

ガスクロマトグラフィーによる魚油中の 飽和酸・不飽和酸の分離と定量

宮原 昭 二 郎

Separation and Determination of Saturated and Unsaturated Long-chain Fatty Acid in Fish Oil by Gas-chromatography

Shojiro MIYAHARA

緒 言

油脂中の飽和酸・不飽和酸の分離や定量にクロマトグラフィーを用いる試みについては既に多くの報告があり¹⁾、その中でもガスクロマトグラフィーは成分の相互の分離・確認に好結果を与えている²⁾。

この場合多くの種類の固定相液体が用いられているが、ポリエチレングリコール (P. E. G.) を使用した例は見当らない。

筆者は P. E. G. -6000 を固定相液体として用いるガスクロマトグラフィーにより、予めメチルエステルに変えておいた混合脂肪酸からステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸などを分離することが出来た。またさきの報告³⁾ でペーパークロマトグラフィーによってサバ油構成脂肪酸の炭素数を明らかにしたが、このガスクロマトグラフィーにより一部の構成不飽和酸の種類・含有率をも明らかにし得たのでここに報告する。

装 置 お よ び 試 薬

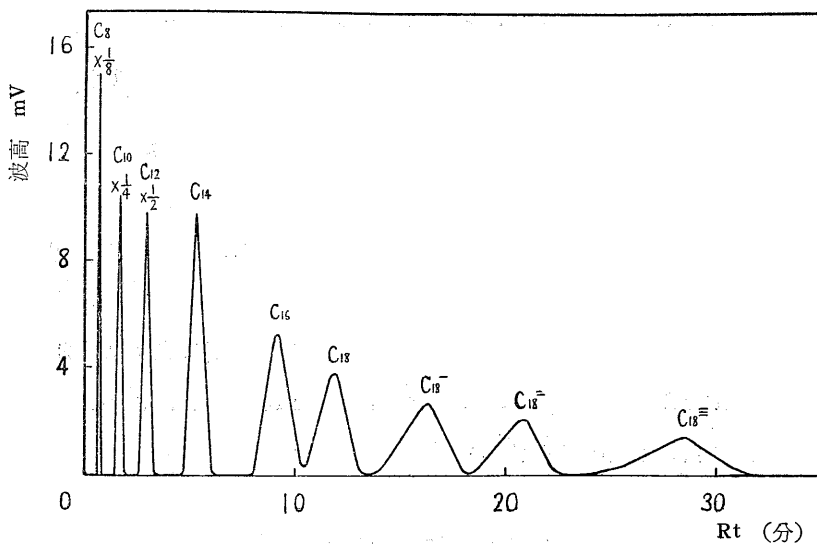
ガスクロマトグラフ装置は柳本製 GCG-200 型を用いた。カラムは 5mm×2m のもの、充填剤は島津製 P. E. G. -6000、キャリアーガスは水素を用いた。実験の際の測定条件は常にブリッジ電流 85mA、カラム温度 200°C、キャリアーガス流速 50ml/分であった。

標準脂肪酸 (カプリル酸 (C₈) と略記、以下同じ)、カプリン酸 (C₁₀)、ラウリン酸 (C₁₂)、ミリスチン酸 (C₁₄)、パルミチン酸 (C₁₆)、ステアリン酸 (C₁₈)、オレイン酸 (C₁₈⁻)、リノール酸 (C₁₈⁼)、リノレン酸 (C₁₈[≡])、およびアラキシン酸 (C₂₀) の計 10 種) は市販のもので融点、沸点、屈折率、比重、中和価、沃素価が文献値と一致するものを用いた。

実 験 お よ び 結 果

1. 標準脂肪酸のメチルエステルのガスクロマトグラフィー

前記標準脂肪酸を常法によりメチルエステル化し、精製したものを各 10μl をとり、前記条件でガスクロマトグラフィーを行った結果、Fig. 1 の如き分離曲線が得られた。ピークの定性は各エステル添加の場合のピークの増大により行った。このとき C₂₀ のピークは Rt が 60 分となっても現われなかった。(C₂₀ とと思われるピークが Rt が更に大のところで見られるがピークの形が一定しなかった) C₂₀ やそれ以上の高級脂肪酸の確認・定量については別に報告する予定である。



カラム P.E.G.-6000 2m, 温度 200°C, キャリヤーガス水素,
 流速 50mℓ/分, ブリッジ電流 85mA, カプリル(C₈), カプリン(C₁₀), ラウリン(C₁₂),
 ミリスチン(C₁₄), パルミチン(C₁₆), ステアリン(C₁₈), オレイン(C₁₈-), リノール(C₁₈=),
 リノレン(C₁₈≡)の各脂肪酸メチル10μℓの混合物

