



best@buchhi

Information

01 2002

Nutrition 食品分析



Caviezel® Method for Total Fat Determination

AOACで承認

ビュッヒーカビエツェル法はアメリカの公定法であるAOAC(the Association of Official Analytical Chemists)PVM4:1997において脂肪分析法として承認されており、FDA(Food and Drug Administration)の脂肪の定義にも合致しております。

FDAの脂肪の定義

FDAでは新しい生理学上における脂肪の化学的定義としてmono-, di-, triglycerides、遊離脂肪酸、リン脂質、ステロール、などを全脂肪、全脂質としています。また、測定した脂肪酸はすべて、トリグリセリドとして換算し全脂肪としています。

システムの特徴

- ・簡単操作
- ・加水分解不要
- ・1日160サンプルの分析が可能 (全脂肪の分析のみの場合)
- ・1サンプルあたりのコストが低い
- ・全脂肪定量と脂肪酸定性が同時に行える
- ・オートサンプラーによる自動分析
- ・FDAの定義に基づいた脂肪の分析
- ・様々なサンプルに対応する方法の選択が可能
- ・AOACで承認

Caviezel®方式による迅速な脂肪定量および個々の脂肪酸の定性・定量

今日のルーチン検査では、高い再現性と精度で各種の様々なサンプルを簡単に分析できることが求められています。ここで紹介するカビエツェル法(Caviezel®)は、FDA(アメリカ食品医薬品局)の定める脂肪の定義に基づいて、様々なサンプルを高い再現性と精度で分析を行うことができます。

ビュッヒ脂肪分析システムB-815/B-820はカビエツェル法に基づいた分析装置です。

最新鋭の食品分析—迅速で信頼性のある脂肪酸の定量

キーワード
ルーチン定量;脂肪酸;ガスクロマトグラフィ;飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸;食品指定;栄養価表示

サンプル中に含まれる脂肪酸の分析の前処理として抽出・けん化をわずか30分以内に4検体同時に効率よく行うことができます。その後、抽出・けん化物のガスクロマトグラフィによる分析・自動解析を36分で行うことが可能です。この脂肪酸分析では、全脂肪量に加えて、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸及び多価不飽和脂肪酸の総量と、 ω 3型脂肪酸などの個々の脂肪酸の含有量を測定します。その結果のドキュメンテーションは食品関連法規に適合して、栄養表示要件を満たすものです。それぞれの脂肪酸のクロマトチャートにおけるピーク面積および解析結果をプリントアウトできることにより、脂肪の種類に関する定性的情報が得られます。1日で38検体という驚異的な処理能力の高さは、ルーチン分析ユーザーには大きなメリットになります。

執筆者: Susanne Feifel, Heinz Lüscher, Ph.D., Roger Pendl, Ph.D.

食品の栄養表示

消費者を保護するために食品の栄養価の記述が追加され、表示規定はさらに厳格になっています^[1]。他の物質の中でも特にこれは脂肪酸の含有量に関係するものです。特にその栄養価を表示する場合、食品中の飽和脂肪酸の含有量を低くすることをうたっている食品メーカーは、一価不飽和脂肪酸と多価不飽和脂肪酸の含有量の数値を追加表示しなければなりません。

分析方法の原理

この方法は、1-ブタノールを溶媒として使用し、サンプル中から脂肪を抽出し、それと同時に水酸化カリウムの存在下で脂肪をケン化することに基づいています。脂肪酸のアルカリ塩は酸性であり、水溶性の試薬を添加することによって遊離脂肪酸に変換されます。有機抽出物から分取した脂肪酸は、ガスクロマトグラフィによって溶媒から分離され、水素炎イオン化検出器 (FID) によって検出されます。分析結果には以下が含まれます。

- 全脂肪量
- 飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸のそれぞれの総量、並びに ω 3型脂肪酸の含有量
- 個々の脂肪酸の定性および定量

測定機器

B-815/820/821脂肪分析システムは、2つの装置から構成されます。B-815抽出装置は、サンプルの前処理を行うのに用いられます。この装置は、4本分の分解部を有する加熱部とマグネット攪拌部を一体化してコンパクトにまとめたものです。抽出時間を選択すると最適の温度プログラムが実行

