

シングル四重極型 GC/MS による バックフラッシュを用いた 2-/3-MCPD 脂肪酸エステルおよび グリシドール脂肪酸エステルの分析



Authors

野原 健太

高桑 裕史

杉立 久仁代

アジレント・テクノロジー株式会社

要旨

2-/3-モノクロロ-1,2-プロパンジオール脂肪酸エステル (2-/3-MCPD-Es) およびグリシドール脂肪酸エステル (G-Es) の間接分析法の 1 つである基準油脂分析試験法 2.4.14-2016 (通称、酵素法) により食品油脂を前処理し、シングル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 Agilent 8890 GC と Agilent 5977B GC/MSD による分析を行いました。非常に良好な直線性の検量線ならびに、実試料における非常に良好な再現性が得られました。バックフラッシュオプションを使用することで、カラムの焼き出しを行うことなく高沸点の夾雑成分の残留を防ぎ、堅牢な分析を行うことが可能になります。

1. はじめに

2-/3-モノクロロ-1,2-プロパンジオール脂肪酸エステル (2-/3-MCPD-Es) およびグリシドール脂肪酸エステル (G-Es) は食用油脂の精製工程において非意図的に生成する物質であり、これまでにさまざまな分析法が開発されてきました¹⁾。それらの1つとして、ハウス食品グループ本社株式会社より、酵素を用いた加水分解を特徴とする間接分析法 (以下、酵素法) が開発されました。酵素法では、加水分解、グリシドール臭素化後に誘導体化を経てガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) で測定します。本法は他の間接分析法に比べて簡便・迅速であり、2-/3-MCPD-Es および G-Es を同時に分析できる利点があり、日本油化学会や米国油化学会の基準法として登録されています²⁾³⁾。

本アプリケーションノートでは食用油脂を酵素法で前処理し、2-/3-MCPD-Es および G-Es の分析を行いましたので報告します。バックフラッシュオプションを使用することで、高沸点夾雑成分のシステムへの残留を防ぎ、堅牢な分析が可能になりました。

2. 実験方法

2-1. サンプル前処理

サンプルは市販の米油・パーム油・サラダ油・ゴマ油・ラード (固体) を用いました。基準油脂分析試験法 2.4.14-2016 記載の手順に従い、実試料と標準試料の前処理を行いました。濃縮は行いませんでした。

2-2. 分析条件

分析は、Agilent 8890 GC と Agilent 5977B GC/MSD で行い、ポストカラムバックフラッシュオプションを使用しました。

(自動液体サンプラ : Agilent 7693A ALS)

注入量 : 4 μ L
シリッジ洗浄 : アセトン、ヘキサン

(GC : Agilent 8890 GC)

注入口 : スプリット/スプリットレス注入口
注入モード : スプリットレス
ライナー : Splitless, single taper, wool, Ultra Inert liner
(部品番号 : 5190-2293)

注入口温度 : 250 $^{\circ}$ C
カラム : VF-5ms (30 m, 0.25 mm, 1.0 μ m)

(部品番号 : CP8946)

リストリクタ : InertFusedSilica (1.2 m, 0.15 mm)
カラム流量 : He (定流量 1.75 ml/min)
オープン条件 : 80 $^{\circ}$ C (1 min) - 25 $^{\circ}$ C/min - 180 $^{\circ}$ C -
2 $^{\circ}$ C/min - 200 $^{\circ}$ C
バックフラッシュ : 220 $^{\circ}$ C, 8.9 min (カラム空隙 10 相当)
インタフェース温度 : 280 $^{\circ}$ C

(MS : Agilent 5977B GC/MSD)

イオン化法 : 電子イオン化法 (EI)
イオン源温度 : 280 $^{\circ}$ C
チューニング : 高感度チューニング (etune)
測定モード : Scan (m/z = 30-500)
SIM (m/z = 147, 150, 196, 198, 201, 203,
240, 245)

3. 結果と考察

3-1. バックフラッシュによる高沸点夾雑成分の除去

酵素法では最初にリパーゼによるエステル加水分解を行い、臭素化反応によりグリシドールを 3MBPD に変換します。その後、フェニルボロン酸 (PBA) による誘導体化反応を経て、3MCPD-PBA、2MCPD-PBA、3MBPD-PBA を目的成分として GC/MS で同時に測定します。

