

# Agilent 6460 による食用油中 グリドール脂肪酸エステル類の分析



＜要旨＞LC/MS-MS法を用いて食用油中3種類のグリドール脂肪酸エステル類の高感度分析法を検討しました。その結果イオン源にESIを使用し、プリカーサーイオンにアンモニウム付加体を選択することで標準品0.1ppb以下での測定が可能でした。また、綿実油、コーン油、食用油中0.1 μg/g以下で各グリドール脂肪酸エステルの検出が可能であり回収率は79~103%であった。

**Key Words:** グリドール脂肪酸エステル、食用油、発がん性、LC/MS-MS

\*\*\*\*\*

## 1. はじめに

グリ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で生成される物質と推定されていますが、この物質自体が遺伝毒性を持つ発がん性物質であるかどうかの毒性学的データは得られていません。しかし、この物質が生体内で分解されて発がん性が指摘されているグリドールを遊離する可能性があることから注目されています。また、綿実油、コーン油などの食用油にも僅かに存在することから食用油中グリドール脂肪酸エステルの高感度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/MS-MSによる食用油中グリドール脂肪酸エステルの微量分析法について紹介します。

## 2. 装置及び測定条件

グリドール脂肪酸エステルの標準品は林純薬製パルミチン酸グリシジル、オレイン酸グリシジル及びリノール酸グリシジルを使用しました。LC/MS-MSにはAgilent6460 triple quadrupole LC/MSを使用しカラムにはGLサイエンス製Inertsil ODS4 (150mm,2mm,2μm)を使用しました。分析条件は表1に示しましたが、移動相にメタノール及び0.1%ギ酸+10mMギ酸アンモニウム水溶液を用いたグラジエント溶出を行い、移動相の流速は0.25mL/minとしました。イオン源にはAJSを使用し、正イオンモードで測定しました。図1にグリドール脂肪酸エステル類の質量スペクトルを示しましたが、フルscanスペクトルからプリカーサーイオンにはプロトン化分子とアンモニウム付加体が考えられますが、プロトン化分子を選択した場合、強度の強い特異的なプロダクトイオンが観察されませんでした。一方、アンモニウム付加体を選択したMS-MSスペクトルは図1の通り、アンモニアが

脱離したイオンが特異的に観察され安定であったことからSRMトランジションは表2の通りとしました。

食用油は10倍量のヘキサンで溶解した後、ヘキサン飽和アセトニトリル5mLで1分間、激しく振とう抽出し、アセトニトリル相をLC/MSで測定しました。

表1 LC/MS-MS条件

LC	: Agilent 1290 infinity LC
Column	: Inertsil ODS4 (150mm,2.1mm, 2μm)
Mobile phase	: A:10mMCHCOONH <sub>4</sub> , B: MeOH 80%B→(10min)→100%B/5min
Column temp	: 40°C
Injection volume	: 3μL
Flow rate	: 0.3mL/min
MS	: Agilent 6460 Triple Quad LC/MS
Ionization	: AJS (Positive)
Sheath gas	: 12L/min at 200°C
Drying gas	: 10L/min at 300°C
Nebulizer gas	: 345kPa
Fragmentor	: 120V

グリドールエステル	プリカーサーイオン	プロダクトイオン		コリジョンエネルギー	
		定量用	確認用	定量用	確認用
1 リノール酸グリシジル	354	337	81	5	20
2 パルミチン酸グリシジル	330	323	57	5	20
3 オレイン酸グリシジル	356	339	57	5	20

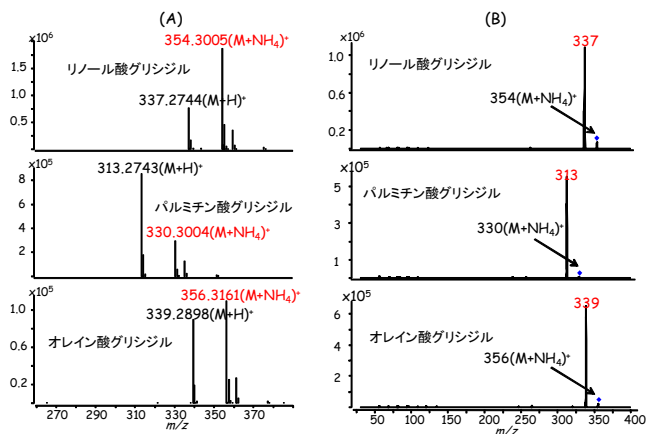


図.1 グリシドールエステル類の MS-MS スペクトル  
プリカーサーイオン (A):(M+H)<sup>+</sup>, (B):(M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>

3.結果

グリシドール脂肪酸エステル類の SRM クロマトグラムは 1000 及び 0.1ng/mL 標準液の結果を図.2 に示しました。このクロマトグラムから各グリシドール脂肪酸エステル類の S/N 比は図.2 の通り 8~32 であり、S/N=3 を検出限界とした場合の各グリシドール脂肪酸エステル類の検出限界は 0.009~0.038ng/mL でした。また、検量線は図.3 に示しましたが、決定係数は 0.999 以上と良好な結果でした。