され、抽出媒体は加熱され還流します。B-820分析装置は、B-815で処理されたサンプルをガスクロマトグラフィの原理を利用して分析を行います。また、48検体バイアル用に設計されたB-821サンプルチェンジャーの装着が可能です。抽出物のガスクロマトグラフによる分離はFFAP溶剤を充填した分離カラムで行われます。キャリアガスには水素を使用します。検出は水素炎イオン化検出器 (FID) で行います。

脂肪分析システムは、全脂肪量と酪酸量及び乳脂肪量の迅速な測定にも用いられます^[2]。

全脂肪量だけではなく個々の脂肪酸とその含有量の測定も可能にするための機能が組み込まれており、その分析には36分を要します。

表1: 製品グループ別の抽出方法

抽出方式	製品グループ
直接抽出	肉・ソーセージ製品 魚と魚肉製品 チーズ製品 パスタ 加工食品 (通常食品、ピザ、ナッツ、シリアル他) 野菜製品 (生素材、缶詰野菜他) 犬猫用ペットフード
フィルター抽出	チョコレート、チョコレート原材料 液体乳製品 (ヨーグルト、牛乳その他) 粉末製品 (小麦粉、ベーキングエイド、粉ミルク他) ベビーフードに基づく粉末製品 アイスクリーム 菓子、パン類、ケーキ製品 家畜飼料 (粉末)

サンプルの前処理

サンプルの前処理は、直接抽出とフィルター抽出という2つのプロセスに大別され、どちらの抽出プロセスを選択するかは、サンプルの構成物質、サンプルの種類及び脂肪量によって決められます。(表1)。

直接抽出法の場合は、ホモジナイズしたサンプルを0.1mgの精度まで秤量して内標準物質(トリデカン酸)と一緒に反応容器に入れます。一価不飽和脂肪酸と多価不飽和脂肪酸のC-C間の二重結合の加熱酸化が誘導されないように、約50mgのアスコルビン酸と2mlの蒸留水又は脱イオン水をサンプルに添加します。約1.5gの水酸化カリウムと45mlの1-ブタノールを加えた後で、30分間攪拌・還流を行います。

フィルター抽出法の場合は、ホモジナイズしたサンプルを秤量してひだ付きろ紙に入れます。液状又は粉状のサンプルの場合は、Celite545をひだ付きろ紙に入れるか、またはサンプルに加えます。水酸化カリウム(約1.5g)と1-ブタノール(45ml)と一緒に内標準物質を反応容器に入れます。フィルター抽出の時間は40分間です。

抽出とけん化後には脂肪(けん化可能な部分)はグリセロールと脂肪酸のカリウム塩として分離した形態で存在します。遊離脂肪酸を得るため、リン酸二水素ナトリウムの塩酸溶液40mlを抽出・けん化直後のサンプルに加え攪拌します。約2分間攪拌し続ける必要があります。攪拌を終えると相分離がおこるので、その上部の有機相をシリンジで採取しB-820/821検出装置で分析を行います。

分析

抽出物を分析するために上記で採取した有機相2 μ lをマニュアルまたは自動で注入します。図1に卵の黄身の個々の脂肪酸についてのクロマトグラフの例を示しています。主に以下の脂肪酸が確認されます：

- 「飽和」脂肪酸の総量は以下の脂肪酸から構成されます：
酪酸(C4:0)、カプロン酸(C6:0)、カプリル酸(C8:0)、カプリン酸(C10:0)、ラウリン酸(C12:0)、ミリスチン酸(C14:0)、パルミチン酸(C16:0)、ステアリン酸(C18:0)、エイコサン酸(C20:0)、ドコサン酸(C22:0)、及びテトラコサン酸(C24:0)。
- 「一価不飽和」脂肪酸の総量は以下の脂肪酸から構成されます：
パルミトオレイン酸(C16:1)、オレイン酸(C18:1)、エイコセン酸(C20:1)、エルシン酸(C22:1)、テトラコセイン酸(C24:1)。
- 「多価不飽和」脂肪酸の総量は以下の脂肪酸から構成されます：
リノール酸(C18:2)、リノレン酸(C18:3)、エレオステアリン酸(C18:4)、アラキドン酸(C20:4)、エイコサペンタエン

