



Application Note AN-P-087

イオンクロマトグラフィーによる β -ガラクトオリゴ糖(GOS)の測定

Improvement on AOAC 2001.02: GOS analysis with IC-PAD

近年、 β -ガラクトオリゴ糖(GOS)などのプレバイオティクスを含む食品添加物や栄養補助食品への関心が高まっています。GOSは、ガラクトース単位が鎖状に結合し、末端にグルコースを持つ場合がある化合物です [1,2]。これらはビフィズス菌増殖促進作用(ビフィドジェニック効果)を示し、非病原性腸内細菌の成長と健康をサポートします [1]。GOSはもともと初乳の主要成分として発見され(最大12 g/L含有)、その有益な効果を再現するために乳児用調製粉乳にプレバイオティクスとして添加されています。健康的な食生活に対する消費者の意識の高まりによ

り、プレバイオティクスおよびGOS市場は世界的に拡大を続けています。同様に、食品の品質に対する需要の高まりに伴い、食品の表示や安全性に関する規制もより厳格かつ包括的なものになっています(例:EU規則2015/2283)。したがって、食品、サプリメント、または原材料中の総GOS含有量の測定が、これらの要件を満たす上で不可欠となっています。また、GOS(ガラクトオリゴ糖)は、確立された形態の食物繊維または消化されない炭水化物であり、すでにノベルフード(新規食品)の欧州連合リストに承認され、含まれています。

この技術資料では、食品中の総GOS量を測定するための標準AOAC法の最新改良版を紹介します。従来と同じ原理(複雑なGOS分子の酵素加水分解と、それ

に続く単純糖類のクロマトグラフィ分析)を採用しながらも、分析手法の効率を向上させ、実験時間と運用コストの削減を実現しました。

サンプルとサンプル前処理

異なる市販サンプルのGOS 粉末(Carbosynth Ltd.)、Vivinal® GOS 粉末(FrieslandCampina)、サプリメント Bimuno Daily(Clasado Biosciences)[3] を、AOAC 2001.02 に記載されている方法に従い、80 ° Cのリン酸緩衝液中で 30 分間抽出した。得られた抽出液は 2 つのアリコートに分けられ、アスペルギ

ルス・オリゼー由来の β -ガラクトシダーゼ酵素による酵素加水分解の前(アッセイ 1)および後(アッセイ 2)におけるグルコース、ガラクトース、ラクトースの差分分析に用いられた(図 1)。サンプルは遠心分離後、超純水(UPW)で希釈して分析を行った。

