

UHPLCによる『わさび』中シニグリンの分析

1. はじめに

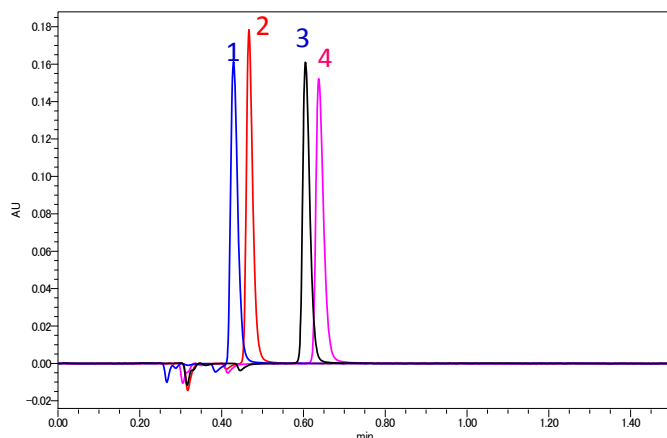
わさびに含まれる辛味成分であるシニグリンには消化促進効果、血行促進効果、殺菌効果があることが知られています。また、シニグリンが酵素分解によって生成されるアリルイソチオシアネートががんを抑制する効果があることも報告されています。

化学的な性質として、シニグリンは極性が高い傾向にあります。そのため、HPLCでは高極性化合物のトラップに優れたカラムもしくはHILICという選択が予測できます。

そこで、弊社では使いやすさ、カラム平衡化等を考慮して逆相カラムにおいてわさびに含まれるシニグリンの分析をUHPLCシステムを用いて検討しました。

2. カラムの選定

シニグリンを分析するにあたり、高極性化合物の保持と分離に長けたカラムの選定が必要となります。



FlexFireシリーズ：シニグリンの保持比較

Conditions:

Column: FlexFire C18, 1.6 μ m (2.0x50mm)

FlexFire C1, 1.6 μ m (2.0x50mm)

FlexFire AQ C18, 1.6 μ m (2.0x50mm)

FlexFire C30, 1.6 μ m (2.0x50mm)

Mobile phase: 10mM HCOONH₄, pH3.0

Temperature: 40°C

Detection: UV240nm

Sample: Sinigrin(1.15mg/mL)

