

Application Note

小型 FT-IR によるトランス脂肪酸の迅速な定量分析

はじめに

トランス脂肪酸は、化学構造中に含まれる二重結合がトランス型で存在する不飽和脂肪酸です。自然界で生み出される植物性油脂に含まれる不飽和脂肪酸の二重結合は、通常シス型構造で存在します。しかしながら、マーガリンやショートニングなどの固形油脂製品においては、生産時に必要な水素化処理工程の間にトランス体が生成され、トランス脂肪酸が副生成物として含まれます。また、一部の動物性油脂や乳製品、海洋油には、自然に生成される微量のトランス脂肪酸が含まれるとされています。

トランス脂肪酸は、代謝異常や心疾患など様々な健康障害に関係することが立証されており、医学界や栄養学の分野において注目が高まっています。たとえばアメリカにおいては、2006年以降、同食品医薬品局 (FDA) によるガイドラインのもと、食品メーカーは製品ラベルにトランス脂肪酸含有量を表示することが義務付けられています。以前は、製造工程における制御パラメータの一つに過ぎなかったトランス脂肪酸含有量が、現在ではラベル表示が法的な義務となり、生産者はその量を常に把握しておくことが必須となっています。さらには、2013年11月、FDAは段階的にトランス脂肪酸の使用を禁止していく方針を決定しています。日本では現在、トランス脂肪酸の使用は禁止されていないものの、“食の安全”の観点から使用量の低減や自主規制を発表する企業も多く、トランス脂肪酸含有量の迅速な定量が必要不可欠となりつつあります。

ここでは、ATR アクセサリを用いた、赤外分光法によるトランス脂肪酸含有量の定量分析について紹介します。この手法は、アメリカ油化学会 (AOCS) による公定法である Cd 14d-99 に基づくもので、油脂等に含まれるトランス脂肪酸量について、簡単な手順で分析することを可能にしています。トランス脂肪酸の定量に関する他の公定法としては、ガスクロマトグラフィー (GC) 分析法があり、とくに 0.5% 程度の低濃度域では赤外分光法よりも優れた手法と言えます。しかしながら、GC 法では、脂肪の分離抽出や化学修飾などの前処理が必要であり、分析には多くの労

力と時間を要します。これに対して、ATR アクセサリを用いる赤外分光法は、試料の前処理の必要はなく、測定に必要な試料の量も 50 μ L 以下と微量です。さらには、分析結果が 1 分程度で得られることから、作業性、時間効率、経済性の点で優れる分析法と言えます。

ここでは、濃度既知のトランス脂肪酸標準試料を用いて定量分析に必要な検量線を作成し、その結果をもとに、本手法の精度について検討を行いました。



図1. 温調型ATRモジュール搭載 ALPHA-P

試料・分析方法

検量線作成のため、100% トランス型構造を有するトリエライジンと 100% シス型構造を有するトリオレインを調合し、トリエライジンの濃度を 0.5~50% に調整した 9 水準の標準試料を用意しました。

測定には、温調機能付 1 回反射型ダイヤモンド ATR モジュールを装着したコンパクト FT-IR、ALPHA-P を使用しました (図 1)。ALPHA-P は、設置面積が A4 用紙 1 枚分というコンパクトなボディに加えて、耐震性と堅牢性の高いデザインを採用しており、使用環境の厳しい工場等でも安心して使用することができます。

油脂試料を加温するため、ATR クリスタルの温度を 65 °C に保持し、ここに約 50 μ L の油脂試料を滴下して測定を行いました。測定条件は、波数分解能を 4 cm^{-1} 、積算回数を 64 回としました。測定時間は約 1 分です。

なお、ATR アクセサリを用いた一般的な測定では、リファレンス試料として空気（試料を置かない状態）が用いられますが、本手法では、トランス体を含まない、100% シス型構造を有する油脂（ここでは 100% トリオレイン）を用います。つまり、分析される油脂試料のスペクトルから、トランス体を含まないリファレンス試料のスペクトルを差し引いたデータが得られます。これにより、トランス体以外の構造に由来する吸収やベースラインの傾斜の影響はキャンセルされます。

得られたスペクトルをもとに、ALPHA に付属する OPUS ソフトウェアの QUANT1（線形回帰）機能を用いて検量線を作成しました。QUANT1 では、ウィザード形式のシンプルなユーザーインターフェースにより、着目する成分や化学構造に帰属されるバンドの積分強度をもとにした検量線を、簡単な操作で作成することが可能です。

測定結果

トリエライジン濃度 0.5 ~ 50% の標準試料について得られた赤外スペクトルを図 2 に示します (1040~900 cm^{-1} を拡大)。図中の 966 cm^{-1} のバンドは、トランス型二重結合の C-H 面外変角振動に帰属され、シス型構造のみを有する不飽和脂肪酸においては観測されません。したがってこの吸収バンドの強度をもとに検量線を作成することで

