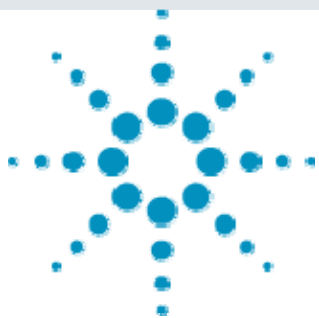




Agilent 6460 による食用油中グリシドール脂肪酸エステル及び 3-MCPD 脂肪酸ジエステルの同時分析



＜要旨＞食用油中グリシドール脂肪酸エステル及び 3-MCPD 脂肪酸ジエステルの同時分析に簡便なヘキサン希釈及び LC/MSMS 法を用いた手法を確立しました。その結果、菜種油中での各脂肪酸エステルの検出限界は 0.004~0.01 μ g/g で、回収率は 93~102%でした。また、市販食用油を測定した結果、精製パーム油が最も高く、各脂肪酸エステルの含有量は 89~1430 μ g/g でした。

Key Words: グリシドール脂肪酸エステル、3-MCPD 脂肪酸ジエステル、LC/MSMS、食用油

1. はじめに

グリシドール脂肪酸エステルはジアシルグリセロールの製造工程中だけでなく食用油を精製したピュアオリーブ油からも検出され人体への影響が懸念されすでにアプリケーションノートで紹介しました。さらに、1978年にタンパク加水分解物中の毒性成分として発見された 3-MCPD のエステル類が精製食用油や種を焙煎して製造する食用油に高濃度で含有することが報告されています。これら化合物の生体中でのグリシドールや 3-MCPD への代謝については不明ですが人への暴露量の評価には適切な分析法の開発が急がれています。そこで今回、三連四重極型質量分析計を使用した LC/MSMS による食用油中グリシドール脂肪酸エステル及び 3-MCPD 脂肪酸ジエステルの同時分析法の紹介をします。

2. 装置及び測定条件

LC/MSMS には Agilent Technologies 製 Agilent1290 Infinity LC、Agilent6460 Triple Quad LC/MS (LC/MSMS)を用い、イオン源には Agilent Jet Stream(AJS)を使用した正イオンモードで測定を行いました。分析用カラムには Agilent Technologies 製 ZORBAX SB C8 (100mm,2.1mm,1.8 μ m)を使用し、移動相は IPA 及び 0.1%ギ酸/10mM ギ酸アンモニウム水溶液を用いました。試料は市販食用油として菜種油、ごま油(焙煎、非焙煎)、オリーブ油(バージン、ピュア)、アルガン油及び精製パーム油を用い、ヘキサンで 1000 希釈した試料を直接 LC/MSMS にて測定を行いました。

3. 結果

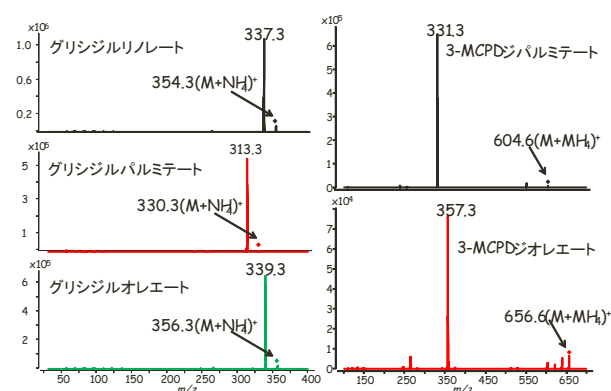
3-MCPD の脂肪酸ジエステルはグリシドール脂肪酸エステル同様にすべてアンモニウム付加体がベースピークイオンとして観察されたことから、全脂肪酸エス

ル類はプリカーサーイオンにアンモニウム付加体を選択しました。結果のプロダクトイオンスキャンモードによる MSMS スペクトルは図.1 に示しましたが、3-MCPD 脂肪酸エステルはグリシドール脂肪酸エステルと異なり脂肪酸が 1 個脱離したイオンが強く観察されました。従って SRM 法は表.1 の通りこれらイオンをプロダクトイオンとしました。

