

## ノート

APCIダイレクトプローブTOF/MSを用いた  
油脂加工食品の検討

(平成28年3月23日受理)

伊藤志保美\* 近 宗 雅 人 猪之鼻修一 藤 田 和 弘

Analysis of Processed Foods Containing Oils and Fats by Time of Flight  
Mass Spectrometry with an APCI Direct Probe

Shihomi ITO\*, Masato CHIKASOU, Shuichi INOHANA and KAZUHIRO FUJITA

Japan Food Research Laboratories Tama Laboratory:  
6-11-10 Nagayama, Tama-shi, Tokyo 206-0025, Japan;

\*Corresponding author

Discriminating vegetable oils and animal and milk fats by infrared absorption spectroscopy is difficult due to similarities in their spectral patterns. Therefore, a rapid and simple method for analyzing vegetable oils, animal fats, and milk fats using TOF/MS with an APCI direct probe ion source was developed. This method enabled discrimination of these oils and fats based on mass spectra and detailed analyses of the ions derived from sterols, even in samples consisting of only a few milligrams. Analyses of the mass spectra of processed foods containing oils and milk fats, such as butter, cheese, and chocolate, enabled confirmation of the raw material origin based on specific ions derived from the oils and fats used to produce the final product.

(Received March 23, 2016)

**Key words:** 質量分析 mass spectrometry; 油脂加工食品 processed food of oils and fats; 直接イオン化 direct ionization; 飛行時間型質量分析計 TOF/MS

## 緒 言

植物性、動物性、乳脂肪由来の油脂は、ほとんどがトリアシルグリセロール (TAG) などのグリセリン脂肪酸エステルと遊離脂肪酸の混合物であり、赤外吸収スペクトルではすべて同様のスペクトルパターンを示すことから識別が困難である。異種油脂の判別を行うためには、GCまたはGC/MS<sup>1)</sup> などを用いて油脂のケン化物を誘導体化後脂肪酸組成比を求めたり、不ケン化物 (ステロール) の分析結果から総合的に判断する手法や、油脂を直接アセトンなどに溶解し、蒸発光散乱検出器 (ELSD)などを装着したLCやLC/MS, LC-TOF/MS<sup>2), 3)</sup>を用いて直接アシルグリセロールの分析を行う手法がある。前者では、操作が煩雑で分析時間もかなり長く、後者は比較的簡便ではあるが、分離に15分前後の時間を要する。

近年、DART (Direct Analysis in Real Time) イオン化法<sup>4), 5)</sup>のように、クロマト分離を介さず、大気圧下で直接イオン化を行い質量分析計で測定するという技術が開発さ

れており、前処理なしで微量な試料でもマスペクトルの測定が可能である。DARTイオン化法の原理は、励起状態のガスと水分子および熱脱着した試料中の分子が相互作用し、イオン化する方法であるが、試料をかざす位置や周辺大気の影響を受けやすいという問題点もある。

一方、DARTと同様なイオン化法であるAPCIダイレクトイオン化法<sup>6)</sup>は、固体・液体試料中の揮発性・半揮発性物質を、加熱窒素ガスを用いて気化させ、コロナ放電によりイオン化する方法であるが、試料の付着したガラス棒を専用装置に接続し、APCI用イオン源にスライドするだけで、位置も固定でき、周辺大気の影響も受けにくい。そのため、TAGなどの難揮発性物質も直接イオン化可能であり、微量な油脂のマスペクトルを迅速・簡便に測定できる。

そこで筆者らは、APCIダイレクトプローブTOF/MSを用いて、植物性油脂、動物性油脂、乳脂肪のマスペクトルを精密に解析することにより、油脂の異同判別を試み、さらにそれらの加工食品への応用についても検討し、良好な結果が得られたので報告する。

\* 連絡先 itous@jfrl.or.jp

一般財団法人日本食品分析センター 多摩研究所:  
〒206-0025 東京都多摩市永山6-11-10

## 実験方法

### 1. 試料

市販されている植物性油脂（オリーブ油、大豆油、なたね油、米油、ごま油、ぶどう油、サフラワー油、ひまわり油、コーン油、パーム油）、動物性油脂（ラード、鶏肉の脂身、牛脂、サメ肝油）および油脂加工食品（バター、チーズ、粉ミルク、マーガリン、チョコレート、マヨネーズ）を直接試料とした。また、イクラ、煮干し、オキアミについては、5 gまたは10 gをヘキサンおよびイソプロパノールの混液（3:2）30 mLで10分間振とう抽出後、水洗し、溶媒留去したものを試料とした。

