

今回は、GL-7400高速液体クロマトグラフィーを用いた、ビタミンB2類の分析(下記項目参照)をご紹介します。

1. 総ビタミンB2の分析
2. リボフラビン及びリボフラビンりん酸エステルの一斉分析
3. リボフラビン酪酸エステルの分析

1. 総ビタミンB2の分析

食品中のビタミンB2活性を持つ成分として、リボフラビンやリボフラビンりん酸エステル類があります。

ここでは、食品衛生検査指針に従い、B2活性をもつ成分を酵素分解によりリボフラビンに変化させ、リボフラビンとして測定する方法をご紹介します。

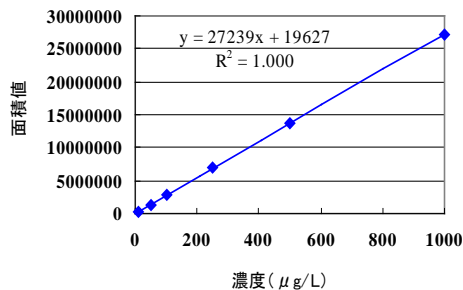
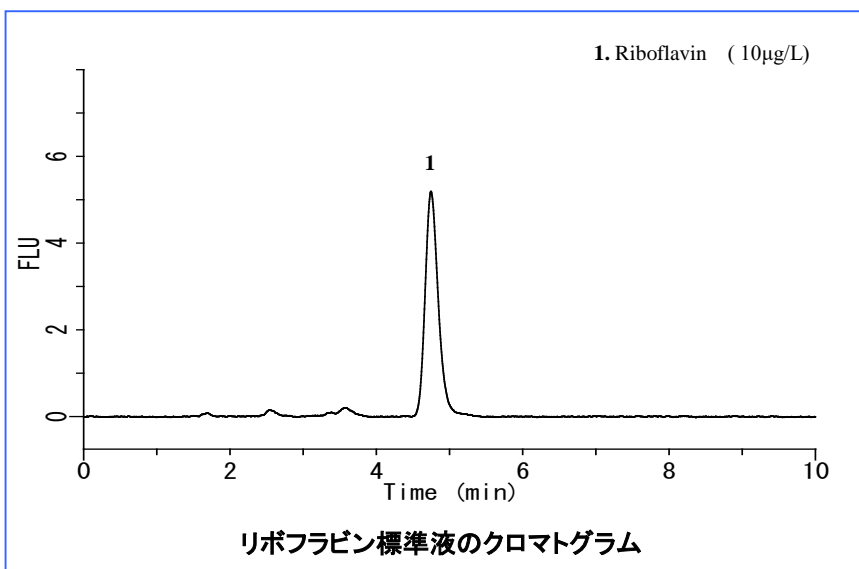


Fig. リボフラビンの検量線

HPLC 条件

- ・ カラム Inertsil ODS-3 (5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.)
 - ・ 温度 40 $^{\circ}$ C
 - ・ 検出器 FL Ex 445 nm Em 530 nm
 - ・ 注入量 20 μ L
 - ・ 溶離液 : A) CH₃OH B) Acetic Acid Buffer
A/B = 35/65, v/v
 - ・ 流速 : 1.0 mL/min
- Acetic Acid Buffer :
4M 酢酸ナトリウム溶液40mLと50%酢酸溶液20mLを混ぜ
精製水で2Lに溶解したもの(pH4.5)

前処理例

試料

2g

抽出

0.1M 塩酸50mL
加熱攪拌(沸騰水浴中30min)
冷却(50 $^{\circ}$ C以下)

