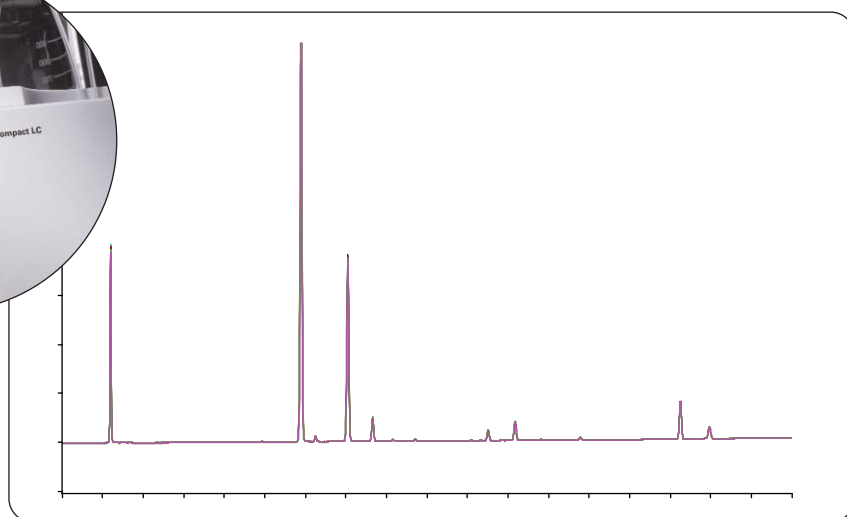


# Agilent 1120 Compact LC を用いた チューインガム中の酸化防止剤の分析

アプリケーション

Angelika Gratzfeld-Huesgen



## 要約

### アジレント機器:

1120 Compact LC  
EZChrom Elite Compact ソフトウェア  
HC-C18(2) カラム

### アプリケーション分野

食品品質管理

Agilent 1120 Compact LC は、一般的な HPLC 分析に適しており、使いやすく、高性能で、信頼性の高い一体型 LC です。保持時間とピーク面積の優れた再現性、そして高い検出感度により、酸化防止剤の分析に最適です。このアプリケーションノートでは以下の結果が得られました。

- 保持時間の再現性: 0.07% RSD 未満
- ピーク面積の再現性: 0.3% RSD 未満 (良好に分離されたピークに対して)
- 検出下限: 1 ~ 75 ng 未満



Agilent Technologies

## 緒言

酸化防止剤は食品産業で幅広く使用されています。たとえば、ブチル化ヒドロキシアニソール (BHA) は、ビスケット、フルーツケーキ、キャンデー、クルミの他、チューインガムにも使用されます。これらの化合物は、食品中の最高許容濃度について規制されています。BHA などの一部の酸化防止剤は、ビタミン D の分解を促進するためベビーフードには許可されていません。

BHA は脂質やコレステロールの血中濃度にも有害な影響を及ぼします。この研究では、7 種類の酸化防止剤を分析し、保持時間とピーク面積の精度を測定しました。さらに、化合物の検出下限 (LOC) を測定しました。分析例として、チューインガム中の BHA の濃度を測定しました。



図 1  
Agilent 1120 Compact LC

## 実験

### 機器

- Agilent 1120 Compact LC (デガッサーを内蔵したグラジエントポンプ、バイアルトレイ付きオートサンプラ、カラムオープン、可変波長 UV-Vis 検出器から構成)、(図 1 参照)
- Agilent HC-C18(2)、150 x 4.6 mm、粒径 5  $\mu$ m カラム
- Agilent EZChrom Elite Compact ソフトウェア

### 分析条件

- 移動相:
  - A: 水 + 0.045 % TFA
  - B: ACN + 0.045 % TFA
- グラジエント: 15 分で 10 ~ 90 %B
- 流量: 1.5 mL/min
- 注入量: 5  $\mu$ L
- カラム温度 40  $^{\circ}$ C
- 検出波長: 260 nm

