

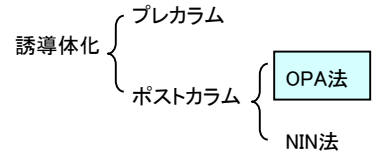
アミノ酸は、食品、医薬品、化粧品、生体中など幅広い分野で分析されている成分です。アミノ酸を分析する際は一般的に誘導体化させる必要があります。誘導体化法には主に、カラム分離前に誘導体化をおこなうプレカラム誘導体化法と、カラムで成分を分離した後に誘導体化を行うポストカラム誘導体化法があります。

ポストカラム法は、プレカラム誘導体化法と比べ、夾雑成分の影響により誘導体化効率が変わることが少なく、広範囲のサンプルにおいて定量性・再現性の良い分析を行うことができます。アミノ酸のポストカラム法には代表的にオルトフタルアルデヒド(OPA)法とニンヒドリン(NIN)法があり、それぞれ異なる特徴を持ちます。今回は2つのポストカラム分析法を比較しましたので、目的に合った分析法の選択にお役立てください。

## オルトフタルアルデヒド(OPA)法

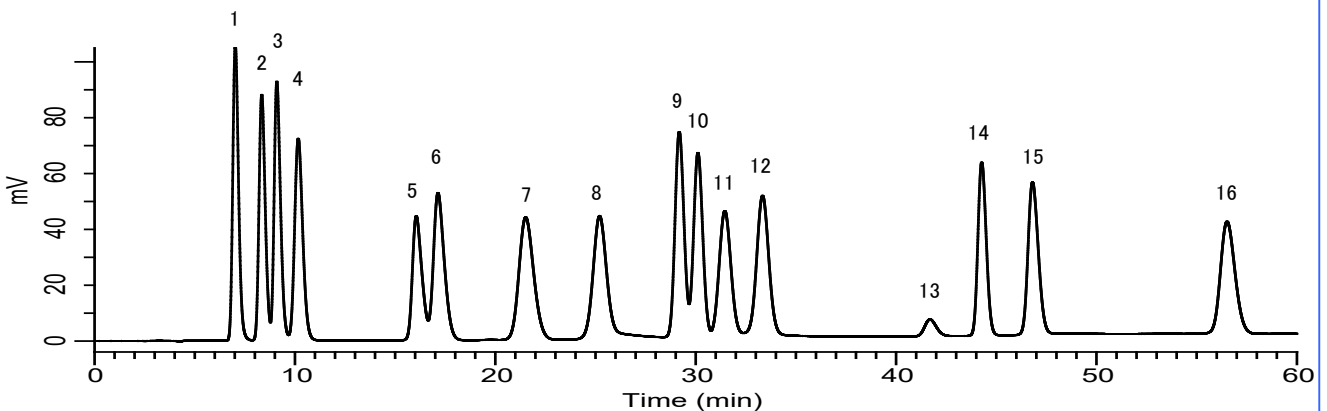
アミノ酸を分析カラムで分離後、オルトフタルアルデヒドを含む反応液でアミノ酸を蛍光誘導体化し、高感度に検出することが可能です。

### 誘導体化法の種類



- |                        |                     |                         |                                |
|------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 1. Aspartic acid (Asp) | 5. Glycine (Gly)    | 9. Isoleucine (Ile)     | 13. Ammonia (NH <sub>3</sub> ) |
| 2. Threonine (Thr)     | 6. Alanine (Ala)    | 10. Leucine (Leu)       | 14. Lysine (Lys)               |
| 3. Serine (Ser)        | 7. Valine (Val)     | 11. Tyrosine (Tyr)      | 15. Histidine (His)            |
| 4. Glutamic acid (Glu) | 8. Methionine (Met) | 12. Phenylalanine (Phe) | 16. Arginine (Arg)             |

