UPLC / Q-TOFを用いた植物油の加熱処理における劣化機構解析

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Nobutake Sato, Tatsuya Ezaki
日本ウォーターズ株式会社

INTRODUCTION

フライ食品など油脂を加熱して調理する製品では加熱において酸化や油脂を構成する脂肪酸の切断などが起こる。また脂溶性ビタミンの減少や毒性物質の生成により製品価値の低下や栄養価が損失される。調理食品では油脂の加熱劣化を抑制することが必要であるが、加熱劣化は自動酸化のみならず加水分解、重合、熱分解反応など複雑に関与するため劣化生成物の同定が困難であった。また、加熱劣化に寄与する成分を油脂中から探索するには網羅的にサンプル中の成分を測定し、増加・減少など差異のある成分を抽出できる分析技術が必要である。
近年、油脂など逆相での分離が困難な化合物にも高いピークキャパシティで高いクロマトグラム分解能を有する高速高分離なLC、またMS技術の向上により安定的に高い精密質量精度で高感度測定が可能なTof MSが多く用いられている。
本研究では、これら分析機器により植物油を用いて加熱劣化により生成または減少するマーカー成分を探索・同定し、加熱劣化の機構について検討した。

SAMPLE PREPARATION

食用油をガラスピンに取り、ブロックヒーターにてそれぞれ中温150℃および高温180℃で30分間加熱後室温にて放冷した。この加熱・放冷を3サイクル繰り返した食用油および加熱しない食用油（Control）をサンプルとした。
それぞれの食用油はTHFで10倍希釈した後、イソプロパノールにて適宜希釈し分析に用いた。

METHODS

UPLC	
Instrument:	ACQUITY UPLC I-Class
Column:	ACQUITY UPLC CSH C_{18} 2.1ID x 100 mm, 1.7 µm
Flow rate:	0.4 mL/min.
Column heater:	55℃
Mobile Phese A:	10 mM-$HCOONH_4$ aq. /Acetonitrile(4/6)
Mobile Phese B:	10 mM-HCOONH4 Isopropanol/Acetonitrile (9/1)

Gradient：

Time(min)	%A	%B	Curve
0	35	65	
10	15	85	6
11	1	99	6
12	35	65	11

Total Run Time: 15 min

MS	
Instrument:	Xevo G2-S Q-TOF
Ionization mode:	ESI positive
Capillary:	2.0 kV
Sampling Cone:	30 V
Source Temp:	120 ℃
Desolvation Temp:	500℃
Cone Gas Flow:	50 L/hr.
Desolvation Gas Flow:	1000 L/hr.
Resolving Power:	<32,500

RESULTS AND DISCUSSION

図1に各サンプルのトータルイオンクロマトグラムを示す。トータルイオンクロマトグラムでは差異の判別は困難であるが、多変量解析を用いることで、スコアプロットでサンプル間の差、ローディングプロットで差に寄与する成分が視覚化される。

