

## コーヒーに含まれる機能性成分の一斉定量分析法

岩田 奈津紀

### ユーザーベネフィット

- ◆ 酸性から塩基性までの高極性物質を一斉に分析できます。
- ◆ 一般に逆相カラムでは保持が小さい塩基性部位を有する物質のピークを保持し、再現よく分析できます。

### はじめに

近年、コーヒーの摂取には、認知症、糖尿病、がんなどの生活習慣病の予防または改善効果が報告されています<sup>1), 2)</sup>。また、それらの効果にピロカテコール、トリゴネリンなどの成分が関与していることも分かってきました<sup>3), 4)</sup>。

一方、トリゴネリンのような塩基性部位を有する物質はC18カラムでは保持されないため、分析が困難です。そこで、固定相にペンタフルオロフェニルプロピル基を有するカラム (PFPPカラム) を用いて分析しました。このカラムは、疎水性相互作用だけでなく、 $\pi$ - $\pi$ 相互作用や双極子-双極子相互作用などの分離選択性を示すことが期待されます。

ここでは、Shim-pack Scepter™ PFPPカラムを用いたコーヒー中の機能性成分を同時定量する一斉分析法をご紹介します。

### 混合標準溶液の分析

図1に対象成分であるトリゴネリン、ピロカテコール、クロロゲン酸、カフェイン酸の構造式を示します。

Shim-pack Scepter C18とShim-pack Scepter PFPPを比較しました。表1に分析条件を、図2にそれぞれのカラムによるトリゴネリン、ピロカテコール、クロロゲン酸、カフェイン、カフェイン酸の混合標準溶液 (各10 mg/L) のクロマトグラムを示します。Shim-pack Scepter C18では、トリゴネリンの保持が非常に小さい結果でしたが、Shim-pack Scepter PFPPを用いることで、トリゴネリンを保持することができました。なお、カラムへの成分の保持が小さい場合、夾雑成分の影響を受けやすくなるため、一般には保持が大きいと分離が良いと言われています。

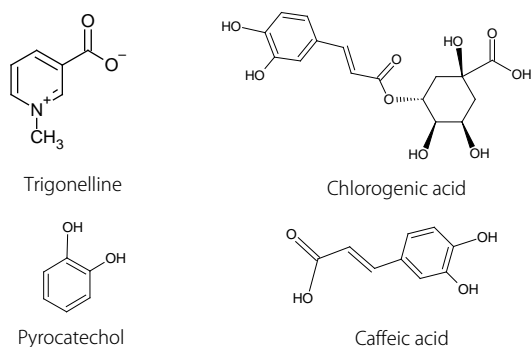


図1 対象成分4種類の構造式

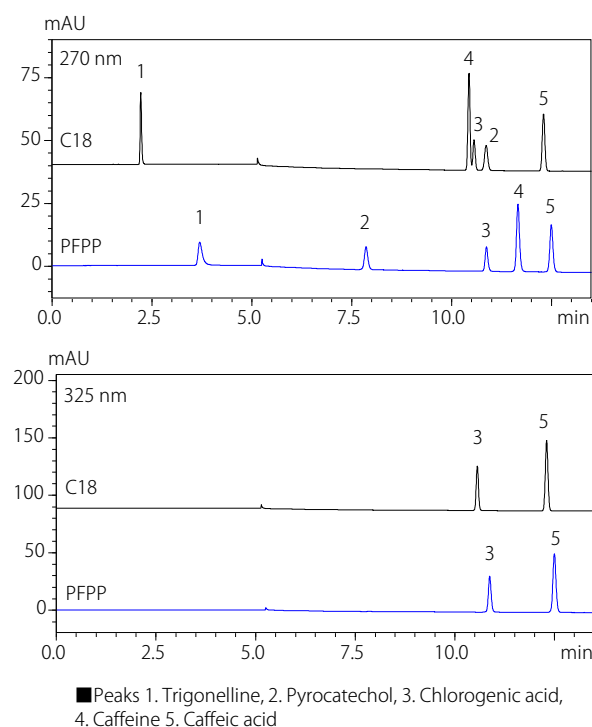


図2 混合標準溶液 (各10 mg/L) のクロマトグラム

表1 分析条件

System	: Nexera lite
Column (C18)	: Shim-pack Scepter C18-120 <sup>*1</sup> (150 mm×4.6 mm I.D., 3 μm)
Column (PFPP)	: Shim-pack Scepter PFPP-120 <sup>*2</sup> (150 mm×4.6 mm I.D., 3 μm)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Mobile phase	: A) 20 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH 2.6) B) Acetonitrile
Time Program	: 0%B (0.00-1.00 min)→10%B (4.00 min) →20%B (10.00-12.00 min) →70%B (12.01-13.00 min) →0%B (13.01-18.00 min)
Mixer	: 180 μL
Column temp.	: 25 °C
Injection volume	: 5 μL
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass <sup>*3</sup>
Detection (PDA)	: Ch1 : 270 nm, Ch2 : 325 nm (SPD-M40)

\*1 P/N: 227-31016-05 \*2 P/N: 227-31057-05 \*3 P/N: 227-34001-01

### 再現性

表2に、各1 mg/Lの混合標準溶液について、6回繰り返し分析における保持時間と面積の再現性(%RSD)を示します。

表2 6回繰り返し分析における再現性 (%RSD)

Compound	Retention time	Peak area
Trigonelline	0.08	0.65
Pyrocatechol	0.05	0.50
Chlorogenic acid	0.07	0.14
Caffeine	0.06	0.15
Caffeic acid	0.05	0.21

