

オンライン二段階THM-GC/MSによるポリソルベート80中の遊離及び結合脂肪酸の組成分析

[背景] ヨーロッパ薬局方(EP, 第8版)および中国薬局方(ChP, 第10版)中の関連規則には、非イオン性界面活性剤のポリソルベート80中に含む様々な脂肪酸の含有量が規定されている。しかし、文献に報告されている分析法はポリソルベート80中の遊離および結合脂肪酸総量の検出のみで、試料中の各形態の脂肪酸の含有量と組成は区別していない。遊離脂肪酸は、ポリソルベート80の界面活性剤としての性能に影響し、また医療面ではアレルギー反応のリスクを高めることが知られている。本報では、オンライン二段階熱支援加水分解/メチル化-GC/MS(THM-GC/MS)によるポリソルベート80中の遊離及び結合脂肪酸の組成分析を報告する。

[方法] 測定には、多機能パイロライザーをGC注入口に直結したGC/MSシステムを使用した(Fig. 1)。加熱炉温度、GC注入口温度および検出器温度はそれぞれ300 °Cに保った。GC分離分析には、DB-5 (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm)カラムを使用し、カラム流量は1.0 mL/minとした。GCオープン温度は初期温度50 °Cから160 °Cまで20 °C/min (10 min 保持)で昇温、190 °Cまでは10 °C/min (10 min 保持)で昇温、220 °Cまで5 °C/min、270 °Cまで20 °C/minで昇温して最後に5分間保持した。

オンライン二段階THM-GC/MSの構成図をFig.1に示す。ポリソルベート80と酢酸テトラメチルアンモニウム(TMAAc)試薬の混合溶液3 μLを試料カップに採取し、第一段階の誘導体化反応を遊離脂肪酸に対して行い、クロマトグラムを測定した。その後、試料カップを加熱炉から取り出して冷却後、4 μLの水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAH)試薬を注入して、第二段階の誘導体化反応を結合脂肪酸に対して行い、クロマトグラムを測定した。

[結果] オンライン二段階THM-GC/MSを使用して、遊離および結合脂肪酸の構成比が異なった5種のポリソルベート80試料を測定した。代表的な試料2種(1, 2)中の遊離脂肪酸のクロマトグラムをFig. 2(1f, 2f)に、結合脂肪酸のクロマトグラムをFig. 2(1b, 2b)に示す。本法による検量線では、ステアリン酸(C18:0)の直線範囲は2-200 mg/L、オレイン酸(C18:1)とリノール酸(C18:2)の直線範囲は5-500 mg/L、相関係数はいずれも0.999以上であった。日内および日間のRSD(相対標準偏差)は、それぞれ2.9-5.9 % (n=6)および4.4-7.2 % (n=3)の範囲であった。回収率は92.2-105.0 %の範囲であった。

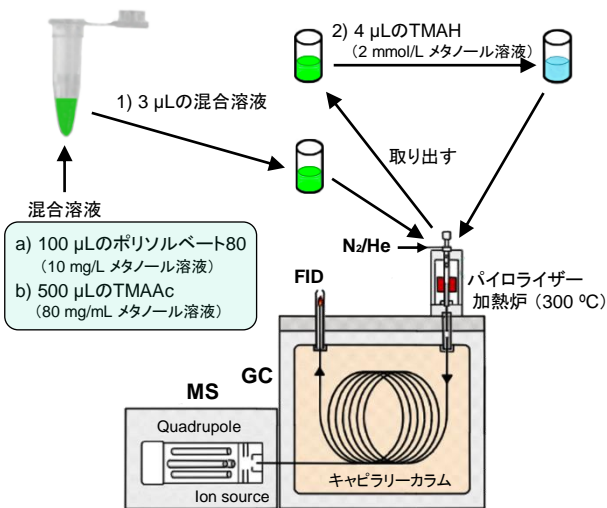


Fig. 1 オンライン二段階THM-GC/MSの模式図.

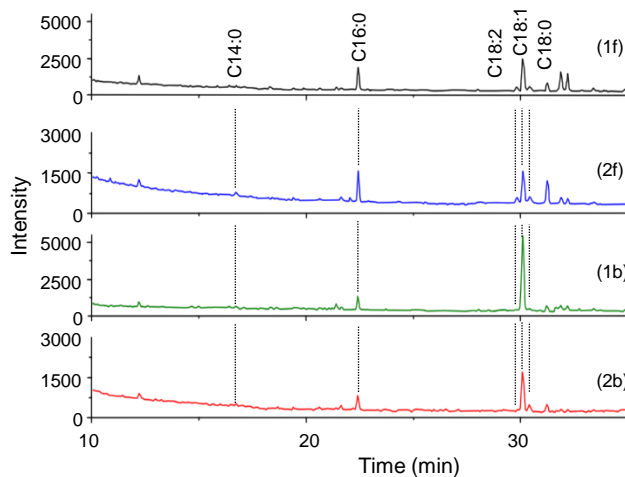


Fig. 2 オンライン二段階THM-GC/MSによって得られたポリソルベート80試料2種中の脂肪酸メチルエステルのクロマトグラム。遊離脂肪酸(1f), (2f); 結合脂肪酸(1b), (2b)。

* 引用文献: Z. Huang, C. Tu, H. Liu, L. Wang, Z. Zhu, I. Watanabe, *Microchemical Journal* 159 (2020) 105342

Keywords: オンライン二段階熱支援加水分解/メチル化, ポリソルベート80, 遊離脂肪酸, 結合脂肪酸

使用製品: 多機能パイロライザー

応用分野: ポリソルベート80中の遊離および結合脂肪酸の組成分析

関連テクニカルノート:

お問い合わせは、FAXまたはウェブサイトの問い合わせフォームをご利用ください。

研究開発・製造 **フロンティア・ラボ株式会社**
Tel: 024-935-5100 Fax: 024-935-5102
www.frontier-lab.com/jp