

高速液体クロマトグラフィーによる脂肪酸の測定におけるラベル化法の検討と実際面への応用

日本女大家政 ○大河内文子 中西茂子

目的 われわれは以前から各種油脂をシンクログラフィーにより分析することを行ってきた。今回は、炭素数の異った脂肪酸の分析をするにあたり高速液体クロマトグラフィーを用いたが、この場合210 nmでの検出には、カラムの安定までにはかなりの長時間を要するため時間的にも溶離液の消費量の面からも好ましくなく、しかも共存物質の影響を受けやすい不利な点をもつ。そこで、これらの欠点を除去し、しかも高感度での測定を可能にすることにより、正確な実験値を得るため、まず脂肪酸のラベル化の検討を試み、それを実際面に適用する目的で種々検討を行った。

方法 脂肪酸試料としては、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸および標準物質としてC₁₁のマルガリン酸を用いた。ラベル化剤には多くの種類があるが、今回はその中で種々の点から最も好ましいと考えられたフェニルブROMイドを選び、試料のメタノール溶液1 mlにそのアセトン溶液(12%)0.1 mlおよびトリエタールミンのアセトン溶液(10%)0.1 mlを混合し50℃で2時間反応させてラベル化を行った。この場合マルガリン酸をラベル化後水添加により沈殿させ、再結晶を数回繰り返すことによりマルガリン酸エステルの純物質を得て標準物質として供した。装置は日本分光BP-1、カラムはFinpack SILC₈S、溶離液はメタノール：水 = 90：10~12を用い、流量1 ml/minの条件で行った。

結果 ラベル化して254 nmで検出することによりカラムの安定化が約1/2の時間に短縮され、分離能が向上し、感度は100倍前後に達した。さらにラベル化したものではピーク面積が炭素鎖長に依存せずフェニル化部の量のみで決まることが確認された。