

Nexera™有機酸分析システムと逆相分離-UV 検出の分離と選択性の比較

有機酸は酸性を示す有機物で、その多くがカルボキシル基を持つイオン性化合物です。食品をはじめ、化学・エネルギーや環境など幅広い分野で用いられており、多成分の分析が求められています。

有機酸をHPLCで分析する場合の最も簡便な方法として逆相分離-紫外可視吸光度検出 (UV 検出) が挙げられます。汎用的な ODS カラムと UV 検出器の組み合わせで分析を行うことができますが、一般的に有機酸は極性が高く、ODS カラムに保持されにくいことに加え、短波長域での検出となるためサンプルによっては夾雑成分の影響を大きく受けて、正確な定量結果が得られない可能性があります。

一方、Nexera 有機酸分析システムでは、有機酸に最適なイオン排除モードで分離した後、検出感度を上げるために pH 緩衝化試薬と混合して検出を行う“ポストカラム pH 緩衝化-電気伝導度検出法”を採用しています。分離および検出の両面で有機酸分析に最適な条件を設定することで、より感度良く、選択性の高い分析が可能となります。さらに、移動相と pH 緩衝化試薬がセットになった“有機酸分析移動相試薬キット”を用いることで、手軽に、再現性の良い結果を得ることができます。

本稿では、それぞれの分離-検出法で比較分析を行いました。その結果、逆相分離-UV 検出でも、試料によっては短時間で信頼性の高い結果が得られる一方、様々な試料に対応するためには、ポストカラム pH 緩衝化-電気伝導度検出法の選択性の高さが有効であることも示されましたので、ご紹介いたします。

A. Tanabe, R. Suzuki

■ 逆相分離-UV 検出による分析

逆相分離用カラムに Shim-pack™ GIST C18-AQ HP を用い、検出波長を 210 nm に設定して分析を行いました。Shim-pack GIST C18-AQ HP は、有機酸などの高極性化合物の分離に適した、水系移動相が使用可能なカラムです。粒子径が 3 μm と小さく、シャープなピークが得られることも特長の一つです。標準試料のクロマトグラムを図 1 に、分析条件を表 1 に示します。

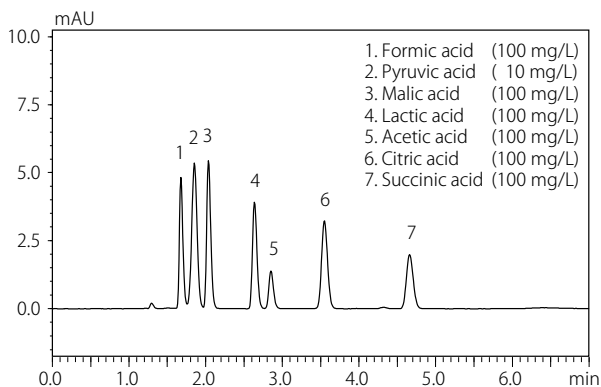


図 1 標準試料のクロマトグラム (逆相分離-UV 検出)

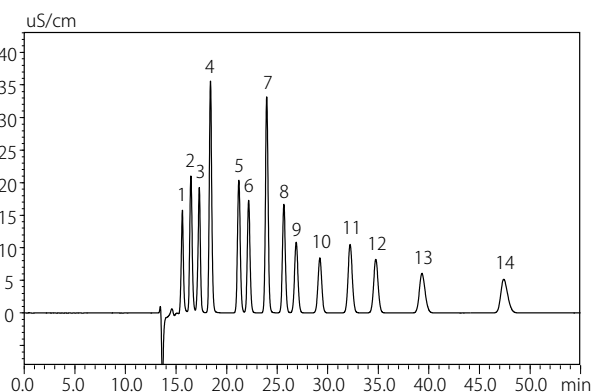
表 1 分析条件 (逆相分離-UV 検出)

