

LCMS-2010EVを用いたクロロゲン酸の分析

Analysis of chlorogenic acid using LCMS-2010EV

クロロゲン酸(3-カフェオイルキナ酸)はコーヒー豆などに含まれ、抗酸化作用を示すことが知られています。フラボノイドやカテキンなどと共に近年注目されており、盛んに研究がなされています。HPLCは有力な分析方法であり、フォトダイオードアレイ検出器を用いたコーヒー

豆、コーヒー飲料の分析例をアプリケーションニュースNo.L306でご紹介しました。ここではESI法を用いたLC-MSによって、コーヒーおよびりんごジュース中クロロゲン酸、カフェイン、カフェイン酸を分析した例をご紹介します。

S.Kawano

ESIによりクロロゲン酸は $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ と $[M-H]^-$ を、カフェインは $[M+H]^+$ 、カフェイン酸は $[M+H]^+$ と $[M-H]^-$ を生じます。ポジティブ・ネガティブ同時測定スキャンモードによる標準品(各成分20 $\mu\text{g/mL}$)の測定例をFig.1に示します。移動相に0.1% 酢酸水とアセトニトリルを用いたグラジエント溶離を行い、溶出は(1)クロロゲン酸、(2)カフェイン、(3)カフェイン酸の順になりました。3成分

ともFig.2のようなシンプルなマススペクトルが得られました。定量分析においてクロロゲン酸は $[M-H]^-$ (m/z 353)、カフェインは $[M+H]^+$ (m/z 195)、カフェイン酸は $[M-H]^-$ (m/z 179)をSIMモニターイオンに設定し、ポジティブ・ネガティブ同時測定を行いました。Fig.3に示すように検量線は0.05-10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で相関係数が0.99以上であり、良好な直線性が得られました。

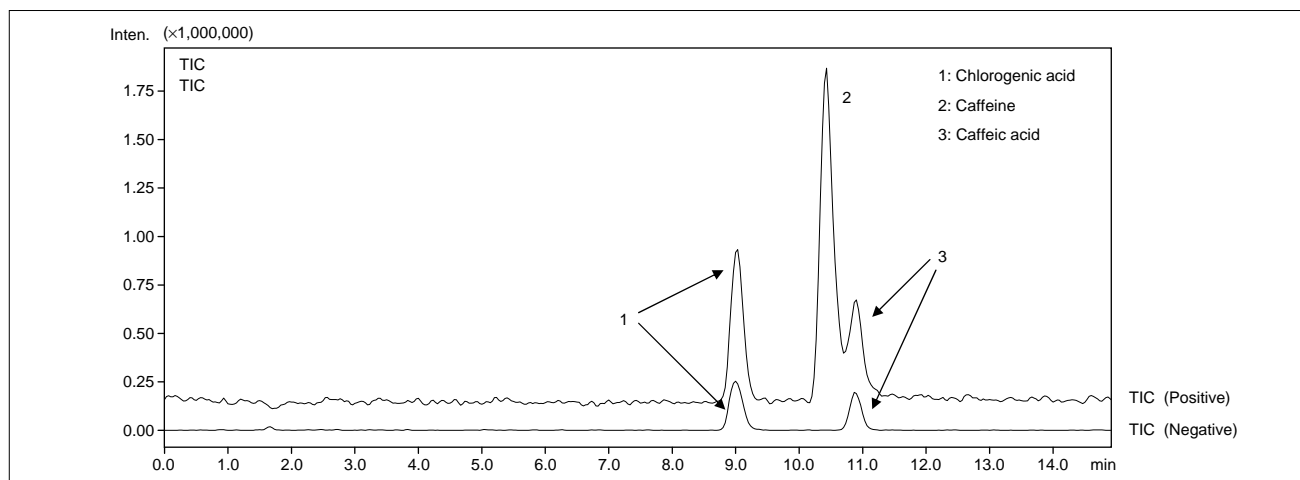


Fig.1 標準品のTIC(ポジティブ/ネガティブ)
Total ion chromatograms (positive, negative) of standard mixture(1: chlorogenic acid, 2: caffeine, 3: caffeic acid)