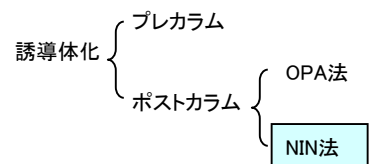
濃度: 各500 pmol/10 μL



## ニンヒドリン(NIN)法

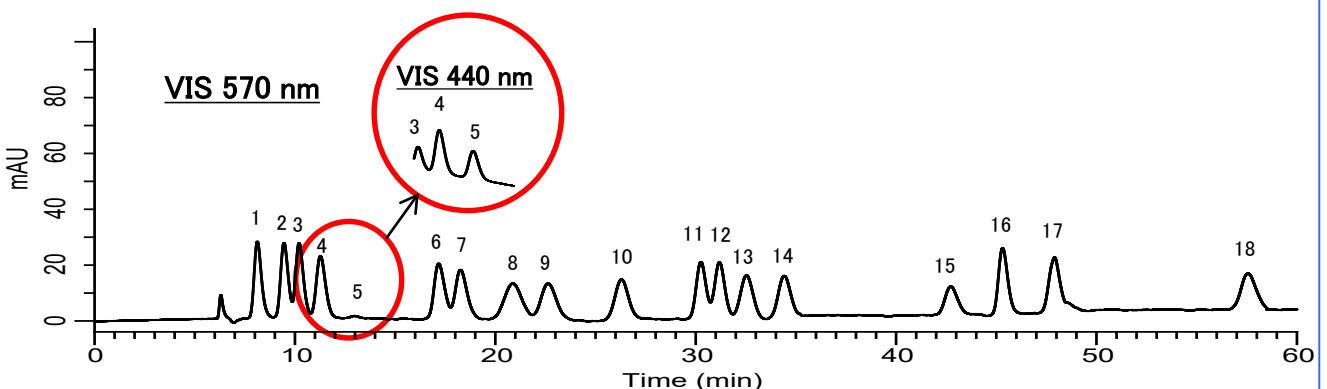
ニンヒドリン溶液は第1級アミンと反応し紫色を呈し、第2級アミンと反応して黄色を呈します。紫色または黄色の波長の吸光によって検出するのがニンヒドリン(NIN)法です。試薬が常温で安定しているため、良好な再現性が得られます。2波長同時測定が可能なUV7751を使用することにより、第1級アミンと第2級アミン両方の十分な感度を得ることができます。

