

Application News

No. L471

高速液体クロマトグラフィー
High Performance Liquid Chromatography

Nexera-e およびフォトダイオードアレイ検出器 SPD-M30A を用いた赤ワイン中ポリフェノールの分析

Comprehensive Two-Dimensional Analysis for Polyphenols in Red Wine with Nexera-e Coupled with SPD-M30A

フェノール化合物は植物の副次的代謝物として生成されます。多くの場合、複数の芳香環とヒドロキシル基を有する構造を持ちます。これらポリフェノール類は抗酸化作用を持つことが知られており、動脈硬化や脳梗塞の予防に効果があるとされています。赤ワインはフェノール酸類やフラボノイド類などのポリフェノール類を多く含むことが知られており、近年、健康への関心の高まりとともに、注目を集めています。一方で、赤ワインには多くの共存成分があり、複数のポリフェノール類を通常のHPLC一斉分析で分離定量するのは困難です。このような場合、包括的2次元LCであるNexera-eによる分析が有効です。

Y. Watabe

■ SPD-M30A を用いた目的成分に応じた波長での2次元包括分離

Comprehensive Separation with SPD-M30A at Appropriate Wavelengths for Respective Analytes

Nexera-e とフォトダイオードアレイ検出器 (PDA) を用いれば、一回の分析で複雑な共存成分から目的成分を最適波長で分離、定量することが可能です。今回の分析では、没食子酸エチル、チロソール、ルチンをターゲットとし、それぞれの最適波長による等高線プロットを専用ソフトウェア ChromSquare を用いて作成し、分離定量しました。Fig. 1 にそれぞれの最適波長で得られた等高線プロットおよびオートグラジエント機能で作成した1D、2Dのグラジエントプロフィールを示します。

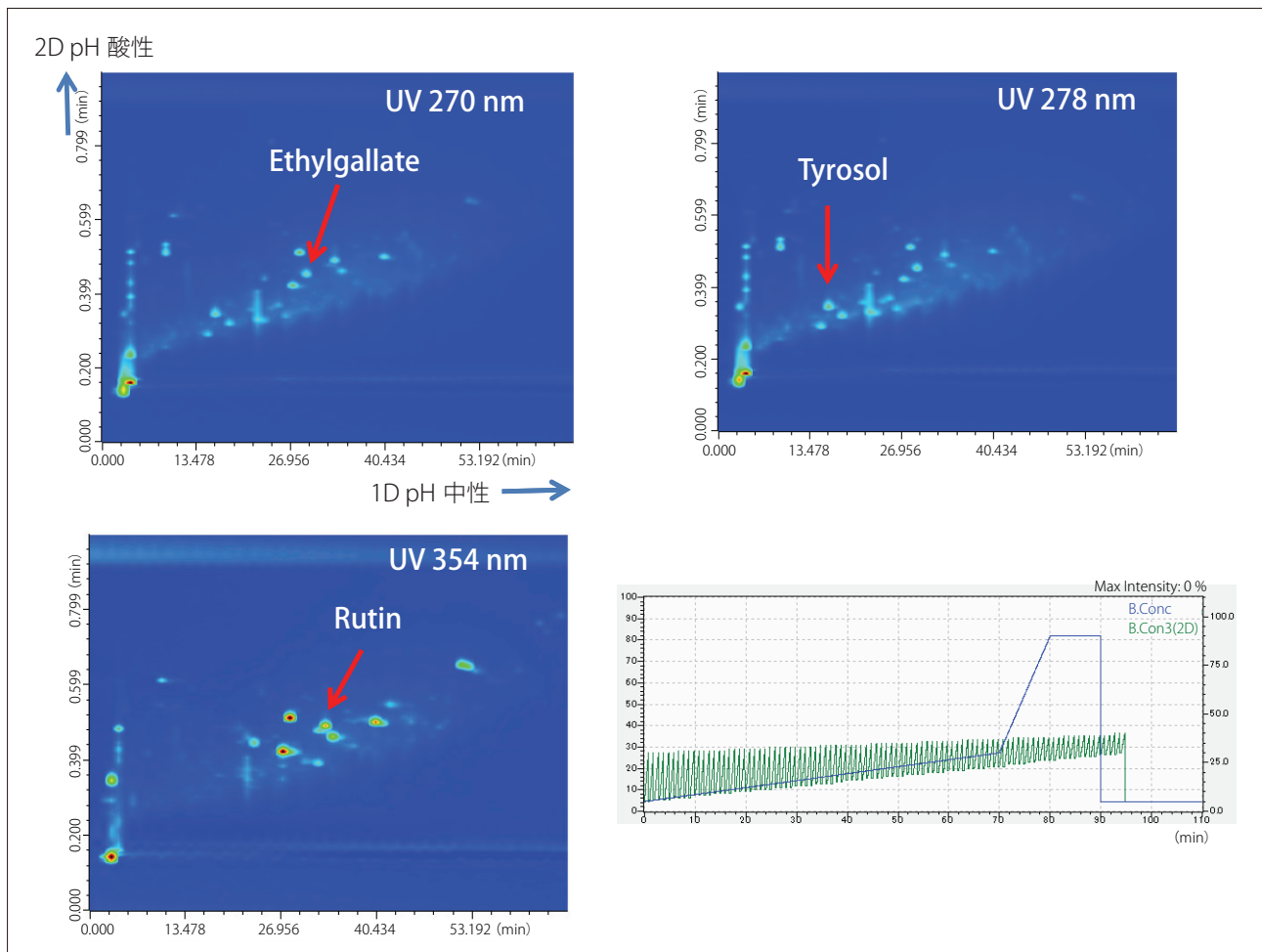


Fig. 1 赤ワインの包括的2次元分離と吸収波長による比較
Comparison of Comprehensive-2D Separation of Commercial Red Wine with Appropriate Wavelength Obtained by "Auto-Gradient" Profile

