

GC/MSによる食用油のトリグリセライドの定性分析法

Analysis of Triglycerides in Food Oil Using GC/MS

食用油の主成分は、グリセロールに脂肪酸が3分子エステル結合した構造のトリグリセライドです。トリグリセライドは無数に存在するにもかかわらず、市販のデータベースにはマススペクトルが数化合物しか登録されておらず、ライブラリー検索による同定が望めません。また、EI（電子イオン化法）では、分子イオンが検出されないことが多く、解析が

困難です。CI（化学イオン化法）とEIを組み合わせることが非常に有効です。CIから得られる分子量情報と、EIでのフラグメントパターンを組み合わせることで、比較的容易にトリグリセライドの脂肪酸組成を推定することが可能です。GC/MSによる市販のバター中のトリグリセライドの定性分析例をご紹介します。

Y. Saito

分析条件

Analytical Conditions

市販のバターをクロロホルムにて約5%に希釈し、GC/MSに導入しました。

測定した分析条件をTable 1に示しました。

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Model	: GCMS-QP2010 Plus		
-GC-			
Column	: Frontier Labs UA ⁺ -65 (30 m × 0.25 mm I.D. df = 0.1 μm)		
Column Temp.	: 150 °C (1 min) -5 °C/min-350 °C (20 min)		
Carrier Gas	: He (Constant Linear Velocity Mode)		
Linear Velocity	: 45 cm/s		
Injector Temp.	: 370 °C	-GC/MS-	
Injection Method	: Split	Interface Temp.	: 350 °C
Split Ratio	: 50:1	Ion Box Temp.	: 250 °C
Injection Volume	: 0.5 μL		
-- EI Mode --			
Ionization Method	: EI	-- CI Mode --	
Scan Range	: m/z 29 - 1090	Scan Range	: m/z 500 - 1090
Scan Interval	: 0.5 s	Scan Interval	: 0.5 s
		Reagent Gas	: NH ₃

