

ノート

キャピラリーガスロマトグラフィーによる調製油脂中の乳脂肪の定量

榎 本 康 敬, 寺 内 豊, 伊 藤 茂 行, 鑑 信 雄*

Determination of Milk Fat in Prepared Fats by Capillary Gas Chromatography

Yasuyuki ENOMOTO, Yutaka TERAUCHI, Sigeyuki ITO, Nobuo KAGAMI*

*Tokyo Customs Laboratory

5 - 5 - 30 Konan, Minato - Ku Tokyo, 108 Japan

Determination of milk fat in prepared fats by Capillary gas chromatography was studied.

Relative peak intensity of triglycerides in milk fat, hydrogenated soy bean oil and coconut oil and that of triglycerides in prepared fats containing milk fat showed good reproducibility.

It was also found that UltraALLOY - 1 (HT) column could be applied to the determination of milk fat in the prepared fats having wide range of milk fat contents with the method of least squares.

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わが国の輸入制度との関係もあり、極めて重要な問題である。

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^{1), 2)}、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³⁾、トリグリセリドを直接ガスクロマトグラフィーで分離し、特徴的なピークの面積比^{4), 5)}あるいは最小二乗法を用いて求める方法^{6), 7)}が報告されている。

ガスクロマトグラフの性能向上にともない、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は、トリグリセリド分離定量法が簡便な方法としてよく行なわれている。従来、分離定量には充填カラムが用いられていたが、カラムの安定性等に問題があった。近年、高感度、高分離能及び良好な再現性のあるキャピラリーカラムが発達し、専用ガスクロマトグラフも普及していることから、油脂の分析もキャピラリーカラムを用いた方法に移行しつつある。キャピラリーカラムを用いた油脂の分析については、すでに多数の報告があるが、最小二乗法を用いた調製油脂中の乳脂肪の定量についての文献は見あたらない。

ここでは、キャピラリーカラムに UltraALLOY - 1 (HT) を用い、得られたクロマトグラムのピーク面積比から、最小二

乗法を用いて、調製油脂中の乳脂肪の定量について、検討したので報告する。

2 実 験

2.1 試 料

乳脂肪（ニュージーランド産）、水添大豆油（ニュージーランド産）及びヤシ油（ニュージーランド産）を標準品として、乳脂肪が 50%、60%、70%、80% になるように水添大豆油又はヤシ油を混合して、これを調製油脂とした。ガスクロマトグラフ注入用試料液は、標準品と調製油脂をそれぞれ 5% 程度の濃度になるようクロロホルムに溶解した。

2.2 装置及び測定条件

使用した装置及び測定条件を Table 1 及び Table 2 に示す。

Table 1 Apparatus and Analytical Condition

GasChromatograph	HP5890 SERIES II (FID)	
Automatic Sampler	HP7673	
Chem Station	HP3365	
Column	UltraALLOY-1(HT) 15m*0.50mm ϕ , Film0.15 μ m	
Sampling	Split Split Ratio= 1:5	Splitless Purge On Time=1.0min
Column Oven	150°C~360°C (5°C/min)	150°C(1min)~360°C (5°C/min)
Inj./Det. Temp	380°C / 380°C	
Flow rate	He = 15 ml/min H ₂ = 30 ml/min Air=400 ml/min	
Parameter	Initial Area Reject=1 Initial Peak Width =0.300 Sholder Detection =OFF Initial Threshold =2	

Table 2 Apparatus and Analytical Condition

GasChromatograph	HP5890 SERIES II (FID)	
Automatic Sampler	HP7673	
Chem Station	HP3365	
Column	UltraALLOY-1(HT) 15m*0.50mm ϕ 15m*0.25mm ϕ Film0.15 μ m Film0.15 μ m	
Sampling	Split(Split Rasio= 1:30)	
Column Oven	220°C~260°C(15°C/min) 260°C~400°C(5°C/min)	
Inj./Det. Temp	380°C / 400°C	
Flow rate	He = 1.6ml/min H ₂ = 30 ml/min Air=400 ml/min	
Parameter	Initial Area Reject=1 Initial Peak Width =0.300 Sholder Detection =OFF Initial Threshold =2	

3 結果及び考察

3.1 スプリット注入法及びスプリットレス注入法の比較検討

バックドカラムによる乳脂肪のガスクロマトグラムを Fig.1 に, Table 1 に示した条件を用いた 15m カラムによるスプリット注入法とスプリットレス注入法による乳脂肪のガスクロマトグラムを Fig.2 及び Fig.3 に示す。この条件では, 乳脂肪に