米油の分析例を図 1 に示しました。目的成分は 15 分以内に溶出しましたが、320 $^{\circ}$ C で 10 分間カラム焼き出しを行った際にトリフェニルボロン酸が高い強度で検出されました (図 1 上段)。トリフェニルボロン酸は、その構造から誘導体化試薬の PBA 由来と推測されました。カラム焼き出しの代わりにバックフラッシュによる高沸点夾雑成分の除去を試みました。米油をバックフラッシュ条件で測定した後にブランクランを行ったところピークは見られず、夾雑成分が除去できていることが確認できました (図 1 中段・下段)

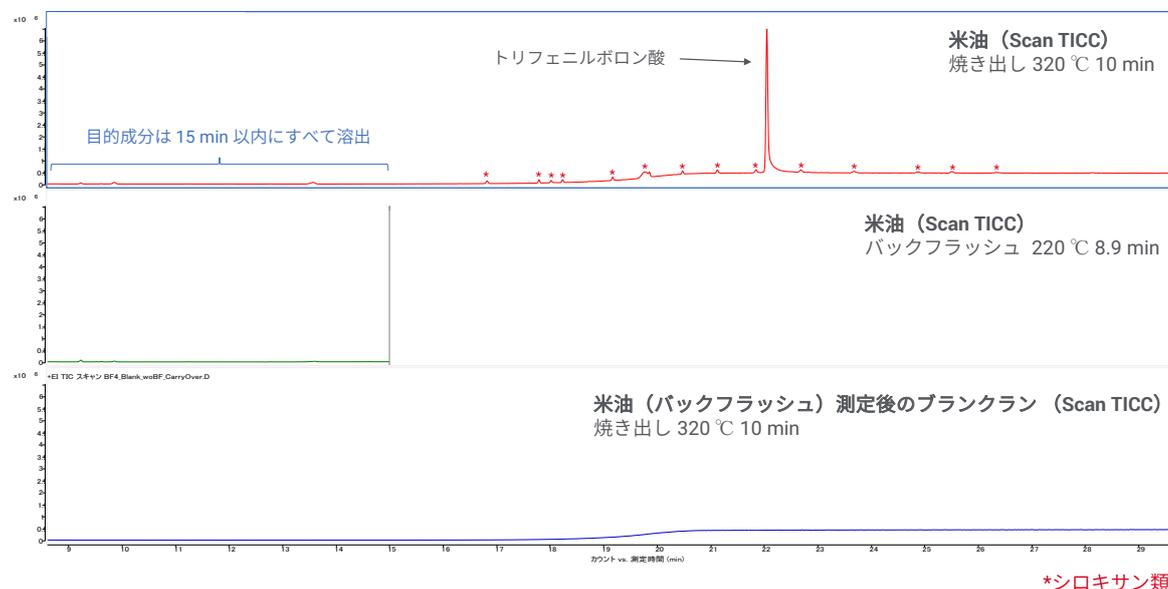


図 1. バックフラッシュによる高沸点夾雑成分の除去

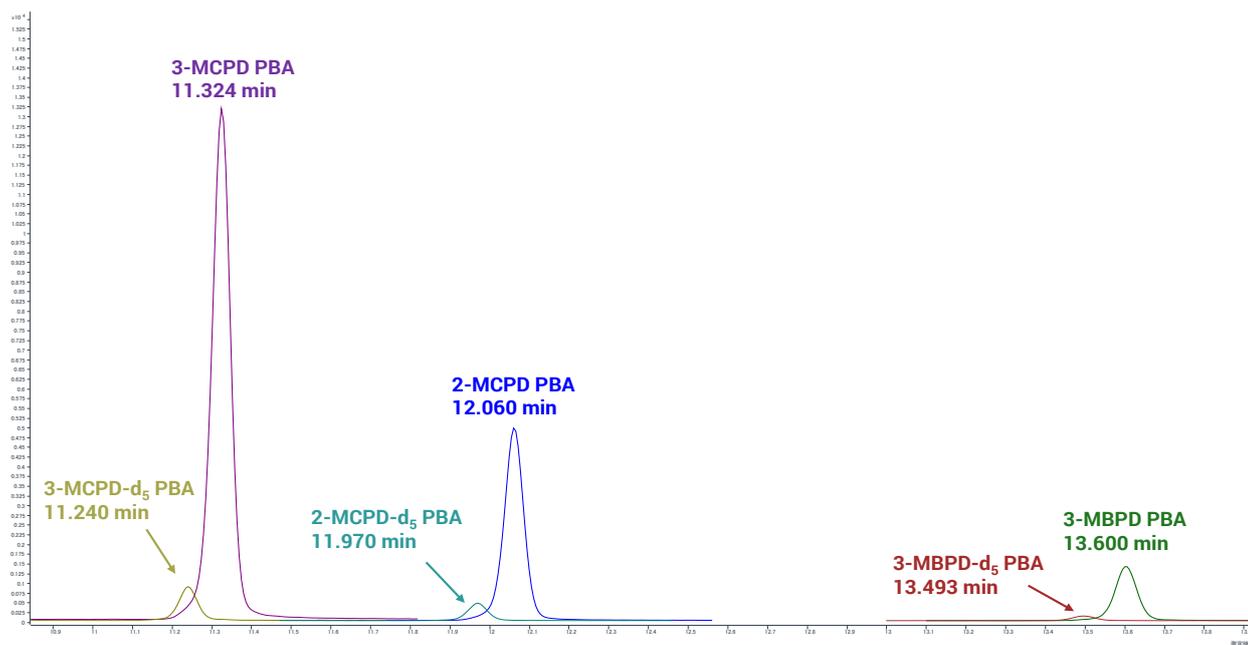


図 2. 標準試料 (最高濃度 400 ppb 相当) SIM クロマトグラム

バックフラッシュによりカラムの焼き出しが不要になるため分析サイクルの短縮と同時にカラムの長寿命化が期待できます。また、トリフェニルボロン酸のような高沸点の夾雑成分が MSD ではなくスプリットベントから排出されるため、イオン源が汚れにくくなります。以降、バックフラッシュ条件で測定を行いました。

