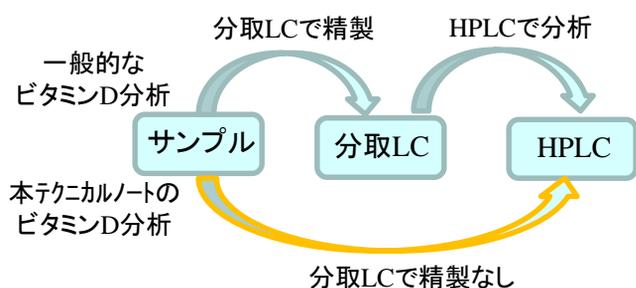


食品中のビタミンDには、きのこ等の植物性食品に含まれるビタミンD2(カルシフェロール)と粉ミルク・精肉・たまご・魚等の動物性食品に含まれるビタミンD3(コレカルシフェロール)があります。また、より活性の高い成分として、代謝物の25-ヒドロキシビタミンD3や1 α ,25-ジヒドロキシビタミンD3があります。

食品中のビタミンD含有量は100gあたり数 μ gと微量で、夾雑物との分離が困難なことから、分析の前処理は、脂質を除くために加水分解をし、溶媒抽出を行います。その後、テクニカルノートNo33でご紹介したように得られた抽出液を分取LCで濃縮・精製し、次にHPLCで分析する2段階に分けた方法をとるのが一般的です。

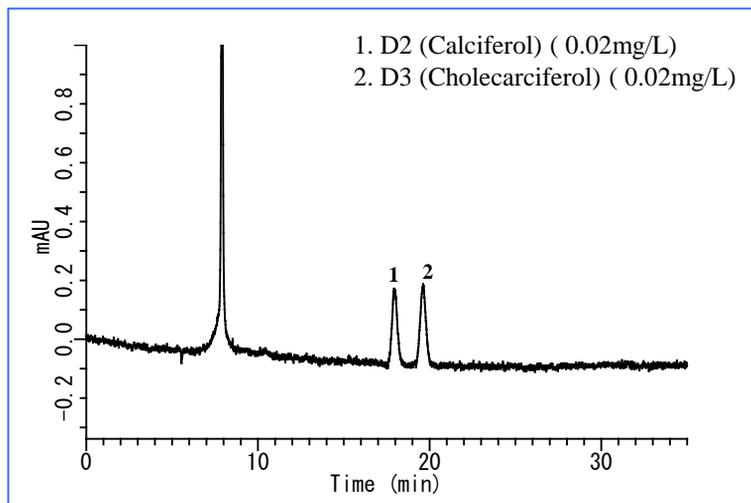
今回、Inertsil Diolを用いたサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を主とする分離にて溶媒抽出後のサンプルを精製し、ハートカット法により分析カラムへ直接導入することで、LC分取で濃縮・精製せずに1段階で分析ができましたのでご報告いたします。

(K. Kanno)

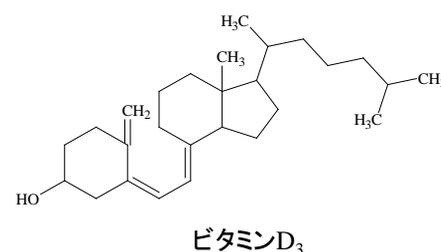
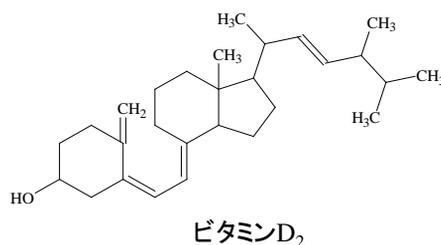


ビタミンD標準液の分析例

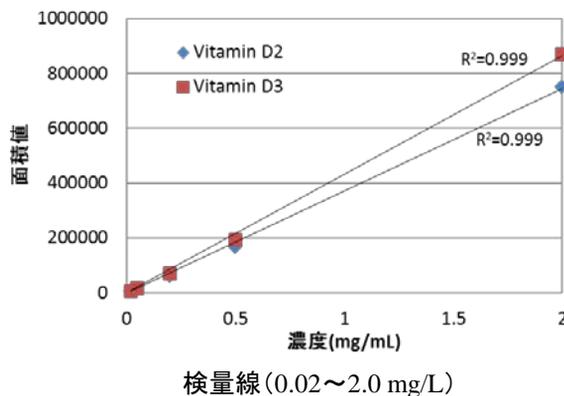
前処理カラムにサンプルを注入し精製した後、ビタミンDの溶出するタイミングでバルブを切り換えODSカラムへハートカット法にて注入してカラム分離します。



構造式



Structures are created using Chemistry 4-D Draw which is provided by ChemInnovation Software, Inc.



