

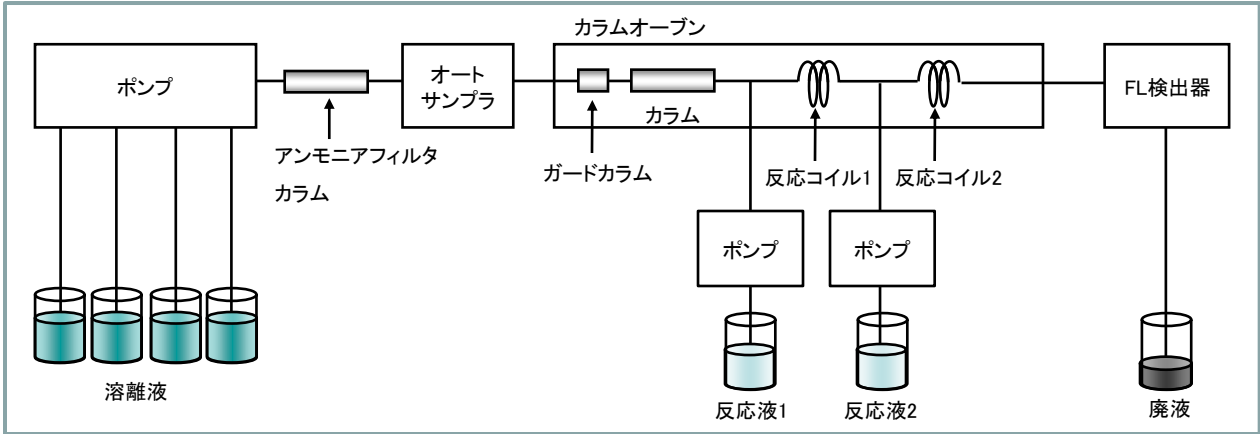
AS/LC-010では日立アミノ酸分析システム（OPAポストカラム法）として、タンパク質やペプチドを構成するアミノ酸約20種類を対象とした「標準分析法」を紹介しました。今回は遊離アミノ酸約40成分を対象とした「生体液分析法」を紹介いたします。標準分析法とは使用するカラムと溶離液が異なります。誘導体化試薬には、オルトフタルアルデヒド（OPA^(*)）を用いています。OPAは蛍光誘導体化試薬で、感度が高いことが特長です。その半面、試薬の寿命が短く、使用する水の純度にも気を配る必要があります。

(*) OPA：オルトフタルアルデヒド（o-phthalaldehyde）

◆アミノ酸分析法の種類と特徴◆

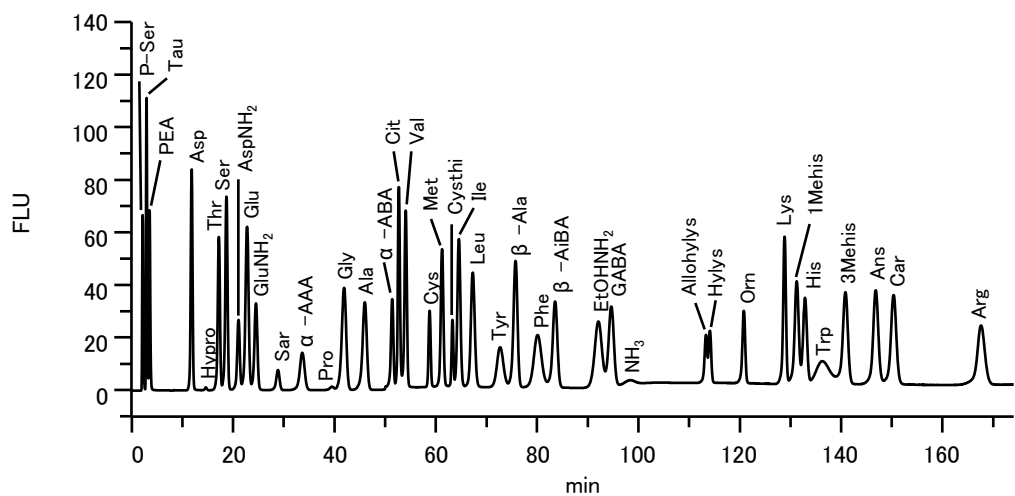
誘導体化試薬 分析法（測定対象）	NIN（ニンヒドリン） ・可視吸収検出 ・再現性良好、ルーチン分析向き ・試薬の寿命長い	OPA（オルトフタルアルデヒド） ・蛍光検出 ・高感度 ・試薬の寿命が短い ・水の純度に注意が必要
標準分析法 （タンパク質加水分解アミノ酸17成分対象）	NIN標準分析法	OPA標準分析法
生体液分析法 （遊離アミノ酸40成分対象）	NIN生体液分析法	OPA生体液分析法 ・タンパク質加水分解アミノ酸17成分 ・グルタミン、アスパラギン、タウリンなど