特徴的に出現する奇数ピークが完全には分離されておらず肩ピークとなっておりバックドカラムに類似した分離度である。9回測定したときの各ピークの平均値及びその変動係数 Table 3 に示す。アシル炭素数 C26 ~ C54 において各々ピークの面積比は注入法による違いはほとんどないが, その変動係数においてスプリット注入法の優位性がみられた。また, スプリットレス注入法は注入口を汚染しやすく, この点においてもスプリット注入法による方法は有効であることが判明した。

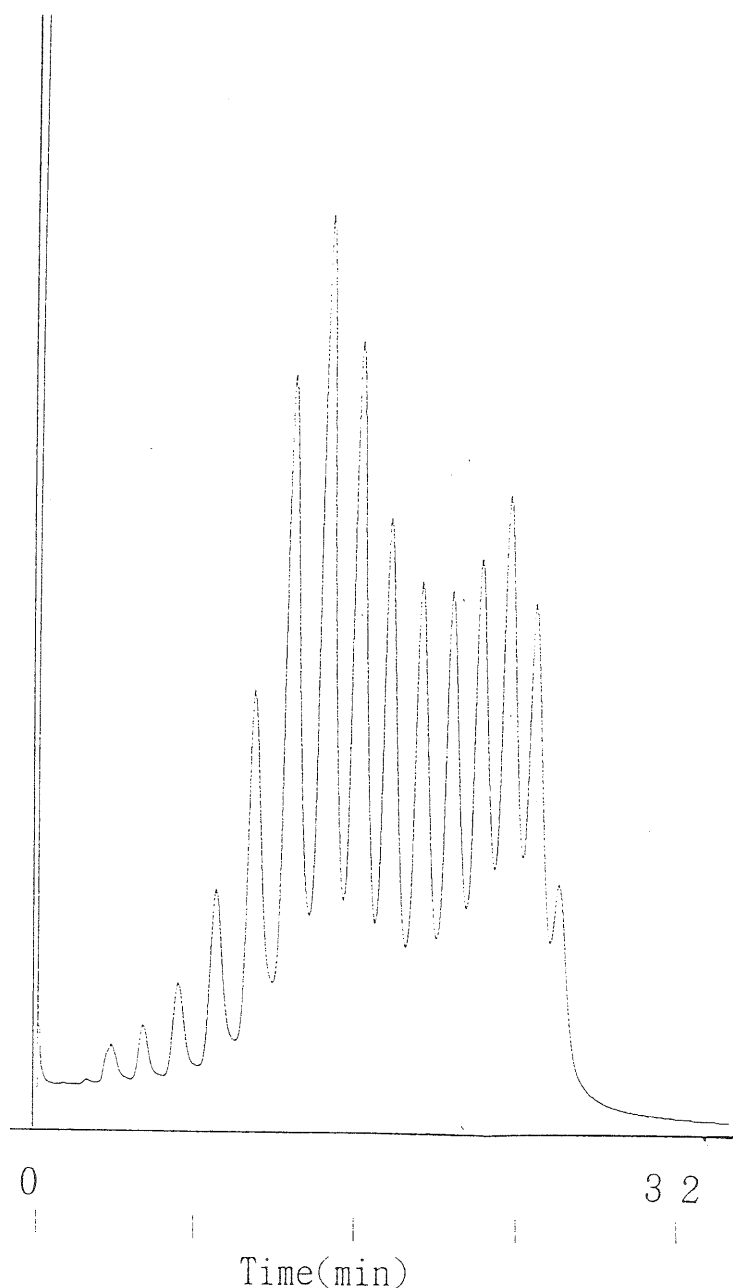


Fig.1 Gas chromatogram of milk fat
 Colum : Dexil 300 GC 30cm * 5mm
 Colum Temp. : 230 (1min) ~ 360 (8min)
 rate 5 / min
 Inj. / Det. Tem. : 380 / 380

