

脂肪酸メチルエステルの高速分離

DB-FastFAME Intuvo GC カラム

著者

Yun Zou
Agilent Technologies
(Shanghai) Co. Ltd.
Shanghai 200131 P. R. China

概要

脂肪酸メチルエステル (FAME) の分析は、食品中の脂質フラクションの特性解析に使用されます。この分析は、食品分析における最も重要なアプリケーションの 1 つです。このアプリケーションノートでは、Agilent J&W DB-FastFAME Intuvo GC カラムと Agilent Intuvo 9000 GC システムを用いて FAME 標準混合物を高速で良好に分離できることを実証します。

はじめに

油、脂肪、脂肪を含む食品の分析は、政府機関、品質管理 (QC)、受託研究機関 (CRO) のラボにとっての共通タスクです。FAME 誘導体としての脂肪酸の GC 分析は、食品内の脂質とトランス脂肪含有量の合計を測定する際の脂質の特性解析における重要な手段です^{1,2}。食用油などに対する食品検査用の多くの規制メソッドでは、脂肪酸組成の測定時にシアノプロピル固定相で被覆されたキャピラリカラムを用いて、特定のシス/トランス脂肪酸異性体を分離する必要があります。さらに、FAME を良好に分離するには、長い GC カラム (100 m) と長い分析時間 (70 分以上) が必要になります^{3,4}。しかし、これは分析コストの増加と生産性の低下につながります。

シアノプロピル固定相の DB-FastFAME Intuvo GC カラムは、主要なシス/トランス異性体の分離を含む FAME 混合物の高速分離用に特別に設計されており、規制メソッドの要件に適合することができます。このアプリケーションノートでは、DB-FastFAME Intuvo GC カラムと Intuvo 9000 GC システムを用いた FAME 標準混合物の高速分離について説明します。

実験方法

化学物質および標準試料

FAME 36 成分混合物 (部品番号 5191-4276)、C4-C24 偶数炭素数飽和 FAME 混合物 (部品番号 5191-4278)、および FAME 混合物、菜種油 (部品番号 5191-4277) は Agilent Technologies から入手しました。37 成分の FAME 標準混合物 (部品番号 CDAA-252795-MIX-1 mL) は、ANPEL Scientific Instrument Co. Ltd. (上海、中国) から購入しました。

C4-C24 偶数炭素数飽和 FAME 混合物は、ヘキサンで 500 µg/mL に希釈しました。菜種油中の FAME 混合物は 100 mg 非希釈混合物として使用可能ですが、ジクロロメタンで 20 倍に希釈しました。

装置構成

分析には、水素炎イオン化検出器 (FID) 付きの Intuvo 9000 GC を用いました。サンプルの導入には、5 µL シリンジ (部品番号 G4513-80213) とスプリット/スプリットレス注入ポート付きの Agilent 7693A 自動液体サンブラを用いました。

表 1. メソッド 1 の条件

GC システム	Intuvo 9000 GC/FID
カラム	J&W DB-FastFAME、20 m × 0.18 mm、0.20 µm、Intuvo モジュール (部品番号 G3909-63005)
キャリアガス	ヘリウム、50 psi、定圧モード
注入口	スプリット/スプリットレス、260 °C、スプリット比 100:1
オープン	50 °C (0.3 分間)、250 °C/min で 175 °C まで昇温、20 °C/min で 240 °C まで昇温 (2 分間)
ガードチップ	200 °C
FID	260 °C、水素: 40 mL/min 空気: 400 mL/min メークアップガス: 25 mL/min
注入量	1 µL

表 2. メソッド 2 の条件

GC システム	Intuvo 9000 GC/FID
カラム	J&W DB-FastFAME、20 m × 0.18 mm、0.20 µm、Intuvo モジュール (部品番号 G3909-63005)
キャリアガス	水素、28 psi、定圧モード
注入口	スプリット/スプリットレス、260 °C、スプリット比 100:1
オープン	50 °C (0.3 分間)、200 °C/min で 200 °C まで昇温 (0.4 分間)、20 °C/min で 240 °C まで昇温 (1 分間)
ガードチップ	200 °C
FID	260 °C、水素: 40 mL/min 空気: 400 mL/min メークアップガス: 25 mL/min
注入量	1 µL

