SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

高速液体クロマトグラフ　i-Series LC-2060C 3D

脂溶性ビタミンの高速一斉分析

岩田 奈津紀、加藤 理英

ユーザーベネフィット

- ◆ 各種脂溶性ビタミンを一斉に分析できます。
- ◆ 移動相は、メタノールのみというシンプルな条件であるため、分析準備の手間が省けます。
- ◆ フォトダイオードアレイ（PDA）検出器を用いることで、一度の分析で任意波長のクロマトグラムを取得できます。

■はじめに

ビタミンは、体内では全く合成できない、あるいは、十分な必要量を合成できないため、食物から摂取しなければならない栄養素です。ビタミンは、水溶性と脂溶性に大別され、脂溶性ビタミンにはビタミンA、D、E、Kが該当します。

脂溶性ビタミンの分析では、順相クロマトグラフィーで種類ごとに個別の条件で分析することが多いです。本稿では逆相クロマトグラフィーでビタミンA、ビタミンD、および、ビタミンEを一斉分析しました。

ここでは、一体型HPLCを用いた脂溶性ビタミンの一斉分析についてご紹介します。

■混合標準溶液の分析

ビタミンA、D、Eは少量のテトラヒドロフランで溶解後、メタノール/テトラヒドロフラン=97：3で定容し、３成分の混合標準溶液を調製しました。図1にビタミンA、D、Eの混合標準溶液（50 IU、100 IU、0.1 mg/mL）のクロマトグラムを、表１に分析条件を示します。カラムは、逆相クロマトグラフィーで汎用されるC18カラムを、移動相はメタノールを用いました。検出は、一体型HPLCに内蔵しているPDA検出器を用いました。 PDA検出器を用いることにより、分析時に指定した波長範囲内であれば、分析後に任意波長のクロマトグラムを取得することが可能です。本稿では、各成分の極大吸収波長を検出波長として採用しました。なお、この条件下でのシステム負荷圧は約40 MPaでした。

表１　分析条件

System	:	LC-2060C 3D
Column	:	Shim-pack™ GIST-HP C18*1 (150 mm×3.0 mm I.D., 2 µm)
Flow rate	:	0.7 mL/min
Mobile phase	:	Methanol
Column temp.	:	40 ℃
Injection volume	:	4 µL
Vial	:	SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass*2
Detection (PDA)	:	264 nm（Vitamin D）, 280 nm（Vitamin E）, 325 nm（Vitamin A）

*1 P/N: 227-30002-05 *2 P/N: 227-34001-01

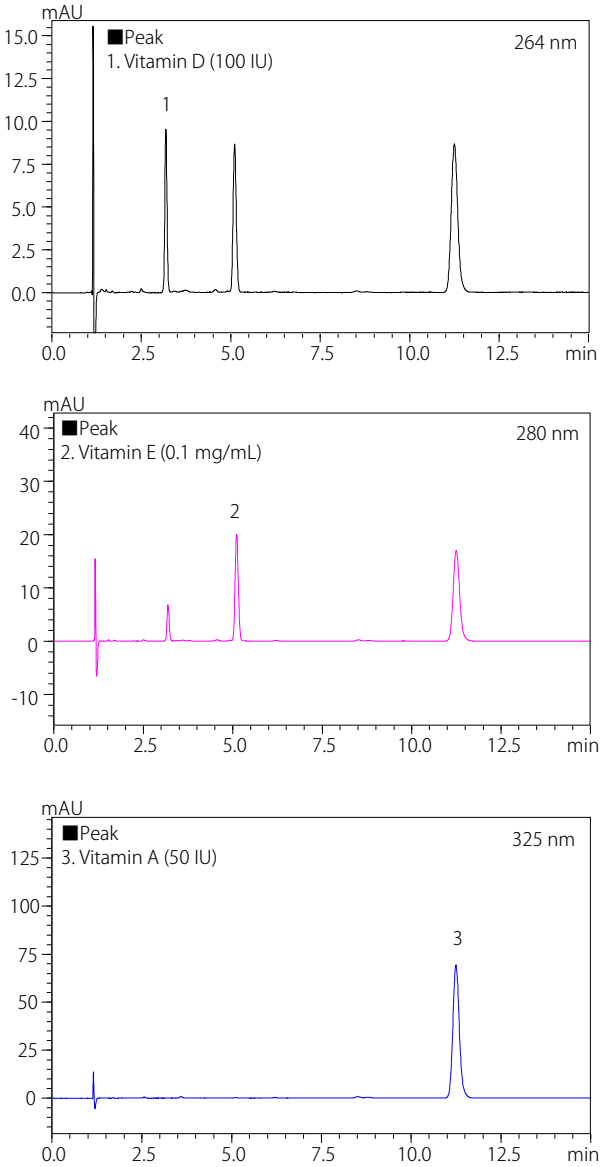

図１　混合標準溶液のクロマトグラム

■再現性

表2に、ビタミンA、D、E（10 IU、20 IU、0.02 mg/mL）の混合標準溶液について、6回繰り返し分析における保持時間と面積の再現性(%RSD)を示します。いずれの化合物においても、保持時間とピーク面積の再現性は0.7%以下の結果が得られました。

表２　6回繰り返し分析における再現性 (%RSD)

Compound	Retention time	Peak area
Vitamin A	0.02	0.68
Vitamin D	0.04	0.49
Vitamin E	0.03	0.32

