

ノート

ガスクロマトグラフィーによるビタミン E の定量(第2報)

石 黒 昌 孝

Determination of Vitamin E by Gas Chromatography (2)

Masataka ISHIGURO

Tokyo Customs Laboratory, 5-5-30, Konan, Minato-ku,
Tokyo, 108 Japan

A gas chromatographic method for the determination of tocopherols was investigated.

In this experiment, the purification method was changed from thin layer chromatography to digitonin column chromatography. The experimental procedure was as follows; after saponification, the tocopherols in unsaponifiable matters were purified by digitonin column chromatography. After the purification each tocopherols were separated and determined by gas chromatography on a glass column (4mm × 2m) packed with 2% silicon OV-1 at 275 column temperature.

The reproducibility of tocopherols in same sample was within approximately 1.81%. The recovery of tocopherols added to wheat germ oil was approximately 98.1 ~ 99.7%.

It was found that this method was more accurate and simple than conventional method.

- Received Aug. 22, 1983 -

1 緒 言

最近健康食品に対する関心が高まり、米国でビタミンバイブルがベストセラーになったりした結果、特にビタミン E の需要が増大している。小麦はい芽油、濃縮ビタミン E 添加小麦はい芽油、濃縮ビタミン E の調製品等の輸入がふえている。ビタミン E 市場は300億円といわれてあり、大部分が輸入されているので、分析を依頼される機会も多くなっている。ビタミン E 含有量によって税番と税率を異にするため、税関で実施しやすい方法としてガスクロマトグラフによる方法を前報¹⁾で報告した。しかし、分離手段としての薄層クロマトグラフィー処理はやや繁

雑であり、もう少し簡単にできる方法を検討した結果、ジギトニンカラム法²⁾で良い結果が得られたので報告する。

2 実 験 方 法

2・1 試 薬

エチルエーテル: GR

5%ピロガロール・エタノール溶液

10%KOH・エタノール溶液

ジギトニン

セライト 545

n-ドトリアコンタン: TCI-EP

, , , トコフェロール 標準品

2・2 器 具

けん化用 100ml 三角フラスコ (褐色)
 スキーブ型分液ロート : 300ml (褐色)
 ロータリーエバポレーター
 クロマトカラム (12 × 150mm)
 ガスクロマトグラフ

別に標準のトコフェロールを精秤して、ドトリアコンタン・ヘキサン溶液に溶解し、GC に注入する。
 内部標準のドトリアコンタンに対するピーク面積比より、各トコフェロール含量を算出する。

2・3 ジギトニンカラムの調製

ジギトニン 600mg に水 10ml を添加し、加温して溶解し、約 1 時間放置する。その 5ml をとり、セライト 545, 10g を加え、均等に混和する。その 3 ~ 4g をとり、n-ヘキサンとともにクロマトカラムに流し込み、大部分のヘキサンを流出しジギトニンカラムをつくる。使用するまでカラムの上面が n-ヘキサンでおおわれているようにする。

2・4 試料の調製

試料として油脂の場合約 1g を褐色三角フラスコに精秤する。これに 5% ピロガロール・エタノール溶液を 4ml と 10% KOH エタノール溶液 10ml を加え、良く混和した後、還流冷却器を付けて、湯浴上で 15 分間加熱してけん化する。流水で室温に急冷した後、水 20ml を加え、エチルエーテル 30ml ずつを用いて 3 回抽出する。抽出液を合わせて水がフェノールフタレンでアルカリ性を示さなくなるまで水洗する。

水層を捨てたエーテル抽出液は共栓三角フラスコに移し、これに硫酸ナトリウム (無水) 10g を加え、時々振りながら脱水し、ろ過後エーテル抽出液及び洗液をナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターを用いて 45 °でエーテルを留去する。これを少量の n-ヘキサンに溶解する。この n-ヘキサン溶液を、2・3 で調製したジギトニン・カラムに加え吸着させる。更に少量のヘキサンでフラスコを洗いカラムに加える。上から n-ヘキサンを加えながら、2 分間に 1ml の流速で約 1 時間流下させ、流液をナス型フラスコに集める。次にロータリーエバポレーターを用いて、ヘキサンを留去し、直ちに残留物をドトリアコンタン・ヘキサン溶液 (1mg / ml) 1ml に溶解しガスクロマトグラフの試料とする。

