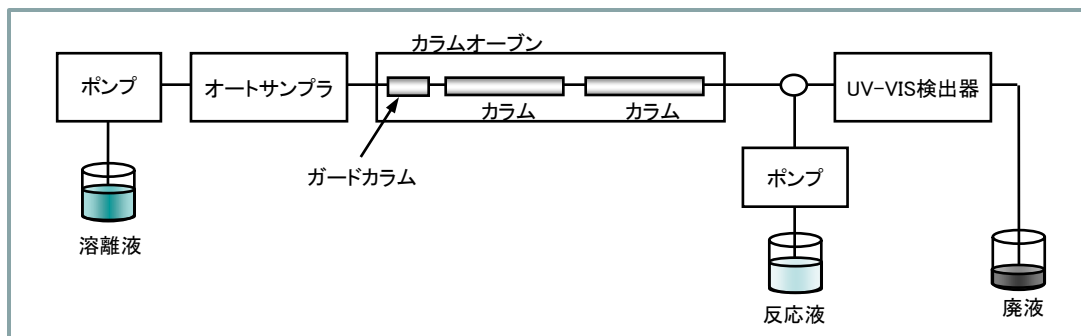
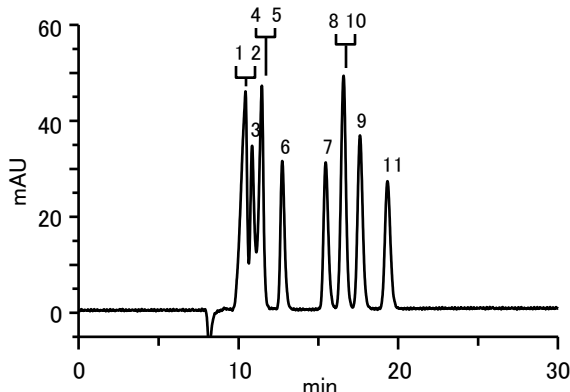


AS/LC-008では日立有機酸分析システム (BTB<sup>(\*)</sup>ポストカラム法) をご紹介しました。pH指示薬であるBTBは、酸性成分の溶出により吸収スペクトルが変化します。その変化を 440 nm で検出するため、夾雑成分の影響を受けにくい選択性の高い手法です。分離には、陽イオン交換樹脂を用いたイオン排除モードを用います。今回は、カラムを2本直列に接続し溶離液とカラム温度を最適化した、高分離測定例を紹介いたします。溶出の早いリン酸とクエン酸、また乳酸とフマル酸などの成分を高分離に測定できます。さらにこのカラムは、温度を変更することで特定成分の分離改善を図ることが可能です。5310カラムオープンとはコンパクトな設計ですが、カラム収納スペースが広いので、長さ 300 mm のカラム2本とガードカラムを収納することが可能です。

(\*)BTB : プロモチモールブルー (Bromothymol Blue)



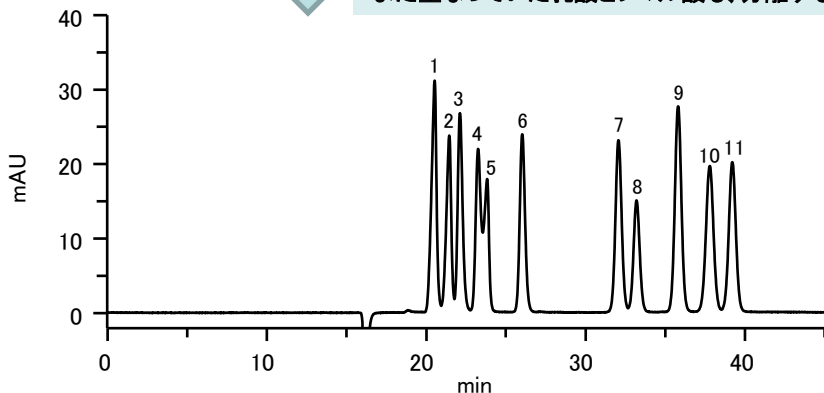
■有機酸標準試料測定例 (BTBポストカラム法)



<測定条件>

- カラム : GL-C610H-S  
7.8 mm I.D. × 300 mm
- ガードカラム : GL-G-C600  
4.0 mm I.D. × 10 mm
- 溶離液 : 3 mmol/L HClO<sub>4</sub> (過塩素酸)
- 流量 : 0.5 mL/min
- カラム温度 : 60 °C
- 反応液 : BTB溶液
- 反応液流量 : 0.6 mL/min
- 検出波長 : VIS 440 nm
- 注入量 : 10 μL

カラムを2本直列に接続し、溶離液とカラム温度を最適化することで、溶出の早いリン酸からピルビン酸までを良好に分離できました。また重なっていた乳酸とフマル酸も、分離することができました。



