

ポストカラムHPLCによるビタミンB1の分析

GL-7400高速液体クロマトグラフィーを用いた、ポストカラムHPLCによるビタミンB1の分析をご紹介します。

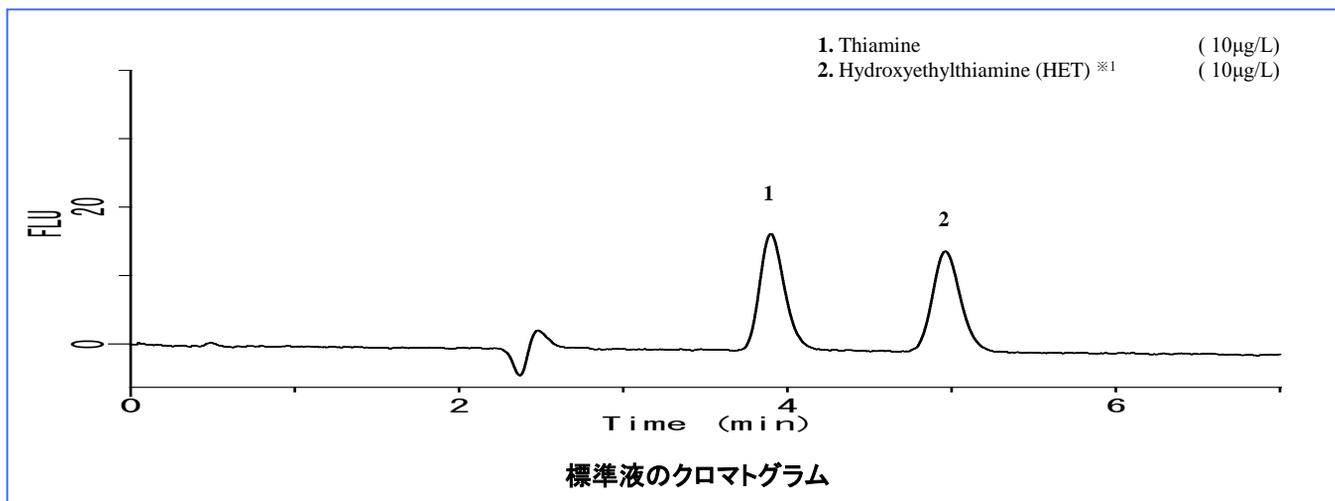
この分析は、ビタミンB1であるチアミンりん酸エステル類を酵素処理しチアミンを生成させた後、抽出液をカラムクロマトにより精製しHPLCに注入する手法です。

ODSカラムで分離されたチアミンは、アルカリ条件下でフェリシアン化カリウムと反応させることで、蛍光物質

のチオクロームが生成され、蛍光検出器を用いて選択的かつ高感度に検出することができます。

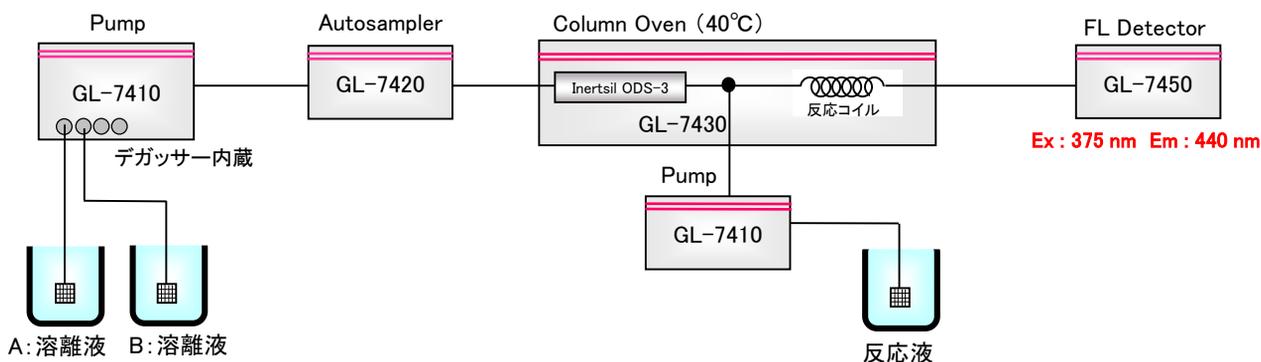
また、カラムクロマト精製では、食品衛生検査指針で示されているパームチット法ではなく、参考法として記載されている、固相カートリッジを用いました。固相カートリッジを使うことで、より簡便に前処理が可能になりました。