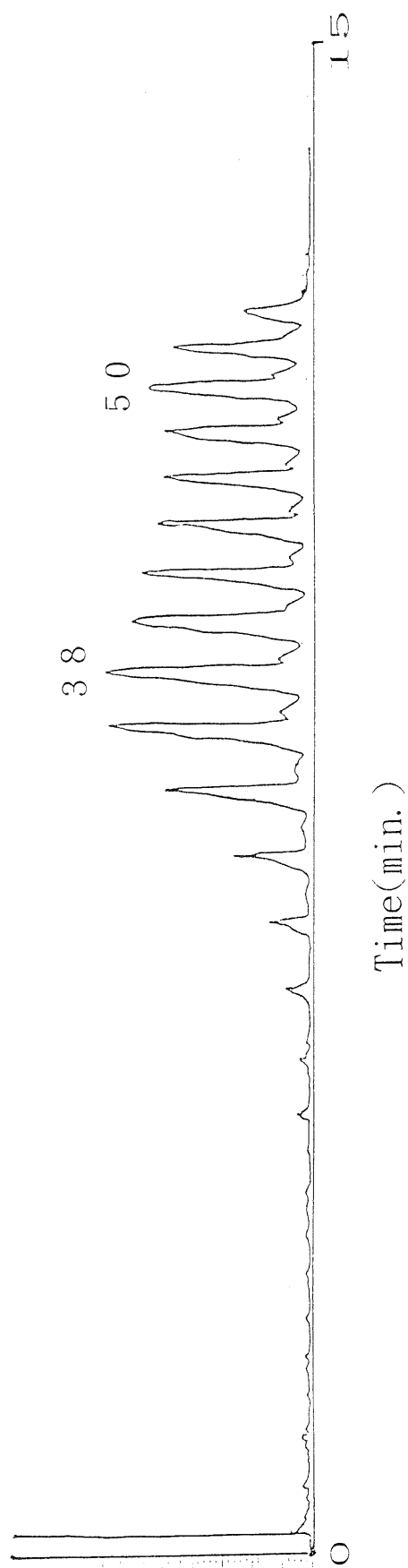


Fig. 2 Gas chromatogram of milk fat by Split sampling
Column : UltraALLOY- 1 (HT) 15 m*0.50 mm ϕ , Film 0.15 μ m

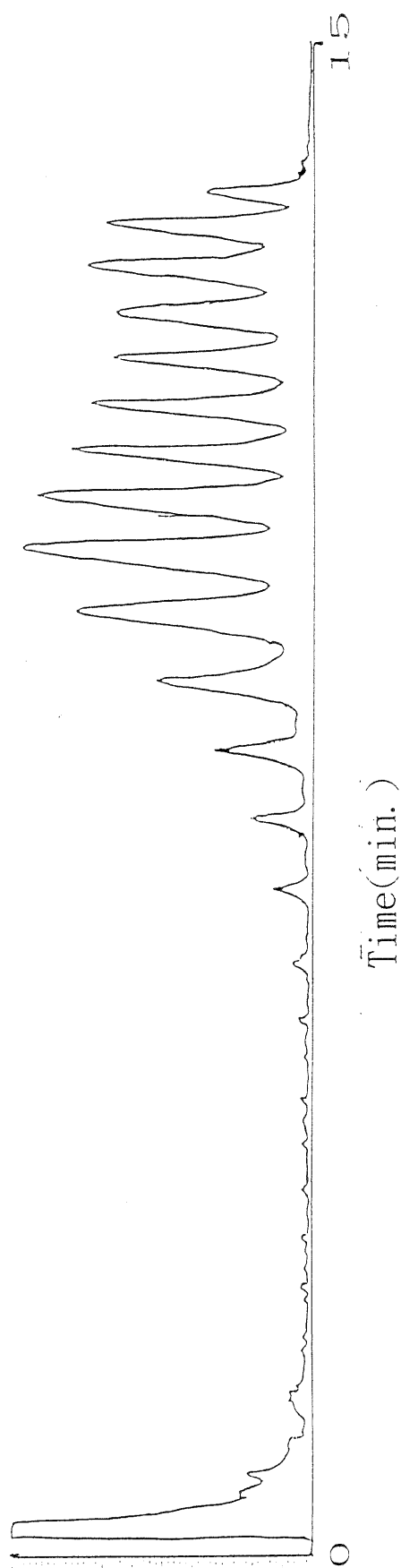


Fig. 3 Gas chromatogram of milk fat by Splitless sampling
Column : UltraALLOY- 1 (HT) 15 m*0.50 mm ϕ , Film 0.15 μ m

