

Eclipse Plus C18 によって分離された キサンチン類と代謝物の優れたピーク形状 アプリケーション

John W. Henderson Jr., William J. Long

食品と飲料

新しい改良された HPLC カラム技術により、優れたピーク形状とカラム効率が得られています。ZORBAX Eclipse Plus カラムは、最適なピーク対称性を得るために開発された改良型の ZORBAX Rx-Sil の高純度タイプ B シリカと、最適化された結合 (C18, C8) 試薬および結合プロセスとの組み合わせです。その結果、優れたピーク形状と高いカラム効率が得られました。

キサンチン類は天然起源のアルカロイドで、特定種の植物によって合成される化合物です。カフェインは、コーヒー豆や茶葉、カカオ豆で検出される最も広く知られたキサンチンです。食品飲料で検出される化合物は他に、テオフィリンやテオブロミンがあります。以下に、キサンチン類と代謝物のアイソクラティック分析を Eclipse Plus カラムとその他 4 種類の C18 カラムで行った結果を示します。すべての場合において満足できるピーク形状と分離能力が得られますが、細かく見ると、ある 1 つのクロマトグラム、つまり Eclipse Plus C18 (PN 959993-902) で際立ったクロマトグラム性能が認められます。この分析のすべてのピークに対して、Eclipse Plus C18 は一貫して鋭いピーク、より高い理論段数 (N)、およびより優れたピーク形状 (TF) を示しました。

ハイライト

Eclipse Plus カラムに組み込まれた先進的な HPLC 技術により、優れたクロマトグラム性能が得られます。

Zorbax Eclipse Plus C18 カラムは、キサンチン類の分離において他の C18 カラムと選択性が類似していますが、より優れたピーク形状を持っています。ピーク形状がより鋭いことにより、より高い感度が得られます。

この分析における Eclipse Plus C18 のカラム効率 (N) は、他社製品より 10% 優れていました。

この分析でのすべてのピークにおいて、Eclipse Plus C18 のテーリングファクタ (TF) は他社に比べて理想値 (1.00) に近づいています。

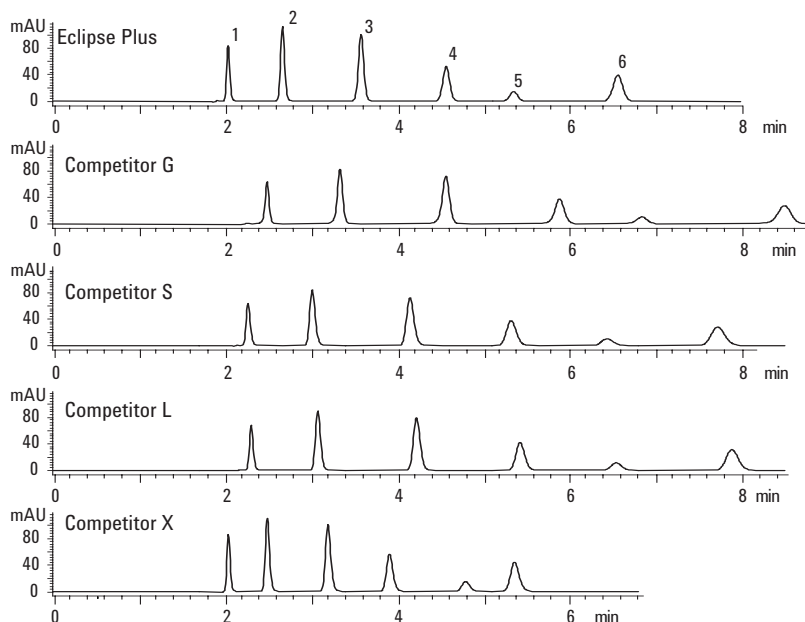


図 1 化合物の溶出順序:

1. 1-メチルキサンチン
2. テオブロミン
3. テオフィリン
4. β -ヒドロキシエチルテオフィリン
5. 3-プロピルキサンチン
6. カフェイン

A: 25 mM リン酸ナトリウム (pH 7.0)
B: MeCN (90:10)
流量: 1 mL/min
温度 40 °C
カラム: 4.6 $\times$ 150 mm (5 μ m)

図 1 さまざまな C18 カラムによるキサンチン類の分離



Agilent Technologies

表 1 と表 2 は、図 1 のクロマトグラムに基づいた Eclipse Plus カラムとその他の C18 カラムとの違いを示した表です。Eclipse Plus C18 は明らかに、他社のいずれのカラムよりも優れた効率とピーク形状を示します。

