

LC-MS分取システムを用いたアントシアニン類の分取

Fractionation of anthocyanins by preparative LC-MS system

アントシアニン類はアントシアニジンをアグリコンとする配糖体の総称で、植物界に広く存在し、花卉や葉の呈色成分として知られています。

アントシアニン類は食用色素として利用されているほか、最近ではその抗酸化作用が注目されています。

中でもカシス（別名クロスグリ、英名Blackcurrant）はシアニジンやデルフィニジンアグリコンとした配糖体からなる4種類のアントシアニン類を含むことが知られています。

アントシアニン類のように多様な類縁体を持つ成分の研究において、単一成分の効果や特長を知るためにはそれぞれの成分を精製することが求められます。

ここではprepLCMS-2010EVを用いたカシス中アントシアニン類の分取例をご紹介します。

また、HPLCによるアントシアニン類の分析例につきましてはアプリケーションニュースNo.L340Aをご参照ください。

T.Ogura

LC-MSを用いたカシス中アントシアニン類の分取

Preparative isolation of anthocyanins in blackcurrant

市販のカシス抽出物含有食品中アントシアニン類 (Fig.1) の分取例を紹介します。

カプセル1粒の内容物（約0.5 g）を水2 mLに溶解し、超音波処理した後に0.45 μmメンブランフィルタでろ過したものをLC-MS分取システムに供しました。

分取結果をFig.2に示します。アントシアニンは酸性条件下で正イオンとして存在することから正イオンエレクトロスプレーイオン化法を用い、各成分のM⁺を指標として分取を行いました。各成分の純度をあげるためにしきい値を高め設定しました。

