

ユーザーベネフィット

- ◆ FAME37の全ての脂肪酸を10分で分析し多検体を処理
- ◆ 真空を落とす必要がないスマート EI/CI イオン源のCIイオン化法によりピークの同定確度を向上
- ◆ 線速度一定モードを利用してルーチン (FID) に落とし込み可能

■はじめに

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構と島津製作所は「食」の機能性成分解析を目的とした共同研究により農産物や食品に含まれる機能性成分の簡便で迅速かつ正確な分析手法の開発を行っています。脂肪酸は栄養成分であるとともに機能性成分として高度不飽和脂肪酸や中鎖脂肪酸などが知られており、穀類、豆類などの農産物の機能性成分の一斉分析を行う際には脂肪酸にも注目する必要があります。



本報ではFAME 37 (Merk Millipore、P/N : CRM48775) に含まれる37種の脂肪酸を測定対象として大麦中に存在するグリセリド (トリグリセリド、ジグリセリド、モノグリセリド、レシチンなど)、遊離脂肪酸、ステロールエステルといった脂肪酸を高速で分析する手法を検討した結果を報告します。



■試料の前処理

大麦中の脂肪酸の抽出と誘導体化はナカライテスク株式会社の脂肪酸メチル化キット (P/N : 06482-04) を使用しました (図1)。

最終抽出試薬は使用方法記載の1 mLではなく2 mLを使用しました。



図1 脂肪酸メチル化キット

■装置システムと分析条件

表1に示す通り本実験ではGCMS-QP2020 NXを用いました。本システムは、100 VのGC-MSカラムオープンでも対応可能な範囲での高い昇温速度設定と高速Scanスピードでも高感度を保つASSP™特許技術により脂肪酸の高速分析を可能にしました。

GC-MSの分析条件 (表2) では制御モードに線速度一定モードを用いることでFIDへの移管が可能です。

高速20000 μ/秒のScanを用いたScan/SIM同時分析を用いることで従来70分要していた分析を約10分で完了できます。

表1 装置システム

GC-MS	: GCMS-QP 2020 NX
オートインジェクタ	: AOC-20i Plus
オートサンブラ	: AOC-20s Plus
分析カラム	: DB-FastFAME (20 m × 0.18 mm I.D., df = 0.20 μm) P/N : G3903-63010
ガラスインサート	: スプリット用不活性処理済みインサート ウール付

表2 GC-MSの分析条件

GC	
気化室温度	: 250 °C
注入モード	: スプリット
スプリット比	: 10
キャリアガス	: ヘリウム
制御モード	: 線速度一定 (53.4 cm/秒)
カラムオープン温度	: 60 °C (1分) → (40 °C/分) → 200 °C (3分) → (25 °C/分) → 250 °C (1分) 合計 10.50分
ページ流量	: 5 mL/分
試料注入量	: 1 μL
MS	
イオン源	: スマート EI/CI イオン源
イオン源温度	: 230 °C
インターフェイス温度	: 250 °C
イオン化法	: EI、CI (インソタン)
測定モード	: Scan/SIM同時測定 (FAAST)
Scan 質量範囲 (m/z)	: 35-600 (ASSP™高速Scan 20000 μ/秒)