ビタミンB1の分析



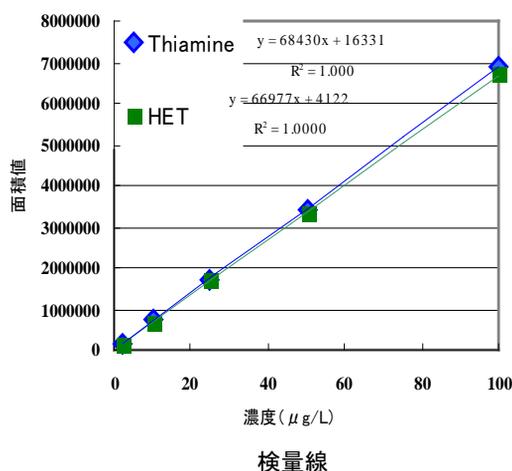
※1: ヒドロキシエチレンチアミンもB1に含まれます。

分析条件・流路図

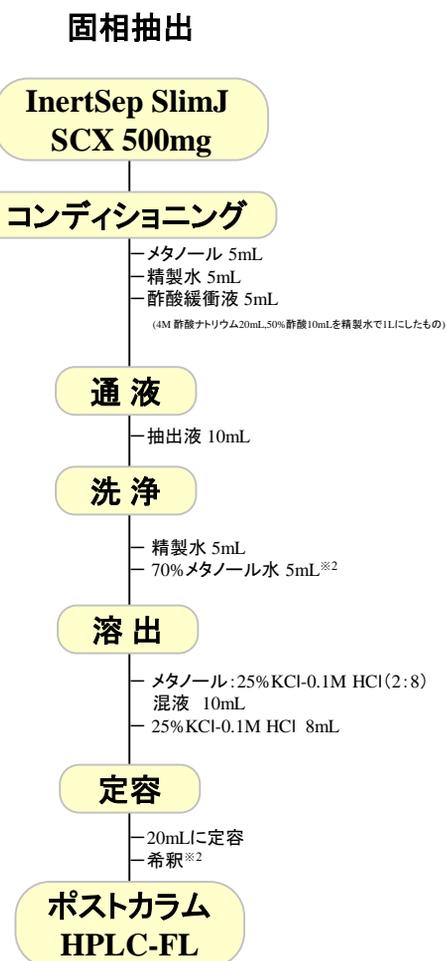
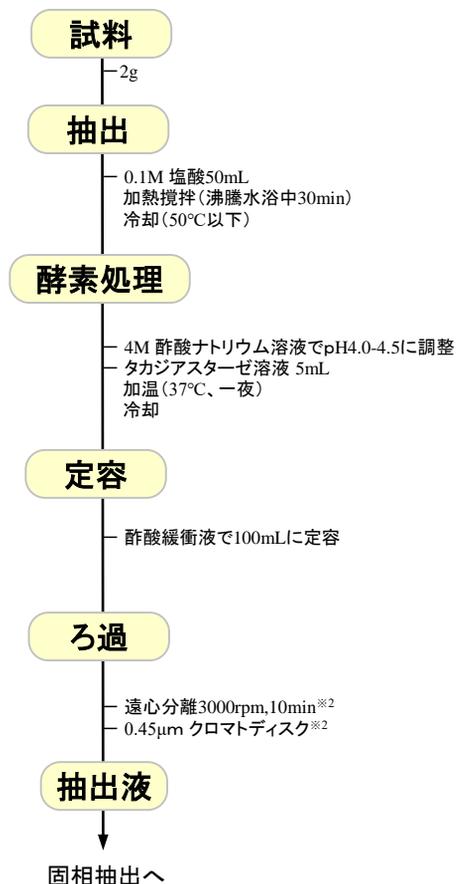


HPLC 条件

- ・ カラム Inertsil ODS-3 (5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.)
- ・ 温度 40°C
- ・ 検出器 FL Ex 375 nm Em 440 nm
- ・ 注入量 20 μ L
- ・ 溶離液 : A) CH₃OH B) りん酸緩衝液
A/B = 1/9, v/v
- ・ 流速 : 0.8 mL/min
- ・ 反応液 : 0.05w/v% フェリシアン化カリウム
+15w/v% NaOH, 0.4mL/min
- ・ 反応コイル : 長さ5m, 内径0.33mm
りん酸緩衝液 : 0.01M りん酸二水素ナトリウム
+0.15M 過塩素酸ナトリウム混液 (pH2.2)



