

HPLC法による魚油製品中のエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸の分析

Analysis of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids in Fish Oil Products by HPLC

エイコサペンタエン酸(EPA)は5つ(5、8、11、14、17位)のシス型二重結合をもつ炭素鎖20の不飽和脂肪酸(20:5)です。また、ドコサヘキサエン酸(DHA)は、同様に、6つ(4、7、10、13、16、19位)のシス型二重結合をもつ炭素鎖22の不飽和脂肪酸(22:6)で、いずれも $\omega$ -3脂肪酸に分類されます。いわしやさば等の青魚の魚油中に多く含まれており、人体への摂取による薬理効果として、動脈硬化の予防や老化防止、記憶学習機能の増進等が確認されたことから、魚油を原料としたサプリメントや健康食品が多く市販されています。EPA及びDHAの分析法には、GCが用いられる例がありますが、本報では、蛍光誘導体化と組み合わせたHPLC法による分析例を紹介します。

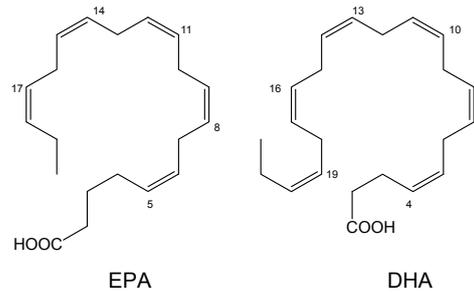


図1 EPA、DHAの構造式

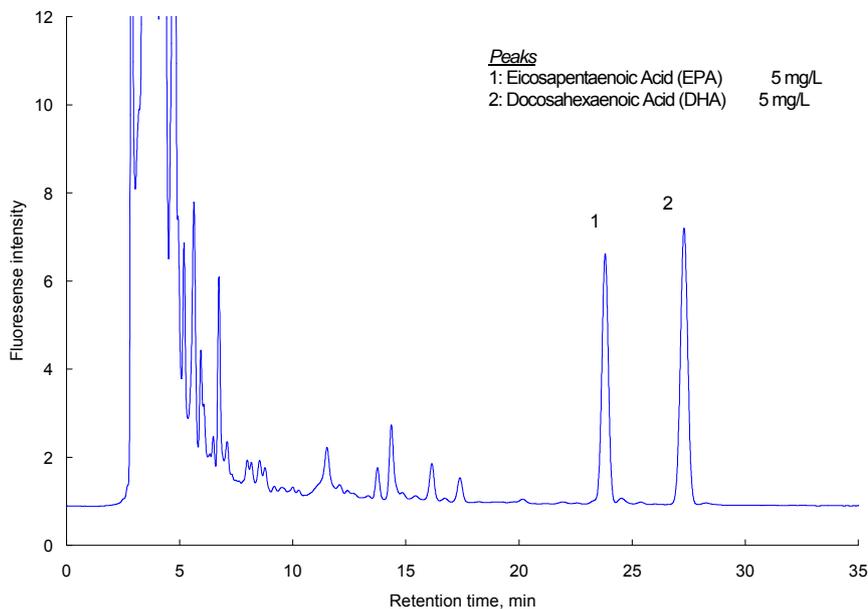


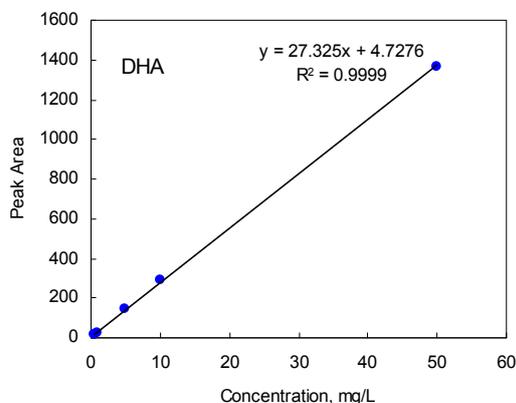
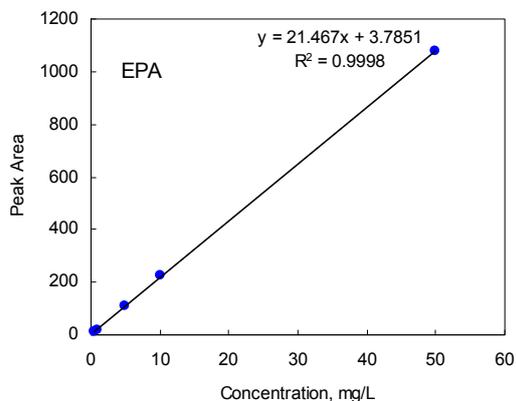
図2 標準試料のクロマトグラム

