

Agilent InfinityLab LC/MSD iQ による 機能性成分の分析 ～イミダゾールペプチド～



著者

野田 莉帆
林 慶子
澤田 浩和

アジレント・テクノロジー株式会社

要旨

イミダゾールペプチドはイミダゾール基を含むペプチドの総称であり、中でもアンセリン、カルノシンが良く知られています。アンセリン、カルノシンは動物の筋肉中に存在し、抗酸化作用などのさまざまな生理活性を有することが明らかとなっています。

本アプリケーションノートでは、鰹節抽出液中のアンセリン・カルノシンの定量を行いました。検量線の直線性は良好で、鰹節抽出液から各化合物を再現性良く検出することができました。また添加回収試験を行ったところ回収率は良好でした。

システム

1260 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104C)
 1260 Infinity II マルチサンブラ (G7167A)
 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A)
 InifinityLab LC/MSD iQ (G6160AA)

試料調製

標準品 (L-アンセリン硝酸塩、L-カルノシン) は富士フィルム和光純薬より購入しました。0.1N 塩酸含有 50 % アセトニトリル水溶液で溶解・希釈しました。

サンプルには鯉節を使用しました。鯉節 0.863 g をバイアルに秤量し、約 50 倍重量となる 43 mL の超純水を加えボルテックスで混和しました。1 時間静置した後、上清を 0.2 μm の PTFE フィルターでろ過し、0.1N 塩酸含有 50 % アセトニトリル水溶液で 100 倍希釈し分析に供しました。

分析条件

表 1 に分析条件を示します。SIM モニターイオンはプロトン付加体を使用しました。

表 1. 分析条件

| LC | |
|-------------|---|
| カラム | Intrada Amino Acid, 50×3.0 mm, 3 μm (Imtakt) |
| 移動相 | A: 0.3 % 塩酸含有アセトニトリル B: アセトニトリル/100 mM 塩酸アンモニウム水溶液 = 20/80,v/v |
| 流速 | 0.5 mL/min |
| 移動相 B 濃度 | 20 % (0 min) - 80 % (5 ~ 10 min) - 100 % (11 min) |
| ポストタイム | 4 min |
| カラム温度 | 40 °C |
| 注入量 | 1 μL (洗浄: 50 % アセトニトリル水溶液 3s) |
| MS | |
| イオン化 | ESI-Positive |
| ドライガス | 12 L/min at 330 °C |
| ネブライザ圧力 | 60 psi |
| キャピラリー電圧 | 2000 V |
| フラグメンタ電圧 | 70 V |
| SIM モニターイオン | m/z 227.1 (カルノシン)、m/z 241.1 (アンセリン) |

