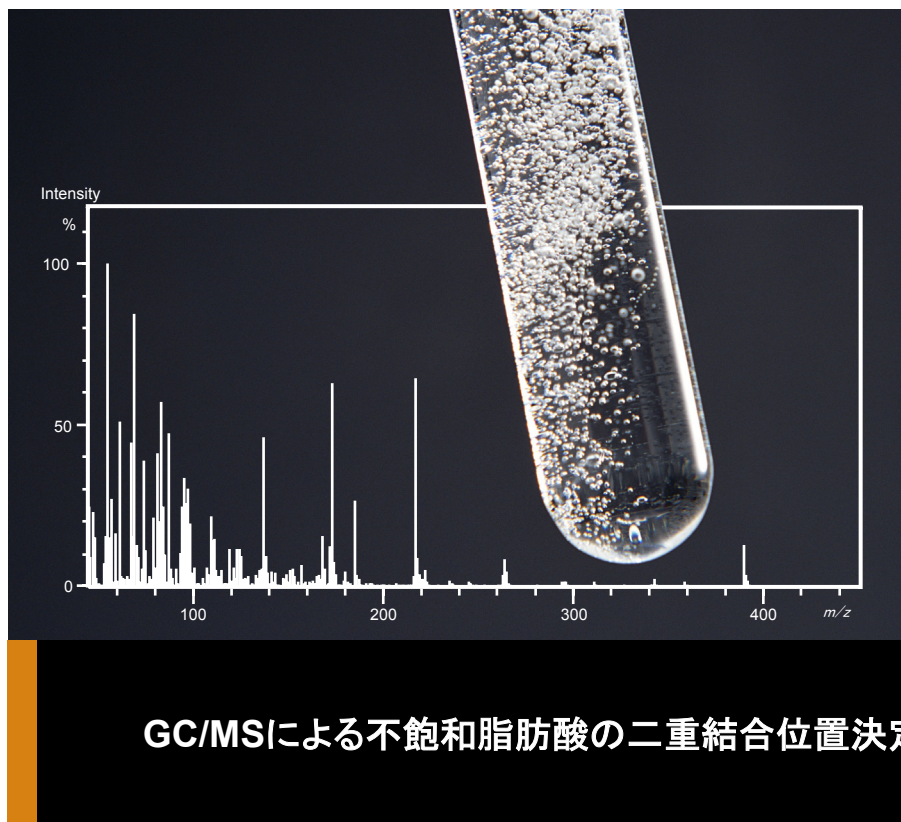


Application Note

島津アプリケーションノート No.30(食品)



Food

GC/MSによる不飽和脂肪酸の二重結合位置決定

岡村 嘉之 芝本 繁明
 Y.OKAMURA S.SHIBAMOTO

1.はじめに

脂肪酸は鎖状炭化水素の末端にカルボキシル基を持つ化合物で、炭素数の多い脂肪酸は高級脂肪酸と呼ばれています(高級脂肪酸の定義は炭素数6個以上や12個以上と諸説あります)。また、不飽和結合をもつ脂肪酸は不飽和脂肪酸と呼ばれます。天然物の場合、不飽和結合の多くは二重結合であり、その位置や数の違いにより多くの異性体が存在します。それらは化粧品や工業製品などにも使用されています。

不飽和脂肪酸は炭素数や二重結合の数と位置によって生体内での役割が異なることから、不飽和脂

肪酸の総炭素数および二重結合の数と位置の確認は非常に重要で、これにはGC/MSによるマススペクトルの解析が有効です。

脂肪酸の総炭素数と二重結合の数は、その脂肪酸メチルエステルのGC/MSによる分子イオンから決定できます。脂肪酸メチルエステルの多くはNISTなどのマススペクトルライブラリ集に登録されておりGC/MSによるシミュラリティ検索によって定性可能です。しかし、シミュラリティ検索による定性で二重結合位置の情報を得ることはできません。

GC/MS による二重結合位置の決定は、ピロリジド¹⁾やピコリニルエステル²⁾などの各種誘導体化法が古くから知られています。これらの誘導体化法では、GC/MS により化合物の分子イオンが検出でき、さらに炭化水素鎖の C-C 結合が開裂して生じるフラグメントイオンが検出されます。このフラグメントイオンは 14u の差で検出されますが、二重結合部分でのフラグメントイオンの差は 12u となり、この部分を解析することで、二重結合の位置を決定することができます。

Francis³⁾が発表した一価不飽和脂肪酸に二硫化ジメチルを付加させる方法は、得られるマススペクトルが単純であり、二重結合位置を示すフラグメントイオンの強度比も高いことから、容易に二重結合位置の解析が可能です。

大阪府立大学 芝原 章先生、山本公平先生は、この解析方法に着目し、二硫化ジメチル付加反応条

件や適用範囲を検討され、簡便で適用範囲の広い不飽和脂肪酸の二重結合位置決定方法を確立されました^{4,5)}。

本アプリケーションノートでは、山本先生ご指導のもと行った、GC/MS による二硫化ジメチル付加法を利用する不飽和脂肪酸の二重結合位置決定法を報告します。

- 1) Andersson, B.A. and Holman, R.T. *Lipids*, **9**, 185-190 (1974).
- 2) William W. Christie, Elizabeth Y. Brechany, Susan B. Johnson and Ralph T. Holman, *Lipids*, **21**, 657-661 (1986).
- 3) G.W. Francis, *Chem. Phys. Lipids*, **29**, 369 (1981)
- 4) 芝原, 山本ら, *油化学*, **34**, Vol. 8, 618, (1985)
- 5) 山本, 芝原ら, *油化学*, **40**, Vol. 6, 497, (1991)

2. 実験

ガスクロマトグラフィーで脂肪酸を分析する場合、高級脂肪酸は誘導体化して分析することが一般的です。誘導体化することにより化合物の極性を下げて揮発性を高めることで、より高感度で安定した分析を行うことが可能となります。

誘導体化法としてはアルキル化が一般的で、メチルエステルもしくはエチルエステル誘導体化が行われます。アルキル化は、GC/MS で分子イオンが明確に検出される点においても有効な誘導体化法です。

今回のアプリケーションノートでは、メチルエステル誘導体化を行った後、二重結合位置決定のための誘導体化を行いました。

二重結合位置決定を容易に行うことができる二硫化ジメチル付加法による結果と、古くから二重結合位置決定法として用いられているピロリジン誘導体化法による結果を比較しました。

2-1. 測定成分と試料調製

今回の検討では、二重結合位置が判明している試薬を購入し試料としました。炭素数 18 個で二重結合の数が 1 個(モノエン)と 2 個(ジエン)の不飽和脂肪酸について測定し、モノエンについては二重結合位置が異なる 2 種類と、それらの *cis* 体, *trans* 体を測定しました。

表 1 測定成分

成分名	二重結合数	二重結合位置	幾何異性	略式表記
ステアリン酸	0	-	-	18:0
オレイン酸	1	9	<i>cis</i>	18:1(9)c
エライジン酸	1	9	<i>trans</i>	18:1(9)t
<i>cis</i> -バクセン酸	1	11	<i>cis</i>	18:1(11)c
<i>trans</i> -バクセン酸	1	11	<i>trans</i>	18:1(11)t
リノール酸	2	9,12	<i>cis, cis</i>	18:2(9,12)cc

表 1 に測定成分を示しました。二重結合位置はカルボキシル基の炭素から数えた表記としました。比較として炭素数 18 の飽和脂肪酸であるステアリン酸についても測定しました。各単一成分試料と全種類混合試料をそれぞれ調製して測定を行いました。

2.誘導体化と分析条件

表1に示したステアリン酸以外の各標準品をメタノールで溶解して100g/L溶液を、ステアリン酸は10g/Lを調製して各標準原液としました。各種メチルエステル化試料は、各標準原液1mgをメチルエステル化して調製しました。

ピロリジン誘導体化と二硫化ジメチル付加には、メチルエステル化試料50 μ gを使用しました。図1~3に各処理のフローを示しました。誘導体化の器具は、ネジ口試験管を使用しました。

今回の検討では標準試料を使用したため、誘導体化処理後の精製操作は行いませんでした。食品や生体試料などの実試料を対象とした場合は、目的に応じた精製操作が必要と考えられます。食品関連試料を対象とした二硫化ジメチル付加での精製工程の一例を含んだ前処理フローを図3-2に示しました¹⁾。

1) Akira Shibahara, Kouhei Yamamoto, Akemi Kinoshita, Barbara L. Anderson, J. Am. Oil Chem. Soc., **85**, 93-94 (2008)

ネジ口試験管に各標準原液1mgを採取

- 14%三フッ化ホウ素/メタノール溶液1.5mL
- 100°C, 5分間加熱後冷却
- 飽和塩化ナトリウム水 8mL
- ヘキサン2mLで4回抽出
- 無水硫酸ナトリウムにて脱水
- 濃縮

ヘキサン1mLに定容 (1000mg/L)

図1 脂肪酸メチルエステル誘導体化フロー

ネジ口試験管に脂肪酸メチルエステル試料50 μ g

- ピロリジン1mL,酢酸0.1mLに溶解
- 100°C, 1時間加熱後冷却
- 過剰なピロリジンを窒素気流下, 50°Cにて蒸発させる
- エーテル/ヘキサン(1:1)8mLに溶解
- 4mL蒸留水で3回洗浄
- 無水硫酸ナトリウムにて脱水
- 乾固

ヘキサン1mLに定容 (50mg/L)

図2 ピロリジン誘導体化フロー

ネジ口試験管に脂肪酸メチルエステル試料50 μ g

- ヨウ素/二硫化ジメチル(13g/L)0.1mL
- 35°C, 30分間振とう
- チオ硫酸ナトリウム飽和水をヨウ素の色が消えるまで添加
- 10%エーテル/ヘキサンで抽出 (1mLで4回抽出を行い, 計4mLを得ます)
- 無水硫酸ナトリウムにて脱水
- 乾固

ヘキサン1mLに定容 (50mg/L)