System	: Nexera Series
Column	: Shim-pack GIST C18-AQ HP (250 mm × 3.0 mm I.D., 3 μm)*1
Mobile Phase	: 10 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH 2.6)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 4 μL
Vial	: 1.5 mL, IC, Polypropylene (島津ジーエルシー社製) *2
Detection	: UV 210 nm

*1 : P/N S227-30766-06、*2 : P/N GLC-IVS-100

■ Nexera 有機酸分析システムによる分析

カラムにはイオン排除モードの Shim-pack SCR-102H を 2 本使用し、ポストカラム pH 緩衝化-電気伝導度検出法にて分析を行いました。標準試料の分析例を図 2 に、分析条件を表 2 に示します。



1. Phosphoric acid	8. Acetic acid
2. Citric acid	9. Levulinic acid
3. Pyruvic acid	10. Pyroglutamic acid
4. Malic acid	11. Isobutyric acid
5. Succinic acid	12. Butyric acid
6. Lactic acid	13. Isovaleric acid
7. Formic acid	14. Valeric acid (各1000 mg/L)

図 2 標準試料のクロマトグラム (Nexera 有機酸分析システム)

表 2 分析条件 (Nexera 有機酸分析システム)

System	: Nexera 有機酸分析システム
Column	: Shim-pack SCR-102H (300 mm × 8.0 mm I.D., 7 μm)*3 × 2
Guard Column	: Guard column SCR-102H (50 mm × 6.0 mm I.D.)*4
Mobile Phase	: 5 mmol/L <i>p</i> -Toluenesulfonic acid*5
Flow Rate	: 1.0 mL/min
pH Buffering Solution	: 5 mmol/L <i>p</i> -Toluenesulfonic acid, 20 mmol/L Bis-tris, 0.1 mmol/L EDTA*5
Mixer	: Piping unit J*6
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Vial	: 1.5 mL, IC, Polypropylene (島津ジーエルシー社製)
Detection	: Conductivity detector

*3 : P/N S228-17893-91、*4 : P/N S228-17924-91、
*5 : P/N S228-61465-91、*6 : P/N S228-21747-91

■ 実試料 1 スポーツ飲料の分析

市販スポーツ飲料を水で10倍希釈し、前述の2つの方法で分析を行いました。図3に逆相分離-UV検出のクロマトグラム、図4にNexera有機酸分析システムのクロマトグラムを示します。

スポーツ飲料のように夾雑成分が比較的少ない試料では、逆相分離-UV検出でも、Nexera有機酸分析システムと同様の良好な分離と選択性が得られました。分析時間も短縮することができますので、このような試料の場合、逆相分離-UV検出を選択することにより、分析の高速化が可能となります。

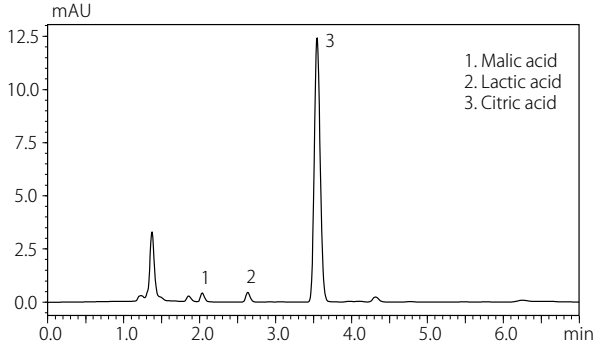


図3 スポーツ飲料のクロマトグラム (逆相分離-UV検出)

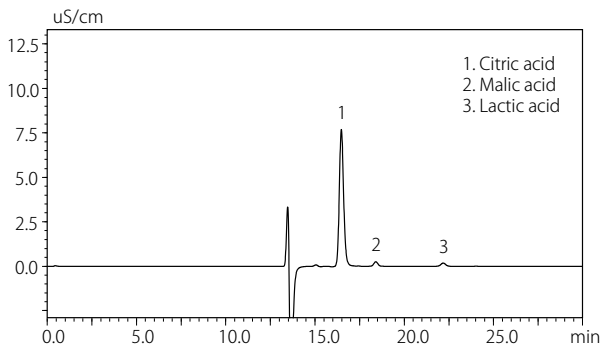


図4 スポーツ飲料のクロマトグラム (Nexera有機酸分析システム)

