

ビタミンD分析法の簡便化と迅速化

— ACUITY UPLC®システムの活用法 —

○今井 美子¹, 土田 康晴¹, 渡邊 毅巳²

¹株式会社 フタバ 中央研究所, ²N&T 株式会社 本社工場

【目的】

ビタミンDの分析法は一般的に、試料のけん化後にビタミンDを含む不けん化物を抽出分離・濃縮といった前処理工程を要し、更にHPLCにおいては分取を必要とする複雑な工程である。近年、超高速HPLCの分野において幾つかアプリケーションが挙げられているが、実サンプルを含めた測定例は殆ど見かけない。ここでは前処理の簡便化の検討も含め、ACUITY UPLC®システム (T-UV 検出器使用) における下限値と定量性の確認を行った。また食品やサプリメントにおいて、夾雑物質の影響を検証した。

【方法】

装置はACUITY UPLC®システム (Waters 社、T-UV 検出器) を使用し、分離カラムは BEH C18 1.7 μ m、2.1 \times 100mm を使用。グラジェント溶出にて、移動相 A:エタノール、移動相 B:アセトニトリル、流速 0.5mL/min、注入量は 8.0 μ L、カラム温度 25°C、検出器は波長 265nm、サンプリングレート 20point/秒に設定し、解析は Apex Track 法を選択した。尚、カラムオープンの冷却機能は無くとも室温コントロール程度にてカラム温度を上昇させないようにすれば、分離は良好な状態を保つことが可能であった。

試料調製は粉碎後秤量し食塩水にて十分に膨潤後、エタノールにて一定量とした。これを 80°C湯浴中にて超音波抽出、遠心分離後必要であればエタノールにて適宜希釈、0.20 μ m

メンブレンフィルター (ナイロン製) を通したものを試料溶液とした。

【結果及び考察】

- ① ビタミンD₂・D₃混合溶液を用い 5.0 μ g/100g を標準として 10、50、75、100 μ g/100g までの定量が可能であることを確認できた。一般的には食品中には微量にしか含まれていないため 5.0 μ g/100g の一点検量線で十分と思われた。下限値は 1.25 μ g/100g の定量まで良好であった。
- ② サプリメントでは「何粒あたり」との表記をもとに、その含有量を 100 g 当りに算出した「算出値」と実際の定量値とを比較した。算出値に対して 80~100%の定量値が得られた。
- ③ かつお節の出汁にビタミンD₃を添加した場合の回収試験については、80~100%と良好な値が得られた。出汁の場合でもベースラインの乱れはほとんど無く、夾雑物質の影響は少ないと考えられる。

本手法はミネラルが共存する類のサプリメントや含有量が既知である食品の品質管理を対象とすれば、ベンゼン不使用かつ手作業による分析操作が簡便化できる有効な手法の一つと思われる。分離・定量においても従来のHPLC法では1検体25分程度であったものがACUITY UPLC®システムでは10分であり、前処理を含めた全体の分析時間としては大幅に短縮できる可能性が示唆された。