

4種類のトコフェロールの分離および 植物油中の定量分析

豊田 悠介

ユーザーベネフィット

- ◆ 約4分で4種類のトコフェロールを分離し、同時に分析可能です。
- ◆ 植物油中の4種類のトコフェロールを定量できます。
- ◆ 多くの有機溶媒に比べて安価な二酸化炭素を移動相に用いるため、ランニングコスト削減効果が期待できます。

■はじめに

トコフェロールは、ビタミンEを構成する化合物グループの一つであり、抗酸化作用を持つ健康維持に重要な栄養素です。この抗酸化作用により、神経伝達と筋肉機能の補助、血栓構築の予防、さらに免疫システムが向上することが知られており、この栄養素は植物油やナッツなどに豊富に含まれています。

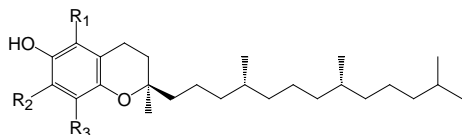
超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) に用いられる二酸化炭素は、*n*-ヘキサンと同程度の極性を示すため、順相モードの液体クロマトグラフィー (HPLC) と同様の分離に用いられます。さらに、超臨界流体は、液体に比べて約100倍の拡散係数および約10分の1の粘度というユニークな性質を持っています。

トコフェロールには α 、 β 、 γ 、 δ の4種類が存在し、それぞれ少しずつ違う分子構造をとります。従来、トコフェロールの分析には順相モードのHPLCが主に用いられてきましたが、この分析をSFCに移行することで、超臨界二酸化炭素の特性により分離を維持したまま、より高速な分析が実現できます。

本稿では、SFCを用いた4種類のトコフェロールの一斉分析および植物油中のトコフェロールの定量分析を行った例をご紹介します。

■標準溶液の分析

図1に今回分析対象としたトコフェロールの構造式を示します。クロマンオール環のメチル基の数や位置によって α 、 β 、 γ 、および δ の4種類に区別されます。図2にトコフェロール4種類の混合標準溶液 (各50 mg/L、*n*-ヘキサンで調製) のクロマトグラムを、表1に分析条件を示します。



	R ₁	R ₂	R ₃
α	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β	CH ₃	H	CH ₃
γ	H	CH ₃	CH ₃
δ	H	H	CH ₃

図1 トコフェロールの構造式

表1 分析条件

System	: Nexera UC
Column	: Shim-pack™ UC-NH ₂ *1 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μ m)
Mobile Phase	: A) CO ₂ : B) Methanol
Time Program	: B conc. : 3% (0 - 4 min) → 50% (4 - 5 min) → : 50% (5 - 7 min) → 3% (7.01 - 9 min)
Flow Rate	: 5.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 20 μ L
BPR Pressure	: 15 MPa
BPR Temperature	: 50 °C
Vial	: SHIMADZU LabTotal for LC 1.5 mL, Glass*2
Detection	: 295 nm (SPD-M40 with a high pressure flow cell)

*1 P/N :227-30423-06 *2 P/N :227-34001-01

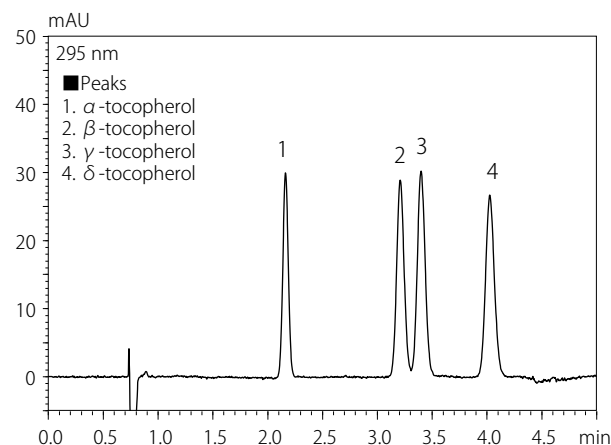


図2 混合標準溶液 (各50 mg/L) のクロマトグラム

■検量線

対象の4成分について検量線を作成したところ、いずれの成分においても寄与率 $R^2=0.999$ 以上の良好な直線性が確認されました。各成分の検量線濃度範囲と寄与率を表2に、検量線を図3に示します。試料中の含有量を反映して検量線濃度範囲を調整しました。

表2 検量線濃度範囲と寄与率

Compound	Calibration range (mg/L)	R ²
α -tocopherol	10 - 400	0.9995
β -tocopherol	1 - 20	0.9995
γ -tocopherol	10 - 400	0.9996
δ -tocopherol	2 - 100	0.9995

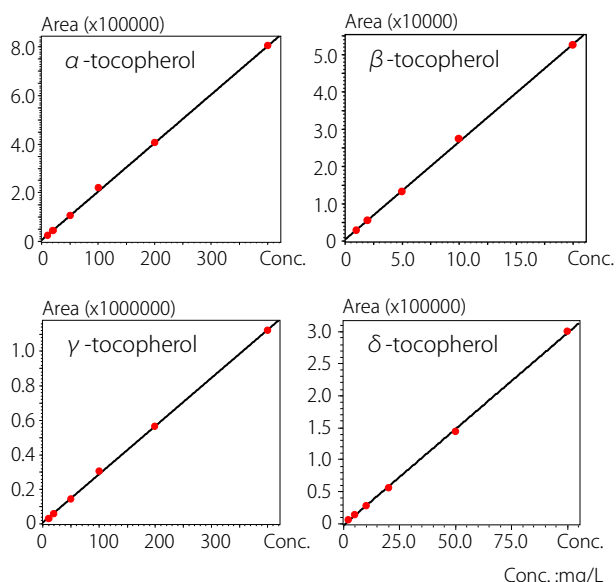


図3 検量線

■ 植物油中のトコフェロールの定量

市販のひまわり油、オリーブ油、パーム油、およびごま油をそれぞれ約500 μL秤量し、約500 μLの*n*-ヘキサンに溶解しました。十分に振盪させた後、分析に供しました。

