

資 料 I

乳製品の添加異種脂肪検出の検討

—植物性ステロイド—

沢部 光一*・藤盛 義英**

I 結 言

近年乳製品の需要が牛生産量(仁木, 1968)¹⁾に比し年々増加の一途をたどり, 異種脂肪の添加量も相当量示すといわれ, 乳製品の添加異種脂肪を検出することが衛生上重要なことである。従来添加異種脂肪の判定法として種々の方法が定められている(井上, 慶田, 1968, 佐藤, 松居たち 1967, 松居, 木高たち 1971津郷, 慶田たち 1965, 1966, 1967)²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾

著者らは基礎資料 I として, ガスクロマトグラフ (VPC) を用いた植物性ステロイド分画による検出法の検討を行い, 乳製品への応用を試みた。

II 実 験

A 標準試料の調製

コレステロール, カンベステロール, スチグマステロール及び β -シトステロールの等量アルコール溶液を標準試料とし, このトリメチルシリル(TMS)誘導体(津田 1965)⁷⁾及びジギトニン沈析(慶田, 津郷 1965, *Fieser & Fieser* 1961)⁶⁾⁷⁾後のTMS誘導体を調製し, そのピリジン溶液をVPCに注入した。

B 試料の調製

アイスクリーム5g及び牛乳5gをケン化し, 塩酸酸性後エーテルで抽出し, 濃縮後アルコールに転溶する。

次にジギトニンに

よりステロール・

ジギトニドとして

沈析し, ピリジン

に溶解後, TMS

誘導体にし, その

ピリジン溶液をV

PCに注入した。

C 装 置

日立製 073 形ガス

クロマトグラフを

用い, 表 I に示す

条件で行なった。

Table I. Gas Chromatography Conditions.

Model	Hitachi 073
Column	OV-17 2% 2m $\times$ ϕ 3mm Glass
Column temp.	260°C (Isothermal)
Carrier gas	He 70ml/min.
Detector	FID 220°C
Injection temp.	220°C
Chart sp.	10mm/min.

III 結果と考察

A 測定条件の検討

1 カラム温度と流量: VPCのカラム温度と流量は分離能に影響を与えることが知られている(舟阪, 池川 1966)⁸⁾。著者らはその条件の設定を試みた。

a 流量を一定にし(70ml/min), 温度を250°Cから270°Cの範囲で検討を行なった結果, 260°Cが最も好結果を与え, 低温及び高温のいずれも分離能に低下を示した(図 I No. 1, No. 3)。

b カラム温度を一定にし(270°C), 流量40, 70及び85ml/minによる分離能の結果は, 85ml/minが極短な低下を示し, 40及び70 ml/minでは両者に差はなく, したがって分析時間短縮から流量70ml/minに設定した(図 I No. 2, No. 3)。

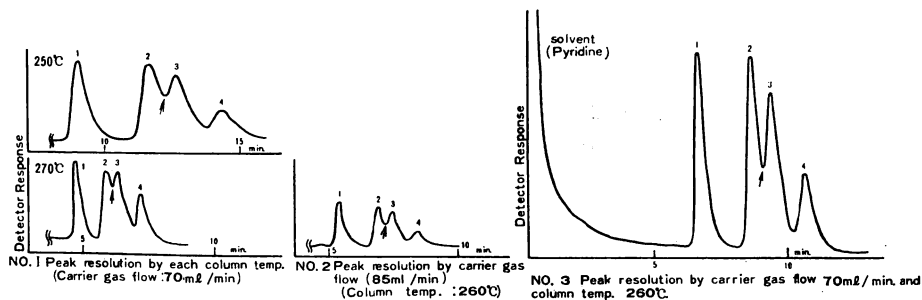


Fig. 1 (NO. 1~3) Gas chromatography of steroids by each conditions. The components are: 1. cholesterol 2. campesterol 3. stigmasterol 4. β -Sitosterol The operation data are: Hitachi 073 Gas chromatograph, column 2m $\times$ ϕ 3mm, 2% OV-17 with 60/80 mesh, Carrier gas He.

