

UHPLCを用いた食品中成分の迅速分析

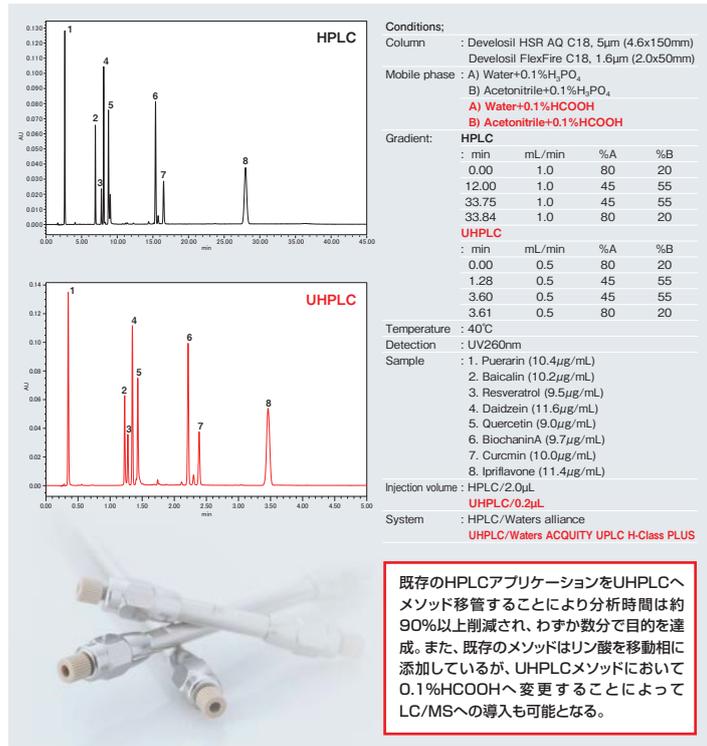
堀切 智¹ (野村化学株式会社)



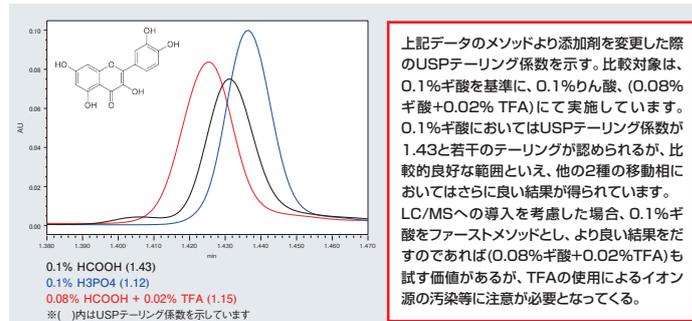
はじめに

現在の食品成分分析においては、HPLCを用いた分析法が主流となっている。実際に弊社においても、受託分析業務における食品成分分析のメソッド開発は約8割がHPLCを使用することを条件として依頼を受けている。HPLC分析の場合には、多成分であることや不純物との分離を達成しようとすると非常に長い分析時間を必要とする。そこで、本研究においては、UHPLCを用いることにより、分析時間の短縮のほか、溶媒使用量の節約に加えて、LC/MSでの分析を考慮して、辛酸および辛酸アンモニウムの揮発性緩衝液のみでの分析条件を構築し、これを実サンプルへの定量分析を実施したので報告する。

