

P36

ヒト血漿中カテキン類(エピガロカテキンガレート およびエピカテキン)の測定について

Analytical method for Epigallocatechin Gallate(EGCg) and Epicatechin(EC) in Human plasma

○川原 秀喜, 榎藤 一美, 宮川 秀則, 川越 信秀, 榎 佐和子, 久保野勝男

株式会社エスアールエル 医科学分析センター

We examined measuring method of the EGCg and EC concentration in human plasma by using high-performance liquid chromatography with electrochemical detector(HPLC-ECD). This analytical method was adopted column switching technique with HPLC system. We submit good result data on the standard material and human plasma in tests of the linearity, addition-recovery and reproducibility.

【はじめに】

機能性物質として注目を集めているカテキンは、フラバン-3-オール型ポリフェノール化合物の総称である。緑茶中に多く含まれエピカテキン (EC), エピガロカテキン (EGC), エピカテキンガレート (ECg) およびエピガロカテキンガレート (EGCg) の4種が主に存在する。

我々は、ヒト血漿中カテキン類として、EGCg および EC のフリー体の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた迅速測定法について検討した。

【方法】

HPLC システムには島津製作所 LC-10Avp シリーズを用い、エイコムの電気化学的検出器 ECD-300 を装着し検討した。

迅速測定法開発のため複雑な前処理を避け、HPLC システムでのカラムスイッチング法を採用した。

1. 前処理

ヒト血漿に試料安定剤を加え攪拌後、さらにアセトニトリルを加え5分間攪拌した。その後、遠心分離しその上清を分取し、窒素気流下にて濃縮乾固後、プレカラム移動相にて再溶解して測定試料とした。

2. HPLC 分析条件

プレカラム : Pegasil ODS 4.6×50mm (センシユー科学)

メインカラム : Pegasil ODS 4.6×250mm (センシユー科学)

カラム温度 : 40℃

移動相流量 : 0.8mL/min

プレカラム移動相 : 15mmol/L リン酸緩衝液 (pH=2.2) /アセトニトリル/メタノール (450/43/45)

メインカラム移動相 : 25mmol/L リン酸緩衝液 (pH=2.2) /テトラヒドロフラン/アセトニトリル/メタノール (750/42/76/136)

ECD 加電圧 : 450mV

【結果および結論】

測定精度の検証のため希釈直線性試験、添加回収試験および再現性試験を実施し、それぞれが良好な結果であることを確認した。

本法では、HPLC のインジェクション間隔を16分とする迅速測定が可能となった。今後は、他のカテキン類についても安定した精度を備えた迅速測定系を検討して行きたい。