Fig 1 標準脂肪酸メチルエステルのガスクロマトグラム

2. 理論段数

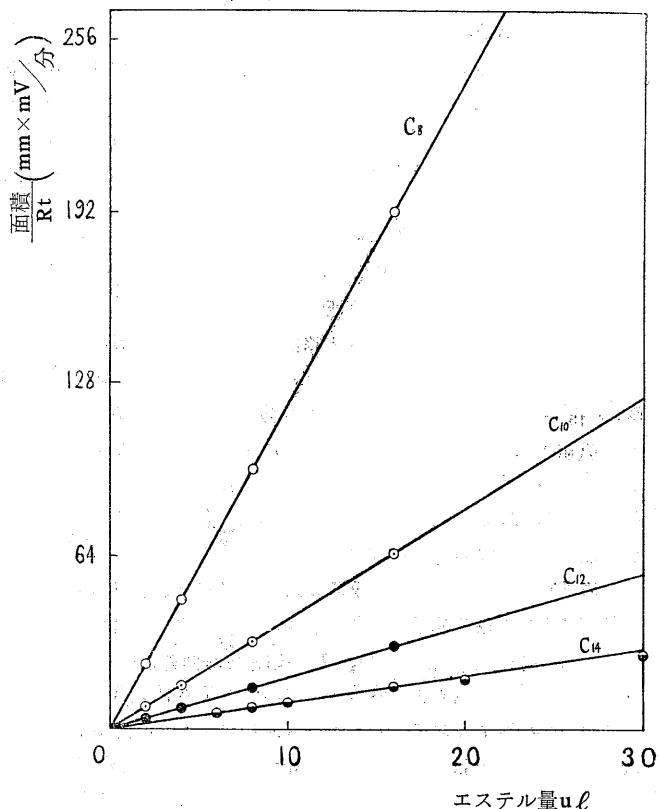
Fig. 1 からクロマトグラフィー理論段数 γ を次式により算出した結果 260 であった。

$$\gamma = 16(Rt/Wb)^2$$

但し Wb はピークの基線の幅 (時間) を表す。

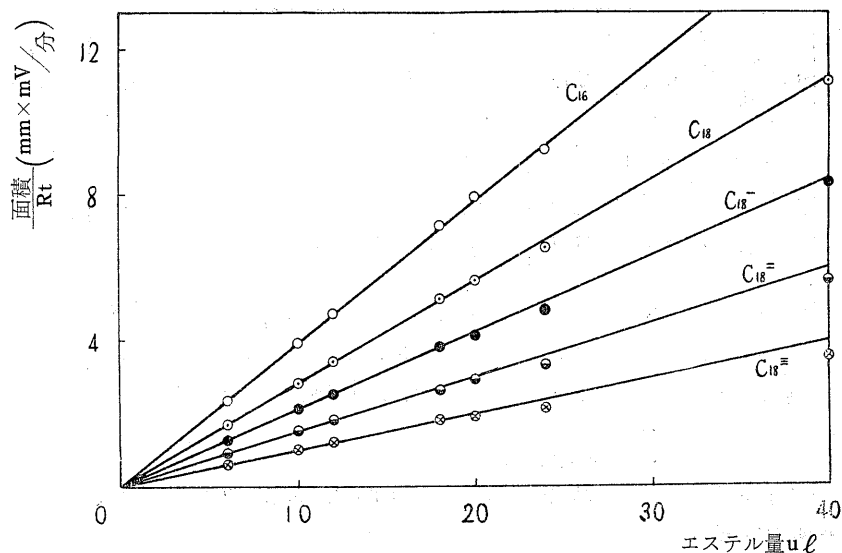
3. 脂肪酸メチルエステルの定量・検量線

脂肪酸メチルエステルを種々の濃度にメタノールに溶かし、その一定量を注入する絶対検量線法によりエステル類の検量線をもとめた。すなわち、各エステル (C₂₀ のエステルを除く) をメタノールに 4 ないし 80% (V/V) となるように溶かし、その 50μℓ を常に注入した。このときの注入エステル量とピーク面積の関係 (検量線) は Fig. 2 および Fig. 3 のとおりであって、ピーク面積とエステル量は比較的によく比例した。



(測定条件, 符号は Fig. 1 に同じ)

Fig. 2 脂肪酸(C₈~C₁₄)メチルエステル検量線

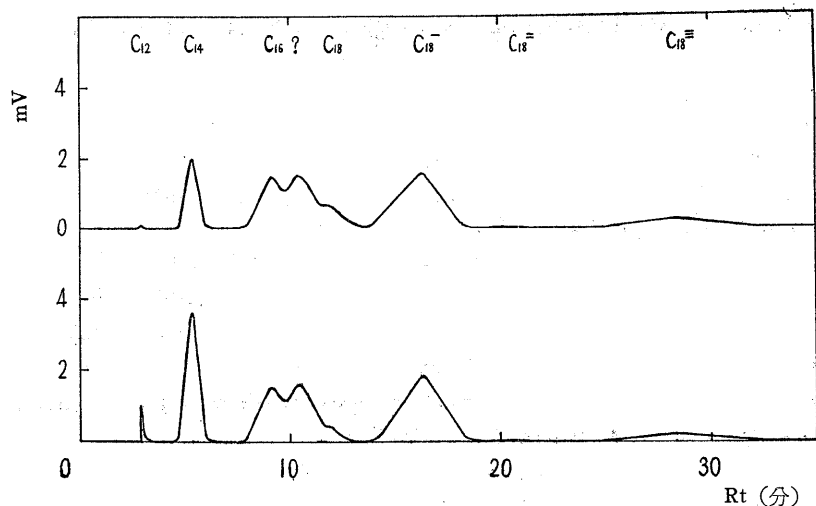


(測定条件, 符号は Fig 1 に同じ)