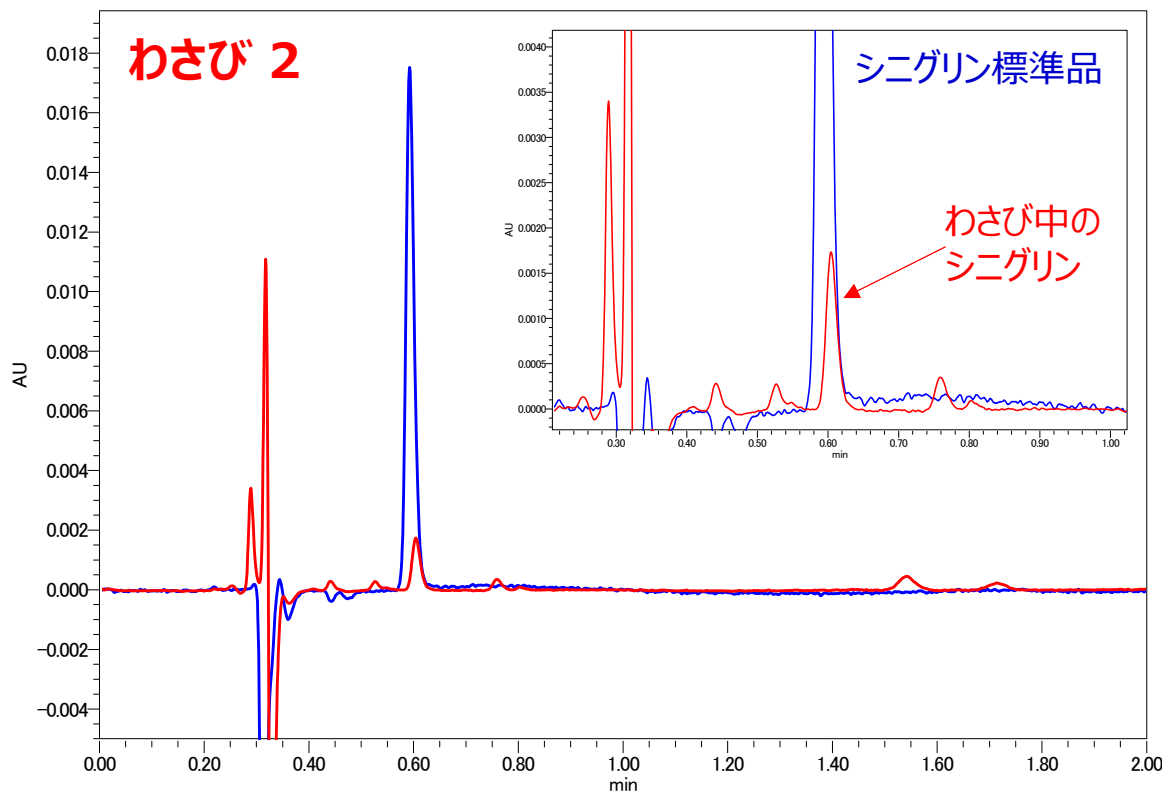
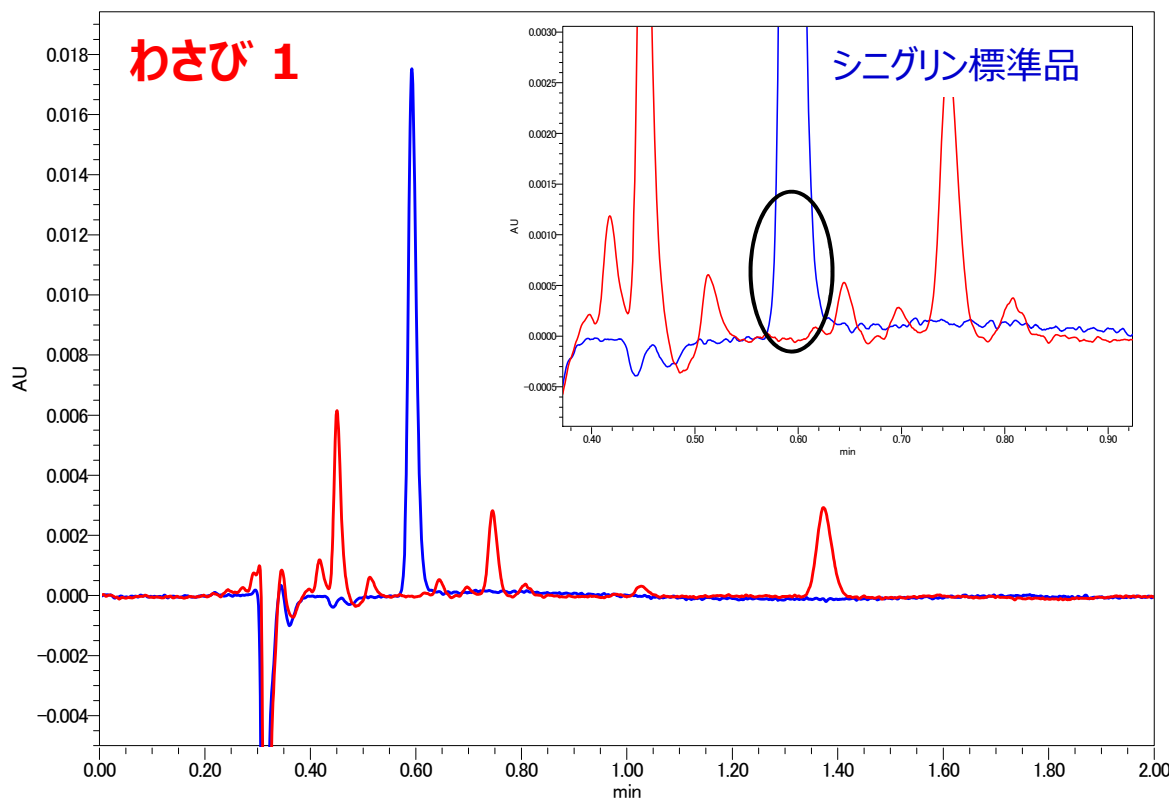
Injection volume: 0.2 μ L

