

HILIC モードを用いた食品中のアミノ酸の分析

Analysis of Amino acid in food using Hydrophilic Chromatography

HPLC 法によるアミノ酸の分析には、主に、次の 3 種類の方法が用いられています。(1)イオン交換カラムを用いて分離後、OPA やニンヒドリン等の誘導体化試薬と反応させ UV 検出器や蛍光検出器で検出するポストカラム法。(2)予め誘導体化試薬と反応させた分析種をカラムで分離して UV 検出器や蛍光検出器、MS 検出器で検出するプレカラム法。(3)誘導体化せずにカラムで分離後、直接 MS 検出器等で検出する直接法。

直接法における分離には、イオン対試薬を用いる逆相クロマトグラフィーや親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) が用いられます。本報では、HILIC モードを用いた直接法の分析例を紹介します。

タンパク質構成アミノ酸 17 種の他に、貝類等に含まれるタウリン、茶葉等に含まれるテアニン及び GABA (α 、 β 異性体含む) の計 22 成分を分析種としました。カラムには、アミノカラム TSKgel NH₂-100 3 μ m を用い、ギ酸-ギ酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルのグラジエント溶離により分離しました。イオン化法には ESI を用い、各アミノ酸のプロトン付加分子 [M+H]⁺ を検出イオンとしました。標準物質のクロマトグラムを図 1 に示します。本分析条件により、ロイシンとイソロイシン、及び、GABA 異性体 (α 、 β 、 γ) がそれぞれ良好に分離されています。また、この分析条件において得られた各アミノ酸の検量線は、5~500 nmol/mL の濃度範囲において良好な直線性を示しました。

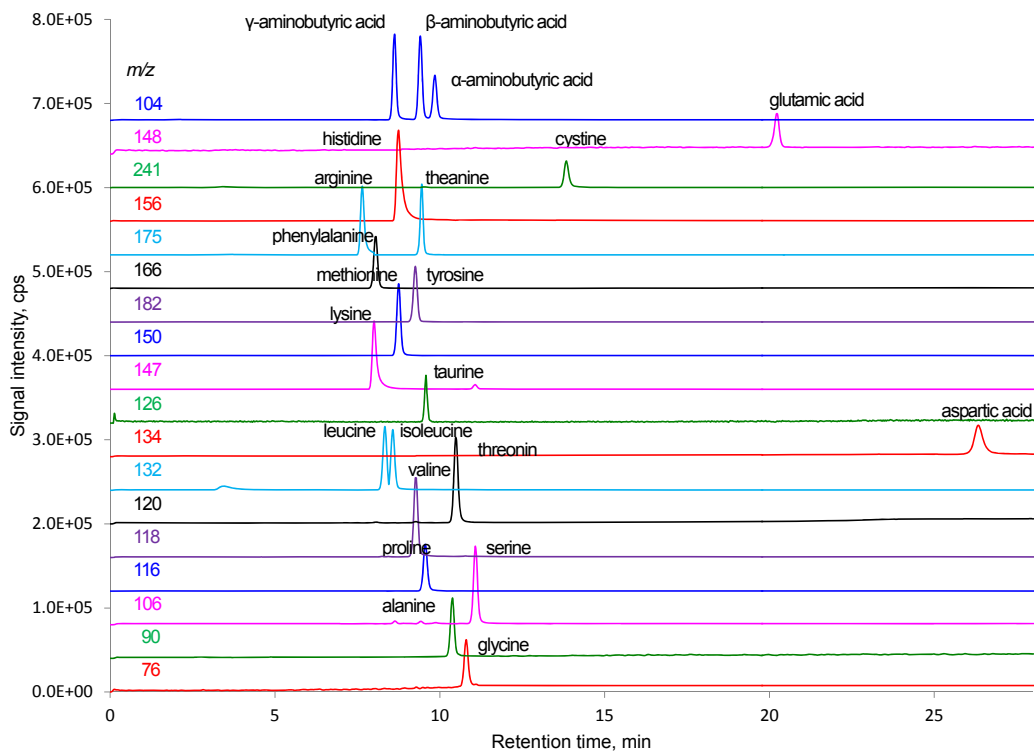


図 1 アミノ酸標準物質の SIM クロマトグラム (各 10~500 nmol/mL)