酸(C20:5)、ドコサテトラエン酸(C22:4)、ドコサペンタエン酸(C22:5)、及びドコサヘキサエン酸(C22:6)。

保持時間は、サンプルの分析前にあらかじめ6種類の飽和脂肪酸から構成される多成分混合物(キャリブレーション用標準試薬)を分析することにより構成を行い、そのデータをもとに定義されます。この混合物は、サンプルと同様に注入されて、分離されます。結果のプリントアウトには、6種類の飽和脂肪酸の装置とカラムに固有の保持時間が記録され、それを適切なメニューで保管する必要があります。この保持時間は毎週2回検証されます。

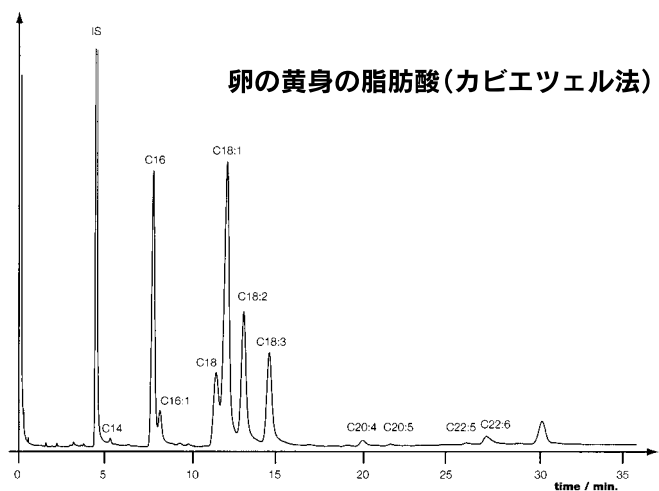


図1 卵の黄身の脂肪酸のクロマトグラフ(カビエツェル法)

分析装置：脂肪分析システムB-815/820/821
カラム：バックドカラム;Chromosorb coated with FFAP
キャリアガス：H₂ 5.0, 流量 60ml/min
検出器：FID, 260°C
導入口：直接注入 220°C
温度範囲：150°C~260°C;総分離時間36分

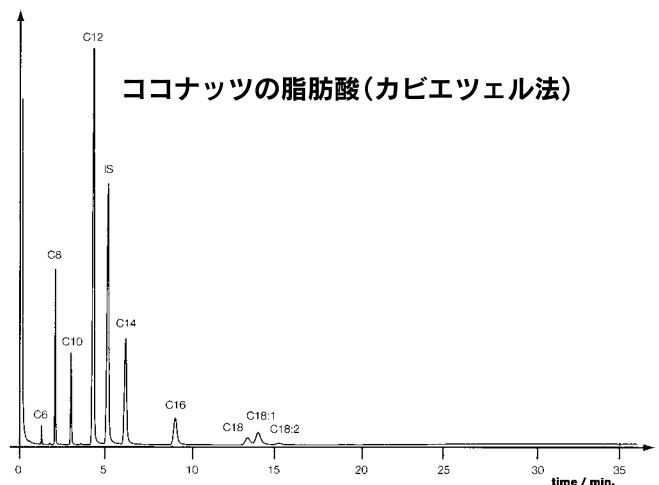


図2 ココナッツオイルの脂肪酸のクロマトグラフ(カビエツェル法)

分析装置：脂肪分析システムB-815/820/821
カラム：バックドカラム;Chromosorb coated with FFAP
キャリアガス：H₂ 5.0, 流量 60ml/min
検出器：FID, 260°C
導入口：直接注入 220°C
温度範囲：150°C~260°C;総分離時間36分

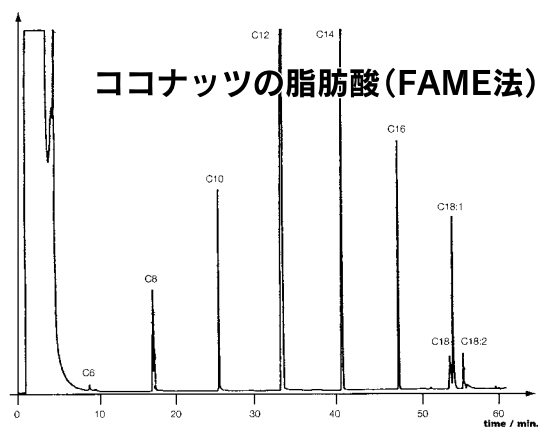


図3 ココナッツオイルの脂肪酸のクロマトグラム(FAME法)