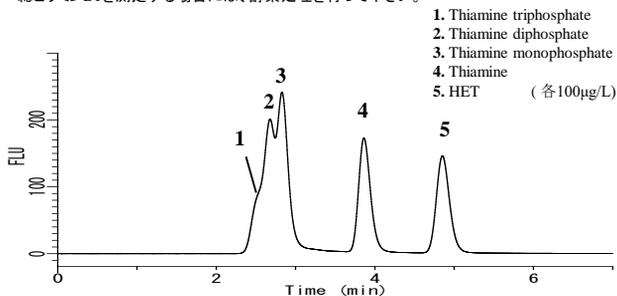
食品中ビタミンB1前処理例



※2:この行程は必要に応じて行って下さい。

チアミンりん酸エステル

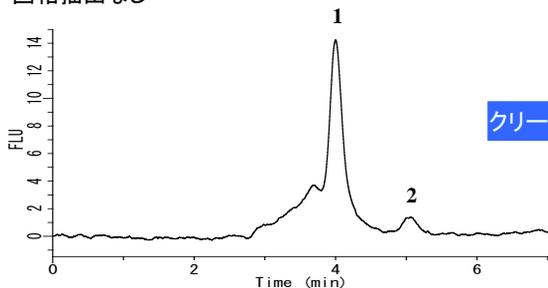
下図のクロマトグラムは、酵素処理を行わなかったときの測定例です。
総ビタミンB1を測定する場合には、酵素処理を行って下さい。



固相抽出の効果(うなぎの蒲焼抽出液)