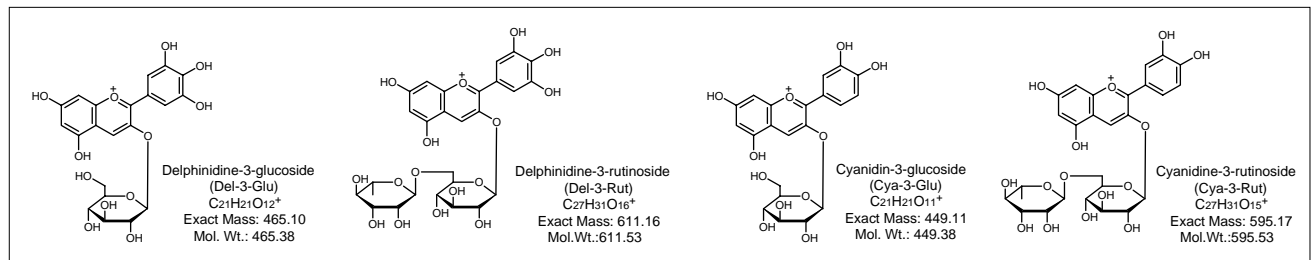


Fig.1 アントシアニン類4成分の化学構造
Chemical structures of four anthocyanins

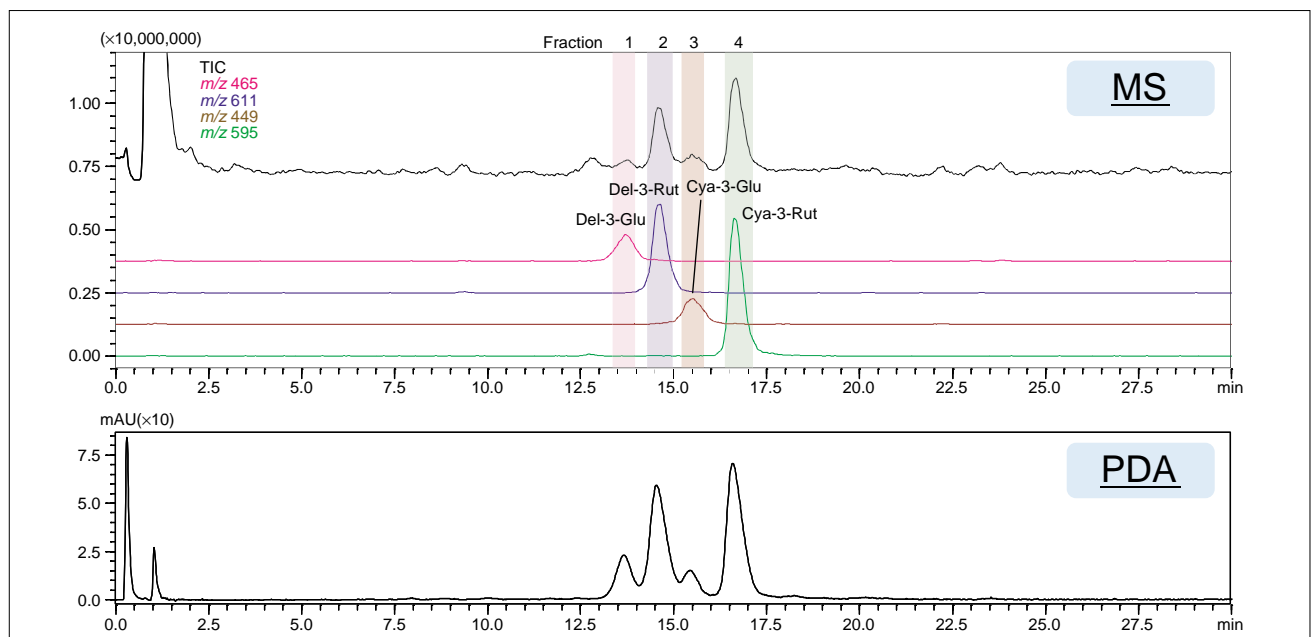


Fig.2 市販カシス含有食品中アントシアニン類の分取
Preparative isolation of anthocyanins in commercial capsules containing blackcurrant

超高速LC-MSを用いた各画分中アントシアニン類の精製確認

Confirmation of anthocyanins in each fractions by ultra fast LC-MS

Prominence UFLCとLCMS-2010EVを用いた各画分の超高速分析結果をFig.3に示します。これらの分析結果から、それぞれ92～99%の高い純度の画分が得られていること

が確認できました。Fig.2のように保持時間が接近している場合でも、しきい値を適切に設定することで高い純度で分画できたことがわかります。

Table 1 分取条件
Preparative conditions

[LC condition]	
Column	: Gemini 5 μ m C18 Axia packed (21.2 mmI.D. \times 50 mmL.)
Mobile phase A	: water containing 0.1 % trifluoroacetic acid
Mobile phase B	: acetonitrile containing 0.1 % trifluoroacetic acid
Time program	: 5 % B (0.00 min) - 20 % B (30.00 min) - 95 % B (30.01-35.00 min) - 5 % B (35.01 min) - STOP (40.00 min)
Make-up flow	: methanol (0.2 mL/min)
Split ratio	: 1/550
Flow rate	: 22 mL/min
Injection volume	: 200 μ L
Column temp.	: room temperature

[MS condition]	
Probe voltage	: +4.5 kV (ESI-positive mode)
Nebulizing gas flow	: 1.5 L/min
Drying gas pressure	: 0.1 MPa
CDL temp.	: 250 $^{\circ}$ C
Block heater temp.	: 200 $^{\circ}$ C
CDL voltage	: using default values
Q-array voltage	: using default values
Scan range	: m/z 100-1000 (1.0 sec)
Trigger ions	: m/z 465 for delphinidine -3- glucoside m/z 611 for delphinidine -3- rutinoside m/z 449 for cyanidine -3- glucoside m/z 595 for cyanidine -3- rutinoside

Table 2 分析条件
Analytical conditions

[LC condition]	
Column	: Shim-pack XR-ODS (2.0 mmI.D. \times 50 mmL.)
Mobile phase A	: water containing 0.1 % trifluoroacetic acid
Mobile phase B	: acetonitrile containing 0.1 % trifluoroacetic acid
Time-program	: 5 % B (0.00 min) - 25 % B (6.00 min) - 95 % B (6.01-8.00 min) - 5 % B (8.01 min) - STOP(10.00 min)
Flow rate	: 0.5 mL/min
Injection volume	: 2 μ L
Column temp.	: 40 $^{\circ}$ C

[MS condition]	
Probe voltage	: +4.5 kV (ESI-positive mode)
Nebulizing gas flow	: 1.5 L/min
Drying gas pressure	: 0.1 MPa
CDL temp.	: 250 $^{\circ}$ C
Block heater temp.	: 200 $^{\circ}$ C
CDL voltage	: using default values
Q-array voltage	: using default values
Monitoring ions	: m/z 465 for delphinidine -3- glucoside m/z 611 for delphinidine -3- rutinoside m/z 449 for cyanidine -3- glucoside m/z 595 for cyanidine -3- rutinoside