■赤ワイン中の没食子酸エチル, チロソール およびルチンの定量

Determination of Ethyl Gallate, Rutin and Tyrosol in Red Wine

Table 1 に分析条件を示します。1 次元目には中性りん酸緩衝液, 2 次元目には酸性りん酸緩衝液を用いて逆相×逆相による分離を試みました。

各成分の検量線は 5-250 mg/L の範囲, 6 濃度で作成しました。赤ワイン試料は 0.22 μm のメンブランフィルターで

ろ過して注入しました。Fig. 2 に没食子酸エチルの検量線を示します。また, Table 2 にトータルおよび 2 次元目の保持時間再現性, ピーク体積に相当する blob 面積の再現性, 検量線の寄与率 (R²) およびそれぞれの定量値を示します。

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

1D Column	: Shim-pack XR-ODS II (100 mm L. × 1.5 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile Phase	: A: 10 mM (sodium) phosphate buffer pH = 6.8 B: acetonitrile
Flow Rate	: 0.05 mL/min
Time Program	: B Conc. 5 % (0 min) → 30 % (70 min) → 90 % (80 min) → 90 % (90 min) → 5 % (90.1 min) → STOP (110 min)
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 3 μL
Loop Vol.	: 50 μL (Modulation time: 60 sec)
2D Column	: Kinetex XB-C18 (50 mm L. × 3 mm I.D., 2.6 μm)
Mobile Phase	: A: 10 mM (sodium) phosphate buffer pH = 2.6 B: acetonitrile
Flow Rate	: 2 mL/min
Time Program	: Auto-gradient: Initial. B Conc. 5 % (0 min) → 30 % (0.75 min) → 5 % (0.76 min) → STOP (1 min) Final. B Conc. 30 % (0 min) → 40 % (0.75 min) → 30 % (0.76 min) → STOP (1 min) The initial and final B conc. has been changed stepwisely
Detector	: SPD-M30A Photo diode array detector (high sensitivity cell 1 μL, wave length = 270 nm, 278 nm, 354 nm)

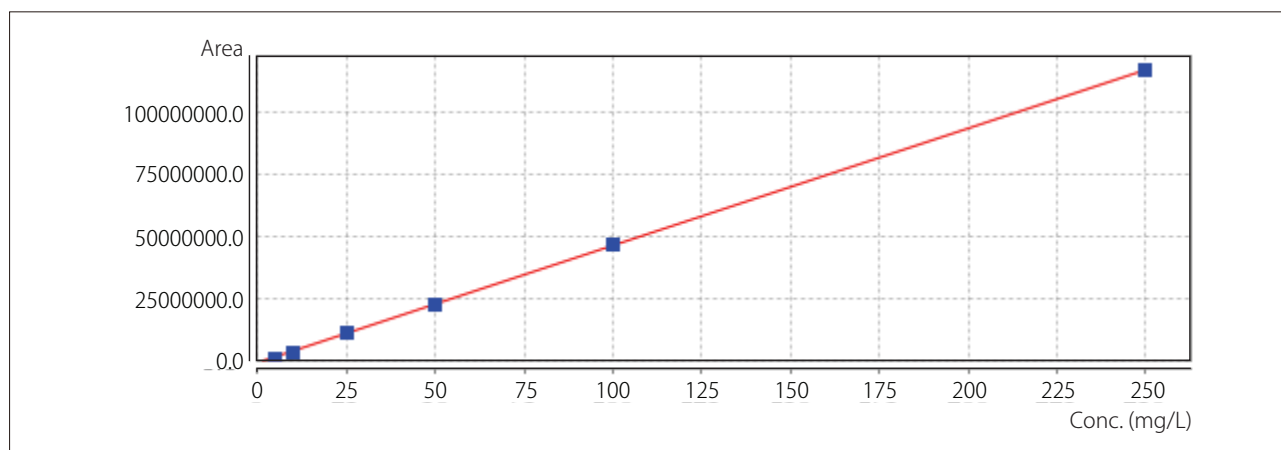


Fig. 2 没食子酸エチルの直線性
Calibration Curve for Ethylgallate

Table 2 保持時間および面積再現性 (%RSD) と検量線の寄与率
Repeatability for Retention Time and Blob Area (%RSD, n=5), R² Value and Concentration (mg/L)

Compound	Total retention time	Retention time (2D)	Area	R squared	Concentration
Tyrosol	0.007	0.159	2.7	0.999804	101.5
Ethylgallate	0.007	0.49	3.8	0.999864	15.1
Rutin	0.007	0.52	4.1	0.998805	14.2