

現在、食品中に含まれるトランス脂肪酸量など脂肪酸に対する関心が高まっております。脂肪酸は、油脂や脂質などの構成成分である有機酸であり、鎖長に従って短鎖（炭素数 2 ～ 4）、中鎖（炭素数 5 ～ 10）、長鎖（炭素数 11 以上）に分類されます。トランス脂肪酸などの分析は、一般的に食品から脂質を抽出し、その構成脂肪酸をメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィー（GC）で分析します。

しかしながら幾何異性体など多様で複雑な脂肪酸を含む脂質の場合は、GC だけでは十分に分離できない場合があります。そのような場合、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いることにより改善できる可能性があります。脂肪酸の分析は、サンプルと目的に応じて GC と HPLC を使い分ける必要があります。

		高速液体クロマトグラフィー（HPLC）		ガスクロマトグラフィー（GC）
		COSMOSIL C18	COSMOSIL Cholesterol	
遊離脂肪酸の分析	短鎖脂肪酸の分析	○	(HILIC)	×
	中～長鎖脂肪酸の分析	◎		×
脂肪酸エステルの分析	短鎖脂肪酸の分析	△		×
	中～長鎖脂肪酸の分析	○		◎
不飽和脂肪酸の位置 / 幾何異性体分析		△	○	◎
高感度分析		△ 【ラベル化】	◎	◎
分取精製		◎		×
多様で複雑な脂肪酸を含む脂質		GC/HPLC を両方使い分けることにより、高分離が可能 ^(*)		

*1: Wakako Tsuzuki and Kaori Ushida, "Preparative Separation of *cis* - and *trans* -Isomers of Unsaturated Fatty Acid Methyl Esters Contained in Edible Oils by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography" *Lipids* (2009) **44**: 373-379,

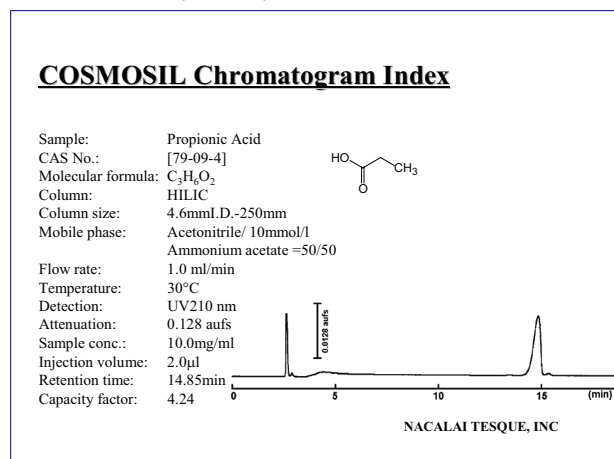
1. 遊離脂肪酸の HPLC 分析例

GC では、ピーク形状・沸点などの理由からメチルエステル化して分析する必要がありますが、HPLC は、誘導体化することなく遊離脂肪酸をそのまま分析することが可能となります。そのため一般的に、遊離脂肪酸の分析には、HPLC が適しています。遊離脂肪酸の HPLC を用いた分析例についてご紹介いたします。

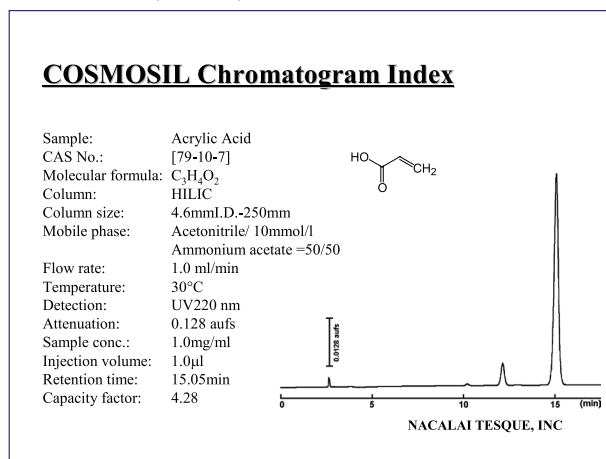
(1) 短鎖遊離脂肪酸

短鎖脂肪酸は、アルキル鎖が短く、HPLC で汎用される C18 カラムでは保持が小さくなります。そのため移動相の水含量が多い移動相条件に適したコスモシル C18-PAQ や親水性化合物の分析に適したコスモシル HILIC を用いることにより分析が可能となります。

