

Application Note

島津アプリケーションノート No.28(食品)



Food

FTIRおよびGCによるトランス脂肪酸の分析と 簡便な食品試料前処理法

芝本 繁明
S.SHIBAMOTO

土渕 毅
T.TSUCHIBUCHI

1. はじめに

加工食品中トランス脂肪酸の分析は、主に高分離能のキャピラリカラムを装着した GC, GC/MS で行われています。脂肪酸メチルの GC による異性体分離、特にシス体とトランス体の分離にはシアノプロピル系の強極性キャピラリカラムが多く用いられています。しかし強極性カラムを用いて1試料あたり1時間程度を費やしても検体中に多数存在する異性体分離は完全ではなく、様々な夾雑物が含まれる加工食品では定量が困難な場合もあります。一方、FTIR の場合は油脂の直接測定が可能で、測定時間が試料のセットや洗浄を含めても5分程度と短く効果的であると考えられますが、食品由

来の夾雑成分の影響が懸念されます。

従来、食品や生体試料などから油脂を抽出するにはクロロホルム/メタノール等の環境負荷が大きい溶媒を大量に使用する事に加え、GC, GC/MS 分析のためにメチル化の操作が必要であり煩雑でした。

今回、大阪府立大学 山本公平先生指導のもと、加工食品試料に対してケン化処理法と従来からの溶媒抽出法での前処理を行い、得られた試料をFTIR法およびGC法で分析し、分析用試料調製法と分析法の違いによるトランス脂肪酸メチル定量結果への影響を比較検討しましたので報告します。

2. ケン化処理による試料前処理

各種加工食品 300g に水 300g を加えて均質化したものから 20g を 100mL 容の耐圧性分解ビンにとり、食品中の総油脂量に対し適量の内部標準物質ヘプタデカン酸 (17:0FA, マルガリン酸) を添加しました。50%水酸化カリウム水溶液 5mL を加えて混合後、さらにエタノール 20mL を加えてよく混合し、オートクレーブで 105°C, 30 分間加熱してケン化処理を行いました。ケン化処理後の試料にヘキサン 30mL を加えて不ケン化物を抽出除去する操作を 3 回行い、10mL の塩酸を加えた酸性

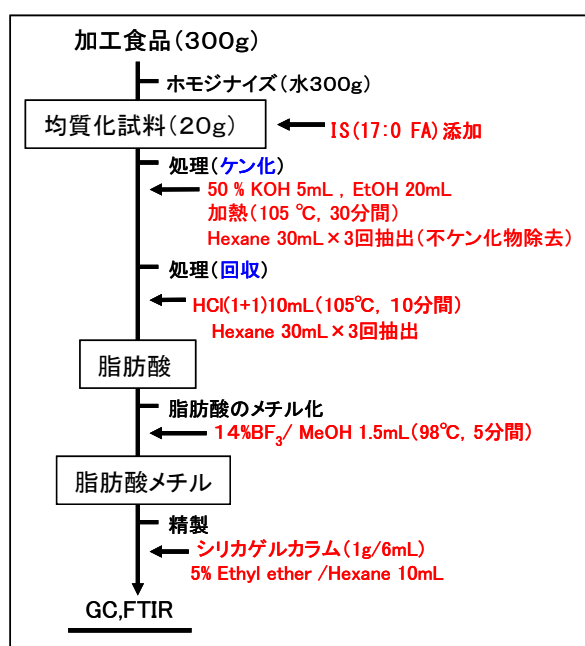


図2-1 ケン化処理フロー

下で 105°C, 10 分間加熱した後、ヘキサン 30mL を加えて抽出する操作を 3 回繰返して脂肪酸を回収しました。回収した脂肪酸に 1.5mL の 14%三フッ化ホウ素/メタノール溶液を加え、98°C で 5 分間加熱しメチル化を行いました。得られた脂肪酸メチルは、必要に応じてシリカゲルカラムにて精製を行いました。(図 2-1)

同じ均質化試料 20g をとり、一般的なクロロホルム/メタノール抽出法を用いて抽出し、メチル化したもの(図 2-2)と比較しました。

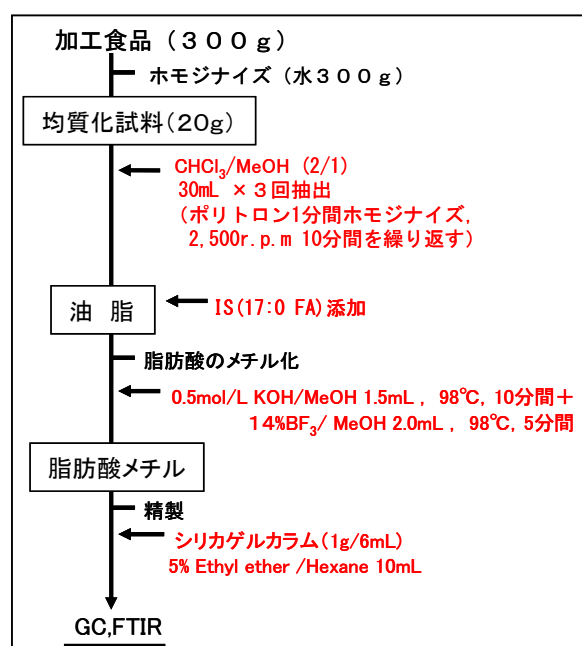


図2-2 溶媒抽出フロー

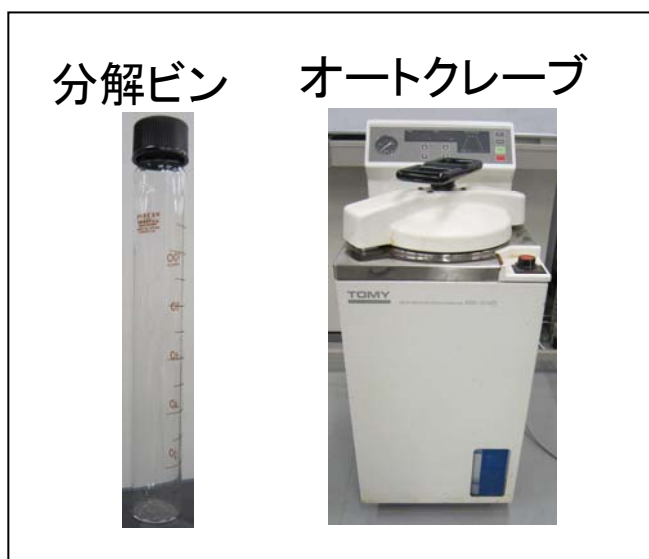


図2-3 分解ビンとオートクレーブ

回収率を保ちケン化処理を正常に行うため、使用する耐圧性分解ビンは、高圧時にもキャップ部からの漏れが無いことを事前に確認したのを用います。

また、スクリューキャップのシール部のテフロン部分に傷がつくなどの劣化があると、シール部由来の夾雑成分が試料を汚染し GC クロマトグラム上で妨害ピークとなる場合があるため注意が必要です。

3. FTIRによる分析

FTIRによるトランス脂肪酸の分析ではGCのように鎖長の違いや二重結合の数、位置の異なる成分を分離して各成分の定量分析を行うことは困難です。しかし、トランス型不飽和脂肪酸はシス型にはない赤外吸収ピークを 966 cm^{-1} 付近に持つため、このピーク強度を用いることでトランス脂肪酸の定量分析が可能です。さらにFTIRでは1試料あたり数秒から数分程度で測定できるため、数多くの試料を短時間に分析することが可能です。

3-1. 不飽和脂肪酸の赤外スペクトル

シス型二重結合を持つトリオレインとトランス型二重結合を持つトリエライジンの赤外スペクトルを図3-1-1に示します。これらのトリグリセリドを構成脂肪酸に分解し、メチル化して得られるオレイン酸メチルとエライジン酸メチルの赤外スペクトルを図3-1-2に示します。トリエライジンおよびエライジン酸メチルの赤外スペクトル

ただし、加工食品には水分、タンパク質、糖類など油脂以外の成分が多量に混在するため、油脂製品以外の食品を直接分析することはできません。一方、GCでの分析においても油脂の抽出やメチル化などの前処理は不可欠です。

そこで今回は、各種加工食品に対し前章で紹介した前処理を行ない、トランス脂肪酸分析のスクリーニング手法としてFTIRによる分析を検討しましたのでご紹介します。

ルには 966 cm^{-1} 付近にピークが確認できます。これはトランスビニレン基の=C-H面外変角振動による吸収で、トランス型の不飽和脂肪酸に特徴的なピークです。シス型の場合は 800 cm^{-1} 以下にブロードなピークとなって表れます。

