

γアミノ酪酸 (GABA) は、脳卒中、心臓病、糖尿病、更年期障害、痴呆症に効能があるといわれており、分析の必要性が高まっている物質の一つです。GABAは構造上の特性からオルトフタルアルデヒド (OPA、アミノ基と特異的に結合) を用いた蛍光誘導体化により、HPLCを用いて高感度かつ選択的に分析することができます。今回は、GABAとアミノ酸17成分の同時分析方法をご紹介します。

— 分析方法の特徴 —

1. 高感度に分析可能

→ 一般的なアミノ酸分析法 (ニンヒドリン法、衛生試験法注解) に比べ、約 70 倍の感度を持ちます。

2. 再現性・定量性が良い

→ ポストカラム法を用いることで、反応の際に夾雑物の影響を受けにくくなります。そのため、誘導体化法において重要である再現性・定量性を保つことができ、高精度に分析可能です。

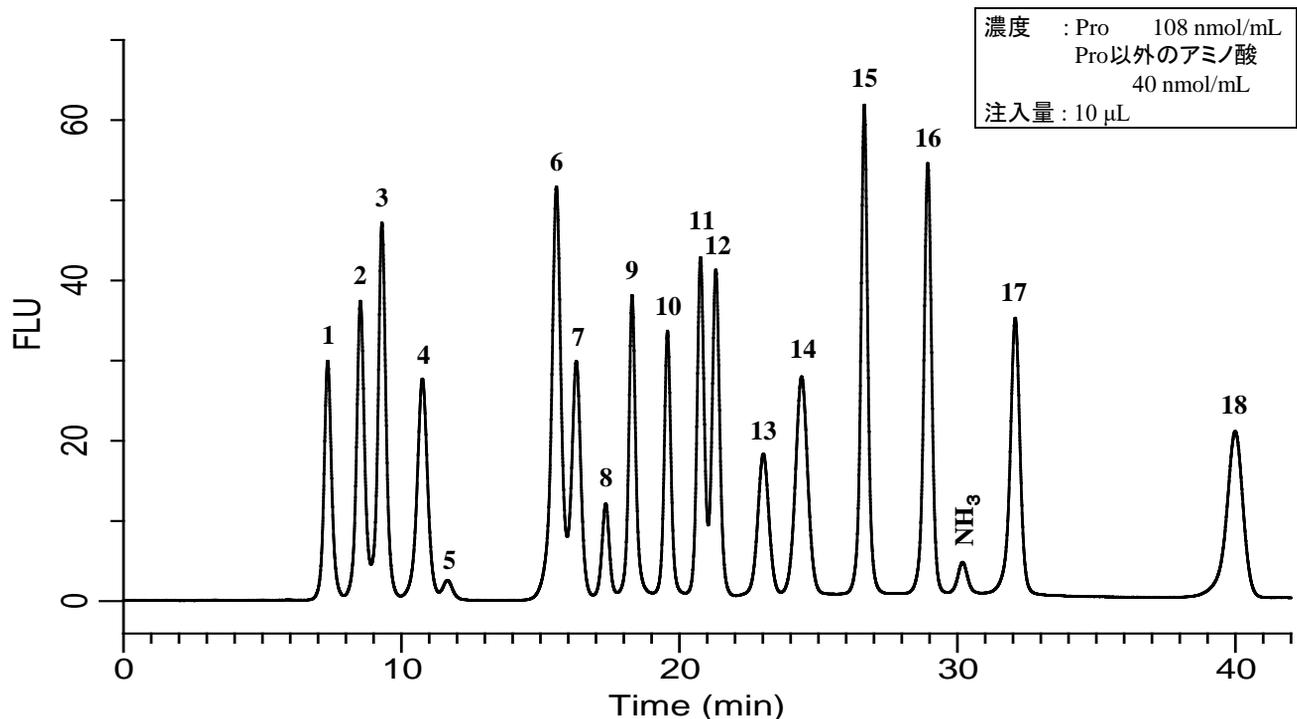
3. 選択性が高い