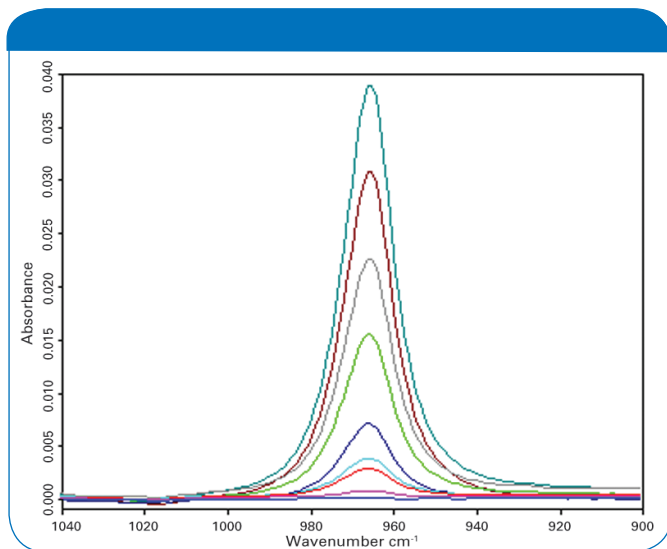


図2. 0.5 ~ 50%のトランス脂肪酸を含む標準試料の FT-IR吸収スペクトル(1040 - 900 cm^{-1})

トランス脂肪酸を定量することが可能となります。

OPUS ソフトウェアの QUANT1 機能により求めた検量線を図 3 に示します。横軸は、標準試料の 966 cm^{-1} のバンドの積分強度 (990 ~ 945 cm^{-1}) を表し、縦軸は、配合比から求めたトランス脂肪酸濃度を表します。計算の結果、寄与率 (R^2) 99.98%、確度誤差の標準偏差 (SDDa) 0.5%、精度誤差の標準偏差 (SDDr) 0.2% の検量線が得られ、GC 分析法に劣らない精度をもつ分析法であると言えます。一方、定量下限については、今回測定した試料の最低濃度が 0.5% であり、SDDa が 0.5% ということから、1% 程度とすることが妥当であろうと考えます。赤外分光法は、定量下限においては GC 分析法に比べ若干劣るものの、1% 以上の試料を対象とすれば十分に信頼できる手法であり、とくに操作の簡便性と分析スピードの点からは、スクリーニング用途に最適な手法と言えます。

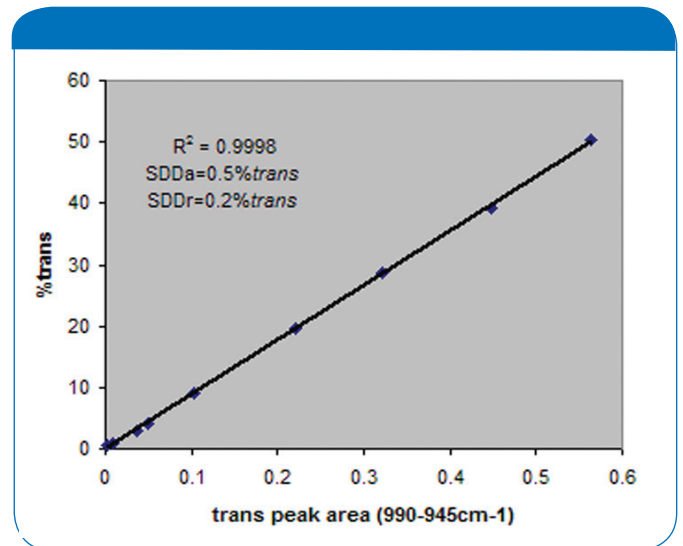


図3. トランス脂肪酸含有量の検量線

まとめ

ATR による赤外分光法を用いることで、食用油脂に含まれるトランス脂肪酸を高い精度で定量分析することが可能です。また、赤外分光法は GC 法等に比べ、試料の前処理が不要であり、必要量も少なく、測定時間も早いことから、簡便で迅速な分析法と言えます。

国際的にトランス脂肪酸の使用が禁止される方向へ進んでいることから、今後日本でも分析を行う頻度が増えることが予想され、赤外分光法による迅速な定量分析は必要不可欠なものになると考えます。



www.bruker.jp/optics

● ブルカー・オプティクス株式会社

本社：〒104-0033 東京都中央区新川 1-4-1 住友不動産六甲ビル
Phone: 03-3523-6870 Fax: 03-3523-6871

大阪営業所：〒532-0004 大阪市淀川区西宮原 1-8-29 テラサキ第2ビル
Phone: 06-6394-8118 Fax: 06-6394-9003