<測定条件>

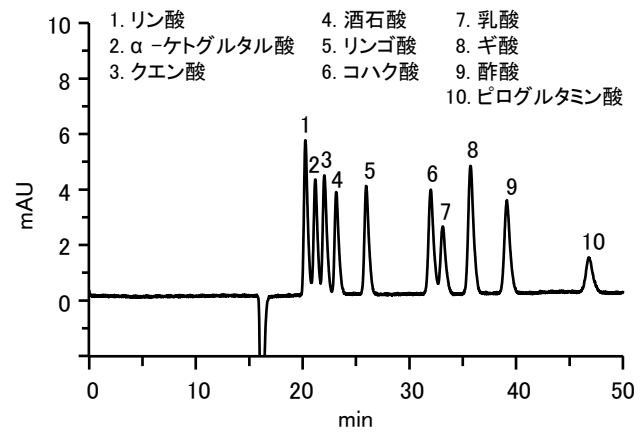
- カラム : GL-C610H-S  
7.8 mm I.D. × 300 mm × 2本
- ガードカラム : GL-G-C600  
4.0 mm I.D. × 10 mm
- 溶離液 : 5 mmol/L HClO<sub>4</sub> (過塩素酸)
- 流量 : 0.5 mL/min
- カラム温度 : 40 °C
- 反応液 : BTB溶液
- 反応液流量 : 0.6 mL/min
- 検出波長 : VIS 440 nm
- 注入量 : 10 μL

【標準試料11成分測定例 (各 1000 mg/L)】

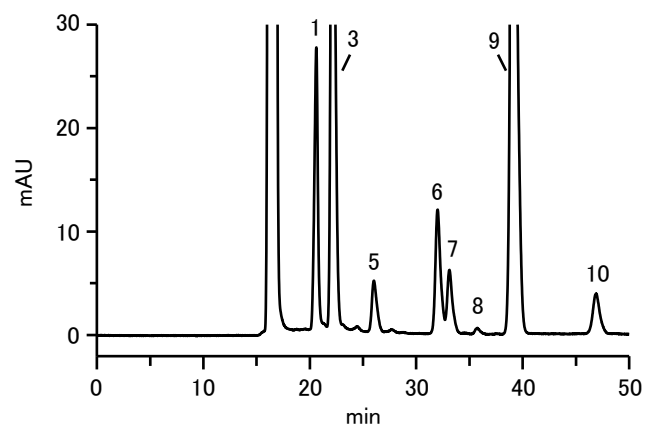
<標準試料名>

No.	成分名	No.	成分名
1	リン酸 Phosphoric acid	7	コハク酸 Succinic acid
2	α-ケトグルタル酸 α-Ketogultaric acid	8	乳酸 Lactic acid
3	クエン酸 Citric acid	9	ギ酸 Formic acid
4	酒石酸 Tartaric acid	10	フマル酸 Fumaric acid
5	ピルビン酸 Pyruvic acid	11	酢酸 Acetic acid
6	リンゴ酸 Malic acid		

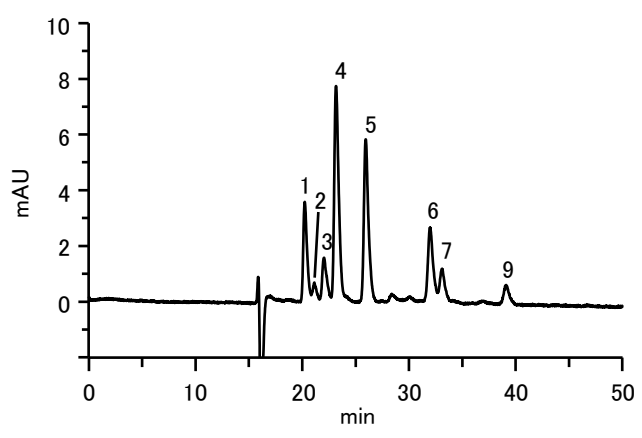
■ワインと調味料中の有機酸測定例 (BTBポストカラム法) (カラム2本接続)



