

明 細 書

発明の名称：

ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法

技術分野

[0001] 本発明は、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法に関する。

背景技術

[0002] エステル交換は、脂肪酸組成を変更せずにトリアシルグリセロールのグリセロール骨格に脂肪酸を再分配することにより、油脂の物理化学的特性を変更するための広く普及しているプロセスである。

この脂肪酸の再分配は、ナトリウムメトキシドなどの化学触媒によって非立体選択的に（ケミカルエステル交換）、リパーゼによって立体選択的に（酵素エステル交換）行うことができる。

ケミカルエステル交換は酵素エステル交換に比べて生産性が高く、投資コスト、生産コストが低いため、広く利用されている。近年、食用油脂からトランス脂肪酸を削減する傾向が高まる中、製造者は従来よりもケミカルエステル交換にシフトする傾向がある。

[0003] ケミカルエステル交換中にいくつかの成分が変化することが報告されており、トコフェロールが減少し、脂肪酸メチルエステル、石鹼、遊離脂肪酸、部分的なアシルグリセロールといった副生成物が形成される。

Verheらによって、ケミカルエステル交換反応油脂の不けん化物画分からジアルキルケトン（DAKs）が見つかったことが初めて報告された（非特許文献1）。

DAKsは、中央のカルボニル基と2つの長い脂肪族側鎖を有することを特徴とし、その長さは脱炭酸プロセスに関与する脂肪酸に依存するというDAKs形成のメカニズムがVerheらによって報告されている（非特許文献1）。

DAKsは、食品と接触する板紙の抽出物からも検出されており、耐水性紙

の製造プロセスにおいて用いられるアルキルケテンダイマー（AKD）が未反応のまま、加水分解とそれに続く脱炭酸の影響を受けることが原因だと考えられている（非特許文献2）。

[0004] DAKsが我々の健康に及ぼす影響は明確ではないが、これらAKDベースのDAKsの量は、ドイツのBfRによって食品1kgあたり5mgを超えないように、また食品医薬品局（FDA）によって紙又は板紙中の0.4wt%を超えないように制限されている。

[0005] AKDベースのDAKsは主に飽和鎖で構成されており、市販のAKDは主にステアリン酸などの飽和脂肪酸から調製されるため、ガスクロマトグラフ（GC）水素炎イオン化検出器（FID）及び／又は質量分析（MS）によって分析される。

一方、ケミカルエステル交換油中のDAKsの分析は、飽和DAKsだけでなく、不飽和DAKsもケミカルエステル交換油に含まれているため、AKDベースのDAKsの分析よりも容易ではなく、飽和及び不飽和のDAKsを分離し定量する分析法が求められている。

[0006] GC-FIDシステムを使用したDAKsの測定と定量化、及びGC-MSシステムによる同定に関し、SantoroらはGC-MS又は液体クロマトグラフィー高分解能MSのいずれかを使用した報告がある。

このGC-FID及びMS分析には、非極性又は低極性キャピラリカラムが使用され、飽和DAKsのみを分離することができている（非特許文献3）。

。

また、特許文献1及び2には油脂中のジアルキルケトンを正確に定量する方法が記載されているが、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法ではない。

[0007] しかしながら、特に加工油脂中に含まれるDAKsは、構造的及び物理的特性が類似していることから、従来の提案された方法ですべてのDAK種を分離し、定量することは困難であると考えられている。

他の研究者が報告したように、MSシステムを使用してDAKsを識別及び

定量化したとしても、MSシステムでの定量はイオン化の不安定さから、定量精度はFIDシステムに劣る。

そのため、高い定量性を得るために、MSシステムによる同定用とFIDシステムによる定量用の2回の分析を行う必要があった。

したがって、DAKsの分離及び定量を1回の分析で可能とするためには、高効率で分離性の高いGC-FIDシステムが必要とされている。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特開2019-045466号公報

特許文献2：特開2019-158536号公報

非特許文献

[0009] 非特許文献1：Verhe, R.; Van Hoed, V.; De Greyt, W. Detection of alkyl ketones during chemical interesterification of lipids. In Proceedings of the Paper Presented at 97th AOCs Annual Meeting & Expo, St-Louis, MO, USA, 3 May 2006.

非特許文献2：Lestido-Cardama, A.; Stormer, A.; Franz, R. Dialkylketones in paperboard food contact materials - method of analysis in fatty foods and comparative migration into liquid simulants versus foodstuffs. *Molecules*. 25(4), 915-928 (2020).