表.1 各脂肪酸エステルの分析条件

LC	: 1200LC
Column	: ZORBAX SB C8(100mm,2.1mm,1.8 μ m)
Mobile phase	: A:0.1% HCOOH +10mM MHCOONH_4 ,B: IPA 60%B---(10min)---100%B
Column temp	: 40 $^{\circ}\text{C}$
Injection volume	: 3 μL
Flow rate	: 0.25mL/min
MS	: Agilent 6460 LC-MS
Ionization	: Agilent Jet Stream (Positive)
Drying gas	: 10L/min at 300 $^{\circ}\text{C}$
Nebulizer gas	: 345kPa
Fragmentor	: 100V
Sheath gas	: 12L/min at 200 $^{\circ}\text{C}$
Nozzle voltage	: 0V

No	Name	Precursor	Product	CE1
1	Glycidyl linolate	354	337	5
2	Glycidyl palmitate	330	313	5
3	Glycidyl oleate	356	339	5
4	3-MCPA palmitate	604	331	15
5	3-MCPA linolate	656	357	15



Agilent Technologies

図.1 各脂肪酸エステルの MSMS スペクトル

図.2には各脂肪酸エステルの SRM クロマトグラムを示し、表.2 に各脂肪酸エステルの検出限界(S/N=3)及び直線性を示しましたが、検出限界は全ての脂肪酸エステルで 0.01ng/mL 以下でした。

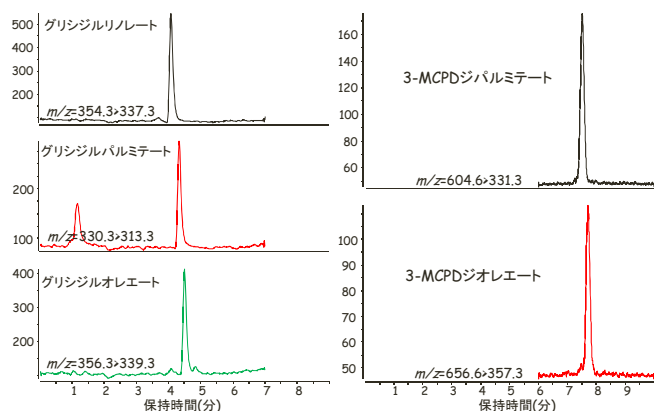


図.2 各脂肪酸エステル標準液の SRM クロマトグラム (濃度:0.1ng/mL)

表.2 各脂肪酸エステルの検出限界及び直線性

No	脂肪酸エステル	S/N比 0.1ng/mL	検出限界 S/N=3	直線性 r2
1	グリシジルリノレート	60	0.005	0.9999
2	グリシジルパルミテート	61	0.005	0.9999
3	グリシジルオレエート	52	0.006	0.9999
4	3-MCPDジパルミテート	60	0.005	0.9996
5	3-MCPDジオレエート	34	0.010	0.9997

図.3には市販菜種油中の各脂肪酸エステルの SRM クロマトグラムを示しましたがグリシジルパルミテート、グリシジルオレエート及び 3-MCPD ジオレエートではクロマトグラム中に試料マトリックス由来のピークが検出されましたが、目的のピークとの分離は可能でした。また、その他食用油についても同様でマトリックス由来のピークによる妨害が認められませんでした。表.3 に菜種油中での各脂肪酸エステルの検出限界、回収率及び直線性を示しましたが、検出限界は 4~11ng/g、検量線の決定係数は 0.999 以上でした。