GC には 3~4 μl 注入する。

2・5 ガスクロマトグラフィーの条件

カラム : 2% OV - 1 on Gaschrom Q (100 ~ 120 Mesh), ガラスカラム 2mm × 2m
 カラム温度 : 275
 注入温度 : 300
 ガス : N₂ 50ml / min.
 H₂ 0.6Kg / cm²
 Air 0.5Kg / cm²

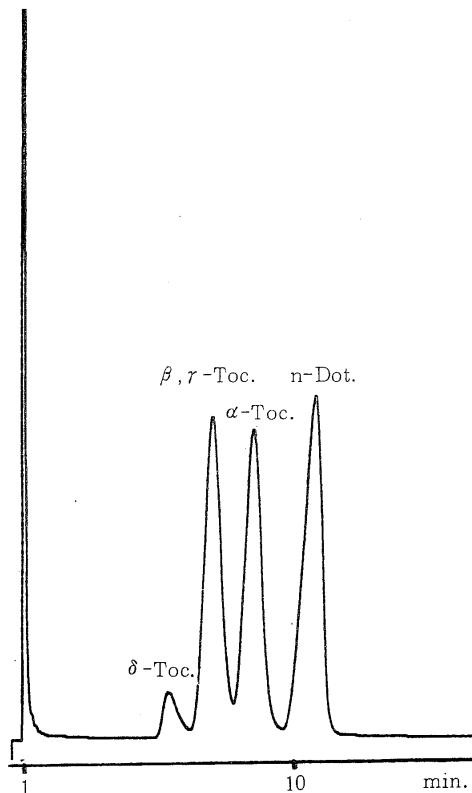


Fig.1 Gas chromatogram of mixed tocopherols

3 結 果 と 考 察

3・1 標準品のガスクロマトグラム

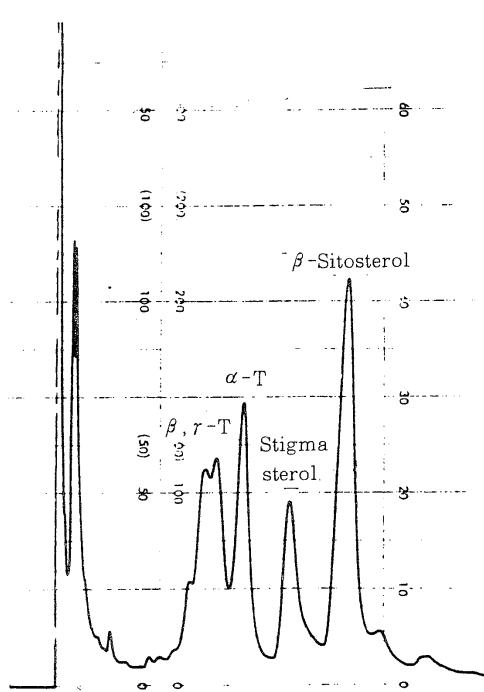


Fig.2 Gas chromatogram of unsaponifiable matters in wheat germ oil

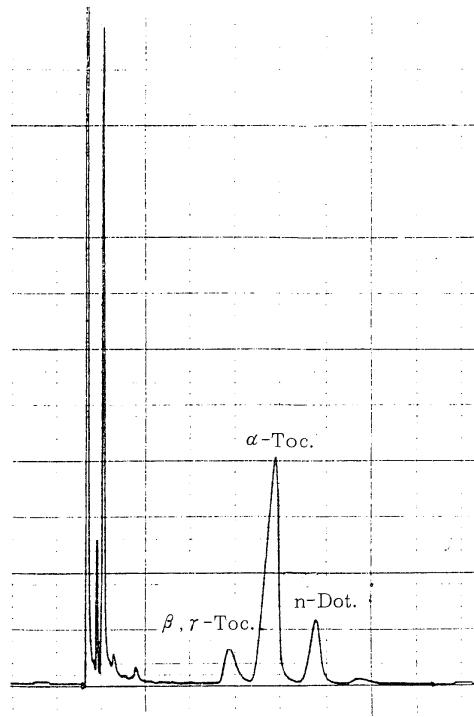


Fig.3 Gas chromatogram of tocopherols in wheat germ oil treated by digitonin column

のトコフェロールと内部標準として n-ドトリアコンタンを添加したもののガスクロマトグラムを示したのが Fig.1 である。分子量の少ない順序に トコフェロールが最初のピーク、次に トコフェロールと トコフェロールが同一のピークとしてあらわれ、その次に γ -トコフェロールのピークが認められ、最後に n-ドトリアコンタンのピークが出現する。なお不けん化物とジギトニン処理したもののガスクロマトグラムを示したも

