

ノート

油脂のトリグリセリドの第 2 位脂肪酸の分析

甲 田 正 人^{*}, 川 端 省 三^{**}

Determination of Fatty Acids in 2 - Position of Triglyceride

Masato KOTA ^{*} and Shozo KAWABATA ^{**}

^{*}Osaka Customs Laboratory

4-10-3 , Chikko, Minato-Ku, Osaka-shi, 552 Japan

^{**}Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

It is necessary to determine fatty acids in the 2-position of the triglycerides for classification of olive oils in Customs Taraiiff Schedule. In Explanatory Notes of Harmonized System, IUPAC method No.2.210 is designated as a method for the determination.

Principle of this method is constructed as follows ; (1) hydrolysis of triglycerides by pancreatic lipase, (2) separation of the formed monoglycerides by thin - layer chromatography, (3) methanolysis of these monoglycerides and analysis of these methyl esters by gas-liquid chromatography.

This method in general is applicable to analysis of various oils and fats in addition to the determination of fatty acids in the 2 - position of the triglycerides.

- Received April 15 1988 -

1 緒 言

国際統一分類 (HS) の導入に伴い, CCCN 税番 15. 07 号 - 6 のオリーブ油は, その組成等により HS 税番 第 15. 09 項, 第 15. 10 項又は第 1516. 20 号に分類されることとなった。

オリーブ油の分類に際しては, 関税率表解説第 15. 09 項 (2) における「リエステル化油が存在しないこと

は, トリグリセリドの第 2 の位置 (2 - position) でのパルミチン酸とステアリン酸の総量を定量することによって確認される (IUPAC method No.2210 6 th editon 1979 による。) 」との記載により, トリグリセリドの第 2 位の脂肪酸の定量が必要となった。

また, オリーブ油以外の油脂においてもインターエステル化等の化学的変性加工を行ったものは, 未変性のものと分類が異なるが, 第 2 位の脂肪酸組成によっ

^{*}大阪税関輸入部分析部門 552 大阪市港区築港 4-10-3

^{**}大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

てその判別を行うことができるものと考えられる。

著者らは、関税率表解説に指定された分析法 IUPAC method No. 2210 に基づいて、オリーブ油等数種の油脂について実験を行い、その分析法等について検討した。

2 実 験

試薬 オリーブ油（宮澤薬品），大豆油（和光純薬），牛脂・豚脂（林市次商店），カカオ脂（油？薬品）

インターエステル化カカオ脂（実験室で製造したもの）

輸入オリーブ油（3 種）

2.2 装 置

ガスクロマトグラフ：島津 GC - 7AG

カラム：DEGS 15% Chromosorb W AW DMCS

（80～100 メッシュ），3mm ϕ × 200cm

検出器：FID

カラム温度：200

注入口温度：230

2.3 実験方法

2.3.1 試料の調製

油脂の酸度を測定し、酸度が 3% 以下の場合はアルミナカラムを通して精製した。酸度が 3% を超える場合は、中和後、アルミナカラムを通した。

中和はまず粗油約 10g を分液ろ斗にとり、ヘキサン 100ml，2 - プロパノール 50ml，数滴のフェノールフタレイン溶液を滴下，油脂の遊離脂肪酸に対応して 0.3% 過剰の NaOH 溶液（120g / l）を加え、激しく振り動かした。次に、水 50ml を加え、再び振り、静置した。分液後下層を除去し、中間層の不溶性物質を除き、ヘキサン溶液を 2 - プロパノール 25～30ml で洗い、洗液がフェノールフタレインでピンク色に着色しなくなるまで洗った。減圧下、ロータリーエバポレーターでヘキサンを除いた。

アルミナカラムによる精製はまず活性アルミナ 15g をヘキサン 50ml に懸濁させ、カラムクロマトチューブに注ぎ込んだ。静置し溶剤が吸着剤上 1～2mm になるまでヘキサンを溶出させた。油脂 5g をヘキ

