

ユーザーベネフィット

- ◆ 一つのサンプルから、3-MCPD、3-MCPD脂肪酸エステル、グリシドール脂肪酸エステルの分析が可能です。
- ◆ MRMモードによって、夾雑の影響を受けにくく、より高選択な分析ができます。
- ◆ GCMS-TQ8050 NXの高い堅牢性によって、高感度のMRM分析を安定して行うことが出来ます。

■はじめに

クロロプロパノール類 (MCPDs) は、油脂などから、食品加工の段階で生成される可能性がある化合物です。MCPDsと脂肪酸が結合したMCPD脂肪酸エステル類や、生体内で3-MCPDを生成するグリシドール脂肪酸エステル類が、油脂等に含まれていることも分かっています。

健康被害への懸念から、各国でMCPD脂肪酸エステル類及びグリシドール脂肪酸エステル類低減の努力は行われています。そして、乳幼児用調製乳等の3-MCPD脂肪酸エステル類について、欧州食品安全機関 (EFSA) は2021年1月1日から2年以内により低い基準値の設定を検討することとしています。

今回、EFSAが分析手法に採用しているAOACのOfficial Method 2018.12¹⁾を参考にして前処理を行い、GCMS-TQ8050 NXを用いた粉ミルク中の3-MCPD、3-MCPD脂肪酸エステル類、グリシドール脂肪酸エステル類のSIM, MRM分析を行いました。



図1 GCMS-TQ™8050 NX

■試薬の調製

- ・水酸化ナトリウム/メタノール溶液 (60 g/L)
水酸化ナトリウム 6.0 gをメタノール100 mLで溶解しました。
- ・臭化ナトリウム/リン酸水溶液 (600 g/L)
臭化ナトリウム 60 gをリン酸水溶液 (6.5 mL/L) 100 mLで溶解しました。
- ・フェニルボロン酸溶液 (5.0 mg/mL)
フェニルボロン酸50 mgをジエチルエーテル10.0 mLで溶解しました。
- ・d-3-MCPD溶液 (10 µg/mL)
d-3-MCPDをメタノールで10 µg/mLに調製しました。
- ・検量線用Stock溶液 (10 µg/mL)
3-MCPDをメタノールで10 µg/mLに調製する。脂肪酸エステル類の定量用に、3-MCPD-1,2-dioleoyl esterとglycidyl oleateを5 µg/mLに調製しました。

■分析フロー (3-MCPD)

図2に3-MCPDの前処理手順を示します。粉ミルクを2.00 g測り取り、メタノール (MeOH) 6.0 mLを添加し、65°Cで15分間超音波抽出を行います。その後、5分間、3000 rpmで遠心分離を行い、上清を分取します。さらに、メタノール-メチル-tert-ブチルエーテル (1:1) の混合溶媒、メチル-tert-ブチルエーテルを用いて同様の抽出操作を行い、それぞれの上清を合わせ、窒素乾固します。

乾固した物に硫酸ナトリウム飽和水溶液 4.0 mLを加えます。さらに、ヘキサン-メチル-tert-ブチルエーテル (4:1) の混合溶媒 2.5 mLによる液液分配を2回行い、それぞれを分取します。

粉ミルクに遊離型として含まれる3-MCPDは、水層に含まれます。水層にジエチルエーテル 2.0 mLを加えて分配抽出を行い、有機層を分取します。この操作を3回行います。ジエチルエーテル層にフェニルボロン酸溶液を加え、室温で5分間放置した後、窒素により完全に乾固します。最後にイソオクタン300 µLを加えて、200 µLをバイアル瓶に移し替えて、分析試料とします。