表 3. メソッド 3 の条件

GC システム	Intuvo 9000 GC/FID
カラム	J&W DB-FastFAME、20 m × 0.18 mm、0.20 µm、Intuvo モジュール (部品番号 G3909-63005)
キャリアガス	ヘリウム、32 psi、定圧モード
注入口	スプリット/スプリットレス、260 °C、スプリット比 100:1
オープン	50 °C (0.3 分間)、250 °C/min で 175 °C まで昇温、10 °C/min で 190 °C まで昇温 (0.5 分間)、13 °C/min で 240 °C まで昇温 (2 分間)
ガードチップ	200 °C
FID	260 °C、水素: 40 mL/min 空気: 400 mL/min メークアップガス: 25 mL/min
注入量	1 µL

結果と考察

FAME 36 成分標準混合物は、多数の食品サンプル中の脂肪酸組成を再現するように設計されており、多くの食品中の主要な FAME を同定するのに使用できます。この混合物には C4:0 ~ C24:1 の FAME が含まれていますが、この中には重要な飽和、一価不飽和、および多価不飽和 FAME の大部分が含まれています。この混合物には、内部標準としてかつて使用されていた FAME のトリコサノ酸メチルエステル (C23:0) は含まれていません。図 1 に、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo GC カラムを用いて、FAME 36 成分混合物を分離した結果を示します。キャリアガスとしてヘリウムを用いたメソッドでは、重要な AOAC ペアを含むすべての化合物が 5 分以内に完全に分離しており、 $R_s > 1.5$ でした。

表 4. メソッド 4 の条件

GC システム	Intuvo 9000 GC/FID
カラム	J&W DB-FastFAME、20 m × 0.18 mm、0.20 μm、Intuvo モジュール (部品番号 G3909-63005)
キャリアガス	水素、18 psi、定圧モード
注入口	スプリット/スプリットレス、260 °C、スプリット比 100:1
オープン	50 °C (0.3 分間)、150 °C/min で 185 °C まで昇温 (0.5 分間)、15 °C/min で 230 °C まで昇温 (5 分間)
ガードチップ	200 °C
FID	260 °C、水素: 40 mL/min 空気: 400 mL/min メークアップガス: 25 mL/min
注入量	1 μL

表 5. 消耗品

バイアル	茶色、ラベル付き、認定済み、2 mL、スクリュートップバイアルパック (部品番号 5182-0554)
セプタム	注入口セプタム、ノンスティック、BTO (部品番号 5183-4757)
ガードチップ	ガードチップ、Intuvo、スプリット/スプリットレス注入口 (部品番号 G4587-60565)
ライナ	Agilent ウルトラライナートライナ、スプリット、ガラスウール入り (部品番号 5190-2295)

