SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

紫外可視分光光度計、分光蛍光光度計
フーリエ変換赤外分光光度計、赤外ラマン顕微鏡

ビタミンおよびビタミン様物質の多角的分光測定

祖父江 和樹

ユーザーベネフィット

- ◆ 紫外可視分光光度計では液体状態における紫外域から可視域までの吸収特性が、分光蛍光光度計では液体（粉末）状態における蛍光特性が測定できます。
- ◆ フーリエ変換赤外分光光度計やラマン分光光度計では、液体/粉末状態で簡便に定性分析が行えます。
- ◆ 試料に応じて様々な分光測定法を用いることで、簡便に分光特性を調べることができます。

■はじめに

ビタミンは、体の機能を正常に保つ働きを担いますが、体内ではほとんど合成できないため、食品から摂取する必要があります。一般に、水に溶けやすい水溶性ビタミンと水に溶けにくい脂溶性ビタミンに分類されます。一方、ビタミン様物質はビタミンに似た働きをしますが、体内で合成できる栄養素のことを指します。このようにビタミンやビタミン様物質は人間にとって必要な物質であり、それらがどの物質に含まれているか、どの程度含まれているかなどを調べるには分析機器を用いた測定が必要です。水溶性/脂溶性ビタミンの一斉分析に関する情報は「食品開発　分析ソリューション」[1)]に記載がありますが、今回は図1の分光機器（紫外可視分光光度計、分光蛍光光度計、フーリエ変換型赤外分光光度計、ラマン分光光度計）でのビタミンおよびビタミン様物質の測定例を中心にまとめましたので、その事例をご紹介します。

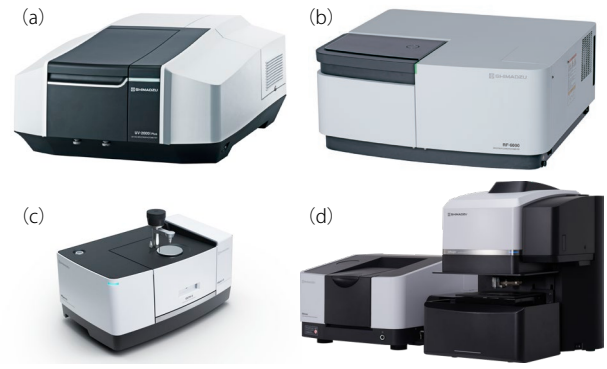

図1　紫外可視分光光度計UV-2600i Plus（a）
分光蛍光光度計RF-6000（b）
フーリエ変換赤外分光光度計IRSpirit™-X（c）
フーリエ変換赤外分光光度計IRXross™＋赤外ラマン顕微鏡AIRsight™（d）

■試料と測定条件

紫外可視分光光度計および分光蛍光光度計で測定するために、各種試薬（ビタミンおよびビタミン様物質）を溶媒に溶かした試料を用意しました。濃度は紫外可視分光光度計において1 Abs以下になるように調整し、分光蛍光光度計では必要に応じてより低濃度になるように希釈しました。測定条件をそれぞれ表1と表2に示します。

フーリエ変換赤外分光光度計（FTIR）およびラマン顕微鏡は、粉末/固体状態ならそのまま測定できます（ATR法の場合、プリズムに密着させます）。液体状態においては揮発しないように液量を調整して測定を行いました。測定条件はそれぞれ表3と表4に示します。

表1　紫外可視分光光度計の測定条件

装置	: UV-2600i Plus
測定波長範囲	: 200 – 800 nm（溶媒:純水） 220 – 800 nm（溶媒:エタノール） 230 – 800 nm（溶媒:0.1M NaOH） 240 – 800 nm（溶媒:クロロホルム）
データ間隔	: 1.0 nm
スキャン速度	: 中速
スリット幅	: 1.0 nm

表2　分光蛍光光度計の測定条件

装置	: RF-6000
励起（Ex）波長	: 紫外可視分光光度計におけるピーク波長（表5参考）
蛍光（Em）波長範囲	: グラフの範囲
データ間隔	: Em 1.0 nm
スキャン速度	: 200 nm/min
スペクトルバンド幅	: Ex 5.0 nm, Em 5.0 nm
感度	: Low

