

## ELSD-LT III を用いた清涼飲料水中の 単糖・二糖高速分析

糖類の構造は主要な官能基がヒドロキシ基のみであるため、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ず、検出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では屈折率が変化するため RID を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。グラジエント溶離を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。

単糖類、二糖類の相互分離には陰イオン交換クロマトグラフィーや配位子交換クロマトグラフィーが優れた選択性を示します。しかし、これらの分離手法を用いる糖分析には時間がかかります。そこで本稿では、親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) で分離後、検出器として ELSD を用いた単糖・二糖の高速分析を行いました。

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。本機能の詳細についてはアプリケーションニュース L571 をご覧ください。

ここでは ELSD-LT III を用いた清涼飲料水中の単糖・二糖の高速分析例をご紹介します。

K. Matsuoka, N. Iwata

### 糖 5 種標準品の分析

表 1 に分析条件を、図 1 に糖 5 種 (フルクトース、グルコース、スクロース、マルトース、ラクトース) 混合標準品 (1000 mg/L) のクロマトグラムを示します。

グラジエント溶離法を用いることで、5 種類の糖を 5 分以内に溶出することができました。なお、カラムはよく洗浄してからご使用ください。

表 1 分析条件

System	: Nexera™ XR
Column	: Shinwa Chemical Industries Ltd. ULTRON AF-HILIC-CD (HT) (100 mm × 3 mm I.D., 2 μm) ULTRON AF-HILIC-CD (HT) Guard Cartridge (5 mm × 2 mm I.D., 2 μm)
Mobile Phase	: A) 10 mmol/L Ammonium Acetate B) Acetonitrile
Time Program	: B. Conc. 85% (0-0.5 min) → 82% (3-5 min) → 85% (5.01-8 min)
Flow Rate	: 0.8 mL/min
Column Temp.	: 45 °C
Injection Vol.	: 2 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 <sub>2</sub>
	Gas Pressure : 350 kPa

\*1 : P/N 227-34001-01

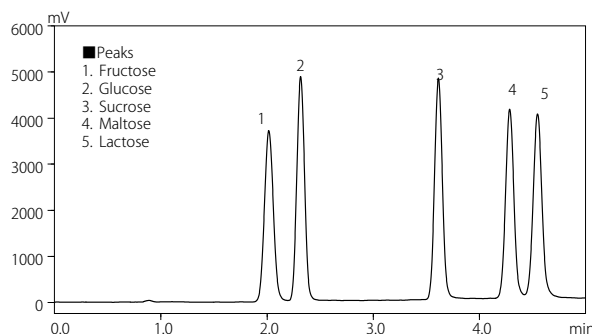


図 1 糖 5 種混合標準品 (1000 mg/L) のクロマトグラム

### 再現性

表 2 に再現性を示します。再現性は全成分とも、250 mg/L についての繰り返し分析 (n=6) で確認しました。

表 2 250 mg/L の再現性 (n=6)

Compounds	Retention Time (%RSD)	Area (%RSD)
Fructose	0.05	2.33
Glucose	0.03	1.66
Sucrose	0.04	3.18
Maltose	0.03	2.28
Lactose	0.02	3.56

### 検量線

図 2 に検量線を、表 3 に検量線の濃度範囲を示します。ELSD のレスポンスは濃度に対して指数応答のため両対数軸でプロットします。定量濃度が異なるため、表 3 の通り、フルクトースとグルコース、およびスクロース、マルトース、ラクトースについてそれぞれ異なる濃度範囲の各 6 点で検量線を作成しました。

表 3 検量線の濃度範囲

Compounds	Calibration Concentration range (mg/L)
Fructose	500, 1000, 2000,
Glucose	2500, 3000, 4000
Sucrose	
Maltose	50, 100, 250,
Lactose	750, 1000, 1500

