

■アミノ酸分析の紹介 (Chromaster NINポストカラム生体液分析法)

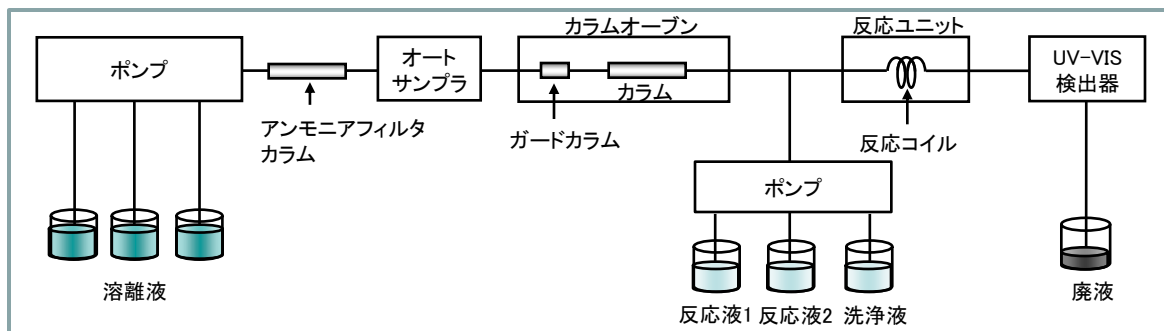
AS/LC-020

AS/LC-010、AS/LC-011、AS/LC-013では日立アミノ酸分析システムを各種紹介しました。今回は遊離アミノ酸約40成分を対象とし、ニンヒドリン試薬を用いて誘導体化するポストカラム生体液分析法を紹介いたします。ニンヒドリン試薬は安定で、寿命が長いことが特長です。溶離液と反応液は、市販キットを使用できます。また再現性も良好でルーチン分析に向いています。検出波長はこれまで570 nmでしたが、5420 UV-VIS検出器の2波長測定機能を用い440 nmを同時に測定することでPro(プロリン)とHypro(ヒドロキシプロリン)の感度向上を図りました。

◆アミノ酸分析法の種類と特徴◆

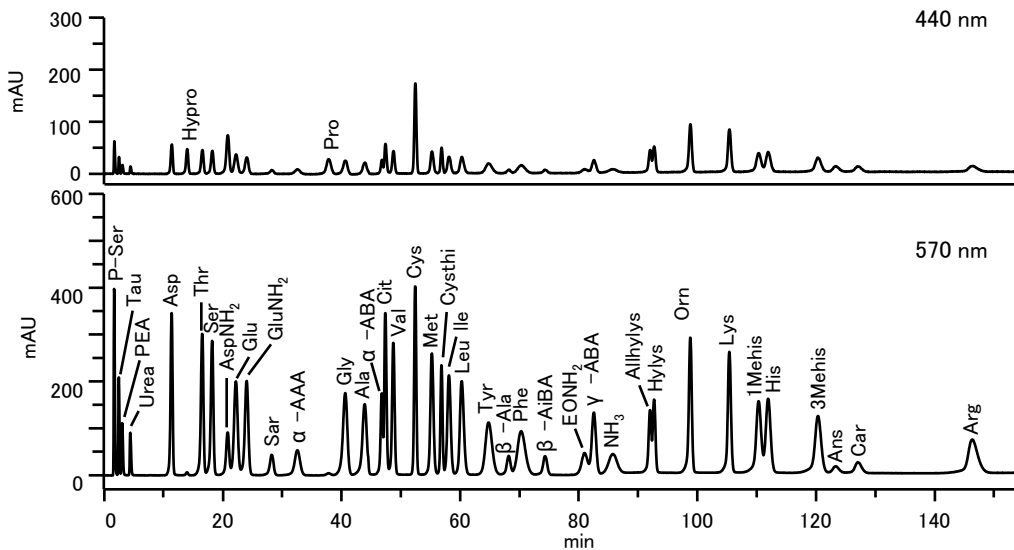
誘導体化試薬 分析法(測定対象)	NIN(ニンヒドリン) ・可視吸収検出 ・再現性良好、ルーチン分析向き ・試薬の寿命長い	OPA(オルトフタルアルデヒド) ・蛍光検出 ・高感度 ・試薬の寿命が短い ・水の純度に注意が必要
標準分析法 (タンパク質加水分解アミノ酸17成分対象)	<b>NIN標準分析法</b>	<b>OPA標準分析法</b>
生体液分析法 (遊離アミノ酸40成分対象)	<b>NIN生体液分析法</b> ・タンパク質加水分解アミノ酸17成分 ・グルタミン、アスパラギン、タウリンなど	<b>OPA生体液分析法</b>

■アミノ酸分析システム(NINポストカラム法)



【流路図】

■アミノ酸標準試料測定例



【アミノ酸標準試料測定例 (5 nmol/20 μ L(ただし一部成分を除く))】

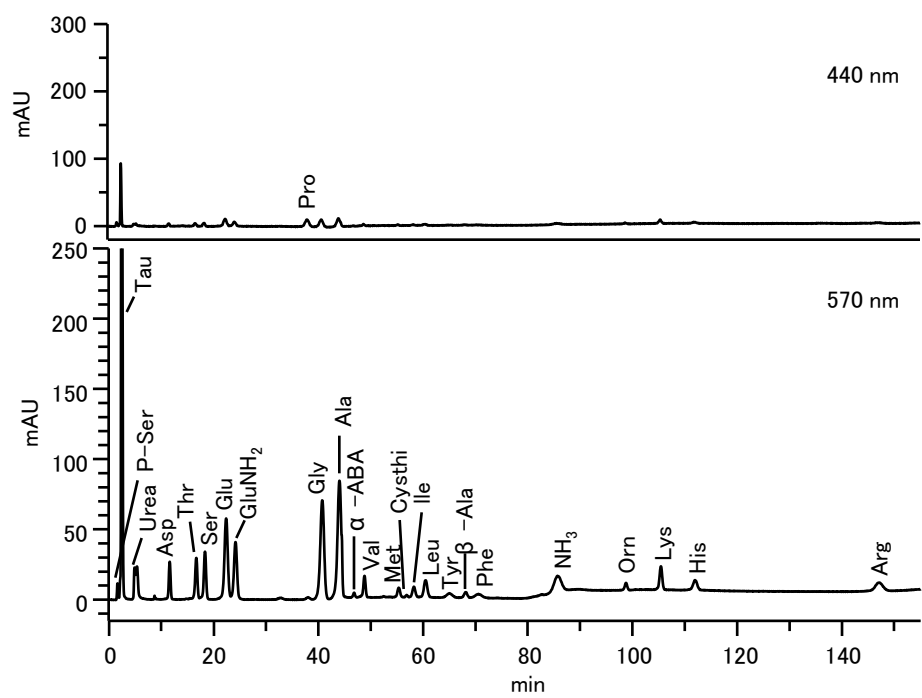
<生体液分析法測定条件>

カラム : #2622PF 4.6 mm I.D. × 60 mm  
 アンモニアフィルタカラム : #2650L 4.6 mm I.D. × 60 mm  
 ガードカラム : #2619 4.0 mm I.D. × 5 mm  
 溶離液 : MCI緩衝液L-8500 PF-Kit(\*) (PF-1, PF-4, PF-RG)  
 流量 : 0.35 mL/min  
 カラム温度 : 35℃

反応液 : 日立用ニンヒドリン発色溶液キット(\*) (R1 / R2 = 50 / 50)  
 反応液流量 : 0.25 mL/min  
 反応温度 : 130℃  
 検出波長 : VIS 440 nm, 570 nm(2波長同時測定)  
 注入量 : 20 μ L