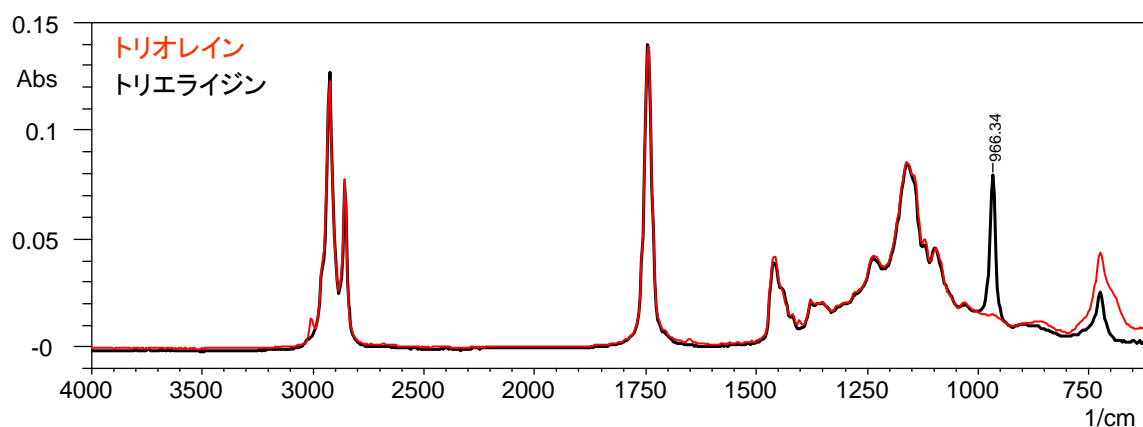


図3-1-1 トリオレインとトリエライジン標準品の赤外スペクトル

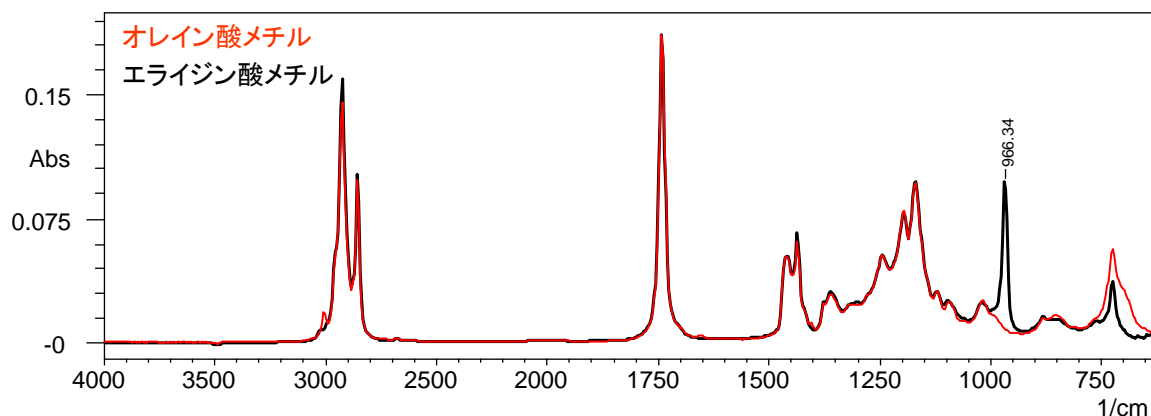


図3-1-2 オレイン酸メチルとエライジン酸メチル標準品の赤外スペクトル

トリオレインとトリエライジンおよびオレイン酸メチルとエライジン酸メチルの構造式を以下に示します。

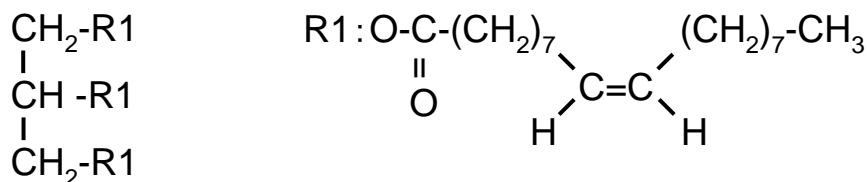


図3-1-3 トリオレインの構造式

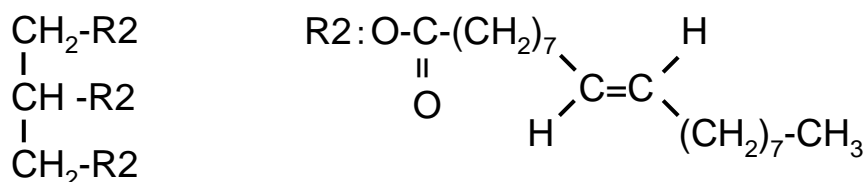


図3-1-4 トリエライジンの構造式

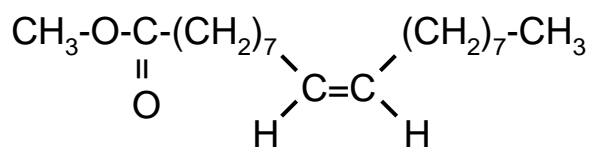


図3-1-5 オレイン酸メチルの構造式

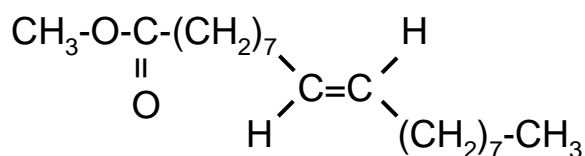


図3-1-6 エライジン酸メチルの構造式

3-2. 赤外吸収による脂肪酸メチルの検量線

メチル化した試料のトランス脂肪酸定量分析を行うため、オレイン酸メチルとエライジン酸メチルを用いて標準試料を調製し、検量線を作成しました。標準試料はオレイン酸メチルにエライジン酸メチルを添加し、エライジン酸メチル濃度 0.0(無添加), 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0%(v/v)の 7 点を使用しました。測定は光路長 0.1mm の KBr 固定セルを用いた透過法により繰り返し測定 3 回で行いました。各標準試料の測定結果(各々

1 スペクトル)を図 3-2-1 に、966 cm^{-1} 付近のピーク面積による検量線を図 3-2-2 に示します。また、測定条件を表 3-2-1 に示します。さらに、エライジン酸メチル濃度 0.0%の標準試料を 10 回繰り返し測定し、その標準偏差と検量線の傾きより定量下限(10σ)を求めました。その結果、検量線は相関係数 $R^2=0.999942$ と良好な直線性が得られ、定量下限値は 0.064%となりました。

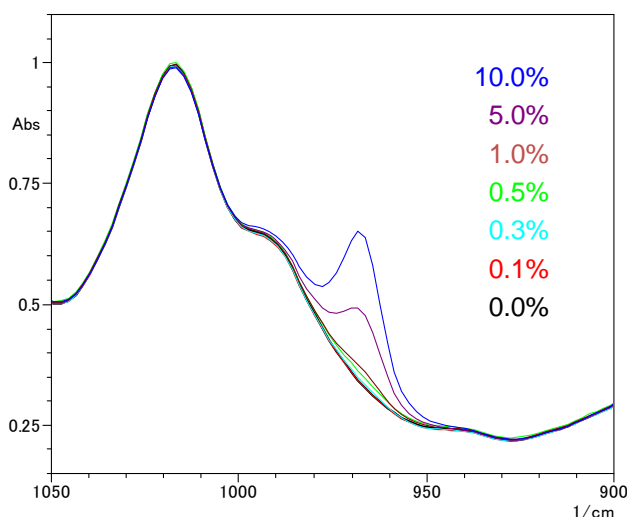


図3-2-1 標準試料の赤外スペクトル

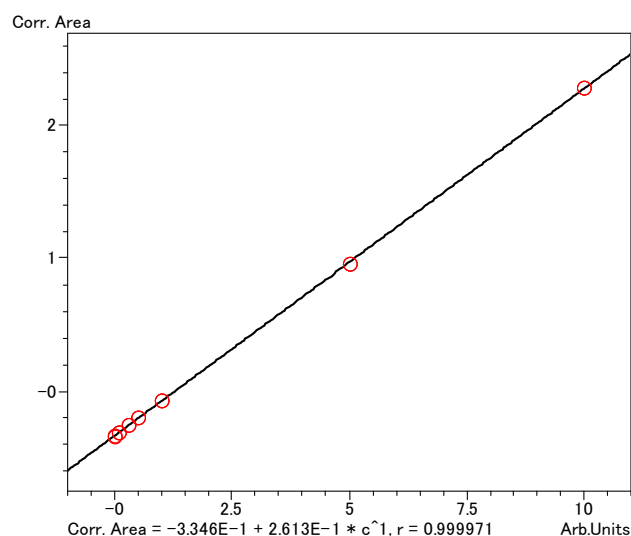


図3-2-2 FTIR検量線

表3-2-1測定条件

フーリエ変換赤外分光光度計

Analytical Instrument	: IRPrestige-21、Fixed Thickness Cell (0.1mm、KBr)
Resolution	: 4.0 cm^{-1}
Accumulation	: 20scans(約30秒)
Detector	: DLATGS

3-3. FTIRによる加工食品中トランス脂肪酸の定量

各種加工食品に対し前章で紹介した、クロロホルム/メタノール溶媒抽出またはケン化処理を行い、それぞれメチル化処理を行った試料溶液から溶媒を除去して得られた脂肪酸メチル中のトランス脂肪酸量を定量しました。測定した赤外スペクトルの一部を図 3-3-1 に示します。定量計算には図 3-2-2 に示した検量線を用

い、各試料の測定は表 3-2-1 の条件にて繰り返し測定 5 回で行いました。各試料の定量結果を表 3-3-1 に示します。これらの値は油脂中でのトランス脂肪酸濃度を示しています。油脂中濃度として 1%以下の試料でも良好な再現性が得られました。

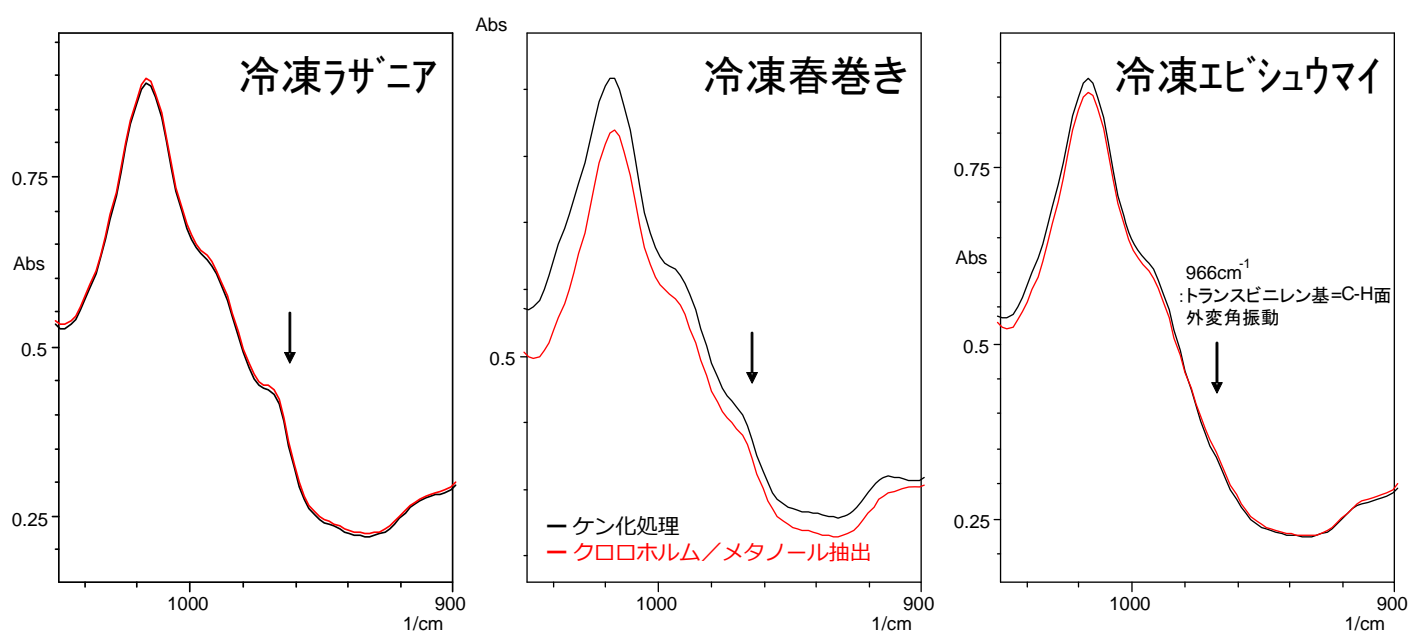


図3-3-1 加工食品試料の赤外スペクトル

表3-3-1 加工食品試料中トランス脂肪酸のFTIR定量結果(油脂中濃度)

	冷凍ピザA			冷凍ピザB			冷凍ピザC	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	3.744	3.467	1	3.679	3.470	1	3.193	3.053
2	3.740	3.468	2	3.670	3.477	2	3.173	3.059
3	3.738	3.469	3	3.673	3.472	3	3.169	3.062
4	3.737	3.462	4	3.674	3.472	4	3.177	3.062
5	3.734	3.464	5	3.668	3.468	5	3.171	3.061
平均	3.739	3.466	平均	3.672	3.472	平均	3.177	3.059

	冷凍ラザニア			冷凍エビドリア			冷凍エビグラタン	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	3.203	3.206	1	3.205	2.947	1	2.939	2.850
2	3.207	3.195	2	3.200	2.939	2	2.936	2.858
3	3.214	3.197	3	3.203	2.938	3	2.933	2.860
4	3.211	3.198	4	3.207	2.936	4	2.940	2.859
5	3.213	3.201	5	3.208	2.936	5	2.940	2.858
平均	3.210	3.199	平均	3.205	2.939	平均	2.938	2.857