のが Fig.2, 3 である。

3・2 ジギトニンカラム処理による回収率

本法では、油脂等に含まれているステロール類等の妨害物質を除去し、トコフェロール類を分析しやすくするために、ジギトニン処理を行っているためジギトニン処理によるトコフェロールの回収率が実験の精度に影響を与えるので検討を行った。

Table 1 Recovery of tocopherols by digitonin columns procedure

No.	Samples	Added (mg)	Determined (mg)	Recovery (%)
1	α -Tocopherol	0.24	0.24	100.0
2	γ -Tocopherol	0.49	0.48	98.0
3	α -Toc, γ -Toc mixture	0.44	0.43	97.7
4	Phytosterol + α -Tocopherol	0.46	0.45	97.8
5	Phytosterol + γ -Tocopherol	0.38	0.37	97.4

Table 1 はジギトニン処理によるトコフェロールの回収率を示したものである。Table 1 で明らかのようにトコフェロールの回収率は 98% 以上であり、ジギトニン処理による損失は少なく、良好な結果が得られることが判った。

3・3 実験結果の再現性

実験の精度を検討するために、同一試料の小麦はい芽油を用いて再現性の実験を行った。その結果を示したのが Table 2 であるが - トコフェロール、および - トコフェロールと総トコフェロールいずれも偏差は少なく再現性は良好であった。

Table 2 Recovery of tocopherols in same sample

No.	α -Tocopherol (mg/g)	β, γ -Tocopherol (mg/g)	Total-toc. (mg/g)
1	1.78	0.84	2.62
2	1.80	0.87	2.67
3	1.74	0.80	2.54
Average	1.77	0.84	2.61

Table 3 Recovery of tocopherol added to wheat germ oil

No.	Wheat germ oil, tocopherol content (mg/g)	α -Tocopherol added (mg/g)	Total tocopherol content (mg/g)	Determined (mg/g)	Recovery ratio(%)
A	2.62	1.10	3.72	3.65	98.1
B	2.62	2.08	4.70	4.69	99.7
C	2.62	3.30	5.92	5.86	98.9

Table 4 Analysis of imported samples

No.	Samples	Tocopherol content	Tariff No.	Remark
A	Vitamin E capsules 75	24.8 %	21.07	Wheat germ Oil soyabean oil; V. E
B	Vitamin E capsules 150	36.4 %	21.07	— ditto —
C	Wheat germ oil	0.26 %	15.07	
D	Lifeline E capsules	16.90 %	21.07	Soyabean oil, V. E
E	Wheat germ oil capsules	0.23 %	15.07	
F	O - X - Y E-200	21.1 %	21.07	Rose hip, Yeast starch, Wheat germ oil
G	Natural Vita-E	24.1 %	21.07	Soyabean Oil, gelatin V. E
H	L . E . C	23.1 %	21.07	Lecithin Vitamin C. V. E
I	Wheat germ oil	0.28 %	15.07	
J	Wheat germ oil	2.17 %	21.07	V. E added

3・4 添加法による回収率

次に, 同一試料の小麦はい芽油に, - トコフェロールの添加量を変えて添加した場合の回収率について検討を行った。Table 3 にみられるように A . B . C いづれの場合も 2% 以内の誤差で回収されることが判り, かなり良い結果がえられることを示している。

3・6 本法による輸入品の分析結果

輸入品について本法により分析して得られた結果を示したのが Table 4 である。小麦はい芽油のトコフェロール含量は 0.23% ~ 0.30% 程度であり, それ以上含有している場合は, トコフェロールを添加したものと考えられる。

4 要 約

ガスクロマトグラフ法によるビタミン E (トコフェロール) の定量法, 特にジギトニンカラムを用いてステロール等の妨害物質を除く方法について検討を行った。TLC 法に変えてのジギトニンカラム処理による方法は回収率, 同一試料による再現性, 添加法による回収率いづれも満足すべき結果が得られた。操作手順は試料をけん化して, けん化物をジギトニンカラム処理するだけで GC に注入できるので簡便であり, 税関で一般に分析依頼の多い小麦はい芽油や植物油等のビタミン E 定量法としては問題はないものと考えられる。本法を輸入品に応用して有効な結論をうることができ, ジギトニンカラム処理によるガスクロマトグラフ法は税関分析に推奨することができる方法といえる。

文 献

- 1) 石黒昌孝: 本誌, 23, 95 (1983)
- 2) 阿部皓一, 勝井五一郎, 湧口泰昌: 栄養と食糧, 27, 329 (1974)