

Bond Elut Plexa PAX による前処理と Hi-Plex H を使用した HPLC による 食品中有機酸の分析



Authors

山下 和之
澤田 有司
渡邊 俊太郎

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

有機酸は食品の成分として食品の風味の発現に重要な作用をしますが、食品の味を調整するなどの目的で添加物としても使用されます。食品に添加された有機酸を分析するには多様な夾雑物を除去することが必要です。また、有機酸は極性が高いため、一般的な逆相 HPLC カラムでは保持が弱く分離が悪いという難点があります。

本アプリケーションノートでは、ポリマ系陰イオン交換固相抽出の Bond Elut Plexa PAX で前処理を行ない、配位子交換のカラム Hi-Plex H を用いた HPLC で食品中の有機酸の分析法を設定しました。

Key words: 前処理、固相抽出、HPLC、食品、有機酸

システム

Agilent 1260 Infinity II LC
クォータナリポンプ (G7111B)
マルチサンプラ (G7167A)
マルチカラムサーモスタット (G7116A)
ダイオードアレイ検出器 (G7117C)
ソフトウェア OpenLab CDS 2.4

流速	0.4 mL/min
注入量	40 µL
移動相	0.02 mol/L 硫酸
検出	UV 210 nm

分析条件

試料調製

- 標準品 (クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、フマル酸 特級もしくは鹿特級) は関東化学(株)より購入しました。
- メタノールはシグマアルドリッチ社製 for HPLC グレード(P/N 34860)を、超純水はメルク社製 Milli-Q で製造したもの、アンモニア水は関東化学社製特級(P/N 01266-00)、硫酸は関東化学社製特級(P/N 37390-00)を使用しました。
- 各標準品は 物質ごとに 1g/L となるように超純水で溶解したものを原液とし、それを混合して、超純水で希釈することにより、各濃度の混合液としました。
- 食品試料は市販の味噌、トマトケチャップ、マヨネーズ、中濃ソース、イチゴジャム、赤ワインを使用し、各試料 1g を 10 mL の超純水に懸濁させたものをブランク試料とし、超純水に代えて有機酸標準品 1000 mg/mL 溶液を使用したものを有機酸回収率確認用の添加試料としました。

固相抽出処理

- Bond Elut Plexa PAX 500 mg/6 mL (P/N:12257506)
- コンディショニング
メタノール 2 mL
超純水 2 mL
- 試料負荷
上記食品試料懸濁液 500 µL に 2% アンモニア水 1500 µL を添加したものを全量を負荷
- 洗浄
メタノール 2 mL
超純水 2 mL
- 溶出
6% 硫酸含有 90% メタノール水溶液 5 mL

固相抽出過程で食品試料懸濁液 500 µL が最終溶出液 5 mL に希釈されるため、1000 mg/L の濃度で標準品を添加した食品試料から調製した分析用試料中に含まれる添加した有機酸の濃度が計算上 100 mg/L になります。実際の定量値と 100 mg/L との濃度の比率を回収率としました。

表 1. 分析条件

カラム	Hi-Plex H 7.7 × 300 mm (P/N: PL1170-6830) 2本連結
カラム温度	60 °C

結果

標準品 100 mg/L のクロマトグラムを図 1 に示します。6 種の有機酸の分離を確認しました。フマル酸は二重結合があり、UV 吸収が高いため同じ濃度でも高感度で検出されました。

表 2 に標準品溶液で固相抽出処理を行なった際の各有機酸の回収率と再現性を示します。

表 2 各有機酸の固相抽出処理での回収率と再現性

有機酸	回収率(%)	CV値% n=3
クエン酸	91.8	4.2
酒石酸	91.1	4.6
リンゴ酸	89.2	5.7
コハク酸	79.8	11.2
乳酸	83.3	9.1
フマル酸	96.2	0.9

