

# Application Data Sheet

## No.85

### GC-MS

Gas Chromatograph Mass Spectrometer

## PCI-GC-MS/MS法を用いた脂肪酸分析

Analysis of Fatty Acids using PCI-GC-MS/MS

脂肪酸にはEPAやDHAなどのn-3系脂肪酸のように血中の中性脂肪を下げ人の健康に有益なものがある一方で、飽和脂肪酸などのように摂取しすぎると疾患のリスク上昇の原因となるものがあります。そのため、ライフサイエンス分野や食品工学分野で、これらの脂肪酸を一斉に分析するニーズが高まっており、メチル誘導体化する必要がありますが、多成分一斉分析に適したGC-MSが注目されています。

GC-MSを用いた脂肪酸分析ではイオン化にはEI(電子イオン化)法を用います。EI法はフラグメントイオンの種類が多いため、きょう雑物との質量分離できる $m/z$ を選び易い利点があります。しかし、フラグメントイオンの種類の多さからそれぞれのイオンの感度が低下し、微量の脂肪酸を検出できないことがあります。一方、PCI(正化学イオン化)法は、分子量の情報が得られるプロトン化分子イオンを検出でき、またフラグメントイオンの種類が少ないことから感度も向上します。しかし、モニタリングで選べるイオンの種類が少なく、きょう雑物と質量分離できるイオンが存在しない場合があります。

本アプリケーションデータシートでは、EI-SIM法、PCI-SIM法、EI-MRM法とPCI-MRM法の組み合わせで、感度について検討した結果を紹介いたします。また、アプリケーションデータシートNo.86では食品中の脂肪酸分析におけるきょう雑物との分離について検討した結果を紹介しています。ご参照ください。

### 分析条件

標準試料はSupelco® 37 Component FAME Mix (P/N:47885-U, SIGMA-ALDRICH)を用いました。標準試料をジクロロメタンを用いて段階的に希釈し、感度の評価に用いました。分析条件をTable 1に示します。EI-SIM法、PCI-SIM法、EI-MRM法とPCI-MRM法の分析条件やモニタリング $m/z$ はGC/MS代謝成分データベース Ver 2に含まれる分析メソッドを使用しました。

Table 1 分析条件

GC-MS	:GCMS-TQ8030		
カラム	:SP-2560 (長さ100m, 0.20mm I.D., df=0.25 $\mu$ m)		
ガラスインサート	:スプリットレスインサート ウール入り (PN:221-48876-03)		
[GC]		[MS]	
気化室温度	:250°C	インターフェース温度	:250°C
カラムオープン温度	:40°C(2分)→(4°C/分)→240°C(15分)	イオン源温度	:200°C
注入モード	:スプリット	測定モード	
スプリット比	:10	GC-MS	:SIM
キャリアガス制御	:線速度 (20.0 cm/秒)	GC-MS/MS	:MRM
注入量	:1 $\mu$ L	イオン化法	:EI法およびPCI法
		PCI試薬ガス	:イソブタン
		PCI試薬ガス圧力	:70 kPa

### 分析結果

Fig. 1にそれぞれの分析モードで測定した100pgのMethyl cis-10-heptadecenoate (Z,17:1n-7)のマスプロトグラムを一例として示します。感度は8回の繰返し分析において%RSDが20%以下になる面積値再現性の結果から検定を用いて定量下限を算出して評価しました。Table 2に各分析モードでの定量下限を示します。最も高感度な分析手法の定量下限から2倍以内の感度差の分析手法を優位性があったものとして、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸において各分析モードの有効性をTable 3に示します。不飽和脂肪酸においては、EI法よりもPCI法のほうが優れていました。