ポリフェノール類分析のUHPLCメソッド移管



移動相の違いによるケルセチンのピーク形状

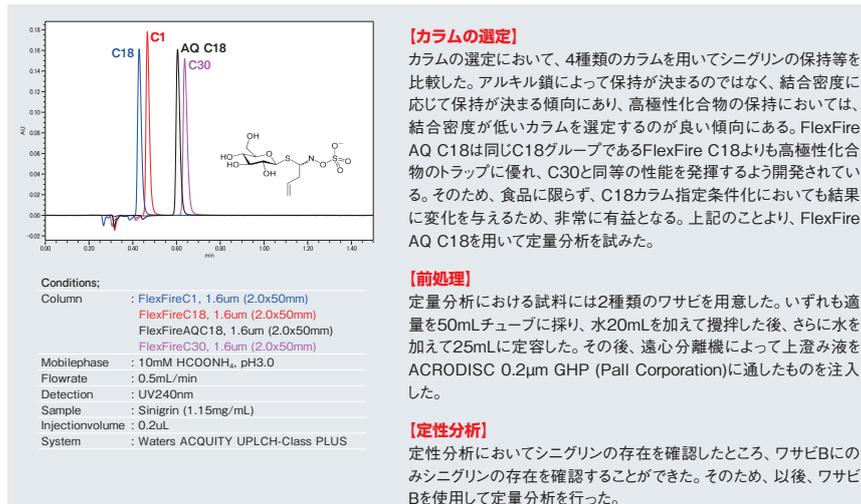


【各種移動相条件におけるテーリング係数および分離度】

各種移動相条件にて得られた結果より各化合物のテーリング係数および分離度を示す。当初より懸念されていた Quercetin のテーリング係数はリン酸を使用することにより 1.43 \rightarrow 1.12 と改善され、よりシャープなピーク形状が得られた。また、0.08% $HCOOH$ + 0.02% TFA でもリン酸を使用した時とほぼ同等の効果が得られることが分かった。分離度の観点から、Baicalin と Resveratrol 間の分離が際どい領域となるが、中でも 0.1% $HCOOH$ が最も良い分離度を示した。分離度はグラジエントメソッドをアレンジすることで解決できる可能性が十分にある。

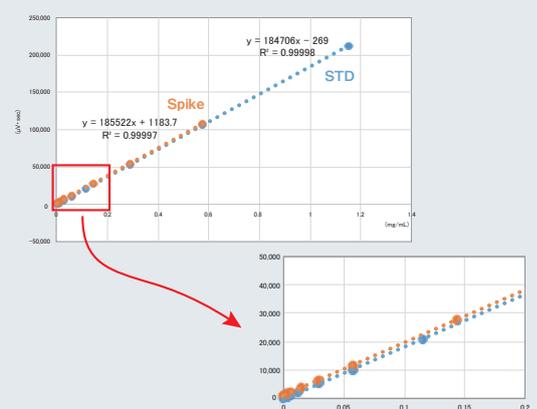
Compound	0.1% $HCOOH$		0.1% H_2PO_4		0.08% $HCOOH$ + 0.02% TFA	
	Tailing	Rs	Tailing	Rs	Tailing	Rs
Puerarin	1.11		1.22		1.11	
Baicalin	1.15	37.93	N.D.	39.98	N.D.	36.98
Resveratrol	0.95	2.00	N.D.	1.22	N.D.	1.16
Daidzein	0.99	2.75	1.02	2.68	0.96	2.53
Quercetin	1.43	3.31	1.12	3.44	1.15	3.08
Biochanin A	0.99	26.69	1.01	27.34	0.95	24.83
Curcumin	1.01	4.85	1.02	4.88	0.96	4.49
Ipriflavone	1.01	16.70	1.03	16.79	1.00	16.20

わさび中に含まれるシニグリンの分析



【定量分析】

本研究における定量分析は添加回収試験にて行った。



おわりに

本研究において、HPLC から UHPLC へ移管することにより大幅な時間短縮が可能であり、その際に生じるカラム長さのロスは 1.6 μ m 粒子径のカラムを用いることで分離度を損なうことなく分析を実行することができる。また、標準品での評価ではなく、実試料を用いた場合においても添加回収試験の結果から、UHPLC を用いても直線性および回収率は良好な結果が得られることから、既存のメソッドから UHPLC へ移管は、短時間で分析で正確さを損なうことなく分析を実施することが可能であることが示唆された。低極性から高極性化合物が混在する食品成分の分析には FlexFire AQ C18 を選択することで、0.1% 辛酸や低濃度の辛酸アンモニウムの揮発性緩衝液による分析が可能となるため、LC/MS 検出に向けたメソッド開発も容易に構築できる利点がある。