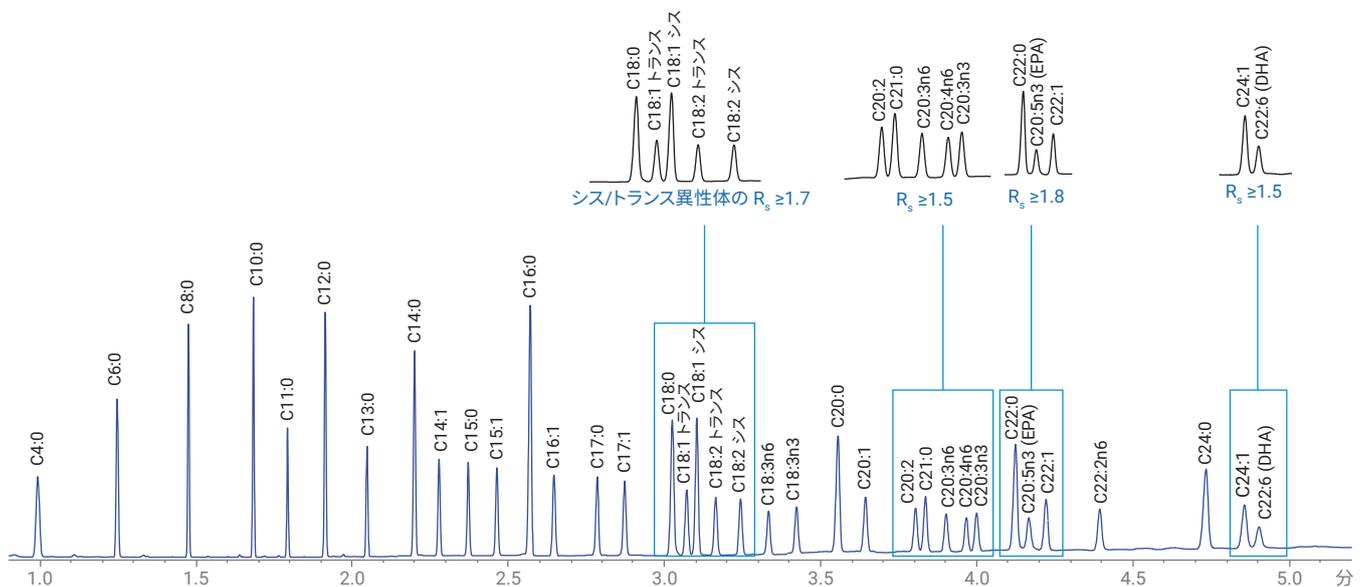


図 1. ヘリウムをキャリアガスとしたメソッド 1 を用いて、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo カラムで分析した FAME 36 成分混合物の GC/FID クロマトグラム (表 1 参照)

図 2 に菜種油中の FAME 混合物の典型的な GC/FID クロマトグラムを示します。このメソッドを用いると、分析時間 5 分で良好なピーク形状と高い分離能が得られました。

キャリアガスとして水素を用いると、C4-C24 偶数炭素数飽和 FAME 混合物と FAME 36 成分標準混合物を、4 分以内に良好に分離できました (図 3 および 4)。これは、このカラム

を用いると、分離能を低下させずに高速サンプルスルーットが実現できることを示しています。

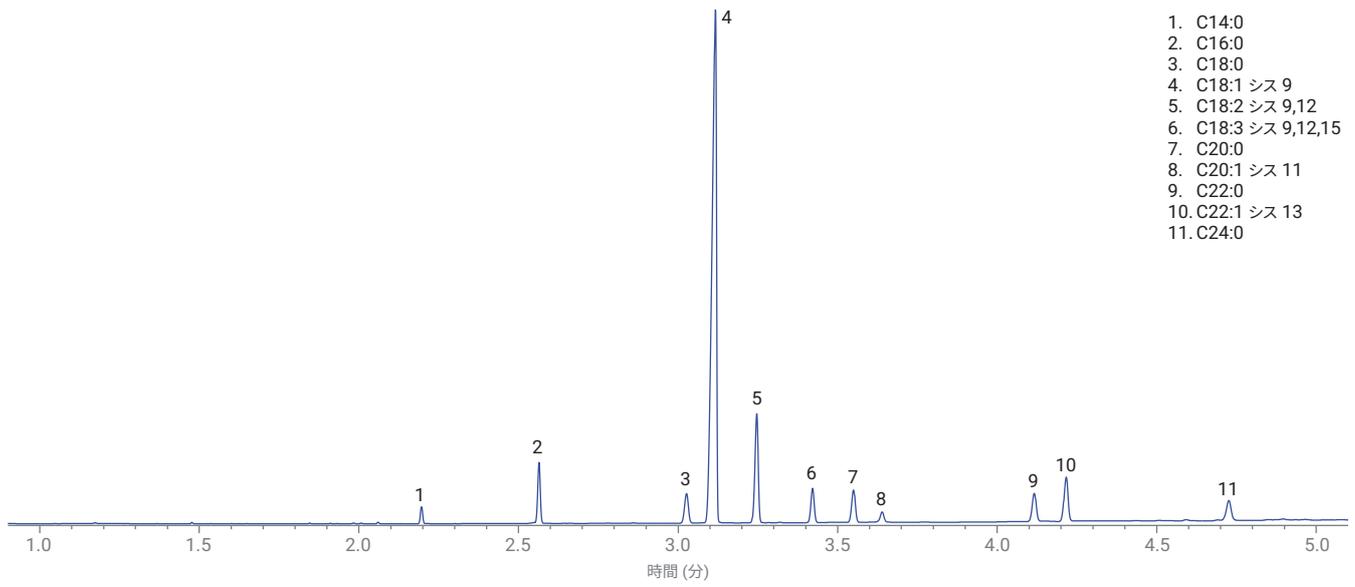


図 2. ヘリウムをキャリアガスとしたメソッド 1 を用いて、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo カラムで分析した菜種油の GC/FID クロマトグラム (表 1 参照)