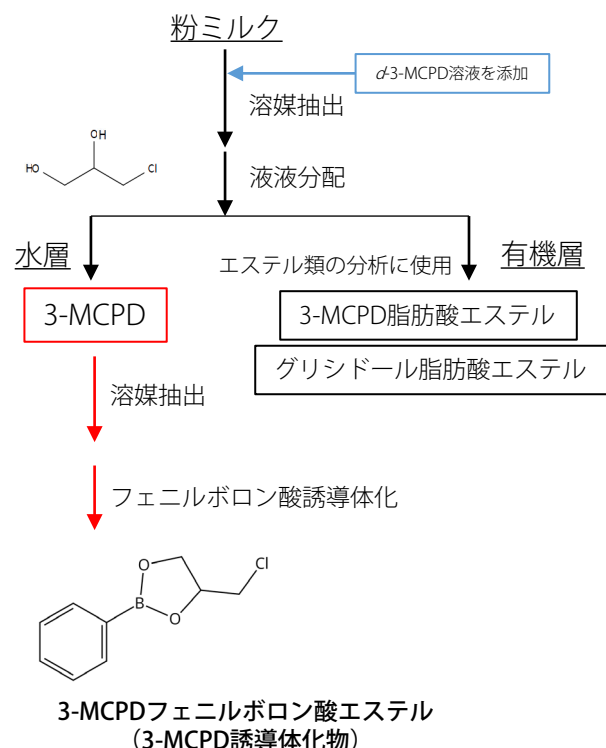


図2 3-MCPD分析の前処理フロー

■ 分析条件

| | |
|----------------------|---|
| モデル | : GCMS-TQ8050 NX |
| GC | |
| 気化室温度 | : 250℃ |
| 注入方法 | : スプリット |
| スプリット比 | : 20 |
| キャリアガス | : He |
| キャリアガス制御 | : 線速度 (50 cm/s) |
| カラム | : SH-5MS (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm) |
| カラム温度 | : 50℃ (1 min) - 10℃/min - 300℃ (3 min) |
| MS (EI法, MRM) | |
| イオン源温度 | : 200℃ |
| インターフェース温度 | : 300℃ |
| チューニングモード | : 標準 |
| 測定モード | : MRM |
| d-3-MCPD | : 150.0 > 93.0 (CE 12 V) |
| 3-MCPD | : 147.0 > 91.1 (CE 12 V) |
| 3-MBPD | : 242.0 > 147.2 (CE 15 V) |
| イベント時間 | : 0.3秒 |
| MS (EI法, SIM) | |
| 測定モード | : Scan/SIM同時測定 |
| | : Scan (m/z 50 ~ 500) |
| d-3-MCPD | : 201.0, 150.0, 93.0 |
| 3-MCPD | : 147.0, 146.0, 91.0 |
| 3-MBPD | : 242.0, 147.0, 91.0 |
| イベント時間 | : SIM (0.3秒), Scan (0.1秒) |

■ 3-MCPDの標準品分析

以下に3-MCPDの定量結果を示します。粉ミルク中の重量換算値として、50, 100, 500, 1000ppbの標準試料をフェニルボロン酸で誘導体化した後、分析を行いました。d-3-MCPDを内部標準に使用して補正しました。最低濃度の50ppbのSIMクロマトグラムを図3に示します。SIM分析における50ppbのS/N比は125.8、MRM分析では275.7であり、十分な感度が得られました。