### 誘導体化法の種類



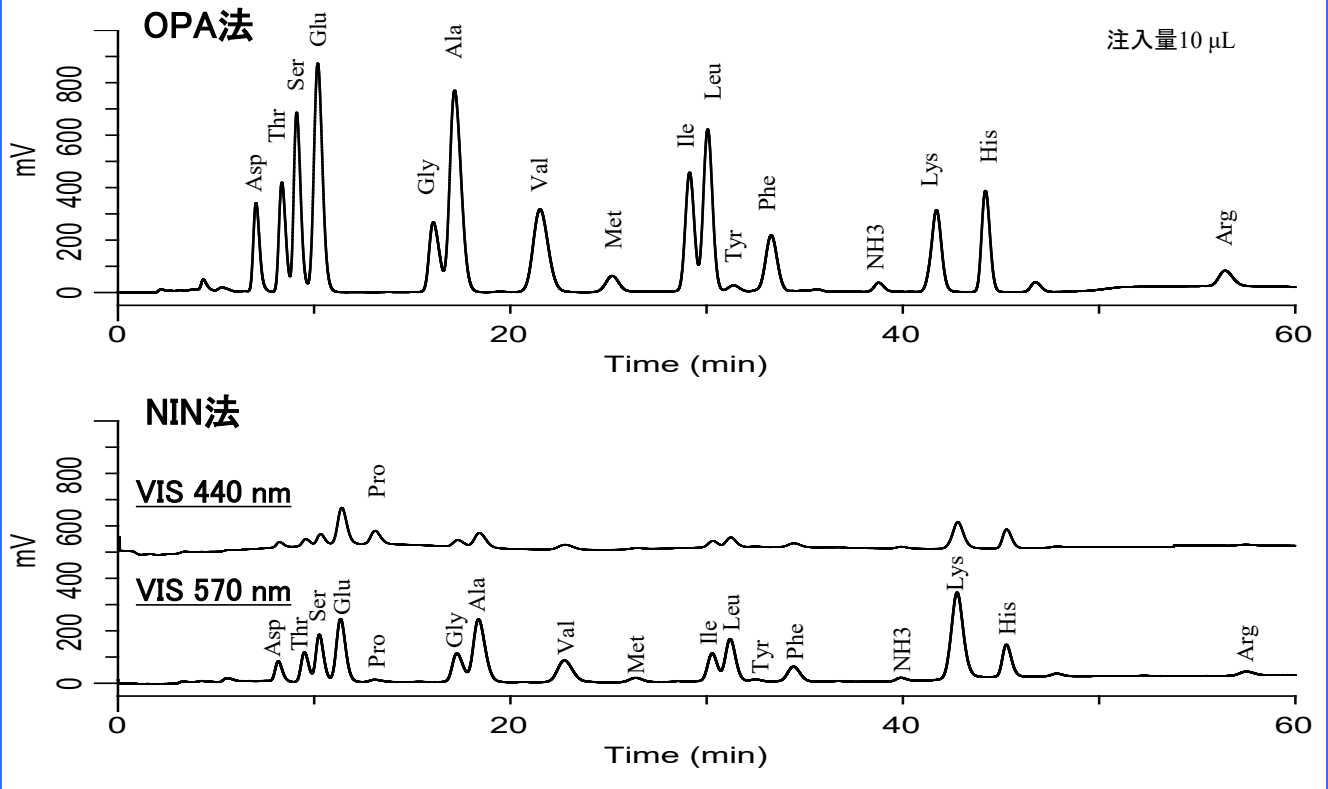
- |                        |                  |                      |                                |                     |
|------------------------|------------------|----------------------|--------------------------------|---------------------|
| 1. Aspartic acid (Asp) | 5. Proline (Pro) | 9. Valine (Val)      | 13. Tyrosine (Tyr)             | 17. Histidine (His) |
| 2. Threonine (Thr)     | 6. Glycine (Gly) | 10. Methionine (Met) | 14. Phenylalanine (Phe)        | 18. Arginine (Arg)  |
| 3. Serine (Ser)        | 7. Alanine (Ala) | 11. Isoleucine (Ile) | 15. Ammonia (NH <sub>3</sub> ) |                     |
| 4. Glutamic acid (Glu) | 8. Cystine (Cys) | 12. Leucine (Leu)    | 16. Lysine (Lys)               |                     |