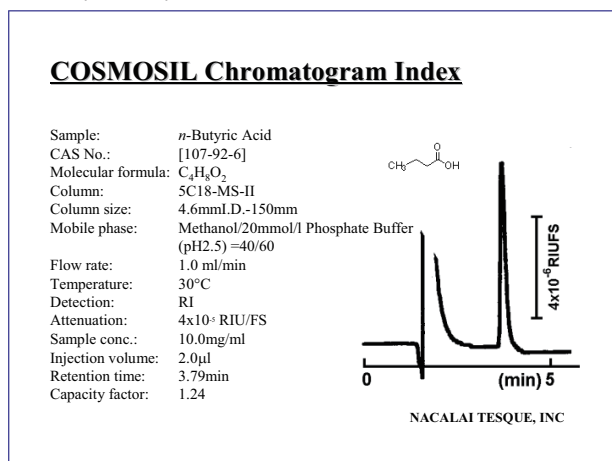
・プロピオン酸 (3 : 0)



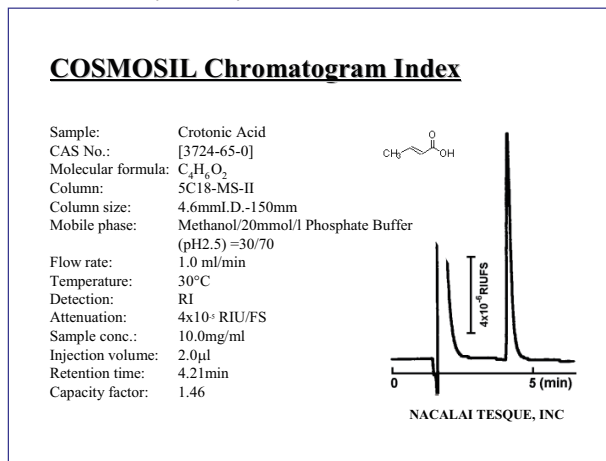
・アクリル酸 (3 : 1)



・酪酸 (4 : 0)



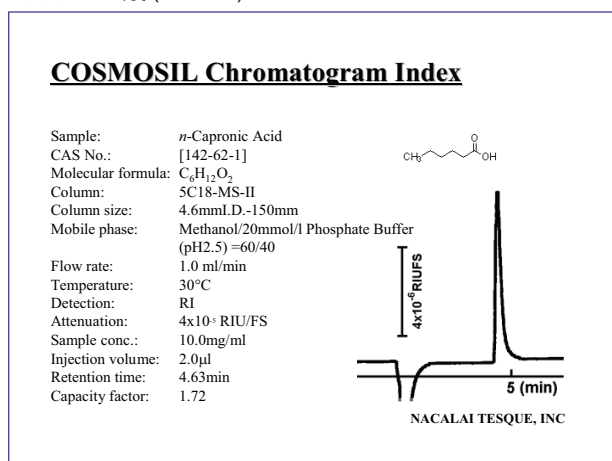
・クロトン酸 (4 : 1)



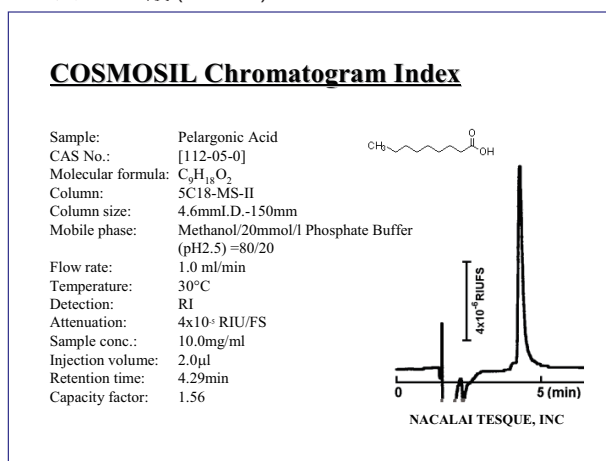
(2) 中鎖遊離脂肪酸、長鎖遊離脂肪酸

中鎖脂肪酸・長鎖脂肪酸は、疎水性が高く、HPLC で汎用される C18 カラムで分析可能となります。そのためメチル化せず、遊離脂肪酸を分析する場合は、コスモシル C18-MS-II を用いることにより分析が可能となります。

