

高速高分離分析の応用（その3） イソチオシアナート類およびシニグリンの分析

High Speed with High Resolution Analysis (Part 3) Analysis of Isothiocyanates and Sinigrin

わさび、からし等のアブラナ科植物に含まれるイソチオシアナートは、その抗菌作用や抗酸化作用が注目されています。通常、これら辛味成分は、植物組織中に配糖体として存在し、分解酵素ミロシナーゼにより加水分解を受けると同時に転移反応を起こしてイソチオシアナート

トとして遊離することが知られています。

ここでは、超高速LCシステム“Prominence UFLC”および高速高分離用高性能カラム“Shim-pack XR-ODS”を用いた、わさび中のイソチオシアナート類およびその代表的な配糖体であるシニグリンの同時分析例をご紹介します。

J. Masuda

イソチオシアナート類の分離（カラム比較）

Separation of Isothiocyanates (Comparison of Columns)

イソチオシアナート類5成分（Fig.1）の分離にあたって、コンベンショナルカラム“Shim-pack VP-ODS”（粒子径4.6 μm）と“Shim-pack XR-ODS”（粒子径2.2 μm，カラム長さ75 mmと50 mm）を比較した例をFig.2に、その分析条件を次ページTable 1 に示します。

上段（VP-ODS），中段（XR-ODS，75 mm）のクロマトグラムを比較すると、微小粒子径充てんカラムを用いることにより理論段数を維持したまま、1/4程度に時間短縮が可能であることがわかります。また、下段（XR-ODS，50 mm）のクロマトグラムに示されるように、カラム長さを短くすることにより、さらなる高速分離が可能となります。この場合、4.6 μm粒子径カラムに比べて1/7程度に時間短縮が可能であり、かつピーク分離も十分であると判断されます。

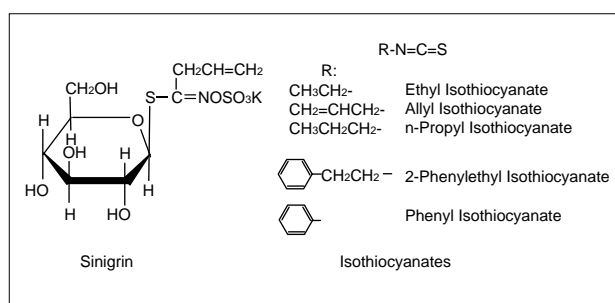


Fig.1 イソチオシアナート類およびシニグリンの構造式
Structures of Isothiocyanates and Sinigrin

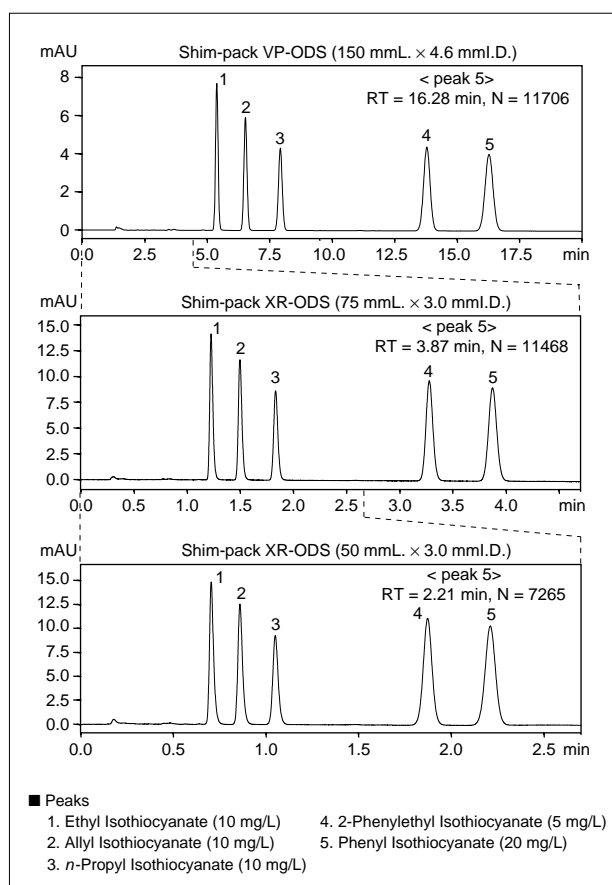


Fig.2 XR-ODSとVP-ODS カラムの比較

- イソチオシアナート類のクロマトグラム-

- Comparison of the XR-ODS column with the VP-ODS column

- Chromatograms of a Standard Mixture of 5 Isothiocyanates
 Upper : VP-ODS(150 mm) Middle : XR-ODS (75 mm)

Lower : XR-ODS (50 mm)

わさび中のイソチオシアナート類とシニグリンの同時分析

Simultaneous Determination of Isothiocyanates and Sinigrin in Japanese Horseradish.

