



Agilent 1260 Infinity II LC を用いた 全自動プレカラム誘導体化による アミノ酸および不揮発性腐敗アミンの同時分析

<要旨>

アミノ酸や不揮発性腐敗アミンは各種食品中の呈味や栄養価を評価する重要な指標の一つです。HPLC を用いたアミノ酸分析においては誘導体化が欠かすことのできないステップであるため、精度の良い分析を行うためには正確性の高い誘導体化方法が要求されます。ここでは、アジレントのオートサンプラに標準搭載されている「インジェクタプログラム」を用いたアミノ酸と不揮発性腐敗アミン類の同時分析について紹介します。

Key Words: HPLC、プレカラム誘導体化、アミノ酸、不揮発性腐敗アミン

1. はじめに

平成 27 年 4 月から始まった機能性表示食品制度により、食品中の各種成分の測定需要が高まっています。アミノ酸や腐敗アミン類は食材の呈味や栄養価と大きく関係しており、また腐敗アミン類は食中毒やアレルギーの原因物質となりうるということが知られています。これら成分を HPLC にて分析する際には、イオン性の化合物であるアミノ酸の分離・検出を良好に行うために誘導体化を行うことが一般的とされています。アジレントのオートサンプラには「インジェクタプログラム」と呼ばれるプログラム機能が搭載されており、本機能を利用することでニードルループ内での誘導体化反応が可能となり、誘導体化反応を自動化することが可能になります。ここでは、インジェクタプログラムを利用した全自動プレカラム誘導体化によるアミノ酸と腐敗アミン類の同時分析について紹介します。

2. 実験条件

アミノ酸（19 成分）および不揮発性腐敗アミン（8 成分）の標準品は 0.1 mol/L の HCl にて適宜希釈し、50 ~ 1000 pmol/μL に調製しました。また、食品試料への適用例として赤ワインを 10 倍希釈後、フィルター濾過したものについて測定を行いました。

各試料中のアミノ酸・不揮発性腐敗アミンの誘導体化には OPA (o-フタルアルデヒド) を使い、インジェクタプログラムによる全自動処理 (Table 2) により測定に供しました。

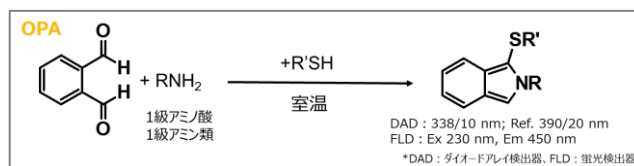


Fig. 1 : OPA による誘導体化機構

Table 1 : 分析条件

機器	Agilent 1260 Infinity II LC System G1312B Binary pump G7129A Vialsampler G7130A Integrated Column Compartment G4212B Diode array detector (10 mm cell)
カラム	Poroshell HPH-C18 (3.0×100 mm, 2.7 μm) 製品番号 : 695975-502
移動相 A	10 mM Na ₂ HPO ₄ + 10 mM Na ₂ B ₄ O ₇ , pH8.2
移動相 B	ACN/MeOH/H ₂ O = 45/45/10
注入	「Table 2 : インジェクタプログラム」参照
温度	40℃
流速	0.62 mL/min
検出器	338/10 nm, reference 390/20 nm
ポストタイム	5 min



Agilent Technologies

Time(min)	0	0.35	12.2	16.5	18	22
B (%)	2	2	52	52	100	100

操作	詳細
吸引	ほう酸緩衝液(pH10.4)から 5.0 μ L
吸引	サンプルから 1.0 μ L
混合	6.0 μ L で 5 回混合
待機	0.2 min
洗浄	フラッシュポートにて 3 sec
吸引	OPA 試薬から 0.5 μ L
混合	6.5 μ L で 10 回混合
洗浄	フラッシュポートにて 3 sec
吸引	希釈液から 8.0 μ L
混合	20 μ L で 8 回混合
洗浄	フラッシュポートにて 5 sec
注入	注入