効率とピーク形状に影響する要因としては、過剰なカラム容積、検出器のデータサンプリング速度、移動相の状態などが挙げられます。しかし、本例ではこれらの要因は無視されます。クロマトグラフのシステムとメソッドがすべての分析で同じであるためです。よって、性能の相違は総じてカラムからによるものです。

カラムが効率に影響する要因としては、キサンチンなどの塩基性化合物とシリノールとの相互作用 (化学的構造については 図 2 を参照)、移動相からのシリカの溶解または製造時にやむを得ず出来てしまうカラムの空隙、粒子のサイズと分布 (カラムローディング) が挙げられます。Eclipse Plus の他よりもピーク形状が優れているのは、以上の要因を軽減または排除する HPLC 技術が進歩したためです。

表 1: さまざまな C18 カラムによるキサンチン類の理論段数 (N)

	Eclipse Plus	G	S	L	X
1-Methylxanthine	14900	13100	10700	12600	15900
Theobromine	15100	13300	10700	12600	13100
Theophylline	15100	13800	10400	13400	12600
β -hydroxyethyltheophylline	15000	13300	10100	13200	12400
3-Propylxanthine	14500	13500	10400	13300	12700
Caffeine	15600	13600	10600	14000	12800

表 2: さまざまな C18 カラムによるキサンチン類のテーリングファクタ (USP 5%)

	Eclipse Plus	G	S	L	X
1-Methylxanthine	1.11	0.94	1.18	1.13	1.15
Theobromine	1.08	0.95	1.19	1.14	1.18
Theophylline	1.05	0.93	1.15	1.12	1.17
β -hydroxyethyltheophylline	1.02	0.92	1.13	1.10	1.15
3-Propylxanthine	1.01	0.91	1.11	1.09	1.14
Caffeine	1.00	0.91	1.10	1.09	1.14

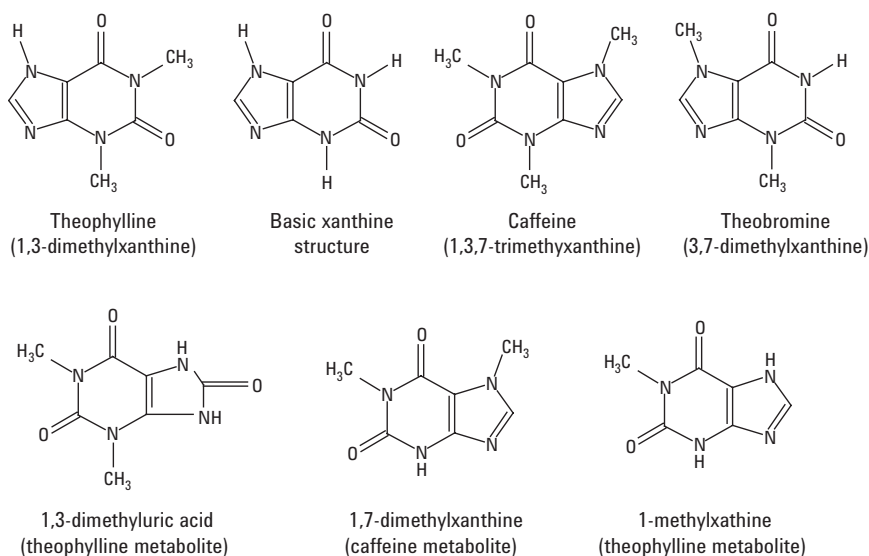


図 2 本研究におけるキサンチン類とそれらの代謝物の構造

参考文献

“ラピッドレゾリューション HPLC によるキサンチン類のハイスループット分離”, Agilent publication 5989-4857JAJP

“新 ZORBAX Eclipse Plus LC カラム”, Agilent publication 5989-4934JAJP

John W. Henderson Jr. と William J. Long は Agilent Technologies, Wilmington, Delaware のアプリケーションケミストです。

詳細については

弊社の製品およびサービスに関する追加情報は、弊社 Web サイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

Copyright© 2006 Agilent Technologies
著作権法で許可された場合を除き、事前の書面による許可なく複製、翻案、改変を禁止します。

Printed in Japan
June 20, 2006
5989-5237JAJP



Agilent Technologies