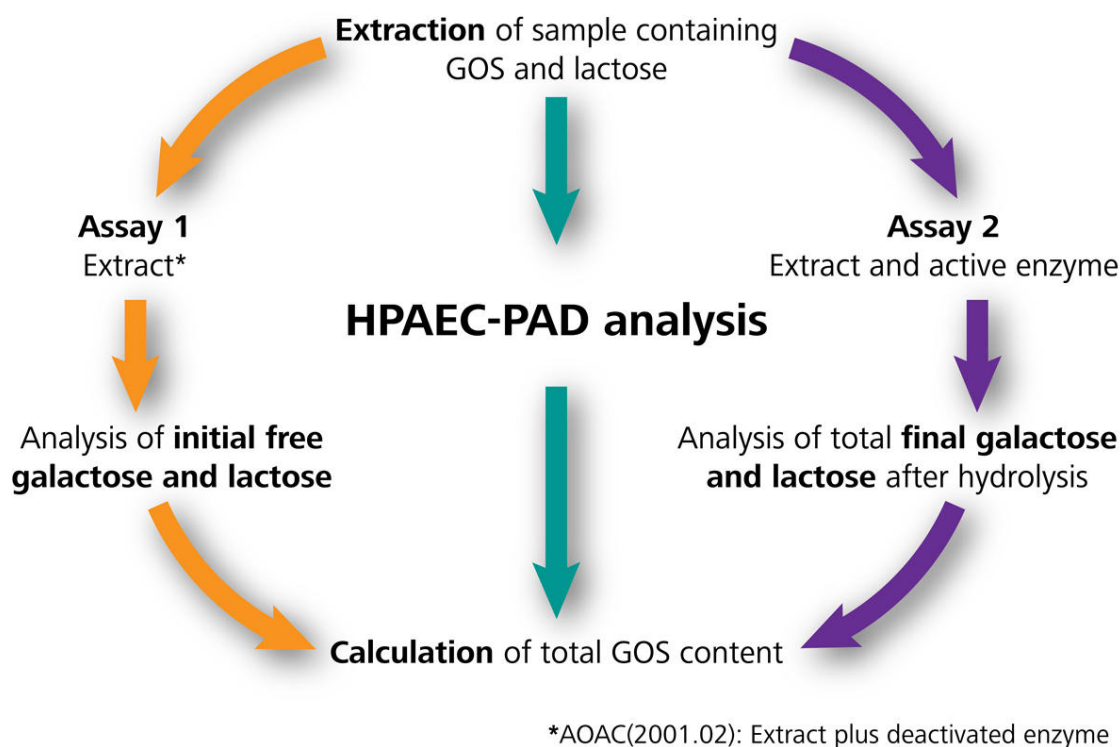
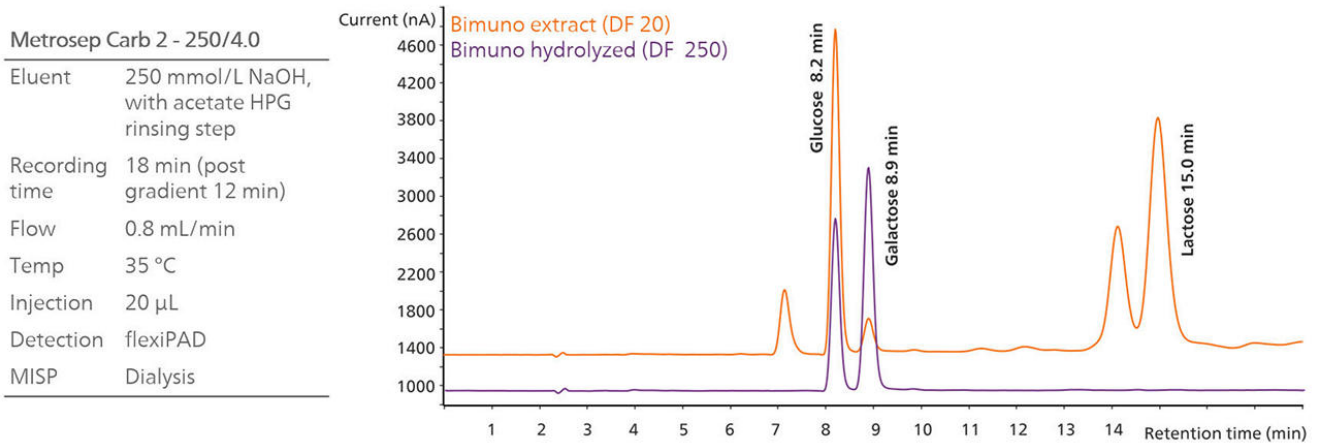


図1. パルスアンペロメトリ検出器 (IC-flexiPAD) を組み合わせたイオンクロマトグラフィによる総 GOS 含量の測定スキーム。AOAC におけるアニオンのクロマトグラフィは HPAEC (高性能アニオン交換クロマトグラフィ) と呼ばれるが、ここでは簡略化して IC という一般的な用語を使用している。改良された手法では、抽出液を用いて初期のグルコース、ガラクトース、およびラクトース濃度を測定する (アッセイ 1)。これは、酵素を不活性化した状態で行う AOAC の手順と同等であることが示された [3] が、試薬コストを削減し、追加の手作業を軽減することができる。総 GOS 含量は、アッセイ 1 (初期濃度測定) およびアッセイ 2 (活性化酵素を含む抽出液) の分析結果から算出される。図は [2] を基に改変したものである。

Metrosep Carb 2 - 250/4.0 (2) 18 (HPG) 30
(945 Professional Detector Vario - Amperometry)(Au
Pd) flexiPAD()GOS PAD