→ 反応選択性が高い蛍光誘導体化試薬を用いるため、簡単な前処理で夾雑物の影響を受けずに分析できます。

分析時間

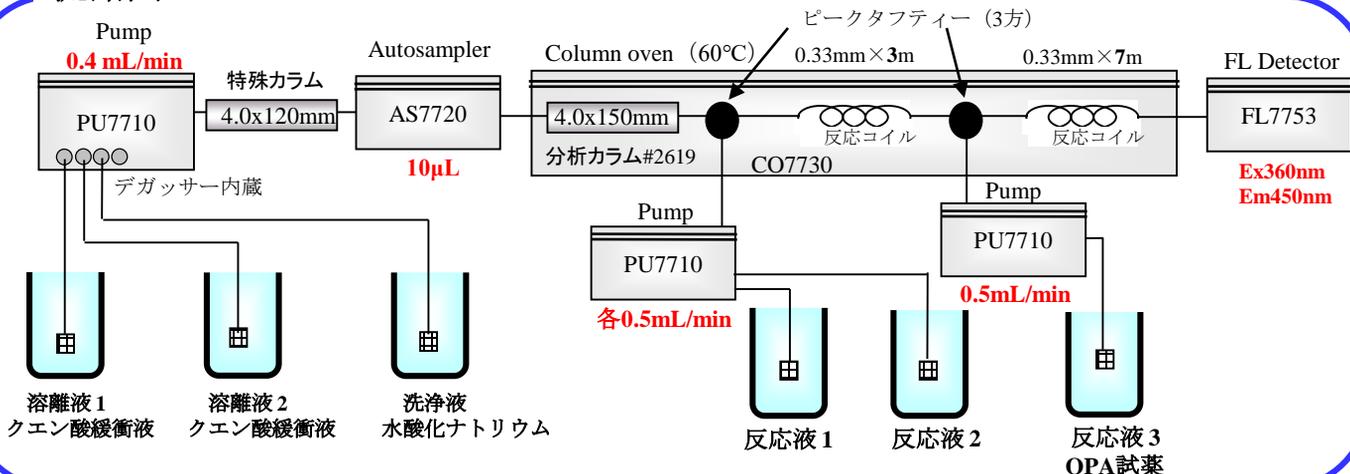
分析時間 42分
カラム平衡化を含めた分析時間 80分

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



GABAとアミノ酸17成分の標準試料分析例 (NH₃は分析対象としません。)

流路図

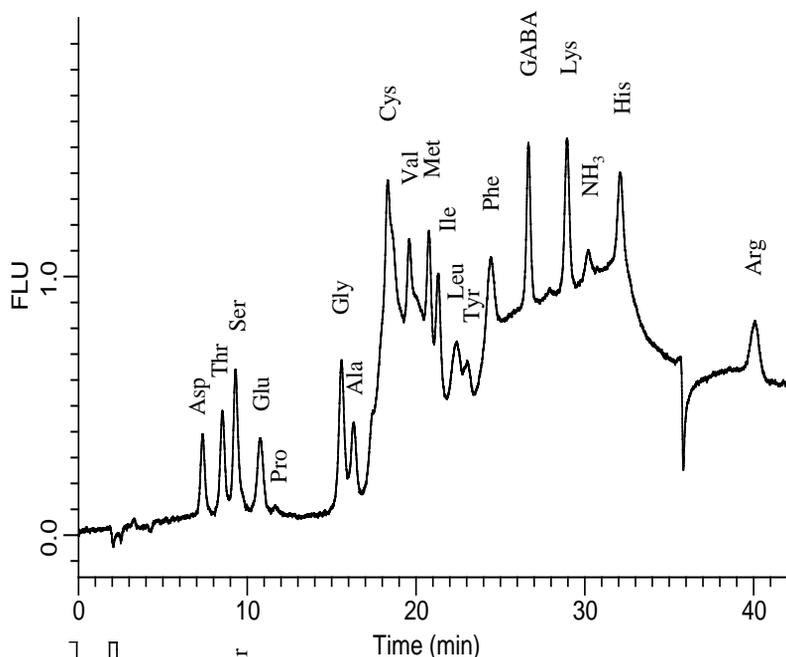


アプリケーション

再現性と定量下限

前ページのクロマトグラムにおける保持時間と面積値についてのC.V.値 (n=3)は、各々0.5 %以内、1.5 %以内と良好な値を示しました。

右図は、Proの濃度が1.08 nmol/mL、Pro以外の成分の濃度を0.4 nmol/mLに調整した標準試料の分析例です(注入量 10 μL)。本法を用いた実質的な定量には、これらの濃度が必要であると考えられます。