Table 3 Reproducibility of relative ratio of peak area

C-number of Tri- glyceride	Split sampling		Splitless sampling	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.36	0.01	0.34	0.05
C28	0.88	0.02	0.87	0.12
C30	1.54	0.03	1.60	0.16
C32	3.06	0.04	3.23	0.23
C34	6.58	0.17	6.89	0.17
C36	11.73	0.10	12.07	0.22
C38	14.00	0.18	14.15	0.38
C40	11.57	0.15	11.85	0.86
C42	8.04	0.10	8.29	0.37
C44	7.06	0.07	7.46	0.20
C46	6.91	0.06	7.39	0.19
C48	7.42	0.07	7.08	2.35
C50	9.16	0.69	9.05	0.26
C52	8.15	0.27	7.08	0.18
C54	3.57	0.35	2.65	0.41

*:Average of relative peak intensities(9 measurement)

**:Standard deviation

3.2 乳脂肪のガスクロマトグラム

Table 2 に示した条件を用いた 15m カラム及び 5m カラムによる乳脂肪のガスクロマトグラムを Fig. 4 及び Fig. 5 に示す。いずれも乳脂肪に特徴的に出現する奇数ピークの分離において、従来のパックドカラムより良好である。水添大豆油のガスクロマトグラムを Fig. 6 及び Fig. 7 に、またヤシ油のガス

クロマトグラムを Fig. 8 及び Fig. 9 に示す。いずれにおいてもベースラインは安定しており、ピークの分離も良好である。

C54 ピークの出現温度はパックドカラムの約 360 に対して、15m カラムでは 330 , また 5m カラムでは 340 であり、パックドカラムと同様な温度範囲での測定が可能である。

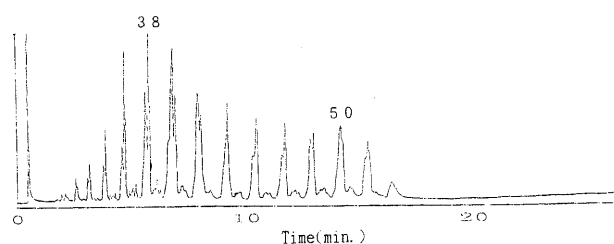


Fig.4 Gas chromatogram of milk fat

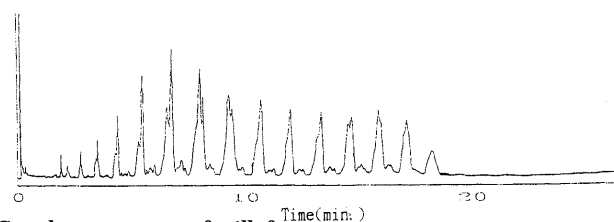
Column : UltraALLOY - 1 (HT) 15m * 0.50mm , Film 0.15 μ m

Fig.5 Gas chromatogram of milk fat

Column : UltraALLOY - 1 (HT) 5m * 0.25mm , Film 0.15 μ m

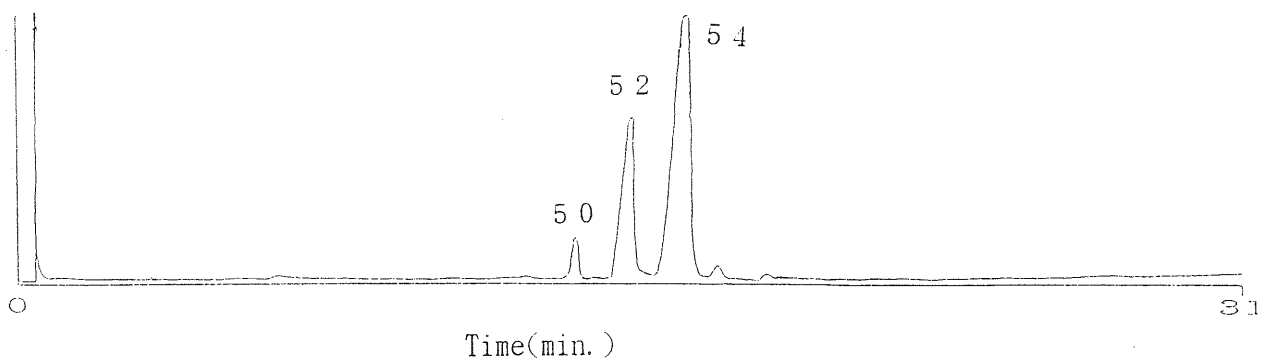


Fig.6 Gas chromatogram of Hydrogenated soy bean oil
 Column : UltraALLOY - 1 (HT) 15m * 0.50mm , Film 0.15 μ m