## サンプル

1. ビタミン C
2. 没食子酸プロピル (PG)
3. 2,4,5-トリピロキシブチロフェノン (THBP)
4. t-ブチルヒドロキノン (TBHQ)
5. ブチル化ヒドロキシアニソール (BHA)
6. 4-ヒドロキシメチル-2,6-ジ (t-ブチル) フェノール (Ionox 100)
7. 酪酸ヒドロキシトルエン (BHT)

## 結果と考察

7 種類の酸化防止剤について、保持時間とピーク面積の再現性および検出下限を評価しました。流量 1.5 mL/min、15 分のグラジエント条件を用いて、すべての化合物が分離されました (図 2 参照)。

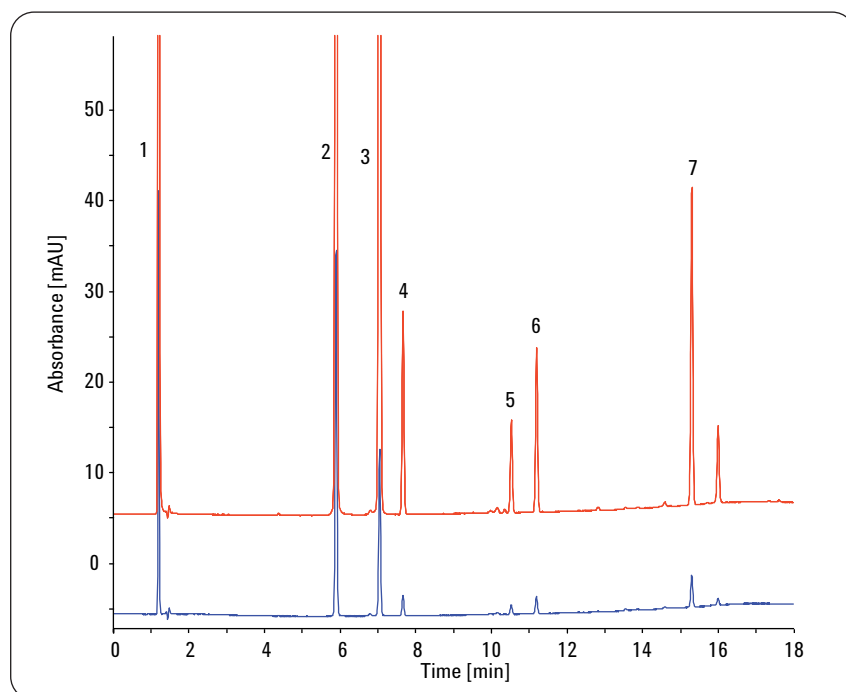


図 2  
上 - 酸化防止剤標準試料、1,350 - 200 ng、1:10 希釈液  
下 - 酸化防止剤標準試料、135 - 20 ng、1:100 希釈液

この実験に使用した濃度レベルは表 1 のとおりです。保持時間とピーク面積の再現性は、1:10 希釈液を用いて測定しました。結果は表 2 のとおりです。

20 mAU 以下の高さのピークに対しても、ピーク面積の再現性は 0.3% 未満の優れた結果が得られました。ビタミン C (ピーク 1) は、溶液中での分解の影響を受けました。

すべての化合物に対する保持時間の再現性は、相対標準偏差 (RSD) 0.05% 未満でした。図 2 には、6 回連続分析のクロマトグラムの重ね描きを示します。

検出下限は、1:100 希釈液のクロマトグラムに基づき計算しました (図 1 参照)。結果は表 3 のとおりです。

ピーク	化合物	原液 mg/10 mL	1:10 希釈液 注入量 5 µL (注入あたりの ng)	1:100 希釈液 注入量 5 µL (注入あたりの ng)
1	ビタミン C	20	1000	100
2	PG	21	1050	105
3	THBP	15	750	75
4	TBHQH	21	1050	105
5	BHA	11	500	50
6	Ionox100	14	700	70
7	BHT	27	1350	135