非特許文献3：Santoro, V.; Baiocchi, C.; Bello, D.F.; Gastaldi, D.; Aigotti, R.; Zorzi, M.; Pellegrino, A.; Forte, E.; Romaniello, F.; Magni, M.; Fontana, M.; Somenzi, M.; Medana, C. Formation of by-products during chemical interesterification of lipids. Detection and characterization of dialkyl ketones by non-aqueous reversed-phase liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1581-1582, 63-70 (2018).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] 本発明の目的はジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、無極性カラム、微極性カラムを除く極性カラムを用いることで、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量できることを見だし、本発明を完成させるに至った。

[0012] すなわち、本発明は下記に関するものである。

(1) ジアルキルケトンを含む試料をガスクロマトグラフで定量する方法において、無極性カラム、微極性カラムを除く極性カラムで、polarity value が 440 以上の極性カラムを用いることを特徴とする、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法。

(2) 該極性カラムが、polarity value が 700 以上の中極性以上の極性カラムである (1) 記載の方法。

(3) 該極性カラムが、polarity value が 1550 以上の高極性以上の極性カラムである (2) 記載の方法。

(4) 該高極性以上の極性カラムの液相がイオン液体カラムである (3) 記載の方法。

(5) (1) 乃至 (4) のいずれかに記載の方法を用いた、油脂中のジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量分析を行う工程を含むケミカルエステル交換油脂の製造方法。

発明の効果

[0013] 本発明の方法により、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を 1 回の分析で分離し定量することができる。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明は、ジアルキルケトンを含む試料をガスクロマトグラフで定量する方

法において、無極性カラム、微極性カラムを除く極性カラムで、polarity valueが440以上の極性カラムを用いることを特徴とする、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法である。以下、本発明を詳細に説明する。

[0015] (ジアルキルケトンを含む試料)

本発明の方法において、ジアルキルケトンを含む試料としては、食品あるいは食品原料に用いられる油脂又は食品と接触する耐水性紙の抽出物をはじめ、様々な試料に用いることができる。

これらの試料の中でも、食用油脂とりわけジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を含むケミカルエステル交換油脂の分析に好ましく用いることができる。

また、ケミカルエステル交換油脂等を用いた食品、例えば、菓子、チョコレート、マーガリンなどの油中水型乳化物、フィリング、ホイップクリーム、ドレッシングなどの水中油型乳化物、飲料から常法により疎水性画分を抽出・精製し、分析することもできる。

[0016] (無極性カラム、微極性カラムを除く極性カラム)

本発明の方法において、ジアルキルケトンを含む試料をガスクロマトグラフで定量する際に、無極性カラム、微極性カラムを除く極性カラムで、polarity valueが440以上の極性カラムを用いることを特徴とし、polarity valueが440以上の極性カラムを用いることにより、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量することが可能となる。

例えば、無極性カラム、微極性カラムとしては、液相が100%ジメチルポリシロキサン、5%ジフェニルージメチルポリシルフェニレンシロキサン、5%ジフェニルー95%ジメチルポリシロキサン、14%ジフェニルー86%ジメチルポリシロキサンなどのカラムであって、具体的にはDB-1、HP-1、Rtx-1、CP-Sil5CB、SPB-1、InertCap1MS、InertCap1HP-5ms、Rxi-5ms、Equity-5、Rtx-5MS、DB-5ms、Rxi-5SiMS、VF-5ms、SLB-5ms、InertCap5MS/Sil、InertCap5MS/NP、InertCap5、DB-5、HP-5、Rtx-5、CP-Sil8CB、SPB-5、DB-XLB

などを挙げることができる。

[0017] (polarity value)

また、本発明において、カラムの極性は、中極性以上であり、極性カラムのpolarity valueが440以上であることを特徴とし、好ましくはpolarity valueが700以上、より好ましくは1550以上であることが好ましい。なお、polarity valueは、該当カラムにおける5種の化合物（ベンゼン、n-ブタノール、2-ペンタノン、ニトロプロパン、ピリジン）のマクレイノルズ数の総和を示す値である。マクレイノルズ数は、化合物に対するスクアラン固定相カラムでのKovats Indexの値と、ある液相でのKovats Indexの値との差を表すものである。