酵素処理

4M 酢酸ナトリウム溶液でpH4.0-4.5に調整
タカジアスターゼ溶液 5mL
加温(37 $^{\circ}$ C、一夜)
冷却

定容

酢酸緩衝液で100mLに定容

ろ過

0.45 μ m クロマトディスク

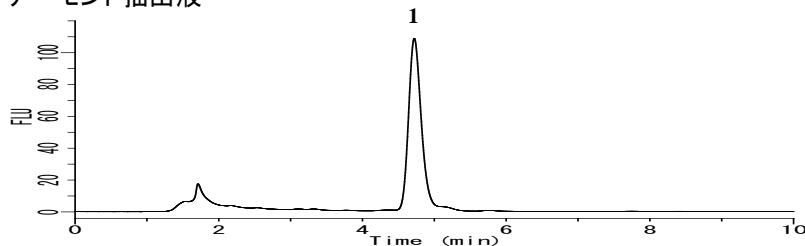
HPLC-FL ※1

※1 一般的な食品中のビタミンB2は微量であるため、
蛍光検出器による高感度分析が必要となります。

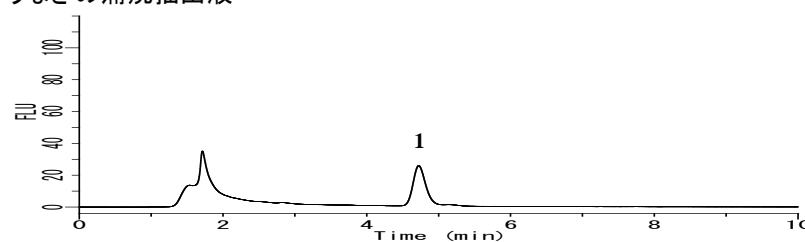
測定例

1. Riboflavin

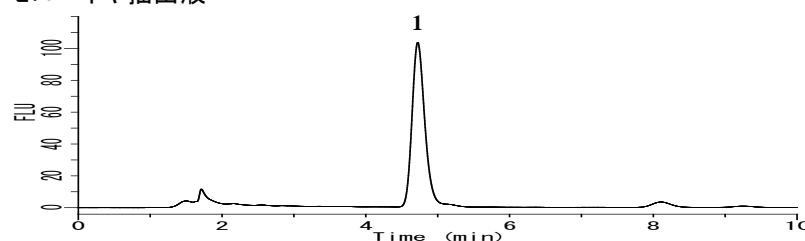
アーモンド抽出液



うなぎの蒲焼抽出液

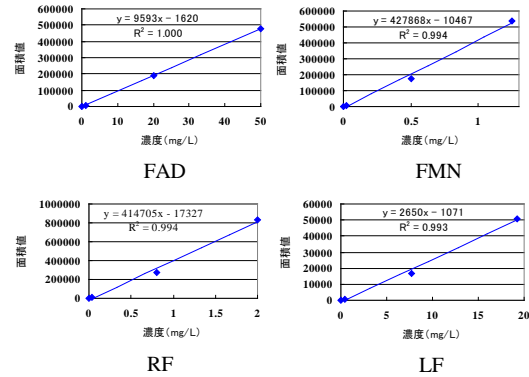
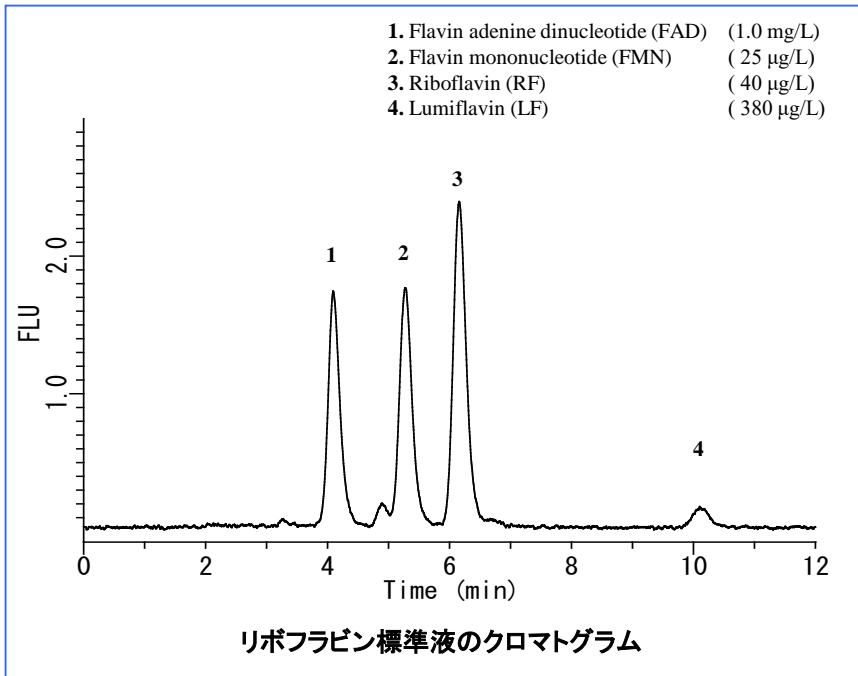