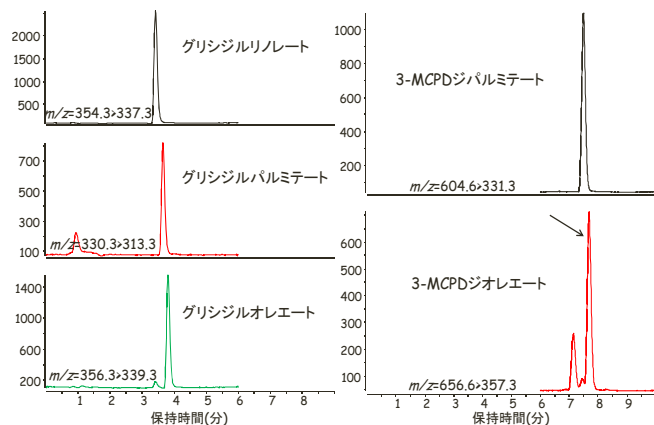


図.3 菜種油中各脂肪酸エステルの SRM クロマトグラム (添加量:1 µg/g)

表.3 菜種油中各脂肪酸エステルの検出限界、回収率及び再現性 (添加量:1000ng/g)

No	脂肪酸エステル	S/N比 1000ng/g	検出限界 ng/g	回収率 1000ng/g	再現性 相対標準偏差
1	グリシジルリノレート	458	7	93	1.2
2	グリシジルパルミテート	270	11	94	2.3
3	グリシジルオレエート	291	10	98	1.4
4	3-MCPDジパルミテート	475	6	102	1.7
5	3-MCPDジオレエート	735	4	97	0.9

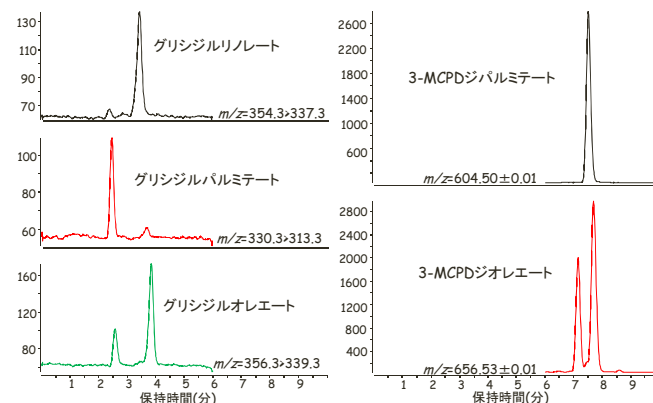


図.4 精製パーム油中各脂肪酸エステルの SRM クロマトグラム

以上の結果、本分析法が食用油中微量グリシドール脂肪酸エステル及び 3-MCPD 脂肪酸ジエステルの同時測定が可能であることが確認されましたので、8 種類の市販の食用油を本分析法で測定した結果を表.4 に示しました。結果は一般的に報告されている通り精製パーム油が最も高く、89~1430ng/g でした。

表.4 各食用油中各脂肪酸エステルの定量結果

No	脂肪酸エステル	A	B	C	D		E	F	G
					1	2			
1	グリシジルリノレート	385	19	18	22	11	ND	51	103
2	グリシジルパルミテート	88	ND	ND	32	ND	ND	ND	89
3	グリシジルオレエート	245	7	92	ND	ND	ND	111	259
4	3-MCPDジパルミテート	2	2	3	3	4	4	2	787
5	3-MCPDジオレエート	63	2	91	2	3	105	59	1430

A: 焙煎ゴマ油 D: バージンオリーブ油 G: 精製パーム油 単位: ng/g
B: 未焙煎ゴマ油 E: 菜種油
C: 精製オリーブ油 F: アルガン油

まとめ

今回、LC/MSMS 法を用いた食用油中グリシドール脂肪酸エステル及び 3-MCPD 脂肪酸ジエステルの同時分析法を確立することで簡便なヘキサンによる 1000 倍希釈で食用油中微量の脂肪酸エステル類を 10ng/g 以下で測定することが可能でした。

【LCMS-201108TK-001】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp