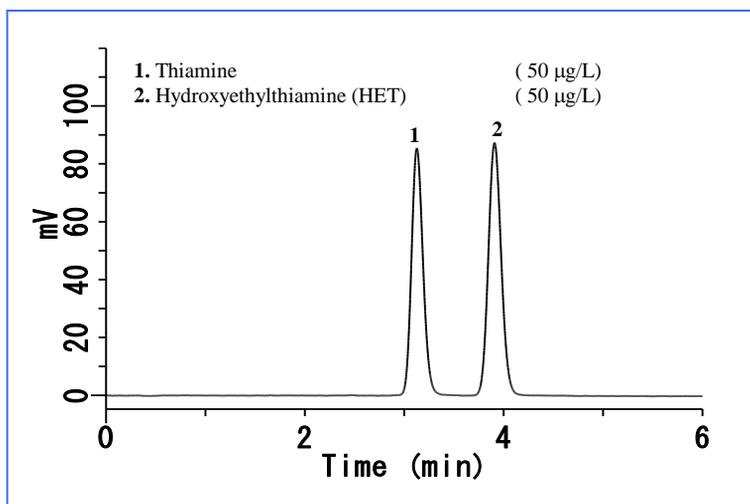


GL7700高速液体クロマトグラフィーを用いた、ビタミンB1とB2の分析をご紹介します。

ビタミンB1は、チアミンリン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にて分析します。ビタミンB2は、リボフラビンやリボフラビンリン酸エステル類を酵素処理して総リボフラビンとしてHPLCにて分析します。これらのリン酸エステル類を酵素処理する際の活性酵素としてタカヂアスターゼが一般的に使われています。しかし、近年タカヂアスターゼは非常に入手困難になってきています。今回は、代替の活性酵素として酸性ホスファターゼを用いて処理し、GL7700にて良好な分析結果が得られましたのでご紹介します。

## ビタミンB1の標準品分析例

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。



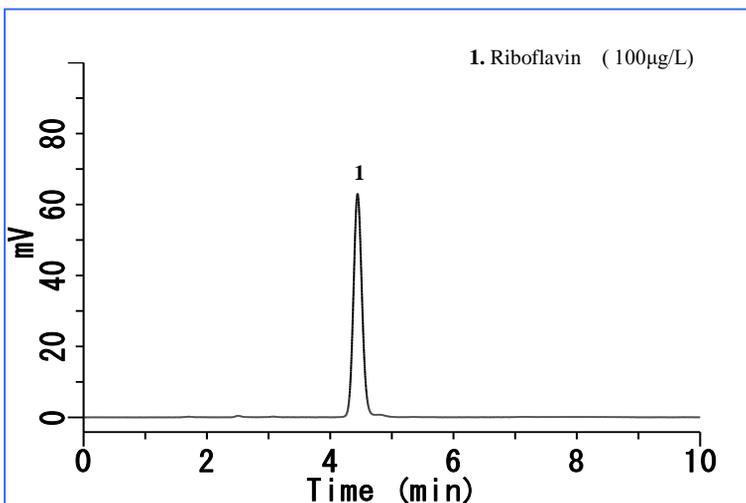
ビタミンB1標準液のクロマトグラム

### HPLC 条件(ビタミンB1)

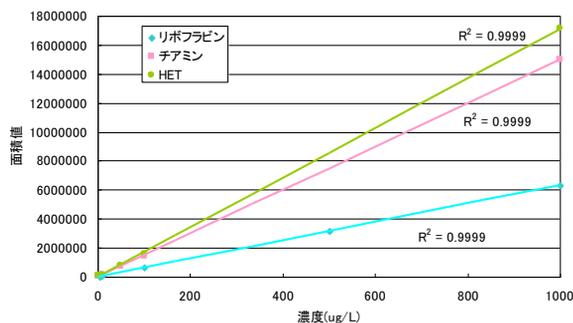
- ・ カラム Inertsil ODS-3 (5 µm, 150 x 4.6 mm I.D.)
- ・ 温度 40°C
- ・ 検出器 FL Ex 375 nm Em 440 nm
- ・ 注入量 20µL
- ・ 溶離液 : A) CH<sub>3</sub>OH B)リン酸緩衝液  
A/B = 1/9, v/v
- ・ 流速 : 1.0 mL/min
- ・ 反応液 : 0.05 w/v% フェリシアン化カリウム  
+15 w/v% NaOH, 0.4 mL/min
- ・ 反応コイル :長さ5 m, 内径0.33 mm, PTFE
- リン酸緩衝液 : 0.01 M リン酸二水素ナトリウム  
+0.15 M 過塩素酸ナトリウム混液 (pH2.2)