	冷凍エビシューマイ			冷凍春巻き			冷凍から揚げ	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	0.602	0.347	1	2.132	2.030	1	1.406	1.123
2	0.614	0.351	2	2.151	2.036	2	1.414	1.125
3	0.615	0.348	3	2.152	2.036	3	1.425	1.129
4	0.618	0.353	4	2.153	2.035	4	1.414	1.123
5	0.623	0.351	5	2.153	2.037	5	1.413	1.130
平均	0.614	0.350	平均	2.148	2.035	平均	1.414	1.126

	ビーフカレー(レトルト)			ポテトチップス			チョコチップクッキー	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	2.745	2.275	1	0.626	0.470	1	0.125	0.158
2	2.737	2.276	2	0.645	0.441	2	0.136	0.158
3	2.737	2.275	3	0.641	0.442	3	0.137	0.160
4	2.736	2.276	4	0.646	0.442	4	0.145	0.164
5	2.738	2.276	5	0.639	0.450	5	0.140	0.167
平均	2.738	2.276	平均	0.640	0.449	平均	0.136	0.161

(%)

3-4. 2次微分処理の検討

図 3-1-2 に示したオレイン酸メチル中エライジン酸メチル標準試料の赤外スペクトルや図 3-3-1 の前処理した加工食品の測定結果から分かるとおり、 966cm^{-1} 付近のトランス脂肪酸によるピークは $1050\sim 950\text{cm}^{-1}$ の吸収に重なった状態で表れます。このようなショルダー状ピークの確認や定量の際には 2 次微分処理がよく用いられます。そこで、前述の標準試料と前処理した加工食品の測定結果に対し 2 次微分処理を行い、検量線の作成と定量計算を試みました。

各標準試料の測定結果に対し 2 次微分処理した結果（各々 1 スペクトル）を図 3-4-1 に示します。ショルダー

状であった 966cm^{-1} 付近のピークが 2 次微分処理により明確になっていることが分ります。ただし、2 次微分処理することにより各ピークは上下が逆転した形状となります。図 3-4-2 は 2 次微分処理後の 966cm^{-1} 付近のピーク面積による検量線で、相関係数は $R^2=0.999678$ となりました。また、エライジン酸メチル濃度 0.0% の標準試料 10 回繰り返し測定と検量線の傾きより求めた定量下限 (10σ) は 0.065% となりました。これらの値は 2 次微分処理をせず、直接求めた場合 ($R^2=0.999942$, 定量下限 0.064%) とほぼ同様です。

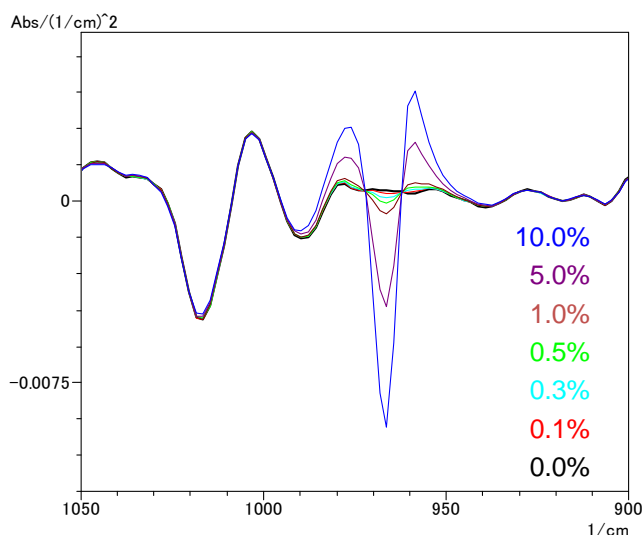


図3-4-1 2次微分処理後の標準試料赤外スペクトル

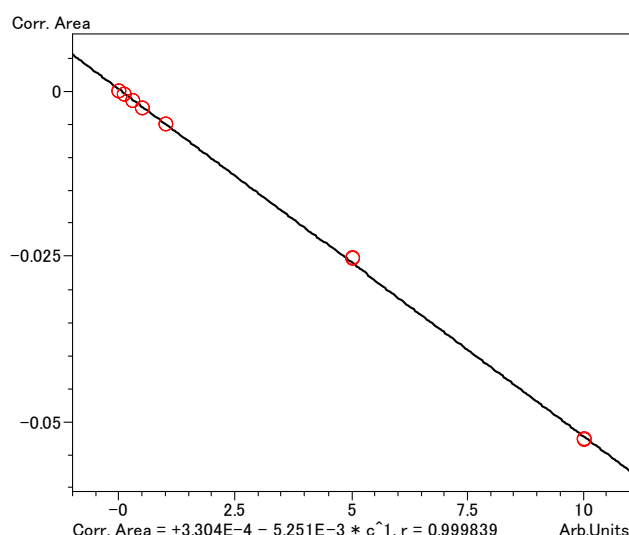


図3-4-2 2次微分処理後のFTIR検量線

表 3-4-1 は 2 次微分処理を用いた各加工食品の定量結果です。2 次微分処理をせず、直接求めた場合（表 3-3-1）と比較すると 2 次微分処理をしない方が良好な

再現性となりました。2 次微分処理はノイズを増幅する傾向があるため、再現性の低下はその影響によるものではないかと推測されます。

表3-4-1 2次微分処理後の加工食品試料中トランス脂肪酸のFTIR定量結果(油脂中濃度)

冷凍ピザA			冷凍ピザB			冷凍ピザC		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	3.558	3.564	1	3.813	3.609	1	2.673	2.987
2	3.627	3.555	2	3.829	3.661	2	2.649	2.993
3	3.608	3.564	3	3.827	3.649	3	2.640	3.009
4	3.589	3.551	4	3.809	3.654	4	2.658	2.994
5	3.608	3.546	5	3.808	3.634	5	2.618	2.984
平均	3.598	3.556	平均	3.817	3.641	平均	2.647	2.993
冷凍ラザニア			冷凍エビドリア			冷凍エビグラタン		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	3.069	3.133	1	2.947	3.135	1	3.058	3.032
2	3.119	3.126	2	2.931	3.125	2	3.066	3.012
3	3.112	3.134	3	2.952	3.156	3	3.062	3.026
4	3.124	3.137	4	2.953	3.145	4	3.067	3.011
5	3.109	3.108	5	2.932	3.150	5	3.069	3.015
平均	3.107	3.127	平均	2.943	3.142	平均	3.064	3.019
冷凍エビシュウマイ			冷凍春巻き			冷凍から揚げ		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	0.277	0.387	1	1.416	1.519	1	0.481	0.779
2	0.221	0.387	2	1.303	1.522	2	0.461	0.782
3	0.227	0.399	3	1.303	1.537	3	0.393	0.778
4	0.225	0.405	4	1.304	1.530	4	0.448	0.802
5	0.224	0.390	5	1.280	1.519	5	0.443	0.775
平均	0.235	0.394	平均	1.321	1.525	平均	0.445	0.783
ビーフカレー(レトルト)			ポテトチップス			チョコチップクッキー		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	1.821	2.403	1	0.321	0.442	1	0.429	0.388
2	1.802	2.409	2	0.310	0.439	2	0.426	0.400
3	1.813	2.396	3	0.314	0.443	3	0.431	0.387
4	1.814	2.388	4	0.312	0.443	4	0.443	0.401
5	1.789	2.392	5	0.277	0.443	5	0.426	0.401
平均	1.808	2.397	平均	0.307	0.442	平均	0.431	0.396

(%)

3-5. 鎖長による影響

一般的に油脂を構成する脂肪酸は炭素数 18 を中心に分布しており、他の炭素数の脂肪酸も含まれています。それらの比率は油脂の種類等により異なります。今回トランス脂肪酸の標準試料として用いたエライジン酸は炭素数 18 で一つのトランス二重結合を持った脂肪酸であり、炭素数の異なるトランス脂肪酸とはピーク強度に違いがあると考えられます。そこで、エライジン酸と炭素数の異なる 2 種類のトランス脂肪酸とで 966 cm^{-1} 付近のピーク強度を比較しました。

図 3-5-1 に 1 回反射 ATR 法で測定したミリストエライ

ジン酸メチル(炭素数 14)、パルミトエライジン酸メチル(炭素数 16)とエライジン酸メチルの赤外スペクトルを示します。また測定条件を表 3-5-1 に示します。これら 3 種類の不飽和脂肪酸エステルは炭素数を除いて同じ構造のため、ほぼ同様の赤外スペクトルを持つことがわかります。ただし、炭素数の違いによるピーク強度比の違いが確認できます。図 3-5-2 に図 3-5-1 の 966 cm^{-1} 付近の拡大図を、表 3-5-2 にこれらのピーク面積値($977.952 - 956.734\text{ cm}^{-1}$ にて補正、繰り返し 3 回測定した結果)を示します。

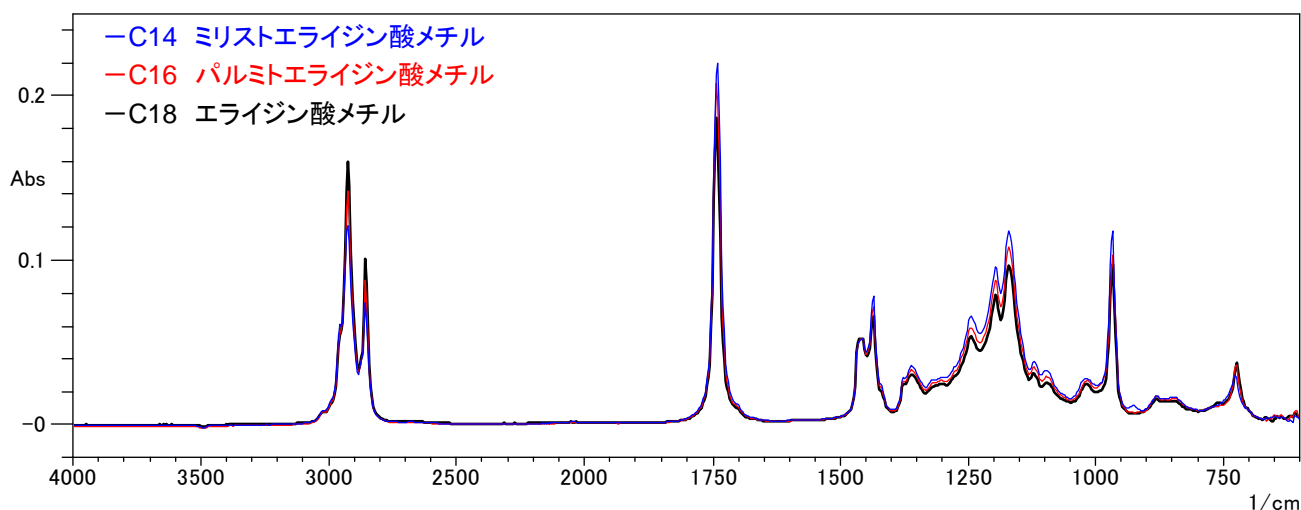


図3-5-1 C14,C16,C18炭素鎖長比較赤外スペクトル(1回反射ATR法)