System: Waters ACQUITY UPLC H-Class PLUS

この結果より、FlexFire AQ C18およびFlexFire C30において良好な結果を得ることが分かりました。FlexFire AQ C18はC18基でありながら、C30と同等の性能を発揮し、水系100%移動相の使用が可能になるなど、C30ならではの特徴をC18でも達成できるように開発されました。今回はこのFlexFire AQ C18を用いて実サンプルの分析を実施しました。



3. わさび中に含まれるシニグリンの分析



Conditions(わさび1):

Column: FlexFire AQ C18, 1.6 μ m (2.0x50mm)

Mobile phase: 10mM HCOONH₄, pH3.0

Temperature: 40°C

Detection: UV240nm

Sample: Sinigrin STD (1.15mg/mL)

わさび1 (61.78mg/mL)

Injection volume: 0.2 μ L

System: Waters ACQUITY UPLC H-Class PLUS

Conditions(わさび2):

Column: FlexFire AQ C18, 1.6 μ m (2.0x50mm)

Mobile phase: 10mM HCOONH₄, pH3.0

Temperature: 40°C

Detection: UV240nm

Sample: Sinigrin STD (1.15mg/mL)

わさび2 (85.16mg/mL)

Injection volume: 0.2 μ L

System: Waters ACQUITY UPLC H-Class PLUS

試料の前処理

わさび適量を50mLのチューブに採る

↓
水を加えて攪拌

↓
水を加えて50mLに定容する

↓
遠心分離

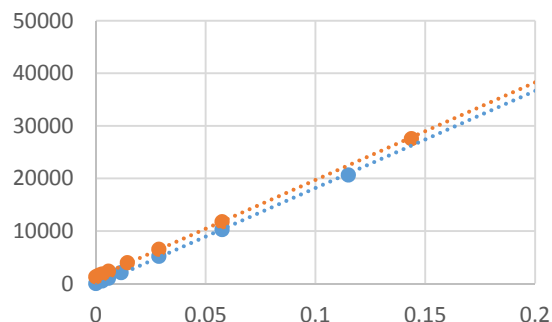
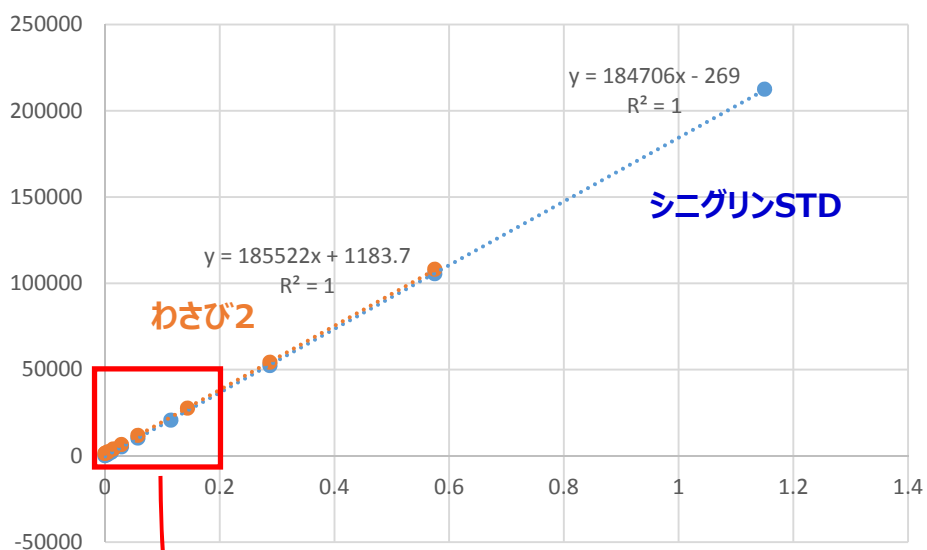
↓
上澄液をシリンジフィルター(0.2 μ m)でろ過