“Shim-pack XR-ODS” (50 mm) を用いた高速分離条件をもとに、粉わさび中に含まれるイソチオシアナート類と、代表的な配糖体であるシニグリン (Fig.1) の同時分析を行いました。シニグリンは親水性が強いことからカラムに保持させるため移動相を最適化するとともに、イソチオシアナート類と同時分析を行うためグラジエント溶出を用いました。なお、シニグリンの検出波長は230 nmとし、分析途中にタイムプログラムを用いてイソチオシアナート類の検出波長である240 nmに切り換えました。標準溶液の分析例をFig.3に、分析条件をTable 2 に示します。

わさび中に含まれるシニグリンは、水を加えると加水分解を受け、主にアリルイソチオシアナートを遊離します。市販の乾燥粉わさびに水を加えた直後、および水を加えて練った後 5分間放置してから、それぞれ分析を行った結果 (Fig.4 上段:直後, 下段:5分間放置後) を比べると、シニグリンおよびアリルイソチオシアナートのピーク強度が変化していることがわかります。

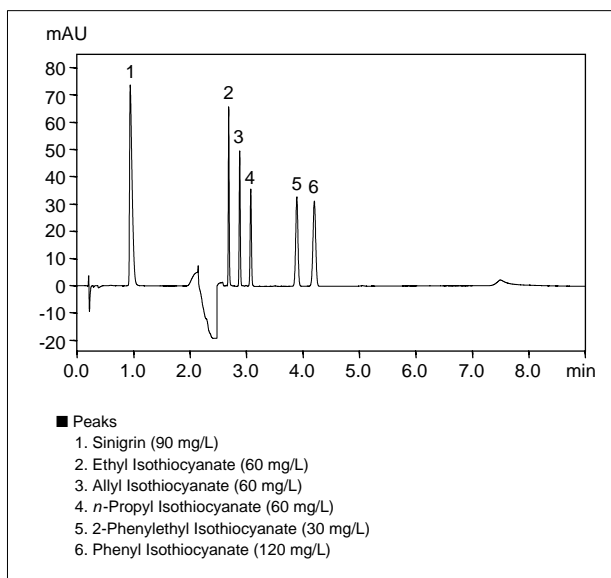


Fig.3 イソチオシアナート類とシニグリンのクロマトグラム(標準試料)
 Chromatogram of a Standard Mixture of Isothiocyanates and Sinigrin

Table 1 分析条件 (Fig. 2)
 Analytical Conditions (Fig.2)

Column	: Shim-pack VP-ODS (150 mmL. × 4.6 mm I.D., 4.6 μm) Shim-pack XR-ODS (75 mmL. × 3.0 mm I.D., 2.2 μm) Shim-pack XR-ODS (50 mmL. × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile Phase	: A ; 10 mmol/L (Sodium) phosphate buffer [pH 2.6] B ; Acetonitrile A / B = 1 / 1 (v/v)
Flow Rate	: 1.0 mL/min (VP-ODS, XR-ODS 75 mmL.) 1.2 mL/min (XR-ODS 50 mmL.)
Column Temperature	: 40 °C
Injection Volume	: 10 μL
Detection	: SPD-20A at 240 nm
Flow Cell	: Conventional Cell (VP-ODS) Semi-micro Cell (XR-ODS)

Table 2 分析条件 (Fig.3, Fig.4)
 Analytical Conditions (Fig.3, Fig.4)

Column	: Shim-pack XR-ODS (50 mmL. × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile Phase	: A ; 10 mmol/L (Imidazole) phosphate buffer [pH 2.6] B ; Acetonitrile
Gradient Program	: 0 min. to 1.5 min. (B 0 % hold) 1.5 min. to 2.0 min. (B 0 % → 50 %) 2.0 min. to 7.0 min. (B 50 % hold) 7.0 min. to 9.0 min. (B 0 % hold)
Flow Rate	: 1.2 mL/min
Column Temperature	: 40 °C
Injection Volume	: 10 μL
Detection	: SPD-20A at 230 nm (0 min. to 2.4 min.) and 240 nm (after 2.4 min.)
Flow Cell	: Semi-micro Cell

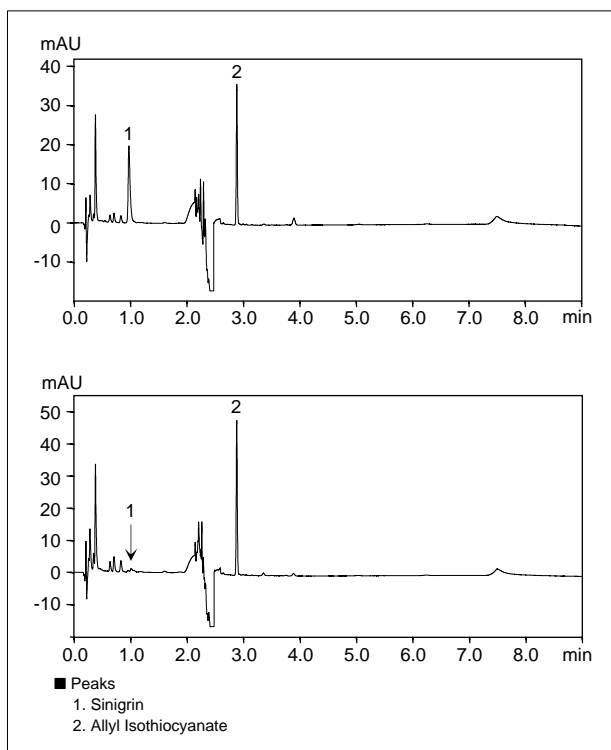


Fig.4 粉わさびのクロマトグラム
 上段:水添加直後, 下段:水添加5分後
 Chromatograms of Japanese Horseradish.
 Upper : Just immediately after adding water into the sample
 Lower : 5 minutes later after adding water into the sample

初版発行: 2006年12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。