図3-1 二硫化ジメチル付加法フロー

ネジ口試験管に脂肪酸メチルエステル試料50 μ g

- ヨウ素/二硫化ジメチル(13g/L)0.1mL
- 35°C, 30分間振とう
- Extrelut[®]NT ※充填カラム (チオ硫酸ナトリウム飽和水を添加しておく)
- ※ Extrelut[®]NTはMerck Chemical社の製品です
- 試料を負荷
- 10%エーテル/ヘキサンで抽出 (1mLで4回抽出を行い, 計4mLを得ます)
- 無水硫酸ナトリウムにて脱水
- 乾固

ヘキサン1mLに定容 (50mg/L)

図3-2 二硫化ジメチル付加法フロー(精製工程あり)

各処理とも最終溶液は、1mLに定容しました。

ピロリジン誘導体化と二硫化ジメチル付加では最終溶液中の各脂肪酸濃度は50mg/Lとなります。メチル

エステル化試料では最終溶液中の各脂肪酸濃度が1000mg/Lとなるため、ヘキサンで50mg/Lに希釈して測定しました。GC/MS分析条件を表2に示しました。

表2 分析条件

ガスクロマトグラフ質量分析計

装置	: GCMS-QP2010 Plus	注入モード	: スプリット
イオン化法	: EI	スプリット比	: 20:1
カラム	: Rtx-5MS (内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 μ m)	インターフェース温度	: 280°C
カラム温度	: 100°C-7°C/分-300°C(10分)	イオン源温度	: 250°C
気化室温度	: 250°C	スキャンモード	: <i>m/z</i> 45~450
キャリアガス	: He (線速度一定モード 45cm/秒)		

3.メチルエステル試料測定結果

図4に各種メチルエステル化試料(混合試料と各単一成分)のTICクロマトグラムと、目的成分付近の部分クロマトグラムを示しました。*cis*-バクセン酸メチルとエ

ライジン酸メチルは溶出位置が近く、分離が不十分であるため、混合試料のTICクロマトグラムでは単一ピークとなっています。

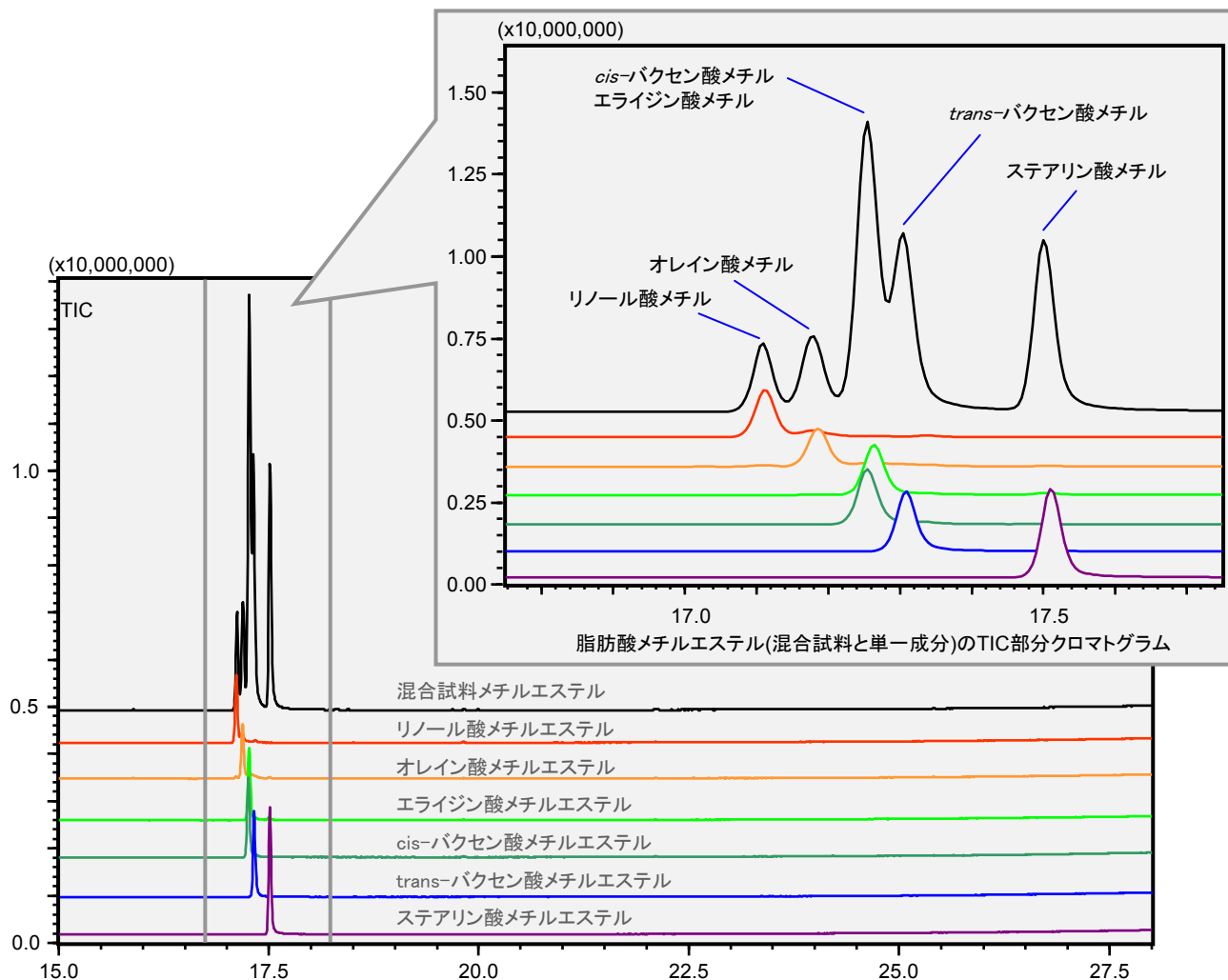


図4 脂肪酸メチルエステル(混合試料と単一成分)のTICクロマトグラム

各単一成分の標準試料で検出されたピークのマススペクトルを図5に示しました。各成分とも分子イオンが検出され、飽和脂肪酸メチルエステルであるステアリン酸メチルは他の成分とは異なる特徴的なマススペ

クトルを示しています。その他の成分のマススペクトルは類似していますが、リノール酸メチルは二重結合の数が2個であるため分子イオンが異なります。

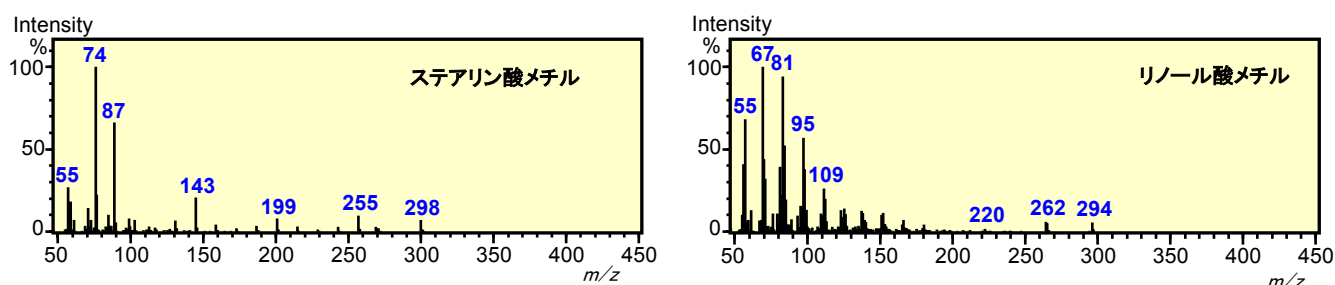


図5 脂肪酸メチルエステルのマススペクトル

同一炭素数のモノエンであるオレイン酸メチルとエライジン酸メチル、*cis*-パクセン酸メチルと *trans*-パクセン酸メチルは、マススペクトルはほぼ同じで、マス

ペクトルから二重結合位置の情報を得ることは困難でした。

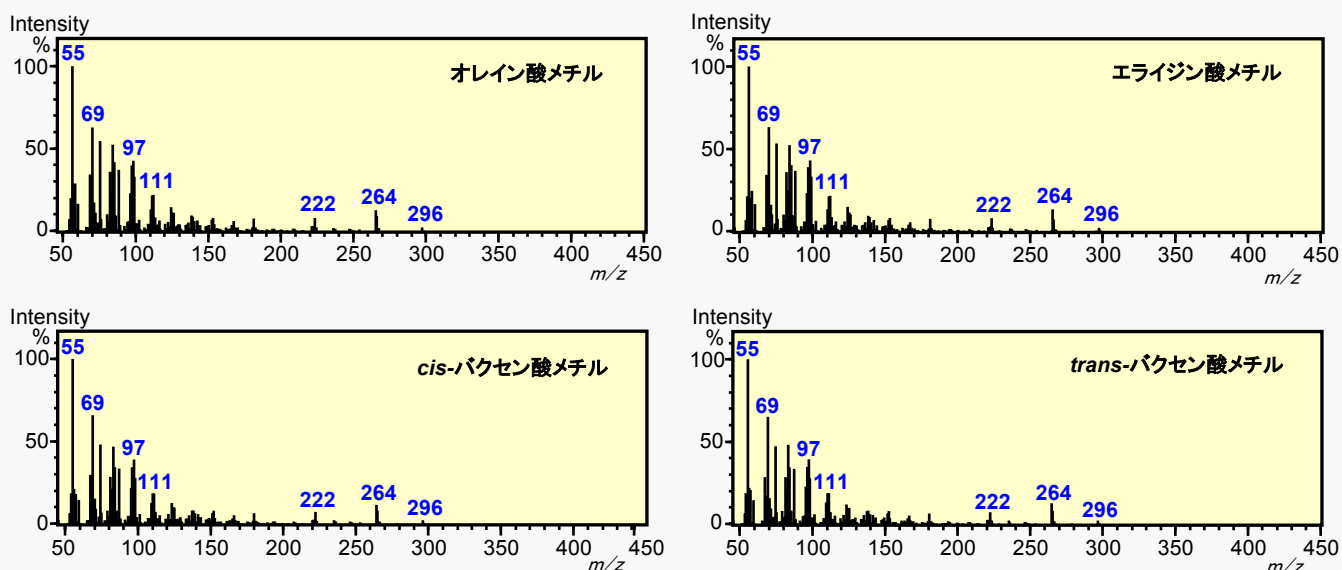


図5 脂肪酸メチルエステルのマススペクトル(づづき)