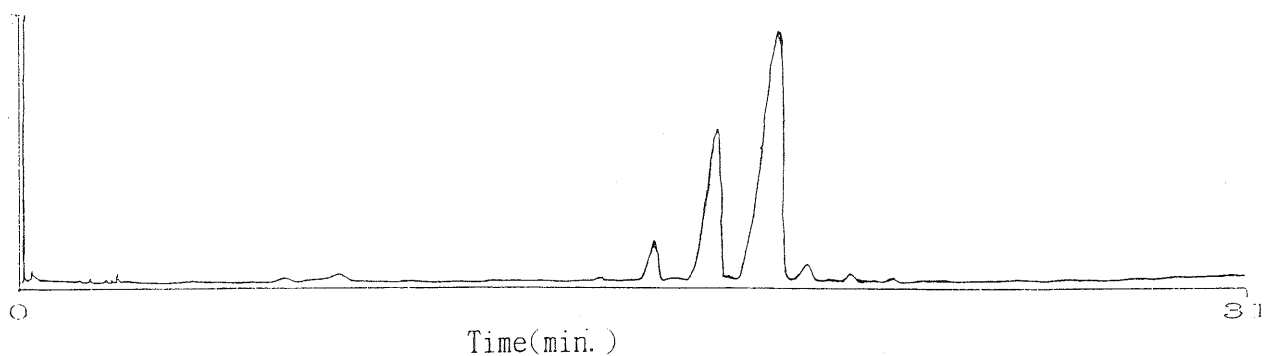


Fig.7 Gas chromatogram of Hydrogenated soy bean oil
 Column : UltraALLOY - 1 (HT) 5m * 0.25mm , Film 0.15 μ m

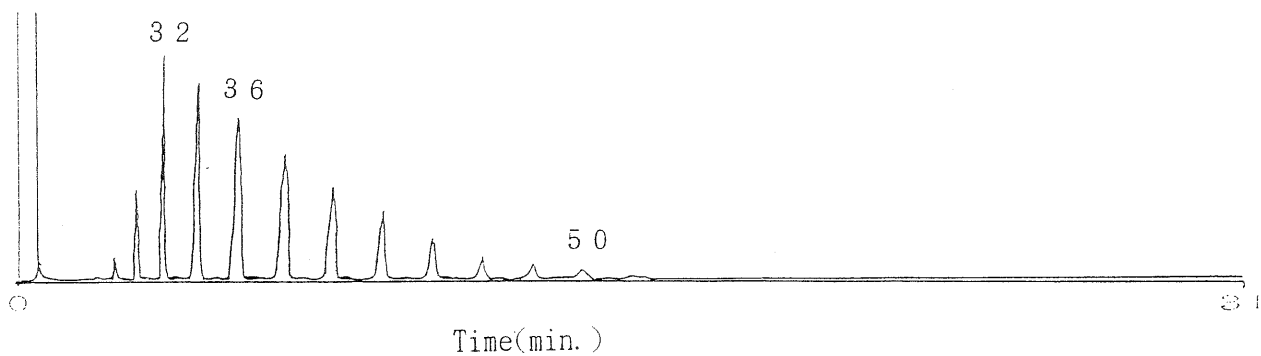


Fig.8 Gas chromatogram of Coconut oil
 Column : UltraALLOY - 1 (HT) 15m * 0.50mm , Film 0.15 μ m

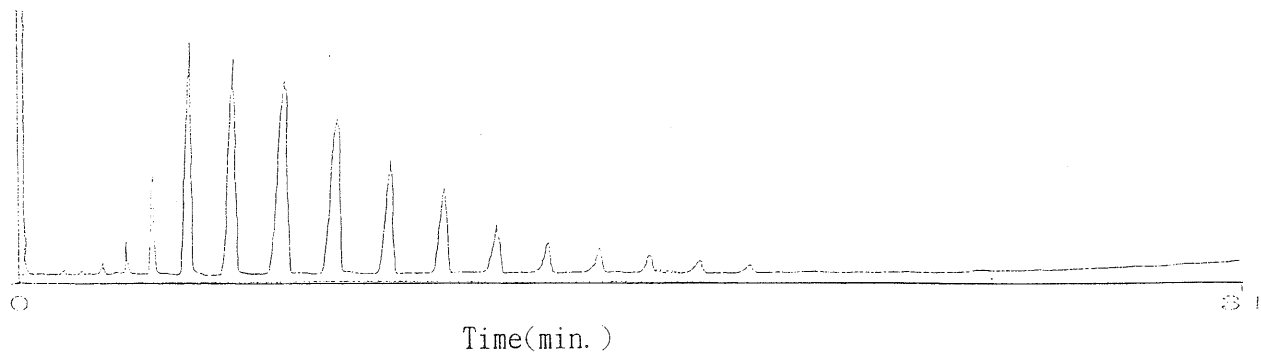


Fig.9 Gas chromatogram of Coconut oil
 Column : UltraALLOY - 1 (HT) 5m * 0.25mm , Film 0.15 μ m

