

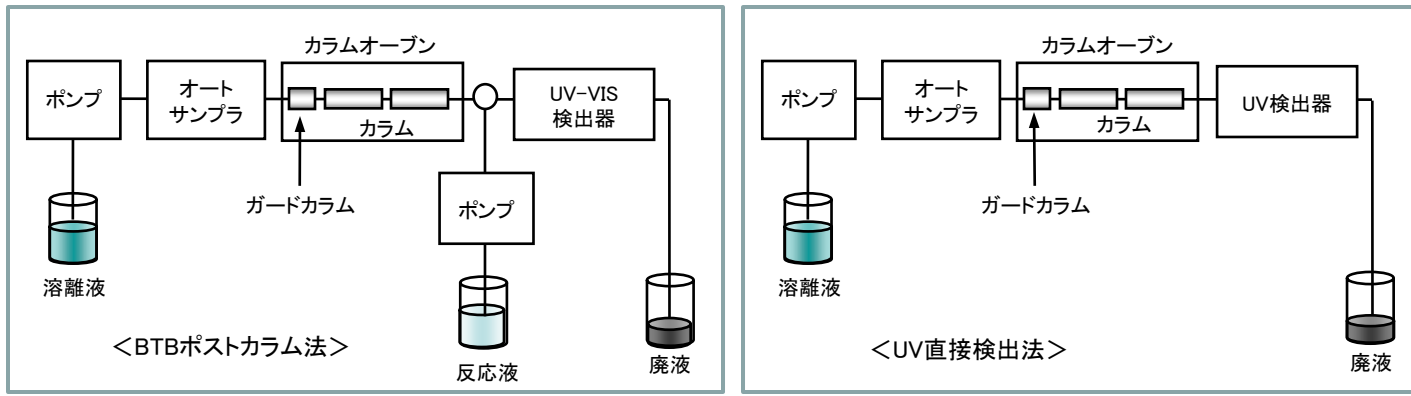
■有機酸分析の比較 (Chromaster BTBポストカラム法とUV直接検出法)

AS/LC-014

既報のAS/LC-008、AS/LC-012では日立有機酸分析システム(BTB^(*))ポストカラム法をご紹介しました。この方法は、反応液としてpH指示薬(BTB)の塩基性溶液を用い、カラムから溶出した有機酸の解離変化をpH指示薬の吸収スペクトル変化で検出(440 nm)しています。そのため、天然物や醸造食品など夾雑成分が多い試料中の有機酸を選択的に分析できる方法です。一方、有機酸はカルボキシル基をもつため、210 nm 付近に吸収があります。これを利用して、UV 210 nm で直接検出することも可能です。今回は醸造食品中の有機酸をBTBポストカラム法およびUV直接検出法(210 nm)にて測定し、夾雑成分の影響を比較した分析例をご紹介します。

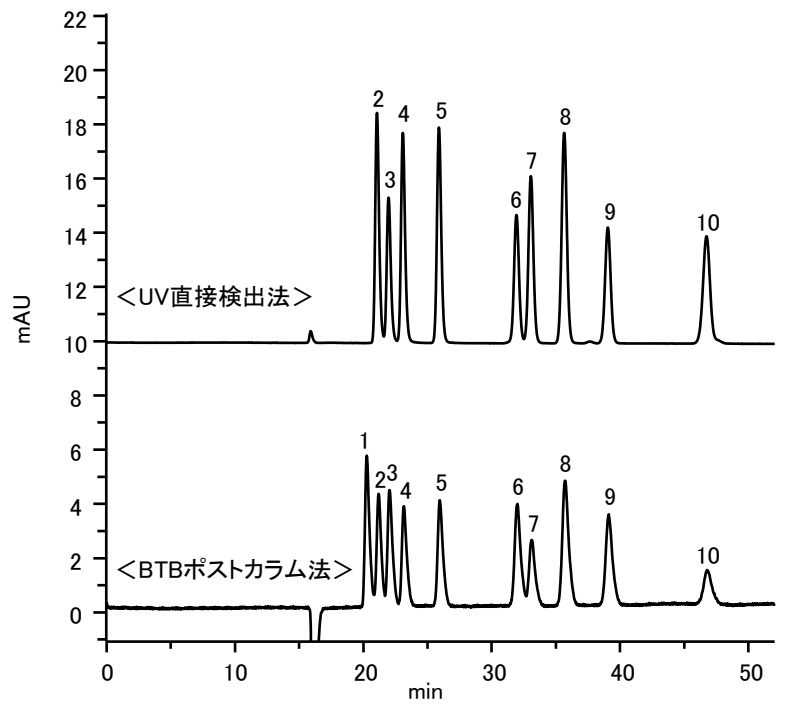
(*) BTB : プロモチモールブルー(Bromothymol Blue)

