

# Application News

## No. L491

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

### Nexera-e を用いた赤唐辛子中カロテノイドの包括的 2 次元分離

Comprehensive 2D Separation of Carotenoids in Red Chili Pepper by the Nexera-e System

カロテノイドは天然に存在する色素で、炭素と水素だけで構成されるカロテンと、酸素を含むキサントフィルに分類されます。カロテノイドは二重結合を多く含むことから、近年その抗酸化作用が注目されており、生活習慣病をはじめとする疾病の予防にも効果的と考えられています。

一方で、食品に含まれるカロテノイド種は多岐に渡り、通常の HPLC による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。ここでは、赤唐辛子から抽出したカロテノイドに対して、1 次元目には順相条件によるマイクロスケールの分離、2 次元目には逆相条件による分離を試み、フォトダイオードアレイ (PDA) およびトリプル四重極型質量分析計 LCMS-8030 を連結して検出しました。1 次元目 順相と 2 次元目 逆相の組み合わせは、その分離モードが異なることから、最も直交性が得られる 2 次元 HPLC 手法の一つと考えられます。

T. Iida Y. Watabe

#### ■カロテノイドの包括的 2 次元分離と フォトダイオードアレイ検出器による検出

Comprehensive Separation of Carotenoids Detected by the Photodiode Array Detector

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の分離と最適波長による検出が可能です。Fig. 1 に、専用解析ソフトウェア ChromSquare による包括的 2 次元分離パターン (吸収波長 = 450 nm) を示しました。1 次元目のシアノカラムと 2 次元目の ODS カラムの組合せでその分子極性による hydrocarbons, monool esters, diol diesters, diol monoketo diesters, diol diketo diesters, diol monoepoxide monoesters, free monools, diol monoketo monoesters, diol diketo mono esters, polyoxygenated free xanthophylls の 10 種にクラス分けと、各クラスにおける脂肪酸残基等の疎水性による成分分離が確認されました。

