

製品番号 : 06482

脂肪酸メチル化キット(100回用)

特 徴

- ・本キットは、脂肪酸のGC分析に必要な前処理である脂肪酸のメチル化を効率よく行うためのキットです。
- ・本キットのメチル化法は、強熱する必要が無く、安全かつ簡単にメチル化する事が可能です。
- ・遊離脂肪酸、グリセロ脂質、ステロールエステルの脂肪酸をメチル化する事が可能です。
- ・スフィンゴ脂質には適応できません。

製品の内容

試薬名	容量	数量	法 規 制
メチル化試薬A	50ml	1	消防法:危険物第四類 第一石油類 危険等級Ⅱ
メチル化試薬B ^(注1)	50ml	1	消防法:危険物第四類 アルコール類 危険等級Ⅱ 水溶性液体
メチル化試薬C ^(注1)	50ml	1	消防法:危険物第四類 第一石油類 危険等級Ⅱ 水溶性液体
抽出試薬	250ml	1	消防法:危険物第四類 第一石油類 危険等級Ⅱ

(注1) メチル化試薬Bは強アルカリ性、メチル化試薬Cは強酸性ですので取り扱いには注意してください。

別途必要となるもの

- ・密閉できる容器[摺り合わせ、またはネジ口小試験管(φ12.5mm×165mm)など]
- ・加温装置(37℃に加温できる装置)
- ・ピペット類
- ・ボルテックス
- ・分析試料
- ・酢酸(「使用方法2(グリセロ脂質の脂肪酸組成分析)」場合)

使用方法1(全脂質の脂肪酸組成分析)

- (1) 乾燥試料^(注2)を密閉できる容器に入れます。
 - (2) メチル化試薬A 0.5mlを加えます。
 - (3) メチル化試薬B 0.5mlを加えます(先にメチル化試薬AとBを混合し、1ml加えても良い。ただし、混合当日にご使用ください)。
 - (4) 密閉した後、37℃で1時間、または室温で1晩放置し、反応させます(グリセロ脂質とステロールエステルの脂肪酸メチル化反応)。
試料にステロールエステルが含まれていないか、微量で全脂肪酸組成に影響を与えないと思われる場合には「37℃、5分」、または「室温、20分」に短縮できます。
 - (5) メチル化試薬C 0.5mlを加えます。
 - (6) 密閉した後、37℃で20分間放置し、反応させます(遊離脂肪酸のメチル化反応)。
 - (7) 抽出試薬1.0mlを加えて、ボルテックスで混合します。
 - (8) 2層に分離したら、境界面の白い濁った層が混ざらないように上層を別の容器に移します。上層が、わずかな量しか採取できないほど乳化するようであれば、遠心分離します。
 - (9) 採取した上層にイオン交換水1mlを加えて攪拌・洗浄します。
 - (10) 上層を別の容器に移します。
 - (11) GC分析にキャピラリーカラムを使用する場合 : メチル化脂肪酸精製キット(製品番号:06483)を用いて精製操作が必要です。→(12)へ
GC分析にパックドカラムを使用する場合 : 精製操作は省略しても良い。→(13)へ
- (12) [精製]メチル化脂肪酸精製キット(製品番号:06483)をご使用ください。下記の操作はすべて自然流下で行ってください。

 - 1) シリカゲルカートリッジに前処理液3mlを注入し、洗浄します。
 - 2) 脂肪酸メチル化キットでメチル化した溶液をシリカゲルカートリッジに注入し、脂肪酸メチルを吸着させます。
 - 3) 洗浄液3mlを注入し、洗浄します。
 - 4) 溶出液3mlを注入し、カートリッジから溶出する脂肪酸メチルを回収します。
- (13) シリカゲルカートリッジから溶出した液(シリカゲルカートリッジ精製をしなかった場合は、(10)で採取した上層溶液)をGCカラムに注入します。検出感度が不足する場合には、減圧デシケータ、N₂ガス、ロータリーエバポレーター等で溶媒を蒸発乾固させた後、少量の抽出試薬に溶解して、GCカラムに注入します。



(注2) 試料例

例 1) 大腸菌または酵母 : 容器に大腸菌または酵母の培養液を取り、遠心して得られたペレット約20mgを凍結乾燥させたもの。
大腸菌の場合は1~2時間減圧デシケータで乾燥させても良い。