モロヘイヤ抽出液



2. リボフラビン及びリボフラビンりん酸エステルの一斉分析

リボフラビン(RF)は、細胞内でリン酸やATPと結合し、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)とフラビンモノヌクレオチド(FMN)になります。また、光により分解されるとルミフラビン(LF)となります。ここでは、リボフラビンを含めたビタミンB2類4成分の一斉分析を行いました。



HPLC 条件

- ・ カラム Inertsil ODS-3 (5µm, 150 x 4.6 mm I.D.)
 - ・ 温度 40°C
 - ・ 検出器 FL Ex 445 nm Em 530 nm
 - ・ 注入量 20µL
 - ・ 溶離液 : A) CH₃OH B) 0.01M NaH₂PO₄(pH 5.5) A/B = 35/65, v/v
 - ・ 流速 : 0.8 mL/min
- (参考文献: 新・食品分析法 P.392 ISBN 4-7712-9604-9)

前処理例

試料

2g

抽出

ホモジナイズまたは乳鉢
水50mL
加温(80°C、15min)
冷却

定容

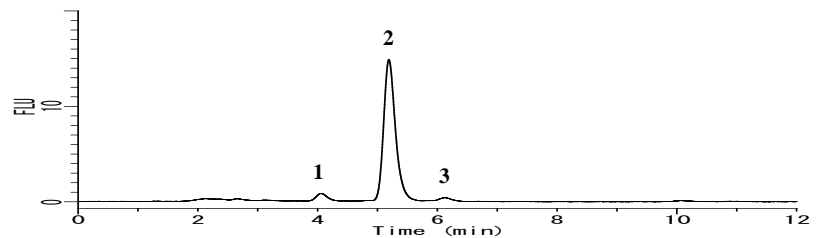
水で定容
必要に応じて希釈

HPLC-FL※1

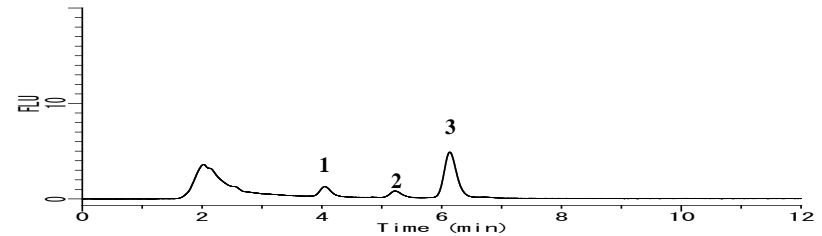
※1 一般的な食品中のビタミンB2は微量であるため、蛍光検出器による高感度分析が必要となります。