サン 25ml に溶かした液をカラムに注入し、溶出液をフラスコに集め、減圧下ロータリーエバポレーターでヘキサンを除いた。これを試料とした。

2.3.2 すい臓パーゼによる加水分解

遠心分離管に試料約 0.1g を入れた。これにリパーゼ懸濁液 2ml [リパーゼ 20ml / 1M トリス緩衝液 (pH 8) 2ml] を加え、振り動かした後、コール酸ナトリウム溶液 (1g / l) 0.5mg，CaCl₂ 溶液 (220g / l) 0.2ml を加えた。よく混合し、直ちにこれを 40 の恒温槽に置き、正確に 1 分間振り動かした。恒温槽からチューブを取り出し、正確に 2 分間電気振とう器でかくはんした。流水で冷却し、6N - HCl 1ml，ジエチルエーテル 1ml を加え、電気振とう器で混合して抽出した。遠心分離（3,000rpm × 10min）後、ジエチルエーテル層を採取した。

2.3.3 TLC によるモノグリセリドの分離

シリカゲル F プレート (E. Merck 社，厚さ 0.25mm) を用い，n - ヘキサン・ジエチルエーテル・ギ酸（70：30：1）を展開液として，2.3.2 で得たジエチルエーテル抽出物を展開した。

発色は，ヨウ素蒸気で行った。

2.3.4 GC によるモノグリセリドの分析

TLC のモノグリセリドのバンドをかき取り，シリカゲルをガラス管（パスツールピペットに綿栓をしたもの）につめ，アセトンで溶出させ，溶出液をエステル化用フラスコに取り，減圧下ロータリーエバポレーターでアセトンを除いた。次に，三フッ化ホウ素 - メチルアルコール法¹⁾により，メチルエステル化を行い，生成した脂肪酸メチルエステルを GC にて分離した。

3 結果及び考察

3.1 加水分解物の TLC

すい臓リパーゼによる加水分解物，トリグリセリド，ジグリセリド及び脂肪酸の TLC 分離図を Fig. 1 に示した。

油脂のトリグリセリドの第2位脂肪酸の分析

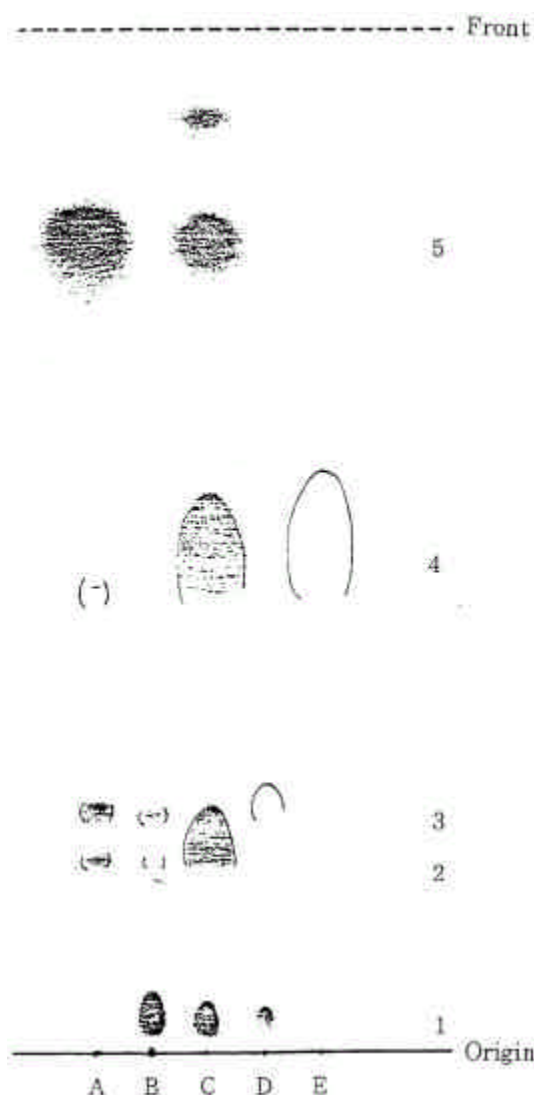


Fig. 1 Thin-layer chromatogram of glycerides etc.

A : Triolein B : Monoolein

C : Diethylether extract of pancreatic hydrolysate .

