



Agilent InfinityLab LC/MSD システムを用いた遊離脂肪酸の分析

a



<要旨>

脂肪酸は油脂や脂質などの構成成分である有機酸です。脂肪酸をメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィ (GC) で分析する方法がありますが、誘導体化の手間を必要とします。一方、HPLC では直接分析が可能です。検出には短波長の UV 検出器や示差屈折率計及び蒸発光散乱検出器 (ELSD) が一般的です。LC/MS による分離検出では高感度かつ選択的な検出が可能です。本アプリケーションノートでは短時間にシンプルな測定条件で脂肪酸分析を行った例を紹介します。

Key Words: 脂肪酸、LC/MS

1. はじめに

遊離脂肪酸や油脂を構成する脂肪酸はメチルエステル化した後ガスクロマトグラフィ (GC) で分離されるか、直接逆相分配 HPLC で分析されます。検出器として短波長の UV 検出や示差屈折率計、または蒸発光散乱検出器 (ELSD) が一般的ですが、十分な感度が得られない場合や検量線の直線性に問題がある場合があります。LC/MS による検出では高感度かつ選択的な検出が可能です。

2. 実験条件

〈システム構成〉

Agilent 1260 Infinity II LC (Quaternary pump)

Agilent InfinityLab LC/MSD

〈分析条件〉

HPLC条件	
カラム	InfinityLab Poroshell 120 HPH-C8, 2.1x100 mm, 2.7 μm P/N: 695775-706
流速	0.5 mL/min
移動相A	5 mM 酢酸アンモニウム
移動相B	アセトニトリル
Gradient	55%B(0 min) -> 100%B(3 min) -> 100%B(6 min)
カラム温度	40°C
注入量	5 μL
LC/MS条件	
イオン源	ESI
Nebulizer	50 psi
乾燥ガス	11L/min at 350°C
キャピラリー電圧	3000V
シグナル1	Negative、SIM table 参照 @fragmentor110V

〈試料〉

各脂肪酸を THF に溶解し、試料としました。

表 1. 脂肪酸類と SIM イオン

脂肪酸	炭素鎖長/二重結合	m/z
ラウリン酸	12/0	199
ミリスチン酸	14/0	227
パルミチン酸	16/0	255
ステアリン酸	18/0	283
オレイン酸	18/1	281
リノール酸	18/2	279
リノレン酸	18/3	277
アラキジン酸	20/0	311
ベヘン酸	22/0	339

3. 結果及び考察

図 1 にラウリン酸のマスペクトルを示しました。プロトン脱離イオンとして ESI イオン源で容易にイオン化しました。

図 2 に 50 mg/L のマスクロマトグラムを示しました。今回の分析条件では近接しているミリスチン酸とリノレン酸が分離する条件を作成しましたが、m/z により選択検出できるため分析時間の短縮も可能です。



