

Application News

No.L572K

High Performance Liquid Chromatography

ELSD-LT III를 이용한 음료내 단당류 및 이당류 고속분석

High Speed Analysis of Monosaccharides and Disaccharides in Soft Drinks by ELSD-LT III

당류(Saccharides)는 하이드록실 그룹(hydroxyl group)이 구조에서 UV 흡수를 보이는 유일한 작용기이기 때문에 190~195nmRkwl 매우 좁은 UV 흡수 파장을 보입니다. 따라서 이를 위해 일반적으로 굴절률 검출기(RID)가 사용됩니다. 하지만 기울기 이동상 조건(Gradient elution)은 분석 중 이동상 변경에 의한 baseline 흔들림과 같은 현상이 허용되지 않기 때문에 RID를 사용할 수 없습니다. 따라서 RID는 기울기 이동상 조건없이 분리가 되지 않는 성분을 분석하기에는 적합하지 않습니다. Evaporative light scattering detector(ELSD)는 이동상을 분무 및 증발시킨 후 대상 화합물의 산란광을 감지하는 범용 검출기 중 하나입니다. ELSD는 기울기 이동상 조건이 가능하기 때문에 이러한 조건 내에서 분석이 가능하며, 분석 시간을 줄일 수 있습니다.

단당류와 이당류는 주로 음이온 교환 크로마토그래피 또는 리간드 교환 크로마토그래피에 의해 분석됩니다. 그러나, 분석하는데 시간이 오래 걸립니다. 따라서, 이 자료는, 단당류와 이당류의 (Hydrophilic interaction chromatograph, HILIC)에 의한 단시간 분리 후, ELSD를 이용하여 검출하였습니다.

본 자료에서 사용된 ELSD-LTIII의 새로운 기능인 "Wide Function"은 민감도와 관련된 파라미터를 자동으로 최적화하며, 샘플 농도와 상관없이 낮은 값에서 높은 값까지 데이터 획득에 단일 방법을 사용할 수 있습니다.

여기에서, 음료수의 단당류와 이당류의 고속 분석은 ELSD-LTIII에 의해 수행 되었습니다.

K. Matsuoka, N. Iwata

■ 5가지 표준물질 분석

Table1은 서로 다른 당류의 5가지 표준 화합물(Fructose, Glucose, Sucrose, Maltose, Lactose)에 대한 분석 조건을 보여줍니다. Fig.1은 획득한 크로마토그램(각각 1000mg/L)을 보여줍니다. 사용하기 전에 컬럼을 잘 세척하는 것이 좋습니다. Gradient elution 조건 내에서 5가지의 당류는 5분내에 용출됩니다.

Table 1 Analytical Conditions

System	: Nexera™ XR
Column	: Shinwa Chemical Industries Ltd. ULTRON AF-HILIC-CD (HT) (100 mm × 3 mm I.D., 2 μm) ULTRON AF-HILIC-CD (HT) Guard Cartridge (5 mm × 2 mm I.D., 2.0 μm)
Mobile Phase	: A) 10 mmol/L Ammonium Acetate B) Acetonitrile
Time Program	: B. Conc. 85% (0-0.5 min) → 82% (3-5 min) → 85% (5.01-8 min)
Flow Rate	: 0.8 mL/min
Column Temp.	: 45 °C
Injection Vol.	: 2 μL
Vial	: LabTotal Vial for LC 1.5 mL, Glass *1
Detection	: ELSD-LT III
	Gain : Wide
	Filter : 4 sec
	Drift Tube Temp. : 40 °C
	Nebulizer Gas : N ₂
	Gas Pressure : 350 kPa

*1: P/N: 227-34001-01

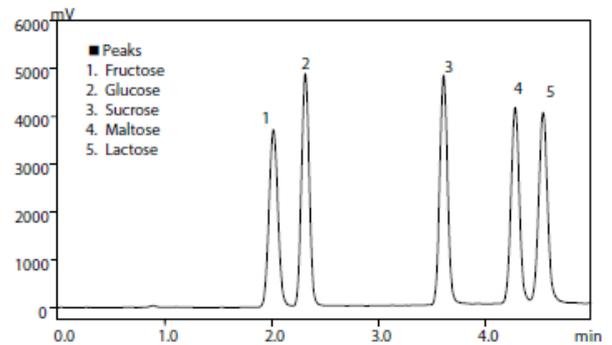


Fig. 1 Chromatogram of 5 Standard Sacchrides (1000 mg/L each)

■ 반복성(Repeatability)

Table2는 250mg/L(n=6)에서 반복 분석을 통해 확인된 반복성을 보여줍니다.다음으로 EP의 관련 화합물 항목에 따라 텍사메타손을 분석하였습니다. Fig.2는 기준용액(a)의 크로마토그램을 보여주고, table2는 분석조건을 보여줍니다. Fig.2의 하단에는 10분에서 30분까지의 머무름시간에 대한 확대 크로마토그램입니다.

■ 선형성(Linearity)

Fig.2는 교정곡선을 보여줍니다. Table 3은 검정곡선의 농도 범위를 보여줍니다. ELSD 반응의 로그가 농도의 로그와 비례하기 때문에 ELSD의 반응이 이중 로그 축에 표시되었습니다.

