

ポストカラム誘導体化法を用いた ビタミン B1 の分析

著者

野田 莉帆

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ビタミン B1 (チアミン) は水溶性ビタミンの一種で、体内で合成できないため、食事から摂取する必要がある必須栄養素です。代謝過程では、中間体としてヒドロキシエチルチアミンの形でも存在しており、本成分もチアミンと同様にビタミン B1 量として合算して評価することができます。

本報では、消費者庁が示す「別添 栄養成分等の表示等」に準拠した高速液体クロマトグラフ法 (HPLC 法) によるビタミン B1 の分析について紹介します。

測定システム

Agilent 1260 Infinity III LC System

G7111B クォータナリポンプ

G7129A バイアルサンプラ

G7116B マルチカラムサーモスタット

G5654A バイオイナートポンプ (post pump)

G7123B 蛍光検出器 (13 μ L セル)

5022-2144 T コネクタ PEEK

0890-1915 PEEK チューブ 0.12 \times 1500 mm
(ポンプ背圧用)

5042-6463 PEEK チューブ 0.25 \times 5000 mm
(反応コイル)

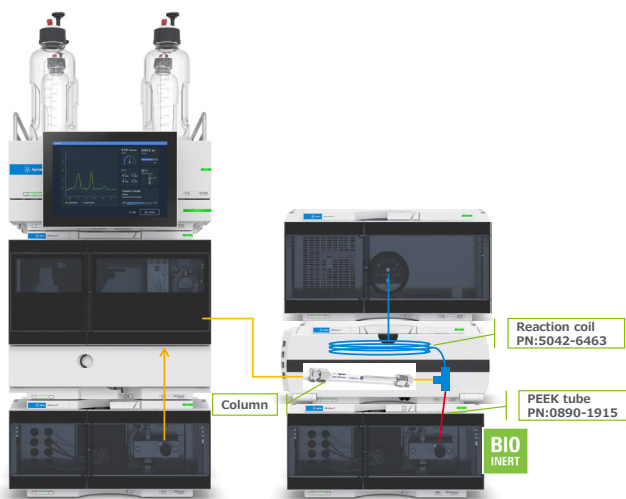


図 1. LC 構成

分析条件

表 1. 分析条件

LC	
カラム	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 4.6 \times 150 mm, 5 μ m, PN:959993-902
移動相	0.01 mol/L リン酸二水素ナトリウム-0.15 mol/L 過塩素酸ナトリウム水溶液 (過塩素酸を滴下し pH 2.2 に調製) : メタノール=9/1,v/v
流量	0.8 mL/min
カラム・反応温度	40 $^{\circ}$ C
ポストカラム反応溶液	15% NaOH, 0.01% ヘキサシアニド鉄 (III) 酸カリウム水溶液 ¹⁾
ポストカラム反応溶液流速	0.4 mL/min
注入量	20 μ L
蛍光波長	Ex 375 nm, Em 440 nm

標準品調製

チアミンおよびヒドロキシエチルチアミン標準品は 0.1 mol/L 塩酸で溶解させた後、25% 塩化カリウム-0.1 mol/L 塩酸溶液で各濃度に調製しました。

Note

高塩濃度かつ高 pH の溶液を使用するため、分析終了後は塩を含まない溶媒を用いて、すべてのシステムを 30 分以上洗浄した後、カラムを置換溶媒に変更して分析を終了してください。

また、高塩濃度の移動相を使用するため、有機溶媒からの置換時には析出が生じる可能性があります。十分にご注意ください。

¹⁾ 安定した感度を得るため、反応溶液は必ず用時調製してください。調製後は樹脂製ボトルに入れ、アルミホイルで遮光した状態で HPLC にセットしました。

結果

標準品 10–100 μ g/L におけるクロマトグラムを図 1 に示します。クロマトグラムが良好に分離・検出されていることを確認しました。

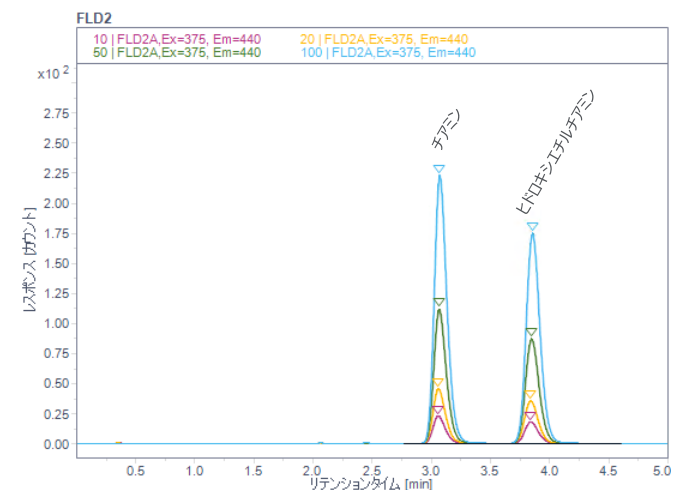


図 2. 標準品 10 – 100 μ g/L におけるクロマトグラム

10-100 μ g/L における直線性を図 3 に示します。いずれも良好な直線性を示しました。

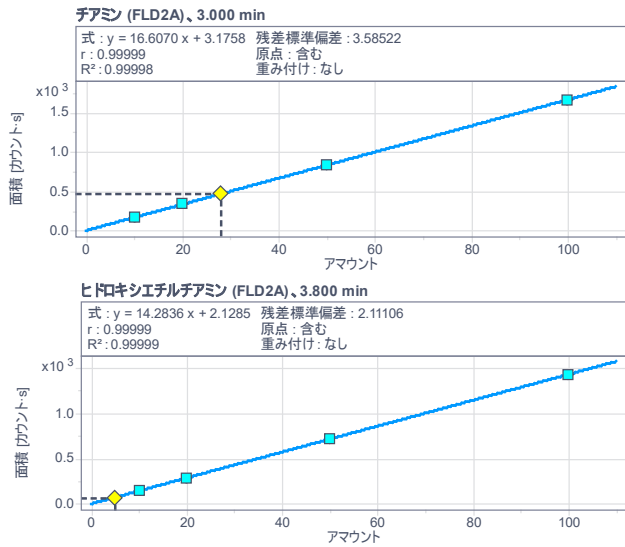


図 3. 標準品 10 – 100 µg/L における検量線
(上：チアミン、下：ヒドロキシエチルチアミン)