HPLC 条件

- ・ カラム
- 分析カラム Inertsil ODS-P (5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.)
- 前処理カラム Inertsil Diol (5 μ m, 250 x 7.6 mm I.D.)
- ・ 温度 40°C
- ・ 検出器 UV 265 nm
- ・ 注入量 300 μ L
- ・ 流速

メインカラム 1.5 mL/min
前処理カラム 1.5 mL/min (0~7分、25分~)
0.5 mL/min (7~25分)

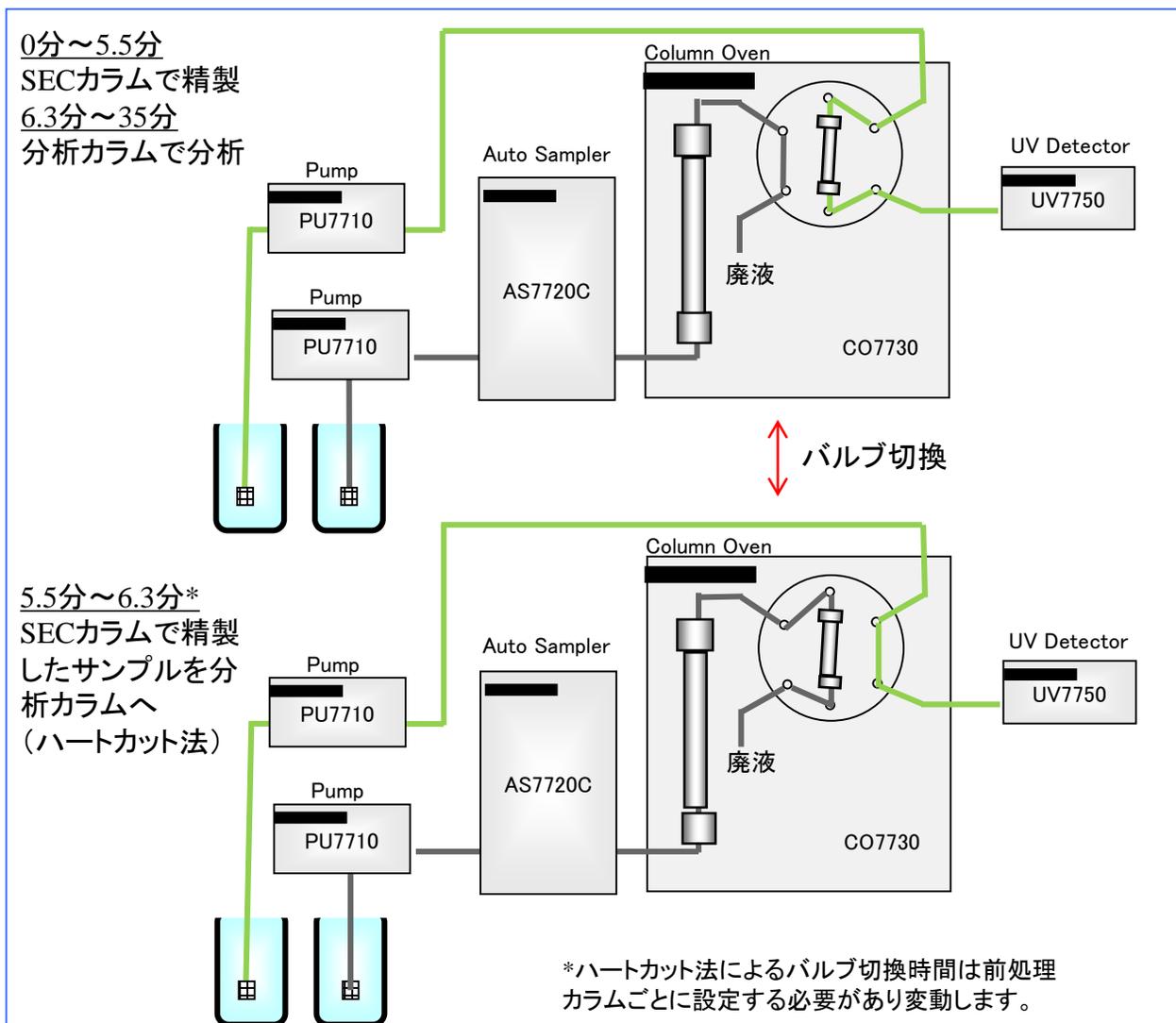
・バルブ切換タイミング例(前処理カラムごとに異なります)

