

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% $\text{HCOOH}+10\text{mM}\text{MHCOONH}_4$,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 300C |
| Nebulizer gas | : 345kPa |
| Fragmentor | : 100V |
| Sheath gas | : 12L/mion 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 |

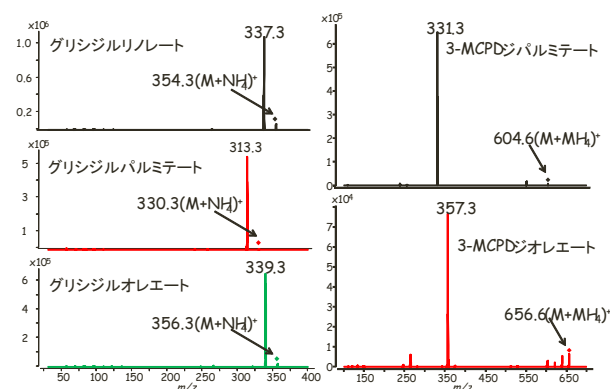


図.1 各脂肪酸エステル MSMS スペクトル

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。

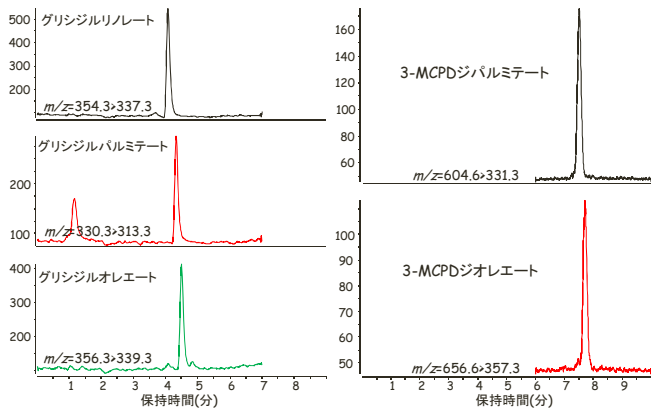


図.2 各脂肪酸エステル標準液のSRMクロマトグラム (濃度:0.1ng/mL)

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。

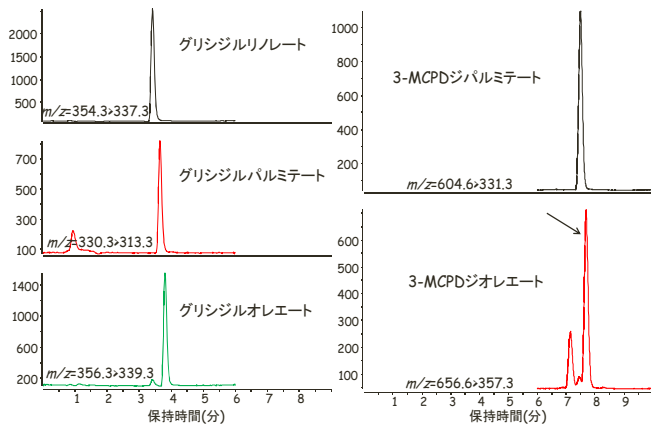


図.3 菜種油中各脂肪酸エステルのSRMクロマトグラム (添加量:1 μg/g)

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 |

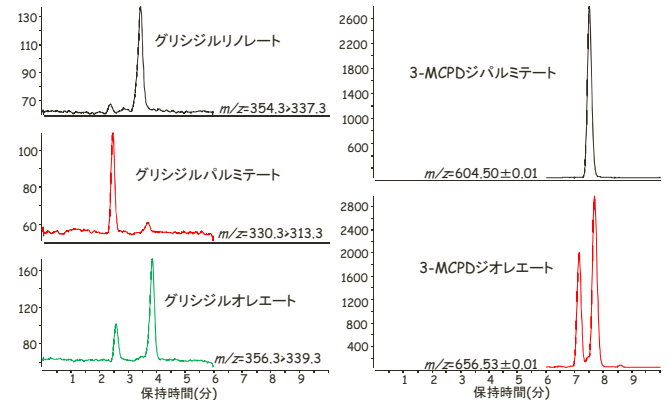


図.4 精製パーム油中各脂肪酸エステルのSRMクロマトグラム

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জন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