### 2. 装置および測定条件

分析には、QTOF/MS（ブルカー・ダルトニクス社製のmaXis impact）を用い、ポジティブモードで測定した。試料導入には、APCI用ダイレクトプローブを用いた。イオン源の模式図をFig. 1に示した。

乾燥ガス流量は3.5 L/min、キャピラリー電圧は4,500 V、コロナ電流は4  $\mu$ A、 $m/z$  50~2,000の質量範囲で測定した。プローブ加熱温度は350℃に設定した。

## 結果および考察

### 1. プローブ加熱温度の検討

あらかじめ450℃で空焼きした専用のガラス管の先にコーン油を少量付着させ、350℃に設定したプローブ内に測定開始後すぐに挿入し、マススペクトルを1分間測定した。ガラス棒をプローブ内に導入後は、まず遊離脂肪酸や

ステロールがイオン化し、引き続きモノアシルグリセロール (MAG)、ジアシルグリセロール (DAG)、TAGがイオン化した。その後、プローブ温度を400℃にすると遊離脂肪酸、ステロールは減少したのに対して、DAGのイオンは飽和し、さらに450℃にすると重合物のイオンも観察された (Fig. 2)。

この結果から、プローブ温度は350℃に設定した。

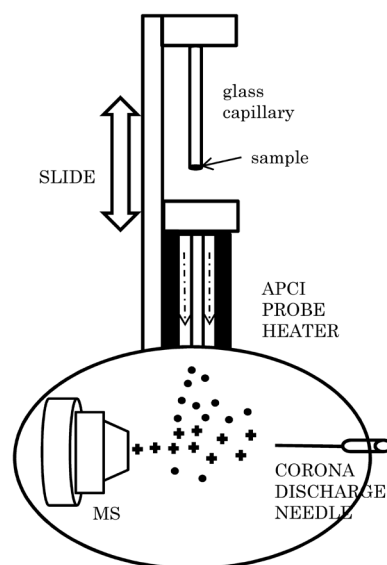


Fig. 1. Schematic diagram of APCI direct probe

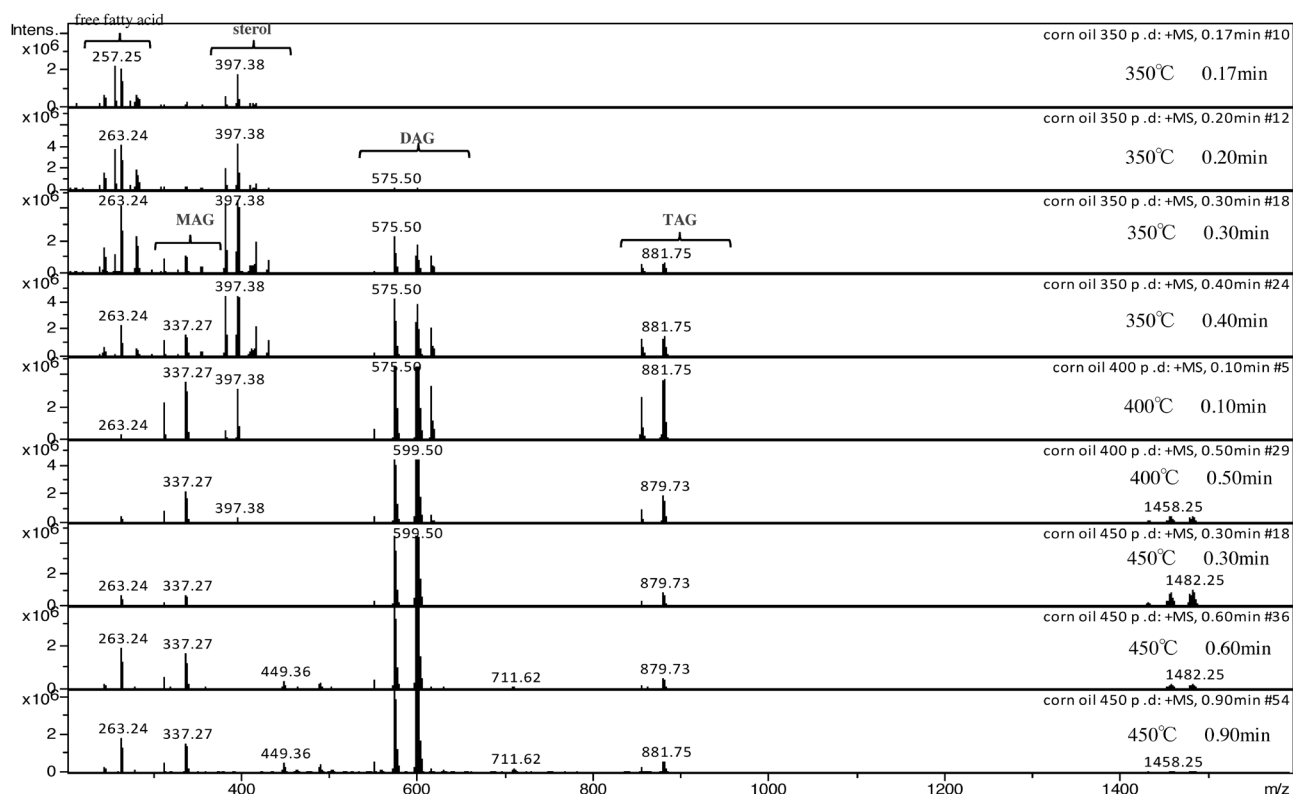


Fig. 2. Relation of heating temperature and mass spectra

**Table 1.** Calculated mass number of fatty acid and monoacylglyceride ( $M+H^+$  and  $M-H_2O+H^+$  ion)

Fatty acid		Free fatty acid		Monoacylglyceride (MAG)	
		$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$	$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$
Butyric acid	C4 : 0	89.06	71.05	163.10	145.09
Caproic acid	C6 : 0	117.09	99.08	191.13	173.12
Caprylic acid	C8 : 0	145.12	127.11	219.16	201.15
Capric acid	C10 : 0	173.15	155.14	247.19	229.18
Lauric acid	C12 : 0	201.19	183.17	275.22	257.21
Myristic acid (M)	C14 : 0	229.22	211.21	303.25	285.24
Pentadecanoic acid	C15 : 0	243.23	225.22	317.27	299.26
Palmitic acid (P)	C16 : 0	257.25	239.24	331.28	313.27