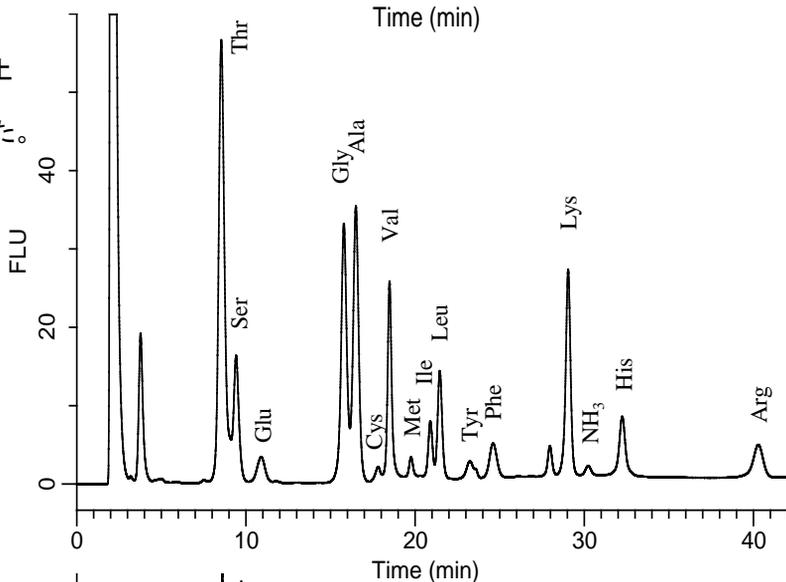
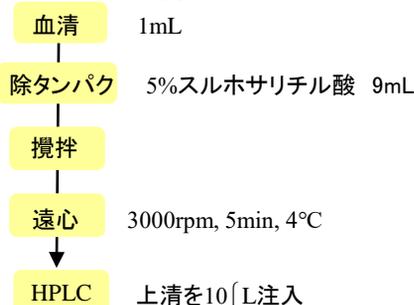


ヒト血清中の遊離アミノ酸分析

右図は、ヒト血清中の遊離アミノ酸分析例です。血清を酸性溶媒で除タンパク処理後、遠心処理し、上清を用いて分析を行いました。

本法ではヒト血清中にGABAは検出されませんでした。

前処理法

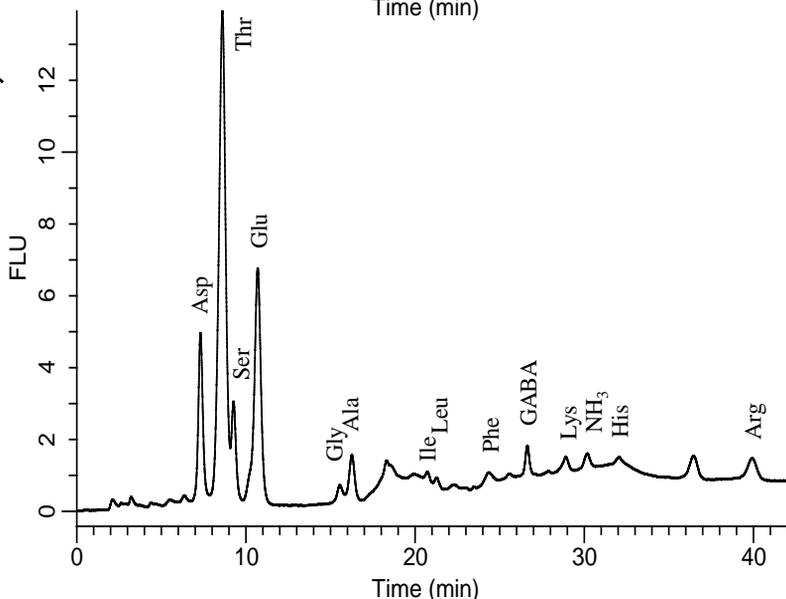
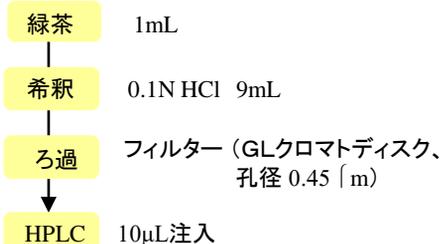