食品試料として、醤油中のアミノ酸の分析例を図2に示します。醤油は、水で10倍希釈後、更に、移動相A/移動相B=2/8(v/v)を用いて50倍に希釈し、ろ過(酢酸セルロース膜、細孔:0.5 μm)したものを測定試料としました。

本分析条件は、塩基性アミノ酸から酸性アミノ酸まで幅広い遊離アミノ酸の分析が可能であり、アミノ酸含有食品の他、茶葉、サプリメント等の分析にも応用が可能です。

表1 分析条件

HPLC	MS
Column: TSKgel NH2-100 3 μm (2.0 mmI.D. x 15 cm)	Instrument: QTRAP (AB SCIEX)
Eluent A: 0.2% HCOOH + 10 mmol/L HCOONH ₄	Ionization: ESI
Eluent B: CH ₃ CN	Mode: SIM
Gradient: B conc.(0 min)90%→(20-27 min)10%→(27.1 min)90%	
Flow rate: 0.2 mL/min	
Injection volume: 5 μL	
Column temp.: 40 °C	

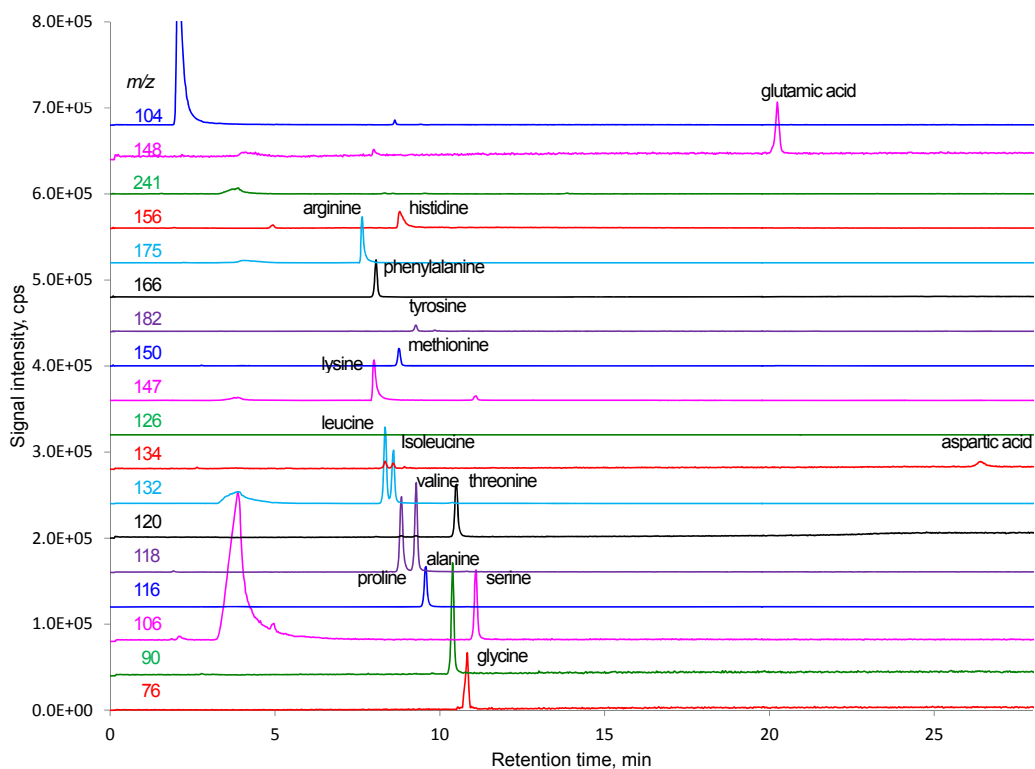


図2 醤油中のアミノ酸のSIMクロマトグラム