図 6 に混合試料の各分子イオンの m/z でのクロマトグラムを示しました。

cis-パクセン酸メチルとエライジン酸メチルは、二重結合位置と *cis* 体、*trans* 体という違いがあるものの、この測定で使用したカラムではピーク分離できませんでした。これらは分子量が同一でマススペクトルもほぼ同じであるため、マススペクトルを用いたピーク分離も行うことはできません。これらを個別に同定するために

は、別種のカラムによる分離が必須となります。

一般的に脂肪酸メチルエステルの異性体分離には強極性カラムが有効ですが、今回の測定ではピロリジン誘導体化と二硫化ジメチル付加による分子量増加に伴って、高温分析が必要となるため 5%フェニル系の微極性カラムを使用しており、本分析条件での分離は困難となっています。

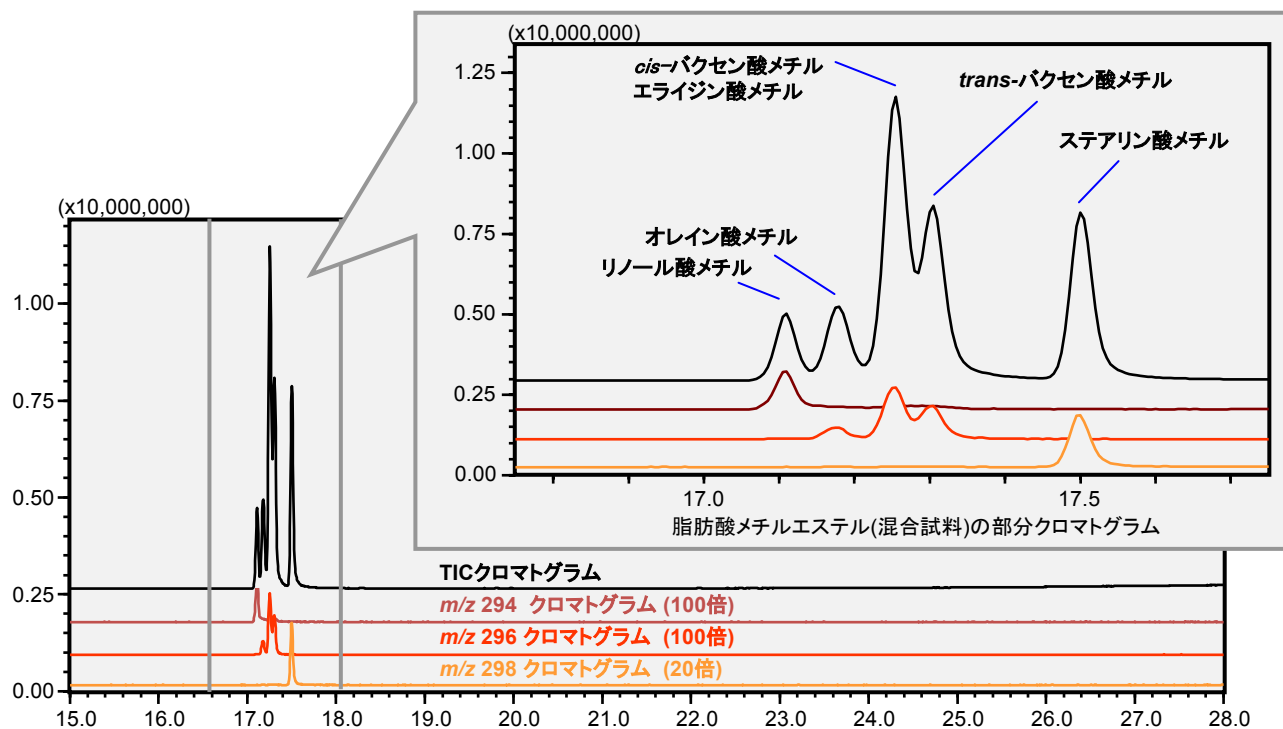


図6 脂肪酸メチルエステル(混合試料)のクロマトグラム

4.ピロリジン誘導体化による不飽和脂肪酸の二重結合位置決定

不飽和脂肪酸二重結合位置の決定方法として古くから用いられてきたピロリジン誘導体化を行い、図7に混合試料と単一成分のピロリジン誘導体に共通して検出される m/z 113 でのクロマトグラムを示しました。各

成分のピークは近接しており、混合試料では幾つかの成分は不完全分離となっています。単一成分の測定結果により保持時間を確認し、各成分のマススペクトルから二重結合位置を決定しました。

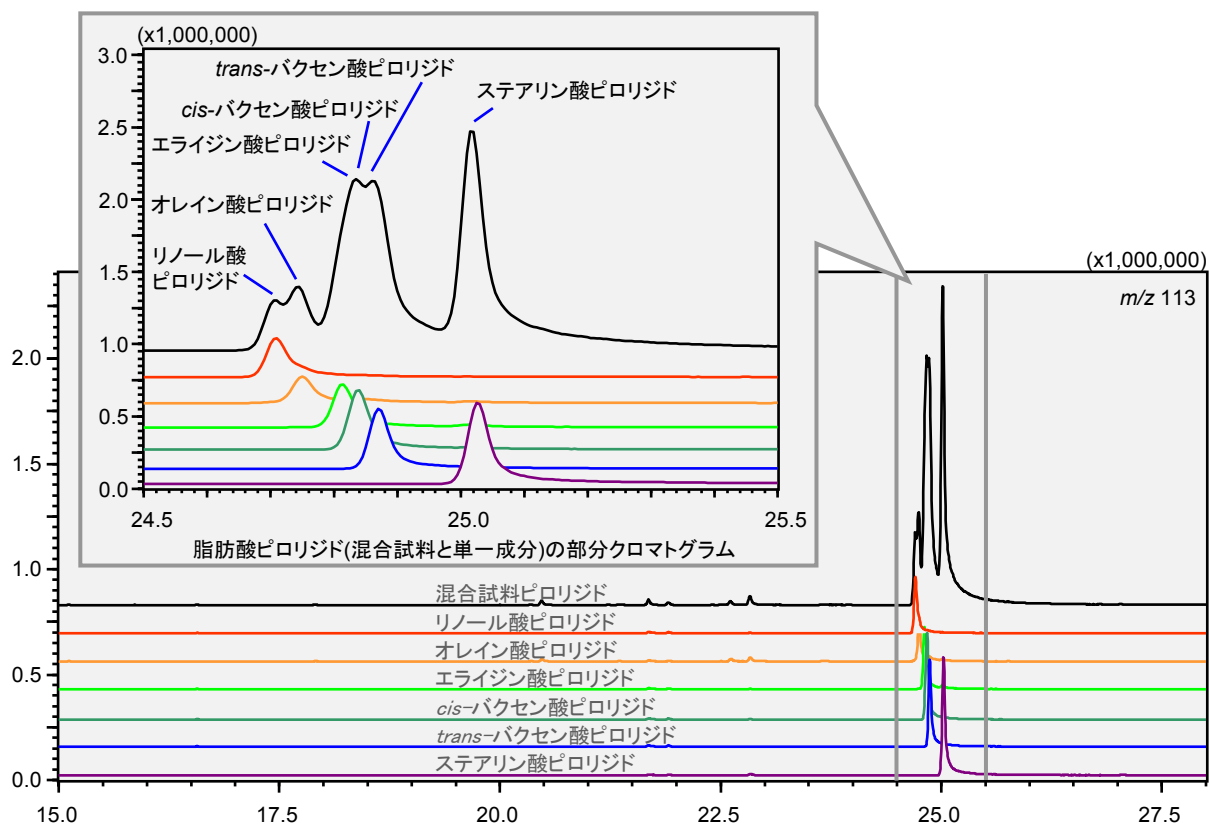


図7 脂肪酸ピロリジド(混合試料と単一成分)のクロマトグラム

ステアリン酸ピロリジドに二重結合はありませんが、比較として図8に解析結果を示しました。左側に全体マススペクトル、右側に解析使用範囲の部分マススペクトルを示しました。部分マススペクトルの $14u$ ずつ異なる

フラグメントイオンは、分子式に示した位置での開裂によるものです。二重結合が存在すると m/z の差が $12u$ となる箇所が出現することになり、二重結合位置が決定できます。