表3　FTIRの測定条件

装置	: IRSpirit-TX, QATR-S（Diamond）
分解	: 4 cm^{-1}
積算回数	: 40
アポダイズ関数	: Happ-Genzel
検出器	: DLATGS

表4　ラマンの測定条件

装置	: IRTracer-100, AIRsight
ラマン分光測定	
積算回数	: 10
露光時間	: 5.0 sec
対物レンズ	: 100倍
励起波長	: 532 nm, 785 nm
検出器	: CCD

■測定結果

ビタミンおよびビタミン様物質の分光測定結果を図2~21に示します。なお、紫外可視分光光度計のデータは主なピークで規格化しています。赤外スペクトルおよびラマンスペクトルも、それぞれの強度でオートスケールを用い、ピーク位置が分かるように調整しました。

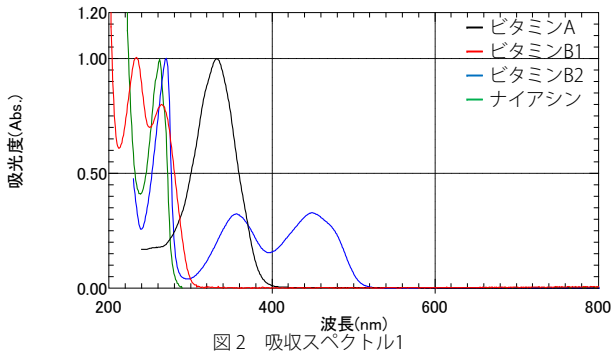

図 2　吸収スペクトル1

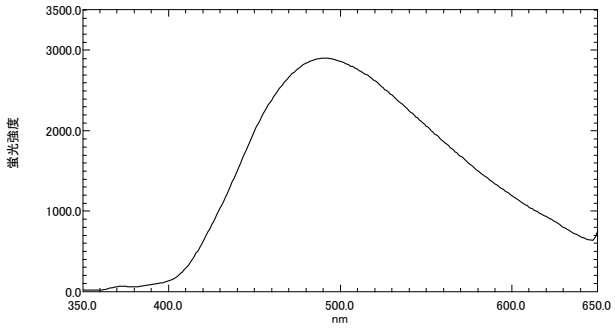

図 3　ビタミンAの蛍光スペクトル例 Ex 332 nm

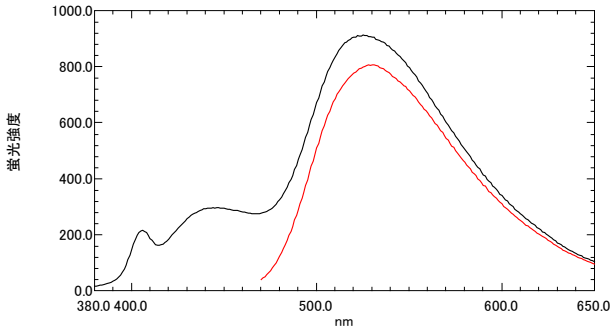

図 4　ビタミンB2の蛍光スペクトル 黒:Ex 356 nmの例, 赤:Ex 449 nm

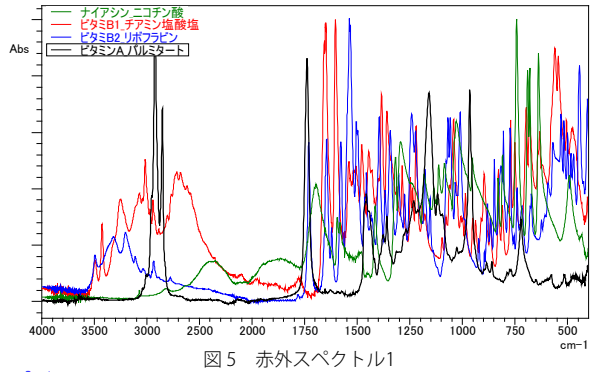

図 5　赤外スペクトル1

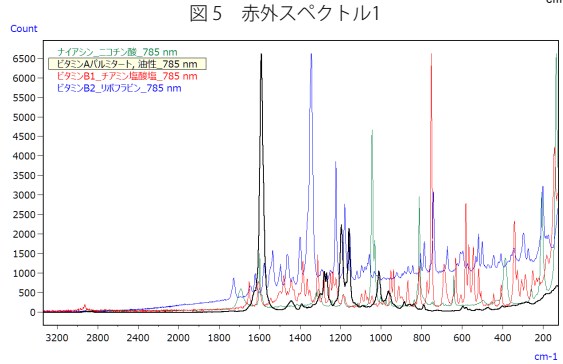

図 6　ラマンスペクトル1 Ex 785 nm

ビタミンB2は粉末状態でオレンジ色を示し、紫外領域以外にも吸収ピークが確認できました。ビタミンA/B2は蛍光を示しました。なお、ビタミンAの490 nm付近の蛍光は測定の度に蛍光強度が増減し、不安定でした。励起光により反応等が発生している可能性が想定されます。また、ビタミンB2を356 nmで励起した場合に確認される、440 nmの蛍光も同様に不安定でした。