測定例

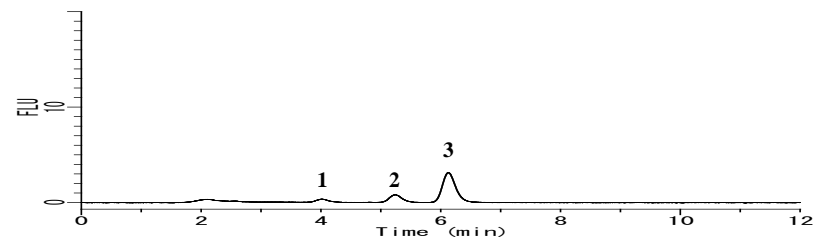
アーモンド抽出液



うなぎの蒲焼抽出液



モロヘイヤ抽出液



3. リボフラビン酪酸エステルの分析

リボフラビン酪酸エステルである四酪酸リボフラビンは、脂溶性ビタミンB2とも言われ、高コレステロール改善薬としてサプリメントや栄養ドリンクなどに添加されています。

本項では、食品衛生検査指針にある参考法に従って四酪酸リボフラビンの分析を行いました。

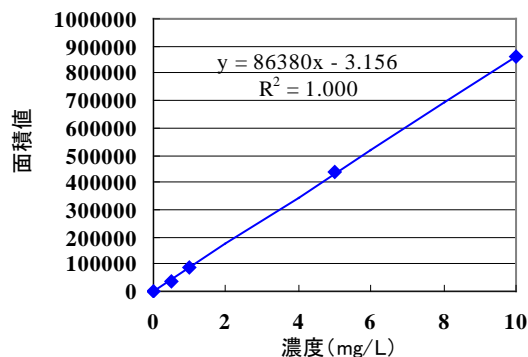
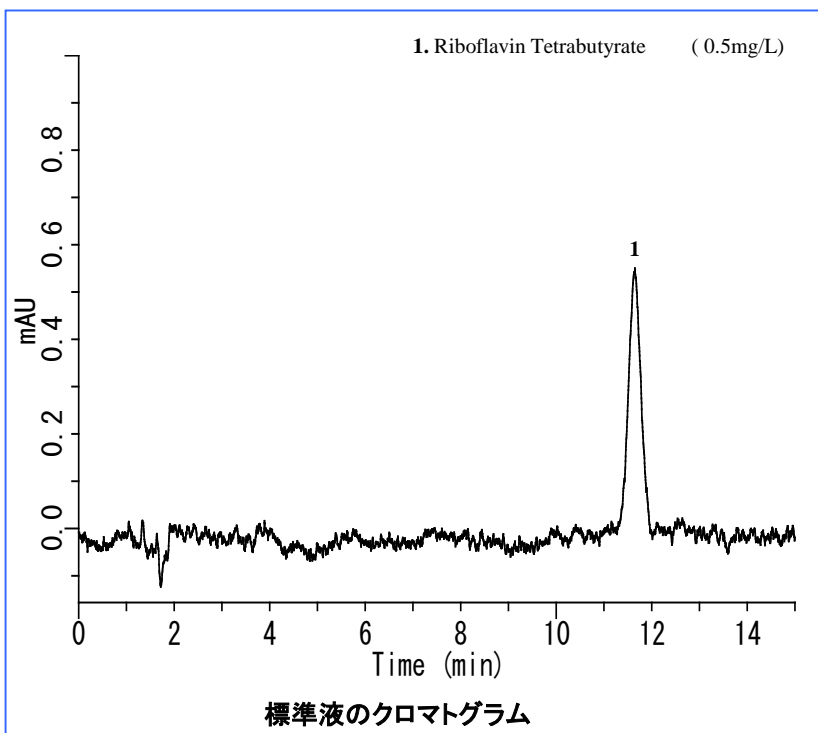
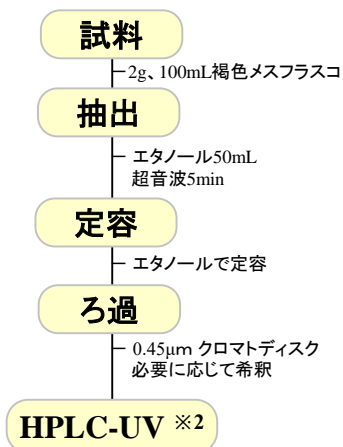


Fig. 四酪酸リボフラビンの検量線

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 UV445nm
- ・ 注入量 20 μ L
- ・ 溶離液 : A) CH₃CN B) H₂O
A/B = 3/2, v/v
- ・ 流速 : 1.0mL/min