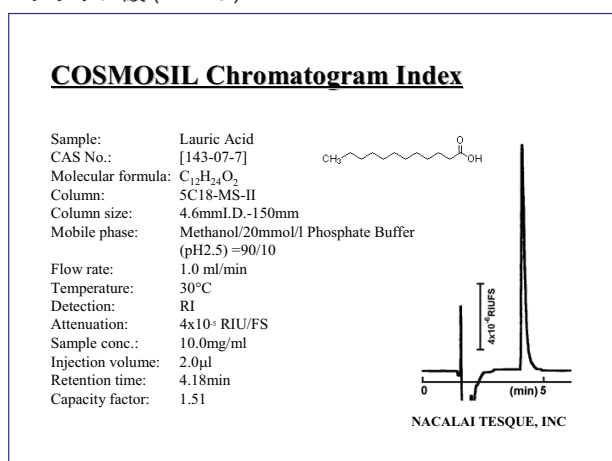
・カプロン酸 (6 : 0)



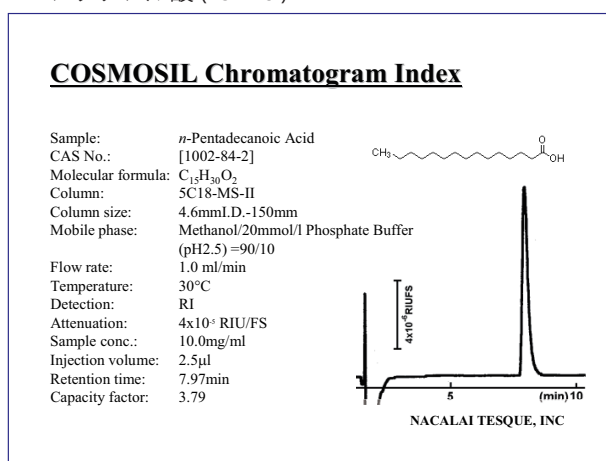
・ペラルゴン酸 (9 : 0)



・ラウリン酸 (12 : 0)



・ペンタデシル酸 (15 : 0)