## ビタミンB2の標準品分析例

リボフラビンは自然蛍光物質であるため、ODSカラムで分離した後に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。



ビタミンB2標準液のクロマトグラム

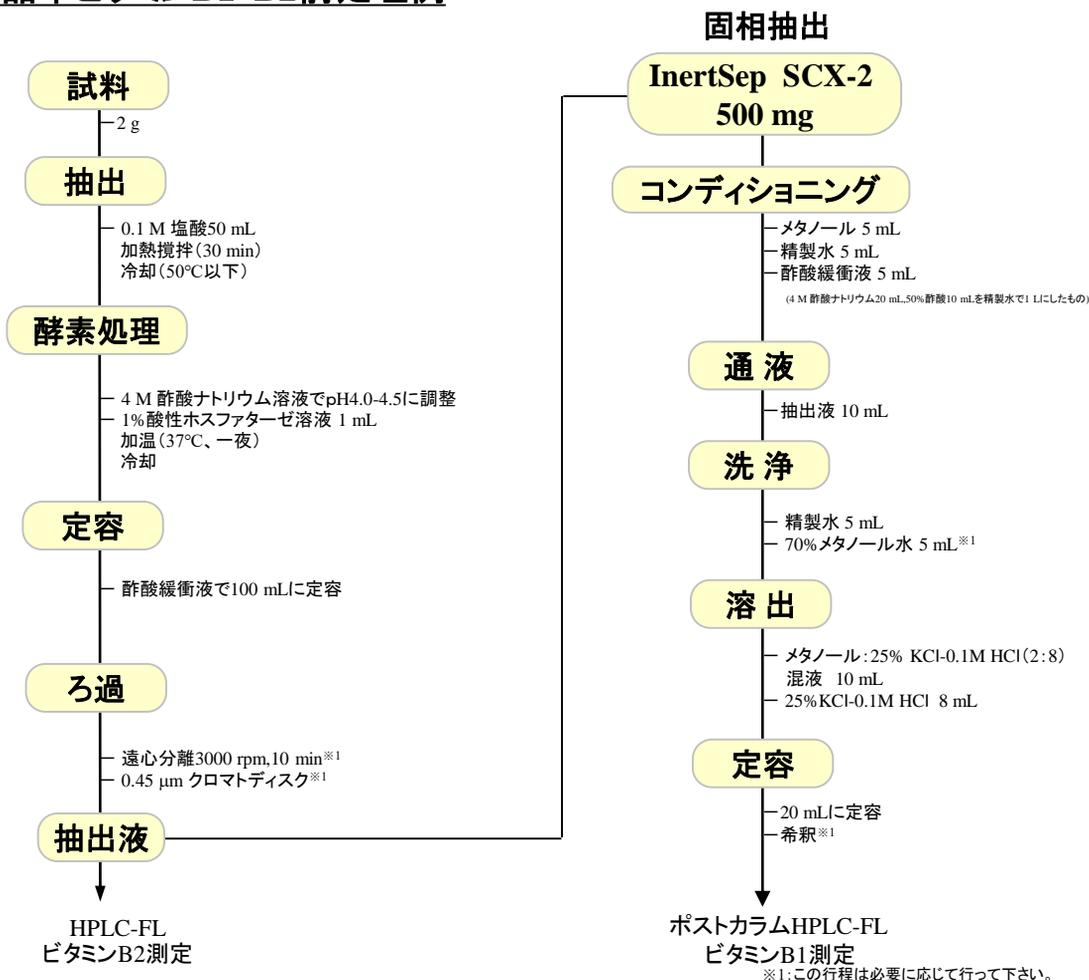


検量線

### HPLC 条件(ビタミンB2)

- ・ カラム Inertsil ODS-3  
(5 µm, 150 x 4.6 mm I.D.)
- ・ 温度 40°C
- ・ 検出器 FL Ex 445 nm Em 530 nm
- ・ 注入量 20 µL
- ・ 溶離液 : A) CH<sub>3</sub>OH B)酢酸緩衝液  
A/B = 35/65, v/v
- ・ 流速 : 1.0 mL/min
- 酢酸緩衝液 :  
4 M 酢酸ナトリウム溶液40 mLと50% 酢酸溶液20 mLを混ぜ精製水で2 Lに溶解したもの (pH4.5)

# 食品中ビタミンB1・B2前処理例



HPLCカラム  
Inertsil ODS-3 5 μm, 150 x 4.6 mm I.D.  
Cat.No. 5020-01731

固相カートリッジ  
InertSep SCX-2 500 mg/6 mL  
Cat.No. 5010-61724

フィルター  
GLクロマトデュスク 水系 25A 0.45 μm  
Cat. No. 5040-28512

## DigiTUBEs 125 mL

メスシリンダーと同精度の目盛りがあり、加熱抽出操作・酵素処理・定容の一連の操作を一つの容器で行うことができます。

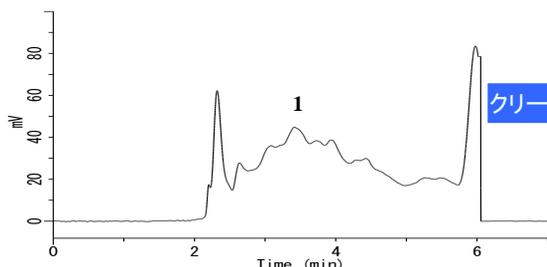
DigiTUBEs 125 mL 300本入り  
Cat.No. 8520-50194



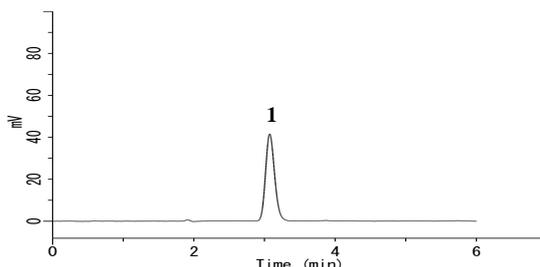
## 固相抽出の効果(市販インスタントラーメン)