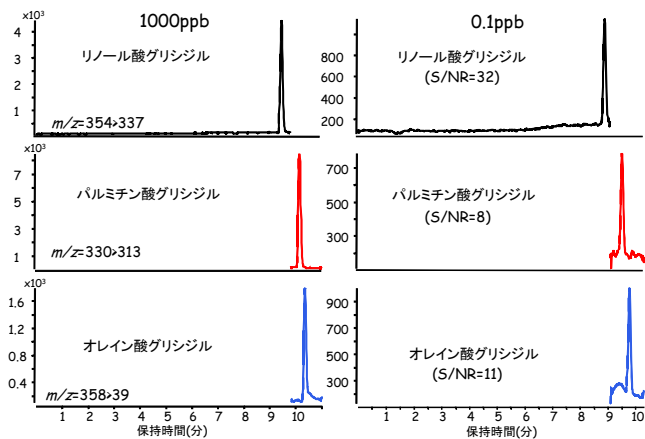


図.2 代表的グリシドール脂肪酸エステル類の SRM クロマトグラム 濃度:0.1ng/mL

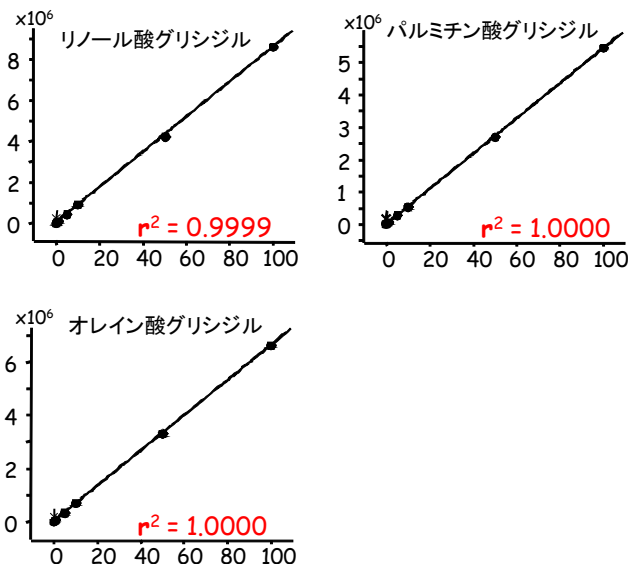


図.3 グリシドール脂肪酸エステル類の検量線

食用油は装置及び測定で示した通り、0.1g をヘキサン (10mL) で溶解し、ヘキサン飽和アセトニトリルで抽出しました。0.1 μg/g 相当のグリシドール脂肪酸エステルを添加したコーン油の結果は図.4 に定量用及び確認用 SRM クロマトグラムを示しました。また、添加量の異なる試料での確認用イオンの定量用イオンに対する相対強度は表.2 に示しましたが、100~0.1 μg/g の範囲

で非常に良く一致しました。

また、今回、示しませんでしたでしたが試料マトリックスによる顕著なオン化抑制も認められませんでした

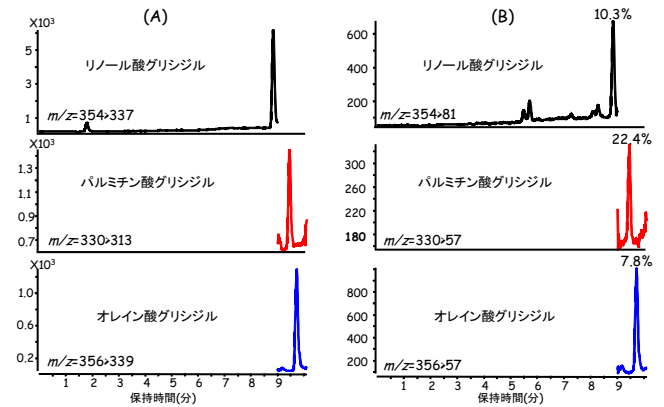


図.4 綿実油中各グリシドール脂肪酸エステル類の SRM クロマトグラム(添加量:0.1 μg/g)

(A): 定量用 (B): 確認用

表.2 各グリシドール脂肪酸エステル類の確認用イオンの相対強度(%)

グリシドール脂肪酸エステル	100	50	10	5
リノール酸グリシジル	10.3	10.4	9.8	9.1
パルミチン酸グリシジル	21.2	22.3	19.5	20.3
オレイン酸グリシジル	7.7	7.6	7.3	8.1

グリシドール脂肪酸エステル	1	0.5	0.1
リノール酸グリシジル	10.1	9.4	9.2
パルミチン酸グリシジル	19.8	21.2	22.1
オレイン酸グリシジル	8.2	7.4	8.3

今回、確立した方法に従ってグリシドール脂肪酸エステルを添加した 3 種類の食用油中各グリシドール脂肪酸エステル類を測定した際の回収率は表.3 に示しましたが、76~103%と良好な結果でした。

表.3 食用油中各グリシドール脂肪酸エステル類の回収率 (%)

グリシドール脂肪酸エステル	綿実油	コーン油	ごま油
リノール酸グリシジル	88	79	83
パルミチン酸グリシジル	91	85	76
オレイン酸グリシジル	103	91	88

添加量:0.1ppm

4.まとめ

今回、食用油中 3 種類のグリシドール脂肪酸エステル類の微量分析に LC/MS-MS 法を用いた高感度分析法を確立しました。その結果、簡便な試料前処理により食用油中 3 種類のグリシドール脂肪酸を 0.1 μg/g 以下の測定が可能でした。

【LCMS-201008TK-002】

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