3.3 再現性

各カラムによる再現性を, 分離されたピークのうち奇数ピークをその直前の偶数ピークに合算し, これら偶数ピークの相対面積比の再現性で比較検討した。

15m カラム及び 5m カラムを用い, Table 2 に示した条件で乳脂肪, 水添大豆油及びヤシ油についてガスクロマトグラフに注入し, 分離した各ピークの相対面積比をケミステーションに

より求めた。各カラムとも6回測定したときの各ピークの平均値及び標準偏差を Table 4及び Table 5に示す。同様に乳脂肪が50%, 60%, 70%, 80%になるように水添大豆油を混合した調製油脂について測定した結果を Table 6及び Table 7に, 乳脂肪及びヤシ油からなる調製油脂について測定した結果を Table 8及び Table 9示す。

Table 4 Variations of triglyceride peak intensity (UltraALLOY - 1 (HT) 15m * 0.50mm)

C-number of Tri- glyceride	Milk fat		Hydrogenated soy bean oil		Coconut oil	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.31	0.15			0.12	0.12
C28	0.73	0.10			0.80	0.16
C30	1.51	0.03			3.78	0.02
C32	3.23	0.04			14.32	0.03
C34	7.12	0.06			17.79	0.03
C36	12.85	0.14			19.82	0.03
C38	14.60	0.22			16.80	0.06
C40	11.52	0.20			10.13	0.03
C42	8.26	0.19			7.06	0.03
C44	7.23	0.16			3.84	0.03
C46	7.24	0.11			2.13	0.02
C48	7.90	0.03			1.69	0.04
C50	8.80	0.18	4.67	0.08	1.08	0.04
C52	6.62	0.36	29.73	0.06	0.65	0.05
C54	2.09	0.39	65.61	0.12		

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

Table 5 Variations of triglyceride peak intensity (UltraALLOY - 1 (HT) 5m*0.25mm)

C-number of Tri- glyceride	Milk fat		Hydrogenated soy bean oil		Coconut oil	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.64	0.01			0.46	0.01
C28	0.85	0.02			0.98	0.00
C30	1.57	0.03			3.56	0.02
C32	3.23	0.08			13.42	0.07
C34	6.94	0.06			16.90	0.06
C36	12.21	0.03			19.23	0.03
C38	13.84	0.04			16.51	0.06
C40	11.02	0.04			10.14	0.02
C42	7.95	0.02			7.13	0.02
C44	7.02	0.02			3.98	0.02
C46	7.09	0.02			2.31	0.02
C48	7.91	0.03			1.94	0.02
C50	9.18	0.04	4.72	0.01	1.41	0.02
C52	7.44	0.03	29.77	0.01	1.18	0.02
C54	3.11	0.01	65.51	0.01	0.84	0.01

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

Table 6 Variations of triglyceride peak intensity (UltraALLOY - 1 (HT) 15m*0.50mm)

C-number of Tri- glyceride	Prepared fat(Milk fat : Hydorogenated soy bean oil)							
	5:5		6:4		7:3		8:2	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.12	0.05	0.22	0.07	0.24	0.00	0.36	0.05
C28	0.39	0.02	0.37	0.06	0.57	0.02	0.61	0.05
C30	0.71	0.02	0.92	0.00	1.13	0.01	1.24	0.02
C32	1.60	0.00	1.94	0.01	2.39	0.01	2.63	0.03
C34	3.53	0.01	4.27	0.01	5.13	0.05	5.77	0.03
C36	6.55	0.01	7.81	0.02	9.20	0.09	10.43	0.03
C38	7.78	0.01	9.13	0.02	11.00	0.11	11.93	0.05
C40	5.64	0.02	6.77	0.02	7.98	0.05	9.16	0.05
C42	3.97	0.01	4.77	0.01	5.71	0.04	6.45	0.04
C44	3.47	0.02	4.15	0.01	4.89	0.01	5.60	0.04
C46	3.53	0.05	4.22	0.02	4.83	0.02	5.62	0.04
C48	4.12	0.04	4.82	0.02	5.39	0.06	6.29	0.05
C50	6.82	0.04	7.23	0.03	7.37	0.04	8.04	0.05
C52	18.31	0.03	16.08	0.03	13.44	0.07	11.47	0.02
C54	33.46	0.08	27.30	0.08	20.73	0.20	14.39	0.24