図4、5、6、および7にそれぞれの試料から得られたクロマトグラムを示します。表3に各植物油中のトコフェロールの定量結果を示します。なお、この濃度は油の比重を0.9 g/cm³として計算した際の各植物油100 gに含まれる濃度となります。

表3 定量結果

Compound	Concentration (mg/100g)			
	Sunflower oil	Olive oil	Palm oil	Sesame oil
α-tocopherol	53.4	13.1	8.2	9.6
β-tocopherol	1.3	N.D.	N.D.	1.2
γ-tocopherol	N.D.	N.D.	4.9	32.6
δ-tocopherol	N.D.	N.D.	7.6	13.3

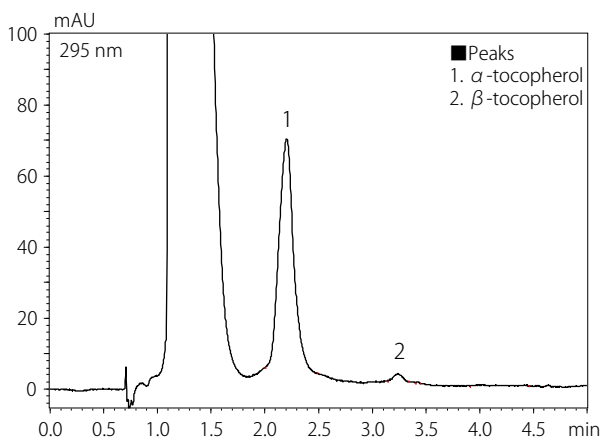


図4 ひまわり油のクロマトグラム

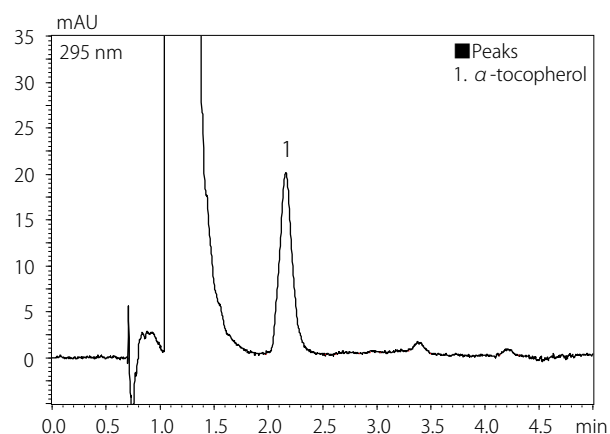


図5 オリーブ油のクロマトグラム

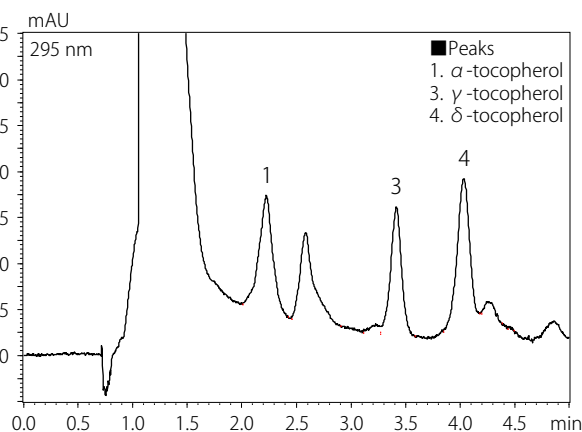


図6 パーム油のクロマトグラム

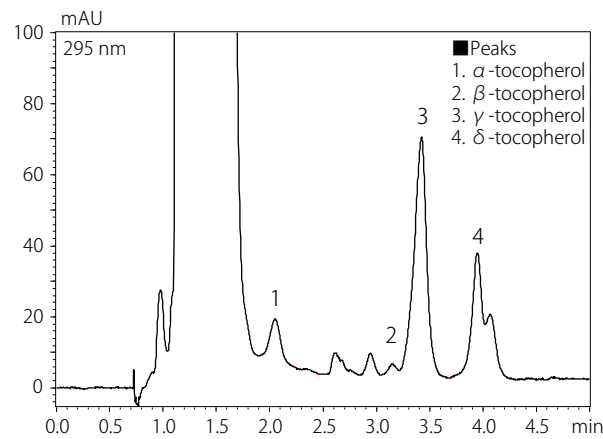


図7 ごま油のクロマトグラム

■ まとめ

植物油中のトコフェロールの定量分析をSFCを用いて行いました。順相HPLCを用いた分析では溶出に10分から20分程度要するのに対し、SFCでは約4分で溶出させることができました。

さらに二酸化炭素は*n*-ヘキサンなど、HPLCで使用する多くの有機溶媒に比べて安価な上、廃液処理コスト等もかからないことから、分析にかかるランニングコストの削減効果も期待できます。

NexeraおよびShim-packは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

初版発行：2021年9月
B改訂発行：2022年12月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2021