ビタミンB1分析では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



固相抽出あり



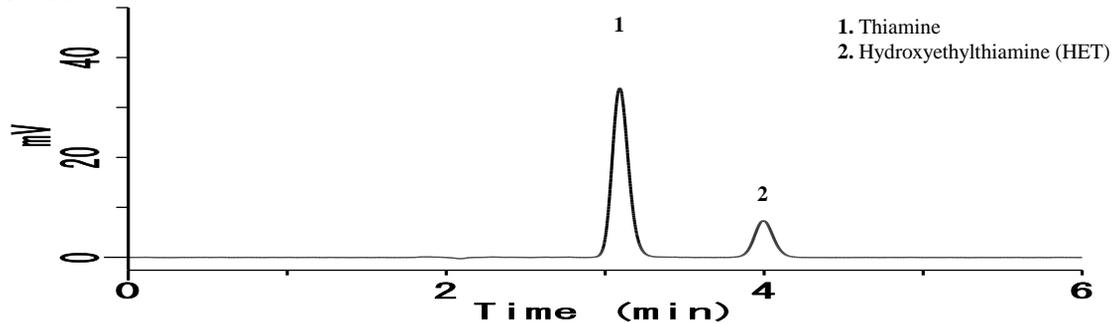
1. Thiamine

## 実サンプル分析例

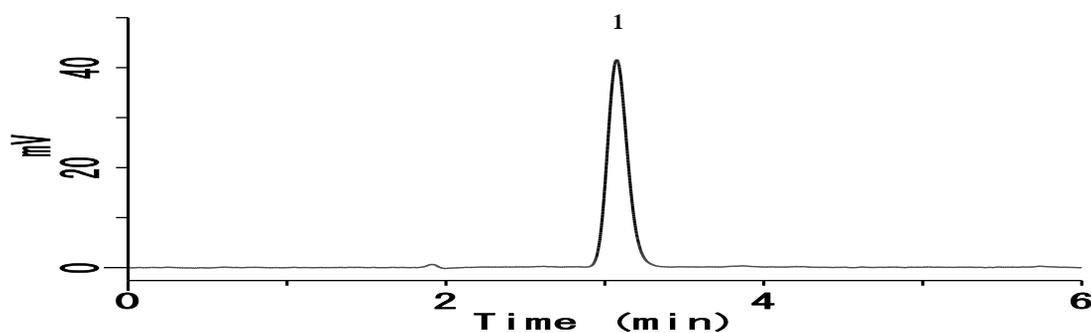
リン酸エステル類の分解酵素として酸性ホスファターゼを使用し、チアミン、リボフラビンの両成分とも1本ピークとなり良好な結果が得られました。