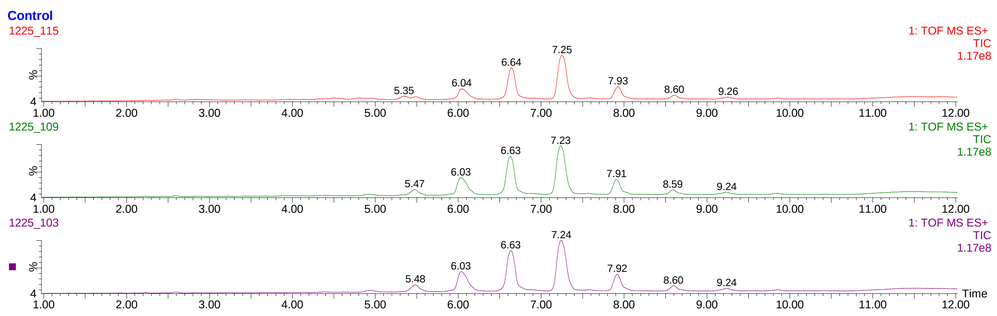

図1. トータルイオンクロマトグラム

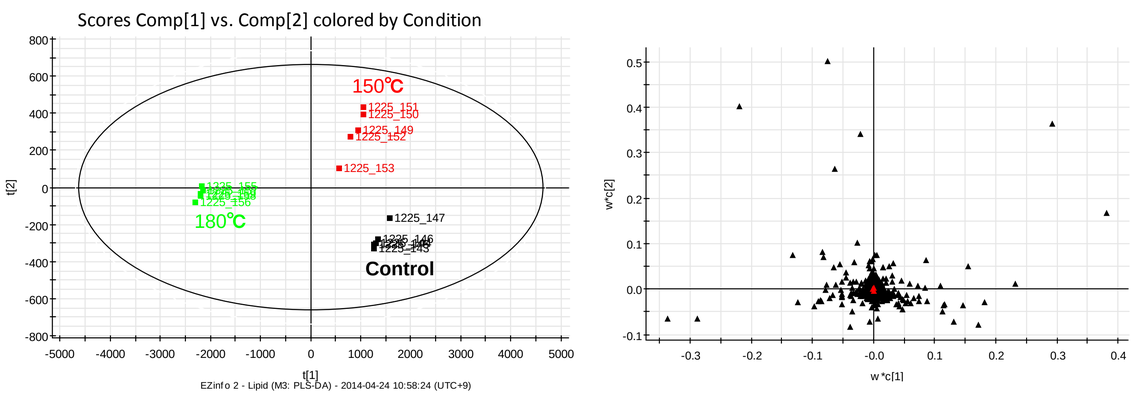

図2. PCA:スコアプロット（左）およびローディングプロット（右）

劣化の多い180℃サンプルとControlサンプルの2群間比較のS-プロットを図3に示す。S-プロットにすることにより、レスポンスの差の大小にかかわらず180℃サンプルに多い成分は上端に、Controlサンプルに多い成分は下端にプロットされるためレスポンスの差が小さい成分でも差に寄与する成分が視覚化される。
差異のある成分について精密質量とアイソトープパターンより組成を決定し、MSMSスペクトルにより構造を推定した結果を図4に示す。フラグメントスペクトルより壊裂する位置を決定するMassFragment ソフトウェア用い構造推定した結果、180℃サンプルに多い成分の1つとしてオレイン酸とリノール酸からなるトリグリセリドのリノール酸が酸化された化合物と推定された。
他の差異のある酸化物より想定される酸化劣化機構を図5に示す。

