

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムによる 4-メチルイミダゾールの分析

著者

Rongjie Fu and Zhicong Wang
Agilent Technologies
(Shanghai) Co. Ltd.

概要

4-メチルイミダゾール (4-MEI) は食品に直接添加されない化合物ですが、一般的な調理の過程で一部の食品や飲料中に副生成物として生成されます。また、コーラ系の飲料やその他食品の着色に使われるある種のカラメル色素の製造時にも、微量不純物として生成されます。親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) は、極性分子である 4-メチルイミダゾールとその異性体である 2-メチルイミダゾールを高速で分離できる有用なメソッドです。

はじめに

4-メチルイミダゾールと 2-メチルイミダゾールはどちらも極性化合物です。逆相 LC ではこれらの極性化合物を十分に保持できませんが、HILIC モードであれば、効果的な保持と分離ができる可能性があります。このアプリケーションノートでは、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5、2.7 μm カラムを用いて、コーラタイプのサンプルから 4-メチルイミダゾールと 2-メチルイミダゾールを分離する方法について説明します。2 つの化合物の分離には、InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムと InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムの両方を検討しました。サンプルの微量レベルの検出には、Agilent 6460 トリプル四重極 LC/MS システムを用いました。

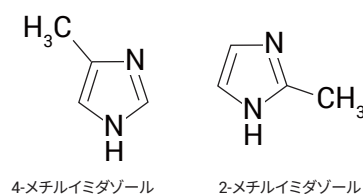


図 1. 分析対象化合物の構造

実験方法

試薬および薬品

試薬はすべて、HPLC グレード以上のものを使用しました。HPLC グレードのアセトニトリルは、J. T. Baker 社 (センターバレー、ペンシルベニア州、米国) から入手しました。水は、ELGA PURELAB Chorus システム (ハイ・ウィカム、英国) を使用して精製しました。酢酸アンモニウムは、J&K Scientific 社 (北京、中国) から入手しました。4-メチルイミダゾールと 2-メチルイミダゾールは Anpel 社 (上海、中国) から入手しました。

実験器具と材料

- Agilent InfinityLab フィッティング
- カラム入口: Agilent InfinityLab クイックコネクトフィッティング (p/n 50675965)
- カラム出口: Agilent InfinityLab クイックターナーフィッティング (p/n 5067-5966)
- Agilent Captiva エコノフィルタ、PTFE メンブレン、直径 13 mm、ポアサイズ 0.2 μm (p/n 5190-5265)
- Agilent バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL、100 個 (p/n 5182-0716)
- Agilent 圧着スクリュューキャップ、PTFE/赤シリコンセプタム (p/n 5190-7024)
- Agilent InfinityLab 溶媒ボトル、茶色、1,000 mL (p/n 9301-6526)
- Agilent A-Line セーフティキャップ、GL45、3 ポート、1 ベントバルブ (p/n 5043-1219)
- エッペンドルフピペットおよびリピーター
- 超音波洗浄器 (VWR 社、ラドナー、ペンシルベニア州、米国)

装置構成

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
- Agilent 6460 トリプル四重極 LC/MS
- Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェア LC/MS データ取り込み、バージョン B08.00
- Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェア Qualitative Analysis、バージョン B07.00

サンプル前処理

3.0 mL のコーラを 5 mL の計量フラスコに量り取り、0.1 mL の水酸化アンモニウムで pH 約 7.0 に調整しました。次に、水を加えて超音波処理で混合しました。続いて、この混合液 1.0 mL を 8 mL アセトニトリルとともに 10 mL の計量フラスコに加え、超音波処理によって混合してから、アセトニトリルを加えました。最後に、アセトニトリルの上澄みを取り、Agilent Captiva エコノフィルタ PTFE メンブレンを用いてろ過し、サンプルバイアルに注しました。

スパイクサンプルは標準液をコーラサンプルに加えた後、同じプロトコルで処理して調製しました。

移動相の前処理

酢酸アンモニウムを量り、水で 10 mM 濃度になるように希釈しました。緩衝液は一度に 1 L 調製し、分解や微生物の発生を防ぐために定期的に交換しました。

HPLC 分析条件	
カラム	InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 × 100 mm (p/n 685775-924)
移動相 A	10 % 10 mM 酢酸アンモニウム
移動相 B	90 % アセトニトリル
流量	0.30 mL/min
カラム温度	30 °C
注入量	5 µL
MS 分析条件	
イオンモード	ESI/Jet Stream ESI, ポジティブ
ドライガス温度	210 °C
ドライガス流量	13 L/min
ネブライザ圧力	35 psi
シースガス温度	400 °C
シースガス流量	12 L/min
キャピラリー電圧 (+)	2,500 V
ノズル電圧 (+)	0 V
MRM	ΔEMV, 500 V