Fructose와 Glucose의 검정곡선은 6가지 다른 농도를 사용하여 생성하였습니다.

Table 3 Concentration Ranges of the Calibration Curves

Compounds	Calibration Concentration range (mg/L)
Fructose	500, 1000, 2000,
Glucose	2500, 3000, 4000
Sucrose	50, 100, 250,
Maltose	750, 1000, 1500
Lactose	

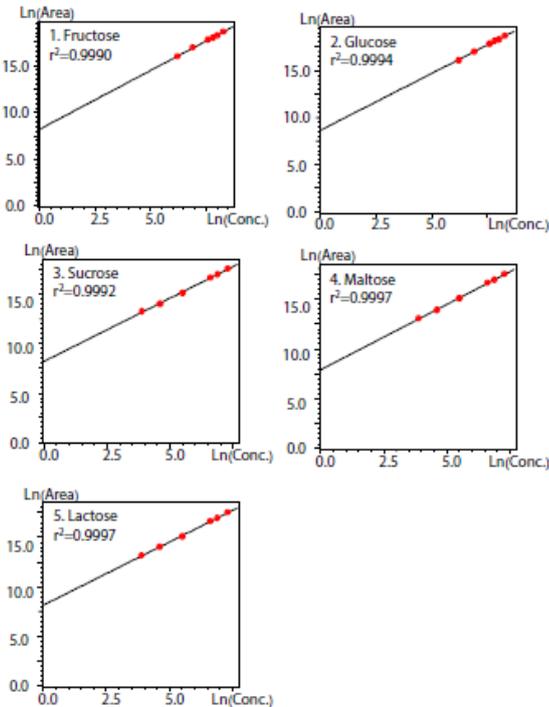


Fig. 2 Calibration Curves

■ 음료수 내의 5개 당류 고속분석

이 분석은 Table 1. 과 동일한 분석 조건에서 수행되었습니다. Fig.3은 음료수 A의 크로마토그램입니다. Table 4는 음료수 A에 함유된 당류의 분석 결과를 보여줍니다. 샘플은 0.2um 멤브레인 필터로 필터링하여 물/아세트나이트릴(50:50)로 20회 희석하여 분석하였습니다. Fig.4는 음료수 B의 크로마토그램입니다. Table 5는 음료수 B의 당류 측정 결과를 보여줍니다. 0.2um 멤브레인 필터로 여과하고 물/아세트나이트릴(50:50)로 20회 희석한 혼상 등액을 분석하였습니다. ELSD-LT III의 넓은 기능으로 감도 조정없이 5개의 당류를 분석하였습니다. 음료수에 들어있는 5개의 당류에 대한 고속 분석이 수행될 수 있었습니다.

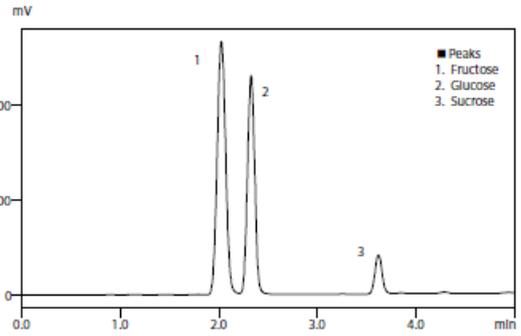


Fig. 3 Chromatogram of Soft Drink A

Table 4 Determination Result of Saccharides In Soft Drink A

Compounds	Retention Time (%RSD)	Area (%RSD)	Concentration*1 (mg/L)
Fructose	0.08	1.24	2920
Glucose	0.06	0.81	2113
Sucrose	0.08	1.06	510

*1: Average concentration in 20-times diluted sample (n= 6)

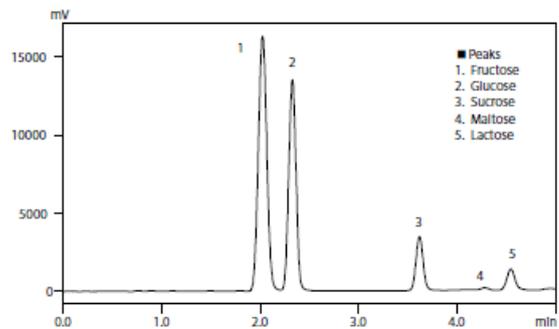


Fig. 4 Chromatogram of Soft Drink B

Table 5 Determination Result of Saccharides In Soft Drink B

Compounds	Retention Time (%RSD)	Area (%RSD)	Concentration*1 (mg/L)
Fructose	0.03	1.63	3448
Glucose	0.04	2.07	2432
Sucrose	0.05	3.21	786
Maltose	0.01	7.60	70
Lactose	0.04	1.29	424

*1: Average concentration in 20-times diluted sample (n= 6)

■ 결론

단당류와 이당류의 고속분석을 실시하여 이 방법의 분리 성능을 확인하였습니다. 그 후 음료수에서 단당류와 이당류의 확인도 하였습니다. 5개의 당류는 ELSD-LTIII의 넓은 기능을 사용하여 민감도 조정 없이 동시에 분석 할 수 있었습니다.