■有機酸分析システム



【流路図】

■有機酸標準試料測定例



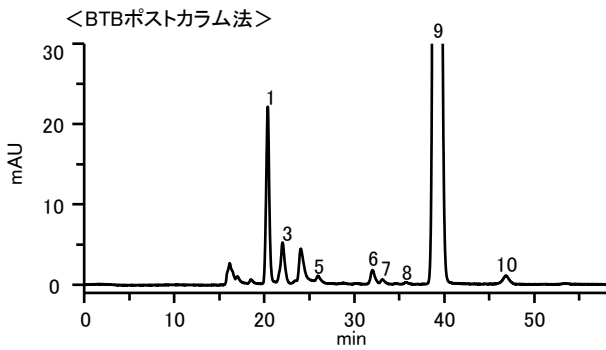
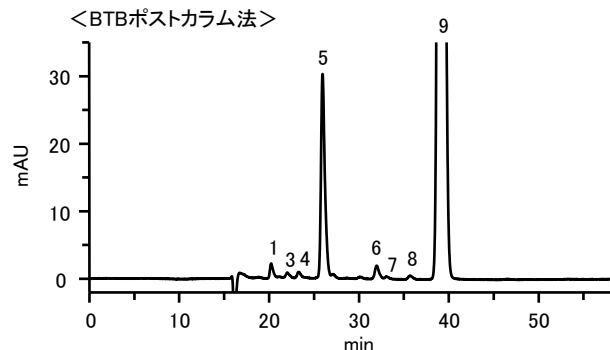
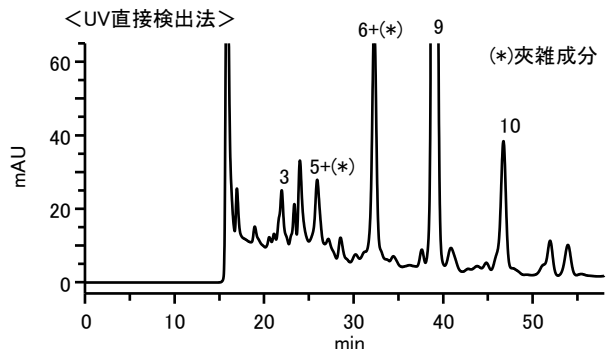
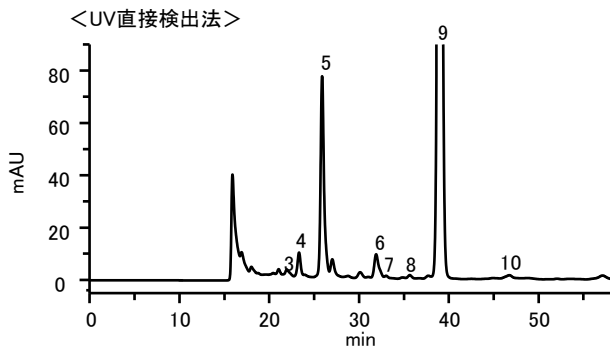
<測定条件>
 カラム : GL-C610H-S
 7.8 mm I.D. × 300 mm × 2本
 ガードカラム : GL-G-C600
 4.0 mm I.D. × 10 mm
 溶離液 : 5 mmol/L HClO₄ (過塩素酸)
 流量 : 0.5 mL/min
 カラム温度 : 40 °C
 注入量 : 10 μ L
 <UV検出法>
 検出波長 : UV 210 nm
 <BTBポストカラム法>
 反応液 : BTB溶液
 反応液流量 : 0.6 mL/min
 検出波長 : VIS 440 nm