■検量線

対象の3成分について検量線を作成したところ、いずれも寄与率（r^2）は0.9999以上と良好な直線性が得られました。図2に検量線を、表3に検量線濃度範囲と寄与率を示します。

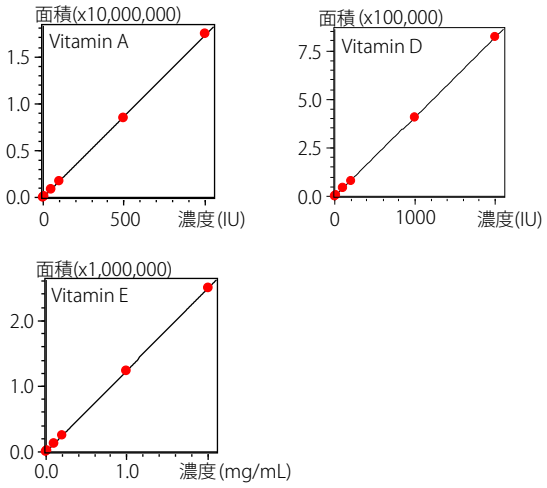

図 2　検量線

表 3　検量線濃度範囲と寄与率 (r^2)

Compound	Conc. range	r^2
Vitamin A	1-1000 IU	0.9999
Vitamin D	2-2000 IU	0.9999
Vitamin E	0.002-2 mg/mL	0.9999

■ビタミン含有サンプルの分析

サンプル0.25 gを少量のテトラヒドロフランで溶解後、メタノール/テトラヒドロフラン=97：3（希釈液）で10 mLに定容しました。この溶解液を希釈液で10倍に希釈後、HPLCに供しました。

図3にサンプルのクロマトグラムを示します。サンプルから対象のビタミンA、D、Eが分離検出されました。

■まとめ

一体型HPLCとシンプルな分析条件による脂溶性ビタミン（A、D、E）の一斉分析が可能でした。一体型HPLCに内蔵しているPDA検出器を用いることで、対象成分ごとに最適波長で検出できるので便利です。複数のビタミンを一斉分析することで分析作業の効率化が図れます。

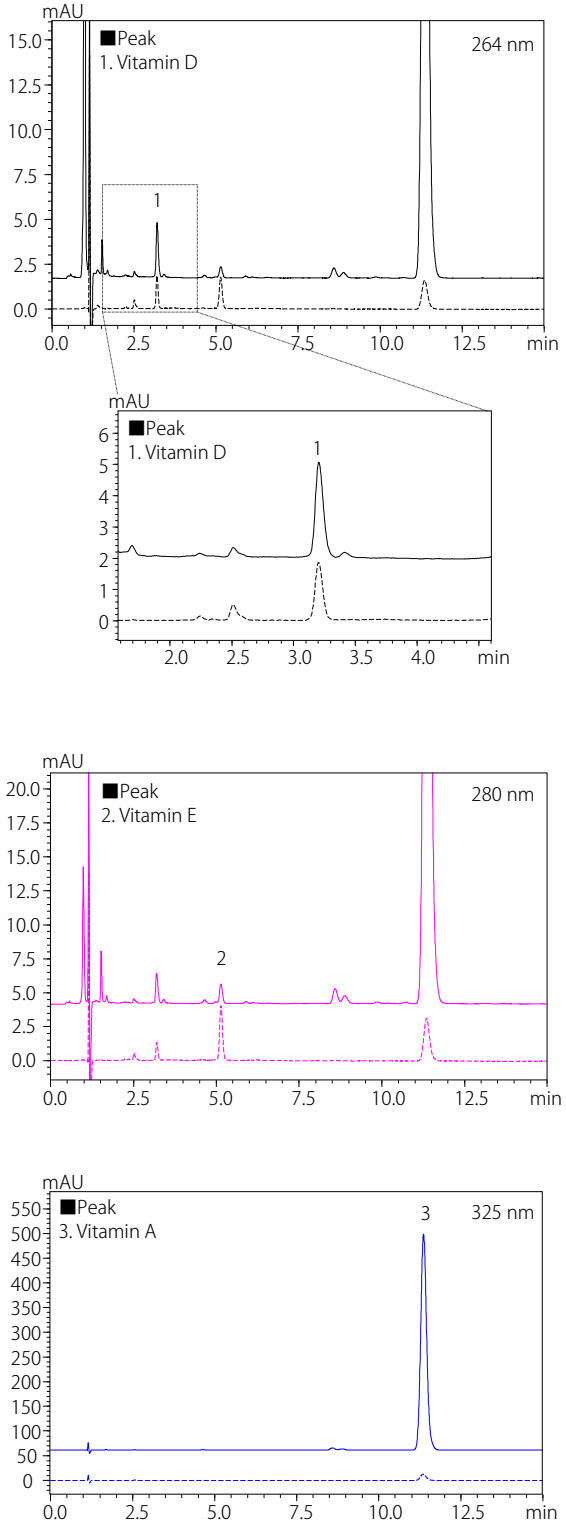

図 3　サンプルのクロマトグラム
（実線：サンプル、破線：標準溶液）

Shim-packおよびSHIMADZU LabTotalは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

01-00413-JP　初版発行：2022年 9月

島津コールセンター　0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm
会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただきますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。
新規登録は、https://solutions.shimadzu.co.jp/ よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022