緑茶中のアミノ酸分析

右図は、緑茶中のアミノ酸分析例です。

緑茶を酸性溶媒で10倍希釈後、フィルターでろ過し、分析を行いました。

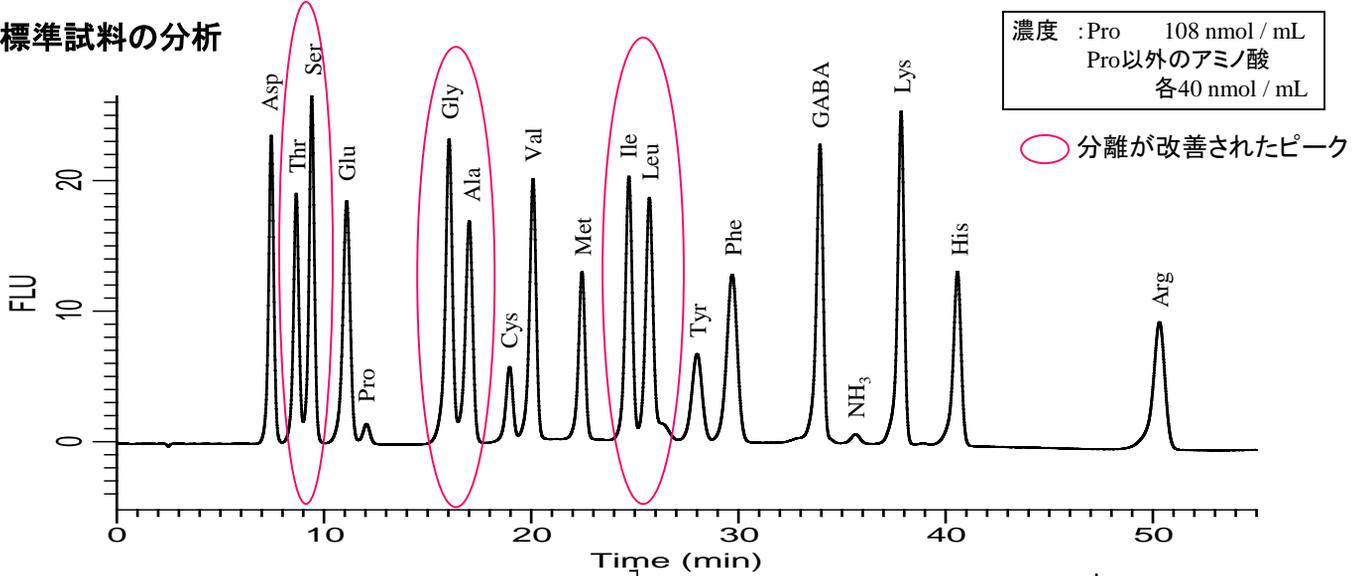
前処理法



分離の改善

下図は、標準物質の分離を改善した分析例です。溶離液のグラジエント勾配を変化させ、ThrとSer、GlyとAla、IleとLeuの相互分離の改善を行いました。分析時間は52分（カラム平衡化も含めた分析時間は90分）になります。

