

Application News

No. C189

超臨界流体クロマトグラフィー

Nexera™ UC 超臨界流体クロマトグラフを用いたトリグリセリド類の分析

トリグリセリドは中性脂質の一種であり、動物体内の脂肪組織などに蓄えられており、細胞がエネルギーを必要とする時に分解してエネルギーを供給しています。また、食品中などにも多く含まれており、植物油などの主成分であることが知られています。トリグリセリドはグリセロール（グリセリン）に3つの脂肪酸（アシル基）が結合しており（図1）、非常に疎水性が高く、またアシル基の組成の違いや結合位置により非常に多くの分子種が存在します。

植物油では、原料によりトリグリセリドを構成するアシル基の種類が異なります。ここでは、超臨界流体クロマトグラフィー（Supercritical Fluid Chromatography: SFC）を用いたトリグリセリド類の分析例をご紹介します。

H. Terada, T. Hattori

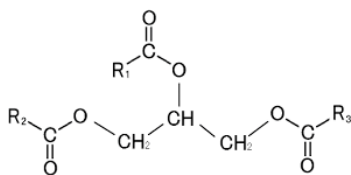


図1 トリグリセリドの構造

■対象成分と分析条件

今回ターゲットとしたトリグリセリド類とその検出条件を表1に示します。また、分析条件を表2に、各トリグリセリドの濃度が10 µg/Lの標準試料を分析したクロマトグラムを図2に示します。ODSカラムを用いているため、アシル基の炭素鎖長が長くなると保持が大きくなり、同一の炭素鎖長の場合には二重結合の数が増えると保持は小さくなっています。

表1 対象成分およびMRM

Compounds	Acyl composition		MRM	
Trilaurin	TG 36:0	C12:0/C12:0/C12:0	ESI(positive)	656.60>439.40
Trimyristin	TG 42:0	C14:0/C14:0/C14:0	ESI(positive)	740.70>495.45
Tripalmitolein	TG 48:3	C16:1/C16:1/C16:1	ESI(positive)	824.75>551.50
Tripalmitin	TG 48:0	C16:0/C16:0/C16:0	ESI(positive)	818.70>547.45
Trilinolenin	TG 54:9	C18:3/C18:3/C18:3	ESI(positive)	908.85>607.55
Trilinolein	TG 54:6	C18:2/C18:2/C18:2	ESI(positive)	902.80>603.55
Triolein	TG 54:3	C18:1/C18:1/C18:1	ESI(positive)	896.75>599.50
Tristearin	TG 54:0	C18:0/C18:0/C18:0	ESI(positive)	890.70>595.45
Triecosenoin	TG 60:3	C20:1/C20:1/C20:1	ESI(positive)	986.90>659.60
Triarachidin	TG 60:0	C20:0/C20:0/C20:0	ESI(positive)	992.95>663.65
Trierucin	TG 66:3	C22:1/C22:1/C22:1	ESI(positive)	1071.00>715.65
Tribehenin	TG 66:0	C22:0/C22:0/C22:0	ESI(positive)	1077.05>719.70

表2 分析条件

Column	: Shim-pack™ UC-GIS II (150 mm L.×2.1 mm I.D., 3 µm)
Mobile phase	: A; CO ₂ B; 0.1 % (w/v) Ammonium formate in methanol/IPA = 3/7 (v/v)
Gradient	: B.conc. 5 % (0 min) - 25 % (7 min) - 80 % (12-15 min) - 5 % (15.1-18 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Column temp.	: 40 °C
BPR	: 10 MPa
Detector	: LCMS™-8050 (ESI, MRM mode)
Makeup	: 0.1 % (w/v) Ammonium formate in methanol
Makeup flow rate	: 0.05 mL/min
Injection vol.	: 1 µL

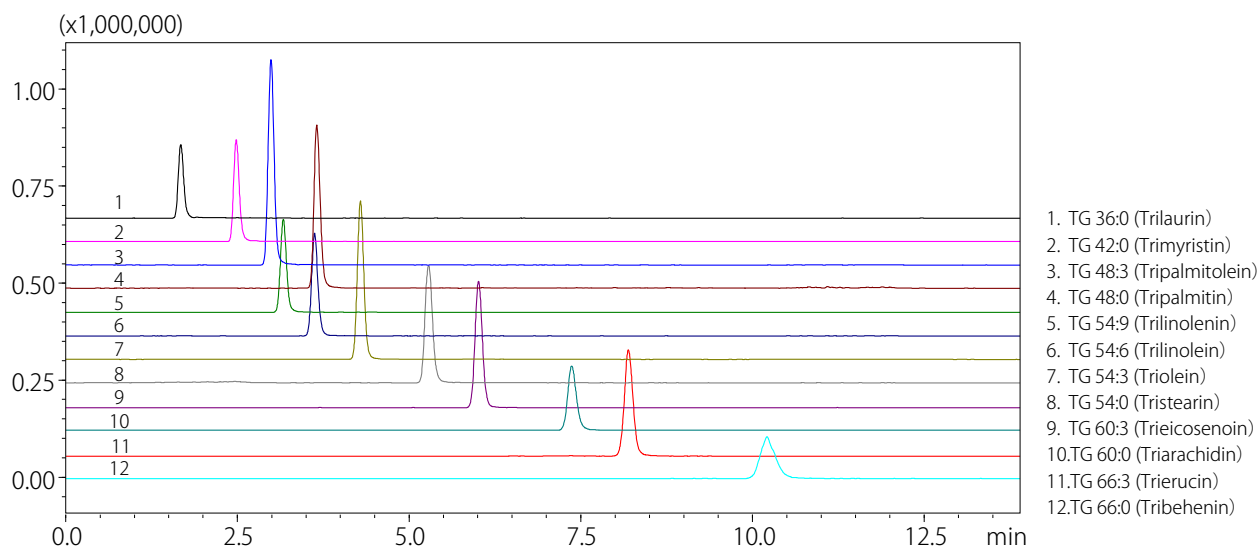


図2 標準溶液のクロマトグラム (各10 µg/L)