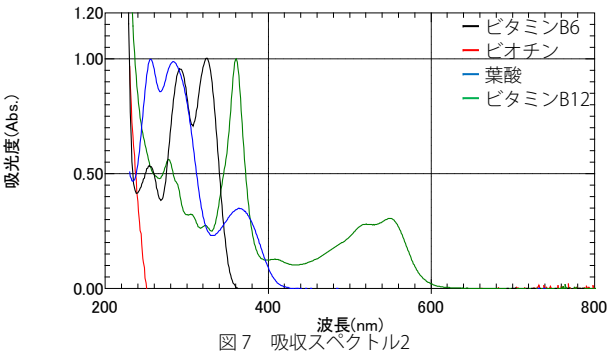

図 7　吸収スペクトル2

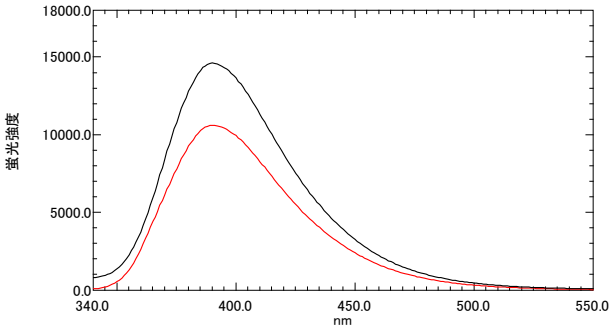

図 8　ビタミンB6の蛍光スペクトル 黒:Ex 291 nm, 赤:Ex 324 nm

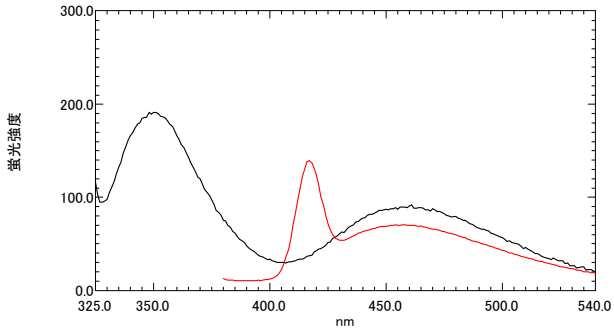

図 9　葉酸の蛍光スペクトル 黒:Ex 284 nm, 赤:Ex 365 nm

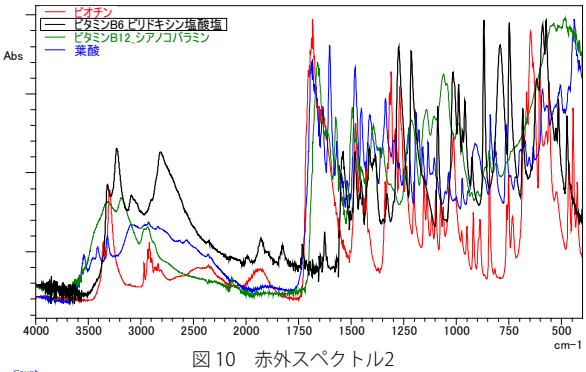

図 10　赤外スペクトル2

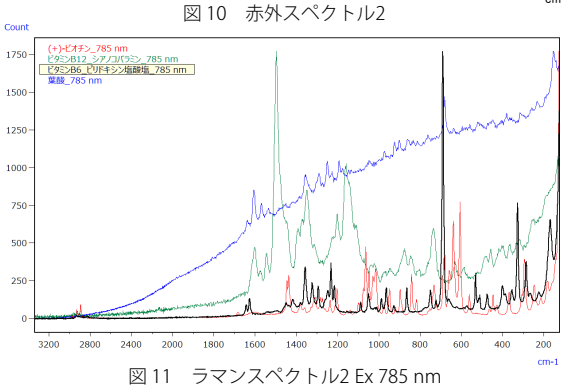

図 11　ラマンスペクトル2 Ex 785 nm

ビタミンB12は粉末状態で赤色を示し、紫外領域以外にも吸収ピークを示しました。ビタミンB6/葉酸は蛍光を示しました。葉酸は励起波長により、現れる蛍光スペクトルが異なることが分かりました。また粉末状態で蛍光が強いため、図11に示すラマンスペクトルでもベースラインが上昇していることが確認できました。

