

GC-MS

Gas Chromatograph Mass Spectrometer

PCI-GC-MS/MS法を用いた食品中の脂肪酸分析

Analysis of Fatty Acids in Food 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齐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、きょう雑物との分離について検討した結果を紹介します。

前処理方法

各分析モードにおけるきょう雑物との分離を検討するためサンマを用いました。前処理方法はナカライテスク社から販売されている脂肪酸メチル化キット(P/N:06482)を用いました。前処理方法をFig. 1に示します。

サンマの可食肉食部を採取し、ミルで粉碎後、200mg計り取りました。抽出液を2mL添加し、かく拌後遠心分離して抽出液500 μLを得ました。抽出液を窒素气流下で乾固し、試薬AおよびBを500 μLずつ添加しました。37°Cで1時間静置後に試薬Cを500 μL添加し、さらに37°Cで20分静置しました。その後、抽出液を2 mL添加し、遠心分離後有機相を採取しました。イオン交換水で1mL有機相を洗浄し、試験溶液としました。

EI-SIM法、PCI-SIM法、EI-MRM法とPCI-MRM法の分析条件はアプリケーションデータシートNo.85を参照ください。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。

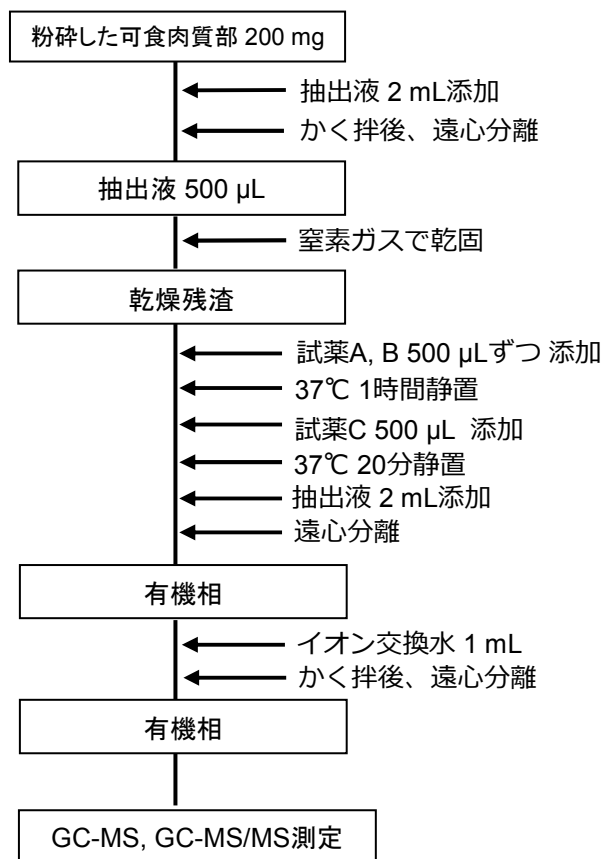
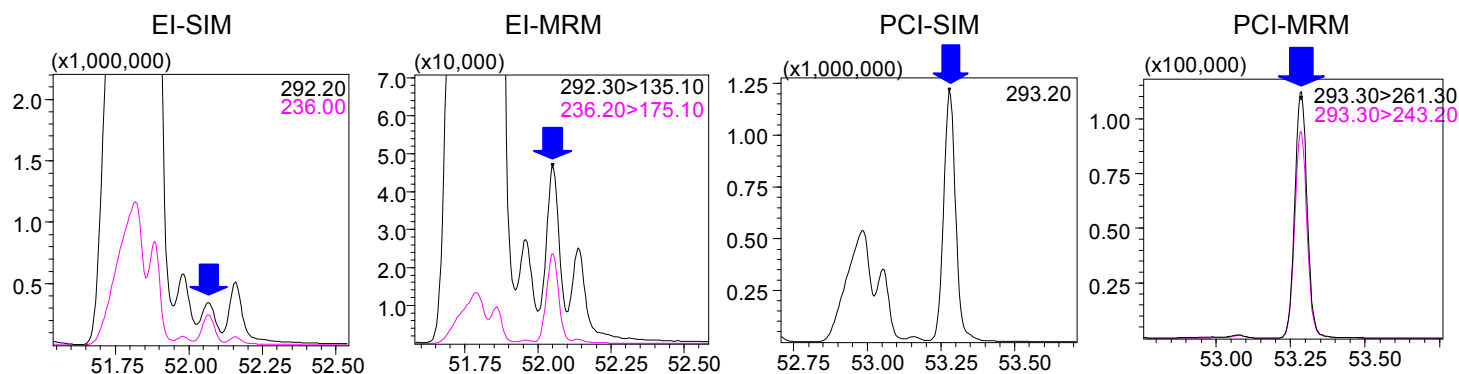


