

## アミノ酸分析用カラムを用いた非誘導体化アミノ酸の分析

### 分析の特徴

- アミノ酸分析専用カラムを用い、順相・イオン交換クロマトグラフで非誘導体化アミノ酸を分離し、精密質量を測定した。
- アミノ酸分析専用カラムメーカー推奨の条件よりも、溶離液のギ酸アンモニウムを低く抑え、LC分離を行った。
- 41種類のアミノ酸のうち28種類を質量分析計で検出することができた。

### 協力

名古屋大学生命農学研究科  
栄養生化学研究室

北浦靖之講師

### 参考文献

1. Anal Sci (2016) 32:893-900.
2. Mass Spectrom Lett (2018) 9:30-36.
3. J Chromatogr B (2019) 1124:72-81.

### 問い合わせ先

物質・分析技術支援室

担当職員 小川直也、河合ゆかり

✉:ms-support@agr.nagoya-u.ac.jp

### 概要

アミノ酸分析はHPLCで分離分析する前後に発色、または、蛍光試薬で誘導体化して検出する手法が一般的である。しかし、誘導体化反応が定量的に進行しない、あるいは、誘導体化アミノ酸の安定性が低いことが問題になる場合には、非誘導体化アミノ酸を直接LC-MSで分析する手法が用いられる<sup>1-3</sup>。

Imtakt社の非誘導体化アミノ酸専用カラムは、シリカを基材とした順相・イオン交換カラム。推奨のLC分離条件は、溶離液A 100%アセトニトリル / 0.1%ギ酸と溶離液B 100mMギ酸アンモニウムの濃度勾配である。本分析は高濃度のアンモニウムイオンによる0.2%ギ酸アンモニウム質量分析器内部の汚染を避けるためにギ酸アンモニウム濃度が低い条件で分析を行った。

41種類のアミノ酸混合試料をLCで分離し、ESI法でイオン化して質量分析を行った。その結果、28種類のアミノ酸を質量分析で検出することができた。



図1. Imtakt社 Intrada Amino Acidカラム

## アミノ酸分析専用カラムを用いた非誘導体化アミノ酸の分析

## アミノ酸標準試料

富士フィルム和光AN-2、B型、グルタミン、アスパラギン、トリプトファンを各濃度が各 1  $\mu\text{M}$ になるよう混合した試料液を測定当たり1  $\mu\text{L}$  使用した。

## LC分析

- Imtakt Amino Acid  
#WAA34 順相カラム  
(粒径3.0  $\mu\text{m}$ , 3.0 mm  $\times$  100 mm)
- カラムオープン : 50°C
- 流速 : 600  $\mu\text{L} / \text{min}$
- 移動相 A : 5 mM ギ酸アンモニウム
- 移動相 B : アセトニトリル
- 濃度勾配 80 % B  $\times$  4 min  
80  $\rightarrow$  0 % B  $\times$  10 min  
0 % B  $\times$  6 min

## MS条件

- イオン化法 : ESI 法
- 測定モード : ポジティブ
- スプレー電圧 : 3500 V
- 脱溶媒温度 350°C
- MSフルスキャン分解能 30,000
- フルスキャン範囲 50 - 400  $m/z$

## 結果

41種類のアミノ酸のうち、28種類の  $[M+H]^+$ イオンが検出された。各アミノ酸 1 pmolをで得られたEICのピーク強度は  $1.0\text{E}6 \sim 2.0\text{E}7$ であった(図2)。本分析では塩基性アミノ酸Lys、Arg、Hisが検出できなかった。

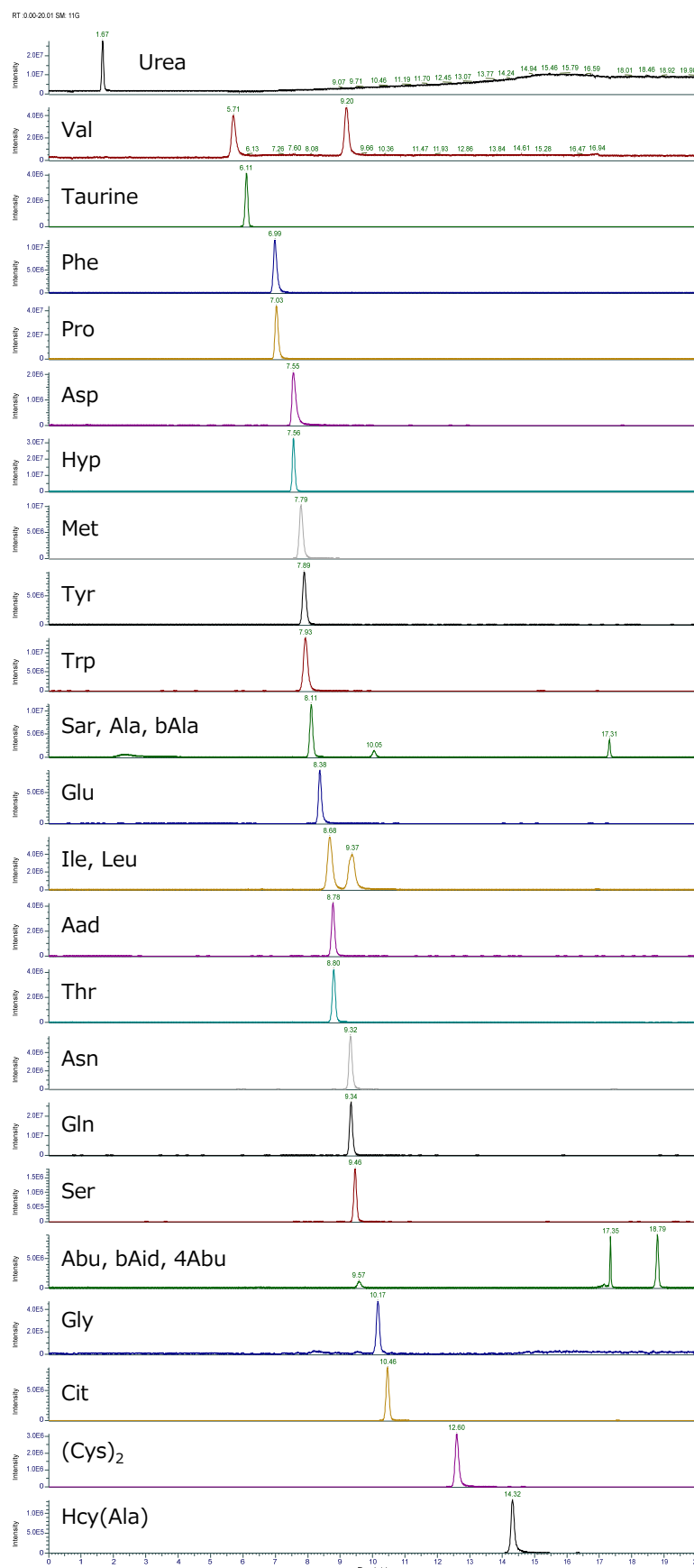


図2. 各アミノ酸の抽出イオンクロマトグラム