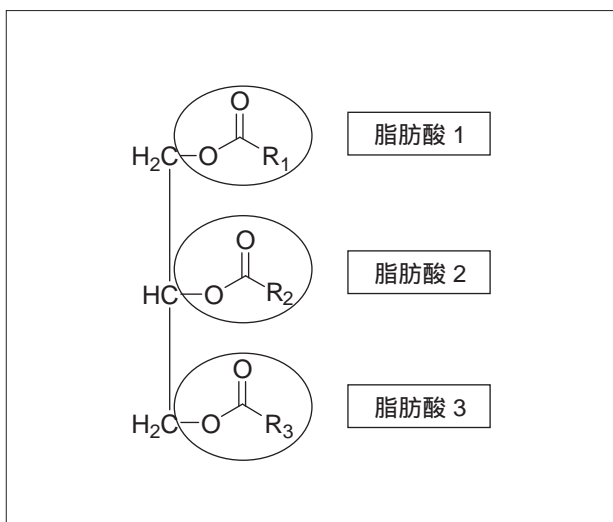


Fig.2 トリグリセライドの構造
Structure of Triglyceride

測定結果

Total Ion Chromatogram

希釈した市販バターをEI, CIそれぞれで測定しました。

EIにより得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC) をFig.1に示しました。

CIでのTICは、EIとほとんど変わらないため、表示を割愛しました。

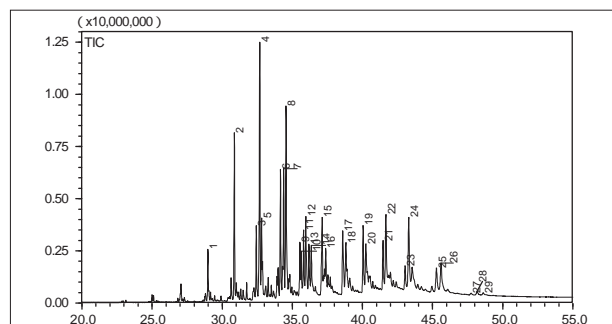


Fig.1 バターのトータルイオンクロマトグラム
TIC of Butter Oil

解析手順

Structure Analysis

Fig.2にトリグリセライドの構造を示しました。

グリセロールに3分子の脂肪酸が結合しています。

質量分析計から得られる分子イオンの質量と、化合物の分子量は厳密には異なりますが、以下説明分が煩雑になるため、分子量と表現させていただきます。

Fig.3に典型的なEIマススペクトルを示しました。

EIのマススペクトルの高質量域には、分子から脂肪酸が脱離したイオンがフラグメントイオンとして特徴的に検出されます。しかし、分子量に相当するイオンは検出されないため、構造を解析することが困難です。試薬ガスにアンモニアを用いたCIマススペクトルよりトリグリセライドの分子量を推定し、EIの高質量域の特徴的なイオンピークから脂肪酸組成を推定することで解析が容易になります。

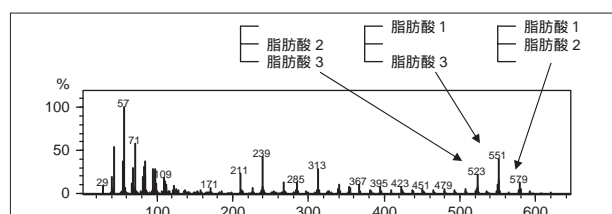


Fig.3 トリグリセライドの典型的なEIマススペクトル
Mass Spectrum of Typical Triglyceride

EIとCIを組み合わせた場合

トリグリセライドは以下の式で解析が可能です

トリグリセライドの予想分子量=アンモニウムCI注目イオン-18

脂肪酸の予想分子量=トリグリセライドの予想分子量-EI注目イオン+1

トリグリセライドは、3つのパターンに分けられます。一つは、構成する3つの脂肪酸の分子量が同じもの、3つとも異なるもの、2つが同じで一つが異なるものに分けられます。パターの測定例の中からそれぞれのパターンに該当する成分のマススペクトルを示しながら、解析手順を説明します。

パターン1

構成する3分子の脂肪酸の分子量が同一のパターンに該当するピーク29のEIマススペクトルをFig.4に示しました。質量500~650付近に検出されるイオンピークが一本であることが特徴です。ピーク29のCIマススペクトルをFig.5に示しました。検出された902のイオンは、アンモニウムイオン付加体(+18)と予想されますので、以下のようにトリグリセライドの分子量を予想します。

ピーク29の予想分子量の計算式 $902 - 18 = 884$

これにより、ピーク29の分子量は884と推定されます。CIから得られた予想分子量とEIでの注目イオン603を組み合わせて脂肪酸組成を推定します。

ピーク29の脂肪酸の分子量の計算式 $884 - 603 + 1 = 282$

以上の計算式から導き出した脂肪酸の分子量は282と推定されます。したがって、ピーク29のトリグリセライドは炭素数18で2重結合を1つ含む脂肪酸3分子により構成されていると推定されます。

パターン2

構成する3つの脂肪酸の分子量がすべて異なるパターンに該当するピーク21のEIマススペクトルをFig.6に示しました。質量500~650付近の注目イオンピーク(523, 551, 579)が3本見られるのが特徴です。構成する脂肪酸の分子量が3つとも異なるため3本見られます。ピーク21のCIマススペクトルをFig.7に示します。構成する異なる3分子の脂肪酸を脂肪酸1, 2, 3とします。

ピーク21の予想分子量の計算式 $824 - 18 = 806$

ピーク21の脂肪酸1の分子量の計算式 $806 - 523 + 1 = 284$

ピーク21の脂肪酸2の分子量の計算式 $806 - 551 + 1 = 256$

ピーク21の脂肪酸3の分子量の計算式 $806 - 579 + 1 = 228$

上記の計算式より、3つの脂肪酸の分子量は、284, 256, 228と推定されます。ピーク21のトリグリセライドはC18, C16, C14の飽和脂肪酸により構成されていると推定されます。

パターン3

構成する3つの脂肪酸の分子量のうち2つが同一で一つが異なるパターンに該当するピーク19のEIマススペクトルをFig.8に示します。質量500~650付近の注目イオンピークが2本見られるのが特徴です。ピーク19のCIマススペクトルをFig.9に示します。構成する2通りの脂肪酸の分子量を脂肪酸分子量A, Bとします。