固相抽出処理の回収率、再現性は良好であることが確認できました。

ブランク試料の一例として図 2 に味噌試料のクロマトグラムを、表 3 に各食品のブランク試料で検出された有機酸の定量結果を示します。定量値は元の食品中の濃度で示しています。

味噌試料にクエン酸、リンゴ酸、コハク酸が、トマトケチャップとイチゴジャムに乳酸が、赤ワインに酒石酸とコハク酸が含有されていることが分かりました。

添加試料の一例として図 3 に標準品を添加した味噌試料のクロマトグラムを、表 4 に添加試料の回収率を示します。表 4 の回収率はブランク試料に有機酸が含有されていた場合はその量を差し引き、添加した標準品の回収率で示します。

有機酸の回収率は全般的にはほぼ良好でしたが、食品の種類により一部の有機酸の回収率にやや悪いものがあり、食品のマトリクスが回収率に影響を及ぼす場合があることが分かりました。

まとめ

Bond Elut Plexa PAX による前処理と Hi-Plex H による HPLC 分析で食品に添加した有機酸の検出、定量が可能であることが確認されました。

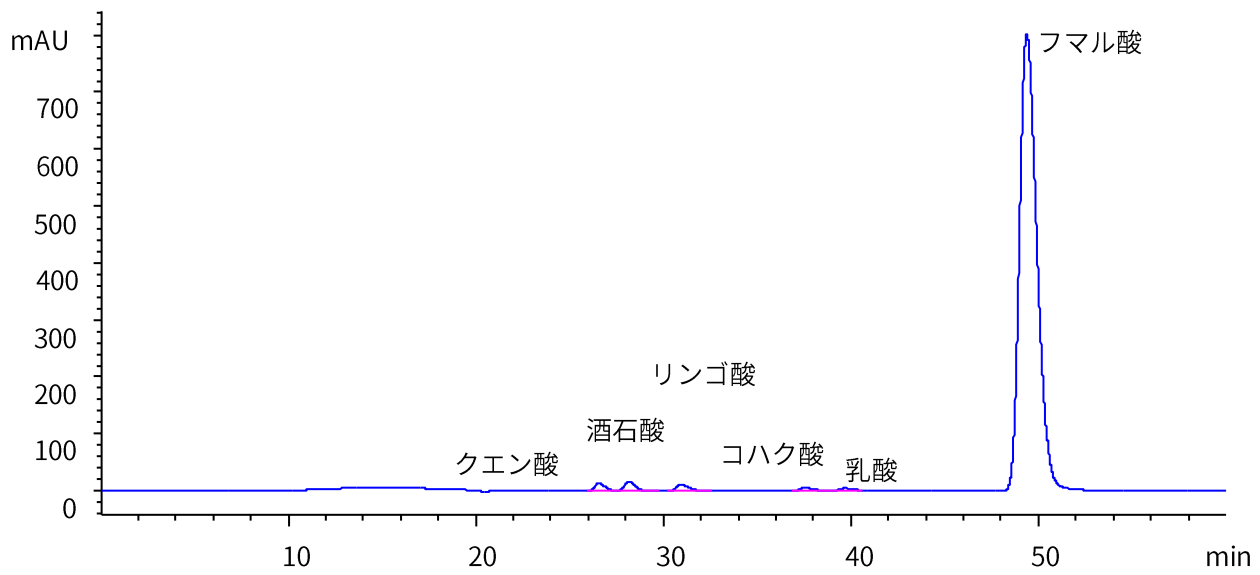


図1 標準品100mg/Lのクロマトグラム

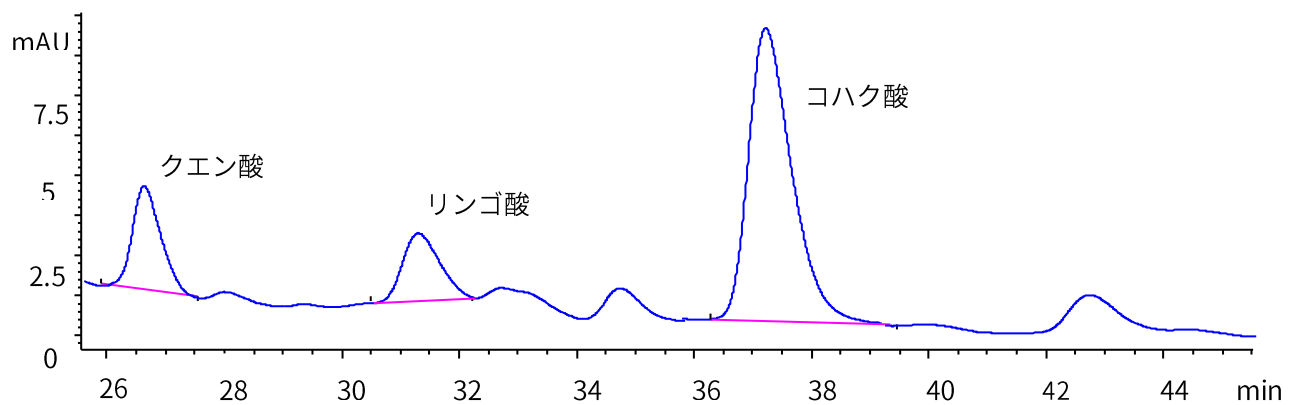
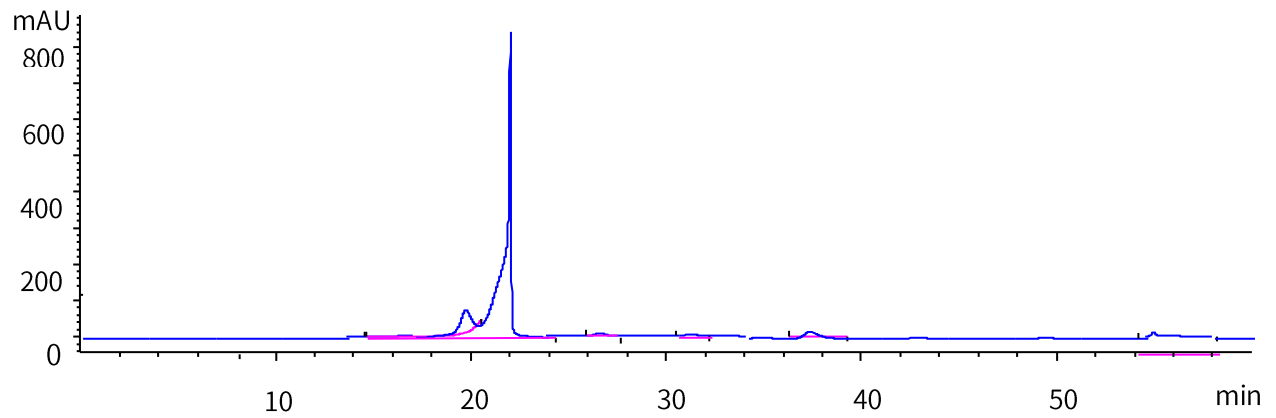