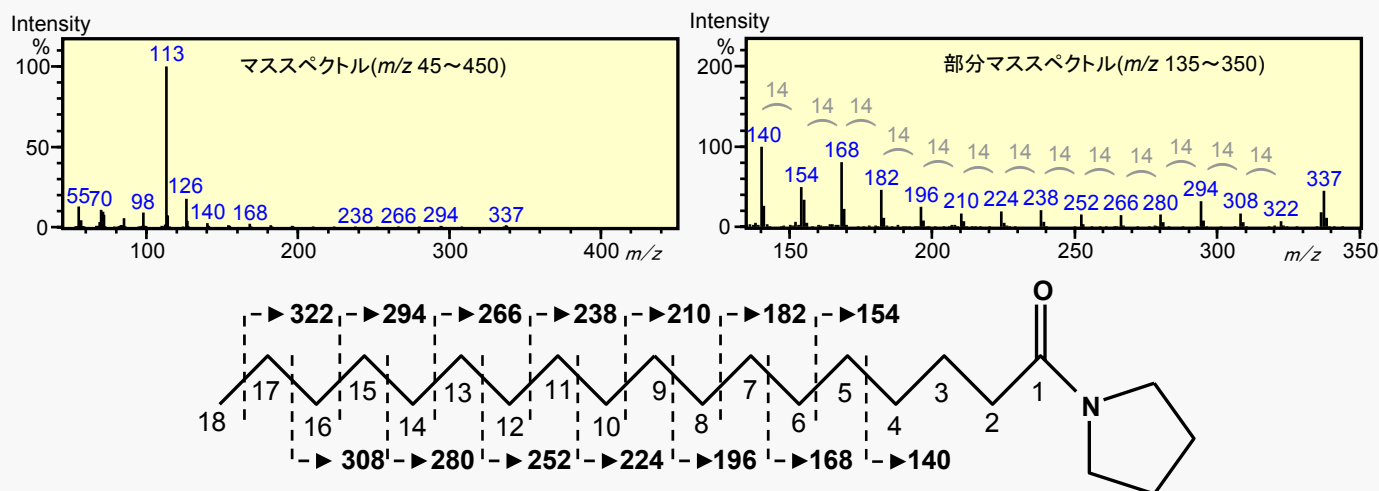


図8 ステアリン酸ピロリジド

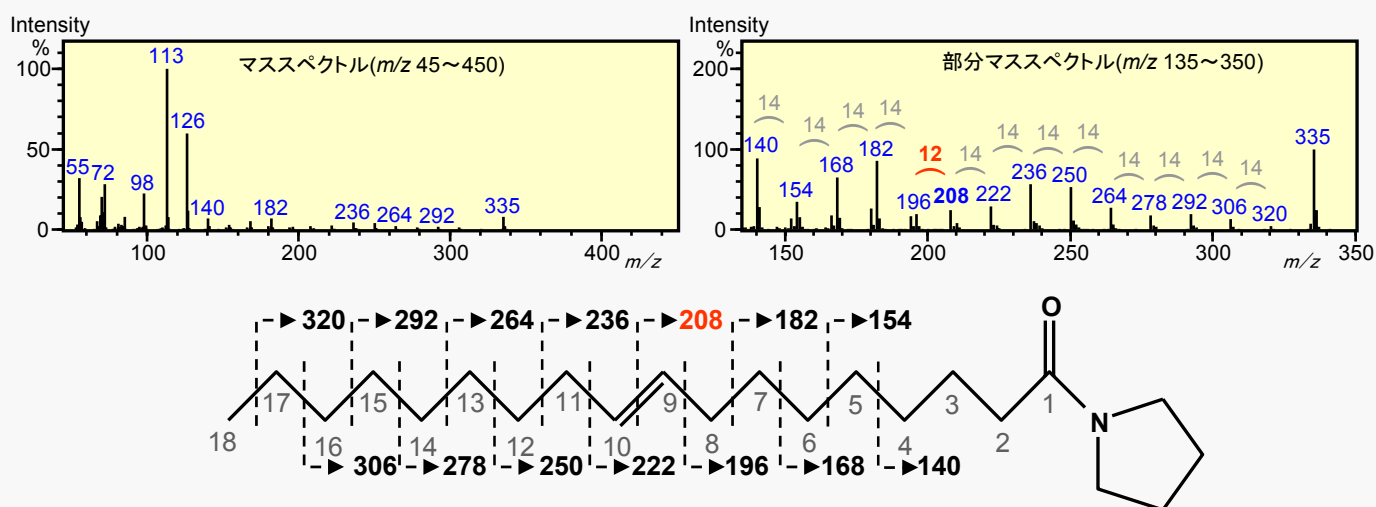
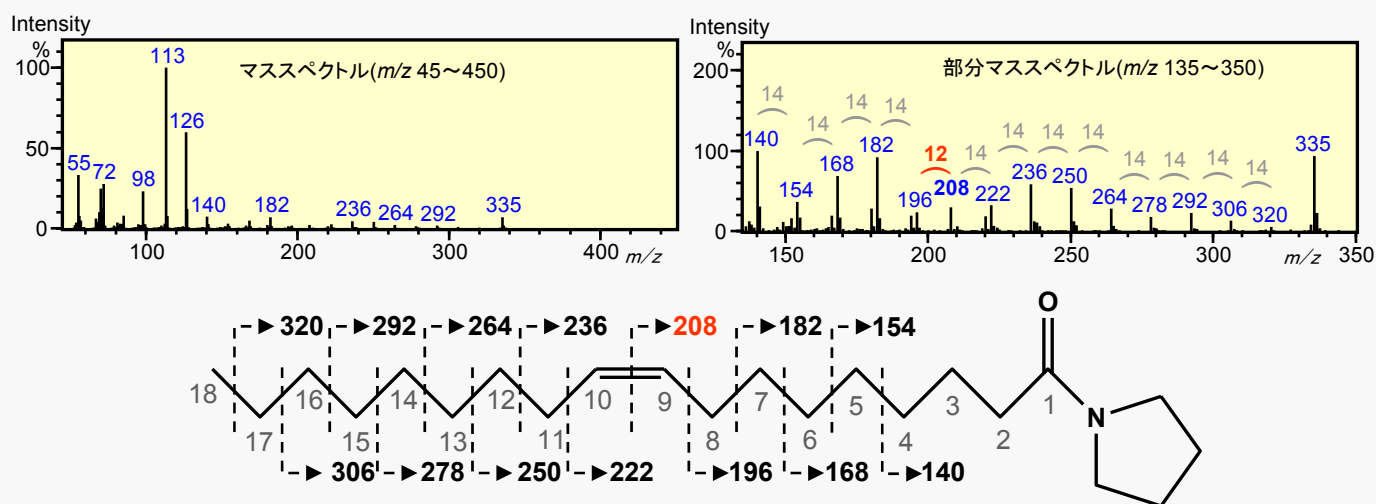
オレイン酸ピロリジドとエライジン酸ピロリジドの二重結合位置決定

オレイン酸ピロリジドの解析結果を図 9 に、エライジン酸ピロリジドの解析結果を図 10 に示しました。オレイン酸、エライジン酸は共にカルボン酸炭素から数えて 9 番目に二重結合があるモノエンで、オレイン酸は *cis* 体、エライジン酸は *trans* 体の異性体です。ピロリジン誘導体はカルボン酸とピロリジンが酸アミド結合した化合物です。

図 9,10 のマスペクトルから分子イオンは m/z 335 であり、同一炭素数の飽和脂肪酸であるステアリン酸ピロリジドの分子イオンが m/z 337 であることから炭素数 18 で二重結合数が 1 個の不飽和脂肪酸であることがわかります。部分スペクトルではフラグメントイオンの

中に、赤字で示した m/z の差が 12u となっている箇所がありました。ピロリジンが結合した炭素から数えて 9 番目と 10 番目となるこの箇所は、二重結合がなければ m/z 210 が検出されるはずですが、この位置に二重結合があるため m/z 208 となっています。この結果から C18:1(9)と二重結合位置を確認することができました。

図 9, 図 10 に示したスペクトルはほぼ同じパターンであり、マスペクトルから *cis* 体と *trans* 体を判別することはできませんが、試料に含まれる成分が 18:1(9)だけであれば、*cis* 体と *trans* 体がクロマトグラム上で分離しているため同定可能です。



cis-バクセン酸ピロリジドと*trans*-バクセン酸ピロリジドの二重結合位置決定

cis-バクセン酸ピロリジド解析結果を図 11 に、*trans*-バクセン酸ピロリジド解析結果を図 12 に示しました。バクセン酸はカルボン酸炭素から数えて 11 番目に二重結合があるモノエンです。

図 11, 12 のマススペクトルから分子イオンは m/z 335 であり、炭素数が 18 個で二重結合数が 1 個の不飽和脂肪酸であることがわかります。部分マススペクトルには赤字で示した m/z 差が 12u となっている箇所があり、 m/z 236 が検出されていることから、

ピロリジンが結合した炭素から数えて 11 番目が二重結合位置であることがわかります。この結果から C18:1(11)と確認することができました。

バクセン酸は、前出のオレイン酸、エライジン酸と同一炭素数で二重結合位置が異なる化合物ですがマススペクトルの解析によって二重結合位置を確認できました。同様の解析を行うことにより、二重結合位置が不明な脂肪酸の二重結合位置を決定することが可能です。