IC
GOS AOAC (MagIC Net 3.3) 1 2 (2) 100 g
AOAC Ziegler et al. [3]



2. Bimuno 1UPWDF20β- 2DF 250 GOS -- 2 1 DF

GOS28~83 g/100 g5%6~10%()GOS[3]

(1)[2](LODDIN 32645)0.1 mg/L0.2 mg/LGOS

1. GOSBimunoVivinal®AOAC 2001.02GOS(n)RSDGOSGOS()

	Total GOS (n) (g/100 g)	Variability over n days (RSD in %)	Total GOS target (g/100 g)	Target recovery (%)	AVG Spike 1 (g/100 g) (Recovery %)	AVG Spike 2 (g/100 g) (Recovery %)
GOS Powder	82.6 ± 4.1 (n = 7)	5.0	>70	n.a.	n.a.	n.a.
Bimuno	75.7 ± 3.0 (n = 7)	3.9	79.7	95	36.8 ± 1.4 (98%)	88.4 ± 12.7 (96%)
Vivinal Powder	27.8 ± 0.5 (n = 4)	1.8	28.5	98	37.8 ± 0.1 (91%)	48.6 ± 0.1 (91%)

1. Sangwan et al. (2011), J. Food Sci. 76(4)
2. Boehm & Stahl (2007), J. Nutr. 137(3 Suppl 2)

3. Ziegler et al. (2001), The Column – Europe/Asia 17(02)

Internal reference: AW IC CH6-1436-032021

CONTACT

143-0006 6-1-1
null 9

metrohm.jp@metrohm.jp

装置構成

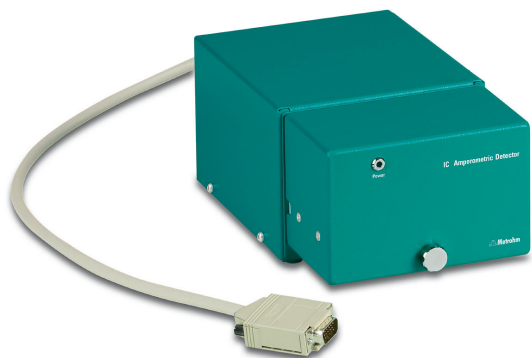


940 Professional IC Vario ONE/HPG

940 プロフェッショナル IC Vario ONE/HPG はバイナリー高圧グラジエントを備えたサプレッションの無しのインテリジェントコンパクトIC装置です。942 拡張モジュールを使用することでクォーターグラジエントシステムにまで拡張することができます。この装置は任意の分離メソッドおよび検出メソッドによって使用することができます。

典型的な使用領域:

- グラジエント溶離法後のパルスタイプのアンペロメトリック検出器による炭水化物分析
- ポストカラム法を使用する、もしくは使用しない UV/VIS検出器によるグラジエント使用



IC Amperometric Detector

インテリジェントIC装置のためのコンパクトかつインテリジェントなアンペロメトリック検出器。4つの測定モード(DC、PAD、flexIPAD、CV)による優れた選択性、卓越した信号・騒音比、非常に高速の測定待機機能が高精度の測定できます。



Metrosep Carb 2 - 250/4.0

ICカラムMetrosep Carb 2 - 250/4.0は、アルカリ性溶離液およびパルスアンペロメトリー検出を用いた炭水化物の測定に特に適しています。大容量の陰イオン交換カラムは、スチロール/ジビニルベンゼン共重合体をベースとしています。これはpH = 0~14の範囲で安定しており、単糖類および二糖類を分離します。さらに、数種の糖アルコール、無水糖、アミノ糖などの分析にも適しています。Metrosep Carb 2分離カラムの250mmのバージョンは、複雑な分離のために最適化されています。



858 Professional Sample Processor – Pump

858 プロフェッショナルサンプルプロセッサ - ポンプは、500 μ Lから500 mLまでのサンプルを処理します。サンプルは内蔵式双方向性の2チャンネルのペリスタリックポンプまたは800 ドジーノ電動ビュレットによって転送されます。