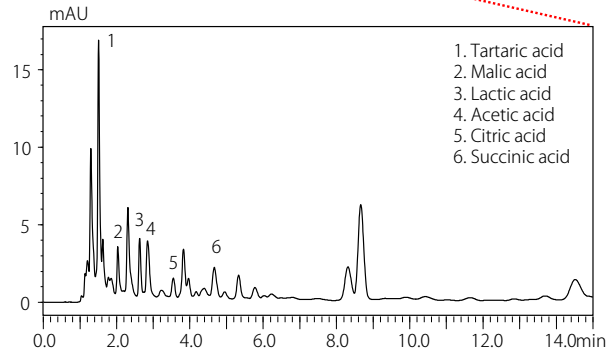
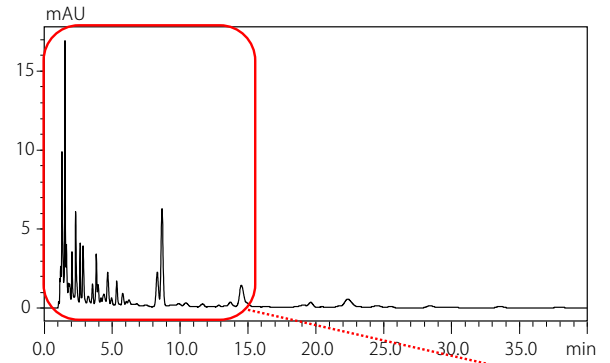


図5 赤ワインのクロマトグラム (逆相分離-UV検出、上：全体 下：拡大)

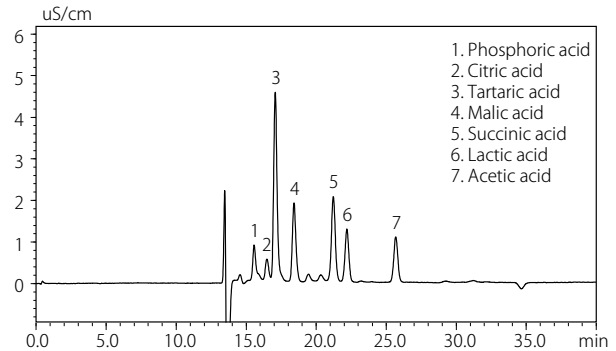


図6 赤ワインのクロマトグラム (Nexera有機酸分析システム)

■ 実試料 2 赤ワインの分析

市販の赤ワインを水で10倍希釈し、2つの方法で分析を行いました。図5に逆相分離-UV検出のクロマトグラム、図6にNexera有機酸分析システムのクロマトグラムを示します。

図5の通り、赤ワインを逆相分離-UV検出で行うと、夾雑成分由来のピークが多数検出されました。それらが分離不良や誤同定の原因となり、結果として、分析結果の信頼性が下がる恐れがあります。また本法では移動相に有機溶媒を含まないため、疎水性の高い成分がカラムに残存しやすく、必要以上に分析時間が長くなったり、遅れて溶出した成分が次の分析に影響する恐れがあります。

一方、Nexera有機酸分析システムでは、図6に示すように夾雑成分の影響を受けることなく、選択性の高い結果が得られました。赤ワインのように夾雑成分の多い試料については、Nexera有機酸分析システムを用いることで、なるべく短い時間で、信頼性の高い結果を得ることができます。

■ まとめ

同じ試料の分析を逆相分離-UV検出とNexera有機酸分析システムの2つの方法で行い、比較検証しました。その結果、試料によって逆相分離-UV検出でも対応できるものと、Nexera有機酸分析システムの“ポストカラムpH緩衝化-電気伝導度検出法”の高い選択性が必要とされるものがあり、これらの分析方法をうまく使い分けることで、より効率良く、信頼性の高い分析結果を得ることができます。

NexeraおよびShim-pack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。

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。