3-2. 標準試料の測定

標準試料を測定した SIM クロマトグラムを図 2 に示しました。原法に従い、2.5、10、25、50、100、175、250、400 ppb (回収率 100% と仮定した場合の検液中最終濃度) の計 8 点で、内部標準法により検量線を作成しました。3MCPD、2MCPD、3MBPD (グリシドール) いずれも決定係数 R^2 0.999 以上の非常に良好な直線性が得られました。

3-3. 実試料の測定

市販の実試料 5 種 (米油・パーム油・サラダ油・ゴマ油・ラード) を酵素法で前処理し、同一サンプルを繰り返し測定することで再現性を評価しました (n = 10)。米油とパーム油の繰り返し再現性はそれぞれ相対標準偏差 RSD% が 5 以下と、非常に良好な再現性が得られました (表 1)。比較的濃度の低かったサラダ油・ゴマ油・ラードにおいても、いずれも RSD% 10 以下と概ね良好な再現性が得られました。

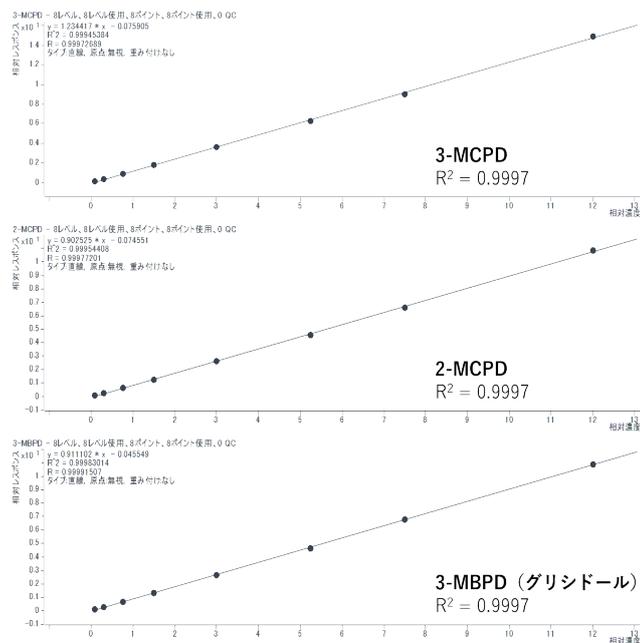


図 3. 各成分の検量線 (検量点: 8 点 *濃度範囲: 2.5 ~ 400 ppb * 回収率 100% と仮定した場合の検液中最終濃度)