■アミノ酸分析システム（OPAポストカラム法）



【流路図】

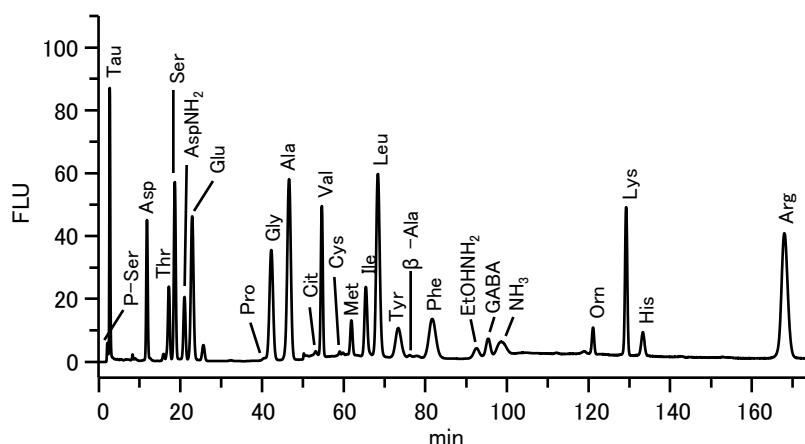
■アミノ酸標準試料測定例



【アミノ酸標準試料測定例（500 pmol/20 μ L）】

<生体液分析法測定条件>			
カラム	: #2622PF 4.6 mm I.D. × 60 mm	カラム温度	: 38 °C
アンモニアフィルタカラム	: #2650L 4.6 mm I.D. × 60 mm	反応液	: 2液（ホウ酸緩衝液-次亜塩素酸Na）（OPA溶液）
ガードカラム	: #2619 4.0 mm I.D. × 5 mm	反応液流量	: 0.55 mL/min、0.35 mL/min
溶離液	: 4液（クエン酸Li 緩衝液3液、再生液1液）	反応温度	: 38 °C
流量	: 0.35 mL/min	検出波長	: FL Ex 340 nm、Em 450 nm
		注入量	: 20 μ L

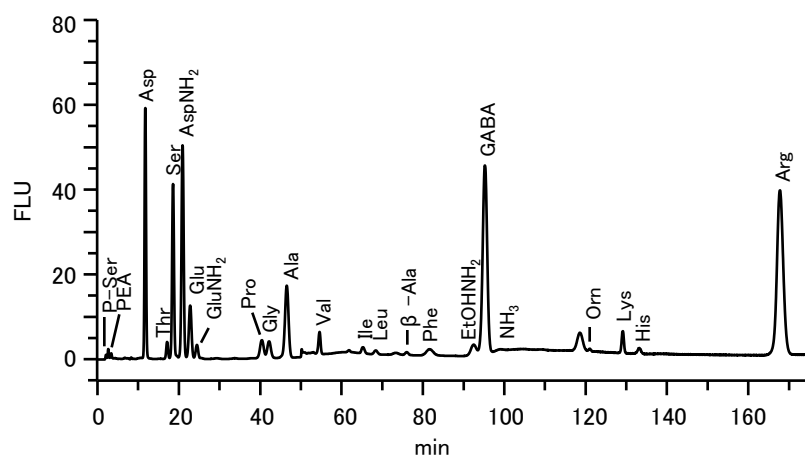
■食品中のアミノ酸測定例



【米酢の測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

＜試料の前処理＞

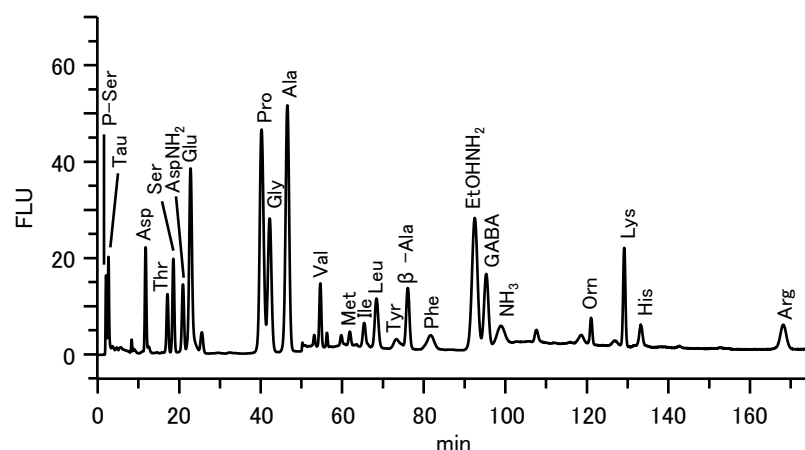
試料 米酢
 | ← 0.02 mol/L 塩酸で20倍希釈
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m
 |
 分析試料 (20 μ L 注入)