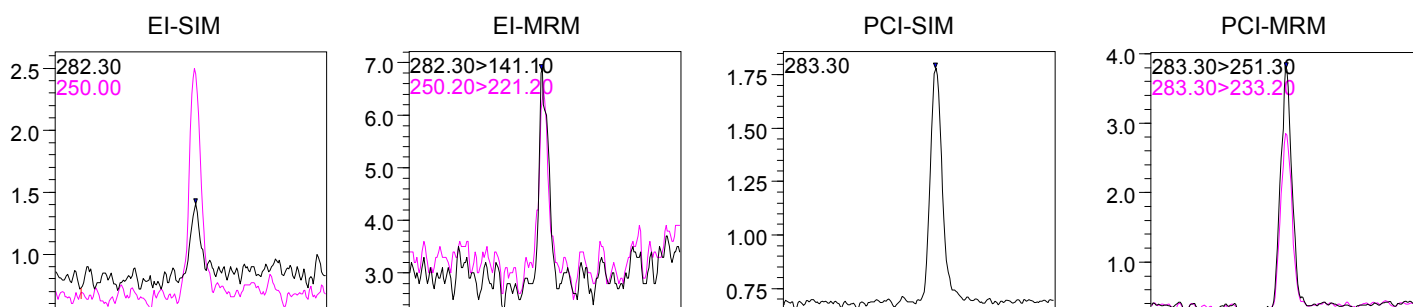


Fig. 1 各分析モードで測定したMethyl cis-10-heptadecenoate (Z,17:1n-7)のマスプロトグラム

Table 2 37種脂肪酸メチルエステルにおける各分析モードでの定量下限

	EI SIM LOQ (pg)	EI MRM LOQ (pg)	PCI SIM LOQ (pg)	PCI MRM LOQ (pg)
1 Methyl butanoate;4:0	26.0	2.8	8.3	1.9
2 Methyl caproate;6:0	39.2	3.5	5.9	3.6
3 Methyl caprylate;8:0	53.9	10.5	4.8	4.8
4 Methyl caprate;10:0	36.8	32.9	7.2	8.8
5 Methyl undecanoate;11:0	44.0	22.0	30.1	20.6
6 Methyl laurate;12:0	74.4	56.5	6.6	10.9
7 Methyl tridecanoate;13:0	42.2	48.7	5.2	13.2
8 Methyl myristate;14:0	69.7	5.6	5.5	10.1
9 Methyl myristoleate;(Z)14:1n-5	134.0	178.3	4.7	2.7
10 Methyl pentadecanoate;15:0	32.1	29.3	4.8	36.6
11 Methyl cis-10-pentadecenoate;(Z)15:1n-5	33.7	225.3	4.0	4.6
12 Methyl palmitate;16:0	74.5	12.6	7.3	15.2
13 Methyl palmitoleate;(Z)16:1n-7	249.5	36.0	19.0	16.2
14 Methyl margarate;17:0	22.0	5.6	20.0	29.2
15 Methyl cis-10-heptadecenoate;(Z)17:1n-7	245.9	215.7	22.1	14.5
16 Methyl stearate;18:0	11.6	10.2	8.9	35.3
17 Methyl elaidate;(E)18:1n-9	173.9	180.7	5.5	19.8
18 Methyl oleate;(Z)18:1n-9	58.1	353.2	6.4	9.8
19 Methyl linolelaidate;(E)18:2n-6	52.0	253.9	28.8	23.2
20 Methyl linoleate;(Z)18:2n-6	160.7	297.9	23.2	16.5
21 Methyl arachisate;20:0	11.6	9.1	11.5	58.5
22 Methyl gamma-linolenate;(Z)18:3n-6	349.8	167.8	17.6	81.2
23 Methyl cis-11-icosenoate;(Z)20:1n-9	145.1	45.1	22.0	36.0
24 Methyl linolenate;(Z)18:3n-3	213.1	414.6	23.9	135.7
25 Methyl heneicosanoate;21:0	41.0	33.7	25.5	108.5
26 Methyl cis-11,14-Icosadienoate;(Z)20:2n-6	238.4	282.1	13.4	36.5
27 Methyl behenate;22:0	7.0	29.6	23.3	279.0
28 Methyl eicosa-8,11,14-trienoate;20:3n-6	140.5	405.2	31.7	220.3
29 Methyl erucate;22:1n-9	143.3	387.8	31.2	96.1
30 Methyl cis-11,14,17-Icosatrienoate;(Z)20:3n-3	446.0	-	24.3	284.5
31 Methyl tricosanoate;23:0	24.8	54.2	19.3	357.2
32 Methyl arachidonate;(Z)20:4n-6	292.2	181.2	45.5	151.7
33 Methyl cis-13,16-Docosadienate;(Z)22:2n-6	283.2	335.3	315.7	128.1
34 Methyl lignocerate;24:0	10.3	52.6	41.8	503.8
35 Methyl cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoate;(Z)20:5n-3	437.4	286.5	54.9	184.9
36 Methyl nervonate;(Z)24:1n-9	230.7	445.2	56.5	99.4
37 Methyl cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoate;(Z)22:6n-3	281.7	161.5	304.2	255.7

\* 青字は不飽和脂肪酸を示しています。

\*\* は最も高感度な分析モードと比較して2倍以内のLOQであることを示しています。

Table 3 各分析モードでの感度優位性

測定モード	脂肪酸総計	飽和脂肪酸	不飽和脂肪酸
EI SIM	7	6	1
EI MRM	10	9	1
PCI SIM	32	13	19
PCI MRM	18	7	11

\* 最も高感度な分析手法の定量下限から2倍以内の感度差の分析手法を優位性があつたものとしました。