0~5.5分 ポジション0
5.5~6.3分 ポジション1
6.3分~ ポジション0

・ 移動相
前処理カラム アセトニトリル
分析カラム アセトニトリル

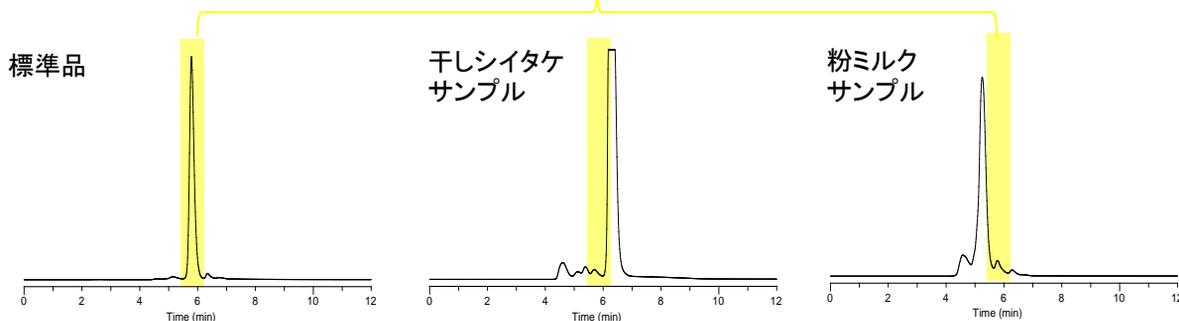
流路図

下記の例では前処理カラムからビタミンD2とビタミンD3のピークが溶出する、5.5分～6.3分*にバルブを切り換え、目的成分の溶出する区間のみをハートカット法により分析カラムへ注入します。

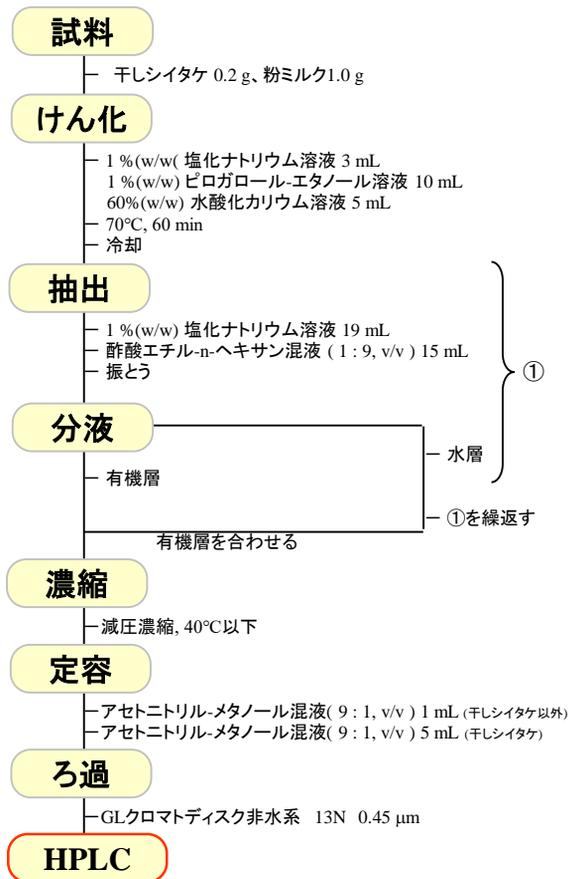


前処理カラムのみのクロマトグラム

ハートカット法にて、5.5分～6.3分*に溶出するピークのみを分析カラムへ導入



食品中のビタミンD 前処理例



DigiTUBEs 100 mL

DigiTUBEs 100 mL 300本入

Cat.No. 8520-50195

50 mLと100 mL目盛の誤差が±0.50mLとなり、室温～110°Cの範囲で使用可能な使い捨て容器です。けん化・抽出操作等の一連の操作を1つの容器で行うことができます。また、使い捨て容器であるため洗浄の手間を削減できます。