濃度: 各500 pmol/10 μL



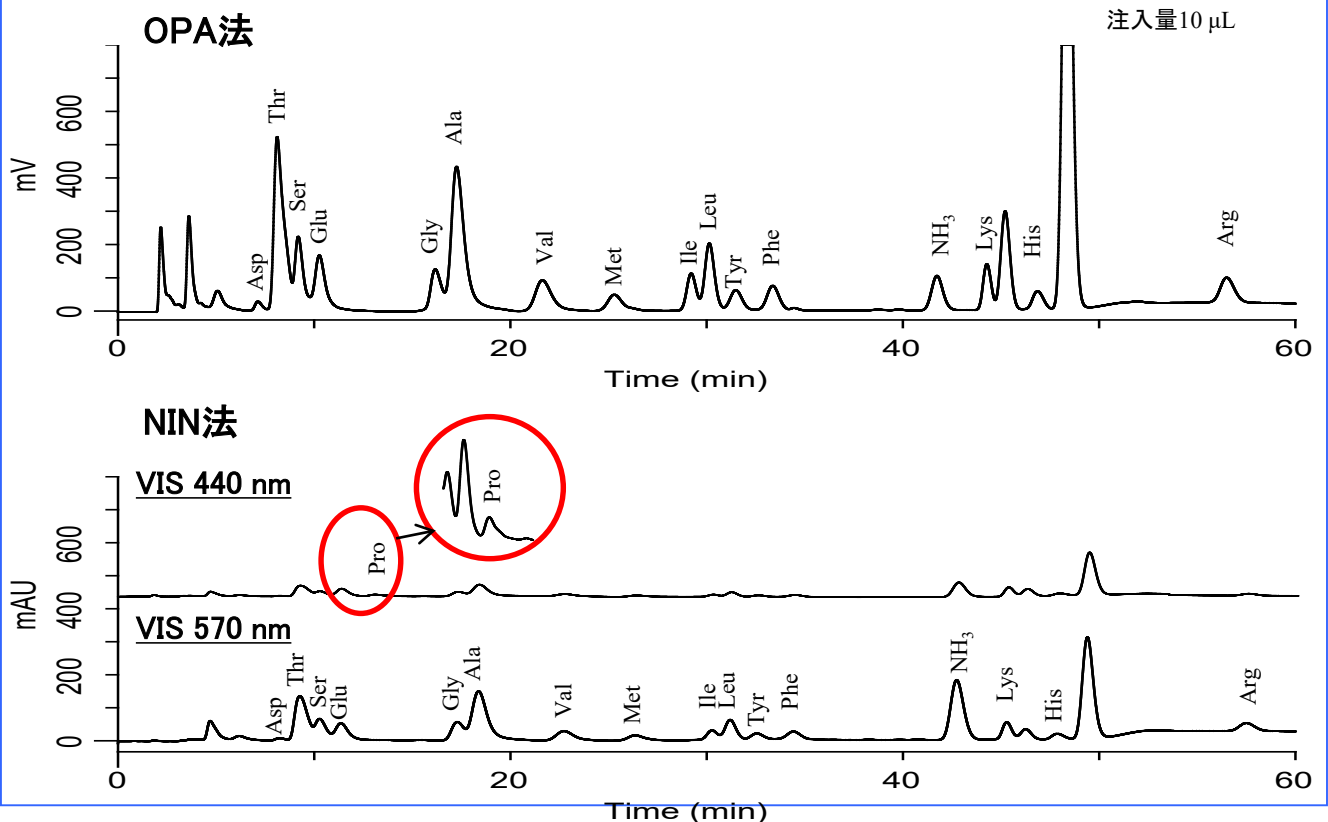
醤油中アミノ酸

前処理法: 醤油を水で10倍希釈し、GLクロマトディスク(水系25A, 0.45 μm)でフィルトレーション



牛肉中アミノ酸

前処理法: 牛肉に5%スルホサリチル酸9 mL添加後遠心し、GLクロマトディスク(水系25A, 0.45 μm)でフィルトレーション

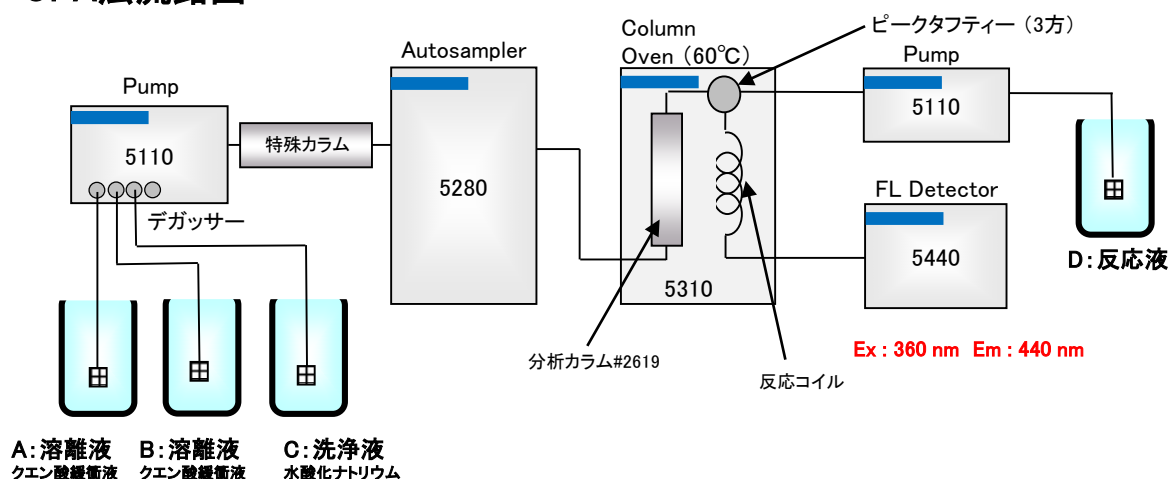


	OPA法	NIN法
長所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・高感度</li> <li>・高選択性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ニンヒドリン試薬が常温で安定</li> <li>・再現性が良い</li> <li>・2波長同時測定により、第2級アミンの感度が向上</li> </ul>
短所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・OPA試薬の寿命が短い</li> <li>・水の純度に注意が必要</li> <li>・第2級アミンの測定には別途測定法が必要*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・反応温度が高温</li> <li>・感度が低い</li> </ul>

