

プレカラム誘導体化-蛍光検出HPLCによる尿中  $\delta$ -アミノレブリン酸

— TSKgel Super-ODSを用いた迅速分析 —

テクニカルインフォメーション 0069で TSKgel ODS-80Ts (粒子径 5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm I.D.  $\times$  15 cm) を用いたプレカラム誘導体化  $\delta$ -アミノレブリン酸の分析を紹介しましたが、今回 TSKgel Super-ODS (粒子径 2  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm I.D.  $\times$  15 cm) を用いて検討したので報告します。

誘導体化された  $\delta$ -アミノレブリン酸 ( $\delta$ -ALA) の溶出時間は約 2.1分で、グラジエント時間は異なりますが同一溶離液組成、流速及び温度の条件下で TSKgel ODS-80Tsを用いた場合の約 2.5分の1で、試料注入間隔 10 分という短時間での分析が可能でした。

測定条件及びプレカラム誘導体化反応を下記に示します。 $\delta$ -ALA の濃度範囲 0.1 ~ 50 mg/l (0.5 ~ 250 ng) における検量線の相関係数 (r) は 1.000 (n=7) と原点を通る良い直線が得られました。下図は尿のクロマトグラムで、 $\delta$ -ALA のピーク面積値の繰り返し再現性 RSD は n=11 で 0.467 % と良好な結果となりました。

## 測定条件

カラム: TSKgel Super-ODS (4.6 mm I.D.  $\times$  10 cm)溶離液: (A)  $\text{CH}_3\text{CN} / \text{CH}_3\text{OH} / \text{CH}_3\text{COOH} / \text{H}_2\text{O} = 10 / 35 / 1 / 54$  (B)  $\text{CH}_3\text{CN}$ 

グラジエント条件

3 min      ステップ      2 min      ステップ  
A ————— A ————— B (50%) ————— B (50%) ————— A

流速: 1.0 ml/min

温度: 40  $^\circ\text{C}$ 注入量: 5  $\mu\text{l}$ 

検出: 蛍光 (励起波長 363 nm, 蛍光波長 473 nm)

試料: 標準  $\delta$ -アミノレブリン酸は、1000 mg/l の原液を脱イオン水で調製し、0.6 %  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  にて希釈調製する。

尿は、1000 G, 10 min の遠心で除タンパクする。

データ収集時間: 9 min

試料注入間隔: 10 min

## プレカラム誘導体化反応

反応液: (C) 4 g/l  $\text{NaCl}$  in  $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COCH}_3 / \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} / \text{H}_2\text{O} = 15 / 10 / 75$ (D) 9.3 %  $\text{HCHO}$  (試薬特級 37 % 含有液を脱イオン水で 4 倍希釈)

反応液 C 5 ml  
↓  
反応液 D 0.45 ml

試料 20  $\mu\text{l}$   $\longrightarrow$  100 $^\circ\text{C}$ , 15 min (Hot Dry Bath)  $\longrightarrow$  水冷  $\longrightarrow$  5  $\mu\text{l}$  注入

## 装置構成

CCPM- II, FS-8020, CO-8020, AS-8020, SD-8022, スタティックミキサ(A), SC-8020

## 参考文献

- (1) Y. ENDO, A. OKAYAMA, G. ENDO, T. UEDA, N. NAKAZONO, S. HORIGUCHI: Jpn. J. Ind. Health, **36**, 49 (1994)
- (2) A. OKAYAMA: 労働衛生管理, Vol. 3, No. 4, 45 (1992)