【オレンジジュースの測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

＜試料の前処理＞

試料 オレンジジュース 1 mL
 | ← 5 % トリクロロ酢酸 1 mL
 遠心分離 10,000 rpm、10 min
 |
 上清採取
 | ← 0.02 mol/L 塩酸で50倍希釈
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m
 |
 分析試料 (20 μ L 注入)



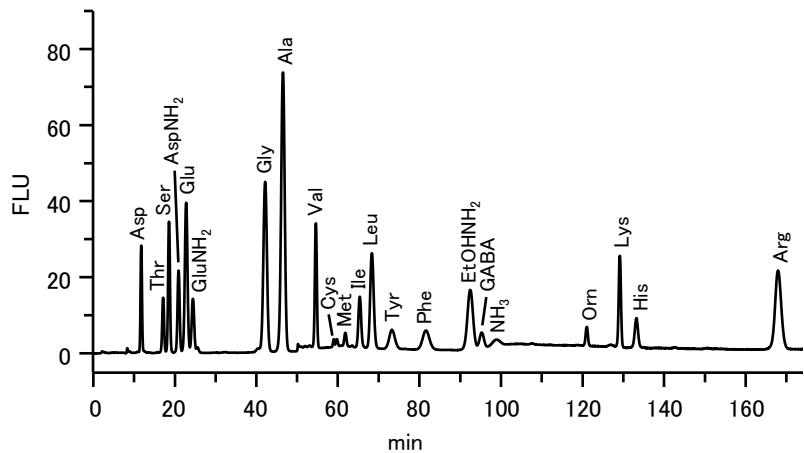
【赤ワインの測定例 (前処理後 20 μ L 注入)】

＜試料の前処理＞

試料 赤ワイン 1 mL
 | ← 5 % トリクロロ酢酸 1 mL
 遠心分離 10,000 rpm、10 min
 |
 上清採取
 | ← 純水で5倍希釈
 ろ過 Pore Size 0.2 μ m
 |
 分析試料 (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。

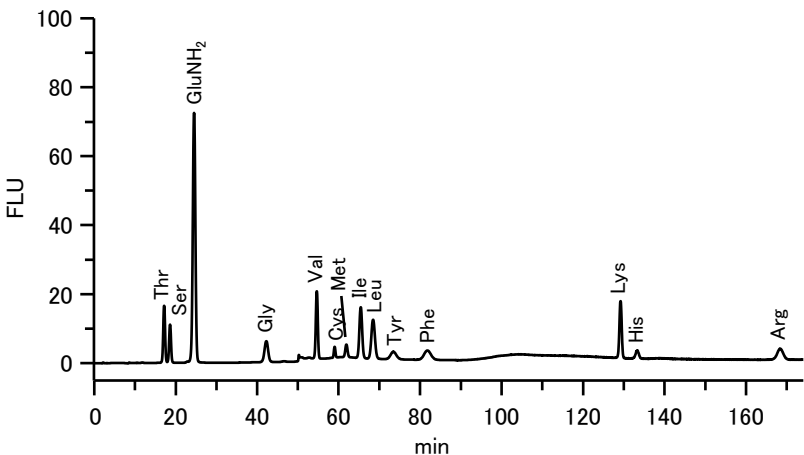
■食品中のアミノ酸測定例



【吟醸酒の測定例（前処理後 20 μ L 注入）】

＜試料の前処理＞
試料 吟醸酒 1 mL
| ← 5 %トリクロロ酢酸 1 mL
遠心分離 10,000 rpm、10 min
|
上清採取
| ← 0.02 mol/L 塩酸で20倍希釈
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）10 mg
| ← 純水 10 mL
1 mL 採取
| ← 5 %トリクロロ酢酸 1 mL
遠心分離 10,000 rpm、10 min
|
上清採取
| ← 0.02 mol/L 塩酸で5倍希釈
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】

各ピークの成分名		各ピークの成分名		各ピークの成分名		各ピークの成分名	
P-Ser	Phosphoserine	Sar	Sarcosine	Cysthi	Cystathionine	Hylys	Hydroxylysine
Tau	Taurine	α -AAA	α -Aminoadipic 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-butyric acid	Phe	Phenylalanine	Trp	Tryptophan
Ser	Serine	Cit	Citrulline	β -AiBA	β -Amino iso butyric acid	3Mehis	3-Methylhistidine
AspNH ₂	Asparagine	Val	Valine	EtOHNH ₂	Ethanolamine	Ans	Anserine
Glu	Glutamic acid	Cys	Cystine	GABA	γ -Amino-n-butyric acid	Car	Carnosine
GluNH ₂	Glutamine	Met	Methionine	AlloHylys	Allohydroxylysine	Arg	Arginine

本条件では、反応温度が低いため、Hypro、Proの感度が十分ではありません。また、すべての成分を完全に分離することはできません。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×3、5210 オートサンプラ（サーモスタット付）、5310 カラムオープン、5440 蛍光検出器、アミノ酸OPA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。