Palmitoleic acid	C16 : 1	255.23	237.22	329.27	311.26
Margaric acid	C17 : 0	271.26	253.25	345.30	327.29
Stearic acid (S)	C18 : 0	285.28	267.27	359.32	341.31
Oleic acid (O)	C18 : 1	283.26	265.25	357.30	339.29
Vaccenic acid	C18 : 1	283.26	265.25	357.30	339.29
Linoleic acid (L)	C18 : 2	281.25	263.24	355.28	337.27
$\alpha$ -Linolenic acid (Ln)	C18 : 3	279.23	261.22	353.27	335.26
Arachidic acid (Ad)	C20 : 0	313.31	295.30	387.35	369.34
Arachidonic acid	C20 : 4	305.25	287.24	379.28	361.27
Eicosapentaenoic acid (EPA)	C20 : 5	303.23	285.22	377.27	359.26
Docosahexaenoic acid (DHA)	C22 : 6	329.25	311.24	403.28	385.27

**Table 2.** Calculated mass number of diacylglyceride ( $M+H^+$  and  $M-H_2O+H^+$  ion)

Diacylglyceride	$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$	Diacylglyceride	$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$
C4&C6	261.17	243.16	PO	595.53	577.52
C6 DAG	289.20	271.19	PS	597.55	579.54
C6&C8	317.23	299.22	LnLn	613.48	594.46
C8 DAG	345.26	327.25	LLn	615.50	597.49
C8&C10	373.30	355.28	LL, OLn	617.51	599.50
C10 DAG	401.33	383.32	SLn, OL	619.53	601.52
C10&C12	429.36	411.35	SL, OO	621.55	603.54
C12 DAG	457.39	439.38	SO	623.56	605.55
C12&C14	485.42	467.41	PAd, SS	625.58	607.57
MM	513.45	495.44	LnAd	647.56	629.55
MP	541.48	523.47	Lad	649.58	631.57
PP	569.51	551.50	OAd	651.59	633.58
PLn	591.50	573.49	SAd	653.61	635.60
PL	593.51	575.50	AdAd	681.64	662.62