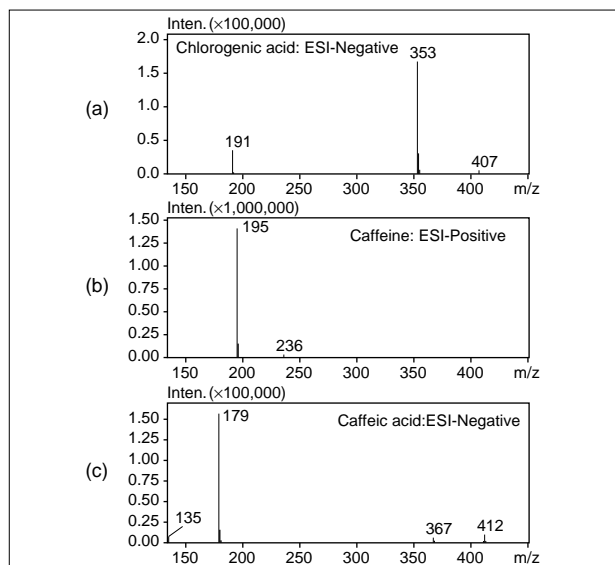


Fig.2 標準品のマススペクトル
Mass spectra of standards ((a): chlorogenic acid (negative), (b): caffeine (positive), (c): caffeic acid (negative))

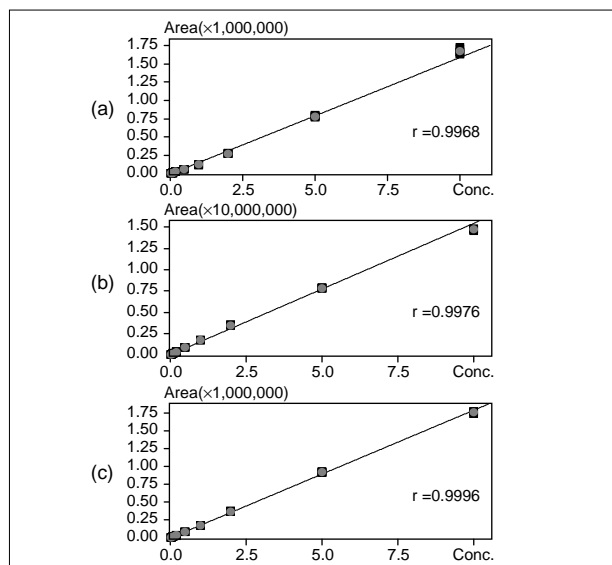


Fig.3 検量線
Calibration curves of (a): chlorogenic acid, (b): caffeine, (c): caffeic acid

コーヒー（50倍希釈），りんごジュース（10倍希釈）を孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過して注入した場合のSIMクロマトグラムをそれぞれFig.4，Fig.5に示します。もとのコーヒー中濃度はクロロゲン酸が

130 $\mu\text{g/mL}$ ，カフェインが350 $\mu\text{g/mL}$ ，カフェイン酸が4 $\mu\text{g/mL}$ でした。また，もとのりんごジュース中濃度はクロロゲン酸が74 $\mu\text{g/mL}$ であり，微量のカフェイン酸も検出されました。

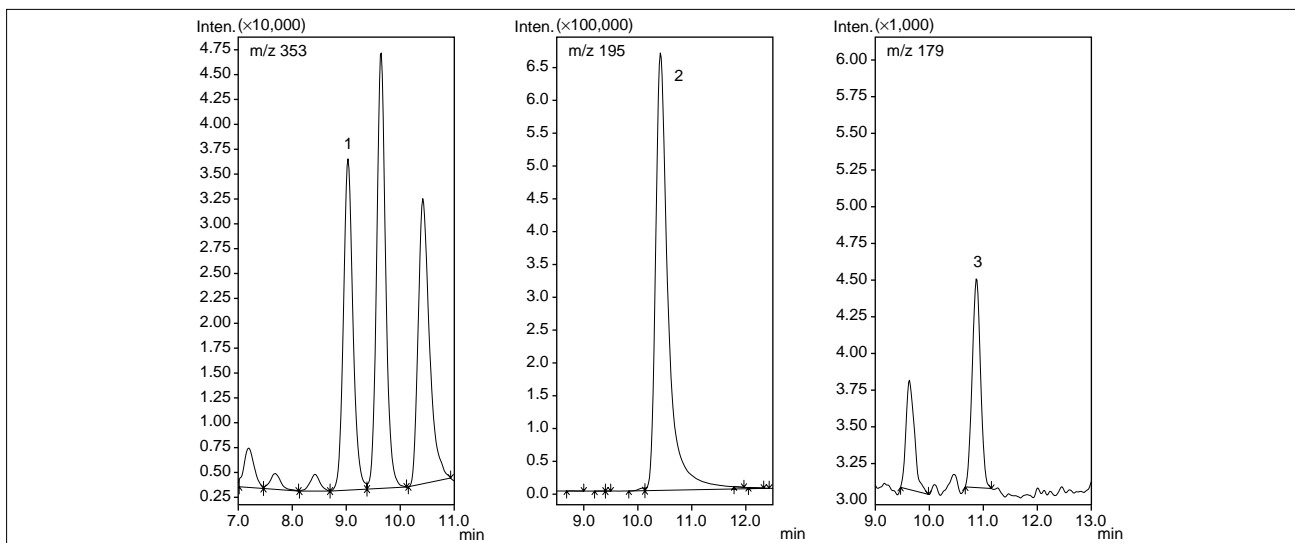


Fig.4 コーヒーのSIMクロマトグラム
SIM chromatograms of coffee (1: chlorogenic acid, 2: caffeine, 3: caffeic acid)