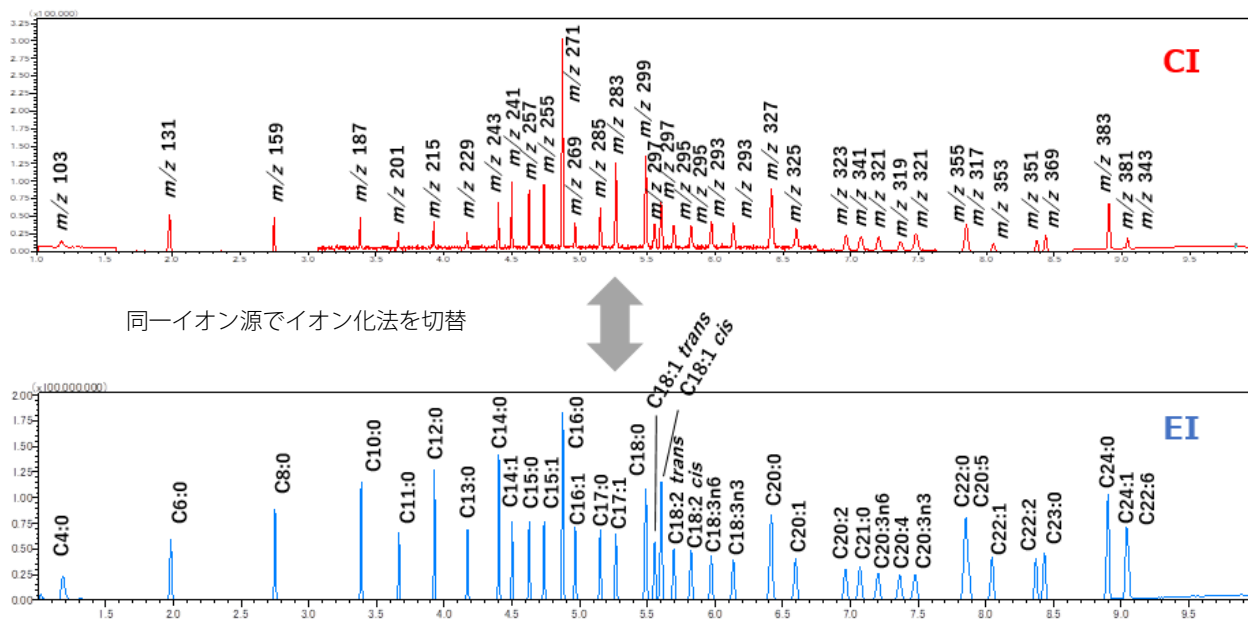


図3 希釈したFame37標準試料 (20 µg/mL) を同一スマート EI/CI イオン源で測定したクロマトグラム

■ スマート EI/CI イオン源

EIイオン化法で測定すると脂肪酸のマススペクトルが類似することから同定が難しくなることがあります。CIイオン化法で分子量 m/z を確認することでピーク同定の確度を高めることができます。

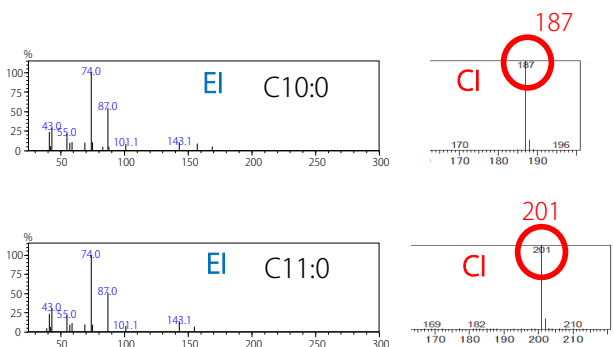
スマート EI/CI イオン源は真空を落とさずに同じバッチ内でEIイオン化法とCIイオン化法で測定することができます。

スマート EI/CI イオン源のCIイオン化法で取得したクロマトグラムを図3 (上) に示します。



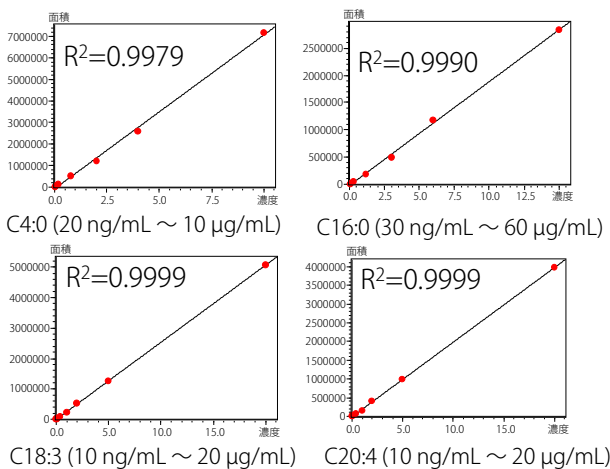
■ CIイオン化法の有効性

隣合う脂肪酸ピークのマススペクトルは下ののようにEIイオン化法では類似していますがCIイオン化法を用いることで分子量 m/z を確認でき同定しました。



■ 検量線

Fame37のすべての化合物に対して検量線をEI法で作製しました。Fame37標準液中の各成分の濃度が同一ではないことから希釈によって作製された検量線も化合物ごとに濃度範囲が異なりました。下に例を示します。



■ まとめ

GCMS-QP2020 NXを用いて脂肪酸の分析法を開発しました。

開発した高速分析方法によって大麦48サンプルの定量分析を行い品種による脂肪酸の含有量の違いなどを確認しました。

本実験を進めるにあたり国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の山本万里先生、十一浩典研究員、市来弥生研究員から多大な助言を賜りました。厚く感謝を申し上げます。

GCMS、GCMS-TQ、およびGCMS-QP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。