

ガスクロマトグラフィを用いた有機酸分析方法の開発

(原題: Analysis of organic acids in sake by gas chromatography)

バイオ系チーム 高阪 千尋, 廣岡 青央, 山本 佳宏
京都府立大学大学院生命環境科学研究科 市原 謙一

要 旨

清酒に含まれる有機酸は、通常、リンゴ酸、乳酸、コハク酸が大部分を占めている。一般的に行われている分析方法としては、高速液体クロマトグラフィ (HPLC) による一斉分析法や酵素による個別定量法が主流である。HPLC による分析法は分離や検出感度、前処理にコストがかかる点などに問題があり、また、酵素法は検体中の有機酸を一斉に分析するには適さない。

上述の問題点を改善し、検体中の有機酸を一斉に分析できる方法として、ガスクロマトグラフィ (GC) の利用を考えた。ただし、有機酸のような不揮発性物質を分析する場合は、揮発性誘導体に変換する必要がある。そこで、GCを用いて簡便、迅速に多種類の有機酸を定量できる分析方法の検討を行った。

具体的には、不揮発性物質をGCで分析可能な揮発性物質に変換するため、以下の誘導体化を行った。

10 mlねじ口試験管に0.5%(w/v)の有機酸溶液25 μ lを採取し凍結乾燥したのち、塩酸/アルコール溶液 1 mlを加え100°Cで1時間加熱した。冷却後、t-ブチルメチルエーテル 1 mlと内部標準、蒸留水 1 mlを加え混和し、得られたエーテル層をGCにより分析した。

また、誘導体化試薬として種々の塩酸/アルコール溶液を検討した。作製した誘導体の回収率が安定し、かつ分析時間の短かった塩酸/アルコール溶液を用いて誘導体化を行うことで、5種類の有機酸(乳酸、フマル酸、コハク酸、リンゴ酸、クエン酸)の定量が可能になった。

今回の検討の結果、本法は酵素法と異なり一斉分析が可能であること、また、HPLCと比較して簡便な前処理で分離能が高いことが明らかになった。本法を簡便な一斉分析法として利用していくため、今後、より多くの有機酸を分析できるよう検討を進める予定である。

(本研究は、Pacifichem 2015 (The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies)にて発表した。)