

溶離液ジェネレーターシステムを用いた糖分析

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

キーワード

単糖、溶離液ジェネレーターシステム、EGC-KOH、EGC-NaOH、Au電極（ディスポザブル）

はじめに

サーモフィッシャーサイエンティフィックの糖分析システムは、糖類がアルカリ条件下で陰イオン化する性質を利用して陰イオン交換カラムで分離する際に、アルカリ条件下でより安定した感度を得られる電気化学検出器と組み合わせることで、HPAEC-IPAD法を確立しました（AN14006とAN14007をご参照ください）。

本システムでは、糖をイオン化して微細な構造を持つ糖質を分離し、パルスモードを備えた検出器により高感度の測定を行うことが可能ですが、溶離液に強アルカリ水溶液やNaOH、KOH水溶液を用いている点に不便さを感じられていたかもしれません。

このほど、溶離液ジェネレーターシステムを使用することで、より使いやすく分析できるようになりました。本システムを使用することを前提に開発されたThermo Scientific™ Dionex™ CarboPac™ SA10カラムと合わせてご紹介します。

溶離液ジェネレーターシステム

溶離液ジェネレーター（EG）システムは、超純水をポンプでシステムに供給し、分離分析に必要な水酸化物溶離液をインラインで生成できる、イオンの電気泳動技術に応用した溶離液供給システムです。図1にEGシステムの原理を示します。

本システムは、EGC（Eluent Generator Cartridge）とCR-ATC、高圧デガッサーから構成されています。EGCは、図1に示すように、溶離液の素となる高濃度アルカリ水溶液のリザーバー部と高圧チャンバー部に分かれています。高圧チャンバー部は、陽イオン交換膜シートを積層させたイオン交換部とポンプからの純水流路に分かれています。

純水流路とリザーバー内には電極が設置しており、この電極に電流が供給されると、イオンの電気泳動が起こります。この時、泳動できるイオンは陽イオンだけで、チャンバー内部にある陽イオン交換膜の働きによって、陽イオンの動きはリザーバーから純水流路への移動のみに制限されます。

泳動する陽イオン量は供給される電流量に比例します。流路とリザーバーに設置された電極に電流が供給されると、リザーバーから K^+ イオン、 Na^+ イオンが泳動してきます。流路内では、水の電気分解により陽イオンの対イオンである OH^- イオンが生成されます。EGCから流出してくる溶液はKOH、NaOH水溶液となり、0.1～100 mmol/Lの範囲で任意の濃度を設定できます。時間変化で電流値の変更をすれば、グラジエントを設定することも可能です。溶離液の素であるリザーバー液は4mol/L濃度で、設定溶離液条件（濃度と流量）により消費量が決まります。

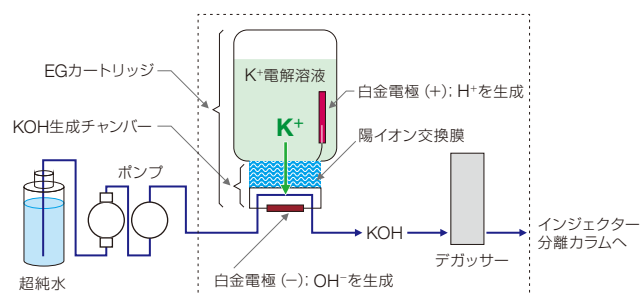


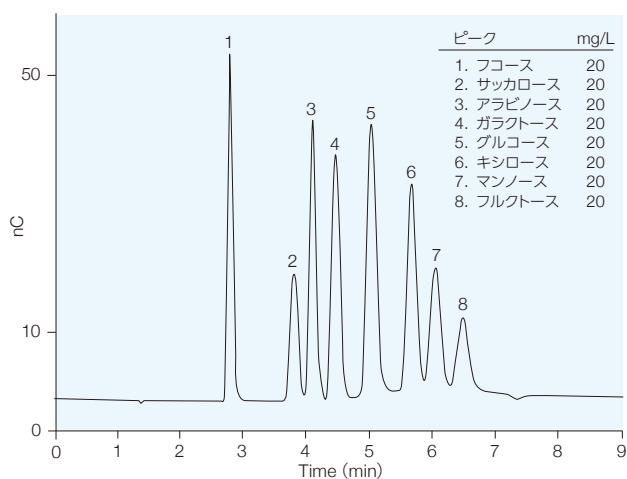
図1：EGシステムの原理

EGシステムの概要

ポンプで純水をEGシステムへ供給すると水酸化物溶離液がインライン生成される仕組みになっています。糖分析では、水酸化ナトリウムや水酸化カリウム溶離液のほかに、酢酸水溶液や酢酸ナトリウム水溶液を用いて糖質を分離します (AN14006とAN14007をご参照ください)。