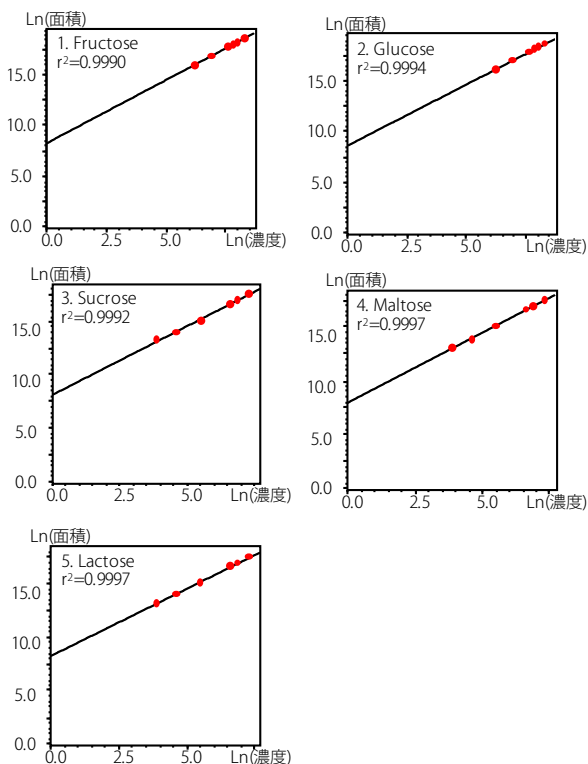


図2 検量線

## ■ 清涼飲料水中の糖 5 種高速分析

分析条件は表 1 と同じです。清涼飲料水 A について、図 3 にクロマトグラムを、表 4 に分析結果を示します。試料は 0.2 μm のメンブランフィルターでろ過した後、水/アセトニトリル混合溶媒 (50:50) で 20 倍希釈したものをしました。

清涼飲料水 B について、図 4 にクロマトグラムを、表 5 に分析結果を示します。試料が白濁していたため、0.2 μm のメンブランフィルターでろ過した後、水/アセトニトリル混合溶媒 (50:50) で 20 倍希釈し、その上澄みを用いました。

ELSD-LT III の Wide 機能により、感度に関するパラメータの設定をすることなく分析を行うことができました。

以上より、清涼飲料水中の単糖・二糖 5 種類について高速分析を行い、定量を行うことができました。

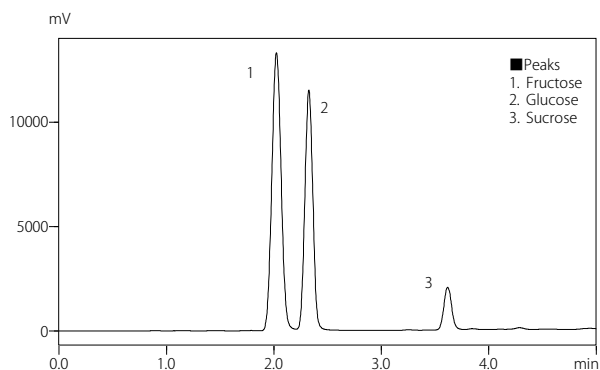


図3 清涼飲料水 A のクロマトグラム

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。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。

表 4 清涼飲料水 A の分析結果

Compounds	Retention Time (%RSD)	Area (%RSD)	Concentration*1 (mg/L)
Fructose	0.08	1.24	2920
Glucose	0.06	0.81	2113
Sucrose	0.08	1.06	510

\*1: 希釈した試料の定量値 (6 回の平均値)

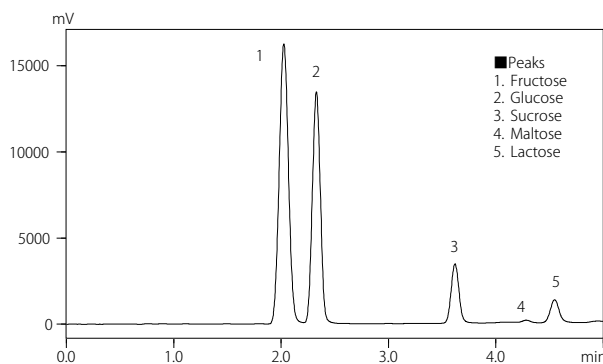


図4 清涼飲料水 B のクロマトグラム

表 5 清涼飲料水 B の分析結果

Compounds	Retention Time (%RSD)	Area (%RSD)	Concentration*1 (mg/L)
Fructose	0.03	1.63	3448
Glucose	0.04	2.07	2432
Sucrose	0.05	3.21	786
Maltose	0.01	7.60	70
Lactose	0.04	1.29	424

\*1 希釈した試料の定量値 (6 回の平均値)

## ■ まとめ

グラジエント溶離法を用いて HILIC による単糖・二糖の高速分析条件を構築し、清涼飲料水中の単糖・二糖について定性、定量を行いました。

ELSD-LT III の Wide 機能を用いることで、検出感度を検討することなく 5 種の単糖・二糖を同時に定量することができました。