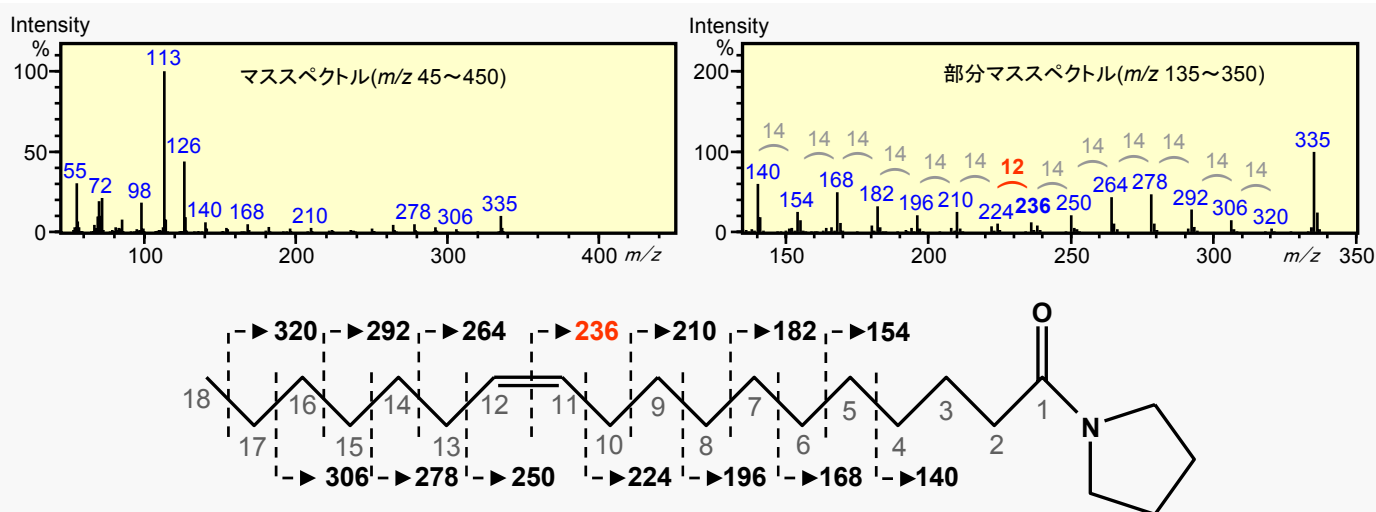


図11 *cis*-バクセン酸ピロリジド

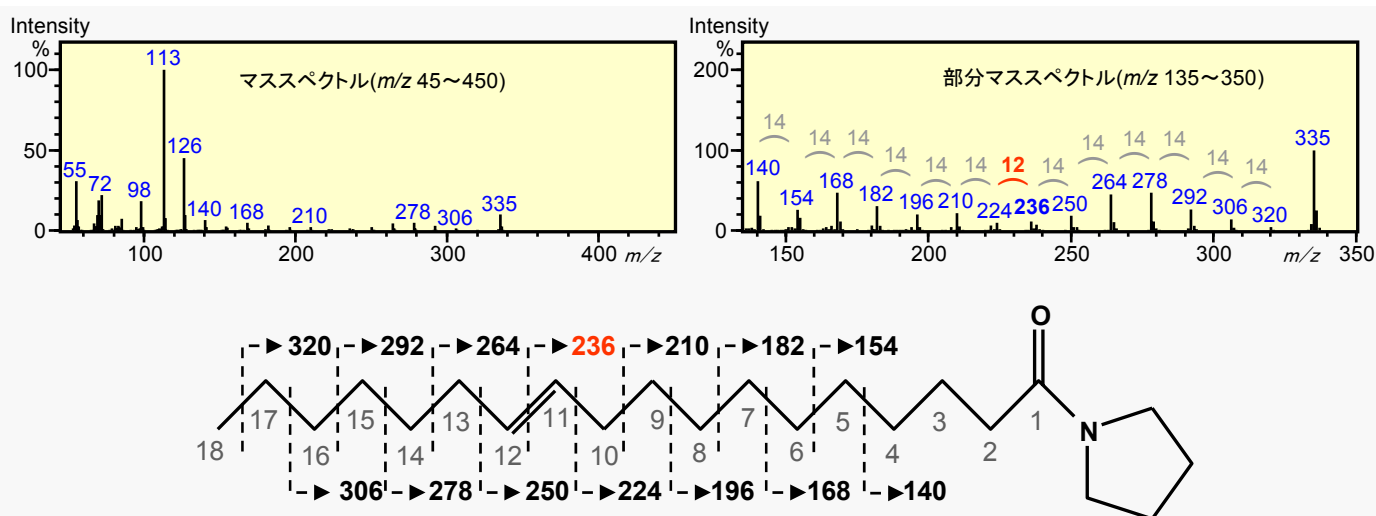


図12 *trans*-バクセン酸ピロリジド

リノール酸ピロリジドの二重結合位置決定

リノール酸ピロリジド解析結果を図 13 に示しました。リノール酸はカルボン酸炭素から数えて 9 番目と 12 番目に二重結合があり、両二重結合とも cis 体のジエン酸です。

図 13 のマススペクトルから分子イオンは m/z 333 であり、炭素数が 18 個で二重結合数が 2 個の不飽和脂肪酸であることがわかります。部分マススペクトルには、赤字で示した m/z の差が 12u である箇所が二

箇所あり、 m/z 208 が検出されていることからピロリジンが結合した炭素から数えて 9 番目と、 m/z 248 が検出されていることから 12 番目に二重結合があることがわかりました。この結果から C18:1(9,12)と確認することができました。

二重結合の数が 2 個の不飽和脂肪酸においても、同様の解析で二重結合位置の決定が可能です。

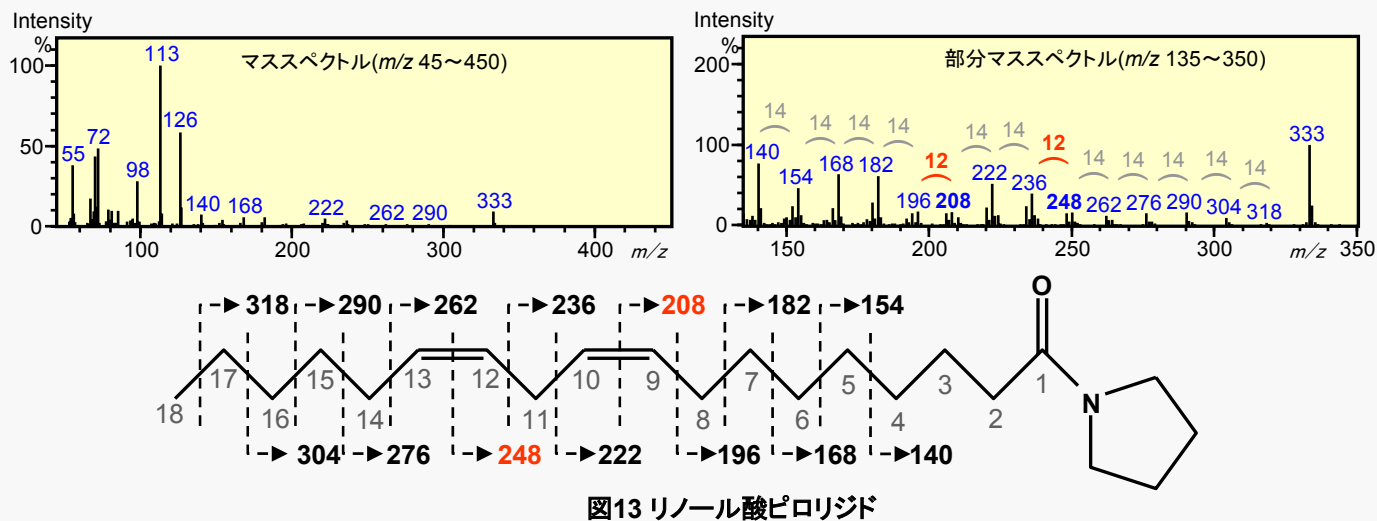


図13 リノール酸ピロリジド

ピロリジン誘導体混合試料

ここまで単一成分のピロリジン誘導体化合物分析結果を用いて二重結合位置決定を行いました。一般的に食品や生体など実試料の場合には、複数の脂肪酸成分が含まれています。ここでは複数成分が同時に検出された場合の解析について示します。

図 14 に混合試料のクロマトグラムを示し、ピロリジド固有の m/z 113 以外に、各単一成分解析で二重結合

位置情報が得られた m/z 208, 236, 248 のクロマトグラムを示しました。各成分ピークは完全分離せず重複していることから、近接した成分で二重結合位置決定可能なマススペクトルを得ることは困難です。

ピロリジン誘導体分析法では、目的成分を完全に分離可能な分析条件の設定が必要となります。

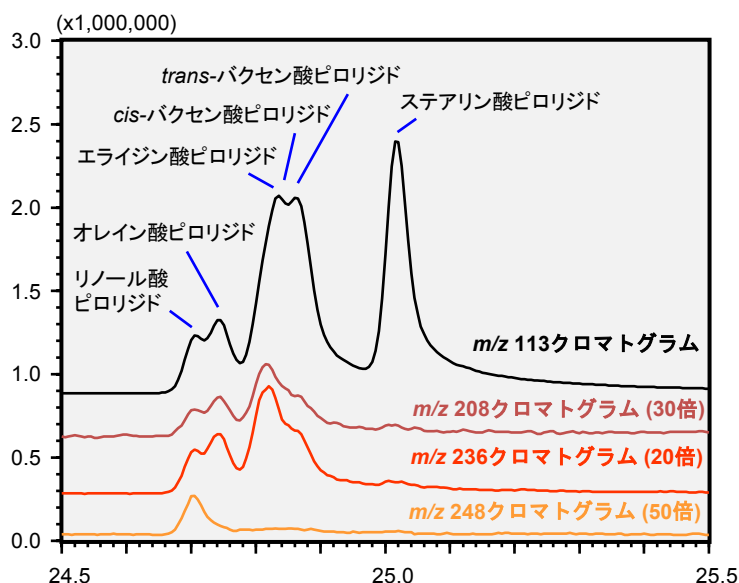


図14 脂肪酸ピロリジド混合試料拡大クロマトグラム

5.二硫化ジメチル付加による不飽和脂肪酸の二重結合位置決定

脂肪酸の二重結合位置を容易に決定可能な方法として、二硫化ジメチル付加法があります。二硫化ジメチルは二重結合部分に付加するため、飽和脂肪酸であるステアリン酸メチルは、溶出時間、マススペクトルに変化はありません。

図15に混合試料とステアリン酸以外の各単一成分の

TIC クロマトグラムを示しました。混合試料はステアリン酸を含んでおり、ステアリン酸メチルエステルのほか未反応の脂肪酸メチルエステルが検出されます。飽和脂肪酸を多く含む試料中の、微量不飽和脂肪酸を分析対象とする場合に有効な誘導体法といえます。

