

Instrument: Pegasus® BT 4D

GCxGC-TOFMS による MOSH/MOAH の同定

Key Words: MOSH, MOAH, Mineral Oil Hydrocarbons, Mineral Oil Saturated Hydrocarbons, Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons, GCxGC, TOFMS

Introduction

鉱油炭化水素（MOH）による食品汚染は、2012年にEuropean Food Safety Authority（EFSA）が潜在的な健康上の懸念として指摘して以来、関心が高まっています。MOHは通常、次の2つの主要なサブクラスに分類されます。¹

MOSH（Mineral Oil Saturated Hydrocarbons）は直鎖、分岐鎖およびアルキル置換シクロアルカンを含み、MOAH（Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons）は主にアルキルベンゼン、アルキルナフタレンなどのアルキル置換（多）環芳香族炭化水素を含みます。

分析法に関しては、これらの物質の定量にはこれまでに2つの選択肢が提案されています。1) 固相抽出（SPE）後にGC-FID分析を行うオフライン法、2) より一般的なオンラインLC-GC-FID法です。しかし、マトリックスによっては、いずれの方法も関連する確認法（すなわちGC-MS、GCxGC-MS）がないため、定性・定量の観点から不正確さや課題を生じる場合があります。

この点で、LECOのPegasus® BT 4D GCxGC-TOFMSシステムは、汚染食品試料の複雑性を明らかにし、優れたクロマトグラフィー分離能と同定能力を提供できます。実際、EFSAの見解でも示唆されているように、不確実な結果の場合には確認手段としてGCxGC-MS技術を使用する必要があります。

卓越した分離能の一例として、MOSHとPOSH（Polyolefin Oligomeric Saturated Hydrocarbons）、および／またはMOAHとテルペノイドなどの生体由来物質を識別できます。POSHとテルペノイドはいずれも実際には妨害成分とされ、従来法（すなわちLC-GC-FID）を用いた場合、しばしばMOSHまたはMOAHとして誤って定量され、誤った結果につながる可能性があります。

分離能と同定信頼性の向上に加えて、LECO ChromaTOF®ソフトウェアの“Classifications”機能は、ホパン類やステラン類、また最近注目されているMOAH由来の3～7環成分など、特定の化学クラス存在に関する情報を試料から迅速に得るために日常的に適用できます。²

本アプリケーションノートでは、香辛料試料であるクミン中に通常存在する生体由来物質からMOSH/MOAH画分を分離し、同定するためのGCxGC-TOFMSワークフローについて説明します。

Experimental

クミン抽出物を調製し、この香辛料を個別のMOSH画分およびMOAH画分に予備分離しました。各画分は（連続した分析ランにより）濃縮（約100 µL）し、直接LC-GC分画・接続アプローチを用いてPegasus BT 4D GCxGC-TOFMSシステムに注入しました。

香辛料の分析に先立ち、同じ手順を用いて、MOSH/MOAH Internal Standard（Restek Corporation、#31070）を添加した石油留分から構成されるVGO-ISという標準試料も参照用として注入しました。

GCxGC-TOFMSの実験条件をTable 1に示します。

GCxGC	LECO GCxGC QuadJet™ Thermal Modulator
Injection	2 µL, Splitless mode (330 °C)
Columns	¹ D: Rxi-17 SilMS, 12 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm coating (Restek) ² D: Rxi-1-HT, 1.05 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm coating (Restek)
Carrier Gas	He; 1 ml/min constant flow
Oven Program	40 °C (hold 1 min), ramp 5 °C/min to 360 °C, hold 10 min
Secondary Oven	+7 °C
Modulation (P _M)	5 s
Transfer Line	340 °C

MS	LECO Pegasus BT 4D
Ion Source Temp	280 °C
Mass Range	40-700
Acquisition Rate	200 spectra/s

Results and Discussion

VGO-IS 参照試料 (Vacuum Gas Oil, VGO、炭素数範囲>C50 と MOSH/MOAH Internal standards を混合して調製) の分析により、MOSH/MOAH 分野で調査すべき最も関連性の高い化学クラスをすべて含む参照等高線図の作成が可能になりました。Figure 1 に、この試料の注入から得られた GCxGC 等高線図を示します。