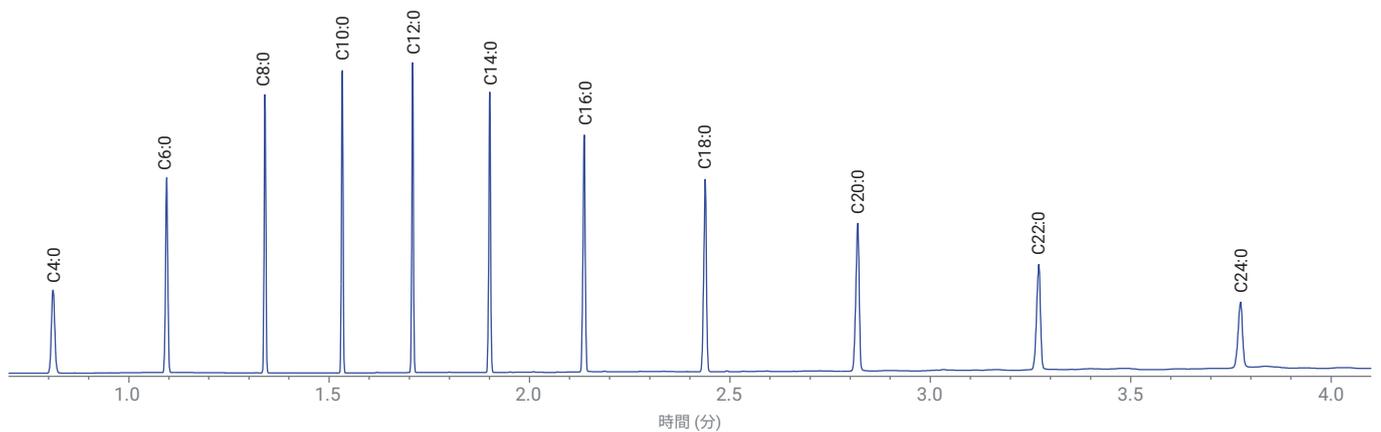


図 3. 水素をキャリアガスとした使用メソッド 2 を用いて、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo カラムで分析した C4-C24 偶数炭素数飽和 FAME 混合物の GC/FID クロマトグラム (表 2 参照)

従来の 37 成分の FAME 混合物を用いた FAME メソッドを検証したラボで、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME カラムを用いて Intuvo 9000 GC で分析したクロマトグラムを図 5 に示します。キャリアガスとしてヘリウムを用いたメソッドで、8 分以内にすべての化合物が完全に分離されました。