Fig. 3 脂肪酸 (C_{16} , C_{18} , 18^- , $18^=$, 18^{\equiv}) メチルエステル検量線

4. サバ油構成脂肪酸メチルエステルのガスクロマトグラフィー

著者がさき³⁾に採取したマサバ油* およびゴマサバ油** をそのままケン化して脂肪酸を分離し (この混合脂肪酸の中和価はマサバ油脂肪酸=200.5, ゴマサバ油脂肪酸=197.6であった), 直ちに常法によりメチルエステル化し, 精製したのち, その $30\mu l$ をとって前記条件でガスクロマトグラフィーを行った. 結果を Fig. 4 に示す. Fig. 4 の Rt 10.5分のところのピーク (?印) はおそらく 9-hexadecenoic acid (ゾーマリン酸) と思われる. *** また Fig. 4 から構成脂肪酸の定量を行った結果を Table 1 に示す.



?は 9-hexadecenoic acid と思われるもの,
その他の符号, 測定条件 Fig. 1 に同じ

Fig. 4 ゴマサバ油 (上) およびマサバ油 (下) 構成脂肪酸メチルエステルのガスクロマトグラム

* 文献 3) の表 1 の No. 1~6 の油を混合し, 冷暗所に保存したもの.

** 同じく表 2 の No. 18~21 および 32 の混合物.

*** 標準酸が得られなかったため図 1 には用いなかった.

Table 1 マサバ油・ゴマサバ油の構成脂肪酸

	サンプル量	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C _x	C ₁₈	C ₁₈ ⁻	C ₁₈ ⁼	C ₁₈ [≡]	C ₂₀ 以上
マサバ油	30.0	0.5	3.6	3.8	4.0	1.4	9.2	trace	2.0	5.5
	(24.85)	0.4	2.9	3.1	3.3	1.1	7.6		1.6	4.9
		1.6	11.7	12.4	13.3	4.4	30.5		6.4	19.7
ゴマサバ油	30.0	trace	2.0	3.8	3.8	2.2	7.8	trace	2.0	8.4
	(24.87)		1.6	3.1	3.1	1.8	6.5		1.6	7.2
			6.4	12.4	12.4	7.2	26.2		6.4	29.0

(注) 上欄はメチルエステル量 ($\mu\ell$) .

中欄はメチルエステルの比重を0.870とした場合の脂肪酸量 (mg) , ただし () は中和価より計算した脂肪酸量.

下欄は構成脂肪酸の含有率 (%) .

C_xはC₁₆, F=1 (おそらく 9-hexadecenoic acid) と思われ, C₁₆の検量線を用いて定量. C₂₀以上は全体より C₁₂~C₁₈の合計を差引いた値 .

概 要

ポリエチレングリコール 6000 を固定相液体とするガスクロマトグラフィー (キャリアーガス水素, 温度 200°C) により脂肪酸混合物 (予めメチルエステルとなしておいたもの) の分離を行い, ステアリン酸, オレイン酸, リノール酸, リノレン酸などを定性・定量することが出来た. またこの方法によってマサバ油とゴマサバ油の構成脂肪酸をしらべて Table 1 の結果を得た.

この実験を行なうにあたり終始多大な御指導と御便宜をたまわった 当教室八坂教授に厚く御礼を申し上げます.

文 献

- たとえば
宮川, 野水, 山本, 日化 80, 1501 (1959).
Y. Inoue, M. Noda, O. Hirayama, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 32, 132 (1955).
H. P. Kaufmann, et al., *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 58, 497 (1956). —, —, 60, 165 (1958). —, —, 61, 631 (1959). —, —, 62, 1 (1960). —, —, 62, 153 (1960).
E. Klenk, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 34, 377 (1957).
V. P. Skipski, S. M. Arfin, M. M. Rapport, *Arch. Biochem. Biophys.*, 87, 295 (1960).
- A. T. James, *Am. J. Clin. Nutrition*, 6, 595 (1958).
C. H. Orr, J. E. Callen, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 249 (1958).
B. M. Craig, N. L. Murty, *Can. J. Chem.*, 36, 1297 (1958).
—, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 36, 549 (1959).
A. P. Tulloch, B. M. Craig, G. A. Ledingham, *Can. J. Microbiol.*, 5, 485 (1959).
F. P. Woodford, C. M. van Gent, *J. Lipid Research*, 1, 188 (1960).
F. L. Kauffman, G. D. Lee, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37, 385 (1960).
- 宮原, 本誌 9, 82 (1960).