Agilent 分取用-C18 カラムを用いたアントシアニン分離のスケールアップと捕集フラクションの再分析

アプリケーション

生化学

Cliff Woodward



抗酸化剤としての効能を持つアントシアニンは多くの食品に含まれる健康上重要な成分として広く認知されています。この興味深い化合物を自然食品の中で最も高濃度に含んでいるのがブルーベリーです。各種のアントシアニンのどの成分が人の健康に最も有益であるのかを理解するにはアントシアニンの精製と同定が重要なステップとなります。アントシアニンは C18 カラムに強く保持されるだけでなく、抽出の際にも高濃度の有機溶媒を必要とします。標準物質としての使用、あるいは構造解析などのためにいずれかの成分を大量に分離しようとすると溶解度が問題となって負荷量が制限を受けます。アントシアニンの負荷量に影響を与える因子については前報で詳しく説明しています[1]。

分取精製では、スケールアップが可能であることを実証するのがまず第 1 のステップです。これが分ってしまえば、分取クロマトグラフは比較的単純といえます。捕集されたフラクションの純度を示すには再度クロマトグラフ分析することが有効です。 図 1 に示すのは Agilent Prep-C18 カラムのスケーラビリティです。当然ながら、分析カラムの方が分取カラムよりも良い分離能を示しています。

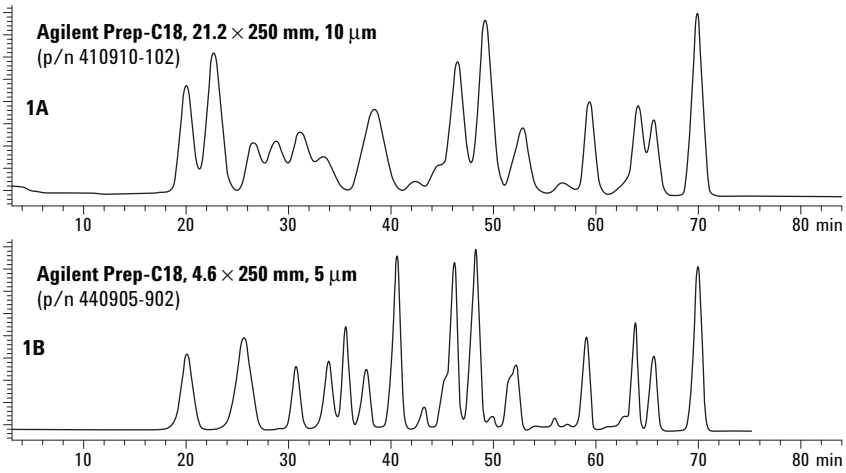
ハイライト

- Agilent Prep-C18 カラムの卓越した安定性を利用すれば、分析スケールカラムでメソッド開発を行えます
- Agilent Prep-C18 ならば高分離能で高純度の分取が可能です
- Agilent ChemStation の Purification ソフトウェアと Agilent Prep-C18 を組み合わせることにより複雑な精製プロセスを簡単に実行できます



Agilent Prep-CI 8 カラム（円内）と Agilent 1100 HPLC システム

Agilent Technologies



1A

Agilent Prep-C18、21.2×250 mm、10µ

温度:	室温
DAD 波長:	525 nm
注入量:	2000 µL
サンプル:	ブルーベリー抽出液、全固形分：46.1 mg/mL （アントシアニンとして約 5 mg/mL ）
流量:	21.2 mL/min

1B

Agilent Prep-C18、4.6×250 mm、5 µ

温度:	室温
DAD 波長:	525 nm
注入量:	100 µL
サンプル:	ブルーベリー抽出液、全固形分：46.1 mg/mL （アントシアニンとして約 5 mg/mL ）
流量:	1.0 mL/min

移動相

A = 水中に 0.1% TFA を溶解

B = メタノール中に 0.1% TFA を溶解

グラジエント時間

時間（min）	溶媒Bの量（%）
0.00	23.0
35.00	26.0
85.00	53.5

図 1．Agilent 分取カラムのスケーラビリティ

ChemStation のフラクション捕集ソフトウェアを使用すれば、分離によって通常期待できるレベルをはるかに超えた純度のフラクションを得ることができます。図 2 に示す例をご覧ください。フラクション 1 では 99% を超える純度のデルフィニジン-3-ガラクトシドが得られ、フラクション 2 では 97% を超える純度のデルフィニジン-3-グルコシドが得られています。ソフトウェアでスレショルドとスロープを設定しフラクションを最適のタイミングで切り出すことによりこのような純度が得られます。フラクション成分の確認には液体クロマトグラフ/質量分析計（LC/MS）を使用します（データは示してありません）。

次に示す Agilent Prep-C18 カラムの使用条件は図 1 に示したものと同様です。

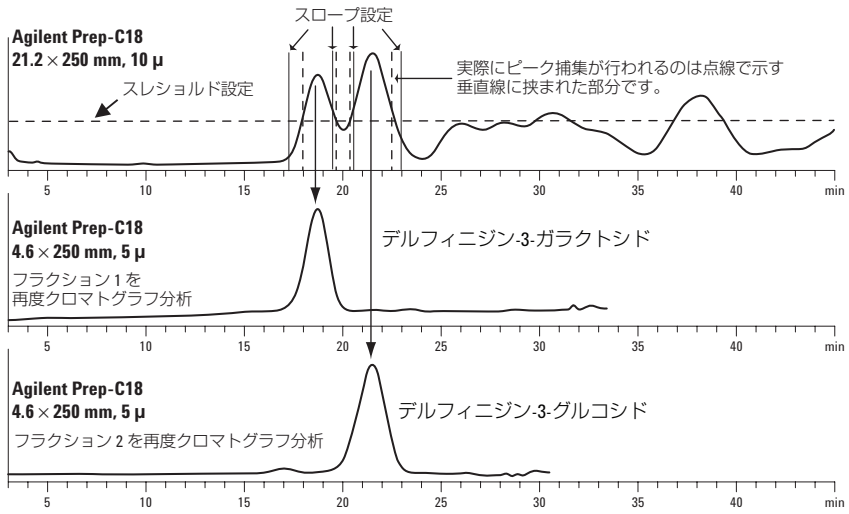


図 2．フラクション捕集と、フラクション純度を示すクロマトグラフ再分析

参照文献

1. "Scalability and Volume Loadability for Highly Retentive Compounds - Anthocyanins", (2004) *Separation Times*, **17**, 1.

さらに詳しくは...

弊社製品とサービスについて更に詳しい情報をご希望のお客様は是非弊社 Web サイト（www.agilent.com/chem/jp）をご覧ください。

著者 Cliff Woodward は Agilent Technologies, (Wilmington, Delaware) のアプリケーションケミストです。

お問い合わせは： 0120-477-111
横河アナリティカルシステムズ株式会社
〒192-0033 東京都八王子市高倉町 9-1

Agilent は、万一この資料に誤りが発見されたとしても、また、本資料の使用により付随的または間接的に損害が発生する事態が発生したとしても一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2004

Printed in the USA
February 23, 2004
5989-0591JAJP

Agilent Technologies