

ELSD-LT III を用いた清涼飲料水中の マルトオリゴ糖 10 種一斉分析

糖分析の分離手法には配位子交換や親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) などがあります。HILIC は、単糖類、二糖類の他、保持が大きいオリゴ糖の分析にも用いることができます。HILIC とグラジエント溶離法を組み合わせることで比較的短時間で糖類の一斉分析が可能になりますが、糖類は紫外可視吸光が 190 nm から 195 nm の非常に狭い短波長域のみでしか得られないため、分析時には示差屈折率検出器 (RID) を使うことが一般的です。しかし、グラジエント溶離法は屈折率が変化するため RID による検出時には用いることができません。そのため、RID は保持時間が大きく異なる成分同士の分離には適さず、一斉分析には時間がかかります。

蒸発光散乱検出器 (ELSD) は移動相を噴霧、蒸発させ、微粒子化した目的成分の散乱光を測定する汎用性の高い検出器です。グラジエント溶離も適用することができるため、分析時間の短縮や多成分の分離が可能です。

一方で、食品に含まれる糖類は成分によって含有量に差があることが多くあります。このような食品に含まれる成分の一斉分析を行う場合には、全成分について最適な感度になるパラメータを検討する必要があるため煩雑です。本稿で用いた ELSD-LT III に新しく搭載された Wide 機能により、感度に関するパラメータが自動的に最適化され、低濃度から高濃度まで試料濃度に関わらず同じメソッドでデータを採取することが可能になりました。

ここでは ELSD-LT III を用いた清涼飲料水中のマルトオリゴ糖 10 種 (G1~G10) の一斉分析例をご紹介します。

K. Matsuoka, N. Iwata

■ マルトオリゴ糖 10 種の一斉分析

表 1 に分析条件を、図 1 にマルトオリゴ糖 10 種混合試料のクロマトグラムを示します。濃度不明のマルトオリゴ糖 10 種混合試料 (株式会社センシュー科学製 G1~G10 の mix オリゴ糖分析標準試料、型番 BC-GM) を用い、10 種のマルトオリゴ糖 G1~G10 の分離を確認しました。

グラジエント溶離法を用いることで、10 種類のオリゴ糖 G1~G10 を 20 分以内に溶出することができました。

表 1 分析条件

System	: Nexera™ XR
Column	: Shodex Asahipak NH2P-50 4E (250 mm×4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase	: A) Water B) Acetonitrile
Time Program	: B. Conc. 70% (0 min) → 40% (25 min) → 70% (25.01 min) → 70% (30 min)
Flow Rate	: 1 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Vial	: LabTotal Vial for LC 1.5 mL, Glass*1
Detection	: ELSD-LT III
	Gain : Wide
	Filter : 4 sec
	Drift Tube Temp. : 40 °C
	Nebulizer Gas : N ₂
	Gas Pressure : 350 kPa

*1 : P/N 227-34001-01

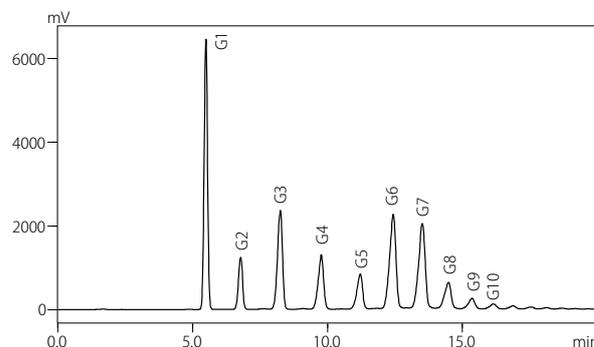


図 1 マルトオリゴ糖 10 種 (G1~G10) 混合試料のクロマトグラム

■ 直線性と再現性

マルトオリゴ糖 G1~G7 の混合標準品を一斉分析し、検量線を作成しました。図 2 にマルトオリゴ糖 7 種混合標準品 (各 0.05 g/L) のクロマトグラムを、図 3 に検量線を示します。ELSD のレスポンスは濃度の対数に対して指数応答のため両対数軸でプロットします。G1 の検量線については、0.05、0.10、1.00、1.50、2.00 g/L の 5 点 (その他の 6 成分は 0.01、0.05、0.10、0.25、0.50 g/L の 5 点) で作成しました。表 2 に検量線の濃度範囲と直線性を、表 3 に再現性を示します。再現性は 0.05 g/L についての繰り返し分析 (n=6) で確認しました。表 3 から保持時間、面積ともに再現性は良好でした。