**Table 3.** Calculated mass number of triacylglyceride ( $M+H^+$  and  $M-H_2O+H^+$  ion)

Triacylglyceride	$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$	Triacylglyceride	$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$
C6 TG	387.27	369.26	LnLnLn	873.70	855.69
C8 TG	471.37	453.36	OLnLn, LLLn	877.73	859.72
C10TG	555.46	537.45	LLL, OLLn	879.74	861.73
C12TG	639.56	621.55	OOLn, OLL	881.76	863.75
C14TG	723.65	705.64	SOLn, OOL, LLS	883.78	865.76
PPP	807.74	789.73	OOO, PLnAd, SSLn, SOL, SLLn	885.79	867.78
PPLn	829.73	811.72	PLAd, SSL, SOO	887.81	869.80
PPL	831.74	813.73	POAd, SSO	889.82	871.81
PPO	833.76	815.75	SSS, PSAd	891.84	873.83
PPS	835.78	817.76	LLnAd	909.79	891.78
PLLn	853.73	835.72	OLnAd, LLAd	911.81	893.80
POLn, PLL	855.74	837.73	SLnAd, OLAd	913.82	895.81
PSLn, POL	857.76	839.75	SLAd, OOAd	915.84	897.83
PSL, POO	859.78	841.76	SOAd	917.85	899.84
PSO	861.79	843.78	SSAd	919.87	901.86
PPAd, SSP	863.81	845.80	AdAdAd	975.93	957.92

