

高速高分離分析の応用(その10) 有機酸の分析

High Speed with High Resolution Analysis (Part 10) Analysis of Organic Acids

一般に、HPLCによる食品中の有機酸（低級脂肪酸）分析には、イオン排除モードとポストカラム反応検出法を組み合わせる方法が用いられますが、分析の高速化という観点では限界があります。

ここでは、逆相モードと吸光度検出器を用いた超高速LCシステム“Prominence UFLC”による有機酸の高速高分離分析例をご紹介します。

M. Ogaito

標準試料の分析

Analysis of Standard Solution

酢酸やくえん酸などの有機酸は極性が高く、逆相カラムで保持させるには移動相として水溶液のみを用いる必要がありますが、一般にこのような移動相ではシリカ系逆相カラムの耐久性が問題になります。そこで、今回は極性基をエンドキャッピングして極性化合物の保持を強めるとともに、水溶液のみの移動相での耐久性を高めたODSカラム“Phenomenex Synergi Hydro-RP”（粒子径2.5 μm）を用いて検討を行いました。

Fig.1に有機酸標準混合液（ぎ酸，マロン酸，酢酸，くえん酸各100 mg/L，移動相で調製）4 μLを注入したクロマトグラムを、またTable 1にその分析条件を示します。移動相としては酸性りん酸緩衝液を用いて、紫外210 nmで検出しました。本分析条件で、これら有機酸を2分以内に分離することが可能です。

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Phenomenex Synergi 2.5 μm Hydro-RP 100 Å (100 mm L. × 3.0 mm I.D., 2.5 μm)
Mobile Phase	: 10 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH 2.6)
Flow Rate	: 0.8 mL/min
Column Temp.	: 30 °C
Injection volume	: 4 μL
Detection	: SPD-20A at 210 nm
Flow Cell	: Semi-micro Cell

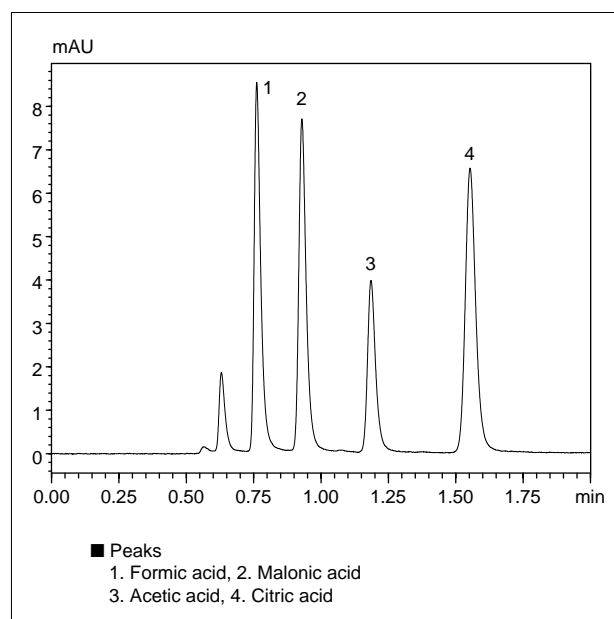


Fig.1 有機酸標準4成分のクロマトグラム（各100 mg/L 4 μL注入）
Chromatogram of a Standard Mixture of 4 Organic Acids
(100 mg/L each, 4 μL injected)

低濃度試料の分析

Analysis of Low Concentration Standard Solution

Fig.2 に有機酸標準混合液(ぎ酸, マロン酸, 酢酸, くえん酸各5 mg/L, 移動相で調製) 4 μ L を注入したクロマトグラムを示します。この分析を5回繰り返した際のピーク面積の再現性(%RSD) はぎ酸 1.7%, マロン酸 1.6%, 酢酸 1.9%, くえん酸 2.1% でした。

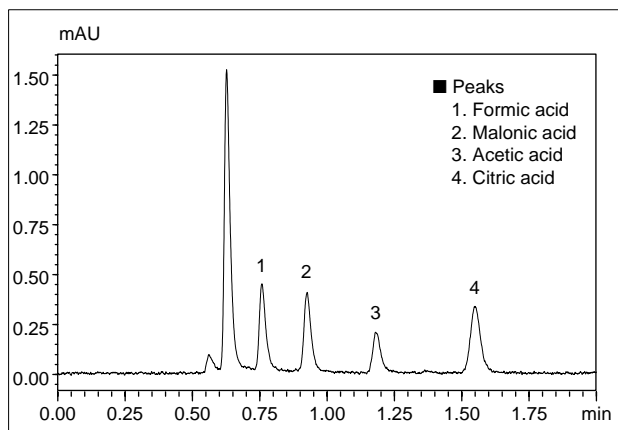


Fig.2 有機酸標準4成分のクロマトグラム(各5 mg/L 4 μ L 注入)
Chromatogram of a Standard Mixture of 4 Organic Acids
(5 mg/L each, 4 μ L injected)