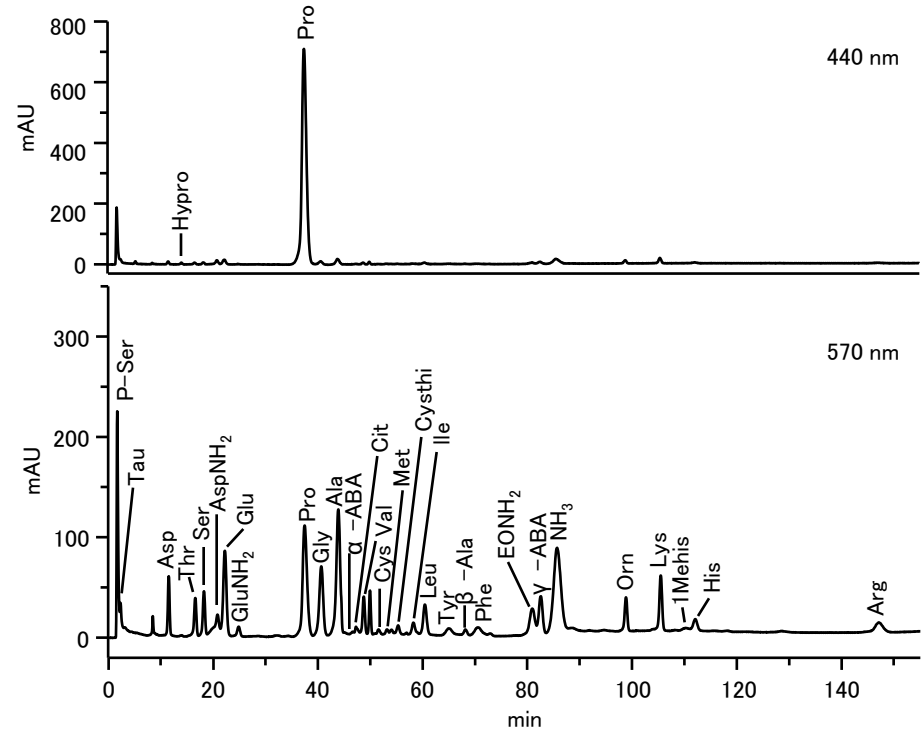
(\*) 販売元 : 和光純薬工業株式会社

■食品中のアミノ酸測定例



＜試料の前処理＞  
 試料 牡蠣(可食部を均一化した試料) 10 g  
 ↓  
 ホモジナイズ  
 ↓  
 純水で 50 mL に定容  
 ↓  
 遠心分離 4000 rpm、15 min、4 °C  
 ↓  
 上清  
 ↓  
 純水で 100 mL に定容  
 ↓ ← 純水で5倍希釈  
 1 mL 採取  
 ↓ ← 5%トリクロロ酢酸 1 mL  
 遠心分離 10000 rpm、10 min、4 °C  
 ↓  
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m  
 ↓  
 分析試料(20 μ L 注入)

【牡蠣の測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

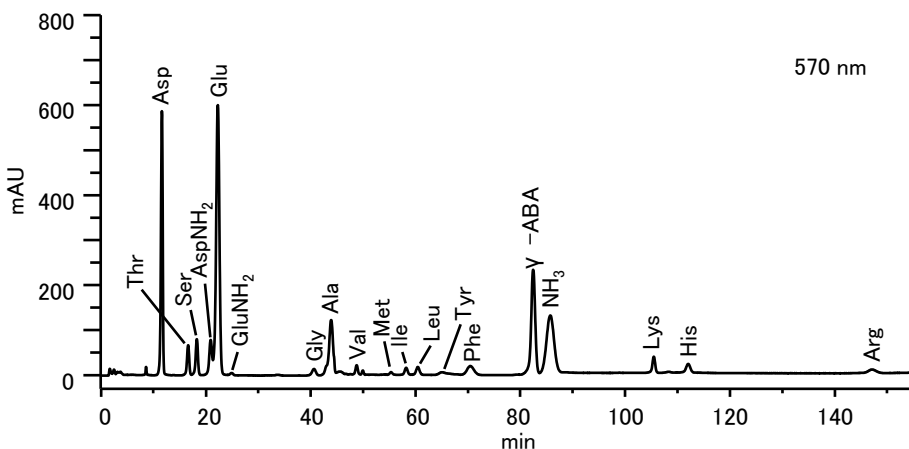


＜試料の前処理＞  
 試料 赤ワイン  
 ↓ ← 純水で10倍希釈  
 1 mL 採取  
 ↓ ← 5%トリクロロ酢酸 1 mL  
 遠心分離 10000 rpm、10 min、4 °C  
 ↓  
 上清  
 ↓  
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m  
 ↓  
 分析試料(20 μ L 注入)