ピーク19の予想分子量の計算式 $796 - 18 = 778$

ピーク19の脂肪酸分子量Aの計算式 $778 - 523 + 1 = 256$

ピーク19の脂肪酸分子量Bの計算式 $778 - 551 + 1 = 228$

他のパターンと同様に、構成される脂肪酸の分子量は256, 228と推定されます。次に、どちらの脂肪酸が2分子含まれ、どちらが1分子であるのか決定する必要があります。通常、EIの注目イオンピーク2本のうち1本が強く、もう一つが弱く検出されます。多くの場合、強く検出されるイオンが2分子含まれる脂肪酸分子量を与えます。したがって本成分の場合、脂肪酸分子量Aに相当する分子量256の脂肪酸が2分子で、分子量228の脂肪酸が1分子と推定されます。しかし、EIの注目イオンピークの強度差が明確でない場合もあります。この場

合には、予想脂肪酸分子量合計とCI結果からの予想分子量とを照合する方法が有効です。

仮に分子量256の脂肪酸が1分子で、分子量228の脂肪酸が2分子として分子量を算出してみると

$256 + 228 + 228 + 38 = 750$

CI結果からの予想分子量778とずれが生じます。

一方、分子量256が2分子で分子量228が1分子であれば

$256 + 256 + 228 + 38 = 778$

こちらの計算では、CI結果からのピーク19の予想分子量と合致します。

計算式からも、分子量256の脂肪酸が2分子で分子量228の脂肪酸が1分子と推定されます。

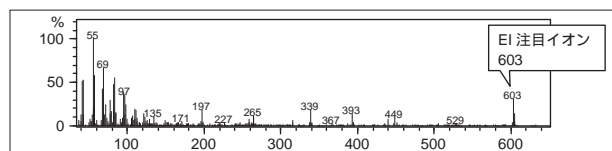


Fig.4 ピーク29のEIマススペクトル
EI Mass Spectrum of Peak #29

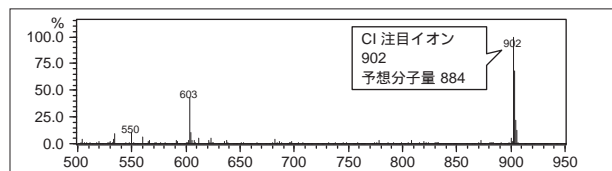


Fig.5 ピーク29のCIマススペクトル
CI Mass Spectrum of Peak #29

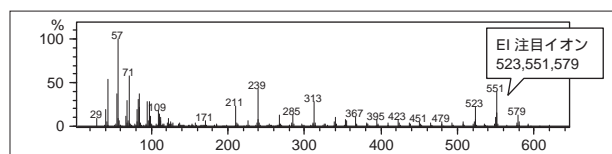


Fig.6 ピーク21のEIマススペクトル
EI Mass Spectrum of Peak #21

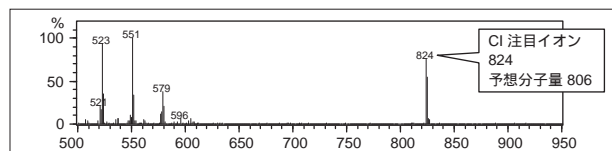


Fig.7 ピーク21のCIマススペクトル
CI Mass Spectrum of Peak #21

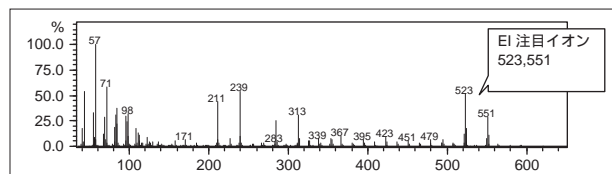


Fig.8 ピーク19のEIマススペクトル
EI Mass Spectrum of Peak #19

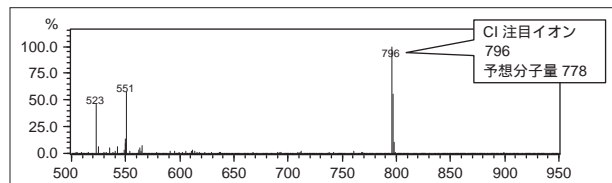


Fig.9 ピーク19のCIマススペクトル
CI Mass Spectrum of Peak #19

初版発行：2008年10月