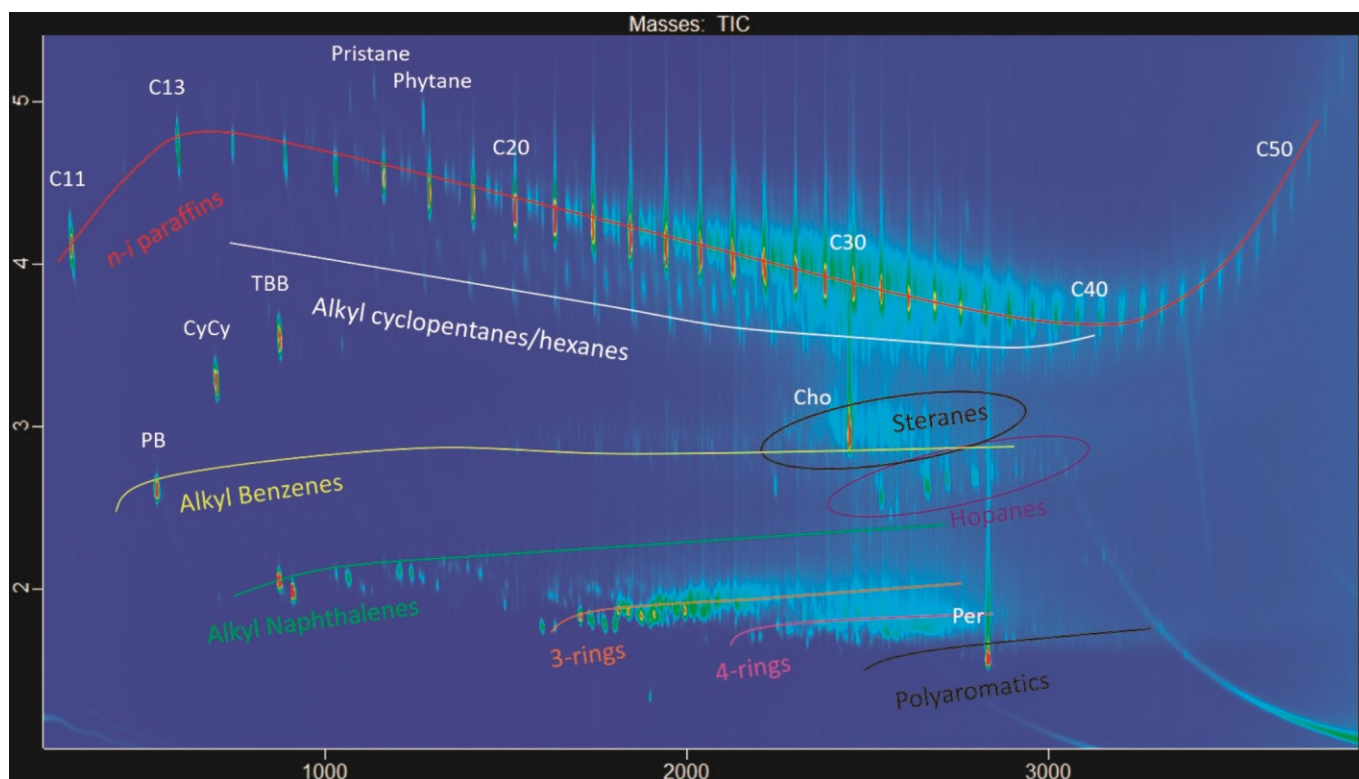


Figure 1. VGO 試料+MOSH/MOAH 内部標準 (VGO-IS) から得られた GCxGC-TOFMS 等高線図。

Figure 1 から明らかなように、GCxGC 技術の卓越した能力により、多くの成分クラスが分離され、非常に構造化された等高線図が得られます。従来の「ノーマル」セットアップでは分離が困難な化学クラス (例: n-i パラフィンと POSH) を分離できる特異的な能力があるため、リバースカラム構成を選択しました。このリバース構成は、鉱油汚染の証拠と見なされるホパン類 (m/z 191) の明確な分離も可能にします。これらのマーカーはしばしば微量で存在し、LC-GC-FID 法では分離および/または検出が非常に困難です。それにもかかわらず、GCxGC と TOFMS 技術の組み合わせにより、これらは明確に分離され、非常に特徴的な溶出パターンを示します。ホパン類のやや上方に溶出し、 m/z 217 を用いて容易にターゲット化できるステラン類についても同様のことが観察されます。