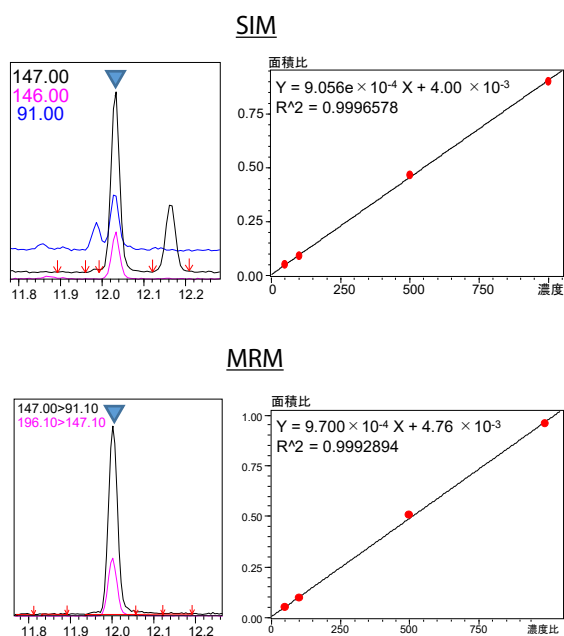


図3 検量線および3-MCPD (50ppb) の各種クロマトグラム

■ 粉ミルク中3-MCPDの分析結果

以下に粉ミルク中の3-MCPDの結果を示します。15ppb程度の3-MCPDが検出されました。SIM、MRMそれぞれの結果を図4に示します。

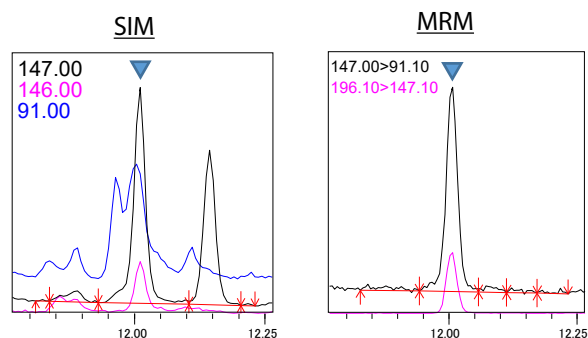


図4 粉ミルク中3-MCPDの各種クロマトグラム

■ 3-MCPD脂肪酸エステル、グリシドール脂肪酸エステルの前処理

粉ミルクに含まれる脂肪酸エステル類は有機層に含まれます。有機層を窒素乾固した後、メチル-tert-ブチルエーテル 3.0 mLを加えて油脂を溶解します。1.4 mLの水酸化ナトリウム/メタノール溶液を加え、-25℃で15~18時間静置します。2.4 mLの臭化ナトリウム/リン酸水溶液を加え、中和します。しっかりと混合した後、2層に分離するので、窒素を吹き付けて上層の有機層を除去します。この過程で、グリシドールと臭化ナトリウムが反応して、3-MBPDとなります。残った油脂を取り除くため、ヘキサンを加えて上層を捨てます。この操作を3回繰り返します。残った下層に、脂肪酸エステル由来のMCPD、MBPDが移行するので、先程の水層と同じ条件で誘導体化して分析試料とします。

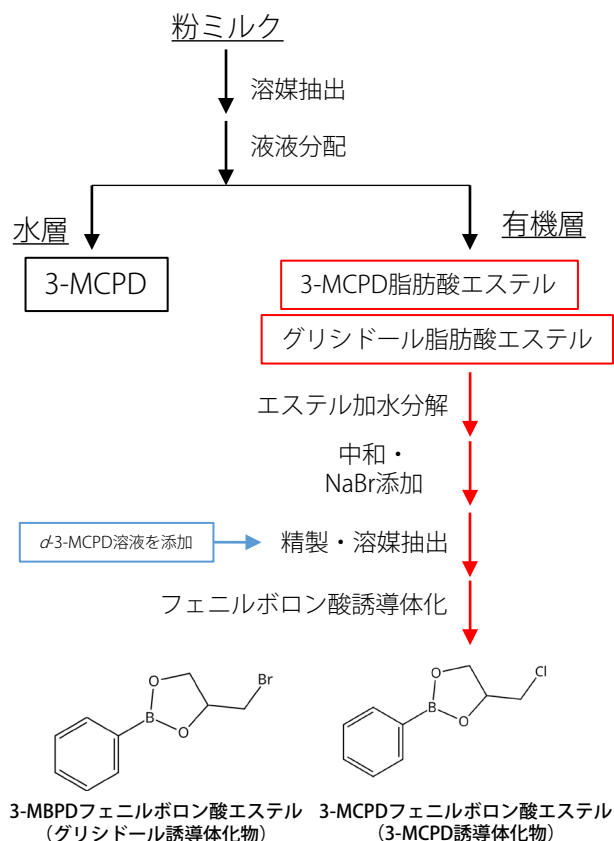
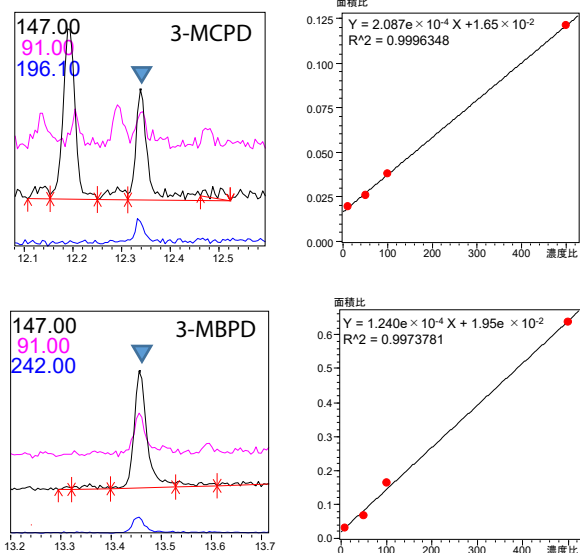