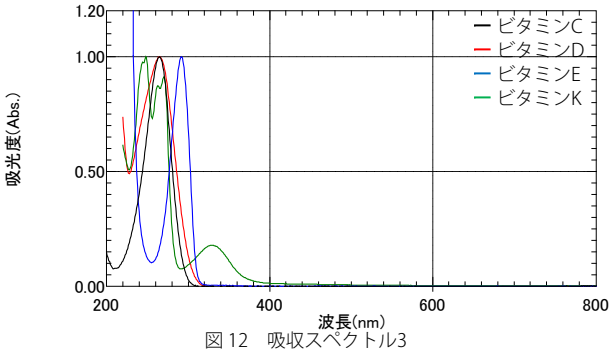

図 12　吸収スペクトル3

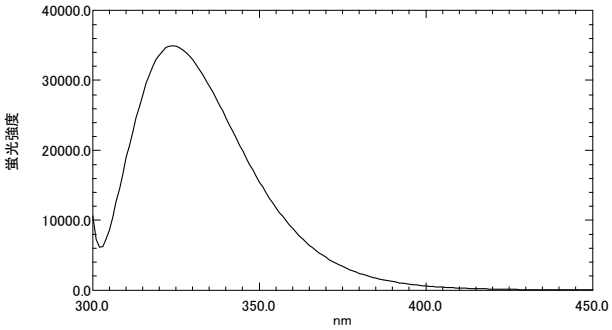

図 13　ビタミンEの蛍光スペクトル Ex 292 nm

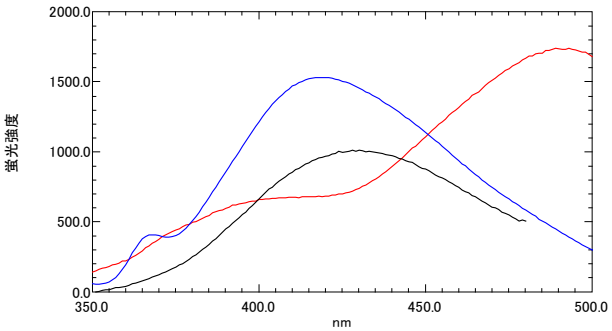

図 14　ビタミンKの蛍光スペクトル例
黒:Ex 248 nm, 赤:Ex 270 nm, 青:Ex 330 nm

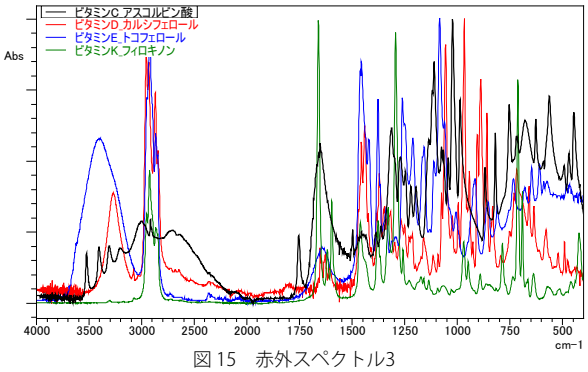

図 15　赤外スペクトル3

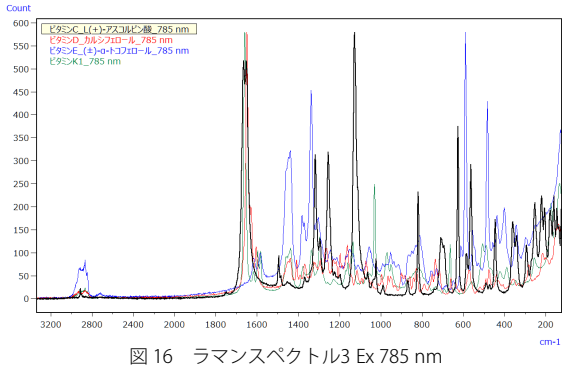

図 16　ラマンスペクトル3 Ex 785 nm

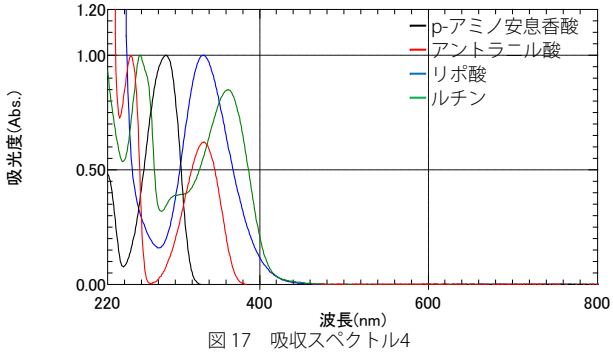

