

Agilent 6120 シングル四重極型 LC/MS システムを用いたトリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール及び遊離脂肪酸の網羅的分析

a



<要旨>

食用油脂の主成分であるトリアシルグリセロール (TAG) はグリセロール骨格に3つの脂肪酸が結合しています。構成する脂肪酸種が栄養学的・物理的特性を決定付けますが、複雑な脂肪酸組成を有する TAG のプロファイリングのために高分離な分析手法が必要とされます。また食用油脂中には TAG 以外にも、ジアシルグリセロール (DG) やモノグリセロール (MG)、遊離脂肪酸 (FA) も含まれています。本アプリケーションノートでは、TAG・DG・(MG)・FA の網羅的分析の検討を行いました。

Key Words: 食用油脂、プロファイル、TAG、DG、脂肪酸

1. はじめに

食用油脂の主な成分であるトリアシルグリセロール (TAG) はグリセロール骨格に3つの脂肪酸が結合しています。結合している脂肪酸種により栄養学的・物理学的特性が決定されますが、構成脂肪酸種の組み合わせの複雑さから TAG のプロファイリングには高分離な HPLC 条件を必要とします。食用油脂には TAG のほかにジアシルグリセロール (DG)、モノアシルグリセロール (MG)、遊離脂肪酸も含まれていることが知られており、これらを網羅的に分析した例はほとんどありません。TAG の分離には順相クロマトグラフィや銀イオンクロマトグラフィが用いられていますが、本アプリケーションノートでは扱いが容易で再現性が得られやすい非水逆相クロマトグラフィを用いた分離を検討しました。

油脂類の分析では、検出器として RID (示差屈折率計)、ELSD (蒸発光散乱検出器) 及び LC/MS が用いられます。本アプリケーションノートにおいては、定性情報が得られる LC/MS を用いた検討を行いました。TAG の LC/MS 分析においては、一般的にイオン化促進のための添加剤をポストカラム添加します。そのため2つのポンプを必要としますが、ここではシンプルなシステム構成で実現可

能な分離及び検出手法の検討を行いました。

2. 実験条件

<システム構成>

Agilent 1260 Infinity II (バイナリポンプ)

Agilent 6120 Single Quadrupole LC/MS

<分析条件>

HPLC条件	
カラム	Sunrise C28 (2.1x 150 mm, 3 µm)x2 ,ChromaNik Technology
流速	0.4 mL/min
移動相A	Acetonitrile
移動相B	2 mM Ammonium acetate in IPA/THF=1/1
Gradient	20%B(0 min) -> 70%B(20 min) -> 70%B(25 min)
カラム温度	40°C
注入量	1 µL (Edible oil)
LC/MS条件	
イオン源	APCI
Nebulizer	35 psi
乾燥ガス	7L/min at 350°C
Vaporizer温度	300°C
キャピラリー電圧	2500V
シグナル1	Positive、m/z=500-1200(fragmentor:120)
シグナル2	Negative、m/z=200-800(fragmentor:140)

<試料>

マススペクトルや保持時間確認のため、ステアリン酸 (FA)、ジステアリン酸 (DG)、トリステアリン (TAG) を 100 mg/L になるよう THF に溶解しました。

実試料として、亜麻仁油、オリーブ油、胡麻油を THF で 10 倍に希釈したものを試料としました。



Agilent Technologies

3. 結果及び考察

図1に亜麻仁油のPositive及びNegativeモードでのトータルイオンクロマトグラムを示しました。TAGがPositiveモード、FAとDGはNegativeモードで検出されました。モノグリセリドが存在する場合は、FAよりも保持時間が早くなります。