図5 MCPD脂肪酸エステル類分析の前処理フロー

■ 3-MCPD脂肪酸エステル、グリシドール脂肪酸エステルの標準品分析

以下に3-MCPD脂肪酸エステル、グリシドール脂肪酸エステルの定量結果を示します。粉ミルク中の重量換算値として、10, 50, 100, 500ppbの標準試料をフェニルボロン酸で誘導体化した後、分析を行いました。α-3-MCPDを内部標準に使用して補正しました。最低濃度の10ppbのSIMクロマトグラムを図3に示します。

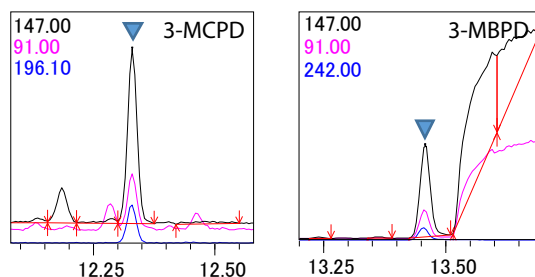
SIM



■ 実試料の分析結果

以下に実試料中のMCPD脂肪酸エステル類の各種クロマトグラム例を示します。いずれの手法でも高選択で分析が可能です。

SIM



MRM

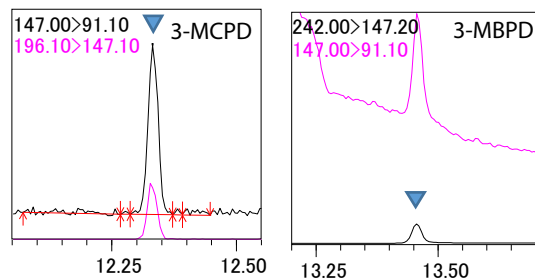


図7 粉ミルク中MCPD脂肪酸エステル類の各種クロマトグラム

MRM

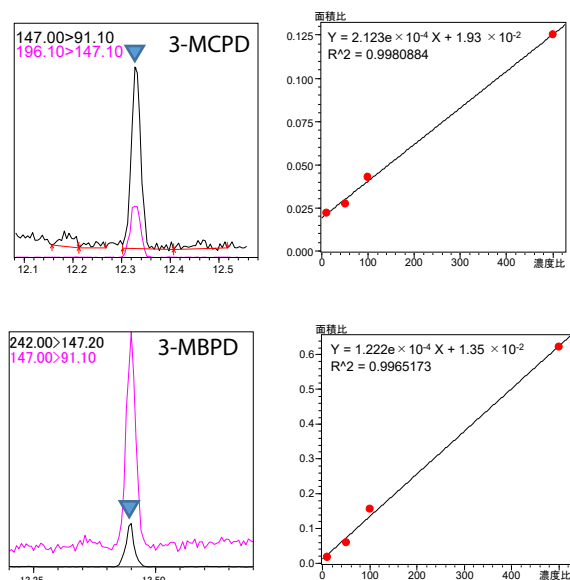


図6 MCPD脂肪酸エステル類の検量線および各種クロマトグラム (10ppb)

■ まとめ

AOAC Official Method を参考にした前処理を行い、SIM,MRM分析を行いました。十分な感度が得られました。SIM分析でも十分な感度が得られますが、MRM分析では、食品マトリクス中の夾雑成分の影響を受けにくくなります。今回、脂肪酸エステル類の定量値の補正にα-3-MCPDを使用しましたが、α-3-MCPD-1,2-dioleoyl ester、α-glycidyl oleateの使用が推奨されます。

AOAC Official MethodにおけるGCMS条件の詳細は以下の参考文献を参照してください。また、本条件を用いた3-MCPD以外の2-MCPDも同様の前処理で分析可能です。

■ 参考文献

- 1) AOAC Official Method 2018.12 "2-Monochloropropanediol (2-MCPD), 3-Monochloropropanediol (3-MCPD), and Glycidol in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula"

GCMS-TQは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00289-JP 初版発行：2021年12月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。

<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員制情報サービス Shim-Solutions Club に登録いただきますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。

新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2021