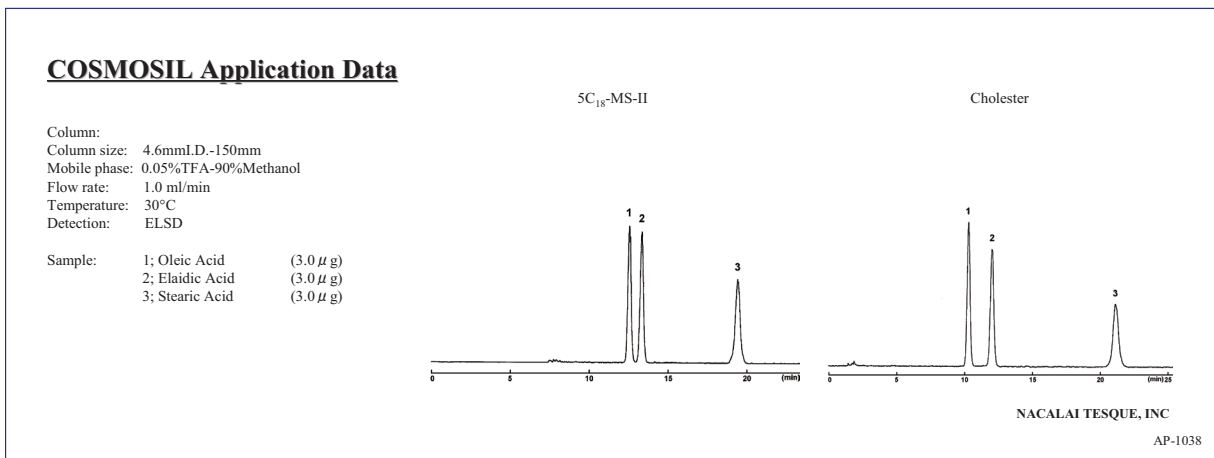


2. 不飽和脂肪酸の HPLC 分析例

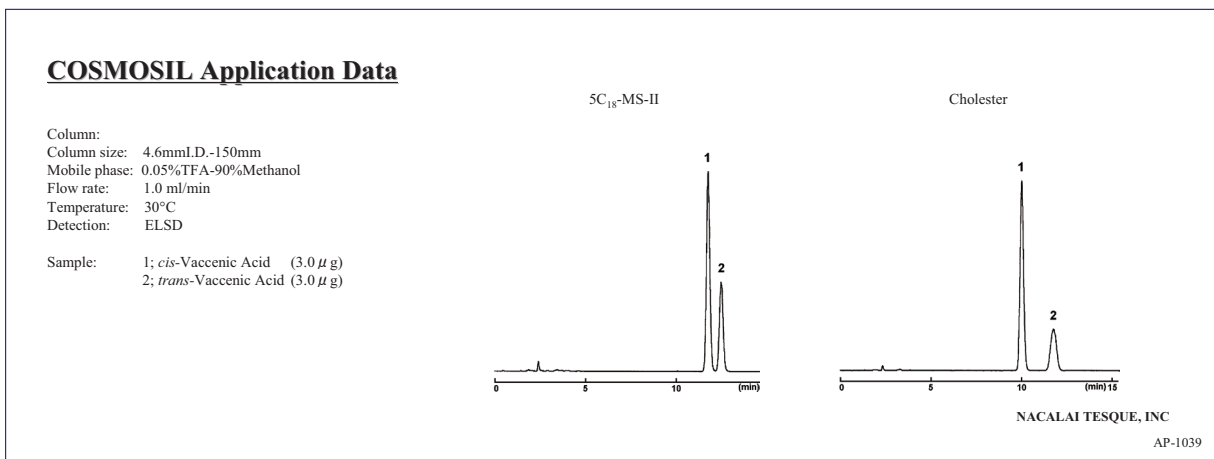
(1) 幾何異性体 (*cis/trans*)

cis/trans など幾何異性体は、疎水性が似通っているため疎水性を認識して分離する C18 カラムでは分離が不十分な場合があります。そのような場合、分子形状認識能をもつコスモシル Cholester を用いることにより分離が改善する可能性があります。

• 18:1 *cis*-9 / *trans*-9 脂肪酸



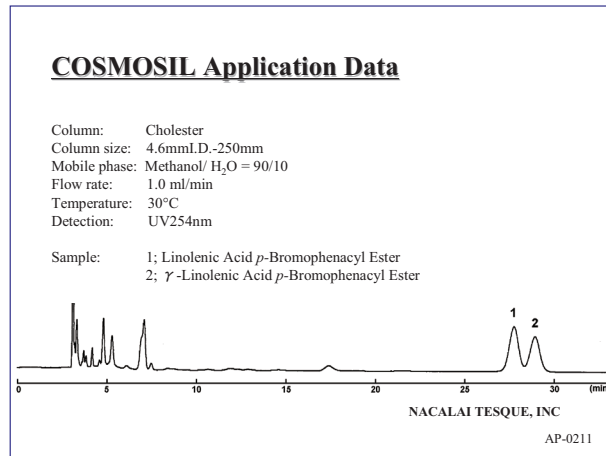
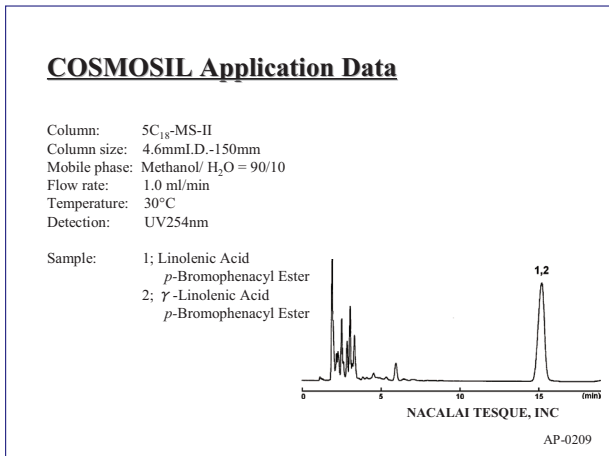
• 18:1 *cis*-11 / *trans*-11 脂肪酸