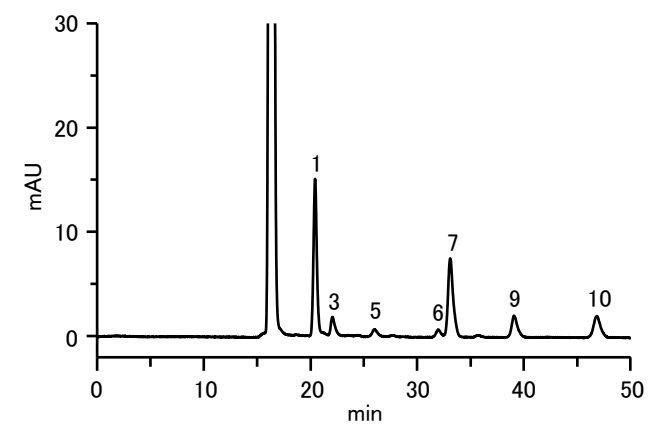
【標準試料10成分測定例 (各 200 mg/L、10 μ L注入)】



【ポン酢の測定例 (純水で2倍希釈後ろ過、10 μ L注入)】



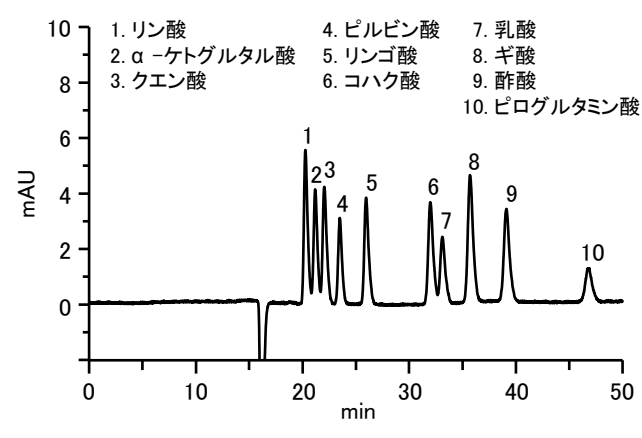
【ワインの測定例 (純水で5倍希釈後ろ過、10 μ L注入)】



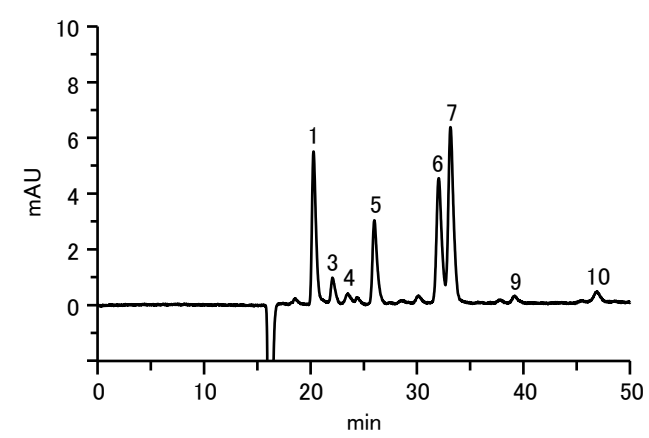
【濃口醤油の測定例 (純水で10倍希釈後ろ過、10 μ L注入)】

ワインや調味料などの発酵食品には溶出の早い有機酸が含まれているため、それらの成分を高い分離能で測定する必要があります。またリン酸は有機酸ではありませんが食品には含まれている場合が多く、一番最初に溶出するため、他の成分と分離しておくことが重要です。カラムを2本直列に接続し、溶離液に 5 mmol/L 過塩素酸を使用、カラム温度 40 °C にすることで、溶出の早い有機酸を良好に分離・確認することができました。

■酒中の有機酸測定例 (BTBポストカラム法) (カラム2本接続)



【標準試料10成分測定例 (各 200 mg/L、10 μ L注入)】



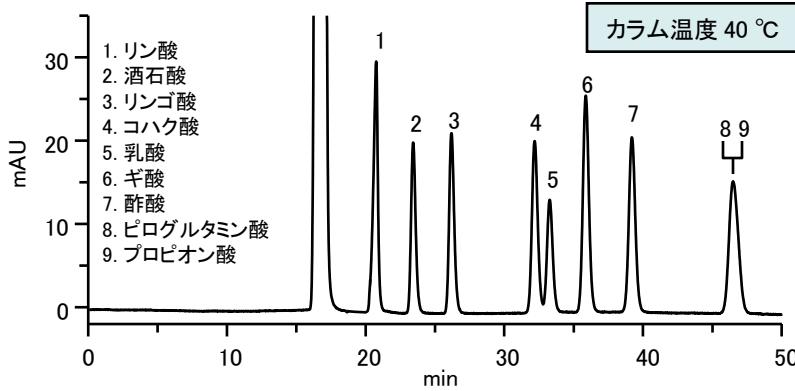
【吟醸酒の測定例 (純水で2倍希釈後ろ過、20 μ L注入)】

酒には、ピルビン酸が含まれていますが酒石酸ははいっていません。酒石酸とピルビン酸は、最適条件でも分離が厳しいため、定性には注意を払う必要があります。

前頁のように、溶離液に5 mmol/L 過塩素酸を使用、カラム温度を40℃にすることで、溶出の早い有機酸を良好に分離・確認することができました。しかしこの条件では、ピログルタミン酸とプロピオン酸は重なってしまいます。そこでカラム温度を60℃に変更することで、分離を改善することが可能です。