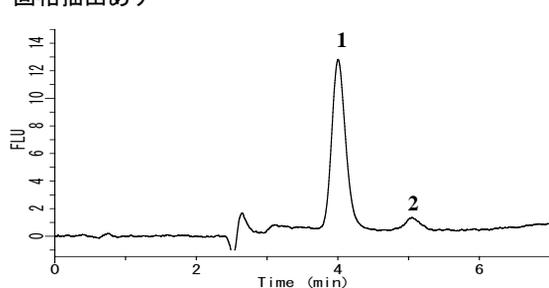
固相抽出を行うことで、夾雑物の除去が可能です。

固相抽出なし



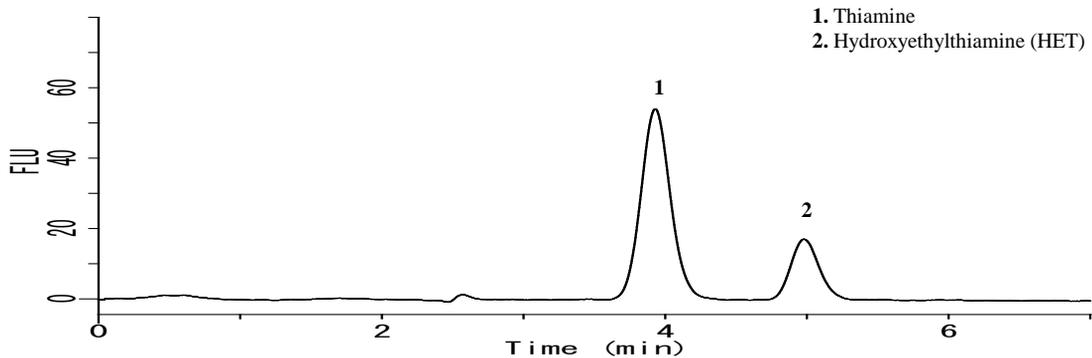
クリーンアップ

固相抽出あり

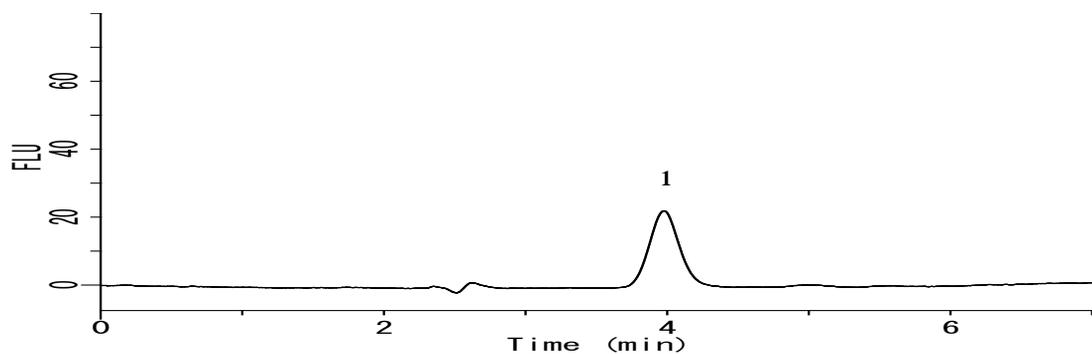


食品中ビタミンB1測定例

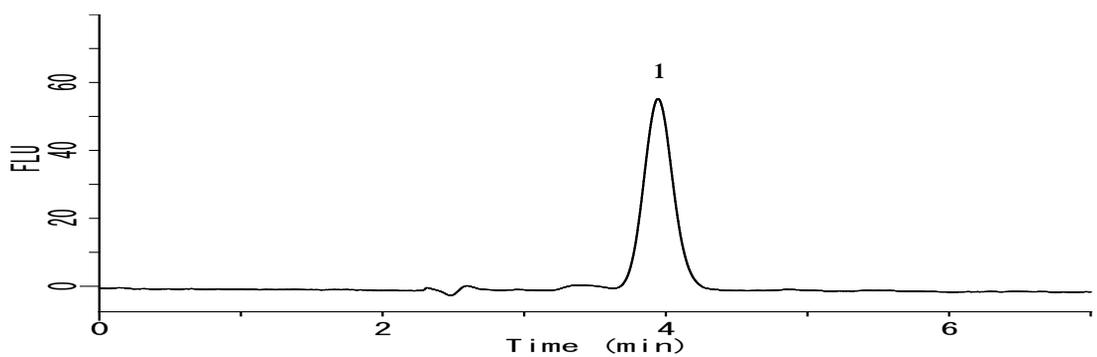
豚肉抽出液



ほうれん草抽出液

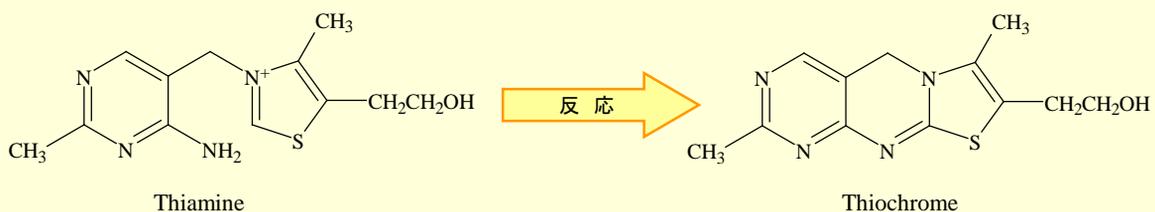


粉ミルク抽出液



チオクローム蛍光化

チオクロームとは、アルカリ性溶液中のチアミンにフェリシアン化カリウムやブロムシアンを作用させると生じる蛍光物質で、この青紫色の蛍光がビタミンB1の定量に用いられます。

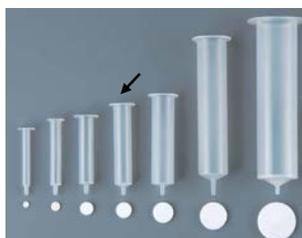


使用装置・器具



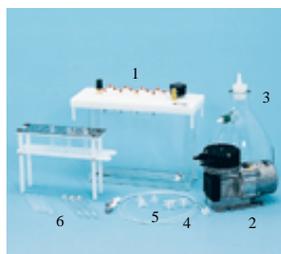
固相カラム:

InertSep SlimJ SCX
500mg 50本入り(包装単位5個)
Cat. No. 5010-65540
(写真左側)



エンプティリーザーバー:

12mL フリットなし 20本入り
Cat. No. 5010-60103
(写真下はフリットです。フリットなし
タイプには含まれません。
左から4番目のサイズです。)

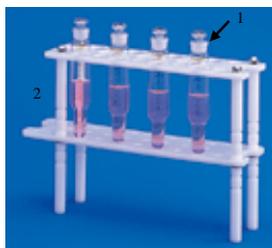


固相抽出マニホールド:
GL-SPE吸引マニホールドシステム

Cat.No. 5010-50001

内容:

1. 吸引マニホールドキット
2. ダイアフラム真空ポンプ
3. 吸引ろ過ビン
4. 減圧ホース
5. ストップコック
6. スピッツ管(2種類)



試験管と試験管ラック:

1. GL-SPE濃縮管1.0mL&2.0mLメス/20mL 6本入
Cat. No. 5010-51020
2. SPE吸引マニホールド用 20mL濃縮管受けラック
& ロートセット
Cat. No. 5010-50037

HPLC装置: GL-7400 シリーズ

分析カラム:

Inertsil ODS-3 5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.
Cat.No. 5020-01731

番号	品名	型番
1	蛍光検出器	GL-7453
2	ポンプ × 2台	GL-7410
3	キャリアリザーバー	GL-7480
4	カラムオーブン	GL-7430
5	オートサンプラー	GL-7420



ジールサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることを
お勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しましては、
当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告
無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。
お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html