表 1. 実試料におけるレスポンスの再現性

	3-MCPD	3-MCPD (ISTD 比)	2-MCPD	2-MCPD (ISTD 比)	3-MBPD	3-MBPD (ISTD 比)
米油	No.1	640	0.14	0.03	1498	2.33
	No.2	578	0.14	0.03	1336	2.24
	No.3	583	0.14	0.03	1349	2.35
	No.4	605	0.14	0.03	1315	2.29
	No.5	606	0.14	0.03	1352	2.32
	No.6	638	0.15	0.03	1385	2.35
	No.7	609	0.14	0.03	1331	2.33
	No.8	620	0.15	0.03	1347	2.31
	No.9	620	0.14	0.03	1384	2.28
	No.10	584	0.14	0.03	1268	2.29
	RSD%	3.32	1.70	2.58	2.27	2.65
パーム油	No.1	1580	0.49	0.12	110	0.20
	No.2	1624	0.50	0.13	115	0.21
	No.3	1665	0.49	0.12	115	0.20
	No.4	1613	0.49	0.12	118	0.22
	No.5	1653	0.50	0.13	115	0.21
	No.6	1549	0.50	0.13	109	0.20
	No.7	1693	0.51	0.13	122	0.22
	No.8	1616	0.50	0.13	120	0.22
	No.9	1605	0.51	0.13	105	0.20
	No.10	1619	0.50	0.13	110	0.20
	RSD%	2.51	1.41	1.91	1.44	4.76

続いて、実試料を合計 50 回測定した前後の標準品（最低濃度 2.5 ppb 相当）のクロマトグラムを比較しました（図 4）。各目的成分のピーク感度や形状にはほとんど変化が見られず、バックフラッシュを用いたことでシステムへの夾雑成分の残留が少なく、堅牢な分析ができていると考えられます。

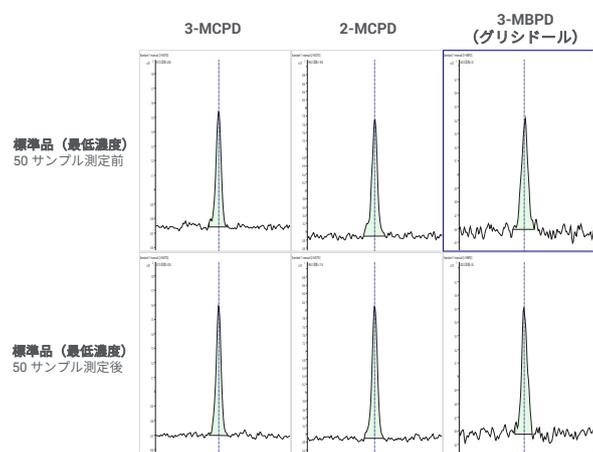


図 4. 実試料 50 回測定前後のレスポンス比較

4. まとめ

本アプリケーションノートでは食用油脂を酵素法で前処理し、2-/3-MCPD-Es と G-Es の分析を行いました。誘導体化試薬由来と考えられる高沸点の夾雑成分（トリフェニルボロン酸）が目的成分の溶出後に検出されましたが、バックフラッシュによりこれらの夾雑成分を除去しました。カラムの焼き出しの代わりにバックフラッシュを行うことで、5 分程度の分析サイクルの短縮、カラムの高寿命化、システムの堅牢性向上などの効果が期待されます。

5. 謝辞

サンプル前処理の実施にあたり、多大なご助言ならびにご協力を頂戴したハウス食品グループ本社株式会社 宮崎絹子氏、鴨井享宏氏に厚く御礼申し上げます。

6. 参考文献

- 1) 農林水産省 HP クロロプロパノール類及びその関連物質の分析法
https://www.maff.go.jp/j/syoutan/seisaku/c_propanol/method.html
- 2) 日本油化学会 基準油脂分析試験法 2.4.14-2016
- 3) Joint JOCS/AOCS Official method Cd 29d-19

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE66418329

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, December 31, 2021

5994-4496JAJP