

フローインジェクション透析と HPLC を組合せた有機酸及び食品添加物の分離分析

群馬大学大学院工学研究科, 日本学術振興会 小崎大輔

近年, 化学分析において, 測定における感度, 精度の向上, 測定の迅速化の観点から, 試料の前処理技術のオンライン化及び自動化に関する需要が高まっている. フローインジェクション分析(FIA)の分野においても, イオン交換樹脂やキレート樹脂等を充填した固相カラムを試料前処理(分離, 濃縮及び共存物質除去等)に導入し, これをオンライン化することで多様な化学分析を可能している.

また, 上記に関する要求は FIA だけでなく, 液体クロマトグラフィー(HPLC)やイオンクロマトグラフィー(IC)等の分離分析分野においても同様であり, 近年では, FIA 法に基づく前処理技術や, 化学反応によるポストカラム誘導体化法を取り入れた研究が活発に行われている.

そこで本稿では, その一例として, Kritsunankul らによるフローインジェクション-オンライン透析(FID)と高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を組み合わせた FID-HPLC を紹介する^{1,2)}.

FIA や LC 等の化学分析では, 試料中に共存する妨害物質によって分析対象物質をそのまま分析することができない場合, 沈殿, 濾過, 遠心分離, 抽出, イオン交換等による当該妨害物質の除去, 分離, マスキング等の前処理が必要になる. このとき, バッチ式処理において生じる試料のコンタミネーションを, 最小限に抑える方法として FIA が導入されることが多い. Kritsunankul らは, セルロース透析膜型のフローセルを開発し, これにより試料前処理を行い, オンラインで HPLC に導入する方法を構築した. FID は, 半透膜の孔径とそれによって隔てられた試料溶液及び移動相の濃度の高低差を利用し, 試料中に含まれる妨害物質の除去が可能である. 本論文で用いられた機器構成及び透析セルの構造をそれぞれ Fig. 1-(a)及び(b)に示す. 本システムは, 透析セルのドナー流路に注入された試料中に含まれる低分子量の溶質のみがセルロース透析膜を通過し, アクセプター流路に移動する. その試料はアクセプター流路から, 6 方バルブ(V₂)に設置されたサンプルループに充填され, バルブの切り替えによって, HPLC システムに注入され, 分離される仕組みになっている. これにより, FID-HPLC は高分子量の有機化合物を多く含むワイン中の酒石酸, リンゴ酸, 乳酸, 酢酸, クエン酸及びコハク酸のオンラインの直接分析を可能にしている¹⁾.

また, FID-HPLC は清涼飲料水, 緑茶, 醤油など食品に含まれる食品添加物(アセスルファム K, サッカリン, カフェイン, 安息香酸及びソルビン酸)の分析にも有用であることを実証している²⁾. FID 未接続及び接続の場合における有機酸の標準試料を用いた分析性能(検量線の相関係数, ピーク面積の RSD(n=3), 検出限界値及び定量下限値)に関しては大きな差が見られなかった. 一方, 食品添加物の標準試料を用いた分析性能は, FID を接続することによって, アセスルファム K, サッカリン, カフェインの定量下限値が大幅に改善された. 加えて, 透析膜のドナー流路には常に移動相を通液しており, 300 回の連続使用においても能力の低下は見られなかった.

このように, 本稿で紹介した技術は, 高分子化合物が共存する試料を FID により処理することで, カラムの劣化を抑え, HPLC により分離分析を行うことが可能である. また, FID は特に食品, 医薬品, 汚泥水等, 前処理工程が複雑な試料の分析に有用であり, HPLC の他に IC や質量分析装置に接続することにより, 応用分野の拡大が期待できる.

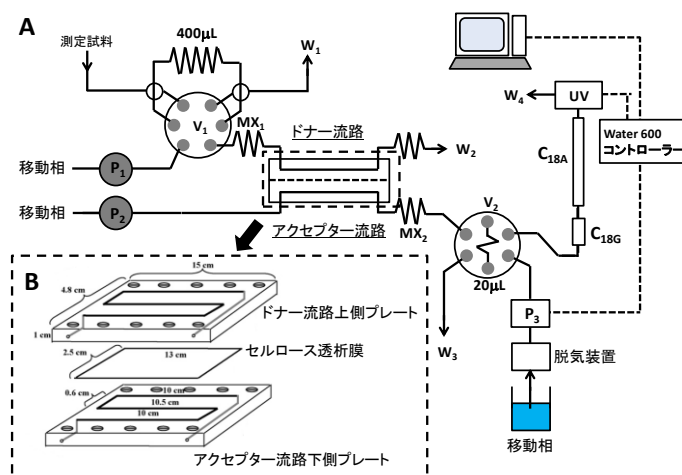


Fig. 1. FID-HPLCシステムの機器構成(a)及び透析セルの構造(b)
移動相: 1% アセトニトリル及び0.05 M KH₂PO₄ (pH 2.5); P₁及びP₂:ペリスタポンプ (0.2 mL/min); P₃: HPLCポンプ (1.25 mL/min); V₁: 6方バルブ; V₂: HPLC用6方バルブ; MX₁: ミキシングコイル (12 cm×0.8 mm i.d.); MX₂: ミキシングコイル (7.5 cm×0.8 mm i.d.); C_{18A}: C₁₈分離カラム (250 mm×4.6 mm i.d.); C_{18G}: C₁₈ガードカラム (10 mm×4.6 mm i.d.); UV: 紫外・可視フォトダイオードアレイ検出器; W(1, 2, 3, 4): 廃液.

1) O. Kritsunankul, J. Jakmunee: *Talanta*, **84**, 1342 (2011).

2) O. Kritsunankul, B. Pramote, J. Jakmunee: *Talanta*, **79**, 1042 (2009).