

糖17成分の一斉分析

糖は自然界に最も多く存在する有機化合物のひとつであり、その種類は単糖、二糖、オリゴ糖、多糖、中性糖、酸性糖、アミノ糖、糖アルコール、さらにそれらの異性体など多岐にわたります。これら糖類の分離分析にはHPLCが広く用いられています。糖には多くの種類があるため、分析にあたっては目的に応じて適切な分離法や検出法を選択する必要があります。

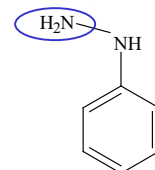
今回は数ある分析法の中でも、単糖から多糖の分析に適したポストカラム蛍光誘導体法をご紹介します。反応液にフェニルヒドラジン試薬を用いることで、食品中の糖17成分一斉分析が可能となります。

フェニルヒドラジンは、右図中のアミノ基と糖が110℃以上にて複数のシッフ塩基を形成します。そのため、蛍光検出が可能となります。また、還元糖と非還元糖の同時分析は難しいとされてきましたが、フェニルヒドラジン試薬を用いることで、ほぼ同じ強度で高感度検出することができます。

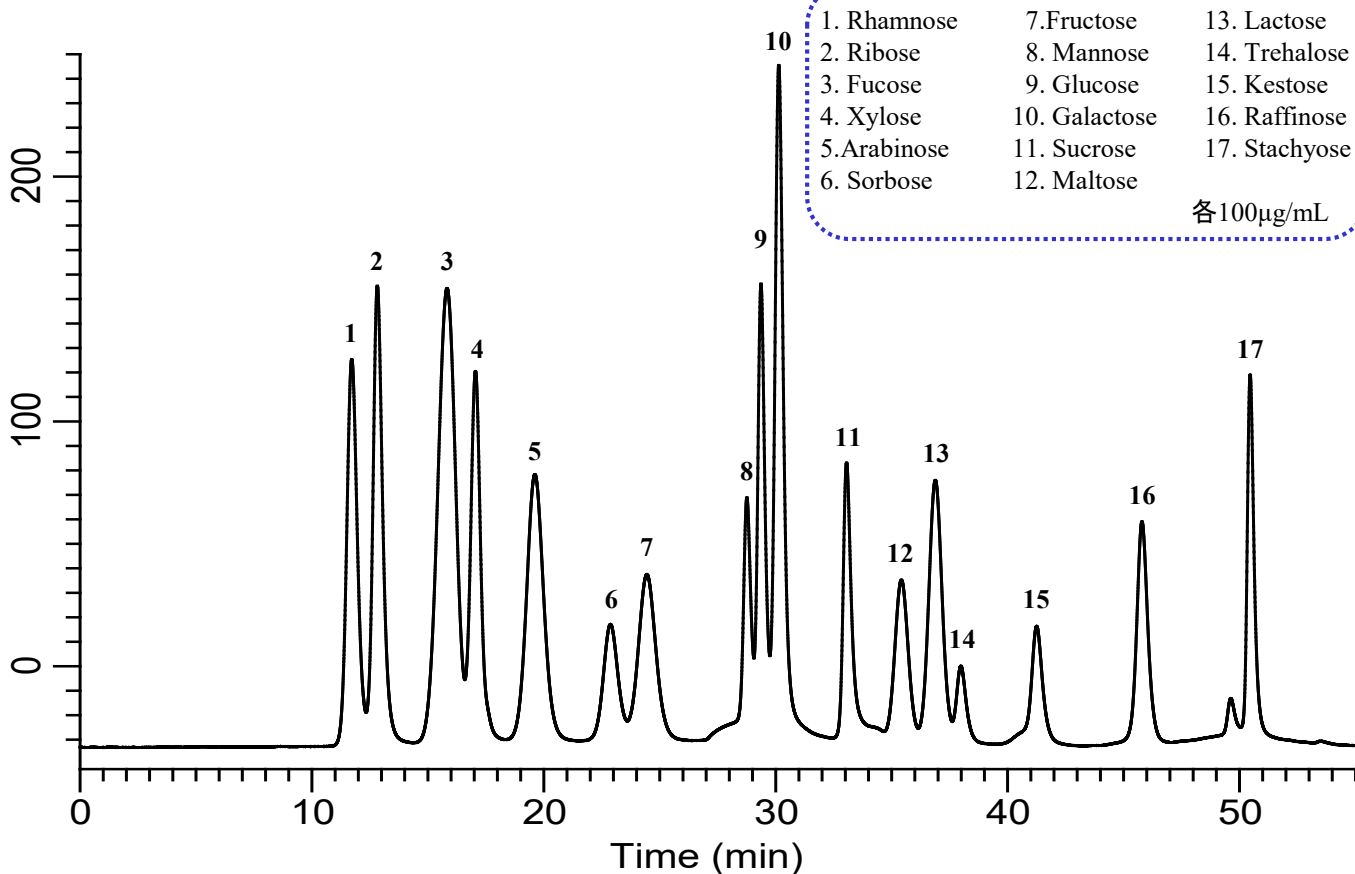
— フェニルヒドラジン試薬を用いたポストカラム蛍光誘導体法の特長 —

1. 高感度に分析可能
2. 再現性・定量性・選択性が良い
3. 一斉分析が可能

フェニルヒドラジンの構造

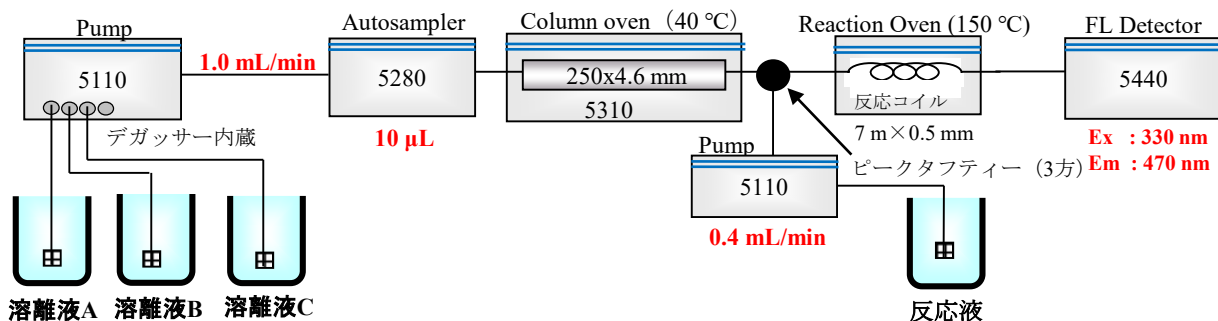


Structures are created using Chemistry 4-D Draw which is provided by ChemInnovation Software, Inc.



流路図

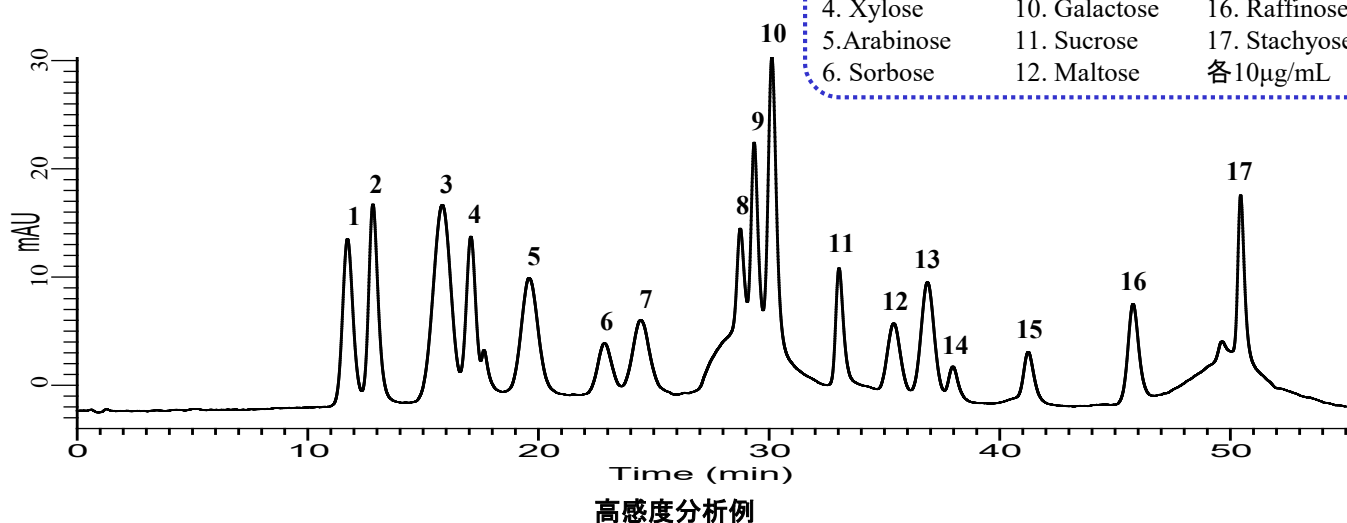
糖17成分の標準試料分析例



フェニルヒドラジン誘導体化法の特徴

1. 高感度に分析可能

下図は、各成分濃度10 $\mu\text{g/mL}$ の標準試料を10 μL 注入したときの高感度分析例です。各成分に対して、10 $\mu\text{g/mL}$ オーダーで検出可能です。



2. 再現性・定量性・選択性が良い

反応選択性が高い蛍光誘導体化試薬を用いるため、簡単な前処理で夾雑物の影響を受けずに分析可能。誘導体化法において重要である再現性・定量性を保つことができ、高精度に分析可能です。

表1. 100 $\mu\text{g/mL}$ 再現性(n=3)

	Rhamnose	Ribose	Fucose	Xylose	Arabinose	Sorbose	Fructose	Mannose	Glucose
保持時間の再現性(C.V.)	0.025	0.037	0.086	0.133	0.206	0.194	0.234	0.078	0.064
面積値の再現性(C.V.)	0.211	0.456	0.382	0.593	0.228	0.037	0.662	0.663	0.278

	Galactose	Sucrose	Maltose	Lactose	Trehalose	Kestose	Raffinose	Stachyose
保持時間の再現性(C.V.)	0.065	0.071	0.094	0.102	0.136	0.079	0.071	0.023
面積値の再現性(C.V.)	0.208	0.88	0.604	0.154	0.387	0.455	0.287	0.327

表2. 各成分の定量範囲とその相関係数(n=3)

	Rhamnose	Ribose	Fucose	Xylose	Arabinose	Sorbose	Fructose	Mannose	Glucose
検量線範囲($\mu\text{g/mL}$)	500~10	500~1	500~1	500~1	500~10	500~10	500~10	500~10	500~1
相関係数(R)	0.9997	0.9999	0.9997	0.9996	0.9999	0.9995	0.9994	0.9994	1.0000

	Galactose	Sucrose	Maltose	Lactose	Trehalose	Kestose	Raffinose	Stachyose
検量線範囲($\mu\text{g/mL}$)	500~1	500~10	500~10	500~10	500~10	500~10	500~10	500~10
相関係数(R)	0.9993	0.9985	0.9993	0.9996	0.9997	0.9996	0.9999	0.9989

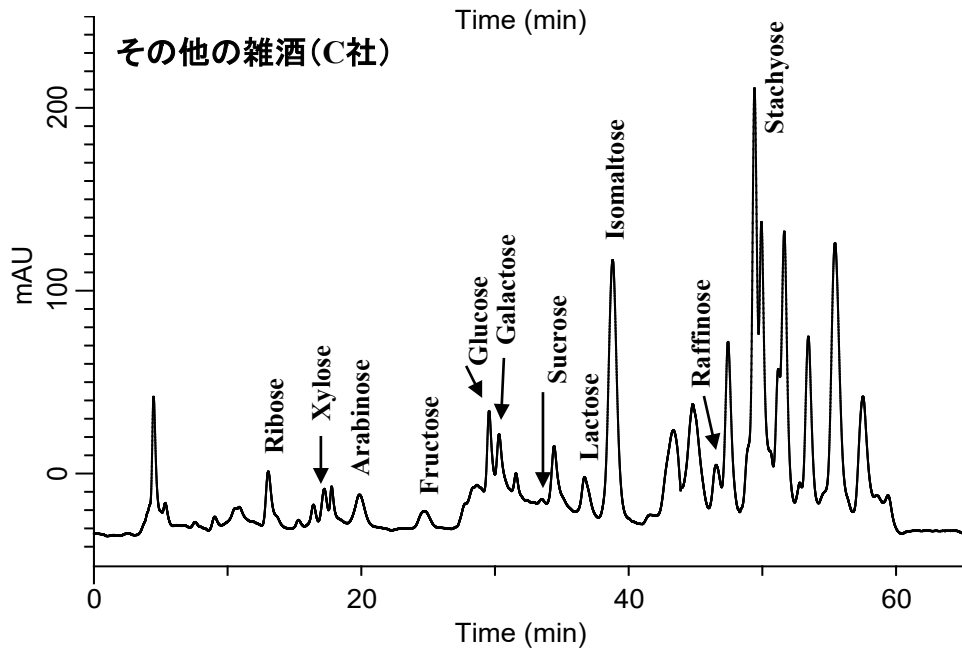
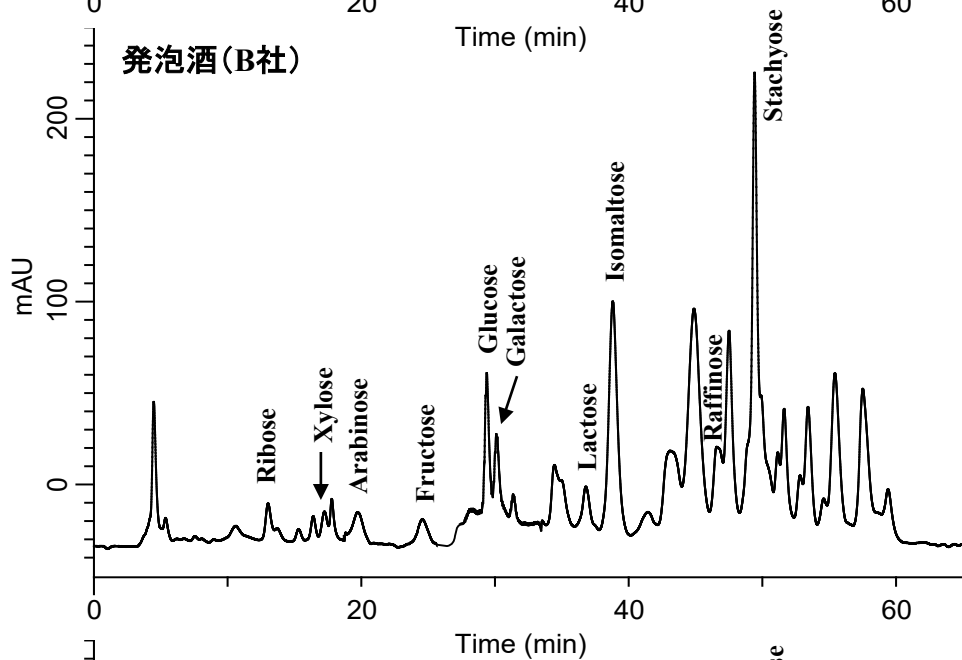
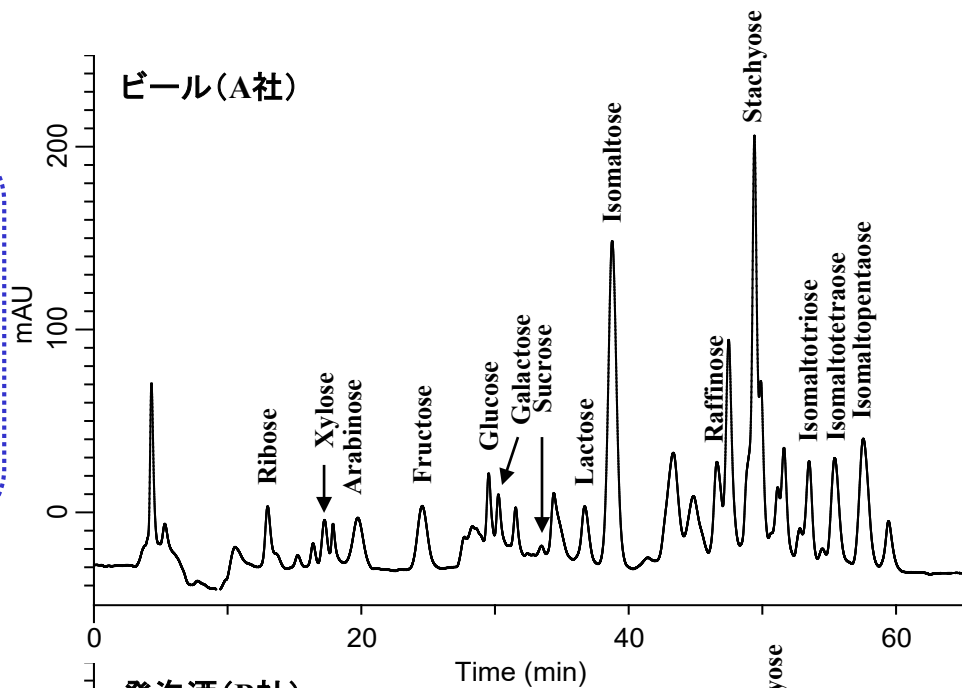
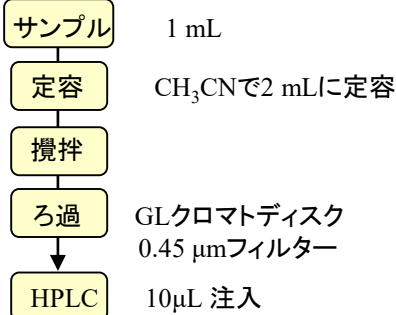
3. 一斉分析が可能

蛍光検出器を用いるため、示差屈折検出器では難しいグラジエント分析が可能です。そのため、単糖から多糖まで幅広い糖成分の一斉分析が可能です。

(例) 次ページ、クロマトグラム40分以降は多糖のピークです。多糖分析に関する問い合わせは、カスタマーサポートセンターまでお願いいたします。

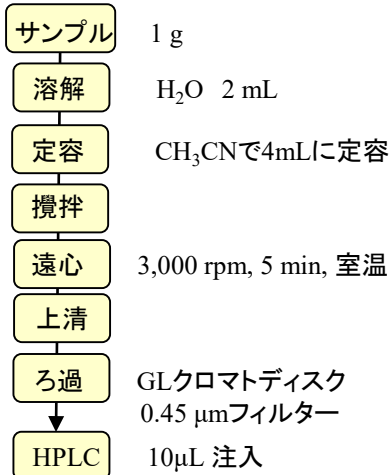
ビール類の分析例

ビール類の前処理例

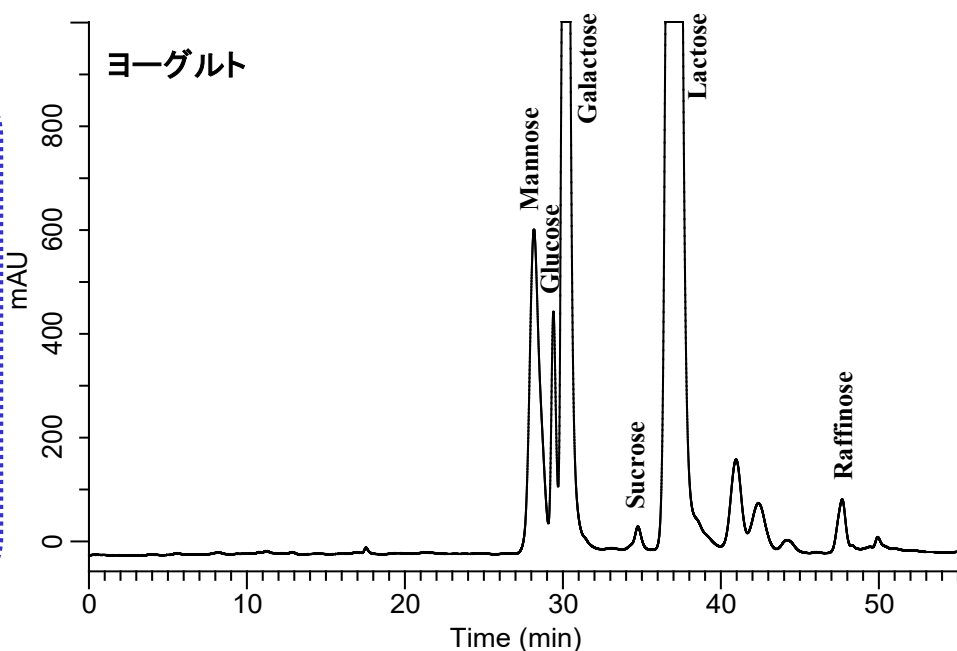


乳製品と野菜の分析例

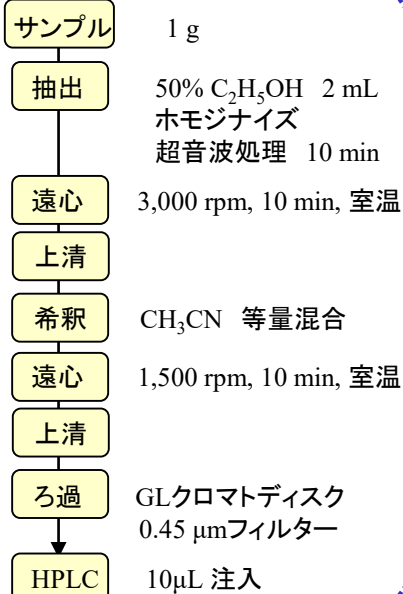
ヨーグルトの前処理例



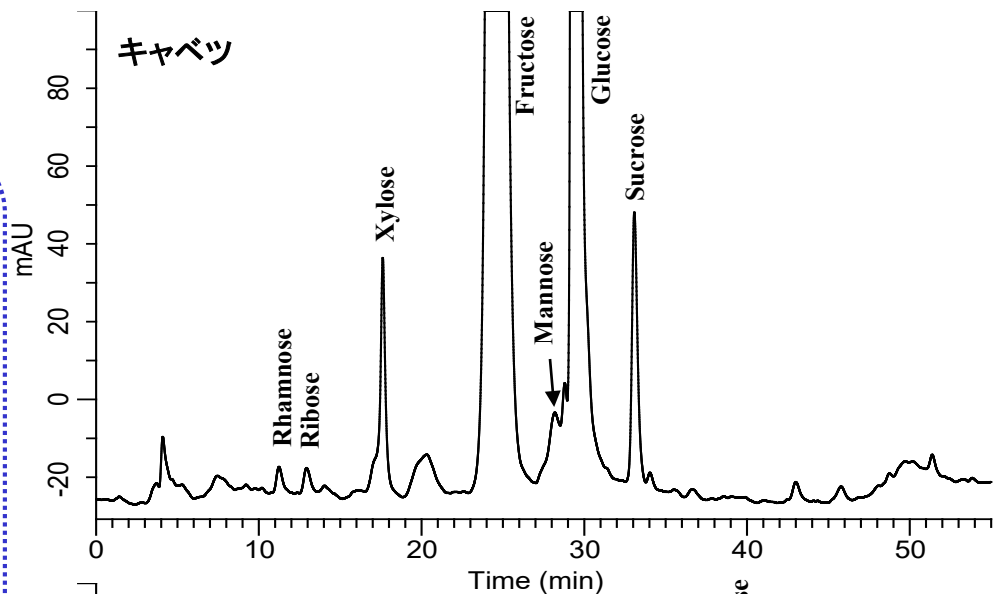
ヨーグルト



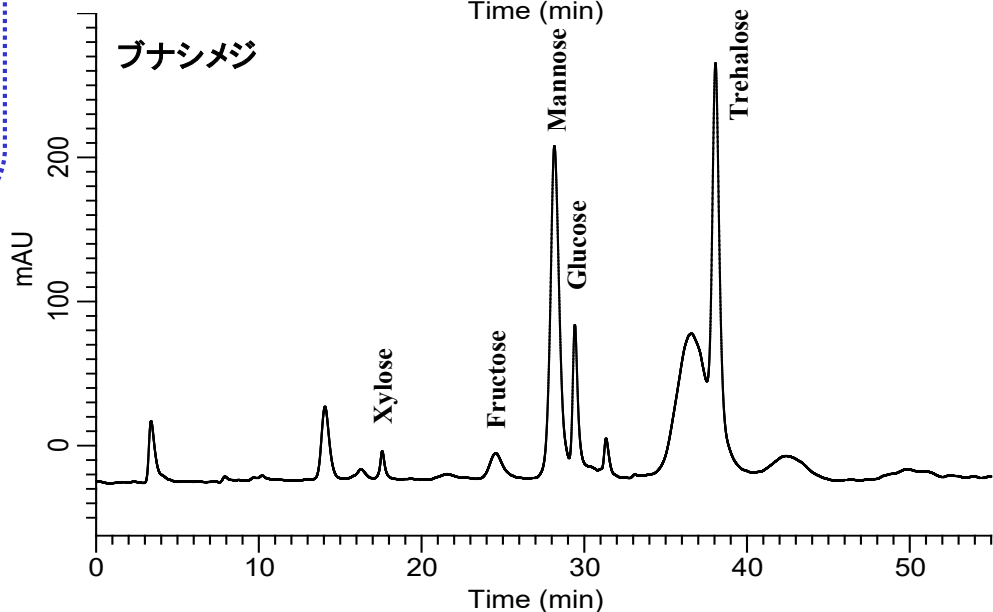
キャベツ、ブナシメジの前処理例



キャベツ

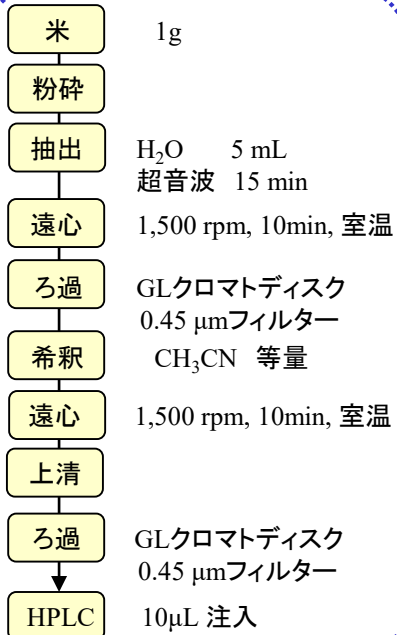


ブナシメジ

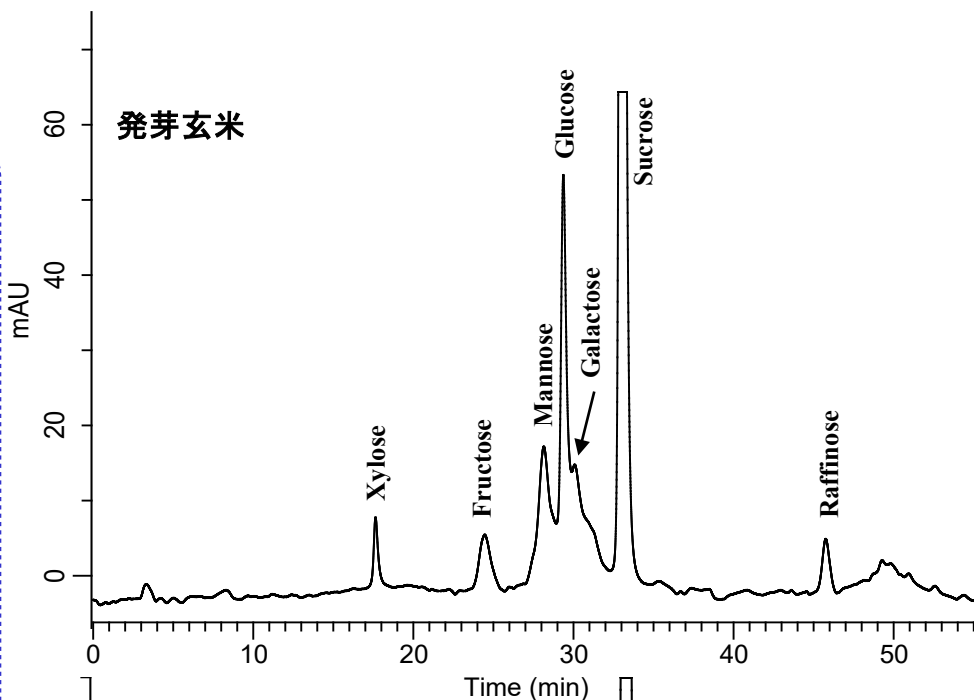


穀物類と根菜類の分析例

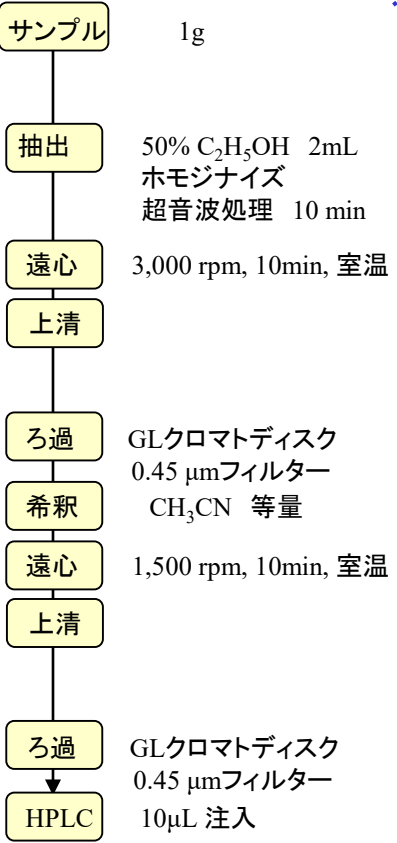
米の前処理例



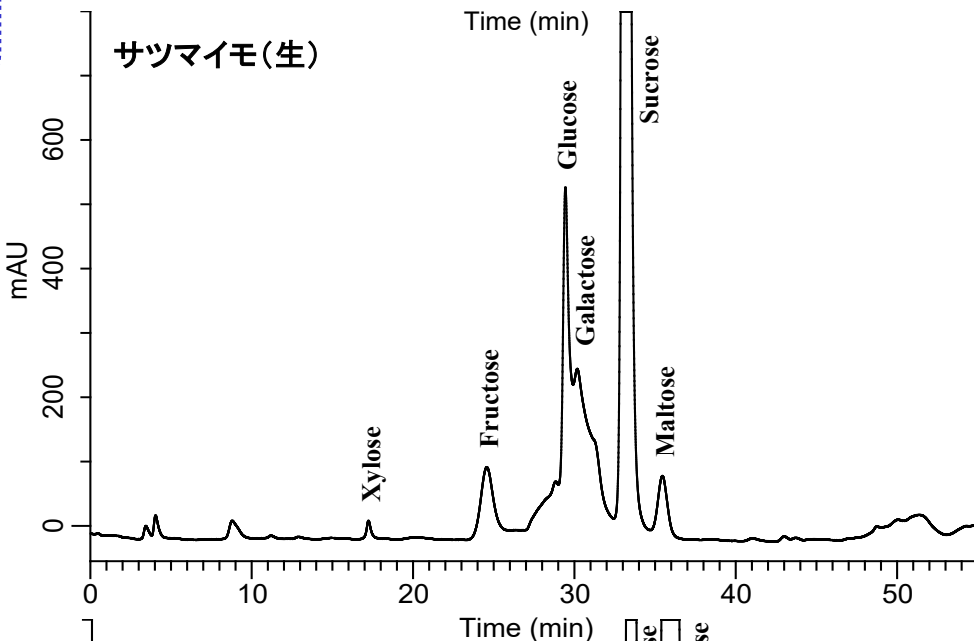
発芽玄米



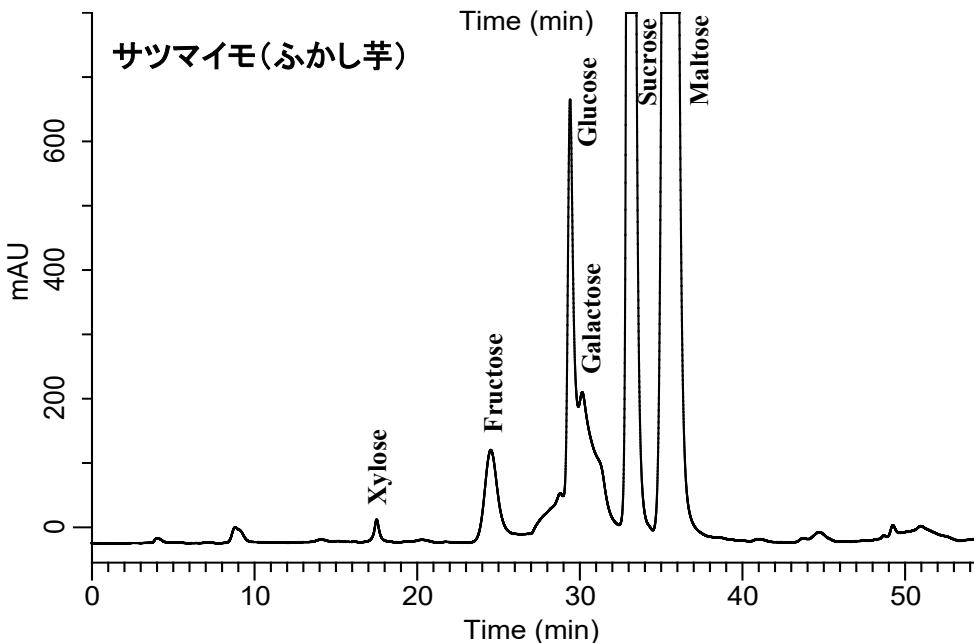
サツマイモの前処理例



サツマイモ(生)



サツマイモ(ふかし芋)



使用装置

カラム

分析カラム : Asahipak NH2P-50 4E 250 × 4.6 mm i.d. (Shodex) Cat. No. 5055-12611
 プレカラム : Asahipak NH2P-50G 4A 10 × 4.6 mm i.d. (Shodex)

フィルター : GLクロマトディスク

水系 25A 孔径 0.45 μm
 Cat. No. 5040-28512

HPLC装置 : 日立Chromasterシステム

糖分析システム

1	送液ポンプ	5110
2	オートサンプラ	5280
3	カラムオープン	5310
4	反応オープン	5510
5	反応ポンプ	5110
6	蛍光検出器	5440AD
7	オーガナイザ	



ジールサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
 TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお薦めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しましては、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。お困り際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html