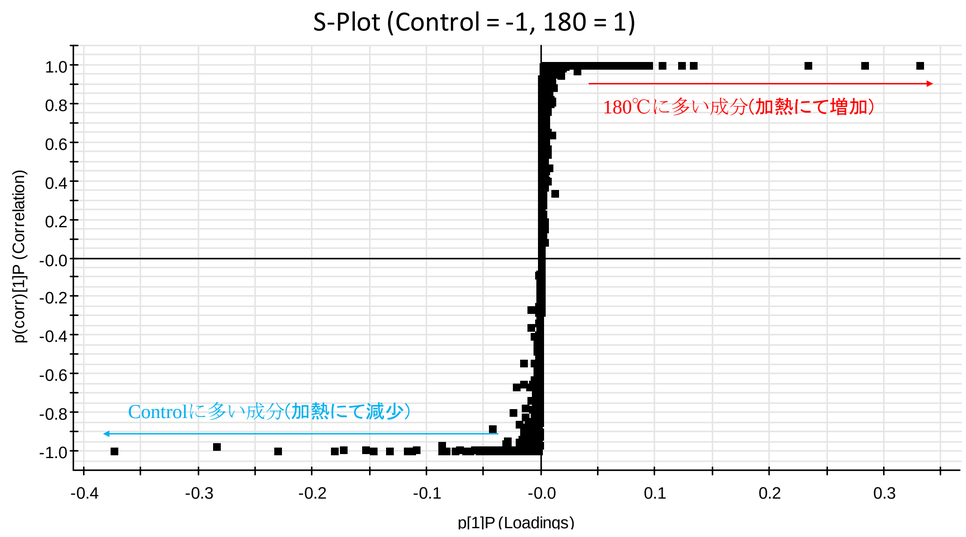

図3. OPLS-DA：S-プロット（Control vs 180℃）

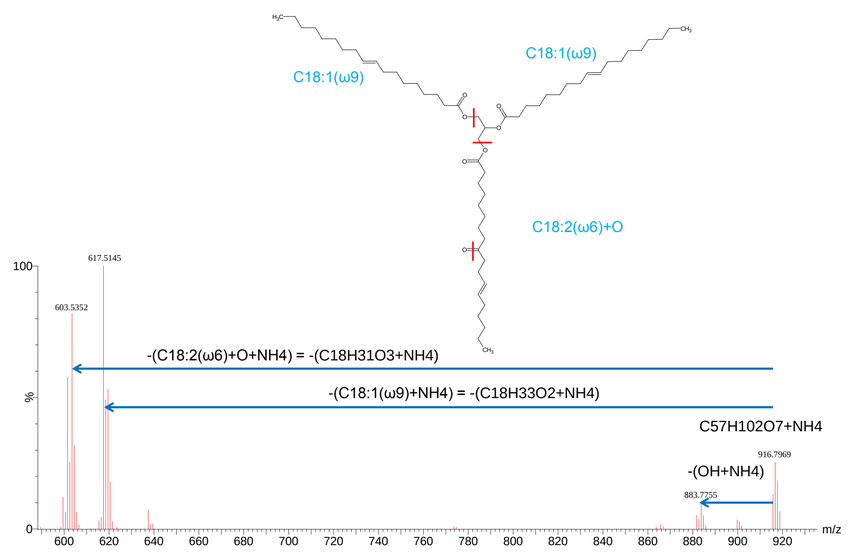

図4. 構造推定結果

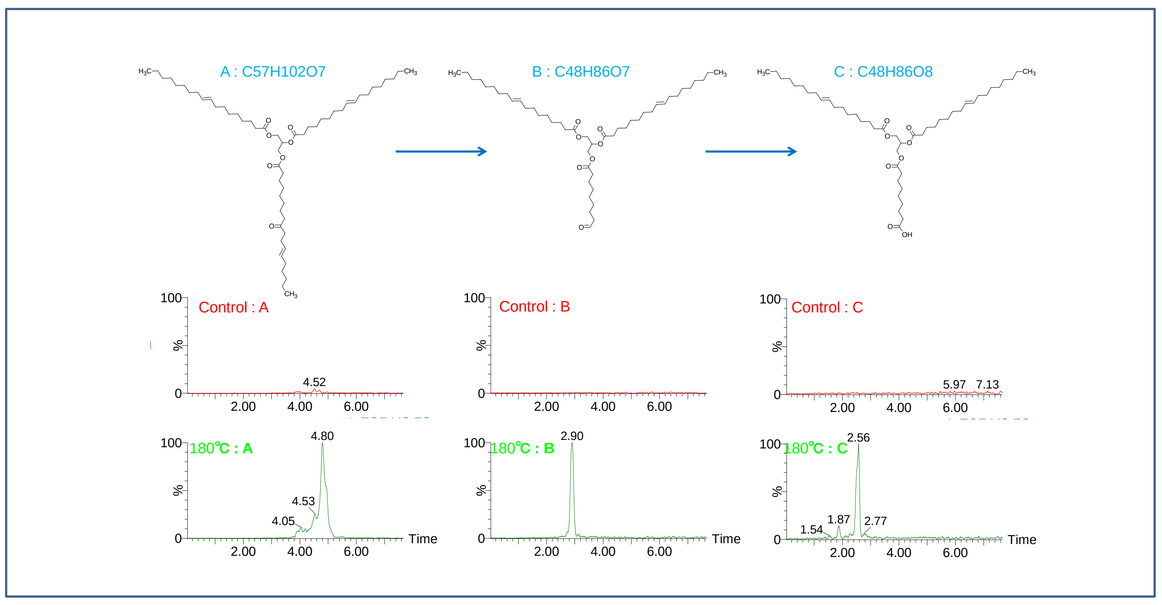

図5. 劣化反応の推定

CONCLUSION

多変量解析のS-プロットを用いることによりレスポンスの差の大小にかかわらず差異のある成分を視覚化することができる。またフラグメントスペクトルによる構造推定が容易なため、加熱劣化や食品中での品質に違いなどに寄与する成分の同定や反応機構の推定が可能となる。

References
1)「食品加工業におけるフライ油の加熱劣化（特集 油脂と環境）」戸谷永生，オレオサイエンス，6(10),493-500(2006)
2)「加熱による植物油中のステロール組成の変動」根本五郎他，油化学，33(11)，793-796(1984)

©2014 Waters Corporation MKT14081