表3-5-1測定条件

フーリエ変換赤外分光光度計

Analytical Instrument : IRPrestige-21、MIRacle A (ZnSe)
 Resolution : 4.0 cm⁻¹
 Accumulation : 100scans(約150秒)
 Detector : DLATGS

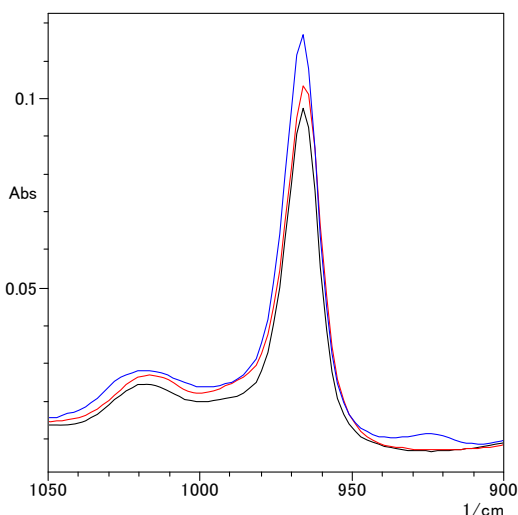


図3-5-2 炭素鎖長比較赤外スペクトル(拡大)

表3-5-2 炭素鎖長感度比較

スペクトル	鎖長	ピーク面積	ピーク面積比
エライジン酸メチル-1	C18	0.737	
エライジン酸メチル-2	C18	0.741	
エライジン酸メチル-3	C18	0.743	
平均		0.740	
パルミトエライジン酸メチル-1	C16	0.750	C16/C18
パルミトエライジン酸メチル-2	C16	0.750	
パルミトエライジン酸メチル-3	C16	0.750	
平均		0.750	
ミストエライジン酸メチル-1	C14	0.887	C14/C18
ミストエライジン酸メチル-2	C14	0.886	
ミストエライジン酸メチル-3	C14	0.884	
平均		0.885	

これらの結果より、エライジン酸メチルのピーク面積値と比較して、炭素数 16 のパルミトエライジン酸メチルで約 1%、炭素数 14 のミストエライジン酸メチルで約 20%大きくなるのが分かります。したがって、油脂中不飽和脂肪酸の炭素数が小さくなると、エライジン酸を基

準としたトランス脂肪酸定量値は増加する方向に誤差を含む可能性があります。また、油脂中不飽和脂肪酸の炭素数が大きくなるとトランス脂肪酸定量値は減少する方向に誤差を含むと推測されます。

3-6. 油脂(トリグリセリド)中トランス脂肪酸の定量

加工食品と異なり油脂以外の成分をほとんど含まない油脂製品に対しては、抽出やメチル化などの前処理を行わず FTIR で直接測定することができます。トリグリセリド構造を持つ油脂の場合でも、トランス型不飽和脂肪酸の特徴ピークが 966cm^{-1} 付近に表れます。図3-1-1に示したように、このピークの強度を用いてトランス脂肪酸の定量を行うことができます。

トリオレインとトリエライジンを用いて標準試料を調製し、検量線を作成しました。標準試料はトリオレインにトリエライジンを添加し、トリエライジン濃度 0.0(無添加)、

0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0%(w/w)の7点を使用しました。測定は光路長 0.1mm の KBr 固定セルを用いた透過法により繰り返し測定 3 回で行いました。各標準試料の測定結果(各々1 スペクトル)を図 3-6-1 に、 966cm^{-1} 付近のピーク面積による検量線を図 3-6-2 に示します。測定条件は表 3-2-1 と同様です。さらに、トリエライジン濃度 0.0%の標準試料を 10 回繰り返し測定し、その標準偏差と検量線の傾きより定量下限(10σ)を求めました。その結果、検量線は相関係数 $R^2=0.999918$ と良好な直線性が得られ、定量下限値は 0.060%となりました。

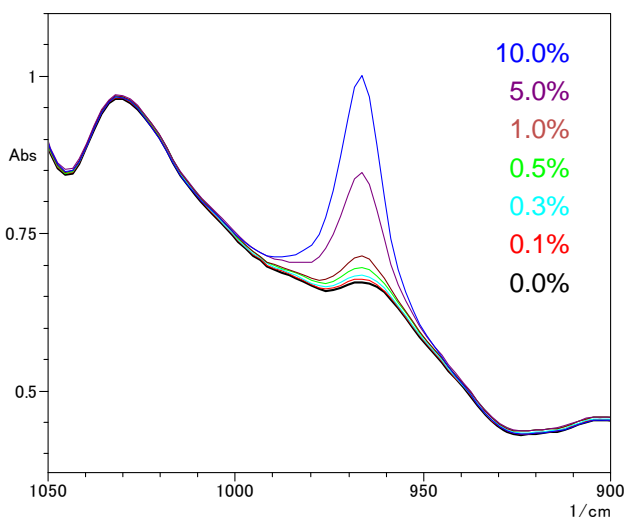


図3-6-1 トリグリセリド標準試料の赤外スペクトル

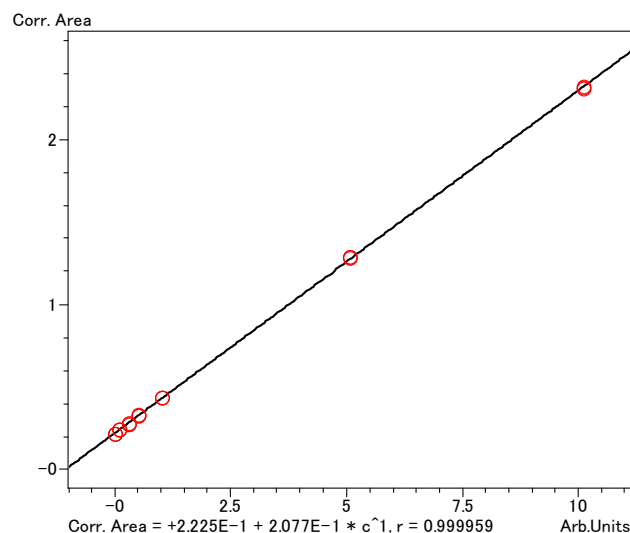


図3-6-2 トリエライジンのFTIR検量線

4. GCによる分析

GCを用いた加工食品中のトランス脂肪酸分析は、油脂を抽出し、脂肪酸メチルの調製を行った後、シアノプロピル系の強極性キャピラリーカラムで行われています。しかし強極性カラムを用いても検体中に多数存在する異性体分離は完全ではなく、様々な夾雑物が含まれる加工食品では定量が困難な場合もあります。また

クロロホルム／メタノール等を用いた一般的な溶媒抽出法は環境負荷が大きい塩素系溶媒を使用することから問題視されており、今回塩素系溶媒を使用せず、加工食品試料に対して直接ケン化処理を行った後、脂肪酸メチルを回収する簡便な前処理法を検討し、抽出法の比較を行いました。

4-1. GCによる検量線

前処理により得られた加工食品中のトランス脂肪酸メチルの定量分析を行うため、エライジン酸メチルを用いて標準試料を調製し、検量線を作成しました。標準試料はエライジン酸メチルを n-ヘキサンで希釈し、エライジン酸メチル濃度 0.05, 0.1, 0.5, 1mg/mL の 4 点を使用しました。各試料溶液に内部標準物質としてヘプタデカン酸(17:0)メチルを 1mg/mL 濃度となるよう添加しました。図 4-1-1 に標準試料のクロマトグラムを、図 4-1-2 に検量線を示しました。分析条件を表 4-1-1 に示しました。検量線作成濃度範囲で相関係数 $R^2=0.999987$ と

良好な直線性が得られました。トランス脂肪酸各種異性体の標準試料を全て準備することは困難であるため、エライジン酸の検量線から得られた係数を他のトランス酸ピークに適用し定量を行いました。検出に用いた FID は炭素数により感度が異なることから、炭素数が異なる成分には、エライジン酸(C18:1)メチルの炭素数を $18+1=19$ として比例計算で炭素数補正を行い、総トランス脂肪酸量を算出しました。例えば C16:1 のトランス脂肪酸メチルの定量値には $19/(16+1)$ を乗じて補正を行なっています。

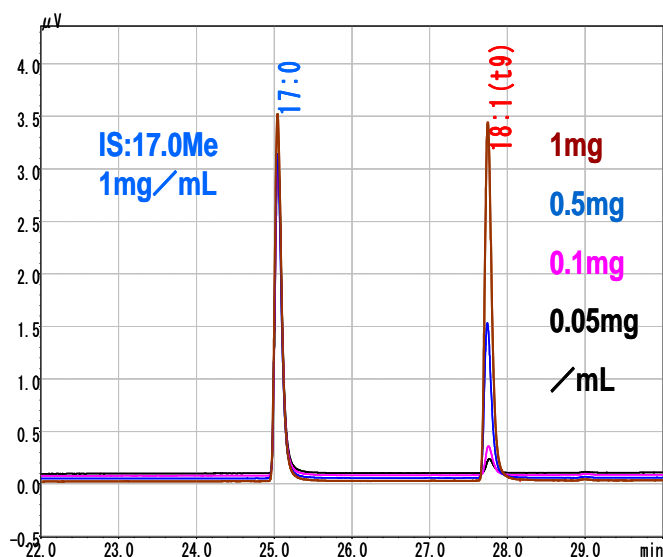


図4-1-1 標準試料のクロマトグラム

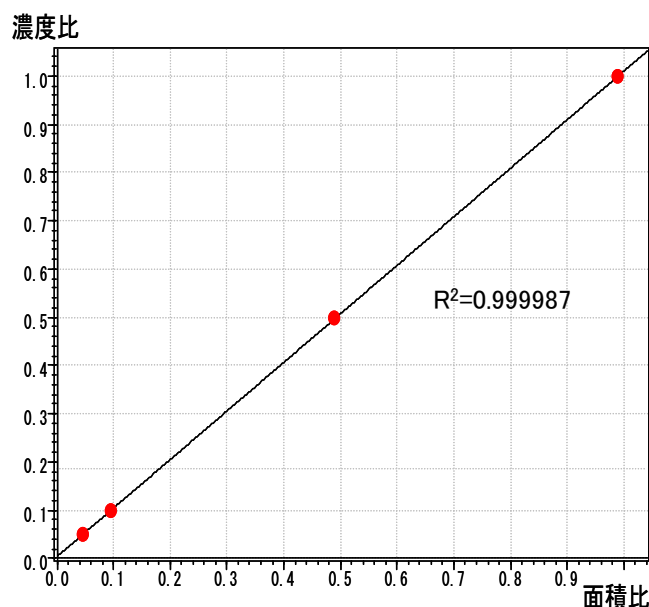


図4-1-2 エライジン酸検量線

表4-1-1 GC分析条件

ガスクロマトグラフ

Instrument	: GC-2010 Plus	Injection Mode	: Split
Column	: BPX-90 (0.25 mm, I.D. × 100 m, d.f., 0.25 μm)	Split Ratio	: 30:1
Column Temp.	: 120°C(2min) - 3°C/min - 250°C(10min)	FID Temp	: 260°C
INJ Temp	: 250°C	Sample size	: 1 μL
Carrier gas	: He (20cm/sec)		