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

Table 7 Variations of triglyceride peak intensity (UltraALLOY - 1 (HT) 5m*0.25mm)

C-number of Tri- glyceride	Prepared fat(Milk fat : Hydrogenated soy bean oil)							
	5:5		6:4		7:3		8:2	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.43	0.06	0.42	0.01	0.55	0.01	0.52	0.01
C28	0.39	0.03	0.45	0.00	0.55	0.00	0.61	0.01
C30	0.70	0.03	0.92	0.00	1.12	0.01	1.23	0.02
C32	1.58	0.05	1.91	0.02	2.33	0.02	2.57	0.02
C34	3.37	0.06	4.06	0.03	4.90	0.02	5.44	0.07
C36	6.25	0.05	7.39	0.06	8.73	0.04	9.68	0.13
C38	7.43	0.02	8.63	0.09	10.10	0.11	11.10	0.13
C40	5.35	0.01	6.49	0.10	7.75	0.04	8.64	0.05
C42	3.85	0.04	4.74	0.11	5.49	0.03	6.27	0.06
C44	3.47	0.06	4.25	0.03	4.84	0.03	5.62	0.13
C46	3.69	0.06	4.41	0.11	4.92	0.04	5.79	0.12
C48	4.29	0.05	5.06	0.08	5.55	0.04	6.51	0.13
C50	7.03	0.02	7.50	0.07	7.67	0.04	8.38	0.08
C52	18.34	0.14	16.13	0.08	13.89	0.04	11.92	0.05
C54	33.84	0.33	27.64	0.11	21.61	0.05	15.73	0.12

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

Table 8 Variations of triglyceride peak intensity (UltraALLOY - 1 (HT) 15m*0.50 mm)

C-number of Tri- glyceride	Prepared fat(Milk fat : Coconut oil)							
	5:5		6:4		7:3		8:2	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.24	0.05	0.31	0.01	0.41	0.10	0.34	0.03
C28	0.58	0.06	0.53	0.07	0.91	0.00	0.75	0.07
C30	2.69	0.05	2.48	0.01	2.21	0.00	2.01	0.01
C32	9.12	0.09	7.92	0.04	6.73	0.02	5.59	0.03
C34	12.83	0.14	11.63	0.06	10.53	0.02	9.35	0.05
C36	16.63	0.20	15.75	0.08	14.99	0.04	14.17	0.07
C38	15.86	0.19	15.47	0.08	15.29	0.04	14.85	0.07
C40	10.82	0.10	10.87	0.05	11.09	0.03	11.06	0.04
C42	7.62	0.05	7.71	0.02	7.74	0.02	7.85	0.14
C44	5.45	0.02	5.80	0.01	5.91	0.01	6.49	0.01
C46	4.55	0.03	5.11	0.02	5.33	0.01	6.17	0.01
C48	4.64	0.07	5.34	0.04	5.64	0.01	6.64	0.03
C50	4.70	0.15	5.62	0.08	6.19	0.03	7.27	0.05
C52	3.33	0.25	4.14	0.12	4.99	0.03	5.53	0.07
C54	0.93	0.23	1.31	0.11	2.12	0.04	1.93	0.06

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

Table 9 Variations of triglyceride peak intensity (UltraALLOY - 1 (HT) 5m * 0.25 mm)