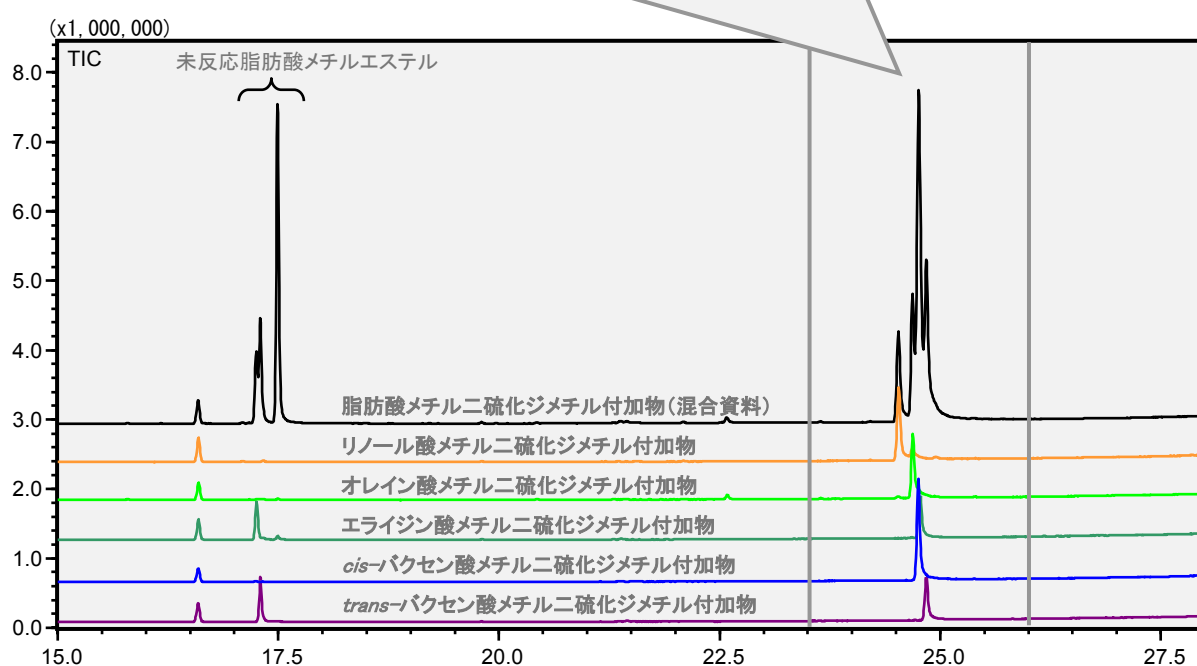
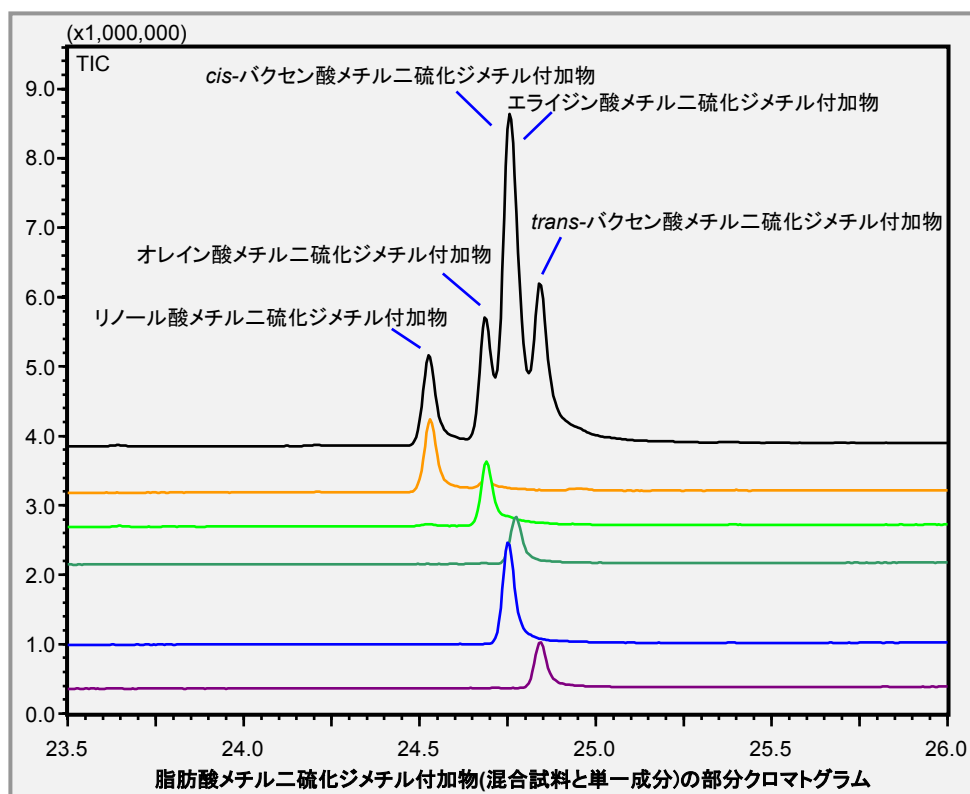


図15 脂肪酸メチル二硫化ジメチル付加物(混合試料と単一成分)のクロマトグラム

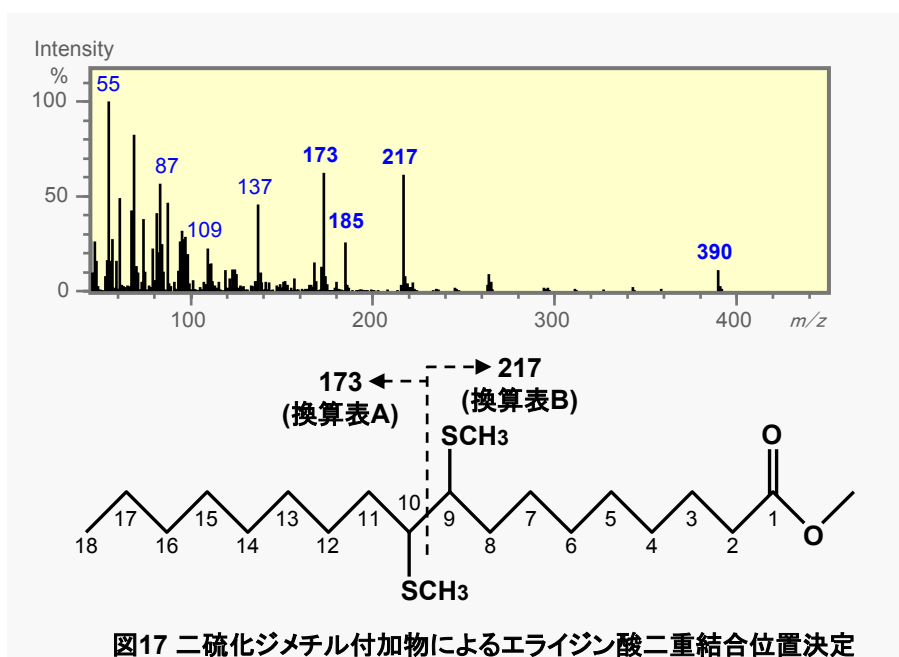
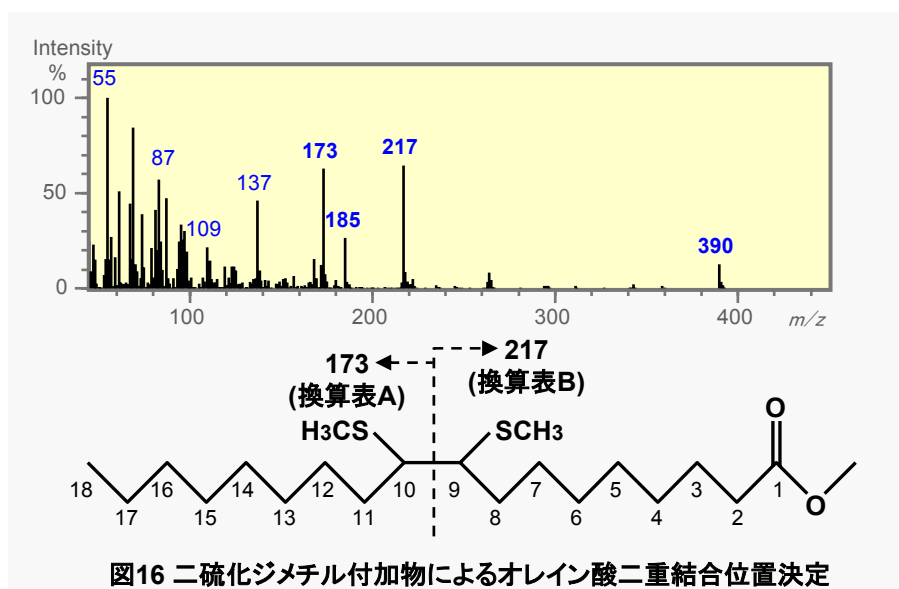
二硫化ジメチル付加物によるオレイン酸とエライジン酸の二重結合位置決定

オレイン酸メチル二硫化ジメチル付加物の解析結果を図 16 に示し、エライジン酸メチル二硫化ジメチル付加物の解析結果を図 17 に示しました。炭素数 18 個のモノエンメチルエステルに二硫化ジメチルが付加した化合物の分子イオン m/z 390 が検出されています。

この反応では、メチルチオ基は二重結合の存在する炭素に付加して、この炭素間で開裂したイオンが検出されます。 m/z 217 と m/z 173 は、カルボン酸炭素から数えて 9 番目と 10 番目の炭素にそれぞれメチルチオ基が付加し、この位置での開裂により検出さ

れたイオンで他よりも強く検出されています。この分析結果から 18:1(9)と決定できました。また、 m/z 185 は m/z 217 のフラグメントイオンから CH_3OH が脱離して 32 減少したイオンです。

二硫化ジメチル付加物のマスペクトルには、開裂したカルボン酸メチル側のフラグメントイオンから 32u 減少した m/z も特異的に検出されることから、二重結合位置の決定にはこれら 3 種の m/z 値を解析に用います。



モノエン酸換算表

二硫化ジメチル付加による二重結合位置決定の解析には3種の m/z を用いて行いますが、その相対強度が高いことから解析も容易です。炭素数 18 個のモノエン酸に関しては、表 3 に示した換算表を利用することで、二重結合位置決定はさらに容易となります。

開裂した C-C 結合から炭化水素側のフラグメントイオン m/z を A、カルボン酸メチル側のフラグメントイオン m/z を B とし、C は B から CH₃OH が脱離して 32u 減少したフラグメントイオン m/z を示しました。

A, B, C の m/z が検出された場合の二重結合位置を表の両端に示しました。Δ はカルボン酸メチル側のカルボン酸 C=O 結合を持つ炭素から数えた場合の二重結合位置、ω は炭化水素末端側の炭素から数えた場合の二重結合位置を示しました。本アプリケーションノートでの表記 C18:1(9)における括弧内に示した二重結合位置は Δ の値となっています。

