

大気圧化学イオン化によるビタミンD₃の分析

LC-MS analysis for vitamin D₃ using atmospheric pressure chemical ionization

ビタミンは健康を維持するために必須な物質です。ビタミンは体内では全く合成できないまたは十分な必要量を合成できないため、食物から摂取できないと動物が生きていく上で支障をきたします。

ビタミンは大きく水溶性ビタミンと脂溶性ビタミンに大別できますが、脂溶性ビタミン（ビタミンA, D, E, K）は水溶性ビタミンに比べ、その摂取量を注意深く調整する必要があります。なぜなら、余分な水溶性ビタミンは腎臓で排泄されるのに対し、脂溶性ビタミンは安定で、熱に強く、水に溶けないため腎臓から排泄できず肝臓に蓄えられ、逆に害をもたらすことが多いからです。たとえば、ビタミンDは腸からのカルシウムイオンの吸収と、骨や腎臓からのカルシウムイオンの再吸収を促進するこ

とで、血清のカルシウムイオン濃度を増加させる作用があります。したがって、ビタミンDが欠乏するとくる病という骨軟化・変形がおこりますが、過剰摂取は腎臓結石や関節の石灰化などの副作用を引き起こします。

LC-MSのインターフェースとしては大気圧イオン化法の一つであるエレクトロスプレーイオン化（ESI）を使用することが多いですが、低極性化合物の分析には、もう一つの大気圧イオン化法である大気圧化学イオン化（APCI）法が適しています。ここでは、低極性化合物であるビタミンD₃の分析例を紹介します。LCMS-QP8000はエレクトロスプレーと大気圧化学イオン化の両方のプローブを標準装備しているので、低極性から高極性・イオン性化合物まで幅広い分析が可能です。

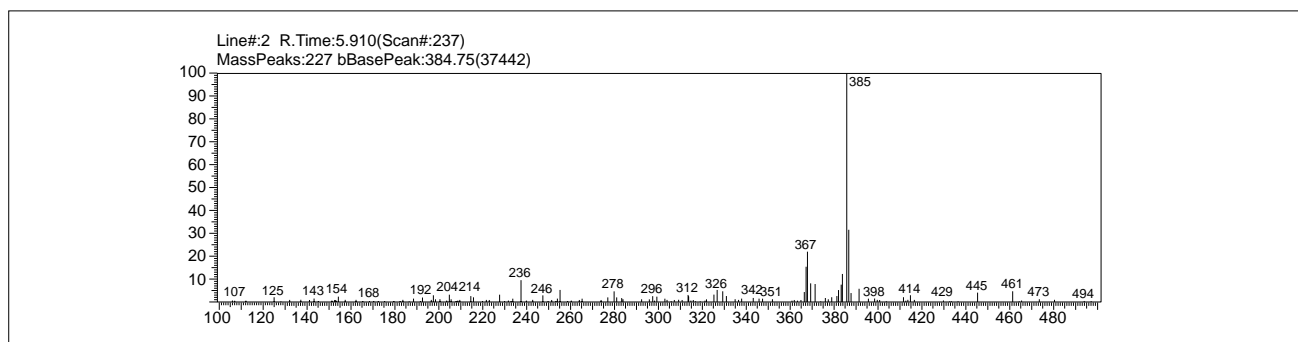


Fig.1 ビタミンD₃のマスペクトル
Mass spectrum of Vitamin D₃

大気圧化学イオン化法は、まず移動相を気化させ、コロナ放電により反応イオンを生成させます。次に反応イオンと標的化合物の大気圧下でのイオン分子反応により標的化合物をイオン化させるというものです。移動相にメタノールまたは水などの極性溶媒が含まれていれば、それらが反応イオンとして働きます。

Fig.1にはビタミンD₃のマスペクトルを、Fig.2には

プロトン化分子による選択イオン検出（SIM）の結果を示します。実際のクロマトグラム上には他の成分も観察されますが、SIMで選択性を出すことにより、他成分の影響を受けずに分析できます。また、保持時間8分に認められる成分はUVのクロマトグラムからは確認できない成分です（Fig.3）。検量線を作成した結果（Fig.4）、ppbオーダーで良好な直線性が得られています。