[0018] 例えば、polarity valueが440から1550程度の中極性カラムとしては、液相が20%ジフェニルー80%ジメチルポリシロキサン、35%ジフェニルー65%ジメチルポリシロキサン、50%ジフェニルー50%ジメチルポリシロキサン、6%シアノプロピルフェニルー94%ジメチルシロキサン、14%シアノプロピルフェニルー86%ジメチルシロキサン、50%ジフェニルー50%ジメチルシルフェニレンシロキサン、50%トリフルオロプロピルー50%メチルポリシロキサン、などのカラムで、具体的には、InertCap35MS、InertCap25、DB-35msUI、VF-35ms、Rxi-35silMS、InertCap624、DB-624、HP-VOC、Rtx-624、VF-624ms、InertCap624MS、DB-624、HP-VOC、Rtx-624、Rxi-624SilMS、VF-624ms、InertCap1301、DB-1301、HP-1301、Rtx-1301、VF-1301ms、InertCap25、DB-35ms、DB-35、HP-35ms、HP-35、Rtx-35、VF-35ms、InertCap35、VF-1701ms、InertCap1701MS、InertCap1701、DB-1701、Rtx-1701、VF-1701ms、SPB-1701、InertCap17MS/Sil、DB-17MS、VF-17ms、Rxi-17silMS、InertCap17MS、DB-17ms、Rxi-17SilMS、VF-17ms、InertCap17、DB-17、HP-50、Rtx-50、CP-Sil24CB、SPB-50、InertCap210、DB-210、Rtx-200、VF-200ms、などを挙げることができる。

中でもpolarity valueが700以上の中極性カラムとしては、液相が14%シアノプロピルフェニルー86%ジメチルシロキサン、35%ジフェニルー

65%ジメチルポリシロキサン、50%ジフェニル-50%ジメチルポリシロキサン、50%ジフェニル-50%ジメチルシルフェニレンシロキサン、50%トリフルオロプロピル-50%メチルポリシロキサン、などのカラムである。

[0019] さらに、本発明の方法において、最も好ましくはカラムの極性が、高極性以上であり、polarity valueが1550以上であることが好ましい。

例えば、polarity valueが1550以上の高極性カラムとしては、液相がポリエチレングリコール、ニトロテレフタル酸が修飾されたポリエチレングリコール、50%シアノプロピルメチル-50%フェニル-メチルポリシロキサン、50%シアノプロピルフェニル-50%ジメチルシロキサン、ニトリルシリコン、70% Cyanopropyl-Silphenylene siloxane、poly(biscyanopropyl siloxane、proprietary phase、poly (80% biscyanopropyl/20% cyanopropylphenyl siloxane) phase、1,12-Di(tripropylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,12-Di(tripropylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,12-Di(tripropylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide trifluoromethylsulfonate、Tri(tripropylphosphoniumhexanamido)triethylamine bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,12-Di(2,3-dimethylimidazolium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,9-Di(3-vinylimidazolium)nonane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,5-Di(2,3-dimethylimidazolium)pentane bis(trifluoromethylsulfonyl)imideなどのカラムで、具体的には、InertCap Pure-WAX、DB-WAX、HP-INNOWax、Rtx-Wax、Stabilwax、InertCap WAX-HT、DB-WAXetr、SolGel-WAX、InertCap FFAP、DB-FFAP、HP-FFAP、CP-WAX 58(FFAP)CB、HR-SS-10、PAG、SPB-225、InertCap 225、DB-225、Rtx-225、CP-Sil 43CB、SP-2330、TC-70、SP-2330、SP-2331、SP-2560、SLB-IL59、SLB-IL60、SLB-IL61、SLB-IL82、SLB-IL100、SLB-IL111などを挙げることができる。

[0020] 本発明において、さらに最も好ましくは高極性カラムがイオン液体カラムであると、試料中のジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を良好に分離するこ

とが可能になり、より正確な定量が可能となる。

例えば、イオン液体カラムとしては、液相が1,12-Di(triethylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,12-Di(triethylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,12-Di(triethylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide trifluoromethylsulfonate、Tri(triethylphosphoniumhexanamido)triethylamine bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,12-Di(2,3-dimethylimidazolium)dodecane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,9-Di(3-vinylimidazolium)nonane bis(trifluoromethylsulfonyl)imide、1,5-Di(2,3-dimethylimidazolium)pentane bis(trifluoromethylsulfonyl)imideなどのカラムで、具体的には、SLB-IL59、SLB-IL60、SLB-IL61、SLB-IL82、SLB-IL100、SLB-IL111などを挙げることができる。

[0021] (ガスクロマトグラフ)

本発明の方法においては、ガスクロマトグラフを用いるが、ガスクロマトグラフとしては通常使用されるガスクロマトグラフを用いることができる。また、測定条件については、上記カラムを使用しジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量することができるよう適宜設定することができる。

なお、上記ガスクロマトグラフに用いる、検出器等についても通常使用されるものを用いることができ、検出器としては、例えば、質量分析器(MS)、水素炎イオン検出器(FID)等が挙げられる。

実施例

[0022] 以下、実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

[0023] 本発明の詳細を説明するにあたり、比較対象として以下のカラムを使用した(比較例1) HP-1MS UI(長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.25μm、無極性カラム、polarity value 約130、液相:100%ジメチルポリシロキサン/Agilent社製)