【赤ワインの測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

食品などタンパク質を含む試料は、前処理として除タンパクが必要です。ここではトリクロロ酢酸を使用して除タンパクしました。

■食品中のアミノ酸測定例

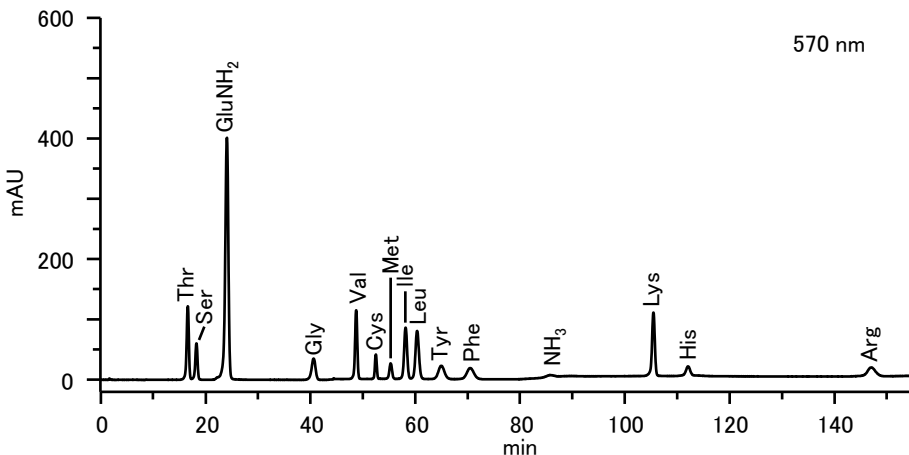


【トマトジュースの測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

＜試料の前処理＞

試料 トマトジュース  
 | ← 純水で10倍希釈  
 1 mL 採取  
 | ← 5%トリクロロ酢酸 1 mL  
 遠心分離 10000 rpm、10 min、4 °C  
 |  
 上清  
 |  
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m  
 |  
 分析試料(20 μ L 注入)

■培地中のアミノ酸測定例



【培地の測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

＜試料の前処理＞

試料 培地(粉末) 25 mg  
 | ← 純水 10 mL  
 1 mL 採取  
 | ← 5%トリクロロ酢酸 1 mL  
 遠心分離 10000 rpm、10 min、4 °C  
 |  
 上清  
 |  
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m  
 |  
 分析試料(20 μ L 注入)

【アミノ酸成分名一覧】

P-Ser	Phosphoserine	Sar	Sarcosine	Cysthi	Cystathionine	Hylys	Hydroxylysine
Tau	Taurine	α-AAA	α-Amino adipic acid	Ile	Isoleucine	Orn	Ornithine
PEA	Phosphoethanolamine	Pro	Proline	Leu	Leucine	Lys	Lysine
Asp	Aspartic acid	Gly	Glycine	Tyr	Tyrosine	1Mehis	1-Methylhistidine
Hypro	Hydroxy proline	Ala	Alanine	β-Ala	β-Alanine	His	Histidine
Thr	Threonine	α-ABA	α-Amino-n-butyrac acid	Phe	Phenylalanine	3Mehis	3-Methylhistidine
Ser	Serine	Cit	Citrulline	β-AiBA	β-Amino-iso-butyrac acid	Ans	Anserine
AspNH <sub>2</sub>	Asparagine	Val	Valine	EtOHNH <sub>2</sub>	Ethanolamine	Car	Carnosine
Glu	Glutamic acid	Cys	Cystine	GABA	γ-Amino-n-butyrac acid	Arg	Arginine
GluNH <sub>2</sub>	Glutamine	Met	Methionine	AlloHylys	Allohydroxylysine	Urea	Urea

より高分離・高精度な分析が必要な場合は、L-8900形 日立高速アミノ酸分析計をお勧めします。

主な装置構成 : Chromaster 5110 ポンプ×2、5210 オートサンブラ(サーモスタット付)、5310 カラムオープン、5420 UV-VIS検出器、5510反応ユニット(N<sub>2</sub>ガス制御ユニット付)、アミノ酸NIN分析キット、カラム

注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。