C-number of Tri- glyceride	Prepared fat(Milk fat : Coconut oil)							
	5:5		6:4		7:3		8:2	
	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **	Average*	St. Dev. **
C26	0.42	0.02	0.41	0.01	0.42	0.00	0.39	0.00
C28	0.88	0.02	0.86	0.01	0.88	0.01	0.83	0.01
C30	2.61	0.03	2.41	0.01	2.27	0.01	2.01	0.02
C32	8.43	0.07	7.42	0.02	6.49	0.03	5.38	0.03
C34	12.02	0.07	11.01	0.02	10.13	0.03	9.01	0.05
C36	15.79	0.09	15.05	0.02	14.49	0.02	13.45	0.37
C38	15.28	0.11	14.97	0.02	14.87	0.01	14.40	0.08
C40	10.62	0.07	10.64	0.01	10.88	0.01	10.83	0.05
C42	7.53	0.11	7.61	0.01	7.64	0.01	7.80	0.04
C44	5.52	0.06	5.79	0.02	5.96	0.02	6.45	0.03
C46	4.71	0.06	5.15	0.02	5.42	0.03	6.16	0.03
C48	4.92	0.07	5.50	0.03	5.82	0.02	6.74	0.03
C50	5.28	0.08	6.04	0.02	6.54	0.03	7.64	0.03
C52	4.31	0.04	4.92	0.01	5.52	0.03	6.21	0.02
C54	2.01	0.04	2.22	0.01	2.67	0.01	2.69	0.01

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

乳脂肪の各ピークの標準偏差は 15m カラムでは 0.03 ~ 0.39 ,
5m カラムでは 0.01 ~ 0.08 といずれのカラムでも小さく再現性
は良い。水添大豆油の各ピークの標準偏差は 15m カラムでは
0.06 ~ 0.12 , 5m カラムでは 0.01 と小さく再現性は極めて良好
であった。

3.4 調製油脂中の乳脂肪の定量値の比較

UltraALLOY - 1 (HT) の 15m カラム及び 5m カラムを用い
3.3 で求めたアシル炭素数 C26 から C54 の各ピークの相対面
積比を用いて 調製油脂中の乳脂肪の混合割合を最小二乗法によ
り算出した結果を Table 10 及び Table 11 に示す。

Table 10 Analytical results of prepared fats (Milk fat : Hydrogenated soy bean oil)

Condition Prepared fat, Milk content(%)	UltraALLOY-1(HT) 15m*0.50mmφ, Film 0.15μm			UltraALLOY-1(HT) 5m*0.25mmφ, Film 0.15μm		
	Average*	St. Dev. **	C. V. ***	Average*	St. Dev. **	C. V. ***
50	50.9	0.4	0.78	51.2	0.49	0.95
60	60.6	0.52	0.86	61.1	0.24	0.39
70	70.9	0.29	0.41	70.6	0.15	0.21
80	80.6	0.37	0.45	79.9	0.15	0.19

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

***:Coefficient of variation

Table 11 Analytical results of prepared fats (Milk fat : Coconut oil)

Condition Prepared fat, Milk content(%)	UltraALLOY-1(HT) 15m*0.50mm ϕ , Film 0.15 μ m			UltraALLOY-1(HT) 5m*0.25mm ϕ , Film 0.15 μ m		
	Average*	St. Dev. **	C. V. ***	Average*	St. Dev. **	C. V. ***
50	47.0	0.97	2.07	50.3	0.79	1.58
60	58.3	0.37	0.63	60.1	0.97	1.62
70	67.6	0.46	0.68	68.1	1.13	1.66
80	79.6	0.41	0.51	80.8	1.69	2.09

*:Average of relative peak intensities(6 measurement)

**:Standard deviation

***:Coefficient of variation

乳脂肪と水添大豆油からなる調製油脂では乳脂肪の含有量が50%～80%の範囲において、いずれのカラムも定量値はほぼ混合比に近接した値を示し、定量値の変動係数も小さく定量用カラムとしての有効性を示している。乳脂肪とヤシ油からなる調製油脂では乳脂肪の含有量が50%～80%の範囲において、5mカラムによる定量値はより混合比に近接した値を示している。

カラムとして内径0.50mm 長さ15m 及び内径0.25mm長さ5m の UltraALLOY - 1 (HT) カラムを用い、乳脂肪、水添大豆油、ヤシ油及び乳脂肪とこれらの油脂を種々の割合で混合した調製油脂の各トリグリセリド成分のピークの再現性並びに最小二乗法を用いた乳脂肪の定量性の検討を行った。UltraALLOY - 1 (HT) カラムはピーク強度の再現性が良好で種々の割合の乳脂肪を含む調製油脂の分析に適用できることが判明した。

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キャピラリー

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) 出来三男, 加藤時信, 吉村実 : 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, 井上昭朗 : 本誌, 22, 1 (1981)
- 7) 笹川邦雄, 大野幸雄 : 本誌, 24, 51 (1983)