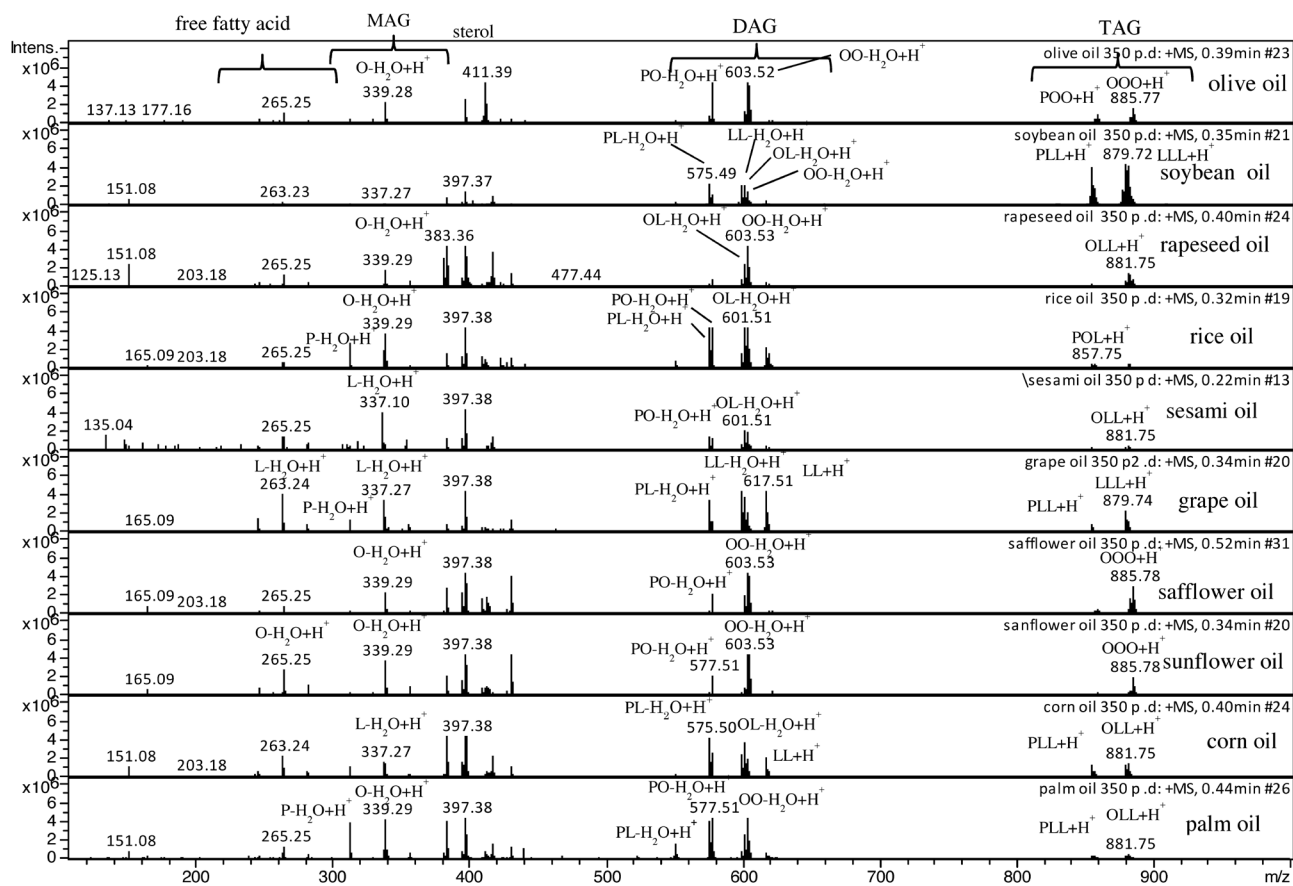


Fig. 3. Mass spectra of vegetable oils

## 2. 各油脂のマススペクトルの測定

植物性油脂、動物性油脂、油脂加工食品おのものを350℃に設定したプローブ内に挿入し、マススペクトルを1分間測定した。油脂に含有されると推定される遊離脂肪酸、MAG、DAGおよびTAG由来のイオンの質量電荷比 ( $M+H^+$ ,  $M-H_2O+H^+$ ) をTable 1~3に示した。

植物性油脂はオレイン酸 (O)、リノール酸 (L) などの不飽和脂肪酸を多く含み、なかにはパルミチン酸 (P)、ステアリン酸 (S) などの飽和脂肪酸も含むものや、その組成比が特徴的なものもある。マススペクトル中の遊離脂肪酸、MAG、DAG由来のイオンおよび強度比を観測することによりオリーブ油にはオレイン酸が、ごま油にはリノール酸が、パーム油にはパルミチン酸とオレイン酸が多いなどのおおまかな脂肪酸組成の推定が可能であった (Fig. 3)。

さらに、 $m/z$  300~500付近を拡大すると、トコフェロール ( $M+H^+$ ) やステロール ( $M-H_2O+H^+$ ) に加え、オリーブ油に多く含まれるスクアレン、なたね油のブラシカステロール<sup>1)</sup>、ごま油のセサミン<sup>1)</sup> などの特異的なイオンも観測された (Table 4, Fig. 4)。

ラード、鶏肉の脂身、牛脂といった動物性油脂中に観測されたステロールは、コレステロールのみであり、サメ肝油にはEPAやDHA由来と推定されるイオン ( $M+H^+$ ) も観測された (Fig. 5)。

Table 4. Calculated mass number of sterols and related compounds ( $M+H^+$  and  $M-H_2O+H^+$  ion)