最後に、MOAH 画分内の分離能力についても精密に評価し、画分中の芳香環構造が十分に分離されていることを確認しました。これは、3~7 環多環芳香族化合物 (3-7 PAC) の毒性学的観点からの重要性を強調した、2019 年の EU による最新の勧告に沿って必要でした。

参照試料の分析に続き、クミン抽出物由来の MOSH 画分および MOAH 画分も、同じ Pegasus BT 4D GCxGC-TOFMS システム設定とデータ解析アプローチを用いて分析しました。この分析の主な目的は、MOSH および MOAH 汚染の存在、ならびに LC-GC-FID による定量結果に影響を及ぼした可能性のある妨害成分の存在をスクリーニングすることでした。

Figure 2 は、クミンの MOSH 画分におけるホパン類の存在を示し、鉱油汚染の存在を確認しています。一方、Figure 3 は、DIPN (Diisopropylnaphthalenes) や DBT (Dibenzothiophenes) などの特異的な MOAH マーカーの存在を示しており、これらはそれぞれ、包装材の段ボールインクおよび収穫後の香辛料輸送に使用されたジュート袋に由来する可能性が最も高いと考えられます。

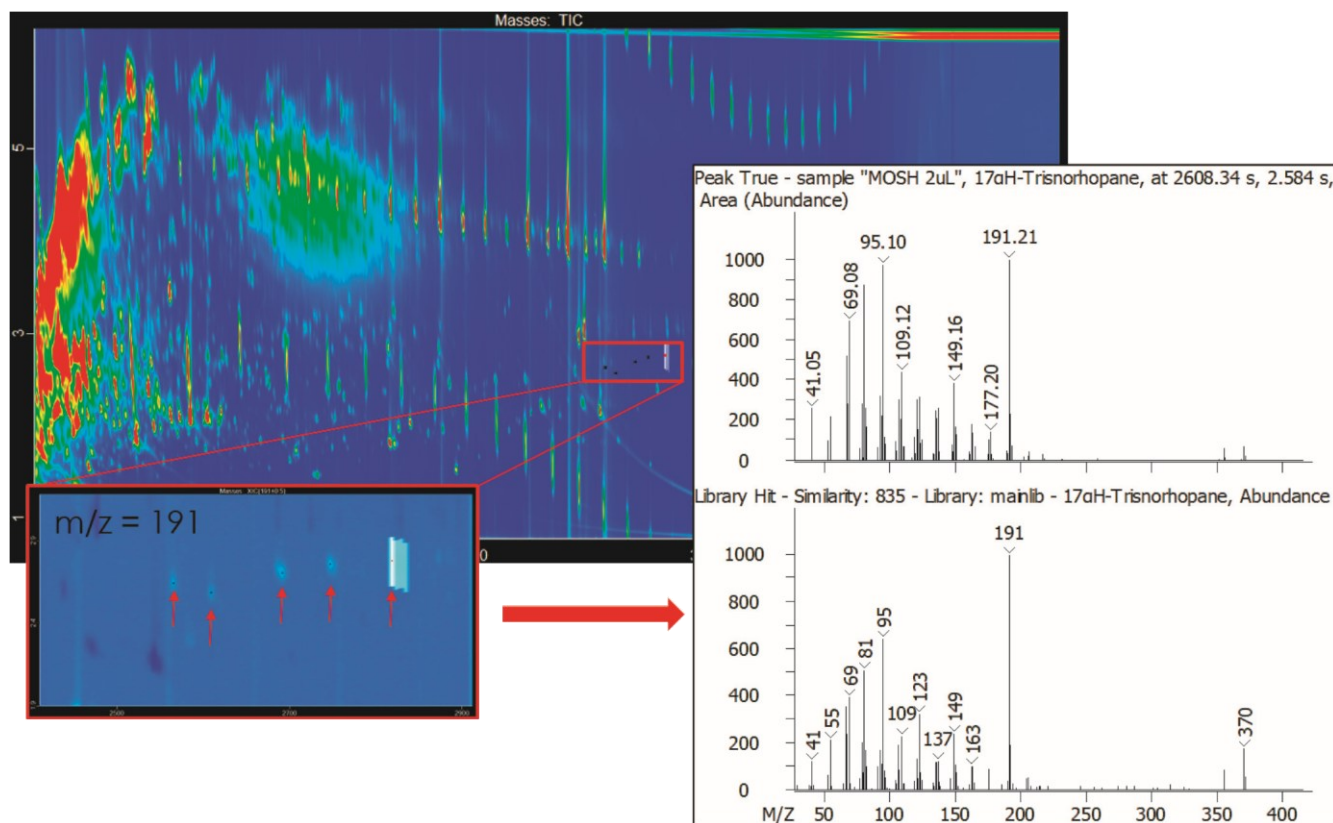


Figure 2. クミン MOSH 画分におけるホバン類の検出 (m/z 191.21)。

これらの汚染マーカールとともに、芳香族化合物の存在も確認されました。一例として、Figure 4 に MOAH 画分内の単、二、および三芳香族炭化水素の分類を示します。