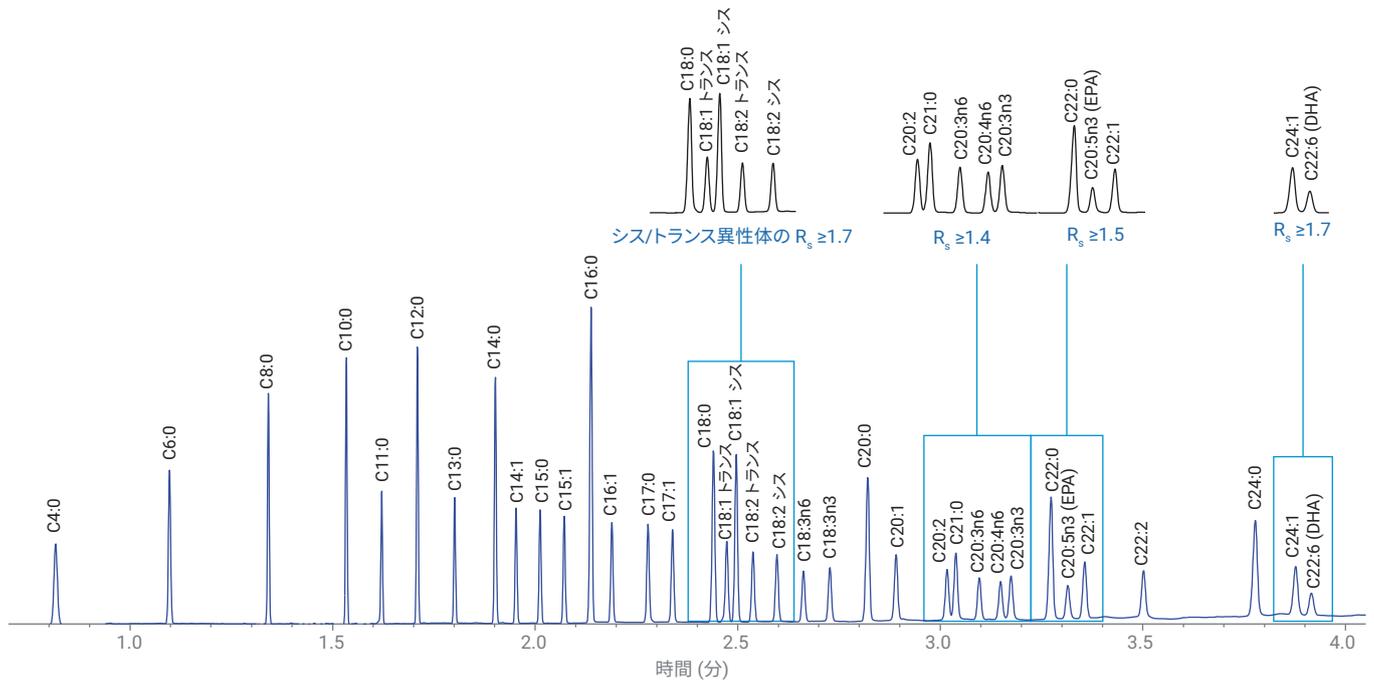


図 4. 水素をキャリアガスとしたメソッド 2 を用いて、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo カラムで分析した FAME 36 成分混合物の GC/FID クロマトグラム (表 2 参照)

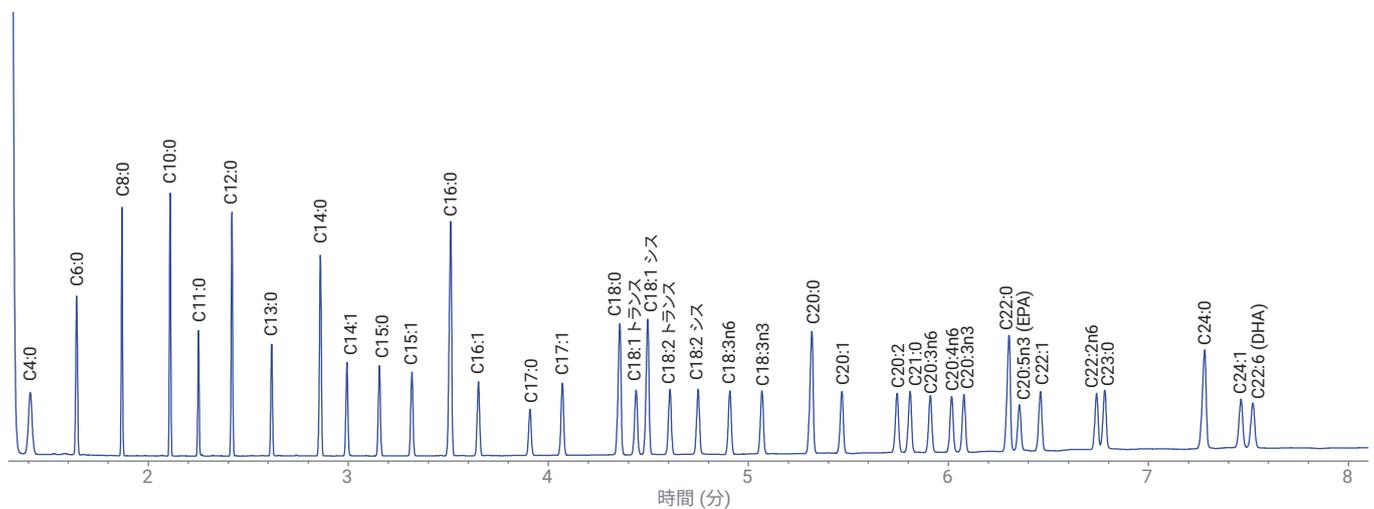


図 5. ヘリウムをキャリアガスとしたメソッド 3 を用いて、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo GC カラムで分析した 37 成分の FAME 標準混合物の GC/FID クロマトグラム (表 3 参照)