■ 直線性

表3に各トリグリセリドの濃度が0.1 $\mu\text{g/L}$ から1000 $\mu\text{g/L}$ の標準試料を分析し得られた検量線の寄与率 R^2 を示します。全ての成分で非常に良い直線性が得られました。

表3 直線性

Compounds	Slope	Intercept	R^2
Trilaurin	4.98E-05	-0.16	0.9999
Trimyristin	2.63E-05	3.37	0.9993
Tripalmitolein	1.40E-05	5.71	0.9993
Tripalmitin	1.20E-05	5.98	0.9993
Trilinolenin	1.83E-05	5.42	0.9979
Trilinolein	1.85E-05	0.45	0.9995
Triolein	2.57E-05	3.08	0.9998
Tristearin	2.83E-05	5.94	0.9986
Trieicosenoin	1.96E-05	4.39	0.9974
Triarachidin	3.39E-05	3.71	0.9979
Trierucin	1.88E-05	5.4	0.9983
Tribehenin	2.61E-05	4.06	0.9995

■ 再現性

表4に各トリグリセリドの濃度が10 $\mu\text{g/L}$ の標準試料を5回連続で分析し、得られた保持時間とピーク面積の併行精度を示します。

表4 再現性

Compounds	Retention time		Peak area	
	Average (min)	RSD (%)	Average	RSD (%)
Trilaurin	1.677	0.14	224599	8.25
Trimyristin	2.484	0.08	328876	5.15
Tripalmitolein	3.659	0.09	524514	4.27
Tripalmitin	2.987	0.06	629534	4.61
Trilinolenin	5.285	0.09	454456	4.98
Trilinolein	4.406	0.04	445476	2.75
Triolein	3.622	0.06	312026	2.28
Tristearin	3.17	0.07	274512	3.14
Trieicosenoin	6.011	0.07	464821	2.67
Triarachidin	7.382	0.05	271482	3.59
Trierucin	8.194	0.04	408751	4.87
Tribehenin	10.22	0.22	315842	5.77

■ 食用油の比較への応用

図3に魚油をヘキサンを用いて10,000倍希釈した試料を分析して得られたクロマトグラムを示します。同様に図4にゴマ油を10,000倍希釈した試料のクロマトグラムを示します。食用油はトリグリセリドを多く含みますが、原料の種類にトリグリセリドを構成するアシル基の種類が異なり、実際には非常に多くの種類の分子種が存在します。ここでは、標準試料を分析した成分のマスキロマトグラムのみを表記していますが、実際には多くの分子種の検出も可能です。

1. TG 36:0 (Trilaurin)
2. TG 42:0 (Trimyristin)
3. TG 48:3 (Tripalmitolein)
4. TG 48:0 (Tripalmitin)
5. TG 54:9 (Trilinolenin)
6. TG 54:6 (Trilinolein)
7. TG 54:3 (Triolein)
8. TG 54:0 (Tristearin)
9. TG 60:3 (Trieicosenoin)
10. TG 60:0 (Triarachidin)
11. TG 66:3 (Trierucin)
12. TG 66:0 (Tribehenin)

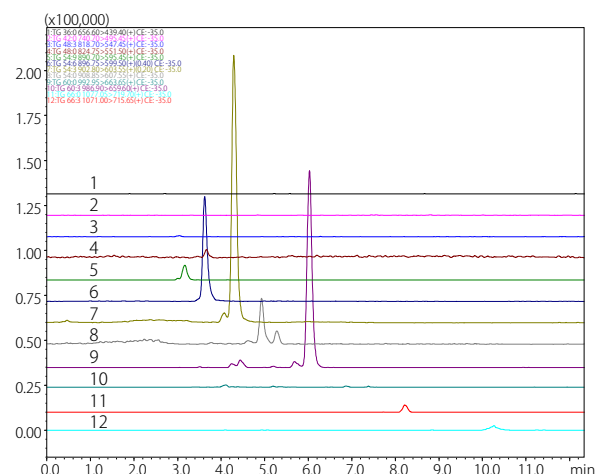


図3 魚油のクロマトグラム

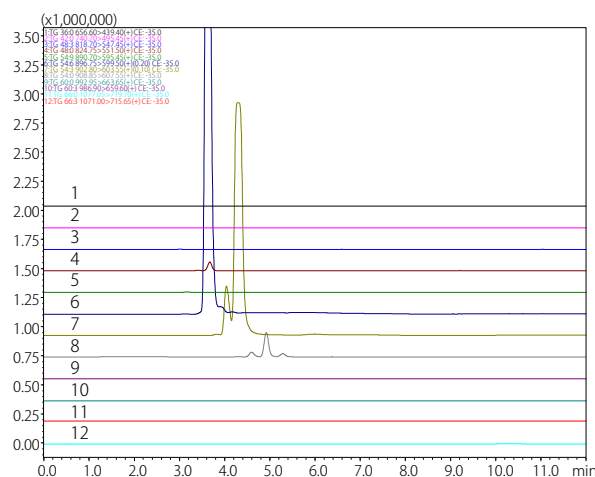


図4 ゴマ油のクロマトグラム

Nexera、Shim-pack、および LCMS 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

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075) 813-1691

※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。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。