分析例

ココナッツオイルの脂肪酸の定性

脂肪酸の定性の例として、ココナッツオイルのカビエツェル法とFAME法の分析結果を表2に、クロマトグラムを図2および図3に示します。

FAME法ではキャピラリーカラム(DB-Wax30m×0.32mm、膜厚0.25μm)を使用します。分離は、ヘリウムをキャリアガスとして60分以内で実施しました。

これを比較すると、2つの分析方法の結果は一致していることがわかります。しかしながら、カビエツェル法を使えば分析にかかる時間が大幅に短縮されます。

卵黄中のω3型脂肪酸

ω3型脂肪酸は、不飽和脂肪酸の1グループで、人々の健康の増進、特に血中脂質値に効果があることが知られています：

- リノレン酸(C18:3)は、主に植物油(菜種油、大豆油、亜麻仁油、小麦胚芽油)や亜麻仁、クルミに含まれます。
- エイコサペンタエン酸(EPA/C20:5)は、主に鮭、サバ、イワシなどの海産魚に含まれます。
- ドコサヘキサエン酸(DHA/C22:6)は、主に鮭、サバ、イワシなどの海産魚に含まれます。

カビエツェル法によって得られたクロマトグラム(図1)には、特別に飼育された鶏の卵から得られたω3型脂肪酸の3本のピークがきれいに他のピークから分離して示されています。通常の卵の卵黄に含まれるω3型脂肪酸が約0.5g/100gであるのに対して、この卵の卵黄には3.2g/100gのω3型脂肪酸が含まれています。

表2 ココナッツオイルの分析結果比較

脂肪酸	カビエツェル	FAME法
C6	0.7%	0.3%
C8	8.3%	7.7%
C10	5.9%	6.0%
C12	45.9%	48.8%
C14	18.1%	18.0%
C16	9.2%	9.3%
C18	2.2%	2.5%
C18:1	7.0%	7.0%

FAME法との比較

通常、FAME法が各種の評価プロセスに適用されています。カビエツェル法でも、ペンタデカン酸などの内標準物質をサンプルに添加することによって、同様に個々の脂肪酸を定量的に計算できます。

例えば、Weibull-Stoldtによる別の方法等で全脂肪がすでに定量されていれば、FAME法は脂肪酸分布比率の決定のみ使用されるのが通例です。それから、全脂肪と脂肪酸分布比率に基づいて個々の脂肪酸の含量が決定されますが、考慮されるのは同定された脂肪酸だけです。未確認の脂肪酸、例えば分岐脂肪酸、ヒドロキシ基を持つ脂肪酸などはFAME法の分析にはかかりません。FAME法の利点は、キャピラリーカラム分離が優れているためにcis-、trans-異性体の分離・定量ができる点です。

一方、カビエツェル法の重要な長所は簡単であること、特にルーチン分析に適用できることです。

参考文献

1. Verordnung zur Neuordnung der Nährwertkennzeichnungsvorschrift für Lebensmittel, vom 25.11.1994, Bundesgesetzblatt, Jg. 1994; 94. Akt.-Lfg./Stand: Januar 1998; Artikel 1,§§3-5
2. REINDL, S., CAVIEZEL, R., PENDL, R.; Neue Perspektiven in der Bestimmung von Fett in Lebensmitteln
3. BELITZ, GROSCHE: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 4., überarbeitete Auflage, Springer Verlag, Berlin 1992.
4. ZOU et al.: Journal of AOAC International Vol. 82, No. 1, 1999.
5. MÖRSEL, J.-T., SIEFERT, K.: Zur Gaschromatographischen Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung am Beispiel von Dotter-fetten; Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin.
6. PENDL, R., BAUR, M., CAVIEZEL, R., SCHULTHESS, P., BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Schweiz: AOAC Peer-Verified Method: Total Fat Determination according to the Caviezel Method based on a GC Technique for Food and Feed Stuff.

www.buchi.com



Quality in your hands

当カタログの記載内容は改良の為予告なく変更する場合がありますのでご了承下さい。



日本ビュッヒ株式会社

JV with SIBATA

〒110-0005
東京都台東区上野2-11-10
小島ビル7F

電話: 03-5807-5599
ファクス: 03-5807-5598

E-mail: info@nihon-buchi.co.jp