

カンタキサンチン試験法

1. 分析対象化合物

カンタキサンチン

2. 装置

可視分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC (VIS)) 又は多波長検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC (DAD))

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

カンタキサンチン標準品 本品はカンタキサンチン96%以上を含み、融点は207~212°C (分解) である。

4. 試験溶液の調製

細切均一化した検体5.0 gを量り採り、アセトニトリル0 mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLおよび無水硫酸ナトリウム10 gを加えてホモジナイズした後、3,000 rpmで5分間遠心分離する。アセトニトリル層および*n*-ヘキサン層を分液ロートに移し、アセトニトリル層を採る。*n*-ヘキサン層を、遠心分離した残留物に加え、さらにアセトニトリル20 mLを加えて激しく振り混ぜた後、3,000 rpmで5分間遠心分離する。*n*-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、*n*-プロパノール10 mLを加えて、40°C以下で5 mLになるまで濃縮する。これにメタノールを加えて、正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

カンタキサンチン標準品の100 mg/L *N,N*-ジメチルホルムアミド溶液をメタノールで希釈して、0.05~20 mg/L溶液を数点調製し、それぞれHPLCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液をHPLCに注入し、5. の検量線でカンタキサンチンの含量を求める。

7. 測定条件

1) HPLC

検出器：VIS又はDAD（波長 470 nm付近の極大波長）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径2～5 μm）、内径2.0～6.0 mm、長さ100～250 mm

カラム温度：40℃

移動相：0.05%トリフルオロ酢酸及びメタノールの混液（3:97）

保持時間の目安：7～10分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径2～5 μm）、内径2.0～6.0 mm、長さ100～250 mm

カラム温度：40℃

移動相：0.05%トリフルオロ酢酸及びメタノールの混液（3:97）

主なイオン (m/z)：ESI (+) において565

保持時間の目安：7～10分

8. 定量限界

0.1 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

カンタキサンチンを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配により脱脂した後、HPLC (VIS又はDAD) により測定し、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

(1) 試験溶液の調製において、濃縮、溶媒除去後の残留物に液状の脂質が残存する場合は、アセトニトリル20 mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン10 mLを加えて激しく振り混ぜて、3,000 rpmで5分間遠心分離後、アセトニトリル層を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去して、残留物をメタノールに溶解し、正確に10 mLとしたものを試験溶液とすること。

(2) カンタキサンチンにはトランス体の他、シス体が存在する。定量に際しては、トランス体及びシス体のピーク高又はピーク面積の和をとり計算すること。

トランス体の極大波長は475 nm付近、シス体の極大波長は465 nm付近である。

10. 参考文献

なし

11. 類型

C