フィルター

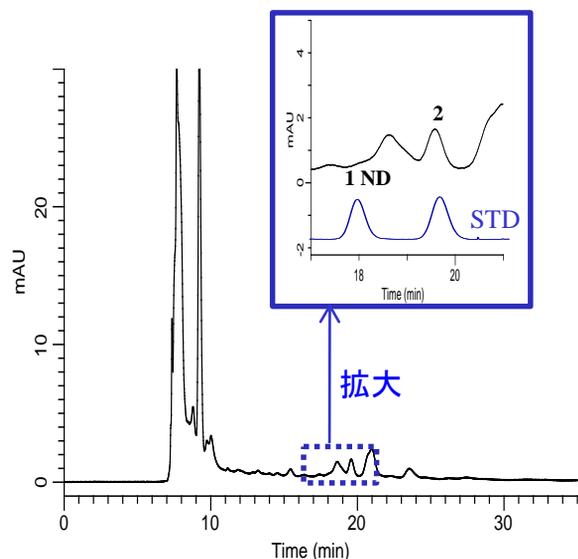
GLクロマトディスク 非水系13N 0.45 μm
100個入 Cat.No. 5040-28531

実サンプル分析例

市販粉ミルク

1. ビタミンD2
2. ビタミンD3

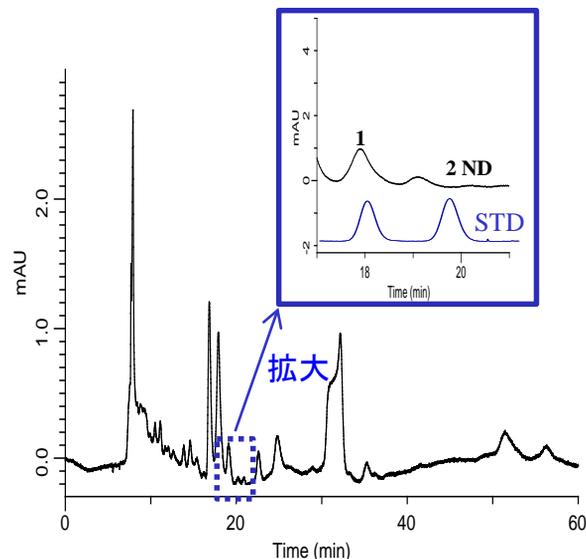
処理試料量: 1.0 g



市販干しシイタケ

1. ビタミンD2
2. ビタミンD3

処理試料量: 0.2 g



※テクニカルノートNo 33の実サンプルとは異なるサンプルを使用しています。
※サンプルによっては、夾雑成分との分離ができない可能性があります。

前処理カラム

Inertsil Diol 5 μ m, 250 \times 7.6 mm I.D. Cat.No. 5020-05666

水系、有機溶媒系SEC用カラムです。排除限界分子量は約10,000で分子量数千～数百の化合物の分離に適します。

分析カラム

Inertsil ODS-P 5 μ m, 250 \times 4.6 mm I.D. Cat.No. 5020-02002

バイアル/セプタム付キャップ

1.5mLスクリーバイアル(褐色)セット 9-425 500組 Cat.No. 1030-54247

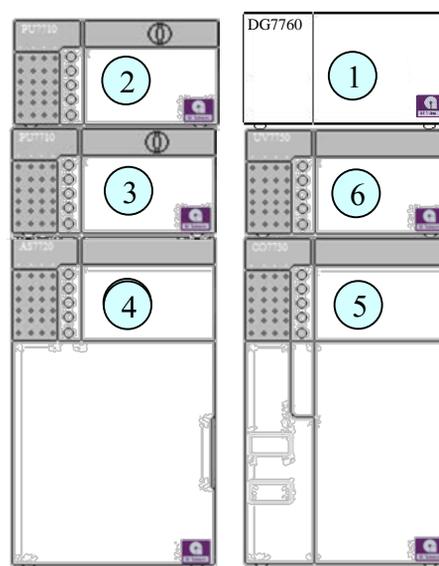
1.5mLスクリーバイアル(褐色)セット 9-425 100組 Cat.No. 1030-54128

分析装置:GL7700 シリーズ

ビタミンD分析システム

番号	品名	型式
①	脱気装置	DG7760 ₋₅
②	送液ポンプ(SEC用)	PU7710
③	低圧Gr送液ポンプ(分析用)	PU7710
④	オートサンプラー	AS7720C
⑤	カラムオープン	CO7730
⑥	UV検出器	UV7750

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します。


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