Agilent Technologies

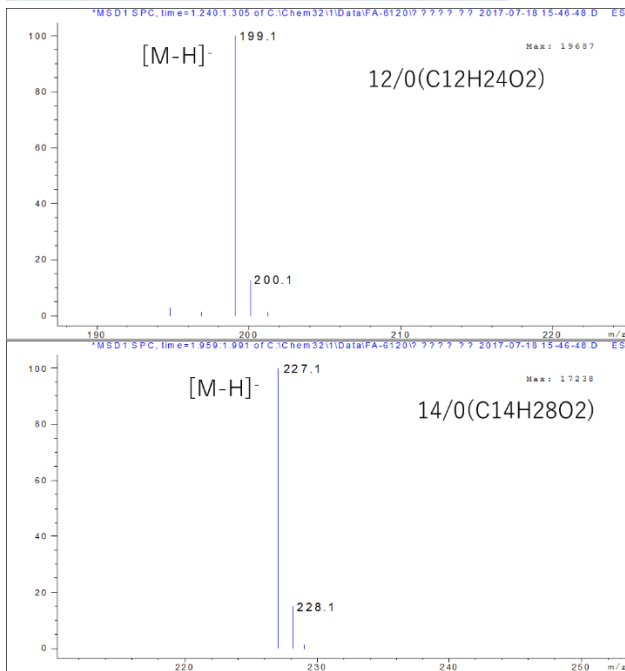


図 1. ラウリン酸およびミリスチン酸のマスペクトル

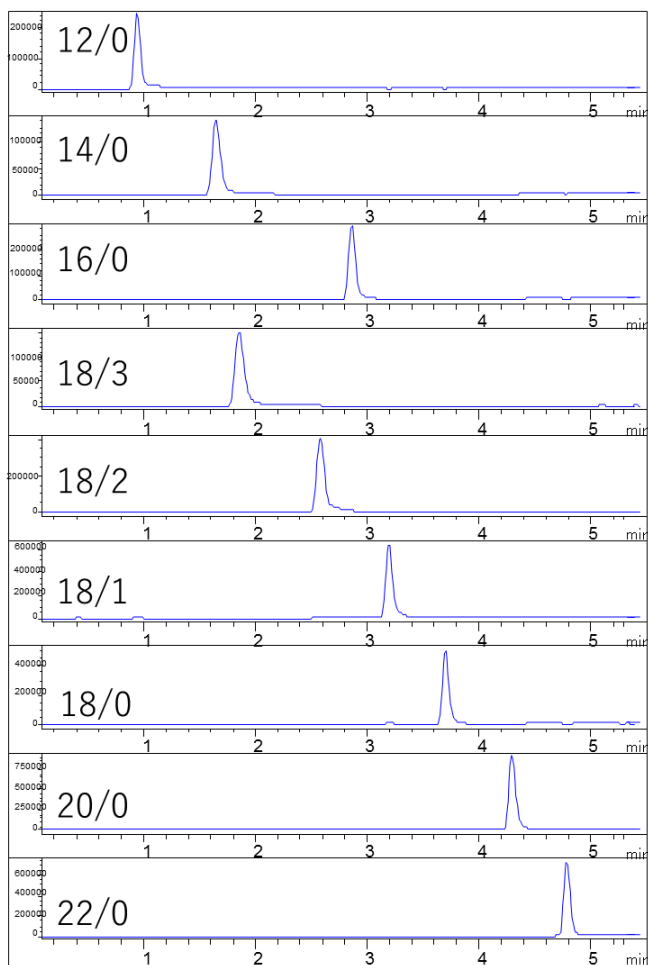


図 2. 各脂肪酸の SIM クロマトグラム

表 2 に各脂肪酸の直線性範囲と相関係数を示しました。いずれの化合物も相関係数 0.995 以上の良好な直線性を示しました。また、5 $\mu\text{g/L}$ における S/N を示しました。

表 2. 直線性と 5 $\mu\text{g/L}$ における S/N (6 σ)

脂肪酸	直線性範囲 ($\mu\text{g/L}$)	相関係数	5 $\mu\text{g/L}$ の S/N
ラウリン酸	5-5000	0.999	89.3
ミリスチン酸	5-5000	0.999	7.2
パルミチン酸	5-5000	0.999	20
ステアリン酸	5-5000	0.999	19.7
オレイン酸	5-5000	0.999	40.8
リノール酸	5-5000	0.999	9.3
リノレン酸	5-5000	0.996	57.8
アラキジン酸	5-5000	0.995	192.5
ベヘン酸	5-1000	0.997	215.1

4. まとめ

6分以内に C12 から 22 の脂肪酸の分析を行いました。LC/MS を検出器に用いることにより、選択性の高い検出が可能です。5 から 5000 $\mu\text{g/L}$ の範囲の直線性も良好でした。また、5 $\mu\text{g/L}$ 試料においても良好な感度を示しました。

【LC-MS-201709HK-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



Agilent Technologies