

親水性相互作用クロマトグラフィーと ポストカラム蛍光誘導体化法を用いた糖類の分析

Determination of Carbohydrates by Hydrophilic Interaction Chromatography with Postcolumn Fluorometric Detection

島津「還元糖分析システム」は、糖類をほう酸錯体陰イオン交換クロマトグラフィーで分離後、塩基性アミノ酸のアルギニンを含む反応液と加熱反応させることにより蛍光誘導体化し、高感度に選択性良く検出するシステムです。

ここでは、分離モードとして親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）を適用し、単糖類の分離の改善と分析時間の短縮をはかった例をご紹介します。

K. Watanabe

標準試料の分析

Analysis of Standard Solution

Fig.1 に、還元糖分析システムの流路図を示します。糖類の分離はアミノカラムを用いるHILICモードで行い、反応条件の最適化を検討しました。

Table 1 に、最適化した分析条件を示します。Fig.2は本分析条件による糖9成分標準混合液一斉分析例です。

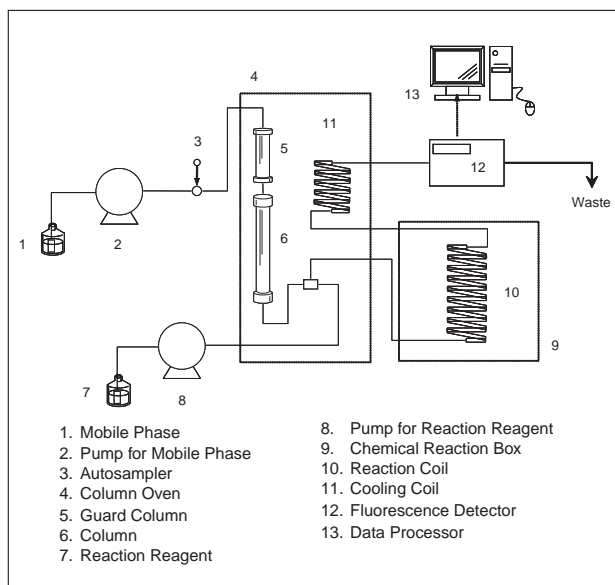


Fig.1 流路図
Flow Diagram

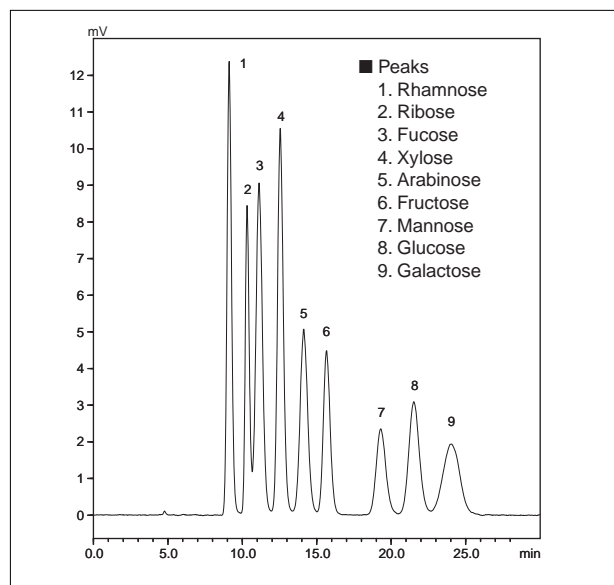


Fig.2 糖標準溶液のクロマトグラム (各 10 μmol/L, 10 μL 注入)
Chromatogram of a Standard Mixture of Carbohydrates
(10 μmol/L each, 10 μL injected)

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

<Separation>	<Detection>
Column : Shodex Asahipak NH2P-50 4E (250 mm L. × 4.6 mm I.D.)	Reaction Reagent : 20 g/L Potassium borate buffer containing 5.0 g/L Arginine (pH 9.3)
Guard Column : Shodex Asahipak NH2P-50G 4A (10 mm L. × 4.6 mm I.D.)	Flow Rate : 0.5 mL/min
Mobile Phase : Water / Acetonitrile / Phosphoric acid (85%) = 15 / 85 / 0.3 (v/v/v)	Reaction Coil : SUS, 8 m L. × 0.5 mm I.D.
Flow Rate : 0.8 mL/min	Reaction Temp. : 150 °C
Injection Volume : 10 μL	Cooling Coil : SUS, 6 m L. × 0.3 mm I.D.
Column Temp. : 45 °C	Detection : RF-10AXL Ex at 320 nm, Em at 430 nm

「還元糖分析システム」用配管キット付属の反応コイル（標準4 m）および冷却コイル（標準2 m）に各々配管を追加して用いました。

直線性

Linearity

Fig.3に、各成分の検量線を示します。0.10 ~ 1000 $\mu\text{mol/L}$ (10 μL 注入) で良好な直線性が得られました。

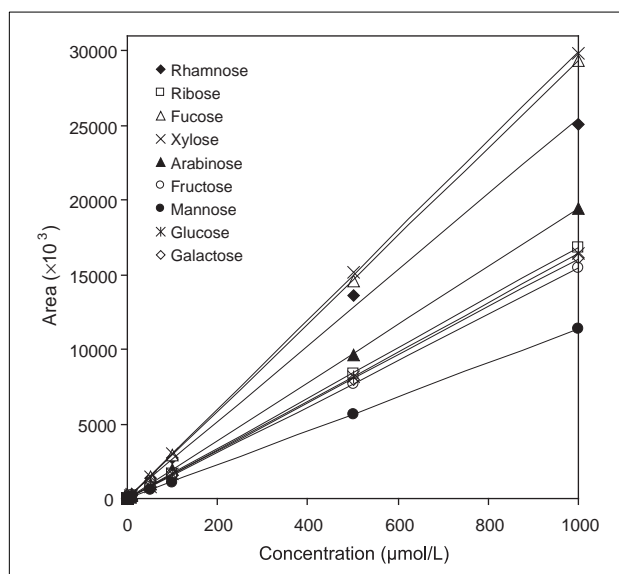


Fig.3 検量線 (10 μL 注入時)
Calibration Curves (10 μL injected)

