

27L-am12

二次元 HPLC-MS を用いる NBD-アミノ酸光学異性体の高選択的分析法開発
○寺尾 唯¹, 小川 亜都美¹, 三次 百合香¹, 佐藤 裕¹, 長野 正信², 三田 真史³, 浜瀬 健司¹
(¹九大院薬, ²坂元醸造, ³資生堂)

【目的】アミノ酸は生命維持に不可欠な化合物の一つであり、ほとんどのアミノ酸は D 体と L 体の鏡像異性体を有している。近年、高等動物体内における D-アミノ酸の分布や生理機能が徐々に明らかにされ、キラルアミノ酸の正確な含量評価を可能とする分析法開発が切望されている。一方で生体、食品等の実試料中には多種多様な夾雑成分が存在するため、極めて高い選択性を有する分析法が必須である。そこで本研究では二次元 HPLC システムに MS を加えた二次元 HPLC-MS を用い、キラルアミノ酸の高選択的三次元分析法開発を行った。

【方法】アミノ酸標品水溶液にホウ酸塩緩衝液 (pH 8) 及び 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F) を加えて誘導体化を行った。黒酢試料は水で 100 倍希釈した後 NBD 化し、二次元 HPLC-MS により分析した。

【結果・考察】二次元 HPLC の一次元目ではキャピラリーモノリス ODS カラムを用いて分析対象アミノ酸を D/L 混合物として分離し、二次元目ではセミマイクロ KSAACSP-001S カラムを用いて光学分割を行う。NBD-Ala について分離条件を検討した結果、一次元目は 65 分に溶出し、他のアミノ酸と良好に分離された。二次元目は 10 分以内で分離係数 1.21 の良好な光学分割を達成した。三次元目となる MS 分析には ACQUITY QDa を用いてネガティブモードでの検出を行った結果、検出下限 250 fmol で良好なピークが認められた。定量の再現性については、MS 検出におけるピーク面積の日内変動 (RSD) が 12%であったのに対し、%D ($D/(D+L) \times 100$) の日内変動は 0.4%であり良好な値が得られた。本システムを黒酢試料に適用した結果、%D=27%の D-Ala が認められ、蛍光、MS 検出における %D は良く一致した。今後は対象アミノ酸の拡大と臨床試料分析への展開が期待される。