例 2) 血液 : ヘパリン処理した血液0.04mlを抗酸化剤BHT処理濾紙に着点・吸収させ、30分間減圧デシケータで乾燥、または2時間以上自然乾燥させたもの。メチル化を完全に進行させるには、血液を濾紙全体に薄く塗る必要があります。

BHT処理濾紙の作成法 (BHT:2,6-di-t-butyl-p-cresol)

0.05%BHTを含むアセトンに濾紙を数分間浸します。別の同組成のアセトンにもう一度浸したのち風乾し、さらに30分以上減圧乾燥または1晩デシケータで乾燥させた後、1.5cm角に切って使用します。濾紙はADVANTEC社製 No.2やWhatman[®]3MMなど。採血用濾紙などの厚手の濾紙はメチル化収率が低下するので使用しないでください。

例 3) ラット肝臓 : ラット肝臓15mgを凍結乾燥させたもの。減圧デシケータによる乾燥は収率が低下するので使用しないでください。

例 4) 食用油 : 4mg以下の食用油。

例 5) きな粉 : 20mg以下のきな粉。

例 6) 魚 : アジの可食肉質部 約200mgを小試験管に取り、抽出試薬2mlを加えてガラス棒で肉片を押しつぶします。ボルテックスで攪拌後、上澄み液0.5mlをメチル化に使用する容器に取ります。ロータリーエバポレーター、減圧デシケータ、またはN₂ガスを吹き付けて溶媒を蒸発させたものを試料とします。

使用方法2(グリセロ脂質の脂肪酸組成分析)

試料中にステロールエステル、遊離脂肪酸を含まない、または少量含んでいても全脂肪酸組成に影響をほとんど与えないと思われる場合には、より簡易な使用方法2でメチル化ができます。この場合はキットのメチル化試薬Aとメチル化試薬Cは使用しません。

- (1) 乾燥試料(注3)を密閉できる容器に入れます。
- (2) 抽出試薬2mlを加えます。
- (3) メチル化試薬B 0.2mlを加えます。
- (4) 密閉した後、30~37°Cに暖め、2分間ボルテックスで攪拌します。または、浴槽式の超音波処理装置の浴槽温度を30~37°Cに設定し、2~3分間超音波処理します(試験管立てごとボルテックスするか、超音波装置を用いると同時に多数の試料を処理できます。超音波装置の場合、試験管の置かれる位置によっては超音波が均一にあたらないことがありますのでご注意ください)。
- (5) 酢酸0.02mlを加えて酸性とした後、イオン交換水2mlを加えて攪拌します。
- (6) 境界面の白い濁った層が混ざらないように上層を別の容器に移します。わずかな量しか採取できないほど乳化するようであれば、遠心分離します。
- (7) GC分析にキャピラリーカラムを使用する場合 : メチル化脂肪酸精製キット(製品番号:06483)を用いて精製操作が必要です。→ (8)へ
GC分析にパックドカラムを使用する場合 : 精製操作は省略しても良い。→ (9)へ

- (8) [精製]メチル化脂肪酸精製キット(製品番号:06483)をご使用ください。下記の操作はすべて自然流下で行ってください。
- 1) シリカゲルカートリッジに前処理液3mlを注入し、洗浄します。
 - 2) 脂肪酸メチル化キットでメチル化した溶液をシリカゲルカートリッジに注入し、脂肪酸メチルを吸着させます。
 - 3) 洗浄液3mlを注入し、洗浄します。
 - 4) 溶出液3mlを注入し、カートリッジから溶出する脂肪酸メチルを回収します。

(9) シリカゲルカートリッジから溶出した液(シリカゲルカートリッジ精製をしなかった場合は6.で採取した上層溶液)をGCカラムに注入します。検出感度が不足する場合には、減圧デシケータ、N₂ガス、ロータリーエバポレーター等で溶媒を蒸発乾固させた後、少量の抽出試薬に溶解して、GCカラムに注入します。

(注3) 試料例

「使用方法1(全脂質の脂肪酸組成分析)」に記載した、試料例の「例 1)大腸菌」、「例 4)食用油」、「例 5)きな粉」、「例 6)魚」。

使用上の注意

- ・本キット使用時には必ずディスポーザブル手袋、防護メガネを着用して操作をしてください。
- ・試薬が皮膚に付着した場合は、大量の流水で洗浄してください。

貯法

室温保存

包装単位

100TESTS (製品番号:06482-04)