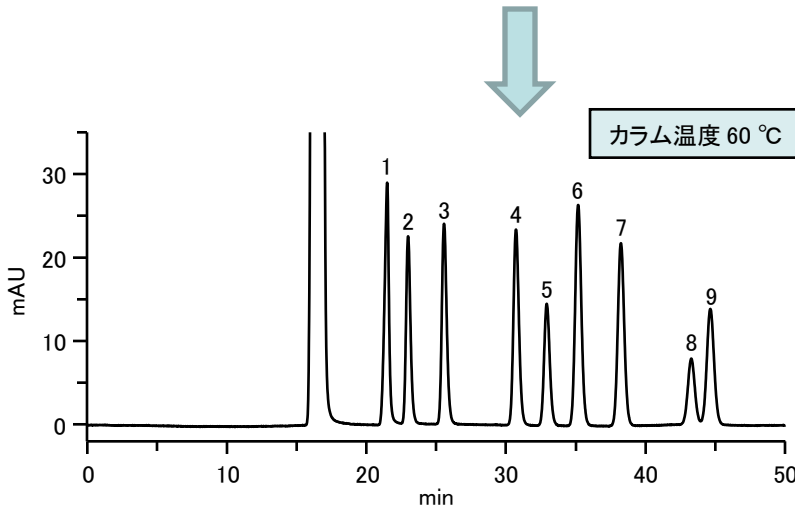
このようにすべての有機酸を良好に分離することは難しいため、目的成分に合わせてカラム温度を変更してください。

■有機酸標準試料の温度挙動とマガキ中の有機酸測定例 (BTBポストコラム法) (カラム2本接続)



<測定条件>

カラム : GL-C610H-S  
7.8 mm I.D. × 300 mm × 2本  
ガードカラム : GL-G-C600  
4.0 mm I.D. × 10 mm  
溶離液 : 5 mmol/L HClO<sub>4</sub> (過塩素酸)  
流量 : 0.5 mL/min  
カラム温度 : 40℃, 60℃  
反応液 : BTB溶液  
反応液流量 : 0.6 mL/min  
検出波長 : VIS 440 nm  
注入量 : 50 μL

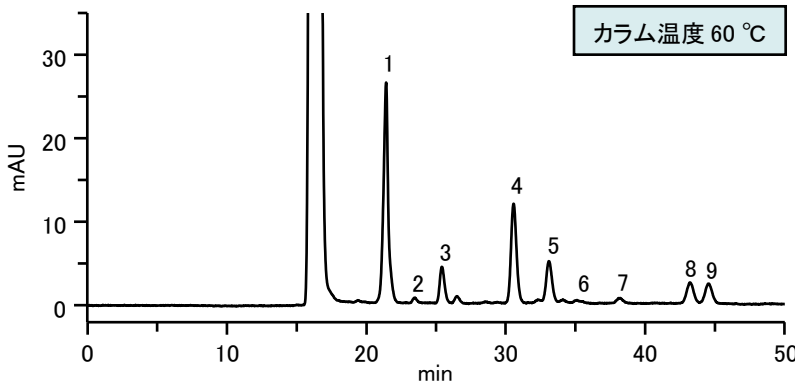


【標準試料9成分測定例 (各 200 mg/L)】

<標準試料名>

No.	成分名	成分名
1	リン酸	Phosphoric acid
2	酒石酸	Tartaric acid
3	リンゴ酸	Malic acid
4	コハク酸	Succinic acid
5	乳酸	Lactic acid
6	ギ酸	Formic acid
7	酢酸	Acetic acid
8	ピログルタミン酸	Pyroglutamic acid
9	プロピオン酸	Propionic acid

(標準試料は5%過塩素酸で希釈し調製)



【マガキの測定例 (50 μL 注入)】

<試料の前処理>

試料 マガキ (可食部を均一化した試料) 25 g  
| ← 5% 過塩素酸溶液 50 mL  
| ホモジナイズ 10 min  
| 遠心分離 5,000 rpm, 30 min  
| 上清  
| 遠心分離 5,000 rpm, 30 min  
| 上清  
| 純水で 100 mL に定容  
| ろ過 Pore Size 0.45 μm  
| 限外ろ過 MW 10,000, 10,000 rpm, 30 min  
| 分析試料 (50 μL 注入)

マガキ(二枚貝)には、ピログルタミン酸とプロピオン酸が含まれていて、カラム温度60℃で良好に分離することが可能です。

主な装置構成 : Chromaster 5110 ポンプ×2、5210 オートサンプラ、5310 カラムオープン、5420 UV-VIS検出器、有機酸BTB分析キット、カラム

注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。