図 17　吸収スペクトル4

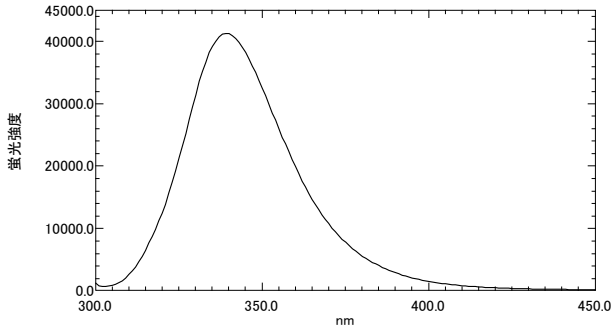

図 18　p-アミノ安息香酸の蛍光スペクトル Ex 287 nm

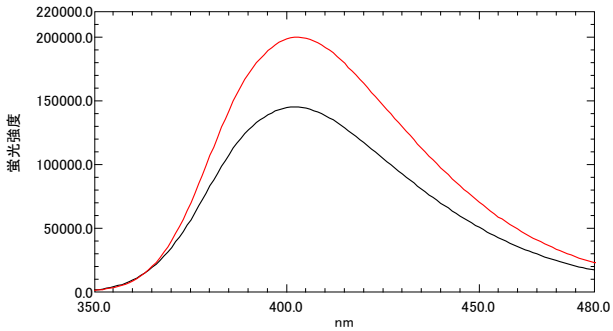

図 19　アントラニル酸の蛍光スペクトル
黒:Ex 333 nm, 赤:Ex 248 nm

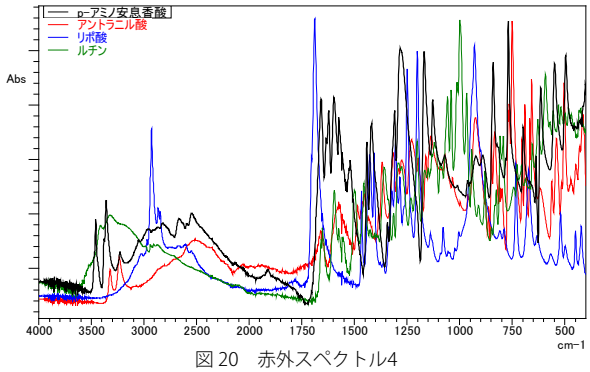

図 20　赤外スペクトル4

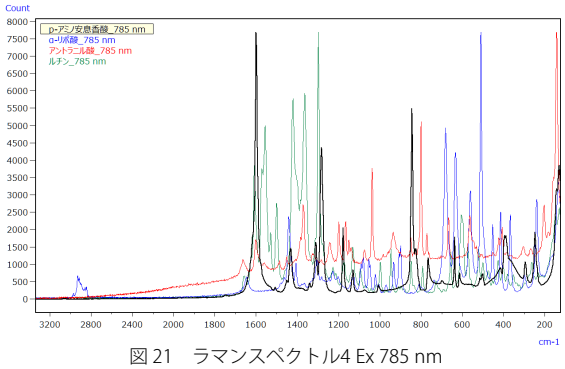

図 21　ラマンスペクトル4 Ex 785 nm

ビタミンE/Kは蛍光を示しました。ビタミンKは特に励起270 nmにおいて、信号が不安定でした。蛍光強度の増減だけでなく、ピークの有無にも変化が確認できました。そのため、図14はあくまで参考データです。