参考として表 4 に炭素数 16 個のモノエン酸換算表、表 5 に炭素数 20 個のモノエン酸換算表を示しました。

表3 C18モノエン酸二重結合位置決定換算表 M.W. 390

Δ	m/z			ω
	A	B	C(B-32u)	
4	243	147	115	14
5	229	161	129	13
6	215	175	143	12
7	201	189	157	11
8	187	203	171	10
9	173	217	185	9
10	159	231	199	8
11	145	245	213	7
12	131	259	227	6
13	117	273	241	5
14	103	287	255	4
15	89	301	269	3
16	75	315	283	2

表4 C16モノエン酸二重結合位置決定換算表 M.W. 362

Δ	m/z			ω
	A	B	C(B-32u)	
4	215	147	115	12
5	201	161	129	11
6	187	175	143	10
7	173	189	157	9
8	159	203	171	8
9	145	217	185	7
10	131	231	199	6
11	117	245	213	5
12	103	259	227	4
13	89	273	241	3
14	75	287	255	2

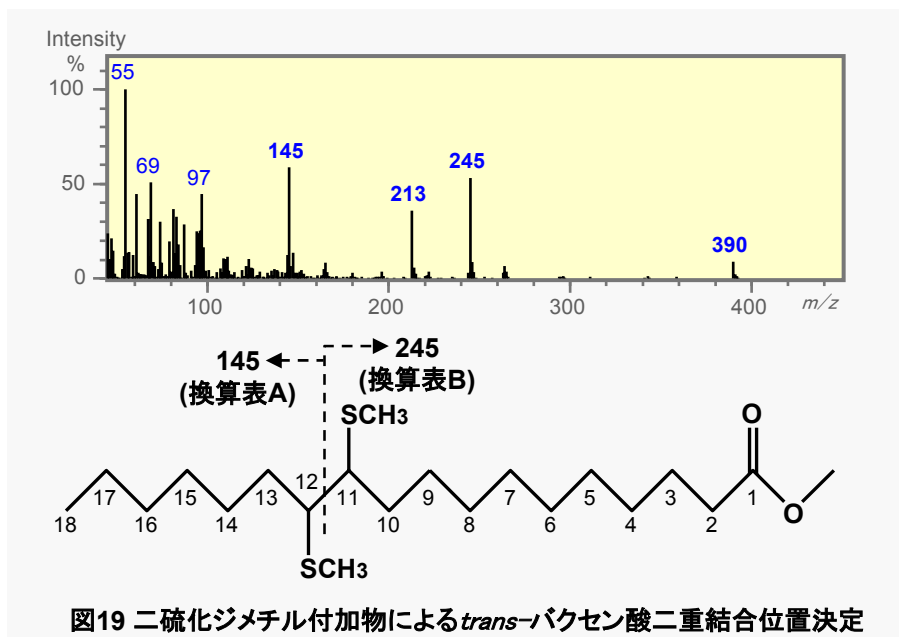
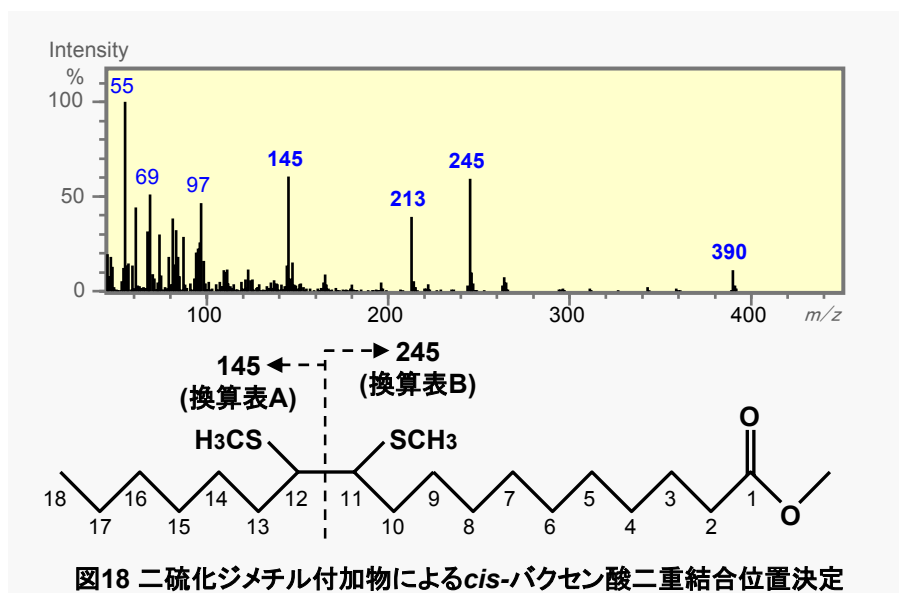
表5 C20モノエン酸二重結合位置決定換算表 M.W. 418

Δ	m/z			ω
	A	B	C(B-32u)	
4	271	147	115	16
5	257	161	129	15
6	243	175	143	14
7	229	189	157	13
8	215	203	171	12
9	201	217	185	11
10	187	231	199	10
11	173	245	213	9
12	159	259	227	8
13	145	273	241	7
14	131	287	255	6
15	117	301	269	5
16	103	315	283	4
17	89	329	297	3
18	75	343	311	2

二硫化ジメチル付加物による *cis*-, *trans*-パクセン酸の二重結合位置決定

cis-, *trans*-パクセン酸メチル二硫化ジメチル付加物の解析結果を図 18, 図 19 に示しました。分子イオン m/z 390 が検出されているので, C18 モノエン脂肪酸メ

チルエステルの二硫化ジメチル付加物であることがわかります。 m/z 145, 245, 213 が検出されており, 表 3 から C18:1(11)と決定することができました。



二硫化ジメチル付加物によるリノール酸の二重結合位置決定

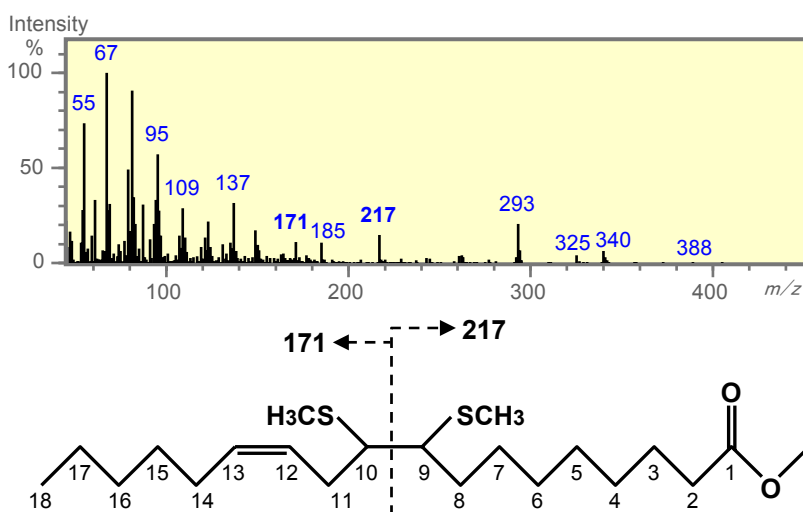
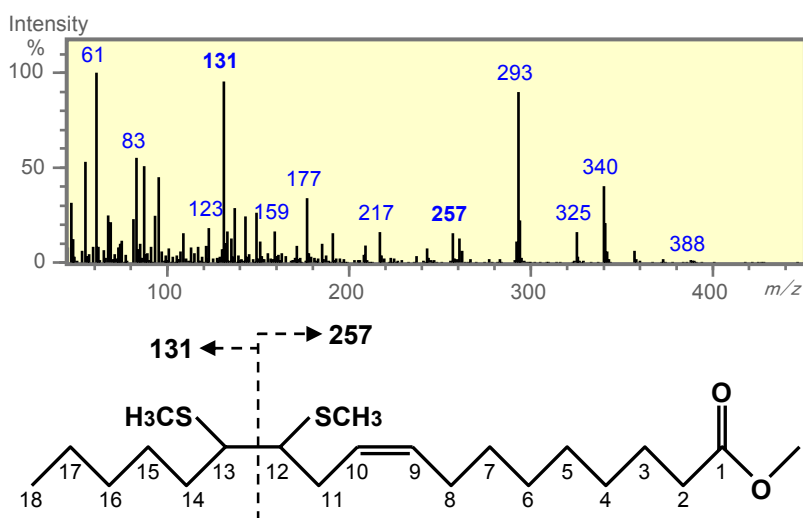
リノール酸メチル二硫化ジメチル付加物の解析結果を図20に示しました。リノール酸メチルへの二硫化ジメチルの付加は、2箇所の二重結合に同時には付加せず、一方の二重結合のみに付加します。二重結合が1個残存するため分子イオンはC18:1脂肪酸メチル二硫化ジメチル付加物の分子イオン m/z 390 より $2u$ 少ない m/z 388 となり、図20では m/z 388 が検出されています。

図20-1 に示したマススペクトルで検出された m/z 171 と m/z 217 は、カルボン酸メチル側から数えて9番目と10番目にメチルチオ基が付加し、この位置で開

裂したフラグメントイオンです。炭素数18のモノエンであれば、検出されるのは m/z 173 と m/z 217 であり、 m/z 171 の炭化水素末端側にもう一つの二重結合があることがわかります。

図20-2 に示したマススペクトルで検出された m/z 131 と m/z 257 は、カルボン酸メチル側から数えて12番目と13番目にメチルチオ基が付加し、この位置で開裂したフラグメントイオンです。同様に m/z 257 のカルボン酸メチル側に二重結合があることがわかります。

以上のことから、二重結合位置が9,12である18:2(9,12)と決定することができました。

図20-1 二硫化ジメチル付加物によるリノール酸二重結合位置決定(Δ 9)図20-2 二硫化ジメチル付加物によるリノール酸二重結合位置決定(Δ 12)