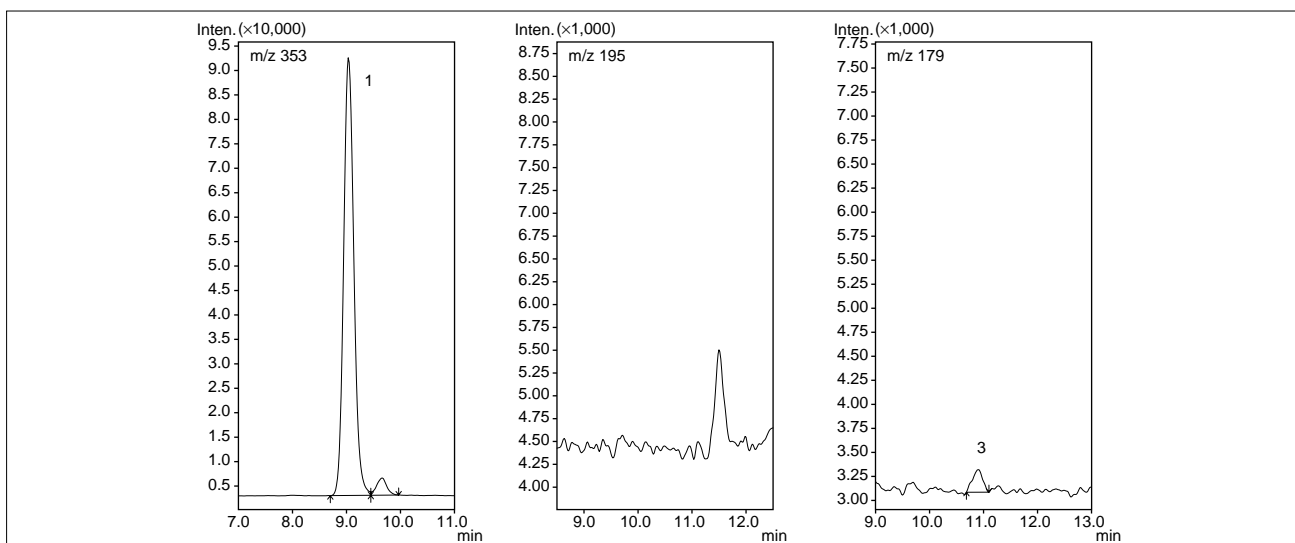


Fig.5 りんごジュースのSIMクロマトグラム
SIM chromatograms of apple juice (1: chlorogenic acid, 3: caffeic acid)

Table 1 分析条件
Analytical conditions for LC-MS

Column	: Phenomenex Synergi Hydro-RP (2.0mm I.D. \times 150mmL.)	Nebulizing gas flow	: 1.5L/min
Mobile phase A	: water containing 0.1% formic acid	Drying gas pressure	: 0.1MPa
Mobile phase B	: acetonitrile	CDL temperature	: 250°C
Time program	: 10%B(0min) \rightarrow 20%B(10min) \rightarrow 90%B(12min) \rightarrow 10%B(12.01-25min)	Block heater temperature	: 200°C
Flow rate	: 0.2mL/min	CDL, Q-array voltages	: using default values
Injection volume	: 5 μL	Scan	: m/z 130-500 (1.0sec)
Column temperature	: 40°C	SIM	: m/z 353 (negative, chlorogenic acid), 195 (positive, caffeine), 179 (negative, caffeic acid) (0.5sec)
Probe voltage	: +4.5kV (ESI-Positive mode), -3.5kV (ESI-Negative mode)		

 島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

●東京 ☎(03)3219-1691
●京都 ☎(075)813-1691

<http://www.an.shimadzu.co.jp>

会員情報提供サービス「Shim-Solutions Club」にご登録下さい。
<http://solutions.shimadzu.co.jp/>
いろいろな情報提供サービスが受けられます。

3100-09502-11A-IK
2005.9