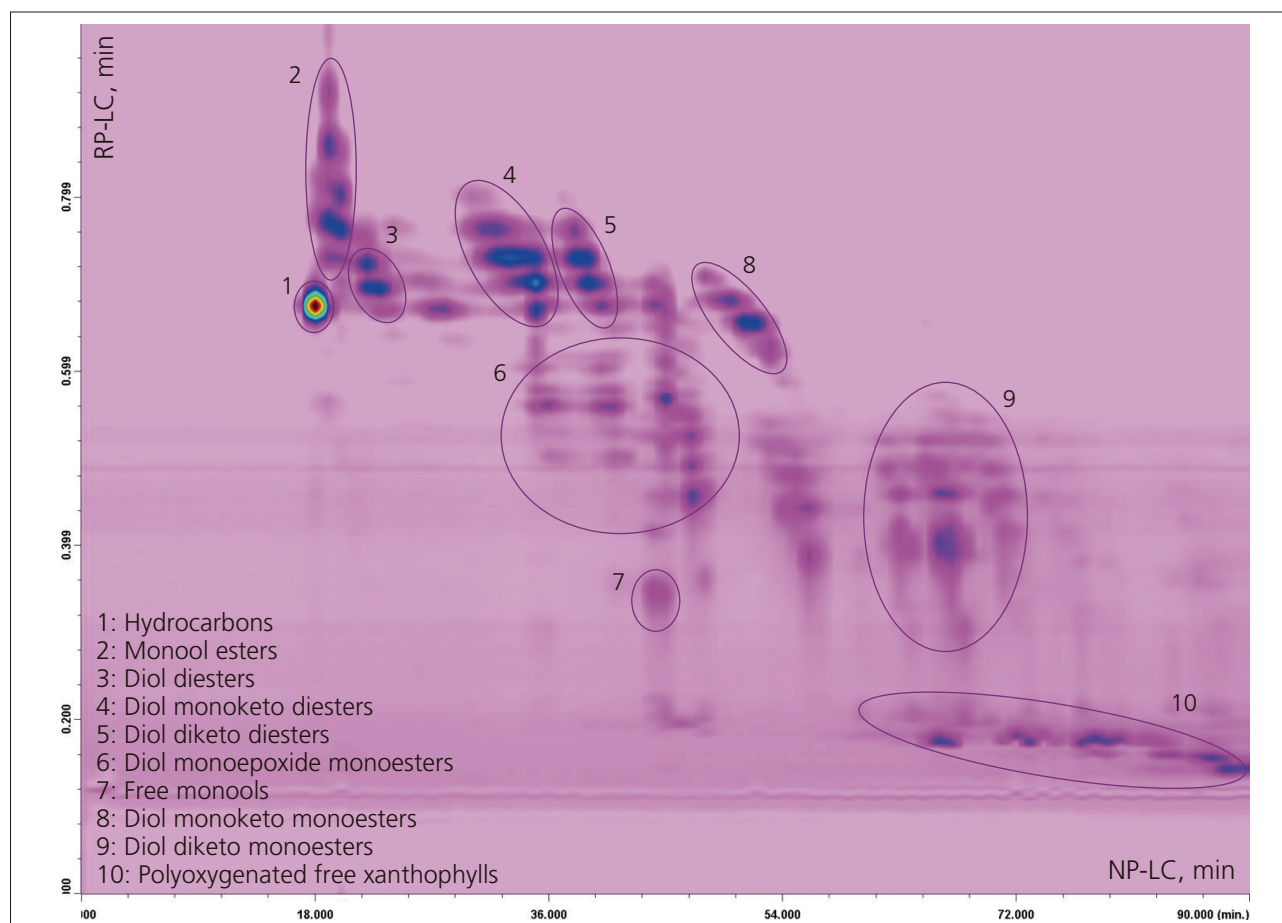


Fig. 1 カロテノイド類の包括的 2 次元分離プロット  
2D Plot of Carotenoids with ChromSquare Software

## ■ LC/MS/MS による赤唐辛子中の β - カロテンの定量

Quantitation of β -Carotene in Red Chilli Pepper by LC/MS/MS

Table 1 に分析条件, Fig. 2 に試料の前処理条件を示します。カロテノイドの2次元分離からはビタミンAの前駆体であるβ - カロテンが検出され, さらにトリプル四重極質量分析計 LCMS-8030 による定量を試みました。MRM 分析の特長として, 高感度, 高選択性を両立した分析が可能で, さらに Nexera-e による2次元分離によりイオンサプレッションの低減が期待されます。

Fig. 3 に得られた検量線の DUIS-positive mode MRM 分析で取得したβ - カロテンの2次元分離データを示し, Fig. 4 に, 定量の基になるピーク体積に相当する数値 (プロブ) の0.01 - 10 mg/L の範囲における3点の直線性を示しました。直線の指標となる相関係数 (r) = 0.998976 と良好な結果になりました。赤唐辛子に含まれるβ -carotene の定量結果は, 抽出された最終の試料中濃度として, 1.22 mg/L と計算されました。

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

1D Column	: Ascentis Cyano (250 mm L. × 1.0 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase	: A; Hexane B; Hexane/Butylacetate/Acetone = 80/15/5 (v/v/v)
Flow Rate	: 0.02 mL/min
Time Program	: B Conc. 0 % (0.01 min) → 0 % (5 min) → 100 % (65 min) → 100 % (75 min) → 0 % (76 min)
Column Temp.	: 30 °C
Injection vol.	: 2 μL
Loop vol.	: 20 μL
2D Column	: Ascentis Express C18 (30 mm L. × 4.6 mm I.D., 2.7 μm)
Mobile Phase	: A; acetonitrile B; 2-propanol
Flow Rate	: 4 mL/min (0.8 mL/min split for MS)
Time Program	: B Conc. 0 % (0.01 min) → 50 % (0.17-0.54 min) → 80 % (0.54-0.93 min) → 30 % (0.94 min) → STOP (1 min)
Detector	: SPD-M30A Photo diode array detector (standard cell, wave length = 450 nm) Shimadzu LCMS-8030 (DUIS positive mode, targeted beta-carotene MRM transition: m/z 536.40 > 444.30)

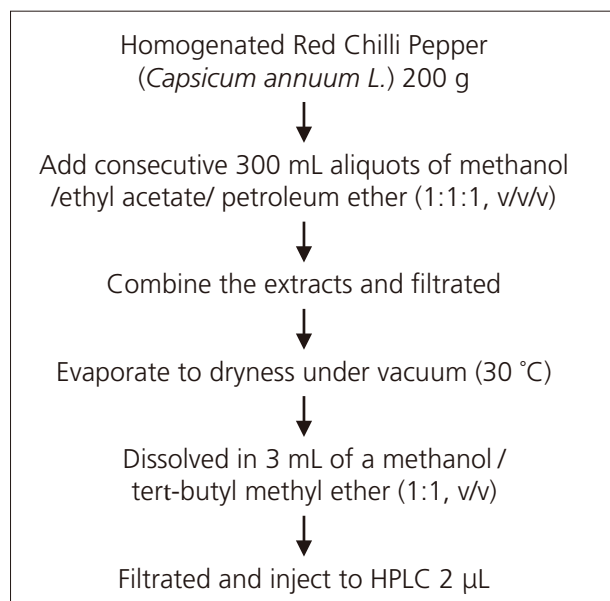


Fig. 2 試料前処理  
Sample Preparation

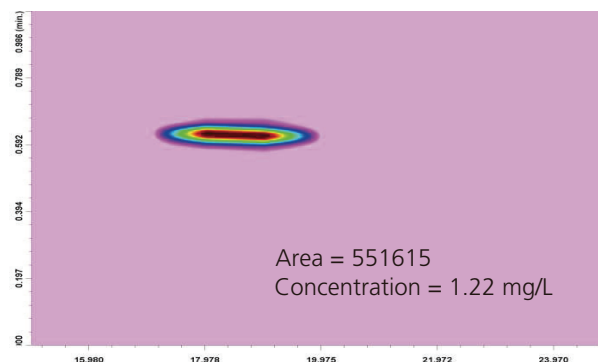


Fig. 3 β - カロテンの2次元プロット  
2D Pot of β -Carotene

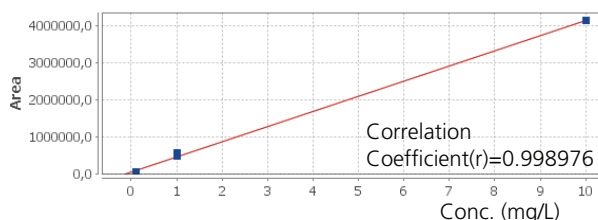


Fig. 4 β - カロテンの検量線直線性  
Lineality of Caribration Curve for β -Carotene

データ提供 University of Messina, Prof. Luigi Mondello and Chromaleont S.r.l

株式会社 島津製作所 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2015年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691  
(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。