4-2. 前処理法の違いによる実試料のGCクロマトグラム比較

複数の加工食品を用いて一般的な溶媒抽出法であるクロロホルム/メタノール抽出法とケン化処理法とのGCクロマトグラムの比較を行いました。前処理方法の違いによってGCクロマトグラムプロファイルに大きな差

異は認められず、環境負荷が大きな塩素系溶媒を使用しないケン化処理法を用いても、今回検討した加工食品においては問題なく前処理が行なえることが確認できました。

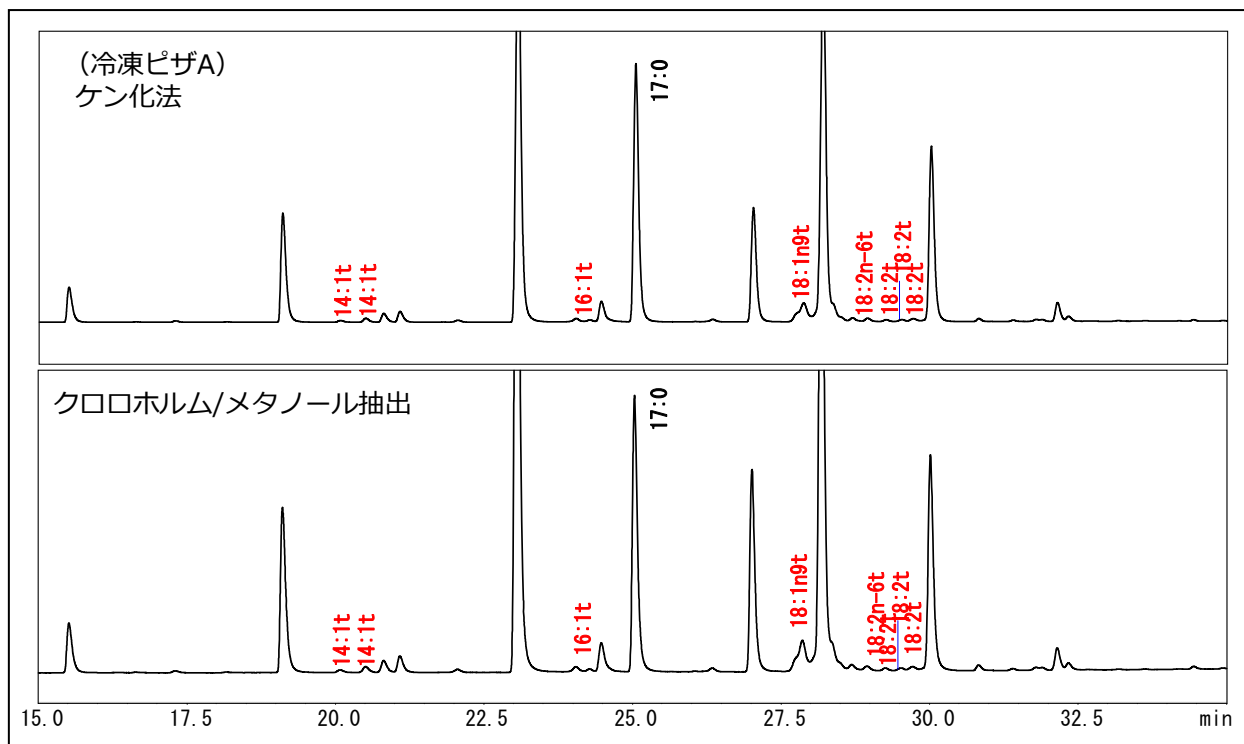


図4-2-1 冷凍ピザAの前処理法比較

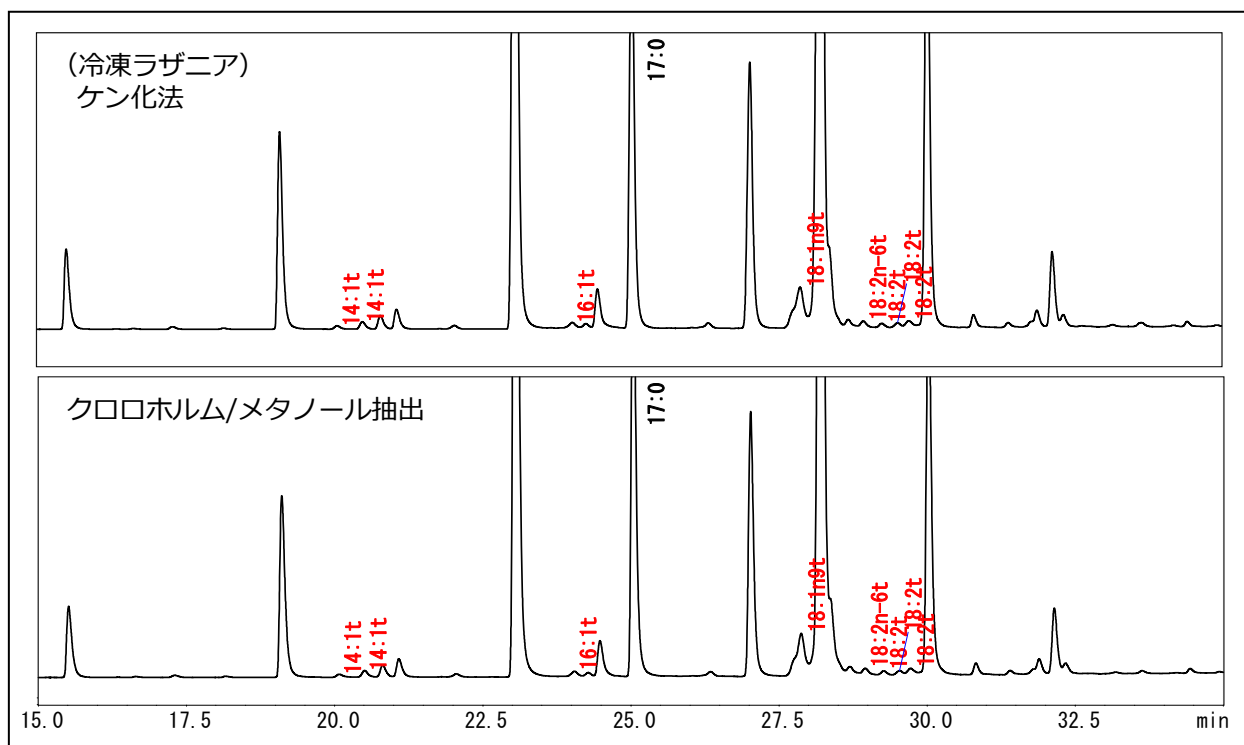


図4-2-2 冷凍ラザニアの前処理法比較

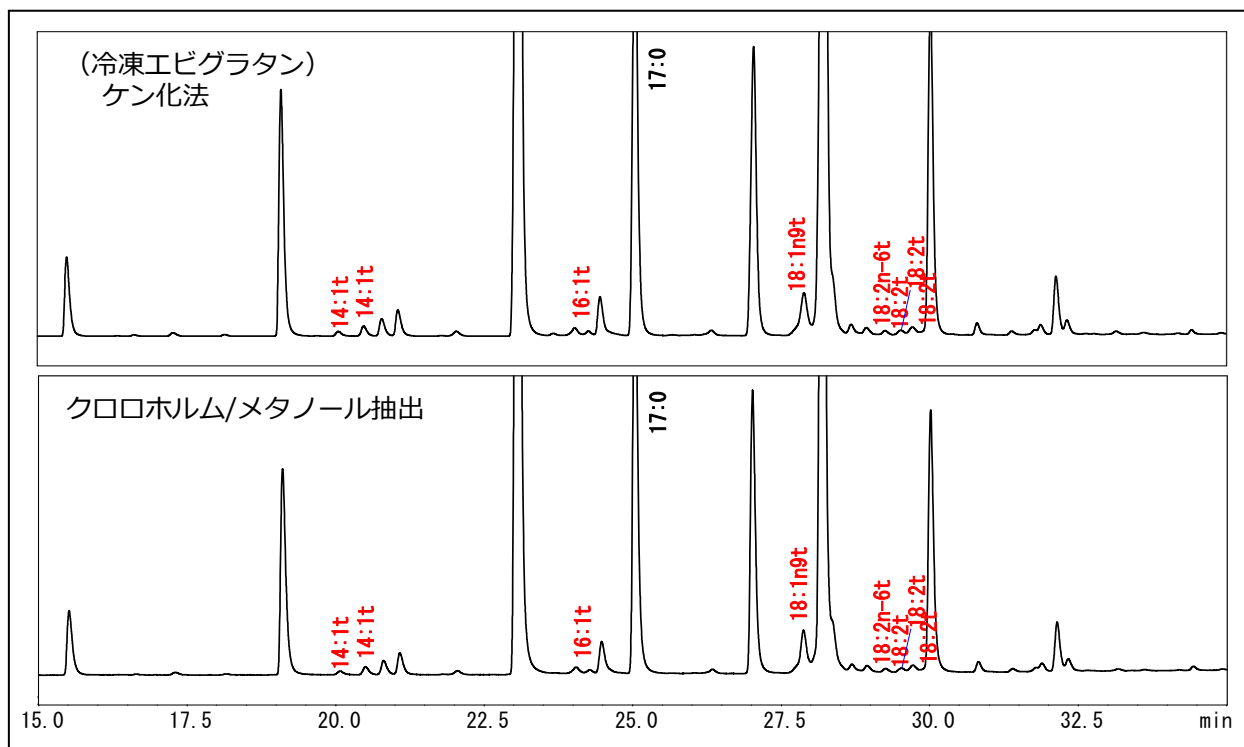


図4-2-3 冷凍エビグラタン の前処理法比較

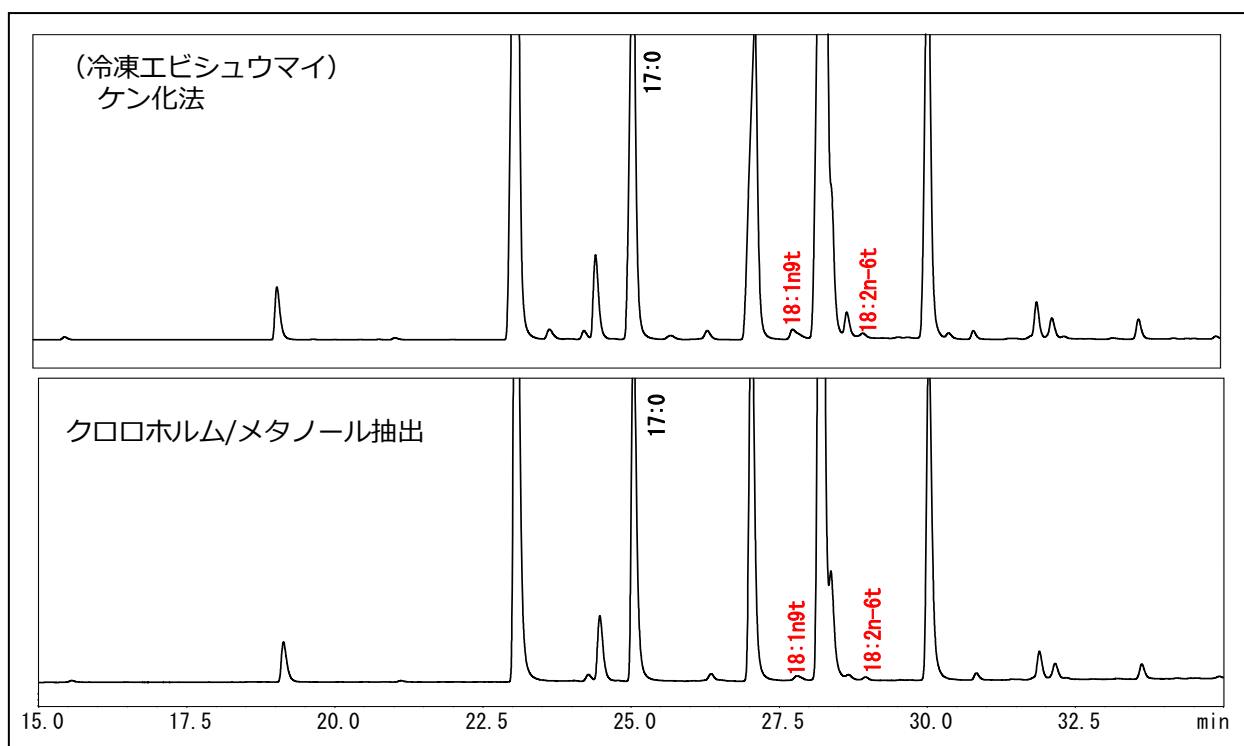


図4-2-4 冷凍エビシューマイの 前処理法比較

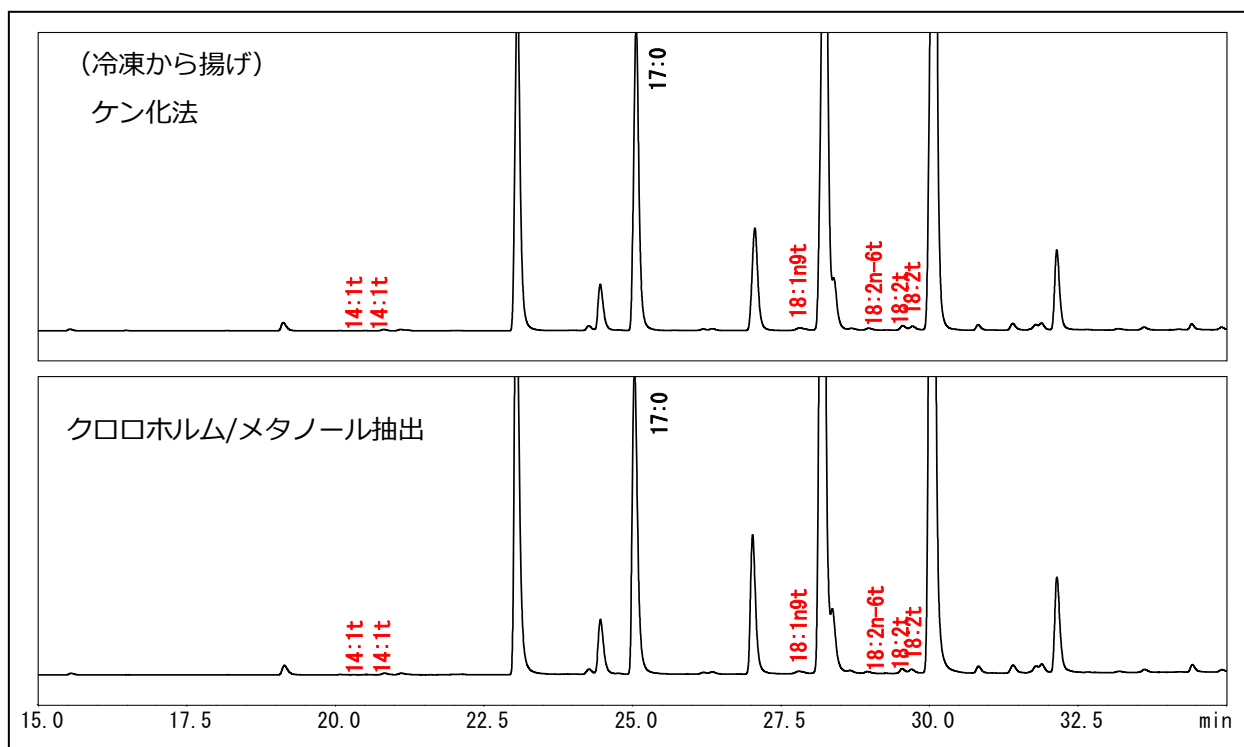


図4-2-5 冷凍から揚げの前処理法比較

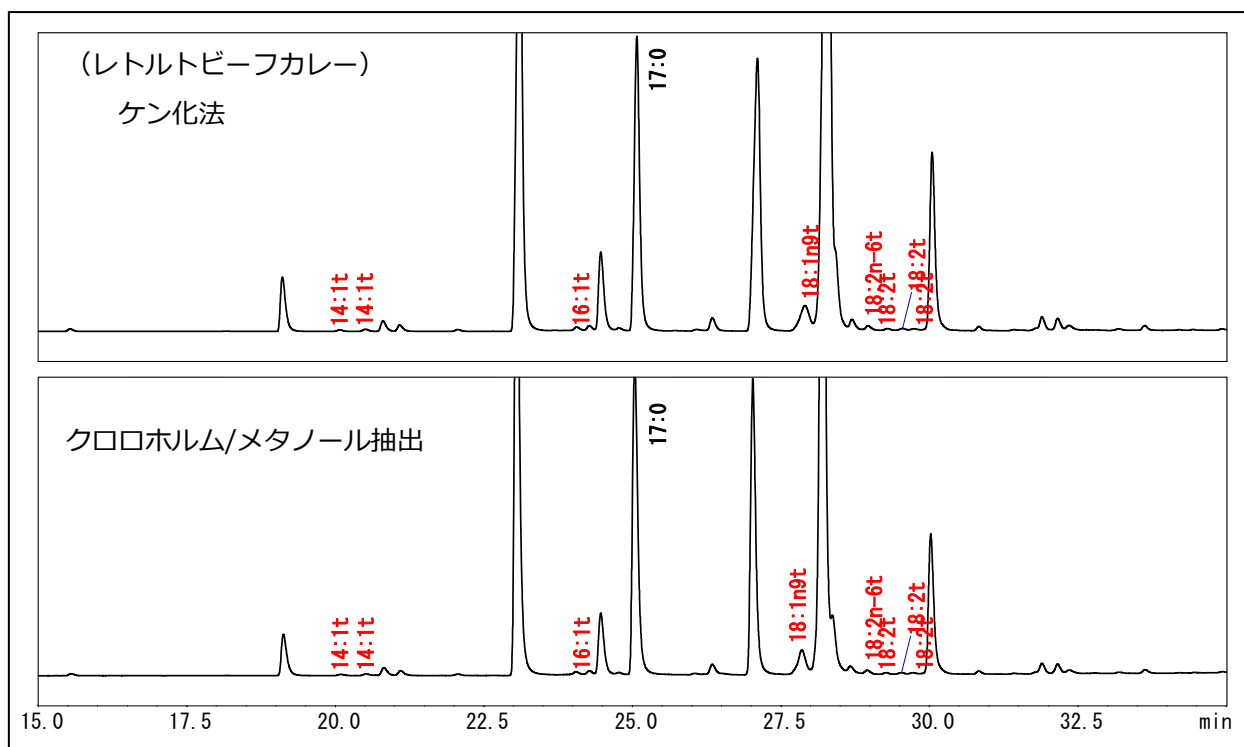


図4-2-6 レトルトビーフカレーの前処理法比較

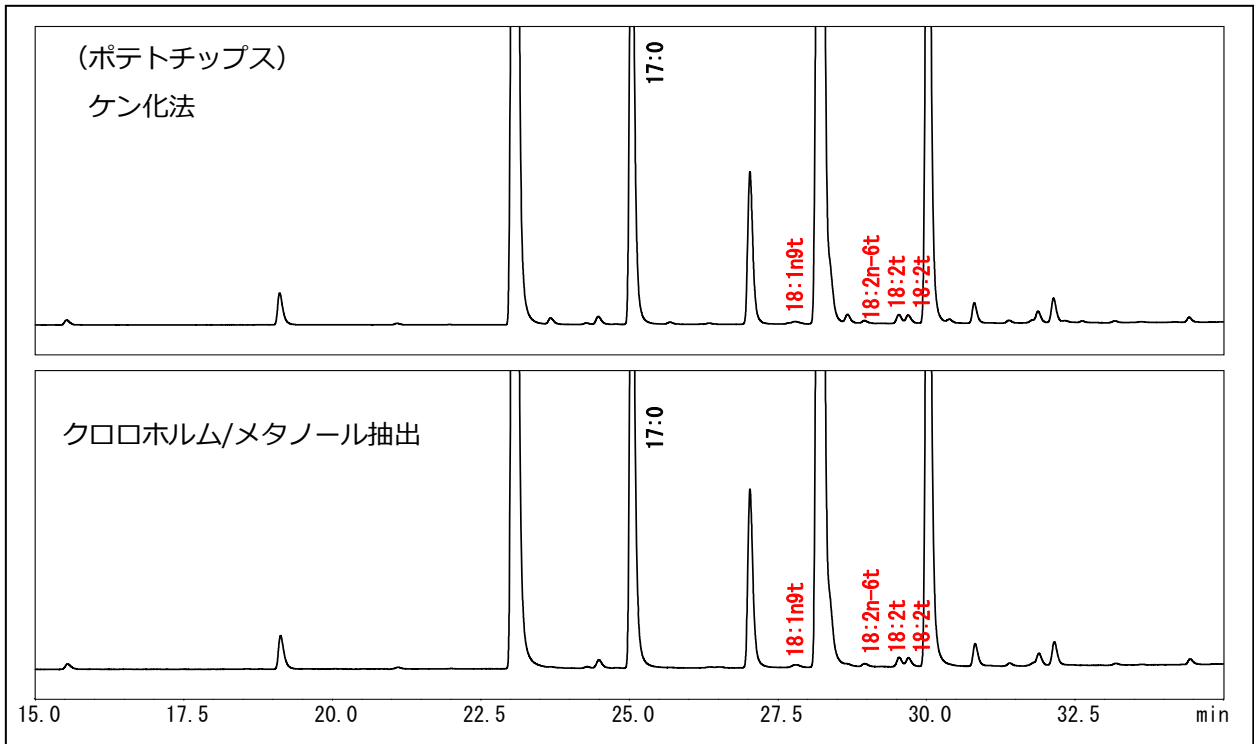


図4-2-7 ポテトチップスの前処理法比較

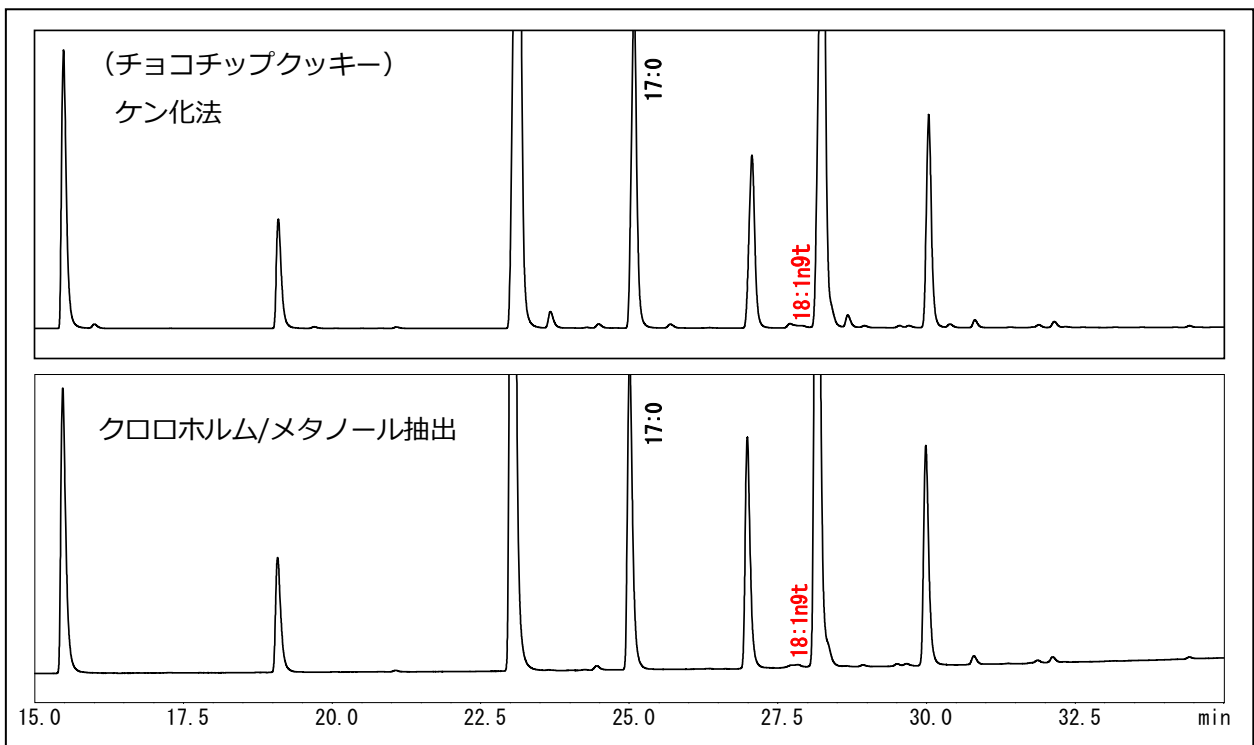


図4-2-8 チョコチップクッキーの前処理法比較

4-3. 硝酸銀カラムによる分画