### 食品中ビタミンB1

牛肉抽出液

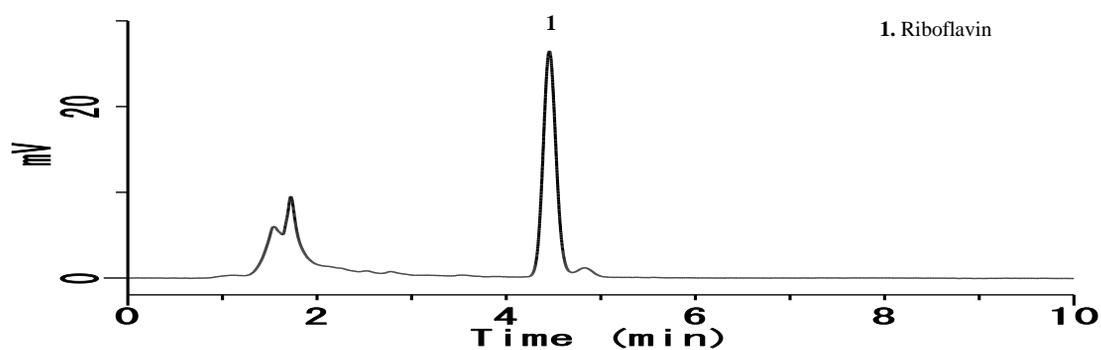


市販インスタントラーメン

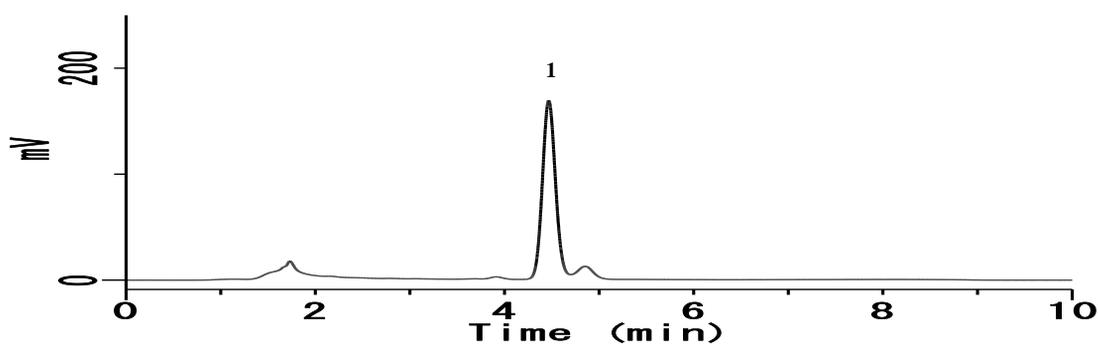


### 食品中ビタミンB2

牛肉抽出液

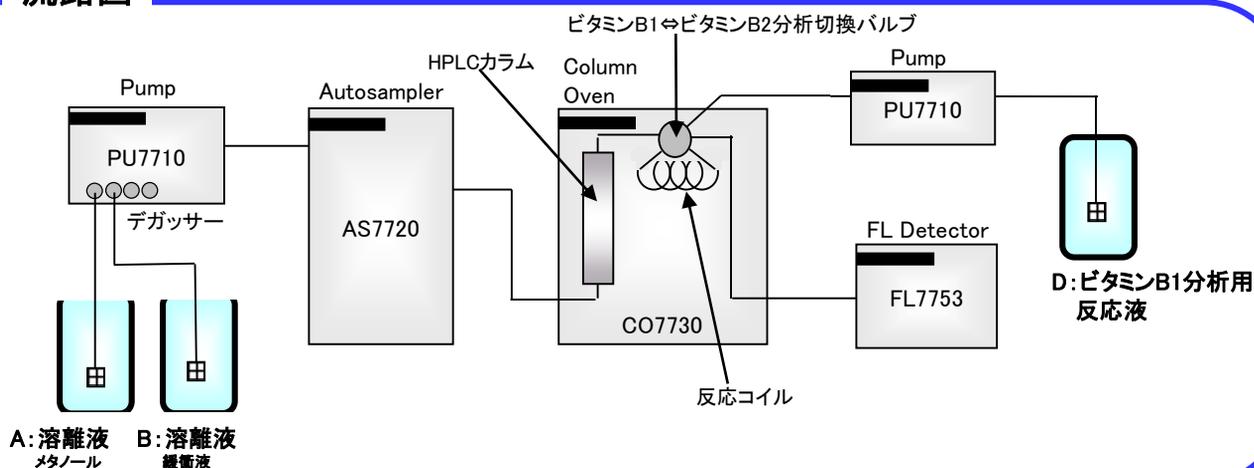


市販インスタントラーメン



ビタミンB1分析ではフェリシアン化カリウムと反応させるポストカラムシステムを使用します。一方、ビタミンB2は自然蛍光物質であるためポストカラムシステムは使用する必要がありません。GL7700 HPLCシステムは切換バルブをオープン内に設置しソフトウェアにて制御することができるため、ビタミンB1とビタミンB2の分析を簡単に切り換えることが可能です。

## 流路図



A: 溶離液  
メタノール  
B: 溶離液  
緩衝液