(比較例2) HP-5MS UI(長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.25

μm、微極性カラム、polarity value 約252、液相：5%ジフェニルー
95%ジメチルポリシロキサン／Agilent社製)

(比較例3) DB-XLB (長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.25 μm、微極性カラム、polarity value 約300、液相：14%ジフェニルー
86%ジメチルポリシロキサン／Agilent社製)

(実施例1) InertCap 1701 (長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.25 μm、中極性カラム、polarity value 約700、液相：14%シアノ
プロピルフェニルー86%ジメチルシロキサン／GLサイエンス社製)

(実施例2) DB-17ms (長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.25 μm、中極性カラム、polarity value 約948、液相：50%ジフェニルー
50%ジメチルポリシロキサン／Agilent社製)

(実施例3) DB-WAX (長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.25 μm、高極性カラム、polarity value 約2324、液相： ポリエチレング
リコール／Agilent社製)

(実施例4) HR-SS-10 (長さ25m、内径0.25mm ID、高極性カラム、polarity value 約2500、液相：ニトリルシリコーン／信和化工株式
会社社製)

(実施例5) SLB-IL60 (長さ30m、内径0.25mm ID、膜厚0.2 μm、高極性カラム、polarity value 約2622、液相：1,12-Di (tripropylphosphonium) dodecane bis (trifluoromethylsulfonyl) imide／Supelco社
製)

[0024] (分析例1) 不飽和体D A K s の分離分析

(サンプルの調整)

9種類の不飽和D A K s 合成品 (C11-C0-C17:1, C11-C0-C17:2, C13-C0-C17:1, C13-C0-C17:2, C15-C0-C17:1, C15-C0-C17:2, C17-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:2) をトルエン・ヘキサン混合液に125 ppmとなるように溶解させ、GCに供した。

尚、D A K s の表記に関してはその化学構造を表すように記載しており、例

例えば2分子のステアリン酸 (C18) から得られる D A K s は C17-C0-C17 (18-ペンタトリアコンタノン) と、2分子のオレイン酸 (C18:1) から得られる D A K s は C17:1-C0-C17:1 (ペンタトリアコンタン-9、26-ジエン-18-オン) と表記する。以降、この表記法に準じた。

[0025] (GCの分析条件)

GCシステム : Agilent GC 7890B

カラム :

(比較例1) HP-1MS UI (30m x 0.25mm, 0.25 μ m)

(比較例2) HP-5MS UI (30m x 0.25mm, 0.25 μ m)

(比較例3) DB-XLB (30m x 0.25mm, 0.25 μ m)

(実施例1) InertCap 1701 (30m x 0.25mm, 0.25 μ m)

(実施例5) SLB-IL60 (30m x 0.25mm, 0.2 μ m)

注入口 : 300℃、スプリットモード、スプリット比=25 : 1

キャリアガス : ヘリウムガス 定線速度モード、38cm/s

オープン : 80℃ (1min保持) → 200℃ (保持なし、25℃/min) → 290℃ (30min保持、5℃/min)

FID温度 : 340℃

注入量 : 1 μ l

[0026] 分析で得られたクロマトグラム上のピークの数で不飽和体の分離を確認した。結果を表1に示した。

表1	カラム	極性	不飽和 DAKs の分離
比較例1	HP-1MS UI	無極性	分離できず
比較例2	HP-5MS UI	微極性	分離できず
比較例3	DB-XLB	微極性	分離できず
実施例1	InertCap 1701	中極性	分離
実施例5	SLB-IL60	高極性	分離

[0027] 従来 D A K s 分析に使用されていた無極性カラム (HP-1MS UI) や微極性カラム (HP-5MS UI、DB-XLB) を使用した場合には、9種類の不飽和体 D A K s を分離できなかったが、中極性カラム (InertCap 1701) や高極性カラム (SLB-IL60) を使用した場合には不飽和体 D

AKsを分離することができた。

[0028] (分析例2) DAKsの分離分析

(サンプルの調整)

17種類のDAKs合成品 (C10-C0-C10, C11-C0-C11, C11-C0-C13, C11-C0-C15, C11-C0-C17, C11-C0-C17:1, C11-C0-C17:2, C15-C0-C15, C13-C0-C17:1, C13-C0-C17:2, C15-C0-C17, C15-C0-C17:1, C15-C0-C17:2, C17-C0-C17, C17-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:2) をトルエン・ヘキサン混合液に118ppmとなるように溶解させ、GCに供した。

[0029] (GCの分析条件)

GCシステム: Agilent GC 7890B

カラム:

(実施例2) DB-17ms (30m × 0.25mm, 0.25μm)

(実施例3) DB-WAX (30m × 0.25mm, 0.25μm)