表 1  
分析した酸化防止剤の濃度レベル

ピーク	化合物	% RSD 保持時間	% RSD 面積	ピーク高さ (mAU)
1	ビタミン C	0.04	2.01*	~200
2	PG	0.03	0.08	~400
3	THBP	0.02	0.12	~200
4	TBHQH	0.01	0.23	<25
5	BHA	0.02	0.21	<15
6	Ionox 100	0.01	0.10	<20
7	BHT	0.01	0.26	<50

表 2  
保持時間とピーク面積の再現性 (\* 分解)

ピーク	化合物	S/N = 3 での LOD 1:100 希釈液 (ng)
1	ビタミン C	<1*
2	PG	<1
3	THBP	75
4	TBHQH	6
5	BHA	3
6	Ionox100	2.3
7	BHT	2.5

表 3  
酸化防止剤の検出下限  
(\* 分解により微量測定は困難)

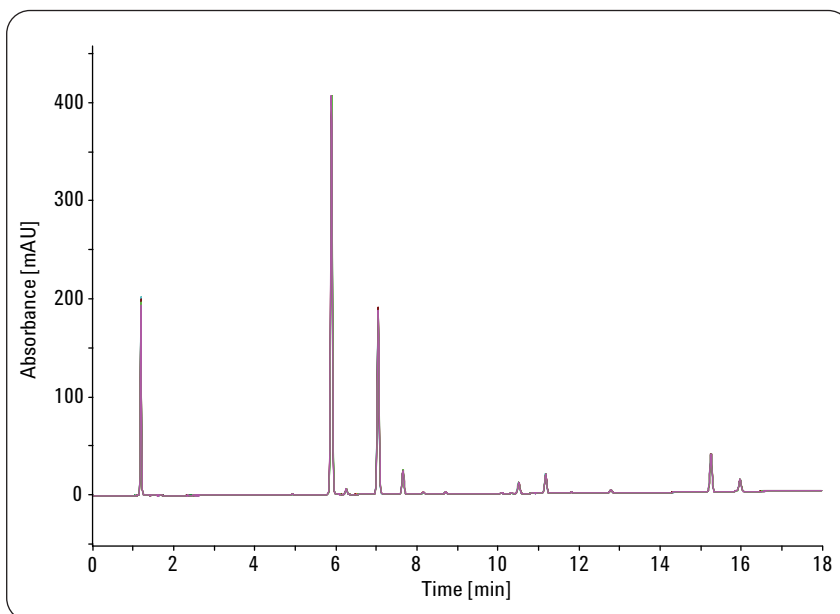


図 3  
6 回連続分析の重ね描き

チューインガム中の BHA 含有量は、この実験で開発されたメソッドを用いて測定しました。図 4 に、標準試料とチューインガム抽出物のクロマトグラムを示します。図 5 には、詳細を確認するために拡大した 9 ~ 13 分のクロマトグラムの一部を示します。シュガーレスチューインガム 14.1 g を小片に切断し、アセトニトリル中で 30 分間超音波抽出してサンプルを調製しました。他の条件は図 1 を参照してください。チューインガム 1g 中で、約 25 ppb の BHA が測定されました。(回収率は評価していません)

## 結論

Agilent 1120 Compact LC を用いて酸化防止剤を分析し、高精度で分析することができました。保持時間の再現性は 0.05% RSD 未満で、ベースライン分離されたピークの面積再現性は 0.3% RSD 未満でした。検出下限は 1 ~ 75 ng です。アセトニトリル中で超音波抽出したチューインガムから、1 g 中に BHA 25 ppb が検出されました。

Angelika Gratzfeld-Huegen は Agilent Technologies (ドイツ、Waldbronn) のアプリケーションケミストです。

[www.agilent.com/chem/1120:jp](http://www.agilent.com/chem/1120:jp)

© 2007 Agilent Technologies Inc.