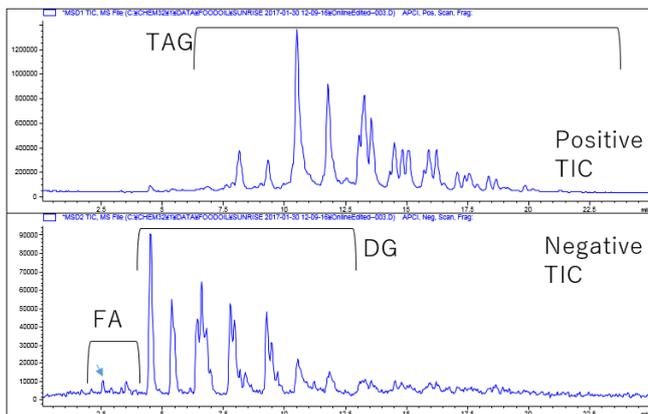


図1 亜麻仁油のPositive及びNegativeのTIC

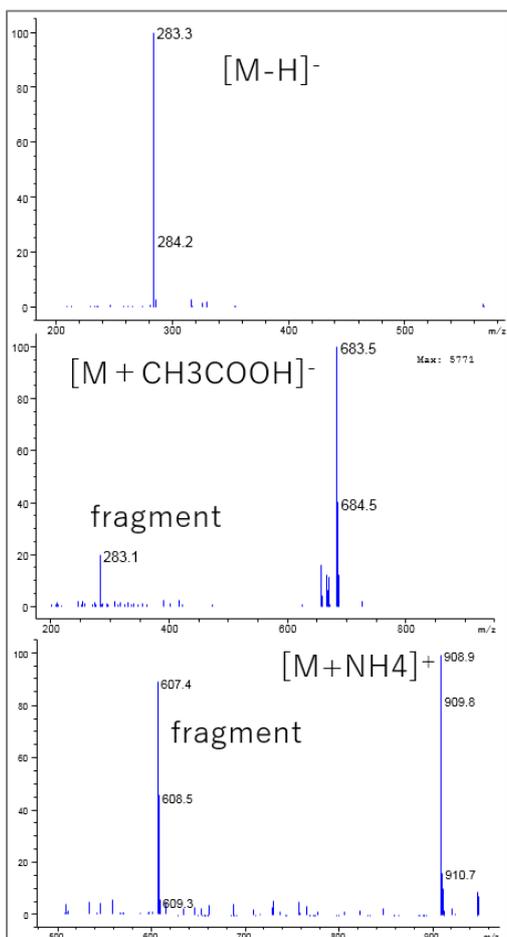


図2 標準品を分析したマスペクトル、ステアリン酸(上)、ジステアリン(中)、トリステアリン(下)

図2に標準品を分析したマスペクトルを示し

ました。FAであるステアリン酸は、プロトン脱離イオンとして観測されました。DGであるジステアリンでは分子関連イオンが酢酸付加体として観測され、フラグメントイオンにステアリン酸が確認されました。これにより、ジグリセリドにおける分子関連イオンとフラグメントイオンのパターンからジグリセリドを構成する脂肪酸種の同定が可能でした。トリグリセリドでは分子関連イオンとしてアンモニウム付加体が観測され、構成脂肪酸のうち一つが脱離したフラグメントイオンが観測されました。このことにより、トリグリセリドを構成する脂肪酸種の同定が可能でした。

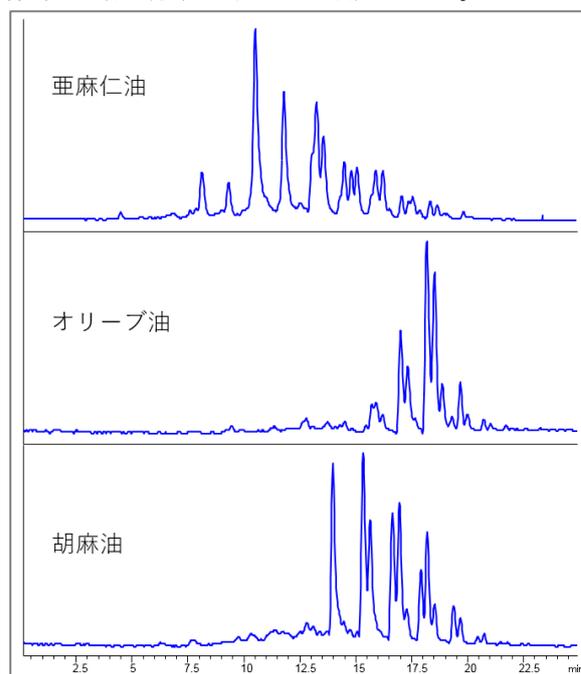


図3 亜麻仁油(上)、オリーブ油(中) 胡麻油(下)のTIC(Positive)