トランス脂肪酸の定量に用いるピークを選定するために、メチル化後の試料をシス体とトランス体に分離することができる硝酸銀カラムカートリッジで図 4-3-1 に示したフローにしたがって分画操作を行いました。

図 4-3-2 に示したクロマトグラムの比較より、主にトランスモノエン酸メチルと飽和酸メチルが溶出する Fr.1 と

主にシスモノエン酸が溶出する Fr.2 を比較して定量に用いるトランスモノエン酸のピークを選定しました。ジエン酸は Fr.3 のクロマトグラムより 18:2n-6c メチル (cis,cis) の前に溶出するジエン酸メチルピークをトランス酸として選定しました。

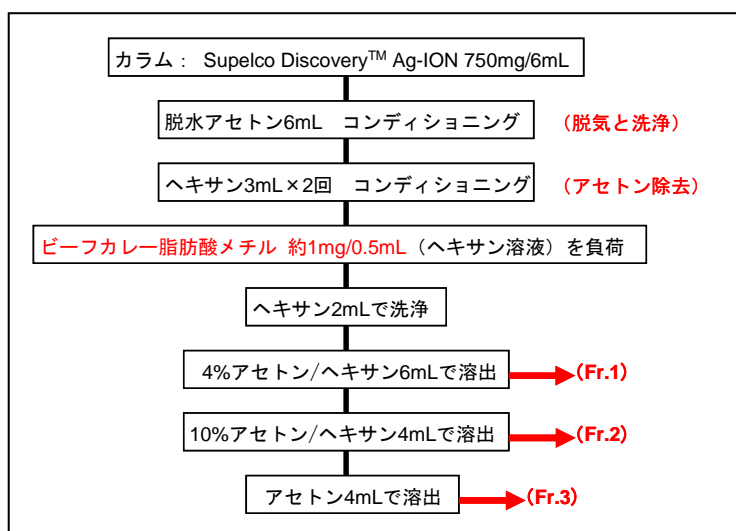


図4-3-1 硝酸銀カラムによる分画フロー

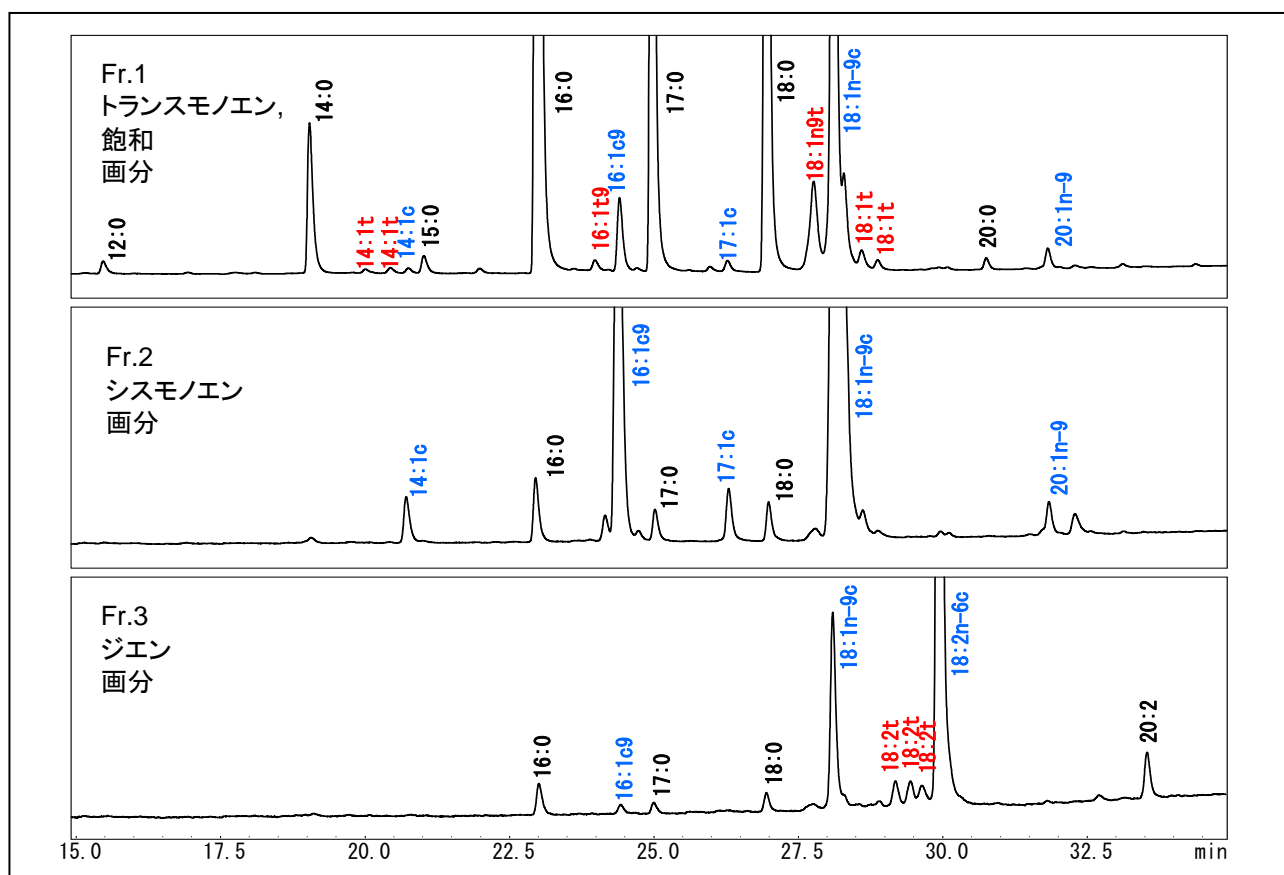


図4-3-2 ビーフカレーの硝酸銀カラムによる分画

4-4. GCによる加工食品中トランス脂肪酸の定量

各種加工食品をクロロホルム／メタノール溶媒抽出法とケン化処理法によりそれぞれ処理を行い、試料溶液中のトランス脂肪酸量を定量しました。定量計算には図 4-1-2 に示したエライジン酸メチルの検量線から得られた係数をトランス脂肪酸メチル全てのピークに

適用し、炭素数がエライジン酸と異なる成分には 4-1. に示した炭素数による感度補正を行い、定量値を求めました。各試料の定量結果を表 4-4-1 に示します。定量値は油脂中トランス脂肪酸濃度を示しています。

表4-4-1 加工食品試料中トランス脂肪酸のGC定量結果(油脂中濃度)

冷凍ピザA			冷凍ピザB			冷凍ピザC		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	3.666	2.767	1	3.550	3.438	1	3.065	3.065