(実施例4) HR-SS-10 (25m × 0.25mm)

(実施例5) SLB-IL60 (30m × 0.25mm, 0.2μm)

注入口: 300℃、スプリットモード、スプリット比=25:1

キャリアガス: ヘリウムガス 定線速度モード、38cm/s

オープン:

DB-17ms、SLB-IL60

80℃ (1min保持) → 180℃ (保持なし、25℃/min) → 290℃ (30min保持、5℃/min)

DB-WAX

80℃ (1min保持) → 180℃ (保持なし、25℃/min) → 245℃ (30min保持、5℃/min)

HR-SS-10

80℃ (1min保持) → 180℃ (保持なし、25℃/min) → 220℃ (30min保持、5℃/min)

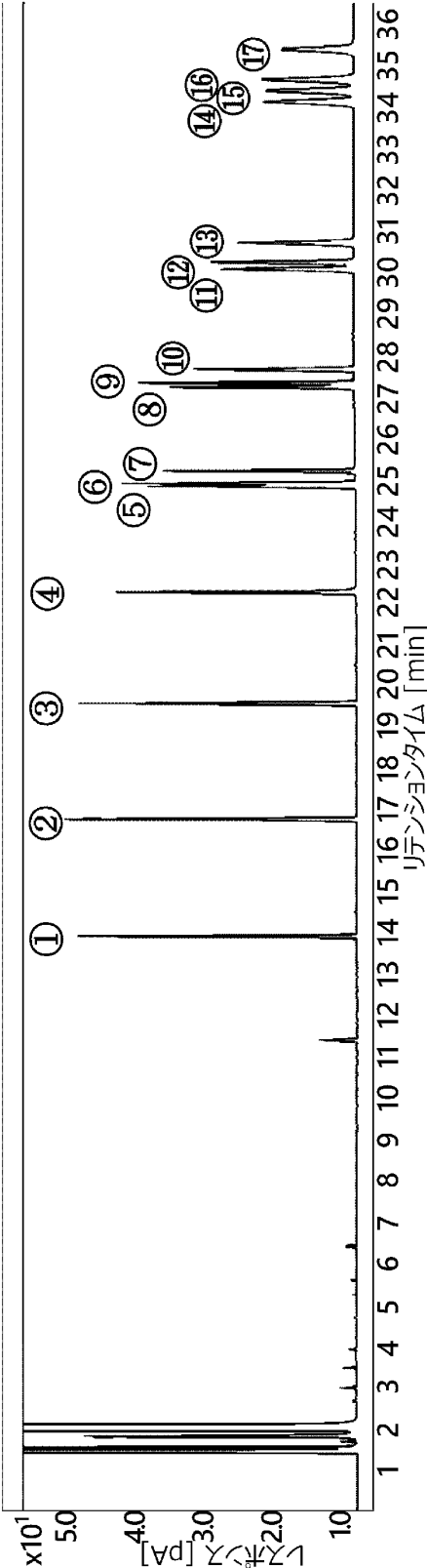
FID温度: 340℃

注入量：1 μ l

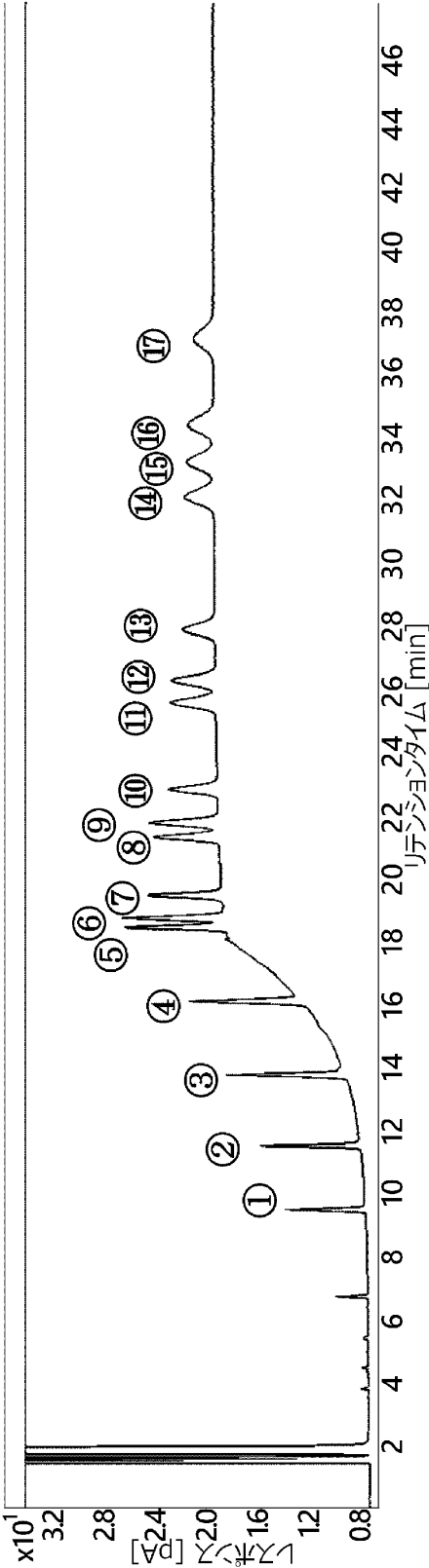
[0030] 17種のD A K s混合物の分離について、各種極性カラムで確認した。結果を表2に示した。

