

固相誘導体化を用いた低濃度のアミノ酸および有機酸と高濃度の糖類を含む試料の一斉分析法の開発

(株式会社アイスティサイエンス¹・和歌山県工業技術センター²・阪大院工 先端生命工学専攻³)

さ さ の りょういち おおさきしゅうすけ ふるのまさひろ ふくさきいいちろう
○佐々野僚一¹・大崎秀介²・古野正浩³・福崎英一郎³

Development of simultaneous analysis with in-SPE derivatization method for low concentrated amino acid and organic acid and high concentrated sugar.

(AISTI Science Co.¹, Wakayama prefecture², Dept Biotech, Grad Sch Eng, Osaka Univ.³)

○R.Sasano¹, S.Osaki², M.Furuno³, E.Fukusaki³

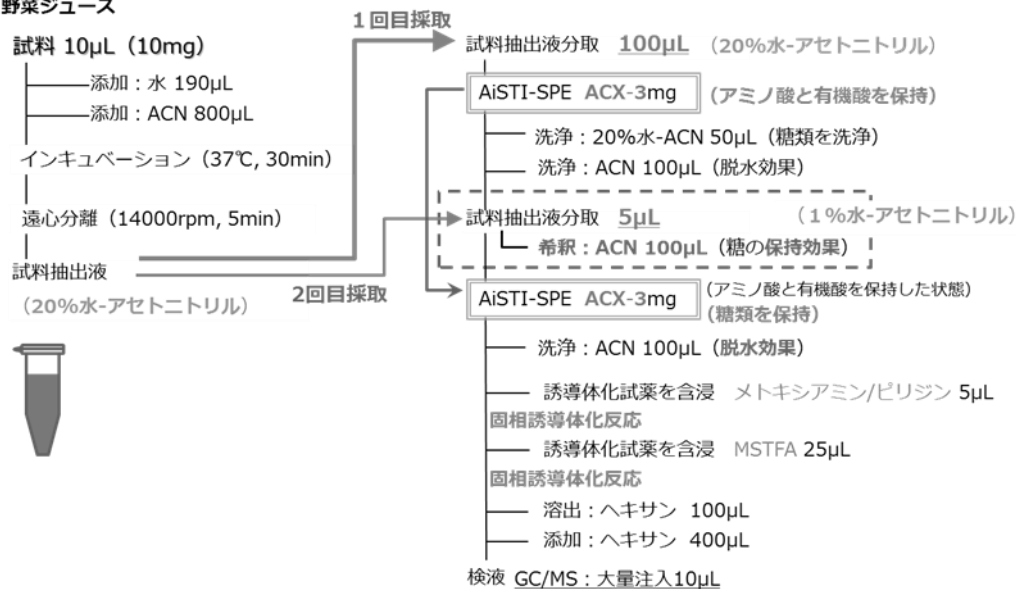
Short Abstract: When the peak of high concentrated sugar is appeared in the chromatogram, it is also difficult to measure both low concentrated amino acids and organic acids. Therefore, by using in-SPE derivatization method technology. At the first sample load, we kept the amino acid and organic acid in SPE cartridge, and the second sample load, less than 1/20 sample amount load into the same SPE cartridge enable to catch the sugar with in the same dynamic range. Thus, we have achieved to analyze for amino acid, organic acid and sugar in simultaneously.

Keywords: Amino acid, Organic acid, Sugar, In-SPE derivatization

緒言: 一般的な GCMS 測定対象のメタボロミクスにおいては、アミノ酸、有機酸、糖類を一斉に分析する必要がある。一方、ヒトなどの生体由来のサンプルや食品由来のサンプルなどには多数の成分が様々な濃度範囲で含有している。しかし、高濃度の糖類が存在すると、そのピークのリテンションタイムに近接する低濃度のアミノ酸や有機酸の測定が困難になるという問題が生じている。また、高濃度の糖類が大量に GCMS に導入されると、分離カラムの液相の保持可能な量を超え、目的成分も含めてリテンションタイムが大きくなることとあり、解析が困難になることがある。さらに、高濃度の糖類が MS に導入されることにより、MS が汚れやすくなり、感度低下につながる。このように低濃度の成分と高濃度の成分が混在するサンプルの一斉分析が難しい要因となっている。

実験: 固相抽出の技術を応用し、第 1 回目の試料負荷では糖類は固相に保持させず、アミノ酸と有機酸を固相に保持させておき、第 2 回目の試料負荷では先の試料量の 1/20 以下にして先の固相に糖類を保持させ、アセトニトリルで洗浄することで脱水を行い、アミノ酸と有機酸と糖質が固相に保持された状態で誘導体化試薬を固相に添加含浸させて誘導体化し、その後、一斉にヘキサンで溶出して、大量注入法で 10 μ L 注入し、質量分析装置で SCAN にて測定した。

野菜ジュース



結果と考察: 2段階に分けて試料量および溶媒を調製して固相に負荷することで、低濃度のアミノ酸および有機酸を多く固相に保持させ、高濃度の糖類を同じ固相に少なく保持させることができた。その結果、得られたクロマトグラムは同じダイナミックレンジ内でそれぞれのピーク強度を得ることができた。これにより、GCMS に負荷を与えることなく、低濃度のアミノ酸および有機酸と高濃度の糖類を含む試料の一斉分析が可能になることがわかった。