2	3.615	2.782	2	3.514	3.435	2	2.995	3.183
平均	3.641	2.774	平均	3.532	3.436	平均	3.030	3.124
冷凍ラザニア			冷凍エビドリア			冷凍エビグラタン		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	3.049	3.677	1	3.090	3.172	1	2.842	2.634
2	3.092	3.637	2	3.146	3.162	2	2.815	2.616
平均	3.071	3.657	平均	3.118	3.167	平均	2.828	2.625
冷凍エビシュウマイ			冷凍春巻き			冷凍から揚げ		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	0.377	0.517	1	1.454	1.431	1	0.857	0.839
2	0.353	0.458	2	1.369	1.457	2	0.836	0.837
平均	0.365	0.487	平均	1.412	1.444	平均	0.846	0.838
ビーフカレー(レトルト)			ポテトチップス			チョコチップクッキー		
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
1	2.333	2.467	1	0.670	0.690	1	0.298	0.324
2	2.335	2.465	2	0.663	0.696	2	0.296	0.329
平均	2.334	2.466	平均	0.666	0.693	平均	0.297	0.327

(%)

クロロホルム／メタノール溶媒抽出法とケン化処理法との間に定量値の大きな差異は見られませんでした。今回検討した加工食品では、クロロホルムのように環境負荷の高い塩素系の有機溶媒を使用しなくても、へ