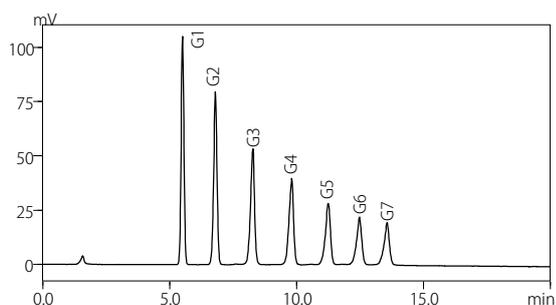


図2 マルトオリゴ糖7種 (G1~G7) 混合標準品 (各 0.05 g/L) のクロマトグラム

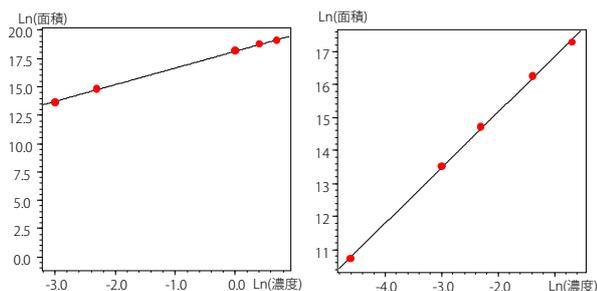


図3 検量線 (左: G1、右: G2)

表2 検量線の濃度範囲と直線性

Compounds	Calibration Concentration range (g/L)	Linearity (r ²)
G1	0.05~2.00	0.9982
G2	0.01~0.50	0.9991
G3		0.9997
G4		0.9996
G5		0.9995
G6		0.9993
G7		0.9995

表3 0.05 g/Lの再現性 (n=6)

Compounds	Retention Time (%RSD)	Area (%RSD)
G1	0.08	2.05
G2	0.09	1.24
G3	0.10	1.46
G4	0.05	1.71
G5	0.07	2.20
G6	0.10	1.79
G7	0.08	1.24

■ 清涼飲料水中のマルトオリゴ糖一斉分析

分析条件は表1と同じです。試料は0.2 μmのメンブランフィルターでろ過した後、水で20倍希釈したものをしました。図4に清涼飲料水のクロマトグラムを、表4に分析結果を示します。清涼飲料水は、G1の濃度のみが他成分と比較して非常に大きかったため、G1についてのみ表2の通り、異なる濃度範囲の検量線を作成し、定量に用いました。

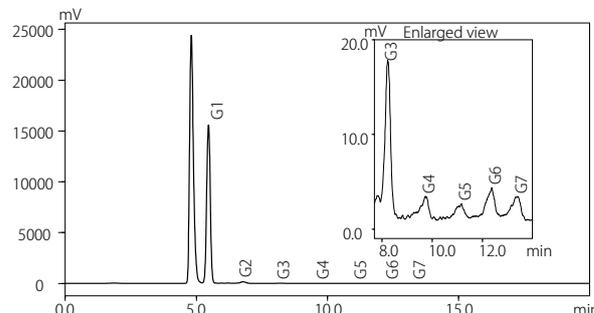


図4 清涼飲料水のクロマトグラム

表4 飲料中のマルトオリゴ糖分析結果

Compounds	Concentration*1 (g/L)
G1	1.59
G2	0.10
G3	0.03
G4	0.02
G5	0.01
G6	0.02
G7	0.02

*1: 20倍希釈した試料の定量値

■ Wide 機能

ELSD-LT IIIには、Wide機能が新しく搭載されました(図5)。本機能を使用することで、感度に関するパラメータが自動的に最適化されます。したがって、上記清涼飲料水のG1のように濃度範囲が他成分と大きく異なる成分が試料中に存在していた場合であっても、低濃度成分から高濃度成分までで試料濃度に関わらず同じメソッドでデータを採取することができます。



図5 Wide機能設定画面

■ まとめ

グラジエント溶離によるマルトオリゴ糖の10種一斉分析条件を構築し、清涼飲料水について定量(G1~G7)を行いました。各成分の濃度差が大きい場合でも、ELSD-LT IIIのWide機能を用いることで、検出感度調整をすることなく10種のマルトオリゴ糖を同時に定性することが出来ました。また、G1~G7までの7種類のマルトオリゴ糖については同時に定量することが出来ました。

Nexeraは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。
Asahipakは、昭和電工株式会社の登録商標です。
その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していません。

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：2020年9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。