Sterol	Rational formula	$M+H^+$	$M-H_2O+H^+$
$\beta$ -Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	—	397.38
Campesterol	$C_{28}H_{48}O$	—	383.37
Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	—	395.37
Brassicasterol	$C_{28}H_{46}O$	—	381.35
Ergosterol	$C_{28}H_{44}O$	—	379.34
Cholesterol	$C_{27}H_{46}O$	—	369.35
Squalene	$C_{30}H_{50}$	411.40	—
$\alpha$ -Tocopherol	$C_{29}H_{50}O_2$	431.38	—
$\beta, \gamma$ -Tocopherol	$C_{28}H_{48}O_2$	417.37	—
$\delta$ -Tocopherol	$C_{27}H_{46}O_2$	403.36	—
$\alpha$ -Tocotrienol	$C_{29}H_{44}O_2$	425.34	—
$\beta, \gamma$ -Tocotrienol	$C_{28}H_{42}O_2$	411.32	—
$\delta$ -Tocotrienol	$C_{27}H_{40}O_2$	397.31	—

## 3. 油脂加工食品での検討

バターおよびチーズなどの乳製品のマススペクトルは、DAGイオン ( $M-H_2O+H^+$ ) が乳脂肪に由来するC12を中心とした中鎖脂肪酸に特有なパターンを示し、粉ミルクおよびチョコレートは乳脂肪以外に、植物性油脂や動物性油脂と同様のC18を主体とした高級脂肪酸に特有なパターンも観測された。また、チョコレートおよびマーガリンには植物ステロール<sup>7), 8)</sup> が、マヨネーズには植物ステ