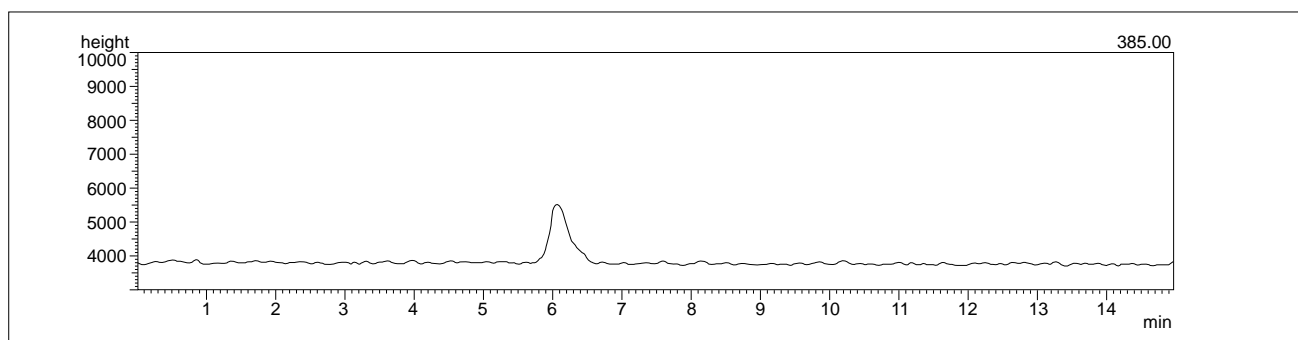


Fig.2 ビタミンD₃ (m/z385)のSIMクロマトグラム
SIM chromatogram of vitamin D₃ at m/z 385

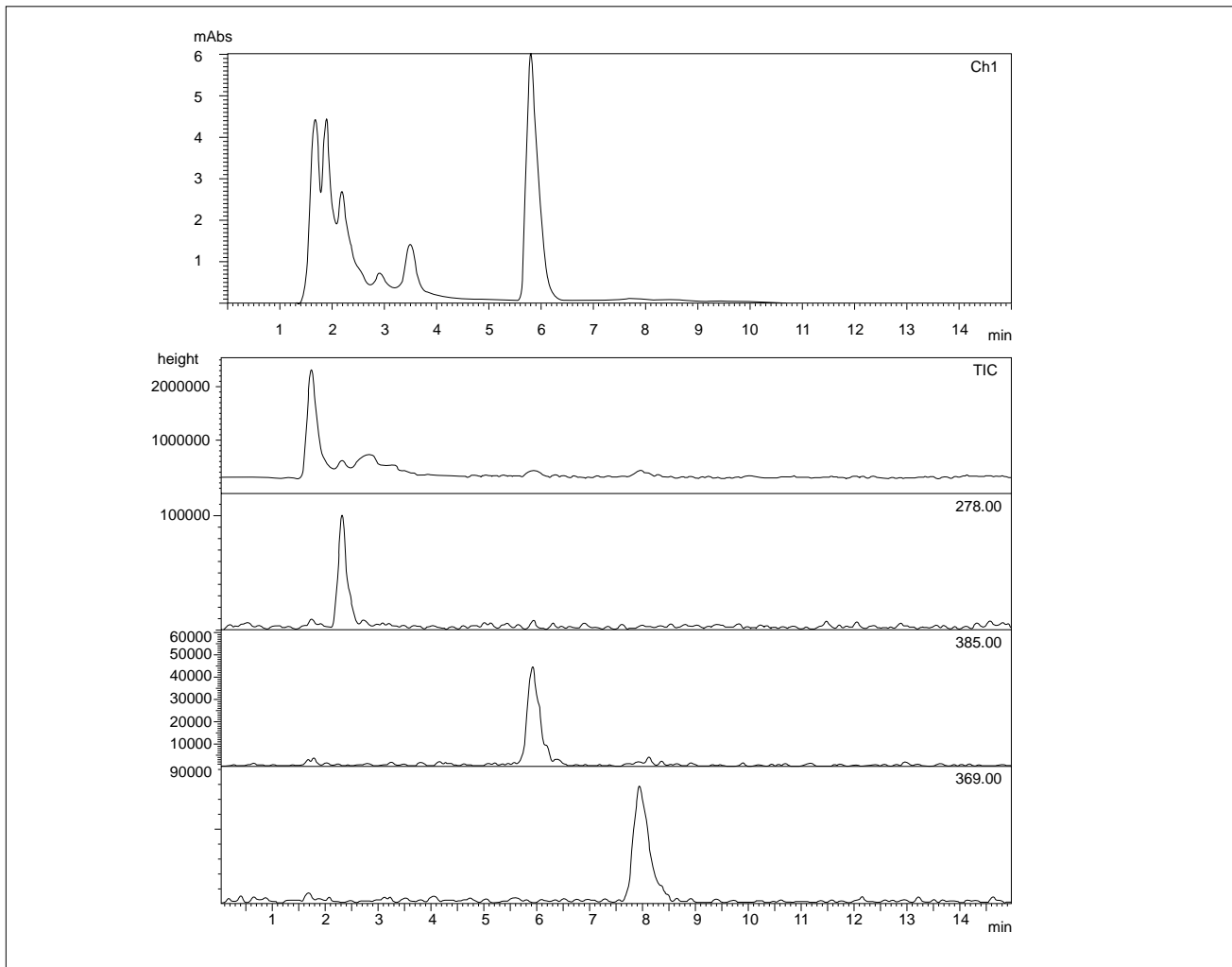


Fig.3 ビタミンD₃のUVおよびマスクロマトグラム
UV and mass chromatograms of vitamin D₃

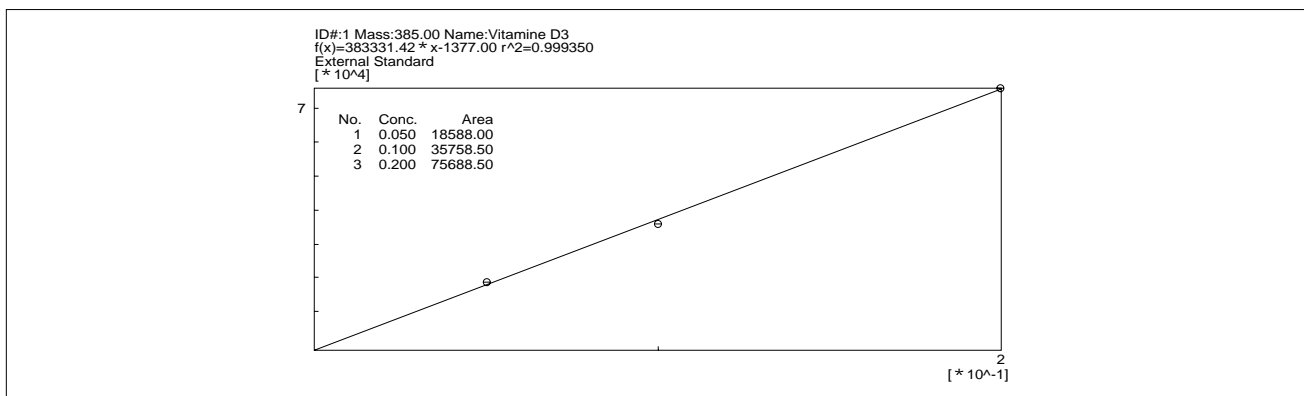


Fig.4 ビタミンD₃の検量線
Calibration curve for vitamin D₃

Table 1 分析条件
Analytical conditions for LC-MS

Column	: STR ODS-II (2.0mmI.D. × 150mm)	CDL temperature	: 230
Mobile phase	: methanol	Probe temperature	: 400
Flow rate	: 0.2mL/min	Nebulizing gas flow	: 2.5L/min
Injection volume	: 20μℓ	CDL voltage	: -60V
Column temperature	: 40	DEFs voltage	: +30V
Probe voltage	: +3.5kV (APCI-Positive mode)		

島津製作所 分析機器事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

●東京 ☎(03)3219-1691
●京都 ☎(075)813-1691

SHIMADZU CORPORATION
INTERNATIONAL MARKETING DIVISION

3, Kanda-Nishikicho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8448, Japan
Phone : (03) 3219-5641 FAX : (03) 3219-5710
Cable Add. : SHIMADZU TOKYO

3094-12910-18A-ADI