原 著

水素炎イオン化検出器を用いた薄層クロマト グラフィーによる皮表脂質公析法の検討

吉塚 直伸, 岡本 暉公彦* 高瀬 吉雄*

Improved Method for Analysis of Skin Surface Lipids by Thin-layer Chromatography using a Flame Ionization Detector

Naonobu YOSHIZUKA*, Kikuhiko OKAMOTO*, Yoshio TAKASE*

Abstract

Quantitative analysis of skin surface lipids by thin layer chromatography using a flame ionization detector (TLC-FID) was studied. In this TLC-FID, the chromarod silicagel-coated was activated after detection by FID, and this chromarod could be utilized again. Skin surface lipids were stepwisely separated by TLC-FID. Components including squalene, cholesterol ester and wax were initially developed by non-polar solvent (hexane:benzene = 1:1) and detected by FID excluding origin of the chromarod. Other components including triglyceride, free fatty acid, cholesterol and phospholipid were subsequently separated by polar solvent (hexane:ethyl ether:formic acid = 70:30:1) and detected by scanning full range of the chromarod. Thymol and anise alcohol were employed for internal standards. More accurate detection could be obtained by this new stepwise developing method in comparison with conventional thin layer chromatography.

I 要旨

水素炎イオン化検出器(FID)を用いた薄層クロマトグラフィーによる皮表脂質分析法の検討を行なった。 薄層棒上に展開された脂質はFIDによる検出後、水 素炎により燃焼し同時にシリカゲルは活性化される点 を生かした2段展開法を考案した。

従来薄層クロマトグラフィーに内部標準法を導入し 難い面があったが、本法において内部標準法を導入し た。

薄層クロマトグラフィーと比較した結果、より高い 精度をもち得ることがわかった。

II はじめに

皮表脂質に関する研究は部位1), 年令2)3), 性3), 薬

- * 花王石鹼㈱栃木研究所
 - 321-34 栃木県芳賀郡市貝町大字赤羽2606
- 信州大学医学部皮膚科学教室 390 松本市旭 3-1-1 Tochigi Research Laboratories, Kao Soap Co., Ltd. (2606, Akabane, Ichikaimachi Hagagun, Tochigi Pref. 321-34 Japan)
- * Division of dermatology, Department of Medicine, University of Shinshu (3-1-1, Asahi Matsumotoshi, 390 Japan)

剤⁴⁾, さらに温度⁵⁾⁶⁾ などの影響に注目し行なわれている。これらの研究の中でそれぞれの目的に応じ、それぞれに充分利用され得る皮表脂質の分析法が用いられている。

皮表脂質の分析法には総量を求める方法と、その各 々組成を定量する方法がある。

総量を求める方法は超微量天秤を用い総重量を求める重量法¹²⁾ や重クロム酸と脂質の反応の結果重クロム酸の色調の変化を指標とした半定量的なクロム酸々化法¹²⁾, さらに同様な呈色反応を利用する方法としてオスミン酸法¹³⁾ などがある。

一方、クロマトグラフィーを用い組成分を分画定量する方法はガスクロマトグラフィーによるスクアレン、コレステロールの定量¹⁴⁾¹⁵⁾、ワックスおよび遊離脂肪酸の定量¹⁶⁾ や薄層クロマトグラフィーによる定量⁷⁾¹⁷⁾がある。ガスクロマトグラフィーによる皮表脂質の定量では全組成が同時には定量できないけれども、検出器に水素炎イオン化検出器(FID; Flame Ionized Detector)などを用い高い精度を与えている。一方、薄層クロマトグラフィーは同時に全組成分が定量でき