↓
UHPLCに注入

4. 添加回収試験

わさび1にはシニグリンの含有が認められなかったため、わさび2において添加回収試験を実施しました。

シニグリン標準品およびわさび2の検量線は右図が示すとおり良好な直線性をえることができました。ここから算出される回収率はほぼ100%であることから、本法における定量性は確かなものと判断できます。



5. 結果

本分析条件において、わさび2の全量85.16mg/mL中のシニグリン濃度は面積値：1,912 μ V \cdot secであったことから、11.8 μ g/mLとなります。したがって、わさび2本体の約4.3g中にシニグリン：0.59mgが含まれていることが分かりました。

また、従来よりシニグリンは高極性化合物として分類されるため、HILICカラムを使用するアプリケーションが多く存在しますが、FlexFire AQ C18のように逆相系で、しかも、汎用性の高いC18グループを用いて分析可能とするメソッドは、分析値の高い再現性のほかに絶対的な信頼性・安心感を与えます。

さらに、UHPLCならではの短時間分析に加え、LC/MSにも導入可能なメソッドの構築のパターンは今後、あらゆる分野において重要な役割を果たすものと思われれます。

本レポートで使用したわさびはいずれも市販品を用いており、わさび1にはシニグリンが含まれておらず、わさび2とは原料表示・価格にも違いが確認できました。

Develosil FlexFire AQ C18 価格表

内径(mm)	長さ(mm)	粒子径(μ m)	ステンレスカラム		メタルフリーカラム	
			価格(円)	商品コード	価格(円)	商品コード
2.0	35	1.6 μ m	73,000	306-I20035W	96,000	306-I20035MFW
	50		73,000	306-I20050W	96,000	306-I20050MFW
	75		75,000	306-I20075W	98,000	306-I20075MFW
	100		78,000	306-I20100W	101,000	306-I20100MFW
	150		83,000	306-I20150W	106,000	306-I20150MFW
	250		—	—	—	—
	35	2.6 μ m	63,000	306-L20035W	86,000	306-L20035MFW
	50		63,000	306-L20050W	86,000	306-L20050MFW
	75		65,000	306-L20075W	88,000	306-L20075MFW
	100		68,000	306-L20100W	91,000	306-L20100MFW
	150		73,000	306-L20150W	96,000	306-L20150MFW
	250		78,000	306-L20250W	101,000	306-L20250MFW
	35	5 μ m	58,000	306-520035W	81,000	306-520035MFW
	50		58,000	306-520050W	81,000	306-520050MFW
	75		60,000	306-520075W	83,000	306-520075MFW
	100		63,000	306-520100W	86,000	306-520100MFW
	150		68,000	306-520150W	91,000	306-520150MFW
	250		73,000	306-520250W	96,000	306-520250MFW

※価格に消費税は含まれておりません。

■お問い合わせ/Contact us



野村化学株式会社
〒489-0004 愛知県瀬戸市日の出町15
Tel: 0561-48-1853 Fax: 0561-48-1434
e-mail: info@develosil.net

Nomura Chemical Co., Ltd.
15, Hinode-cho, Seto, 489-0004, Japan
Tel: +81-561-48-1853 Fax: +81-561-48-1434
e-mail: info@develosil.net

Develosil USA

Develosil USA
10060 Carroll Canyon Rd. Ste. 100 San Diego, CA 92131
Phone: 858-800-2433
Web: <https://develosil.us/>