図2 味噌試料のクロマトグラム
下段は拡大図

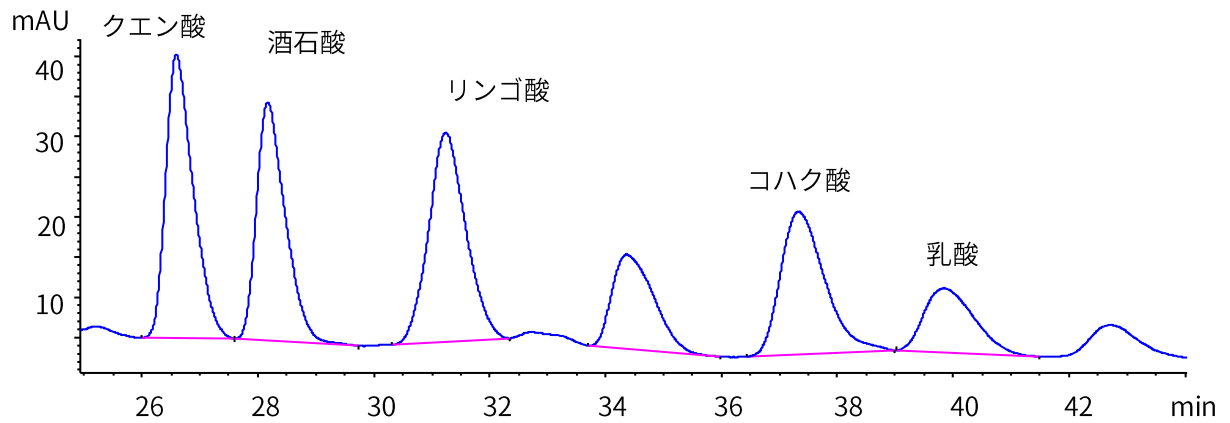
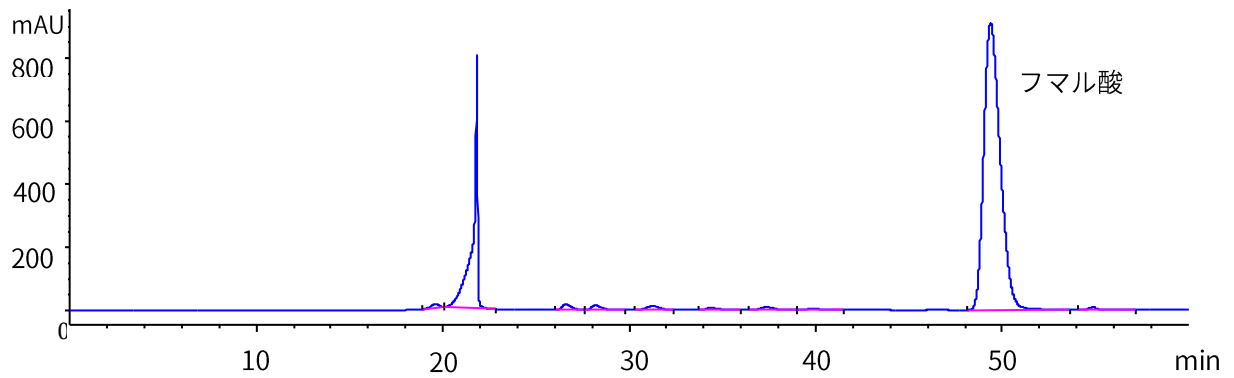


図3 標準品を添加した味噌試料のクロマトグラム
下段は拡大図

表3 ブランク試料の有機酸定量結果(g/kg)

	クエン酸	酒石酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	フマル酸
味噌	3.6	nd	2.2	15.7	nd	nd
トマトケチャップ	nd	nd	nd	nd	19.3	nd
マヨネーズ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
中濃ソース	nd	nd	nd	nd	nd	nd
イチゴジャム	nd	nd	nd	nd	27.2	nd
赤ワイン	nd	5.0	nd	12.2	nd	nd

表4 食品試料に添加した有機酸の回収率(%)

	クエン酸	酒石酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	フマル酸
味噌	85.6	87.7	78.6	79.8	70.6	72.7
トマトケチャップ	84.9	39.8	77.1	53.5	79.7	75.2
マヨネーズ	85.6	86.5	94.6	61.4	82.9	91.3
中濃ソース	75.3	54.6	88.7	72.4	79.9	82.9
イチゴジャム	71.7	45.5	67.7	50.9	86.7	63.7
赤ワイン	72.2	72.3	63.2	74.1	79.6	56.3

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2020

Printed in Japan, August 11, 2020

LC-202008YS-001