ビタミン様物質の中で、p-アミノ安息香酸/アントラニル酸は蛍光を示しました。アントラニル酸は励起波長が333 nmの場合の方が、蛍光強度が強く表れることが確認できました。

表 5　ビタミンおよびビタミン様類の光学特性

名称	測定試薬	溶媒	紫外領域吸収	蛍光の有無*1	赤外スペクトル	ラマンスペクトル*4 励起波長532 nm/785 nm
ビタミンA	ビタミンAパルミタート	クロロホルム	332 nm	約490 nm*2	○*3	○/○
ビタミンB1	チアミン塩酸塩	純水	234/265 nm	△	○*3	△/○
ビタミンB2	リボフラビン	水酸化ナトリウム	270/356/449 nm	約440*2/530 nm	○	×/○
ナイアシン	ニコチン酸	純水	262 nm	△	○	△/○
ビタミンB6	ピリドキシン塩酸塩	純水	291/324 nm	390 nm	○	△/○
ビオチン	ビオチン	水酸化ナトリウム	-	-	○	○/○
葉酸	葉酸	水酸化ナトリウム	256/284/364 nm	350/458 nm	○	×/△
ビタミンB12	シアノコバラミン	純水	278/361 nm	-	○	×/○
ビタミンC	アスコルビン酸	純水	265 nm	-	○	○/○
ビタミンD	カルシフェロール	エタノール	265 nm	-	○	○/○
ビタミンE	α-トコフェロール	エタノール	292 nm	324 nm	○*3	○/○
ビタミンK	フィロキノン	エタノール	248/270/330 nm	有(不安定)	○*3	×/○
ビタミン様物質	p-アミノ安息香酸	エタノール	289 nm	339 nm	○	○/○
ビタミン様物質	アントラニル酸	エタノール	247/334 nm	403 nm	○	△/○
ビタミン様物質	リポ酸	エタノール	333 nm	-	○*3	○/○
ビタミン様物質	ルチン	エタノール	258/363 nm	-	○	△/○

*1:蛍光の有無における△は、微弱な信号を示します。
*2:退色しやすいため、蛍光波長に約という表現を用い、おおよその領域を示しています。
*3:島津のライブラリにスペクトルはありません。
*4:ラマンスペクトルにおける△は、蛍光の影響があることを示してます。
　×は蛍光が非常に強いためラマンスペクトルの観測が困難でライブラリにはありません。

表5に測定試薬と用いた溶媒、紫外領域の吸収ピーク波長、蛍光の有無、赤外/ラマンスペクトルの有無を示します。

■まとめ

ビタミンおよびビタミン様物質を、紫外可視分光光度計、分光蛍光光度計、フーリエ変換赤外分光光度計（FTIR）、ラマン顕微鏡（ラマン分光光度計）で測定しました。紫外可視分光では溶液状態での紫外領域の吸収波長がわかり、定量測定に利用することができます。分光蛍光光度計では蛍光の有無がわかり、光学特性や試料によってはより微量な定量測定が可能です[2)]。FTIRやラマンでは、ライブラリの活用により、同定分析が容易にできることがわかりました。

島津製作所では、様々な種類の分光機器を扱っており、これらの装置を駆使することにより、様々な側面から分析して物質の分光特性を調べることができます。

<関連アプリケーション>

1. 食品開発　分析ソリューション
2. 紫外可視分光光度計と分光蛍光光度計の定量可能な濃度範囲の違い- Application News No.A615

IRSpirit、IRXross、およびAIRsightは、株式会社島津製作所またはその関係会社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 分析計測事業部
https://www.an.shimadzu.co.jp/
01-00995-JP　初版発行：2025年 10月

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。
本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、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。

© Shimadzu Corporation, 2025

アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。

UV-2600i Plus/UV-2700i Plus
紫外可視分光光度計

RF-6000
分光蛍光光度計

IRSpirit-X シリーズ
フーリエ変換赤外分光光度計

AIRsight™
赤外ラマン顕微鏡

関連分野

食品・飲料

色の評価

価格お問い合わせ

製品お問い合わせ

技術お問い合わせ

その他お問い合わせ