キサンを主に用いるケン化処理法で従来の溶媒抽出法と同等の試料前処理が可能であることが確認できました。

5. FTIRとGCの定量値比較

FTIR(表 3-3-1)と GC(表 4-4-1)で定量した油脂中のトランス脂肪酸量を表 5-1 に示して比較しました。FTIRとGCの定量値に大きな差異はなく、相関が認められました。

表 5-2 にクロロホルム／メタノール抽出で得られた試料中総油脂の秤量値とパッケージに記載されている総油脂量をそれぞれ示しました。パッケージ表示量と実測値の差異は少なく、食品の不均一性に起因する

バラツキの範囲内であると考えられます。

表 5-2 に示した総油脂量測定結果と FTIR および GC での油脂中定量値(表 5-1)から求めた食品 100g 中のトランス脂肪酸重量を表 5-3 に示しました。図 5-1 に試料前処理法の違いによる定量値相関のグラフを、図 5-2 に FTIR と GC による定量値相関のグラフをそれぞれ示しました。

表5-1 加工食品試料中トランス脂肪酸のGC,FTIR定量結果比較(油脂中濃度)

	冷凍ピザA			冷凍ピザB			冷凍ピザC	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	3.641	2.774	GC	3.532	3.436	GC	3.030	3.124
FTIR	3.739	3.466	FTIR	3.672	3.472	FTIR	3.177	3.059
	冷凍ラザニア			冷凍エビドリア			冷凍エビグラタン	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	3.071	3.657	GC	3.118	3.167	GC	2.828	2.625
FTIR	3.210	3.199	FTIR	3.205	2.939	FTIR	2.938	2.857
	冷凍エビシューマイ			冷凍春巻き			冷凍から揚げ	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	0.365	0.487	GC	1.412	1.444	GC	0.846	0.838
FTIR	0.614	0.350	FTIR	2.148	2.035	FTIR	1.414	1.126
	ビーフカレー(レトルト)			ポテトチップス			チョコチップクッキー	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	2.334	2.466	GC	0.666	0.693	GC	0.297	0.327
FTIR	2.738	2.276	FTIR	0.640	0.449	FTIR	0.136	0.161

(%)

表5-2 加工食品試料100g中の総油脂量

	冷凍ピザA	冷凍ピザB	冷凍ピザC
測定結果	7.3	9.6	8.1
パッケージ表示値	6.8	11.0	10.6
	冷凍ラザニア	冷凍エビドリア	冷凍エビグラタン
測定結果	5.5	4.5	5.8
パッケージ表示値	6.9	5.7	6.6
	冷凍エビシューマイ	冷凍春巻き	冷凍から揚げ
測定結果	8.9	20.0	10.2
パッケージ表示値	8.7	16.8	10.5
	ビーフカレー(レトルト)	ポテトチップス	チョコチップクッキー
測定結果	5.5	37.5	28.3
パッケージ表示値	5.5	35.0	27.9

(g)

表5-3 加工食品試料中トランス脂肪酸のGC,FTIR定量結果比較(食品100g中の重量)

	冷凍ピザA			冷凍ピザB			冷凍ピザC	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	0.266	0.203	GC	0.339	0.330	GC	0.245	0.253
FTIR	0.273	0.253	FTIR	0.353	0.333	FTIR	0.257	0.248
	冷凍ラザニア			冷凍エビドリア			冷凍エビグラタン	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	0.169	0.201	GC	0.140	0.143	GC	0.164	0.152
FTIR	0.177	0.176	FTIR	0.144	0.132	FTIR	0.170	0.166
	冷凍エビシューマイ			冷凍春巻き			冷凍から揚げ	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	0.032	0.043	GC	0.282	0.289	GC	0.086	0.085
FTIR	0.055	0.031	FTIR	0.430	0.407	FTIR	0.144	0.115
	ビーフカレー(レトルト)			ポテトチップス			チョコチップクッキー	
	CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理		CHCl ₃ /MeOH	ケン化処理
GC	0.128	0.136	GC	0.250	0.260	GC	0.084	0.092
FTIR	0.151	0.125	FTIR	0.240	0.168	FTIR	0.039	0.046

(g)

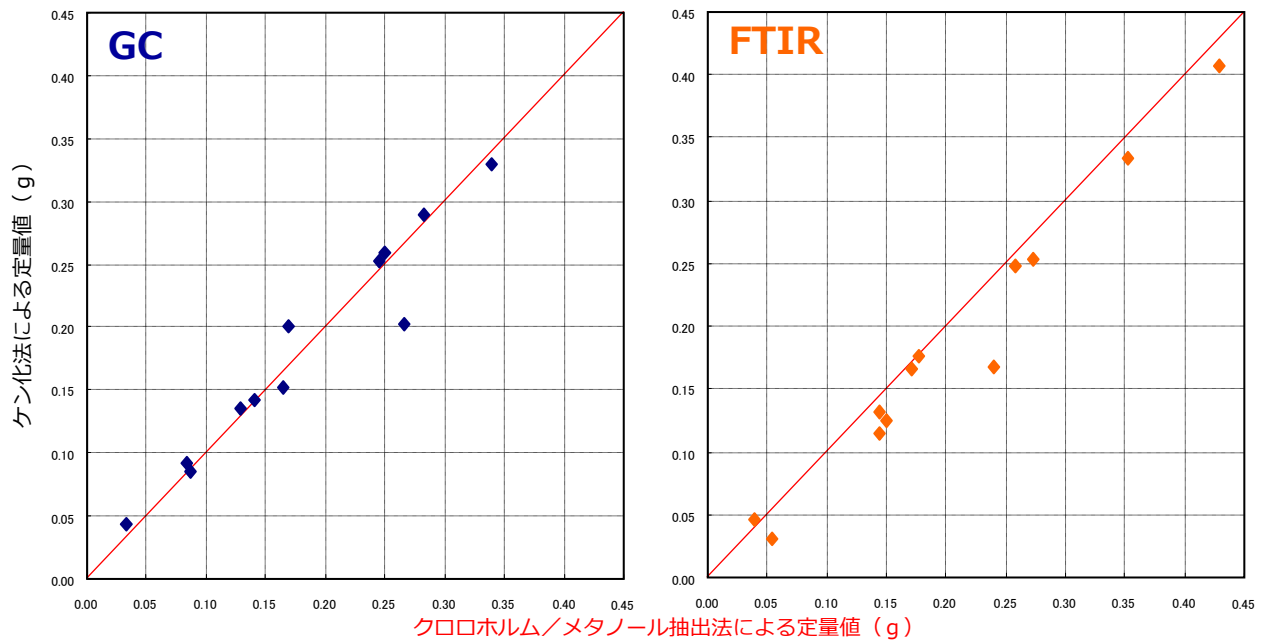


図5-1 試料前処理法の違いによるトランス脂肪酸定量値相関(食品100g中重量)

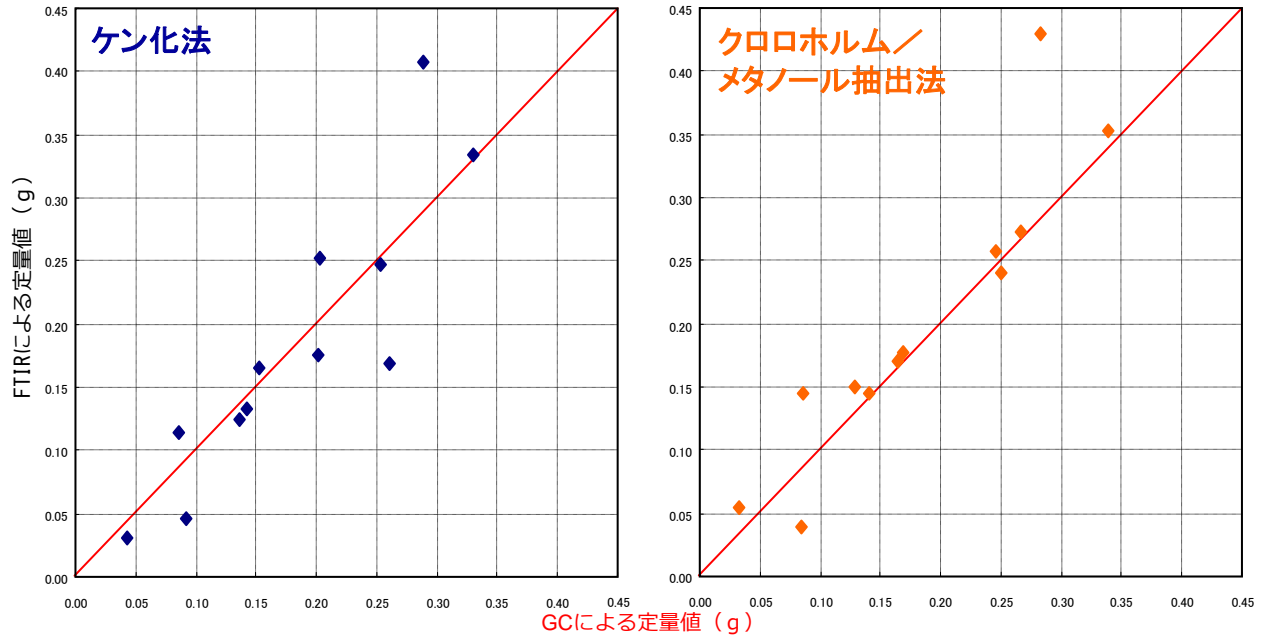


図5-2 FTIRとGCのトランス脂肪酸定量値相関(食品100g中重量)

6. まとめ

今回検討した加工食品中トランス脂肪酸の定量では、クロロホルム/メタノール抽出法とケン化処理法との比較で、FTIR スペクトル、GC クロマトグラム共に大きなパターンの差異は認められず、簡便でクロロホルムのような環境負荷の高い溶媒を使用しないケン化処理法でも、従来の溶媒抽出法とほぼ同等の定量値を得ることができ、非常に有用でした。実試料分析においてもトランス脂肪酸の定量値は、GC 法と FTIR 法で相関があり、FTIR 法でも夾雑成分の妨害を受けることなくトランス脂肪酸メチルの定量が可能であることが確認できました。

FTIR 法ではジエン酸、トリエン酸などに複数存在するトランス二重結合が複数回カウントされること、検量線に用いた標準品より炭素鎖長の短い脂肪酸の感度が高いことで定量値に正の影響を与えます。また、検

量線用標準品より炭素鎖長の長い脂肪酸の感度が低いことで定量値に負の影響が生じます。

GC 法ではトランス体の微少ピークやシス体との不分離ピークがトランス脂肪酸の定量値に影響を与えることに加え誤同定による誤差が大きいと考えられます。そのため異なる食品種の試料ごとに硝酸銀カラム等での分画を行い、シス、トランス体の分離プロファイルを確認する必要があります。

脂肪酸メチル試料は FTIR 法と GC 法で共用することが可能な上、定量値に相関があること、測定時間が大きく異なることから FTIR でスクリーニング分析を行ない、消費者庁から指針として示されている食品 100g 中のトランス脂肪酸の重量が 0.3g 付近以上の値を示した場合にのみ測定時間が長い GC で再測定を行なう事で分析の効率化が図れると考えられます。

* 本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行 2012年2月