これらすべての化学ファミリーは、VGO-IS を参照標準として用いて事前に確立した LECO の ChromaTOF “Classifications” 機能を適用することで、自動的に検出されました。

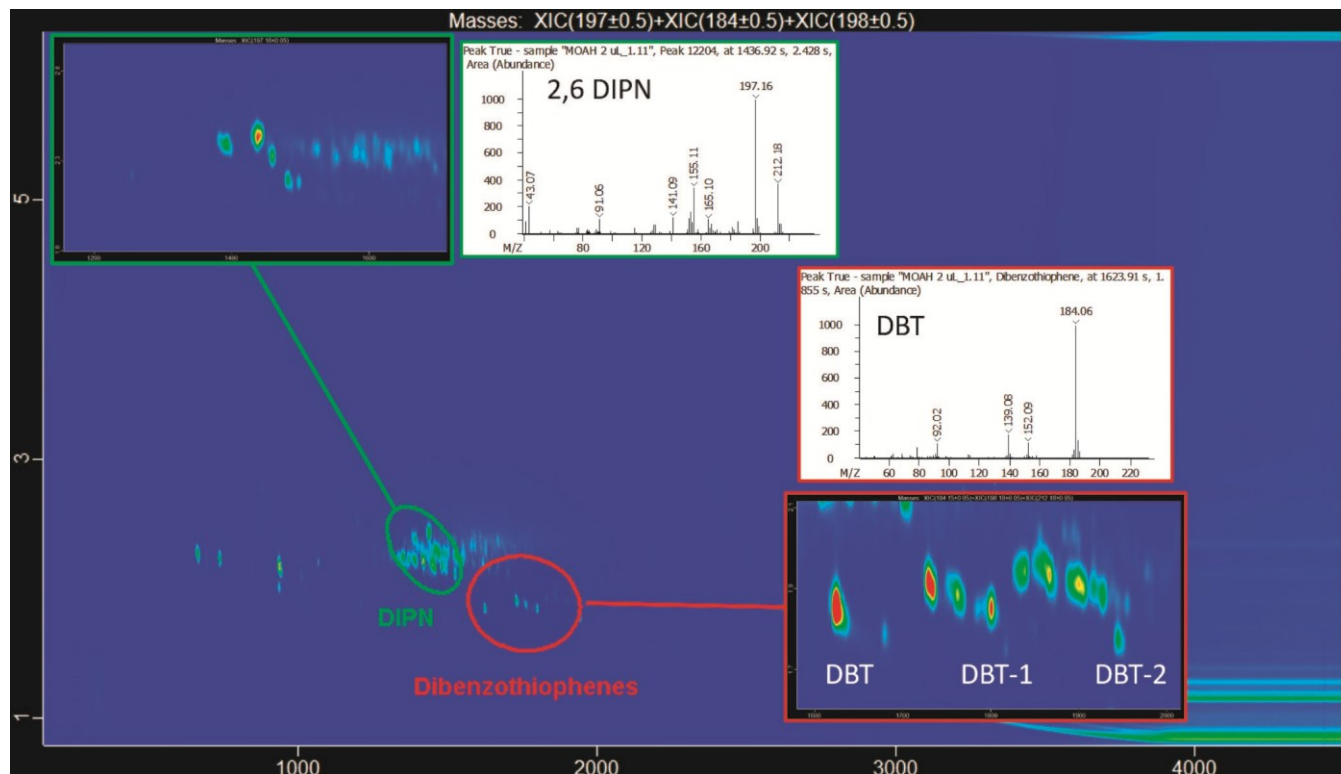


Figure 3. クミン由来 MOAH 画分における DIPN およびジベンゾチオフェン (DBT) の検出と分類。

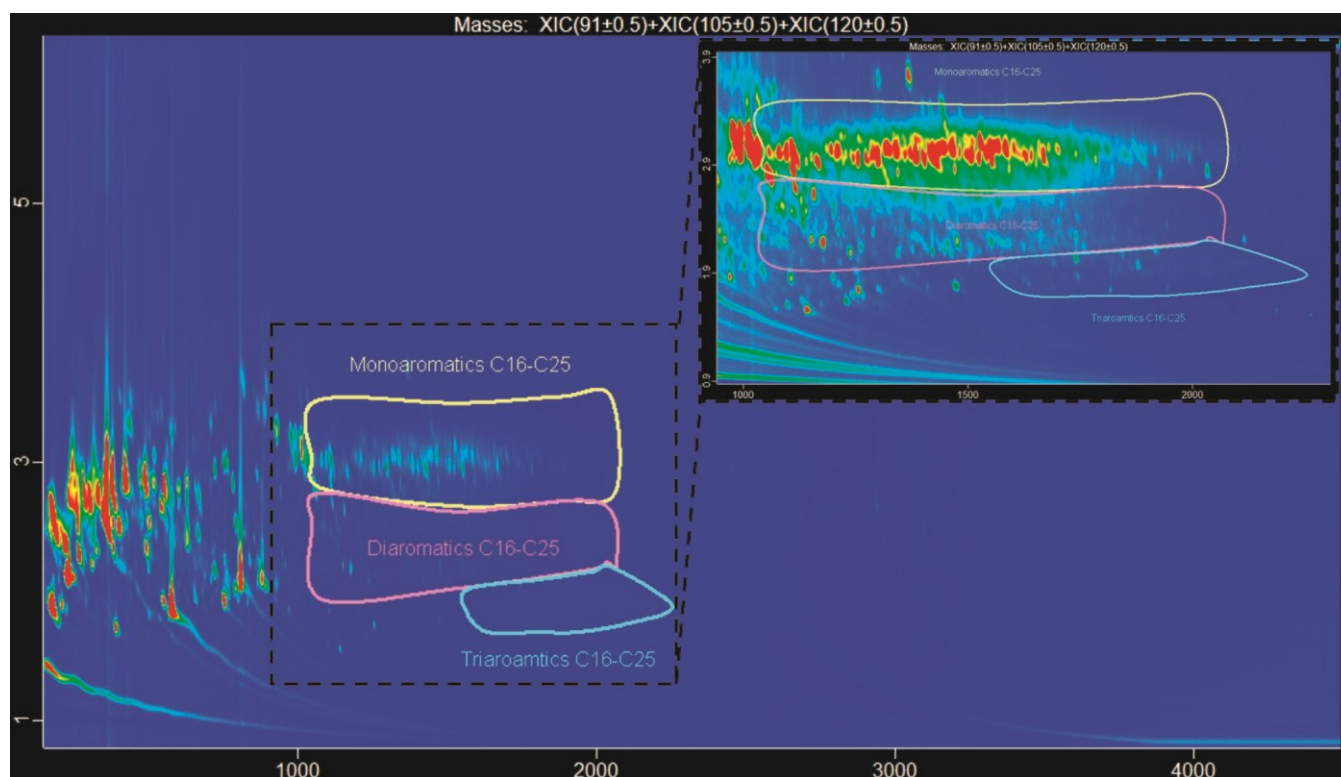


Figure 4. クミン MOAH 画分中の単環、二環および三環芳香族炭化水素の検出と分類。

さらに、別の物質群、すなわちクミンに通常存在する生体由来のセスキテルペン類も検出されました。Figure 5 には、この物質群の等高線図上での位置（モノ芳香族画分と部分的に重なっています）と、検出された成分の一例（ γ -amorphene、850/1000）の同定を示します。

このような情報は、LECO の TOFMS の能力と組み合わせた GCxGC 技術が、MOSH/MOAH 試料の定量および定性におけるユーザーの信頼性をどのように向上させるかを示す一例です。