EGシステムは水酸化物溶離液だけを用いる分析に特に向いています。Dionex CarboPac SA10カラムは、本システムを用いて単糖を分析するために開発されました。

これらの糖類はバイオ燃料における中間生成糖質の管理のためにモニターされるものです。常にモニタリングを要するような試料において、連続時間が長く、ハンドリングが容易なことがシステムに求められる条件の一つにあげられますが、EGシステムは、純水を供給するだけで分離に必要な溶離液をインラインで生成し、その再現性はきわめて良好で、純度の高い溶離液を得ることができます。**図2**は、バイオ燃料中間生成物の糖類を繰り返し1,000回分析したときの再現性を示したものです。



カラム	Dionex CarboPac SA10
カラム温度	45°C
溶離液	1 mmol/L KOH EGC-KOH (溶離液ジェネレータ使用)
流量	1.5 mL/min
検出器	Int-PAD、Au電極 (ディスプレイブル)
試料注入量	10 µL

図2：バイオ燃料中間生成物の再現性

使いきり電極

電気化学検出器の作用電極は消耗品です。例えば、糖分析では、使用しているAu電極にクリーニング電位を印加しながら分析

を行います (AN14007をご参照ください)。このクリーニング電位により感度低下を引き起こすことなく測定を続けることができます。しかし、Au電極自体が酸化と還元を繰り返すうちに磨耗していきます。磨耗したAu電極は電極表面積が変化し、セルボリュームを変えてしまいます。その結果、ノイズ上昇や感度変化をもたらし、分析結果に大きな影響を与えるため、電極の研磨が必要となります。

研磨そのものは難しい作業ではありませんが、電極研磨後の処置に時間を要します。特にモニタリングを目的とする測定では、電極が再生するまで待つことができないような局面もあります。

表1に示した数値は、5枚の使いきり電極で各12回繰り返し分析を行った際の再現性を示したものです。それぞれのAu電極の個々の糖を見ても、高い再現性が得られていることがわかります。

表1：使いきり電極の再現性

Au電極	n=	Fuc	GalN	GlcN	Gal	Glc	Man
1	12	3.09	7.05	5.58	4.93	5.82	4.22
2	12	3.13	7.49	5.95	4.68	6.24	4.25
3	12	3.35	7.65	6.04	5.32	6.23	4.52
4	12	3.12	6.76	5.33	4.7	5.52	4.18
5	12	3.12	6.93	5.46	4.83	5.54	4.2
平均		3.16	7.18	5.67	4.89	5.87	4.27
S.D.		0.11	0.38	0.31	0.26	0.36	0.14
Elec to Elec	RSD	3.41%	5.30%	5.44%	4.35%	6.05%	3.28%

まとめ

HPAEC-IntPADでは水酸化ナトリウムや水酸化カリウムを使用しますが、水酸化物系の溶離液は空気中の炭酸ガスなどを吸収しやすく、溶離液の維持が非常に難しいと言われています。溶離液を維持するには、炭酸ガスの吸収を抑えるための高純度ヘリウムを常にバブリングしておかなければなりません。溶離液ジェネレーターを用いればヘリウムガスは不要となり、溶離液を都度調製する必要がなくなります。

電気化学検出器は破壊検出器であり、その反応生成物が電極を汚し、感度低下をもたらします。Int-PADではクリーニング電位によりAu電極部への汚れの付着を防いでいますが、電極の磨耗は防ぐことができず、その再生には時間がかかります。使いきり電極とは、決められた使用期間で定期的に交換しながら分析を行うことを目的としたもので、**表1**にあるとおり高い再現性を有しています。

EGシステムと使いきり電極で、長期にわたり安定した分析を行うことが可能になりました。

©2014 Thermo Fisher Scientific K.K. 無断複写・転載を禁じます。

ここに掲載されている会社名、製品名は各社の商標、登録商標です。
ここに掲載されている内容は、予告なく変更することがあります。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL 0120-753-670 FAX 0120-753-671
〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9

E-mail: Analyze.jp@thermofisher.com
www.thermoscientific.jp

CP1408 10000

Thermo
SCIENTIFIC

A Thermo Fisher Scientific Brand