予測したとおり、キャリアガスとして水素を用いると、ほぼ同等の分離能で分析がさらに高速化します。図 6 に示したように、キャリアガスとして水素を用いると、37 成分の FAME 混合物中のすべての化合物を 6.5 分未満で良好に分離できました。

結論

DB-FastFAME Intuvo GC カラムを用いることで、FAME 混合物を高速かつ良好に分離することができます。このアプリケーションノートでは、重要な AOAC ペアと重要なシス/トランス脂肪酸異性体を含む FAME 36 成分混合物中のすべての化合物を、DB-FastFAME Intuvo GC カラムを用いて、キャリアガスとしてヘリウムを使用することで、5 分以内に良好に分離できることを実証しました。今回の実験では、菜種油の高速分析も実証しています。キャリアガスとして水素を用いると、高効率の DB-FastFAME Intuvo GC カラムで分析時間を短縮でき、すべての化合物を 4 分以内にベースライン分離できました。DB-FastFAME GC カラムと Intuvo 9000 GC を組み合わせることにより、高い生産性と効率で低コストの FAME 分析が可能であることが示されました。

参考文献

1. AOAC Official Methods of Analysis (2000), method Ce 2 – 66.
2. IUPAC, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, Blackwell Scientific Publications, IUPAC Method 2.301.
3. National Food Safety Standard, Determination of fatty acids in food, GB 5009.168 - 2016.
4. F. David, P. Sandra, A. K. Vickers. Column Selection for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters. Agilent Technologies Application Note, publication number 5989 - 3760EN, 2005.

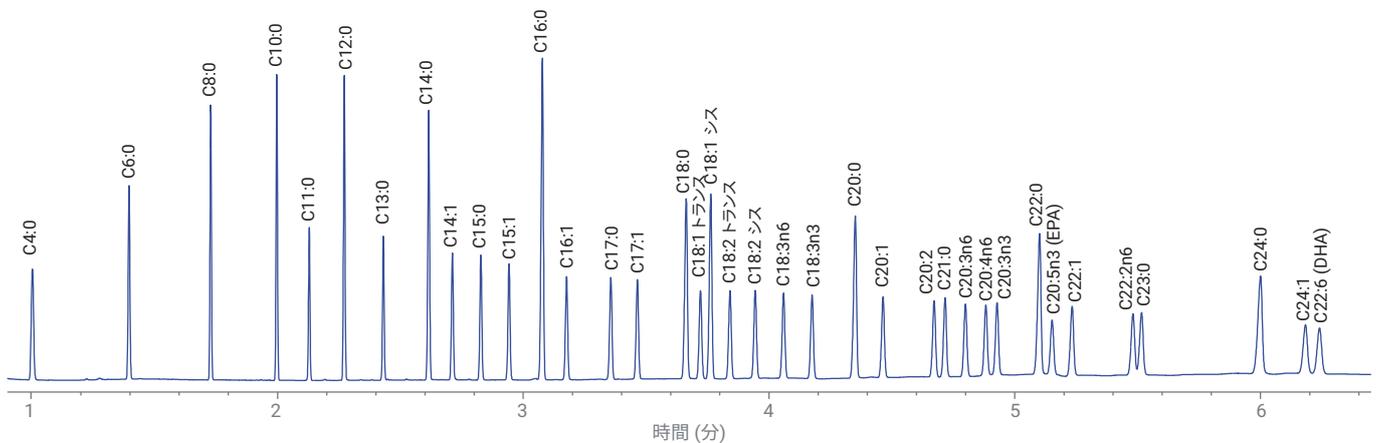


図 6. 水素をキャリアガスとしたメソッド 4 を用いて、20 m × 0.18 mm、0.20 μm DB-FastFAME Intuvo GC カラムで分析した 37 成分の FAME 標準混合物の GC/FID クロマトグラム (表 4 参照)

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2018
Printed in Japan, July 18, 2018
5994-0116JAJP