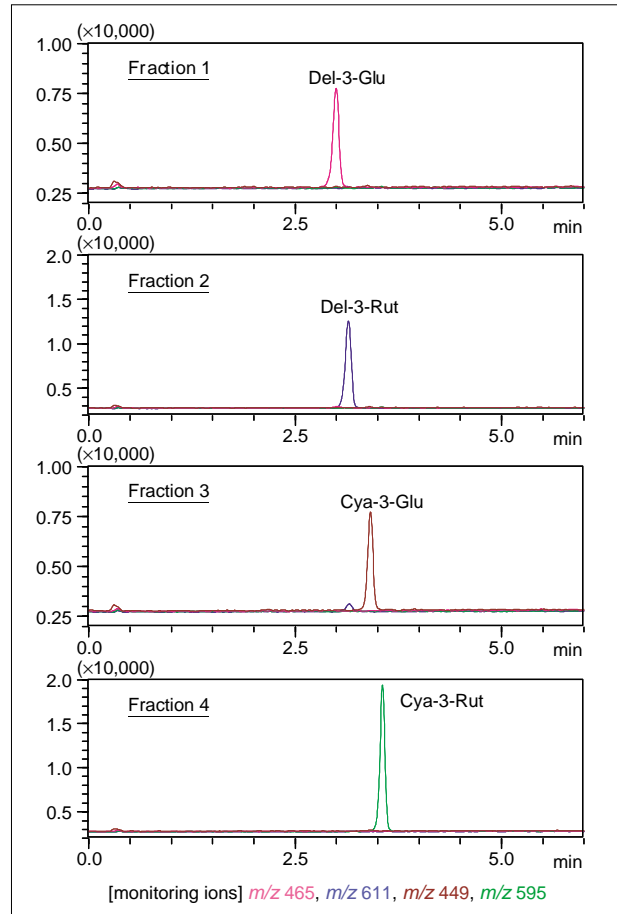


Fig.3 超高速LC-MSを用いた各画分中アントシアニン類の分析結果
Ultra fast analysis of anthocyanins in each fractions

LC-MSを用いた高回収率の分取例

Preparative isolation at high recovery yield

分取を行う場合には純度よりも回収率を重視する場合があります。Fig.4には回収率を重視した設定による分取例を示します。ここではdelphinidine -3- rutinosideの回収率を向上させるために m/z 611のみを指標にし、しきい値を下げて分取を行いました。これによりピーク全体が分取でき、高い回収率で分取を行うことができます。

このように定性能力の高いIMSを用いることで「純度を重視した分取」や「回収率を重視した分取」のような目的にあわせた分取が可能です。

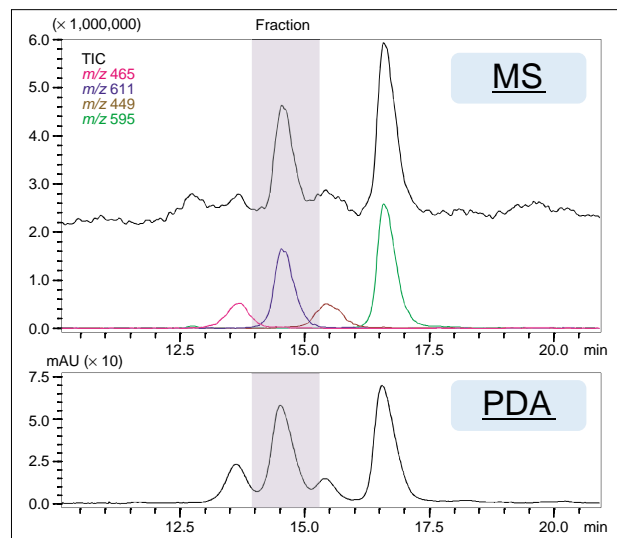


Fig.4 回収率の高い分取例
Preparative isolation at high recovery yield

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

初版発行：2008年3月
A改訂版発行：2008年4月
● 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は右に示す島津WEBで閲覧できます。

会員制情報提供サービス「Shim-Solutions Club」にご登録下さい。
<http://solutions.shimadzu.co.jp/>
いろいろな情報提供サービスが受けられます。