Fig. 1 サンマの前処理方法

分析結果

サンマ抽出試料を各分析モードで測定し、きょう雑物との分離について検討しました。大部分の脂肪酸メチルエステルについては、どの分析モードでもきょう雑物との分離は可能でした。しかし、一部の脂肪酸はEI-SIM、EI-MRMともにきょう雑物と完全に分離するのが困難でした。Fig. 2に分析モードにおいて、きょう雑物との分離に顕著な差が得られた脂肪酸メチルエステルの例を示します。(Z)-リノレン酸メチル(C18:3n-3)と(Z)-cis-11,14,17-イコサトリエン酸メチル(C20:3n-3)は、EI-SIM、EI-MRMともにきょう雑物との分離が困難でした。CI-SIMではある程度分離はできましたが、モニタリング m/z が種類が少ないため、ピーク同定が困難になる場合が想定されます。一方、CI-MRMでは、近傍に溶出するきょう雑物を質量分離により排除することができるため、ピーク同定が容易になりました。

(Z)-リノレン酸メチル(C18:3n-3)



(Z)-cis-11,14,17-イコサトリエン酸メチル(C20:3n-3)

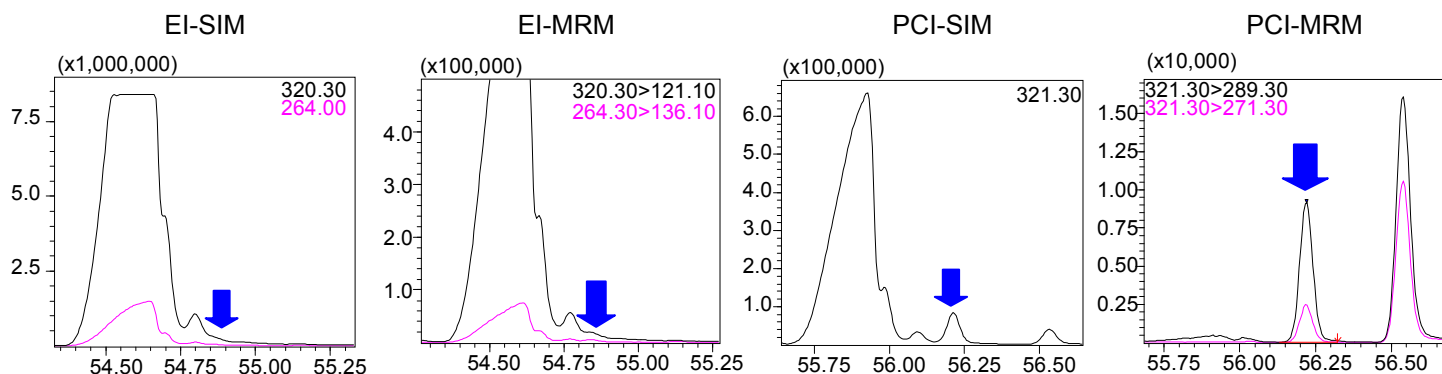


Fig. 2 各分析モードで測定したサンマ抽出物中の(Z)-リノレン酸メチル(C18:3n-3)と(Z)-cis-11,14,17-イコサトリエン酸メチル(C20:3n-3)のマスクロマトグラム

食品中の脂肪酸分析において、EI-SIM、EI-MRM、CI-SIM、CI-MRMの分析モードの感度ときょう雑物との質量分離について検討した結果、アプリケーションデータシートNo.85で示しましたように感度はPCI法が有効であり、特に不飽和脂肪酸において、EI法よりも高感度で検出できることが明らかになりました。また、きょう雑物との質量分離に関しては、PCI-MRMが最も優れておりピーク同定も容易でした。

以上のことから、脂肪酸の多成分一斉分析にPCI-MRMが有効であることが明らかになりました。