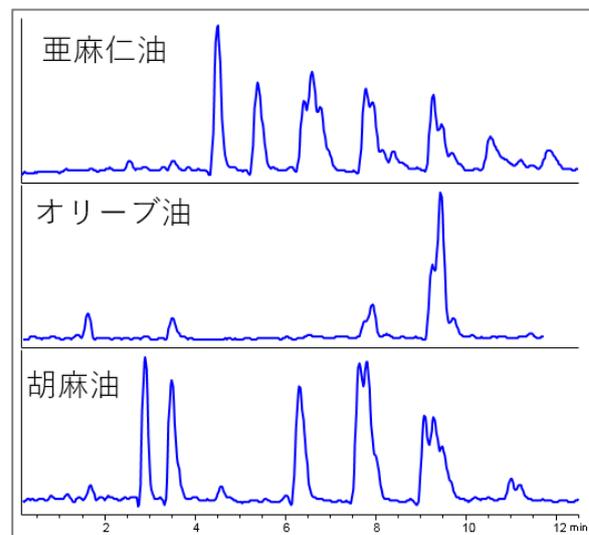


図4.亜麻仁油(上)、オリーブ油(中) 胡麻油(下)のTIC(Negative)

図3に亜麻仁油、オリーブ油、胡麻油のクロマトグラムを示しました。異なるTAGプロファイルを有する油脂であることが示唆されました。図4にNegativeモードでの3種の食用油脂のクロマトグラムを示しました。FAの含有量や、DGプロファイルに特徴的な差異を観測しました。MGと思われるピークは確認されませんでした。

表1. FA及びDG組成

FA	亜麻仁油	オリーブオイル	胡麻油
Linoleic acid	-	-	○
Oleic acid	-	○	○
DG			
LnLn	22.1	0.0	0.0
LnL	15.8	0.0	0.0
LL	8.4	0.0	22.9
LnO	19.5	0.0	0.0
LO	10.9	14.4	18.6
PL	10.5	0.0	29.7
OO	11.5	78.6	11.1
OP	1.3	7.0	16.7
OS	0.0	0.0	0.9

表2. オリーブ油のTAG組成

Time	Area%	m/z	Fragment			M	Formula	C	double bond	FA species			TAG
			1	2	3					FA1	FA2	FA3	
15.682	2.9	881.7	599.3	601.3		880.7	C57H100O6	54	5	18/1	18/2		OLL
15.864	4.4	881.7	599.3	603.5		880.7	C57H100O6	54	5	18/1		18/3	OLnO
16.193	2.2	855.7	573.5	577.3	599.5	854.7	C55H98O6	52	4	18/1	18/3	16/0	OLnP
16.97	15.0	883.7	601.5	603.5		882.7	C57H102O6	54	4	18/1		18/2	OOL
17.332	9.1	857.7	575.5	577.5	601.4	856.7	C55H100O6	52	3	18/1	18/2	16/0	OLP
17.673	1.9	831.7	551.5	575.4	589.4	830.7	C53H98O6	50	2	18/2	16/0		LPP
18.102	24.7	885.7	603.5			884.7	C57H104O6	54	3	18/1			OOO
18.506	20.1	859.7	577.5	603.5		858.7	C55H102O6	52	2	18/1	16/0		OOP
18.935	6.9	833.7	577.5	551.5		832.7	C53H100O6	50	1	16/0		18/1	PPO
19.422	2.2	913.7	631.5	603.4		912.7	C59H108O6	56	3	20/1	18/1		GOO
19.823	6.5	887.7	605.5	603.5		886.7	C57H106O6	54	2	18/1		18/0	OOS
20.139	2.3	861.7	577.3	579.3	605.5	860.7	C55H104O6	52	1	18/0	18/1	16/0	SOP
20.958	1.2	915.7	603.4	633.5		914.7	C59H110O6	56	2	20/0	18/1		BOO
21.248	0.6	889.7	577.4	607.5	633.5	888.7	C57H108O6	54	1	20/0	18/1	16/0	BOP

表1に、ネガティブモードで検出されたFA及びDGの結果をまとめました。オレイン酸が多く含まれることが知られているオリーブ油において、FA及びDGの結果でも知見と一致する結果が得られました。表2にオリーブ油のポジティブモードにおける結果を示しました。検出された分子関連イオンとフラグメントイオンから脂肪酸種の同定が可能でした。

4. まとめ

複雑な脂肪酸組成を有するTAGをはじめとし、DG・(MG)・FAの一斉分析を可能とする分析条件の開発を行い、3種類の食用油脂のプロファイリングを行いました。

Positive/Negative同時分析により脂質クラス別の検出が可能で、分子量関連イオンとフラグメントイオンが同時に検出されることから、シングル四重極LC/MSでは網羅的なプロファイリングを容易に行うことが可能となりました。

【LC-MS-201707HK-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、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