前処理例

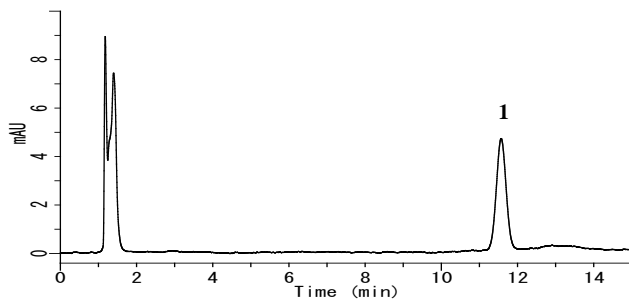


※2 酪酸リボフラビンは、サプリメント等に高温で添加されているケースが多く、UV検出器での分析が可能です。

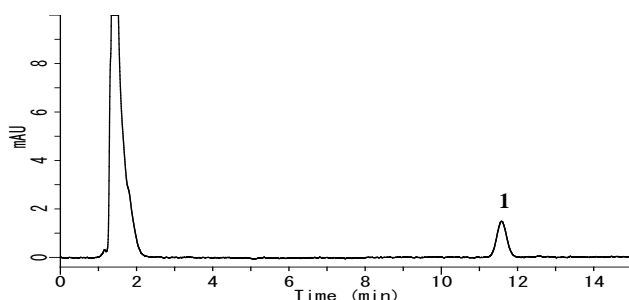
測定例

1. Riboflavin Tetrabutryrate

栄養ドリンク



サプリメント(錠剤)



使用装置・器具



フィルター : GLクロマトディスク 水系/非水系(兼用)
Cat.No. 5040-28542

HPLC装置: GL-7400 シリーズ

分析カラム: Inertsil ODS-3 5 μ m, 150mm \times 4.6mm I.D.
Cat.No. 5020-01731

番号	品名	型番
1	UV検出器	GL-7450
2	蛍光検出器	GL-7453
3	ポンプ	GL-7410
4	キャリアリザーバー	GL-7480
5	カラムオープン	GL-7430
6	オートサンプラー	GL-7420

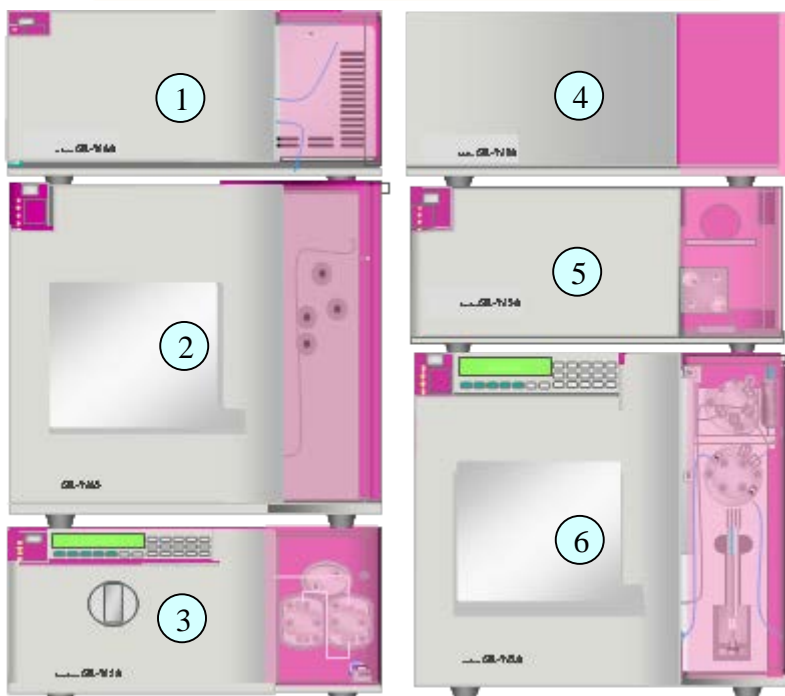
※UV検出器は、リボフラビン酪酸エステルの
分析時にのみ必要です。

Coffee Break

“Vitamin“という呼称は、ポーランドのフंकによって名付けられました。その由来は、“生命活動に必要なアミン(= Vital amine)”からです。

ちなみに、ビタミンを世界ではじめて抽出したのは日本人だということをご存知でしょうか？

その日本人は鈴木梅太郎という博士で、1910年、お米からはじめて抽出しました。その成分はイネの学名Oryza sativaから“オリザニン(Oryzanin)”と命名されました。しかし、そのとき日本という国は日露戦争の頃で、まだ世界に認められる国にはなっていませんでした。鈴木博士が発見した翌年の1911年、フंकがオリザニンと同じ物質を発見(?)し、彼によりビタミン B1と名付けられ、その名が世界で認められるようになりました。



〒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薦めします。

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