

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 °C
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

■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。

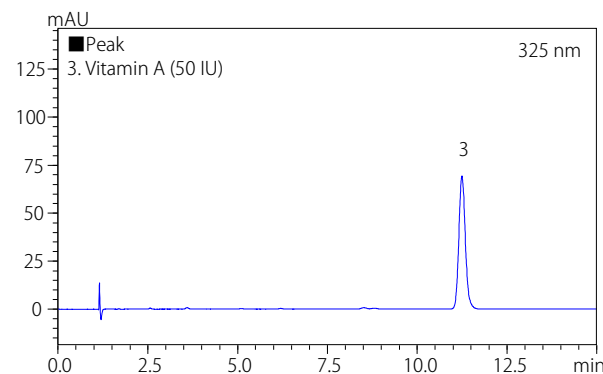
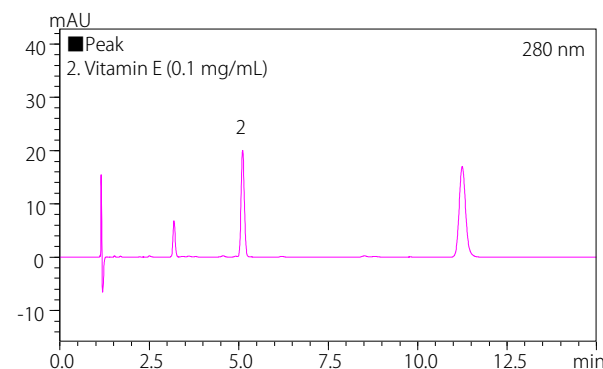
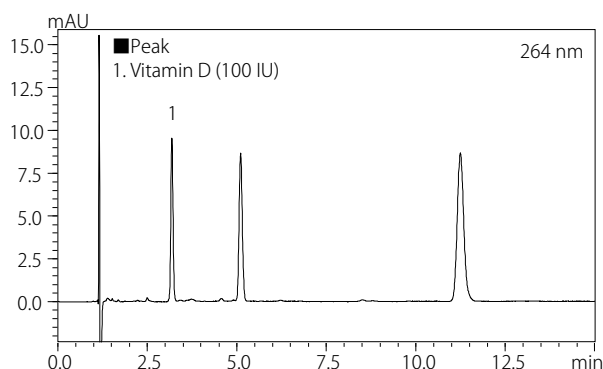


図1 混合標準溶液のクロマトグラム

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。

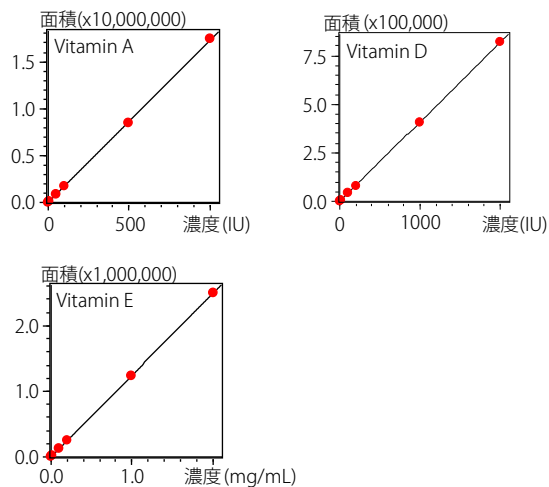


図2 検量線

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。

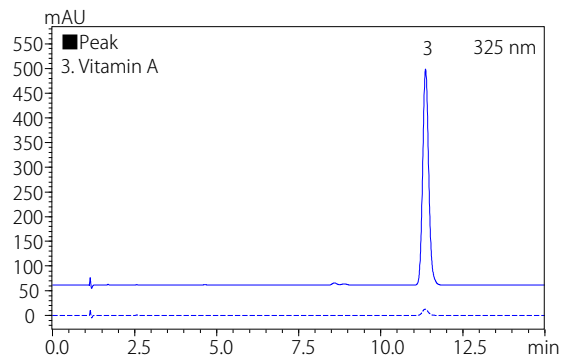
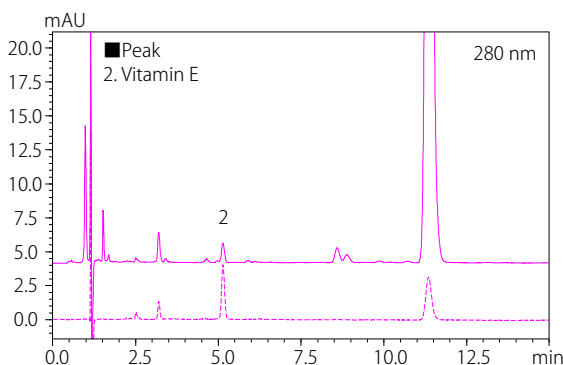
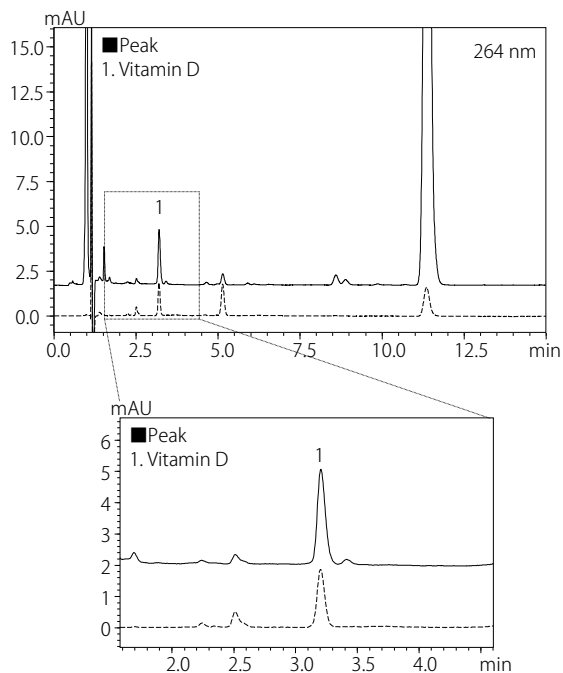


図3 サンプルのクロマトグラム
(実線: サンプル、破線: 標準溶液)

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 にご登録いただけますと、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