

ポストカラム蛍光検出法によるボグリボースの分析

Post-column Fluorometric Determination of Voglibose

ボグリボースは、二糖類の α -D-グルコシド結合を加水分解して、糖の消化吸収を助ける α -グルコシダーゼの働きを阻害する物質で、糖尿病の治療薬として使用されています。

ボグリボースは紫外吸収を持たないため、HPLC分析においては、検出法に工夫が必要であり、タウリン/過

よう素酸試薬を用いるポストカラム蛍光誘導体化法が用いられています。

ここでは、島津LC-VP還元糖分析システムに、このタウリン/過よう素酸試薬によるポストカラム蛍光誘導体化法を応用したボグリボースの分析例についてご紹介いたします。

K.Watanabe

分析方法

Analytical Method

Fig.1に、ボグリボースの構造式を示します。ボグリボースは低波長域でしか紫外吸収を持たないため、このままでは高感度に検出するのは困難です。このため、糖アルコールや非還元糖を高感度検出することができるタウリン/過よう素酸試薬¹⁾によるポストカラム蛍光誘導体化法が用いられています。

本法では、アミノカラムによりボグリボースを分離後、タウリン/過よう素酸試薬をカラム溶出液に連続的に添加、100℃で反応させて生成した発蛍光体を検出します。

本法を島津LC-VP還元糖分析システムに応用することにより、ボグリボースの高感度分析が可能になります。その流路図をFig.2に、また標準的な分析条件をTable 1に示します。

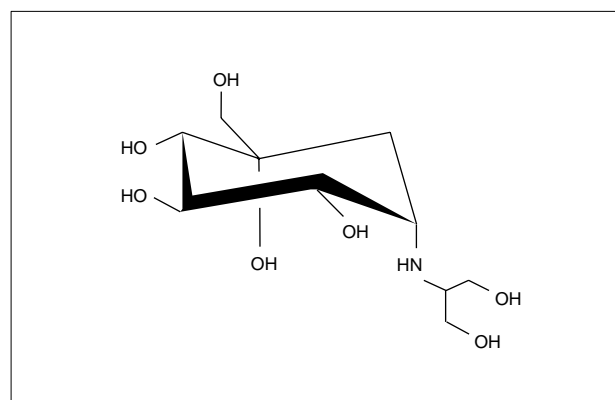


Fig.1 ボグリボース構造式
Structure of Voglibose

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	:Asahipak NH2P-50 4E (250mmL.×4.6mmI.D.)
Guard Column	:Asahipak NH2P-50G 4A (10mmL.×4.6mmI.D.)
Mobile Phase	:A / B = 1 / 2 (v/v) A:20mM (Sodium) phosphate buffer (pH 6.50) B:Acetonitrile
Flow Rate	:0.6 mL/min
Column Temp.	:25°C
Reaction Reagent	:Taurine / Sodium periodate solution
Reagent Flow Rate	:0.6 mL/min
Reaction Temp.	:100°C
Detector	:RF-10AXL Super Ex at 350nm, Em at 430nm