<表2>

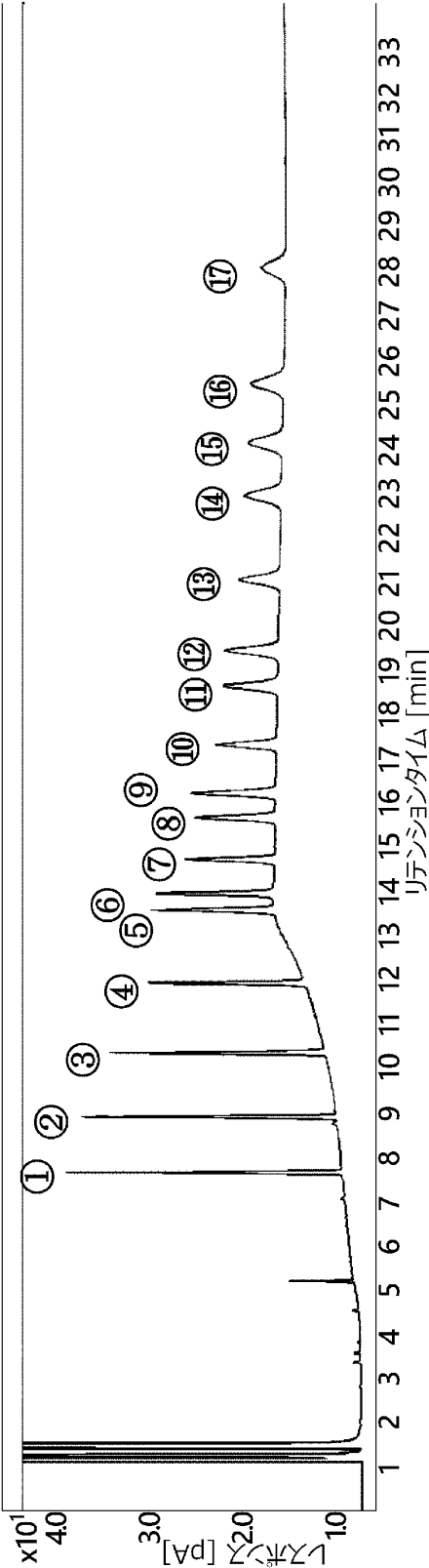
(実施例 1) DB-17ms



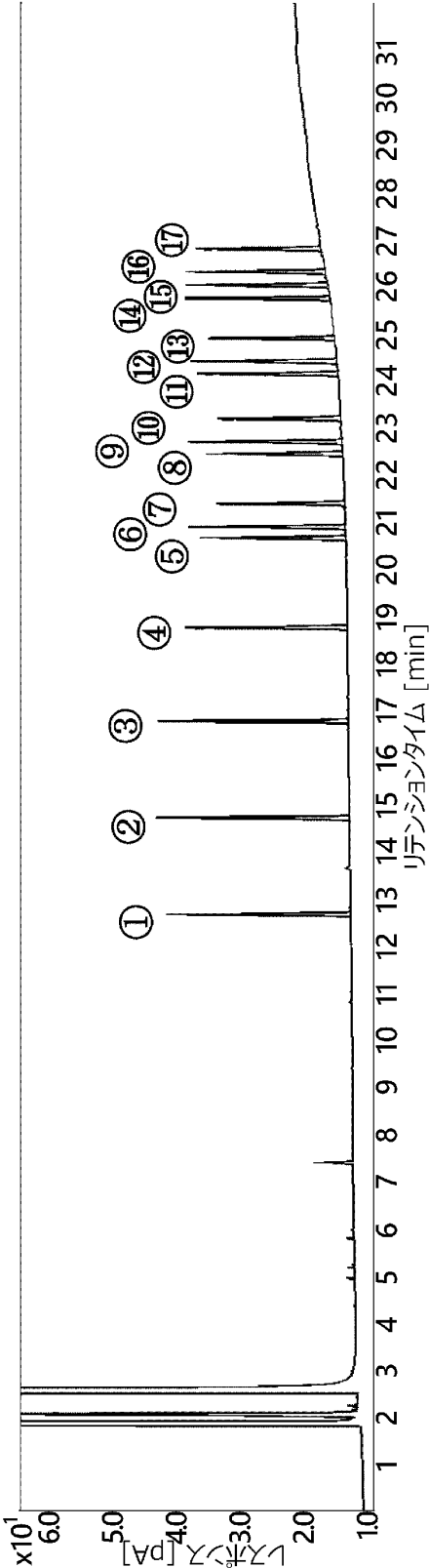
(実施例 2) DB-WAX



(実施例 3) HR-SS-10



(実施例 4) SLB-IL60



[0031] 結果を示す通り、中極性カラムや高極性カラムを用いると、D A K s の飽和体と不飽和体を分離し、分析することが可能であった。

[0032] (分析例3) 高極性カラムSLB-IL60(実施例5)を用いたD A K s の定量分析

(サンプルの調整)

16種類のD A K s 合成品(C11-C0-C11, C11-C0-C13, C11-C0-C15, C11-C0-C17, C11-C0-C17:1, C11-C0-C17:2, C15-C0-C15, C13-C0-C17:1, C13-C0-C17:2, C15-C0-C17, C15-C0-C17:1, C15-C0-C17:2, C17-C0-C17, C17-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:2)をトルエン・ヘキサン混合液に0.2-250ppmとなるように溶解させ全6濃度の溶液をGCに供した。

[0033] (GCの分析条件)

GCシステム: Agilent GC 7890B

カラム: SLB-IL60 (30m × 0.25mm, 0.2μm)

注入口: 300℃、スプリットモード、スプリット比=25:1

キャリアガス: ヘリウムガス 定線速度モード、38cm/s

オープン: 80℃(1min保持) → 180℃(保持なし、25℃/min) → 290℃(30min保持、5℃/min)

FID温度: 340℃

注入量: 1μl

[0034] (分析データの処理)

得られたクロマトグラムの処理はAgilent製OpenLab CDSソフトウェア(バージョン2.5)を用いた。すなわちピークピッキングされたピーク面積と注入濃度との検量線を作成し、相関係数Rの2乗値(R²)、検量線の傾きと切片を算出した。また検出限界(LOD)、定量下限(LOQ)については、それぞれSN比が3もしくは10になる濃度として算出した。結果を表3に示した。

[0035] <表3>

DAKs	RT (min)	R2	Slope	Intercept	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
C10-C0-C10	12.645					