低濃度領域における検出

Detection in Low Concentration

Fig.4に、各成分0.5 $\mu\text{mol/L}$ の糖標準混合液10 μL を注入した結果を示します。この標準溶液を6回繰り返し分析した際のグルコースにおけるピーク面積の相対標準偏差は、2.0 %RSDでした。

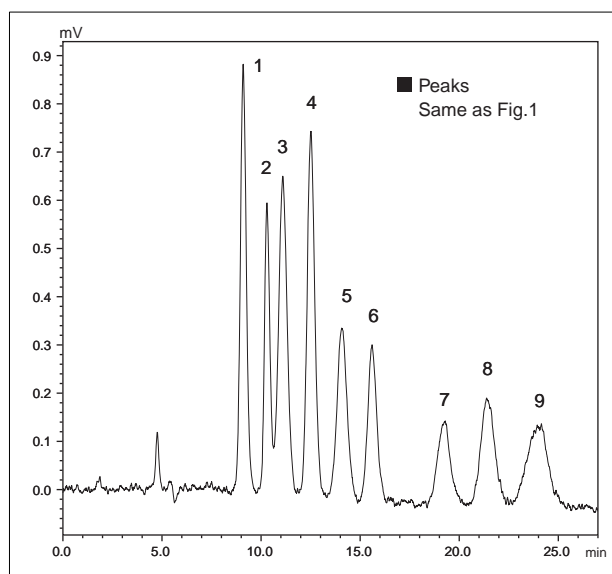


Fig.4 糖標準溶液のクロマトグラム (各0.5 $\mu\text{mol/L}$ 10 μL 注入)
Chromatogram of a Standard Mixture of Carbohydrates
(0.5 $\mu\text{mol/L}$ each, 10 μL injected)

醸造食品の分析

Analysis of Brewed Foods

Fig.5, 6 に、日本酒および食酢のクロマトグラムを示します。各試料は純水で10倍希釈後、限外ろ過にて除タンパクを行い、1 μL を注入しました。夾雑成分の多い醸

造食品中の微量糖が、選択性良く検出されていることがわかります。

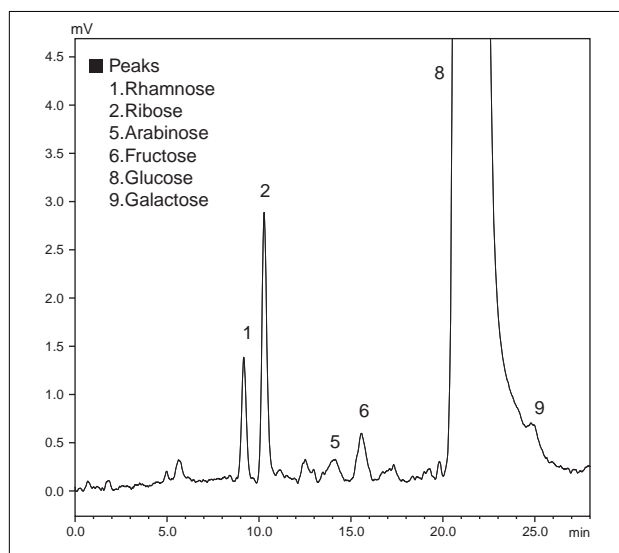


Fig.5 日本酒 (1 μL 注入)
Japanese Sake (1 μL Injected)

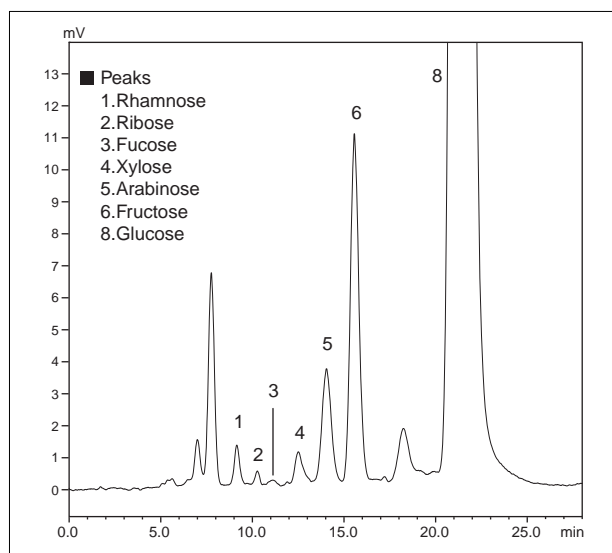


Fig.6 食酢 (1 μL 注入)
Vinegar (1 μL Injected)

初版発行：2009年3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。