【有機酸標準試料測定例】

<標準試料名>

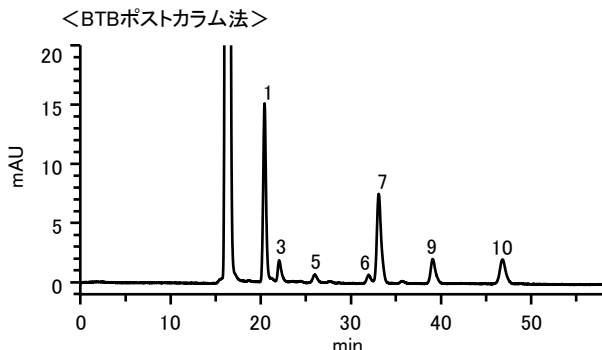
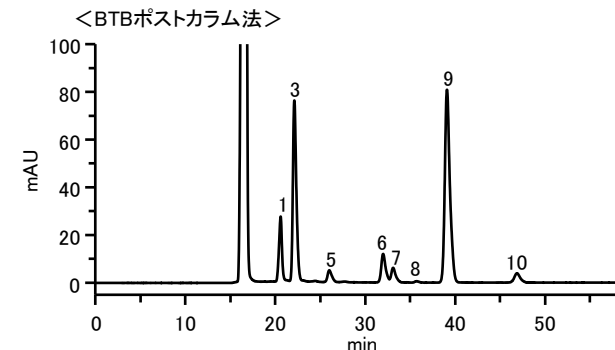
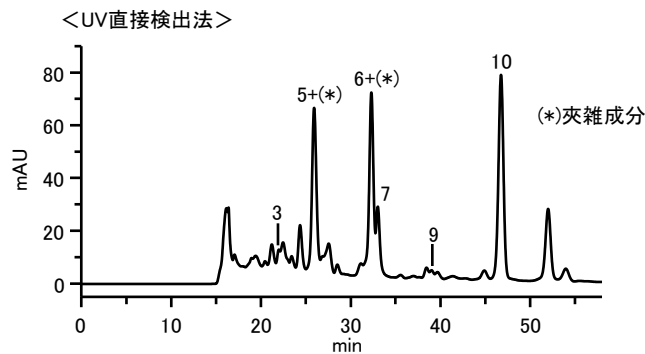
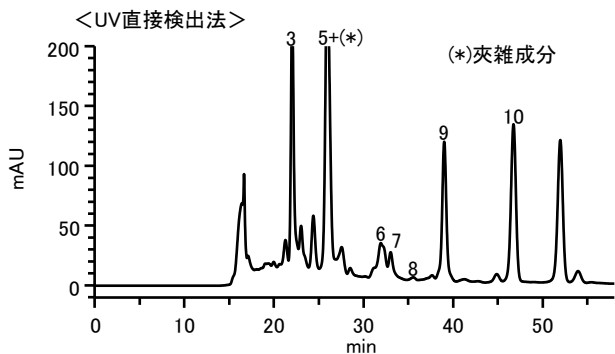
No.	成分名	濃度(mg/L)		No.	成分名	濃度(mg/L)	
		BTB法	UV直接法			BTB法	UV直接法
1	リン酸	200	—	6	コハク酸	200	200
2	α-ケトグルタル酸	200	20	7	乳酸	200	200
3	クエン酸	200	100	8	ギ酸	200	200
4	酒石酸	200	100	9	酢酸	200	200
5	リンゴ酸	200	200	10	ピログルタミン酸	200	20

■調味料中の有機酸測定例 (BTBポストカラム法とUV直接検出法の比較)



【純りんご酢の測定例 (純水で2倍希釈後ろ過、10 μ L 注入)】

【米黒酢の測定例 (純水で2倍希釈後ろ過、10 μ L 注入)】



【味付けポン酢の測定例 (純水で2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)】

カルボキシル基をもつ有機酸の紫外吸収は 210 nm 付近に限られます。しかし、この波長領域では多くの有機物が吸収をもつため、試料によっては夾雑成分の妨害を大きくうけ有機酸の定性や正確な定量が困難となります。