Published November 1, 2007  
5989-7456JAJP

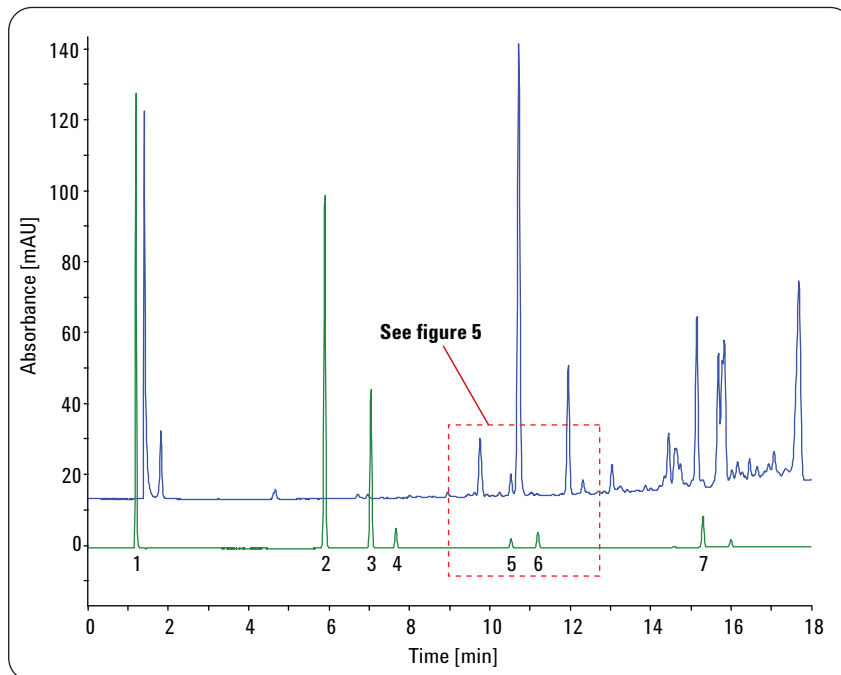


図 4  
上 - チューインガム抽出物、下 - 酸化防止剤標準試料

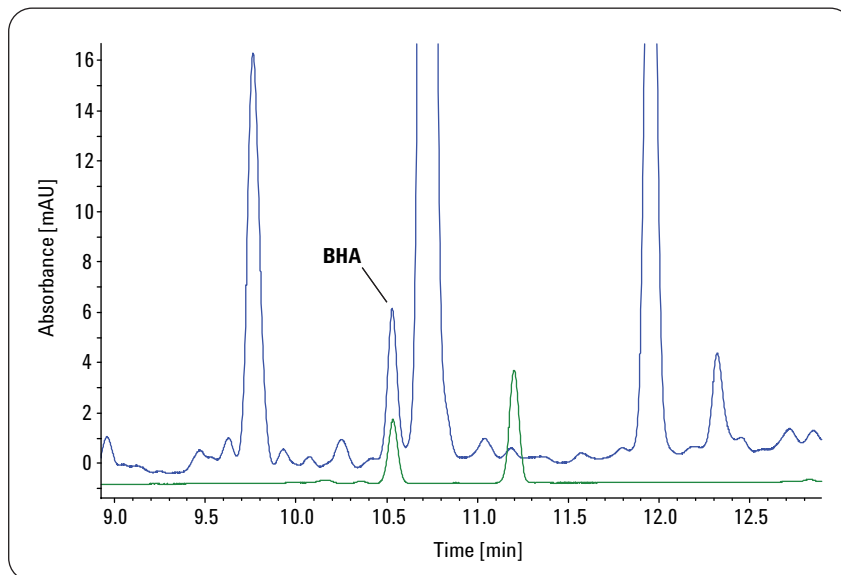


図 5  
図 4 の拡大表示。チューインガム抽出物 (上の出力) と約 25 ng/g (25 ppb) と同等の 10.55 分の BHA のピークを示す