直線性

Linearity

Fig.3 に5~100 mg/Lにおける各有機酸の検量線を示します。各濃度の標準溶液を5回繰り返し分析を行い、その平均面積値から検量線を作成しました。各有機酸について $R^2=0.9999$ と良好な直線性が得られました。

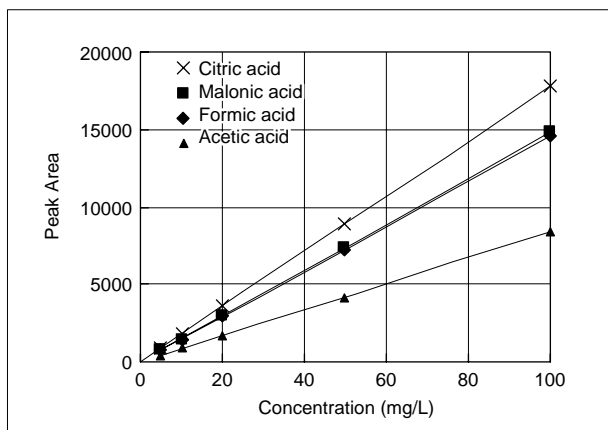


Fig.3 直線性(5~100 mg/L 4 μ L 注入)
Linearity (5~100 mg/L, 4 μ L injected)

清涼飲料の分析

Analysis of Soft Drink

Fig.4, 5 に市販清涼飲料のクロマトグラムを示します。清涼飲料Aは移動相で50倍希釈後, 清涼飲料Bは移動相で

20倍希釈後, それぞれメンブランフィルタ(孔径0.2 μ m)でろ過を行い, その4 μ L を注入しました。

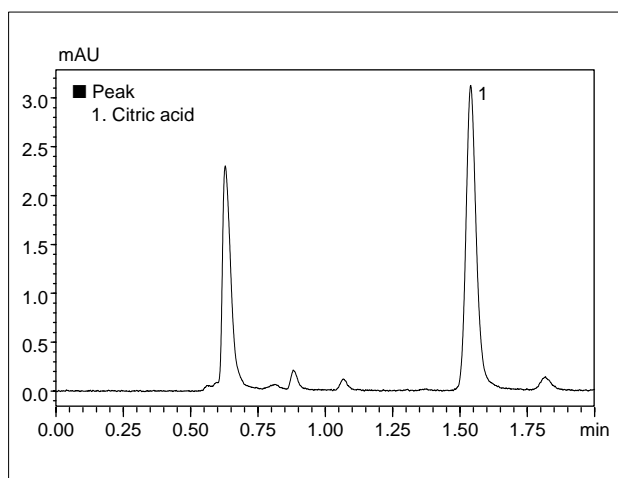


Fig.4 清涼飲料A(4 μ L 注入)
Soft Drink A (4 μ L injected)

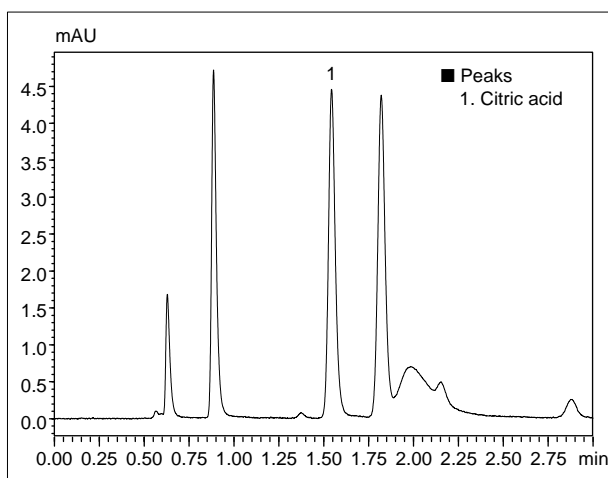


Fig.5 清涼飲料B(4 μ L 注入)
Soft Drink B (4 μ L injected)

本分析における注意点

- ・ 試料注入
移動相として緩衝液のみを使用していますので, 試料溶媒や注入量の影響を受ける場合があります。例えば, アルコール飲料などを多量に注入すると, ピークが歪むことがあります。
- ・ 検出の選択性
紫外210 nmによる検出ですので, 夾雑性分の影響を受けやすくなっています。夾雑物の多い試料では分析が困難な場合があります。
- ・ カラムの洗浄
緩衝液のみの移動相で使用していると, 有機酸の溶出時間が徐々に悪くなる場合があります。この場合, 有機溶媒を含む移動相(例: 水/アセトニトリル=1/1)で洗浄してください。この洗浄は, 試料中の疎水性成分を洗い出すためにも効果的です。

初版発行: 2007年12月

 **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

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(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。