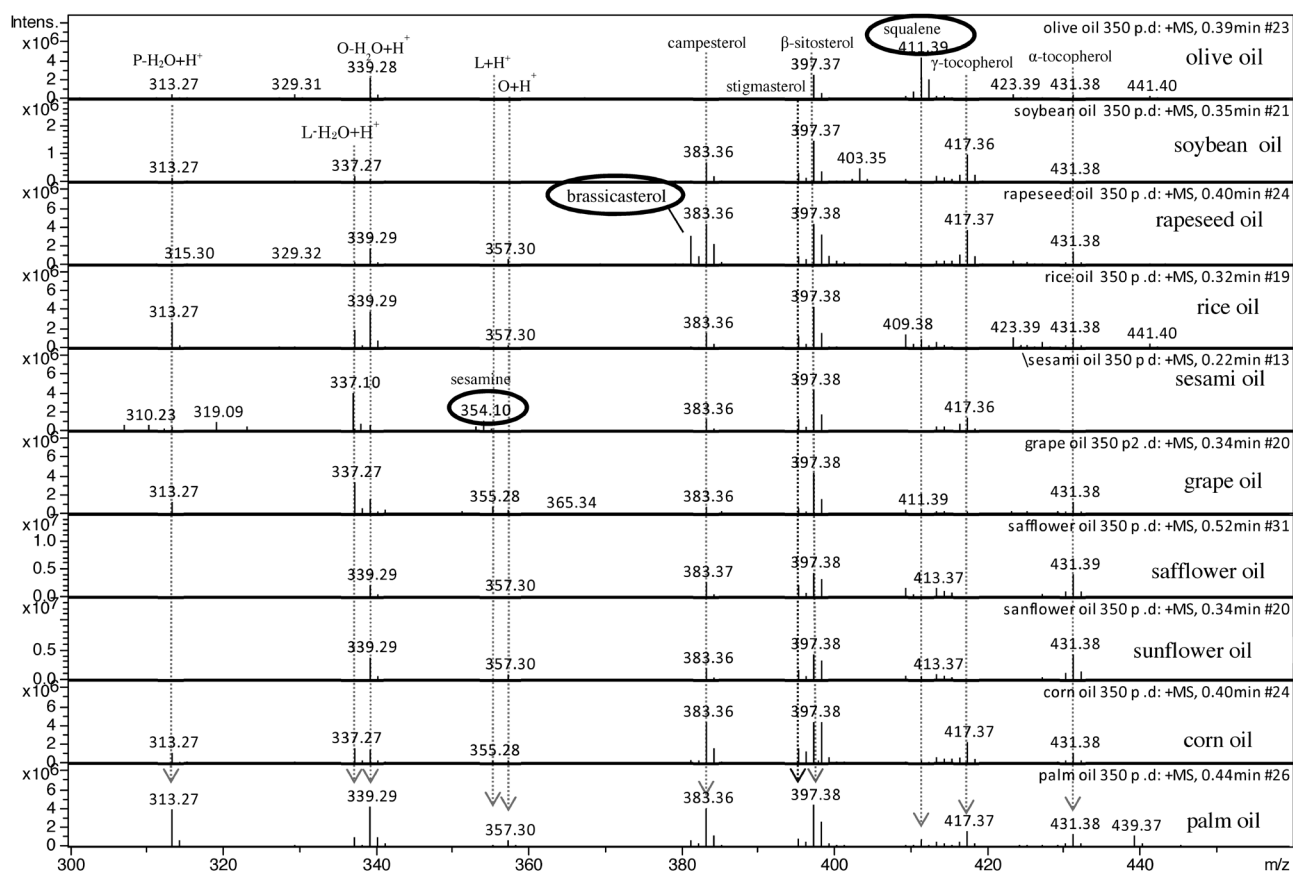
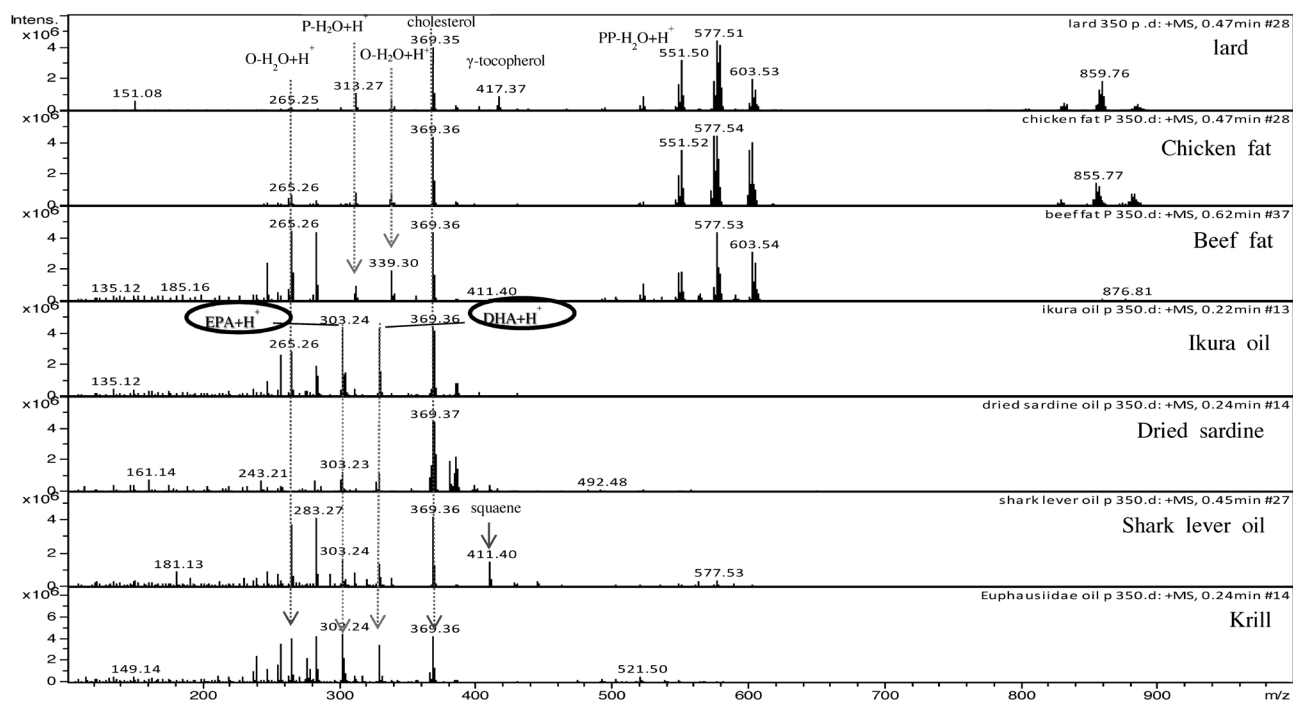
Fig. 4. Mass spectra of vegetable oils (from  $m/z$  300-460)

