

27PB-am005

カラムスイッチングを用いたキラルアミノ酸分析システムの検討

○箕畑 俊和¹, 宇野 由紀¹, 渡邊 淳¹, 寺田 英敏¹, 飯田 順子¹, 中野 洋介², 福崎 英一郎² (¹島津製作所, ²大阪大工)

【目的】タンパク質を構成する 20 種のアミノ酸は、グリシンを除いて L/D の光学異性体が存在する。L-アミノ酸がタンパク質の構成要素や栄養源として体内に多量に存在することと比較して、D-アミノ酸の含量は極めて低いが、発酵食品の成分分析、脳神経系における生理機能解析やバイオマーカー探索、さらには健康や美容など様々な分野で注目されている。但し、その分析は多種多様なペプチドやアミノ化合物の妨害を受けることが多く、正確な含量解析には高感度で高選択的な分析法が求められる。今回、キラルカラムを用いた高速、高分離、高感度なキラルアミノ酸分析システムを構築し、発酵食品中の L/D 体存在比を確認した。

【方法】キラルカラムは CROWNPAK CR-I(+)/CR-I(-) (3mm x 150mm, 5 μ m, DAICEL corp.) を使い、カラムスイッチングにより CR-I(+) と CR-I(-) を自動的に切替可能なシステムを構築した。HPLC は Isocratic モードで移動相はアセトニトリル/エタノール/水/TFA = 80/15/5/0.5、流速は 0.6mL/min、カラムオープン温度は 20 $^{\circ}$ C で分析時間は 10 分である。検出は液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-8050 (島津製作所) を用いた。

【結果】標準品混合液を用いた検討では、CR-I(+) / (-) で得られた面積比を比較したところ、良好な再現性が得られた。Gln と Lys, Ile と *allo*-Ile, Thr と *allo*-Thr は、物理化学的性質が極めて類似しており、本クロマト条件では共溶出する可能性がある。トリプル四重極型質量分析装置ではほぼ同一の MRM トランジションのため、CR-I(+) では同一保持時間で共溶出する可能性があるが、CR-I(-) に切り替えることで分離確認することかできた。