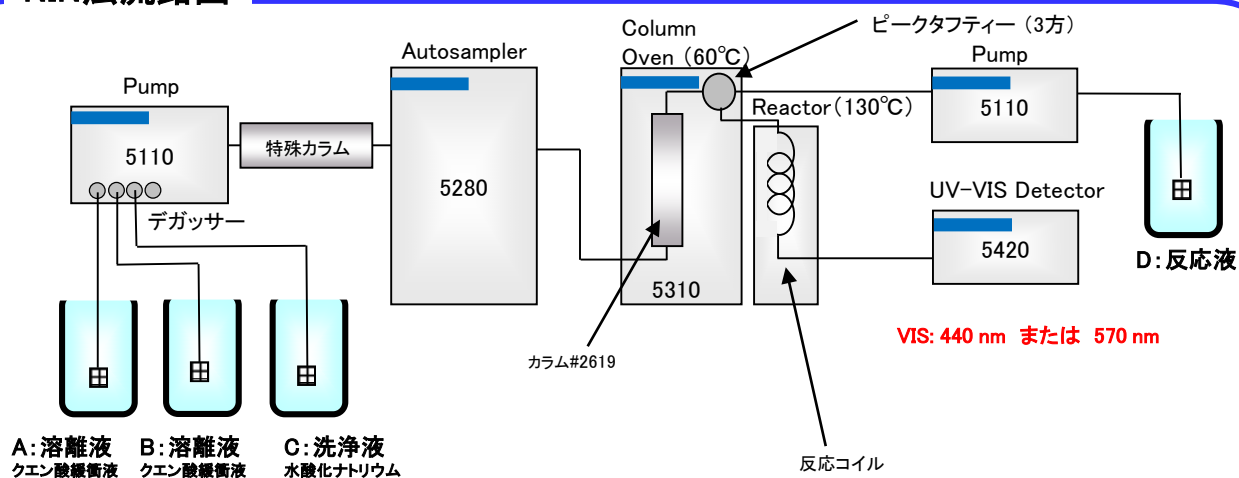
\* 送液ポンプ1台を追加し、次亜塩素酸を含む溶液を流すことにより測定可能です。  
システム例は別途お問い合わせください。

2つの分析法で使用する装置構成図をそれぞれ示しました。OPA法では蛍光検出器を使用しますが、NIN法ではUV-VIS検出器を使用します。また、OPA法では分析カラムと反応コイルを同じオーブン内に設置できますが、NIN法では反应用到に反応槽などを用意する必要があります。

### OPA法流路図



### NIN法流路図



## 応用例

★血圧降下作用のある $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)も測定が可能です。

## プレカラム誘導体化法による分析例

★NBD-Fを用いたアミノ酸分析例をイナートサーチLL008でご紹介しています。弊社HPよりご覧ください。

## 使用装置

### カラム

分析カラム: # 2619 150 × 4.0 mm i.d. P/N:890-5212

特殊カラム: 120 × 4.0 mm i.d. P/N:890-5213

### フィルター

#### GLクロマトディスク

水系 25A 0.45  $\mu$ m フィルター  
Cat. No. 5040-28512

## HPLC装置：日立Chromasterシステム

### アミノ酸NIN分析システム

番号	品名	型番
1	送液ポンプ	5110
2	オートサンブラ	5280
3	カラムオープン	5310
4	反応オープン	5510
5	反応ポンプ	5110
6	UV-VIS検出器	5420
7	オーガナイザ	

### アミノ酸OPA分析システム

番号	品名	型番
1	送液ポンプ	5110
2	オートサンブラ	5280
3	カラムオープン	5310
4	オーガナイザ	
5,6	反応ポンプ×2	5110
7	蛍光検出器	5440AD



**ジーエルサイエンス株式会社**

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F  
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお薦めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ [info@glsc.co.jp](mailto:info@glsc.co.jp)



【アプリケーションの検索はこちら】

[https://www.glsc.co.jp/technique/app/app\\_search.html](https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html)