(2) 位置異性体

不飽和結合の位置により、C18 カラムよりも分子形状認識能をもつコスモシル Cholester を用いることにより分離が改善する可能性があります。またラベル化することにより HPLC においても高感度検出が可能となります。

• ラベル化した 18:3 (n-3) / 18:3 (n-6) 脂肪酸エステル



3. 脂肪酸メチルのGC分析

GCは、分離能が高く脂肪酸を分析する場合、汎用されます。しかしGCで脂肪酸を分析する場合、沸点や定量性の観点からメチルエステル化する必要があります。

弊社製品の脂肪酸メチル化キット(#06482-04)、精製キット(#06483-94)を用いてメチルエステル体とした後GC分析した例についてご紹介します。

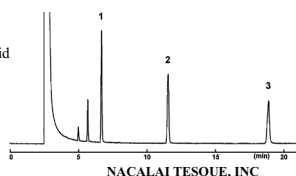
・ ω 3系脂肪酸メチルエステルのGC分析

Fatty Acid Methylation Kit Application Data

Column: SP-2340, 0.25mm I.D. -30m, 0.20 μ m film
Oven: 200°C
Carrier: Helium, 1.0kgf/cm² (19.3cm/sec)
Detection: FID 220°C
Injection: 3.0 μ l, Split 50:1, 220°C

Sample:
1; Linolenic Acid
2; 5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid
3; 4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid

Sample Preparation:
• Fatty Acid Methylation Kit (#06482-04)
• Fatty Acid Methyl Ester Purification Kit (#06483-94)



ω -3 脂肪酸について

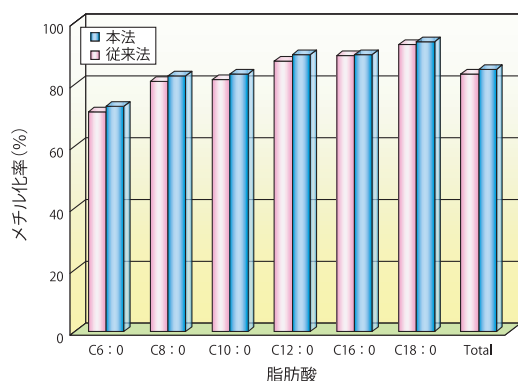
LDL コレステロールと中性脂肪を減らすなどに効果がある不飽和脂肪酸です。代表的なものとして α -リノレン酸, EPA, DHAなどがあげられます。

これらは、脂肪酸メチル化キット、精製キットを用いるとメチルエステル体としてGC分析が可能となります。

・簡便な脂肪酸メチル化キット

GCで脂肪酸を分析する場合、沸点や定量性の観点からメチル化する必要があります。メチル化の従来法は、様々な方法がありました。しかし、これらの方法は、高温条件下で反応させる必要があり煩雑な方法となります。本キットは、安全で簡便にメチルエステル化することができます。また精製キットを用いることによりGC分析するための前処理を行うことが可能となります。

<従来法と本キットのメチル化率の比較>



データご提供：月桂冠株式会社 総合研究所

ご注意 試験・研究用以外には使用しないでください。

※記載の内容は、'11年7月現在の情報に基づいております。
※価格には消費税は含まれておりません。

nacalai tesque
The quality for certainty.



● Web site
<http://www.nacalai.co.jp/cosmosil/>

■ 販売取扱店

● 価格・納期のご照会
試薬はここに
0120-489-552

● 製品に関する技術的なご照会
E-mail: info-tech@nacalai.co.jp
Tel: 075-211-2703 Fax: 075-211-2673

ナカライテスク株式会社

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町498