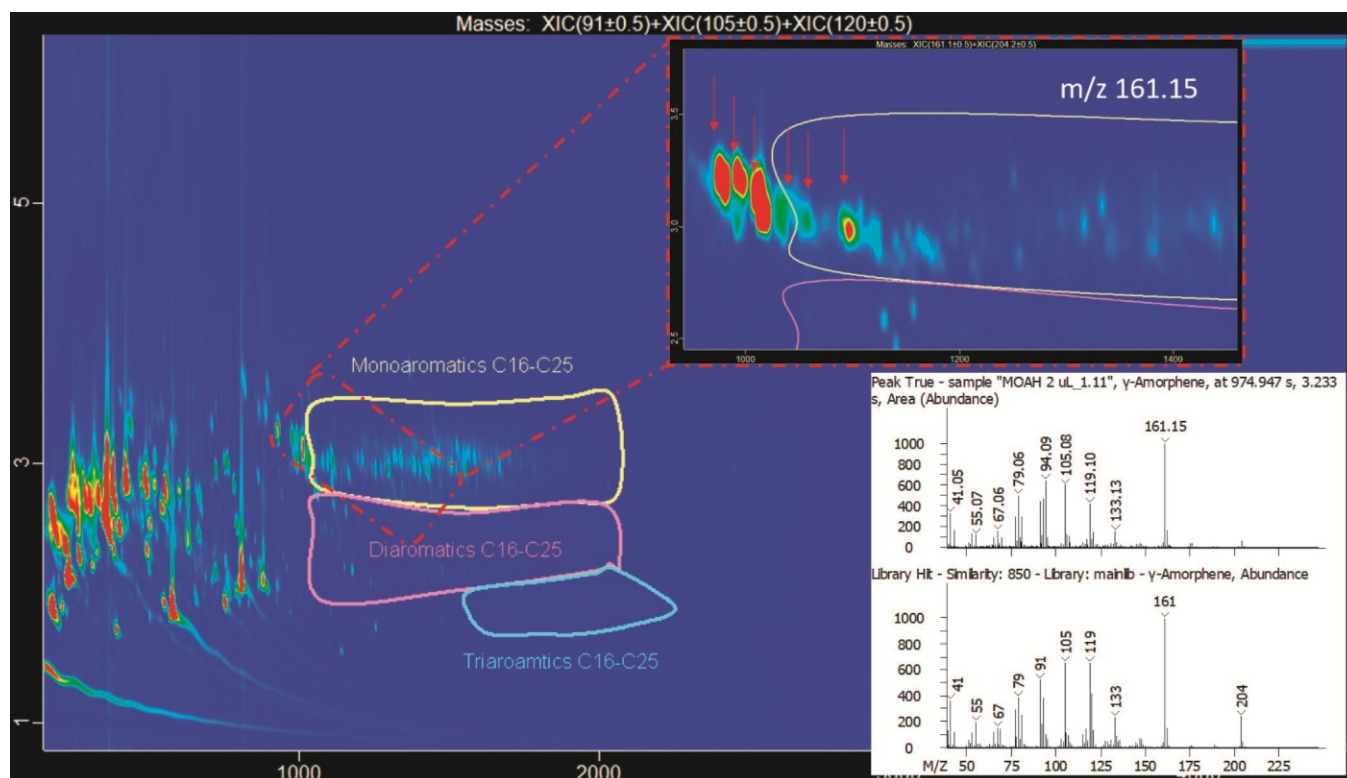


Figure 5. 赤い丸で囲んだ領域には、確実に同定された γ -アモルフェンなど、天然に存在するセスキテルペン類が含まれる。

Conclusions

LECO の GCxGC-TOFMS 技術は、食品試料中の MOSH/MOAH 汚染物質の存在を確認するためのシームレスな選択肢であることが示されました。実際、EFSA の見解で推奨されているように、クミン抽出物に対して確認的な GCxGC-TOFMS 分析を実施しました。これにより、MOSH/MOAH 汚染の存在だけでなく、これらの画分に属さず、従来法で得られた定量結果にバイアスを与える可能性のある天然の生体由来物質の存在も確認されました。

現在の取り組みとしては、幅広い難分析マトリックスの使用、定量のための FID の使用、さらにここで説明したアプローチに基づき、最適かつ包括的な MOSH/MOAH 分析ワークフローに適したソフトウェアツールのさらなる開発と最終化と併せて、検証が進められています。

References

¹Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food (EFSA). EFSA Journal 2012;10(6):2704. 10.2903/j.efsa.2012.2704

²EFSA Technical Report. Rapid risk assessment on the possible risk for public health due to the contamination of infant formula and follow on formula by mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1741>



LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496

info@leco.com • www.leco.com | ISO-9001:2015 Q-994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.

Pegasus, ChromaTOF are registered trademarks of LECO Corporation.