

2- ニトロフェニルヒドラジンを用いたマウス糞中の 短鎖脂肪酸の HPLC 定量

井上裕文、高山健人、高原千穂、田淵紀彦、岡村信幸、榎原菜穂子、
小嶋英二郎、伊達有子、鶴田泰人

Biol. Pharm. Bull., **42**(5), 845-849 (2019)

Determination of Short-Chain Fatty Acids in Mouse Feces by High-Performance Liquid Chromatography Using 2-Nitrophenylhydrazine as a Labeling Reagent

Hirofumi Inoue, Kento Takayama, Chiho Takahara, Norihiko Tabuchi,
Nobuyuki Okamura, Naoko Narahara, Eijiro Kojima, Yuuko Date, Yasuto Tsuruta

ABSTRACT: It has been suggested that imbalances in gut microbiota are related to diseases associated with metabolism, the central nervous system, etc. Therefore, analysis of short-chain fatty acids (SCFAs) produced by gut microbiota is very important as an indicator of causation, demonstrating the effects on the host due to changes in the gut microbiota. We developed a HPLC method for the determination of SCFAs in mouse feces. After homogenization, the SCFAs in mouse feces and 2-ethylbutyric acid (internal standard) were derivatized with 2-nitrophenylhydrazine (2-NPH) in the presence of 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide. The 2-NPH derivatives of SCFAs and the internal standard were separated on a reversed-phase column (octadecyl silyl column) by gradient elution using phosphoric acid (pH 2.5)–acetonitrile at 50°C and detected by absorbance measurement at 400 nm. The recovery of the method was 90–115%, with a precision (relative standard deviation) of 1.3–7.7%. The determination of SCFAs by the present method can provide useful information for biological and clinical research.

抄録 腸内細菌叢の不均衡は、代謝や中枢神経系などに関連する疾患に関連していることが示唆されている。したがって、腸内細菌叢によって生成される短鎖脂肪酸 (SCFA) を分析することは、腸内細菌叢の変化による宿主への影響を示す原因の指標となるため重要である。そこで、マウスの糞便中の SCFA を測定するための HPLC メソッドを開発した。ホモジネートされたマウス糞便中の SCFA と 2-エチル酪酸 (内部標準) を 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドの存在下で 2-ニトロフェニルヒドラジン (2-NPH) で誘導体化した。SCFA 及び内部標準の 2-NPH 誘導体は、逆相カラムを用いたリン酸 (pH 2.5) - アセトニトリルによるグラジエント溶出法により、50°C で分

離され、400nmでの吸光度測定で検出された。添加回収率は90~115%、精度（相対標準偏差）は1.3~7.7%であった。本法によるSCFAの定量は、生物学および臨床的研究に有用な情報を与えることができる。