

蒸発光散乱検出器の応用（その2） ビール中のオリゴ糖分析

Application of Evaporative Light-Scattering Detector (Part 2)

Analysis of Oligosaccharides in Beer

蒸発光散乱検出器ELSD-LTは、移動相を蒸発させることにより目的化合物を微粒化し、それら微粒に強い光を当てることにより生じる散乱光をフォトマルによって測定するというHPLC用の汎用検出器です。揮発性化合物を除くほとんどの化合物を検出することができ、質量

に応じて同程度の感度を得られます。特に糖類、脂質、界面活性剤など、UV検出器では検出困難な物質の検出に適しています。

ここでは、ELSD-LTを用いた糖類分析の応用例としてビール中のオリゴ糖分析についてご紹介します。

T.Yamaguchi

糖分析におけるELSDとRIDの比較

Comparison of ELSD-LT and RID in Sugar Analysis

通常、糖類の分析には、検出器として示差屈折率検出器（RID）が用いられますが、検出感度が十分とは言えず、またベースラインが室温や流量変化の影響を受けやすい上、多成分分離に有効なグラジエント（GE）溶出法を用いることができないため、一度に分離できる成分が限られてしまいます。一方、ELSDは揮発性移動相を用いる必要がありますが、RIDに比べ、一般に感度、ベースライン安定性に優れ、さらにGE溶出法を適用できるという大きな長があります。

Table 1 に、糖類分析における代表的な分離モードを示します。これら分離モードは、目的によって使い分けられますが、この中で分配法は単糖類からオリゴ糖までの分離に適しており、食品分野などで広く用いられています。また、Table1 には、各分離モードで通常使用される移動相とELSDの適用性も示しています。分配法では、移動相として揮発性のアセトニトリルがメインに用いられますので、ELSDに最適な方法と言えます。

Fig.1 に分配法を用いて糖類を分析した時のELSD-LTとRIDの感度比較例を示します。フルクトース、グルコース、スクロースおよびマルトースを各0.1g/L含む標準試料溶液を5 μ L注入しました。この時の分析条件をTable 2 に示します。ELSD-LTではRIDに比べてベースラインの安定性に優れており、また糖類が感度良く検出されているのがわかります。

Table 1 糖類の分離モード
Separation Methods for Sugars

分配（順相）	: アセトニトリル - 水
サイズ排除	: 水、緩衝液
配位子交換	: 水
x 陰イオン交換	: 水酸化ナトリウム
x ほう酸錯体陰イオン交換	: ほう酸緩衝液
ELSDの適用性	: 最適, : 適用可, : 水では可, x : 適用不可

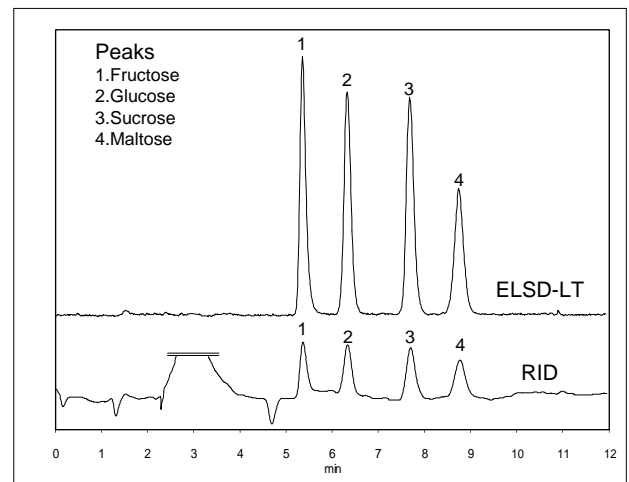


Fig.1 糖類4成分のクロマトグラム
Chromatogram of A Standard Mixture of 4 Sugars

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: NH2P-50 (250mmL. x 4.6mmI.D.)
Mobile Phase	: Acetonitrile/ Water = 7 / 3 (v / v %)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 30
Detection	: ELSD-LT
	Temperature : 35
	GAIN : 7
	Nebulizer Gas : N ₂
	Gas Pressure : 350kPa
	: RID-10A

ビール中のオリゴ糖分析

Analysis of Oligosaccharides in Beer

オリゴ糖分析を行う際、ELSD-LTではGE法を組み合わせることにより、効率良く分離することができます。

Fig.2は、ビール中のオリゴ糖を一定組成溶出法およびGE法にて分析した例です。その分析条件をTable 3に示します。((1): 一定組成, (2): GE) ビールはメンブランフィルターでろ過後、10 μ L 注入しました。オリゴ糖は分岐型(1-6グリコシド結合)や直鎖型(1-4グリコシド結合)などがありますが、一般にこれらが混ざり合って溶出してきます。クロマトグラム中には、単糖および2糖、

3糖、7糖の直鎖型オリゴ糖の溶出時間を示していますが、GE法では約20量体まで効率良く分離検出できているのがわかります。また、Fig.3~6に同一GE条件による市販ビールの分析例を示します。