結果

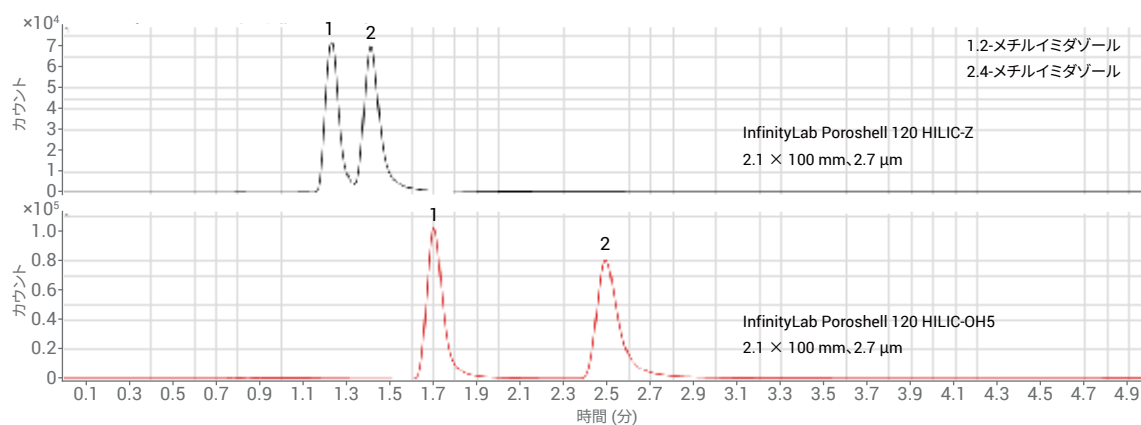


図 2. 同じ移動相を用いた InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムと InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムにおける 4-メチルイミダゾールと 2-メチルイミダゾールのリテンションの比較

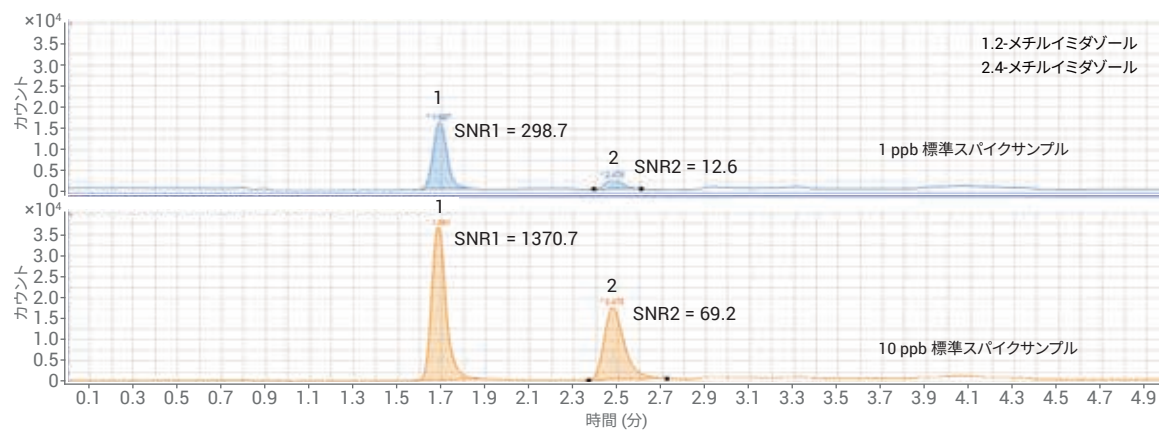


図 3. InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムで分離した 1 および 10 ppb 標準スパイクサンプルのクロマトグラム

結論

InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムを用いると、4-メチルイミダゾールと 2-メチルイミダゾールの保持力が高まり、適切に分離できました。スパイクサンプルにおいて、S/N 比 3 における検出下限 (LOD) は 1 ppb 未満でした。メソッドの感度は十分良好で、コーラ系飲料中の 2 つの化合物を検出できました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

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おりません。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. 2018
Printed in Japan, April 23, 2018
5991-9323JAJP