*秋田県衛生科学研究所成人病科

**秋田県衛生科学研究所専門研究員

2 各成分の再現性と補正係数：面積分布側定法により再現性を調べた結果、変動係数はいずれも2%以下を

示し、又面積比より算出した補正係数も表の通りであった(表Ⅱ)。

TableⅡ. Reproducibility and Calibration Factor of Peak Area.

Components	Cholesterol	Campesterol	Stigmasterol	β -Sitosterol
No. 1	25.5%	30.9%	28.4%	15.2%
2	26.0	30.7	28.1	15.2
3	25.7	31.0	28.3	15.0
4	25.6	31.2	28.4	14.8
5	25.8	31.1	28.5	14.6
6	25.5	30.9	28.6	15.0
7	25.5	30.8	28.2	15.5
8	25.6	31.0	28.3	15.1
9	25.9	30.8	28.5	14.8
10	25.8	30.9	28.5	14.8
Average	25.7	30.9	28.4	15.0
Coefficient Variation	0.7	0.5	0.5	1.7
Calibration Factor	1.00	1.21	1.12	0.60

IV 操作法の検討

A ジギトニド生成の定量性

植物性ステロイドのジギトニン沈析による測定はその生成に難点があると言われている(瓜谷, 中村たち1970)⁹⁾。したがって著者らはその定量性について検討する

ため、コレステロールを内部標準としステロール・ジギトニドを合成し(慶田, 津郷たち1965, 1966, 1967 Fieser & Fieser 1961)⁵⁾⁶⁾その組成比を求めた。表Ⅲはその結果を示している。

各組成のジギトニド生成率は95%以上を示した。

TableⅢ. Quantitivity of Phytosterol-Digitonid Products.

Relative Peak Area (A/B Ratio *)				
Components	Campesterol	Stigmasterol	β -Sitosterol	
No. 1	98.1%	95.2%	93.1%	
2	93.4	95.1	94.5	
3	97.5	94.3	95.0	
4	95.3	96.0	96.0	
5	96.8	97.1	97.0	
6	96.9	97.4	95.3	
7	97.1	96.8	96.1	
8	95.1	94.0	93.2	
9	98.3	94.9	94.1	
10	99.1	95.3	96.4	
Average	96.8	95.6	95.1	

Internal standard: Cholesterol

* A: After treatment with digitonin.

B: Former treatment with digitonin.

B TMS反応溶液状態での保存性

図Ⅱ No. 1はTMS化(津田1965)⁷⁾し、ビリジン混液の状態で室温一夜放置後のVPCであり、反応直後のVPC(点線)と比較すると非常に異なった生成体を示し

ている。又0°C以下の条件下ではそれらの生成体は見られなかった(図Ⅱ No.2)。したがって以下の実験はすべてTMS誘導体を用時調製しVPCに注入した。

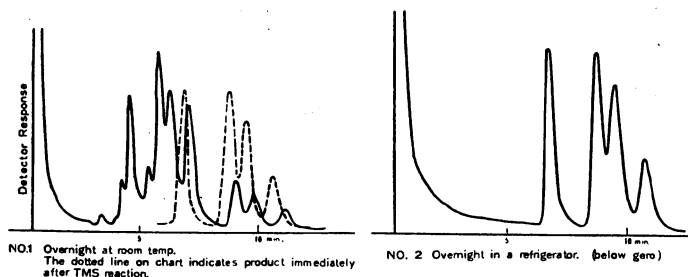


Fig. II (NO. 1-2) Gas chromatography of TMS reaction mixture of after keep in pyridine solution.
The operation data are the same with Fig. I NO. 3