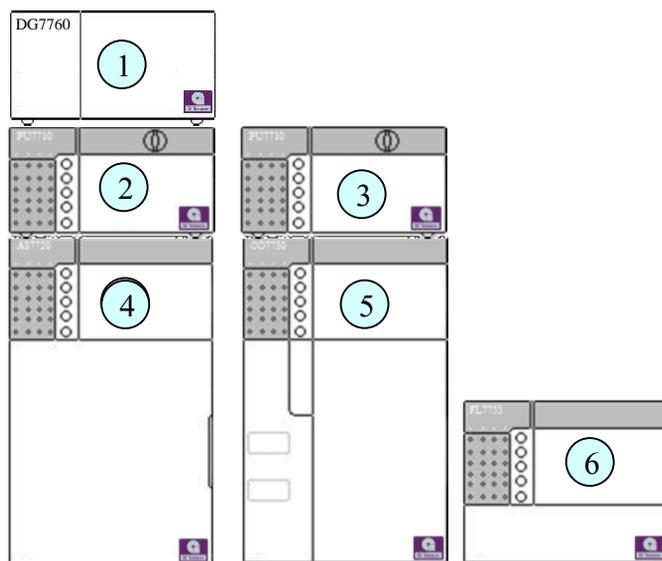
D: ビタミンB1分析用  
反応液

## 分析装置: GL7700 シリーズ

### ビタミンB類分析システム

番号	品名	型式
①	脱気装置	DG7760
②	送液ポンプ(溶離液用)	PU7710
③	送液ポンプ(反応液用)	PU7710
④	オートサンプラー	AS7720
⑤	カラムオープン	CO7730
⑥	蛍光検出器	FL7753

その他: 流路切換用の2ポジションバルブをオープン内に内蔵可能です。



**ジーエ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ても、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](https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html)