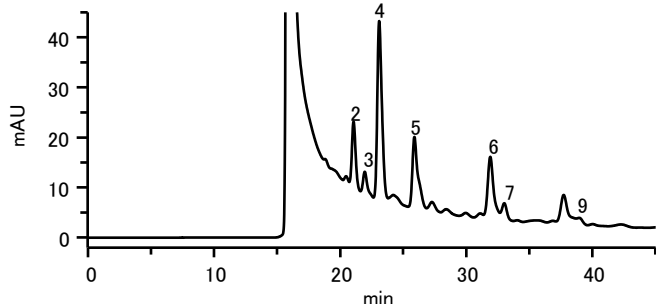
上記に純りんご酢、米黒酢、味付けポン酢、濃口醤油の測定例を示します。

UV直接検出法による純りんご酢の測定では、210 nm に吸収をもつ夾雑成分が少ないため有機酸を精度よく分析することが可能です。一方、米黒酢、味付けポン酢、濃口醤油の測定では、リンゴ酸やコハク酸、乳酸などが夾雑成分と重なるため正確な定量は困難です。この様な試料の場合、BTB法は夾雑成分の妨害を受けずに有機酸を選択的に検出するため高い定量信頼性を得ることができます。

赤ワインにはアントシアニンなどの色素成分が多く含まれるため、UV直接検出法による測定では色素成分の妨害を受け有機酸を精度よく定量することが困難です。アントシアニンなどの色素成分は、前処理に固相抽出カラム (NOBIAS RP-OD1L) を用いることで、簡易的にかつ効率よく除去することが可能です。これにより、UV直接検出法にて赤ワイン中の有機酸を精度よく分析することが可能となります。

■ワイン中の有機酸測定例 (UV直接検出法 (固相抽出有無) およびBTBポストカラム法の比較)

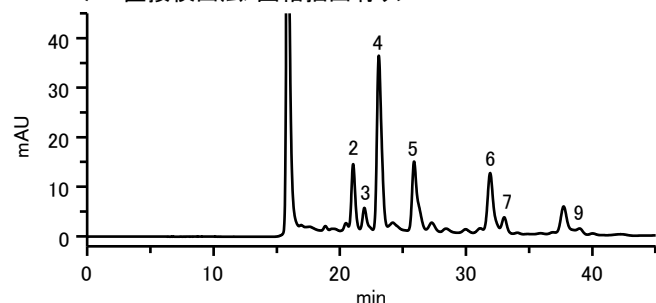
<UV直接検出法/固相抽出無し>



<試料の前処理 / 固相抽出無し>

純水で5倍希釈後、ろ過

<UV直接検出法/固相抽出有り>



<試料の前処理 / 固相抽出>

NOBIAS RP-OD1L

コンディショニング

← メタノール 5 mL

← 純水 5 mL

← 0.02 N 塩酸 5 mL

固相抽出

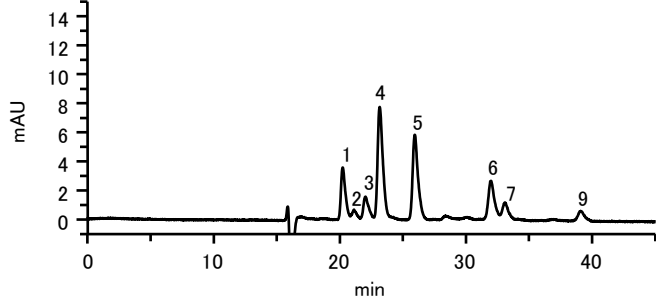
← 純水で5倍希釈した果実酒 (赤ワイン) 5 mL

初流液 2 mL は破棄

カラム通液を 1 mL 回収

分析試料 (10 μ L 注入)

<BTBポストカラム法/固相抽出無し>



<赤ワイン処理後のNOBIAS RP-OD1L>



【赤ワインの測定例 (前処理後 10 μ L 注入)】

* 固相抽出カラム (NOBIAS RP-OD1L) を用いた前処理の詳細は、会員制サイト S.I.navi に登録されているデータ (LC100008 : 赤ワイン中の有機酸の測定 (フィルタろ過とNOBIAS処理の比較)) を参照ください。

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。