V 乳製品への応用

A アイスクリーム

市販品数社を選択し、不ケン化物を分析した。図Ⅲ No. 1~5はそのVPCである。図Ⅲ No. 2~4の試料中に

は明らかに植物性ステロールの混入が認められた。又図Ⅲ No. 1, 5に見られる試料に関しては不ケン化物の判定が困難なため、脂肪酸及びトリグリセリド組成による識別を検討中である。

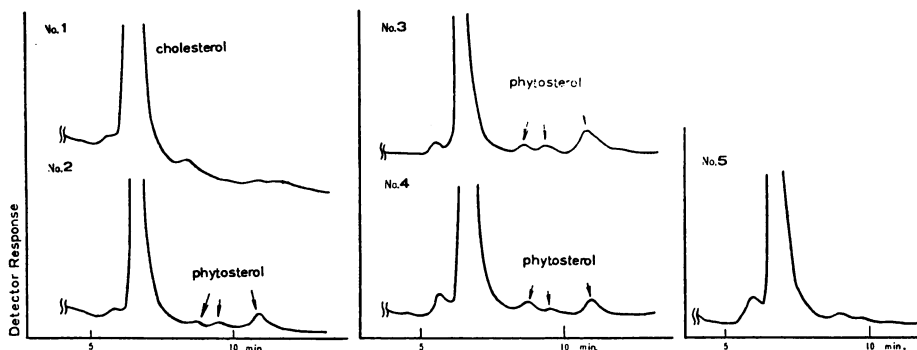


Fig. III (NO. 1-5) Gas chromatography of steroids in commercial ice cream.
The operation data are the same with Fig. I NO. 3

B 牛 乳

市販の飲料用牛乳に関しては植物性ステロールの混入は認められなかった。図Ⅳはその一試料のVPCである。

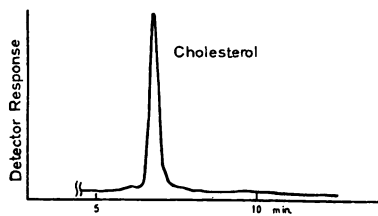


Fig. IV Gas chromatography of commercial bottled milk.
The operation data are the same with Fig. I NO. 3.

VI 結 言

ガスクロマトグラフィーによるステロイドの確認は添加植物油脂の検出に関して有力な方法である。今後乳製品中の脂肪酸及びトリグリセリド組成をもあわせて検討し、添加動物油脂の確認を行う。

文 献

- 1 仁木達, 乳製品工業界の課題, 化学と工業 21,400 (1968)
- 2 井上哲男, 慶田雅洋, 飲料牛乳中の異種脂肪の検出について, 衛生試験, 86, 96 (1968)
- 3 佐藤克哉, 松居正己, 池川信夫, ガスクロマトグラ

- フィーによるトリグリセライドの分析, 分析化学, 15, 954 (1966)
- 4 松居正己, 木高譲, 坂田衛, 東久世秀昭, ガスクロマトグラフィーによる乳製品中の異種脂肪の検出, 島津評論, 28, 45 (1971)
- 5 津郷友吉, 慶田雅洋, 佐々木徹郎, フィトステロール酢酸塩試験によるバター脂肪中の異種植物油脂の検出について, 食衛誌, 6, 440 (1965)
- 慶田雅洋, 斉藤芳枝, 長尾昭雄, 津郷友吉, フィトステロール酢酸塩試験法によるマーガリンの資材物質の鑑別法について, 食衛誌, 7, 388 (1966)
- 慶田雅洋, 津郷友吉, フィトステロール酢酸塩試験法の解説, 食衛誌, 8, 270 (1967)
- 6 Louis F. Fieser, Mary Fieser, Steroids, (Maruzen Asian Edition) P.29 (1961)
- 7 津田恭介, 有機分析 (産業図書) P.189 (1965)
- 8 舟阪渡, 池川信夫, 最新ガスクロマトグラフィー (広川書店) I, P.274 (1966)
- 9 瓜谷郁三, 中村道德, 原一郎, 福場博保, 脂質とその周辺 (共立出版) P. 17 (1970)