C11-C0-C11	14.699	0.9998	0.5605	0.6609	0.14±0.03	0.45±0.09
C11-C0-C13	16.732	0.9997	0.6955	0.6651	0.13±0.02	0.42±0.08
C11-C0-C15	18.734	0.9997	0.5107	0.7081	0.15±0.02	0.51±0.05
C11-C0-C17	20.612	0.9997	0.5662	0.5834	0.16±0.01	0.53±0.04
C11-C0-C17:1	20.868	0.9997	0.5122	0.6860	0.18±0.01	0.59±0.03
C11-C0-C17:2	21.336	0.9997	0.5113	0.5279	0.18±0.03	0.61±0.10
C15-C0-C15	22.417	0.9997	0.4590	0.6261	0.21±0.02	0.69±0.05
C13-C0-C17:1	22.651	0.9997	0.6078	0.5973	0.15±0.01	0.50±0.05
C13-C0-C17:2	23.162	0.9997	0.4300	0.5605	0.23±0.01	0.75±0.04
C15-C0-C17	24.096	0.9998	0.5673	0.4850	0.14±0.01	0.47±0.04
C15-C0-C17:1	24.38	0.9998	0.4918	0.5827	0.19±0.13	0.64±0.10
C15-C0-C17:2	24.843	0.9998	0.5367	0.4746	0.20±0.02	0.65±0.08
C17-C0-C17	25.719	0.9998	0.5189	0.5639	0.21±0.03	0.71±0.10
C17-C0-C17:1	25.974	0.9999	0.5819	0.3801	0.23±0.02	0.75±0.06
C17:1-C0-C17:1	26.277	0.9998	0.4907	0.5076	0.40±0.14	1.34±0.47
C17:1-C0-C17:2	26.739	0.9998	0.5363	0.3832	0.45±0.03	1.54±0.11

*Values of LOD and LOQ were means ± S.D. (n=3)

[0036] 表3に示す通り、相関の高い検量線 ($R^2 > 0.999$) を作成することができ、且つ、低いLOD値 ($> 0.46 \text{ ppm}$)、LOQ値 ($> 1.54 \text{ ppm}$) が算出され、本方法が高い定量性をもつ手法であることが証明された。