結果

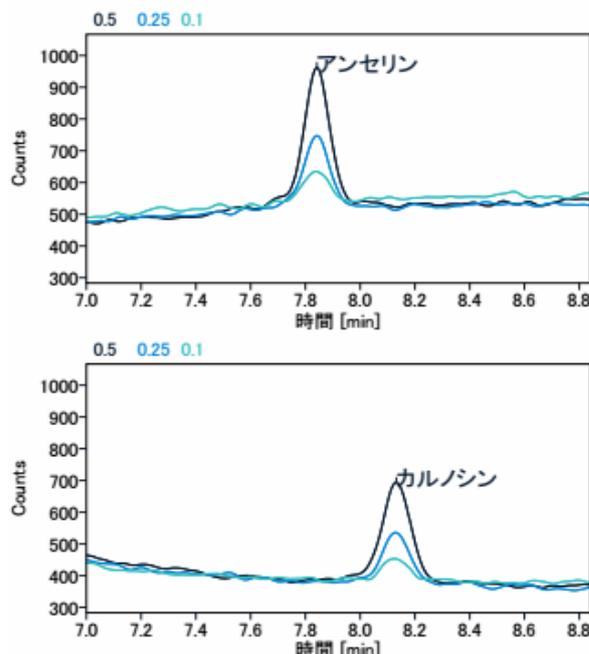


図 1. アンセリン (上)、カルノシン (下) 0.1、0.25、0.5 μM SIM クロマトグラム重ね書き

図 1 に 0.1 ~ 0.5 μM SIM クロマトグラムを示します。0.1 μM における S/N は アンセリン 7.8、カルノシン 9.4 でした。

図 2 に検量線を示します。0.1 ~ 5 μM の範囲で決定係数 0.999 以上の良好な直線性を確認しました。

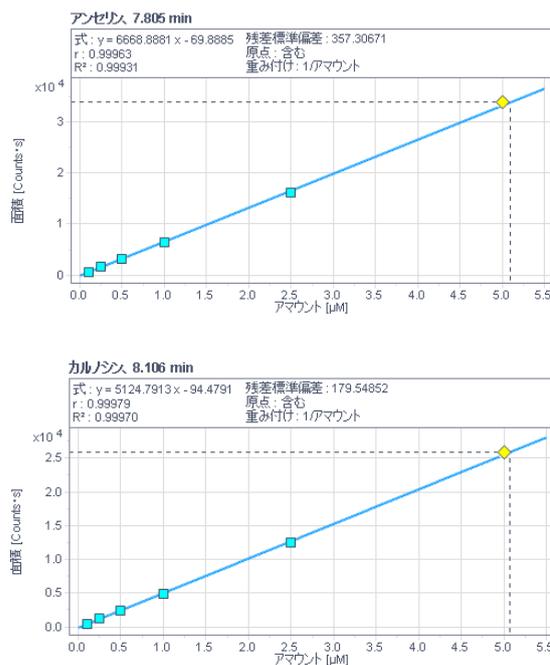


図 2. アンセリン (上)、カルノシン (下) 0.1 ~ 5 μM 検量線

鯉節抽出液を3回繰り返しを分析した結果を図3に示します。鯉節抽出液からアンセリン 1.41 μM 、カルノシン 0.60 μM が検出されました。また3回繰り返し分析における保持時間の相対標準偏差はアンセリン 0.013%、カルノシン 0.009%、面積の相対標準偏差はアンセリン 1.650%、カルノシン 1.479%と再現性は良好でした。

まとめ

イミダゾールペプチドであるアンセリン、カルノシンを LC/MSD iQ を用いて測定しました。0.1 ~ 5 μM において良好な直線性を確認し、鯉節抽出液の定量も可能でした。

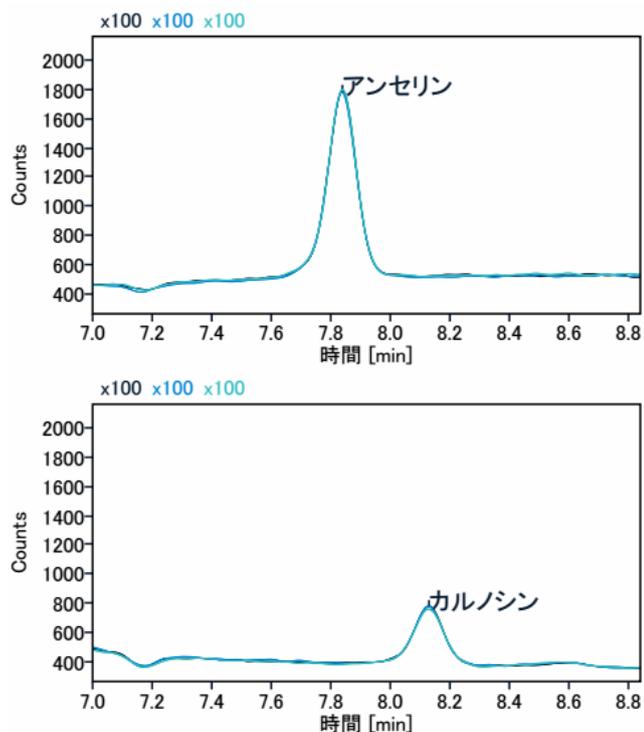


図3. 鯉節抽出液3回繰り返し分析におけるSIMクロマトグラム
(上: アンセリン、下: カルノシン)

添加回収試験の結果を表2に示します。100倍希釈液に1 μM となるよう標準品を添加し分析した結果から回収率を算出し、回収率は94~103%と良好でした。

表2. 添加回収試験の結果

| | 100倍希釈液 定量値 (μM) | 100倍希釈液+1 μM 定量値 (μM) | 回収率 |
|-------|----------------------------------|--|------|
| アンセリン | 1.411 | 2.441 | 103% |
| カルノシン | 0.605 | 1.549 | 94% |

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、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。

DE09280738

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, December 27, 2021

5994-4506JAJP