## ■ 検量線

対象の5成分について検量線を作成したところ、いずれも寄与率  $r^2=0.9999$ 以上と良好な直線性が得られました。図3に、代表してトリゴネリンとピロカテコールの検量線を、表3に全成分の検量線濃度範囲と寄与率を示します。

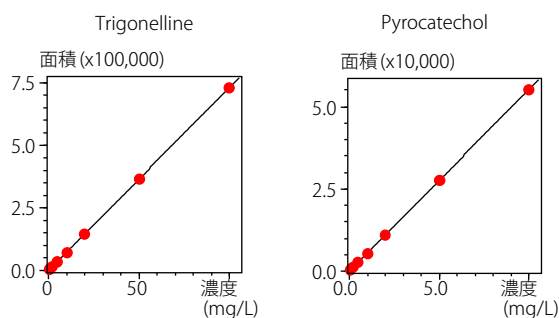


図3 検量線

表3 検量線濃度範囲と寄与率 ( $r^2$ )

Compound	Conc. range (mg/L)	$r^2$
Trigonelline	1-100	0.99999
Pyrocatechol	0.1-10	0.99999
Chlorogenic acid	1-100	0.99999
Caffeine	1-100	0.99999
Caffeic acid	0.1-10	0.99999

## ■ コーヒーの分析

市販のコーヒーの挽き豆10 gを150 mLの熱湯で抽出した液をサンプルとしました。0.2  $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過後、超純水で10倍希釈し、HPLCに供しました。

図4にコーヒーのクロマトグラムを、表4に分析結果を示します。表4に示した濃度は、前処理後の濃度となります。図5にサンプルと各成分の標準品のUVスペクトルを示します。UVスペクトルの一致から、コーヒー中の各成分と夾雑成分が分離していることがわかります。

表4 分析結果 (N=6)

Compound	Concentration(mg/L)	%RSD
Trigonelline	21.5	0.08
Pyrocatechol	1.0	1.05
Chlorogenic acid	21.3	0.07
Caffeine	79.2	0.05
Caffeic acid	N.D.	N.D.

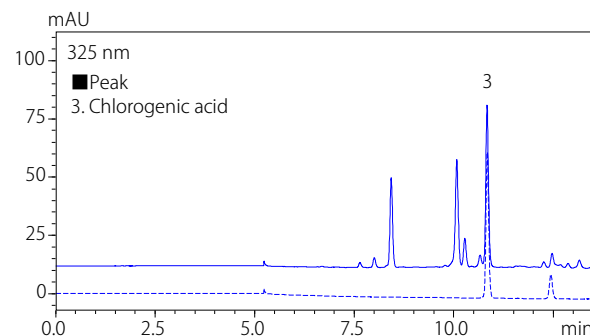
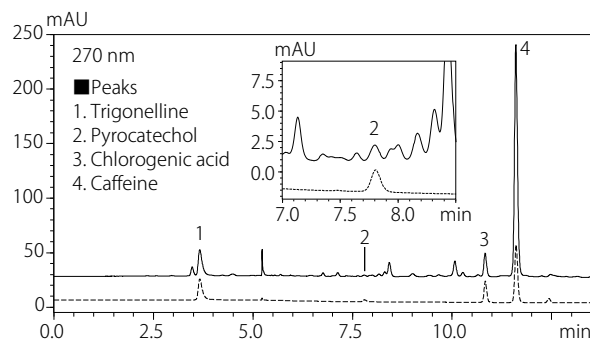


図4 コーヒーのクロマトグラム  
(実線：コーヒー、破線：標準溶液)

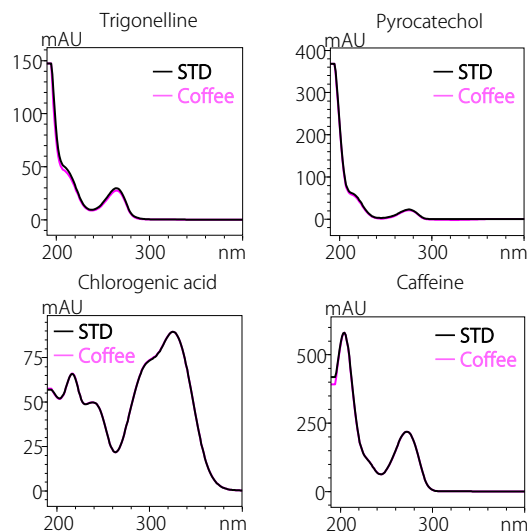


図5 UVスペクトル

## ■ まとめ

コーヒー中の物性の異なる機能性成分の一斉分析法を開発しました。Shim-pack Scepter PFPPを使用することにより、トリゴネリンのような塩基性部位を有する物質のピークを保持し、夾雑成分と分離することができました。本稿の分析法は、機能性成分を含む食品分野の研究開発への貢献が期待されます。

### [参考文献]

- 1) van Dam R. M., Feskens E. J., *Lancet* **360**, 1477-1478 (2002).
- 2) Poole R., Kennedy O. J., Roderick P., Fallowfield J. A., Hayes P. C., Parkes J., *BMJ* **359**, j5024 (2017).
- 3) Fukuyama K., Kakio S., Nakazawa Y., Kobata K., Funakoshi-Tago M., Suzuki T., Tamura H., *Mol. Nutr. Food Res.* **62**, e1800238 (2018).
- 4) Farid M.M., Yang X., Kuboyama T., Tohda C. *Scientific Reports* **10**, 16424 (2020).

Nexera、Shim-pack ScepterおよびSHIMADZU LabTotal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。

▶ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ Nexera™シリーズ  
超高速液体クロマトグラフ

## 関連分野

▶ 食品・飲料

▶ ライフサイエンス

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