[0037] (実施例4) 添加回収試験
(サンプルの調整)

16種類のDAKs合成品 (C11-C0-C11, C11-C0-C13, C11-C0-C15, C11-C0-C17, C11-C0-C17:1, C11-C0-C17:2, C15-C0-C15, C13-C0-C17:1, C13-C0-C17:2, C15-C0-C17, C15-C0-C17:1, C15-C0-C17:2, C17-C0-C17, C17-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:1, C17:1-C0-C17:2) をトルエン・ヘキサン混合液に溶解させ、DAKsを含まないパーム精製油 (不二製油株式会社製) へ終濃度 50 mg/kg oil となるように添加して調整したサンプルを使用した。

[0038] GCに供する前に、サンプルに以下の前処理を行い、抽出精製した。

(前処理)

サンプル 2 g に内部標準物質 (C10-C0-C10) を終濃度 100 ppm となるように添加、 12 mL のエタノールと、 2 mL の $50\% \text{ KOH}$ 水溶液を加え、約 80°C で1時間加熱し鹼化反応を行った。放冷後、蒸留水 10 mL を添加後、石油エーテルで抽出を3回行い、回収した石油エーテル画分を $10\% \text{ エタ}$

ノールー水で3回洗浄した。石油エーテル層を硫酸ナトリウムで脱水後、ろ液の溶媒を留去し、ヘキサンで再溶解して、ヘキサンでコンディショニングしたシリカゲルカラム (Supelco, Discovery DSC-Si SPE Tube bed wt. 2g, volume 12 mL) に全量通塔し、ヘキサン／エーテル (95／5 v／v) 15 mL で DAKs を溶出させた。得られた画分の溶媒を留去後、残渣をトルエン・ヘキサン混合液に溶解させて、GC に供した。

[0039] (GC の分析条件)

GC システム : Agilent GC 7890B

カラム : SLB-IL60 (実施例 4) (30 m × 0.25 mm、0.2 μm)

注入口 : 300℃、スプリットモード、スプリット比 = 25 : 1

キャリアガス : ヘリウムガス 定線速度モード、38 cm/s

オーブン : 80℃ (1 min 保持) → 180℃ (保持なし、25℃/min) → 290℃ (30 min 保持、5℃/min)

FID 温度 : 340℃

注入量 : 1 μl

[0040] サンプルの分析結果を内部標準で補正後、実施例 3 で作成した検量線を用いて DAKs 量を定量し、添加した理論値との比較から回収率を百分率%で算出した。結果を表 4 に示した。

[0041] <表 4>

DAKs	回収率 (%)
C11-C0-C11	102.2 $\pm$ 0.4
C11-C0-C13	103.0 $\pm$ 0.4
C11-C0-C15	101.5 $\pm$ 0.4
C11-C0-C17	102.9 $\pm$ 0.5
C11-C0-C17:1	102.9 $\pm$ 0.6
C11-C0-C17:2	103.4 $\pm$ 0.8
C15-C0-C15	103.5 $\pm$ 0.8
C13-C0-C17:1	102.7 $\pm$ 0.4
C13-C0-C17:2	102.9 $\pm$ 0.2
C15-C0-C17	101.3 $\pm$ 0.9
C15-C0-C17:1	103.9 $\pm$ 1.2
C15-C0-C17:2	101.9 $\pm$ 0.5
C17-C0-C17	102.3 $\pm$ 0.7
C17-C0-C17:1	101.5 $\pm$ 0.6
C17:1-C0-C17:1	104.6 $\pm$ 0.9
C17:1-C0-C17:2	103.9 $\pm$ 0.6

[0042] 結果、101%から104%という高い回収率が得られており、開発した本方法が高い定量性と実用性を兼ねそろえていることを示すものであった。

請求の範囲

- [請求項1] ジアルキルケトンを含む試料をガスクロマトグラフで定量する方法において、無極性カラム、微極性カラムを除く極性カラムで、polarity valueが440以上の極性カラムを用いることを特徴とする、ジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量する方法。
- [請求項2] 該極性カラムが、polarity valueが700以上の中極性以上の極性カラムである請求項1記載の方法。
- [請求項3] 該極性カラムが、polarity valueが1550以上の高極性以上の極性カラムである請求項2記載の方法。
- [請求項4] 該高極性以上の極性カラムの液相がイオン液体カラムである請求項3記載の方法。
- [請求項5] 請求項1乃至4のいずれかに記載の方法を用いた、油脂中のジアルキルケトンの飽和体と不飽和体を分離し定量分析を行う工程を含むケミカルエステル交換油脂の製造方法。