標準試料の分析

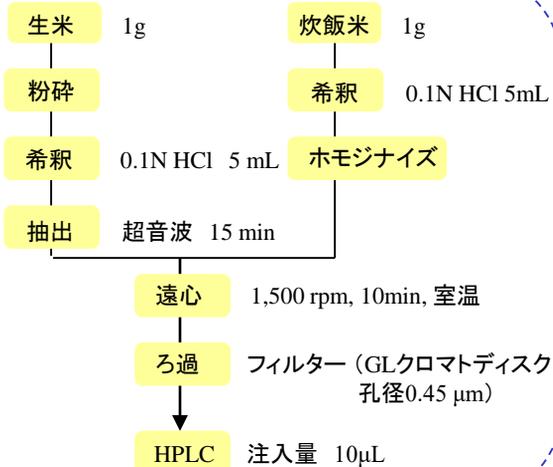


米中のアミノ酸分析

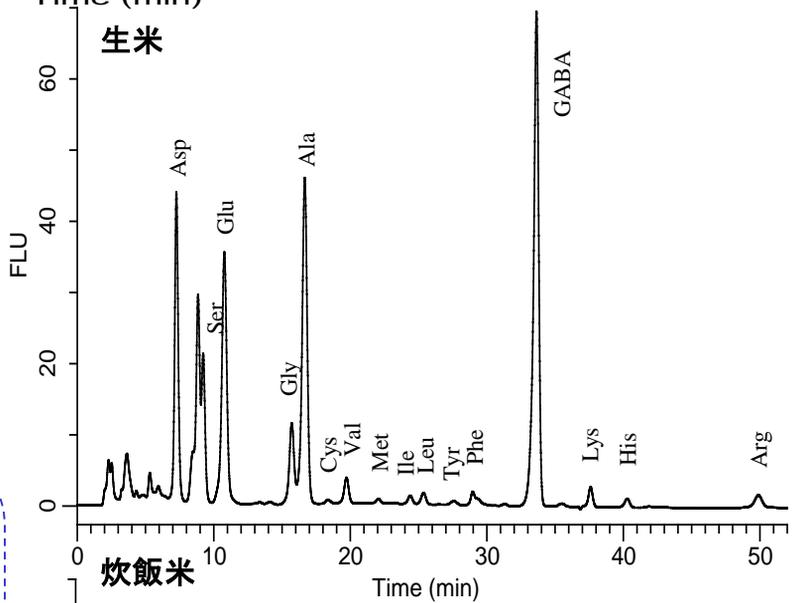
生米、炊飯米中のアミノ酸分析を行いました。生米は超音波処理、炊飯米はホモジナイズ処理後、各々遠心処理し、上清をフィルターでろ過後分析を行いました。

生米100g中のGABAは6.4mg、炊飯100g中のGABAは1.8mg検出されました。

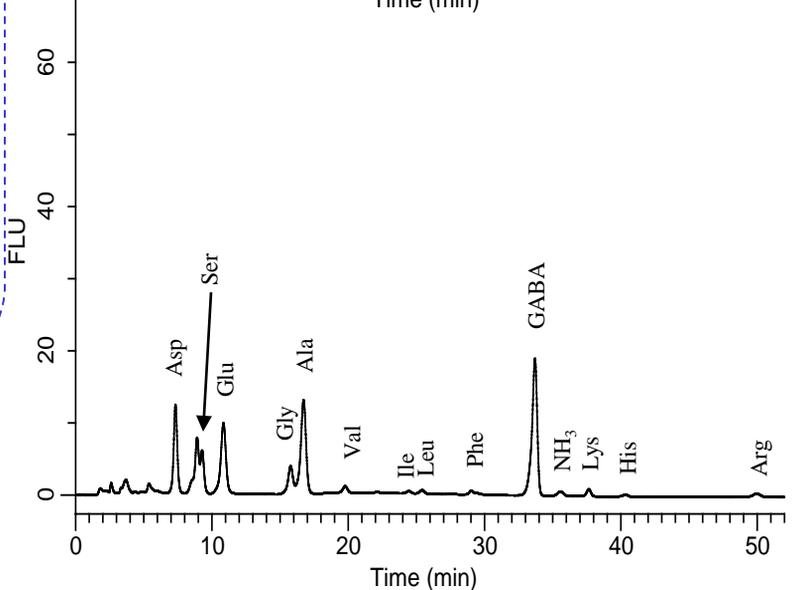
前処理法



生米



炊飯米



応用例

★ポリアミンやグアニジン化合物等も本システムで測定可能です。その際は各種溶離液濃度での最適化が必要となります。詳細につきましてはカスタマーサポートセンターまでお問い合わせください。

ポリアミン

・ヒスタミン等アレルギー原因物質
(例)プトレシン、カタペリン、ヒスタミン、
アクマチン

グアニジン化合物

・一部癌との関連が示唆されている化合物
(例)タオロシン

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 孔径 0.45 μm
Cat. No. 5040-28512

HPLC装置：GL7700 シリーズ

アミノ酸分析システム

| 番号 | 品名 | 型式 |
|----|-------------|--------|
| ① | 脱気装置 | DG7760 |
| ② | 送液ポンプ(溶離液用) | PU7710 |
| ③④ | 送液ポンプ(反応液用) | PU7710 |
| ⑤ | オートサンプラー | AS7720 |
| ⑥ | カラムオープン | CO7730 |
| ⑦ | 蛍光検出器 | FL7753 |



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勧めします。

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



【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