Fig. 5. Mass spectra of animal fats and fish oils



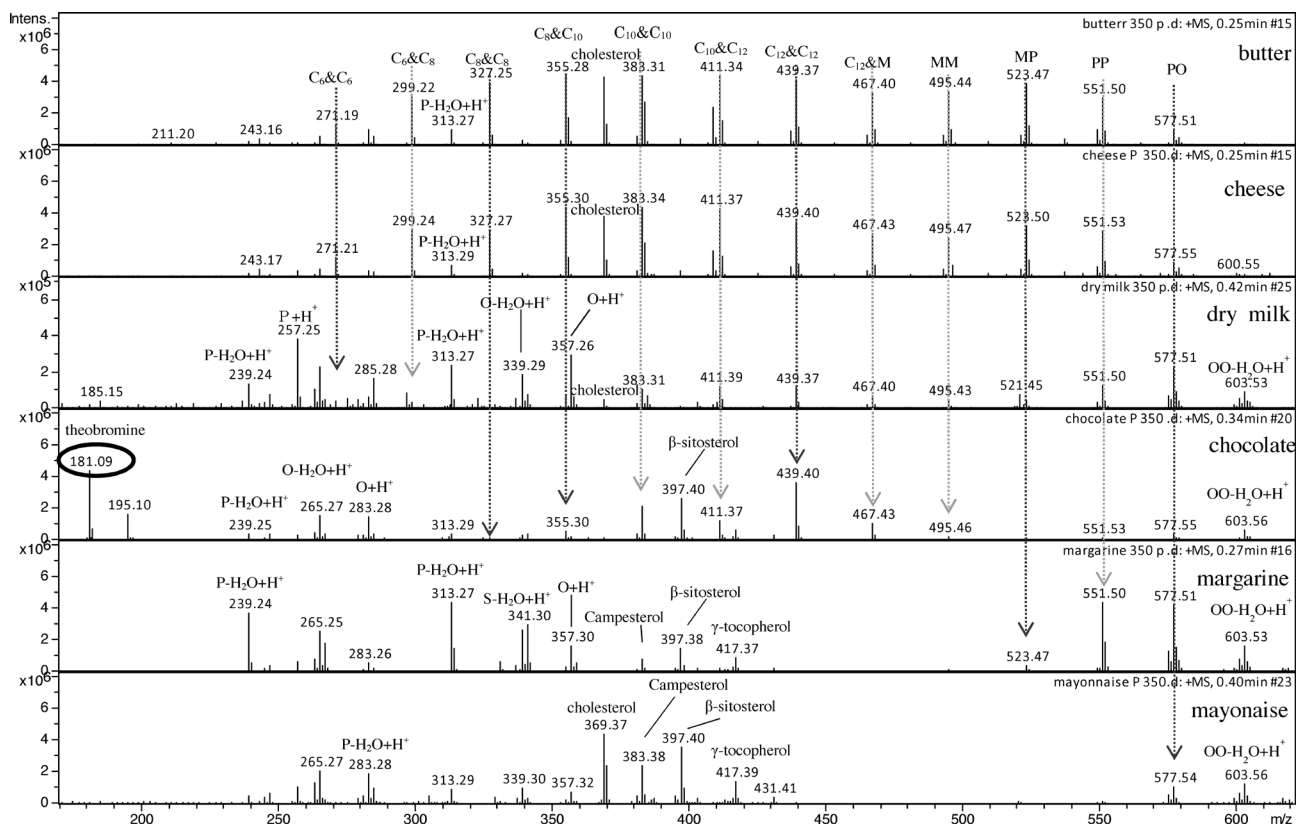


Fig. 6. Mass spectra of oils and fats of processed food

ロールに加え卵由来のコレステロールが観測された。さらに、チョコレートにはカカオの特有成分であるテオブロミン ( $C_7H_8N_4O_2$ : 180) 由来のイオン ( $M+H^+$ : 181) も観測された (Fig. 6)。

## まとめ

APCIイオン源用ダイレクトプローブを用いることにより微量な油脂のマスペクトルを迅速・簡便に測定することが可能であり、比較的迅速なLC/MS測定よりも、分析時間が1/10に短縮可能であった。プローブ加熱温度は、揮発性物質も数秒間安定して観測できる350℃とした。

油脂は、糖やタンパク質よりイオン化されやすいため、糖やタンパク質を含有したチョコレート、チーズ及びマヨネーズなどの油脂加工食品中でも油脂由来のイオンを明確に観測できた。油脂中のMAG、DAGおよびTAG由来の各イオンの強度比を精密に比較することにより、油脂間の異同判別の可能性が示唆された。しかしながら、同一種の油脂でも個体差があるため、スペクトルのプロファイリングによる油脂の特定自体は難しいと推測された。ステロールやDAG由来のスペクトルパターンに注目することにより植物性油脂、動物性油脂、乳脂肪の識別が可能であった。また、ごまのセサミンやカカオのテオブロミンのように、マーカー成分が観測された場合には、ごま由来やカカオ由来などと原材料を特定できる可能性が考えられた。

## 文献

- 1) Yamaguchi, K., Kurata, S. Forensic discrimination of unsaponifiables of fats and oils using gas chromatography/mass spectrometry. *Bunseki Kagaku*, **54**, 1091–1100 (2005).
- 2) Mikuma, T., Kaneko, T. Forensic discrimination of vegetable oils using direct detection of acylglycerols by liquid chromatography/mass spectrometry. *Bunseki Kagaku*, **59**, 399–404 (2010).
- 3) Michael, H., Hana, V., Miroslav, L., Petr, C. Orthogonality of silver-ion and non-aqueous reversed-phase HPLC/MS in the analysis of complex natural mixtures of triacylglycerols. *J. Sep. Sci.*, **32**, 3672–3680 (2009).
- 4) Kikura-Hanajiri, R. Simple and rapid screening for target compounds using direct analysis in real time (DART)-MS. *FFI JOURNAL*, **215**, 137–143 (2010).
- 5) Abe, Y., Yamaguchi, M., Mutsuga, M., Hirahara, Y., Kawamura, M. Discrimination of plasticizers and screening of phthalates in polyvinyl chloride using DART-TOF/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **51**, 160–169 (2010).
- 6) Wada, S., Kawai, T., Takahashi, H., Miyashita, K. Discrimination of oil by mass spectrometry with atmospheric solids analysis probe. *Gunmakenritu Sangyou Gijyutsu senta Kenkyu Nenpo*, 41–43 (2010).
- 7) Oka, Y., Kiriya, S., Yoshida, A. Sterol composition of edible vegetable oils and investigation of the conditions of sterol analysis. *Eiyou to Syokuryou (J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.)*, **25**, 63–67 (1972).
- 8) Kajimoto, G., Wakino, M., Yoshida, H., Shibahara, A. Changes in the sterol composition of vegetable oils with heating. *Yukagaku (J. Jpn. Oil Chem. Soc.)*, **33**, 793–796 (1984).