSHIMURA : 本誌 15 105 (1975)
- 5) 出来三男, 加藤時信, 蒲谷恭一 : 本誌 12 , 11 (1972)
- 6) 宮城好弘, 川端省三, 井上照朗 : 本誌 22 , 1 (1981)