リノール酸メチル二硫化ジメチル付加物では、2成分のマススペクトルから解析を行いました。今回の分析条件で得られるTICクロマトグラムで2成分は単一ピークになっています。図21に解析に用いた4種のフラグメントイオンによるクロマトグラムを示しました。

二重結合位置の違いによるピーク位置の違いが確認できたため、スペクトル減算を用いて互いのピークによる影響を軽減し、図20-1、図20-2の各成分のマススペクトルを解析しました。図21に両成分の間となるTICクロマトグラムのピーク位置でのマススペクトルを示しました。

このマススペクトルで m/z 131, 257, 171, 217, 185 が検出されていることから、18:2(9,12)と決定することができます。

ジエン酸の解析では、検出される m/z がモノエン酸ほど明確ではありません。ジエン酸、トリエン酸などの高度不飽和脂肪酸の二重結合位置を決定する場合には、それらが混合物の場合は、TLCやAgイオン固相抽出管⁶⁾を用いて分画し、部分還元によりモノエン酸を得ます⁵⁾。得られたモノエン酸の二重結合位置を決定して、元の多価不飽和脂肪酸の二重結合位置を決定します。この方法を併用することで多価不飽和脂肪酸の二重結合位置の決定結果を確実にすることができます。

6) SUPELCO Technical Report, Discovery Ag-Ion SPE for FAME Fractionation and Cis/Trans Separation, <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Bulletin/t406062.Par.0001.File.tmp/t406062.pdf>

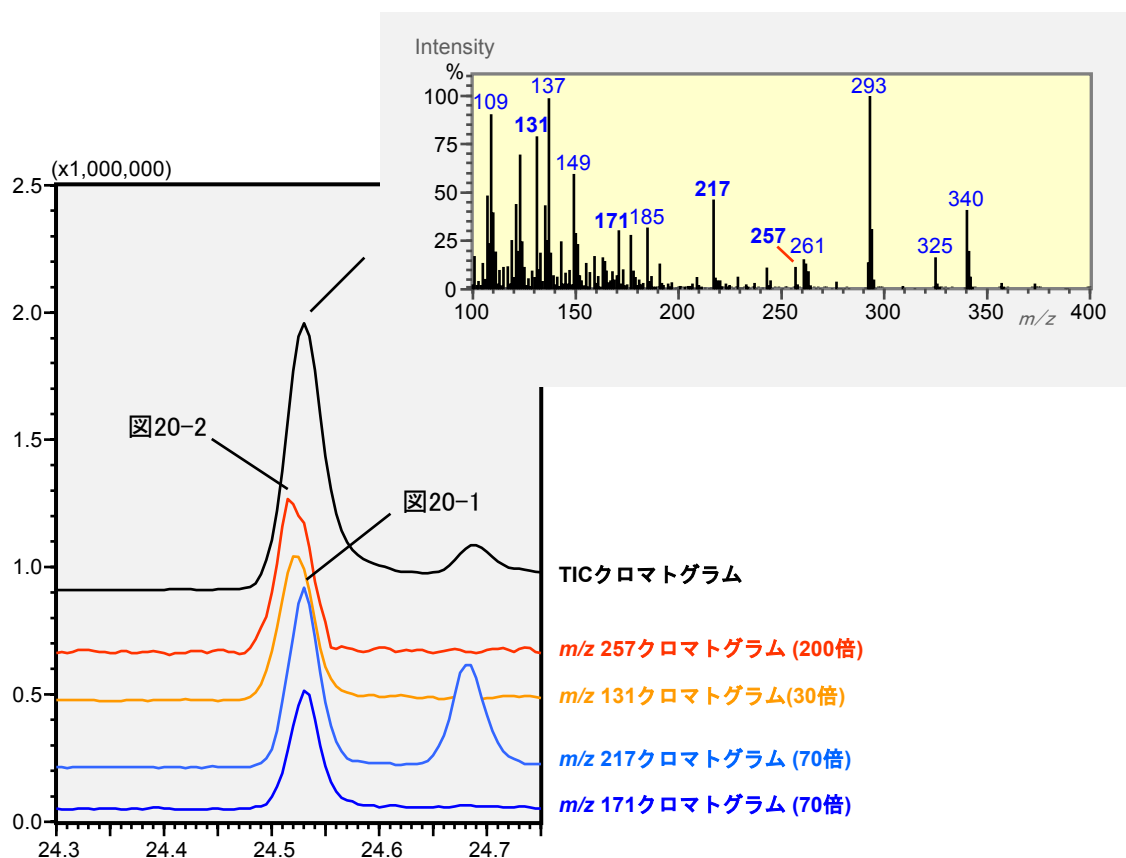


図21 リノール酸メチル二硫化ジメチル付加物のクロマトグラムとマススペクトル

二硫化ジメチル付加物混合試料

ピロリジン誘導体化法は、分離不十分な混合試料において各成分の定性は困難ですが、二硫化ジメチル付加法は、分離不十分な混合試料においても二重結合位置の決定が可能です。

図 22 は二硫化ジメチル付加法による混合試料のクロマトグラムです。TIC クロマトグラムでは分離不十分

な 2 成分が 1 本のピークとなっている部分もありますが表 3 に示した各成分の特徴的な m/z を用いたクロマトグラムを描くことで、他成分の影響を受けずに個々の成分を検出できます。*cis* 体、*trans* 体も分離できることから、二重結合位置決定だけでなく、異性体の同定も可能です。

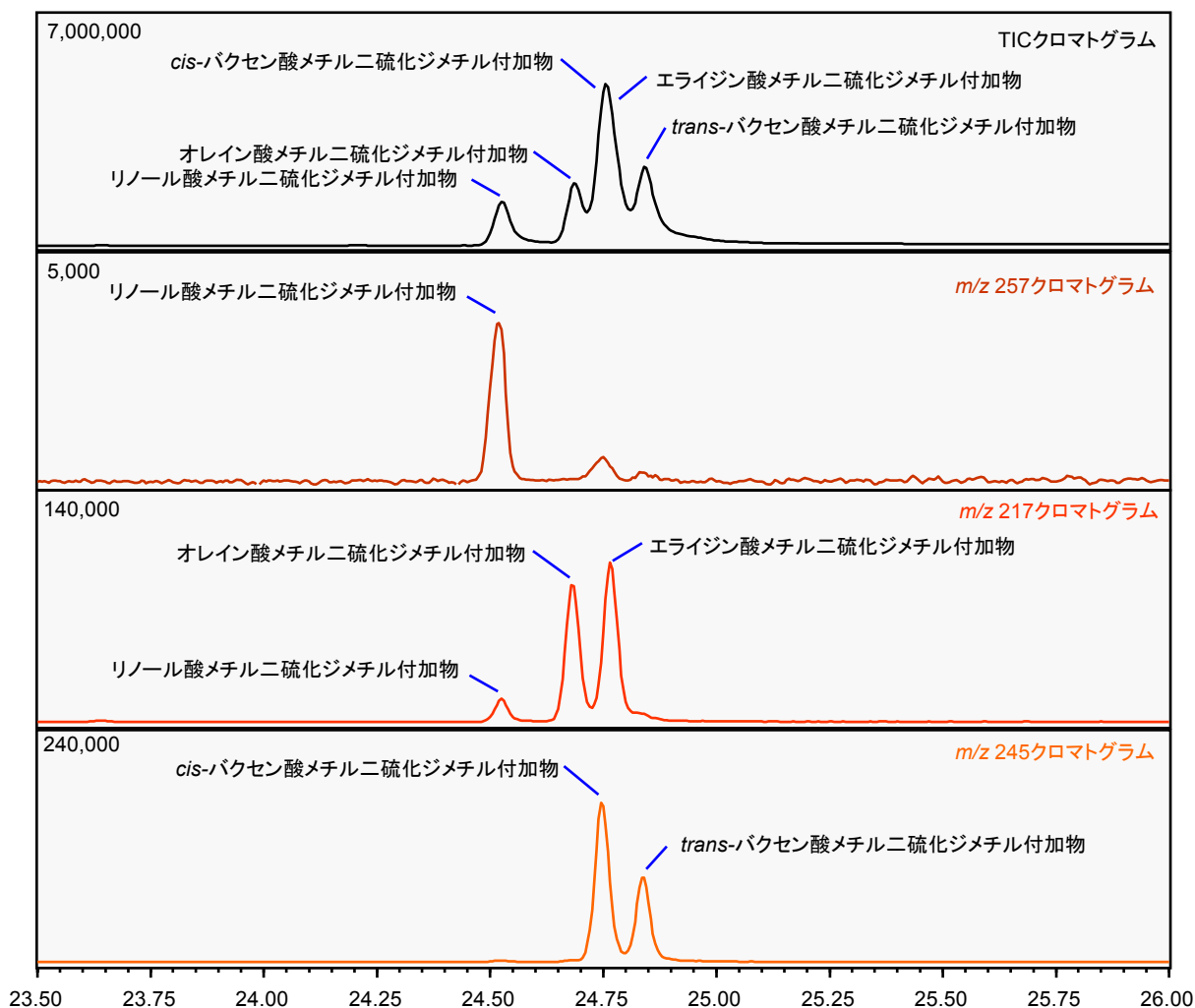


図22 脂肪酸メチル二硫化ジメチル付加物(混合試料)クロマトグラム

6.まとめ

GC/MS による不飽和脂肪酸の二重結合位置決定方法として、ピロリジン誘導体化法と二硫化ジメチル付加法を示しました。二硫化ジメチル付加物による二重結合位置決定法は、マススペクトルの開裂が単純で二重結合位置の決定に用いる m/z が見つけ易く、さらに換算表を用いることで、簡単に二重結合位置を決定するこ

とができます。また、混合試料でクロマトグラムによる分離が不十分であっても各成分のピークが検出でき、*cis* 体、*trans* 体の異性体同定にも有効な方法です。

これらの特徴から脂肪酸の組成比や個々の脂肪酸の定量値も高い精度で得ることができます。

* 本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行 2012年3月