Table 3 分析条件
Analytical Conditions

Column	: NH2P-50 (250mmL. \times 4.6mmI.D.)
Mobile Phase	: (1)Acetonitrile/ Water = 6 / 4 (v / v %) (Fig.2) (2)A:Acetonitrile B:Water Linear gradient B 30% 60% (Fig.3 ~ Fig.6)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40
Detection	: ELSD-LT
	Temperature : 35
	GAIN : 7
	Nebulizer Gas : N ₂
	Gas Pressure : 350kPa

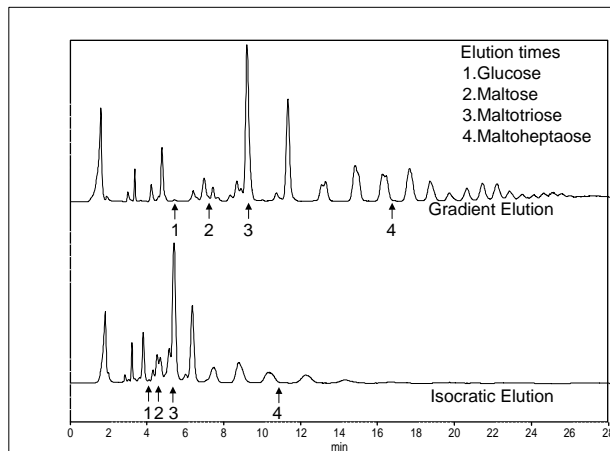


Fig.2 ビール中オリゴ糖の分析
Chromatogram of Oligosaccharides in Beer

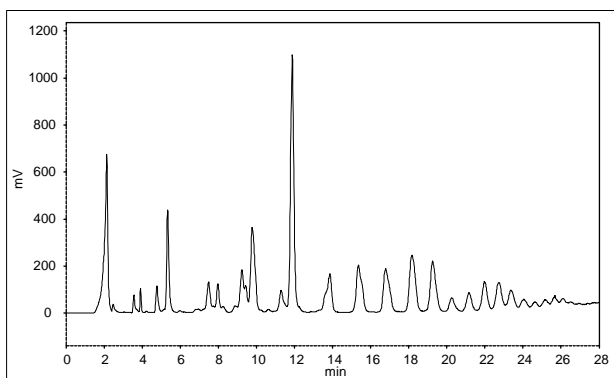


Fig.3 ビールAのクロマトグラム
Chromatogram of Beer Sample A

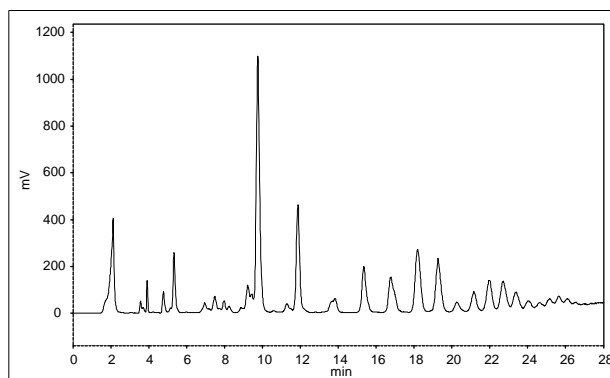


Fig.4 ビールBのクロマトグラム
Chromatogram of Beer Sample B

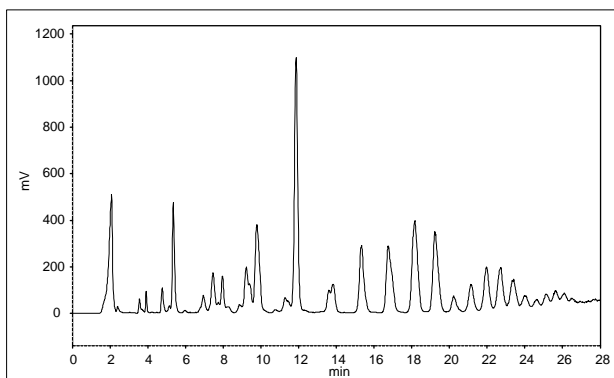


Fig.5 ビールCのクロマトグラム
Chromatogram of Beer Sample C

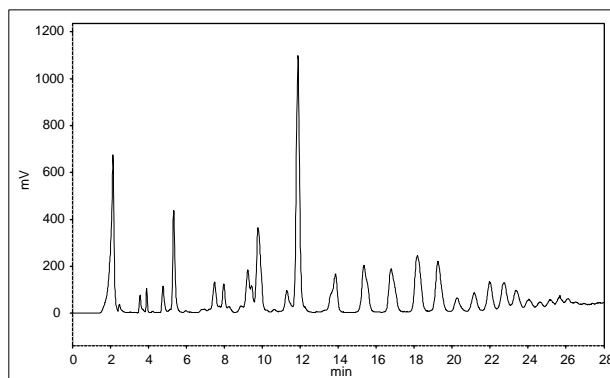


Fig.6 ビールDのクロマトグラム
Chromatogram of Beer Sample D

初版発行：2003年3月
A改訂版発行：2007年11月

 **島津製作所** 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

● 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

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。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。