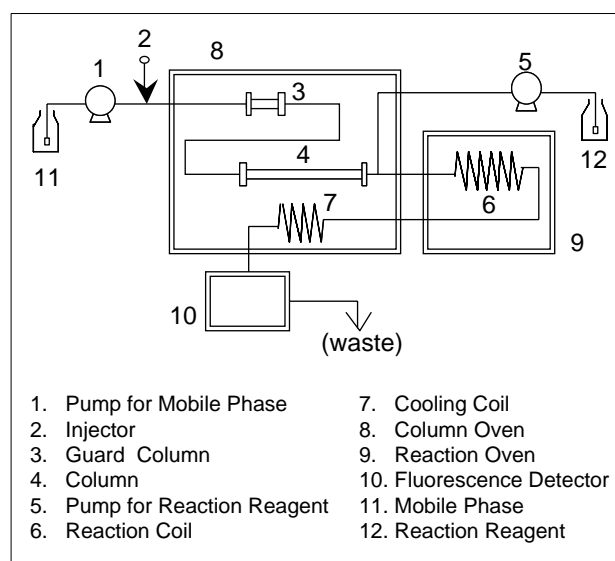


Fig.2 流路図
Flow Diagram

ボグリボース標準品の分析例

Analysis of Standard Voglibose

Fig.3は、ボグリボース標準液(200 µg/L)を50 µL注入した結果です。

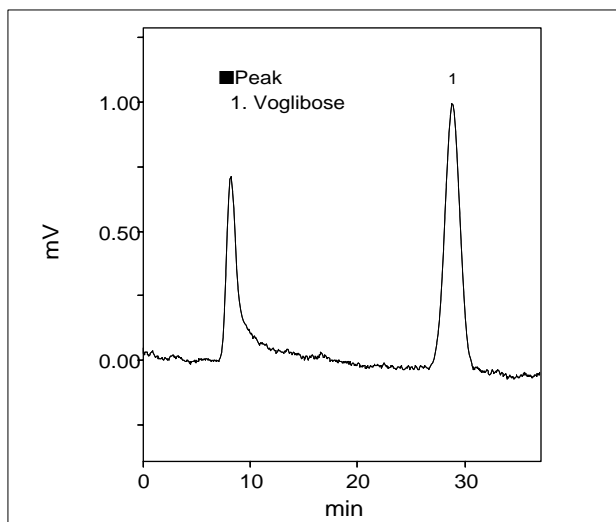


Fig.3 ボグリボース標準品(200 µg/L, 50 µL注入)
Standard of Voglibose (200µg/L, 50µL inj.)

Fig.4は、濃度20, 40, 100, 200 µg/Lの標準液50 µL注入による検量線です。良好な直線が得られています。

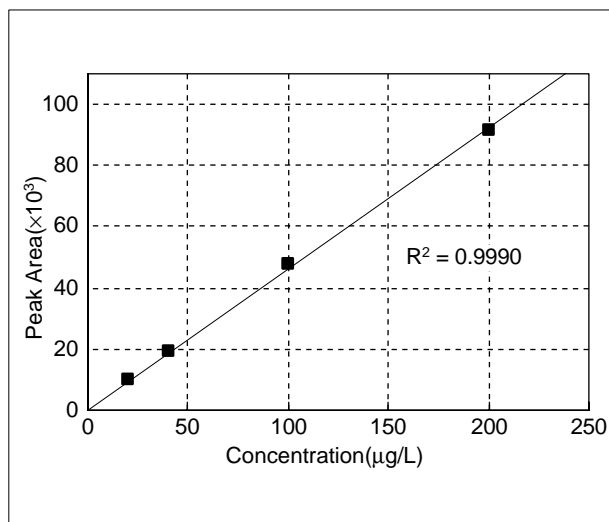


Fig.4 検量線
Calibration Curve

再現性

Repeatability

定量下限付近での再現性評価のため濃度20 µg/Lの標準液50 µLを5回繰り返し分析した結果をTable 2に示します。RSDは2.32%と良好な結果が得られました。

Table 2 再現性
Repeatability

	Peak Area
1st	9579
2nd	9340
3rd	9212
4th	9158
5th	9647
Average	9387.2
RSD(%)	2.32

検出器セル温度の影響

Effect of Flow Cell Temperature

一般に蛍光検出では温度により感度が変化します。Fig.5はセル温調機能付きRF-10AxL Superのセル温度を変化させて、ボグリボース(40 µg/L, 50 µL注入)の面積値変化を調べた結果です。セル温度が低い程、面積値が大きくなるのがわかります。

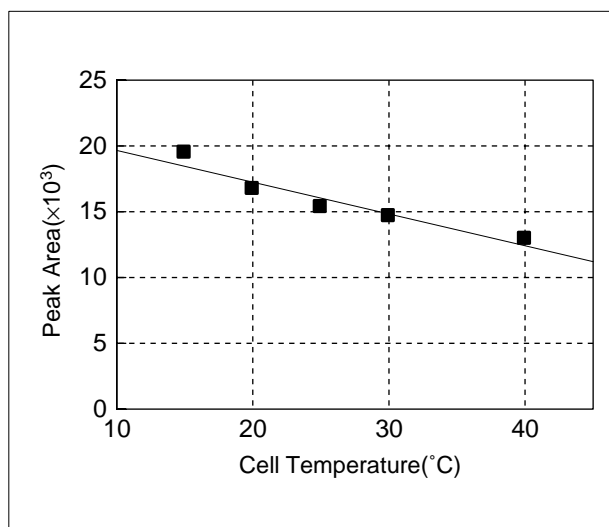


Fig.5 検出器セル温度と蛍光強度
Relationship Between Flow Cell Temperature and Peak Area

参考文献

- 1) 加藤武彦, 木下俊夫: 分析化学, 35, 869-874 (1986)

初版発行: 2003年6月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

- ☎ 0120-131691(携帯電話不可)
- 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。