D : 1, 3 - Dilaurin E : Stearic acid

No.1 : Monoglyceride No.2 : 1, 2 - Diglyceride

No.3 : 1, 3 - Diglyceride No.4 : Fatty acid

No.5 : Triglyceride

モノグリセリドは原点よりやや上に分離され、他のものとの区別は容易であることが分った。実験条件で記した反応時間（3 分間）では、未分解のトリグリセリドが相当認められるが、反応時間を 2 倍の 6 分間にして未分解のトリグリセリド量はあまり変わらなかった。

すい臓リパーゼによる加水分解は、脂肪酸組成の異なる各種の油脂に対して同様に行われることから、本実験条件で得られたトリグリセリド 2 位脂肪酸組成を表していると考えられる。

3. 2 種々の油脂の脂肪酸組成

種々の油脂の脂肪酸の定量を Table 1 に示した。含有率は、脂肪酸メチルエステルの相対面積百分率で求めた。

2 位脂肪酸組成において、牛脂、オリーブ油、カカオ脂ではオレイン酸が最多成分であるが、豚脂ではパルミチン酸、大豆油ではリノール酸が最も多い。

インターエステル化カカオ脂は、実験室でカカオ脂をナトリウムメチラートを触媒として反応を行い製造したものである。インターエステル化カカオ脂では 2 位脂肪酸組成が大幅に変化していた。

Table 1 Composition of fatty acids by gas chromatography

Sources of Triglycerides		Fatty acid (%)									
		14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	22:0	22:1
Beef fat	total	2.7	22.4	3.9	19.3	42.8	3.2	1.1			
	2-position	4.5	16.4	3.0	8.8	50.8	4.6	0.7			
Pig fat	total	1.9	24.6	3.8	13.3	41.9	10.9	1.5			
	2-position	3.9	23.2	5.9	3.6	34.4	7.2	0.7			
Olive oil	total	14.0	1.1	4.7	67.9	9.6	1.8				
	2-position	0.5	0.4		90.0	9.4	0.8				
Soybean oil	total	11.9	0.2	4.2	22.8	46.8	0.6				
	2-position	0.8	0.1	0.2	25.7	68.3	7.1				
Cacao fat	total	23.3	0.4	35.0	34.3	7.9		0.4			
	2-position	0.9	0.4	1.2	88.5	8.6		0.4			
Interesterified cacao fat	total	22.0	0.2	36.1	37.2	2.5		1.4			
	2-position	19.0	0.2	28.2	48.8	3.4		0.4			

3. 3 輸入オリーブ油の脂肪酸組成

輸入オリーブ油 3 種の脂肪酸組成を Table 2 に示した。(1) 及び (2) がイタリア産、(3) がスペイン産である。

関税率表解説によると、リエステル化油を含まないことは、2 位脂肪酸のパルミチン酸とステアリン酸の総量が、バージンオリーブ油では 1.5% 未満、精製オリーブ油では 1.8% 未満であることで判定することとなっている。

(1) のバージンオリーブ油では 0.7%、(2) 及び

Table 2 Composition of fatty acids of olive oil by gas chromatography

Sample name		Fatty acid (%)					
		16:0	18:1	18:0	18:1	18:2	18:3
(1) Virgin olive oil	total	11.5	0.7	2.4	77.7	6.5	0.8
	2-position	0.8	0.5	0.1	89.4	8.5	0.8
(2) Pure olive oil	total	12.9	1.0	2.4	71.6	10.7	0.8
	2-position	0.7	0.8	0.1	88.0	14.7	0.7
(3) Spanish pure olive oil	total	11.5	1.0	3.2	73.9	5.9	0.9
	2-position	1.3	0.7	0.3	84.1	12.5	0.8

(3) の精製オリーブ油ではそれぞれ 0.8%及び 1.6%

といずれも基準値を下回り，3 種のオリーブ油ともリ
エステル化油が存在しないことが分かった。

4 要 約

IUPAC method No.2210 にしたがって，油脂のトリ
グリセリドの 2 位脂肪酸の定量を行ったが，本法は比
較的容易であり，税関分析においても有効である。

本法は，オリーブ油の分析，インターエステル化等
の化学的変性加工を行った油脂の分析等に役立つもの
と考えられる。

文 献

1) 日本油化学協会編，基準油脂分析試験法