表1 分析条件

Column: TSKgel ODS-100Z 3 $\mu$ m (4.6 mmI.D. x 25 cm)
Eluent: water/acetonitrile = 5/95
Flow rate: 1.0 mL/min
Injection volume: 10 $\mu$ L
Column temp.: 40°C
Detection: FLD (Ex; 365 nm, Em; 412 nm)

分析カラムには、TSKgel ODS-100Z 3 μm (4.6 mmI.D. x 25 cm)を使用しました。蛍光誘導体化試薬として ADAM(9-Anthryldiazomethane)を用い、40℃下で反応させた後、分離を行いました。

図 2 に、標準試料のクロマトグラムを示します。EPA、DHAともに、0.5~50 mg/Lの濃度範囲において良好な直線性を有する検量線が得られ、本分析条件での定量下限値として、0.02 mg/L の値が得られました。魚油を含むサプリメント中の EPA 及び DHA の分析に適用したクロマトグラムを図 5 に示します。夾雑成分の影響を受けずに各対象物質が定量され、92~95%の回収率が得られました。



- ① ADAM 10 mg を酢酸エチル 10 mL に溶解  
↓
- ② 試料 20 mg に酢酸エチル 10 mL を添加  
超音波で溶解  
PTFE フィルター(細孔 0.5 μm)でろ過  
酢酸エチルで 10 倍に希釈  
↓
- ③ 上記①+②を 200 +200 μL で混合  
40℃で 60 分間反応  
↓
- ④ 反応液をアセトニトリルで 10 倍に希釈したものを注入

図 3 前処理の手順

図 4 検量線

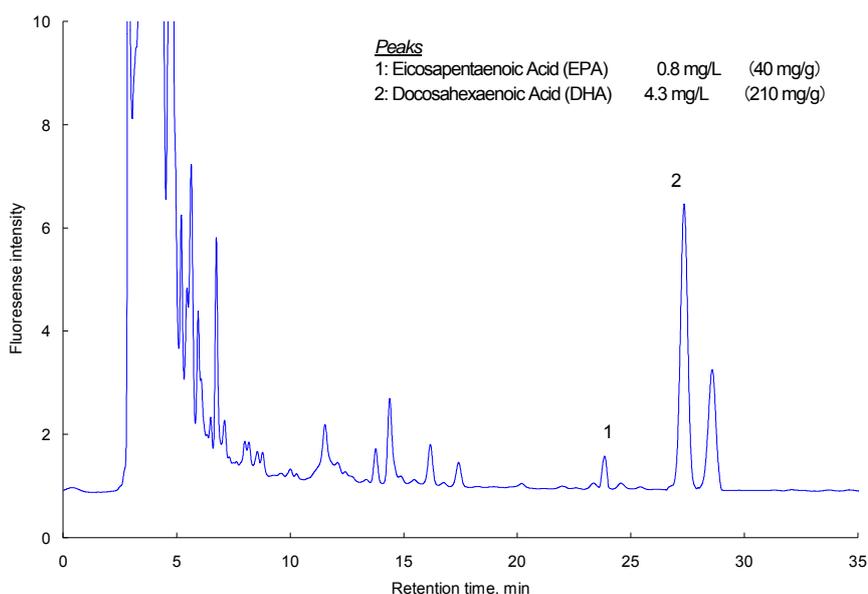


図 5 魚油を含むサプリメントの前処理試料のクロマトグラム