10 µg/L における 6 回繰り返し分析の結果を図 4 に示します。保持時間の相対標準偏差は 0.11 % 以下、面積相対標準偏差は 1.0 % 以下と良好な再現性を示しました。

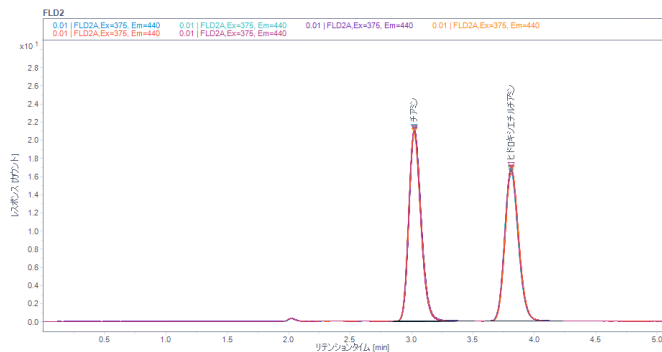


図 4. 10 µg/L における重ね書きクロマトグラム (n=6)

さらに低濃度となる、0.1 µg/L におけるクロマトグラムを図 5 に示します。S/N 10 程度でそれぞれの検出が可能でした。また、0.1–10,000 µg/L における直線性を図 6 に示します。決定係数 1.000 と非常に良好な直線性を示し、幅広いダイナミックレンジを有することが示されました。

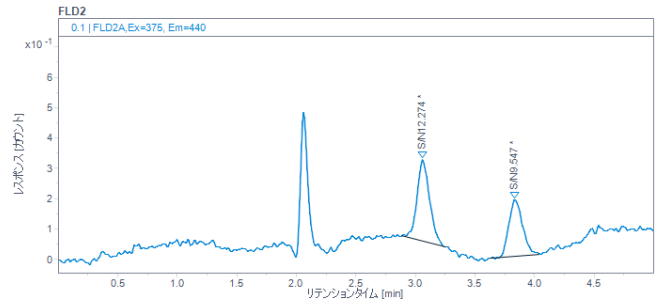


図 5. 標準品 0.1 µg/L におけるクロマトグラム

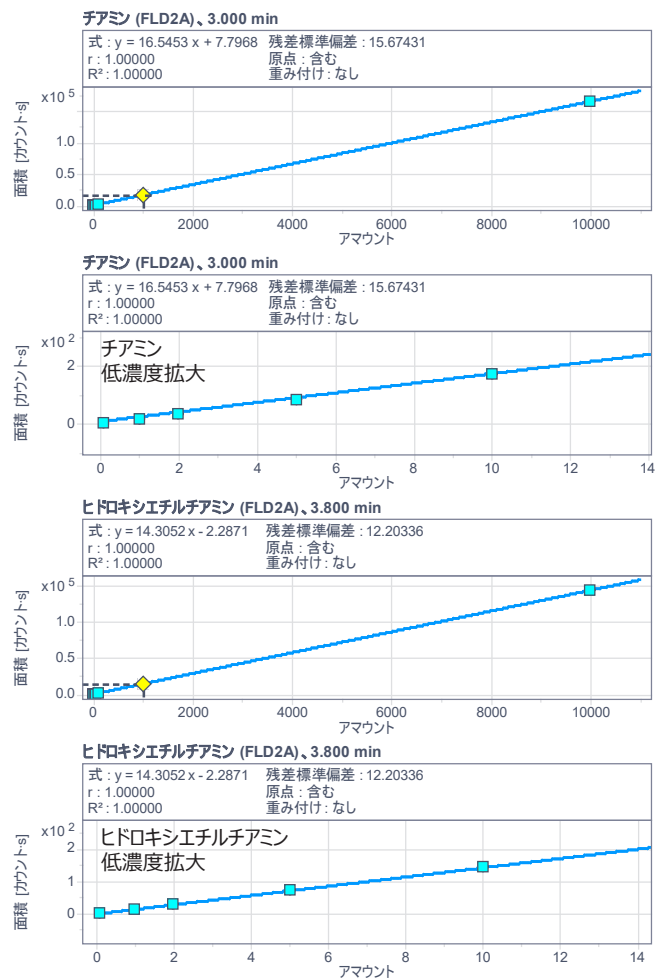


図 6. 標準品 0.1,1,5,10,20,50,100,1000,10000 µg/L における検量線
(上：チアミン、下：ヒドロキシエチルチアミン)

まとめ

Agilent 1260 Infinity III LC システムを用いてビタミン B1 の分析を行いました。良好な再現性・直線性を示すことを確認しました。また、非常に広いダイナミックレンジを有することが明らかになりました。

参考

1. 別添 栄養成分等の分析方法等 消費者庁

本検討は標準溶液を用いた評価であり、実試料への適用にあたっては回収率やマトリックスの影響を事前に確認することを推奨します。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-013524

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2026

Printed in Japan, April 3, 2026

5994-9133JAJP